

133188

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA İLİNDE YETİŞTİRİLEN KABAKGİLLERDE GÖRÜLEN HIYAR
MOZAİK VİRÜSÜ İZOLATLARININ SEROLOJİK YÖNTEMLERLE
KARAKTERİZASYONU

Şule DURSUNOĞLU

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ANKARA

2003

Her hakkı saklıdır.

133188

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Prof. Dr. Filiz ERTUNÇ danışmanlığında, Şule DURSUNOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma 30/ 12/ 2003 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Filiz ERTUNÇ

İmza : 

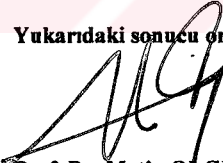
Üye : Prof. Dr. İbrahim DEMİR

İmza 

Üye : Prof. Dr. F. Sara DOLAR

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylarım


Prof. Dr. Metin OLGUN
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANKARA İLİNDE YETİŞTİRİLEN KABAKGİLLERDE GÖRÜLEN HIYAR MOZAİK VİRÜSÜ İZOLATLARININ SEROLOJİK YÖNTEMLERLE KARAKTERİZASYONU

Şule DURSUNOĞLU

Ankara Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Filiz ERTUNÇ

Bu çalışmada, Ankara ili ve çevresinde yetiştirilen kabakgillerde görülen ve kabakgillerin en önemli viral hastalıklarından biri olan *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) izolatlarının serolojik yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle, Kabakgil ekim alanlarına 2002 yılı Temmuz-Ağustos- Eylül (Eylül ayının ilk iki haftası) aylarında düzenlenen surveylerde 230 bitki örneği toplanmıştır. Surveyler virüs benzeri belirtilerin görüldüğü Ankara iline bağlı en fazla kabakgil ekimi yapılan Ayaş, Beypazarı, Çubuk, Nallıhan, Haymana, Kalecik, Kazan, Polatlı, Sincan ve Şereflikoçhisar ilçelerine düzenlenmiş ve izolatlar buralardan elde edilmiştir.

Örnekler konukçu bitkilere mekaniksel olarak aşılansmış ayrıca serolojik yöntemlerden DAS-ELISA yöntemi ve Agar-jel Testi uygulanmıştır. CMV izolatları serolojik olarak belirlenmiştir.

Araştırma sonucunda toplam 230 örnekten, Nallıhan' dan temin edilen izolatların 7 tanesi CMV alt grup-I olarak tespit edilmiştir. Diğer örneklerden ise herhangi bir sonuç elde edilememiştir.

2003, 51 sayfa

ANAHTAR KELİMELE: *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV), DAS-ELISA, Agar-jel yöntemi, Kabakgiller, CMV alt grup-I.

ABSTRACT

Master Science Thesis

SEROLOGICAL CHARACTERIZATION of CUCUMBER MOSAIC VIRUS ISOLATES in CUCURBIT PLANTATIONS in ANKARA PROVINCE

Şule DURSUNOĞLU

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Science

Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Filiz ERTUNC

In this research had been carried out to determine the serological characterization of *Cucumber mosaic cucumovirus* in Ankara province which is the most important viral disease of cucurbits. For this purpose, surveys were conducted in July, August, September (first 2 weeks) 2002 and 230 plant samples were taken from young leaves of cucurbits. Surveys were done to Ayaş, Beypazarı, Çubuk, Nallıhan, Haymana, Kalecik, Kazan, Polatlı, Sincan and Şereflikoçhisar where the main cucurbits growing areas of Ankara province and the isolates which showed virus like symptoms were obtained.

Collected isolates were mechanically inoculated to indicator plants, in addition DAS-ELISA and double diffusion tests were performed against the virus with all isolates and CMV subgroups were determined as serologically.

As a result of the research, 7 isolates which were collected from Nallıhan of 230 isolates were determined as infected with CMV Subgroup-I. No result was obtained with the other specimens.

2003 , 51 pages

Key Words : *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV), DAS-ELISA, Agar-gel assay, Cucurbits, CMV subgroup-I

TEŞEKKÜR

Bana bu araştırma konusunu yüksek lisans tez konusu olarak veren ve bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde değerli katkılarını esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Filiz ERTUNÇ' a ve ayrıca çalışmalarım sırasında ilgi ve yardımlarından dolayı, Ziraat Yüksek Mühendisi Diğdem İLHAN' a, Araş. Gör. Dr. Çiğdem ULUBAŞ' a, Ziraat Mühendisi Erçin OKSAL' a , Ziraat mühendisi Işıl BABALIOĞLU' na, Ziraat Mühendisi Demet SÖZERİ' ye ve Ziraat Yüksek Mühendisi Göksel ÖZER' e , fotoğraf çekimlerinde bana yardımcı olan Araş.Gör. Dr. Fikret DEMİRCİ, Araş.Gör. Harun BAYRAKTAR' a sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca survey çalışmalarımın gerçekleşmesinde araç konusunda yardımcı olan Ziraat Yüksek Mühendisi Işıl ÖZDEMİR' e ve Ankara Bölge Ziraai Mücadele Merkez ve Araştırma Enstitüsü elemanlarına teşekkürü bir borç bilmekteyim.

Son olarak benden desteğini ve yardımlarını eksik etmeyen Ailem' e sonsuz teşekkür ederim.

Şule DURSUNOĞLU

Ankara, Aralık 2003

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
2.1. Etmen Virüs (<i>Cucumber mosaic cucumovirus</i>) Üzerine Yapılan Çalışmalar	6
2.1.1. Dünyada yapılan çalışmalar	6
2.1.2. Ülkemizde yapılan çalışmalar	12
3. MATERYAL VE METOD	16
3.1. Materyal	16
3.2. Metod	16
3.2.1. İndikatör bitkilere Mekanik İnokulasyon	17
3.2.2. Serojik testler	18
3.2.2.1. Ouchterlony Agar-Jel Testi	18
3.2.2.2. DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-ELISA) Yöntemi	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	21
4.1. Survey Bulguları	21
4.2. İndikatör Bitkilerde Mekanik İnokulasyon Sonucu Oluşan Belirtiler	31
4.3. Ouchterlony Agar-Jel Testi Sonuçları	38
4.4. DAS-ELISA Sonuçları	39
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	40
KAYNAKLAR	44
EK	48
EK 1	49
ÖZGEÇMİŞ	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Ankara'daki toplam sebze üretim alanında kabakgillerin yeri.....	2
Şekil 4.1.	Çalışmada kullanılan kabakgıl örneklerinin toplandığı alanlar.....	21
Şekil 4.2.	CMV'nün <i>Nicotiana tabaccum</i> var. Samsun tütününde oluşturduğu sistemik mozaik enfeksiyonu.....	34
Şekil 4.3.	CMV'nün Kırmızı kazayağı (<i>Chenopodium amaranticolor</i>) bitkisinde oluşturduğu klorotik alanlar.....	34
Şekil 4.4.	CMV'nün Ak kazayağı (<i>Chenopodium quinoa</i>) bitkisinde oluşturduğu Klorotik lokal lekeler.....	35
Şekil 4.5.	CMV' ü börtölce (<i>Vigna sinensis</i> -Black Eye) ' de a. Primer yaprakda nekrotik lokal lezyonlar b. Üçlü bileşik yaprakda daha sonra sistemik mozaığa dönüşen belirtiler meydana getirmiştir.....	35
Şekil 4.6.	CMV'nün biber (<i>Capsicum annuum</i> L.) bitkisinde oluşturduğu a.yaprak deformasyonu b.sistemik mozaik c.damar bantlaşması	36
Şekil 4.7.	CMV' ü domates (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)' de yaprak ayasında daralma, bodurluk a. Üstten görünüm b. Yandan görünüm.....	37
Şekil 4.8.	CMV' ünün Kavun (<i>Cucumis melo</i> L.) ' da oluşturduğu sistemik mozaik.....	37
Şekil 4.9.	Agar-jel ortamında CMV antiserumuna karşı pozitif reaksiyon veren izolatların oluşturduğu bantlar.....	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Mekanik inokulasyonda kullanılacak indikatör bitkiler.....	17
Çizelge 4.1.	Bu çalışma için kullanılan örneklerin toplandığı tarih, konukçu dizileri ve ilçeler.....	22
Çizelge 4.2.	Çalışılan bitki materyallerinin çeşit bazında ilçelere göre dağılımı ve toplam miktarı.....	31
Çizelge 4.3.	Mekanik inokulasyon denemeleri sonucunda Hıyar Mozaik Virüsü (<i>Cucumber mosaic cucumovirus</i>)'nün indikatör test bitkileri üzerinde oluşturdıkları semptomlar.....	33
Çizelge 4.4.	Agar-jel testinde CMV antiserumuna karşı pozitif reaksiyon veren izolatlar.....	38
Çizelge 4.5.	Araziden toplanan kabakgil bitkilerine uygulanan DAS-ELISA testi sonucuna göre CMV alt grup-I pozitif çıkan örnekler. A 405 nm değerleri.....	39

SİMGELER DİZİNİ

A. Ü.	Ankara Üniversitesi
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
cDNA	Komplementer DNA (complementer DNA)
CMV	<i>Cucumber mosaic cucumovirus</i> - Hıyar mozaik virüs
CP	Örtü proteini (Coat protein)
Da	Dalton
DAS-ELISA	Double antibody sandwich-ELISA
DIBA	Dot-immunobinding assay
DİE	Devlet İstatistik Enstitüsü
ds-RNA	Çift kollu RNA (Double-stranded RNA)
ECL	Enzim konjugat solüsyonu
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ha	Hektar
IC-PCR	Immuno capture - polimeraz zincir reaksiyonu
LF testine	Latex çöktürme testi
M	Molar
McAb	Monoklonal antibodylerin
mg	miligram
MgCl ₂	Magnezyum klorit
ml	mililitre
µl	mikrolitre
M-MuLV	Moloney Murine Leukemia Virus
MP	Hareket proteini (Movement protein)
mRNA	Mesajcı RNA (Messenger RNA)
NaCl	Sodyum klorür
nm	nano metre
nt	Nükleotid
OPR	Açık okuma ucu (Open reading frame)
PSV	<i>Peanut stunt virus</i> - yerfıstığı cücelik virüsü

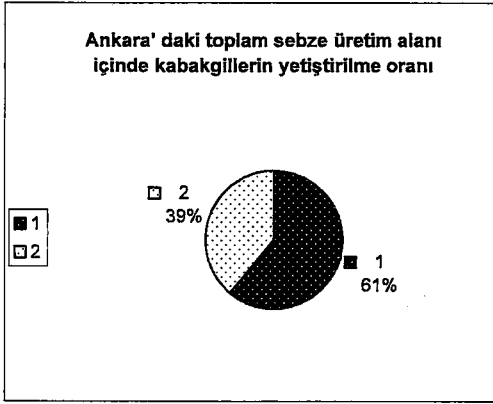
RFLP	Kesilmiş fragmentlerin uzunluğundaki polimorfizm (Restriction fragment length polymorphism)
RNA	Ribonükleik asit
RT-PCR	Revers transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu
satRNA	satellite RNA-Uydu RNA
S-I	Altgrup I
S-II	Altgrup II
SqMV	<i>Squash mosaic virus</i> - Kabak mozaik virüs
SSCP	Single-Stranded Conformational Polymorphism- Tek Sarmallı Komformasyonel Polimorfizm
SSV	<i>Soybean stunt virus</i> -Soyafasulyesi bodurluk virüsü
WMV	<i>Water melon mosaic potyvirus</i> - Kapuz mozaik virüs
ZYMV	Kabak sarı mozaik virüsü- <i>Zucchini yellow mosaic potyvirus</i>

1. GİRİŞ

Gerek kültür sebzeleri gerekse sebze olarak tüketilen yabani bitkiler bakımından çok zengin olan Türkiye, sebze tarımı için çok uygun bir ekolojiye sahiptir. Dünya ülkeleri arasında sebze üretimi bakımından Çin, ABD ve Hindistan ile birlikte Türkiye' nin de ilk dört ülke arasında yer alması ülkemiz sebzeciliğinin önemini ortaya koymaktadır. Ayrıca birçok dünya ülkesinde üretimi yapılmayan hatta bilinmeyen bir çok sebzenin de Türkiye' de yetiştirilmesi ülkemiz için büyük bir şans olarak değerlendirilmektedir.

Özellikle bunlar içerisinde *Cucurbitaceae* familyasına (Kabakgiller) ait kültür bitkileri büyük önem taşımaktadır. Dünya ülkeleri arasında toplam sebze üretimleri bakımından ülkemiz ile komşu ülkeler (Bulgaristan, Yunanistan, Suriye, Irak, İran, Azerbaycan, Gürcistan) arasında bir karşılaştırma yapılacak olunursa; sadece İran'ın *Cucurbitaceae* familyası sebzeleri bakımından Türkiye' ye rakip olduğu görülmekle beraber üretim miktarı ve ihracat imkanları bakımından Türkiye'nin şansı daha yüksektir (Vural vd., 2000).

Ülkemizde 1999 yılında 19.122.500 ton olarak belirlenen meyvesi yenen sebze üretiminin 7.704.000 tonunu kabakgiller oluşturmaktadır (Anonymous, 1999). 2000 yılında ise 19.283.500 ton' a çıkan meyvesi yenen sebze üretiminde kabakgil üretimi 7.962.000 tona çıkmıştır (Anonymus 2000). Buna bağlı olarak Ankara ve çevresinde karpuz üretimi 5.166 ha ekim alanı ile 115.813 ton, kavun üretimi 23.518 ha ekim alanı ile 302.381 ton, hıyar üretimi 1.176 ha ekim alanı ile 34.841 ton, kabak üretimi 655 ha ekim alanı ile 9.479 ton ve balkabağı üretimi 191 ha ekim alanı ile 3.106 ton olarak gerçekleşmiş olup (Anonymous, 2000), Ankara ilinde kabakgil üretimi en fazla Beypazarı'nda yapılmaktadır. 2002 verilerine göre ise Ankara' da toplam sebze üretim alanı 48.770 ha'dır bunu 29.804 ha' nda kabakgil üretilmektedir, Şekil 1.1' de görüldüğü üzere toplam sebze üretim alanının % 61' lik kısmını kabakgiller oluşturmaktadır (Anonymus 2002).



Şekil1.1Ankara'daki toplam sebze üretim alanında kabakgillerin yeri(Anonymus 2002).

- 1 Ankara' da tüm sebze alanı içinde kabakgillerin üretim oranı
- 2 Ankara' da yetiştirilen diğer sebzelerin üretim oranı

Kabakgiller yararlı sebzeler grubu olup kavun, karpuz, acur, salatalık, balkabağı, yemeklik kabak *Cucurbitaceae* familyasının üyeleridir. Ayrıca kabak çekirdeği %35 yağ %38 protein %25 karbonhidrat içerir, e vitamini açısından zengin olup ülkemizde de kuruyemiş olarak da tüketilmektedir.

Cucurbitaceae familyası üyelerinde görülen virüs enfeksiyonları, tüm dünyada özellikle ılıman iklim kuşağında yaygın olarak görülmektedir. Bu familyadaki kültür bitkilerinde enfeksiyon oluşturan 30 adet virüs bulunmakta ve özellikle mozaik tipi enfeksiyonlar birbirine oldukça benzer belirti oluşturmakta, bu nedenle belirtilere bakılarak etmenlerin teşhisleri mümkün olmamaktadır (Lovisolo, 1980).

Kabakgil bitkilerinde üretimi etkileyen virüs enfeksiyonlarının başında Cucumber mosaic cucumovirus (CMV= Hıyar mozaik virüsü) gelmektedir.Hıyar mozaik virüsü (CMV) ilk defa 1934 yılında Price tarafından USA' de hıyar (*Cucumis sativus* L.)' da rapor edilmiştir (Brunt *et al.*, 1996).

CMV' ü Bromoviridae familyasının Cucumovirus cinsinin tip üyesidir. Bromoviridae familyasına ait türler tarla ve bahçe bitkilerinde önemli patojenlerdir. Cucumoviruslar

ise çoğu Leguminosae ve Solanaceae bitkilerinde dar bir konukçu dizisine sahip iken, tip üyesi olan *Cucumber mosaic virus*’ ı Solanaceae familyasını da içeren oldukça geniş bir konukçu dizisine sahiptir (Frison *et al.*, 1990).

Virüsün sinonimleri arasında banana infection chlorosis virus, coleus mosaic virus, cowpea banding mosaic virus, cowpea ringspot virus, cucumber virus. 1, lily ringspot virus , pea top necrosis virus ,peanut yellow mosaic virus, , southern celery mosaic virus, soybean stunt virus, spinach blight virus, tomato fern leaf virus, pea western ringspot virus yer almaktadır. (Brunt *et al.*, 1996)

Virüsün partikülleri yaklaşık 28-30 nm çapında, izometrikler ve 5’li-6’lı yığınlar halinde 180 alt ünitelerden oluşmaktadır. Virionları %18 nükleik asit, %82 protein ve % 0 yağ içerir. Zarfsız, profilden yuvarlak, pozitif anlamlı büyükten küçük RNA 1, RNA 2, RNA 3 olmak üzere 3 tane tek sarmallı RNA’ dan ve subgenomik RNA 4’ den ibaretir (Brunt *et al* 1996). RNA1 ve RNA2 monocistroniktir (tek gen taşıyan) ; viral RNA sentezinde rol oynayan yapısal olmayan proteinler olan P1 ve P2 replikaz proteinlerini üretirler. RNA3 bicistroniktir (iki gen taşıyan) ve hareket proteini (movement protein; MP) ile örtü proteini (coat protein;cp) kodlayan iki açık okuma alanı (open reading frame; ORF) taşır. MP direkt olarak RNA’ dan translasyon yapılırken, CP subgenomik bir mRNA’ dan transle edilir (Ilardi *et al.*, 1995). RNA 4 ise RNA 3’ ün 3’ ‘nün yarısının bir kopyası olan subgenomik bir RNA’ dır. RNA 4 coat proteininin üretiminde m-RNA olarak görev görür ama enfeksiyonda gerekli değildir (Kearney *et al.*, 1990).

CMV’ üne tüm kabakgiller hassastır, bununla beraber hastalık karpuzu nadiren etkiler. Belirtiler öncelikle genç yapraklarda görülür, yapraklar aşağıya doğru kıvrılır ve beneklenme, bükülme, buruşma ve küçülme görülür. Boğum araları kısalduğundan bitkide bodurlaşma görülür, genç yapraklarda rozetleşmeye neden olur. Bitkilerde klorotik lekeler, sararma, mozaik, gelişme geriliği ve meyvelerde şekil bozukluğu, beneklenme, şişkinleşmelere ve küçülmelere neden olur. Enfekte olmuş meyve beyazlaşmış turşuluk hıyara benzer, yeşil renk çok azalmıştır.Eğer bitki sezonun yarısından sonra enfekte olursa,büyümede gerileme görülmeyebilir, fakat oluşan meyve çıkıntılı ve şekilsiz olabilir (Momol, 1990). Mozaik ve sarımtırak noktalar ise hastalığın

karakteristik başlangıç simptomlarıdır (Kaygısız, 1995). Etmen oldukça geniş bir konukçu dizisine sahip olup tropikal ve ılıman iklim kuşağında yaygın olarak bulunmaktadır.

CMV' nin tohumla taşınması ve afit vektörlerinin olması hastalığın hızla yayılmasına ve epidemi oluşturmaya neden olmaktadır (Francki *et al.*, 1979). Hastalıklı bitkiden virüsü alan vektör, sağlıklı bitkideki ilk 5-10 saniyelik beslenme süresi içinde naklettiği virüs hastalığa sebep olur. Genel bir kaide olarak, virüsün afit tarafından bu şekli nakli 1-2 saatten fazla sürebilir. Fakat beslenme için açılan delik sayısı fazlaştığı ölçüde bulaşma azalır. Vektör olarak pek çok tür mevcut ise de, bunların arasında *Aphis gossypii* ve *Myzus persicae* çok önemlidir (Kaygısız, 1995). Enfeksiyonlu tohumdan gelişen hastalıklı fideler tarlada enfeksiyon kaynaklarını oluşturmakta ve bunlardan vektör afit türleri yardımı ile hastalık sağlam bitkilere taşınmaktadır.

Topraksız ortamda yetiştirilen bitkilerde, bitki artıklarında ve hastalıklı köklerden kontak yolla bulaşmanın mümkün olduğu görülmüş ise de, aynı olayın Kabakgiller de teyidi henüz söz konusu değildir (Kaygısız, 1995).

CMV' nin uzun yıllardan beri yurdumuzda mevcut olduğu bilinmekte olup Marmara ve Akdeniz Bölgeleri'ndeki kabakgil ekim alanlarında yaygın olarak enfeksiyon oluşturduğu tespit edilmiştir (Özalp, 1964; Nogay ve Yorgancı, 1984; Yılmaz ve Davis, 1985). Etmenin iki farklı straini ise Ankara ili ve çevresinde ekimi yapılan kavun bitkilerinden izole edilmiştir (Erdiler ve Ertunç, 1988).

Bugüne kadar CMV' nin birçok straini bildirilmiş ve karakterize edilmiştir (Palukaitis *et al.*, 1992). Bunlar; Y straini, Ispanak straini, M straini, No.6 yellow straini, S straini ve Q strainidir. CMV strainleri biyolojik özellikleri, serolojik özellikleri ve nükleotid baz dizisi homolojilerine göre alt grup I (S-I/ DTL) ve alt grup II (S-II/ ToRS) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır (Palukaitis *et al.*, 1992). S-I ve S-II izolatlarının konukçu dizilerinde belirgin farklılıklar yoktur ve bu iki alt grup poliklonal antiserumlarla serolojik olarak birbirine çok yakındır.

Ayrıca çok sayıda straini mevcuttur. Bunlardan en iyi bilinenleri A-CMV, E-CMV, L-CMV, N-CMV, P-CMV, Z-CMV ve WAI/WAII (Brunt et al 1996).

Tezin amacı Ankara ili ve çevresinde kabakg il ekim alanlarından temin edilecek örneklerden CMV alt gruplarının serolojik yöntemlerle belirlenmesi, ayrıca konukçu dizisindeki farklılaşmanın ortaya konması hedeflenmektedir. Gerçekleřtirilecek bu çalışma ile gelecekte bu izolatlar üzerinde yapılması planlanan moleküler çalışmaların başlangıç aşaması da gerçekleştirilmiş olacaktır .

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Etmen Virüs (*Cucumber mosaic cucumovirus*) Üzerine Yapılan Çalışmalar

2.1.1. Dünyada yapılan çalışmalar

Bhargava (1951), CMV' nün 4 ırkının (ıspanak, primula, şalgam ve sarı)konukçu dizisini, fiziksel özelliklerini ve *Myzus persicae* tarafından nakil oranlarını karşılaştırmalı olarak bildirmektedir.

Sill ve arkadaşları (1952), CMV' nün en yüksek konsantrasyonda salatalık çiçeklerinde, daha sonra tütünlüklerde çoğaldığını bildirmekte ve etmenin elektron mikroskopik incelemeleri sonucunda 350 Å çapında yuvarlak partiküllerden oluştuğunu belirtmektedir.

Sinclair *et al.*(1956) ise, salatalık ve börülce' de görülen CMV ırkları (Y ırkı, Sarı ırkı, ırk no. 14) arasında gerek tarla gerekse sera koşullarında zıt korunmanın tam olarak gerçekleştiğini belirtmektedirler.

Hitchborn (1956) virüs ile bulaşık bitkilerin 36 °C' de 3-4 hafta bırakılmaları veya yeni inokule edilmiş bitkilerin birkaç gün bu sıcaklıkta tutulmaları sonucunda, virüsten arındırılmaları sağlanması nedeniyle, çeşitli CMV ırklarının 37 °C' de çoğalışı ve symptom gelişimi üzerinde yapmış olduğu araştırmasında, ırklar arasında varyasyonun mevcut olduğu, bazı ırkların bu sıcaklık derecesinde de çoğalarak symptom oluşturduğunu saptamıştır.

Fulton (1956) ise Arkansas eyaletinde, ıspanak ekim alanlarında, CMV (CV₁) etmenini saptadığını ve CMV' nün, yalnızca *Cucurbitacea* familyası üzerine arız olmadığını belirterek, etmene karşı bölgede ekimi yapılan ıspanak türlerinin reaksiyonlarına göre A, B, C, D, E, F ırklarının mevcut olduğunu bildirmektedir.

Grogan *et al.* (1959), CMV' nün Güney Kalifornia' nın çöl vadisinde yetiştirilen kabakgillerde görülen en yaygın virüs hastalıklarından biri olduğunu bildirmektedirler.

Nitzany (1960), CMV' nü İsrail' de muz, şekerpancarı, pancar, aspir gibi kültür bitkilerinin yanı sıra *Sinapis arvensis*, *Molucella laevis* gibi yabancı otlarda da saptamıştır.

Hills *et al.* (1961), CMV enfeksiyonu sonucunda türünde % 40 oranında kayıp görülürken, etmenin tepe kıvrıcıklığı virüsü ile birlikte aynı bitkide enfeksiyon oluşurması sonucunda türün kaybının %68'e ulaştığını tespit etmişlerdir.

Nelson *et al.* (1966), Arizona eyaletinin Güneybatısında yer alan kavun ekim alanlarında CMV' nün yaygın olarak saptandığını bildirmekte ve erken dönemde enfeksiyona maruz kalan bitkilerin daha az sayıda meyve bağladığını, vegetatif aksamlarının da sıhhatli bitkilere kıyasla çok daha az olduğunu belirtmektedirler.

Molnar (1963), CMV' nün Macaristan'daki kavun ekim alanlarında da yaygın olarak enfeksiyon oluşturduğunu bildirmektedir.

Cohen ve Nitzany (1963) ise, İsrail' de *Cucurbitaceae* familyası üyelerinde CMV, WMV, SqMV saptadıklarını bildirmekte olup, gerek CMV gerekse WMV' nün *Aphis gossypii* (Glov) tarafından taşınırken, SqMV' nün *Epilachna chrysomelina* tarafından taşındığını belirtmekte ve bu zararlının bitkisel virüsleri nakleden *Coccinellidae* familyasına bağlı ilk vektör olduğunu vurgulamaktadır.

Foster ve Foster (1965) CMV' nün kavun bitkisini enfeksiyonu sonucunda bitkilerde kök gelişimine fazlasıyla engellediği ve CMV' nün diğer etmenlerle kombineli enfeksiyonu sonucunda ise bu etkinin daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Francki *et al.* (1966) ise Avustralya'dan elde edinilen CMV-Q straininin %18 oranında RNA içerdiğini ve bununda %22.4 oranında adenin, %24.7 oranında guanin, %22.8 oranında sitozin, %30.1 oranında urasil' den oluştuğunu bildirmekte ve virüsün

moleküler ağırlığının 5.8×10^6 , sedimentasyon katsayısının 98.65, diffüzyon katsayısının ise $1.20 \times 10^7 \text{ cm}^2 / \text{s}$. olduğunu, termal inaktivasyon noktasının 70-80 °C olarak saptadığını ve etmenin stabil olmadığını belirtmektedir.

Nelson (1966), Mexico' nun batı sahillerinde *Cucurbitaceae* ekim alanlarında CMV' nün *et al.* yaygın olarak görülen virüs hastalıklarından biri olarak saptandığını belirtmektedirler.

El-Sayed ve Sill (1968) ise Kansas eyaleti içinde toplanan 150 adet örnek üzerinde yapılan denemeler sonucunda %40.3 oranında CMV 'nü tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Nitzany ve Marrou (1970), Akdeniz Bölgesindeki sebze ekim alanlarında en yaygın virüsün CMV olduğunu ve etmenin özellikle *Cucurbitaceae* ve *Solanaceae* familyası üyelerinde yaygın olduğunu ve bu virüsün oluşturduğu belirtilerin sıcak yaz aylarında maskelendiğini ve etmenin bitkilerin erken gelişme dönemlerinde daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Bailiss (1970), Improved Telegraph cinsi salatalık kotiledonlarında CMV enfeksiyonu sonucunda anormal gelişim klorotik lekelenmeler görüldüğünü, bir süre sonra kotiledonların tümüyle sarardığını bildirmekte, bu durumun hasta bitkilerdeki klorofilaz enzimi aktivitesinin yüksek olması sonucunda aşırı derecede klorofil parçalanmasından kaynaklandığını belirtmektedir.

Boatman *et al.* (1973), Peanut stunt virus (PSV-yerfıstığı cücelik virüsü)'nün CMV' nün bir ırkı olduğunu kaydetmektedirler.

Tomlinson *et al.* (1973), *Stellaria media*' nun tohumları ile taşınan ve özellikle marulda enfeksiyon oluşturan CMV-W ırkını, EDTA ve thiolcollic asit içeren fosfat buffer' da homojenize edip, di-etil eter' de temizleyerek ve daha sonra sucrose density gradientleri içinde santrifüj ederek saflaştırdığını bildirmektedir.

Kaper ve Re (1974) ise CMV' nün S, D, Q ırklarının, RNA oranlarının %17,87-%18,60 arasında değişim gösterdiğini bildirerek, ortalama olarak bir virüs partikülünün 5.3×10^6 da olduğunu belirtmektedir.

Nitzany (1975), CMV' nün bitkilerde bodurluk şekil bozukluğu, lokal ve sistemik lezyonlar oluşturduğunu bildirmiştir.

Fischer ve Lockhart (1976), Fas' da ki börülce ekim alanlarında şiddetli derecede simptom oluşturan virüs etmeninin CMV' nün bir ırkı olduğunu, mekanik inokulasyon, fiziksel özellikleri ve elektron mikroskop görüntüsüne dayanarak saptadıklarını belirtmektedirler.

Hanada ve Tochihara (1982), Benekli soyafasulyesi tohumlarından gözlenen Soyafasulyesi bodurluk virüsü (SSV-A)' nün yaptıkları çalışmalar sonucunda tek bir serotipi ile CMV' nün soyafasulyesi straini olduğu sonucuna varmışlardır.

Sharma (1983), "Puncap Sunehri" kavun bitkilerinde CMV enfeksiyonunun, *Sphaerotheca fuliginea* enfeksiyonuna karşı antagonistik etki oluşturarak, fungusun bitki üzerinde oluşturduğu koloni sayısını ve büyüklüğünü azalttığını, önce fungus ile inokule edilen bitkilerde ise virüs belirtilerinin geciktirildiğini ve şiddetinin azaldığını belirtmekte, her iki etmenin bitkide birlikte bulunması sonucunda ise üründe, %32-42 oranında kaybın sağlandığını bildirmektedir.

Sharma *et al.*, (1984) CMV kavun ırkı' nın kavun tohumlarıyla %10-28 oranında taşındığını ortaya koymuşlardır.

Kyriakopolou ve Bemm (1985), Yunanistan' ın Attica bölgesindeki kabak ekim alanlarında şiddetli deformasyon oluşturan virüsü, serolojik testler ve elektron mikroskop gözlemleri sonucunda, CMV olarak tanımladıklarını ve etmenin Yunanistan' da gerek kültür bitkilerinde, gerekse yabancı otlarda yaygın olarak görüldüğünü belirtmektedirler.

Wilson ve Halliwell (1985), Texas' ın kışlık ıspanak ekim alanlarındaki ıspanaklarda sistemik beneklenme, şiddetli damar deformasyon ve yapraklarda kıvrılmalar meydana getiren Hıyar mozaik virüs (*Cucumber mosaic virus-CMV*)' ünün bir izolatını teşhis etmişlerdir. Bu izolatın CMV' nin S straini ile serolojik olarak oldukça yakın olduğunu tespit etmişlerdir. CMV-S' nin Texas ıspanak izolatı olarak isimlendirilen bu izolatın, test edilen 13 yabancı ot familyasının 12' sini ve ürünü için yetiştirilen bitkilerinde 39 çeşidini enfekte ettiği ve deneysel olarak taşınmasında Yeşil şeftali afidi (*Myzus persicae*)' nin oldukça etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Owen ve Palukaitis (1988), Moleküler hibridizasyon çalışmaları sonucunda CMV strainlerini I ve II olmak üzere iki altgrup altında karakterize etmişlerdir.

Porta *et al.* (1989), Bitki özsuyunda bulunan CMV' nün miktarının belirlenmesinde monoklonal antbodylerin (McAb) kullanılabileceğini ve antbodylerden birinin ELISA' da hem coating antbody hemde biotin konjugat olarak kullanıldığı zaman CMV-D' nin alt ünitelerinin ve tüm virionları arasında ayırmanın mümkün olduğunu göstermişlerdir.

Kearney *et al.* (1990), Çin' nin güneyinde Fujian bölgesinde domates (*Lycopersicon esculentum*) tarlalarında sararma, nekrotik lezyonlar ve şiddetli bodurluk oluşturan bir etmeni, serolojik testler, elektron mikroskop gözlemleri, konukçu indekslemesi ve RNA analizi kullanılarak sebep etmenin Hıyar mozaik virüs (CMV-Chi)' ünün yeni bir straini olduğunu tespit etmişlerdir.

Palukaitis *et al.* (1992), CMV' nün dünyanın pek çok ülkesinde yaygın olduğunu ve birçok hastalığın epidemisinde sebep etmen olarak tanımlamışlardır. Bugüne kadar CMV'nin birçok straini bildirilmiş ve karakterize edilmiştir. Bunlar; Y straini, Ispanak straini, M straini, No.6 yellow straini, S straini ve Q strainidir. CMV strainleri biyolojik özellikleri, serolojik özellikleri ve nükleotid baz dizisi homolojilerine göre altgrup I (S-I) ve altgrup II (S-II) olmak üzere iki alt gruba ayırmıştır.

Wahyuni *et al.* (1992), İzolatların CMV altgrup-I ve altgrup-II olarak ayırabilmek için spesifik monoklonal antikorlar kadar iyi olan moleküller hibridizasyon çalışmalarını kullandı.

Ilardi *et al.* (1995), Domates’ de Hıyar mozaik virüsü strainlerini serolojik ve biomoleküller yöntemleri kullanarak tespit etmişlerdir.

Haq *et al.* (1996), Hindistan’ da *Physalis minima*’da mozaik ve yaprak deformasyonuna neden olan bir virüsü biyolojik, serolojik ve moleküller yöntemleri kullanarak Hıyar mozaik virüsü (CMV-P)’ nün altgrup-I’ e bağlı bir strain olarak tespit etmişlerdi.

Kim *et al.* (1998), Kore’ den temin edilen Hıyar mozaik virüs (*Cucumber mosaic virus*-CMV)’ ünün 8 izolatını dsRNA analizi, RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) yöntemi, *MspI* restriksiyon enzimleri ile kesim, SSCP (Single-Stranded Conformational Polymorphism) analizi, serolojik özellikleri ve birçok konukçusundaki biyolojik reaksiyonları ile ayırımı ve tespitini yapmışlardır.

Gillaspie *et al.* (1998), Georgia’ da birçok börtölce genotipinde şiddetli belirtiler meydana getiren, Hıyar mozaik virüsü strainlerinin altgrup-I’ inde yer alan, tohumda % 1,5-37 oranında bulunan ve CMV-Csb olarak isimlendirilen yeni bir strainini tespit etmişlerdir.

Korbin ve Kamińska (1998), CMV’ nün mevcudiyetini tespit etmek için farklı ekim alanlarından temin ettikleri birçok bitki türünü DAS-ELISA ve bio-yöntemlerle uygulamışlardır. Sistemik mozaik şeklinde belirtiler gösteren 12 bitki örneğinde CMV’ nı saptamışlardır. Tüm izolatlar ticari CMV-DTL (altgrup-I) antiserumu ile reaksiyon verdiğini tespit etmişler, İn vitro da ki fiziksel özellikleri, konukçu bitkilerdeki belirtileri ve serolojik özellikleri göz önünde alarak 5 CMV’ ü izolatının, ayırımı ve teşhisini yapmışlardır.

Takanami *et al.* (1998), Tütün (*Nicotiana tabacum* L.)’ de hafif mozaik belirtileri meydana getiren iki Hıyar mozaik virüsü izolatını viral RNA’nın nükleotid baz dizilişleri, belirtilerin gözlemlenmesi ve serolojik testleri kullanarak karakterize etmişlerdir. Bu izolatların simptomatolojilerine ve serolojik test sonuçlarına bakarak, CMV-m1’ in altgrup-I’ de ve CMV-m2’ nin de altgrup-II’ de yer aldığını tespit etmişlerdir.

Sidek (1999), CMV’ nün Malezya’ da ilk kez 1986 yılında kabakgil bitkilerinde önemli zarara neden olduğu tespit edilmiş ve Malezya’ da kabakgil ekim alanlarında zarar meydana getiren en önemli virüs hastalıklarının başında CMV’ nün geldiği belirtilmiştir. 5 virüs izolatu virüslerin farklı viral morfolojilerine dayanılarak, seçilen test bitkilerindeki belirtilerine ve konukçu dizilerine bakılarak ayrımları yapılmış ve birçok yabancı ot türünde CMV’ nü tespit etmişlerdir.

Varveri ve Boutsika (1999), Yunanistan’ın her yerinde 1990’ dan beri özellikle domates ekim alanlarında şiddetli Hıyar mozaik virüs (CMV)’ ü salgının çeşitli belirtileri gözlemlenmiş ve bu nedenle lokal virüs popülasyonlarının belirlenmesi için tarla ve seralardan farklı orjin ve belirtili 40 CMV izolatu ile uydu RNA (satellite RNA-satRNA)’ nın varlığı ve altgrup teşhisi için IC-PCR ve RFLP gibi modern metodlar kullanılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda testlenen bütün izolatların CMV altgrup-I’ e ait olduğunu ve %77 oranında satRNA taşıdıklarını tespit etmişlerdir.

2.1.2. Ülkemizde yapılan çalışmalar

Özkan (1957), CMV’ nün yurdumuzda ilk olarak 1955-1956 yılları arasında İstanbul ve İzmir’ deki ıspanak, biber ve kereviz ekim alanlarında Dr. H. Bremer tarafından yapılan çalışmalar sonucunda tespit edildiğini rapor etmiştir.

Özalp (1964), CMV’ nün Ege bölgesinde kabak ve domates ekim alanlarında bulunduğunu belirtmiştir.

Tekinel ve ark. (1969), etmenin Adana ve Mersin bölgesinde yetiştirilen biber, patlıcan ve kabakg l türlerinde yaygın olarak bulunduğunu bildirmişlerdir.

Tekinel (1973), CMV' n n Güney Anadolu bölgesindeki domates ekim alanlarında yaygın olarak enfeksiyon oluşturduğunu bildirmekte ve genel olarak bölgede yaygınlık ortalamasının ise %1.9 olduğunu bildirmişlerdir.

Nas ve ark. (1975), CMV' n n Güney Anadolu bölgesindeki tütün ekim alanlarında TMV' den sonra en yaygın olarak enfeksiyon oluşturan etmen olduğunu bildirmişlerdir.

Yılmaz ve Davis (1985), Akdeniz sahil şerinde yer alan biber, domates ve karpuz ekim alanlarında CMV' n n varlığını açıklamış ve etmeni konukçu dizisine ve serolojik testlere dayanarak teşhis etmişlerdir.

 zyanar ve Sako (1987), tarafından Hıyar mozaik virüs' ünün sarı (CMV-Y) ve Zinnia (CMV-Z) strainlerini ham ekstraktlardan ve saflaştırılmış virüs preparatlarından DIBA (dot-immunobinding assay),  n kaplamasız Indirek ELISA ve DAS-ELISA (double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemlerini kullanarak birbirleri ile kıyaslamışlardır.

Erdiler ve Ertunç (1988), Ankara ili ve çevresindeki kavun ekim alanlarından toplanan virüsle bulaşık kavun yaprak  rne lerinden etmenin iki ırkının (*Cucumber mosaic virus*- CMV ırk no.5 ve ırk no.6) izole edildiğini rapor etmişlerdir.

 i ek vd.(1989), Sertifikasyon amacıyla gönderilen marul (*Lactuca sativa* L.) tohumu  rne lerinde CMV' n n % 42.3 oranında tohumla taşındığını tespit etmişlerdir.

Ertunç (1989), Hıyar mozaik virüs' ünün sarı (CMV-Y) ve Zinnia (CMV-Z) strainlerini, latexle kaplı CMV-Y antiserumunun kullanıldığı, latex   kt rme (LF testi) ve antik rlarla hassaslaştırılmadan önce latex partiküllerinin protein A ile kaplandığı antiserumun kullanıldığı protein A kaplı latexe bağlı antiserum testi (PALLAS testi) ile

serolojik olarak tespit edilmiştir. Testler birbiri ile kıyaslandığında PALLAS testinin, LF testine oranla daha hassas olduğunu gösterilmiştir.

Yorgancı ve Erkan (1991), Mustafakemalpaşa ve Turgutlu yörelerinden topladıkları domates örneklerinde epidemi oluşturan Hıyar Mozaik Virüsü (CMV)' nün bir strainini tespit etmişlerdir.

Ertunç ve Sako (1992), Hıyar mozaik virüs (CMV)' nün *Zinnia* ırkını *Zinnia elegans* bitkilerinde izole etmişlerdir.

Ertunç (1992), çeşitli araştırma kuruluşlarından toplanan 40 adet, Cucurbitaceae familyası, kültür bitkisi tohum örneğinde Hıyar mozaik virüsü (Cucumber mozaik virus)' nün ELISA yöntemleri (DAS-ELISA, Ön kaplamasız Indirek ELISA) ile tespiti üzerine araştırmalar yapmıştır. Bu araştırmalar sonucunda 9 örnek (1 karpuz, 1 kavun, 3 hıyar, 2 kabak, 2 balkabağı) tohumunda etmenin mevcut olduğunu ve her iki ELISA yönteminin de etmenin kabakgil familyası kültür bitkilerinin tohumlarından saptanmasında başarılı olduğunu tespit etmiştir.

Çıtır *et al.* (1998), Amasya, Çorum, Samsun ve Tokat' da yaptıkları bir çalışmada, semptomatolojik olarak ve biyolojik yöntemlere dayanarak, bölgede CMV' nün zararlı olduğunu belirlemişlerdir.

Şefik ve Arlı (2001), Samsun' da kabakgil bitkilerinde zararlı olan virüsler ve bunların yayılışlarını biyolojik ve serolojik yöntemleri kullanarak Hıyar mozaik virüsü (CMV), Kabak sarı mozaik virüsü (ZYMV) ve Karpuz mozaik virüsü (WMV-2)' nün en zararlı virüsler olduğu belirlenmiştir. DAS-ELISA yöntemi ile testlenen toplam 165 örneğin % 20.60' ının CMV ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir.

Gümüş ve ark. (2001), Tohum üreten ve pazarlayan kuruluşlardan aldıkları bezelye, biber, domates, fasulye, hıyar, kavun ve marul tohum örneklerinde tohum kaynaklı virüsleri saptamak için DAS-ELISA yöntemi kullanmışlardır ve bunun sonucunda da biber tohumlarının %84.09' ının, hıyar tohum örneklerinin %29.72' sinin, kavun tohum

örneklerinin % 31.25' nin ve kabak tohum örneklerinde ise % 20' sinin CMV ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir.

Köklü (2001), Tekirdağ bağlarında CMV' nün yaygınlığını ve arazideki dağılımı ortaya çıkarmak amacıyla yapmış olduğu çalışmada ELISA yöntemi ile Yapıncak çeşidine ait toplam 592 bitki örneğinin 25'i (% 4.22) pozitif olarak tespit etmiştir.

Bostan ve ark. (2002), Erzurum ve Artvin illerindeki domates ve hıyar yetiştirilen seralarda yapmış oldukları surveyler sonucu CMV' yi sadece Ilıca (Erzurum)' dan toplanan hıyar örneklerinde % 4.3 oranında saptadıklarını belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılacak bulaşık bitkiler Ankara ilinde en fazla kabakgil üretimi yapılan Ayaş, Beypazarı, Çubuk, Haymana, Kalecik, Kazan, Nallıhan, Polatlı, Sincan ve Şereflikoçhisar ilçelerinden temin edilmiştir. Kabakgil bitkilerinin sistemik mozaik belirtisi gösteren bitkilerin genç yapraklarından örnekler alınmıştır.

2002 yılı Temmuz- Ağustos ve Eylül (Eylül ayının ilk iki haftası) aylarında bu bölgelerdeki kabakgil tarlaları gezilerek virüs semptomu gösteren bütün bitkilerden (daha çok genç yapraklardan) materyaller toplanmıştır. Araziden laboratuara getirilen örnekler işleme tabi tutuluncaya kadar -20°C' de muhafaza edilmiştir.

Pozitif kontrol olarak da 1999 senesinde Ankara' nın Çubuk ilçesinden temin edilen ve CMV ile enfekteli olduğu daha önceden Agar-jel Çift diffüzyon testi ile tespit edilen hıyar bitkisi kullanılmıştır.

Mekanik inokulasyonda kullanılacak sağlıklı bitkiler ise Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü serasında steril toprak karışımı (toprak, kum, gübre, torf) (1:1:1:1), steril saksılar ve temiz tohum kullanılmak suretiyle elde edilmiştir. Toprak ve saksıların sterilizasyonu sterilizatör (Medexport)' de yapılmıştır.

DAS-ELISA yöntemi aşamalarında; ELISA okuyucusu, hassas terazi, etiv, pH metre, santrifüj, manyetik karıştırıcılar, derin dondurucu, buzdolabı, mikropipetler, havan-havaneli, otoklav gibi aletlerin yanı sıra ELISA tabakaları, ELISA okuyucusu (Bio-Tek Instruments) ve Agdia firmasından temin edilen poliklonal antiserum kullanılmıştır.

3.2. Metod

Bir bitki hastalığının teşhisinde ilk aşama arazi gözlemleridir. Bir hastalığı kendi ekolojik koşullarında ve konukçu üzerinde tabii haliyle görmek başlangıç, ileri ve son dönemlerini gözden geçirmek ve sağlıklı bitki ile mukayese etmek ancak tarla

koşullarında mümkün olur. Bu sayede hastalığın çıkışı ve buna etkili olan faktörler yerinde incelenmiş olur

Araştırma 2002 Temmuz-Ağustos ve Eylül (ilk 2 haftası) aylarında Ankara ilinin 10 ilçesinde virus belirtileri gösteren arazilerden tarla gözlemleri ve survey yapılmak suretiyle başlanmış, tarlalar köşegenleri boyunca incelenmiş, daha sonra laboratuvar ve sera çalışmaları ile devam etmiştir.

3.2.1. İndikatör bitkilere Mekanik İnokulasyon

Mekanik inokulasyonda Brunt *et al.* (1996) ve Korbin ve Kamińska (1998)' de belirttikleri üzere ve çizelge 3.1.' de belirtilen indikatör bitkiler kullanıldı.

Çizelge 3.1 Mekanik inokulasyonda kullanılacak indikatör bitkiler

Konukçu İndikatör Bitkiler

Hıyar (<i>Cucumis sativus</i> L.)
Balkabağı (<i>Cucurbita moschata</i>)
Kabak (<i>Cucurbita pepo</i> L.)
Kavun (<i>Cucumis melo</i> L. "Hasanbey".)
Karpuz (<i>Citrullus lanatus</i> "Crimson sweet")
Tütün (<i>Nicotiana tabacum</i> var. Samsun)
Yabani tütün (<i>N. glutinosa</i> L.)
Domates (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)
Biber (<i>Capsicum annum</i> L.)
Börtlüce (<i>Vigna sinensis</i> L. "Black eye")
Ak kazayağı (<i>Chenopodium quinoa</i>)
Kırmızı kazayağı (<i>C. amaranticolor</i> Coste & Reyn)

Mekanik inokulasyonda, hıyar (*Cucumis sativus* L.), balkabağı (*Cucurbita moschata*), kabak (*Cucurbita pepo* L.), kavun (*Cucumis melo* L.), karpuz (*Citrullus lanatus* "Crimson sweet")'un kotiledon yapraklarına, tütün (*Nicotiana tabacum* var.Samsun), Yabani tütün (*N. glutinosa* L.), börtlüce (*Vigna sinensis* "Black Eye"),

kazayağı (*Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn, *C. quinoa*), domates (*Lycopersicon esculentum* L.) ve biber (*Capsicum annuum* L.)'in gerçek yapraklarına olacak şekilde virüs inoküle edilmiştir.

Daha önceden DAS-ELİSA ve Ouchterlony agar-jel testi ile CMV pozitif olarak tespit edilen CMV ile enfekteli bitkilerin genç yapraklarından alınan örnekler mekanik inokulasyonda kullanılmak üzere laboratuara getirilmiştir. Bu yaprak örneklerine 0.1 M (pH 7.0) fosfat buffer tampon çözeltisi ilave edilerek (1:1 mg/ml) bir havan ve havan eli yardımı ile ezilmiştir. Ezilen materyal tülbenkten geçirilerek selit ile yaralar açılan indikatör bitki yapraklarına cam spatül ile uygulanmıştır. 1-2 dakika sonra yapraklar çeşme suyunda yıkanarak mekanik aşılama nedeniyle oluşacak kirlenmeler önlenmiş ve selite tozu temizlenerek semptomların daha iyi görülmesi sağlanmıştır. Test bitkilerinin saksıları etiketlendikten sonra sera koşullarında 25(± 5)°C bırakılarak günlük gözlemleri kaydedilmiştir.

3.2.2.Serolojik testler

Tarlalardan alınan virus semptomu gösteren bitki örnekleri DAS-ELİSA (Double Antibody Sandwich-ELISA) ve Ouchterlony agar-jel testine tabii tutulmuş ve CMV' ü dışındaki diğer patojenler tespit edilerek araştırma dışında tutulmuştur.

3.2.2.1.Ouchterlony Agar-Jel testi

Ouchterlony agar-jel testi, antijen ve antibody' nin bir jel içerisinde birbirlerine karşı verdikleri reaksiyona dayanan bir testtir. Bu testte katı ortam olarak %0.9 NaCl, %0.8 agar, 1:5000 sodyum azid içeren 0.05 M fosfat buffer (pH 7.2) ile hazırlanan ortam kullanılmıştır (Noordam,1973). Hazırlanan agar-jel plastik petrilere ince bir tabaka halinde dökülüp soğuduktan sonra biri ortada altısı çevresinde olmak üzere özel yapılmış bir delici ile jelde delikler açılmış ve ortadaki deliğe CMV antiserumu , etrafındaki çukurlara da test edilecek bitkilerden steril saf su ile ezilerek hazırlanan bitki ekstraktları eşit miktarlarda konulmuştur. Petriler daha sonra laboratuvar koşullarında inkubasyona bırakılmış ve ertesi gün jel içinde gelişen hatlar incelenmiştir.

Agar-jel testinde tüm izolatlar Cucumber mosaic cucumovirus' une karşı test edilmiştir. 2002 Temmuz-Ağustos ve Eylül aylarında yapılan surveylerde toplanan toplam 230 örneğe agar-jel testi uygulanmıştır.

3.2.2.2. DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-ELISA) Yöntemi

DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-ELISA) yöntemi Clark ve Adams (1977)'ın verdiği yönteme ve Agdia firmasından temin edilen antiserum kitinin içerisinde yer alan prosedüre göre CMV varlığını araştırmak üzere uygulandı. Tampon solüsyonları Agdia firmasından temini edilmiş olan "CMV", "CMV-Subgroup I" ve "CMV-Subgroup II" poliklonal antiserum kitlerinde belirtilmiş olduğu gibi hazırlanmıştır.

Antiserum yapılan 1:200, 1:400 ve 1:800 sulandırma seviyelerinde ön denemelere tabii tutularak ELISA tabakaları bu seviyelerde kaplanmış ve 1:800 konsantrasyonda da olumlu sonuç verdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle DAS-ELISA'da Antiserum ELISA tabakalarına 1:800 sulandırmada kaplanmıştır. Daha sonra standart DAS-ELISA yöntemi uygulandı.

DAS-ELISA Clark ve Adams (1977)' a göre uygulanmıştır. DAS-ELISA' da yapılan işlemler aşağıda sıralanmıştır. Kullanılan solüsyonlar Ek-1 de verilmiştir.

1. ELISA tabakaları (Grenier) 100'er µl 1:800 konsantrasyonda kaplama tampon solüsyonu ile sulandırılmış antiserumla kaplanılmıştır
2. ELISA tabakası, buharlaşmayı engellemek amacı ile alüminyum folyo ve streç film ile kaplanarak 4 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.
3. İnkübasyon sonunda ELISA tabakaları yıkama solüsyonu ile 3 kez 3' er dakika olmak üzere yıkanmış ve ters çevrilerek ELISA tabakaları kurutulmuştur.
4. Her çukura 1:10 oranında genel ekstraksiyon ortamında ezilen örneklerden 100'er µl damlatılmıştır. Negatif kontrol olarak daha önceden sağlıklı olarak tespit edilen hıyar yaprağı ve pozitif kontrol

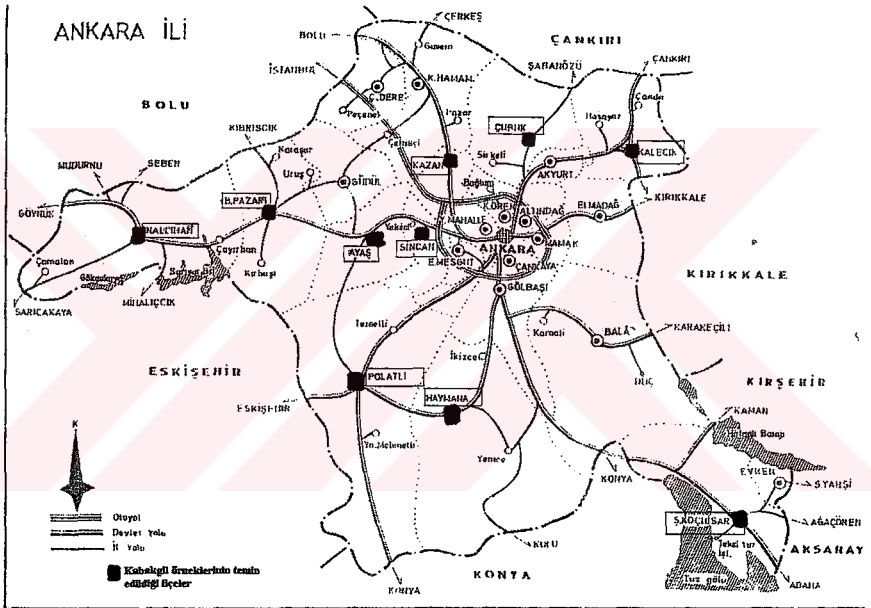
olarak da 1999 senesinde Ankara' nın Çubuk ilçesinden temin edilen ve CMV ile enfekteli olduğu daha önceden Agar-jel Çift diffüzyon testi ile tespit edilen Hıyar bitkisi kullanılmıştır.

5. ELISA tabakası, tekrar buharlaşmayı engellemek amacı ile alüminyum folyo ve streç film ile kaplanarak tüm gece 4°C' de inkübasyona bırakılmıştır.
6. İnkübasyon sonunda 3. basamak tekrarlanmıştır.
7. Her çukura 1: 800 oranında ECL buffer ile sulandırılmış 100'er µl konjugat eklenmiştir.
8. 2. basamaktaki inkübasyon işlemi tekrarlanmıştır.
9. 3. basamaktaki yıkama işlemi tekrarlanmıştır.
10. Çukurlara 100'er µl substrat tampon solüsyonu (1mg/1ml'e paranitrofenilfosfat içeren) damlatılmıştır.
11. ELISA tabakası oda sıcaklığında karanlık bir ortamda inkübasyona bırakılmıştır.
12. Ön deneyler sonucunda yeterli görülen 1 saat süre sonunda ELISA tabakası ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda okunmuştur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Survey Bulguları

Surveylere 2002 yılı Temmuz ayında başlanmış olup Ağustos ve Eylül ilk yarısı kadar devam edilmiştir. Surveye dahil edilen alanlar şekil 4.1' de, bu surveyde toplanılan izolatlardan ve bunlara ait bilgiler Çizelge 4.1' de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan Kabakgöl örneklerinin toplandığı alanlar

Çizelge 4.1. Bu çalışma için kullanılan örneklerin toplandığı tarih, konukçu dizileri ve ilçeler

Ankara İli / Sincan İlçesi: örnekler 06.09.2002 ve 13.09.2002 tarihlerinde alındı		
Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
S-1	Yenikent	Kavun
S-2	Yenikent	Kavun
S-3	Yenikent	Kavun
S-4	Yenikent	Kavun
S-5	Yenikent	Kavun
S-6	Yenikent	Kavun
S-7	Yenikent	Kavun
S-8	Yenikent	Kavun
S-9	Yenikent	Kavun
S-10	Yenikent	Kavun
S-11	Yenikent	Balkabağı
S-12	Yenikent	Balkabağı
S-13	Yenikent	Balkabağı
S-14	Yenikent	Karpuz
S-15	Akıncılar	Balkabağı
S-16	Akıncılar	Balkabağı
S-17	Akıncılar	Balkabağı
S-18	Akıncılar	Balkabağı
S-19	Akıncılar	Sakızkabağı
S-20	Akıncılar	Sakızkabağı
S-21	Akıncılar	Sakızkabağı
S-22	Akıncılar	Sakızkabağı
S-23	Akıncılar	Sakızkabağı
S-24	Akıncılar	Sakızkabağı
S-25	Akıncılar	Sakızkabağı
S-26	Akıncılar	Sakızkabağı
S-27	Çoğlu	Sakızkabağı

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
S-28	Çoğlu	Sakızkabağı
S-29	Çoğlu	Sakızkabağı
S-30	Çoğlu	Balkabağı
S-31	Çoğlu	Kavun
S-32	Çoğlu	Sakızkabağı
S-33	Oban köyü	Sakızkabağı
S-34	Oban köyü	Sakızkabağı
S-35	Oban köyü	Balkabağı
S-36	Oban köyü	Hıyar

Ankara İli / Şereflikoçhisar İlçesi: örnekler 07.08.2002 ve 13.08.2002 tarihlerinde alındı		
Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
Ş-1	Şereflikoçhisar	Sakızkabağı
Ş-2	Şereflikoçhisar	Kavun
Ş-3	Şereflikoçhisar	Balkabağı
Ş-4	Şereflikoçhisar	Kavun
Ş-5	Şereflikoçhisar	Kavun
Ş-6	Şereflikoçhisar	Kavun
Ş-7	Şereflikoçhisar	Karpuz
Ş-8	Şereflikoçhisar	Kavun
Ş-9	Şereflikoçhisar	Sakızkabağı
Ş-10	Şereflikoçhisar	Kavun
Ş-11	Kurutlu	Kavun
Ş-12	Şereflikoçhisar-girişi	Kavun
Ş-13	Şereflikoçhisar	Balkabağı
Ş-14	Şereflikoçhisar	Kavun

Ankara İli / Kalecik örnekler 12.09.2002 tarihinde alındı		
Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
KI-1	Akkuzulu köyü	Kavun
KI-2	Akkuzulu köyü	Kavun
KI-3	Akkuzulu köyü	Kavun
KI-4	Akkuzulu köyü	Kavun
KI-5	Akkuzulu köyü	Kavun
KI-6	Akkuzulu köyü	Kavun
KI-7	Akkuzulu köyü	Kavun
KI-8	Akkuzulu köyü	Balkabağı
KI-9	Akkuzulu köyü	Balkabağı
KI-10	Akkuzulu köyü	Balkabağı
KI-11	Akkuzulu köyü	Balkabağı
KI-12	Akkuzulu köyü	Balkabağı
KI-13	Akkuzulu köyü	Balkabağı
KI-14	Akkuzulu köyü	Balkabağı
KI-15	Alibeyli köyü	Karpuz
KI-16	Alibeyli köyü	Karpuz
KI-17	Alibeyli köyü	Karpuz
KI-18	Alibeyli köyü	Karpuz
KI-19	Alibeyli köyü	Kavun
KI-20	Alibeyli köyü	Kavun
KI-21	Alibeyli köyü	Kavun
KI-22	Alibeyli köyü	Kavun
KI-23	Alibeyli köyü	Kavun
KI-24	Alibeyli köyü	Kavun

Ankara İli / Çubuk İlçesi: örnekler 30.07.2002 ve 20.08.2002 tarihlerinde alındı

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
Ç-1	Kuruçay	Hıyar
Ç-2	Kuruçay	Hıyar
Ç-3	Kuruçay	Sakızkabağı
Ç-4	Kuruçay	Hıyar
Ç-5	Kuruçay	Sakızkabağı
Ç-6	Kuruçay	Hıyar
Ç-7	Aşağı Çavundur	Hıyar
Ç-8	Aşağı Çavundur	Hıyar
Ç-9	Aşağı Çavundur	Hıyar
Ç-10	Kışlacık köyü	Sakızkabağı
Ç-11	Taşpınar köyü	Balkabağı
Ç-12	Taşpınar köyü	Karpuz
Ç-13	Taşpınar köyü	Balkabağı
Ç-14	Taşpınar köyü	Hıyar
Ç-15	Taşpınar köyü	Balkabağı
Ç-16	Taşpınar köyü	Sakızkabağı
Ç-17	Taşpınar köyü	Kavun
Ç-18	Taşpınar köyü	Kavun
Ç-19	Akkuzulu köyü	Balkabağı
Ç-20	Ağıcık köyü	Balkabağı
Ç-21	Ağıcık köyü	Balkabağı
Ç-22	Ağıcık köyü	Kavun
Ç-23	Ağıcık köyü	Sakızkabağı
Ç-24	Ağıcık yolu üzeri	Balkabağı
Ç-25	Ağıcık yolu üzeri	Balkabağı
Ç-26	Ağıcık yolu üzeri	Balkabağı

Ankara İli / Ayaş İlçesi: örnekler 16.07.2002 ve 06.09.2002 tarihlerinde alındı

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
A-1	Akkaya köyü	Balkabağı
A-2	Akkaya köyü	Balkabağı
A-3	Akkaya köyü	Balkabağı
A-4	A. Ü. Çiftlik arazisi	Sakızkabağı
A-5	A. Ü. Çiftlik arazisi	Sakızkabağı
A-6	A. Ü. Çiftlik arazisi	Sakızkabağı
A-7	Merkez çıkışı	Balkabağı
A-8	Merkez çıkışı	Sakızkabağı
A-9	Merkez çıkışı	Balkabağı
A-10	Akkaya köyü	Hıyar
A-11	Ayaş çıkışı	Sakızkabağı
A-12	Ayaş çıkışı	Sakızkabağı
A-13	Sinanlı köyü	Hıyar
A-14	Sinanlı köyü	Sakızkabağı
A-15	Sinanlı köyü	Balkabağı
A-16	Sinanlı köyü	Balkabağı
A-17	Sinanlı köyü	Balkabağı
A-18	Sinanlı köyü	Balkabağı
A-19	Sinanlı köyü	Balkabağı
A-20	Başberek köyü	Sakızkabağı

Ankara İli /* Haymana İlçesi: örnekler 17.07.2002 tarihlerinde alındı

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
Hh-1	A. Ü. Çiftlik arazisi	Hıyar
Hh-2	A. Ü. Çiftlik arazisi	Hıyar

*2002 senesinde Haymana da yapılan surveyler sonucu elimizdeki verilere göre kabakgil ekimi yapılmamıştır. Bu nedenle temin edilen örnek sayısı azdır.

Ankara İli / Kazan İlçesi: örnekler 16.07.2002 , 14.08.2002 ve 02.09.2002 tarihlerinde alındı

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
K-1	Alpagut köyü	Balkabağı
K-2	Alpagut köyü	Sakızkabağı
K-3	Alpagut köyü	Sakızkabağı
K-4	Alpagut köyü	Sakızkabağı
K-5	Kazan	Kavun
K-6	Yılba köyü	Balkabağı
K-7	Yılba köyü	Balkabağı
K-8	Yılba köyü	Balkabağı
K-9	Yılba köyü	Balkabağı
K-10	İmrenli köyü	Balkabağı
K-11	İmrenli köyü	Kavun
K-12	İmrenli köyü	Hıyar
K-13	İçören köyü	Balkabağı
K-14	İçören köyü	Hıyar
K-15	Günbaşı köyü	Balkabağı
K-16	Günbaşı köyü	Balkabağı
K-17	Günbaşı köyü	Balkabağı
K-18	Günbaşı köyü	Balkabağı
K-19	Günbaşı köyü	Balkabağı
K-20	Günbaşı köyü	Balkabağı
K-21	Bitik köyü	Balkabağı
K-22	Bitik köyü	Kavun
K-23	Bitik köyü	Kavun
K-24	Bitik köyü	Kavun
K-25	Bitik köyü	Kavun
K-26	Bitik köyü	Kavun
K-27	Bitik köyü	Kavun

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
K-28	Bitik köyü	Kavun
K-29	Bitik köyü	Kavun
K-30	Bitik köyü	Kavun
K-31	Bitik köyü	Kavun
K-32	Bitik köyü	Kavun
K-33	Bitik köyü	Kavun

Ankara İli / Beypazarı İlçesi: örnekler 26.07.2002 tarihinde alındı

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
B-1	Uşakgöl	Hıyar
B-2	Uşakgöl	Sakızkabağı
B-3	İnözü vadisi	Balkabağı
B-4	Çandırılı köyü	Sakızkabağı
B-5	Çandırılı köyü	Sakızkabağı
B-6	Çandırılı köyü	Sakızkabağı
B-7	Çandırılı köyü	Sakızkabağı
B-8	Çandırılı köyü	Hıyar
B-9	Çandırılı köyü	Balkabağı
B-10	Çandırılı köyü	Sakızkabağı
B-11	Çandırılı köyü	Hıyar

Ankara İli / Polatlı İlçesi: örnekler 29.08.2002 ve 01.09.2002 tarihlerinde alındı

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
P-1	Sarıoba köyü	Kavun
P-2	Sarıoba köyü	Karpuz
P-3	Sarıoba köyü	Karpuz
P-4	Sarıoba köyü	Karpuz
P-5	Sarıoba köyü	Karpuz
P-6	Sarıoba köyü	Karpuz

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
P-7	Sarıoba köyü	Karpuz
P-8	Sarıoba köyü	Karpuz
P-9	Sarıoba köyü	Karpuz
P-10	Sarıoba köyü	Karpuz
P-11	Sarıoba köyü	Karpuz
P-12	Sarıoba köyü	Sakızkabağı
P-13	Sarıoba köyü	Sakızkabağı
P-14	Ayvalı köyü	Kavun
P-15	Sarıoba köyü	Sakızkabağı
P-16	Sarıoba köyü	Kavun
P-17	Sarıoba köyü	Karpuz
P-18	Sarıoba köyü	Karpuz
P-19	Kabak köyü	Kavun
P-20	Kabak köyü	Kavun
P-21	Kabak köyü	Kavun
P-22	Kabak köyü	Sakızkabağı
P-23	Kabak köyü	Sakızkabağı
P-24	Kabak köyü	Sakızkabağı
P-25	Kabak köyü	Kavun
P-26	Kocahacılı köyü	Kavun
P-27	Ayvalı köyü	Kavun
P-28	Yaralı köyü	Kavun
P-29	Yaralı köyü	Kavun

Ankara İli / Nallıhan İlçesi: örnekler 24.07.2002 ve 22.08.2002 tarihlerinde alındı		
Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
N-1	Davutoğlu-Akçabayı	Sakızkabağı
N-2	Davutoğlu-Akçabayı	Kavun
N-3	Davutoğlu-Akçabayı	Karpuz
N-4	Davutoğlu-Akçabayı	Kabak
N-5	Davutoğlu-Akçabayı	Kabak
N-6	Davutoğlu-Akçabayı	Kabak
N-7	Davutoğlu-Akçabayı	Hıyar
N-8	Davutoğlu-Akçabayı	Kavun
N-9	Davutoğlu-Akçabayı	Kavun
N-10	Davutoğlu	Sakızkabağı
N-11	Davutoğlu	Balkabağı
N-12	Davutoğlu	Kavun
N-13	Davutoğlu	Karpuz
N-14	Sekli köyü	Hıyar
N-15	Sekli köyü	Hıyar
N-16	Sekli köyü	Hıyar
N-17	Uluköy	Hıyar
N-18	Gökçeözü köyü	Karpuz
N-19	Gökçeözü köyü	Kavun
N-20	Gökçeözü köyü	Kavun
N-21	Gökçeözü köyü	Kavun
N-22	Gökçeözü köyü	Kavun
N-23	Gökçeözü köyü	Karpuz

2002 yılı Temmuz- Ağustos- Eylül (ilk yarısı) aylarında survey yapılan Ankara iline bağlı en fazla kabakgil (kavun, karpuz, hıyar, balkabağı, sakızkabağı) ekimi yapıldığı belirlenen ilçelerden toplam 217 bitki örneği alınmıştır (Çizelge 4.2). Belirlenen ilçelerin dışında da kabakgil yetiştirilen bazı bölgelerden de toplam 13 örnekler alınmıştır. Buralar, Keçiören, Bağlum, A. Ü. Bahçe Bitkileri Bölüm Bahçesi. Toplam 230 örnekle çalışılmıştır.

Çizelge 4.2. Çalışılan bitki materyallerinin çeşit bazında ilçelere göre dağılımı ve toplam miktarı

	Haymana	Kalecik	Sincan	Polatlı	Nallıhan	Ayaş	Kazan	Şereflikoçhisar	Çubuk	Beypazarı	Diğer bölgeler	TOPLAM
Kavun	-	13	11	11	8	1	14	9	3	-	2	72
Karpuz	-	4	1	12	4	-	-	1	2	-	-	24
Sakızkabağı	-	-	14	6	2	12	5	2	4	5	2	52
Balkabağı	-	7	9	-	4	5	12	2	9	2	-	50
Hıyar	2	-	1	-	5	2	2	-	8	3	9	32
TOPLAM	2	24	36	29	23	20	33	14	26	10	13	230

4.2 İndikatör Bitkilerde Mekanik İnokulasyon Sonucu Oluşan Belirtiler

2 Haziran 2003 tarihinde yapılan ilk mekanik inokulasyondan sonra, serada tutulan bitkilerde oluşan belirtilerin, sıcaklığın çok yüksek olması ve elverişsiz sera koşulları nedeniyle maskelendiği gözlenmiştir. Nitekim Nitzany and Marrou (1970), CMV' nün Cucurbitaceae ve Solanaceae bitkilerinde zararlı olduğunu, bu virüsün oluşturduğu belirtilerin sıcak yaz aylarında maskelendiğini ve bu etmenin bitkilerin erken gelişme dönemlerinde daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Serada yapılan ikinci mekanik inokulasyon sonucunda, CMV ile enfekteli bitkilerde genel olarak gelişme geriliği, sistemik lekeler, yapraklarda mozaikleşme, şekil bozukluğu ve damar bantlaşması gözlenmiştir. Nitekim Agrios *et al.* (1985), CMV' nin yapraklarda küçük sarımsı yeşil beneklere ve gelişme geriliğine sebep olduğunu; Nitzany (1975) ise, CMV' nin bitkilerde bodurluk, şekil bozukluğu, lokal ve sistemik lezyonlar oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Bazı izolatlardan tütün (*Nicotiana tabacum* var. Samsun)' de sistemik mozaik (şekil 4.2.), Kırmızı kazayağı (*Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn) bitkisinde klorotik lokal lekeler meydana getirmiştir (şekil 4.3.), Ak kazayağı (*Chenopodium quino*)' da klorotik

lokal lekeler (şekil 4.4.), börölçe (*Vigna sinensis*)' de (şekil 4.5.) nekrotik lokal lezyonlar ve daha sonra sistemğe dönüşen belirtiler meydana getirmiştir. Biber (*Capsicum annuum* L.)' de sistemik mozaik, yaprak deformasyonu, damar bantlaşması (şekil 4.6.), Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.)' de yaprak ayasında daralma, cılız bir gelişim (şekil.4.7.), CMV' ünün Kavun (*Cucumis melo*)' da sistemik mozaik şeklinde belirtiler meydana getirmiştir (şekil 4.8.) Seradaki indikatör kabakgil bitkilerinde sera sıcaklığın ve kırmızı örümcek popülasyonunun çok yüksek olması nedeniyle belirtiler maskelendiğı için tespit edilememiştir .Fakat bu bitkilerden alınan örneklerle yapılan ELISA testi pozitif sonuç vermiştir. Yani bu kabakgil bitkilerine mekanik inokulasyon başarı ile yapılmıştır.

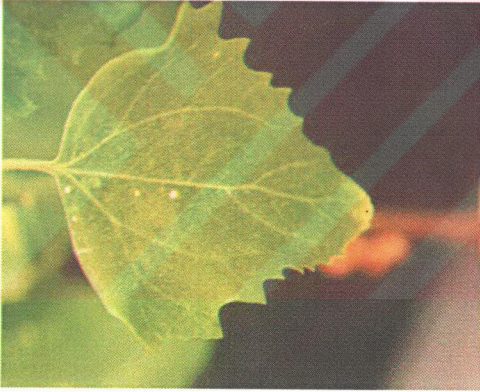
Çizelge 4.3. Mekanik inokulasyon denemeleri sonucunda Hıyar Mozaik Virüsü (*Cucurbita mosaic virus*)’nün indikatör test bitkileri üzerinde oluşturdıkları semptomlar

Bitki Çeşiti	CMV
Hıyar (<i>Cucumis sativus</i> L.)	-
Balkabağı (<i>Cucurbita moschata</i>)	-
Kabak (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	-
Kavun (<i>Cucumis melo</i> L. “Hasanbey”)	Sis. Mo İnokulasyondan.13 gün sonra
Karpuz (<i>Citrullus lanatus</i> “Crimson sweet”)	-
Tütün (<i>Nicotiana tabacum</i> var. Samsun)	Sis. Mo İnokulasyondan 17 gün sonra
Yabani tütün (<i>N. glutinosa</i> L.)	-
Domates (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	Yap.Aya.Dar. ve CG İnokulasyondan.11 gün sonra
Biber (<i>Capsicum annuum</i> L.)	Sis. Mo ve Yap.Def. İnokulasyondan 20 gün sonra
Börülce (<i>Vigna sinensis</i> “Black Eye”)	NLL ve Sis. Mo İnokulasyondan 5 gün sonra
Kırmızı kazayağı (<i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste & Reyn)	KLL İnokulasyondan 7 gün sonra
Ak kazayağı (<i>Chenopodium quinoa</i>)	KLL İnokulasyondan 8 gün sonra

KLL: Klorotik lokal leke, NLL: Nekrotik lokal leke, Sis. Mo: Sistemik mozaik, Yap.Aya.Dar.: Yaprak ayasında daralma, CG: Cılız gelişim, Yap.Def.: Yaprak deformasyonu



Şekil 4.2. CMV'nün *Nicotiana tabacum* var. Samsun tütününde oluşturduğu sistemik mozaik enfeksiyonu



Şekil 4.3. CMV'nün Kırmızı kazayağı (*Chenopodium amaranticolor*) bitkisinde oluşturduğu klorotik alanlar



Şekil 4.4. CMV'nün Ak kazayağı (*Chenopodium quinoa*) bitkisinde oluşturduğu Klorotik lokal lekeler



Şekil 4.5. CMV' ü börülce (*Vigna sinensis*-Black Eye) ' de **a.** Primer yaprakda nekrotik lokal lezyonlar **b.** Üçlü bileşik yaprakda daha sonra sistemik mozaik dönüşen belirtiler meydana getirmiştir



a.

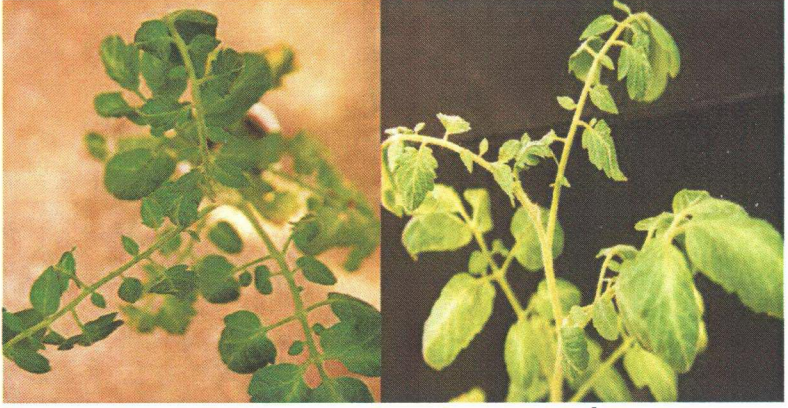


b.

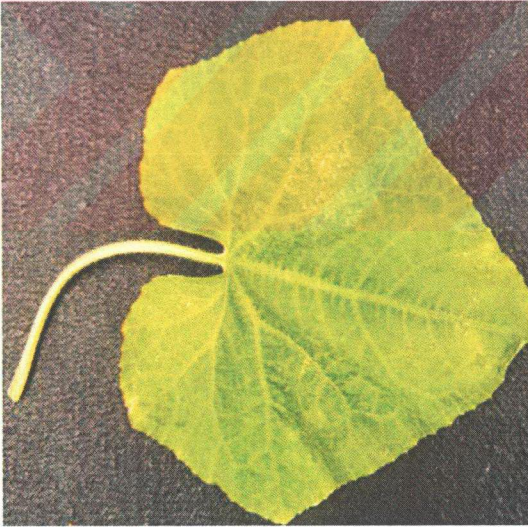


c.

Şekil 4.6. CMV'nün biber (*Capsicum annuum*) bitkisinde oluşturduğu
a.yaprak deformasyonu b.sistemik mozaik c.damar bantlaşması



a. **b.**
Şekil 4.7. CMV' ü domates (*Lycopersicon esculentum*)' de yaprak ayasında daralma, bodurluk **a.** Üstten görünüm **b.** Yandan görünüm



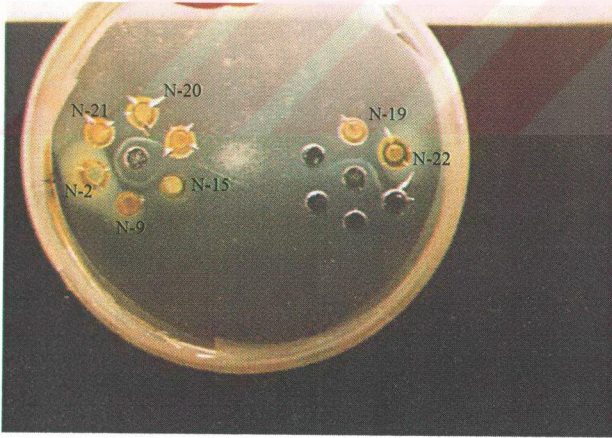
Şekil 4.8. CMV' ünün Kavun (*Cucumis melo*)' da oluşturduğu sistemik mozaik

4. 3. Ouchterlony Agar-Jel Testi Sonuçları

2002 yılında yapılan surveyde alınan 230 örneğe agar-jel testi yapılmış ve bunlardan Çizelge 4.4.' de gösterilen Nallıhan' dan temin edilen 7 izolatta (6 tanesi kavun, 1 tanesi hıyar) CMV tespit edilmiştir. Şekil 4.9.'de de Agar-jel ortamında bu izolatların oluşturduğu bantlar gösterilmektedir.

Çizelge 4.4. Agar-jel testinde CMV antiserumuna karşı pozitif reaksiyon veren izolatlar

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu
N-2	Davutoğlu-Akçabayı	Kavun
N-9	Davutoğlu-Akçabayı	Kavun
N-15	Sekli köyü	Hıyar
N-19	Gökçeözü köyü	Kavun
N-20	Gökçeözü köyü	Kavun
N-21	Gökçeözü köyü	Kavun
N-22	Gökçeözü köyü	Kavun



Şekil 4.9. Agar-jel ortamında CMV antiserumuna karşı pozitif reaksiyon veren izolatların oluşturduğu bantlar

4.4 DAS-ELISA Sonuçları

DAS-ELISA için Agdia firmasından temin edilen 'CMV', 'CMV-Subgroup I' ve 'CMV-Subgroup II' poliklonal antiserum kitlerinin kullanımı ile bitki örnekleri 1:10 oranında örnek ekstraksiyon ortamı ile ezilmiştir. Örneklerin hazırlanmasında simptom görülebilen bölgelerden doku parçaları alınmıştır. Negatif kontrol olarak daha önceden sağlıklı olarak tespit edilen hıyar yaprağı kullanılmış ve ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda okutulan ELISA tabakalarındaki örneklerin buffer kontrollerine göre gerçek absorbans değerleri belirlenmiş ve negatif kontrolün absorbans değerinin 2 katı veya daha yüksek bulunan değerleri pozitif olarak kabul edilmiştir.

Bu şekilde DAS-ELISA yöntemi ile Ankara'nın 10 ilçesinden temin edilen toplam 217 örneğin 7 adedi CMV-Subgroup-I olarak serolojik olarak tespit edilmiştir. Pozitif olarak tespit edilen örnekler konukçu bazında Çizelge 4.4.1' de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Araziden toplanan kabakgıl bitkilerine uygulanan DAS-ELISA testi sonucuna göre CMV alt grup-I pozitif çıkan örneklerin A_{405 nm} değerleri.

Örnek no	Alındığı bölge	Konukçu	DAS-ELISA
N-2	Davutoğlu-Akçabayı	Kavun	0,412
N-9	Davutoğlu-Akçabayı	Kavun	0,844
N-15	Sekli köyü	Hıyar	0,349
N-19	Gökçeözü köyü	Kavun	0,808
N-20	Gökçeözü köyü	Kavun	0,418
N-21	Gökçeözü köyü	Kavun	0,386
N-22	Gökçeözü köyü	Kavun	0,567

405 nm'de negatif absorbans değeri : 0,127, pozitif absorbans değeri : 0,205

5. TARTIŞMA ve ÖNERİLER

Bu araştırma kabakgillerin en önemli hastalığı olan CMV' nün Ankara ili ve çevresinde kabakgil ekim alanlarında ki mevcudiyetinin ve serotiplerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmaları içermektedir. Bitkilerde mozaik enfeksiyonlarına neden olan viral etmenlerin bitkilerde oluşturdukları semptomlara dayanarak teşhis edilmeleri, bütün enfeksiyonlarda birbirine oldukça çok benzeyen semptomların görülmesi ve aynı bitkide birden çok virüs enfeksiyon oluşturabilmesi nedeniyle mümkün değildir. Nitekim Lovisolo (1980) Cucurbitaceae familyasındaki kültür bitkilerinde enfeksiyon oluşturan 30 adet virüs bulunduğunu, özellikle mozaik tipi enfeksiyonlar birbirine oldukça benzer belirti oluşturduğunu ve dolayısıyla belirtilere bakılarak etmenlerin teşhislerinin mümkün olmadığını bildirmiştir.

Hıyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic cucumovirus*=CMV) kabakgil bitkilerinde üretimi etkileyen virüs enfeksiyonlarının başında gelmektedir. Etmen oldukça geniş bir konukçu dizisine sahip olup tropikal ve ılıman iklim kuşağında yaygın olarak bulunmaktadır.

Serolojik testler ve mekanik inokulasyon sonucunda merkeze bağlı köylerden alınan 230 örnekten 7' sinde CMV' ü tespit edilmiştir. Nitekim Ertunç ve Erdiller (1988)'nde kavun ekim alanlarından toplanan virüsle bulaşık kavun yaprak örneklerinden CMV' nün iki ırkını (*Cucumber mosaic virus*- CMV ırk no.5 ve ırk no.6) tespit etmişlerdir.

Surveyler sırasında Ankara' nın Nallıhan ilçesinden örneklerin temine edildiği bir kaç tarlada yoğun bir afit popülasyonu gözlenmiş ve bu yoğun afit popülasyonunun bulunduğu tarlalardan temin edilen örneklerde Hıyar mozaik virüs' ü tespit edilmiştir. Nitekim Brunt *et al.* (1996) ile Kaygısız (1995)' ın Hıyar mozaik virüs' ünün Aphid' ler tarafından nakledildiği belirtmişlerdir.

Serolojik olarak uygulanan testlerden biri olan Ouchterlony agar-jel testi ile toplanan sistemik mozaik şeklinde belirti gösteren 230 izolat da CMV' ye karşı uygulanmıştır. Bunun sonucunda 7 izolat da CMV' ü Ouchterlony agar-jel testi ile belirlenmiştir. Geri kalan izolatların hiçbirisi herhangi bir reaksiyon vermemiştir.

Ouchterlony agar-jel testine tabii tutulan tüm izolatlar alt grup ayrımı yapılmak üzere DAS-ELISA testine de tabii tutulmuşlardır. Ouchterlony agar-jel testi ile CMV pozitif olarak tespit edilen 7 izolat yine DAS-ELISA' da pozitif sonuç vermiş ve altgrup I olarak tespit edilmiştir. Nitekim Palukaitis *et al.* (1992)' de CMV' ü strainlerini biyolojik özellikleri, serolojik özellikleri ve nükleotid baz dizisi homolojilerine göre alt grup I (S-I/ DTL) ve alt grup II (S-II/ToRS) olmak üzere iki alt gruba ayırmıştır.

Daha sonra 2 Haziran 2003 tarihin de yapılan ilk sera denemesinde mekanik aşılama sona bitkilerde oluşan belirtilerin sıcaklığın çok yüksek olması nedeniyle maskelendiği gözlenmiştir. Nitekim Nitzany and Marrou (1970), CMV' nün Cucurbitaceae ve Solanaceae bitkilerinde zararlı olduğunu, bu virüsün oluşturduğu belirtilerin sıcak yaz aylarında maskelendiğini ve bu etmenin bitkilerin erken gelişme dönemlerinde daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Sera denemesinde yapılan 2. mekanik inokulasyon sonucunda CMV ile enfekteli bitkilerde genel olarak gelişme geriliği, sistemik lekeler, yapraklarda mozaikleşme, şekil bozukluğu ve damar bantlaşması gözlenmiştir. Nitekim Agrios *et al.* (1985), CMV' nin yapraklarda küçük sarımsı yeşil benekler, gelişme geriliğine sebep olduğunu; Nitzany (1975), CMV' nin bitkilerde bodurluk, şekil bozukluğu, lokal ve sistemik lezyonlar oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Bazı izolatlar Kırmızı kazayağı (*Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn) bitkisinde klorotik lokal lekeler meydana getirmiştir. Bu da Brunt *et al.* (1996) ile paralellik göstermektedir (şekil 4.3.). Yine Brunt *et al.* (1996)' ya benzer şekilde , tütün (*Nicotiana tabacum* var. Samsun)' de sistemik mozaik (şekil 4.2.),Ak kazayağı (*Chenopodium quino*)' da klorotik lokal lekeler (şekil 4.4.), domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.)' de yaprak ayasında daralma, cılız bir gelişim (şekil.4.2.6.), biber (*Capsicum annuum* L.)' de sistemik mozaik, yaprak deformasyonu, damar bantlaşması (şekil 4.6.), börülce (*Vigna sinensis*)' de (şekil 4.5.) nekrotik lokal lezyonlar ve daha sonra sistemiğe dönüşen belirtiler meydana getirmiştir.

Survey sırasında toplanılan örneklerden karpuz örneklerinin az olmasının nedeni karpuz bitkilerinde virüs enfeksiyonuna benzer belirti bulunmadığından ve toplanılan karpuz bitkilerinde ise herhangi bir enfeksiyon tespit edilememiştir. Nitekim Momol (1990), CMV' ne tüm kabakgıl bitkilerinin hassas olduğunu ve bununla beraber hastalığın karpuzu nadiren etkilediğini bildirmiştir.

Sonuç olarak Ankara ili ve çevresindeki ilçelerde yetiştirilen kabakgıl bitkilerinden toplanılan sistemik mozaik şeklinde belirti gösteren 230 örnek den mekanik inokulasyon ve serolojik testler sonucunda 7 örnekte CMV' ün tespit edilmesi diğer izolatların Cucurbitaceae familyası bitkilerinde sistemik mozaik şeklinde enfeksiyon meydana getiren diğer viral etmenlerle (diğerleride ZYMV, WMV1, WMV2, SqMV) enfekteli olduğu, paraziter olmayan etmenlerden etkilendiği ve CMV' nün survey bölgesinde yaygın olmadığı tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile Ankara ve ilçelerinden temin edilen pozitif izolatlar üzerinde yapılması planlanan moleküler çalışmaların başlangıç aşaması da gerçekleştirilmiş olmaktadır.

CMV' ü bitkiye bir kez bulaşıktan sonra, hayatı boyunca bulaşık kalacağından, etkili bir çare yoktur. Bulaşmanın hemen başında, özellikle kapalı şartlarda, bulaşık tüm bitkilerin sökülüp imha edilesi önerilir. Arazların ortaya çıkışı bulaşmadan 1-2 hafta sonra olduğundan, bu süre içinde bulaşık bitkilerin afit için virüs kaynağı olacağına dikkat edilmelidir. Bu sebeple, ilk araz görülmeden önce bile bir epidemi gelmekte olabilir.

Eğer bitkiler afit ile yoğun şekilde bulaşık ise, popülasyonu düşürmede insektisit kullanımı faydalı olabilir. Fakat bu ilaçlamalar, dışarıdan gelen vektörün virüsü çok kısa sürede nakletmesi nedeni ile, virüsün yayılmasında çok etkili değildir.

Bu nedenle, Hıyar mozaik virüsü ile mücadelede öncelikle bu virüse dayanıklı veya toleranslı çeşitleri tercih etmektir. Şuanda bazı hıyar ve kabak çeşitleri mevcut olup bunlar ve diğerleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Bulaşmanın sınırlanması veya

geciktirilmesi için alınabilecek çeşitli kültürel tedbirler mevcuttur. Bunlar tek başına veya mukavim çeşit kullanımı ile kombine edilerek kullanıldıklarında faydalıdır.

Fideler ve genç bitkiler sıkı dokunmuş file veya plastik örtüler, örneğin Agryl P17, ile korunmalıdır. Yetiştirme alanının etrafındaki yabancı otları temizleyerek, virüse ve / veya vektörlere kaynaklık yapma şansı ortadan kaldırılmalıdır.

Özellikle tarla şartlarında toprak sathı plastik örtü ile malçlanmalıdır. Bu tedbir afitlerin alana girmesini sınırlar. Ayrıca erken mevsim de ekim yapılmış alanlara yakın yerlerde geç mevsim ekimi yapılmamalıdır (Kaygısız, 1995).

KAYNAKLAR

- Agrios, G. N., Walker, M. E., and Ferro, D. N., 1985. Effects of CMV İnoculation at succetive Weekly Intervals on Growt and Yield of Pepper (*Capsicum annum*) Plants. *Plant Disease* 69: 52-62
- Anonymous, 1999. Devlet İstatistikleri Enstitüsü, Ankara
- Anonymous, 2000. Devlet İstatistikleri Enstitüsü, Ankara
- Anonymous, 2002. Devlet İstatistikleri Enstitüsü, Ankara
- Bhargava, K.S. 1951. Some Properties of Four Strains of CMV. *Ann. Appl. Biol.* 38: 377-378.
- Bailiss, K. W. 1970. Infection of Cucumber Cotyledons by CMV and The Participation of Chloropyllase in The Development of Chlorotic Lesions. *Ann. Bot.* 34(136): 647-655. (Rev. Pl. Path. 49 No: 3541).
- Boatman, S., Kaper, J. M. and Tolın, S. A. 1973. A Comparison of Properties of Peanut Stunt Virus and CMV. *Phytopath.* 63, 801 (Abstract).
- Bostan, H., Demirci, E., ve Şahin, F., 2002. Determination of Virus Diseases on Tomato and Cucumber Grown in Greenhouses in Erzurum and Artvin Provinces by ELISA. *J. Turk. Phytopath.*, Vol. 31, No. 1, 23-29
- Brunt, H.A.; Crabtree, K.; Dallawitz, M.J.; Gibbs, A.J. and Watson, L. 1996. Cucumber Mosaic Cucumovirus. *Viruses of Plants*, 477-483.
- Clark, M. F., and Adams, A. N. 1977. Characteristics of Microplate Method Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to Detection of Plant Viruses. *J. Gen. Viral* 34, 475-483
- Cohen, S. and Nitzany, F. E. 1963. Identity of Viruses Affecting Cucurbit in Israel. *Phytopath.* 53(2): 193-196.
- Çıtır, A., Kutluk, N. D., Sağlam, N., ve İbلاغı, H., 1998. Amasya, Çorum, Samsun ve Tokat İllerinde Hıyar ve Kabak Kùltürlerinde Görùlen Virùs Hastalıklarının Simptomatolojik ve Biyolojik Yöntemlerle Tanıları. Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi. Ankara, 331-335
- Çiçek ,Y. Ve Yorgancı, Ü. (1989), Detection of Seed-borne Viruses on Certified Seeds of Lettuce, *J. Turk. Phytopath.*, Vol. 18, No. 3, 79-85
- El-Sayed, A. S. and Silly Jr., W. H. 1968. Distribution of Cucurbit Viruses in Kansas. *Plant Dis. Repr.* 52(1): 11-14
- Erdiler, G., and Ertunç, F. 1988. Identification of Muskmelon Viruses in Ankara Province. *J. Turk. Phytopathologh*, Vol. 17, No.2, 47-56
- Ertunç, F. 1989. Detection of *Cucumber Mosaic Virus* Strains by Latex Flocculation and Protein A-coated Latex-Linked Antisera Tests. *J. Turk. Phytopathologh*, Vol. 18, No.3, 87-92
- Ertunç, F. 1992. Hıyar Mozayık Virusu (Cucumber mosaic viru-CMV)'nın Bazı Kabakgıl Tohumlarında ELISA Yöntemleri ile Tespiti Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakùltesi Yayınları: 1251. 1-13
- Ertunç, F. And Sako, N. (1992) Production of antiserum against *cucumber mosaic virus*. *J. Turk. Phytopath.*, Vol. 21, No. 1, 7-13
- Fischer, H. U. and Lockhart, B. E. 1976. A Strain of CMV Isolated from Cowpeas in Morocco. *Phytopath. Z.* 85: 132-135.
- Foster, R. E. And Foster, M. O. 1965. Effects of Six Viruses on Root İnitiation in Muskmelon. *Ame. Soc. Of Agri. Sci.* 87: 330-334

- Francki, R. I. B., Randles, J. W. and Chambers T. C. 1966. Some Properties of Purified CMV Q Strain. *Virology* 28: 729-741.
- Francki, R.I.B.; Mossop, D.W.; Hatta, T. 1979. *Cucumber Mosaic Virus* CMI/AAB, Descriptions of Plant Viruses, No: 213-216.
- Frison, E. A., Hamilton, R. I., Mathur, S. B., and Taylor, J. D. 1990. FAO/ IBRGR Technical Guidelines for The Safe Movement of Legume Germplasm. 28-29
- Fulton, J. P. 1956. Studies on Strains of CV₁ from Spinach. *Phytopath.* 46: 729-736
- Gillaspie, A. G. Jr., Hajimorad, M. R., and Ghabrial, S. A. 1998. Characterization of a Severe Strain of Cucumber Mosaic Cucumovirus Seedborne in Cowpea. *Plant Disease* 82: 419-422.
- Grogan, R. G., Hall, D. H. and Kimble, K. A. 1959. Cucurbit Mosaic Viruses in California. *Phytopath.* 49: 366-375.
- Gümüş, M, Erkan, S., Yorgancı, Ü., ve Duman, İ., 2001. Bazı Sebzelerin Tohumlarında Bulunan Viral Etmenlerin Saptanması Üzerine Araştırmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi. Tekirdağ, 190-197
- Hanada, K., and Tochiwara, H: 1982. Some Properties of an Isolate the Soybean Stunt Strain of *Cucumber Mosaic Virus*. *Phytopathology* 72: 761-764
- Haq, Q. M. R., Singh, B. P., and Srivastava, K. M. 1996. Biological, Serological and Molecular Characterization of a *Cucumber Mosaic Virus* Isolate from India. *Plant Pathology* 45, 823-828
- Hills, O. A., Coudriet, D. L., Brubaker, R. W. And Keener, P. D. 1961. Effects of Curly Top and CMV on Cantaloups. *Jour. Of Ace. Ent.* 54(5): 970-972
- Hitchborn, J. H. 1956. The Effects of Temperature on Infection with Starins of CMV. *Ann. Appl. Biol.* 44(4):590-598.
- Ilardi, V., Mazzei, M., Loreti, S., Tomassoli, L., and Barba, M. 1995. Biomolecular and Serological Methods to Identify Strains of Cucumber mosaic cucumovirus on Tomato. *Bulletin OEPP/ EPPO Bulletin* 25, 321-327
- Kaper, J. M., and Re, G. G. 1974. Redetermination of The RNA Content and The Limiting RNA size of 3 Strains of CMV. *Virology*, 60: 308-311.
- Kaygısız, H. 1995. Kabakgil Hastalıkları: Gözlem, Teşhis, Mücadele. Hasat Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul. 242-243
- Kearney, M. C., Gonsalves, D., and Provvidenti, R. 1990. A Sever strain of *Cucumber Mosaic Virus* from China and Its Associated Satellite RNA. *Plant Disease* 74: 819-823.
- Kim, H. J., Choi, J. K., Hong, J. S., Kim, D. W., and Lee, S. Y. 1998. Identification and Differentiation of *Cucumber Mosaic Virus* Isolates in Korea. *Korean J. Plant Pathology* 14(1): 7-12
- Korbin, M., and Kamińska, M., 1998. Characterization of a Cucumber Mosaic Cucumovirus Isolates. *Phytopathol. Pol.* 16: 71-84
- Köklü, G. 2001. Tekirdağ İli Bağlarında Hıyar Mozaik Virüsü (CMV)' nün Arazideki Dağılımının ELISA ile Saptanması. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi. Tekirdağ, 555-562
- Kyriakopoulou, P. E., and Bemm, F. 1985. Cucumber Mosaic Virus on Cucurbitaceae and Other Crops in Greece. *Ann. De L' inst. Phytopath. Benaki*, 13(2): 151-162. (Rev. Pl. Path. 64(6) No:2781)
- Lovisolo, O. 1980. Virus and Viroid Diseases of Cucurbits. *Acta Hort.*, 88:33-82.
- Molnar, A. 1963. Untersuchungen Über Das Gurken Mosaicvirus on Melonen (*Cucumis melo* L.) in Ungary. *Phytopath.Z.* 48:416-420

- Momol, T. 1990. Kabakgil Hastalıkları. Antalya Tarım Üretim, Danışma ve Pazarlama A. Ş. Antalya, sayfa 27.
- Nas, Y. Z., Tekinel, N., ve Dolar, M. S. 1975. Adana, Hatay İlleri Tütünlerinde Tütün Hastalıklarının ve Kesafetlerinin Simptomolojik Olarak Tespiti Üzerinde Çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni, 15(1): 30-37
- Nelson, M. R., Laborde, J. A. ve Mc Donald, H.H. 1966. Cucurbit viruses on the West Coast of Mexico. Plant Dis. Repr. 50 (12): 947-950
- Nitzany, F. E. 1960. Natural Hosts of *Cucumber Mosaic Virus* in Israel. Plant Dis. Repr. 44(2): 144-145
- Nitzany, F. E., and Marrou, J. P. 1970. Virus Disease of Vegetable Plants in the Mediteranean Region. Phytopathology Mediteranea, Vol. IX (1): 66-70
- Nitzany, F. E. 1975. *Cucumber Mosaic Virus* In Israel. Phytopathologh Mediteranea. Vol: 54 (1), 16-20
- Nogay, A. and Yorganci, Ü. 1984. Ivestigations on the Identification Seed Transmission and Host Range of Viruses infecting the Culture Plants in Cucurbitaceae in Marmara Region : 1. The Identification of Viruses Infecting Cucurbits in Marmara Region. J. Turk. Phytopath., 13,9-28.
- Noordam, D. 1973. Identification of plant viruses. Methods and experiments. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen. 207 pp.
- Owen, J., and Palukaitis, P. 1988. Characterization of *Cucumber Mosaic Virus*. I. Molecular Heterogeneity Mapping of RNA 3 in Eight CMV Strains .Virology 166, 495-502.
- Özalp, M. O., 1964. İzmir İli Civarında Görülen Önemli Sebze Virüsleri Üzerinde İncelemeler. Bitki Koruma Bülteni, 4 (1): 18-25
- Özkan, M., 1957. Türkiye Sebze Ziraatında Hıyar Mozaik Virüsü. Tomurcuk, 6(65): 16-21
- Özyanar, F., and Sako, N. 1987. The Detection of *Cucumber Mosaic Virus* Strains by Enzym- Linked Immunosorbent and Dot-Immunobinding Assays. Bull. Fac. Agr., Saga Univ. 62: 109-115
- Palukaitis, P.; Reosinck, M.J.; Dietzgen, R.G.; Francki, R.I.B., 1992. *Cucumber Mosaic Virus*. Adv. Virus Res. 41,281-348.
- Porta, C., Devergne, J. C., Cardin, L., Briand, J. P. And Regenmortel, M. H. V. 1989. Serotype Specificity of Monoclonal Antibodies to *Cucumber Mosaic Virus*. Arch Virol. 104: 271-285
- Sharma, O. P., 1983. Interaction of CMV and Sphaerotheca fuliginea (Sch.) Poll in Muskmelon. Science and Culture 49(5): 139
- Sharma, O. P., Khatri, H. L., Bansal, R. D., and Komal, H.S., 1984. A New Strain of *Cucumber Mosaic Virus* Causing Mosaic Disease of Muskmelon. Phytopathol. Zitschrift, 109(4): 60-62
- Sidek, Z. 1999. Viruses of Cucurbits: The Straegies. MCB-MAPPS Plant Protection Conference ' 99 Proceeding. 68-71
- Sinclair, J. B. ve Walker, J. C. 1956. Extent of Cross Protection Among Strains of CucumberMosaic Virus in Cucumber and Cowpea. Phytopath.46: 367- 371
- Sill, W. H Jr., Burger, W. C., Stahmann, M. A., and Walker, J. C. 1952. Electron Microscopy of Cucumber Virüs-1. Phytopath. 42: 420-422
- Şefik, M. A., ve Arlı sökmen, M. (2001). Samsun İlinde Kabakgil Bitkilerinde Görülen Virüs Hastalıkları. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi. Tekirdağ, 180-189

- Takanami, Y., Kikuhara, K., and Takeshita, M. 1998. Two Isolates of Cucumber Mosaic Cucumovirus Expressing Mild Mosaic Symptoms on Tobacco Plants. J. Fac. Agr., Kyusku Univ., 43(1.2),53-5
- Tekinel, N., Dolar, M. S., Sağgöz, S., ve Salgan, Y. 1969. Mersin Bölgesinde Ekonomik Bakımdan Önemli Sebzelerin Virüsleri Üzerinde Araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 9(1): 37-50
- Tekinel, N. 1973. Adana ve Antalya, Hatay ve İçel İllerinde Domates Virus Hastalıklarının Yayılış Alanlarının Tespiti Üzerinde Araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 13(3): 107-141
- Tomlinson, J. A., Carter, A. L., Webb, M. J. W. 1973. Purification and Serology of W Strain of *Cucumber Mosaic Virus*. Ann. Appl. Biol. 74: 181-189.
- Varveri, C., and Boutsika, K. 1999. Characterization of Cucumber Mosaic Cucumovirus Isolates in Greece. Plant Pathology 48, 95-100
- Vural, H., Eşiyok, D., ve Duman, İ. 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova. 9-10, 327-373
- Wahyuni, W. S., Dietzgen, R. G., Hanada, K., and Francki, I. B. 1992. Serological and Biological Variation between and within Subgroup I and Subgroup II Strains of *Cucumber Mosaic Virus*. Plant Pathology 41, 282-297
- Wilson, A. D., and Halliwell, R. S. 1985. Characterization and Field Studies of a Cucumber Mosaic Cucumovirus Isolate from Spianch in Winter Area of Texas. Plant Disease 69: 751-754
- Yılmaz, M. A., and Davis, R. F. 1985. Identification of Viruses Infecting Vegetable Crops along to Mediterranean Sea Coast in Turkey. J. Turkis. Phytopath. 14(1): 1-8
- Yorgancı, Ü., ve Erkan, S., 1991. Domateslerde Epidemiyi Oluşturan Bir Virüs Hastalığı Üzerinde İncelemeler. Türkiye VI. Fitopatoloji Kongresi. İzmir, 357-359

Ek.1. DAS- ELISA Testinde Kullanılacak Solüsyonlar

1. Genel ekstraksiyon solüsyonu (pH 7.4)

Sodium sulfite (anhydrous)	1,3 g
Polyvinylpyrrolidone (PVP) MW 24-40.000	20.0 g
Sodium azide	0.2 g
Powdered egg (chicken) albumin, Grade II	2.0 g
Tween-20	20.0g

Yıkama bufferi ile 1 litreye tamamlanır. 4 °C' de saklanır.

2. Kaplama tampon solüsyonu (pH 9.6)

Sodium carbonate (anhydrous)	1.59 g
Sodium bicarbonate	2.93 g
Sodium azide	0.2 g

Destile su ile 1 litreye tamamlanır. 4 °C' de saklanır

3. Fosfat tampon solüsyonu (Yıkama Bufferi) (pH 7.4)

Sodium chloride	8.0 g
Sodium phosphate, dibazik (anhydrous)	1.15 g
Potassium phosphate, monobazik (anhydrous)	0.2 g
Potassium chloride	0.2 g
Tween-20	0.5 g

Destile su ile 1 litreye tamamlanır.

4. ECL buffer (Enzim konjugat solüsyonu) (pH 7.4)

Bovine serum albumin (BSA)	2.0 g
Polyvinylpyrrolidone (PVP) MW 24-40.000	20.0 g
Sodium azide	0.2 g

Destile su ile 1 litreye tamamlanır. 4 °C' de saklanır

5. Substrat tampon solüsyonu (PNP bufferi)(pH 9.8)

Magnesium chloride	0.1 g
Sodium azide	0.2 g
Diethanolamine	97.0 ml

Kimyasalların hepsi 800 ml destile suda çözündürülür.daha sonra Hydrochloric asitle pH 9.8 ayarlandıktan sonra 1litreye tamamlanır. 4 °C' de saklanır.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Erzurum'da doğdu. İlk öğrenimini Namık Kemal İlkokulu, orta öğrenimini ise Namık Kemal Orta Okulu ve Ankara Lisesi'nde tamamladı. 1995 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü' nü kazandı. Bir yıl hazırlık eğitiminden sonra 2000 yılında aynı bölümden mezun oldu. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı'nda tezsiz yüksek lisans eğitimine başladı. Haziran 2001' de tezli yüksek lisansa geçmeye hak kazandı. 2001 yılı Eylül ayında ders aşamasını tamamladı. 23.01.2002 tarihinde Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ne "Araştırma Görevlisi" olarak atandı. Halen "Ankara İlinde Yetiştirilen Kabakgillerde Görülen Hıyar Mozaik Virüsü İzolatlarının Serolojik Yöntemlerle Karakterizasyonu" konulu yüksek lisans tezini yürütmektedir.