



EGE ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARKLI DOMATES ÇEŞİTLERİNİN *TOMATO*
SPOTTED WILT VIRUS (TSWV)'E KARŞI
REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ**

İnci ŞAT

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi : 21.08.2015

Bornova-İZMİR

2015

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**FARKLI DOMATES ÇEŞİTLERİNİN *TOMATO
SPOTTED WILT VIRUS* (TSWV)' E KARŞI
REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ**

İnci ŞAT

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 21.08.2015

Bornova-İZMİR

2015

İNCİ ŞAT tarafından **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak sunulan “**FARKLI DOMATES ÇEŞİTLERİNİN *TOMATO SPOTTED WILT VIRUS* (TSWV)’ E KARŞI REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ**” 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 **21/08/2015** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/~~oyçokluğu~~ ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı

: Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ



Raportör Üye

: Yrd. Doç. Dr. İsmail Can PAYLAN



Üye

: Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**FARKLI DOMATES ÇEŞİTLERİNİN *TOMATO SPOTTED WILT VIRUS* (TSWV)’ E KARŞI REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

21.08.2015



İnci ŞAT

ÖZET**FARKLI DOMATES ÇEŞİTLERİNİN *TOMATO SPOTTED WILT VIRUS* (TSWV)’ E KARŞI REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ**

ŞAT, İnci

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ

Ağustos 2015, 41sayfa

Bu tez çalışmasında, farklı domates çeşitlerinin *Tomato spotted wilt virus* (TSWV)’ e karşı fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal faaliyetleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla serada TSWV’ e karşı iki dayanıklı (Asil F1, Ferman F1), bir tolerant (Çiğdem F1) ve bir duyarlı (Kardelen F1) çeşit materyal olarak kullanılmıştır. Hastalıklı domates bitkilerinden alınan izolatla yapılan mekanik inokulasyon sonucu enfekteli bitkilerle enfekteli olmayan kontrol bitkileri karşılaştırılmıştır. İnokulasyondan en fazla etkilenen Çiğdem ve Kardelen çeşitleri olmuştur. TSWV enfekteli Çiğdem ve Kardelen çeşitleri, sağlıklılara oranla bitki organlarında kuru madde kayıpları ve klorofil miktarında azalmalar gözlenirken prolin miktarında istatistiksel anlamda değişim olmadığı saptanmıştır. İnokulasyondan en az etkilenen çeşitlerin ise Asil ve Ferman olduğu saptanmıştır. Ayrıca çeşitlerin patojene karşı göstermiş oldukları duyarlılık seviyeleri de farklılık göstermiştir. Sonuç olarak, seralarda oldukça yaygın olan TSWV’ e karşı kimyasal mücadele yönteminin olmaması nedeniyle enfeksiyondan korunmada en etkili faktör olan dayanıklı çeşitlerin tespit edilerek hastalığa karşı kontrolde kullanılmasının önemi bir defa daha vurgulanmıştır.

Anahtar kelimeler: Domates, genotip, TSWV, fizyolojik, morfolojik

ABSTRACT**THE DETERMINATION OF REACTION TO *TOMATO SPOTTED WILT VIRUS* (TSWV) IN DIFFERENT GENOTYPES OF TOMATO**

ŞAT, İnci

MSc in Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ

August 2015, 41pages

The purpose of this thesis was conducted to determine the physiological, morphological and biochemical changes in different genotypes due to infection of *Tomato spotted wilt virus*. For this aim, two resistant (Asil F1, Ferman F1), one tolerant (Çiğdem F1) and one sensitive (Kardelen F1) was used as a material against TSWV in greenhouse. Diseased tomato plants conducted with samples from non-infected control mechanical inoculation results were compared with the infected plant crops. Çiğdem and Kardelen have been most affected by the genotypes of inoculation. TSWV infection Çiğdem and Kardelen genotypes, the observed in reduction of dry matter losses and chlorophyll content in plant organs but no statistical change of proline content in leaves. Asil and Ferman affected was least than genotype of inoculation. The level of response differed depending on varieties. As a result, greenhouse which is quite common in the absence of chemical control methods against TSWV is the most effective factor in the prevention of infections due to resistant varieties resistant to the disease detected by propagating material should be used.

Keywords: Tomato, genotypes, TSWV, physiology, morphological

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın yürütülmesinde bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren danışman hocam sayın Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ'e ve Doç. Dr. Gölgen Bahar ÖZTEKİN'e, Adana Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyonu'nda moleküler çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Dr. Hakan FİDAN'a, bitkisel materyali sağlayan Bircan Tohum Ltd.Şti'ne, tezimin her aşamasında büyük bir özveri ile bana yardımcı ve destek olan Zir. Yük. Müh. Tuğçe LAÇİN'e, Zir. Müh. Egemen Duygu LERMİ'ye, Zir. Yük. Müh. Nagehan GÖKDUMAN'a ve Araş. Gör. Nihan GÜNEŞ'e ve hayatım boyunca daima yanımda olan, maddi ve manevi her yönden bana destek olan ilgi, sevgi, şefkat ve hoşgörülerini her zaman hissettiğim canım aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLERSayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
3. MATERYAL VE METOD	10
3.1 Materyal	10
3.1.1 Bitkisel materyaller	10
3.1.2 Virüs izolatu	10
3.2 Metod	10
3.2.1 Bitki yetiştirme	10
3.2.2 İnokulasyon	10

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.2.3 TSWV'e dayanıklılık sağlayan Sw-5 geninin moleküler işaretleyiciler yardımıyla belirlenmesi	11
3.2.4 Serolojik çalışmalar.....	12
3.2.5 RT-PCR çalışması.....	12
3.2.6 Ölçüm ve analizler	14
3.2.7 İstatistiksel değerlendirme	16
4. BULGULAR.....	17
4.1 Domates Çeşitlerinde Görülen Belirtiler.....	17
4.2 TSWV'e Dayanıklılık Sağlayan Sw-5 Geninin Moleküler İşaretleyiciler Yardımıyla Belirlenmesi	18
4.3 Serolojik Çalışma Sonuçları.....	19
4.4 RT-PCR Çalışma Sonuçları	19
4.5 Analiz Sonuçları.....	19
4.5.1 Virüs-İndeksleme skalası	20
4.5.2 Bitki boyu.....	21
4.5.3 Kök boyu.....	22
4.5.4 Gövde çapı	23

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.5.5 Biomas	24
4.5.6 Klorofil miktarı	26
4.5.7 Prolin içeriği	29
5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	34
ÖZGEÇMİŞ.....	41
EKLER	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. İnokulasyona ait görünüm.....	11
3.2. Domates bitkilerinde yapılan klorofil içeriği analizinin çeşitli aşamalarına ait görünüm	16
4.1. Çiğdem çeşidinde görülen belirtiler	17
4.2. Kardelen çeşidinde görülen belirtiler	18
4.3. Markör ile PCR yapılan domates DNA'larının agaroz jelde görünümü	19
4.4. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde bitki boyu (cm)	21
4.5. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde bitki kök boyu (cm)	22
4.6. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde gövde alt ve üst çapı kalınlığı (mm).....	23
4.7. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde üst aksam kuru ve yaş ağırlığı (g).....	24
4.8. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde kök kuru ağırlığı ve kök yaş ağırlığı (g)	25
4.9. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde klorofil a miktarları (mg/L).....	27
4.10. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde klorofil b miktarları (mg/L).....	28

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.11. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde toplam karoten miktarları (mg/L)	29
4.12. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde prolin miktarları (µmol prolin/ g taze ağırlık).....	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. 2013 yılında Dünya domates üretim alan ve miktarları	1
1.2. 2002-2012 yılları arasında Türkiye’deki örtüaltı domates miktarı	2
3.1. TSWV’ nin 0-5 hastalık şiddeti skalası.....	14
4.1. Analiz sonuçlarında meydana gelen değişimler.....	20
4.2. TSWV’nin % hastalık şiddeti.....	20
4.3. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde bitki boyu (cm) ile kontrole göre değişimleri (%)	21
4.4. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde bitki kök boyu (cm) ile kontrole göre değişimleri (%)	22
4.5. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde gövde altçapı (mm) ile kontrole göre değişimleri (%)	23
4.6. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde gövde altçapı (mm) ile kontrole göre değişimleri (%)	23
4.7. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde üst aksam kuru ağırlığı (g) ile kontrole göre değişimleri (%).....	24
4.8. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde üst aksam yaş ağırlığı (g) ile kontrole göre değişimleri (%).....	25
4.9. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde kök kuru ağırlıkları (g) ile kontrole göre değişimleri (%)	26

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.10. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde kök yaş ağırlıkları (g) ile kontrole göre değişimleri (%)	26
4.11. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde yapraklardaki klorofil a (mg/L) ile kontrole göre değişimleri (%).....	27
4.12. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde yapraklardaki klorofil b (mg/L) ile kontrole göre değişimleri.....	28
4.13. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde yapraklardaki toplam karoten (mg/L) ile kontrole göre değişimleri (%).....	29
4.14. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde prolin miktarları (µmol prolin/ g taze ağırlık) ile kontrole göre değişimler (%)	30

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
nm	Nanometre
M	Molar
V	Volt
DEPC	Diethylpyrokarbonat
<u>Kısaltmalar</u>	
TSWV	<i>Tomato spotted wilt virus</i>
CMV	<i>Cucumber mosaic virus</i>
BCMV	<i>Been common mosaic virus</i>
BYV	<i>Beet yellows virus</i>
GLRaV-3	<i>Grapevine leafroll associated virus 3</i>
CaMV	<i>Cauflower mosaic virus</i>
EpYVV	<i>Eupatorium yellow vein virus</i>
ZYMV	<i>Zucchini yellow mosaic virus</i>
BYVMV	<i>Bhendi yellow vein mosaic virus</i>

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
PEMV	<i>Pea enation mosaic virus</i>
cDNA	Komplementer Deoksiribonükleik asit
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ribonükleik asit
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
RT	Reverse Transcriptase
TNA	Total Nükleik Asit

1. GİRİŞ

Domates, Solanaceae familyasının *Lycopersicum* cinsi içinde bulunan ve meyveleri yenen tek yıllık bir bitkidir. Kültür domatesi olarak yetiştirilen tür *Solanum lycopersicum*'dur (Özgöz, 1994). Anavatanı Güney Amerika özellikle Peru olarak bilinen domates dünyada tarımı en fazla yapılan sebzelerden biridir.

Yüksek vitamin ve mineral içeriği ile dünyada ve ülkemizde tüketimi oldukça fazla sebzelerden biri olan domatesin üretimi, her geçen yıl artış göstermektedir. Ekolojik koşulların uygunluğu ülkemizde sebze üretiminin yoğun olarak yapılmasına olanak sağlamıştır. Domates iç piyasada taze olarak tüketilmesinin yanı sıra gıda endüstrisinde de ham madde olarak kullanılmaktadır (Çetinkaya Yıldız, 2007).

FAO'nun 2012 yılı verilerine göre; dünyada 57,2 milyon hektar alanda sebze üretimi yapılmıştır. Söz konusu alanda yetiştirilen toplam sebze 1,1 milyar ton olup, domates yaklaşık 162 milyon tonluk üretimi ile dünyada en çok yetiştirilen sebzedir.

Dünyada toplam 4,8 milyon hektar alanda domates ekimi yapılmaktadır. Domates üretiminde dünyada önde gelen ülkeler sırasıyla Çin, Hindistan, ABD, Türkiye ve Mısır iken, hektara göre verimin en yüksek olduğu ülke ise Hollanda'dır. Çin dünya üretiminin yaklaşık üçte birini tek başına gerçekleştirmekte olup, ülkemizin domates üretimindeki payı %7'dir (FAO, 2013) (Çizelge 1.1)

Çizelge 1.1. 2013 yılında Dünya domates üretim alan ve miktarları

Ülke Adı	Üretim (ton)
Çin	50.664.255
Hindistan	18.227.000
ABD	12.574.550
Türkiye	11.820.000
Mısır	8.533.803

Ülkemizde domates üretiminin önemli bir kısmı örtüaltında gerçekleştirilmektedir. Çizelge 1.2.'de görüldüğü gibi, 2002 yılından 2012 yılına kadar örtüaltı domates üretim miktarında %90 artış olmuştur (TÜİK, 2012). Türkiye’de 2012 yılı verilerine göre yaklaşık 50 bin hektar alanda örtüaltı tarımı yapılmakta ve örtüaltı tarımında da yetiştirilen ürünlerin büyük kısmını sebze türleri oluşturmaktadır. Bunlar içinde %60’lık üretim payı ile domates ilk sırayı almaktadır.

Çizelge 1.2. 2002-2012 yılları arasında Türkiye’deki örtüaltı domates miktarı

Üretim	
Yıl	Miktar (ton)
2002	1.632.175
2003	1.940.494
2004	1.960.185
2005	2 023 888
2006	2 067 738
2007	2 451 062
2008	2 382 731
2009	2 657 461
2010	2 852 863
2011	3 092 083
2012	3 096 349

Ülkemizde ve dünyada üretim ve tüketim açısından önemli bir yer teşkil eden domatesin yetiştiriciliği esnasında hastalık etmeni ve zararlılar ciddi bir problem oluşturmaktadır (Agrios, 1988; Jones et al., 1991). Domateste hastalığa yol açan çok sayıda fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmenleri bulunmaktadır. Domates yetiştirilen alanlarda 200’den fazla hastalığın domates bitkisine zarar vererek ekonomik kayıplara neden olduğu saptanmıştır. Domates üretiminde verim kaybına sebep olan hastalık etmenleri arasında ilk sırada virüsler yer almaktadır. Bitki patojeni olarak virüsler diğer bazı hastalık etmenleri gibi patojenisite sistemleri içinde herhangi bir enzim, toksin içermemelerine karşılık,

konukçu üzerinde olumsuz etkilerde bulunmakta ve bu etkiler farklı şiddette simptomlara neden olmaktadır. Bitkilerde görülen bu makroskobik ve mikroskobik simptomlar virüs tarafından yapılan direkt veya indirekt uyarılar sonucunda meydana gelen biyokimyasal anormalliklerden kaynaklanmaktadır.

Dünya’da yaklaşık 40 virüs türü domatesten enfeksiyon oluşturmaktadır (Polston ve Anderson, 1997). Domates yetiştirilen alanlarda en fazla ürün kaybına sebep olan virüslerden birisi domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*=TSWV) dır (Goldbach ve Peters, 1994).

Bu çalışmada, örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan Antalya Kumluca bölgesinden alınan TSWV izolatının domates bitkilerinde meydana getirdiği bazı biyolojik ve fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri ve bu etkiler sonucu morfoloji ve gelişme parametreleri üzerinde meydana gelen değişimler saptanmıştır. Bu amaçla kontrollü koşullarda yetiştirilen farklı domates çeşitlerinde klorofil, prolin, bitkilerin farklı organlarında biyomas gibi analizler yapılmıştır ve kontrol ile sağlıklı bitkiler arasındaki parametreler karşılaştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

TSWV ilk olarak 1915 yılında Avustralya’ da domates bitkisinde tanılanmıştır. Son yıllarda çok sık görülmeye başlayan ve büyük ekonomik kayıplara neden olan bu virüsün Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa ve Asya kıtalarında yayıldığı bildirilmiştir (Adkins et al, 2005).

TSWV, arthropodların neden olduğu ve Bunyaviridae içindeki Tospovirus cinsine dahildir (Francki et al., 1991). Tospovirüsler, bitkileri en fazla hastalandıran 10 bitki virüsü arasındadır (Peters et al., 1991; German et al., 1992; Antignus ve ark., 1997). Geniş bir konukçu dizisine sahip olup 69 dikotiledon bitki familyası, 15 monokotiledon bitki familyası ve pteridophyte’lerin bir familyasına ait toplam 1090 bitki türü TSWV’ ye konukçuluk etmektedir (Parrella et al., 2003).

TSWV’ nin birçok ülkede farklı bitkiler üzerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Goldbach ve Peters (1994), TSWV’ nin çok geniş konukçu dizisine sahip bir virüs olduğunu ve 50’ den fazla familyadan 650 farklı bitki türünde hastalık yaptığını rapor etmişlerdir.

TSWV, thripslerle persistent olarak taşınmaktadır (German et al., 1992; Wijkamp et al., 1993; Antignus et al., 1997). En önemli TSWV vektörlerinden biri *Thrips tabaci* olup Türkiye’de oldukça yaygındır ve tarla ve sera ürünlerinde hastalığın yayılmasına neden olmaktadır (Lodos, 1981; Azeri, 1994).

TSWV ile enfekteli domates bitkilerinde gelişme geriliği, cüceleşme, genel solgunluk, yaprak ve meyveler üzerinde halkalı lekeler, nekrotik ve klorotik lezyonlar ve genç sürgünlerde geriye doğru ölüm şeklinde semptomlara neden olmaktadır (Güldür vd., 1995). Belirtilerin görünüşü ve şiddeti; genotipe, enfeksiyon gerçekleştiğinde bitkinin bulunduğu gelişme dönemine (Moriones et al., 1998; Chaisuekul et al.,2003), virüs izolatına ve çevresel şartlara bağlıdır (Kaminska, 1993; Mitidieri et al., 2001).

TSVW, ülkemizde ilk olarak tütünde (Azeri, 1981) daha sonra domateste (Tekinel, 1973; Azeri, 1994), biberde (Yurtmen, 1998) ve marulda (Kamberoglu ve Alan, 2011) tespit edilmiştir.

Son yıllarda ülkemizde çok olmamakla beraber, dünyada patolojik nedenlerle bitkilerde görülen fizyolojik ve biyokimyasal düzensizlikler üzerinde çalışmalar önem kazanmıştır.

Bailiss (1970), *Cucumber mosaic virus* (CMV) ile enfekteli hıyar kotiledonlarında klorofilaz enzimi aktivitesi üzerine çalışma yapmıştır. Bu çalışma sonucunda virüsün yüksek düzeyde klorofilaz enzimi aktivitesine neden olduğu ve bitkide yüksek düzeyde klorofil parçalanmasının gerçekleştiğini saptamıştır.

Singh et al. (1977), CMV ile enfekteli hıyar yapraklarında, klorofil ve karbonhidrat kapsamındaki değişimleri araştırmış ve sonuçta enfekteli bitkide klorofil miktarının giderek azaldığını tespit etmişlerdir.

Erdiller (1979), *Bean common mosaic virus* (BCMV)' un enfeksiyonu sonucunda etmenin fasulye bitkilerinin verim unsurlarına ve solunumuna olan etkisini araştırmış, inokulasyondan sonraki 9. ve 15. günler arasında enfekteli bitkilerin solunumunda sağlam bitkilere oranla artış saptanmıştır.

Erdiller ve Özyanar (1983), CMV' in hıyar bitkisinde inokulasyondan 8 gün sonra enfekteli bitkilerde sağlamlara oranla % 11.5 solunum azalması görülmüş olup, inokulasyon sonraki 24., 27., 30. ve 34. günlerde enfekteli hıyar bitkilerinde sırasıyla %7.66, %15.28, %17.0 ve %16.0' lık düşüşler tespit edilmiştir. Birim gram yaş ağırlıkta tespit edilen toplam klorofil miktarlarındaki azalma önemli bulunmuştur. Protein miktarı da tüm deneme süresince enfekteli hıyar yapraklarında oldukça yüksek düzeyde olup, enfekteli bitkide 1. haftadan 4. haftaya kadar görülen farklılaşma, virüs sentezinin yapraktaki protein sentezini tamamlayıcı bir şekilde geliştiğini göstermektedir. CMV enfeksiyonu bitkinin indirgenebilir şeker miktarını da etkili olmuş ve enfekteli bitkilerde sağlamlara oranla sürekli düşüşler saptanmıştır.

Wani et al. (1991), Sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) bitkisinin farklı çeşitlerinde *Maize mosaic virus* ile yaptıkları bir çalışmada biomas ağırlığının %10-53 arasında azaldığı ve enfekteli yapraklarda toplam klorofil içeriğinde azalmalar olduğu tespit etmişlerdir.

Moriones et al. (1998), tarafından İspanya’ da yapılan bir çalışmada domates bitkilerinde TSWV enfeksiyonu sonucu inokulasyondan 24, 38, 45, 60, 67 ve 74 gün sonra çıkan belirtiler gözlenmiş ve belirti görülen bitkilerde virüsün varlığı DAS-ELISA yöntemiyle tanılanmıştır. Bitkilerde ilk belirtilerle birlikte meyve üretiminde azalmalar olduğu ve enfekteli bitkilerde anormal meyve üretimi gözlenmiştir.

Clover et al. (1999), tarafından yapılan çalışmada, *Beet yellows virus* (Closterovirus, BYV) şeker pancarı büyümesi üzerine etkisi, tarla ve sera denemeleriyle incelenmiştir. Enfeksiyon ilk olarak depo kök büyümesini %25 azaltmış bunun sonucunda bitki toplam ağırlığı %20 azalmıştır. Enfekteli bitkilerde büyüme yavaşlamıştır. Fotosentez mekanizmasında meydana gelen hasar sonucunda, net fotosentezde azalma olduğu saptanmıştır.

Christov et al. (2005), *Grapevine leafroll associated virus 3* (GLRaV-3) enfeksiyonu sonucu asmalarda internodiumların kısaldığı tespit edilmiştir. Bitki kuru ağırlığının %25 oranında azaldığı belirlenirken, klorofil a/b oranındaki düşüşün istatistiksel anlamda önemli olmadığı ortaya konmuştur.

Hemida (2005), tarafından Mısır’da yapılan bir çalışmada, mozaik, beneklenme ve şekil bozukluğu gözlenen bakla bitkisine DAS-ELISA testi yapılmış ve etmenin *Bean yellow mosaic virus* olduğu saptanmıştır. Bu bitkiden elde edilen inokulum ile bakla ve fasulye bitkilerine 4., 12. ve 20. günlerde inokulasyon yapılmıştır. Bitkilerin pigment içeriği (klorofil a, klorofil b, karoten), suda çözünür karbonhidrat, toplam çözünebilir protein ve toplam serbest aminoasit miktarlarına bakılmıştır. Bakla bitkisinde virüs inokulasyonu sonucunda fotosentetik pigment içeriği yüksek oranda azalırken, karbonhidrat ve çözünebilir protein artmış ve serbest aminoasit ise sabit kalmıştır. Fasulye bitkisinde ise

pigment içeriği, karbonhidrat ve serbest aminoasit zamanla azalmış ancak çözünebilir protein ise sabit kalmıştır.

Love et al. (2005), *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) ile enfekteli şalgam ve tere bitkilerinde damarlarda renk açılması ve mozaik belirtileri, bitkide bodurlaşma belirtileri gözlemişler ve bu bitkilerde kuru ağırlık ve klorofil a içeriğinin önemli derecede azaldığını belirlemişlerdir.

Ramkat et al. (2006), tarafından serada TSWV enfeksiyonunun Cal J, Marglobe, Money maker, Roma ve Riogrande domates çeşitlerinde etkisini belirlemek için yapılan bir çalışmada, inokulasyonundan en fazla etkilenen çeşidin Cal J olduğu en az etkilenenlerin ise Marglobe ve Riogrande çeşitleri olduğu ortaya koymuşlardır. Ayrıca bitki biyomasında önemli azalmalar olduğu ancak istatistiki açıdan önemli olmadığı saptanmıştır.

Rapandove et al. (2006), tarafından Kenya’ da farklı büyüme aşamalarında hıyar bitkilerine TSWV enfeksiyonun şiddeti üzerine yapılan bir çalışmada enfekteli bitkilerde biyomasın azaldığı saptanmıştır. Ayrıca bu bitkilerde verim de önemli derecede azalmıştır.

Funayama-Noguchi ve Terashima (2006), tarafından Japonya’ da yapılan bir çalışmada *Eupatorium yellow vein virus* (EpYVV) ile enfekteli *Eupatorium makinoi* yapraklarında fotosentez değişimi araştırılmıştır. Erken dönemde enfekteli olan ve olmayan yapraklar arasında fotosentetik parametreler bakımından fark yokken, çalışma sonunda *E. makinoi* yapraklarında EpYVV enfeksiyonu sonucunda klorofil biyosentezinin bozulduğunu saptamışlardır.

Farooq et al. (2007), tarafından yapılan bir çalışmada TSWV ile enfekteli domates çeşitlerinde erken, orta ve geç aşamalarda sağlıklı bitkilerle karşılaştırılarak meydana gelen değişimler incelenmiştir. Bitkiler enfeksiyonun erken aşamasında, orta ve geç aşamasına göre sağlıklı bitkilerle karşılaştırıldığında çiçek salkımı, çiçek sayısı, meyve sayısı, meyve uzunluğu, meyve çevresi, klorofil içeriği ve meyve veriminde önemli ölçüde azalmalar olduğu saptanmıştır.

Lehrer et al. (2007), *Sugarcane yellow leaf virus* ile şeker kamışı bitkilerinde yapılan bir çalışmada, sağlıklı bitkilerin virüs enfekteli bitkilerden %25-%60 daha yüksek oranda yaş ağırlığa sahip olduklarını belirlemişlerdir. Sağlıklı bitkilerdeki sukroz ve nişasta oranı virüs ile bulaşık olanlardan daha yüksek olduğu ortaya konmuştur.

Radwan et al. (2007), sakız kabağı bitkisinde yaptıkları çalışmada *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) ile enfekteli bitkilerin yapraklarında mozaik, önce klorotik sonra nekrotik alanlar, yaprak alanında küçülme ve bitkilerde bodurlaşma saptamışlardır. Enfeksiyon sonucu hasta bitkilerin sağlıklılara oranla daha düşük miktarlarda protein, karbonhidrat ve pigment içerdiği belirlenmiştir. Peroksidaz aktivitesi ve prolin içeriğindeki düşüşün önemli olduğu kabul edilmiştir.

Palanisamy et al. (2009), *Bhendi yellow vein mosaic virus* (BYVMV) ile infekteli bamya bitkilerinde oran vermeden yaş ağırlığının azaldığını belirtirken, total klorofil ve karotenoid miktarının %62-%64 oranında düştüğünü rapor etmişlerdir. Benzer şekilde çözülebilir nişasta miktarının da BYVMV infekteli yapraklarda düştüğü saptanmıştır. Ayrıca virüs enfeksiyonu sonucu membran proteinlerinde de istatistiksel açıdan önemli düşüşler olduğu aynı çalışmada ifade edilmiştir.

Kyseláková et al. (2011), tarafından bezelye bitkilerinde *Pea enation mosaic virus* (PEMV) inokulasyondan 7-8 gün sonra yeni çıkan genç yapraklarda açık yeşil lekeler olduğu gözlemlenmiştir. İnokulasyonu takip eden 15. günde bu lekelerin belirginleşerek mozaik halini aldığı, bezelye bitkilerinde genel bodurlaşma olduğu saptanmıştır. Bu bitkilerde oksidatif stresin artması sonucu membranlarda bozulmalar gerçekleştiğini, birim yaprakta bulunan klorofil a, klorofil b ve toplam karotenoid miktarlarında önemli azalmalar olduğunu, CO₂ asimilasyonunun enfekteli bitkilerde düştüğünü bildirmişlerdir.

Sevik ve Arli-Sokmen (2011), tarafından Samsun' da yapılan bir çalışmada TSWV ile infekteli domates bitkilerinde verimin %42,1 ve pazar değerinin %95,5 oranında azaldığı saptanmıştır. Benzer şekilde ağırlığın %26,61, yaprak sayısının

%20,18, yaprak alanının %10,94 ve meyve boyutunun %11,93 oranında azaldığı saptanmıştır.

Pazarlar vd. (2013), *Tobacco mosaic virus* enfeksiyonu sonucu biberlerde bitki organlarında kuru madde kayıpları, klorofil a ve klorofil b miktarında azalmalar gözlenirken stres aminoasidi olarak da isimlendirilen prolin miktarının inokule edilmiş bitkilerde daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir.

Viswanathan et al. (2014), Hindistan’ da şeker kamışında sarı yapraklılığa neden olan *Sugarcane yellow leaf virus* üzerine büyüme ve verim üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada on farklı çeşit ve bir genotipte simptomlu ve simptomsuz bitkiler fizyolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada birçok fizyolojik parametre arasından fotosentez oranı, stoma iletkenliği ve SPAD sayacı ile ölçülen klorofil değerleri ScYLV ile enfekteli olanlarda önemli derecede azalma olduğu saptanmıştır. Ayrıca virüs infekteli çeşitlerde önemli büyüme ve verim parametrelerinde de önemli azalma olmuştur.

Salaudeen (2015), börülcenin altı genotipinde (IT04K-217-5, IT07K-251-3-3, IT07K-299-4, IT07K-299-6, IT99K-1060 ve Ife Brown) dikimden 10 gün sonra CMV ile yapılan inokulasyondan sonra yapraklarda kloroz ve kıvrılmalar gözlemlenmiştir. Enfeksiyon sonucunda genotip IT07K-299-6’nın en düşük hastalık şiddetine sahip olduğu gözlenmiştir. Genotip IT07K-299-6’nın yaprak sayısında % 6.2, bitki boyunda % 3 ve tohum ağırlığında % 2.6 oranında düşüşler tespit edilmiş ve bu genotipin CMV enfeksiyonuna en dayanıklı genotip olduğu tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Bitkisel materyaller

Araştırmada bitkisel materyal olarak Antalya’ da bulunan Bircan Tohum Ltd.Şti’den Asil F1, Çiğdem F1, Ferman F1 ve Kardelen F1 çeşitleri kullanılmıştır. TSWV’ e karşı Asil F1 dayanıklı, Çiğdem F1 tolerant, Ferman F1 dayanıklı ve Kardelen F1 duyarlı bir çeşittir.

3.1.2 Virüs izolatu

TSWV izolatu Antalya’nın Demre ilçesinden üreticiden gelen domates örneklerinden sağlanmıştır.

3.2 Metod

3.2.1 Bitki yetiştirme

Tüm denemelerde kullanılan harç materyali elenmiş bahçe toprağı, perlit ve torf (1:1:1) oranında karıştırılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan harç havalandırıldıktan sonra plastik saksılara doldurularak her çeşitten 12 tane kontrol, 12 tane kontrol fırçalı ve 12 tane virüslü olmak üzere toplam 144 tane bitki 09.04.2014 tarihinde dikilmiştir. Normal çeşme suyu ile sulanan fidelerin yabancı ot kontrolü, havalandırma gibi bakım işlemleri tüm bitkilere homojen bir şekilde yapılmıştır.

3.2.2 İnokulasyon

İnokulum, TSWV enfekteli domates yaprağının havanda ezilip 1:1 oranında 0,05 M fosfat tamponu 7.0 pH ile sulandırılması ile elde edilmiştir. Dikimi izleyen 15. gün olan 24.04.2014 tarihinde hazırlanan inokulum selit ile yaralandırılmış domates yapraklarına bir fırça ile sürülüp mekanik olarak inokulasyon yapılmıştır (Şekil 3.1.)



Şekil 3.1. İnokulasyona ait görünüm

3.2.3 TSWV'e dayanıklılık sağlayan Sw-5 geninin moleküler işaretleyiciler yardımıyla belirlenmesi

Dünyada ve Türkiye'de ekonomik açıdan önemli kayıplara neden olan bu virüs etmenine karşı dayanıklılık çalışmaları güncel ıslah konuları arasında yer almaktadır. Virüs etmenine karşı bilinen en güvenilir dayanıklılık kaynağı, tek ve dominant bir gen olan Sw-5 dayanıklılık genidir. *Solanum peruvianum* kökenli bu gen, günümüzde TSWV' ye dayanıklı olarak gösterilen ticari çeşitlerin temel dayanağını oluşturmaktadır (Oğuz vd., 2009).

Bu çalışmada; Sw-5 gen kümesinin bir lokus spesifik işaretleyici sistem ile geliştirmek için PCR analizi yapılmış ve yakın-izogenik hatlarının değerlendirilmesi yoluyla ve tarama ile bu sistemi doğrulayan domates çeşitlerinde Sw-5 geninin (Dianese et al., 2010) varlığı moleküler işaretleyiciler yardımıyla kontrol edilmiştir.

3.2.4 Serolojik çalışmalar

Mekanik inokulasyon çalışması sonucunda simptom gösteren domates örneklerinde TSWV' nin varlığının ortaya konulması amacıyla öncelikle DAS ELISA testi ile testlenmiştir.

DAS-ELISA işlemi Bioreba firmasının önerdiği prosedüre göre önce ELISA tabaklarının her bir çukuruna kaplama tamponunda 1:1000, 1:200, 1:100 oranında seyreltilmiş olan IgG'den 200 µl eklenerek 37°C'de 4 saat inkube edilmiştir. Ardından, ELISA tabakları yıkama tamponu ile yıkanarak 3 dakika beklenmiş ve bu işlem 4 kez tekrarlanmıştır. Ekstraksiyon tamponu ile 1/10 (g/ml) oranında seyreltilerek hazırlanan tohum ekstraktı örnekleri, pozitif ve negatif kontrollerin her bir çukura 200 µl olacak miktarda eklenerek 4°C'de bir gece inkube edilmesinden sonra, yukarıda anlatıldığı şekilde tekrar yıkama yapılmıştır. Yıkama işleminden sonra ise konjuge edilmiş IgG, konjugat tamponu içerisinde 1:1000, 1:200, 1:100 oranında seyreltilip her bir çukura 200 µl eklenerek 37°C'de 4 saat inkube edilmiş, yukarıda anlatıldığı şekilde yıkama yapılmış ve substrat çözeltisine 1mg/ml olacak şekilde substrat (paranitrofenilfosfat) her bir çukura 200 µl konularak oda sıcaklığında inkube edilmiştir.

3.2.5 RT-PCR çalışması

3.2.5.1 Total nükleik asit (TNA) ekstraksiyonu

TNA ekstraksiyonunda silica methodu kullanılmıştır. Her izolat için yaklaşık 10mg/yaprak kullanılmıştır. 1 ml %1 mercapto-etanol içeren ekstraksiyon tampon çözeltisi varlığında steril örnek poşetleri içinde homojenize edilmiştir. Tüpler ısıtıcıda 70°C 10 dakika inkube edildikten sonra 5 dakika buzda

bekletilmiştir. Daha sonra örnekler 1400 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üst sıvıdan 300 µl alınarak yeni tüplere aktarılmıştır. Tüplere 150 µl ethanol, 300 µl 6M NaI, 25 µl silika süspansiyonu eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında inkubasyona tabi tutulmuştur. Tüpler 6000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildikten sonra üst sıvı atılmış ve tüpün içinde kalan silika partiküllerinin yıkanması için 500 µl yıkama tampon çözeltisi eklenmiştir. Bu işlemin ardından tüpler 6000 rpm’ de santrifüj edilmiştir. Yıkama işlemi iki kez yapılmıştır. Yıkamadan sonra silika partikülleri içeren tüplere 150 µl RNase’ dan arı steril su eklenmiştir. 70°C’ de 4 dakika ısıtıcıda inkube edilen tüpler 13000 rpm’ de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpün üst kısmında kalan sıvıdan 200 µl alınarak yeni tüplere aktararak TNA ekstraksiyonu tamamlanmıştır (Foissac et al., 2001).

3.2.5.2 Komplementer DNA (cDNA) sentezi

Örneklerin TNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra cDNA sentezi yapılmıştır. Fermentas firmasından temin edilen cDNA sentez kitleri kullanılmış ve firmanın belirttiği prosedür doğrultusunda cDNA sentezleri gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemeye göre; ilk önce eppendorf tüplerin içerisine 0,1-5 µl total RNA, 1 µl oligo (dt) primer konulmuş ve DEPC su ile 11 µl’ ye tamamlanmıştır. 65°C’ de 5 dakika inkubasyon uygulandıktan sonra tüpler buz üzerine konulmuş ve sırasıyla içlerine 4 µl 5X Reaction Buffer, 1 µl Ribolock Ribonuclease Inhibitor, 2 µl 10mM dNTP mix, 2 M-MuLV reverse transcriptase eklenerek 20 µl hacime tamamlanmıştır. Kısa süreli santrifüj uygulandıktan sonra 37°C’ de 60 dakika ve 70°C’ de 5 dakika inkubasyona tabi tutularak cDNA sentez aşaması tamamlanmıştır.

3.2.5.3 Reverse transcriptase (RT) PCR yöntemi

RT-PCR işlemi Fermentas firmasının önerdiği prosedüre göre 25 µl hacimde yapılmıştır. Steril PCR tüplerine 12.5 µl 2x PCR master mix, 1 µl primer 1, 1 µl primer 2, 2 µl cDNA ve 8.5 µl nuclease free su eklenmiştir. Tüpler PCR cihazına yerleştirilerek test edilecek virüs için spesifik olan program uygulanmıştır. Daha sonra örnekler PCR thermal cyclarda spesifik PCR programlarında çoğaltma işlemi yapılmıştır.

3.2.5.4 Agaroz jel elektroforez yöntemi ve jel görüntüleme cihazında PCR sonuçlarının değerlendirilmesi

100 ml 1X TAE tamponu içine 1,5 g agaroz konularak karışım mikrodalga fırında 3.5 dakika bekletilerek eriyik haline getirilmiştir. Elektroforez koşumu, 100 V’ da yatay düzenekte 60 dakika süreyle ve 1X TAE çözeltisi içerisinde uygulanmıştır. Jel yükleme yapılmadan önce örnekler (10 µl örneğe) 2 µl yükleme tamponu ilave edilmiştir. Ethidium bromide ile boyanan jel, DNR Bio-Imaging marka Jel Dokümantasyon ve Analiz Sistemi ile fotoğrafı çekilerek kaydedilmiştir.

3.2.6 Ölçüm ve analizler

3.2.6.1 Virüs-indeksleme skalası

Çalışmada hastalık şiddeti değerlendirmesi Bora ve Karaca (1970)’ dan yararlanılarak oluşturulan 0-5 skalasına göre yapılmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 3.1. TSWV’ nin 0-5 hastalık şiddeti skalası

Skala Değeri	Açıklama
0	Belirti yok
1	Yaprakta hafif klorotik lekeler
2	Yaprakta şiddetli klorotik lekeler
3	Yaprakta klorotik lekeler ve boy kısalması
4	Meyvede şekil bozuklukları ve renk değişiklikleri
5	Bitki ölmüş

3.2.6.2 Bitki boyu (cm)

Yetiştirme periyodu sonunda her uygulamadan 12 bitki boyları; saksı toprak yüzeyinden büyüme ucu sonuna kadar olan gövde baz alınarak şerit metre ile ölçülmüştür.

3.2.6.3 Kök uzunluğu

Boyu ölçülen bitkilerde kök uzunluğu şerit metre ile ölçülmüştür.

3.2.6.4 Gövde çapı (cm)

Boyu ölçülen bitkilerde gövdenin alt ve üst kısmında dijital kumpas yardımı ile gövde kalınlığı ölçülmüştür.

3.2.6.5 Biyomas (g)

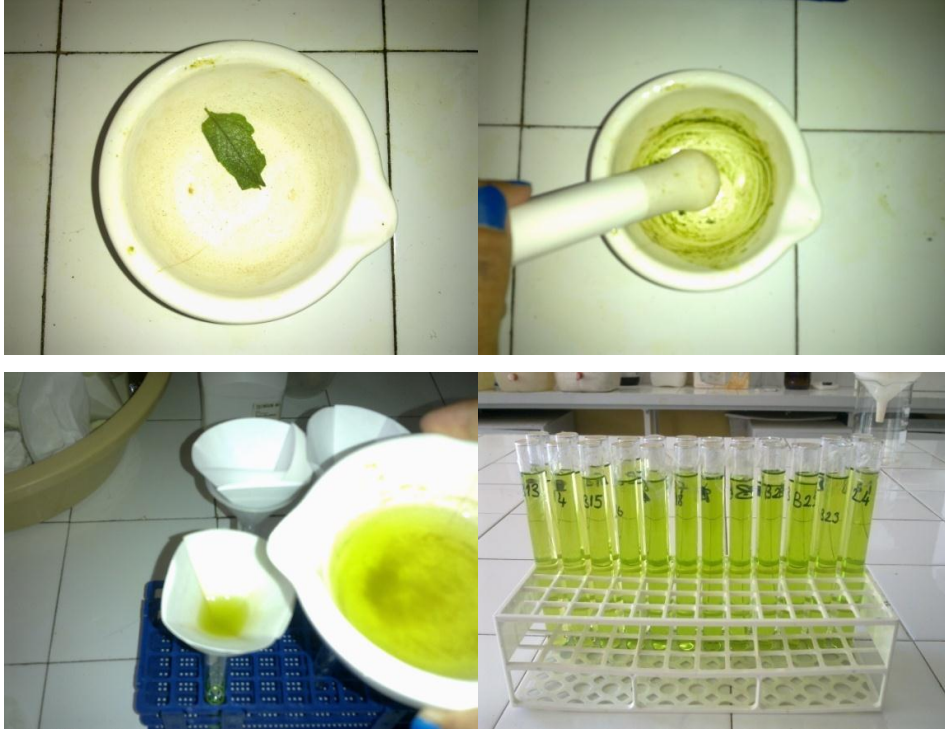
Her uygulamaya ait seçilen 3 bitkinin üretim dönemi sonunda kök ve üst aksam yaş ağırlıkları alındıktan sonra, 65°C etüvde sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuş ve kuru ağırlıkları alınarak kök ve toprak üstü biyomas ağırlıkları belirlenmiştir.

3.2.6.6 Klorofil ve karoten içeriği (mg/L)

Her uygulamaya ait 3 bitkiden alınan 2 adet yaprağın orta kısmından 0.25 g örnek alınarak 50 ml %80'lik aseton ile homojenize edilmiş, homojenat filtre kağıdından süzülüp, süzülenler cam deney tüpüne konulmuş, klorofil a için 663 nm, klorofil b için 645 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. Elde edilen değerler aşağıdaki formülde yerine konularak klorofil a ve klorofil b değerleri, klorofil a ve klorofil b değerlerinin toplamıyla da toplam karoten içeriği mg/g olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.2.) (Arnon, 1949).

$$\text{Klorofil a} = [(0,0127 \cdot 663\text{nm}) - (0,00269 \cdot 645)] \cdot 1000$$

$$\text{Klorofil b} = [(0,0229 \cdot 645\text{nm}) - (0,00468 \cdot 663)] \cdot 1000$$



Şekil 3.2. Domates bitkilerinde yapılan klorofil içeriği analizinin çeşitli aşamalarına ait görünüm

3.2.6.7 Prolin içeriği ($\mu\text{mol proline /g}$ taze ağırlık)

Serbest prolin içeriğinin belirlenmesi Bates et al. (1973) göre yapılmıştır. Her uygulamadan 3 bitkiden alınan 0,5 g yaprak örneği % 3' lük (w/ v) sülfosalisilik asitle homojenize edilmiş ve homojenat filtre kağıdından süzülmüştür. Asit ninhidrin ve glasiyel asetik asit eklendikten sonra oluşan karışım 100°C' de 1 saat su banyosunda bekletilip; daha sonra reaksiyon buz banyosu kullanılarak durdurulacak ve karışıma tolüen ilave edilerek ekstrakte edilmiştir. Sıvı fazdan aspire edilen tolüen fraksiyonunun 520 nm' deki absorbansı spektrofotometrede okunmuş ve aynı işlemlerle hazırlanan prolin konsantrasyonu kalibrasyon eğrisi hazırlanarak yaprak prolin içeriği $\mu\text{mol prolin/g}$ taze ağırlık olarak ifade edilmiştir.

3.2.7 İstatistiksel değerlendirme

Veriler SPSS (V.A6) istatistik paket programı ile kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Gruplar arası önemli farklar Duncan testi ile belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Domates Çeşitlerinde Görülen Belirtiler

Araştırma kapsamında Asil çeşidinde yapılan görsel incelemelerde kontrol ve TSWV infekteli bitkiler arasında simptomatolojik açıdan önemli farklılıklara rastlanmamıştır. Bitki yaprak ve meyvelerinde genel TSWV' in domatesteki belirtilerine rastlanmamıştır.

Çiğdem çeşidinde yapılan görsel incelemelerde yapraklar üzerinde oluşan küçük kahverengi nekrotik lekeler, kurumalar ve alt yaprak yüzeylerindeki damarlarda morarmalar görülmüştür (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Çiğdem çeşidinde görülen belirtiler

Ferman çeşidinde yapılan görsel incelemelerde kontrol ve TSWV infekteli bitkiler arasında simptomatolojik açıdan önemli farklılıklara rastlanmamıştır. Bitki yaprak ve meyvelerinde genel TSWV' in domatesteki belirtilerine rastlanmamıştır.

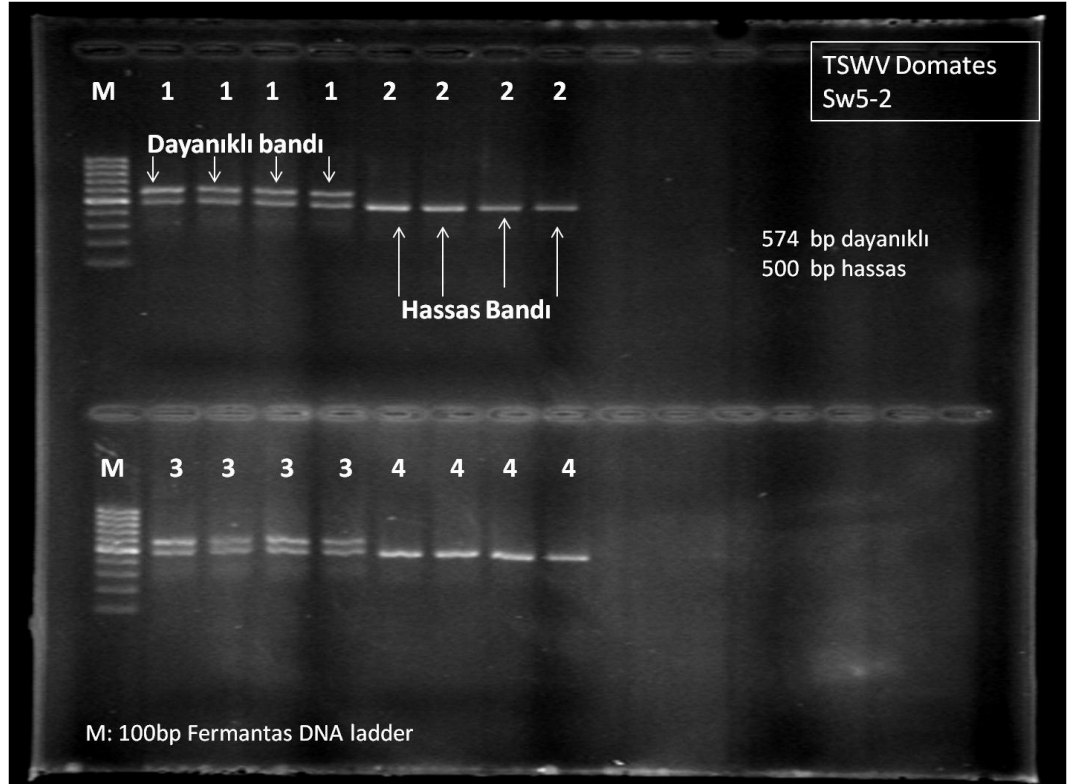
Kardelen çeşidinde yapılan görsel incelemelerde yapraklar üzerinde önce kahverengi daha sonra bronz rengine dönüşen lekeler gözlenmiştir. Bu lekeler zamanla nekroza dönüşerek yaprağı tamamen kurutmuştur. Sürgün uçlarında geriye doğru ölüm ve genel solgunluk gözlenmiştir. Meyve üzerinde ise etrafı sarı renkte olan daire şeklinde lekeler kayıt edilmiştir (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Kardelen çeşidinde görülen belirtiler

4.2 TSWV'e Dayanıklılık Sağlayan Sw-5 Geninin Moleküler İşaretleyiciler Yardımıyla Belirlenmesi

Bu çalışmada; domates çeşitlerinde Sw-5 geninin varlığı kontrol edilmiş ve TSWV' e karşı Asil F1 dayanıklı, Çiğdem F1 toleran, Ferman F1 dayanıklı ve Kardelen F1 duyarlı bir çeşit olduğu moleküler işaretleyiciler ile belirlenmiştir (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Markör ile PCR yapılan domates DNA'larının agaroz jelde görünümü

4.3 Serolojik Çalışma Sonuçları

Mekanik inokulasyon çalışması sonucunda symptom gösteren domates örneklerinde TSWV' nin varlığının ortaya konulması amacıyla yapılan DAS-ELISA testi sonucunda Çiğdem ve Kardelen çeşidinde TSWV' e saptanmıştır.

4.4 RT-PCR Çalışma Sonuçları

DAS-ELISA testi sonucu negatif olan Asil ve Ferman çeşitlerine RT-PCR yapılmış ve TSWV' e saptanmamıştır.

4.5 Analiz Sonuçları

Analiz sonuçlarında meydana gelen değişimler Çizelge 4.1.' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Analiz sonuçlarında meydana gelen değişimler

	Asil (Dayanıklı)	Ferman (Dayanıklı)	Çiğdem (Tolerant)	Kardelen (Duyarlı)
Bitki boyu	%15.90	%0	%27.94	%27.82
Kök boyu	%21.25	%0.739	%27.05	%37.49
Gövde alt çapı	%5.97	%3.11	%15.73	% (-) 2.52
Gövde üst çapı	%1.11	% (-) 2.66	%19.23	%8.33
Üst aksam kuru ağırlığı	%28.43	% (-) 1.32	% (-) 49.1	%66.92
Üst aksam yaş ağırlığı	%27.96	%23.26	%67.34	%73.38
Kök kuru ağırlığı	%79.02	%50.63	%79.41	%86.47
Kök yaş ağırlığı	%70.76	%25.20	%74.16	%88.44
Klorofil a	%29.31	% (-) 6.12	%48.65	%24.78
Klorofil b	%24.12	% (-) 12.59	%49.32	%13.29
Toplam karoten	%17.02	% (-) 3.57	%29.25	%7.93
Prolin	% (-) 28.43	% (-) 0.54	%1.47	%1.57

4.5.1 Virüs-İndeksleme skalası

0-5 skalasına göre elde edilen skala değerlerinden aşağıda verilen Towsend-Heuberger formülü kullanarak % hastalık şiddeti hesaplanmıştır (Çizelge 4.2.) (Bora ve Karaca, 1970).

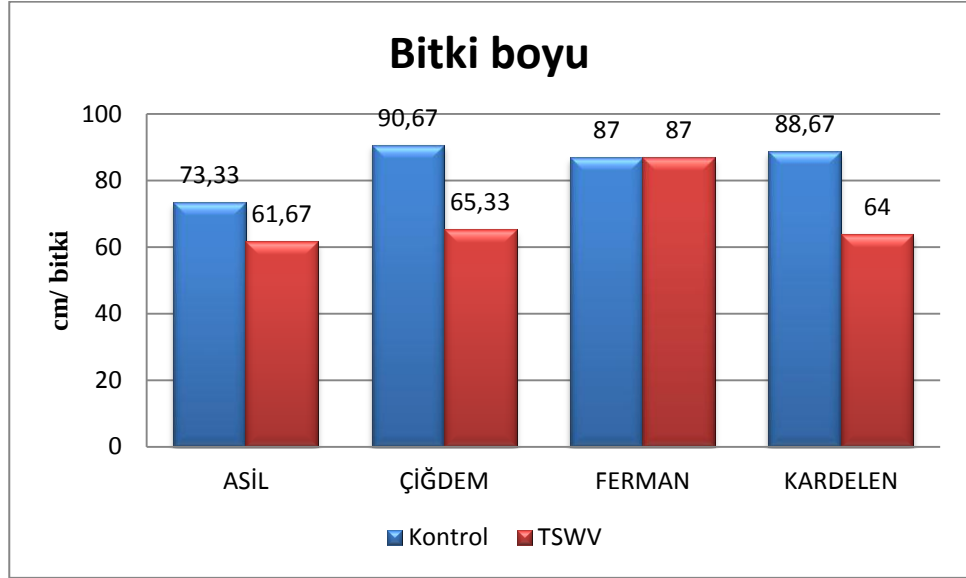
$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\text{Tüm Sayısal Dereceler Toplamı} \times 100}{\text{Toplam Hasta Bitki Sayısı} \times \text{En Yüksek Sınıf Değeri}}$$

Çizelge 4.2.TSWV'nin % hastalık şiddeti

Domates Türü	Kontrol Edilen Domates Sayısı	Hastalık Şiddeti (%)
Asil	12	27.5
Ferman	12	33.33
Çiğdem	12	51.66
Kardelen	12	56.66

4.5.2 Bitki boyu

Bitki boyu bakımından istatistiki açısından çeşitler arasında farklılıklar olduğu belirlenmiştir. TSWV inokule edilen bitkilerinin boylarının sağlıklılara oranla kısa olduğu görülmüştür (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde bitki boyu (cm)

TSWV inokulasyonu sonucunda Çiğdem ve Kardelen çeşitlerinde kontrol gruplarına oranla değişim fazla bulunurken Ferman çeşidinde değişiklik saptanmamıştır. Asil çeşidinde meydana gelen kısalığın %15.90, Çiğdem çeşidinde %27.94, Ferman çeşidinde %0 ve Kardelen çeşidinde %27.82 olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 4.3.).

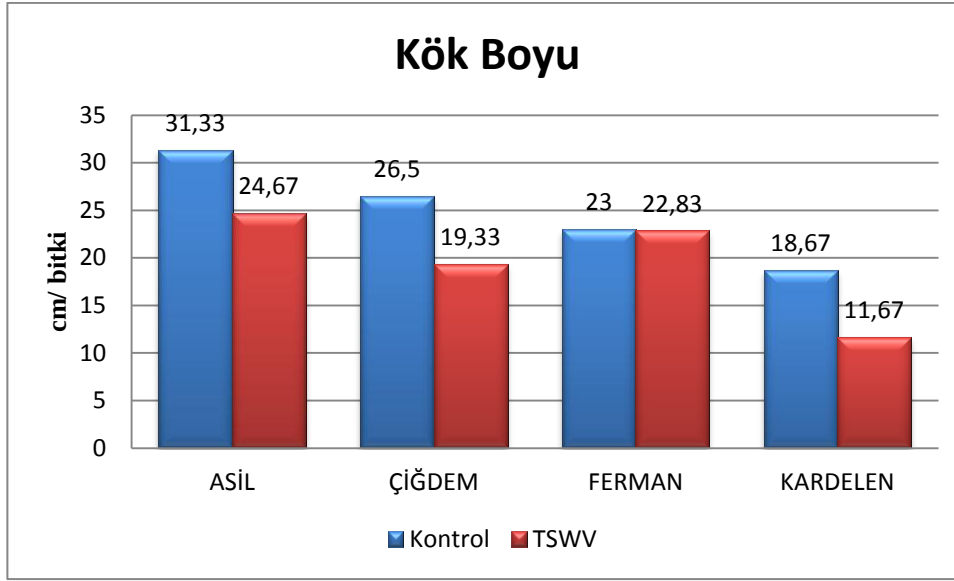
Çizelge 4.3. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde bitki boyu (cm) ile kontrole göre değişimleri (%)

Çeşit	Bitki Boyu (cm)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	73.33 ab	61.67 b	15.90
Ferman	87.00 a	87.00 b	0
Çiğdem	90.67 a	65.33 b	27.94
Kardelen	88.67 a	64.00 b	27.82

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

4.5.3 Kök boyu

Kök uzunluğu bakımından istatistiki anlamda meydana gelen değişim önemli bulunmuştur. Çeşitler arasında da farklılıklar olduğu görülmüştür. TSWV inokulasyonu sonucu bitkilerin kök derinliklerinin sağlıklılara oranla daha kısa kaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde bitki kök boyu (cm)

Asil çeşidinde kök uzunluğunda meydana gelen kısalma kontrolün %21.15'i, Çiğdem çeşidinde %27.05'i, Kardelen çeşidinde %37.49'u kadar olmuş, Ferman çeşidinde ise TSWV infeksiyonu sonucunda kısalma %0.739 oranında meydana gelmiştir (Çizelge 4.4.).

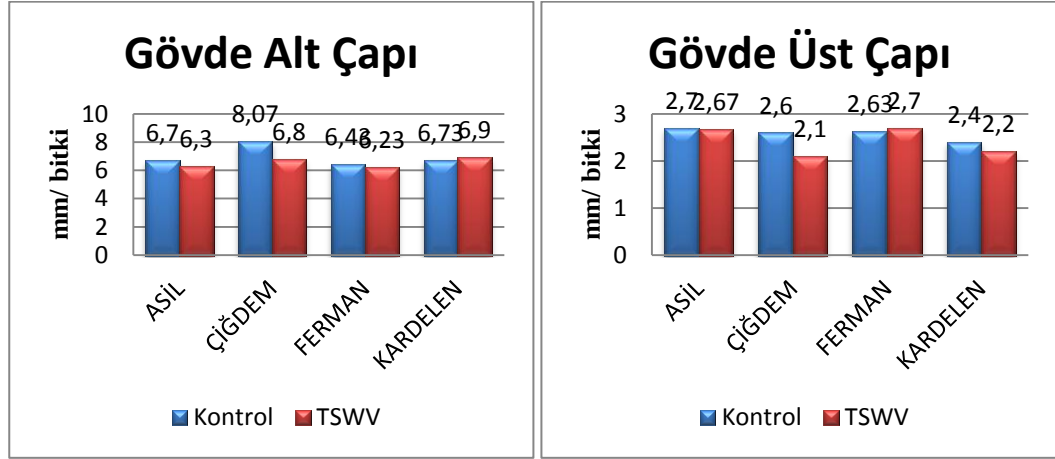
Çizelge 4.4. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde bitki kök boyu (cm) ile kontrole göre değişimleri (%)

Çeşit	Kök Boyu (cm)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	31.33 a	24.67 ab	21.25
Ferman	23.00 ab	22.83 ab	0.739
Çiğdem	26.50 ab	19.33 bc	27.05
Kardelen	18.67 bc	11.67 c	37.49

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

4.5.4 Gövde çapı

TSWV inokule edilen bitkiler ile sağlıklı bitkiler arasında gövde alt ve üst çapı bakımından meydana gelen değişimin istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6.) (Çizelge 4.5.) (Çizelge 4.6.).



Şekil 4.6. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde gövde alt ve üst çapı kalınlığı (mm)

Çizelge 4.5. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde gövde altçapı (mm) ile kontrole göre değişimleri (%)

Çeşit	Gövde Alt Çapı (mm)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	6.70	6.30	5.97
Ferman	6.43	6.23	3.11
Çiğdem	8.07	6.80	15.73
Kardelen	6.73	6.90	(-) 2.52

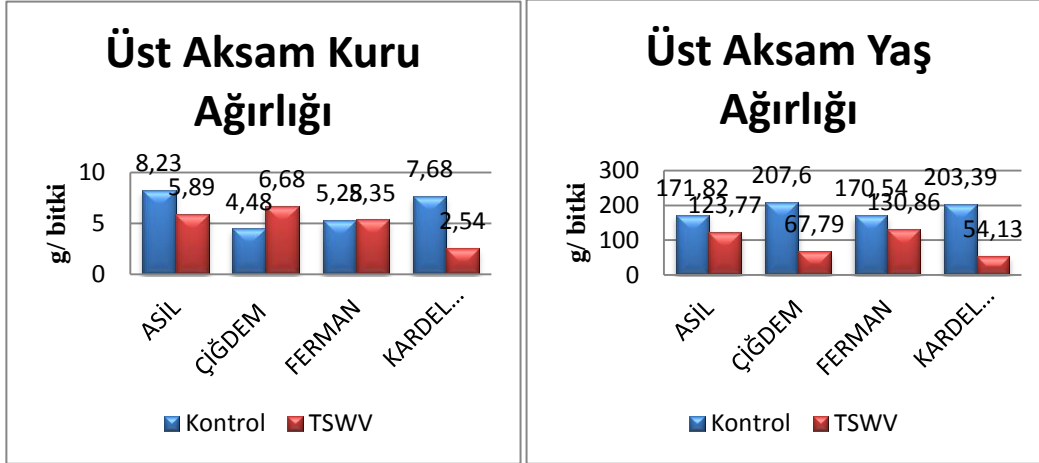
Çizelge 4.6. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde gövde üstçapı (mm) ile kontrole göre değişimleri (%)

Çeşit	Gövde Üst Çapı (mm)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	2.70	2.67	1.11
Ferman	2.63	2.70	(-) 2.66
Çiğdem	2.60	2.10	19.23
Kardelen	2.40	2.20	8.33

4.5.5 Biomas

4.5.5.1 Üst aksam kuru ve yaş ağırlığında meydana gelen değişimler

Domates bitkilerinde TSWV' nin üst aksam kuru ve yaş ağırlığında istatistiki açıdan önemli değişimler olduğu saptanmıştır (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde üst aksam kuru ve yaş ağırlığı (g)

Üst aksam kuru ağırlığı bakımından TSWV enfeksiyonunun istatistiksel açıdan önemli bir değişim meydana getirmediği belirlenmiştir (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde üst aksam kuru ağırlığı (g) ile kontrole göre değişimleri (%)

Çeşit	Üst Aksam Kuru Ağırlığı (g)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	8.23	5.89	28.43
Ferman	5.28	5.35	(-) 1.32
Çiğdem	4.48	6.68	(-) 49.10
Kardelen	7.68	2.54	66.92

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

Domates çeşitleri arasında Çiğdem (%67,34) ve Kardelen (%73,38) çeşitlerinde en fazla üst aksam yaş ağırlık kaybı olduğu belirlenmiştir. Asil çeşidindeki azalış oranı %27,96, Ferman çeşidinde ise %23,26 olmuştur (Çizelge 4.8.).

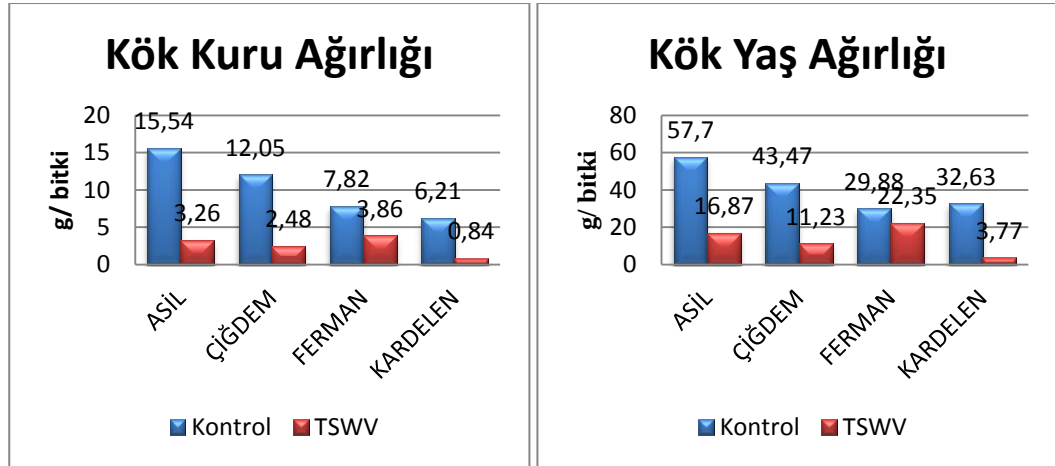
Çizelge 4.8. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde üst aksam yaş ağırlığı (g) ile kontrole göre değişimleri (%)

Çeşit	Üst Aksam Yaş Ağırlığı (g)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	171.82 ab	123.77 abc	27.96
Ferman	170.54 ab	130.86 abc	23.26
Çiğdem	207.60 a	67.79 bc	67.34
Kardelen	203.39 a	54.13 c	73.38

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

4.5.5.2 Kök kuru ve yaş ağırlığında meydana gelen değişimler

Kök kuru ağırlığı ve kök yaş ağırlığı bakımından istatistiki anlamda çeşitler arasında farklılıklar olduğu belirlenmiş, TSWV enfeksiyonu sonucu kök kuru ağırlığının ve kök yaş ağırlığının azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde kök kuru ağırlığı ve kök yaş ağırlığı (g)

TSWV enfeksiyonu sonucunda kök kuru ağırlığında en fazla kayıp meydana gelen çeşit %86,47 oranıyla Kardelen çeşidi olmuştur. Asil çeşidinde %79,02, Çiğdem çeşidinde %79,41 ve Ferman çeşidinde %50,63 oranında kayıp olmuştur (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde kök kuru ağırlıkları (g) ile kontrole göre değişimleri (%)

Çeşit	Kök Kuru Ağırlığı (g)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	15.54 a	3.26 cde	79.02
Ferman	7.82 bc	3.86 cde	50.63
Çiğdem	12.05 ab	2.48 ce	79.41
Kardelen	6.21 cd	0.84 e	86.47

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

Kardelen çeşidinin TSWV enfeksiyonu sonucu en fazla kök yaş ağırlık kaybına uğrayan çeşit olduğu %88,44 ve bunu Asil çeşidi %70,76 ve Çiğdem çeşidi %74,16 izlediği belirlenmiştir. Buna karşılık Ferman çeşidinde enfeksiyon sonucu kök yaş ağırlığında % 25,20 azalış olmuştur (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde kök yaş ağırlıkları (g) ile kontrole göre değişimleri (%)

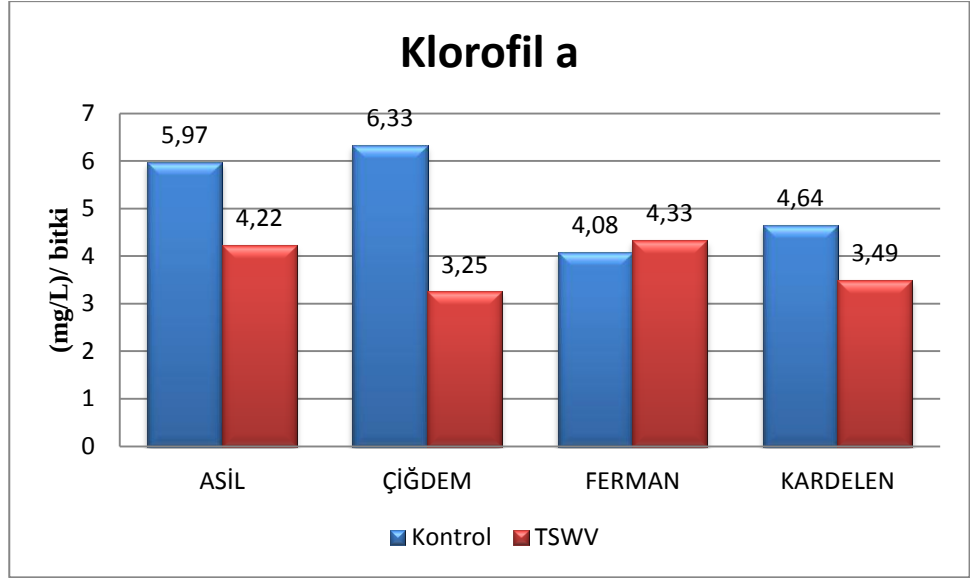
Çeşit	Kök Yaş Ağırlığı (g)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	57.70 a	16.87 cde	70.76
Ferman	29.88 bc	22.35 cd	25.20
Çiğdem	43.47 ab	11.23 de	74.16
Kardelen	32.63 bc	3.77 e	88.44

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

4.5.6 Klorofil miktarı

4.5.6.1 Klorofil a miktarı bakımından ortaya çıkan değişimler

Klorofil a miktarı bakımından istatistiki anlamda çeşitler arasında farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde klorofil a miktarları (mg/L)

TSWV enfeksiyonu sonucunda çeşitler arasında en fazla klorofil a kaybına uğrayan çeşit Çiğdem olmuştur. Bunu %29,31 oranında azalışla Asil ve %24,78 oranında azalışla Kardelen çeşidi izlemiştir. Ferman çeşidinde ise %6,12’lik artış olduğu görülmüştür (Çizelge 4.11.).

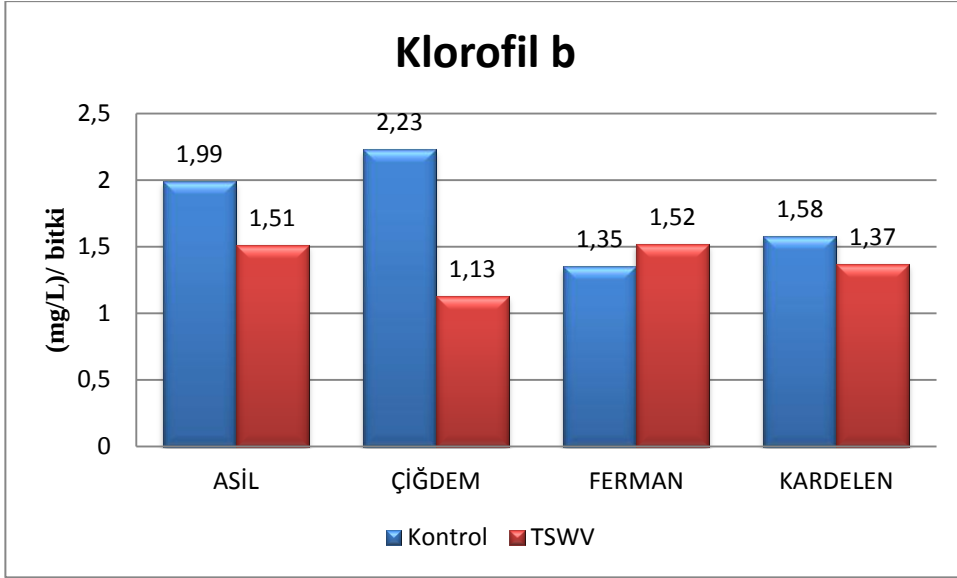
Çizelge 4.11. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde yapraklardaki klorofil a (mg/L) ile kontrole göre değişimleri (%)

Çeşit	Klorofil a (mg/L)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	5.97 a	4.22 b	29.31
Ferman	4.08 b	4.33 b	(-) 6.12
Çiğdem	6.33 a	3.25 b	48.65
Kardelen	4.64 b	3.49 b	24.78

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

4.5.6.2 Klorofil b miktarı bakımından ortaya çıkan değişimler

TSWV enfeksiyonu sonucu klorofil b miktarında meydana gelen değişimler istatistiki anlamda önemli bulunmuştur (Şekil 4.10.).



Şekil 4.10. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde klorofil b miktarları (mg/L)

TSWV enfeksiyonu sonucunda çeşitler arasında en fazla klorofil b kaybına uğrayan çeşit Çiğdem olmuştur. Asil çeşidinde %24,12'lik ve Kardelen çeşidinde %13,29'lık klorofil b kaybı meydana gelmiştir. Ferman çeşidinde ise %12,59'luk bir artış olmuştur (Çizelge 4.12.).

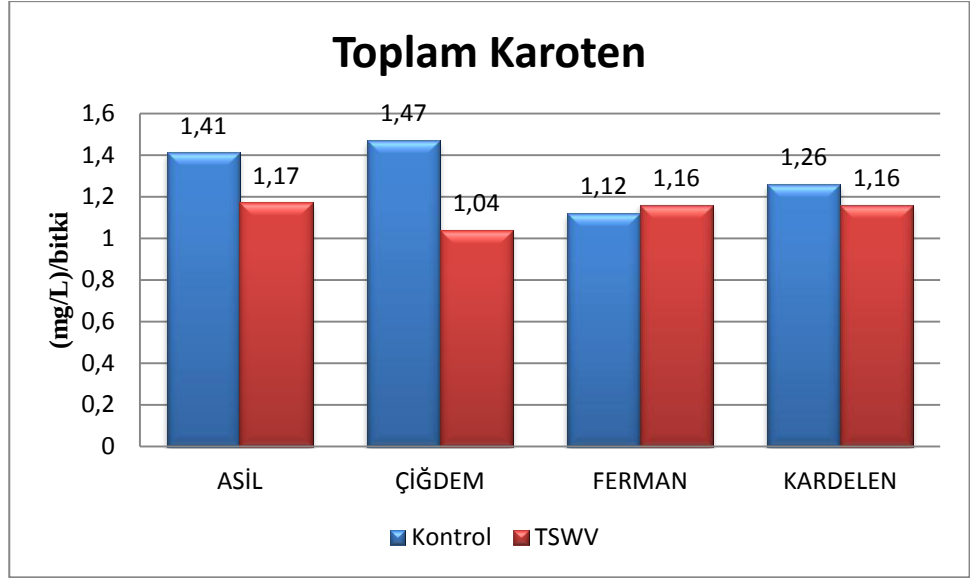
Çizelge 4.12. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde yapraklardaki klorofil b (mg/L) ile kontrole göre değişimleri

Çeşit	Klorofil b (mg/L)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	1.99 ab	1.51 c	24.12
Ferman	1.35 c	1.52 c	(-) 12.59
Çiğdem	2.23 a	1.13 c	49.32
Kardelen	1.58 bc	1.37 c	13.29

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

4.5.6.3 Toplam karoten miktarı bakımından ortaya çıkan değişimler

Toplam karoten bakımından istatistiki anlamda çeşitler arasında farklılıklar olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde toplam karoten miktarları (mg/L)

Asil çeşidinin toplam karoten miktarı kontrol grubuna oranla %17,02, Çiğdem çeşidinin %29,25 ve Kardelen çeşidinin %7,93 oranında daha az olduğu, Ferman çeşidinde ise %3,57 oranında artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.13.).

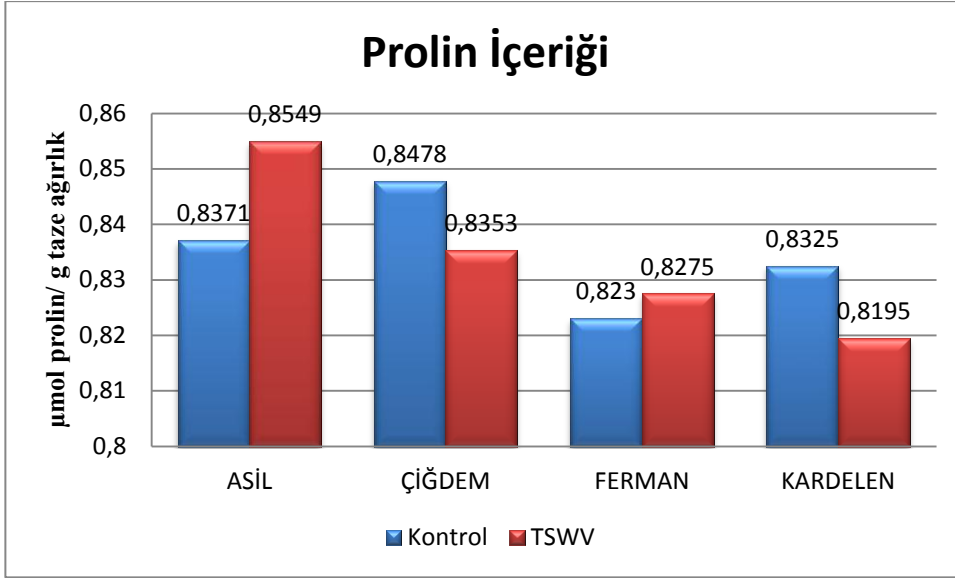
Çizelge 4.13. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde yapraklardaki toplam karoten (mg/L) ile kontrole göre değişimleri (%)

Çeşit	Toplam Karoten (mg/L)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	1.41 ab	1.17 bc	17.02
Ferman	1.12 c	1.16 bc	(-) 3.57
Çiğdem	1.47 a	1.04 c	29.25
Kardelen	1.26 bc	1.16 bc	7.93

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

4.5.7 Prolin içeriği

Stres aminoasidi olarak da isimlendirilen prolin bir biyotik stres parametresi olup TSWV enfeksiyonu sonucu meydana gelen değişimler istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur (Şekil 4.12.) (Çizelge 4.14.).



Şekil 4.12. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde prolin miktarları (µmol prolin/ g taze ağırlık)

Çizelge 4.14. TSWV inokule edilen ve sağlıklı bitkilerde prolin miktarları (µmol prolin/ g taze ağırlık) ile kontrole göre değişimler (%)

Çeşit	Prolin (µmol prolin/ g taze ağırlık)*		
	Kontrol	TSWV	Değişim (%)
Asil	0.8371	0.8549	(-) 28.43
Ferman	0.823	0.8275	(-) 0.54
Çiğdem	0.8478	0.8353	1.47
Kardelen	0.8325	0.8195	1.56

*Çeşitler arasındaki farklılıklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,005)

5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışma ile TSWV' nin konukçusu olan domates bitkisinin morfolojik özelliklerine, fizyolojik ve biyokimyasal faaliyetleri üzerine etkileri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar varyans analizine tabi tutulmuş, önemli bulunanlara bu önemliliği istatistiksel olarak kanıtlamak için Duncan testi uygulanmıştır.

TSWV domateste çeşitli semptomlara neden olabilmektedir. Bu semptomlar, gelişme geriliği, küçükleme, genel solgunluk, yaprak ve meyveler üzerinde halkalı lekeler, nekrotik ve klorotik lezyonlar ve genç sürgünlerde geriye doğru ölümdür (Güldür ve ark., 1995). Belirtilerin görünüşü ve şiddeti; genotipe, enfeksiyon gerçekleştiğinde bitkinin bulunduğu gelişme dönemine (Moriones ve ark., 1998; Chaisuekul ve ark.,2003), virüs izolatına ve çevresel şartlara bağlıdır (Kaminska 1993, Mitidieri ve ark., 2001). Bu çalışmada TSWV enfekteli Çiğdem çeşidinde yapılan görsel incelemelerde yapraklar üzerinde oluşan küçük kahverengi nekrotik lekeler, kurumalar ve alt yaprak yüzeylerindeki damarlarda morarmalar ve Kardelen çeşidinde yapılan incelemelerde ise yapraklar üzerinde nekrotik lekeler, sürgün uçlarında geriye doğru ölüm ve genel solgunluk, meyve üzerinde ise etrafı sarı renkte olan daire şeklinde lekeler görülmüştür. Görülen belirtiler, daha önce yapılan çalışmalarda TSWV belirtileri ile örtüşmektedir. Dayanıklı olduğu belirlenen Asil ve Ferman çeşidinde kontrol ve TSWV infekteli bitkiler arasında bitki yaprak ve meyvelerinde TSWV' in domatesteki belirtilerine rastlanmamıştır.

Uygulama sonunda son değerlendirme fide dikiminden 40 gün sonra 0-5 skalasına göre yapıldığında mekanik inokulasyon sonucu elde edilen hastalık şiddeti ve skala değerleri oldukça yüksek bulunmuştur. Asil çeşidi %27,5, Çiğdem çeşidi %51,66, Ferman çeşidi %33,33 ve Kardelen çeşidi %56,66 oranında hastalık şiddeti oluşturmuştur.

Moriones ve ark. (1998) tarafından İspanya' da yapılan bir çalışmada domates bitkilerinde TSWV inokulasyonu sonucu belirti gösteren bitkilerde virüsün varlığı DAS-ELISA yöntemiyle tanımlanmıştır. Bu çalışmada da mekanik inokulasyon sonucunda belirti gösteren domates örneklerinde TSWV' nin

varlığının ortaya konulması amacıyla DAS-ELİSA testi yapılmıştır. DAS-ELİSA testi sonucunda, TSWV belirtisi gösteren Çiğdem ve Kardelen çeşitlerinde TSWV' e saptanırken TSWV' e karşı dayanıklı olan Asil ve Ferman çeşitlerinde TSWV saptanmamıştır. DAS-ELISA testi sonucu negatif olan Asil ve Ferman çeşitlerine RT-PCR yapılmış ve TSWV' e saptanmamıştır.

Bitki boyları bakımından karşılaştırıldığında hasta bitkilerin boylarının sağlıklılara oranla daha kısa kaldığı tespit edilmiş ve istatistiksel açıdan çeşitler arasında farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada Salaudeen (2015) börülcenin altı genotipinde CMV inokulasyonun etkisini incelemiş ve bitki boyunun %3 azaldığını saptamıştır.

Kök kuru ağırlığı ve kök yaş ağırlığı bakımından istatistiksel anlamda çeşitler arasında farklılıklar olduğu belirlenmiş, TSWV enfeksiyonu sonucu kök kuru ağırlığının ve kök yaş ağırlığının azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca üst aksam kuru ağırlığını istatistiksel olarak önemli derece düşürdüğü de saptanmıştır. Ancak üst aksam yaş ağırlığında istatistiksel anlamda önemli bir değişim meydana getirmemiştir. Yapılan bir çalışmada TSWV enfeksiyonu sonucunda domates bitkisinde biyomasta önemli azalmalar olduğu ancak istatistiksel açıdan önemli olmadığını ortaya konmuştur (Ramkat et al., 2006). Biyomas değerlerindeki bu azalışlar bitkinin kuru maddesinde düşüş olduğunu kanıtlamıştır. Bu düşüşlerin bitkinin fotosentez mekanizmasının yeterli çalışmayıp organik madde üretememesinden ve depolanan karbonhidrat ürünlerinin enerji için parçalanması sonucu olduğu kanısına varılmıştır.

Pazarlar ve ark. (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, TMV' un biber bitkisinde meydana getirdiği bazı biyolojik ve fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. TMV enfeksiyonu sonucu biberlerde klorofil a ve klorofil b miktarında azalmalar olduğu saptanmıştır. Bu tez çalışmasında da hastalık etmeni olan TSWV' in bitki hücrelerinde klorofil üretiminde azalmaya neden olduğu belirlenmiş ve TSWV saldırısına uğrayan bitki yapraklarında klorofil a ve klorofil b miktarında düşüş olmuştur.

Prolin aminoasidi, son yıllarda bitki stres fizyolojisinde üzerinde en çok çalışılan bileşiklerden birisi olmuştur. Bu bileşiğin tuz ve su stresi altındaki bitkilerde önemli oranlarda yükseldiği ve bu sayede bitki savunma mekanizmasını harekete geçirerek bitkinin strese karşı koyma mekanizmasını desteklediği görüşü hakimdir (Shannon, 1997). Bu çalışmada da domates bitkisinde biyotik stres olan TSWV enfeksiyonu sonucu prolin miktarı incelenmiştir. Ancak stres aminoasidi olan prolinin enfeksiyondan etkilenmediği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu tez kapsamında elde edilen bilgilerin ışığında aşağıdaki önerilerin yapılması uygun görülmüştür:

- Domateste, fide aşamasında uygulanan TSWV' nin gelişmeyi olumsuz yönde etkilediği; ancak enfeksiyondan etkilenme özelliği bakımından denemede yer alan domates genotipleri arasında önemli farklılıklar ortaya çıktığı belirlenmiştir. TSWV inokulasyonundan en fazla etkilenen çeşitlerin TSWV' e karşı tolerant olan Çiğdem F1 ve TSWV' e karşı duyarlı olan Kardelen F1 olduğu saptanmıştır. En az etkilenen ise TSWV' e karşı dayanıklı olan Asil F1 ve Ferman F1'dir.
- TSWV ile enfekteli dayanıklı, tolerant ve duyarlı çeşitlerde bitki boyu, kök boyu, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve üst aksam yaş ağırlığı oranlarında kontrol grubuna göre düşme olduğu, ancak düşüş oranının, tolerant ve duyarlı çeşitlerde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ancak klorofil a ve klorofil b oranlarında kontrol grubuna göre en fazla kaybın tolarent çeşidinde olduğu saptanmıştır.
- Pratikte elde edilen sonuçlar, bu hastalığa karşı dayanıklı domates çeşitlerinin seçimine yardımcı olacak niteliktedir. Ayrıca hem pratikte fikir vermesi açısından faydalı olacak, hem de bilimsel açıdan bundan sonra yapılacak çalışmalara basamak teşkil ederek literatür eksikliğini tamamlayacak niteliktedir.
- Sonuç olarak, seralarda oldukça yaygın olan TSWV' e karşı kimyasal mücadele yönteminin olmaması nedeniyle enfeksiyondan korunmada en etkili faktör olan dayanıklı çeşitler tespit edilerek hastalığa karşı dayanıklı üretim materyali kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adkins, S., Zitter, T. and Momol, T.**, 2005, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Published October 2005. Tospoviruses (Family Bunyaviridae, Genus Tospovirus).
- Agrios, G. N.**, 1988, Plant Pathology, 3rd ed. Academic Pres, Inc., New York, 803pp.
- Antignus, Y., Lapidot, M., Ganaim, N., Cohen, J., Lachman, O., Perlsman, M., Raacah, B. and Gera, A.**, 1997, Biological and Molecular Characterization of *Tomato Spotted Wilt Virus* in Israel. *Phytoparasitica* 25 (4): 319-330.
- Arnon, D. I.**, 1949, Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24 (1): 1-15.
- Azeri, T.**, 1981, Preliminary report of *Tomato spotted wilt virus* and its epidemy on tobacco in the Çanakkale Region of Turkey. *J. Turkish Phytopathol.*, 10: 79-87
- Azeri, T.**, 1994. Detection of *Tomato Spotted Wilt Virus* in Tobacco and Tomato Cultivars by Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *J.Türk Phtopathology*, 23(1): 37-46.
- Bailiss, K. W.**, 1970, Infection of Cucumber Cotyledons by CMV and Its Participitation of Chlorophyllase in the Development of Chlorotic Lesions. *Ann. Bot.*, 34, (136):647-655 (Rev. of Plant Path., 49 No.3541.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D.**, 1973, Rapid Determination of Free Prolinefor Water-Stress Studies. *Plant and Soil*,39:205-207.
- Bora, T. and Karaca İ.**, 1970, Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No:167 Bornova, 43s.
- Chaisuekul, C., Riley, D. G. and Rappu, H. R.**, 2003, Transmission of *Tomato spotted wilt virus* to tomato plants of different ages. *J. Entomol. Sci.*, 38(1), 127-136.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Christov, I., Stefanov, D., Velinov, T., Goltsev, V., Georgieva, K., Abracheva, P., Genova, Y. and Christov, N.,** 2005, The Symptomless Leaf Infection with Grapevine Leafroll Associated Virus 3 in Grown in Vitro Plants as a Simple Model System for Investigation of Viral Effects on Photosynthesis. *Journal of Plant Physiology* 164: 1124-1133.
- Clover, G. R. G., Azam-Ali, S. N., Jaggard, K. W. and Smith, H. G.,** 1999, The effects of beet yellows virus on the growth and physiology of sugar beet (*Beta vulgaris*), *Plant Pathology*, 48, 129–138.
- Çetinkaya Yıldız, R.,** 2007, Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.)’ nin Tanılanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler ile Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 152s
- Dianese, E.C., Fonseca, M.E.N.D., Goldbach, R., Kormelink, R., Inoue-Nagata A.K., Resende R.O. and Boiteux L.S.,** 2010, Development of a Locus-Specific, Co-dominant SCAR Marker for Assisted-Selection of the Sw-5 (Tospovirus resistance) Gene Cluster in a Wide Range of Tomato Accessions, *Mol Breeding* 25:135
- Erdiler, G.,** 1979, Fasulye Adi Mozayik Virüs (*Bean common mosaic virus- BCMV*)’nun Konukçusu *Phaseolus vulgaris*’in Verim Unsurları ve Solunumuna Etkileri Üzerine Araştırmalar. A. Ü. Zir. Fak. Yayın No:700, 50.
- Erdiller, G. ve Özyanar, F.,** 1983, Salatalık Mozayik Virüsü (*Cucuber mosaic virus*)’ nun Konukçusu *Cucumis sativus* L.’in Fizyolojik ve Biyokimyasal Faaliyetlerine Etkileri Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bülteni, 23(2):61-73.
- FAO,** 2012, Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (Erişim Tarihi:20 Mayıs 2015)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Farooq, A. A., Akanda, A. M. and Islam D.,** 2007, Impact of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) on Growth Contributing Characters of Eight Tomato Varieties under Field Condition, *Int. J. Sustain. Crop Prod.* 2(2):1-9
- Foissac, X., Svanella-Dumas, L., Dulucq, M.J., Candresse, T. and Gentit, P.,** 2001, Polyvalent detection of fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by nested RT-PCR using degenerated and inosine containing primers (PDO RT-PCR). *Acta Horti* 550, 37-43.
- Francki, R. I. B., Fauquet, C. M., Knudson, D.L. and Brown, F.,** 1991, Classification and Nomenclature of Viruses: Fifth Report of The International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch. Virol.* Suppl. 2.
- Funayama-Noguchi, S and Terashima, I.,** 2006, Effects of Eupatorium yellow vein virus infection on photosynthetic rate, chlorophyll content and chloroplast structure in leaves of *Eupatorium makinoi* during leaf development, *Functional Plant Biology* (Impact Factor: 2.57) 33(2). DOI: 10.1071/FP05172
- German, T.L., Ullman, D.E. and Moyer, J.W.,** 1992, Tospovirus: Diagnosis, Molecular Biology, Phylogeny and Vector Relationships. *Ann. Rev. Phytopathology*, 30,315-348.
- Goldbach, R.W. and Peters, D.,** 1994, Possible Causes of the Emergence of Tospoviruses Diseases. *Seminars in Virology*, 5, 113-120.
- Güldür, M.E., Marchouks, M.G.M., Yurtmen, E. and Yılmaz, M.A.,** 1995, Mersin ve Çevresinde Yetiştirilen Domateslerde Zararlı Yeni Bir Virüs Tomato Spotted Wilt Virus. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 26-29 Eylül 1995, Adana Bildiriler, 303-306.
- Hemida, S., K.,** 2005, Effect of Bean Yellow Mosaic Virus on Physiological Parameters of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris*, *International Journal of Agriculture & Biology*, 1560–8530/2005/07–2–154–157.
- Jones, J.B., Jones, J.P., Stall, R.E. and Zitter, T.A.,** 1991, Compendium of tomato diseases, *American Phytopathological Society*, St. Paul, MN.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kamberoglu, M.A. and Alan, B.,** 2011, Occurrence of Tomato Spotted Wilt Virus in Lettuce in Cukurova Region of Turkey, International Journal of Agriculture & Biology, ISSN Print: 1560-8530; ISSN Online: 1814-9596 10-204/SPM/13-3-431-434.
- Kaminska, M.,** 1993, The response of Gerbera cultivars at different ages to *Tomato spotted wilt virus* infection. *Phytopathologia Polonica*, 18, 81-85.
- Kyseláková, H., Prokopova, J., Naus, J., Novak, O., Navratil, M. and Safarova, D.,** 2011, Photosynthetic Alterations of Pea Leaves Infected Systemically by *Pea enation mosaic virus*: A Coordinated Decrease in Efficiencies of CO₂ Assimilation and Photosystem II Photochemistry. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 49:1279-1289.
- Lehrer, A. T. and Komor, E.,** 2009, Carbondioxide Assimilation by Virus-free Sugarcane Plants and by Plants which were Infected by *Sugarcane yellow leaf virus*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 73:147-153.
- Lodos, N.,** 1981, Türkiye Entomolojisi, Genel Uygulamalı ve Foenestic, Cilt II., Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 429.
- Love, A.J., Martin, T., Graham, I. A. and Milner, J.J.,** 2005, Carbonhydrate Partitioning and Sugar Signalling in *Cauliflower mosaic virus*-Infected Turnip and Arabidopsis. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 67: 83-91
- Mitidieri, M., Biderbost, E., Castellano, P. and Taleisnik, E.,** 2001, High temperatureeffect on tomato predisposition to TSWV. *Acta Horticulturae*, 559(2), 781-786.
- Moriones, E., Aramburu, J., Riudavets, J., Arno´ J. and Lavina~ A.,** 1998, Effect of plant age at time of infection by tomato spotted wilt tospovirus on the yield of field-grown tomato, *European Journal of Plant Pathology* 104: 295–300.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Oğuz A., Ellialtıoğlu Ş., İlbi H., Çelik N., Kabaş A. ve Zengin S.,** 2009, Bazı Domates Hatlarının Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV=*Tomato spotted wilt virus*)’ ne Karşı Reaksiyonlarının Mekanik İnokulasyon Yöntemi ile Belirlenmesi, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi, 2009, 26 (1): 40-50 ISSN 1300-3496.
- Oğuz A., Ellialtıoğlu Ş., İlbi H., Çelik N., Kabaş A. ve Zengin S.,** 2013, “Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV) Etmenine Dayanıklılık Sağlayan Sw-5 Geninin Moleküler İşaretleyiciler Yardımıyla Belirlenmesi”http://www.agri.ankara.edu.tr/bahce/1099_1279475437.doc (Erişim tarihi: 27 Mayıs 2015).
- Özgöz, A.,** 1994, Bursa Yöresi Domateslerinde Virüs Hastalıklarının Tespiti ve Yayılışı Üzerinde Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 55s.
- Palanisamy, P., Michael, P.I. and Krishnaswamy, M.,** 2009, Physiological Response of Yellow Vein Mosaic Virus–Infected Bhendi (*Abelmoschus esculentus*) Leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 74:129-133.
- Parrella, G., Gognalons, P., Gebre-Selassie, K., Vovlas, C. and Marchoux, G.,** 2003, Un Update of the Host Range of Tomato Spotted Wilt Virus. *Journal of Plant Pathology*, 85(4): 227-264.
- Pazarlar, S., Gümüş, M. and Öztekin, G.B.,** 2013, The effects of *Tobacco mosaic virus* infection on growth and physiological parameters in some pepper varieties (*Capsicum annuum* L.). *Not Bot Horti Agrobo.* 41:427–433.
- Peters, D., de Avila, A.C., Kitajima, Resende, R. De O., De Haan, P. and Goldbach, R.,** 1991, An Overview of Tomato Spotted Wilt Virus , *in: Hsu, H.T. and Lawson, R.H. [Eds.] Proc. UDSA Workshop Virus – Thrips Plant Interactions of Tomato Spotted Wilt Virus* (Beltsville, MD, USA), pp. 1-14.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Polston, J.E. and Anderson, P.K.,** 1997, The emergence of whitefly-transmitted Geminiviruses in tomato in the western Hemisphere. *Plant Disease*, 81, 1358- 1369.
- Radwan, D.E.M., Fayez, K.A., Mahmoud, S.Y., Hamad, A. and Lu, Guoquan.,** 2007, Physiological and Metabolic Changes of *Cucurbita pepo* Leaves in Response to Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) Infection and Salicylic Acid Treatment, *Plant Physiology and Biochemistry*, 45: 480-489.
- Ramkat, R.C., Wangai, A. W., Ouma, J. P., Rapando, P. N. and Lelgut, D. K.,** 2006, Effect of Mechanical Inoculation of *Tomato spotted wilt tospovirus* Disease on Disease Severity and Yield of Greenhouse Raised Tomatoes, *Asian Journal of Plant Sciences*, 5: 607-612.
- Rapandove, P.N., Wangai, A.W., Tabu, I.M., Ombiri, J. and Ramkat, R.,** 2006, Effect of Inoculation on Severity of Tomato Spotted Wilt Disease in Cucumber. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5: 311-315.
- Salaudeen, M.T.,** 2015, Growth and Yield Responses of Some Cowpea Accessions to *Cucumber mosaic virus* Infection, *Archives of Agronomy and Soil Science*, <http://dx.doi.org/10.1080/03650340.2015.1045498> (Erişim Tarihi: 2 haziran 2015).
- Samuel, G., Bald, J.G. and Pittman, H.A.,** 1930, *Bull. Count Scient. Ind. Res.* Melbourne 44, 65 pp.
- Shannon, M. C.,** 1997. Adaptation of Plants to Salinity, *Advances in Agronomy* vol:60
- Singh, R.B., Sing, R. and Srivastava, R. D.,** 1977, Changes in Chlorophyl, Earbonhydrates and Primary Productivity of Cucumber Leaves as Influenced by CMV. *Ind.Jour.ofExp.Biol.* 15(1),82-83 (Rev.ofPlant Path.,1982, 56 No:5865).
- Sevik, M.A. and Arli-Sokmen, M.,** 2011, Estimation of the effect of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) infection on some yield components of tomato, *Phytoparasitica* 40:87-93 DOI 10.1007/s12600-011-0192-2.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tekinel, N.**, 1973, Adana, Antalya, Hatay ve İçel illerinde domates virüs hastalıklarının yayılış alanlarının ve oranlarının tespiti üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni Cilt.*, 13: 107-142.
- TUİK**, 2012, “Bitkisel Üretim İstatikleri” (<http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>) (Erişim tarihi: 12 Haziran 2015).
- Viswanathan, R., Chinnaraja, C., Malathi, P., Gomathi, R., Rakkiyappan, P., Neelamathi, D. and Ravichandran, V.**, 2014, Impact of Sugarcane yellow leaf virus (ScYLV) infection on physiological efficiency and growth parameters of sugarcane under tropical climatic conditions in India, *Acta Physiol Plant*, 36:1805–1822 DOI 10.1007/s11738-014-1554-4
- Wani, S.P., Sivaramakrishnan, S., Naidu, R.A., Zambre, M.A., Lee, K.K. and Pande, S.** 1991, Biochemical Changes in Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) Plants Infected with *Maize Mosaic Virus*. *Indian journal of microbiology*, 31 (4). pp. 387-395.
- Wijkamp, I., Van Lent, J., Kormelink, R., Goldbach, R. and Peters, D.**, 1993, Multiplication of Tomato Spotted Wilt Virus in Its Insect Vector, *Franklinella Occidentales. J.Gen.Virol.* 74: 341-349.
- Yurtmen, M., Guldur, M.E. and Yilmaz, M.A.**, 1998, Tomato spotted wilt virus on pepper in İçel Province of Turkey. *Ninth Conference of the I.SH.S Vegetable Virus Working Group, Recent Advance in Vegetable Virus Research*, 22-27 August 1998, pp: 91-92. Torino, Italy

ÖZGEÇMİŞ

01.01.1991 tarihinde Antalya’ da doğdu. İlköğrenimini İnönü İlköğretim Okulu’nda, liseyi Antalya Lisesi’nde tamamladı. 2009 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümüne girdi. 2014 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilimdalı, Fitopatoloji Bilimdalında yüksek lisans eğitimine başladı.

EKLER

Ek 1. ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

Ek 1.

ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

1. Fosfat tampon çözeltisi

8.0 gr NaCl

0.2 gr KH₂PO₄

2.9 gr Na₂HPO₄.12H₂O veya

2.3 gr Na₂HPO₄.7H₂O

1.44. gr Na₂HPO₄. 2H₂O

1.15 gr Na₂HPO₄ (anhdrous)

0.2 gr KCl

0.2 gr NaN₃

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH sı 0.1 N NaOH veya 0.1 N HCl ile ayarlanmış ve 4 °C' de saklanmıştır.

2. Kaplama Tampon Çözeltisi

1.59 gr Na₂CO₃

2.93 gr NaHCO₃

0.2 gr NaN₃

Yukarıda miktarı verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH sı ayarlanmış ve 4 °C' de saklanmıştır.

3. Yıkama tampon çözeltisi

Bir litre PBS tamponu 0.5 ml Tween-20 ilave edilerek hazırlanmıştır.

4. Ekstraksiyon Tampon Çözeltisi

Bir litre yıkama tamponu çözeltisi içine 20 gr Polyvinylpyrrolidone (PVP-40) ilave edilerek hazırlanmıştır.

5. Konjugat Tampon Çözeltisi

Bir litre örnek tampon çözeltisine 2 gr ovalbumin (egg albumin) ilave edilerek hazırlanmıştır.

6. Substrat Tampon Çözeltisi

97 ml Diethanolamine 800 ml saf su içine ilave edildikten sonra 0.2 gr NaN₃ konmuş ve HCl ile pH 9.8'e ayarlanarak 1 litreye tamamlanmıştır.