

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARI VE KİMYASAL  
MADDELER İLE TÜTÜN MOZAIK VİRÜSÜ  
ENFEKSİYONUNUN ENGELLENMESİ  
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

**Nezihâ ARSLAN**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semih ERKAN**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu: 501.03.01**

**Sunuş Tarihi: 02.09.2010**

**Bornova-İZMİR**

**2010**



Neziha ARSLAN tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “Bazı Bitki Ekstraktları ve Kimyasal Maddeler ile Tütün Mozaik Virüsü Enfeksiyonunun Engellenmesi Üzerine Araştırmalar” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 02.09.2010 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:****İmza**

<b>Jüri Başkanı</b>	: Prof. Dr. Semih ERKAN	.....
<b>Raportör Üye</b>	: Doç. Dr. Mustafa GÜMÜŞ	.....
<b>Üye</b>	: Doç. Dr. Eftal DÜZYAMAN	.....



**ÖZET****BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARI VE KİMYASAL MADDELER İLE  
TÜTÜN MOZAIK VİRÜSÜ ENFEKSİYONUNUN ENGELLENMESİ  
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

ARSLAN, Neziha

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Bölümü

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Semih ERKAN

Eylül 2010, 42 sayfa

Bu çalışmada 14 bitki ekstraktı ve 15 kimyasal maddenin Tütün Mozaik Virüsü enfeksiyonu üzerindeki engelleyici etkileri incelenmiştir. Test bitkilerinde yürütülen denemelerden sağlanan sonuçlara göre, virüs enfeksiyonunu bitki ekstraktları % 25.92 ile % 97.19 arasındaki oranlarda engellerken, kimyasal maddelerin enfeksiyon üzerindeki engelleyicilik oranları % 10.24 ile % 98.30 arasında değişmiştir. Elde edilen bulgular, en yüksek engelleme oranlarının bitki ekstraktları arasında *Dianthus caryophyllus*, *Capsicum annuum* ve *Yucca elephantipes*, kimyasal maddeler arasında ise Sodium dodecylsulfate, Triton X-100 ve HuwaSan ile elde edildiğini göstermiştir. Bu nedenle, yukarıda belirtilen ekstraktlar ve kimyasal maddeler çalışmanın diğer aşaması için seçilmiştir. Daha sonra virüs enfeksiyonunun engellenmesi üzerinde seyreltme, sıcaklık ve uygulama zamanı gibi faktörlerin etkileri araştırılmıştır. Test bitkilerinde yapılan denemelerin sonuçları; *D. caryophyllus* ve Sodium dodecylsulfate'in engelleyicilik aktivitesinin seyreltme ve sıcaklık değişimlerinden çok fazla etkilenmediğini ortaya koymuştur. Ayrıca, *D. caryophyllus* ekstraktının virüs inokulasyonundan 2 ve 4 saat önce, Sodium dodecylsulfate'in ise 2 ve 4 saat sonra uygulanmaları halinde virüs enfeksiyonunu daha yüksek düzeyde engelledikleri gözlenmiştir. Tütün (*Nicotiana tabacum* L. cv. Akhisar 97) bitkileri ile yapılan saksı denemelerinde, *D. caryophyllus* ekstraktı ve Sodium dodecylsulfate'in virüs inokulasyonundan önce veya sonra püskürtme şeklinde uygulanmasının tütün bitkilerindeki virüs konsantrasyonunu azalttığı Das-Elisa testi sonuçlarından anlaşılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Tütün, tütün mozaik virüsü, engelleme, bitki ekstraktı, kimyasal madde.



**ABSTRACT****STUDIES ON INHIBITION OF TOBACCO MOSAIC VIRUS  
INFECTION WITH SOME PLANT EXTRACTS AND CHEMICAL  
SUBSTANCES**

ARSLAN, Neziha

MSc Thesis, Plant Protection Department

Supervisor: Prof. Dr. Semih ERKAN

September 2010, 42 pages

In the present study, the inhibitory effects of 14 plant extracts and 15 chemical substances have been examined on the infection of Tobacco Mosaic Virus (TMV). According to the results of experiments on test plants, plant extracts inhibited virus infection at the ratios of 25.92 % to 97.19 % while the inhibition levels of chemical substances on virus infection changed between 10.24 % and 98.30 %. The findings showed that the highest inhibition levels were obtained with three plant extracts (*Dianthus caryophyllus*, *Capsicum annuum* and *Yucca elephantipes*) and three chemicals (Sodium dodecylsulfate, Triton X-100 and HuwaSan). So, the mentioned extracts and chemicals were selected for further steps of the study which were examined the effects of some factors as dilution, temperature and application times on the inhibition of virus infection. Considering the data from assays on test plants, it was seen that inhibitory activity of *D. caryophyllus* and Sodium dodecylsulfate was not affected much more with dilution and temperature fluctuations. Moreover, the results showed that extract from *D. caryophyllus* had more inhibitory effect when it was applied 2 and 4 hours before virus inoculation and on the contrary Sodium dodecylsulfate inhibited virus infection at higher level when used 2 and 4 hours after virus application. Later, in pot experiments performed on tobacco (*Nicotiana tabacum* L. cv. Akhisar 97) plants, it was observed that the application of *D. caryophyllus* extract and Sodium dodecylsulfate by spraying before or after virus inoculation reduced the concentration of virus in the tobacco plants by Das-Elisa.

**Key words:** Tobacco, tobacco mosaic virus, inhibition, plant extract, chemical.



## **TEŐEKKÖR**

Tez alıőmamın her aşamasında yaptığı katkı ve önerileriyle beni yönlendiren danışman hocam Prof. Dr. Semih ERKAN'a, ilgi ve yardımlarından dolayı Doç. Dr. Mustafa Gümüş'e ve ELISA testinin yapılmasında yardımcı olan Arő. Gör. İsmail Can PAYLAN'a teşekkür ederim.



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vii
TEŞEKKÜR .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xix
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	14
3.1 Materyal .....	14
3.2 Yöntem.....	15
3.2.1 Test bitkilerinin yetiştirilmesi.....	15
3.2.2 Bitki ekstraktlarının, kimyasal maddelerin ve inokulumun hazırlanması... 15	15
3.2.3 Test bitkilerine inokulasyon yöntemi.....	16
3.2.4 Bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonunu engelleme etkinliklerinin saptanması .....	16
3.2.5 Seçilen bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonuna olan engelleyicilikleri üzerine bazı faktörlerin etkilerinin saptanması.....	17

**İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa

3.2.6 Engelleyici etkisi en yüksek olan bitki ekstraktı ve kimyasal madde ile tütün bitkilerinde TMV enfeksiyonunun engellenmesi için yapılan denemeler....	18
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI.....	20
4.1 Bitki Ekstraktlarının ve Kimyasal Maddelerin TMV Enfeksiyonu Üzerindeki Engelleyici Etkinlikleri.....	20
4.2 Seçilen Bitki Ekstraktları ve Kimyasal Maddelerin TMV Enfeksiyonuna Olan Engelleyicilikleri Üzerinde Bazı Faktörlerin Etkileri.....	21
4.2.1 Seyreltmenin etkisi.....	21
4.2.2 Sıcaklığın etkisi.....	23
4.2.3 Uygulanma zamanının etkisi.....	25
4.3 Engelleyici Etkisi En Yüksek Olan Bitki Ekstraktı ve Kimyasal Madde İle Akhisar 97 Tütün Çeşidinde TMV Enfeksiyonunun Engellenmesi.....	26
5. TARTIŞMA.....	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	34
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	42

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Dünyada tütün üretimi yapılan alanlar (ha) (2007).....	2
1.2 Kıtalara göre dünya çapında tütün üretimi (2007).....	2
3.1 Test bitkilerine ait tohumların ekimi ve daha sonra şaşırtılan fideler....	15
4.1 Test bitkilerine mekanik inokulasyon sonucu oluşan belirtiler .....	21
4.2 Seyreltmenin bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde etkisi .....	22
4.3 Seyreltmenin kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde etkisi .....	23
4.4 Seçilen bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde sıcaklığın etkisi .....	24
4.5 Seçilen kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde sıcaklığın etkisi .....	25
4.6 İnokulasyondan 2 ve 4 saat önce <i>Dianthus caryophyllus</i> ekstraktı uygulaması sonucu Akhisar 97 tütün bitkilerinde oluşan belirtiler .....	28
4.7 İnokulasyondan 2 ve 4 saat sonra Sodium dodecylsulfate uygulaması sonucu Akhisar 97 tütün bitkilerinde oluşan belirtiler .....	28

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Tütün üretimi yapan başlıca ülkelerin ekim alanları ve üretim miktarları .....3	
1.2 Türkiye’de bölgelere göre tütün ekim alanları ve üretim miktarları .....3	
3.1 TMV enfeksiyonunu engelleme etkileri incelenen bitki türleri ve kimyasal maddeler ..... 14	
4.1 Bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonunu engelleme oranları . .....20	
4.2 Seyreltmenin bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde etkisi.....22	
4.3 Seyreltmenin kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde etkisi .....22	
4.4 Seçilen bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde sıcaklığın etkisi .....23	
4.5 Seçilen kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde sıcaklığın etkisi .....24	
4.6 Bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde uygulama zamanının etkisi.....25	
4.7 Kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde uygulama zamanının etkisi.....26	
4.8 <i>D. caryophyllus</i> ekstraktı Sodium dodecylsulfate’ın Akhisar 97 tütün çeşidinde TMV enfeksiyonu üzerindeki engelleme etkileri .....27	

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
ha	Hektar
ml	Mililitre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
M	Molar
ppm	Milyonda bir kısım (Parts per million)
nm	Nanometre
ng	Nanogram
EC	Emülsiyon konsantre
WP	Islanabilir toz
<u>Kısaltmalar</u>	
BMV	<i>Brome mosaic bromovirus</i>
CMoV	<i>Carrot mottle umbravirus</i>
RNA	Ribonükleik asit
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay

## 1. GİRİŞ

Tütün mozaik virüsü Tobamovirus genusu içerisinde yer alan, tek sarmal RNA genomu içeren ve 300×18 nm boyutlarında çubuk şeklinde partiküllere sahip bir hastalık etmenidir. Dünya genelinde yaygın olan bu virüs 30 familyaya ait 199 farklı çeşidi enfekte edebilmektedir. Ancak virüsün neden olduğu hastalık sonucu oluşan kayıplar en fazla *Solanaceace* familyasına ait türlerde görülmektedir (Bagley, 2001).

TMV ile mücadelede böceklere ve fungal hastalıklara karşı yapılan mücadele gibi imkanlar bulunmamaktadır. Virüs hastalıklarına karşı alınan tedbirlerin büyük bir kısmı enfeksiyondan korunma şeklinde olmaktadır. Bunun en önemli nedeni ise, virüslere karşı etkili bulunan kimyasalların pratikte bitkilere karşı fitotoksik olması nedeniyle kullanılamamasıdır.

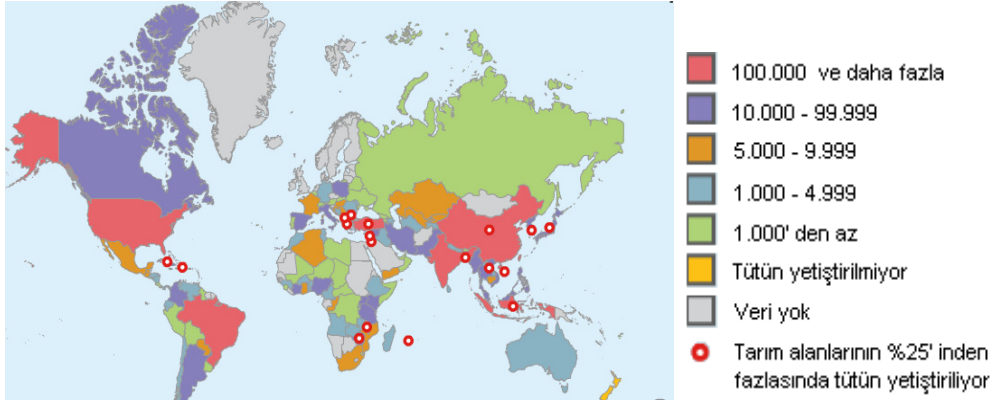
Günümüzde bitkileri TMV enfeksiyonuna karşı koruyabilecek bilinen etkili bir mücadele yöntemi bulunmamaktadır. Geçmişten günümüze kadar çeşitli bitki ekstraktları, kimyasal maddeler, bakteriler, funguslar ve algler kullanılarak TMV enfeksiyonunun engellenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada da tütün bitkilerinden yararlanılarak bazı bitki ekstraktları ve kimyasal maddeler ile TMV enfeksiyonunun engellenmesi üzerine denemeler yapılmıştır.

Tütün, dünyada 60. kuzey ve 40. güney enlemleri arasında iklim şartlarına göre 80-100 günlük vejetasyon süresi içinde yetiştirilen ve kurutulmuş yapraklarından yararlanılan *Solanaceace* familyasına ait tek yıllık bir kültür bitkisidir. Tütün iklim bakımından genellikle sıcak bölgelerde yetiştirilmektedir. Tütün tohumunun çimlenmesi için uygun ortalama sıcaklık 12-14°C, bitkinin en uygun gelişme sıcaklığı ise 25-30°C'dir. *Nicotiana tabacum* ve *Nicotiana rustica* keyif verici özellikleri dolayısıyla yetiştiriciliği yapılan yaygın tütün çeşitleridir (Ersan, 2004).

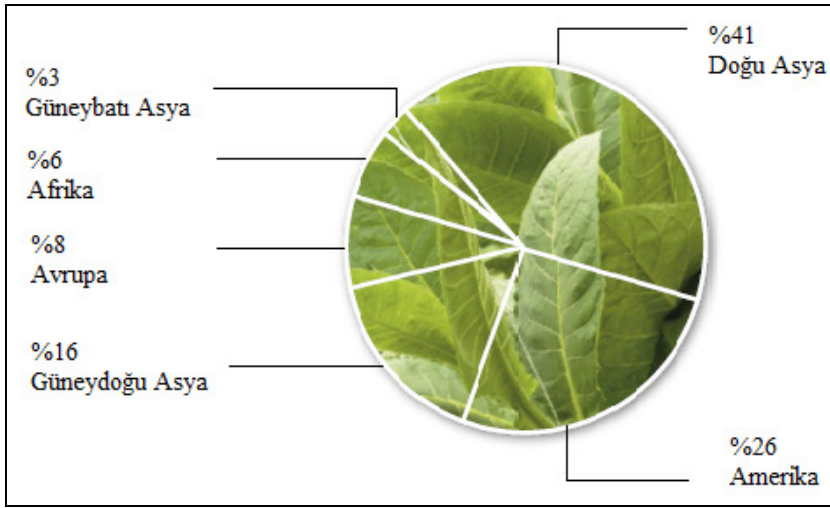
Tütünün anavatanının neresi olduğu kesin olarak bilinmemekle birlikte, arkeolojik ve botanik araştırmalar sonucunda tütünün ilk çeşitlerinin Amerika kökenli ve neo-tropikal karakterli olduğu yönündeki görüşler ağırlık kazanmıştır. Tütünün dünyaca tanınması Amerika Kıtası'nın keşfinden sonra Avrupa'ya getirilmesiyle olmuştur (Ersan, 2004). Türkiye'ye ise 1601-1605 yılları arasında İngiliz, Venedik ve İspanyol gemiciler aracılığıyla geldiği belirtilmektedir. Böylece Avrupa'ya gelişinden 50 yıl sonra yurdumuzda kullanılmaya başlanmıştır.

Ancak, ülkemizde tütün tarımının ne zaman başladığına dair kesin bir bilgi bulunmamaktadır (Özkul ve Sarı, 2008).

Bugün dünyanın 128 ülkesinde değişik kalite ve özelliğe sahip tütün çeşitlerinin tarımı yapılmaktadır (Koprulu et al., 2009). Dünyadaki tarım alanlarının yaklaşık 4 milyon hektarında tütün yetiştirilmektedir. Dünya genelinde tütün üretimine yönelik bazı bilgiler Şekil 1.1 ve Şekil 1.2'de görülmektedir (The Tobacco Atlas, 2010).



Şekil 1.1 Dünyada tütün üretimi yapılan alanlar (ha) (2007).



Şekil 1.2 Kıtalarla göre dünya çapında tütün üretimi (2007).

Şekil 1.1 ve Şekil 1.2'den anlaşılacağı gibi; tütün üretimi en fazla Amerika ve Asya kıtalarında gerçekleştirilmekte ve toplam üretimin % 86'sı bu iki kıtadaki ülkelerde yapılmaktadır.

Dünya toplam tütün üretiminin yaklaşık ¾'ü Çin, Türkiye, ABD, Hindistan, Endonezya ve Brezilya'da gerçekleşmektedir (Gül ve Ataseven, 2004). Çizelge 1.1'de tütün üretimi yapan başlıca ülkelerin ekim alanları ve üretim miktarları verilmektedir (Koprulu et al., 2009).

Çizelge 1.1 Tütün üretimi yapılan başlıca ülkelerdeki ekim alanları ve üretim miktarları.

DÜNYA TÜTÜN ÜRETİMİ VE EKİM ALANLARI						
ÜLKELER	2005		2006		2007	
	Ekim alanı (ha)	Üretim miktarı (ton)	Ekim alanı (ha)	Üretim miktarı (ton)	Ekim alanı (ha)	Üretim miktarı (ton)
Çin	1.364.312	2.685.743	1.375.877	2.746.193	1.251.200	2.397.200
Brezilya	493.761	889.426	495.706	900.381	459.481	908.679
Hindistan	366.500	549.100	372.800	552.200	370.000	520.000
Endonezya	198.212	153.470	168.692	146.265	194.517	164.851
Türkiye	185.342	135.247	146.166	98.137	144.904	74.584
Malavi	141.527	93.598	136.527	121.600	118.551	118.000
ABD	120.610	290.170	137.188	329.918	144.068	353.177
Diğerleri	1.091.515	1.941.848	1.091.515	1.748.283	992.699	1.665.636
Toplam	3.961.779	6.738.602	3.850.735	6.642.977	3.675.420	6.202.127

Çizelge 1.1'de yer alan verilere göre; dünyada tütün ekim alanlarının ve üretim miktarının 2005-2007 yılları arasında genel olarak azalma eğiliminde olduğu görülmektedir. Bu periyotta bazı ülkelerde (Hindistan ve ABD) ekim alanlarında az da olsa artış olduğu gözlenirken, bazı ülkelerde ise (Brezilya, Endonezya ve ABD) üretim miktarının yükseldiği dikkati çekmektedir.

Türkiye'de tütün üretimi iklim ve toprak özelliklerine bağlı olarak Ege, Marmara, Karadeniz, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yapılmaktadır. Çizelge 1.2'de Türkiye'de bölgelere göre 2000-2006 yılları arasındaki tütün ekim alanları ve üretim miktarları verilmektedir (Özkul ve Sarı, 2008).

Çizelge 1.2 Türkiye'de bölgelere göre tütün ekim alanları ve üretim miktarları.

Ürün Yılları	Ege Bölgesi		Marmara Bölgesi		Karadeniz Bölgesi		Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgeleri		Toplam Üretim (ton)
	Ekim alanı (ha)	Üretim (ton)	Ekim alanı (ha)	Üretim (ton)	Ekim alanı (ha)	Üretim (ton)	Ekim alanı (ha)	Üretim (ton)	
2000	146.785	114.171	7.369	11.635	36.161	32.523	47.407	49.673	208.002
2001	134.733	92.802	6.569	10.256	33.017	23.034	42.805	26.478	152.570
2002	135.780	104.561	10.350	8.712	28.080	24.585	20.743	25.725	163.583
2003	126.670	66.350	4.299	6.041	25.315	15.422	27.435	24.406	112.219
2004	134.477	82.131	5.108	8.528	24.214	16.272	28.912	26.983	133.914
2005	124.262	83.442	4.051	7.673	25.321	17.624	31.826	26.508	135.247
2006	95.741	53.819	3.135	5.639	21.107	15.021	26.183	23.658	98.137

Ülkemizde bölgelere göre tütün üretimi en fazla Ege bölgesinde gerçekleşmektedir. 2000-2006 yılları arasındaki verilere göre; bölgeler bazında tütün üretim miktarında yaklaşık olarak % 51-53 oranında bir azalma görülmektedir. Toplam tütün üretim miktarındaki azalma ise yaklaşık olarak % 52 civarındadır. Bölgelere göre ekim alanındaki en az azalma % 34.77 ile Ege bölgesinde, en çok azalma ise % 57.45'lik bir oran ile Marmara bölgesinde gerçekleşmiştir (Çizelge 1.2).

Farklı ekoloji ve mikro klimalara bağlı olarak ülkemizde çok çeşitli tipte tütünlerin üretimi yapılmaktadır. Üretilen tütünlerin yaklaşık % 96'lık kısmı Türk (Şark) tütünü, kalanı ise Virginia, Burley, Puro, Tömbeki ve Hasankeyf tütünleridir. Ülkemizde üretilen tütünlerin büyük bir çoğunluğunu oluşturan şark tipi tütün genellikle Yunanistan, Bulgaristan, Federal Yugoslavya Cumhuriyeti'nde yetiştirilmekte olup dünyada toplam şark tipi tütün miktarının yaklaşık olarak % 65'i Türkiye, % 25'i Yunanistan, % 10'u da Bulgaristan ve Federal Yugoslavya Cumhuriyeti'nde üretilmektedir (Gül ve Ataseven, 2004; Özkul ve Sarı, 2008).

Dünya ve Türkiye'de büyük bir ekonomik öneme sahip olan tütün yetiştiriciliği gerçekten zor, zahmetli bir o kadar da masraflıdır. Diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi tütün bitkisi de üretim dönemi içerisinde çeşitli hastalıklardan etkilenmekte ve önemli sorunlar ortaya çıkabilmektedir. Buna bağlı olarak elde edilen ürünün hem miktarı hem de kalitesi düşmektedir (Koca vd., 1982; Hayat, 1994; Şimşek, 1995).

Tütünde ürün ve kalite kaybına yol açan çok sayıda zararlı ve hastalık etmeni bulunmaktadır. Tütün üretiminde fungal ve bakteriyel hastalıkların yanı sıra bir çok virüs hastalığı ile de karşılaşmaktadır. Bu çalışmada ele alınan tütün mozaik virüsü, dünya çapında ticari olarak yetiştiriciliği yapılan tütünlerde enfeksiyon meydana getirmekte, hem verimi ve hem de kaliteyi düşürmektedir. Ayrıca, çok kolay yayılan bir virüs olması nedeniyle kontrolü oldukça güç bir hastalıktır. Görünür hiçbir belirti olmasa bile virüs sistemik olarak konukçunun kök, gövde ve yapraklarında bulunmaktadır (Bagley, 2001). TMV stabil bir virüs olup hastalıklı bitki artıklarında, yabancı otlarda ve bulaşık topraklarda uzun süre hastalık yapma yeteneğini sürdürebilmektedir. Hastalık belirtileri etmenin ırkına bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte ana belirti yapraklardaki renk değişikliğidir. Bu renk değişikliği enfekteli yapraklarda açık yeşil, sarı ve koyu yeşil lekeler şeklindedir. Yaprak üzerindeki koyu yeşil bölgeler açık yeşil

bölgelere göre daha hızlı gelişmekte ve bu bölgeler daha kalın ve kabarık bir görünüm almaktadır. Bunun sonucunda ise yapraklarda kıvrılma ve şekil bozuklukları meydana gelmektedir (Koca vd., 1982).

Tütün virüs hastalıkları bitkinin tümüyle ölümüne neden olmadığı için oluşturdukları zarar zaman zaman gözden kaçabilmektedir. Buna karşın, diğer ülkelerde yapılan çeşitli araştırmalarda virüs hastalıklarının tütünün verim, randıman, kalite ve kimyasal bileşimini büyük oranda etkiledikleri saptanmıştır. Virüs hastalıklarının tütünün kimyasal bileşimine etkileri, azotlu maddeler ve özellikle protein azotunun artıp şeker miktarının düşmesi nedeniyle kalitenin bozulması yönünde olmaktadır. Şark tipi tütünlerde azotlu maddeler, özellikle protein azotu yanma sırasında hoş gitmeyen bir kokunun oluşmasına neden olur. Şeker içeriğinin yüksek olması, duman reaksiyonunu asit hale getirdiğinden kalite üzerinde olumlu etkisi vardır. Virüs enfeksiyonları nedeniyle şeker miktarındaki düşme, bu olumlu özelliği bozmaktadır (İncekara, 1971; Yorgancı ve Sekin, 1982).

Bu çalışmada tütünde önemli verim ve kalite kayıplarına yol açması nedeniyle oldukça önemli olan TMV enfeksiyonuna karşı değişik bitki ekstraktları ve kimyasal maddeler kullanarak enfeksiyonun engellenmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bitki virüs hastalıklarının bir kısmının bazı bitki ekstraktları ve kimyasal maddeler aracılığı ile kontrol edilebilmeleri konusunda bugüne kadar pek çok araştırma yapılmıştır. Başlangıçta denenen bir kısım kimyasal kökenli maddelerin virüslerin yapısal ve biyolojik özelliklerini değiştirerek etkili oldukları bulunmalarına karşın, bu maddelerin bazı durumlarda bitkilerde fitotoksik oldukları ve tarla koşullarında pek fazla etkin olmadıkları gözlenmiştir.

Kimyasal maddelerden istenen sonucun alınamamasına karşın, doğal maddeler ile yapılan çalışmalardan ümit verici sonuçlar elde edilmiştir. Bitki virüs hastalıklarını kontrol etmek amacıyla elde edilmeleri ve pratikte uygulanmaları kolay olması nedeniyle bitki özularından yararlanılmıştır (Erkan, 1984).

Özsu ile taşınabilen bazı virüsler konukçu bitkilerinden bazı bitkilere taşınmamaktadır. Bu durum konukçu bitkilerin özularında virüsün diğer bitkilere taşınımını engelleyen bazı inhibitör maddelerin bulunmasından kaynaklanmaktadır. İlk kez 1914 yılında Allard isimli araştırmacı, bitki özularında virüsleri engelleyen maddelerin var olduğunu saptamıştır. Allard, sağlıklı olan *Phytolacca decandra* bitkisini mozaik hastalığı ile bulaştırmış, ancak virüsle enfekteli olan bu bitkinin öz suyunu kullanarak hastalığı mekanik inokulasyon yoluyla bütün bitkilerine taşıyamamıştır (Bawden, 1954).

Ülkemizde bitki ekstraktları ile virüslerin engellenmesi konusunda biri *Potato X potexvirus* (PVX) ve diğeri *Tomato mosaic tobamovirus* ile ilgili olarak iki çalışmaya rastlanmıştır (Erkan, 1982; Türkileri, 1991). TMV enfeksiyonunun bitki ekstraktları ve kimyasal maddeler ile önlenmesi konusunda yapılan bir çalışma olmamasına karşın diğer ülkelerde bu konuda çok sayıda araştırma yapılmıştır. TMV enfeksiyonunun bitki ekstraktları ve kimyasal maddeler yolu ile engellenmesi konusunda yapılan önemli çalışmalar aşağıda verilmiştir.

McKenn (1956), yaptığı çalışmada *Capsicum frutescens* ekstraktının inokulum ile birlikte veya virüs inokulasyonundan önce yaprak alt veya üst yüzeyine uygulandığında lokal lezyon oluşumunu engellediğini tespit etmiştir. Ancak, ekstrakt inokulasyondan birkaç dakika sonra uygulandığı durumda lokal lezyon oluşumunu azaltmamıştır.

Apablaza and Bernier (1972), *Capsicum annuum*, *Geranium* sp. ve *Datura stramonium* yaprak ekstraktlarının TMV içeren inokulum ile karıştırılarak

inokulasyondan önce yaprak altına veya inokulasyondan sonra yaprak yüzeyine uygulanmaları durumunda TMV'nün neden olduğu lokal lezyon oluşumunun engellendiğini saptamışlardır.

Moreno (1980), 28 farklı bitki özsuyunun TMV tarafından meydana getirilen enfeksiyon üzerine etkilerini araştırmıştır. Virüsün meydana getirdiği nekrotik lokal lezyonları gözlemleyebilmek açısından *Nicotiana glutinosa*'ya mekanik inokulasyon ile virus inokule edilmiştir. Çalışmanın sonucunda *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor*, *Opuntia* sp., *Solanum tuberosum*, *Spinacia* sp., *Solanum nigrum*, *Datura stramonium*, *Pelargonium geranium*, *Pennisetum clandestinum* ve *Cuscuta* sp.'nin TMV enfeksiyonunu engellediği saptanmıştır.

Taniguchi (1980), tarafından yapılan bir çalışmada *Dianthus barbatus* tohum ekstraktının, inokulum ile karıştırıldığında *Chenopodium amaranticolor*'da TMV ve PVX adlı virüslerin neden olduğu lokal lezyon gelişimine engel olduğu saptanmıştır. Aynı ekstraktın, TMV ile inokule edilmeden 3 gün önce veya inokulasyondan 3 saat sonra uygulandığında Samsun tütün çeşidinde ve fasulyede TMV kaynaklı enfeksiyona engel olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, ekstrakt Samsun tütün çeşidinde ve fasulyede yaprak alt yüzeyine ve üst yüzeyine uygulandığında da engelleme göstermiştir.

Bakarat and Stevens (1981), *Gypsophila paniculata* ve *Minuratia capillacea* bitkilerinden elde ettikleri ekstraktların her birinin TMV ve *Tobacco necrosis necrovirus* (TNV) tarafından meydana getirilen lokal lezyon oluşumunu engellediğini saptamışlardır.

*Dianthus caryophyllus*'tan izole edilen iki protein, dianthin 30 ve dianthin 32, TMV ile karıştırıldıklarında *N. glutinosa* yapraklarındaki lokal lezyon sayısında önemli düzeyde azalma sağlamıştır (Stirpe et al., 1981). Ostermann et al. (1987), tarafından yapılan benzer bir çalışmada ise, *D. caryophyllus* ekstraktının virüs inokulasyonundan önce uygulandığı durumda etkililiğin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. En iyi sonuç, ekstraktın uygulanması ile virüs inokulasyonu arasında kısa aralıklar olduğunda elde edilmiştir.

Ispanaktan elde edilen virüs engelleyici bir maddenin izolasyonu ve tanılanması üzerine yapılan çalışmada, ıspanaktan virüs engelleyen bir protein izole edilmiştir. Bu virüs engelleyen proteinin en düşük konsantrasyonunda (0.06

$\mu\text{g/ml}$ ) lokal lezyon sayısında önemli bir azalma görülmüştür. Proteinin, inokulasyondan 2-3 saat önce uygulandığı durumda lokal lezyon oluşumunun engellendiği belirlenmiştir. İnokulasyondan 9 saat öncesine kadar olan uygulamalarda bile lokal lezyon sayısı azalmıştır (Straub et al., 1986).

Hiramatsu et al. (1987), *Yucca recurvifolia*'nın yaprağından ve *Lentinus edodes*'in meyve kısmından elde ettikleri ekstraktların TMV'nü engelleyici etkileri olduğunu saptamışlardır. Meyve ve yaprak ekstraktlarının TMV inokulasyonundan 3 gün önce uygulandıklarında enfeksiyonu önledikleri görülmüştür. Ancak TMV inokulasyonundan 1 saat sonra uygulanan meyve ekstraktı ve 3 saat sonra uygulanan yaprak ekstraktı enfeksiyonu önlememiştir. Araştırmacılar bu durumu her iki antiviral maddenin de bitki virüs enfeksiyonu üzerinde tedavi edici değil, önleyici etkileri olduğu yönünde açıklamışlardır.

Kubo et al. (1990), tarafından yapılan bir çalışmada *Mirabilis jalapa* bitkisine ait ekstraktta güçlü bir virüs engelleyici madde saptamışlardır. Mirabilis antiviral proteini (MAP) TMV, *Cucumber green mottle tobamovirus*, *Potato Y potyvirus*, *Turnip mosaic potyvirus* ve *Cucumber mosaic cucumovirus*'ün mekanik olarak taşınımını üzerinde güçlü bir antiviral etki göstermiştir. TMV'nün tam olarak engellenmesi, MAP'nin  $0.8 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyon ile Xanthi yapraklarının üst kısmına uygulanması sonucu elde edilmiştir. MAP  $10 \mu\text{g/ml}$  oranında yaprak altına uygulandığında ise engelleme % 50 olarak bulunmuştur. MAP inokulasyondan 1 saat sonra uygulandığında ise hiçbir engelleme saptanmamıştır.

*Phytolacca americana*'dan izole edilen ve PAP olarak adlandırılan antiviral protein ile yapılan bir çalışmada  $0.4 \mu\text{g/ml}$  PAP/ml konsantrasyonu ile tütün yapraklarında TMV enfeksiyonu tarafından meydana gelen lokal lezyonların oluşumunu tamamen engellendiği görülmüştür.  $25 \text{ ng PAP/ml}$  ile % 68 engelleme elde edilmiştir. PAP, bitkileri yedi virüs grubuna karşı virüs enfeksiyonlarından korumuştur. Bunlardan beş tanesi RNA virüsleri (TMV, CMV, *Alfalfa mosaic alfamovirus*, PVX ve PVY) iken, diğer ikisi ise DNA virüsleridir (*African cassava mosaic begomovirus* (ssDNA) ve *Cauliflower mosaic caulimovirus* (dsDNA)). Çalışmaya göre virüs enfeksiyonları PAP tarafından çok erken bir aşamada bloke edilmiştir. Ayrıca, PAP yaprak üst yüzeyine inokule edilen virüsü engellemiş ve hücrelerarası boşluklardan yaprağın alt yüzeylerine doğru süzölmüştür. Bunların dışında PVY'nin yaprak bitleri tarafından taşınımını kısmen engellemiştir (Chen et al., 1991).

Yapılan bir çalışmada, *Clerodendrum inerme* yapraklarından iki temel glikoprotein (CIP-29 ve CIP-34) saflaştırılmış ve bu glikoproteinlerin özellikleri karşılaştırılmıştır. Her iki glikoprotein de, *Nicotiana tabacum* cv. *Samsun*'da TMV'ne karşı bir actinomycin D kadar duyarlı sistemik dayanıklılığa neden olduğu görülmüştür. Az miktardaki saflaştırılmış protein bile aynı derecede dayanıklılığı sağlamıştır. Bu miktar 16 µg/ml'den 800 µg/ml'ye kadar değişebilmektedir. Her iki proteinin de 80°C'ye kadar olan yüksek sıcaklıkları tolere edebildiği görülmüştür (Prasad et al., 1995).

Baranwal and Verma (1997), çalışmalarında *Celosia cristata*'ya ait yaprak ekstraktının özelliklerini incelemiştir. TMV ve inhibitör maddeden hazırlanan karışım, *N. glutinosa* yaprak yüzeyine uygulandığında virüs tamamen engellenmiştir. İnhibitör maddenin virüse direkt olarak etki etmediği ancak virüsün konukçuya yerleşmesine engel olduğu gözlenmiştir. Ayrıca *C. cristata*'dan elde edilen inhibitör maddenin sıcaklığa karşı orta düzeyde dayanıklı olduğu, seyreltme ve kurutmaya karşı ise dirençli olduğu görülmüştür. Benzer bir çalışmada ise, *C. cristata* bitkisine ait kurutulmuş yapraklardan elde edilen iki antiviral glikoprotein TMV, *Sunnehemp mosaic tobamovirus* ve *Citrus psorosis ophiiovirus*'un mekanik yolla taşınımı üzerinde etkili oldukları saptanmıştır. CCP-25 ve CCP-27 olarak isimlendirilen bu proteinlerin konsantrasyonlarının *C. cristata* bitkisinin çiçeklenme öncesi ve çiçeklenme sonrası dönemleri arasında farklılık gösterdiği bulunmuştur. Farklı gelişme dönemlerinde elde edilen her iki protein de, 20-30 mg/ml konsantrasyonda lokal lezyon oluşumunu % 90 engellemiştir (Balasubrahmanyam et al., 2000).

An et al. (2001), *Cynanchum komarovii*'den 7-demethoxytylophorine ve 7-demethoxytylophorine N-oxide gibi bilinen iki alkaloidin yanında bir de pyrroloisoquinoline alkaloidi izole etmişlerdir. Yapılan çalışmaların sonucunda 7-demethoxytylophorine ve 7-demethoxytylophorine N-oxide alkaloidlerinin TMV'ne karşı antiviral etkileri olduğu belirlenmiştir.

Othman and Shoman (2004), tarafından TNV, TMV ve *Tomato spotted wilt tospovirus* gibi farklı virüslere karşı *Plectranthus tenuiflorus* ekstraktının etkisi araştırılmıştır. Ekstrakt *Phaseolus vulgaris*, *Datura stramonium* ve *Chenopodium amaranticolor* gibi test bitkilerine in vivo'da inokulasyondan önce uygulandığında enfeksiyonu sırasıyla % 90.6, 85.8 ve 77.7 oranlarında azaltmıştır. In vitro'da ise, ekstrakt TNV ile karıştırıldıktan 1 saat sonra lokal lezyon oluşumunu % 100 engellerken, TMV ve TSWV ile karıştırıldıktan 3 saat sonra %

100 engelleme sağlamıştır. Ayrıca *P. tenuiflorus*'un sistemik TMV enfeksiyonu üzerine etkileri de araştırılmıştır. Ekstrakt virüs birikimi üzerinde görünür bir etki yapmazken hastalık oluşumunu 4-5 gün geciktirmiştir.

Shen et al. (2008), *Brucea javanica* tohumlarından elde ettikleri ekstrakta antiviral madde saptamışlar ve bu antiviral maddeyi bruceine-D olarak tanılamışlardır. Bruceine-D, TMV enfeksiyonu ve replikasyonuna karşı önemli düzeyde engelleyici aktivite göstermiştir. Bu antiviral madde aynı zamanda PVY ve CMV'e karşı da güçlü bir engelleme göstermiştir. Ayrıca, sera şartlarında konukçu tütün bitkisindeki sistemik TMV enfeksiyonunu etkin bir şekilde engellemiştir. Aynı bitki ile yapılan benzer bir çalışmada ise, *Brucea javanica* tohumlarından bilinen 15 quassinoid'in yanında iki tane de yeni quassinoid, javanicolide E ve javanicolide F izole edilmiştir. 17 quassinoidin hepsi de TMV'ne karşı kuvvetli bir etki göstermiştir. Bunlar arasında etkili olanlar; brusatol, bruceine B, bruceoside B, yadanzioside I, yadanzioside L, bruceine D, yadanziolide A ve yadanziolide D'dir (Yan et al., 2010).

TMV'ne karşı doğal inhibitörleri araştırmak amacıyla yapılan çalışmada *Picrasma quassioides* ekstraktından on tane  $\beta$ -carboline alkaloidi ve bir de quassinoid izole edilmiştir. Her bir bileşik TMV enfeksiyonu ve replikasyonuna karşı testlenmiştir. Çalışmanın sonucuna göre, bütün  $\beta$ -carboline alkaloidleri ılımlı bir anti-TMV aktivite göstermişlerdir. Ayrıca quassinoid ile kombine edildiklerinde sinerjistik etki saptanmıştır (Chen et al., 2009).

Wang et al. (2009), tarafından *Arctium lapa* kök dokusundan bir fruktosan oligomer olan Burdock fructooligosaccharide (BFO) izole edilmiştir. Yaptıkları araştırmada, BFO'in tütün fidelerindeki TMV'nün kontrolü üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırma boyunca toplanan verilere göre BFO TMV'ne karşı dayanıklılığı arttırmıştır.

Dodecylbenzensulfonate'in TMV enfeksiyonu üzerindeki engelleme özelliğini araştırmak üzere yapılan bir çalışmada, sodyum (DBS-Na) ve kalsiyum (DBS-Ca) tuzlarından yararlanılmıştır. DBS-Ca 1000 ppm olarak TMV inokulumuna eklendiğinde, 2000 ppm olarak TMV inokulasyonundan sonra uygulandığında ve 2500 ppm olarak TMV inokulasyonundan önce uygulandığında lokal lezyon oluşumunu % 90 veya daha fazla oranda engellediği görülmüştür. Çalışmaya göre DBS-Na'un virüsü engelleme özelliği DBS-Ca'dan bir bakıma daha düşük bulunmuştur. DBS-Ca TMV inokulumuna karıştırıldığında

lokal lezyon oluşumunun engellenmesinin özellikle DBS-Ca yoğunluğuna bağlı olduğu ve daha az bir öneme sahip olmakla birlikte, DBS-Ca ve TMV yoğunluklarının birbirine oranları veya karıştırıldıktan sonraki bekleme süresine bağlı olduğu saptanmıştır. Çalışmaya göre TMV'nün engellenmesinin; virüsün parçalanması ve inaktivasyonu sonucu değil, TMV enfeksiyonunun gerçekleştiği hücrede enfeksiyonun ilk aşamasında enfekteli hücre metabolizmasındaki ve membranın fonksiyonundaki bozukluktan dolayı viral replikasyonun baskılanmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Watanabe et al., 1980).

Yapılan bir çalışmaya göre; ribavirin ve adenin arabinoside'in her ikisi de mekanik olarak inokule edilen yaprak dokularında TMV'nün çoğalmasını engellemesine rağmen, hiçbiri düzenlenmemiş tütün kallusunda in vitro inokulasyondan sonra virüs çoğalmasını engellememiştir. Çeşitli koşullar ve ortam bile her iki kimyasalın da tütün doku kültürlerinden virüsü yok etme yeteneklerini arttırmamıştır. Ancak ribavirin ve adenin arabinoside'in kombine olarak uygulandığı durumda TMV ile enfekteli kallusta virüs yok edilmiştir (Saldana et al., 1985).

Bockholt et al. (1989), fitopatojenik virüslere karşı benzyl-dimethyl-hexadecylammoniumchloride (BDHA) ve N-benzyl-dodecyl-N-bis (2-lihydroxyethyl)-ammoniumchloride (BDBA) ile bir çalışma yapmışlardır. Bu iki madde testlenen diğer 10 amonyum bileşiği içinden seçilmiştir ve her iki madde de BMV, CMV, CMoV, PVX, TMV ve TNV enfeksiyonlarına karşı antiviral etki göstermiştir. Yapılan çalışmalar, BDBA ve BDHA'nın *N. tabacum var. Xanthi*'de TMV'ne karşı hem enfeksiyon öncesi hem enfeksiyon sonrası engelleme etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Enfeksiyon öncesi uygulandıklarında uzun süreli bir etkiye sahip olan bu bileşikler, sadece lokal lezyon oluşumunu azaltmamış aynı zamanda lezyonların boyutlarında küçülme ve lezyonların antijen içeriklerinde azalma sağlamıştır. Bu bileşiklerin uygulandığı bitkilerde uygulamadan 10-14 gün sonra, herhangi bir uygulama yapılmayan genç yapraklarda da antiviral akvite saptanmıştır. Bu olgu hücrelerarası boşluklarda bazı yeni proteinlerin görünmesiyle açıklanmıştır.

Chondroitin sulfate'in TMV'nün yol açtığı enfeksiyona etkilerini inceleyen Sano (1997), chondroitin sulfate (Chs)'in A tipi ve C tipinin TMV enfeksiyonu üzerinde yüksek bir engelleme etkisine sahip olduğunu gözlemlemiştir. Chs ve inokulum ile hazırlanan karışımın Xanthi yapraklarına uygulanmasıyla lokal lezyon sayısı önemli ölçüde azaltılmıştır. Engelleme seviyesi; Chs konsantrasyonu

ile artmakla birlikte, C tipinde A tipine göre daha yüksek engelleme gerçekleşmiştir.

Yapılan bir çalışmada, *N. glutinosa* yapraklarına uygulanan salisilik asidin TMV'nün neden olduğu nekrotik lokal lezyonların oluşumunu geciktirdiği ve lezyon sayısını azalttığı grlmştir. İnokule edilen yapraklar 31°C'de salisilik asit solüsyonunda kısa bir süre tutulup ardından oda sıcaklığına alındıklarında nekrotik lokal lezyon boyutunda küçülme elde edilmiştir (Krasavina et al., 2002).

Rafikova et al. (2004), tarafından yapılan bir çalışmada düşük dozdaki sodium dodecylsulfate konsantrasyonlarının 52°C'de TMV' kılıf proteininde düzensiz bir şekilde birikime neden olarak TMV'n engellediği grlmştir. Daha yüksek dozlarda ise oda sıcaklığında bile TMV kılıf proteininin yapısını tamamen bozmaktadır.

Lv et al. (2007), çalışmalarında alkyl 2-cyano-3, 3-dimethylthioacrylate ile dialkyl phosphite'in reaksiyonu sonucu alkyl 2-cyano-3-methylthio-3-phosphonylacrylate sentezlemişlerdir. Sentezlenen bütün bileşikler içerisinde 2a ve 2b'nin in vivo'da TMV'ne karşı tedavi edici, koruyucu ve inaktive edici özelliklere sahip oldukları ve engelleme oranlarının 500 mg/ml konsantrasyon ile sırasıyla, 2a için % 60.0, % 89.4 ve % 56.5, 2b için % 64.2, % 84.2 ve % 61.2 olduğu bulunmuştur.

Li et al. (2008), TMV'ne karşı bitriazolyl acyclonucleoside'lerin antiviral etkisini araştırmışlardır. Araştırmaya göre bitriazolyl acyclonucleoside'lerin TMV'ne karşı etkili olduğu bulunmuştur.

Panyukov et al. (2008), tarafından yapılan çalışmada non-iyonik yüzey aktif Triton X-100 ile TMV' kılıf proteininde protein amorf birikimini takiben kısmi denatürasyona sebep olduğu grlmştir.

TMV enfeksiyonunu engellemek amacıyla bitki ekstraktları ve kimyasal maddeler kullanılarak birçok çalışma yapılmıştır. Bununla birlikte, fungal ve bakteriyel preparatların kullanıldığı çalışmalara ve özellikle son yıllarda algerle yapılan çalışmalara da rastlanmaktadır.

Funguslarla yapılan bir çalışmada, Basidiomycetes sınıfına ait *Fomes fomentarius* ve *Schizophyllum commune* gibi funguslara ait süzüntülerde sistemik

etkiye sahip bitki virüs enfeksiyonlarını engelleyen antiviral maddeler saptanmıştır (Aoki et al., 1993). Benzer bir çalışmada ise ormanlık bölgelerden elde edilen 300 civarında fungal izolatın TMV enfeksiyonunu engelleme etkileri gözlemlenmiş ve % 96.3'e varan oranlarda engelleme elde edilmiştir (Kim et al., 2000).

Zhou et al. (2008), yaptıkları bir çalışmada *Bacillus cereus* straini olan ZH14 isimli bakteri kültürünün TMV ile 1:1 oranında karıştırılarak uygulandığı durumda virüsü % 94 oranında engellediğini saptamışlardır.

TMV enfeksiyonuna karşı alglerin kullanıldığı çalışmalarda da önemli düzeylerde engelleme elde edilmiştir. Sano (1999), algden elde edilen sodyum tuzlarının TMV enfeksiyonuna karşı yüksek bir engelleme gücüne sahip olduğunu tespit etmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ise, kahverengi alg olan *Fucus evanescens*'ten elde edilen fucoidan maddesinin TMV enfeksiyonu üzerinde antiviral etki gösterdiğini gözlenmiştir (Lapshina et al., 2006). Nagorskaya et al. (2008), tarafından yapılan benzer bir çalışmada *Tichocarpus crinitus* (kırmızı alg)'tan elde edilen carrageenan maddesinin, tütün bitkisi yapraklarında TMV tarafından meydana gelen nekrotik lezyon sayısını % 87'ye varan oranlarda engellediği belirlenmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Çalışmanın materyalini, TMV'ne karşı antiviral etkileri araştırılan değişik bitki türlerinin ekstraktları ve bazı kimyasal maddeler oluşturmaktadır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 TMV enfeksiyonunu engelleme etkileri incelenen bitki türleri ve kimyasal maddeler.

Bitki Türleri		Kimyasal maddeler
Bilimsel ismi	Türkçe ismi	
<i>Allium cepa</i>	Soğan	Armure 300 EC
<i>Apium graveolens</i>	Kereviz	Aspirin
<i>Capsicum annuum</i>	Biber	Axial 45 EC
<i>Chrysanthemum sp.</i>	Krizantem	Crop-Set
<i>Dianthus caryophyllus</i>	Karanfil	Fusilade Forte
<i>Impatiens sp.</i>	Cam güzeli	HuwaSan TR-50
<i>Nerium oleander</i>	Zakkum	Puma Super
<i>Petroselinum crispum</i>	Maydanoz	Roundup Ultra
<i>Prunus avium</i>	Kiraz	Rovral 50 WP
<i>Prunus cerasus</i>	Vişne	SilverOXY
<i>Prunus persica</i>	Şeftali	Sodium dodecylsulfate (SDS)
<i>Punica granatum</i>	Nar	Topas 100 EC
<i>Rosa sp.</i>	Gül	Topik 240 EC
<i>Yucca elephantipes</i>	Fil ayaklı yukka	Triton X-100
		Virosan

Çizelge 3.1'de verilen bitkilerden toplanan yaprak örnekleri torbalara konularak denemeler süresince kullanılmak üzere derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Toplanan yaprak örneklerinin dondurucuda uzun süre kalmamasına dikkat edilerek gerektiğinde yenileri toplanmıştır.

Denemelerde kullanılmak üzere seçilen ve Çizelge 3.1'de verilen bitki türlerinin ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonu üzerine etkilerini saptamak amacıyla bazı test bitkilerinden yararlanılmıştır. TMV'nün çoğaltılması amacıyla *Nicotiana tabacum cv. Maden*, bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin engelleme etkisini saptamak amacıyla virüsün lokal leke konukçusu olan *Nicotiana glutinosa* ve denemenin en son aşamasında saksı denemelerinde kullanılmak amacıyla Akhisar 97 tütün çeşidi kullanılmıştır.

### 3.2 Yöntem

#### 3.2.1 Test bitkilerinin yetiştirilmesi

Denemeler süresince kullanılan test bitkilerine ait tohumlar içlerine torf doldurulan kaplara ekilmişler ve belli aralıklarla sulanarak çimlenmeye bırakılmıştır. Fideler tohum ekiminden 20-35 gün sonra yani 4-6 yapraklı oldukları dönemde torf ile dolu saksılara şaşırtılmışlardır. Şaşırtılan bitkiler şaşırtmadan yaklaşık 20-25 gün sonra kullanılabilir duruma gelmişlerdir. Tüm bu yetiştirme işlemleri, sıcaklığı  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  olan, orantılı nemi % 60-80 arasında değişen ve bitkilerin hastalıklar ve zararlılardan temiz olarak tutulduğu iklim odasında yapılmıştır (Corbett and Sisler, 1967).



Şekil 3.1 Test bitkilerine ait tohumların ekimi ve daha sonra şaşırtılan fideler.

TMV ile enfekteli olan bitkilerden alınan yapraklar havanda 0.01 M fosfat tamponu içinde ezilerek *Nicotiana tabacum* cv. *Maden* bitkilerine inokule edilmiş ve virüsün çoğaltılması sağlanmıştır. İnokulasyondan 2-3 hafta sonra toplanan yapraklar torbalara konulmuş ve gerektiğinde kullanılmak üzere derin dondurucuda saklanmıştır.

#### 3.2.2 Bitki ekstraktlarının, kimyasal maddelerin ve inokulumun hazırlanması

Daha önceden toplanıp denemelerde kullanılmak üzere dondurucuya konulan ve engelleme etkileri araştırılacak olan bitkilere ait yaprak örnekleri, ekstraksiyon için oda sıcaklığında çözümleri amacıyla dondurucudan çıkarılmıştır. Çözümlerinin ardından ayrı ayrı 1:1 (ağırlık:hacim) oranında saf su ile karıştırılmış ve havanda iyice ezilmeleri sağlanmıştır. Daha sonra filtre

kağıdından geçirilerek yaprak parçacıkları uzaklaştırılmış ve bitki ekstraktları elde edilmiştir. Kimyasal maddeler ise etiketlerinde tavsiye edilen dozlara göre hazırlanmıştır (Corbett and Sisler, 1967).

İnokulumu hazırlamak amacıyla dondurucudan çıkarılan TMV ile enfekteli *Nicotiana tabacum* cv. *Maden* bitkilerinin yaprakları 1:1 (ağırlık:hacim) oranındaki 0.01 M fosfat tamponu ile karıştırılmış ve havanda ezilmiştir. Ardından filtre kağıdından geçirilerek yaprak parçacıklarından arıtılan TMV içeren öz sular denemeler süresince inokulum olarak kullanılmıştır. İnokulum azaldıkça *Nicotiana tabacum* cv. *Maden* bitkilerinden yararlanılarak virüs çoğaltılmış ve bu yapraklar tekrar inokulum hazırlamak üzere dondurucuda saklanmıştır (Türkileri, 1991).

### 3.2.3 Test bitkilerine inokulasyon yöntemi

Bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin engelleme etkinliklerini saptamak amacıyla TMV'ün lokal leke konukçusu olan *N. glutinosa* test bitkileri kullanılmıştır. Bu amaçla *N. glutinosa* test bitkilerinin iyi gelişen 5-6 yaprağı dışındaki diğer yapraklar koparılmış ve iyi gelişen yapraklara aşındırıcı toz serpilmiştir. TMV içeren inokulum, farklı bitki ekstraktları veya kimyasal maddeler ile 1:1 (hacim:hacim) oranında karıştırılırken, kontrol için ise aynı oranda saf su ile karıştırılarak *N. glutinosa* test bitkilerinin aşındırıcı toz serpilmiş olan yapraklarına pamuklu çubuk ile inokule edilmiştir. Denemenin bu aşamasındaki inokulasyonlarda “yarım yaprak yöntemi” uygulanmıştır. Yarım yaprak yöntemine göre; yaprakların sağ yarısına inokulum+saf su, aynı yaprakların sol yarısına ise inokulum+bitki ekstraktı/kimyasal madde uygulanmıştır. Her yarım yaprağa eşit miktarda uygulama yapılan yapraklar inokulasyonun ardından yıkanmış ve iklim odasına konulmuştur.

### 3.2.4 Bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonunu engelleme etkinliklerinin saptanması

Denemeye alınan Çizelge 3.1'deki bitkilerin ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonu üzerindeki engelleme etkinliklerini saptamak amacıyla bu bitkilerden elde edilen ekstraktlar ve dozuna uygun şekilde hazırlanan kimyasal maddeler yarım yaprak yöntemiyle test bitkilerine inokule edilmiştir. *N. glutinosa* yapraklarında oluşan lekelerin sayılması ve değerlendirilmesinin ardından bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin TMV üzerindeki engelleme etkinlikleri

saptanmıştır. İnokulasyondan 2 gün sonra yapraklarda meydana gelen lekeler sayılmış ve aşağıdaki formül ile değerlendirilmiştir (Schade, 1958; Corbett and Sisler, 1967).

$$\% \text{ Engelleme} = 1 - (\text{ULL}/\text{TLL}) \cdot 100$$

ULL: Uygulama tarafında oluşan lokal leke sayısı

TLL: Kontrol tarafında oluşan lokal leke sayısı

Engelleme etkinliklerinin hesaplanmasından sonra istatistiksel analizler yapılmıştır. Bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonu üzerindeki engelleyicilikleri arasındaki ayrıcalıkların belirlenmesinde istatistiki değerlendirme için SPSS programı kullanılarak DUNCAN testinden yararlanılmış ve gerektiğinde ise TUKEY testi uygulanmıştır (Düzgüneş vd., 1987).

### **3.2.5 Seçilen bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonuna olan engelleyicilikleri üzerine bazı faktörlerin etkilerinin saptanması**

Test bitkilerindeki denemelerde TMV enfeksiyonunu en yüksek düzeyde engelleyen 3 bitki ekstraktı ve 3 kimyasal madde sonraki denemelerde kullanılmak üzere seçilmiştir. Bitki ekstraktlarındaki ve kimyasal maddelerdeki antiviral veya inhibitör maddelerin etki mekanizması hakkında fikir edinebilmek amacıyla seyreltme, sıcaklık ve virüs inokulasyonundan önce veya sonra uygulanma gibi faktörlerin etkileri araştırılmıştır.

#### **3.2.5.1 Seyreltmenin etkisi**

Seçilen 3 bitki ekstraktının ve 3 kimyasal maddenin her biri saf su ile ayrı ayrı 1/10, 1/50 ve 1/100 oranında seyreltilmiştir. Daha sonra 1:1 oranında inokulum ile karıştırılarak test bitkilerine yarım yaprak yöntemine göre inokule edilmiştir.

#### **3.2.5.2 Sıcaklığın etkisi**

Bitki ekstraktları ve kimyasal maddeler eppendorf tüplere konulmuş ve ayrı ayrı 60°C, 70°C ve 80°C'de 10'ar dakika süre ile tutulmuştur. Tüplerin içindeki ekstraktlar ve kimyasal maddeler istenen sıcaklığa ulaştığında süre ölçülmeye başlanmıştır. 10 dakikanın sonunda tüpler hemen musluk altında soğutulmuştur.

Soğutmanın ardından her biri eşit miktarda inokulum ile karıştırılarak test bitkilerine yarım yaprak yöntemine göre inokulasyon yapılmıştır.

### **3.2.5.3 Bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin virüs inokulasyonundan önce veya sonra uygulanmalarının etkisi**

#### **•Bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin virüs inokulasyonundan önce uygulanmaları:**

Bitki ekstraktları veya kimyasal maddeler test bitkileri yapraklarının sol yarısına uygulanmıştır. Yaprakların sağ yarısına ise sadece saf su uygulanmıştır. Uygulamadan 2, 4, 8, 16 ve 24 saat sonra bu yaprakların tüm yüzeyine virüs inokule edilmiştir.

#### **•Bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin virüs inokulasyonundan sonra uygulanmaları:**

Test bitkileri yapraklarının tüm yüzeyi virüs ile inokule edildikten 2, 4, 8, 16 ve 24 saat sonra aynı yaprakların sol yarısına bitki ekstraktları veya kimyasal maddeler, sağ yarısına ise sadece saf su uygulanmıştır.

### **3.2.6 Engelleyici etkisi en yüksek olan bitki ekstraktı ve kimyasal madde ile tütün bitkilerinde TMV enfeksiyonunun engellenmesi için yapılan denemeler**

Bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin engelleyicilikleri üzerinde uygulama zamanının etkisini saptamak amacıyla yapılan denemelere göre; TMV enfeksiyonunu en yüksek oranda engelleyen 1 bitki ekstraktı ve 1 kimyasal madde saksı denemelerinde kullanılmak üzere seçilmiştir. Denemelere göre; bitki ekstraktı virüs inokulasyonundan 2 ve 4 saat önce, kimyasal madde ise virüs inokulasyonundan 2 ve 4 saat sonra en fazla etkiyi göstermiştir. Bu nedenle saksı denemeleri de bitki ekstraktı için inokulasyondan 2 ve 4 saat önce, kimyasal madde için ise 2 ve 4 saat sonra olacak şekilde 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Bitki ekstraktı, kimyasal madde ve virüs püskürtme yoluyla Akhisar 97 tütün çeşidine verilmiştir. İnokulasyondan 2-3 hafta sonra yaprak örnekleri alınmış ve değerlendirme için Das-ELISA testi uygulanmıştır. Saksı denemeleri sonucu

toplanan örnekler TMV için testlenmiştir. ELISA testi aşağıdaki şekilde uygulanmıştır (Clarck and Adams, 1977).

1. ELISA tabağının her bir çukuruna kaplama tamponunda 1:1000 oranında seyreltilmiş olan IgG'den 200 µl eklenerek 37°C'de 4 saat inkube edilmiştir.
2. İnkubasyonun ardından tabak yıkama tamponu ile yıkanarak 3 dakika beklenmiş ve bu işlem 4 kez tekrarlanmıştır.
3. Ekstraksiyon tamponu ile hazırlanan örnekler, pozitif ve negatif kontroller her bir çukura 200 µl eklenerek 4°C'de bir gece inkube edilmiştir.
4. ELISA tabağı ikinci aşamada açıklandığı şekilde tekrar yıkanmıştır.
5. Konjuge edilmiş IgG, konjuge tamponu içerisinde 1:1000 oranında seyreltilip her bir çukura 200 µl eklenerek 37 °C'de 4 saat inkube edilmiştir.
6. ELISA tabağı ikinci aşamada açıklandığı şekilde tekrar yıkanmıştır.
7. Substrat çözeltisine 1mg/ml olacak şekilde substrat (paranitrofenilfosfat) her bir çukura 200 µl konularak oda sıcaklığında inkube edilmiştir.

Sonuçlar; sarı renk oluşumu gözlenerek ve 405 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek değerlendirilmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

##### 4.1 Bitki Ekstraktlarının ve Kimyasal Maddelerin TMV Enfeksiyonu Üzerindeki Engelleyici Etkinlikleri

Çizelge 3.1’de verilen bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonu üzerindeki engelleme etkinliklerini araştırmak amacıyla *N. glutinosa* bitkilerinde yürütülen denemelerin sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

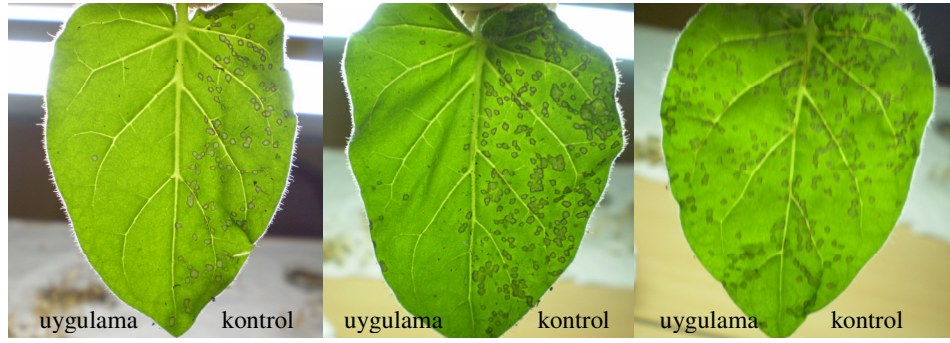
Çizelge 4.1 Bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonunu engelleme oranları.

Bitki Ekstraktları	Ortalama Engelleme (%)	Kimyasal Maddeler	Ortalama Engelleme (%)
<i>Dianthus caryophyllus</i>	97.19 a*	SDS	98.30 a
<i>Yucca elephantipes</i>	94.24 a	Triton X-100	97.75 a
<i>Capsicum annuum</i>	92.58 a	HuwaSan	84.43 ab
<i>Punica granatum</i>	88.96 a	Virosan	63.60 bc
<i>Impatiens</i> sp.	74.95 ab	Aspirin	45.68 cd
<i>Rosa</i> sp.	62.47 bc	Roundup Ultra	39.35 cde
<i>Petroselinum crispum</i>	46.12 cd	Axial 45 EC	34.88 def
<i>Chrysanthemum</i> sp.	38.87 cd	Puma Super	29.85 def
<i>Prunus persica</i>	37.38 cd	SilverOXY	28.49 def
<i>Apium graveolens</i>	34.95 d	Rovral 50 WP	27.18 def
<i>Prunus cerasus</i>	31.88 d	Topas 100 EC	24.05 def
<i>Allium cepa</i>	31.60 d	Topik 240 EC	22.45 def
<i>Nerium oleander</i>	27.97 d	Crop-Set	21.82 def
<i>Prunus avium</i>	25.92 d	Armure 300 EC	13.24 ef
		Fusilade Forte	10.24 f

\* Aynı harfleri taşıyan ortalamalar p=0.05 olasılığa göre aynı gruptandır.

Çizelge 4.1’de görüldüğü bitki ekstraktları içinde TMV enfeksiyonunu en yüksek düzeyde *D. caryophyllus*, *Y. elephantipes*., *C. annuum* ve *P. granatum* engellerken, kimyasal maddeler içinde en yüksek düzeyde engellemeyi SDS, Triton X-100 ve HuwaSan göstermiştir.

Bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonunu engelleme yüzdelerinin hesaplanmasında kullanılan lokal lekelerin görünümü Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1 Test bitkilerine mekanik inokulasyon sonucu oluşan belirtiler

## 4.2 Seçilen Bitki Ekstraktları ve Kimyasal Maddelerin TMV Enfeksiyonuna Olan Engelleyicilikleri Üzerinde Bazı Faktörlerin Etkileri

Daha sonraki denemelerde kullanılacak olan bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin seçimleri Çizelge 4.1’de veriler dikkate alınarak yapılmıştır. Bu amaçla bitki ekstraktlarından *D. caryophyllus*, *Y. elephantipes.*, *C. annuum*, kimyasal maddelerden ise SDS, Triton X-100 ve HuwaSan seçilmiş ve denemelerde kullanılmıştır. Seçilen bu bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonuna olan engelleyicilikleri üzerinde seyreltme, sıcaklık ve virüs inokulasyonundan önce veya sonra uygulanma gibi faktörlerin etkilerini araştırmak amacıyla denemeler yapılmıştır.

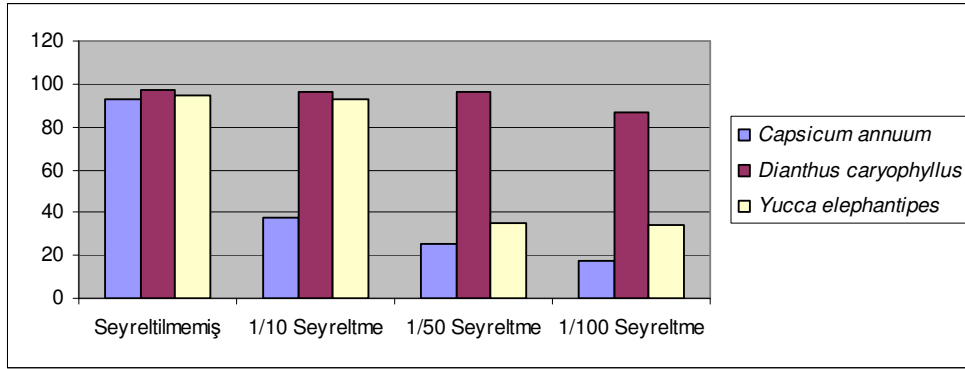
### 4.2.1 Seyreltmenin etkisi

Seçilen bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonuna olan engelleyicilikleri üzerinde seyreltmenin etkisini tespit etmek amacıyla yapılan denemelerin sonuçları Çizelge 4.2 ile Şekil 4.2 ve Çizelge 4.3 ile Şekil 4.3’te verilmektedir.

Çizelge 4.2 Seyreltmenin bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde etkisi

Ortalama Engelleme (%)			
Seyreltme Basamağı	<i>Capsicum annuum</i>	<i>Dianthus caryophyllus</i>	<i>Yucca elephantipes</i>
Seyreltilmemiş	92.58 a*	97.19 a	94.24 a
1/10	37.60 b	96.70 a	93.19 a
1/50	25.24 c	96.07 a	35.29 b
1/100	17.88 c	86.80 b	34.37 b

\* Aynı harfleri taşıyan ortalamalar p=0.05 olasılığa göre aynı gruptandır.



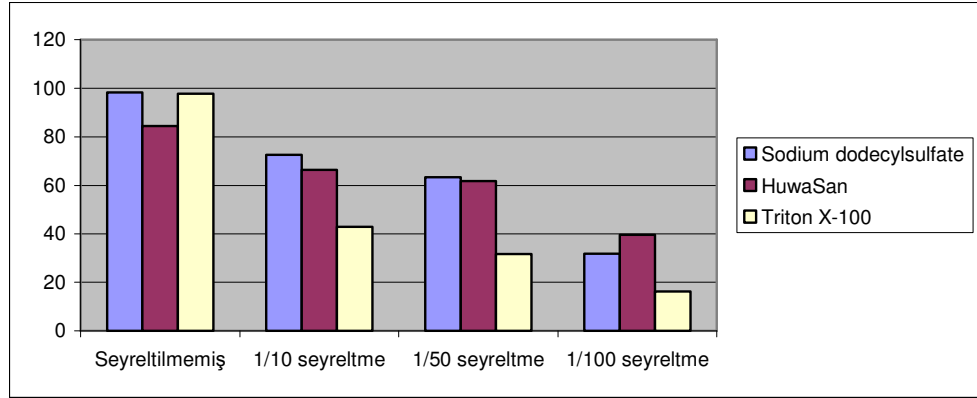
Şekil 4.2 Seyreltmenin bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde etkisi.

Çizelge 4.2'ye göre seyreltmeden en az etkilenen ekstrakt *D. caryophyllus* bitkisine aittir. *D. caryophyllus* ekstraktının, 1/10 ve 1/50 oranındaki seyreltme basamaklarında TMV enfeksiyonunu yüksek düzeyde engellediği görülmektedir. *C. annuum* bitkisinden elde edilen ekstraktın engelleyiciliği ise seyreltme ile önemli düzeyde azalma göstermiştir.

Çizelge 4.3 Seyreltmenin kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde etkisi.

Ortalama Engelleme (%)			
Seyreltme Basamağı	Sodium dodecylsulfate	HuwaSan	Triton X-100
Seyreltilmemiş	98.30 a*	84.43 a	97.75 a
1/10	72.60 b	66.31 b	42.87 b
1/50	63.28 c	61.66 b	31.69 c
1/100	31.77 d	39.57 c	16.32 d

\*Aynı harfleri taşıyan ortalamalar p=0.05 olasılığa göre aynı gruptandır.



Şekil 4.3 Seyreltmenin kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde etkisi.

Çizelge 4.3 incelendiğinde; Triton X-100'in seyreltme sonucu virüsü engelleme yeteneğinde önemli azalma olduğu görülmektedir. SDS ve HuwaSan'ın engelleyiciliklerinde 1/10 ve 1/50 oranlarındaki seyreltmelerde bir miktar azalma olmasına karşın her ikisi için de önemli düzeyde azalma 1/100 seyreltme basamağında gerçekleşmiştir.

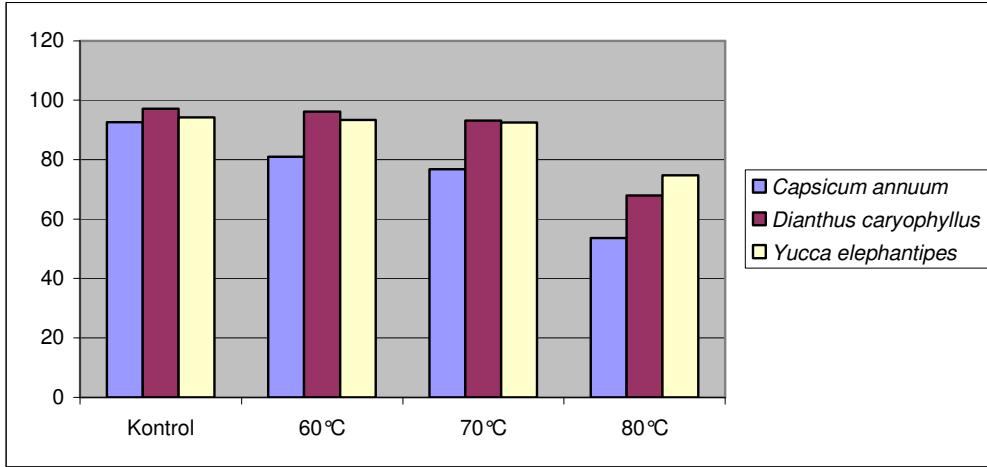
#### 4.2.2 Sıcaklığın etkisi

Seçilen bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin üzerinde sıcaklığın etkisini saptamak amacıyla yapılan denemelerin sonuçları Çizelge 4.4 ile Şekil 4.4 ve Çizelge 4.5 ile Şekil 4.5'te verilmektedir.

Çizelge 4.4 Seçilen bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde sıcaklığın etkisi.

Ortalama Engelleme (%)			
Sıcaklık (°C)	<i>Capsicum annuum</i>	<i>Dianthus caryophyllus</i>	<i>Yucca elephantipes</i>
Kontrol	92.58 a*	97.19 a	94.24 a
60	81.03 b	96.20 a	93.31 a
70	76.76 b	93.14 a	92.54 a
80	53.66 c	67.94 b	74.78 b

\* Aynı harfleri taşıyan ortalamalar p=0.05 olasılığa göre aynı gruptandır.



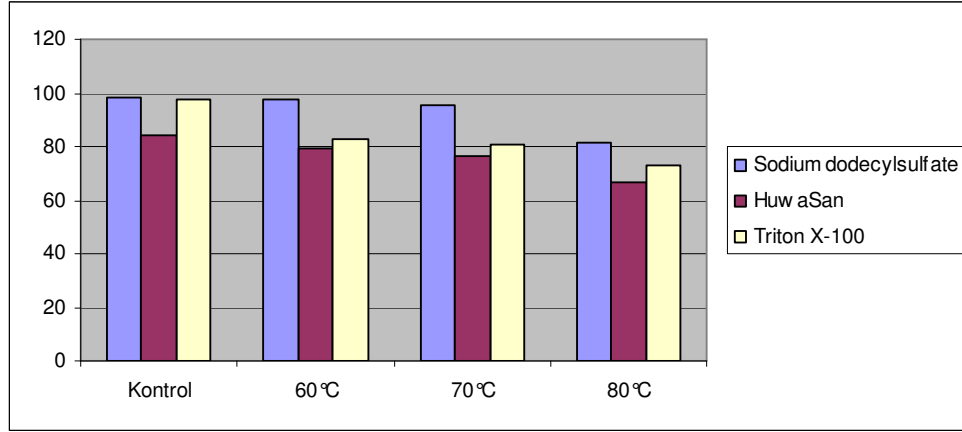
Şekil 4.4 Seçilen bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde sıcaklığın etkisi.

Çizelge 4.4 incelendiğinde; *D. caryophyllus* ve *Y. elephantipes* ekstraktlarının 60°C ve 70 °C’de ısıtılmalarının TMV enfeksiyonu üzerindeki engelleyiciliklerinde önemli bir değişikliğe yol açmadığı görülmektedir. Ancak her iki ekstraktın da 80 °C’de ısıtılmaları sonucu engelleyiciliklerinde azalma meydana gelmiştir. *C. annuum* ekstraktı ise 80 °C’de ısıtma ile TMV enfeksiyonu üzerindeki etkinliğini önemli derecede kaybetmiştir.

Çizelge 4.5 Seçilen kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde sıcaklığın etkisi.

Ortalama Engelleme (%)			
Sıcaklık (°C)	Sodium dodecylsulfate	HuwaSan	Triton X-100
Kontrol	98.30 a*	84.43 a	97.75 a
60	97.84 a	79.35 a	82.47 b
70	95.71 a	76.23 a	80.91 b
80	81.60 b	66.79 a	72.74 b

\* Aynı harfleri taşıyan ortalamalar p=0.05 olasılığa göre aynı gruptandır.



Şekil 4.5 Seçilen kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde sıcaklığın etkisi.

Çizelge 4.5'e göre; kimyasal maddelerin ısıtılmaları sonucu TMV enfeksiyonuna olan engelleyiciliklerinde önemli bir değişiklik olmazken, TMV enfeksiyonu üzerinde engelleyiciliğini en az yitiren kimyasal maddenin HuwaSan olduğu görülmektedir.

#### 4.2.3 Uygulanma zamanının etkisi

Seçilen bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin virüs inokulasyonundan önce veya sonra uygulanması durumunda engelleyicilikleri üzerindeki etkisini araştırmak için denemelerin sonuçları Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.6 Bitki ekstraktlarının virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde uygulama zamanının etkisi.

Uygulanma Zamanı	Ortalama Engelleme (%)		
	<i>Capsicum annuum</i>	<i>Dianthus caryophyllus</i>	<i>Yucca elephantipes</i>
24 saat önce	8.30 e*	18.03 de	16.75 e
16 saat önce	14.04 de	28.77 d	29.05 cd
8 saat önce	15.41 cde	63.61 bc	33.52 cd
4 saat önce	22.06 bc	69.05 b	36.24 c
2 saat önce	26.77 b	73.74 b	48.69 b
<b>Virüs ile birlikte</b>	<b>92.58 a</b>	<b>97.14 a</b>	<b>94.24 a</b>
2 saat sonra	19.95 bcd	52.10 c	36.22 c
4 saat sonra	16.59 cd	25.98 d	27.77 cde
8 saat sonra	18.84 cd	18.65 de	26.03 cde
16 saat sonra	15.34 cde	16.56 de	22.86 de
24 saat sonra	12.91 de	6.16 e	16.13 e

\*Aynı harfleri taşıyan ortalamalar p=0.05 olasılığa göre aynı gruptandır.

Çizelge 4.6 incelendiğinde; bitki ekstraktlarının test bitkilerine TMV inokulasyonundan önce veya sonra uygulanmalarının engelleyiciliklerinde azalmaya neden olduğu görülmektedir. Bitki ekstraktlarının virüs inokulasyonundan sonra uygulanmasının genel olarak engelleyiciliklerini önemli derece azalttığı saptanmıştır. İnokulasyondan önce uygulanan ekstraktlar arasında engelleme etkisini en az yitiren ekstrakt ise *D. caryophyllus*'tur.

Çizelge 4.7 Kimyasal maddelerin virüs enfeksiyonunu engelleyicilikleri üzerinde uygulama zamanının etkisi.

<b>Ortalama Engelleme (%)</b>			
<b>Uygulanma Zamanı</b>	<b>Sodium dodecylsulfate</b>	<b>HuwaSan</b>	<b>Triton X-100</b>
24 saat önce	9.80 e*	7.52 e	14.19 ef
16 saat önce	12.80 e	10.81 de	20.03 de
8 saat önce	16.31 de	13.03 de	22.36 de
4 saat önce	27.23 d	15.78 de	23.42 d
2 saat önce	28.96 d	25.00 cd	24.15 d
<b>Virüs ile birlikte</b>	<b>98.30 a</b>	<b>84.43 a</b>	<b>97.75 a</b>
2 saat sonra	78.85 b	49.39 b	45.43 b
4 saat sonra	68.29 bc	48.25 b	34.31 c
8 saat sonra	60.63 c	36.78 bc	27.98 cd
16 saat sonra	9.58 e	16.37 de	20.34 de
24 saat sonra	3.38 e	5.05 e	10.54 f

\* Aynı harfleri taşıyan ortalamalar p=0.05 olasılığa göre aynı gruptandır.

Çizelge 4.7'deki verilere göre, kimyasal maddeler de bitki ekstraktlarında olduğu gibi test bitkilerine TMV inokulasyonundan önce veya sonra uygulandıklarında engelleyiciliklerinde azalma ortaya çıkmıştır. Kimyasal maddelerin virüs inokulasyonundan sonra uygulanmaları durumunda engelleme etkilerini daha az yitirdikleri gözlenirken, engelleme etkisini en az yitiren kimyasal maddenin SDS olduğu görülmektedir.

### **4.3 Engelleyici Etkisi En Yüksek Olan Bitki Ekstraktı ve Kimyasal Madde İle Akhisar 97 Tütün Çeşidinde TMV Enfeksiyonunun Engellenmesi**

Akhisar 97 tütün çeşidinde TMV enfeksiyonunu engellemek amacıyla yapılan denemelerde kullanılan bitki ekstraktı ve kimyasal madde, 4.1'de elde edilen engelleme oranları ve 4.2'deki faktörlerden etkilenme durumlarına göre seçilmişlerdir. Buna göre; bitki ekstraktlarından *D. caryophyllus*, kimyasal maddelerden ise SDS seçilmiş ve yürütülen denemelerde kullanılmıştır. 4.2.3'e

göre *D. caryophyllus* ekstraktı inokulasyon öncesi 2 ve 4 saat önce, SDS ise inokulasyon sonrası 2 ve 4 saat sonraki uygulamalardaki daha etkili bulunduğu için bu uygulama zamanlarına göre Akhisar 97 tütün çeşidine ait bitkilere püskürtme yoluyla uygulanmışlardır. *D. caryophyllus* ekstraktı ve SDS'ın püskürtme yoluyla tütün bitkilerine uygulanmasının ekstraktın ve kimyasal maddenin engelleyiciliklerine olan etkilerini araştırmak amacıyla yürütülen denemenin sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8 *D. caryophyllus* ekstraktı ve Sodium dodecylsulfate'ın Akhisar 97 tütün çeşidinde TMV enfeksiyonu üzerindeki engelleme etkileri.\*

Uygulanma Zamanı	<i>Dianthus caryophyllus</i>	Sodium dodecylsulfate
İnokulasyon öncesi 2 saat	0.7511	—**
İnokulasyon öncesi 4 saat	0.8400	—**
Kontrol	1.2215	1.2342
İnokulasyon sonrası 2 saat	—**	1.1725
İnokulasyon sonrası 2 saat	—**	1.2005

\* 405 nm'de ölçülen absorbans değerleri

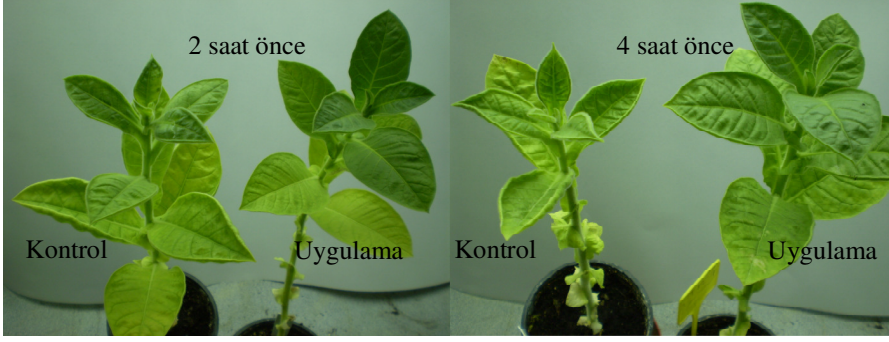
+ kontrol: 1.8150

- kontrol: 0.1280

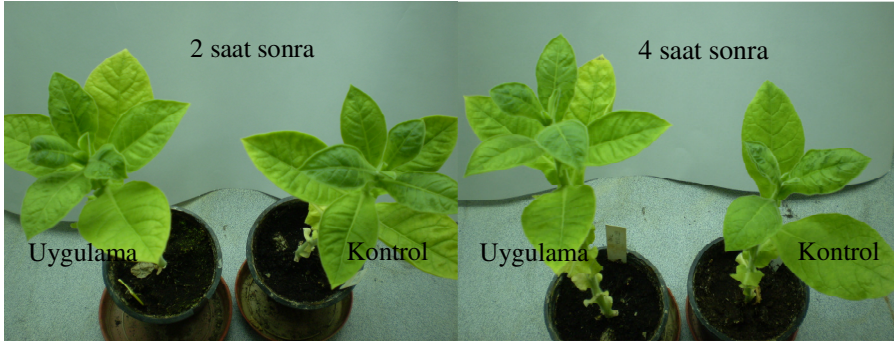
\*\* : test yapılmadı

Yapılan ELISA testi sonucuna göre, bitki ekstraktı kimyasal maddeye göre daha etkili bulunmuştur. *D. caryophyllus* ekstraktının inokulasyondan 4 saat önce uygulanması durumunda kontrole göre % 32, ekstraktın virüs inokulasyonundan 2 saat önce püskürtülmesi durumunda ise % 40 düzeyinde virüs konsantrasyonunda azalma sağladığı gözlenmiştir. SDS ise inokulasyondan 2 saat önce uygulandığında kontrole göre % 7, inokulasyondan 4 saat sonra uygulandığında % 5 oranlarında virüs konsantrasyonunda azalma sağlamıştır (Çizelge 4.8).

Yapılan saksı denemelerinde uygulamalar sonucunda bitkilerde meydana gelen sararma, bodurlaşma, şekil bozukluğu vb. belirtiler Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de verilmektedir.



Şekil 4.6 İnokulasyondan 2 ve 4 saat önce *Dianthus caryophyllus* ekstraktı uygulaması sonucu Akhisar 97 tütün bitkilerinde oluşan belirtiler.



Şekil 4.7 İnokulasyondan 2 ve 4 saat sonra Sodium dodecylsulfate uygulaması sonucu Akhisar 97 tütün bitkilerinde oluşan belirtiler.

## 5. TARTIŞMA

TMV tüm dünyada yayılış göstermesi ve birçok sebze, süs bitkisini, yabancı otu içine alan geniş bir konukçu dizisine sahip olması nedeniyle oldukça önemli bir viral etmendir. Bununla birlikte, bu virüsün çok kolay yayılabilmesi hastalığın kontrolünü güçleştirmektedir. Mekanik olarak taşınan bu virüs hızlı ve etkili bir enfeksiyon meydana getirmektedir (Bagley, 2001).

TMV enfeksiyonu nedeniyle tütün bitkilerinin verim ve kalitesinde önemli düzeyde azalmalar görülmektedir. Enfeksiyon zamanı ve bitki türü enfeksiyon şiddetini ve ürün kaybını etkileyen önemli bir faktördür. TMV enfeksiyonuna bağlı olarak tütün bitkilerinde % 60'a varan oranlarda ürün kayıpları görülebilmektedir (Valleau and Johnson, 1927). Diğer bir çalışmada ise TMV'nün değişik tütün çeşitlerinde % 13.5-48.8 arasında değişen verim kayıpları oluşturduğu saptanmıştır. Domateslerde bu virüsün oluşturduğu ürün kaybı erken enfeksiyon olması durumunda yaklaşık % 30-50 civarındadır. Patlıcanlarda ise TMV'nün tahminen % 25 oranında ürün kaybı oluşturabildiği görülmüştür (Erkan ve Momol, 1989).

Bu çalışmada, ekonomik açıdan önemli kayıplara yol açabilen ve çok kolay yayılabilmesi nedeniyle kontrolü zor olan bu virüse karşı değişik bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin enfeksiyon üzerindeki engelleyici etkileri araştırılmıştır.

14 farklı bitki ekstraktı ile yapılan denemelerin sonucunda kullanılan bitki ekstraktlarının TMV enfeksiyonunu % 25.92-97.19 arasında değişen oranlarda engellediği belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Bitki ekstraktları içerisinde *D. caryophyllus* (% 97.19), *Y. elephantipes* (% 94.24), *C. annuum* (% 92.58) bitkilerine ait ekstraktların diğerlerine göre TMV enfeksiyonunu daha yüksek düzeyde engellediği saptanmıştır.

*D. caryophyllus* ekstraktı ile elde edilen olumlu sonuçlar, Stirpe et al. (1981) tarafından yapılan çalışmada da elde edilmiş ve *D. caryophyllus* ekstraktı TMV ile aynı anda uygulandığında *N. glutinosa* yapraklarında meydana gelen lokal lezyon sayısını azaltmıştır.

*C. annuum* ekstraktı kullanılarak bu çalışmada elde edilen bulgular Apablaza and Bernier (1972) tarafından yapılan çalışmadaki sonuçlar ile uyum

göstermektedir. Bu araştırıcılar tarafından da *C. annuum* ekstraktının adı geçen virüsü karşı engelleyici etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Hiramatsu et al. (1987) yaptıkları çalışmalarında *Y. elephantipes* ekstraktının sağladığı engellemeye benzer şekilde virüsün enfeksiyonunu frenlediğini belirtmektedir.

15 farklı kimyasal madde ile yapılan denemelerin sonucuna göre; kimyasal maddelerin % 10.24-98.30 arasında değişen oranlarda TMV enfeksiyonunu engelledikleri görülmüştür (izelge 4.1). Kimyasal maddeler içerisinde SDS (% 98.30), Triton X-100 (% 97.75) ve HuwaSan (% 84.43)'in kullanılan diğer kimyasal maddelere göre TMV enfeksiyonunu daha yüksek düzeyde engelledikleri saptanmıştır.

Sodium dodecylsulfate ile elde edilen bulgular Rafikova et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Bu çalışmada düşük dozdaki SDS'in TMV'nn partikül yapısını bozarak etkili olabildiği belirtilmektedir.

Çizelge 4.1'de belirtildiği şekilde Triton X-100 TMV enfeksiyonunu önemli düzeyde engellemiştir. Aynı kimyasal madde ile Panyukov et al. (2008)'un yaptığı çalışmada da Triton X-100'n TMV'nn partikül yapısını bozduğu gözlenmiştir.

HuwaSan ile TMV enfeksiyonunu engelleme yönünden olumlu sonuçlar elde edilmiştir (izelge 4.1). TMV enfeksiyonuna karşı HuwaSan'ın etkili maddesi olan hydrogen peroxide ile yapılan bir çalışmada, *Arabidopsis thaliana* tohumlarına % 30 oranında hydrogen peroxide uygulaması sonucu TMV'ne karşı dayanıklılığın arttığı saptanmıştır (Ginzberg and Lomanov, 2006).

Çalışmanın 2. aşamasında pratikte kullanımları düşünülerek sıcaklık ve seyreltme gibi bazı faktörlerin engelleyiciliklerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla yapılan denemelerde en yüksek düzeyde engelleme göstermeleri nedeniyle bitki ekstraktları arasından *D. caryophyllus*, *C. annuum* ve *Y. elephantipes*, kimyasal maddeler arasından SDS, Triton X-100 ve HuwaSan kullanılmıştır. Bunların üzerinde sıcaklık ve seyreltme gibi bazı faktörlerin etkileri incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre; seyreltmenin bitki ekstraktlarının engelleyiciliklerini olumsuz yönde etkilediği görülmüştür. Seyreltmeden en az etkilenen bitki ekstraktı *D. caryophyllus* olurken, en fazla etkilenen ise *C. annuum*

ekstraktı olmuştur. *D. caryophyllus* ekstraktı 1/100 oranında seyreltilmesine karşın TMV enfeksiyonu üzerinde önemli düzeyde engelleme göstermiştir (Çizelge 4.2).

Blaszczak et al. (1959), bitki ekstraktlarının engelleme etkilerini yitirmemeleri açısından en fazla 1/10 oranında seyreltilmeleri gerektiğini açıklamaktadırlar. Buna karşın, bazı bitki ekstraktlarının daha yüksek oranlarda seyreltilmelerine karşın engelleyiciliklerini sürdürdüklerini bildirmektedirler.

Kimyasal maddeler üzerinde seyreltmenin etkisini araştırmak amacıyla yapılan denemeler sonucunda bitki ekstraktlarında gözleendiği gibi kimyasal maddelerin de seyreltilmeleri durumunda engelleyiciliklerinin azaldığı görülmüştür. Triton X-100 1/10 oranında seyreltilmesi durumunda bile virüse olan engelleyiciliğinde önemli seviyede azalma göstererek seyreltmeden en çok etkilenen kimyasal madde olmuştur (Çizelge 4.3).

Seyreltmenin etkisinin araştırıldığı denemelerden de görüldüğü gibi, hem bitki ekstraktlarının hem de kimyasal maddelerin seyreltilmeleri sonucu engelleme etkilerinde azalma ortaya çıkmıştır. Genel olarak engelleyiciliğin seyreltme ile azalmasına karşın, Yoshizaki and Murayama (1966) tarafından yapılan bir çalışmada, *Chenopodium album* ekstraktlarının  $10^{-4}$  seyreltme ile TMV enfeksiyonunu engellediği bulunmuştur.

Bazı antiviral maddeler sıcaklık artışıyla birlikte engelleyiciliklerini hemen yitirmelerine karşın, bazıları yüksek sıcaklıklarda bile engelleyiciliğini sürdürebilmektedir. Prasad et al. (1995), yaptıkları çalışmada *Clerodendrum inerme*'den izole edilen iki glikoproteinin  $80^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar olan sıcaklıklarda bile engelleyici etkilerinin devam ettiğini ileri sürmektedir. Diğer bir çalışmada ise; *Chenopodium album* ekstraktlarının belirli süreler içerisinde  $80-100^{\circ}\text{C}$ 'de tutulmakla aktivitelerini yitirmedikleri ve TMV enfeksiyonunu engelledikleri bildirilmektedir (Yoshizaki and Murayama, 1966).

Sıcaklığın bitki ekstraktlarının TMV enfeksiyonu üzerindeki engelleyiciliklerine olan etkisini belirlemek amacıyla yapılan denemelere göre; *D. caryophyllus* ve *Y. elephantipes* ekstraktlarının  $60^{\circ}\text{C}$  ve  $70^{\circ}\text{C}$ 'de engelleyicilikleri azalmamış, ancak  $80^{\circ}\text{C}$ 'de azalma meydana geldiği gözlenmiştir. *C. annuum* ekstraktının ise  $60^{\circ}\text{C}$ 'den itibaren engelleyiciliğinde azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.4). Bawden (1954), sıcaklık artışıyla birlikte engelleyiciliğin

azalmasını; protein yapısındaki inhibitör maddelerin 70°C’de ısıtılmaları sonucu yapılarının bozulabilmesi ile ilişkili olduğunu açıklamaktadır.

Kimyasal maddeler ile yapılan denemelere göre ise; HuwaSan sıcaklık artışına rağmen engelleyiciliğini pek kaybetmemiştir. Buna karşın; Triton X-100’in engelleyiciliğinde 60°C’de düşüş gözlenirken, SDS’ın TMV enfeksiyonu üzerindeki etkisi ise 80°C’de azalmaya başlamıştır.

Bitki virüs hastalıklarını engelleyen maddeler; enfeksiyonu engelleyenler ve virüsün çoğalmasını engelleyenler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Enfeksiyonu engelleyen maddeler virüs ile eş zamanlı olarak uygulandıklarında enfeksiyon oluşumunu önlemektedirler. Virüsün çoğalmasını engelleyen maddeler ise; enfekteli yapraklara uygulandıklarında virüs çoğalmasını geciktirmektedirler (Bawden, 1954).

Bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin engelleme mekanizmasını tespit etmek ve uygulamada kolaylıklar sağlayabilmek amacıyla bu çalışmada, seçilen bitki ekstraktları ve kimyasal maddeler inokulasyondan önce veya sonra test bitkilerine uygulanmıştır.

Bitki ekstraktlarının TMV enfeksiyonu üzerindeki etki mekanizmasını belirlemek için yapılan denemelerin sonuçlarına (Çizelge 4.6) göre, bitki ekstraktlarının inokulasyondan önce uygulanmaları durumunda engelleyiciliklerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu da bitki ekstraktlarının enfeksiyon inhibitörleri olarak bitki duyarlılığı üzerinde etki yaptıklarını göstermektedir.

Ostermann et al. (1987) tarafından yapılan çalışmada *D. caryophyllus* ekstraktının virüs inokulasyonundan önce uygulandığı durumda etkililiğinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ekstraktların yaprak yüzeyinde oluşan enfekte olabilen noktalar ile birleşerek virüsün bitkiye giriş noktalarını ortadan kaldırdığı veya bitkinin virüse olan duyarlılığını değiştirerek TMV enfeksiyonunu engellediği düşünülmektedir.

Hiramatsu et al. (1987), *Yucca recurvifolia*’nın yaprağından ve *Lentinus edodes*’in meyve kısmından elde ettikleri ekstraktlarla yaptıkları çalışmada bu ekstraktların TMV enfeksiyonunu engelleyici etkileri olduğunu saptamışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre; ortaya çıkan engelleme bitki ekstraktlarının virüs

enfeksiyonu üzerinde tedavi edici değil, önleyici etkileri olduğu yönünde açıklanmıştır. Van Kammen et al. (1961), enfeksiyon inhibitörünün, bitki hücresi yüzeyinde oluşan enfekte olabilen noktalar için virüs partikülleri ile rekabete girerek engellemeye neden olduğunu belirtmiştir.

Kimyasal maddelerle yapılan denemelere göre , inokulasyon öncesi yapılan uygulamalarda engelleme oldukça düşük seviyelerde iken, inokulasyondan sonra yapılan uygulamalarda engelleyiciliğin daha yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.7). Yapılan bir çalışma da Dodecylbensulfonate'ın TMV enfeksiyonunu engellenmesinin; virüsün parçalanması ve inaktivasyonu sonucu değil, TMV enfeksiyonunun gerçekleştiği hücrede enfeksiyonun ilk aşamasında enfekteli hücre metabolizmasındaki ve membranın fonksiyonundaki bozukluktan dolayı viral replikasyonun baskılanmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Watanabe et al., 1980).

Bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin engelleyicilikleri üzerine uygulama zamanının etkisini araştırmak için yapılan denemelerin sonuçlarına göre; bitki ekstraktları arasından *D. caryophyllus* ekstraktının inokulasyondan 2 ve 4 saat önce, kimyasal maddeler arasından ise SDS'in inokulasyondan 2 ve 4 saat sonra en yüksek düzeyde engelleme etkisine sahip oldukları bulunmuştur (Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7).

Çalışmanın son aşamasında Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7'ye göre etkili oldukları belirlenen inhibitör maddelerin pratikteki uygulanabilirliğini araştırmak amacıyla *D. caryophyllus* ekstraktı inokulasyondan 2 ve 4 saat önce, SDS inokulasyondan 2 ve 4 saat sonra Akhisar 97 tütün çeşidine püskürtme şeklinde uygulanmıştır. *D. caryophyllus* ekstraktının inokulasyondan 2 ve 4 saat önce, SDS inokulasyondan 2 ve 4 saat sonra Akhisar 97 tütün çeşidine uygulanmasıyla yürütülen denemeler ELISA testi ile değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre (Çizelge 4.8); bitki ekstraktının kimyasal maddeye oranla daha etkili olduğu gözlenmiştir. *D. caryophyllus* ekstraktının inokulasyondan 2 saat önce uygulandığı durumda daha yüksek bir engelleme tespit edilmiştir. Ancak her iki inhibitör maddenin de püskürtme şeklinde bitkilere uygulandığı bu aşamada, mekanik inokulasyonla elde edilen sonuçlara göre engelleme etkilerinde azalma gerçekleşmiştir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerle TMV enfeksiyonunun engellenmesi ve engelleyici etkisi saptanan maddelerin bazı faktörlerden etkilenme durumlarının incelenmesi amacıyla bazı denemeler yapılmıştır. Yürütülen bu denemelerde, bu bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin etki mekanizmaları ve pratikte uygulanabilme olanakları hakkında bilgi edinilmesi sağlanmıştır.

Bu çalışma ile, hem bazı bitki ekstraktlarının hem de bir kısım kimyasal maddelerin TMV enfeksiyonu üzerinde engelleme etkisine sahip oldukları saptanmıştır. Ancak, virüslerle savaşmada kimyasal maddelerin ve bitki ekstraktlarının kullanılması için bazı özellikleri barındırmaları gerekmektedir:

- Antiviral bir bileşiğin bitkiye zarar vermeden virüs enfeksiyonunu ve virüsün çoğalmasını engellemesi gerekmektedir. Bu durum virüslerle kimyasal mücadelede en büyük problemdir.
- Etkili bir antiviral bileşik, virüsün vektörler aracılığıyla taşınımının engellenmesi için bitki içinde sistemik olarak yayılma özelliğinde olmalıdır.
- Sistemik olarak etkili bir bileşiğin belirli bir süre antiviral etkisini sürdürmesi gerekmektedir. Buna karşın antiviral etkili çoğu bileşik belirli bir süre sonra bitki içinde etkisiz hale gelmektedir.
- Çoğu tarımsal ürün ve virüsler için, bu özelliklere sahip bir bileşiğin ihtiyacı karşılaması açısından oldukça büyük ölçeklerde üretilmeleri gerekmekte ve bu da belli bir noktadan sonra ekonomik olmamaktadır.
- Etkili olan ekstrakt ya da kimyasal maddenin depolamaya, değişik iklim koşulları ve farklı bitkilerde kullanıma uygun olması gereklidir.
- Özellikle bitki ekstraktlarındaki antiviral ya da inhibitör maddelerin izole edilmesi, saf olarak denenmesi ve sonuçta çoğaltılması bazı sorunların çözümünde yarar sağlayacaktır.

Kimyasal maddelerden yararlanılarak yapılan virüslerle mücadelede çeşitli problemlerle karşılaşılmaktadır. Buna karşın, bitki ekstraktlarının doğadaki

yaygınlıkları ve uygulamadaki kolaylıkları yanında insan sağlığına ve çevreye karşı yan etkilerinin olmaması nedeniyle kimyasal maddelere göre daha avantajlı durumdadırlar.

**KAYNAKLAR DİZİNİ**

- An, T., Huang, R., Yang, Z., Zhang, D., Li, G., Yao, Y. and Gao, J.,** 2001, Alkaloids from *Cynanchum komarovii* with Inhibitory Activity against The Tobacco Mosaic Virus, *Phytochemistry*, 58(8): 1267-1269 pp.
- Aoki, M., Tan, M., Fukushima, A., Hieda, T., Kubo, S., Takabayashi, M., Ono, K. and Mikami, Y.,** 1993, Antiviral Substances with Systemic Effects Produced by Basidiomycetes such as *Fomes fomentarius*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57 (2): 278-282 pp.
- Apablaza, G. E. and Bernier C. C.,** 1972, Inhibition of Tobacco Mosaic Virus Infection by Plant Extracts, *Can. J. Bot.* 50 (7): 1473-1478 pp.
- Bagley, C. A.,** 2001, Controlling Tobacco Mosaic Virus in Tobacco through Resistance, Master of Science in Crop and Soil Environmental Sciences, 76 p.
- Bakarat, A. and Stevens, W. A.,** 1981, Studies on The Mode of Action of Lokal Lesion Production by Plant Viruses, *Microbios Letters*, 16: 7-13 pp.
- Balasubrahmanyam, A., Baranwal, V. K., Lodha, M. L., Varma, A. and Kapoor, H. C.,** 2000, Purification and Properties of Growth Stage-dependent Antiviral Proteins From the Leaves of *Celosia cristata*, *Plant Science*, 154: 13-21 pp.
- Baranwal, V. K. and Verma, H. N.,** 1997, Characteristics of a Virus Inhibitor From the Leaf Extract of *Celosia cristata*, *Plant Pathology*, 46 (4): 523-529 pp.
- Bawden, F. C.,** 1954, Inhibitors and Plant Viruses. *Advances in Virus Research*, 2: 31-57 pp.
- Blaszczak, W., Ross, A. F. and Larson R. H.,** 1959, The Inhibitory Activity of Plant Juices on the Infectivity of Potato Virus X, *Phytopathology*, 49: 784-791 pp.
- Bockholt, S., Hellwald, K. H. and Buchenauer, H.,** 1989, Untersuchungen zum Wirkungsspektrum und zur Wirkungsweise zweier quarternärer Ammoniumverbindungen gegenüber phytopathogenen Viren, *Journal of Phytopathology*, 127(4): 331-340 pp.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chen, J., Yan, X., Dong, J., Sang, P., Fang, X., Di, Y., Zhang, Z. and Hao, X.,** 2009, Tobacco Mosaic Virus (TMV) Inhibitors from *Picrasma quassioides* Benn, J. Agric. Food Chem., 57(15): 6590-6595 pp.
- Chen, Z. C., White, R. F., Antoniw, J. F. and Lin, Q.,** 1991, Effect of Pokeweed Antiviral Protein (PAP) on the Infection of Plant Viruses, Plant Pathology, 40(4): 612-620 pp.
- Clarck, M. F. and Adams A. N.,** 1977, Characteristics of the microplate metod of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virology, 34: 475-483 pp.
- Corbett, M. K. and Sisler, H. D.,** 1967, Plant Virology, Univ. Of Florida Press, Gainesville, U.S.A., XVII+527 pp.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, G.,** 1987, Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları-II), Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları No: 1021 (Ders Kitabı: 295), Ankara, 64 s.
- Erkan, S.,** 1982, Bazı Bitki Ekstraktları İle Patates X Virüsü (PVX)'nün İnfeksiyon Oluşturma Yeteneğinin Engellenmesi Üzerinde Araştırmalar, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Doktora Tezi, 74 s.
- Erkan, S.,** 1984, Bitki Özsuları ile Bitkilerde Virüs Hastalıklarının Önlenmesi, Dörtmevsim, 8-9: 23-24 s.
- Erkan, S. ve Momol, M. T.,** 1989, Türkiye'de Tütün Mozaik Virüsünün Önemli Bazı Kültür Bitkilerindeki Belirtileri ve Alınabilecek Önlem Yolları, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2(2): 61-67 s.
- Ersan, A.,** 2004, Tütün Sektör Profili, İstanbul Ticaret Odası, Etüt ve Araştırma Şubesi, 23 s.
- Ginzberg, D. and Lomanov, A. F.,** 2006, The Effects of Resistance Stimuli in the Prevention of TMV, <http://www2.research.att.com/~kbl/njrsf/htmlabs06.html#BO> (Erişim tarihi: 15.07.2010).
- Gül, U. ve Ataseven, Y.,** 2004, Tütün, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, T.E.A.E-Bakış, 6: 11.
- Hayat, T.,** 1994, Tütünde Çökertene Karşı Biyolojik Savaşta Bazı Yeni Antagonistlerin Kullanılma Olanakları Üzerine Araştırmalar, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Hiramatsu, A., Kobayashi, N. and Osawa, N.**, 1987, Properties of Two Inhibitors of Plant Virus Infection from Fruiting Bodies of *Lentinus edodes* and from Leaves of *Yucca recurvifolia* Salisb., Agricultural and Biological Chemistry, 51(3): 897-904 pp.
- İncekara, F.**, 1971, Endüstri Bitkileri ve Islahı, 4. Cilt, Keyf Bitkileri ve Islahı, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No. 84. Bornova, İzmir, 180 s.
- Kim, Y. H., Yea, W. H., Kim, Y.S., Chae, S. Y. and Kim, K. S.**, 2000, Antiviral Activity of Antibiotic Peptaibols, Chrysospermin B and D, Produced by *Apiocrea* sp. 14T against TMV Infection, Journal of Microbiology and Biotechnology, 10(4): 522-528 pp.
- Koca, F., Arca, G., Tan, Ş., Usturalı, A., Yazan, G. ve Aykor, A.**, 1982, Virüslere Dayanıklı Tütün Islahı Uygulama Projesi, Tütün Araştırma ve Eğitim Enstitüsü, Menemen, 23 s.
- Koprulu, O., Alkan, B. and Alkan, I.**, 2009, An Overview of Tobacco Economy in the World and in Turkey, Journal of Applied Sciences Research, 5(10): 1780-1784 pp.
- Krasavina, M. S., Malysenko, S. I., Raldugina, G. N., Burmistrova, N. A. and Nosov, A. V.**, 2002, Can Salicylic Acid Affect the Intercellular Transport of the Tobacco Mosaic Virus by Changing Plasmodesmal Permeability?, Russian Journal of Plant Physiology, 49(1): 61-67 pp.
- Kubo, S., Ikeda, T., Imaizumi, S., Takanami, Y. and Mikami, Y.**, 1990, A Potent Plant Virus Inhibitor Found in *Mirabilis jalapa* L., Ann. Phytopath. Soc. Japan 56: 481-487 pp.
- Lapshina, L. A., Reunov, A. V., Nagorskaya, V. P., Zvyagintseva, T. N. and Shevchenko, N. M.**, 2006, Inhibitory Effect of Fucoidan from Brown Alga *Fucus evanescens* on the Spread of Infection Induced by Tobacco Mosaic Virus in Tobacco Leaves of Two Cultivars, Russian Journal of Plant Physiology, 53(2): 246–251 pp.
- Li, W., Xia, Y., Fan, Z., Qu, F. Wu, Q. and Peng, L.**, 2008, Bitriazolyl Acyclonucleosides with Antiviral Activity against Tobacco Mosaic Virus, Tetrahedron Letters, 49(17): 2804-2809 pp.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ly, Y.P., Wang, X. Y., Song, B. A., Yang, S., Yan, K., Xu, G. F., Bhadury, P. S., Liu, F., Jin, L. H. and Hu, D. Y.,** 2007, Synthesis, Antiviral and Antifungal Bioactivity of 2-cyano-acrylate Derivatives Containing Phosphonyl Moieties, *Molecules*, 12(5): 965-978 pp.
- McKee, C. D.,** 1956, The Inhibitory Activity of Extract of *Capsicum frutescens* on Plant Virus Infections, *Can. J. Bot.* 34: 891-903 pp.
- Moreno, M. C.,** 1980, Efecto Inhibitorio de Savias Vegetales Sobre el Virus de Mosaic del tabaco (VMT), *Seperado de Turrialba*, 30(3): 262-267 pp.
- Nagorskaya, V. P., Reunov, A. V., Lapshina, L. A., Yermak, I. M. and Barabanova, A. O.,** 2008, Influence of Carrageenan from Red Alga *Tichocarpus crinitus* on Development of Local Infection Induced by *Tobacco Mosaic Virus* in Xanthi-nc Tobacco Leaves, *Biology Bulletin*, 35(3): 310-314 pp.
- Ostermann, W. D., Meyer, U. and Leiser, R. M.,** 1987, Leaf Extract From Carnation Plants (*Dianthus caryophyllus* L.) as Inducer of Resistance, *Zentralbl. Microbiol.*, 142: 229-238 pp.
- Othman, B. A. and Shoman, S.A.,** 2004, Antiphytoviral Activity of the *Plectranthus tenuiflorus* on Some Important Viruses, *International Journal of Agriculture & Biology*, 5: 844-849 pp.
- Özkul, İ. ve Sarı, Y.,** 2008, Türkiye’de Tütün Sektörünün Durumu, Sorunları ve Çözüm Önerileri, 2. Ulusal İktisat Kongresi .DEÜ İİBF, İktisat Bölümü, İzmir, Türkiye.
- Panyukov, Y. V., Nemykh, M. A., Dobrov, E. N. and Drachev, V. A.,** 2008, Surfactant-Induced Amorphous Aggregation of Tobacco Mosaic Virus Coat Protein: A Physical Methods Approach, *Macromol. Biosci.*, 8: 199-209 pp.
- Prasad, V., Srivastava, S., Verma, V. and Verma, H. N.,** 1995, Two Basic Proteins Isolated From *Clerodendrum inerme* are Inducers of Systemic Antiviral Resistance in Susceptible Plants, *Plant Science*, 110(1): 73-82 pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Rafikova, E. R., Panyukov, Y. V., Arutyunyan, A. M., Yahuzhinsky, L. S., Drachev, V. A. and Dobrov, E. N.,** 2004, Low Sodium Dodecyl Sulfate Concentrations Inhibit Tobacco Mosaic Virus Coat Protein Amorphous Aggregation and Change the Protein Stability, *Biohimiâ*, 69(12): 1683-1690 pp.
- Saldana, H. L., Dawson, W. O. and Murashige, T.,** 1985, Effects of Ribavirin and Adenin Arabinoside on Tobacco Mosaic Virus in *Nicotiana tabacum* L. var. *Xanthi* Tissue Cultures, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 3-4(1): 41-48 pp.
- Sano, Y.,** 1997, Antiviral Activity of Chondroitin Sulfate Against Infection by Tobacco Mosaic Virus, *Carbohydrate Polymers*, 33: 125-129 pp.
- Sano, Y.,** 1999, Antiviral Activity of Alginate against Infection by Tobacco Mosaic Virus, *Carbohydrate Polymers*, 38(2): 183-186 pp.
- Schade, C.,** 1958, Kleines virologisches Praktikum, Pflanzliche Virologie Band I. Einführung in die allgemeinen Probleme, 221-264 pp.
- Shen, J., Zhang, Z., Wu, Z., Ouyang, M., Xie, L. and Lin, Q.,** 2008, Antiphytoviral Activity of Bruceine-D from *Brucea javanica* seeds, *Pest Management Science*, 64: 191-196 pp.
- Stirpe, F., Williams, D. G., Onyon, L. J. and Legg, R. F.,** 1981, Dianthins, Ribosome-damaging Proteins with Antiviral Properties from *Dianthus caryophyllus* L. (carnation), *Biochem. J.*, 195: 399-405 pp.
- Straub, P., Adam, G. and Mundry, K-W.,** 1986, Isolation and Characterization of a Virus Inhibitor from Spinach (*Spinach oleracea* L.), *J. Phytopathology*, 115: 357-367 pp.
- Şimşek, N.,** 1995, Manyas ve Gönen'de yetiştirilen yabancı tütün çeşitlerinde görülen virütik belirtilerin etmenlerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 72 s.
- Taniguchi, T.,** 1980, Inhibition of Plant Virus Infection by Extracts from Seeds of *Dianthus barbatus* L., *Ann. Phytopath. Soc.*, 46: 628-633 pp.
- The Tobacco Atlas,** 2010, <http://www.tobaccoatlas.org/growing.html> (Erişim Tarihi: 28.06.2010)

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Türkileri, Ş.**, 1991, Bazı Bitki Ekstraktları İle Domates Mozaik Virüsü (ToMV)'nün İnfeksiyon Oluşturma Yeteneğinin Engellenmesi Üzerinde Araştırmalar, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 64 s.
- Valleau, W. D. and Johnson, E. M.** 1927, The effect of a strain of tobacco mosaic on the yield and quality of burley tobacco, *Phytopathology*, 17: 523-527 pp.
- Van Kammen, A., Noordam, A. D. and Thung, T. H.**, 1961, The Mechanism of Inhibition of Infection with Tobacco Mosaic Virus by Inhibitor from Carnation Sap, *Virology*, 14: 100-108 pp.
- Wang, F., Feng, G. and Chen, K.**, 2009, Burdock Fructooligosaccharide Induces Resistance to Tobacco Mosaic Virus in Tobacco Seedlings, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 74(1): 34-40 pp.
- Watanabe, T., Matsuzama, Y., Ko, K. and Misata, T.**, 1980, Inhibitory Action of Dodecylbenzensulfonate on Tobacco Mosaic Virus Infection, *J. Pesticide Sci.* 5: 503-509 pp.
- Yan, X., Chen, J., Di, Y., Fang, X., Dong, J., Sang, P., Wang, Y., He, H., Zhang, Z. and Hao, X.**, 2010, Anti-Tobacco Mosaic Virus (TMV) Quassinoids from *Brucea javanica* (L.), *J. Agric. Food Chem.*, 58(3): 1572-1577 pp.
- Yorgancı, Ü. ve Sekin, S.**, 1982, Ege Bölgesinde Tütünlerdeki Virüs Hastalıklarının Yayılışları, Tütünün Kimyasal Bileşimine Etkileri, Elde Edilen İzolatlarla Biyolojik, Serolojik ve Elektromisroskopik Araştırmalar, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu, Proje No: TOAG-345, 47 s.
- Yoshizaki, T. and Murayama D.**, 1966, Inhibition of Tobacco Mosaic Virus by Juice Extracted from *Chenopodium album* plants, *Ann. Phytopath., Soc. Japan*, 32(5): 267-274 pp.
- Zhou, W., Zhang, L., Zhang, B., Wang, F., Liang, Z. and Niu, T.**, 2008, Isolation and Characterization of ZH14 with Antiviral Activity Against *Tobacco Mosaic Virus*, *Can. J. Microbiol.* 54: 441-449 pp.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1984 yılında Kırcalı'da doğdu. 2003 yılında Menemen Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. Aynı yıl Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği programına kayıtlı. 2007 yılında lisans eğitimini tamamladıktan sonra Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.