



**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**ÇANAKKALE İLİ KABAKGİL ÜRETİM ALANLARINDAKİ  
POTYVİRÜS ENFEKSİYONLARININ BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MERVE SARI**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. SAVAŞ KORKMAZ**

**ÇANAKKALE – 2023**





T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**ÇANAKKALE İLİ KABAKGİL ÜRETİM ALANLARINDAKİ POTYVİRÜS  
ENFEKSİYONLARININ BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE SARI

Tez Danışmanı

Prof. Dr. SAVAŞ KORKMAZ

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2021-3748

ÇANAKKALE – 2023



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Merve SARI tarafından Prof. Dr. Savaş KORKMAZ yönetiminde hazırlanan ve **13/07/2023** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “Çanakkale İli Kabakgil Üretim Alanlarındaki Potyvirus Enfeksiyonlarının Belirlenmesi” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri**

**İmza**

Prof. Dr. Savaş KORKMAZ

(Danışman)

Doç. Dr. Mustafa USTA

Doç. Dr. Ali KARANFİL

.....

.....

.....

Tez No : 10557592

Tez Savunma Tarihi : 13/07/2023

.....  
Prof. Dr. Ahmet Evren ERGİNAL

Enstitü Müdürü

../07/2023

## ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Merve SARI

13/07/2023

## TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐtirilmesinde, çalıŐmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Savaş KORKMAZ'a sonsuz teŐekkürlerimi sunarım. Çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve tezin her aşamasında yardımlarını ve bilgilerini benimle paylaŐan saygı değer Doç. Dr. Ali KARANFİL'e sonsuz teŐekkürlerimi sunarım. Tezin savunulması sırasındaki değerli katkılarından dolayı Doç. Dr. Mustafa USTA'ya teŐekkürlerimi sunarım. Tezin her aŐamında beni yalnız bırakmayan arkadaŐım Ziraat Mühendisi Özlem Moumin Chasan'a sonsuz teŐekkürlerimi sunarım. Hayatımın her evresinde bana destek olan değerli aileme sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Merve SARI

anakkale, Temmuz 2023

## ÖZET

### ÇANAKKALE İLİ KABAKGİL ÜRETİM ALANLARINDAKİ POTYVİRÜS ENFEKSİYONLARININ BELİRLENMESİ

Merve SARI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Savaş KORKMAZ

13/07/2023, 75

Cucurbitaceae (Kabakgil) familyası 98 cinsten 975 türü kapsamaktadır. Ülkemizde ve özellikle Çanakkale ilinde önemli bir tarımsal paya sahiptir. Kabakgil familyasının en önemli bitki koruma sorunlarından biri viral hastalıklar olup, önemli verim kayıplarına neden olduğu bilinmektedir. Bu viral hastalıklar içinde potyvirus cinsi önemli bir yere sahiptir. Bu cinse ait olan ve uygun koşullarda kabakgillerde %100 verim kayıplarına sebep olan zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) ve watermelon mosaic virus (WMV) yer almaktadır. Çanakkale ilinde daha önce kabakgil üretim alanlarında görülen potyvirus hastalıkları hakkında yapılan literatür taramalarında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır ve bölgenin bu hastalıklar açısından durumunun ne olduğu bilinmemektedir. Bu bağlamda gerçekleştirilen bu çalışma ile bu açığın kapanması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda Çanakkale ili ve ilçelerinden kabakgil üretim alanlarından 2021 üretim yılında virüs ve virüs benzeri symptom gösteren 137 kabakgil bitkisinden örnekler toplanmıştır. Toplanan örnekler RT-PCR ile WMV ve ZYMV'ye spesifik primer çiftleri kullanılarak testlenmiştir. Enfekteli bulunan örnekler içerisinde 7 izolat seçilerek kılıf protein (CP) genleri amplifiye edilerek, sekans analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sekans verileri ile de Çanakkale ili ZYMV ve WMV izolatlarının biyoinformatik analizleri gerçekleştirilerek Türk ve dünya izolatlarının sekans benzerlik oranları ve filogenetik ilişkileri ortaya konulmuştur. Testlemeler sonucunda 78 örnekte WMV, bir örnekte ise ZYMV'in tekli enfeksiyonları tespit edilmiştir. ZYMV+WMV karışık enfeksiyonu ise 39 örnekte tespit edilmiştir. Bu sonuçla WMV'nin ilimizde oldukça yaygın olduğu görülmüştür. Biyoinformatik analizler sonucunda ise Türk WMV ve ZYMV izolatların kendi içlerinde ve gen bankasında bulunan

diğer izolatlar ile %90'dan fazla benzerliğe sahip olduğu belirlenmiştir. İzolatların filogenetik ilişkileri değerlendirildiğinde Türk WMV ve ZYMV izolatlarının birbirleri ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Cucurbitaceae, Potyvirus, RT-PCR, Sekanslama





## ABSTRACT

### DETERMINATION OF POTYVIRUS INFECTIONS IN CUCURBIT PRODUCTION AREAS OF ÇANAKKALE PROVINCE IN TURKEY

Merve SARI

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Plant Protection

Supervisor

Prof. Dr. Savaş KORKMAZ

13/07/2023, 75

Cucurbitaceae (cucurbit) family includes 98 genera and 825 species. It has an important agricultural place in Turkey and especially in Çanakkale. One of the most important plant protection problems in the Cucurbitaceae family is viral diseases and it is known to cause significant yield losses. Potyvirus genus has an important place among these viral diseases. There are zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) and watermelon mosaic virus (WMV), which belong to this genus and cause 100% yield losses in cucurbits under suitable conditions. There have been no studies in the literature on potyvirus diseases seen in Cucurbitaceae production areas in Çanakkale province before, and it is not known what the status of the region is in terms of these diseases. In this context, it is aimed to close this gap with this study carried out. Accordingly, samples from 137 Cucurbitaceae plants showing virus and virus-like symptoms were collected from Cucurbitaceae production areas in Çanakkale province and districts in 2021 production year. The collected samples were tested using RT-PCR and primer pairs specific to WMV and ZYMV. And 7 isolates were selected from the infected samples and coat protein (CP) genes were amplified and sequenced. Bioinformatics analyses of ZYMV and WMV isolates in Çanakkale province were carried out with the sequence similarity rates and phylogenetic relations of Turkish and world isolates. As a result of the tests, single infections of WMV were detected in 78 samples and ZYMV in one sample. ZYMV+WMV mixed infection was detected in 39 samples. With this result, WMV was found to be notably common in Çanakkale. As a result of bioinformatics analyses, it was determined that Turkish WMV and ZYMV isolates have

more than 90% similarity to other isolates found in themselves and the GenBank. When the phylogenetic relations of isolates were evaluated, it was determined that Turkish WMV and ZYMV isolates were closely related to each other.

**Keywords:** Cucurbitaceae, Potyvirus, RT-PCR, Sequencing



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	x
TABLOLAR DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii

## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

1

## İKİNCİ BÖLÜM

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

11

2.1. Dünyada Gerçekleştirilmiş Çalışmalar.....	11
2.2. Ülkemizde Yapılmış Çalışmalar.....	21

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### MATERYAL ve YÖNTEM

25

3.1. Arazi Çalışmaları.....	25
3.2. Laboratuvar Çalışmaları.....	27
3.2.1. Toplanan Örneklerin Saklanması.....	27
3.2.2. Virüs Enfeksiyonlarının Tanılama Çalışmaları .....	27
3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi .....	31
3.3. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları.....	32
3.3.1. Çoklu Dizi Karşılaştırmaları ve Filogenetik Analizler.....	33

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM 38  
ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Arazi Çalışmaları ve Sonuçları.....	38
4.2. RT-PCR Analizi ile Virüs Tanılama Çalışmaları .....	41
4.3. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları.....	50
4.3.1. Benzerlik Analizleri.....	51
4.3.2. Filogenetik Analizleri.....	58

BEŞİNCİ BÖLÜM 62  
SONUÇ ve ÖNERİLER

KAYNAKÇA .....	67
EKLER .....	I
ÖZGEÇMİŞ .....	IX

## SİMGELER VE KISALTMALAR

RT-PCR	Ters Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri
ZYMV	Zucchini yellow mosaic virus
WMV	Watermelon mosaic virus
CP	Kılıf Protein
bç	Baz Çifti
CTAB	Cetyltrimethyl Ammonium Bromide



## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b>	PCR çalışmalarında kullanılan watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus kılıf protein genine özgün primer çiftleri	31
<b>Tablo 2</b>	Polimeraz zincir reaksiyonu watermelon mosaic virüs ve zucchini yellow mosaic virus kılıf protein geninin amplifikasyon programı	31
<b>Tablo 3</b>	Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus izolatlarına ait bilgiler	33
<b>Tablo 4</b>	Çoklu dizi ve filogenetik karşılaştırmalarda kullanılan diğer dünya watermelon mosaic virus izolatlarına ait bilgiler	35
<b>Tablo 5</b>	Çoklu dizi ve filogenetik karşılaştırmalarda kullanılan diğer dünya zucchini yellow mosaic virus izolatlarına ait bilgiler	36
<b>Tablo 6</b>	Arazi çalışmaları kapsamında toplanan ve watermelon mosaic virus enfekteli örnek sayıları	43
<b>Tablo 7</b>	Arazi çalışmaları kapsamında toplanan ve zucchini mosaic virus enfekteli örnek sayıları	44
<b>Tablo 8</b>	Arazi ve virüs tanılama çalışmaları kapsamında elde edilen ilçe temelli enfekteli ve toplanılan örnek sayıları	45
<b>Tablo 9</b>	Arazi ve virüs tanılama çalışmaları kapsamında elde edilen konukçu temelli enfekteli ve toplanılan örnek sayıları	46

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	2021 yılında en çok kabak üretimi yapan ülkeler	3
Şekil 2	2021 yılında en çok karpuz üretimi yapan ülkeler	4
Şekil 3	2021 yılında en çok kavun üretimi yapan ülkeler	5
Şekil 4	2021 yılında en çok hıyar üretimi yapan ülkeler	6
Şekil 5	Türkiye 2022 yılı kabakgil üretim verileri	6
Şekil 6	Potyviruslerin genom yapısı	8
Şekil 7	(A) Arazi çalışmaları sırasında örneklerin toplanması, (B) enfekteli olduğu düşünülen mozaik desenli bitkiler	26
Şekil 8	Virüs enfeksiyonları tanılama çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen RT-PCR analizleri (A-B)	29
Şekil 9	Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) aşamaları	30
Şekil 10	Arazi çalışmaları kapsamında potyvirusler ile enfekteli olduğu düşünülen ve örnekleme yapılan bitkiler	39
Şekil 11	Arazi çalışmalarının yapıldığı ilçeler	40
Şekil 12	Arazi çalışması sonucunda toplanan örneklerin ürün ve ilçe bazında dağılımı	41
Şekil 13	Watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus enfeksiyonlarının tanılama çalışmalarında elde edilen agaroz jel elektroforezi sonucu	42
Şekil 14	Balkabağı bitkisinde watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus enfeksiyonu sonucu yapraklarda oluşan şiddetli kabarcıklanmalar, iplikleşmeler ve yaprak deformasyonları	48
Şekil 15	Kavun (A) ve su kabağı (B) bitkilerinde watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus semptomları	48
Şekil 16	Kabak (A, C) ve balkabağı (B) bitkilerinde watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus enfeksiyonu sonucu oluşan mozaik desenler ve yapraklarındaki renk açılmaları	49
Şekil 17	Karpuz bitkilerinin yapraklarında watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus semptomları	49

<b>Şekil 18</b>	(A) Acur bitkisinin yapraklarında ve (B) kabak bitkisinin meyvesinde watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus enfeksiyonu sonucu oluşan simptomlar	50
<b>Şekil 19</b>	Çanakkale watermelon mosaic virus (WMV) ile dünyadaki WMV izolatlarının kılıf protein geninin nükleotit dizilerinin benzerlik oranları	51
<b>Şekil 20</b>	Çanakkale watermelon mosaic virus (WMV) ile dünyadaki WMV izolatlarının kılıf protein geninin amino asit dizilerinin benzerlik oranları	53
<b>Şekil 21</b>	Çanakkale zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) ile dünyadaki ZYMV izolatlarının kılıf protein geninin nükleotit dizilerinin benzerlik oranları	55
<b>Şekil 22</b>	Çanakkale zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) ile dünyadaki ZYMV izolatlarının kılıf protein geninin amino asit dizilerinin benzerlik oranları	57
<b>Şekil 23</b>	Çanakkale watermelon mosaic virus izolatlarının filogenetik ilişkileri	59
<b>Şekil 24</b>	Çanakkale zucchini yellow mosaic virus izolatlarının filogenetik ilişkileri	61



# BİRİNCİ BÖLÜM

## GİRİŞ

Dünyada ve ülkemizde artan nüfusla birlikte insanların gıda ihtiyacını karşılanabilmesi için tarımsal üretim artışına gereksinim duyulmaktadır. 20. yüzyılda günümüze kadar yürütülen tarımsal araştırmaların çoğu, dünya nüfusu ve gıda ihtiyaçlarını arttırmak ve aynı doğrultuda ürün verimliliğini artırmaya yönelik olmuştur (Savary vd., 2012). Birim alandan alınan ürün miktarının artması için üretilen ürünün kalite ve kantite yönünden pazarlanabilmesi önem arz etmektedir. Pazarlamayı etkileyen birçok biyotik ve abiyotik faktör bulunmaktadır. Bitki hastalıkları ve zararlıları ürün kayıplarının önemli bir kaynağıdır. Dünya genelinde bitki hastalıkları ve zararlılarından kaynaklı ürün kayıplarının tahminen %20 ile %40 dolayında olduğu düşünülmektedir (Oerke, 2006). Ülkemizde üretimi yapılan 100'den fazla kültür bitkisinde ekonomik düzeyde zarara neden olan 552 adet hastalık, zararlı ve yabancı ot tanımlanmıştır ve günümüzde bu sayı giderek artmaktadır (Kadıoğlu, 2012).

Bitkilerde önemli ekonomik zararlara neden olan birkaç yüz nükleotitten oluşan viroidlerden, gelişmiş bitkilere kadar çok sayıda bitki patojeni mevcuttur. Bu patojenler bitkilerde hafif semptomlar veya enfeksiyonlar oluşturabileceği gibi geniş alanlarda epidemilere neden olarak önemli kayıplara neden olabilmektedir. Bu etmenlerin popülasyonları zaman, mekan ve genotip gibi faktörleri değişkenlik göstermektedir. Bu değişkenlikler tarımsal üretimde mücadeleyi zorlaştırabilir. Bu nedenle patojenlerin neden olduğu ekonomik kayıplarla mücadele etmek için patojenlerin hızlı ve doğru tanınması, virülenslik mekanizmalarının belirlenmesi ile hastalık şiddetini ve verim kayıplarını önceden tahmini son derece önemlidir (Strange ve Scott, 2005).

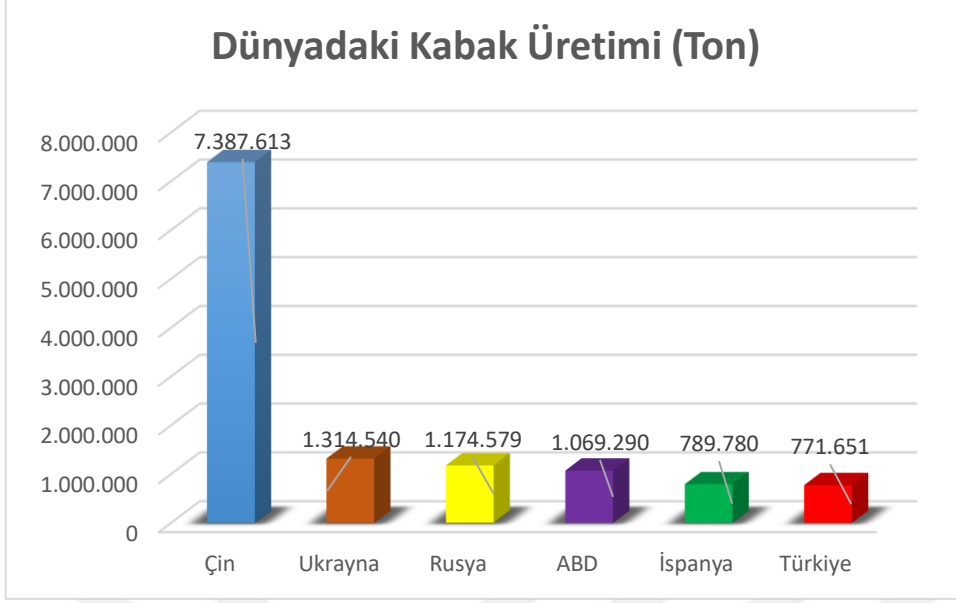
Bitkilerde kalite ve verim kaybına neden olan virüs hastalıkları mücadele zorluğu açısından ayrı bir öneme sahiptir. Bu durumun en önemli sebepleri arasında viral hastalıklar ile mücadelede antiviral maddelerin bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Bitki virüsleri önlem alınmadığı takdirde uygun koşullarda %100'e varan verim kayıplarına neden olabilmektedir (Yeşil ve Ertunç, 2012; Matthews, 1992).

Dünyada ve ülkemizdeki tarımsal üretim içerisinde en önemli sektörlerden biri sebze yetiştiriciliğidir. Dünyadaki sebze üretimi yaklaşık olarak bir milyar tonun üzerinde yapılmaktadır. Ülkemizde ise yaklaşık 30 milyon tonluk sebze üretimi ile dünya sebze üretiminde 4. sırada yer almaktadır (FAO, 2022). Ayrıca ülkemiz 2022 yılı üretim sezonu ürünler bazında incelendiğinde en çok üretimi yapılan grup tahıl grupları olurken %24.57'lik pay ile ikinci sırada sebze üretimi takip etmektedir (TÜİK, 2022).

Cucurbitales takımında Cucurbitaceae familyası olarak adlandırılan kabakgiller çoğunlukla tropikal ve subtropikal bölgelerde yayılış göstermektedir. Cucurbitaceae familyası yaklaşık 98 cinsten 975 türü kapsayan çiçekli bir bitki familyasıdır (Xu ve Chang, 2017).

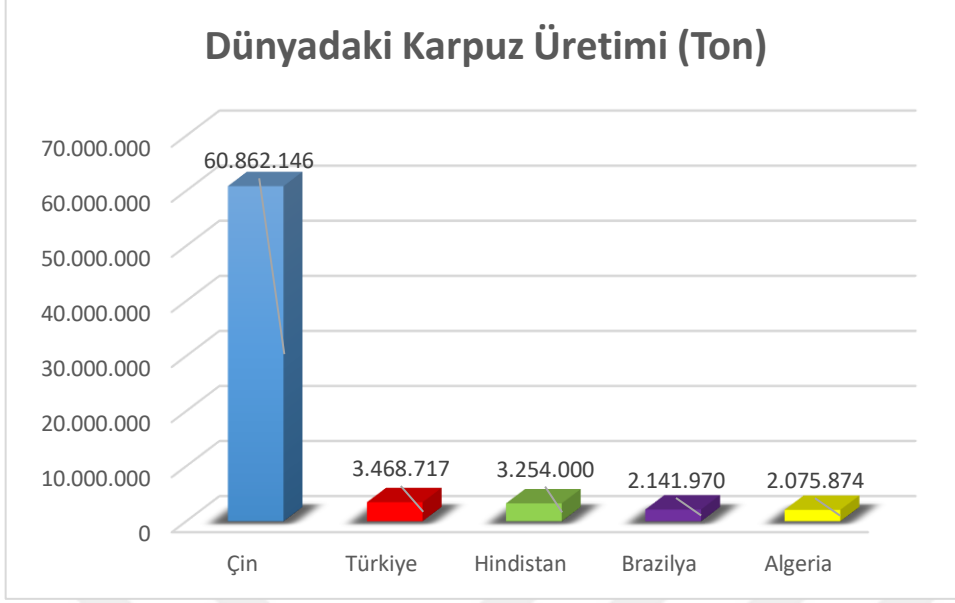
Ülkemizde ticari olarak üretim yapılan Cucurbitaceae familyası üyeleri kabak (*Cucurbita pepo*), karpuz (*Citrullus lanatus*), kavun (*Cucumis melo*), hıyar (*Cucumis sativus*), acur (*Cucumis melo* var. *flexuosus*), balkabağı (*Cucurbita moschata*) ve süs bitkisi olarak üretimi yapılan su kabağı (*Lagenaria siceraria*)'dır.

Kabak tropik ve subtropik bölgeler başta olmak üzere dünyanın birçok yerinde yetiştiriciliği yapılan genellikle tek yıllık bir sebze türüdür (Whitaker ve Bemis, 1975). Kabak bitkisinin meyveleri çeşitli şekil, boyut ve renk varyasyonuna sahiptir (Paris, 1986). Dünyadaki kabak üretimi 1.501.696 ha alanda toplamda 23.783.936 tondur. Bu üretimde Çin 7.387.613 tonluk üretimi ile ilk sırayı almaktadır. Çin'i sırasıyla 1.314.540 ton ile Ukrayna, 1.174.579 ton ile Rusya, 1.069.290 ton ile ABD izlemektedir. Türkiye'de önemli ekonomik gelire sahip olan kabak üretimi ise 771.651 tondur (FAO, 2021) (Şekil 1).



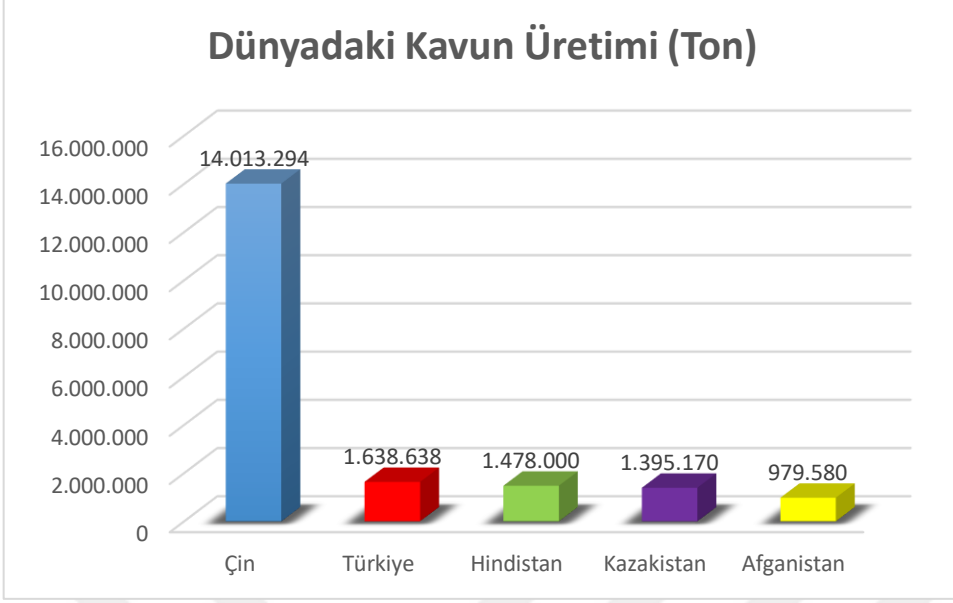
Şekil 1. 2021 yılında en çok kabak üretimi yapan ülkeler (FAO, 2021).

Cucurbitaceae familyasını üyesi olan karpuz tek yıllık otsu bir bitkidir ve dünyada ilk olarak Afrika kıtasında yetiştirildiği düşünülmektedir (Decoteau, 2000). Karpuz bitkisi Anadolu'ya ve Avrupa'ya yayılması ve yetiştiriciliğinin yapılması 14. yüzyılın sonlarıyla 15. yüzyılın başlarında olduğu tahmin edilmektedir (Kütevin ve Türkeş 1985). Karpuz dünya genelinde 3.031.544 ha alanda toplam üretim miktarı 101.634.719 ton ile en çok üretimi yapılan kabakgil türüdür. Dünyada en çok üretim yapılan ülke 60.862.146 tonluk üretimi ile Çin'dir. Türkiye ise 3.468.146 tonluk üretimi ile ikinci sırada yer almaktadır (FAO, 2021) (Şekil 2).



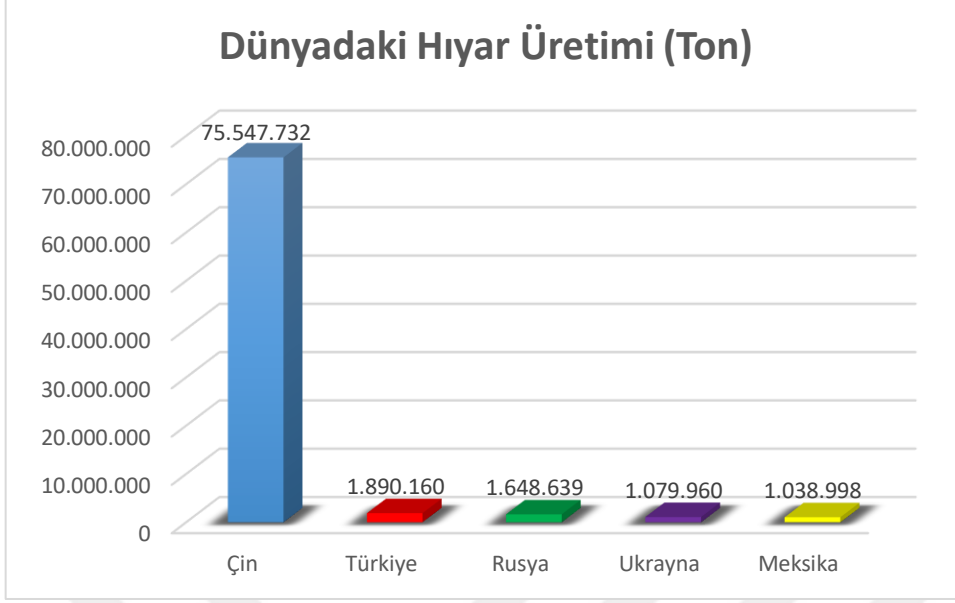
Şekil 2. 2021 yılında en çok karpuz üretimi yapan ülkeler (FAO, 2021).

Asya kökenli bir kültür bitkisi olan kavun, milattan önce 2000'li yıllardan günümüze kadar geniş bir coğrafyada yetiştirilmektedir. Dünya çapında çok sayıda çeşidi bulunmaktadır (Robinson ve Walters 1997). Dünyadaki kavun üretimi FAO verilerine göre değerlendirildiğinde 1.077.369 ha alanda ekimi yapılmaktadır ve dünyadaki toplam üretim miktarı 28.617.598 ton'dur. Diğer kabakgil türlerinde olduğu gibi kavun üretiminde de Çin 14.013.294 tonluk üretimi ile ilk sırada yer almaktadır. Çin'i 1.890.160 tonluk üretim ile ülkemiz takip etmektedir (FAO, 2021) (Şekil 3).



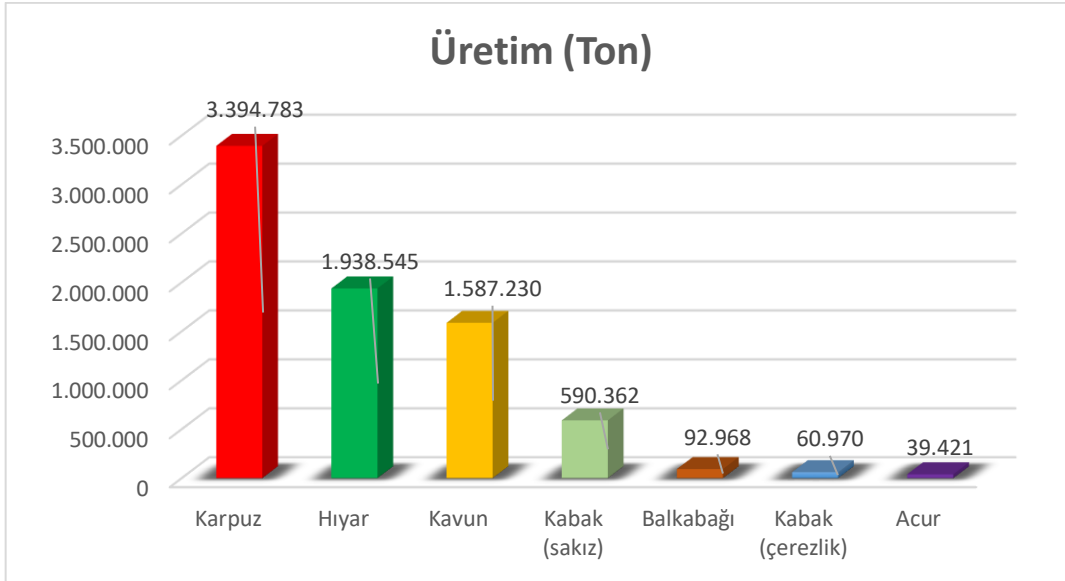
Şekil 3. 2021 yılında en çok kavun üretimi yapan ülkeler (FAO, 2021).

Hıyar bitkisi tropik kökenli tek yıllık otsu bir bitkidir. Üretimi yapılan en eski sebze türlerinden biri olduğu ve tarihte 3000 yılı aşkın süredir var olduğu tahmin edilmektedir (Yawalkar, 1985). Dünya genelinde karpuz üretiminden sonra en çok üretimi yapılan kabakgıl bitkisi hıyardır. Toplam 2.172.193 ha alanda 93.528.796 tonluk üretim yapılmaktadır. Hıyar üretiminin en çok yapıldığı 5 ülke sırayla Çin, Türkiye, Rusya, Ukrayna ve Meksika'dır (FAO, 2021) (Şekil 4).



Şekil 4. 2021 yılında en çok hıyar üretimi yapan ülkeler (FAO, 2021).

Türkiye kabakgil üretimi 2022 yılında tür bazında ele alındığında karpuz üretimi 3.394.783 ton, hıyar üretimi 1.938.545 ton, kavun üretimi 1.587.230 ton, kabak (sakız) üretimi 590.362 ton, balkabağı üretimi 92.968 ton, kabak (çerezlik) üretimi 60.970 ton ve acur üretimi ise 39.421 ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2022) (Şekil 5).

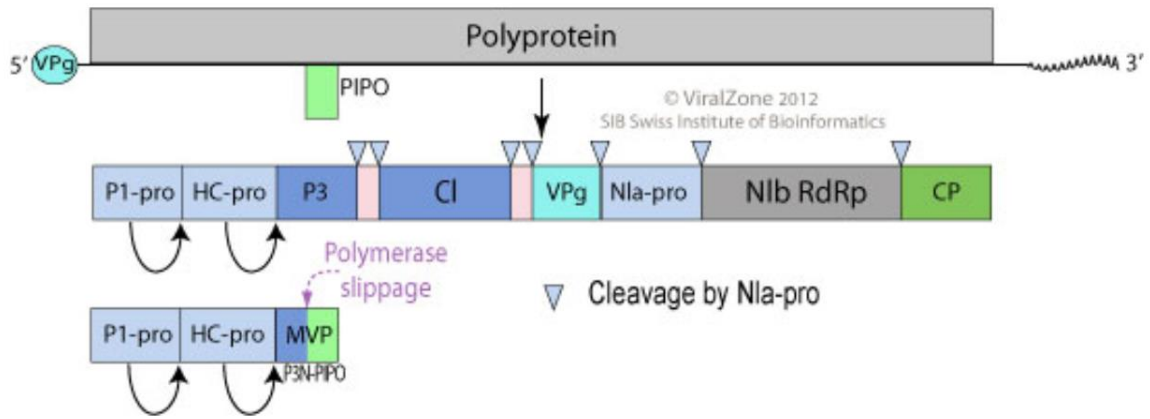


Şekil 5. Türkiye 2022 yılı kabakgil üretim verileri (TÜİK, 2022).

Kabakgil üretiminde, bitkinin gelişimini ve meyvelerini olumsuz yönde etkileyen bitki virüsleri verimi önemli ölçüde tehdit etmektedir. Kabakgillerin 90'dan fazla virüse konukçuluk yaptığı ve bu virüslerin yaklaşık olarak 15'inin Potyviridae familyası Potyvirus cinsine ait olduğu bilinmektedir. Dünya çapında kabakgil üretimini tehdit eden ve en yaygın olan potyvirusler watermelon mosaic virus (WMV) ve zucchini yellow mosaic virus (ZYMV)'dir (Sharma, 2023).

Potyvirus dünyada kültür bitkilerinde önemli ekonomik kayıplara neden olan, en çok tür sayısına sahip bir cinstir. Potyvirus, monokotiledonlar ve dikotiledonlar dahil olmak üzere dünya genelinde bir çok bitkiyi enfekte eden 167 patojenik tür içermektedir. "Poty" kelimesi, potyvirus cinsi içinde en iyi tanılan türlerden biri olan potato virus Y (PVY)'nin kısaltmasından türemiştir. Potyviruslerin bitkilerde gösterdikleri belirtiler virüsün virülensliğine, türüne ve streynine bağlı olarak değişmektedir (Abd El-Aziz, 2020; Revers ve García, 2015). Bitkide gösterdikleri belirtiler genellikle yapraklarda mozaik veya çizgisel desenler, yaprak renklerinde açılmalar, yaprak deformasyonları, bitkilerde bodurlaşma ve bitkilerde ölümler şeklindedir. Potyviruslerin genellikle yaprak bitleri ile taşındığı bilinmektedir. Vektörü olarak tanımlanmış iki yüzden fazla yaprak biti türü bulunduğu ve kalıcı olmayan (non persistent) şekilde taşındığı belirlenmiştir. Ayrıca bazı potyviruslerin tohumla da taşındığı bilinmektedir (Nigam vd., 2019).

Potyvirusler 680–900 nm uzunluğunda ve 11–13 nm genişliğinde, sarmal simetrik yapıda ve esnek zarfsız filamentli bir yapıya sahiptirler (Şekil 6). Nükleotit uzunlukları 9.300 ile 10.800 nt arasında değişen tek sarmallı, pozitif duyarlı bir RNA'dan oluşmaktadır (Inoue-Nagata vd., 2022).



Şekil 6. Potyviruslerin genom yapısı

Tüm potyvirus, 5'-terminal bölgesi ve 3'-poli-A kuyruğu ile tek sarmallı bir RNA'ya sahiptir. Virionun yapısı 10 protein segmentinden oluşmaktadır. Bunlar; P1-Pro, HC-Pro, P3, CI, NIa, NIb, 6K1, P3N-PIPO, CP ve VPg'dır. Birinci protein (P1-pro), yardımcı bileşen proteini (HC-pro), üçüncü protein (P3), silindirik inklüzyon proteini (CI), küçük nükleer inklüzyon proteini NIa- proteaz (NIa-pro), büyük nükleer inklüzyon proteini NIb-RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (NIb-RdRp) ve kılıf proteini (CP)'dir. Protein segmentlerinin farklı işlevleri bulunmaktadır. Bu proteinlerin arasında VPg protein, potyvirus genomunun 5' ucunda bulunmaktadır ve VPg protein, viral replikasyon ve harekette rolü olan çok işlevli bir proteindir. İlk protein P1-pro, poliproteini parçalanmasında rol oynamaktadır. Yardımcı bileşen proteini (HC-pro), yaprak biti iletiminde, konukçu hücrelerde transkripsiyon başlamasında görevlidir. Silindirik inklüzyon proteini (CI), kılıf proteini (CP) ile etkileşim yoluyla viral replikasyon ve hücreden hücreye harekette yer almaktadır. Kılıf proteini (CP), yaprak biti ile taşınmada viral replikasyon ve konukçu bitkide hücreden hücreye hareket için kritik bir proteindir. Ayrıca potyvirusların kılıf proteini (CP) gen bölgesi 30-47 kDa boyutlarındadır (Hari, 1981; Rajamäki ve Valkonen, 2002; Shukla vd., 1991).

WMV ilk kez İtalya'da karpuz bitkisinde rapor edilmiştir (Webb ve Scott, 1965). Kabakgil bitkilerini enfekte eden önemli bir virüs olarak kabul edilmektedir. Potyviridae familyasından Potyvirus cinsinin üyesidir. Yaklaşık olarak 750 nm uzunluğunda esnek ipliksi yapıya sahiptir. WMV genom uzunluğu 10.035 nükleotittir ve 3217 amino asitlik bir



poliproteini kodlamaktadır. WMV pozitif duyarlı tek sarmallı (+ ssRNA) RNA virüsüdür. WMV dünya genelinde çok geniş bir konukçu aralığına sahiptir. WMV, 27 familyaya ait 170'den fazla bitki türünü enfekte etmektedir (Gara vd., 1997). WMV yaygın olarak ılıman iklim ve subtropik bölgelerde tespit edilmiştir. *Myzus persicae* ve *Aphis craccivora* dahil olmak üzere 29 yaprak biti türü ile kalıcı olmayan (non persistent) şekilde taşınmaktadır. Bitkide belirtileri yapraklarda kabarma, bodurluk, yaprak ve meyvelerin deformasyonu ve kloroz ile hafif veya şiddetli mozaik desenleri şeklindedir.

ZYMV Potyviridae familyasından potyvirus cinsinin bir diğer üyesidir. Etmen ilk olarak 1973'te Kuzey İtalya'da görülmüş ancak 1981'de tanımlanmıştır (Lisa, 1981). ZYMV viral yapısı ipliksi esnek yapıda olup uzunluğu 750 nm ve genişliği 11 nm'dir. Etmenin genom büyüklüğü ise 9 kb'dir. Ayrıca ZYMV pozitif duyarlılığa sahip tek sarmallı (+ssRNA) bir RNA virüsüdür (Matthews ve Hull, 2002). Simptomlar genellikle yapraklarda sararma, bodurluk, yaprak deformasyonları şeklinde olurken, meyvelerde şekil bozuklukları, renk ve kabarcıklar şeklinde ortaya çıkmakta ve kabakgil bitkilerini pazarlanamaz hale getirebilmektedir (Desbiez vd., 1996). ZYMV'nin kabakgilleri çiçeklenme aşamasından önce enfekte etmesi durumunda verim kayıplarının %100'e kadar çıkabileceği bildirilmiştir (Sydanmetsa ve Mbanzibwa, 2016). Diğer potyviruslerde olduğu gibi ZYMV'da birçok yaprak biti ile kalıcı olmayan (non persistent) şekilde taşınmaktadır (Adams vd., 2005). Etmen en çok yayılımı yaprak bitleri ile göstermesine rağmen nadirde olsa tohumla da taşındığı da bildirilmiştir (Tobias ve Palkovics, 2003).

Ülkemizde kabakgillerde sorun oluşturan virüslerin tanısına ve karakterizasyonuna yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Ancak Çanakkale ilinde kabakgil virüslerinin geniş kapsamlı tanısına ve moleküler karakterizasyonuna yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla bu çalışma Çanakkale ili ve ilçelerinde kabakgil üretim alanlarındaki potyvirus cinsine ait ve önemli ekonomik kayıplara neden ZYMV ve WMV virüslerinin varlığını ve enfeksiyon oranlarını belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada virüs ve virüs benzeri belirtiler gösteren kabakgil örnekleri toplanmıştır. Toplanan örneklerdeki ZYMV ve WMV enfeksiyonun belirlemek için spesifik primerler kullanılarak RT-PCR ile varlıkları tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda enfeksiyon oranları belirlenmiş ve enfekteli olduğu bilinen izolat arasında farklı konukçular

ve ilçeler dikkate alınarak moleküller karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Seçilen 7 izolatın (4 WMV + 3 ZYMV) kılıf proteinlerine (Coat protein: CP) göre nükleotit ve amino asit bazında dizilimleri belirlenmiştir. Belirlenen diziler kullanılarak dünya WMV ve ZYMV izolatları ve kendi aralarındaki sekans benzerlik oranları ile filogenetik ilişkileri ortaya konmuştur.



## İKİNCİ BÖLÜM

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

#### 2.1. Dünyada Gerçekleştirilmiş Çalışmalar

Provvidenti vd. (1984) ZYMV patojeninin ABD’de yetiştirilen bazı Cucurbitaceae familyasının türlerinde varlığını belirlemek amacıyla yürüttükleri bir çalışmada araziden semptomlu bitki örnekleri toplamışlardır. Elde edilen örneklerden çıkan sonuçlara göre ZYMV-CT ırkının varlığını tespit etmişlerdir ve bununla birlikte ZYMV-FL ırkının da bulunduğunu saptamışlardır. Çalışmada ZYMV-FL ırkının WMV etmeni ile aynı semptomları gösterdiklerini belirlemişlerdir. Ayrıca buldukları bu iki viral etmene karşı *Citrullus colocynthis*, *Cucurbita* spp., *Cucumis sativus*, *C. melo* ve *Lagenaria siceraria* bitkilerinin dayanıklılık gösterdiğini saptamışlardır.

Katul ve Makkouk (1987) Suriye ve Lübnan’da yaptıkları çalışmada Cucurbitaceae familyasındaki bitkilerden topladıkları örnekleri DAS-ELISA testi ile testlemişlerdir. Testlemeler sonucunda toplanan örneklerin ZYMV, WMV, CMV, ve PRSV etmenleriyle %66.4 oranında tek veya karışık enfeksiyon oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Hseu vd. (1987) Doğu Asya’nın Taichung bölgesinden kabakgil bitkilerindeki potyvirus etmenlerini tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada hıyar, *Benincasa hispida*, *Lagenaria leucantha*, *Luffa* spp. ve balkabağı gibi bitkilerden 1985 yılında 583 örnek, 1986 yılında ise 908 örnek toplamışlardır. Laboratuvar aşamasında uyguladıkları DAS-ELISA yöntemi ile ZYMV etmeninin en yaygın olduğunu bunu sırasıyla WMV ve CMV etmenlerinin izlediğini tespit etmişlerdir.

Davis ve Mizuki (1987) ABD’nin New Jersey eyaletinde 1983, 1984 ve 1985 yıllarında kabak üretimi yapılan alanlarda WMV, CMV, ZYMV ve PRSV hastalık etmenlerinin varlığını belirlemek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Yapmış oldukları çalışmalar sonucunda 1983 yılında kabak bitkisi üzerinde CMV ve WMV etmenlerinin

yoğun olarak bulunduğunu saptamışlardır. 1984 yılında ise PRSV etmeninin önemli ekonomik zararlara neden olduğunu belirlemişlerdir. Cucurbitaceae familyasında önemli ekonomik kayıplara neden olan ZYMV etmenini ise 1985 yılında kabak üretilen alanlarda bulunduğunu ilk kez rapor etmişlerdir. Elde edilen örneklerden ZYMV, WMV ve PRSV etmenlerinin karışık enfeksiyon oluşturduğunu da bildirmişlerdir. Bu araştırmanın devamında karışık enfeksiyonlarda hangi hastalık etmeninin daha yoğun olarak bulunduğunu belirlemek amacıyla duyarlı bitkilere yapay inokülasyon yapılarak DAS-ELISA testi uygulamışlardır. Çıkan sonuçlarda PRSV ve WMV hastalık etmenlerine göre ZYMV etmeninin karışık enfeksiyonda daha baskın olduğunu saptamışlardır.

Zouba vd. (1997) Umman'ın Batinah bölgesinde 1994 ve 1996 yılları arasında yapmış oldukları sörveylerde, Cucurbitaceae familyasında yer alan kabak, balkabağı, kavun, karpuz, hıyar, misk kavunu ve su kabağı gibi bitki türlerinin yetiştirildiği tarlalarda çalışmalar yürütmüşlerdir. Toplam 716 bitki örneğini viral etmenlerin semptomlarını taşıdığını gözlemleyerek toplamışlardır. Yapmış oldukları arazi çalışmaları sonucunda örnekleri DAS-ELISA yöntemini kullanarak laboratuvar ortamında testlemişlerdir. Çıkan sonuçlara göre WMV, ZYMV, PRSV, CMV, SqMV, ToRSV, TRSV ve TSWV patojenlerinin, toplanan tüm Cucurbitaceae familyasının bitki örneklerinde bulunduğunu saptamışlardır. Toplanan diğer bitkilere göre az oranda viral etmen bulunduran bitkilerin karpuz, kavun, misk kavunu, hıyar olduklarını bildirmişlerdir.

Luis-Arteaga vd. (1998) *Cucumis melo* yetiştiriciliği yapılan alanlardan 1995 ve 1996 üretim sezonu boyunca viral semptomlar gösteren toplamda 1.152 bitki örneği almışlardır. Bu örnekleri WMV, ZYMV, PRSV ve CMV varlığına karşı ELISA ile analiz etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda en yaygın bulunan virüsler WMV ve CMV olurken, ZYMV ve PRSV yaygınlığının daha az olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca testlenen örneklerde karışık enfeksiyon olduğunu belirtirken, oranın %15 olduğunu ifade etmişlerdir.

Al-Saleh ve Al-Shahwan (1997) Cucurbitaceae familyası üzerinde ekonomik kayıplara neden olan ZYMV, SqMV (squash mosaic virus), PRSV, WMV, PDV (prune dwarf virus), CGMMV (cucumber green mottle mosaic virus), CLSV (cucumber leaf spot virus) ve

BWYV (beet western yellows virus) patojenlerinin varlığını tespit etmek amacıyla Arabistan'ın Gassın, Hail ve Riyad gibi farklı lokasyonlarında araştırmalar yürütmüşlerdir. Bu araştırmalar kapsamında Cucurbitaceae familyasına ait 385 bitki materyali toplamışlar ve serolojik yöntemler kullanarak testlemişlerdir. Çalışmada BWYV patojenini, alınan tüm bitki materyali arasında sadece sukabağı bitkisinde tespit etmişlerdir. Yapılan araştırmada kabakgil üretim alanlarından alınan 385 bitki materyalinin tümünde ZYMV etmeninin bulunduğunu ve %60.4 oranında yaygınlığa sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca alışma kapsamında incelenen 8 patojenin %27.5 oranında alınan bitki numunelerinde bulunmadığını saptamışlardır.

Dukić vd. (2006) Sırbistan'ın Vovodina bölgesinde ülkemizde su kabağı olarak bilinen *Lagenaria siceraria* bitkilerinde bodurlaşma, mozaik desenler, yaprakta kabarma, sararma, klorotik lekeler, yaprak deformasyonu ve meyve deformasyonu simptomlarını gözlemlemişler ve bu bitkilerden 25 örnek almışlardır. Araştırmacılar virüs tanımlaması için mekanik inokulasyon ve DAS-ELISA testlerini kullanmışlardır. Her iki yöntem sonucunda 23 bitkide ZYMV, 8 bitkide WMV ve 7 bitkide CMV'nin varlığını tespit etmişlerdir. Ayrıca bu virüslerin tek veya karışık olarak da bulunduklarını belirtmişlerdir. Tekli enfeksiyon tespit edilen virüslerin biyolojik karakterizasyonu için indikatör bitkiler olarak *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Cucumis sativus*, *C. melo*, *Citrullus lanatus* ve *Nicotiana glutinosa*'yı seçmişlerdir. Her bir izolat için indikatör bitkilerde gözlenen simptomların, DAS-ELISA sonuçları ile aynı sonuçları içerdiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca alışmada *Lagenaria siceraria* bitkisi için ZYMV ilk kayıt niteliği taşıdığını rapor etmişlerdir.

Gastelum-Felix vd. (2007) Meksika'da kabakgil üretimi için sınırlayıcı öneme sahip olan ZYMV, WMV, PRSV ve CMV'yi farklı zamanlarda *N. glauca*, *Cucurbita foetidissima*, *Momordica charantia* ve *Cucumis dipsaceus* bitkilerine mekanik inokulasyon yöntemiyle inokule etmişler ve inokule edilen bitkilerde virüslerin varlığını ELISA ve RT-PCR ile belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda Kasım ayında ZYMV %54.5, ZYMV + PRSV ise %36.4, Aralık ayında ise ZYMV %8.3 ve PRSV %75 olarak belirlenirken ZYMV + PRSV %16,7 oranında bulmuşlardır. Çalışmanın Ocak ayı sonuçlarında ZYMV, PRSV, CMV ve WMV enfeksiyonları %3,8 ile %23,1 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. şubat ayında ise

ZYMV ve WMV %28,6 oranında gerçekleşirken, CMV'nin enfeksiyon oranını %7,6 olarak belirlemişlerdir. Nisan ayında alınan örneklerin sonucunda WMV ve ZYMV sırasıyla %9 ve %44,4 enfeksiyon oranına sahip olurken, ZYMV+PRSV ve ZYMV+WMV karışık enfeksiyonların %5.5 ve %11.1 oranında tespit etmişlerdir.

Sharifi vd. (2008) İran'ın Yazd, İsfahan, Batı Azerbaycan, Hormozgan ve Kerman illerinde yetiştirilen kabakgil türlerindeki WMV enfeksiyonlarını belirlemek amacıyla kabakgil bitkilerinden 757 ve kabakgil üretimi yapılan bölgelerdeki 31 yabancı ottan toplamda 788 örnekleme yapmışlardır. Toplanan bitkiler DAS-ELISA ile testlenmiş ve 190'unda WMV'nin varlığını tespit etmişlerdir. WMV ile etkili olan izolatların arasından 18 izolat seçilerek PCR çalışmaları yapılmış ve elde edilen verilerde filogenetik ilişkileri değerlendirmişlerdir. Filogenetik çalışmalarında dünya ve İran izolatlarının benzerliklerini ve çıkan sonuçlarda izolatların iki farklı grup oluşturduklarını vurgulamışlardır.

Karamanlı ve Kamberoğlu (2010) gerçekleştirdikleri çalışmada kabakgil üretimi yapılan KKTC alanlarında CMV ve ZYMV virüs etmenlerinin varlığını belirlemişlerdir. Çalışmalarında arazide karşılaştıkları virüs semptomlarına dayanarak örnekleme yapmışlardır. DAS-ELISA testleri sonucunda ZYMV ile enfeksiyon oranını %34,5 CMV ile enfeksiyon oranını ise %8,07 olarak belirlemişlerdir. Ayrıca bu iki virüsün karışık enfeksiyon oranını %7,4 olarak tespit etmişlerdir.

Moradi (2011) İran'ın farklı bölgelerinde bir sörvey çalışması yürütmüş ve çalışma kapsamında hıyar ve bazı kabakgil bitkilerinden toplamda 620 örnekleme yapmıştır. Alınan örneklerde WMV yaygınlığını belirlemek amacıyla DAS-ELISA testi uygulanmış ve 303 örneğin WMV ile pozitif olduğunu belirterek enfeksiyon oranını %48,8 olarak hesaplamıştır. RT-PCR ile WMV için spesifik primerler hazırlanarak 825 bp uzunluğunda bantlar elde etmiştir. Pozitif örnekler arasında 15 izolat seçmiş ve sekanslama çalışmaları sonucunda, CP gen bölgesinin gen bankasındaki diğer izolatlar ile karşılaştırıldığında %95,8 ile %99,2 oranında benzerlik gösterdiğini saptamıştır.

Vučurović vd. (2012) Sırbistan'ın Gornji Tavankut bölgesinde 2011 yılında yaptıkları çalışmada karpuz bitkisinde hafif mozaik desenlerinin olduğu 6 ve simptomsuz olarak 20, toplamda 26 örnekleme yapmışlar ayrıca sörvey yapılan karpuz bitkilerinde *Aphis gossypii* popülasyonunun yoğun olduğunu da belirtmişlerdir. Örnekleme yapılan karpuz bitkilerini kabakgillerde yaygın olan üç virüse (ZYMV, WMV ve CMV) karşı DAS-ELISA ile testlemişler ve örneklerin 6'sını ZYMV ile enfekteli bulmuşlardır. ZYMV enfeksiyonunun daha fazla doğrulanması için, doğal olarak enfekte olmuş bir karpuz bitkisinden ve mekanik olarak enfekte edilen izolatlardan RT-PCR kullanarak virüsü amplifiye etmişler ve ardında sekanslama yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda Sırp izolatu ile diğer dünya izolatları arasındaki nt benzerlik oranlarının %99.9 ile %93.7 ve aa benzerlik oranlarının %100 ile %96.8 aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar Sırbistan'daki karpuz bitkisinde ZYMV enfeksiyonunun olduğunu bu çalışma ile ilk kez rapor etmişlerdir.

Anthony-Johnson vd. (2013) Hindistan'da yaptıkları bir çalışmada *Cucumis anguira* yetiştirilen bölgelerde yapraklarda mozaik desenler, kabarmalar, meyvelerde ise ürün kayıplarına neden olan şekil bozukları meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar bölgelerden alınan örnekleri elektron mikroskopu, serolojik ve moleküller yöntemlerle analiz etmişlerdir ve analiz sonucunda ZYMV'nin varlığını tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları filogenetik çalışmalar sonucunda elde ettikleri izolatlar ile İsrail izolatlarının yakın ilişkili olduklarını ve ülkelerine tohum yoluyla taşındıklarını belirtmişlerdir. Ayrıca bu çalışma Hindistan'daki *Cucumis anguira* bitkisinde ZYMV için ilk kayıt olarak bildirilmiştir.

Malandraki vd. (2014) Yunanistan'ın Pelloponiso ve Messinia illerinden 2012 yılının yaz aylarında *Cucurbita pepo* bitkisinin yaprak ve meyvelerinde bulunan şiddetli belirtileri göz önünde bulundurarak 100'den fazla bitki örneği toplamışlardır. Toplanan örnekler DAS-ELISA ile analiz edildiğinde birkaç tanesinin sadece CMV ve sadece ZYMV ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra Potyvirus cinsi olan moroccan watermelon mosaic virus (MWMV)'in varlığını her iki testte de pozitif sonuç elde ederek doğrulamışlar ve Yunanistan'da MWMV'nin varlığını ilk defa rapor etmişlerdir.

Trkulja vd. (2014) Bosna Hersek Kukulje bölgesindeki karpuz üretim alanlarında şiddetli mozaik desenleri, beneklenme, kabarcıklanma ve yaprak deformasyonu gösteren karpuz bitkilerini gözlemişler ve üretim alanındaki simptomlu bitki oranının % 15 olduğunu belirtmişlerdir. Simptom gösteren 14 karpuz örneği toplamışlar ve bu örnekleri DAS-ELISA ile ZYMV, CMV, WMV, PRSV ve SqMV karşı testlemişlerdir. Örneklerin hepsinin ZYMV ile enfekteli çıktığını diğer virüsler için ise negatif olduğunu belirtmişlerdir. ZYMV ile pozitif çıkan örnekleri *Chenopodium quinoa* ve *Citrullus lanatus* bitkilerine mekanik inokulasyon ile taşımışlardır. *C. quinoa* ve *C. lanatus* bitkilerini 5. ve 12. günlerinde gözlemişler ve gözlemlerinde klorotik lezyonlar, bodurlaşma vb. simptomlar gördüklerini bildirmişlerdir. Mekanik aşılama sonucu elde edilen izolatlardan ve doğal olarak enfekteli bulunana 14 izolatın RT-PCR ile CP gen bölgelerini çoğaltmışlar ve RT-PCR ürünüde beklenen 1100 bp büyüklüğünde bantlar gözlemişlerdir. Daha sonra bu 14 izolatın tam CP geninin dizi analizini yapmışlardır. Dizi analizi sonucunda Sırbistan izolatları (HM072431, JF308189) ile 14 ZYMV izolatının %99,8'lik (%99,6 amino asit özdeşliği) en yüksek nükleotit özdeşliğini gösterdiğini belirtmişlerdir Araştırmacılar bu çalışma ile ZYMV'nin Bosna Hersek'te karpuz bitkisinde ilk kez rapor edildiğini bildirmişlerdir.

Nasr-Eldin vd. (2016) Mısır'da Ain Shams Üniversitesi'nin açık alanlarında üretimi yapılan kabak bitkilerinde sistemik damar bantlaşması, sararma, mozaik, yaprak deformasyonu ve bodurluk belirtileri gösteren bitki örnekleri toplamışlardır. Toplanan örnekleri biyolojik, serolojik ve moleküler teknikler kullanarak ZYMV ile enfekteli olduklarını tanımlamışlardır. Biyolojik analizlerde hassas kabakgil konukçularında şiddetli simptomlar ve indikatör bitkilerin yapraklarında ise lokal lezyonlar gözlemişlerdir. DTBIA testini de başarılı bir şekilde uyguladıklarını ve sonucunda ZYMV'nin varlığını tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Daha sonra enfekteli kabakgil yapraklarını elektron mikroskopunda incelemişler ve 750x13 nm boyutunda uzun esnek ipliksi virüs parçacıkları gördüklerini belirtmişlerdir. Araştırmacılar RT-PCR kullanarak ZYMV CP gen bölgesinin amplifikasyonu gerçekleştirmişler ve ZYMV-EG izolatlarının moleküler karakterizasyonunu yapmışlardır. Elde edilen sonuçları gen bankasındaki 30 ZYMV dizisi ile karşılaştırmışlar ve nükleotit özdeşlikleri %95-97 aralığında, amino asit dizi benzerlikleri



ise %92.23-96.12 aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Filogenetik analizlerde ZYMV-EG izolatının Tayvan izolatları ile ayrı bir sınıfa ayrıldığını görmüşlerdir.

Sydanmetsa ve Mbanzibwa (2016), Tanzanya'nın kıyı ovalarındaki kabakgil üretimi yapılan alanlarda virüs ve virüs benzeri belirtiler gösteren toplamda 233 bitki örneği toplamışlardır. Çalışmada bu örnekleri serolojik olarak (DAS-ELISA) CMV, ZYMV ve WMV karşı testlemişlerdir. Toplanan örneklerin %80 enfekteli olduğunu belirtmişlerdir. *Cucumis sativus* bitkisinde en yüksek enfeksiyon oranının %33 ile WMV olduğunu belirtmişlerdir. *Citrullus lanatus* ve *Cucurbita pepo* bitkilerindeki en yüksek enfeksiyon oranı ise sırasıyla ZYMV %10.4 ve CMV %13.4 olmuştur. Çalışmada bu üç virüsün tek veya karışık enfeksiyon yaptıklarını da bildirmişlerdir.

Desbiez vd. (2019) Azerbaycan'da 2014-2015 yıllarında mozaik desenleri, sararma, yaprak kıvrılması ve nekroz belirtileri gösteren Cucurbitaceae ve Solanaceae bitkileri toplamışlar ve bu bitkileri enfekte eden başlıca virüslerin varlığını saptamak amacıyla serolojik ve moleküler yöntemleri kullanmışlardır. Cucurbitaceae için, her iki örnekleme yılında da en yaygın virüsler, potyvirusler grubunda WMV ve ZYMV, cucumovirusler CMV ve polerovirusler CABYV olduklarını belirtmişlerdir. Bu virüslerin 2014 yılındaki enfeksiyon oranlarının sırasıyla %94 WMV, %15,6 ZYMV, %35,4 CMV ve %69 CABYV, 2015 yılında ise %47 WMV, %3 ZYMV, %13,6 CMV ve %41 CABYV olduklarını belirtmişlerdir. Çalışmada 2014'te 85 ve 2015'te 30 WMV örneği için kısmi NIB-CP dizileri elde etmişlerdir. Tüm izolatlar, örnekler arasında %98'den fazla nükleotid sekans benzerliği ile düşük bir moleküler değişkenlik sergilemiştir. WMV'nin yanı sıra, Azerbaycan'dan 40 ZYMV izolatı arasındaki moleküler çeşitlilik, izolatlar arasında %98'den fazla nükleotid benzerliği ile sınırlı olduğunu belirtmişlerdir.

Afechtal vd. (2019) Fas'ta yaptıkları bir çalışmada *Cucurbita pepo* üretim alanlarındaki virüs varlığını ve yayınlığını belirlemek için 5 farklı bölgeden 38 üretim alanından toplamda 415 bitki örneği almışlardır. Alınan örnekleri serolojik bir yöntem olan DAS-ELISA ile ZYMV, CMV, SqMV, PRSV ve CABYV (cucurbit aphid-borne yellows

virus) için testlemişlerdir. Araştırma sonunda toplanan tüm bitkilerdeki enfeksiyon oranının %77.6 olduğunu ve en yüksek enfeksiyon oranının %44.6 ile ZYMV olduğunu belirtmişlerdir.

Verma vd. (2020) Hindistan'ın Rajasthan bölgesindeki karpuz üretim alanlarında viral enfeksiyon olduğu düşünülen 20 bitki örneği toplamışlardır. Toplanan örneklerde WMV'nin varlığını RT-PCR ile tespit etmişlerdir. Ayrıca, iki WMV izolatının tam genom dizilerini daha önce bildirilen genom dizileriyle karşılaştırmışlardır. Poly-A bölgesi hariç her izolatın tam genomu 10.030 nt uzunluğunda olduğunu belirtmişlerdir. Yapmış oldukları analizlerde, tüm WMV izolatlarının üç kümeye ayrıldığını ve Hint WMV izolatlarının Fransız izolatı ile kümelendiğini belirtmişlerdir.

Kumari vd. (2021) 2018 yılında, Hindistan'ın Uttar Pradesh eyaletinde kabakgil tarımın yapıldığı alanlarda kabakgil bitkileriyle ilişkili virüsleri belirlemek için yoğun bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışma kapsamında 14 farklı kabakgil bitkisinden toplam 563 örnek toplamışlar ve analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda begomovirusün %93 oranla baskın olduğunu, ardından potyvirusün %46 ve CGMMV %39 oranında yaygın olduğunu belirtmişlerdir. Diğer virüs ve virüs gruplarındaki yaygınlık oranını ise polerovirus için %9, CMV için %2 ve ortospovirus için %2 olarak bildirmişlerdir. Ayrıca örneklerin yaklaşık %65'inde ise karışık enfeksiyon belirtmişlerdir. Çalışmada birçok virüs ve virüs gruplarında bulunan virüslerin sekanslama ile dünyadaki benzerlikleri ile ilgili bilgileri vermişlerdir. Özellikle BLAST programını kullanarak potyvirus grubundan PRSV, ZYMV ve ZTMV virüslerinin kısmi CP gen bölgesinin dizi analizini yaparak dünyadaki diğer izolatlar ile olan nükleotid düzeyinde benzerlik ilişkilerini belirlemişlerdir. PRSV'nün, Hindistan'dan (EU475877) ve Çin'den (KY933061) bildirilen izolatlarla %85'in üzerinde benzerlik gösterdiğini, ZYMV'ün ise İran'dan bildirilen bir *Cucurbita pepo* izolatı (JN183062) ile %98 benzerlik gösterdiğini ve ZYMV izolatlarının Fransa'dan bildirilen dizilerle (KC345605, KC345607-8) %85 benzerlik gösterdiklerini belirtmişlerdir.

Chinnadurai vd. (2021) Trinidad ve Tobago'da kabakgilleri enfekte eden dört ZYMV izolatının tam genom dizilimini karakterize etmişlerdir. Filogenetik analizlerde, İsrail izolatlarından en yakından ilişkili izolatları NAT ve AG ve Slovakya'dan SE04T ile

karşılaştırıldığında %5,9–6,0 nt ve %7,7–7,9 aa dizi farklılığı gösterdiklerini belirtmişlerdir. Tek tek gen dizilerinin yanı sıra tam genom dizilerindeki varyasyonlara dayanarak, elde ettikleri izolatlar için ZYMV-Trini olarak adlandırmışlar ve yeni bir genotip olduğunu öne sürmüşlerdir. ZYMV-Trini izolatlarının gen dizileri arasında en yüksek ve en yakın akrabalıkların %20,8 aa dizi farklılığı ile HC-Pro geninde, en az ise %1.8 aa dizi farklılığı ile N1b geninde gözlemlenmiştir. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışma ile ZYMV'nin tohum yoluyla taşındığını ancak yaprak biti ile taşınmaya göre daha düşük oranda olduğunu belirtmişlerdir.

Radeva-Ivanova vd. (2022) Bulgaristan'ın Sadovo yakınlarındaki kabakgil üretimi yapılan bir tarlanın neredeyse tüm bitkilerinde yeşil veya sarı mozaik desenleri, damarlar arası sararma, kabarcıklar ve yaprak deformasyonu gözlemlenmişler ve bu bitkilerden örnekleme yapmışlardır. Toplanan örneklerde virüslerin varlığını belirlemek için tüm örnekleri DAS-ELISA veya TAS-ELISA testine tabi tutmuşlardır. Test edilen 5 kabak ve 2 hıyar bitkisi CABYV ve BWYV için pozitif olarak belirlenmiştir. Ayrıca kabak örneklerinin tek veya karışık olarak ZYMV ve WMV içerdiğini, hıyar örneklerinde ise tek veya karışık olarak CMV ve WMV'nin olduğunu saptamışlardır.

Tomašechová vd. (2022) Slovakya'nın batısındaki bir bahçeden klorotik lekeler ve bodur bitki gelişimi gibi semptomların bulunduğu kavun bitkilerinden örnekler almışlardır. Aldıkları örnekleri ileri teknolojik dizileme yöntemleri (high-throughput sequencing, HTS), kullanarak testlemişlerdir. Çıkan sonuçlarda örneklerin ZYMV+WMV+CmEV virüslerinin karışık enfeksiyon oluşturduklarını tespit etmişlerdir. Daha sonra Slovakya'da CmEV'nin potansiyel varlığını analiz etmek için farklı bölgedeki hıyar, kavun ve kabak bitkilerinden toplam 40 örnek toplamışlar ve bu örneklerden yapılan testler sonucunda 5 örneğin CmEV ile enfekteli olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca CmEV virüsünün bu çalışma ile Slovakya için ilk kayıt niteliğinde olduğunu bildirmişlerdir.

Lee vd. (2022) Kore'de üretimi yapılan bir bahçede *Momordica charantia* (kudret narı) bitkilerinin yaklaşık %10'unda yapraklarda mozaik desenleri, sararma ve deformasyon gibi belirtiler gözlemlenmiştir. Ayrıca aynı tarlada yetişen hıyar ve kabak bitkilerinde de

benzer belirtiler gördüklerini belirtmişlerdir. Etken virüsü araştırmak için, yaprak örneklerini transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile analiz etmişlerdir. Yaklaşık 680 ile 730 nm uzunluğunda ve 11 ile 13 nm çapında potyvirus benzeri partikülleri görmüşlerdir. Daha sonra DAS-ELISA testi ile ZYMV, PRSV ve CMV varlığına bakmışlardır. Yapılan testlemeler sonucunda örneklerde sadece ZYMV varlığını tespit etmişlerdir. ZYMV ile pozitif bulunan örneklerin moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmişler ve kudret narından izole edilen ZYMV-MC1 izolatının GenBank'ta bulunan ZYMV izolatları ile karşılaştırmışlardır. Kore ZYMV-chk izolatı ile %99, Çin ZYMV-14-HY-SCS izolatı ile %98, Türkiye ZYMV-Y21 izolatı ile %97 ve Pakistan ZYMV-AUIKTPK izolatı ile %96 oranında benzer olduklarını bulmuşlardır.

Askora vd. (2023) 2019-2020 yıllarında Sharqia (Mısır) bölgesindeki açık alanlarda virüs ve virüs benzeri simptomlar gösteren enfekteli kabak bitkilerinden izole edilen ZYMV'yi biyolojik ve moleküler teknikler kullanarak karakterize etmişlerdir. Çalışmanın moleküller sonuçları için ilk olarak ZYMV RT-PCR ile moleküler olarak tanımlamışlardır, Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi kullanılarak Potyvirus P1 geninin boyutunun yaklaşık 600 bp olduğunu belirtmişlerdir. ZYMV P1 geni, daha önce izole edilmiş birkaç ZYMV arasında %98'lik bir nükleotit dizisi benzerliği ile oldukça yüksek bir benzerliğe sahip olduğunu saptamışlardır.

Rabadán vd. (2023) İspanya'da bazı viral enfeksiyon gösteren alanlarda virüslerin ortaya çıkışlarını ve yaygınlık durumlarını incelemek için virüslerin sistematik epidemiyolojileri üzerine bir araştırma yapmışlardır. Bu araştırmada 2011 ve 2020 yılları arasında art arda 10 hasat mevsimi boyunca İspanya'da kavun ve kabak bitkilerinde yaprak bitlerinden bulaşan 6 virüsün enfeksiyonunu kapsamlı bir şekilde araştırmışlardır. Çalışma sonucunda ise en yaygın virüsleri sırasıyla %31 ve %26 oranlarında CABYV ve WMV olarak bulmuşlardır. Diğer virüsleri (ZYMV, CMV, MWMV ve PRSV) ise daha az sıklıkla ve genellikle karışık enfeksiyonlarda tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Araştırmacılar CABYV ve WMV izolatlarının tam uzunluktaki genom dizileri ile moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmişler ve sonuçlarında ise CABYV izolatlarını Akdeniz ülkeleri ile aynı grupta olup yakın ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

## 2.1. Ülkemizde Yapılmış Çalışmalar

Yılmaz vd. (1992) Akdeniz ve Ege bölgesindeki bazı illerde yapmış oldukları çalışmada Cucurbitaceae familyasında bulunan 8 bitki türü üzerinden toplam 76 virüs semptomu gösteren bitki örnekleri toplamışlardır. Toplanan örneklere DAS-ELISA testi uygulayarak bitkilerin WMV, CABYV, ZYMV, CMV ve PRSV hastalık etmenleriyle enfekteli olduğunu saptamışlardır. Çıkan sonuçların yanı sıra bu iki bölgede kabakgil bitkilerinin en çok ZYMV ile enfekteli olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca yapılan çalışmada CABYV hastalık etmenini Türkiye’de ilk defa tespit etmişlerdir.

Yılmaz vd. (2010) Edirne ilinde yaptıkları çalışmada, içerisinde hıyar ve kabağında bulunduğu biber ve domates bitkilerinden virüs benzeri semptomlar oluşturan bitkilerin yapraklarından 120 örnek elde etmişlerdir. Almış oldukları örneklerde CMV, ZYMV ve TSWV’nin varlığını DAS-ELISA testi ile belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda 120 örneğin 9’unda TSWV, 3’ünde CMV ve 5’inde ZYMV hastalık etmeninin bulunduğunu tespit etmişlerdir. TSWV+CMV ile enfekteli 2 yaprak örneğinin, ZYMV+CMV ile enfekteli 5 yaprak örneğinin karışık enfeksiyon oluşturduğunu saptamışlardır. TSWV hastalık oranı %7.5, CMV’nin hastalık oranı %2.50 ve ZYMV hastalık oranını %4.17 olarak tespit etmişlerdir. TSWV+CMV hastalık etmenlerinin karışık enfeksiyon oranını %1.7, CMV+ZYMV etmenlerinin karışık enfeksiyon oranını %4.16 olarak bildirmişlerdir.

Karakurt (2015) yürüttüğü çalışmada İstanbul ilindeki virüs ve virüs benzeri semptom gösteren karpuz bitkilerinden toplam 344 adet yaprak örneği almıştır. Toplanan örnekleri DAS-ELISA yöntemi ile testleyerek 22 adet yaprak örneğinin ZYMV, 16 adet yaprak örneğinin CMV ve 2 adet yaprak örneğinin CMV+ZYMV ile bulaşık olduğunu belirlemiştir. Çıkan sonuçlarda CMV’nin tek oluşturduğu enfeksiyonlarda %4.58, karışık enfeksiyonlarda ise %5.15 oranında bulunduğunu belirtmiştir. Ayrıca ZYMV oluşturduğu tek enfeksiyon oranı %6.30, karışık enfeksiyonda ise %6.87 olarak bulunduğunu tespit etmiştir.

Çat vd. (2016) Antalya’nın örtü altı yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı ilçelerinden yaptıkları çalışmada kabak ve hıyar bitkilerinde viral hastalık oluşturan ZYMV, CMV, PRSV ve SqMV etmenlerinin varlığını araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada kabakgil

bitkileri üzerinde virüs ve benzeri simptom oluşturan bitkinin yaprak ve meyve gibi kısımlarından 455 örnek toplamışlardır. Bu örnekleri DAS- ELISA yöntemi ile teslemişler ve bu sonuçlara göre 346 adet örneğin %76'sının viral etmenlerle bulaşık olduğunu belirlemişlerdir.

Altınay (2017) Tekirdağ ilinde kabakgil bitkileri ile yürüttükleri 2016 yılındaki çalışmada, kabakgil bitkileri üzerinde görünen sararmalar, yaprak deformasyonları, bitki gelişimindeki gerileme ve bodurlaşma gibi virüs kaynaklı simptomlara göre enfekteli olduğu düşünülen bitkilerin yapraklarından 300 örnek almıştır. Toplanan örneklerden CMV, ZYMV, SqMV, WMV ve PRSV hastalık etmenlerinin oranlarını belirlemek amacı ile DAS-ELISA testini uygulamıştır. Çıkan sonuçlara göre 300 örnekten %22 oranında WMV-2, %10,6 oranında PRSV, %9 oranında ZYMV, %4,6 oranında CMV ve %4 oranında SqMV etmenlerinin olduğunu tespit etmiştir. Bu sonuçların beraberinde bazı bitki örneklerinde karışık enfeksiyon olduğunu belirlemiştir.

Korkmaz vd. (2018) Tokat ilinin kabakgil üretimi yapan 5 ilçesinden 2014 yılında yürüttükleri çalışmada kabakgil bitkilerindeki yaprak deformasyonları, bitkideki gelişme geriliği ve bodurlaşma viral simptomlarını gösteren toplamda 571 yaprak örneği almışlardır. Alınan örnekler ZYMV, CMV, WMV, PRSV, PVY ve TMV etmenlerinin belirlenmesi için DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Test sonuçlarına göre 571 yaprak örneğinin %12'si ZYMV ile %37'si WMV ile %11'i CMV ile %3,4'ü PRSV ile %0,2'si SqVM ile enfekteli olduğunu tespit etmişlerdir.

Örs (2018), yürüttüğü bir çalışmada Malatya ilinin karpuz, kavun ve hıyar üretimi yapılan alanlarında virüs ve virüs benzeri simptom oluşturan bitkilerden örnekler toplamıştır. Moleküler yöntemlerden RT-PCR testleri yapılarak alınan örneklerdeki ZYMV, CMV, SqMV ve WMV viral etmenlerinin varlığını araştırmıştır. Yapılan testler sonucunda alınan kavun örneklerinden viral enfeksiyon oluşturan virüs etmeni tespit edilmemiştir. Alınan hıyar bitkisi örneklerinden CMV, ZYMV ve WMV etmenleri tespit edilmiştir. Elde edilen örneklerden ZYMV ve WMV Malatya izolatları CP gen bölgesi sekanslanarak gen

bankasında bulunan diğer dünya izolatları ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen benzerlik oranı ZYMV için nt düzeyinde %95-100, WMV için ise %94-99 olarak bulunmuştur.

Dikici vd. (2019) yapmış oldukları çalışmada Uşak ili ve çevresinden 2017-2018 yılları arasında kabakgil bitkileri üzerinde viral simptom gözlemledikleri bitkilerden örnekler almışlar ve alınan örnekleri DAS-ELISA yöntemi ile testlemişlerdir. Yapılan testler sonucunda 2017 yılında toplam 134 örneğin 70'i (%52.23) WMV ile enfekteli bulunurken, 2018 yılında toplanan 179 örneğin 111'inde (%62.01) WMV'yi tespit etmişlerdir. Tüm arazi çalışmaları boyunca alınan tüm örneklerde WMV enfeksiyon oranının %52,82 olduğunu saptamışlardır. Bunun yanı sıra araziden topladıkları *Sinapis arvensis* ve *Lactuca virosa* örneklerinden yapılan testler sonucunda bu yabancı otlarında WMV ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir.

Topkaya (2020) Kastamonu ilinde 2015 yılında yapmış olduğu arazi çalışmalarında kabakgil bitkilerinin yaprak, meyve ve sürgün gibi kısımlarından kabarcıklaşma, yaprak ayasındaki renk farklılıkları, bitkideki gelişme bozuklukları gibi virüs simptomlarına dayanarak 25 farklı bahçeden örnekleme yapmıştır. Toplanan örneklerin CMV, ZYMV, WMV, SqMV ve PRSV virüs hastalıklarını belirlenmesi amacıyla DAS- ELISA testini kullanmıştır. Test sonucunda örneklerin %36,63 WMV, %18,81 ZYMV ve CVM ile PRSV 'yi %3,96 oranında enfekteli olarak tespit etmiştir. Bununla birlikte WMV ve ZYMV hastalık etmenlerinin karışık enfeksiyon oranı %10,89 iken WMV ve PRSV karışık enfeksiyonu %4 olarak tespit etmiştir. Çalışmada kabakgil bitkileri için en yaygın etmenler olarak WMV ve ZYMV belirlenirken SqMV etmenini tespit edememiştir.

Yeşil (2021) İç Anadolu bölgesinde bulunan Eskişehir, Yozgat, Niğde, Aksaray, Nevşehir ve Kayseri illerinde yapmış olduğu çalışmada, kabakgil bitkiler üzerinde önemli ekonomik kayıplara neden olan WMV, ZYMV ve CABYV etmenlerinin tespiti için yenilebilir kabak çekirdeği türünden toplamış olduğu 625 yaprak örneğini testlemiştir. Ayrıca SqMV, CMV ve PRSV etmenlerinin varlığını da DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemlerini kullanarak belirlemiştir. Yapmış olduğu testler sonucunda toplamış olduğu örneklerin %88.32 oranında virüslerle enfekteli olduğunu bildirmiştir. WMV %56.96

oranında, ZYMV %56 oranında ve CABYV %20,16 oranında enfeksiyon oluşturduğunu belirtmiştir. Ayrıca toplanan örneklerde en az oranda bulunan virüs etmenlerinin ise sırasıyla CMV %1.12, PRSV %0.48 ve SqMV %0.32 oranında bulunduğunu tespit etmiştir. Seçilen 24 izolat WMV (12), CMV (2), ZYMV (6) ve CABYV (4) sekanslayarak gen bankası veri tabanına yüklemiştir. Filogenetik analizler sonucunda araştırılan virüsler ile gen bankasında bulunan ülkemiz izolatlarının aynı gruplarda olduklarını ve komşu ülke izolatları ile yüksek benzerlikler gösterdiklerini belirtmiştir.





## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

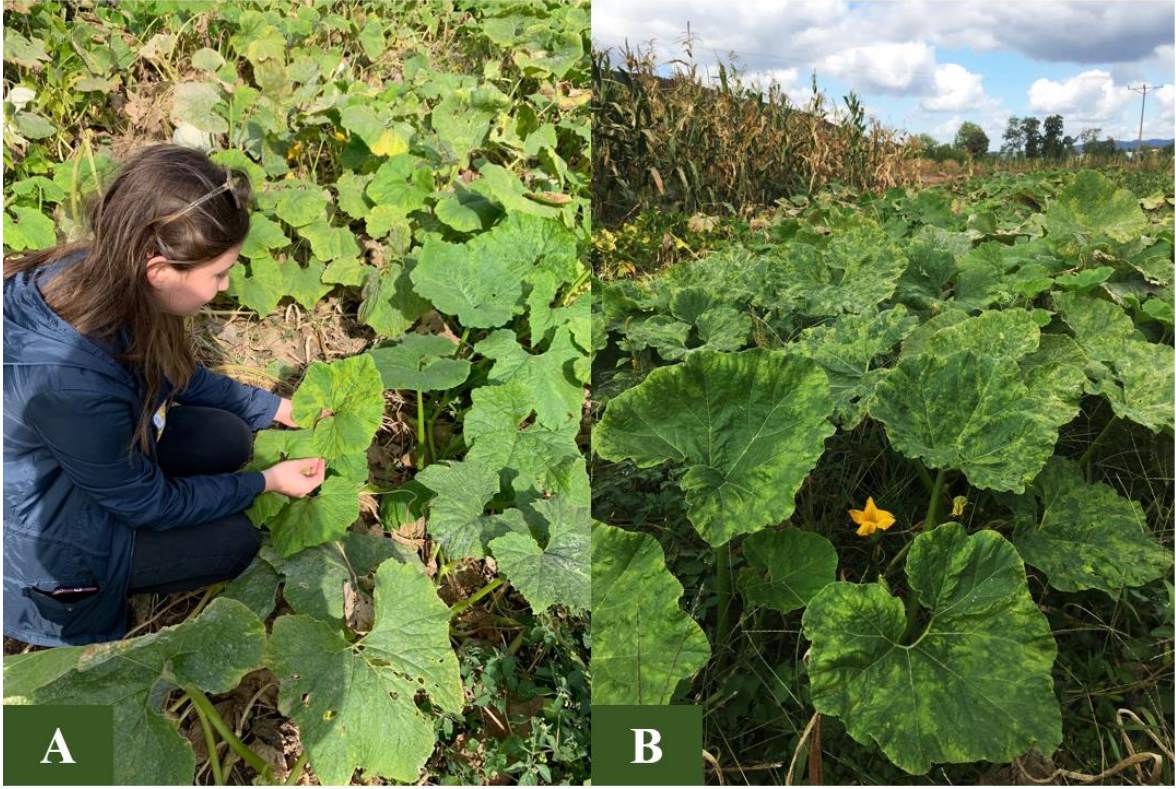
### MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez Çanakkale ili kabakgil üretim alanlarındaki potyvirus enfeksiyonlarının belirlenmesi amacıyla arazi çalışmaları, laboratuvar çalışmaları ve moleküler karakterizasyon çalışmaları olmak üzere 3 temel aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk olarak Çanakkale ili ve ilçelerinden kabakgil üretiminin yoğun olduğu bölgeler seçilerek arazi çalışmaları yapılmıştır. Bu aşamada kabakgil bitkilerindeki virüs ve virüs benzeri simptomlar gösteren bitkilerden örnekleme yapılmış ve +4 °C’de viroloji laboratuvarına getirilmiştir. Örneklerin moleküler analizleri yapılmaya kadar korunması amacıyla bir kısmı +4 °C’de silika jel ile dolu bir poşetin içerisinde diğer örnekler ise -80 °C’de saklanmıştır. İkinci aşamada potyvirus ile enfekteli olduğu düşünülen örneklerin viral enfeksiyon varlığını belirlemek amacıyla total nükleik asit izolasyonu yapılmış ve elde edilen genetik materyal moleküler bir tanı yöntemi olan RT-PCR ile test edilmiştir. RT-PCR testi sonucu pozitif olduğu belirlenen örneklerin arasından farklı konukçu ve farklı ilçelerden olmak üzere 7 izolat seçilerek WMV ve ZYMV virüslerinin kılıf protein (Coat Protein, CP) gen bölgeleri RT-PCR ile amplifiye edilmiştir. RT-PCR sonucu elde edilen WMV ve ZYMV izolatlarının CP gen bölgelerinin nükleotid dizilimleri hizmet alımı ile belirlenmiştir. Tezin son aşamasında ise elde edilen veriler kullanılarak WMV ve ZYMV izolatları ile Türkiye ve dünya izolatları benzerlik ve filogenetik ilişkileri ortaya konulmuştur.

#### 3.1. Arazi Çalışmaları

Tezin ilk aşaması olan arazi çalışmaları 2021 yılı yaz ve sonbahar aylarında gerçekleştirilmiştir. Arazi çalışmaları kapsamında Çanakkale ili ve ilçelerinde bahçe, kapalı alan ve ev bahçelerinde Cucurbitaceae familyasına ait kabak (*Cucurbita* sp.), balkabağı (*Cucurbita pepo*), kavun (*Cucumis melo*), karpuz (*Citrullus lanatus*), hıyar (*Cucumis sativus*), acur (*Cucumis melo* var. *flexuosus*) ve su kabağı (*Lagenaria siceraria*) türlerinde örnekleme yapılmıştır. Örnekleme yapılırken kabakgil bitkilerinde sarı mozaik desenler, yaprak deformasyonu, kabarcıklar, bitkide aşırı büyüme veya küçülme, meyvelerde şekil

bozukluğu ve renk bozulması gibi virüs ve virüs benzeri simptomlar göz önünde bulundurularak toplanmıştır (Şekil 7).



Şekil 7. (A) Arazi çalışmaları sırasında örneklerin toplanması, (B) Enfekteli olduğu düşünölen mozaik desenli bitkiler

Örnekleme yapılan arazilerde birden fazla enfekteli olduğu düşünölen bitkinin olması durumunda araziyi temsil edecek şekilde maksimum 3 örnekleme yapılmıştır. Toplanan örnekler soğuk zincir altında ve uygun koşullarda bitki viroloji laboratuvarına getirilmiştir. Arazi çalışmaları sonucunda Çanakkale ilinin 8 ilçesinden potyvirus grubu ile enfekteli olduğu düşünölen bitkilerden örnekleme yapılmıştır.

## **3.2. Laboratuvar Çalışmaları**

### **3.2.1. Toplanan Örneklerin Saklanması**

Arazi çıkışları sonucunda viroloji laboratuvarına uygun koşullarda getirilen örnekler iki farklı şekilde muhafaza edilmiştir. Bir kısmı +4 °C'de silika jel ile dolu olan kilitli poşetlerde, diğer örnekler ise -80 derecede derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

### **3.2.2. Virüs Enfeksiyonlarının Tanılama Çalışmaları**

Çanakkale ili ve ilçelerinde toplanan örneklerin, watermelon mosaic virus (WMV) ve zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) ile enfekteli olduğunu belirlemek için RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem doğrultusunda ilk olarak Li vd.,(2008)'nin belirttiği CTAB (cetyltrimethyl-ammoniumbromide) metodu kullanılarak total RNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen izolatların sırasıyla denatürasyon, ters transkripsiyon (RT) ve PCR (amplifikasyon) aşamaları yürütülmüştür.

#### **Total RNA İzolasyonu**

Araziden alınan örneklerin PCR yöntemi ile virüs varlığını tespit edebilmek için ilk olarak CTAB metodu kullanılarak total RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Total RNA izolasyonunda ilk olarak her bir bitki örneğinden 1 g tartılarak ayrı ayrı porselen havanlara konulup, üzere 1 ml CTAB buffer ve 20 µl DDT eklenerek ezilme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen karışımlar örnek numaralandırılmış steril olan eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Eppendorf tüpleri 1 dk vorteksleme işlemi yapılmış ve derin dondurucuda (-20 °C) 20 dk bekletilmiştir. Derin dondurucudan alınan homojenatlar vorteks yapılarak çözünme sağlanmıştır. Çözünen örnekler “dry blok heating/cooling thermostta” cihazı ile 65 °C 15 dk inkübe edilmiştir. Bu işlem sırasında eppendorf tüpleri eşit ısı dağılması için her 3 dk da bir kısa süreli vorteksleme yapılmıştır. İnkübe edilen örnekler 12.000 rpm'de 6 dk santrifüj

edilmiştir. Bu işlem sonunda eppendorf tüplerinde 2 fazlı bir karışım oluşmuştur, bu karışımın süpernatant kısmından 500 µl alınıp yeni steril olan eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Süpernatant bulunan tüplerin içerisine 650 µl 24:1 oranında hazırlanan kloroform:izoamilalkol eklenmiştir. Bu karışım 12.000 rpm'de 10 dk santrifüj işlemi yapılmıştır. İşlem sonrası oluşan süpernatantların her bir tüpü içerisinde 175 µl -20 °C'den çıkarılan soğuk izopropanol bulunan yeni eppendorf tüplerine aktarılmış ve 12.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bu işlemler sonrasında oluşan süpernatant ve pellet kısımlarından pellet kısmına dikkat edilerek süpernatantın bir kısmı dökülerek kalan kısımları ise pipet yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Bu işlem sonrasında eppendorf tüplerinde sadece pellet kısmı kalmıştır. İçerisinde sadece pellet kalan tüplerin 750 µl %70'lik etil alkol ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama sonrası tüplerin içinde bulan %70'lik etil alkol dökülüp, 12.000 rpm'de santrifüj edilerek uzaklaştırılmıştır. Yıkama işlemi sonunda 5-10 dk 25 °C'de tüplerin kuruması sağlanmıştır. Kuruma işlemi sonunda oluşan pelletlere 35 µl Tris-HCl (20 mM, Ph: 8) eklenip, 2500 rpm'de çözdürülmüştür. Elde edilen pelletler bir sonraki aşamaya kadar -80 °C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

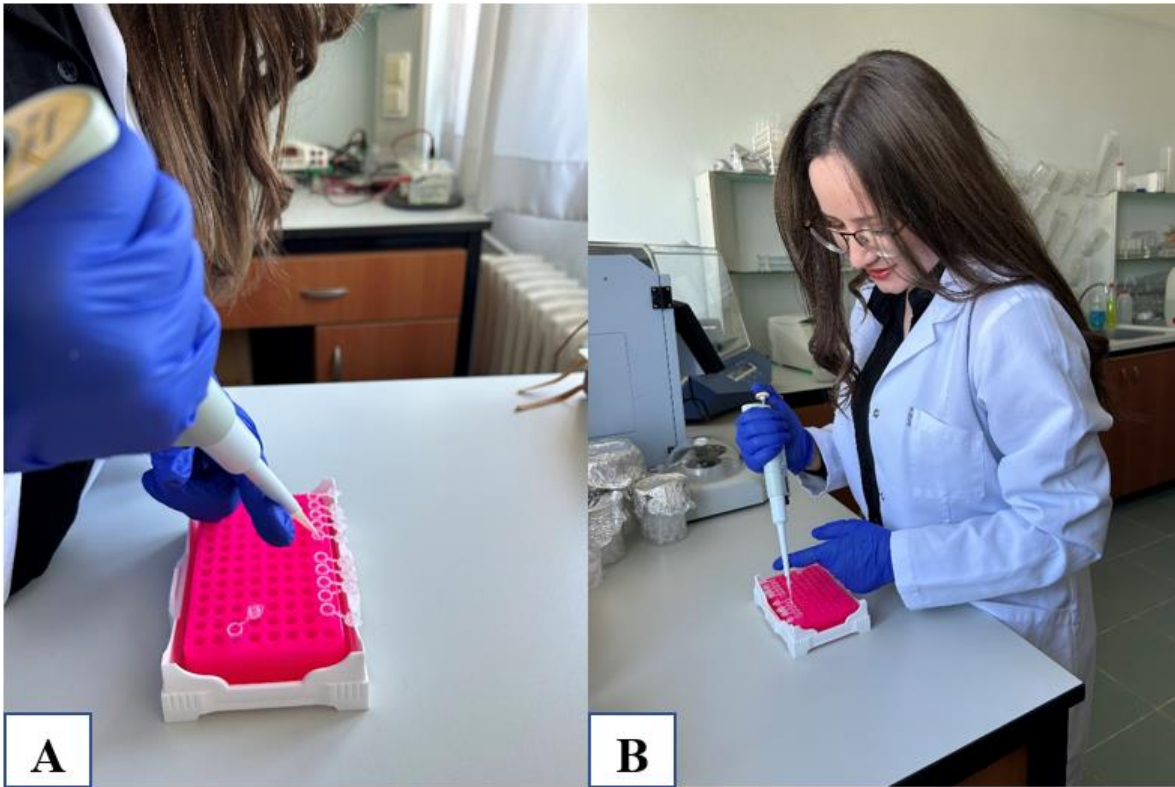
### **Denatürasyon Aşaması**

Bu aşama her iki virüsünde bağlarının birbirinden ayrılması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Denatürasyon aşamasında ilk olarak 200 µl hacimli mikro PCR tüpleri üzerine örnek numaralandırılması yapılmıştır. Numaralandırma yapılan tüplerde 10 µl karışım elde edilmiştir. Elde edilen karışım içerisinde CTAB metodu kullanılarak elde edilen total RNA'dan 2 µl ve 1 µl dNTP, 1 µl random primer ve 3 µl steril su ile hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım thermal cycler'da 65 °C'de 5 dk ve buzda 2 dk bekletilerek denatürasyon aşaması gerçekleştirilmiştir.

### **Ters Transkripsiyon (RT) Aşaması**

RNA virüsleri olan WMV ve ZYMV virüslerinin polimeraz zincir reaksiyonu aşamasında geçkeşebilmesi için ilk olarak ters transkripsiyon aşaması uygulanmıştır. Bu aşamada 10 µl denatürasyon karışımına 5X Prime Script Buffer (50 mM Tris HCl pH:8.3,

75 mM KCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub>)’dan 4 µl, RNase inhibitör’den 0.5 µl, Prime Script Reverse Transcriptase 0.5 µl, 10 mM dNTP karışımından 1 µl, random primer’den 1 µl ve steril sudan 3 µl eklenerek RT karışım hazırlanmıştır (Şekil 8). Elde edilen karışım PCR cihazında döngüsü sırasıyla 30 °C’de 10 dk, 42 °C’de 45 dk, 70 °C’de 15 dk ve +4 °C’de sonsuz şekilde bekletilerek işlem tamamlanmıştır. İşlem sonucunda denatüre edilmiş WMV ve ZYMV RNA’larından cDNA’ları sentezlenmiştir.

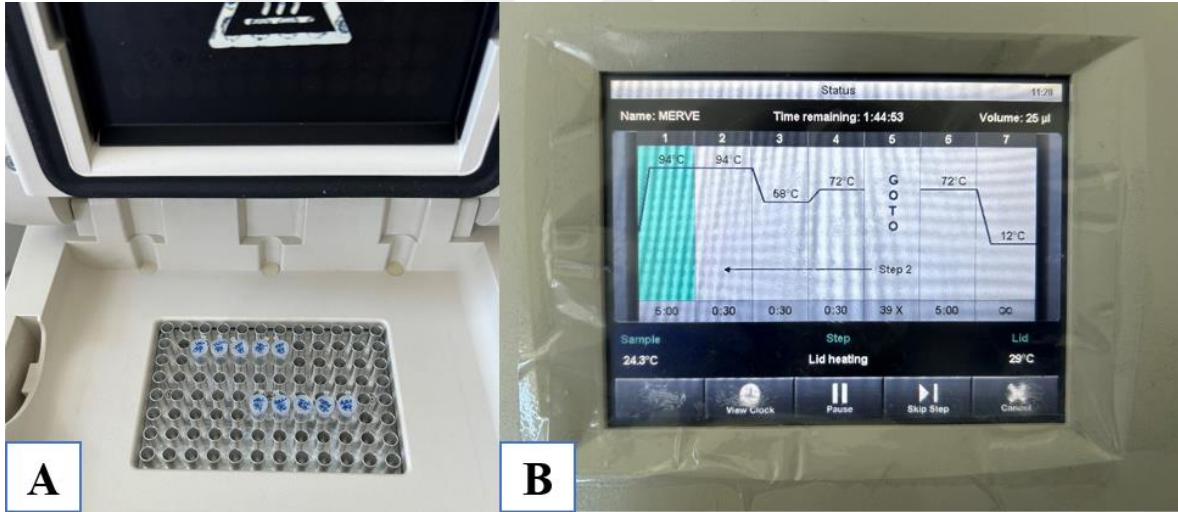


Şekil 8. Virüs enfeksiyonlarının tanılama çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen RT-PCR analizleri (A-B)

### **Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Aşaması**

Bu tez kapsamında WMV ve ZYMV varlığını belirlemek amacıyla polimeraz zincir reaksiyonu kullanılmıştır. Bu yöntemin kullanım amacı diğer tanı yöntemlerine göre daha duyarlı bir moleküler tanı yöntemi olmasından dolayı tercih edilmiştir. Bu aşama PCR kiti (Takara, Japonya) ve Bio-Rad marka PCR cihazı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 9). İlk olarak

WMV ve ZYMV etmenlerinin varlığının tespiti için CP genlerini spesifik primer çiftleri hazırlanmıştır. WMV için Ali vd. (2012) tarafından belirlenen primer çiftleri, ZYMV içinde Khanal vd. (2021)'nin belirlediği primer çiftleri kullanılmıştır (Tablo 1). Daha sonra temin edilen PCR kitinin önerileri doğrultusunda bir PCR kaşımı hazırlanmıştır. Karışım numaralandırılmış mikro PCR tüpleri içinde hazırlanmıştır. Bu karışıma 7,5µl PCR master mix, 0.75µl primer karışımı (İleri ve Geri), ve 5,75µl su eklenmiştir. Elde edilen karışım içerisinde RT aşamasında sentezlenen 1µl cDNA'lar ilave edilmiştir. Elde edilen karışım toplamda 15µl olacak şekilde elde edilmiştir. WMV ve ZYMV virüslerinin CP geninin amplifikasyonu gerçekleştirmek amacıyla hazırlanan PCR kaşımı PCR cihazına yüklenmiştir. Reaksiyon 94°C' de 5 dk, 39 defa tekrarlanan 94°C' de 30 sn, 50°C' de 30 sn ve 72°C' de 30 sn, 72°C' de 5 dk, daha sonra ise 12°C' de (Tablo 2) bekleyecek şekilde gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu aşama WMV ve ZYMV için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.



Şekil 9. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) aşamaları (A: PCR makinesinde tüplerin yerleştirilmesi, B: PCR programı).

Tablo 1

PCR çalışmalarında kullanılan watermelon mosaic virüs ve zucchini yellow mosaic virus kılıf protein genine özgün primer çiftleri

Prime Kodu	Prime Dizisi	Ürün Büyüklüğü	Kaynak
ZYMV_CP_F	GAACAAGGAGACACTGTGAT	902	Khanal vd., 2021
ZYMV_CP_R	GCAGCGAAACAATAACCTAG		
WMV_CP_F	AACACACAACCAAGTGAATT	979	Ali vd., 2012
WMV_CP_R	TAACGACCCGAAATGCTAACT		

Tablo 2

Polimeraz zincir reaksiyonu watermelon mosaic virüs ve zucchini yellow mosaic virus kılıf protein geninin amplifikasyon programı

Derece	Zaman	Döngü
94 °C	5 dk	1 döngü
94 °C	30 sn	39 döngü
58 °C	30 sn	
72 °C	30 sn	
72 °C	5 dk	1 döngü
12 °C	Sonsuz	-

### 3.2.3. Agaroz Jel Elektrofrezisi

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda elde edilen PCR ürünlerini görüntülemek için %1,5'lük agaroz jel kullanılmıştır. İlk olarak 0,6 gr agaroz tartılarak bir beherin içine

alınmıştır, daha sonra 40 ml 1X TAE (Tris-Asetat-EDTA) tamponu ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım mikrodalga fırında 1-2 dk çözdürülmüştür. Elde edilen karışım soğumaya bırakılmış ve yaklaşık birkaç dk içerisinde EtBr eklenmiştir. Hazırlanan jel dikkatli bir şekilde tarakları yerleştirilmiş olan elektroforez tabağına dökülmüş ve polimerizasyona bırakılmıştır. Polimerizasyon işleminden sonra jel, elektroforez tankına yerleştirilmiş ve oluşan kuyucuklara PCR ürünleri yüklenmiştir. İşlem 45 dk. 100 V'da ve 1X TAE çözeltisi içerisinde yapılmıştır. Elektroforez aşamasından sonra koşturulan jel Major Science UVDI jel görüntüleme cihazında UV ışık altında gözlenmiş ve görüntülenen bantlar fotoğraflanmıştır.

### **3.3. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları**

WMV ve ZYMV izolatlarının moleküler karakterizasyonları CP gen bölgeleri esas alınarak yapılmıştır. Moleküler karakterizasyon çalışmaları için WMV ve ZYMV ile enfekteli oldukları belirlenen izolatlar arasında farklı ilçeler ve farklı konukçu türleri dikkate alınarak aralarından toplamda 7 izolat seçilmiştir (Tablo 3). Daha sonra seçilen izolatlar PCR ile amplifiye edilmiş ve elde edilen PCR ürünleri -20 °C sekanslama işlemi için saklanmıştır. Sekanslama işlemi için ticari bir firma (BMLabosis) ile WMV ve ZYMV izolatlarının nükleotit dizilimleri hizmet alımı yoluyla elde edilmiştir. Sekans verilerinin kullanılarak bu virüslerin amino asit dizilimleri elde edilmiştir. Çoklu dizi karşılaştırmaları ve filogenetik çalışmalar için daha sonrasında bu veriler kullanılarak izolatların kendileri ve dünyadaki diğer izolatlar ile benzerlikleri karşılaştırılmıştır.



Tablo 3

Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus izolatlarına ait bilgiler

İzolat Kodu	Alındığı Yer	Konukçu
WVM10	Çan	Karpuz
WMV47	Eceabat	Kavun
WMV78	Bozcaada	Balkabağı
WMV88	Merkez	Sukabağı
ZYMV9	Çan	Kavun
ZYMV10	Çan	Karpuz
ZYMV29	Gelibolu	Kavun

### 3.3.1. Çoklu Dizi Karşılaştırmaları ve Filogenetik Analizler

#### Çoklu Dizi Karşılaştırmaları

Çanakkale ilinin Merkez, Çan, Eceabat, Bozcaada ve Gelibolu ilçelerinden seçilen WMV ve ZYMV izolatlarında elde edilen dizilim verileri kullanılarak nükleotit ve amino asit CLC Main Work Bench V.20 programında Clustal W ile çoklu diziler hizalanmış ve nükleotit ve amino asit dizileri karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma yapılırken yine aynı program kullanılarak WMV ve ZYMV izolatlarının kendi aralarında ve diğer dünya izolatları arasındaki benzerlik yüzdelerinden yararlanılarak karşılaştırma yapılmıştır. Ayrıca CLC Main Work Bench V.20 programında Clustal W ile seçilen izolatların dünya izolatları ile göstermiş oldukları benzerlikler incelenmiştir. Sequence Demarcation Tool Version 1.2 (SDTv1.2) programı kullanılarak WMV ve ZYMV izolatlarını benzerlik yüzde oranlarını

belirlenmiş ve matris oluşturmuş ayrıca oluşturulan bu matristin benzerlik oranlarına göre renklendirilmesi yapılmıştır (Muhire ve ark. 2014).

### **Filogenetik Çalışmalar**

WMV ve ZYMV izolatlarının nükleotit ve amino asit düzeyinde CP gen dizilimleri kullanılarak elde edilen filogenetik analizler için de Clustal W ile bulunan çoklu dizi karşılaştırma dosyaları kullanılmıştır. Ayrıca dünyadaki ve WMV ve ZYMV izolatları arasındaki filogenetik ilişkiler neighbor-joining yöntemleri kullanılarak filogenetik soy ağaçları elde edilmiştir. Yapılan çalışmada 1000 tekrarlı bootstrap analizi elde edilen soy ağacının istatistiki olarak doğruluğunu ortaya çıkarmak için uygulanmıştır.

Filogenetik çalışmalar kapsamında kullanılan WMV dünya izolatlarının 10'u Türkiye, 4'ü ABD, 2'si Güney Kore, 2'si İspanya, 1'er tane olmak üzere Suudi Arabistan, İran, Mısır, Polonya, Çin, Japonya ve Avusturya'dan olmak üzere toplamda 23 izolat ile filogenetik çalışmalar yapılmıştır. ZYMV dünya izolatlarının 20'si Türkiye, 5'i Avusturya, 2'şer tane olmak üzere Çin, Macaristan ve İran ve 1'er tane olmak üzere Slovenya, Almanya ve İtalya'dan olmak üzere toplamda 34 izolat ile ZYMV izolatlarının filogenetik ilişkileri incelenmiştir.

Dünyanın farklı bölgelerinden alınan WMV ve ZYMV izolatlarına ait bilgiler gen bankası veri tabanından elde edilmiştir. Çoklu dizi ve filogenetik çalışmalarda kullanılan dünya izolatlarına ait gen bankası erişim numaraları, izolat kodları alındığı yer ve konukçu bitkilere ait bilgiler Tablo 4 ve Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 4

Çoklu dizi ve filogenetik karşılaştırmalarda kullanılan diğer dünya watermelon mosaic virus izolatlarına ait bilgiler

<b>Erişim Numarası</b>	<b>Konukçu</b>	<b>Lokasyon</b>	<b>Kod</b>
MG952635.1	Kavun	Türkiye	Alakoy 2
MG952634.1	Kavun	Türkiye	Alakoy 1
LC434453.1	<i>Panax ginsengi</i>	Güney Kore	AS
LC434452.1	<i>Panax ginsengi</i>	Güney Kore	SJ
MN814408.1	<i>Bromus sp.</i>	İspanya	E1P_87
MN814378.1	Kavun	İspanya	M3V_6
KC447295.1	Karpuz	Suudi Arabistan	WMV-SA
KF021299.1	Kabak	Türkiye	W26
KF021300.1	Kabak	Türkiye	W59
KF021298.1	Hıyar	Türkiye	W2
MZ130405.1	Kavun	Türkiye	Iğdir 7
GQ421158.1	Kabak	İran	Meşhed
MN966673.1	Kabak	Mısır	WMV-Egy1
MH992141.1	Bal Kabağı	Polonya	D2
MT437295.1	Kavun	Türkiye	Bingol W4
MT413451.1	Kavun	Türkiye	Bingol W2
MZ055421.1	Karpuz	Türkiye	Iğdir 6
MW962978.1	Kabak	Türkiye	Diyarbakir D3
AY464948.1	-	Çin	WMV-HLJ
MG021273.1	Karpuz	ABD	KY-1
MG021301.1	Karpuz	ABD	TX-20
MG021250.1	Karpuz	ABD	OK-4
AB001994.1	<i>Habenaria radiata</i>	Japonya	Habenaria
MG021268.1	Kabak	ABD	MS-3
L22907.1	<i>Vanilla fragrans</i>	Avustralya	Tonga

Tablo 5

Çoklu dizi ve filogenetik karşılaştırmalarda kullanılan diğer dünya zucchini yellow mosaic virus izolatlarına ait bilgiler

Erişim Numarası	Konukçu	Lokasyon	Kod
KP872543.1	Kabak	Türkiye	ER6-8
KP872575.1	Kabak	Türkiye	G3
KP872574.1	Kabak	Türkiye	G2
KP872573.1	Kabak	Türkiye	G1
KP872550.1	Kabak	Türkiye	AS6
KP872581.1	Kavun	Türkiye	S5
KP872578.1	Kabak	Türkiye	E-7
KP872576.1	Kabak	Türkiye	K3
KP872546.1	Kabak	Türkiye	KAR12-4
KP872541.1	Kabak	Türkiye	AKS5-7
KP872572.1	Kabak	Türkiye	AYS7
MK689858.1	Kabak	Türkiye	ZYMV- Bingol
JF317296.1	Hıyar	Türkiye	ZYMV-Adana
KP872577.1	Kabak	Türkiye	K17
KP872571.1	Hıyar	Türkiye	D14
AJ420019.1	-	Almanya	Berlin 1
AJ420015.1	-	Avusturya	Austria 10
AJ420017.1	-	Avusturya	Austria 12
KP872561.1	Kabak	Türkiye	BE26
AJ251527.1	Hıyar	Macaristan	10
AJ420018.1	-	Slovenya	Slovenia 1
AJ459956.1	-	Macaristan	H272-8
KP872565.1	Bal Kabağı	Türkiye	BRD4
JF317297.1	Kavun	Türkiye	ZYMV-Ahlat
JF795797.1	<i>Mukia</i>	Avusturya	Cvn-13
	<i>maderaspatana</i>		
KP872580.1	Kabak	Türkiye	Y4
KP872579.1	Kabak	Türkiye	Y23

Tablo 5'in devamı

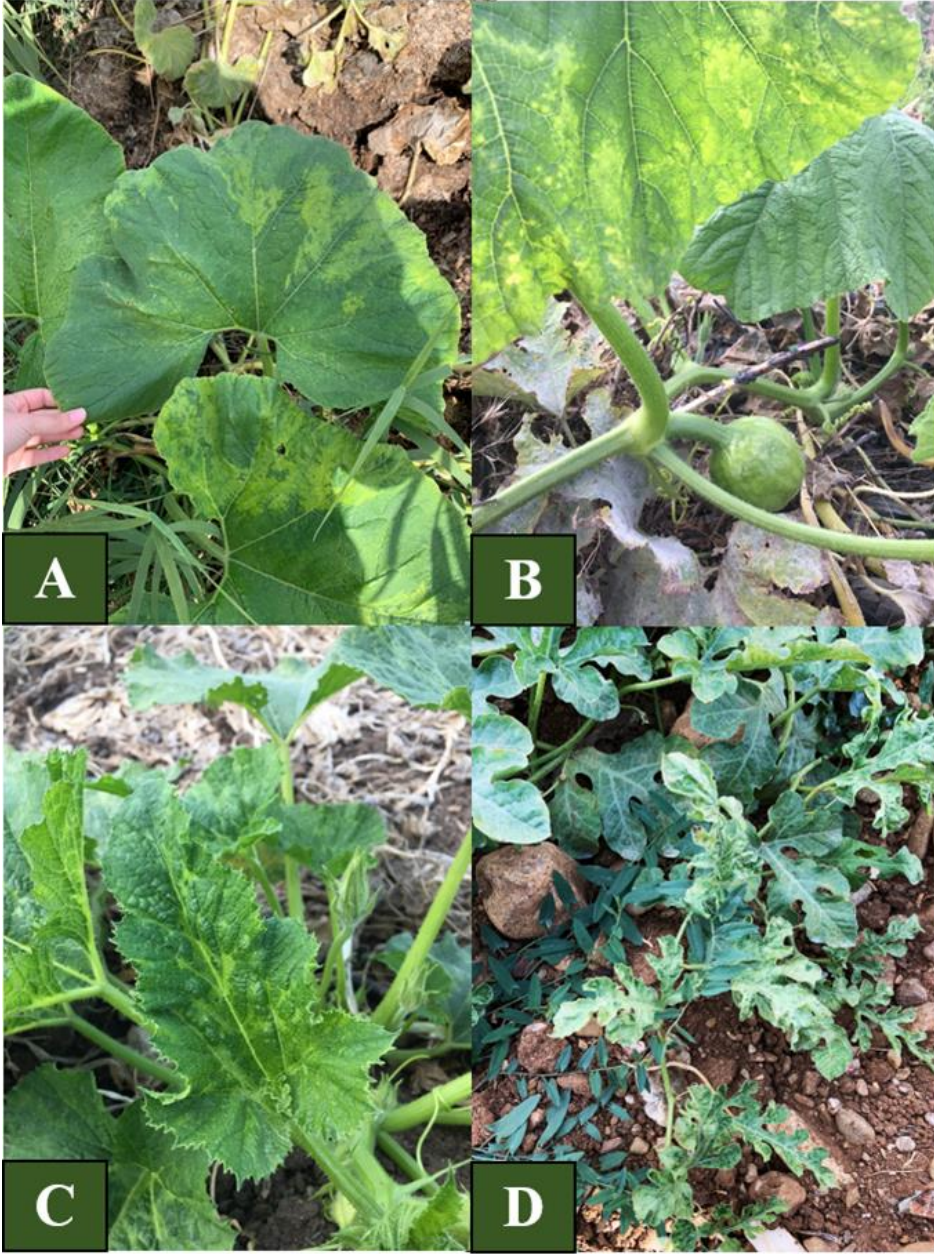
<b>Erişim Numarası</b>	<b>Konukçu</b>	<b>Lokasyon</b>	<b>Kod</b>
KX495625.1	Hıyar	İran	ZM-F321
KX495624.1	Hıyar	İran	ZM-43
AJ420020.1	-	İtalya	Italy 1
KM491919.1	<i>Benincasa hispida</i>	Çin	Z153-1
JF797209.1	Hıyar	Avusturya	Knx-15
JF792374.1	Kabakgil	Avusturya	Knx-12
MF100845.1	Bal Kabağı	Çin	HN-1



## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Arazi Çalışmaları ve Sonuçları

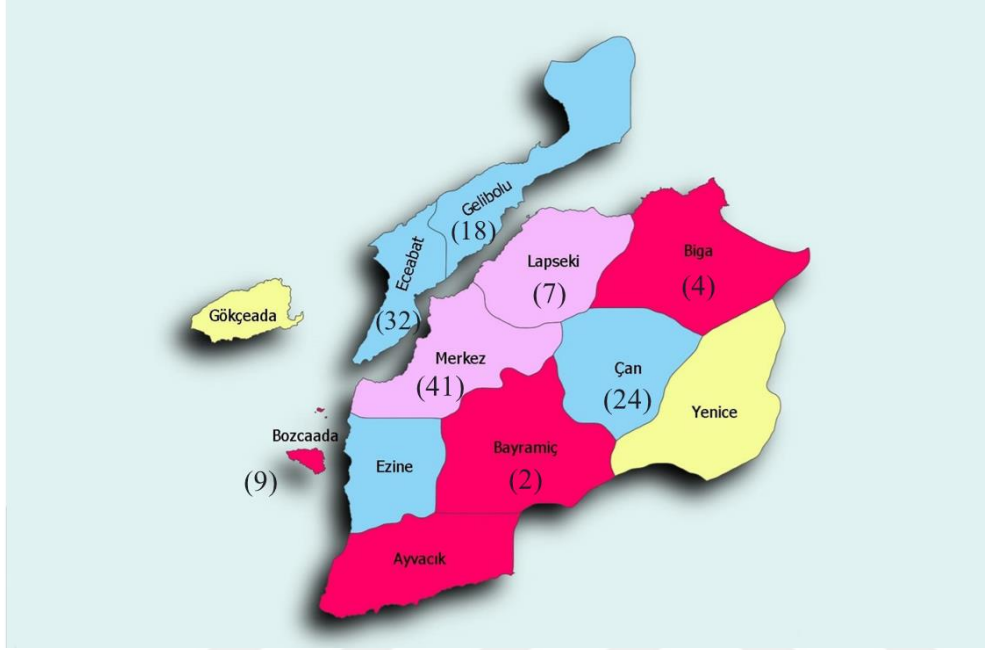
Bu çalışma 2021 yılının yaz ve sonbahar aylarında, Çanakkale ilinin kabakgil üretim alanlarında yapılmıştır. Arazi çalışmalarımız, kabakgil üretimi yapılan alanlardan, ev bahçelerinden ve sera alanlarından rastgele seçilmiş olup bu alanlardaki kabak, balkabağı, karpuz, kavun, hıyar, acur ve su kabağı gibi bitkilerden gözle yapılan incelemeler sonucu virüslerle enfekteli olduğu şüphelenilen bitkiler ile gerçekleştirilmiştir. Bu incelemelerde kabakgil bitkilerinin yaprak ve meyvelerindeki mozaik desenlerine, yaprak deformasyonlarına, kabarılaşmalarına, beneklenmelere, sararmalara, iplikleşme ve yaprak rengindeki farklılaşmalara bakılarak örnekleme işlemi yapılmıştır. Arazi çalışmaları kapsamında örnekleme yapılan kabakgil bitkileri ve bu bitkilerde görülen bazı simptomlar Şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. Arazi çalışmaları kapsamında potyvirusler ile enfekteli olduğu düşünülen ve örnekleme yapılan bitkiler (A: Balkabağı bitkisini yapraklarındaki mozaik desenler; B: Balkabağı bitkisinin meyvesindeki kabarcıklaşmalar ve renk değişimleri; C: Kabak bitkisinin yapraklarında oluşan deformasyonlar ve kabarcıklaşmalar; D: Karpuz bitkisinin yapraklarındaki şekil bozulmaları ve mozaik desen oluşumu)

Gerçekleşen arazi çalışmalarında Bayramiç, Biga, Bozcada, Çan, Eceabat, Gelibolu, Lapseki ve Merkez ilçelerinden tipik virüs belirtileri gösteren toplamda 137 bitki örneği toplanmıştır. Bu örneklerin ilçe bazında dağılımı Şekil 11’de verilmiştir. Şekilde 11’de de

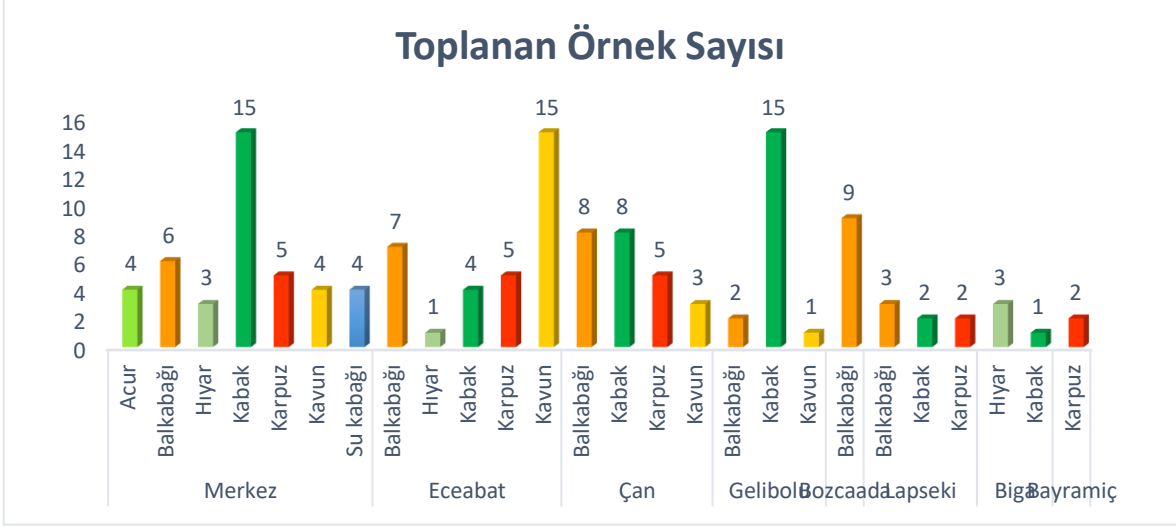
görüldüğü gibi Çanakkale Merkez ilçeden 41, Eceabat'tan 32, Çan'dan 24, Gelibolu'dan 18, Bozcaada'dan 9, Lapseki'den 7, Biga'dan 4 ve Bayramiç'ten 2 örnekleme yapılmıştır.



Şekil 11. Arazi çalışmalarının yapıldığı ilçeler (Parantez içinde toplanan örnek sayısı verilmiştir).

Arazi çalışmaları sonucunda toplanan örneklerin ürün ve ilçe bazında dağılımına bakıldığında Merkez ve Gelibolu ilçelerinde en fazla örnekleme kabak bitkisinde (15'er adet), Eceabat'ta kavun bitkisinde (15 adet), Bozcaada'da bal kabağı bitkisinde (9 adet), Çan'da ise kabak bitkisinde (8 adet) yapılmıştır. Lapseki, Biga ve Bayramiç ilçelerinden ise daha az örnekleme yapılmıştır (Şekil 12).



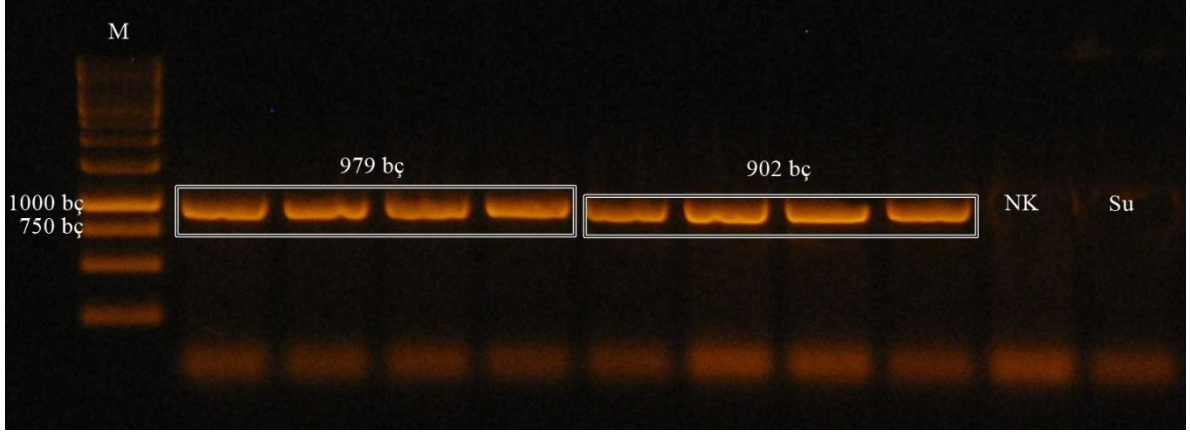


Şekil 12. Arazi çalışması sonucunda toplanan örneklerin ürün ve ilçe bazında dağılımı

#### 4.2. RT-PCR Analizi ile Virüs Tanılama Çalışmaları

Gerçekleştirilen arazi çalışmaları sonucu toplamda 137 örnek toplanmıştır. Bu örnekler potyviruslerden WMV ve ZYMV enfeksiyonları bakımından RT-PCR yöntemi ile testlenmiştir. Testlemeler sonucunda 118 örnek enfekteli çıkmıştır. Toplanılan örneklerin 117'sinde tekli WMV enfeksiyonu tespit edilirken, tek ZYMV enfeksiyonu ise 40 örnekte saptanmıştır. Ayrıca her iki virüsün karışık enfeksiyonu ise toplamda 39 bitkide saptanmıştır.

Yapılan RT-PCR testi sonucunda 137 örnek içerisinde 117'sinde WMV'nin varlığı tespit edilmiştir. Tekli enfeksiyon 78 bitkide tespit edilirken ikili enfeksiyon (WMV+ZYMV) ise 39 bitkide tespit edilmiştir. RT-PCR testlemelerinde virüse özgü spesifik primerler ile amplifiye edilen örnekler jel elektroforez ile görüntülenmiştir. Jel görüntülerinde enfekteli örneklerden beklenen WMV için 979 bç, ZYMV için ise 902 bç uzunluğunda bantlar oluşmuştur (Şekil 13).



Şekil 13. Watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus enfeksiyonlarının tanımlama çalışmalarında elde edilen agaroz jel elektroforezi sonucu (M. Marker 1 kb; NK: Negatif kontrol; 979 bç uzunluğundaki bantlar WMV, 902 bç uzunluğundaki bantlar ise ZYMV kılıf protein genlerini içermektedir).

İlçeler bazında hastalık dağılım oranına bakıldığında WMV enfeksiyon oranı en yüksek olan ilçe %100 ile Çan olmuştur. Çan'ı %92.68 ile Merkez ilçe, %88.88 ile Gelibolu, %81.25 ile Eceabat, %71.42 ile Lapseki, %66.66 ile Bozcaada takip etmiştir. En düşük enfeksiyon oranı ise %50.00 ile Biga ilçesinde olmuştur. Bayramiç ilçesinden ise enfekteli örnek bulunamamıştır. Örnekleme yapılan bitkilerdeki WMV toplam enfeksiyon oranı %84.40 olarak gerçekleşmiştir (Tablo 6).

Tablo 6

Arazi çalışmaları kapsamında toplanan ve watermelon mosaic virus enfekteli örnek sayıları

<b>İzolatların Toplandığı İlçeler</b>	<b>WMV ile Enfekteli Örnek Sayısı/Toplam Örnek Sayısı</b>	<b>Örnekleme Yapılan Bitkilerdeki Enfeksiyon Oranı %</b>
Eceabat	26/32	81.25
Gelibolu	16/18	88.88
Merkez	38/41	92.68
Bozcaada	6/9	66.66
Çan	24/24	100.00
Lapseki	5/7	71.42
Biga	2/4	50.00
Bayramiç	0/2	0.00
<b>Toplam</b>	<b>117/137</b>	<b>85.40</b>

ZYMV için yapılan RT-PCR testi sonucunda 137 örnek içerisinde 40'ında etmenin varlığı tespit edilmiştir. Tekli enfeksiyon sadece bir bitkide tespit edilirken ikili enfeksiyon (WMV+ZYMV) ise 39 bitkide tespit edilmiştir. RT-PCR testlemelerinde virüse özgü spesifik primerler ile amplifiye edilen örnekler jel elektroforez ile görüntülenmiş ve jel görüntülerinde enfekteli örneklerden beklenen 902 bp uzunluğunda bantlar oluşmuştur (Şekil 13).

İlçeler bazında hastalık dağılım oranına bakıldığında ZYMV enfeksiyon oranı en yüksek olan ilçe %55.55 ile Gelibolu olmuştur. Gelibolu'yu %50.00 ile Çan, %29.26 ile Merkez ilçe, %28.57 ile Lapseki, %25.00 ile Biga takip etmiştir. En düşük enfeksiyon oranı ise %9.37 ile Eceabat ilçesinde olmuştur. Bayramiç ve Bozcaada ilçelerinden ise enfekteli örnek bulunamamıştır. Örnekleme yapılan bitkilerdeki ZYMV toplam enfeksiyon oranı %29.20 olarak gerçekleşmiştir (Tablo 7).

Tablo 7

Arazi çalışmaları kapsamında toplanan ve zucchini yellow mosaic virus enfekteli örnek sayıları

<b>İzolatların Toplandığı İlçeler</b>	<b>Enfekteli Örnek Sayısı/Toplam Örnek Sayısı</b>	<b>Örnekleme Yapılan Bitkilerdeki Enfeksiyon Oranı %</b>
Eceabat	3/32	9.37
Gelibolu	10/18	55.55
Merkez	12/41	29.26
Bozcaada	0/9	0.00
Çan	12/24	50.00
Lapseki	2/7	28.57
Biga	1/4	25.00
Bayramiç	0/2	0.00
<b>Toplam</b>	<b>40/137</b>	<b>29.20</b>

Bu çalışma kapsamında RT-PCR testlemeleri sonucunda enfekteli bulunan 118 örnekten 39'u her iki virüs ile (WMV+ZYMV) enfekteli olarak bulunmuştur. Tekli enfeksiyona sahip WMV için 78 örnek bulunurken ZYMV ile enfekteli olan yalnızca bir örnek saptanmıştır. Örnekleme yapılan bitkilerdeki karışık enfeksiyon oranı en yüksek çıkan ilçe %55.55 ile Gelibolu olmuştur. Gelibolu ilçesini %50.00 ile Çan, %29.26 ile Merkez ilçe, %28.57 ile Lapseki, %25.00 ile Biga ve en düşük karışık enfeksiyon oranı %6.25 ile Eceabat takip etmiştir (Tablo 8). Bozcaada ve Bayramiç ilçelerinde ise karışık enfeksiyona sahip bitki örneği bulunamamıştır. Bozcaada ilçesinde sadece WMV ile enfekteli örnekler bulunmuştur. Fakat Bayramiç ilçelerinden toplanan örneklerde ise her iki virüs etmeninin de varlığı tespit edilmemiştir.

Tablo 8

Arazi ve virüs tanılama çalışmaları kapsamında elde edilen ilçeler temelli enfekteli ve toplanılan örnek sayıları

İzolatlardan Toplandığı İlçeler	WMV+ZYMV ile Enfekteli Örnek Sayısı/Toplam Örnek Sayısı	Örnekleme Yapılan Bitkilerdeki Enfeksiyon Oranı %
Eceabat	2/32	6.25
Gelibolu	10/18	55.55
Merkez	12/41	29.26
Bozcaada	0/9	0.00
Çan	12/24	50.00
Lapseki	2/7	28.57
Biga	1/4	25.00
Bayramiç	0/2	0.00
<b>Toplam</b>	<b>39/137</b>	<b>28.16</b>

Örnekleme yapılan kabakgil bitkileri tür ve poytvirus varlığı bakımından incelendiğinde kabak türünden toplamda 45 örnek toplanmış ve bu örneklerden tek ve karışık enfeksiyonlar halinde 40 tanesinde WMV ve 14 tanesinde ZYMV'nin varlığı belirlenmiştir. Ayrıca 5 örneğinde negatif olduğu görülmüştür. Balkabağı türünde 35 örnek toplanmış 19 örnekte tek WMV enfeksiyonu bulunurken, 11'ünde ise her iki virüs varlığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda 5 örnekte virüs tespit edilememiştir. Kavun ve karpuz bitkilerinde sırasıyla 23 ve 19 örnek toplanmıştır bu örneklerin içinden kavun bitkisinin 15'sinde WMV ve 5'inde de karışık enfeksiyon olduğu, karpuz bitkilerinde ise 12'inde WMV ve 3'ünde ise karışık enfeksiyon olduğu saptanmıştır. Ayrıca kavun bitkisinde 3, karpuz bitkisinden ise 4 negatif örnek olduğu belirlenmiştir. Hıyar bitkisinde ise toplamda 7 örnekleme yapılmış ve bu örneklerde 4 tanesi WMV, 1 tanesi ZYMV ile enfekteli olduğu gözlemlenirken karışık enfeksiyon tespit edilmemiştir. Acur ve su kabağı türlerinde ise üretim diğer türlere göre az olmasından dolayı toplamda her ikisinden de 4'er örnekleme yapılmıştır. Acur ve sukabağı bitkilerinden 1'er tane WMV bulunurken her ikisinden de karışık enfeksiyonlu örnek sayısı 3 olduğu gözlenmiştir. Toplan bu örnekler içerisinde 78'i sadece WMV ile enfekteli bulunurken, sadece 1 örnekte ZYMV varlığı tespit edilmiştir. Toplanan tüm örneklerde

bulunan karışık enfeksiyonlu örnek sayısı ise 39 olarak belirlenmiştir. Araştırma sonucunda 19 örnekte herhangi bir potyvirus varlığı tespit edilmemiştir (Tablo 9).

Tablo 9

Arazi ve virüs tanılama çalışmaları kapsamında elde edilen ürünler temelli enfekteli ve toplanılan örnek sayıları

<b>Kabakgil Türü</b>	<b>WMV ile Enfekteli/Toplanan Örnek Sayısı</b>	<b>ZYMV ile Enfekteli/Toplanan Örnek Sayısı</b>	<b>WMV+ZYMV ile Enfekteli/Toplanan Örnek Sayısı</b>
Kavun	15/23	0/23	5/23
Karpuz	12/19	0/19	3/19
Kabak	26/45	0/45	14/45
Bal kabağı	19/35	0/35	11/35
Acur	1/4	0/4	3/4
Hıyar	4/7	1/7	0/7
Su kabağı	1/4	0/4	3/4
<b>Toplam</b>	<b>78/137</b>	<b>1/137</b>	<b>39/137</b>

Çalışma kapsamında kabakgillerde sorun oluşturan iki önemli potyvirusün varlığı araştırılmış ve bu virüslerden WMV'nin ZYMV'ye göre çok daha yaygın olduğu görülmüştür. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada her iki virüsünde kabakgillerde yaygın olduğu bildirilmiştir. Köklü ve Yılmaz (2006) Trakya bölgesi kavun ve karpuz üretim alanlarında yaptıkları bir çalışmada toplam 502 örnekte karpuz bitkisinde ZYMV enfeksiyon oranını %45.5, kavun bitkisinde %40.3, WMV enfeksiyon oranını ise karpuz bitkisinde %34.3 kavun bitkisinde ise %31.2 olarak bildirmiştir. Tokat ilinde yapılan (Korkmaz vd. 2018) bir başka çalışmada ise kabak bitkilerinden elde edilen 571 yaprak örneğinden %12'sinin ZYMV, % 37'sinin ise WMV ile enfekteli olduğu bildirilmiştir. Her iki çalışma da görüldüğü gibi gerek ilimize komşu olan Trakya Bölgesinde gerekse Orta Anadolu'da her iki virüsün de yaygın olduğu ve enfeksiyon oranının yüksek çıktığı görülmektedir. Bu bulgular bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Çalışma kapsamında tipik virüs belirtileri gösteren ancak potyvirus enfeksiyonu belirlenemeyen örneklerdeki belirtilerin olasılıkla kabakgilleri enfekte eden diğer virüslerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Karanfil ve Korkmaz (2021), Güney Marmara bölgesindeki kabakgil bitkileri üzerinde yaptıkları bir çalışmada Çanakkale, Bursa ve Balıkesir illerinden elde ettikleri 72 örnekte 10'unda Bromoviridae familyası üyesi olan CMV'nin varlığını tespit etmişlerdir. Yine ülkemizde yapılan birçok çalışmada kabakgillerde WMV ve ZYMV'nin dışında CMV, SqMV, PRSV ve MNSV virüslerinin varlığı belirlenmiştir. (Köklü ve Yılmaz 2006; Korkmaz vd. 2018), Bu çalışmalarda da görüldüğü gibi ülkemizde potyvirusların dışında birçok virüs kabakgillerde enfeksiyona neden olmaktadır.

Çanakkale ili ve ilçelerinde yaygın olan iki virüsün enfeksiyon oranları hem ilçeler bazında ve hem de ürün bazında farklılıklar içermektedir. Oluşan bu enfeksiyon farklılıklarına; virüsleri taşıyan vektörlerin taşıma kapasitesi ve popülasyon yoğunluğu, toplanan örneklerdeki tür ve çeşit farklılıkları, üretim sırasında uygulanan farklı yetiştirme teknikleri ve çevresel faktörlerdeki değişikliklerin etkili olduğu düşünülmektedir.

Arazi çalışmaları süresinde örnekleme yapılan bitkilerde mozaik desenleri, bölgesel sararmalar, yapraklarda ve meyvelerde kabarcıklaşmalar, yaprak deformasyonları, yapraklarda iplikleşmeler, gelişim bozuklukları vb. gibi belirtiler görülmüştür. Bu belirtileri gösteren bitki örnekleri fotoğraflanmış ve numaraları kaydedilmiştir. Numaralandırılan örneklerde RT-PCR testlemeleri sonucunda WMV ve ZYMV'nin varlığı belirlenmiştir. Örnekleme yapılan karpuz, kavun, kabak ve acur bitkilerinde WMV ve ZYMV'ye özgü belirtiler Şekil 14-18'de verilmiştir.

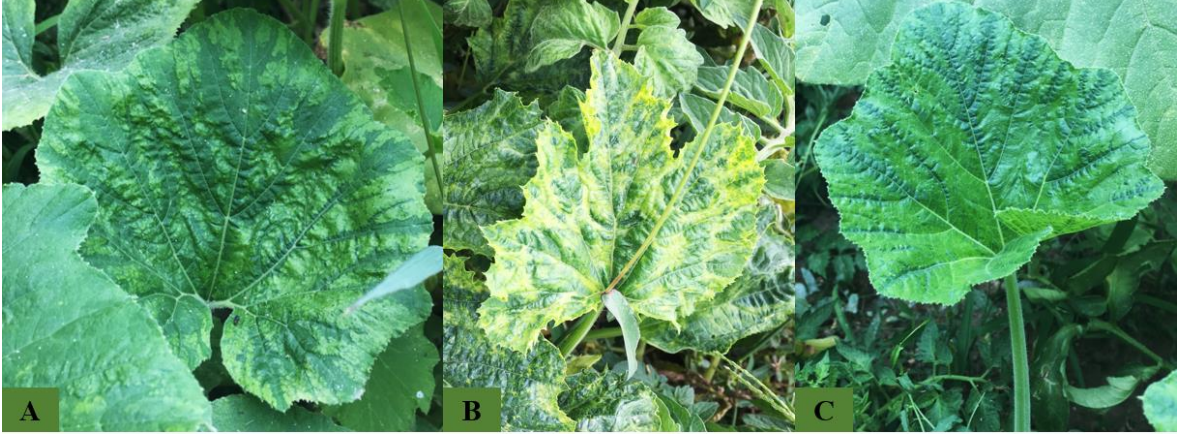


Şekil 14. Balkabağı bitkisinde watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus enfeksiyonu sonucu yapraklarda oluşan şiddetli kabarcıklaşmalar, iplikleşmeler ve yaprak deformasyonları.



Şekil 15. Kavun (A) ve su kabağı (B) bitkilerinde watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus simptomları





Şekil 16. Kabak (A, C) ve balkabağı (B) bitkilerinde watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus enfeksiyonu sonucu oluşan mozaik desenleri ve yapraklarındaki renk açılmaları



Şekil 17. Karpuz bitkilerinin yapraklarında watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus simptomları



Şekil 18. (A) Acur bitkisinin yapraklarında ve (B) kabak bitkisinin meyvesinde watermelon mosaic virus ve zucchini yellow mosaic virus enfeksiyonu sonucu oluşan belirtiler

Arazi çalışmaları kapsamında toplanan ve WMV ve ZYMV'nin varlığı RT-PCR ile tespit edilen örneklerdeki belirtiler dünyada, ülkemizde ve bölgemizde kabakgilleri üzerinde gözlemlenen belirtilerle aynı ya da benzer özellik göstermektedir. Nitekim yapılan birçok çalışmada aynı ya da benzer belirtiler birçok çalışmada bildirilmiştir (Fidan vd., 2016; Desbiez ve Caliskan, 2015).

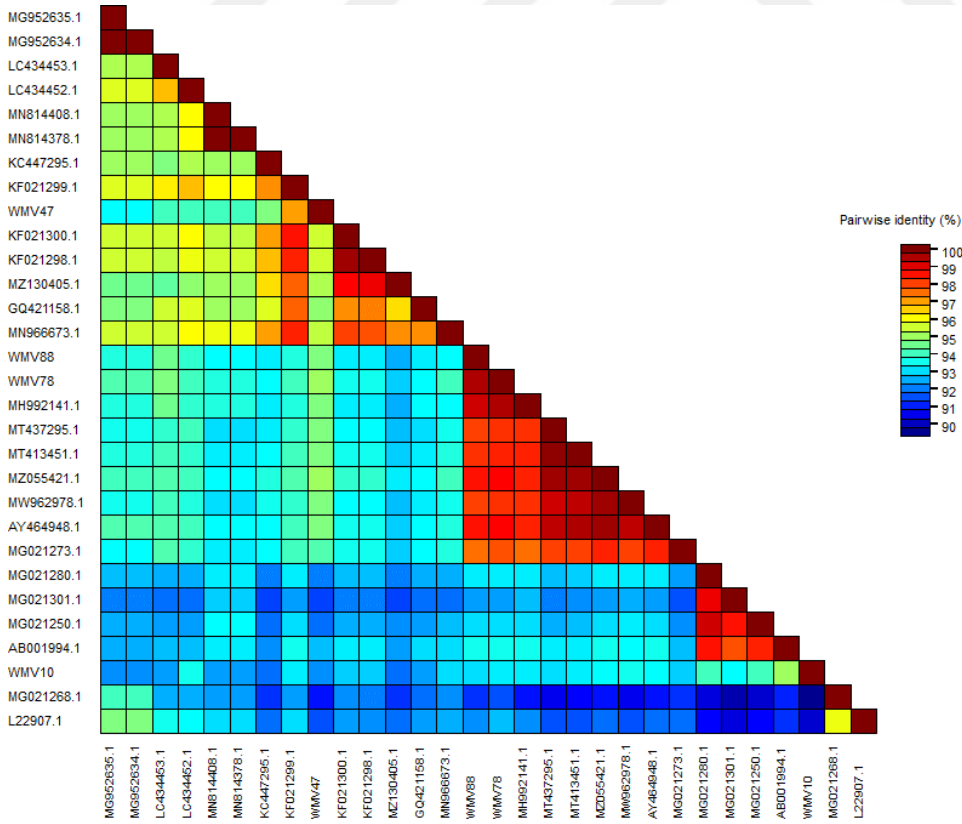
### 4.3. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları

Bu tez kapsamında yapılan moleküler karakterizasyon çalışmaları için WMV ve ZYMV ile enfekteli olduğu tespit edilen WMV için 4 ve ZYMV için 3 toplamda ise 7 izolat seçilmiş ve baz dizilimleri belirlenmiştir. Dünyanın farklı bölgelerinden elde edilen ve gen bankasında bulunan ZYMV ve WMV izolatlarından bazıları da gen bankasından çekilerek çoklu dizi analizlerinde ve filogenetik soyağaçlarının oluşturulmasında kullanılmıştır.

### 4.3.1. Benzerlik Analizleri

#### Watermelon Mosaic Virus Dizi Analiz Sonuçları

WMV izolatlarının CP gen bölgelerine göre nt dizilimleri kendi içlerinde ve dünyadaki diğer izolatlar ile benzerlik oranları Şekil 19'da verilmiştir. Çalışma kapsamında farklı ilçelerden alınan izolatlar kendi aralarında nt dizilim oranları karşılaştırıldığında %93-100 arasında bir homolojiye sahip olduğu görülmüştür. İzolatlar arasında en yüksek benzerlik oranı WMV88 (Merkez) ile WMV78 (Bozcaada) arasında %99-100 düzeyinde olmuştur. WMV47 (Eceabat) ile WMV88 ve WMV88 izolatları arasındaki benzerlik oranı %95-96 olarak belirlenirken WMV10 (Çan) ile WMV78 ve WMV88 arasındaki benzerlik oranı %93-94 olduğu belirlenmiştir. İzolatların kendileri arasındaki en düşük benzerlik oranı ise WMV47 ile WMV10 arasında %93 olmuştur.



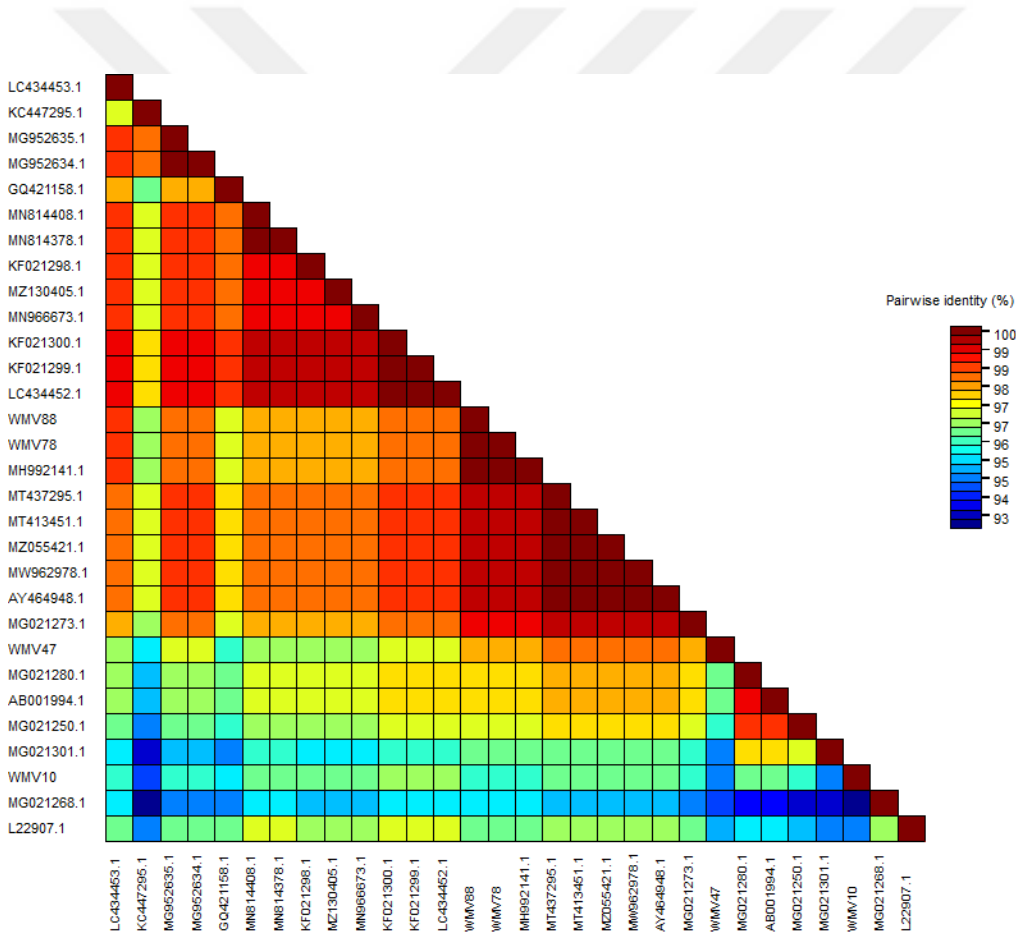
Şekil 19. Çanakkale watermelon mosaic virus (WMV) ile dünyadaki WMV izolatlarının kılıf proteinin (Coat protein: CP) nükleotit dizilerinin benzerlik oranları

Çalışma sonucu elde edilen Çanakkale WMV izolatlarının nükleotit dizilimlerinin benzerlik oranları ile dünyadaki CP gen bölgelerine göre nükleotit dizilimleri benzerlik oranları incelenmiştir. WMV10, WMV47, WMV78 ve WMV88 izolatlarının nt dizilim benzerlik oranı incelendiğinde ilk olarak WMV10 izolatının en yüksek benzerliği %95-96 ile AB001994 gen bankasındaki erişim kodu ile Japonya izolatı olurken en düşük benzerliği L22907 gen bankasındaki erişim kodu ile Avustralya izolatı ile olduğu görülmüştür. WMV47 izolatı ise en yüksek benzerliği %97 ile KF021299 erişim koduna sahip bir Türk izolatı ile göstermiştir. En düşük benzerlik oranı ise WMV10 izolatında olduğu gibi %91-92 oranında L22907 erişim kodlu Avustralya izolatı ile olmuştur. Çanakkale WMV78 ile WMV78 dünyadaki nükleotit dizilimleri benzerlik oranları incelendiğinde her iki izolatında en yüksek ve en düşük benzerlik oranları aynı izolatlarla olduğu dikkat çekmiştir. Bu izolatlar en yüksek benzerlik oranı %99 ile MH992141 erişim kodlu Polonya izolatı olurken en düşük benzerlik oranı %93 ile MG021268 erişim kodlu ABD izolatı ile olduğu görülmüştür.

Gara vd. (1997) Japonya’da yabani bir orkide türü olan *Habenaria radiata* üzerinde yaptıkları bir çalışmada WMV-Habenaria izolatının (erişim kodu, AB001994.1) Japonya17, Aus5, Tonga15, US13 ve SN18 izolatları ile sırasıyla %96, 93, 92, 92 ve %78 oranında benzerlik gösterdiklerini belirtmişlerdir. Çanakkale WMV izolatları ile Japonya elde edilen izolatları arasındaki nükleotit dizilimi benzerlik oranları ise % 95-96 arasında olmuştur.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Yeşil (2013) 2009 ve 2010 yıllarında 652 örnek içerisinde pozitif çıkan örnekler arasından bazılarının örtü proteini geni dizi analizini yapmıştır. Bu analizlerde W-26 ve W-59 nolu Türk izolatlarının Fransa (JF273462), İspanya (AJ579490) İtalya (EU660590), İran (EU667634) ve Türkiye (EU660579) izolatlarıyla %99 oranında benzerlik gösterdiğini belirtmiştir. Bu çalışmadaki W-26 (KF021299) izolatı ile Çanakkale WMV47 izolatı arasında %95-96 oranında benzer bulunmuştur. Gerek yurt dışında gerekse ülkemizde yapılan birçok çalışmada WMV izolatlarının örtü protein genlerinin %90’ın üzerinde bir benzerlik gösterdiği görülmektedir. Bu sonuçlar bizim çalışmalarımız ile paralellik göstermektedir.

Çanakkale WMV izolatlarının kılıf protein geninin amino asit dizilimlerine göre kendi aralarında ve dünyadaki diğer WMV izolatları ile çoklu amino asit dizi karşılaştırılması yapılmıştır. Amino asit bazında Çanakkale WMV izolatları kendi aralarında incelendiğinde en düşük benzerlik oranı %95 olurken en yüksek benzerlik oranı ise %100 olduğu görülmüştür. WMV10 (Çan) ile WMV47(Eceabat) aralarında %95 ile en düşük benzerlik oranı görülürken, WMV78 (Bozcaada) ile WMV88 (Merkez) izolatlar nt benzerlik oranında olduğu gibi aa benzerlik oranında da %100 benzerlik ile en yüksek benzerlik göstermişlerdir. WMV10 ile WMV78 ve WMV88 arasında %95-96 benzerlik görülürken, WMV47 ile WMV78 ve WMV88 izolatları arasında ise %97-98 oranında bir benzerlik oranı görülmüştür (Şekil 20).



Şekil 20. Çanakkale watermelon mosaic virus (WMV) ile dünyadaki WMV izolatlarının kılıf protein amino asit dizilerinin benzerlik oranları

Kılıf protein (CP) geninin amino asit dizilimlerine bazında incelendiğinde Çanakkale izolatları ile ulusal ve uluslararası izolatlar arasındaki benzerlik oranları %95-100 aralığında

gerçekleşmiştir. En yüksek %100 benzerlik oranı WMV78 (Bozcaada) ve WMV88 (Merkez) izolatları ile MH992141 erişim numarasına sahip Polonya izolatu arasında olmuştur. En yüksek benzerlik oranında da olduğu gibi en düşük benzerlik oranının da Çanakkale WMV78 ve WMV88 izolatları ile MG021268 erişim numarasına sahip ABD izolatu arasında olduğu belirlenmiştir.

Çanakkale WMV10 izolatu aa temelinde benzerlik oranları incelendiğinde %97 ile en yüksek benzerlik oranları sırasıyla gen bankası erişim numaraları KF021300 (Türkiye), KF021299 (Türkiye) ve LC434452 (Güney Kore) olan izolatlar arasında olduğu görülmüştür. En düşük benzerlik oranı ise MG021268 erişim numarasına sahip ABD izolatu arasında olmuştur.

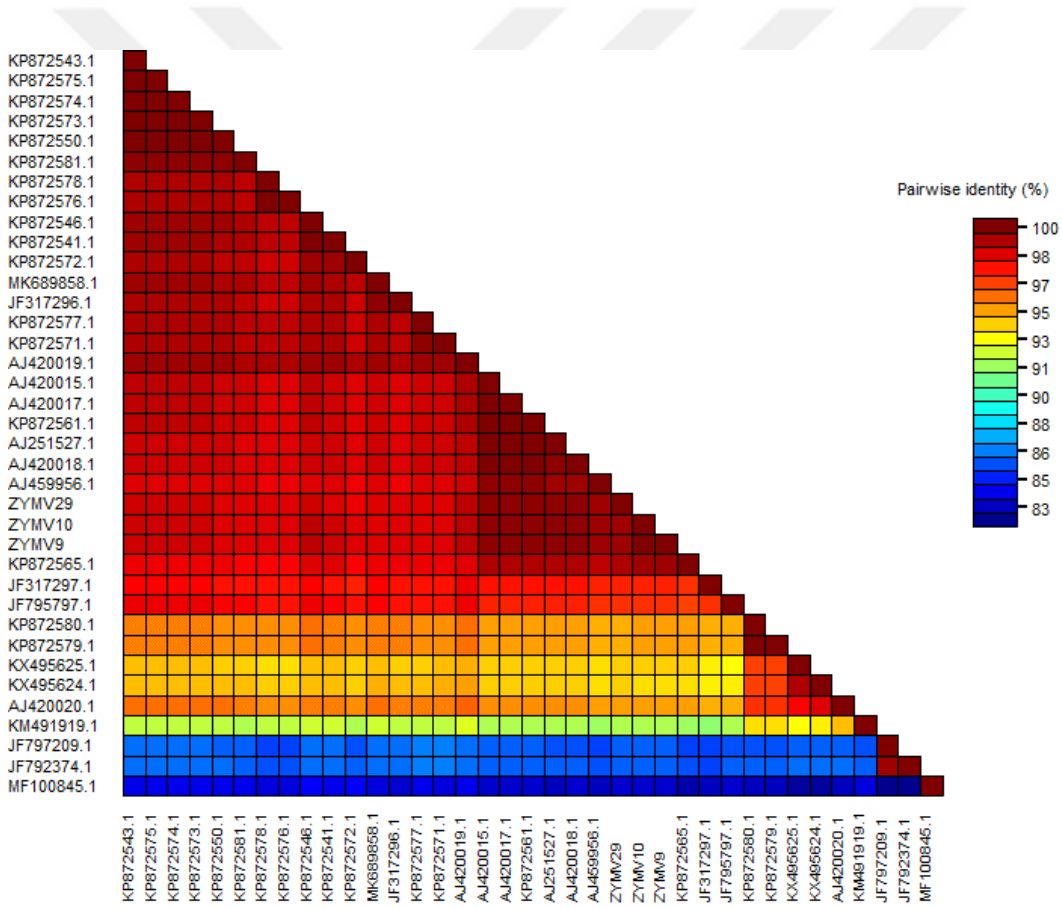
Çanakkale WMV47 izolatının en yüksek benzerlik oranı %98 ile Türkiye izolatları olmuştur. Bu izolatların kodu ve erişim numaraları sırasıyla şu şekildedir; MT437295 (Bingöl W4), MT413451 (Bingöl W2), MZ055421 (Iğdır 6) ve MW962978 (Diyarbakır D3). En düşük benzerlik oranı ise diğer Çanakkale izolatlarında olduğu gibi %95 ile, MG021268 erişim numarasına sahip ABD izolatu arasında olduğu belirlenmiştir.

Çanakkale WMV78 ve WMV88 izolatlarının aa düzeyinde benzerlik oranları en yüksek ve düşük olan izolatları aynı bulunmuştur. Bu izolatlar en düşük %95 benzerlik oranına ait MG021268 erişim numaralı ABD izolatu olurken en yüksek benzerlik oranı %100 ile MH992141 erişim numaralı Polonya izolatu olmuştur.

Sharifi vd. (2008), İran'da yaptıkları bir çalışmada 14 İran izolatının kılıf protein gen bölgesi aa temelli benzerlik analizlerinde izolatlar arasında en düşük benzerlik oranını %97.4, en yüksek benzerlik oranını ise % 100 bulmuşlardır. Bu izolatları gen bankasında bulunan iki İran izolatu ile kıyasladıklarında en düşük benzerlik oranını % 91.6 en yüksek benzerlik oranını ise % 93.4 olarak bulmuşlardır. Tüm bu bulgular WMV izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin kodladığı amino asitlerin çok yüksek oranda bir benzerlik gösterdiği görülmektedir.

## Zucchini Yellow Mosaic Virus Dizi Analiz Sonuçları

Çanakkale ZYMV izolatlarının CP gen bölgelerine göre nt dizilimleri kendi içlerinde ve dünyadaki diğer izolatlar ile benzerlik oranları Şekil 21’de verilmiştir. Çalışma sonucunda ZYMV9 (Çan), ZYMV10 (Çan) ve ZYMV29 (Gelibolu) kodlu izolatlar nükleotit dizilim benzerlik oranları kendileri arasında karşılaştırıldığında %99-100 aralığında değişen yüksek benzerlik oranına sahip olduğu görülmüştür. ZYMV9 ile ZYMV10 izolatları kendileri arasındaki benzerlik oranı %100 ile en yüksek benzerliğe sahip olurken ZYMV9 ile ZYMV29 ve ZYMV10 ile ZYMV29 izolatları arasındaki benzerlik oranı %99 olmuştur.



Şekil 21. Çanakkale zucchini yellow mosaic virüs (ZYMV) ile dünyadaki ZYMV izolatlarının kılıf protein nükleotit dizilerinin benzerlik oranları

Çalışmadan elde edilen ZYMV9, ZYMV10 ve ZYMV29 kodlu izolatların dünyadaki diğer izolatların nt dizilimleri ile karşılaştırıldığında benzerlik oranları %83-100 arasında

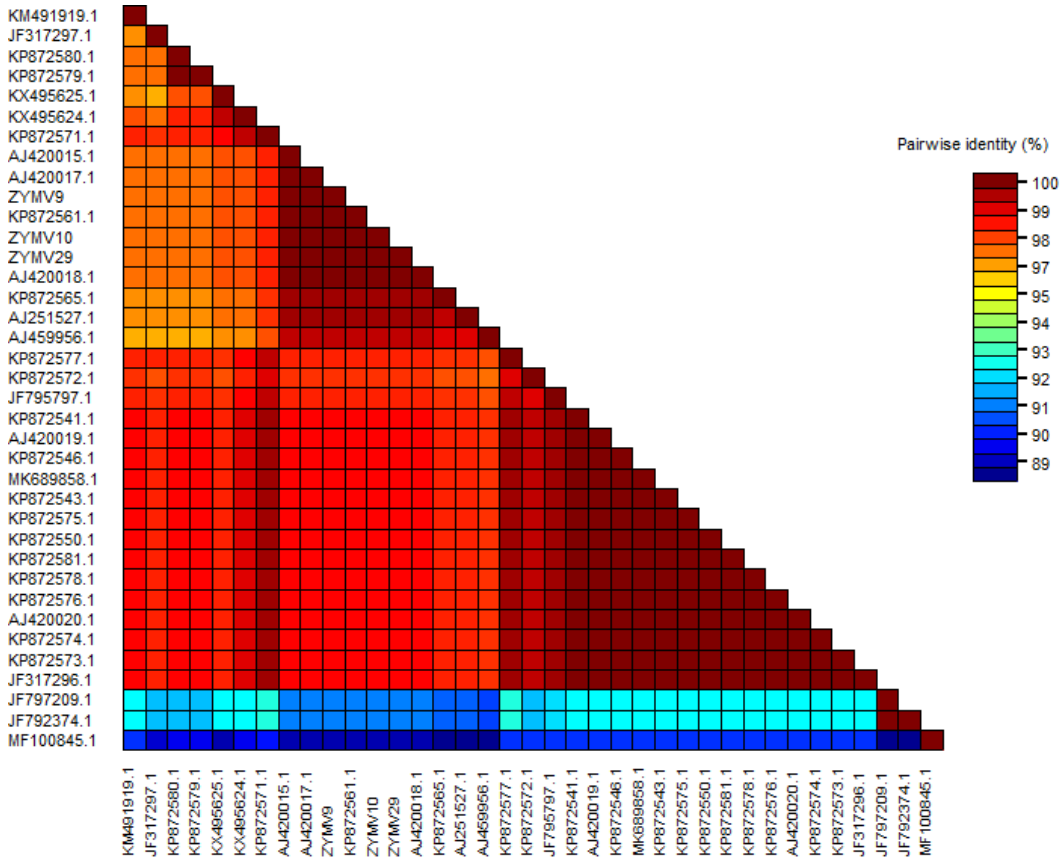
değişen oranlarda olduğu görülmektedir. ZYMV9, ZYMV10 ve ZYMV29 izolatlarını her birinin en fazla ve en az benzerlik gösterdiği izolatların aynı olduğu görülmektedir. En fazla %99-100 oranında benzerlik gösterdikleri izolatların sırasıyla gen bankasındaki erişim numaraları şu şekildedir: AJ420015, AJ420017, (Avusturya) KP872561 (Türkiye) AJ251527 (Macaristan) ve AJ420018 (Slovenya). En az %83 oranında benzerlik gösterdikleri izolat ise MF100845 erişim numarasına sahip Çin izolatı olmuştur.

Vučurović vd. (2012), Sırbistan'da 2011 yılında yaptıkları çalışmada 26 karpuz örneğinin 6'sını ZYMV ile enfekteli bulmuşlardır. Bu izolatlardan bir tanesini RT-PCR kullanarak amplifiye etmişlerdir ve ardından sekanslama yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda Sırp izolatı ile diğer dünya izolatları arasındaki nt benzerlik oranlarını %93.7 ile %99.9 arasında bulmuşlardır.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Topkaya vd. (2019), Ankara ve Antalya illerinde 2009-2014 yılları arasında yaptıkları çalışmada WMV, ZYMV, CMV, PRSV ve CGMMV virüslerinin varlığını belirlemişlerdir. Bu virüsler içerisinde 45 ZYMV izolatı için tam uzunlukta CP nükleotid dizileri elde etmişler ve gen bankası veri tabanlarında bulunan dünya izolatları ile karşılaştırmışlardır. Bu izolatların kendi arasında ve dünya izolatları ile %96 ile %99 arasında bir nt benzerliğine sahip olduğunu bulmuşlardır. Bu izolatlardan BE26 kodlu KP872561 (Ankara) erişim numaralı izolat ile Çanakkale (ZYMV9, ZYMV10 ve ZYMV29) izolatları arasında benzerlik oranı ise %100 olarak bulunmuştur. Yapılan bu çalışma doğrultusunda aynı coğrafi bölgelerdeki izolatlar arasındaki benzerliklerin yüksek olduğu görülmektedir.

Çanakkale ZYMV izolatlarının kılıf protein (CP) geninin amino asit dizilimlerine göre kendi aralarında ve dünyadaki diğer ZYMV izolatları ile çoklu amino asit karşılaştırılması yapılmıştır. Çanakkale ZYMV9 (Çan), ZYMV10 (Çan) ve ZYMV29 (Gelibolu) izolatları kendileri aralarındaki amino asit dizilimleri temelinde göstermiş oldukları benzerlik oranları %100 olmuştur (Şekil 22).





Şekil 22. Çanakkale zucchini yellow mosaic virüs (ZYMV) ile dünyadaki ZYMV izolatlarının kılıf protein amino asit dizilerinin benzerlik oranları

Çanakkale izolatlarının ulusal ve uluslararası izolatlar ile göstermiş oldukları benzerlik oranları ise %89 ile %100 arasında değişen oranlarda olmuştur. Çanakkale ZYMV9 (Çan), ZYMV10 (Çan) ve ZYMV29 (Gelibolu) kodlu izolatların göstermiş oldukları en az benzerlik oranı %89 ile MF100845 erişim numaralı Çin izolatu olmuştur. ZYMV9 ile en fazla amino asit dizilimi bazında benzerlik gösteren dünya izolatları erişim numaraları sırasıyla: KP872561 (Türkiye), AJ420015 ve AJ420017 (Avusturya) olmuştur. Ayrıca ZYMV29 izolatu da ZYMV9 gibi en fazla benzerliği KP872561, AJ420015 ve AJ420017 erişim numaralı izolatlar ile yüzde yüz benzerlik göstermiş ve yine en az benzerliği % 89 ile MF100845 Çin izolatıyla gösterdiği görülmüştür. Çanakkale ZYMV10 izolatu ile dünyadaki diğer izolatların aa dizilim benzerliği incelendiğinde en fazla benzerlik oranını %100 ile AJ420015 ve AJ420017 (Avusturya) erişim nolu izolatlar arasında olmuştur. En az benzerliği ise diğer Çanakkale izolatlarında olduğu gibi MF100845 erişim numaralı Çin izolatu olmuştur.

Vučurović vd, (2012), Sırbistan'da 2011 yılında yaptıkları çalışmada 26 karpuz örneğinin 6'sını ZYMV ile enfekteli bulmuşlardır. Bu izolatlardan bir tanesini RT-PCR kullanarak amplifiye etmişlerdir ve ardından sekanslama yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda Sırp izolatu ile diğer dünya izolatları arasındaki benzerlik oranlarını %96.8 ile % 100 arasında bulmuşlardır. Bu sonuçlardan ve bizim elde ettiğimiz sonuçlardan da görüldüğü gibi ZYMV kılıf protein geni arasındaki benzerlik oranları özellikle aynı ülkede birbirine yakın lokasyonlarda %100'e varan bir benzerlik oranı gösterebilmektedir.

#### **4.3.2. Filogenetik Analizler**

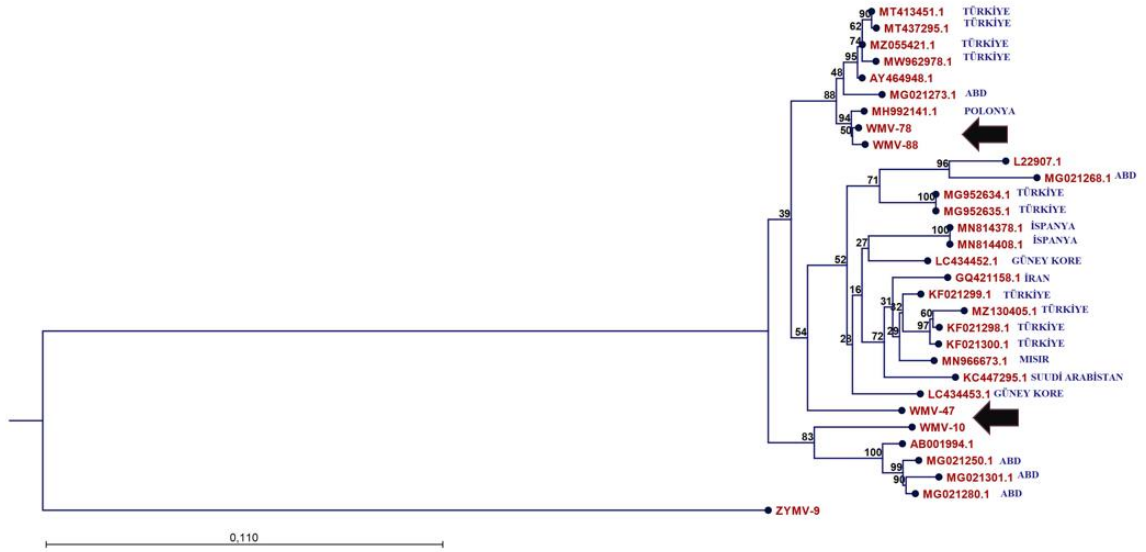
Bu tez kapsamında WVM10, WMV47, WMV78, WMV88 ve ZYMV9, ZYMV10, ZYMV29 izolatlarının filogenetik soy ağacının belirlenmesi amacıyla çalışma sonucu elde edilen WMV ve ZYMV izolatları ile dünyadaki farklı bölgelerinden elde edilen izolatlar kullanılmıştır. İzolatların genetik ilişkilerini belirlemek için nükleotid dizileri kullanılarak filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir.

#### **Watermelon Mosaic Virus İzolatlarının Filogenetik Analizleri**

WMV izolatlarının kılıf protein nükleotid dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik soyağacı Şekil 23'te verilmiştir. WMV izolatlarının oluşturduğu soyağacı 3 ana gruptan oluşmuştur. Birinci ana grupta MT437295 (Türkiye), MT413451 (Türkiye), MZ055421(Türkiye), MW962978 (Türkiye), AY464948 (Çin), MG021273 (ABD) izolatları ve kendi içlerinde ayrı bir alt grup oluşturan WMV78 (Bozcaada), WMV88 (Merkez) ve MH992141 (Polonya) izolatu olmuştur. İkinci ana grupta L22907 (Avustralya), MG021268 (ABD), MG952634 (Türkiye), MG952635 (Türkiye), MN814378 (İspanya), MN814408 (İspanya), LC434452 (Güney Kore), GQ421158 (İran), KF021299 (Türkiye), MZ130405 (Türkiye), KF021298 (Türkiye), KF021300 (Türkiye), MN966673 (Mısır), KC447295 (Suudi Arabistan), LC434453 (Güney Kore) ve WMV47 (Eceabat) izolatları yer almıştır. WMV10 (Çan), AB001994 (Japonya), MG021250 (ABD), MG021301 (ABD) ve MG021280 (ABD) izolatları üçüncü ana grubu oluşturmuştur. Filogenetik ağaçta bulunun üç Çanakkale izolatu ve diğer 11 Türk izolatları biraz daha ayrıntılı incelendiğinde

birbirlerinde farklı grup ve alt gruplarda yer aldığı görülmüştür. Bu çalışma kapsamında yer alan 4 izolattan ikisi (WMV-78 ve WMV-88) birinci grupta ve aynı alt grupta yer alırken diğer iki izolattan biri (WMV-47) ikinci grupta ve tek bir alt grup olarak yer alırken diğer izolat (WMV-10) ise üçüncü grupta yer almıştır.

Filogenetik ağaçta birinci grupta iki alt grup oluşurken ilk alt grupta daha önceden gen bankasına yüklenen 4 Türkiye izolatu ikinci alt grupta ise bu çalışmada elde edilen iki Çanakkale izolatları yer almıştır. İkinci grup ise kendi içinde çok fazla sayıda alt grup oluşturmuştur. Bu grup içinde yine daha önceden gen bankası veri tabanına yüklenen ve farklı alt gruplarda yer alan 6 Türkiye izolatu yer alırken, tek Çanakkale izolatu farklı bir alt grupta yer almıştır. Üçüncü grupta ise bu çalışmadan elde edilen bir Çanakkale izolatının dışında başka bir Türk izolatu yer almamıştır.



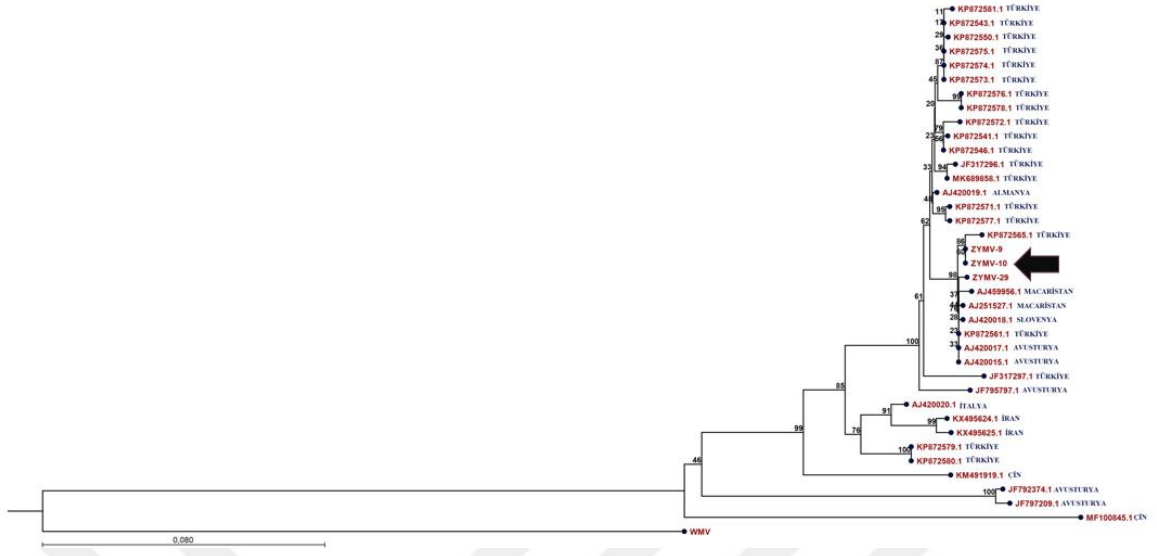
Şekil 23. Çanakkale watermelon mosaic virus izolatlarının nükleotid dizilimlerine göre filogenetik soyağacı

Nematollahi vd. (2021), İran'ın kuzeyindeki karpuz üretim alanlarında toplamda 305 virüs simptomu gösteren örnek toplamışlardır. Alınan örneklerin 80'i WMV ile enfekteli olarak bulunmuştur. Enfekteli örneklerin CP ve P1 bölgelerine göre dizilimi ve filogenetik

analizlerini yapmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda WMV izolatlarının CP gen bölgesine göre oluşturdukları filogenetik analizlerinden üç ana grubun (CL, EM ve G2) oluştuğunu ve her grubun kendi içinde tekrar birkaç dala ayrıldığını belirtmişlerdir. Grup CL'nin, Fransa, İtalya, İspanya, Güney Kore, Şili ve İran izolatlarından, Grup EM'nin, Çin, Güney Kore ve Fransa'dan izolatlardan ve grup E2'nin ise Fransa, Çin ve İran izolatlarından oluştuğunu belirtmişlerdir. Yapılan her iki çalışmada da WMV ile enfekteli örneklerin CP gen bölgesine göre filogenetik analizlerinde izolatların 3 ana grupta toplandığı görülmüştür. Gerçekleşmiş iki çalışmada birbirleri ile paralellik göstermektedir.

### **Zucchini Yellow Mosaic Virus İzolatlarının Filogenetik Analizleri**

ZYMV izolatlarının kılıf protein geni nükleotit dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik soyağacı şekil 24'te verilmiştir. ZYMV izolatlarının oluşturduğu soyağacı 4 ana gruptan oluşmuştur. İlk ana grup KP872581, KP872543, KP872550, KP872575, KP872574, KP872573, KP872576, KP872578, KP872572, KP872541, KP872546, JF317296 ve MK689858 (Türkiye), AJ420019 (Almanya), KP872571, KP872577, (Türkiye) izolatlarından oluşmuştur. İkinci ana grupta bu çalışma kapsamında yer alan üç Çanakkale ZYMV9 (Çan), ZYMV10 (Çan) ve ZYMV29 (Gelibolu) ve bir (KP872565) Türkiye izolatının yakın ilişkili olduğu ve aynı grupta yer aldığı görülmüştür. Ayrıca ikinci grupta AJ459956, AJ251527 (Macaristan), AJ420018 (Slovenya), KP872561 (Türkiye), AJ420017, AJ420015 (Avusturya), ve ayrı bir alt grup olarak da JF317297 (Türkiye) ve JF795797 (Avusturya) izolatlarının yer aldığı görülmüştür. Dünya ZYMV izolatların oluşturduğu üçüncü ana grupta ise AJ420020 (İtalya), KX495624, KX495625 (İran), KP872579, KP872580 (Türkiye) ve KM491919 (Çin) erişim numaralı izolatlar yer almıştır. ZYMV Dünya izolatlarını oluşturdukları son ana grupta ise sırasıyla erişim numaraları JF792374, JF797209 (Avusturya) ve MF100845 (Çin) olan izolatların oluşturduğu belirlenmiştir. Filogenetik analizler sonucunda Çanakkale WMV78, WMV88, WMV47 ve WMV10 izolatlarının aksine ZYMV9, ZYMV10 ve ZYMV29 izolatlarının aynı ana grupta yer aldığı ve ZYMV9, ZYMV10 Çanakkale izolatının birbirine çok yakın ilişkili olduğu analiz edilmiştir. ZYMV29 izolatının ise Macaristan Slovenya, Türkiye ve Avusturya izolatları yakın benzerlikte olduğu dikkat çekmiştir.



Şekil 24. Çanakkale zucchini yellow mosaic virus izolatlarının nükleotid dizilimlerine göre filogenetik soyağacı

## BEŞİNCİ BÖLÜM

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma 2021 yılının yaz ve sonbahar aylarında, Çanakkale ilinin kabakgil üretim alanlarında yapılmıştır. Arazi çalışması kabakgil üretimi yapılan alanlardan, ev bahçelerinden ve sera alanlarından rastgele seçilmiş olup bu alanlardaki kabak, balkabağı, karpuz, kavun, hıyar, acur ve su kabağı gibi bitkiler görsel olarak incelenmiş ve virüs belirtileri gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır.

Gerçekleştirilen arazi çalışmaları sonucu toplamda 137 örnek toplanmış ve bu örnekler potyviruslerden WMV ve ZYMV enfeksiyonları bakımından RT-PCR yöntemi ile testlenmiştir. Testlemeler sonucunda 118 örnek enfekteli çıkmıştır. Toplanan örneklerin 117'sinde WMV enfeksiyonu tespit edilirken, ZYMV enfeksiyonu ise 40 örnekte saptanmıştır. Ayrıca her iki virüsün karışık enfeksiyonu ise toplamda 39 bitkide saptanmıştır.

İlçeler bazında hastalık dağılım oranına bakıldığında WMV enfeksiyon oranı en yüksek olan ilçe %100 ile Çan olmuştur. Çan'ı %92.68 ile Merkez ilçe, %88.88 ile Gelibolu, %81.25 ile Eceabat, %71.42 ile Lapseki, %66.66 ile Bozcaada takip etmiştir. En düşük enfeksiyon oranı ise %50.00 ile Biga ilçesinde olmuştur. Bayramiç ilçesinden ise enfekteli örnek bulunamamıştır. Örnekleme yapılan bitkilerdeki WMV toplam enfeksiyon oranı %84.40 olarak gerçekleşmiştir.

Yine ilçeler bazında ZYMV için hastalık dağılım oranına bakıldığında ZYMV enfeksiyon oranı en yüksek olan ilçe %55.55 ile Gelibolu olmuştur. Gelibolu'yu %50.00 ile Çan, %29.26 ile Merkez ilçe, %28.57 ile Lapseki, %25.00 ile Biga takip etmiştir. En düşük enfeksiyon oranı ise %9.37 ile Eceabat ilçesinde olmuştur. Bayramiç ve Bozcaada ilçelerinden ise enfekteli örnek bulunamamıştır. Örnekleme yapılan bitkilerdeki ZYMV toplam enfeksiyon oranı %29.20 olarak gerçekleşmiştir.

RT-PCR testlemeleri sonucunda enfekteli bulunan 118 örnekten 39'u her iki virüs ile (WMV+ZYMV) enfekteli olarak bulunmuştur. Tekli enfeksiyona sahip WMV için 78 örnek bulunurken ZYMV ile enfekteli olan yalnızca bir örnek saptanmıştır. Örnekleme yapılan bitkilerdeki karışık enfeksiyon oranı en yüksek çıkan ilçe %55.55 ile Gelibolu olmuştur. Gelibolu ilçesini %50.00 ile Çan, %29.26 ile Merkez ilçe, %28.57 ile Lapseki, %25.00 ile Biga ve en düşük karışık enfeksiyon oranı %6.25 ile Eceabat takip etmiştir. Bozcaada ve Bayramiç ilçelerinde ise karışık enfeksiyona sahip bitki örneği bulunamamıştır. Bozcaada ilçesinde sadece WMV ile enfekteli örnekler bulunmuştur. Fakat Bayramiç ilçelerinden toplanan örneklerde ise her iki virüs etmeninin de varlığı tespit edilmemiştir.

Arazi çalışmaları süresinde örnekleme yapılan bitkilerde mozaik desenleri, bölgesel sararmalar, yapraklarda ve meyvelerde kabarcıklaşmalar, yaprak deformasyonları, yapraklarda iplikleşmeler, gelişim bozuklukları vb. gibi simptomlar görülmüştür.

Çalışma kapsamında moleküller karakterizasyon çalışmaları için WMV ve ZYMV ile enfekteli olduğu tespit edilen WMV için 4 ve ZYMV için 3 toplamda ise 7 izolat seçilmiş ve bu izolatların CP gen bölgeleri baz dizilimleri belirlenmiştir. Dünyanın farklı bölgelerinden elde edilen ve gen bankasında bulunan ZYMV ve WMV izolatlarından bazıları da gen bankasından çekilerek çoklu dizi analizlerinde ve filogenetik soyağaçlarının oluşturulmasında kullanılmıştır.

WMV izolatlarının CP gen bölgelerine göre nt dizilimleri kendi içlerinde ve dünyadaki diğer izolatlar ile benzerlik oranları incelendiğinde, Çanakkale izolatlarının kendi aralarında nt düzeyinde %93-100 arasında bir homolojiye sahip olduğu görülmüştür. İzolatların kendi arasındaki en düşük benzerlik oranı ise WMV47 ile WMV10 izolatları arasında %93 olduğu belirlenmiştir.

Çalışma sonucu elde edilen Çanakkale WMV izolatlarının nükleotit dizilimlerin benzerlik oranları ile dünyadaki CP gen bölgelerine göre nükleotit dizilimleri benzerlik oranları incelendiğinde bu izolatların dünya izolatları ile %93 ile % 99 arasında bir benzerliğe sahip olduğu görülmüştür.

WMV izolatlarının kılıf protein geninin amino asit dizilimleri bazında incelendiğinde Çanakkale izolatları ile ulusal ve uluslararası izolatlar arasındaki benzerlik oranları %95-100 aralığında gerçekleşmiştir. En yüksek %100 benzerlik oranı WMV78 ve WMV88 izolatları ile MH992141 erişim numarasına sahip Polonya izolatı arasında olduğu görülmüştür. En yüksek benzerlik oranında da olduğu gibi en düşük benzerlik oranında da Çanakkale WMV78 ve WMV88 izolatları ile MG021268 erişim numarasına sahip ABD izolatı arasında olduğu belirlenmiştir.

Çanakkale ZYMV izolatlarının CP gen bölgelerine göre nt dizilimleri kendi içlerinde ve dünyadaki diğer izolatlar ile benzerlik oranları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda ZYMV9 (Çan), ZYMV10 (Çan) ve ZYMV29 (Gelibolu) kodlu izolatlar nükleotit dizilim benzerlik oranları kendileri arasında karşılaştırıldığında %99-100 aralığında değişen yüksek benzerlik oranına sahip olduğu görülmüştür. ZYMV9 ile ZYMV10 izolatları kendileri arasındaki benzerlik oranı %100 ile en yüksek benzerliğe sahip olurken ZYMV9 ile ZYMV29 ve ZYMV10 ile ZYMV29 izolatları arasındaki benzerlik oranı %99 olmuştur.

Çalışmadan elde edilen Çanakkale izolatların dünyadaki diğer izolatların nt dizilimleri ile karşılaştırıldığında benzerlik oranları %83-100 arasında değişen oranlarda olduğu görülmüştür. En fazla %99- 100 oranında benzerlik gösterdikleri izolatların sırasıyla gen bankasındaki erişim numaraları AJ420015, AJ420017, (Avusturya) KP872561 (Türkiye) AJ251527 (Macaristan) ve AJ420018 (Slovenya) kodlu izolatlar olurken, en az %83 oranında benzerlik gösterdikleri izolatın ise MF100845 erişim numarasına sahip Çin izolatı olduğu görülmüştür.

Çanakkale ZYMV izolatlarının kılıf protein (CP) geninin amino asit dizilimlerine göre kendi aralarında ve dünyadaki diğer ZYMV izolatları ile çoklu amino asit karşılaştırılması sonucunda; izolatların kendileri aralarındaki amino asit dizilimleri temelinde göstermiş oldukları benzerlik oranları %100 olurken, bu izolatların ulusal ve uluslararası izolatlar ile göstermiş oldukları benzerlik oranları ise %89 ile %100 arasında değişen oranlarda olmuştur.



WMV izolatlarının kılıf protein nükleotit dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik soyağacı 3 ana gruptan oluşmuştur. Filogenetik ağaçta birinci grupta iki alt grup oluşurken ilk alt grupta daha önceden gen bankasına yüklenen 4 Türkiye izolatı ikinci alt grupta ise bu çalışmada elde edilen iki Çanakkale izolatları (WMV-78 ve WMV-88) yer almıştır. İkinci grup ise kendi içinde çok fazla sayıda alt grup oluşturmuştur. Bu grup içinde yine daha önceden gen bankası veri tabanına yüklenen ve farklı alt gruplarda yer alan 6 Türkiye izolatı yer alırken, tek Çanakkale izolatı (WMV-47) farklı bir alt grupta yer almıştır. Üçüncü grupta ise bu çalışmadan elde edilen bir Çanakkale izolatının (WMV-10) dışında başka bir Türk izolatı yer almamıştır.

ZYMV izolatlarının kılıf protein geni nükleotit dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik soyağacı 4 ana gruptan oluşmuştur. İlk ana grupta daha önceden ülkemizden elde edilen iki Türk izolatı ve dünya izolatları yer almıştır. İkinci ana grupta bu çalışma kapsamında yer alan üç Çanakkale ZYMV9, ZYMV10 ve ZYMV29 ve bir Türk izolatının yakın ilişkili olduğu ve aynı grupta yer aldığı görülmüştür. Ayrıca ikinci grupta birçok dünya izolatının ve bir Türk izolatının yer aldığı görülmüştür. Dünya ZYMV izolatların oluşturduğu üçüncü ana grupta ise yine birçok dünya izolatı ve bir Türk izolatı yer almıştır.

Kabakgil üretim alanlarında kaliteyi ve kantiteyi düşüren birçok bitki koruma sorununun olduğu bilinmektedir. Bu sorunlar arasından en önemlisi etkin bir mücadele yönteminin olmamasından dolayı virüs hastalıklarıdır. Kabakgil üretimini etkileyen iki önemli virüs, zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) ve watermelon mosaic virus (WMV), erken dönemde bitkiyi enfekte ederse neredeyse %100 verim kayıplarına sebep olmaktadır. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada bu virüslerin varlığı ve yaygınlık durumu belirlenmiştir. Bu nedenle virüs hastalıklarının hızlı ve güvenilir tanısı ve buna bağlı olarak uygulanacak mücadele yöntemlerinin belirlenmesi üretimdeki zararları en aza indirmek açısından önem arz etmektedir.

Çanakkale ilinde kabakgil bitkilerinde potyvirusler ile ilgili bir veri bulunmamaktadır. Bu çalışma ile bu ilin WMV ve ZYMV etmenlerinin enfeksiyon oranları belirlenmiştir. Ayrıca yapılan çalışma kapsamında WMV ve ZYMV'nin kılıf protein geni düzeyinde

moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Çanakkale WMV ve ZYMV izolatları hem ülkemiz hem de dünyadaki diğer izolatlar ile karşılaştırılarak etmenlerin genetik çeşitlilikleri hakkında da veriler elde edilmiştir.

Bu çalışma kapsamında iki önemli virüsün 7 izolatının kılıf protein gen bölgesine göre moleküler karakterizasyon yapılmıştır. Bundan sonraki çalışmalarda kılıf protein geni dışındaki diğer genler hatta virüsün tüm genom dizi analizleri sekanslanarak ülkemize özgü izolatlara ait tüm genom bilgileri ortaya çıkarılmalı ve bilim camiasının hizmetine sunulmalıdır.

Bu çalışma ilerleyen dönemlerde yapılacak olan başka çalışmalar için önemli bir ön çalışma niteliğindedir. Bundan sonra bu çalışmalara ilaveten virüs-vektör ilişkileri, dayanıklılık çalışması vb. gibi çalışmalar da yapılarak virüslerin kontrolüne yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesi öncelikli konular arasında yer almalıdır.

## KAYNAKÇA

- Abd El-Aziz, M. (2020). "The Importance of Potato virus Y Potyvirus". *Journal of Plant Science and Phytopathology*, 4, 9-17.
- Adams, M.J., Antoniw, J.F. ve Fauquet, C.M. (2005). "Molecular criteria for genus and species discrimination within the family potyviridae". *Archives of Virology*, 150, 459-479.
- Afechtal, M., Mounir, M., Minafra, A., Saldarelli, P. ve Kubaa, R. A. (2019). "First report on the occurrence of grapevine rupestris stem pitting-associated virus in Moroccan grapevines". *Journal of Plant Pathology*, 101, 405-405.
- Ali, A., Mohammad, O. ve Khattab, A. (2012). "Distribution of viruses infecting cucurbit crops and isolation of potential new virus-like sequences from weeds in Oklahoma". *Plant Disease*, 96(2), 243-248.
- Alonso-Prados J.L., Luis-Arteaga M., Alvarez J.M., Moriones E., Batlle A., Lavina A., Garcia-Arenal F. ve Fraile A. (2003). "Epidemics of aphid-transmitted viruses in melon crops in Spain". *European Journal of Plant Pathology*, 109(2), 129-138.
- Al-Saleh, M.A. ve Al-Shahwan, I.M. (1997). "Viruses infecting cucurbits in Riyadh, Gassim and Hail regions of Saudi Arabia". *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, 15(1), 223-254.
- Altınay, N. (2017). Tekirdağ ilinde bazı kabakgöl türlerinde virüs enfeksiyonlarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Anthony-Johnson, A.M., Vidya, T., Papaiah, S., Srinivasulu, M., Mandal, B. ve Sai Gopal, D.V.R. (2013). "First report of Zucchini yellow mosaic virus infecting gherkin (*Cucumis anguria*) in India". *Indian Journal of Virology*, 24, 289-290.
- Askora, A., Ali, R., Galal, A. ve El-didamony, G. (2023). "Biological and serological characteristics of zucchini yellow mosaic virus isolated from *Cucurbita pepo* from Egypt". *Bulletin of Faculty of Science-Zagazig University*, 1, 121-133.

- Bassett., M.J. (1986). Breeding vegetable crops. The Avı Puplishing Company Inc, Vegatable Cropc Departmet University of Florida Gainesville, Florida.
- Chinnadurai, C., Kollam, M., Ramsuhag, A. ve Jayaraman, J. (2021). Genome characterization of zucchini yellow mosaic virus infecting cucurbits reveals the presence of a new genotype in Trinidad and Tobago in the Caribbean region. Archives of Virology, 166(6), 1661-1669.
- Çat, A., Yardımcı, N. ve Kılıç, H.Ç. (2016). “Antalya ili ve ilçelerindeki örtüaltı hıyar (*Cucumis sativus* L.) ve kabak (*Cucurbita pepo* L.) üretim alanlarında viral etmenlerin saptanması”. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 20(1), 129-132.
- Davis, R.F. ve Mizuki, M.K. (1987). “Detection of cucurbit viruses in New Jersey”. Plant Disease, 71(1), 40-44.
- Decoteau (2000). Vegetable Crops. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 16, 109-126.
- Desbiez, C., Verdin, E., Moury, B., Lecoq, H., Millot, P., Wipf-Scheibel, C. ve Huseynova, I. (2019). “Prevalence and molecular diversity of the main viruses infecting cucurbit and solanaceous crops in Azerbaijan”. European Journal of Plant Pathology, 153, 359-369.
- Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., Granier, F., Robaglia, C., Delaunay, T. ve Lecoq, H. (1996). “Biological and molecular variability of zucchini yellow mosaic virus on the island of Martinique”. Plant Disease, 80(2), 203-207.
- Dikici, S. (2019). Uşak ilinde bazı kabakgillerde karpuz mozaik virüsü (WMV)’nün serolojik yöntemle belirlenmesi ve biyolojik indeksleme çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi. Uşak Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Uşak.
- Dikici, S. ve Tarla G. (2020). “Determination of watermelon mosaic virus (WMV-2) by serological methods and biological index studies in some cucurbits in Uşak”. International Journal of Engineering Science Invention, 9(12), 12-15.
- Dukić, N., Krstić, B., Vico, I., Berenji, J. ve Duduk, B. (2006). “First report of zucchini yellow mosaic virus, watermelon mosaic virus, and cucumber mosaic virus in bottlegourd (*Lagenaria siceraria*) in Serbia”. Plant Disease, 90(3), 380-380.

FAOSTATS, (2021). <https://www.fao.org/faostat/en/#home> (Erişim Tarihi: 31.03.2023).

FAOSTATS, (2022). <https://www.fao.org/faostat/en/#home> (Erişim Tarihi: 31.03.2023).

Félix-Gastélum, R., Magallanes-Tapia, M.A., Méndez-Lozano, J., Huet, H., Trigueros-Salmerón, J.Á. ve Longoria-Espinoza, R.M. (2007). “Detección del virus mosaico amarillo de la calabaza zucchini (ZYMV) y su coinfección con otros virus en cucurbitáceas cultivadas y plantas silvestres en el valle del fuerte, Sinaloa, México”. *Revista Mexicana De Fitopatología*, 25(2), 95-101.

Gara, I., Kondo, H., Maeda, T., Tamada, T. ve Inouye, N. (1997). “*Calanthe* mild mosaic virus, a new potyvirus from calanthe orchid”. *Journal of Phytopathology*, 63(3), 266.

Gara, I.W., Kondo, H., Maeda, T., Inouye, N. ve Tamada, T. (1997). “Stunt disease of *Habenaria radiata* caused by a strain of watermelon mosaic virus 2. Japanese” *Journal of Phytopathology*, 63(2), 113-117.

Gastelum-Felix, R., Magallanes-Tapia, M., Méndez-Lozano, J., Huet, H., Trigueros Salmeron, J. ve Longoria Espinoza, R. M. (2007). “Detection of zucchini yellows mosaic virus (ZYMV) and its coinfection with other virus in cultivated cucurbitaceae and wild plants in Fuerte Valley, Sinaloa, Mexico”. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 25, 95-101.

Gonsalves, D. (1998). “Control of papaya ringspot virus in papaya: a case study”. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1), 415-437.

Hari, V. (1981). “The RNA of tobacco etch virus: further characterization and detection of protein linked to RNA”. *Virology*, 112(2), 391-399.

Hseu, S.H., Huang, C.H., Chang, C.A., Yang, W.Z., Chang, Y.M. ve Hsiao, C.H. (1987). “The occurrence of five viruses in six cucurbits in Taiwan”. *Plant Protection Bulletin, Taiwan*, 29(3), 233-244.

Inoue-Nagata, A.K., Jordan, R., Kreuze, J., Li, F., Mäkinen, K. ve Wylie, S.J. (2022). “ICTV virus taxonomy profile: Potyviridae”. *Journal of General Virology*, 103(5), 1-2.

Kadioğlu, İ. (2012). “Türkiye Tarımında Bitki Koruma ve Bazı Güncel Yaklaşımların Değerlendirilmesi”. *Ziraat Mühendisliği*, 359, 18-25.

- Karakurt, M.Y. (2015). İstanbul ilinde karpuz ekim alanlarında cucumber mosaic virus (CMV) ve zucchini yellow Mosaic virus (ZYMV)'nin yaygınlıklarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Karamanlı, A. ve Kamberoğlu, M.A. 2007. “Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (KKTC)’nde kabakgil yetiştirilen alanlarda hıyar mozayik virüsü (cucumber mosaic virus, CMV) ve kabak sarı mozayik virüsü (zucchini yellow mosaic virus, ZYMV)’nün surveyi”. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 22(3), 66-77.
- Karanfil, A. ve Korkmaz, S. (2021). “Güney Marmara Bölgesi kabakgil üretim alanlarında cucumber mosaic virus enfeksiyonunun tespiti ve kılıf protein gen diziliminin filogenetik analizi”. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 58(2), 239-246.
- Katul, L. ve Makkouk, K.M. (1987). “Occurrence and serological relatedness of five cucurbit potyviruses in Lebanon and Syria”. *Phytopathologia Mediterranea*, 26(1), 36–42.
- Khanal, V., Wells, H. ve Ali, A. (2021). “High prevalence of three potyviruses infecting cucurbits in Oklahoma and phylogenetic analysis of cucurbit aphid-borne yellows virus isolated from pumpkins”. *Pathogens*, 10(1), 53.
- Korkmaz, F., Topkaya, Ş. ve Yanar, Y. (2018). “Tokat Kabakgil üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi”. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 7(2), 46-56.
- Köklü, G. ve Yılmaz, Ö. (2006). “Occurrence of cucurbit viruses on field-grown melon and watermelon in the Thrace region of Turkey”. *Phytoprotection*, 87(3), 123-130.
- Kumari, S., Krishnan, N., Dubey, V., Das, B., Pandey, K.K. ve Singh, J. (2021). “Investigations on annual spreading of viruses infecting cucurbit crops in Uttar Pradesh State, India”. *Scientific Reports*, 11(1), 1-17.
- Kütevin ve Türkeş (1985). *Sebzecilik. İnkılap Kitapevi*.
- Lecoq, H. ve Desbiez, C. (2012). “Viruses of cucurbit crops in the Mediterranean region: an ever-changing Picture”. *Advances in Virus Research*, 84, 67-126.

- Lee, H.J., Cho, I.S. ve Jeong, R.D. (2022). "First report of zucchini yellow mosaic virus infecting bitter melon (*Momordica charantia*) in South Korea". *Plant Disease*, 106(11), 3003.
- Li, R., Mock, R., Huang, Q., Abad, J., Hartung, J. ve Kinard, G. (2008). "A reliable and inexpensive method of nucleic acid extraction for the PCR-based detection of diverse plant pathogens". *Journal of Virological Methods*, 154(1-2), 48-55.
- Lisa, V., Boccardo, G., D'Agostino, G., Dellavalle, G. ve d'Aquilio, M. (1981). "Characterization of a potyvirus that causes zucchini yellow mosaic". *Phytopathology*, 71(7), 667-672.
- Luis-Arteaga, M., Alvarez, J.M., Alonso-Prados, J.L., Bernal, J.J., García-Arenal, F., Laviña, A. ve Moriones, E. (1998). "Occurrence, distribution, and relative incidence of mosaic viruses infecting field-grown melon in Spain". *Plant Disease*, 82(9), 979-982.
- Malandraki, I., Vassilakos, N., Xanthis, C., Kontosfiris, G., Katis, N. I. ve Varveri, C. (2014). "First report of Moroccan watermelon mosaic virus in zucchini crops in Greece". *Plant Disease*, 98(5), 702-702.
- Matthews, R.E.F. ve Hull, R. (2002). *Matthews' plant virology*. Gulf professional publishing.
- Moradi, Z. (2011). "Diagnosis and molecular variability of Watermelon mosaic virus isolates from north, east, north-east and north-west regions of Iran". *Asian Journal of Plant Pathology*, 5(3), 115-125.
- Muhire, B.M., Varsani, A. ve Martin, D.P. (2014). "SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation". *PloS One*, 9(9), e108277.
- Nasr-Eldin, M.A., Abdelkader, H.S., Abo-Senna, A.S. ve Othman, B.A. (2016). "Characterization and phylogenetic analysis of zucchini yellow mosaic virus infecting *Cucurbita pepo* in Egypt". *Journal of American Science*, 12(3), 93-104.
- Nematollahi, S., Panahborhani, N. ve Koolivand, D. (2021). "Molecular characterization and population evolution analysis of watermelon mosaic virus isolates on cucurbits of Northwest Iran". *3 Biotech*, 11, 1-10.

- Nigam, D., LaTourrette, K., Souza, P.F. ve Garcia-Ruiz, H. (2019). "Genome-wide variation in potyviruses". *Frontiers in Plant Science*, 10, 1439.
- Oerke, E.C. (2006). "Crop losses to pests". *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43.
- Örs, F. (2018). Malatya ili kavun ekiliş alanlarında görülen bazı önemli virüs hastalıklarının moleküler yöntemlerle araştırılması ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Paris, H.S., 1986. "A proposed subspecific classification for *Cucurbita pepo*". *Phytologia*, 61, 133–138.
- Provvidenti, R., Gonsalves, D. ve Humaydan, H.S. (1984). Occurrence of zucchini yellow mosaic virus in cucurbits from Connecticut, New York, Florida and California. *Plant Disease*, 68(5), 443-446.
- Rabadán, M. P., Juárez, M. ve Gómez, P. (2023). "Long-term monitoring of aphid-transmitted viruses in melon and zucchini crops: Genetic diversity and population structure of cucurbit aphid-borne yellows virus and watermelon mosaic virus". *Phytopathology*, <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-22-0394-V>.
- Raccah, B. (1999). "Epidemiology and control of cucurbit viruses in Israel". *1. Israeli-Turkish Workshop "Detection of virus diseases by advanced techniques and control, 22–29 August 1999, Çukurova University, Adana, 46-56.*
- Radeva-Ivanova, V., Pasev, G., Lyall, R., Angelov, M., Nankar, A.N. ve Kostova-Protochristova, D. (2022). "First report of Cucurbit aphid-borne yellows virus causing yellowing disease on pumpkin (*Cucurbita pepo*) and cucumber (*Cucumis sativus*) in Bulgaria". *Plant Disease*, 106(9), 2538.
- Rajamäki, M.L. ve Valkonen, J.P. (2002). "Viral genome-linked protein (VPg) controls accumulation and phloem-loading of a potyvirus in inoculated potato leaves". *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15(2), 138-149.
- Revers, F. ve García, J.A. (2015). "Molecular biology of potyviruses". *Advances in Virus Research*, 92, 101-199.
- Robinson, R.W. ve Decker-Walters, D.S. (1997). *Cucurbits*. Cab international.



- Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J.N. ve Hollier, C. (2012). "Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security". *Food Security*, 4(4), 519-537.
- Sharifi, M., Massumi, H., Heydarnejad, J., Hosseini Pour, A., Shaabani, M. ve Rahimian, H. (2008). "Analysis of the biological and molecular variability of watermelon mosaic virus isolates from Iran". *Virus Genes*, 37, 304-313.
- Sharma, P. (2023). "Epidemiology of potyviruses infecting crops of Cucurbitaceae". In *Plant RNA Viruses*, 213-227.
- Shukla, D.D., Frenkel, M.J. ve Ward, C.W. (1991). "Structure and function of the potyvirus genome with special reference to the coat protein coding region". *Canadian Journal of Plant Pathology*, 13(2), 178-191.
- Strange, R.N. ve Scott, P.R. (2005). "Plant disease: a threat to global food security". *Annual Review of Phytopathology*, 43, 83-116.
- Sydanmetsa, M. ve Mbanzibwa, D.R. (2016). "Occurrence of Cucumber mosaic virus, zucchini yellow mosaic virus and watermelon mosaic virus in cultivated and wild cucurbits in the coastal areas of Tanzania". *African Journal of Agricultural Research*, 11(40), 4062-4069.
- Tobias, I. ve Palkovics, L. (2003). "Characterization of Hungarian isolates of zucchini yellow mosaic virus (ZYMV, potyvirus) transmitted by seeds of *Cucurbita pepo* var. *Styriaca*". *Pest Management Science*, 59(4), 493-497.
- Tomašechová, J., Olmos, A., Ruiz-Garcia, A.B., Canales, C., Mrkvová, M. ve Glasa, M. (2022). "First report of Cucumis melo endornavirus infecting Cucurbitaceae plants in Slovakia". *Journal of Plant Pathology*, 104(3), 1179-1180.
- Topkaya, S., Desbiez, C. ve Ertunc, F. (2019). "Presence of cucurbit viruses in Ankara and Antalya province and molecular characterization of coat protein gene of zucchini yellow mosaic virus Turkish isolates". *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(4), 2442-2449.
- Topkaya, Ş. (2020). "Kastamonu ili ve çevresinde kabakgil yetiştirilen alanlarda enfeksiyon oluşturan viral etmenlerin saptanması". *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 9(1), 65-72.

- Trkulja, V., Vasić, J., Vuković, B., Stanković, I., Vučurović, A., Bulajić, A. ve Krstić, B. (2014). "First report of watermelon mosaic virus infecting melon and watermelon in Bosnia and Herzegovina". *Plant Disease*, 98(12), 1749-1749.
- TÜİK, (2022). Tarımsal istatistikler. [www.tuik.gov.tr/](http://www.tuik.gov.tr/) (Erişim Tarihi: 28.10.2022).
- Verma, R. K., Mishra, M., Marwal, A. ve Gaur, R. K. (2020). "Identification, genetic diversity and recombination analysis of Watermelon Mosaic Virus isolates". *3 Biotech*, 10(6), 257.
- Vučurović, A., Bulajić, A., Stanković, I., Ristić, D., Berenji, J., Jović, J. ve Krstić, B. (2012). "Non-persistently aphid-borne viruses infecting pumpkin and squash in Serbia and partial characterization of zucchini yellow mosaic virus isolates". *European Journal of Plant Pathology*, 133, 935-947.
- Webb, R.E. ve Scott, H.A. (1965). "Isolation and identification of watermelon mosaic viruses 1 and 2". *Phytopathology*, 55(8), 895-900.
- Whitaker, T.W. ve Bemis, W.P. (1975). "Origin and evolution of the cultivated Cucurbita". *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 362-368.
- Xu, Z. ve Chang, L. (2017). "Cucurbitaceae". *Identification and Control of Common Weeds*, 3, 417-432.
- Yawalkar, K. S. (1985). "Cucurbitaceous or vine crops". *Vegetable Crops of India*, 150-158.
- Yeşil, S. (2021). "Detection and molecular characterization of viruses infecting edible seed squash in Turkey". *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(5), 1341-1355.
- Yeşil, S. ve Ertunç, F. (2012). "Bitki Virüsleriyle Mücadelede Yeni Stratejiler: Virüs Enfeksiyonlarına ve Vektörlerine Karşı Dayanıklılığın Geliştirilmesi". *Journal of the Institute of Science and Technology*, 2(4), 19-28.
- Yılmaz, E., (2010). Edirne İli Sebze Üretim Alanlarındaki Virüs Hastalıklarının Saptanması Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Yılmaz, M.A., Lecoq, H., Abak, K., Baloğlu, S. ve Sarı, N. (1992). "Türkiye'de Kabakgil Sebze Türlerinde Zarar Yapan Virüsler". *Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi* 13-16 Ekim 1992, Ege Üniversitesi, İzmir, 439-442.

Zouba, A.A., Khan, A. J., Lopez, M. ve Al-Maqbaly, Y.M. (1997). “Survey of virus diseases of cucurbits in the Batinah region of the Sultanate of Oman”. Arab Journal of Plant Protection, 15(1), 43-46.



## EKLER

### EK 1

#### Tez Çalışması Kapsamında Toplanılan Örneklere Ait Bilgiler

Örnek Numarası	Konukçu	Alındığı yer	Alındığı tarih	Sonuç		
				WMV	ZYMV	WMV+ZYMV
1	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
2	Kavun	Eceabat	30.09.2021	-	-	+
3	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
4	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
5	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
6	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
7	Kavun	Eceabat	30.09.2021	-	-	+
8	Kavun	Eceabat	30.09.2021	-	-	-
9	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
10	Kavun	Eceabat	30.09.2021	-	-	-
11	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
12	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
13	Kavun	Eceabat	30.09.2021	-	-	-
14	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
15	Kavun	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
16	Bal Kabağı	Eceabat	30.09.2021	+	-	-

**EK-1'in devamı**

Örnek Numarası	Konukçu	Alındığı yer	Alındığı tarih	Sonuç		
				WMV	ZYMV	WMV+ZYMV
17	Bal Kabağı	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
18	Bal Kabağı	Eceabat	30.09.2021	-	-	-
19	Bal Kabağı	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
20	Bal Kabağı	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
21	Bal Kabağı	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
22	Bal Kabağı	Eceabat	30.09.2021	-	-	-
23	Karpuz	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
24	Karpuz	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
25	Karpuz	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
26	Karpuz	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
27	Karpuz	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
28	Kabak	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
29	Kabak	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
30	Kabak	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
31	Kabak	Eceabat	30.09.2021	+	-	-
32	Hıyar	Eceabat	30.09.2021	-	+	-
33	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
34	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	-	-	-
35	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	+	-	-
36	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	+	-	-

**EK-1'in devamı**

Örnek Numarası	Konukçu	Alındığı yer	Alındığı tarih	Sonuç		
				WMV	ZYMV	WMV+ZYMV
37	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
38	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	+	-	-
39	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
40	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	+	-	-
41	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
42	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	+	-	-
43	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	-	-	-
44	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	+	-	-
45	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
46	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
47	Kabak	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
48	Bal Kabağı	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
49	Bal Kabağı	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
50	Kavun	Gelibolu	30.09.2021	-	-	+
51	Acur	Merkez	29.09.2021	+	-	-
52	Acur	Merkez	29.09.2021	-	-	+
53	Acur	Merkez	29.09.2021	-	-	+
54	Acur	Merkez	29.09.2021	-	-	+
55	Su Kabağı	Merkez	13.08.2021	+	-	-
56	Su Kabağı	Merkez	13.08.2021	-	-	+

**EK1'in devamı**

Örnek Numarası	Konukçu	Alındığı yer	Alındığı tarih	Sonuç		
				WMV	ZYMV	WMV+ZYMV
57	Su Kabağı	Merkez	13.08.2021	-	-	+
58	Su Kabağı	Merkez	13.08.2021	-	-	+
59	Kabak	Merkez	3.07.2021	-	-	-
60	Kabak	Merkez	3.07.2021	+	-	-
61	Kabak	Merkez	3.07.2021	+	-	-
62	Kabak	Merkez	3.07.2021	+	-	-
63	Kabak	Merkez	3.07.2021	-	-	-
64	Kabak	Merkez	3.07.2021	+	-	-
65	Kabak	Merkez	29.09.2021	+	-	-
66	Kabak	Merkez	29.09.2021	+	-	-
67	Kabak	Merkez	29.09.2021	+	-	-
68	Kabak	Merkez	29.09.2021	+	-	-
69	Kabak	Merkez	29.09.2021	+	-	-
70	Kabak	Merkez	29.09.2021	+	-	-
71	Kabak	Merkez	29.09.2021	-	-	+
72	Kabak	Merkez	29.09.2021	+	-	-
73	Kabak	Merkez	29.09.2021	-	-	-
74	Karpuz	Merkez	29.09.2021	+	-	-
75	Karpuz	Merkez	29.09.2021	+	-	-
76	Karpuz	Merkez	29.09.2021	+	-	-

**EK-1'in devamı**

Örnek Numarası	Konukçu	Alındığı yer	Alındığı tarih	Sonuç		
				WMV	ZYMV	WMV+ZYMV
77	Karpuz	Merkez	29.09.2021	+	-	-
78	Karpuz	Merkez	29.09.2021	+	-	-
79	Kavun	Merkez	29.09.2021	+	-	-
80	Kavun	Merkez	29.09.2021	+	-	-
81	Kavun	Merkez	29.09.2021	+	-	-
82	Kavun	Merkez	29.09.2021	+	-	-
83	Bal Kabağı	Merkez	29.09.2021	-	-	+
84	Bal Kabağı	Merkez	29.09.2021	-	-	+
85	Bal Kabağı	Merkez	29.09.2021	+	-	-
86	Bal Kabağı	Merkez	29.09.2021	-	-	+
87	Bal Kabağı	Merkez	29.09.2021	-	-	+
88	Bal Kabağı	Merkez	29.09.2021	-	-	+
89	Hıyar	Merkez	29.09.2021	+	-	-
90	Hıyar	Merkez	29.09.2021	+	-	-
91	Hıyar	Merkez	29.09.2021	+	-	-
92	Bal Kabağı	Bozcaada	11.08.2021	+	-	-
93	Bal Kabağı	Bozcaada	11.08.2021	+	-	-
94	Bal Kabağı	Bozcaada	11.08.2021	+	-	-
95	Bal Kabağı	Bozcaada	11.08.2021	-	-	-
96	Bal Kabağı	Bozcaada	11.08.2021	+	-	-



**EK-1'in devamı**

Örnek Numarası	Konukçu	Alındığı yer	Alındığı tarih	Sonuç		
				WMV	ZYMV	WMV+ZYMV
97	Bal Kabağı	Bozcaada	11.08.2021	+	-	-
98	Bal Kabağı	Bozcaada	11.08.2021	-	-	-
99	Bal Kabağı	Bozcaada	11.08.2021	-	-	-
100	Bal Kabağı	Bozcaada	11.08.2021	+	-	-
101	Kavun	Çan	29.09.2021	+	-	-
102	Kavun	Çan	29.09.2021	-	-	+
103	Kavun	Çan	29.09.2021	-	-	+
104	Bal Kabağı	Çan	29.09.2021	+	-	-
105	Bal Kabağı	Çan	29.09.2021	+	-	-
106	Bal Kabağı	Çan	29.09.2021	+	-	-
107	Bal Kabağı	Çan	29.09.2021	+	-	-
108	Bal Kabağı	Çan	29.09.2021	+	-	-
109	Bal Kabağı	Çan	29.09.2021	-	-	+
110	Bal Kabağı	Çan	29.09.2021	+	-	-
111	Bal Kabağı	Çan	29.09.2021	-	-	+
112	Kabak	Çan	29.09.2021	-	-	+
113	Kabak	Çan	29.09.2021	+	-	-
114	Kabak	Çan	29.09.2021	-	-	+
115	Kabak	Çan	29.09.2021	-	-	+
116	Kabak	Çan	29.09.2021	+	-	-

**EK-1'in devamı**

Örnek Numarası	Konukçu	Alındığı yer	Alındığı tarih	Sonuç		
				WMV	ZYMV	WMV+ZYMV
117	Kabak	Çan	29.09.2021	+	-	-
118	Kabak	Çan	29.09.2021	-	-	+
119	Kabak	Çan	29.09.2021	-	-	+
120	Karpuz	Çan	29.09.2021	-	-	+
121	Karpuz	Çan	29.09.2021	+	-	-
122	Karpuz	Çan	29.09.2021	-	-	+
123	Karpuz	Çan	29.09.2021	+	-	-
124	Karpuz	Çan	29.09.2021	-	-	+
125	Bal Kabağı	Lapseki	29.09.2021	-	-	+
126	Bal Kabağı	Lapseki	29.09.2021	-	-	+
127	Bal Kabağı	Lapseki	29.09.2021	+	-	-
128	Kabak	Lapseki	29.09.2021	+	-	-
129	Kabak	Lapseki	29.09.2021	+	-	-
130	Karpuz	Lapseki	29.09.2021	-	-	-
131	Karpuz	Lapseki	29.09.2021	-	-	-
132	Hıyar	Biga	29.09.2021	-	-	-
133	Hıyar	Biga	29.09.2021	-	-	-
134	Hıyar	Biga	29.09.2021	+	-	-
135	Kabak	Biga	29.09.2021	-	-	+
136	Karpuz	Bayramiç	29.09.2021	-	-	-

**EK-1'in devamı**

Örnek Numarası	Konukçu	Alındığı yer	Alındığı tarih	Sonuç		
				WMV	ZYMV	WMV+ZYMV
137	Karpuz	Bayramiç	29.09.2021	-	-	-



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

İsim SOYİSİM

Doğum Yeri

Doğum Tarihi

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi :

Önlisans Öğrenimi :

Bildiği Yabancı Diller :

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar

b) Bildiriler

c) Katıldığı Projeler

### İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: -

### İLETİŞİM

E-posta Adresi :

ORCID :