

**T.C.**  
**MALATYA TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**DİYARBAKIR İLİ DOMATES ÜRETİM ALANLARINDAKİ BAZI**  
**VİRÜSLERİN MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE ARAŞTIRILMASI VE**  
**VİRÜS İZOLATLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

**FEYZULLAH YILMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**TEMMUZ 2019**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

**Tezin başlığı:** Diyarbakır İli Domates Üretim Alanlarındaki Bazı Virüslerin Moleküler Yöntemler ile Araştırılması ve Virüs İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu

**Tezi Hazırlayan:** Feyzullah YILMAZ

**Sınav Tarihi:** 26.07.2019

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Bitki Koruma Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Sınav Jüri üyeleri

**Tez Danışmanı:** Prof. Dr. Hikmet Murat SİPAHİOĞLU

Malatya Turgut Özal Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi H. Diğdem OKSAL

Malatya Turgut Özal Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa USTA

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

Prof. Dr. Elif APOHAN

**Enstitü Müdür**

## ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans olarak sunduğum ‘Diyarbakır İli Domates Üretim Alanlarındaki Bazı Virüslerin Moleküler Yöntemler ile Araştırılması ve Virüs İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu’ başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksınız tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım tüm kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde belirttiğimi onurumla doğrularım.

Feyzullah YILMAZ

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### **DİYARBAKIR İLİ DOMATES ÜRETİM ALANLARINDAKİ BAZI VİRÜSLERİN MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE ARAŞTIRILMASI VE VİRÜS İZOLATLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Feyzullah YILMAZ

Malatya Turgut Özal Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı

49 +xiv Sayfa

2019

Danışman: Prof. Dr. Hikmet Murat SİPAHİOĞLU

Diyarbakır ili domates üretim alanlarında Domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüsü (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV), Patates Y virüsü (*Potato virus Y*, PVY), Domates mozaik virüsü (*Tomato mosaic virus*, ToMV), Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) ve Domates halkalı leke virüsü (*Tomato ringspot virus*, ToRSV)'nün belirlenmesi amacıyla 2018 yılında survey çalışmaları yürütülmüştür. TYLCV'nin varlığını araştırmak için PCR yöntemi, PVY ve ToMV'nin varlığını araştırmak için Multipleks RT-PCR yöntemi, TSWV ve ToRSV'nin varlığını araştırmak için ise RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Domates üretim alanlarında virüs belirtisi gösteren ve göstermeyen toplam 278 adet yaprak örneği rastgele toplanmıştır. Moleküler yöntemler ile testlenen örneklerin 56 (%20.1)'sının virüs ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Testlenen örneklerin 41'inin ToMV (%14.7), 21'nin PVY (%7.6) ve 6'sının ise ToMV+PVY (%2.2) ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Çalışma kapsamında yürütülen moleküler testler sonucunda domates örneklerinde TYLCV, TSWV ve ToRSV enfeksiyonları tespit edilmemiştir. Diyarbakır ili domates üretim alanlarında tespit edilen PVY ve ToMV izolatlarından 4'er tanesi rastgele seçilerek kılıf protein genleri karakterize edilmiş ve Gen bankası kayıtları yapılmıştır. ToMV izolatları dünyadaki diğer izolatlar ile nükleotit düzeyinde %99-100 arasında benzerlik gösterirken, PVY izolatları %88-99 arasında

değişen oranda benzerlik göstermiştir. Yürütülen bu çalışma ile ToMV ve PVY Diyarbakır ili domates üretim alanlarında ilk defa rapor edilmiştir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Diyarbakır, Domates, Virüs, Multipleks RT-PCR, Moleküler Karakterizasyon



## ABSTRACT

M. Sc. Thesis

### INVESTIGATION OF SOME VIRUSES IN TOMATO PRODUCTION AREAS OF DIYARBAKIR PROVINCE BY MOLECULAR METHODS AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME VIRUS ISOLATES

Feyzullah YILMAZ

Malatya Turgut Özal University

Institute of Graduate Studies

Department of Plant Protection

49 + xiv pages

2019

Supervisor: Prof. Dr. Hikmet Murat SİPAHİOĞLU

Survey studies were conducted to determine the presence of *Tomato yellow leaf curl virüs* (TYLCV), *Potato virus Y* (PVY), *Tomato mosaic virüs* (ToMV), *Tomato spotted wilt virüs* (TSWV) and *Tomato ringspot virüs* (ToRSV) in tomato production areas of Diyarbakır province in the year 2018. PCR method was implemented to investigate the presence of TYLCV, Multiplex-RT-PCR method to PVY and ToMV infections, and RT-PCR method was implemented to investigate the presence of TSWV and ToRSV in tomato samples. A total of 278 leaf samples with and without virus symptoms were randomly collected in tomato production areas. It was determined that 56 (20.1%) of the samples tested by molecular methods were infected with at least one virus. Of the samples tested, 41 were infected with ToMV (14.7%), 21 were infected with PVY (7.6%) and 6 were contained mix infections with ToMV + PVY (2.2%). TYLCV, TSWV and ToRSV infections were not detected in the tomato samples. Four of PVY and four of ToMV isolates were randomly selected, coat protein genes were characterized, and their nucleotide sequences were recorded in GenBank. ToMV Diyarbakır isolates showed 99-100%

similarity with other isolates in the world, while PVY isolates showed similarity between 88-99%. With this study, ToMV and PVY were reported for the first time in tomato production areas in Diyarbakır.

**KEYWORDS:** Diyarbakır, Tomato, Virus, Multiplex RT-PCR, Molecular Characterization



## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmamda bilgisi ile bana yol gösteren çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Hikmet Murat SİPAHİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Çalışmaların yürütülmesi sırasında sürvey çalışmalarımnda yardımcı olan değerli arkadaşım Ziraat mühendisi Behzat GÜLER'e çok teşekkür ederim.

Feyzullah YILMAZ





## İÇİNDEKİLER

ONUR SÖZÜ .....	i
ÖZET .....	ii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜRLER .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	7
2.1. Domates Virüsleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	7
2.1.1. Türkiye’de domates virüsleri ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar .....	7
2.1.2. Dünya’da domates virüsleri ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar .....	8
2.2. Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus, TSWV) .....	9
2.3. Domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüsü (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) .....	11
2.4. Patates Y virüsü (Potato virus Y, PVY) .....	12
2.5. Domates halkalı leke virüsü (Tomato ringspot virus, ToRSV) .....	13
2.6. Domates mozaik virüsü (Tomato mosaic virus, ToMV) .....	15
3. MATERYAL VE METOT .....	17
3.1. Materyal .....	17
3.2. Metot .....	17
3.2.1. Arazi çalışmaları .....	17
3.2.2. Moleküler çalışmaları .....	18

3.2.2.1. Nükleik asit izolasyonu .....	18
3.2.2.1.1. RNA izolasyonu .....	18
3.2.2.1.2. DNA izolasyonu .....	19
3.2.2.2. Komplementer DNA (cDNA) sentezi.....	20
3.2.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) .....	21
3.2.2.4. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezde koşulması .....	25
3.2.2.5. DNA'nın görüntülenmesi ve analizi .....	25
3.2.2.6. DNA dizilemesi ve filogenetik analiz.....	25
3.2.2.7. DNA dizilerinin gen bankasına girilmesi.....	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	27
4.1. Arazi Çalışmaları.....	27
4.2. Moleküler Çalışmalar .....	29
4.2.1. PCR yöntemi ile testlenen örneklerin TYLCV ile enfekteli olup olmadığının tespit edilmesine dair bulgular .....	29
4.2.2. RT-PCR yöntemi ile testlenen örneklerin TSWV ve ToRSV ile enfekteli olup olmadığının tespit edilmesine dair bulgular.....	29
4.2.3. Multipleks RT-PCR yöntemi ile testlenen örneklerin ToMV ve PVY ile enfekteli olup olmadığının tespit edilmesine dair bulgular .....	31
4.2.4. Tespit edilen virus izolatlarına ait kılıf protein genlerinin moleküler karakterizasyonu .....	33
4.2.4.1. ToMV izolatlarının moleküler karakterizasyonu.....	33
4.2.4.2. PVY izolatlarının moleküler karakterizasyonu .....	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	39
6. KAYNAKLAR .....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	49

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 1.1.	2017 yılı itibari ile dünya toplam domates üretim alanı ve üretim miktarı .....	2
Şekil 1.2.	Yıllar itibariyle dünyada domates üretim alanı ve üretim miktarı .....	2
Şekil 1.3.	Dünyada ülkelere göre domates üretim miktarı .....	3
Şekil 1.4.	Türkiye’de yıllara göre domates üretim alanı ve üretim miktarı .....	3
Şekil 1.5.	Bölgelere göre domates üretim oranı.....	4
Şekil 1.6.	Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki illerde domates üretim miktarları..	4
Şekil 2.1.	TSWV virionlarının yapısı ve elektron mikroskop görüntüsü.....	10
Şekil 2.2.	TSWV’nin genom organizasyonu .....	10
Şekil 2.3.	TYLCV virionlarının elektron mikroskop görüntüsü.....	11
Şekil 2.4.	TYLCV’nin genom organizasyonu .....	12
Şekil 2.5.	PVY’nin genom organizasyonu .....	12
Şekil 2.6.	PVY virionlarının elektron mikroskop görüntüsü .....	13
Şekil 2.7.	ToRSV virionunun kılıf protein yapısı .....	14
Şekil 2.8.	ToRSV’nin genom organizasyonu .....	14
Şekil 2.9.	ToMV virionlarının yapısı ve elektron mikroskop görüntüsü .....	15
Şekil 2.10.	ToMV’nin genom organizasyonu .....	15
Şekil 3.1.	Diyarbakır ilinde sürvey gerçekleştirilen ilçeler .....	17
Şekil 4.1.	Sürvey çalışmalarının yapıldığı domates tarlaları .....	27
Şekil 4.2.	Sürvey çalışmalarında domateste gözlenen (a) yaprak ayasında şekil bozukluğu ve sarı lekelenmeler, (b) bodurluk ve gelişime geriliği belirtileri.....	27
Şekil 4.3.	Sürvey çalışmalarında domateste gözlenen (c) bodurlaşma, (d) mozaik belirtileri.....	28
Şekil 4.4.	Sürvey çalışmalarında domateste gözlenen (e) yaprak yüzeyinde kabarcıklaşma, aşağıya doğru kıvrılma ve mozaik belirtileri.....	28
Şekil 4.5.	Diyarbakır ilinden alınan domates örneklerinde TYLCV’nin varlığını tespit etmek için uygulanan PCR testinin agaroz jel görüntüsü, M: Marker (100-1000 bp), P: Pozitif Kontrol, S: Su Kontrol.....	29
Şekil 4.6.	Diyarbakır ilinden alınan domates örneklerinde TSWV’nin varlığını tespit etmek için uygulanan RT-PCR testinin agaroz jel görüntüsü, M: Marker (100-1000 bp), P: Pozitif Kontrol, S: Su Kontrol.....	30
Şekil 4.7.	Diyarbakır ilinden alınan domates örneklerinde ToRSV’nin varlığını tespit etmek için uygulanan RT-PCR testinin agaroz jel görüntüsü, M: Marker (100-1000 bp), P: Pozitif Kontrol, S: Su Kontrol.....	30
Şekil 4.8.	Diyarbakır ilinden alınan domates örneklerinde ToMV ve PVY’nin varlığını tespit etmek için uygulanan Multipleks RT-PCR testinin agaroz jel görüntüsü, M: Marker (100-1000 bp), P: Pozitif Kontrol, S: Su Kontrol .....	31
Şekil 4.9.	ToMV ile enfekteli domates bitkisi görüntüsü.....	32
Şekil 4.10.	PVY ile enfekteli domates bitkisi görüntüsü .....	32
Şekil 4.11.	ToMV ve PVY ile karışık enfekteli domates bitkisi görüntüsü.....	33

Şekil 4.12.	ToMV (DT1, DT2, DT3, DT4 izolatları) dünyada tespit edilmiş diğer ToMV izolatları ile moleküler benzerliğini gösteren filogenetik ağaç.....	34
Şekil 4.13	ToMV (DT1, DT2, DT3, DT4) izolatlarının dünyada tespit edilmiş diğer ToMV izolatları ile CLC Main Workbench 8.1 programı aracılığıyla moleküler benzerliğini gösteren 100 tekerrürlü olarak oluşturulmuş filogenetik ağaç .....	35
Şekil 4.14	PVY (DP1, DP2, DP3, DP4) izolatlarının dünyada tespit edilmiş diğer PVY izolatları ile CLC Main Workbench 8.1 programı aracılığıyla moleküler benzerliğini gösteren 100 tekerrürlü olarak oluşturulmuş filogenetik ağaç .....	36
Şekil 4.15	PVY (DP1, DP2, DP3, DP4 izolatları) kılıf protein genlerinin CLC Main Workbench 8.1 programı yardımı ile yapılmış çoklu nükleotit dizi karşılaştırması .....	38



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 1.1. Domates bitkisinin sınıflandırılması .....	1
Çizelge 3.1. Diyarbakır iline ait ilçelerden alınan örnek sayısı .....	18
Çizelge 3.2. cDNA sentezinde bir örnek için kullanılan bileşenlerin miktarı .....	21
Çizelge 3.3. cDNA sentezinde kullanılan termal döngü.....	21
Çizelge 3.4. Çalışma kapsamında araştırılan virüslerin primer dizilimleri, baz uzunlukları ve referansları.....	22
Çizelge 3.5. ToRSV ve TSWV'nin RT-PCR yöntemi ile araştırılması için kullanılan sıcaklık döngüleri.....	23
Çizelge 3.6. ToMV ve PVY'nin Multipleks RT-PCR yöntemi ile araştırılması için kullanılan sıcaklık döngüleri.....	24
Çizelge 3.7. TYLCV'nin PCR yöntemi ile araştırılması için kullanılan sıcaklık döngüleri.....	24
Çizelge 4.1. Diyarbakır ilinde sürveyler sonucu alınan örneklerde tespit edilen virüsler ve bulunma oranları .....	31
Çizelge 4.2. Nükleotit karşılaştırmasında kullanılan Gen Bankasında kayıtlı ToMV izolatlarına ait ulaşım numarası, ülke, genom yapısı ve gen uzunluğu bilgileri.....	35
Çizelge 4.3. Nükleotit karşılaştırmasında kullanılan Gen Bankasında kayıtlı PVY izolatlarına ait ulaşım numarası, ülke, genom yapısı ve gen uzunluğu bilgileri.....	37

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

$\mu$	: Mikron
$\mu\text{g}$	: Mikrogram
$\mu\text{l}$	: Mikrolitre
$\mu\text{M}$	: Mikromolar
Da	: Dalton
Dk	: Dakika
Gr	: Gram
kDa	: Kilo Dalton
Kg	: Kilogram
kb	: Kilobyte
M	: Molar
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MW	: Molekül Ağırlığı
Nm	: Nanometre
pmol	: Pikomol
U	: Ünite
V	: Volt
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat Derece

### Kısaltmalar

A	: Adenin
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AMV	: Alfalfa mosaic virus
BO	: Bulaşıklık Oranı
Bp	: Baz çifti
C	: Sitozin
CMV	: Cucumber mosaic virus
cDNA	: Komplementer Deoksiribo Nükleik asit
CP	: Kılıf protein
C1	: Replikasyon proteini ORF
C2	: Transcriptional Activator Protein ORF
C3	: Eplication Enhancer Protein ORF
C4	: C4 protein ORF
dATP	: Deoksiadenozintrifosfat

DT1	: Diyarbakır ToMV izolatı 1
DT2	: Diyarbakır ToMV izolatı 2
DT3	: Diyarbakır ToMV izolatı 3
DT4	: Diyarbakır ToMV izolatı 4
DP1	: Diyarbakır PVY izolatı 1
DP2	: Diyarbakır PVY izolatı 2
DP3	: Diyarbakır PVY izolatı 3
DP4	: Diyarbakır PVY izolatı 4
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
DNase	: Deoksiribonükleaz
dNTP	: Deoksinüklotidtrifosfat
EBS	: Enfeksiyon Bulunma Oranı
EDTA	: Ethylenediaminetetraaceticacid
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent testi
EtOH	: Etanol
FAO	: Dünya Tarım Örgütü
G	: Guanin
Gn	: Glycoprotein N
Gc	: Glycoprotein C
G1	: Glycoprotein 1
G2	: Glycoprotein 2
HCl	: Hidroklorik Asit
ICTV	: Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi
ME	: Mercaptoethanol
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum klorür
MP	: Hareket proteini (Movement protein)
Nt	: Nükleotit
ORF	: Açık okuma çerçesi (Open reading frame)
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PVY	: Potato virus Y
PVY <sup>O</sup>	: Potato virus Y, O ırkı
PVY <sup>N</sup>	: Potato virus Y, N ırkı
PVY <sup>C</sup>	: Potato virus Y, C ırkı
PVY <sup>NTN</sup>	: Potato virus Y, NTN ırkı
PLRV	: Potato leafroll virus
PVX	: Potato virüs X
rDNA	: Ribozomal DNA
RdRP	: RNA-dependent RNA polymerase
Rep,	: replication-associated protein
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RNase	: Ribo Nükleaz enzim
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı

RT	: Ters transkriptaz
RT-PCR	: Ters transkriptaz-Polimeraz zincir reaksiyonu
ssRNA	: Tek iplikli (single stranded) ribonükleik asit
T	: Timin
TAE	: Tris Asetat EDTA
Taq DNA Polimeraz	: Termo stabil DNA polimeraz enzimi
TNA	: Total Nükleik Asit
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
TYLCV	: Tomato yellow leaf curl virus
TSWV	: Tomato spotted wilt virus
ToMV	: Tomato mosaic virus
ToRSV	: Tomato ringspot virus
TBRV	: Tomato black ring virus
TAV	: Tomato aspermy virus
ToCV	: Tomato chlorosis virus
TMV	: Tobacco mosaic virus
TEV	: Tobacco etch virus
TRSV	: Tobacco ringspot virus
TRV	: Tobacco rattle virus
U	: Urasil
UTR	: Çevrilmemiş bölge
V1	: Kılıf protein ORF
V2	: Protein ORF



## 1. GİRİŞ

Domatesin anavatanı Güney Amerika'nın batı sahillerinde yüksek dağların yer aldığı bölgedir (Abak, 2010). Kültür bitkisi olarak kullanımı Peru kıyılarında başlamıştır (Günay, 1992). Şili'nin kuzeyi ve Peru arasında kalan bölgede yapılan bir çalışmada Solanaceae familyasına ait bazı yeni yabancı domates türlerinin bulunması sonucunda yeniden sınıflandırma yapılmış, domates *Solanum lycopersicum* olarak isimlendirilmiş (Çizelge 1.1) ve diğer türler de farklı isimler almışlardır (Peralta vd. 2005).

Çizelge 1.1. Domates bitkisinin sınıflandırılması

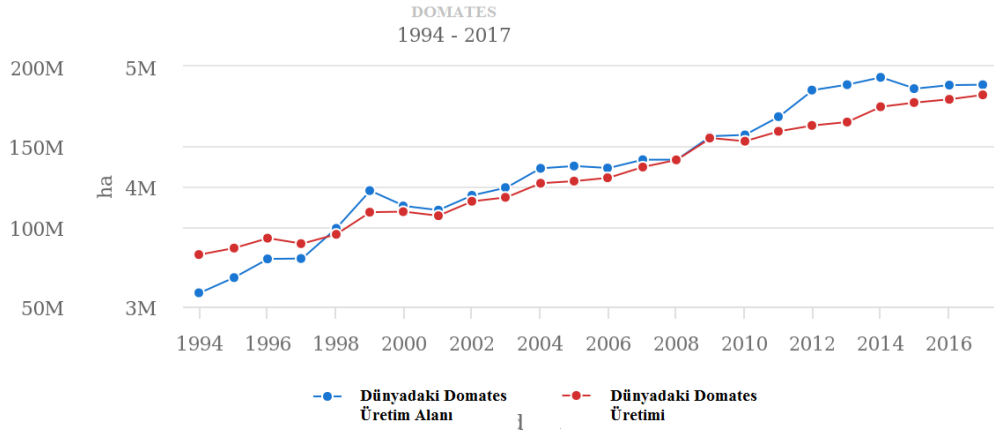
<b>Domatesin taksonomisi</b>	
Âlem	Plantae
Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Solanales
Familya	Solanaceae
Cins	<i>Solanum</i>
Tür	<i>Solanum lycopersicum</i>
<b>Sinonimleri:</b> * <i>Lycopersicon lycopersicum</i> (L.) H. Karst. * <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	

Domates, anavatanı olan Peru'dan Meksika'ya ve 16. yüzyılda İspanya'ya getirilmiştir (Diez ve Nuez, 2008). Domatesin Türkiye'ye gelişi 1770'ler civarından olduğu düşünülmektedir (Oraman, 1968; Bayraktar, 1973). Türkiye'ye getirilen domates, yaygın olarak yetiştirilen ve tüketilen bir sebze durumuna gelmiştir (Yazgan ve Fidan, 1996). Dünyada ve ülkemizde önemli bir üretim potansiyeline sahip olan domates en önemli sebzeler arasında yerini korumaktadır. Taze kullanımının yanı sıra gıda endüstrisinde konserve, turşu, ketçap ve salça gibi işlenmiş gıda ürünleri olarak da kullanılmaktadır.

Dünya Tarım Örgütü (FAO)'nün verilerine göre, 1994'ten 2017'e kadar 3.1 milyon dekar olan dünya domates üretim alanı %56 oranında artarak 4.8 milyon dekar olurken, 82 milyon ton olan üretim miktarı %120 oranında artarak 182 milyon ton'a ulaşmıştır (Şekil 1.1 ve Şekil 1.2).

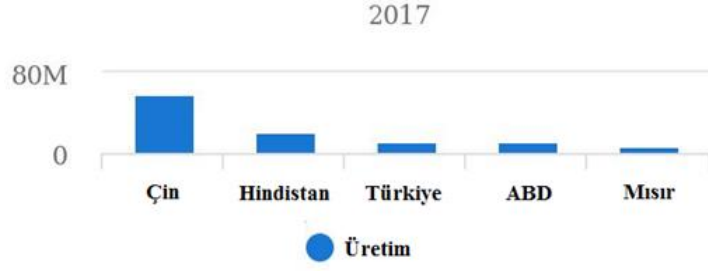


Şekil 1.1. 2017 yılı itibari ile dünya toplam domates üretim alanı ve üretim miktarı (FAO, 2018a)



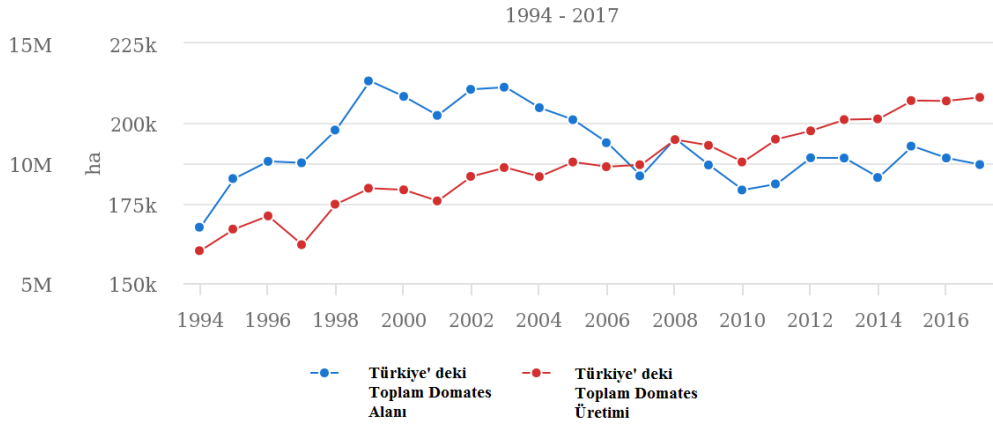
Şekil 1.2. Yıllar itibariyle dünyada domates üretim alanı ve üretim miktarı (FAO, 2018b)

FAO 2017 yılı verilerine göre Dünyada domates üretiminin en fazla yapıldığı ülke Çin olurken, ülkemiz yaklaşık 12.750 milyon ton üretimiyle Çin ve Hindistan'dan sonra 3. sırada yer almaktadır (Şekil 1.3).



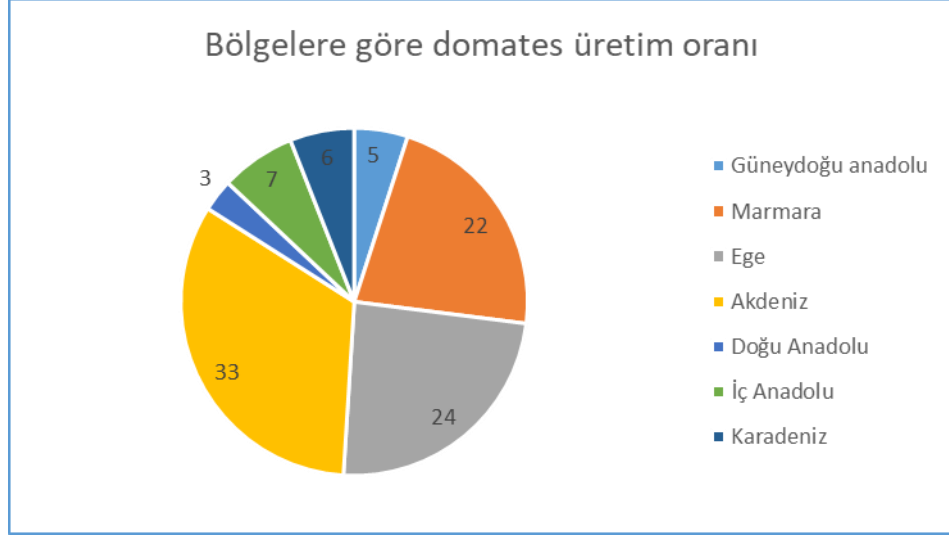
Şekil 1.3. Dünyada ülkelere göre domates üretim miktarı (FAO, 2018c)

Türkiye'nin 1994 yılındaki domates üretimi 167 bin dekar alanda 6 350 000 ton iken, üretim 2017 yılında 187 070 dekar alanda 12 750 000 tona çıkmıştır. Şekil 1.4'de görüldüğü gibi yıllara bağlı olarak domates üretim alanı düşerken dekar başına verim artmıştır (FAO, 2018d).

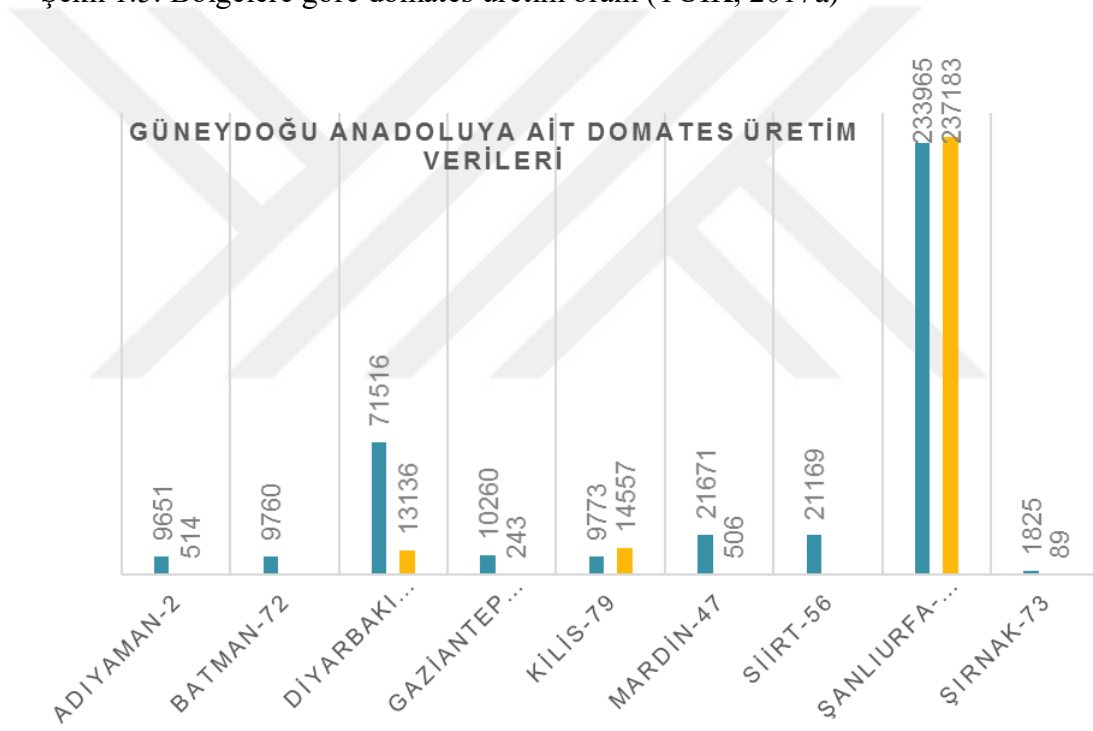


Şekil 1.4. Türkiye'de yıllara göre domates üretim alanı ve üretim miktarı (FAO, 2018e)

Türkiye'de 2017 yılı itibari ile domates üretiminin en fazla yapıldığı bölge Akdeniz bölgesi olurken, Güneydoğu Anadolu bölgesi %5 lik üretim oranıyla domates üretimine katkı sağlamaktadır (Şekil 1.5). Güneydoğu Anadolu Bölgesinde sulamanın artmasıyla birlikte domates ekim alanlarında ve verimde önemli bir artış olduğu görülmüştür. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde 2007 yılında 121 749 dekar alanda 375 bin ton domates üretimi yapılırken bu rakamlar 2017 yılında 149 711 dekar alanda 659 bin tona çıkmıştır.



Şekil 1.5. Bölgelere göre domates üretim oranı (TÜİK, 2017a)



Şekil 1.6. Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki illerde domates üretim miktarları (TÜİK, 2017b)

Diyarbakır, domates ekim alanları bakımından Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Şanlıurfa'dan sonra ikinci sırada yer almakta ve yaklaşık 29 bin dekar alanda 85 bin ton üretim yapılmaktadır (Şekil 1.6).

Tüm bu istatistiki verilere bakıldığında ülkemizde domates üretiminde bir artış görülmektedir. Ancak, ülkemizin temel besin kaynağı durumuna gelen domates

artan nüfus göz önüne alındığında daha fazla üretilmesi ve veriminin artırılması gerektiği görülmektedir.

Domates üretiminin yapıldığı alanlarda bitkinin hemen hemen tüm dönemlerinde çok sayıda fungal, bakteriyel ve viral hastalıklar çok ciddi kayıplara neden olmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de domates üretimini etkileyen en önemli hastalık etmenlerinden biri de virüslerdir. Günümüzde virüs hastalıklarına karşı kullanılan etkili herhangi bir kimyasal ilacın bulunmaması nedeni ile virüslerle mücadelede kültürel önlemler ile bitkileri virüslerden korumaya yönelik tedbirler ön plana çıkmaktadır. Virüs ve vektörlerine karşı etkili ve ekonomik bir mücadele yapılabilmesi için virüslerin ve vektörlerinin hassas moleküler tekniklerle teşhislerinin yapılması ve bunların epidemiyolojilerinin bilinmesi gerekmektedir (Erkan, 2008).

Dünyada domates yaygın bir şekilde yetiştirilmesinden dolayı birçok virüs hastalığına da maruz kalabilmektedir. Domates üretim alanlarında görülen en önemli viral hastalıklardan bazıları; Domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüsü (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV), Patates Y virüsü (*Potato virus Y*, PVY), Domates mozaik virüsü (*Tomato mosaic virus*, ToMV), Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) ve Domates halkalı leke virüsü (*Tomato ringspot virus*, ToRSV)’dür. Virüsler doğada çok yaygın olarak bulunurlar ve ekonomik olarak bitkilerde ciddi hastalıklara ve ürün kayıplarına neden olmaktadır (Wani ve Sanghera, 2010). Yapılan çalışmalarda hastalık etmeni virüslerin bitkinin enfekte olduğu döneme göre %42 ile %96 oranında zarara yol açtığı ortaya konmuştur (Şevik, 2007). Domates üretimini sınırlandıran önemli virüslerden TYLCV, domates bitkisine yaz ve sonbahar süresince enfekte olabildiği ve %100’e varan ürün kaybına neden olduğu (Labidot vd. 2001), TSWV’nin yaptığı enfeksiyonlar sonucunda bitkisel ürünlerde %42-100 arasında kayıplara neden olduğu (Rosello vd. 1996), PVY’nin dünya çapında ürün kalite ve verimini %80’e kadar azalttığı (Hämäläinen, 1997), ToRSV %95’e kadar ürün kaybına neden olduğu (Dias, 1976), ToMV’nin ise verimi %20’ye kadar düşürdüğü (Broadbent, 1976) bildirilmiştir.

Domates, Diyarbakır ilinde yaygın bir şekilde üretilmesine rağmen, üretim alanlarındaki domates virüs hastalıkları ile ilgili olarak yeterli veri mevcut değildir.

Bu alışma ile Diyarbakır ili domates alanlarındaki önemli bazı virüs hastalıkları araştırılmıştır. Domates üretiminin yoğun olarak yapıldığı ilçelerden; PVY ve ToMV Multipleks RT-PCR yöntemi, TSWV ve ToRSV RT-PCR yöntemi, TYLCV ise PCR yöntemi ile araştırılarak yaygınlık oranının belirlenmesi amaçlanmıştır. Tespit edilen bazı virüs izolatlarının filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Domates Virüsleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar

#### 2.1.1. Türkiye’de domates virüsleri ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar

Yılmaz (1995), Diyarbakır, Şanlıurfa ve Mardin illeri domates alanlarındaki virüslerin belirlenmesi için ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) yöntemini kullanmıştır. Diyarbakır ilindeki çalışmada TYLCV tespit edilirken, ToMV ve PVY’ye rastlanılmadığı bildirilmiştir.

Fidan (1995), 1992 yılında İzmir ve 1993 ile 1994 yıllarında ise Muğla da sürvey çalışması gerçekleştirmiş, alınan örnekler ELISA yöntemiyle testlenmiştir. Testleme sonucu domateste ToRSV, TBRV; biberde ToRSV; hıyarda ToRSV ve TBRV tespit ettiğini, TRSV ve TBRV’nin Türkiye için ilk kayıt olduğunu bildirmiştir.

Değirmenci (2005), yaptığı çalışmada Aydın ilinde yetiştirilen sofralık ve sanayi domates çeşitlerine ait tohum örneklerinde tohum kaynaklı bazı viral etmenleri belirlemek için DAS-ELISA ve biyolojik yöntemler kullanmıştır. DAS-ELISA sonucuna göre, domates tohum örneklerinin TMV, ToMV ve TBRV ile enfekteli olduğu, test edilen 44 domates çeşidine ait tohum örneğinden 7 (%15.90)’sinin sadece TMV, 22 (%50)’sinin TMV+ToMV, 5 (%11.36)’inin de TMV+ToMV+TBRV ile enfekteli olduğunu belirlemiştir.

Turhan ve korkmaz (2006), Çanakkale ilinde 2003 ve 2004 yıllarında Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)’nün varlığının belirlenmesi amacıyla domates ekiliş alanlarında yürüttükleri sürvey çalışmasında 200 örnek toplayıp ELISA yöntemiyle testlemiştir. Testleme sonucunda 9 örneğin TSWV ile enfekteli olduğu bildirilmiştir.

Seher (2014), Bursa ve Yalova illerinde domates alanlarındaki virüs hastalıklarını saptamak üzere sürvey çalışması gerçekleştirmiştir. Simptom gösteren 94 adet yaprak örneği toplamıştır. DAS-ELISA testi sonucunda örneklerin 21 adedinde %22.34 oranında ToMV, 2 adedinde %2.13 oranında TSWV bulunduğu saptamıştır. Ayrıca alınan yaprak örneğinin 14 adedi %14.89 oranında CMV+ToMV, 4 örnek adedi %4.26 oranında CMV+TSWV, 1 örnek ise %1.06 oranında ToMV+TSWV, 4 adedinin %4.26 oranında CMV+ToMV+TSWV ile karışık enfeksiyon içerdiğini bildirmiştir.

Sertkaya ve Yılmaz (2017), Hatay ili Samandağ ilçesinde 2009-2010 yıllarında gerçekleştirdikleri çalışmada, organik domates üretimi yapılan seralardan toplanan 214 bitki örneğini DAS-ELISA yöntemi ile testlemişlerdir. Örneklerin (%22.4)'ünün TYLCV, PVY (%7.0), CMV (%3.7), TSWV (%1.4), PLRV (%0.9) ve AMV (%0.4) ile enfekteli olduğu, ayrıca karışık enfeksiyon olarak PLRV+PVY ve PVY+TYLCV belirlemişlerdir. PVX, ToMV ve ToRSV enfeksiyonuna rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

### **2.1.2. Dünyada domates virüsleri ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar**

Clinton (1909), yaptığı çalışmada Domates mozaik virüsü (ToMV)'nün 75 yıldan fazla bir süredir ABD ve Hollanda'da olduğunu belirtmiştir.

Harrison vd. (1971), çalışmasında Tütün mozaik virüsü (TMV) ve Domates mozaik virüsü (ToMV)'nün konukçu aralığı, serolojik afiniteler ve protein bileşimlerindeki farklılıklar ile kolayca ayırt edilebildiğinden, ToMV'nin son 15 yıl boyunca, ayrı bir virüs olarak gittikçe daha fazla tanındığını belirtmişlerdir. Farklı çalışmalarda bu bilgi desteklenmiştir (Fenner, 1976; Hollings ve Huttinga, 1976; Gibbs, 1986).

Van Regenmortel (1975, 1981), ile Van De Walle ve Siegel (1976), farklı yıllarda yaptıkları çalışmalarından TMV ile yakın serolojik ilişkisi nedeniyle, ToMV'nin genellikle bir TMV suşu olduğu düşünüldüğünü belirtmişlerdir.

Broadbent (1976), yaptığı çalışmada ToMV'nin muhtemelen domates bitkilerinin yetiştirildiği her yerde olabileceği belirtilmiştir.

J. Sikora (1992), yaptığı çalışmasında çoklu virüs salgınının, Alabama'nın domates üretimini bölgesinde üretimi %25'e kadar azalttığını belirtmiştir. Kuzey Alabama'nın iki eyaletindeki 250 hektarın üzerindeki salgından %100'lük tahmini verim kayıpları ortaya çıktığını bildirmiştir. PVY ve TEV ile kombinasyon halinde, tek başına ya da kombine edilmiş CMV, ürün kaybından sorumlu olduğunu belirtmiştir.

Nono-Womdim (1996), 1993-94 yıllarında yaptığı çalışmada Tanzanya'nın 12 bölgesinde domates bitkisinin başlıca virüslerinin dağılımını ve görülme sıklığını belirlemek için sürvey yapmıştır. Tanımlama prosedürleri; semptomatoloji, jel immünodifüzyon testleri, ELISA ve Dot-blot hibridizasyon analizleri olduğunu belirtmiştir. CMV ve PVY'nin sadece 3 bölgede tespit edildiği bildirilmiştir. ToMV



ve TYLCV yaygın ve ekonomik olarak önemli olduğunu, aynı zamanda yabancı otlarda da TYLCV'nin tespit edildiğini bildirmiştir.

Moriones vd. (2000), yürüttükleri çalışmada TYLCV'nin ilk olarak İsrail'de tanımlandığını belirtip şu anda dünya çapında birçok ülkede ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Botermans (2009), yaptığı çalışmada daha önce kaydı bulunmayan TYLCV'nin Hollanda'nın batı kesiminde birbirine yakın bir konumda bulunan birkaç sera içinde domates bitkilerinde belirtiler gözlenmiştir. Enfekte olmuş bitkilerin TYLCV ile bulaşık olduğu PCR çalışmasıyla doğrulanmıştır. Dizi analizleri ve sürvey sonuçları, salgının virüsün tek bir girişinden kaynaklanırken, böcek vektörü *Bemisia tabaci* yerel yayılımı olarak açıklanmıştır. Virüsü ortadan kaldırmak için alınan önlemler, *B. tabaci*'nin yok edilmesinin yanı sıra, enfekte olmuş domates bitkilerinin ortadan kaldırılmasını ve daha sonra imha edilmesini de izlemiştir. 2008 yılında çalışmalar sırasında hiçbir TYLCV enfeksiyonu bulunmamış ve bu nedenle virüsün etkili bir şekilde ortadan kaldırıldığı düşünüldüğünü belirtmiştir.

Abu-Shirbi (2012), bu çalışmasında, Ürdün'deki tarla domateslerinde domates virüslerinin görülme sıklığını incelemiştir. Toplam 1647 domates örneği Güney Ürdün Vadisi, Orta Ürdün Vadisi, Kuzey Ürdün Vadisi ve Badia'dan toplamıştır. DAS-ELISA testleri sonucu TSWV, PVY, ToRSV, TYLCV, TBSV, TAV, TEV ve TRV varlığını tespit etmiştir.

Marei vd. (2017), yaptıkları çalışmada Mısır'da domates bitkilerinde TSWV tespit etmişlerdir. Mekanik inokulasyon, ELISA, ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu kullanılarak gerçekleştirilen teşhis çalışmasında viral etmenin TSWV olduğu doğrulanmıştır.

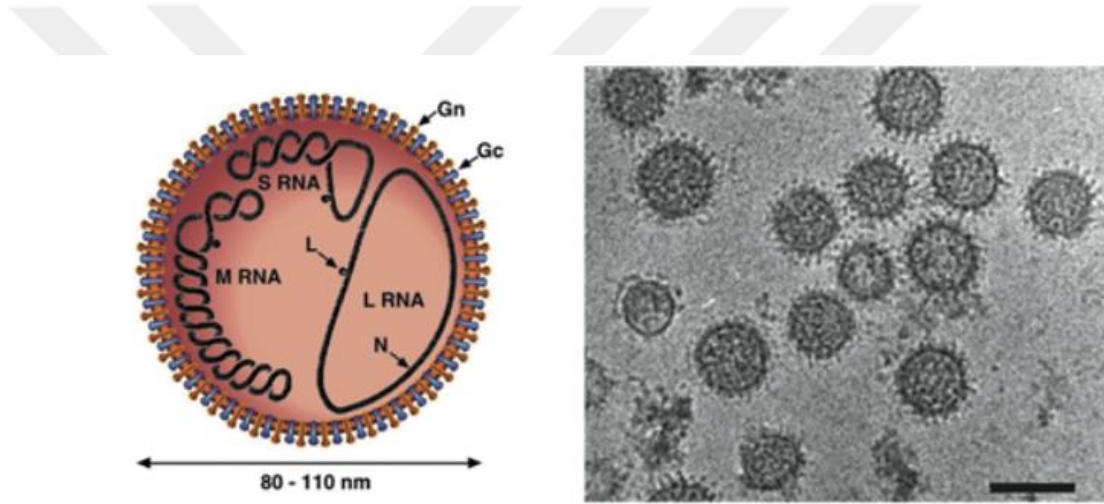
Wei (2018), Çin'nin Yunnan eyaletinde yaptığı çalışmada domatesin aynı anda ToCV ve TYLCV ile enfekte olduğunu belirtmiştir. Bu Yunnan Eyaletindeki ToCV'nin ilk kaydı olarak bildirilmiştir.

## **2.2. Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)**

TSWV ilk olarak Avustralya'da 1919 yılında Brittlebank tarafından tanımlanmıştır. Hem monokotiledon hem de dikotiledon bitkiler olmak üzere toplam 82 familyaya ait 800' den fazla bitki türü TSWV'nin konukçusu durumundadır (Wijkamp ve Peters, 1993; Griep vd. 2000). TSWV, domates bitkilerinde; yaprak

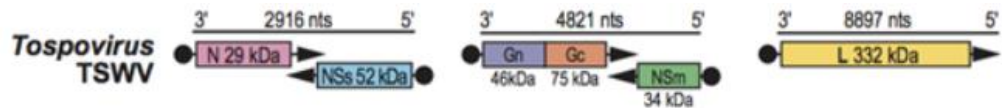
kıvrıcılık, solgunluk, nekrotik lekeler, nekrotik çizgiler, cüceleşme, meyvede açık koyu sarı lekeler ve şiddetli nekroz belirtileri oluşturur. Bazı şiddetli enfeksiyonlar bitkiyi tamamen öldürebilmektedir (German vd. 1992). Ülkemizde ilk olarak Mersin ili ve çevresinde tespit edilmiştir (Tekinel, 1969).

TSWV, 80-110 nm çapında küresel partiküller ve partiküllere bağlı iki glikoprotein Gn ( G1, 78 KDa) ve Gc ( G2, 58 KDa) içeren ve 5-10 nm uzunluğunda yüzey çıkıntıları ile kaplıdır (Şekil 2.1) (Mohamed vd. 1973; Tas vd. 1977 ). Virüs bir segmentinin negatif polariteye sahip olduğu üçlü ssRNA genomuna sahiptir. Bir TSWV partikülü %5 nükleik asit (RNA), %70 protein, %20 lipit ve %5 karbonhidrat içermektedir (Adkins, 2000).



Şekil 2.1. TSWV virionlarının yapısı ve elektron mikroskop görüntüsü (Anonim, 2018a)

TSWV nükleotit yapısı boyutsal olarak 16,6 kb olup, tek iplikçikli, doğrusal bir RNA'dır ve 3 segmente ayrılır. Bu segmentler, L (büyük, 8897 nt), M (orta, 4821) nt ve S (küçük, 2916 nt) segmentler olarak boyutlandırılır (Şekil 2.2), (De haan vd. 1989, 1990, 1991).



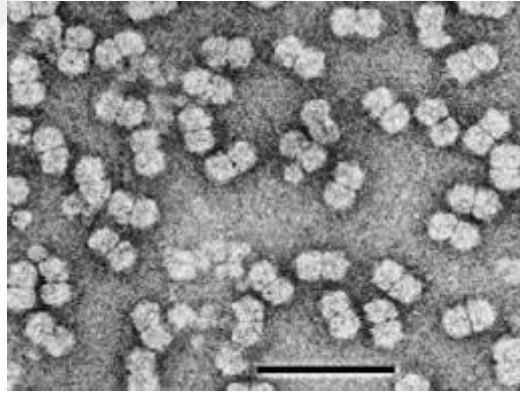
Şekil 2.2. TSWV'nin genom organizasyonu (Anonim, 2018b)

TSWV, Thripidae familyası içinde yer alan Thrips, Frankliniella, Scirtothrips ait 9 trips türü ile sirkülatif ve propagatif olarak taşınabilirler (Wijkamp vd. 1995; Webb vd. 1998) ve aynı zamanda mekanik aşılama yoluyla da kolayca taşınabilirler (Mumford vd. 1996).

### 2.3. Domates sarı yaprak kıvrıcılık virüsü (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)

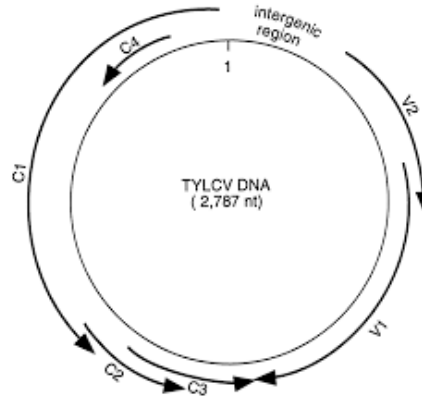
Virüs ilk olarak 1939-1940 yıllarında *Bemisia tabaci* salgını sonucu farkedilmiş ve 1964'te ise TYLCV olarak adlandırılmıştır (Cohen ve Harpaz, 1964). Begomovirus cinsinde yer alan sirküler yapıda tek iplikli ssDNA virüsüdür (Matthews, 2002). Enfekteli bitkilerde gelişim geriliğiyle beraber küçük, kıvrıcık ve klorotik yaprak semptomlarına neden olmaktadır.

TYLCV'nin ikiz şeklindeki viral kapsid yapısı ilk olarak 1980 yılında gözlenmiş (Şekil 2.3), (Russo vd. 1980) ve virüsün izolasyonu ilk olarak 1988 yılında yapılmıştır (Czosnek vd. 1988).



Şekil 2.3. TYLCV virionlarının elektron mikroskop görüntüsü (Anonim, 2018c)

TYLCV'nin genomu 2.79 kb boyutunda olup (Navot vd. 1991); V1 bölgesi kılıf proteini, V2 bölgesi hareket proteini, C1 bölgesi Rep proteini, C2 bölgesi transkripsiyonel aktivatör proteinini, C3 bölgesi replikasyon artırıcı proteinini ve C4 bölgesi işlevi bilinmeyen proteinleri kodlayan gen bölgeleri olmak üzere altı bölüme ayrılmıştır (Şekil 2.4), (Matthews, 2002).



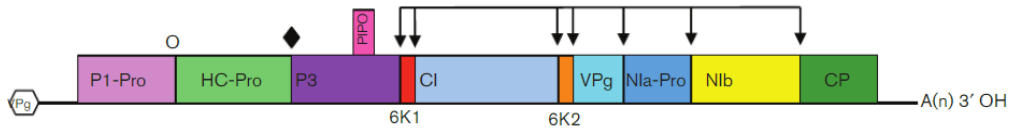
Şekil 2.4. TYLCV'nin genom organizasyonu (Glick vd. 2009)

Akdeniz havzasında tespit edilen ve karşılaştırılan TYLCV dizi analizleri sonucunda ICTV'nin de kabul ettiği iki türü mevcuttur (Rybicki vd. 2000). Bu türler olan TYLCV-Isr (Novat vd. 1991) ve TYLCSV (Kheyr-Pour vd. 1991)'nin birçok ırklarının evrimiyle dünya çapında yayılımının başladığı tahmin edilmektedir.

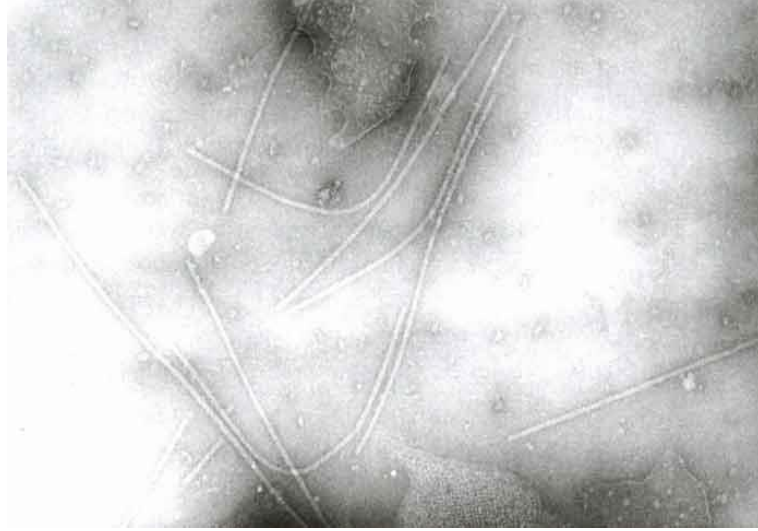
Virüs *B. tabaci* ile taşınır iken, günümüze kadar yapılan çalışmalarda tohum ile taşınmadığı belirtilmiştir. Fakat TYLCV ile enfekteli tatlı biber tohumlarının %20-100 TYLCV'yi taşıdığını tespit etmiştir (Kil vd. 2017).

#### 2.4. Patates Y virüsü (*Potato virus Y, PVY*)

PVY, ilk kez 1931 yılında rapor edilmiştir (Smith, 1931). Potyvirus cinsine dâhil olan bu virüs yaklaşık 10 kb büyüklüğünde pozitif polariteli tek sarmal RNA genomuna ve 730-740 nm uzunluğunda esnek çubuk şeklindeki partiküllere sahiptir (Şekil 2.5). Yapısal olarak; (P1), (HC-Pro), (P3), (6K1), (CI), (6K2), (VPg), (NIa), (NIb), (NIb-Pol) ve (CP) olmak üzere toplam 10 adet işlevsel viral proteinden oluşur (Şekil 2.6), (UrcuquiInchima vd. 2001; Grzela vd. 2008). Virionları %5.4- 6.4 nükleik asit (Leiser ve Richter, 1978) ve %93.6-94.6 protein içerir (Robaglia vd. 1989).



Şekil 2.5. PVY'nin genom organizasyonu (Anonim, 2018e)



Şekil 2.6. PVY virionlarının elektron mikroskop görüntüsü (Anonim, 2018d)

PVY ırklarının ilk olarak izole edildiği konukçuya ve oluşturduğu simptomlara göre izolatları, PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup> ve PVY<sup>C</sup> olmak üzere 3 ana ırk grubuna ayrılmıştır (Le Romancer vd. 1994). PVY<sup>O</sup> ve PVY<sup>N</sup> izolatları arasında gerçekleşen rekombinasyon sonucunda PVY<sup>NTN</sup> ırkı meydana gelmiştir (Ogawa vd. 2008). Başka bir rekombinant sonucu oluşan N-benzeri alt gruptan olan PVY<sup>N-Wi</sup> serolojik olarak PVY<sup>O</sup> ırkına çok benzeyip teşhis çalışmalarında ayırt edilememektedir (Chrzanowska, 1991; Glais vd. 2005).

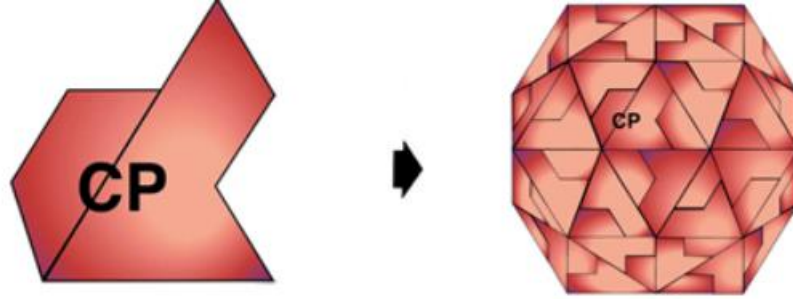
Domateste enfeksiyon yapan PVY izolatları genç yapraklarda kırışıklık ve nekrotik lekeler, yaprak yüzeylerinde ve damarlarda nekroz şeklinde belirti, yapraklarda şiddetli mozaik lekeler, meyvelerde ise beyazımsı lekeler oluşturabilmektedir (Aramburu vd. 2006).

PVY'nin yaklaşık 73 yaprak biti türü ile non-persistent olarak taşınabildiği tespit edilmiştir (Varveri, 2000). Yumru ve mekanik olarak da taşınabilen PVY, *Cuscuta gronovii* aracılığıyla da taşınabilmektedir (Edwardson ve Christie, 1997).

## 2.5. Domates halkalı leke virüsü (*Tomato ringspot virus*, ToRSV)

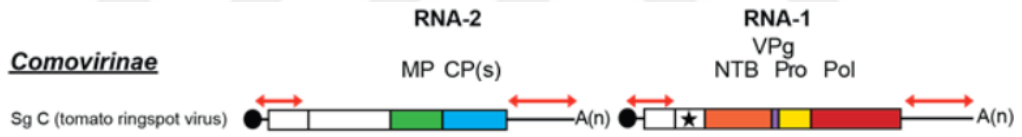
ToRSV, yaklaşık 28 nm çapında olup tek iplikli RNA içerir (Şekil 2.7). Nepovirüs cinsine dahil olan ToRSV 52-60 kDa'luk tek bir büyük CP'yi kodlar (Fuchs vd. 2015). Nepovirüs sekanslarına, genom organizasyonuna ve bölünme bölgelerine bağlı olarak üç alt gruba ayrılabilir. ToRSV'nin dahil olduğu C alt grubu,

M bileşeni parçacıklarında bulunan ve bazen B bileşeninkilerden zorlukla ayrılabilen, 6,400-7,300 nt uzunluğunda bir RNA-2'ye sahiptir.



Şekil 2.7. ToRSV virioninin kılıf protein yapısı (Anonim, 2018f)

ToRSV'nin her iki UTR bölgesindeki RNA-1 (8214 nt) ve RNA-2 (7.273 nt) arasında hemen hemen aynıdır (Şekil 2.8). Sekans benzerliği bölgesi, ToRSV'deki poliproteinlerin kodlama bölgesinin bir kısmına uzanır (Walker vd. 2015 ).



Şekil 2.8. ToRSV'nin genom organizasyonu (Anonim, 2018g)

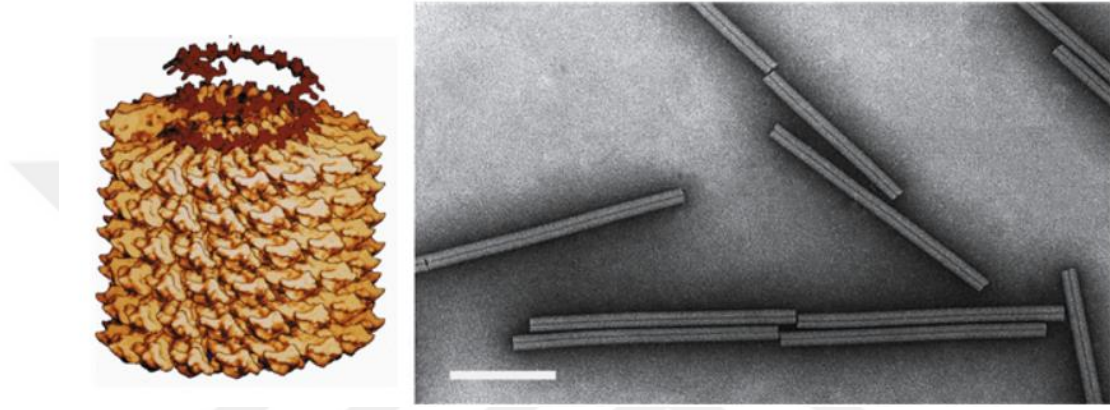
ToRSV'nin RNA-1 ve RNA-2 olmak üzere çift taraflı genomu söz konusu olduğunda, hiçbir RNA türü tek başına bitkileri sistemik olarak enfekte edemez.

Enfekte olmuş bitkilerde yapraklarda çapı 2 ila 5 mm olan dairesel noktalar oluşur. Genç yapraklar benekli nekrotik lekeler olabilir. Belirtiler aynı bitki içinde değişkenlik gösterebilir. Enfekteli bitkilerde yaprak dökülür ve şiddetli bir kıştan sonra bitki ölür. ToRSV meyve ağaçlarını, sebzeleri ve süs bitkilerini enfekte edebilir.

ToRSV'nin taşınması vektör nematod, *Xiphinema americanum*, mekanik ve polen ile olmaktadır.

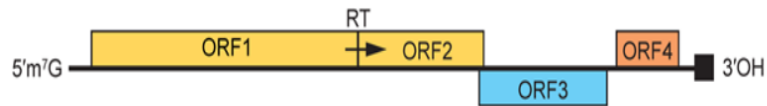
## 2.6. Domates mozaik virüsü (*Tomato mosaic virus*, ToMV)

ToMV birçok sebze ve süs bitkisini enfekte edebilen enfeksiyonlar genellikle karakteristik mozaik simptomlarına yol açar ve önemli ölçüde hasar ve verim kayıplarına neden olur. ToMV dâhil olduğunu Tobamovirüs  $\alpha$ -benzeri üst gruba aittir. ToMV çubuk şeklinde pozitif zincirli 6383 bp lineer RNA genomunu saran yapıya sahiptir (Şekil 2.9), (Alan Brunt, 1986).



Şekil 2.9. ToMV virionlarının yapısı ve elektron mikroskop görüntüsü (Anonim, 2018h)

Bitki hücresinin enfeksiyonundan sonra viral gen ürünleri, RNA polimeraz (RdRP), hareket protein (MP) ve kılıf proteini (CP) üretilir (Şekil 2.10), (Citovsky ve Zambryski, 2000).



Şekil 2.10. ToMV'nin genom organizasyonu (Anonim, 2018i)

Domates bitkisindeki simptomlar sıcaklık, gün boyu, ışık yoğunluğu, enfekte olduğunda bitkinin yaşı, virüs ve virüs çeşitlerinin virülansından etkilenir ( Hollings ve Huttinga, 1976 ). Bununla birlikte, yaz aylarında enfekte olmuş serada yetiştirilen domatesler, açık ve koyu yeşil yapraklarda beneklenme ve bazen genç yaprakların deformasyonuna neden olur. Kışın, kısa günlerde, düşük ışık yoğunluğunda ve düşük sıcaklıklarda (20°C'nin altında), bitkiler genellikle ciddi şekilde bodurlaşır ve verim büyük ölçüde azalır.

ToMV kültürel işlemlerle kolayca yayılır; ayrıca tohumlara ve toprağa da bulaşabilir, ancak doğal bir vektörü bilinmemektedir (Broadbent, 1965a, b; Broadbent ve Fletcher, 1966). ToMV nadiren de olsa küsküt türleri ile taşınabilmektedir (Schmelzer, 1956).





### 3. MATERYAL VE METOT

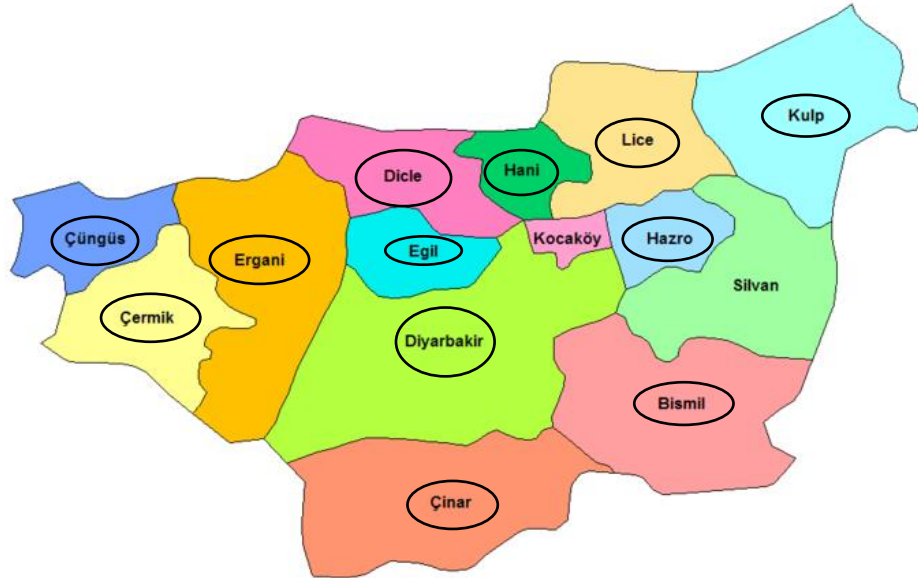
#### 3.1. Materyal

Diyarbakır ili domates ekiliş alanlarından alınan 278 bitki örneği çalışmanın ana materyali olarak kullanılmıştır. Moleküler çalışmalarda kullanılan termalicyler, transillüminatör, mikropipet, mikropipet uçları, çeşitli kimyasal ve sarf malzemeler çalışmanın diğer materyalini oluşturmuştur.

#### 3.2. Metot

##### 3.2.1. Arazi çalışmaları

Diyarbakır ili ve ilçeleri çalışmanın sürvey alanını oluşturmuştur (Şekil 3.1). 2018 yılında yapılan bu çalışma kapsamında sistematik örnek alma yöntemine göre örnekleme yapılmış (Bora ve Karaca, 1970) ve tesadüfi olarak seçilen domates tarlalarından minimum bir adet olmak üzere, virüs simptomu gösteren ve göstermeyen bitkilerden örnekler alınmıştır (Çizelge 3.1). Alınan Domates yaprakları polietilen torbalara konup etiket bilgileri eklenerek laboratuvara getirilmiş ve PCR testlerinde kullanılmak üzere +4 °C muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Diyarbakır ilinde sürvey gerçekleştirilen ilçeler

Çizelge 3.1. Diyarbakır iline ait ilçelerden alınan örnek sayısı

İlçe	Alınan Örnek Sayısı
Sur	9
Kayapınar	11
Yenişehir	15
Hazro	5
Ergani	91
Çüngüş	13
Çınar	17
Kulp	23
Lice	25
Bismil	16
Çermik	21
Eğil	10
Dicle	21
Hani	1
<b>Toplam</b>	<b>278</b>

### 3.2.2. Moleküler çalışmalar

#### 3.2.2.1. Nükleik asit izolasyonu

Yapılan arazi çalışmaları sonucunda toplanan domates yapraklarından ToMV, TSWV, PVY ve ToRSV'lerin teşhisi için total RNA izolasyonu, TYLCV'nin teşhisi için total DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

##### 3.2.2.1.1. RNA izolasyonu

Toplanan örneklerden ToMV, PVY, ToRSV ve TSWV'nin varlığının araştırılması için RNA izolasyon çalışmaları Qiagen RNeasy Plant Mini Kit ( Kat. No: 74904 ) kullanılarak yapılmıştır. Total RNA izolasyonunda firmanın önerdiği protokol uygulanmıştır. Buna göre;

- Toplanan domates yapraklarında yaklaşık 1 gr örnek sıvı azot yardımıyla ezilmiş ve bundan 0.1 gr alınarak 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınmıştır.

- Tüplere 450 µl RLT tampon çözeltisi eklenmiş ve girdap karıştırıcıda karıştırılmıştır. Kullanımdan hemen önce RLT tampona β-mercaptoethanol eklenmiştir.
- Karışım mor renkli kolonlara aktarılmış ve 15.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.
- Bitki artıklarının toplandığı kolon atılmış ve alt kısımda toplama tüpünde biriken 400 µl sıvı faz alınarak yeni 1.5 ml'lik ependorf tüplere aktarılmış, üzerine 200 µl %96'lık etanol eklenmiştir.
- Karışım daha sonra pembe kolonlara aktarılmış ve 10.000 rpm'de 15 saniye santrifüj edilmiştir.
- Kolonun alt kısmında toplama tüpünde biriken sıvı dökülerek uzaklaştırılmış ve kolon tekrar aynı toplama tüpü içine yerleştirilmiştir.
- Kolona 700 µl RW1 tamponu eklenmiş ve 10.000 rpm'de 15 saniye santrifüj edilmiştir.
- Kolonun alt kısmındaki toplama tüpünde toplanan sıvı dökülmüş ve kolon yine aynı tüp üzerine yerleştirilmiştir.
- Kolona 500 µl RPE tamponu eklenmiş ve 10.000 rpm'de 15 saniye santrifüj edilmiştir.
- Önceki iki aşama bir kez daha tekrar edilmiştir.
- Kolon yeni bir toplama tüpü içine alınmıştır ve 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek kolon içerisindeki tüm sıvının uzaklaşması sağlanmıştır.
- Toplama tüpü atılmış ve kolon RNA'nın toplanacağı yeni 1.5 ml'lik ependorf tüp içine yerleştirilmiştir.
- Kolona 50 µl RNase içermeyen su eklenmiştir ve 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- Kolon atılmış ve ependorf içinde toplanan 50 µl RNA solüsyonu, testler yapılncaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

#### **3.2.2.1.2. DNA izolasyonu**

Toplanan örneklerden TYLCV'nin varlığının araştırılması için DNA izolasyon çalışmaları Qiagen DNeasy Plant Mini Kit ( Kat. No: 69106 ) kullanılarak yapılmıştır. Total DNA izolasyonunda firmanın önerdiği protokol uygulanmıştır. Buna göre;

- Toplanan domates yapraklarında yaklaşık 1 gr bitki örneği sıvı azot yardımıyla ezilmiş ve bundan 0.1 gr alınarak 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınmıştır.
- Homojen hale getirilen örneğin üzerine 400 µl AP1 buffer ve 4 µl RNase A ilave edilmiş. 65°C'de 10 dk kuru blok ısıtıcıda inkübasyona bırakılmıştır.
- Tüplere daha sonra 130 µl AP2 buffer ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. 5 dk buzda inkübe edilmiştir.
- Bitki partiküllerinin dibe çökmesi için 14.000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir.
- Üstte kalan sıvı QIAshredder spin colon'a aktarılmış ve 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir.
- Kolona 1.5 volum AP3/E bufferdan ilave edilmiş ve pelleti pipetaj ile iyice eritilmiştir.
- DNeasy Mini spin colon'a yaklaşık 650 µl olan sıvıyı transfer edip 10-15 dk oda ısısında bekletilmiştir, 8.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir.
- Beyaz kolon (DNeasy Mini spin colon) temiz bir collection tüpüne yerleştirilmiş. Üzerine 500 µl AW bufferdan ilave edilmiştir. Daha sonra 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir.
- Collection tüpünde toplanan sıvıyı uzaklaştırıp. 500 µl AW bufferdan ilave edilmiştir. Daha sonra 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir.
- Yeni bir eppendorf tüpüne (1.5 ml'lik) kolon yerleştirilmiş.
- 100 µl AE bufferden ilave edilerek 10-15 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilip kolon atılmış ve ependorf içinde toplanan 100 µl DNA solüsyonu, -80°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.2.2. Komplementer DNA (cDNA) sentezi

RNA genomuna sahip ToMV, PVY, TSWV ve ToRSV komplementer DNA çevrilmesi için Applied Biosystems<sup>TM</sup> High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kiti (Kat. No: 4368814) kullanılmıştır. Firmanın önerdiği bileşen miktarları (Çizelge 3.2) ve firmanın önerdiği protokol (Çizelge 3.3) uygulanmıştır.

Çizelge 3.2. cDNA sentezinde bir örnek için kullanılan bileşenlerin miktarı

<b>Bileşenler</b>	<b>Hacim (1 örnek için)</b>
10X RT Buffer	2 µl
25X dNTP Mix (100 nM)	0.8 µl
10X RT Random Primerler, 1.0 mL	2 µl
Multiscribe™ Reverse Transcriptase	1 µl
RNase İnhibitör	-
H <sub>2</sub> O	4.2 µl
Rna örneği	10 µl
<b>Toplam reaksiyon hacmi</b>	<b>20 µl</b>

Çizelge 3.3. cDNA sentezinde kullanılan termal döngü

	<b>1. Adım</b>	<b>2. Adım</b>	<b>3. Adım</b>	<b>4. Adım</b>
<b>Sıcaklık</b>	25°C	37°C	85°C	4°C
<b>Zaman</b>	10 Dk.	120 Dk	5 Dk	∞

### 3.2.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

RNA genomuna sahip ToRSV ve TSWV'nin tanısı için primer çifti kullanılarak RT-PCR ile çoğaltılmıştır. RNA genomuna sahip ToMV ve PVY'nin tanısı için ise primer çifti kullanılarak Multipleks RT-PCR ile çoğaltılmıştır. DNA genomuna sahip TYLCV'nin tanısı için primer çifti kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır. Bu projede çalışılan virüslerin primerleri Macrogen (Güney Kore) firmasından temin edilmiştir. Kullanılan primerlere ait bilgiler Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Çalışma kapsamında test edilen virüslerin primer dizilimleri, baz uzunlukları ve referansları

Hedef Virüs	Primer Dizilimi (5'-3')	Baz Uzunluğu	Referans
TYLCV	F - 5'-atgtcgaagcgwcca-3' R - 5'-ttaattkrtaytgaatcatagaa-3'	777 bp	Kim vd. 2011
PVY	F - 5'-acgtccaaaatgagaatgcc-3' R - 5'-tggtgttcgtgatgtgacct-3'	480 bp	Singh ve Singh, 1998
ToMV	F - 5'-agatgaagccgagacgtcggtc-3' R - 5'-acccttcgatttaagtgaggga-3'	621 bp	Alavi vd. 2014
TSWV	F - 5'-atgtctaaggtaagctcac-3' R - 5'-tcaagcaagttctgcgagtt-3'	777 bp	Choi, 2014
ToRSV	F - 5'-gaatggtcccagccactt-3' R - 5'-agtctcaacttaacataccac-3'	182 bp	Tang vd. 2014

ToRSV ve TSWV'nin teşhisi için steril bir PCR tüpüne toplam 50 µl hacimde olacak biçimde aşağıdaki PCR bileşenleri konularak RT-PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Kullanılan döngülere ait bilgiler Çizelge 3.5'de verilmiştir.

- 5 µl 10X PCR Buffer
- 3 µl 25Mm MgCl<sub>2</sub>
- 1 µl dNTP (10mM) (Vivantis)
- 1 µl Primer Forward (10 pmol)
- 1 µl Primer Reverse (10 pmol)
- 0.4 µl Taq DNA polimeraz enzimi (Thermo, (kat. No: 00671275))
- 2 µl cDNA
- 36.6 µl RNAase free su

Çizelge 3.5. ToRSV ve TSWV'nin RT-PCR yöntemi ile araştırılması için kullanılan sıcaklık döngüleri

Virüs	Sıcaklık döngüleri	PCR	Amplifikasyon ürünü
<b>ToRSV</b>	94°C 3 dk	RT-PCR	182 bp
	94°C 30 sn		
	51°C 30 sn		
	72°C 45 sn		
	72°C 10 dk		
4°C ∞			
<b>TSWV</b>	94°C 3 dk	RT-PCR	777 bp
	94°C 45 sn		
	49°C 45 sn		
	72°C 45 sn		
	72°C 10 dk		
4°C ∞			

ToMV ve PVY'nin teşhisi için steril bir PCR tüpüne toplam hacim 50 µl olacak biçimde aşağıdaki PCR bileşenleri konularak Multipleks RT-PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Kullanılan döngülere ait bilgiler Çizelge 3.6'da verilmiştir.

- 7 µl 10X PCR Buffer
- 4 µl 25Mm MgCl<sub>2</sub>
- 2 µl dNTP (10mM)
- 0,5 µl ToMV Primer Forward (10 pmol)
- 0,5 µl ToMV Primer Reverse (10 pmol)
- 0,5 µl PVY Primer Forward (10 pmol)
- 0,5 µl PVY Primer Reverse (10 pmol)
- 0.6 µl Taq DNA polimeraz enzimi
- 2 µl cDNA
- 32.4 µl RNAase free su

Çizelge 3.6. ToMV ve PVY'nin Multipleks RT-PCR yöntemi ile araştırılması için kullanılan sıcaklık döngüleri

Virüs	Sıcaklık döngüsü	PCR	Amplifikasyon ürünü
ToMV	94°C 3 dk	Multipleks RT-PCR	621 bp
	94°C 45 sn 52°C 45 sn 72°C 60 sn		
PVY	72°C 10 dk	Multipleks RT-PCR	480 bp
	4°C ∞		

TYLCV'nin teşhisi için steril bir PCR tüpüne toplam hacim 50 µl olacak biçimde aşağıdaki PCR bileşenleri konularak PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Kullanılan döngülere ait bilgiler Çizelge 3.7'de verilmiştir.

- 5 µl 10X PCR Buffer
- 3 µl 25Mm MgCl<sub>2</sub>
- 1 µl dNTP (10mM)
- 5 µl Primer Forward (10 pmol)
- 5 µl Primer Reverse (10 pmol)
- 0.5 µl Taq DNA polimeraz enzimi
- 10 µl DNA (<sup>1</sup>/<sub>50</sub> oranında sulandırılmış)
- 20.5 µl RNAase free su

Çizelge 3.7. TYLCV'nin PCR yöntemi ile araştırılması için kullanılan sıcaklık döngüleri

Virüs	Sıcaklık döngüsü	PCR	Amplifikasyon ürünü
TYLCV	95°C 3 dk	Klasik PCR	777
	95°C 45 sn 52°C 45 sn 72°C 45 sn		
	72°C 10 dk		
	4°C ∞		



#### **3.2.2.4. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezde koşulması**

PCR sonucu elde edilen ürünler %1.5'lük agaroz jel hazırlanarak Thermo Scientific marka cihaz ile elektroforez yapılmıştır. 1.5 gram agaroz (Biomax), 100 ml 1X TAE (Applichem) tampon çözeltisi ile hazırlanıp mikrodalga fırında çözülmesi sağlanmıştır. Tarak tepsideki yerine takılmış ve jel baloncuk oluşturmada yavaşça dökülmüş. 30 dk jelin soğuyup katılaşması beklenilmiştir. Soğuyan jelden tarak dikkatlice çıkarılıp, jel elektroforez tankına alınmış ve 1X TAE çözeltisinden jelin üzerini kapatacak kadar elektroforez tankına eklenmiştir. Jel çukurlarına Thermo marka 100 bp Dna marker (Kat. No: SM241), virüslere ait pozitif örnekler (Agdia), negatif örnek (su) ve PCR ürünleri yükleme tamponu (Thermo 6X loading buffer) ile jele yüklenmiştir. Güç kaynağı 80V'a ayarlanıp 80 dakika elektrik akımı uygulanmıştır.

#### **3.2.2.5. DNA'nın görüntülenmesi ve analizi**

Elektroforez işleminde sonra jel 15 dakika süreyle 100 ml steril saf suda 10 µl etidyum bromide içeren çözeltide boyanmıştır. DNA'ların görüntülenmesi için DNR (bio-imaging systems) marka görüntüleme sistemi kullanılmıştır. Pozitif bulunan örnekler steril bistüri ile kesilerek 1.5 ml'lik ependorf tüplerine aktarılmış ve dizilemeye göndermek için -20°C'de saklanmıştır.

#### **3.2.2.6. DNA dizilemesi ve filogenetik analizi**

Moleküler çalışmalar sonucu elde edilen virüslere ait DNA'ların çift yönlü DNA dizilemesi için BM labosis firmasına gönderilmiştir. DNA dizilemesi sonucu elde edilen bilgiler ChromosPro ve CLC Main Workbench 8.1 bioinformatik programlarından yararlanılarak analizleri yapılmıştır. Dizileme sonrası tespit edilen virüslere ait kılıf protein gen bölgesinin Gen Bankasından araştırılması BLAST programı ile gerçekleştirilmiştir. Tespit edilen virüslere ait nükleotit dizileri Gen Bankasında bulunan farklı ülkelere ait farklı izolatlar ile benzerlik yüzdesi belirlenmiştir. Tespit edilen virüs izolatlarının dünyadaki diğer virüs izolatlarıyla olan genetik benzerlikleri ve farklılıklarının belirlenmesi amacıyla filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

### **3.2.2.7. DNA dizilerinin gen bankasına girilmesi**

Domates bitkisinde tespit edilen ToMV (DT1, DT2, DT3, DT4 izolatları) ve PVY (DP1, DP2, DP3, DP4 izolatları)'ye ait 4'er izolatın çoğaltılan kısmi kılıf protein genlerinin sekans analizleri sonrası elde edilen dizileri, National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gen Bankası'na kaydı gerçekleştirilmiştir.



## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Arazi Çalışmaları

Diyarbakır İline bağlı; Çermik, Çüngüş, Eğil, Ergani, Çınar, Merkez (Sur, Kayapınar, Yenişehir), Hazro, Kulp, Lice, Bismil, Dicle ve Hani ilçelerindeki domates alanlarında ToMV, TYLCV, TSWV, ToRSV ve PVY'nin varlığının ve yaygınlığının tespit edilmesi amacıyla virüs simptomsu gösteren ve göstermeyen 278 bitkiden yaprak örneği toplanmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Sürvey çalışmalarının yapıldığı domates tarlaları

Sürvey gerçekleştirilen alanlarda domates bitkilerinde sararma, yaprak kıvrılması, yapraklarda şekil bozukluğu, bodurlaşma ve mozaik belirtileri gösteren örneklerden yaprak numuneleri alınmıştır (Şekil 4.2, 4.3, 4.4).



Şekil 4.2. Sürvey çalışmalarında domateste gözlenen (a) yaprak ayasında şekil bozukluğu ve sarı lekelenmeler, (b) bodurluk ve gelişim geriliği belirtileri





Şekil 4.3. Sürvey çalışmalarında domateste gözlenen (c) bodurlaşma, (d) mozaik belirtileri

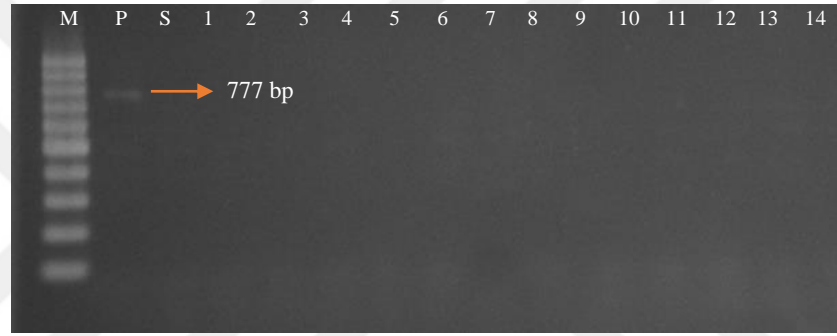


Şekil 4.4. Sürvey çalışmalarında domateste gözlenen (e) yaprak yüzeyinde kabarcıklaşma, aşağıya doğru kıvrılma ve mozaik belirtileri

## 4.2. Moleküler Çalışmalar

### 4.2.1. PCR yöntemi ile testlenen örneklerin TYLCV ile enfekteli olup olmadığının tespit edilmesine dair bulgular

2018 yılında Diyarbakır ili domates alanlarından toplanan örneklerde TYLCV'nin varlığını tespit etmek amacı ile bitkilerden izole edilen total DNA numunelerine PCR testi uygulanmıştır (Şekil 4.5). Test edilen örneklerin hiçbirinde TYLCV'ye rastlanılmamıştır. Yürütülen PCR testlerinde Agdia firmasından temin edilen TYLCV pozitif kontrol 777 bp büyüklüğünde DNA bandı oluştururken su kontrolde ise herhangi bir bant elde edilmemiştir.

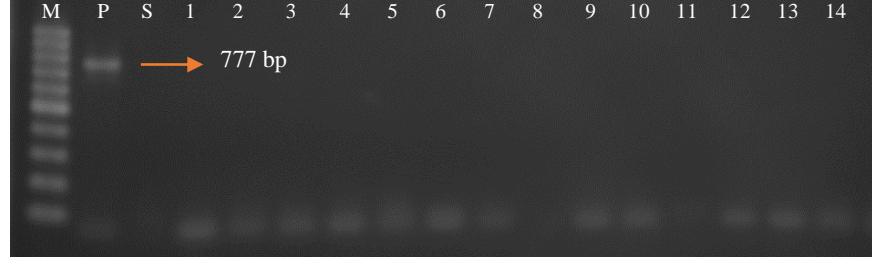


Şekil 4.5. Diyarbakır ilinden alınan domates örneklerinde TYLCV'nin varlığını tespit etmek için uygulanan PCR testinin agaroz jel görüntüsü, M: Marker (100-1000 bp), P: Pozitif Kontrol, S: Su Kontrol

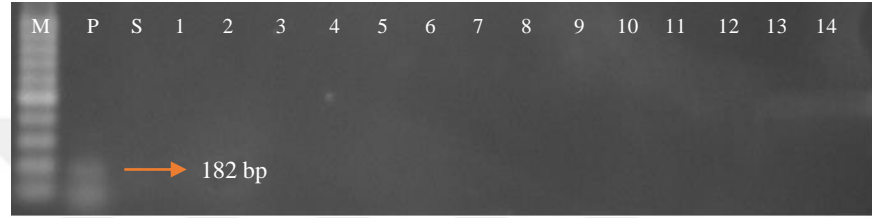
TYLCV varlığı ile ilgili yapılan çalışmalarda bölgede ilk olarak 1995 yılında Yılmaz vd. ELISA yöntemi ile Diyarbakır ve Şanlıurfa'da bu virüsü tespit ettiklerini bildirmiş olup, Mardin ilinde bulunmadığını bildirmiştir. Sertkaya vd. 2004 yılında Hatay'da TYLCV'nin varlığını tespit ederken, Köklü, 2006 yılında Mersin ve Muğla'da, Şeker vd. 2015 yılında Antalya ilinde TYLCV'nin varlığını tespit etmiştir. Fakat Diyarbakır ilinde yaptığımız moleküler testlemelerde TYLCV tespit edilememiştir.

### 4.2.2. RT-PCR yöntemi ile testlenen örneklerin TSWV ve ToRSV ile enfekteli olup olmadığının tespit edilmesine dair bulgular

Diyarbakır ili domates alanlarından toplanan örneklerde TSWV ve ToRSV'nin varlığını tespit etmek amacı ile RT-PCR testi uygulanmıştır (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7). Test edilen örneklerin hiçbirinde TSWV ve ToRSV'ye rastlanılmamıştır



Şekil 4.6. Diyarbakır ilinden alınan domates örneklerinde TSWV'nin varlığını tespit etmek için uygulanan RT-PCR testinin agaroz jel görüntüsü, M: Marker (100-1000 bp), P: Pozitif Kontrol, S: Su Kontrol



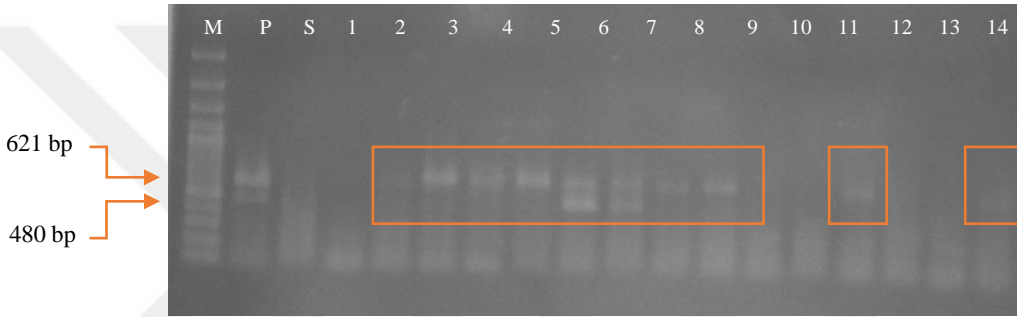
Şekil 4.7. Diyarbakır ilinden alınan domates örneklerinde ToRSV'nin varlığını tespit etmek için uygulanan RT-PCR testinin agaroz jel görüntüsü, M: Marker (100-1000 bp), P: Pozitif Kontrol, S: Su Kontrol

Yürütülen PCR testlerinde Agdia firmasından temin edilen TSWV ile ToRSV'ye ait pozitif kontrol numuneleri sırası ile 777 bp ve 182 bp büyüklüğünde DNA bandı oluştururken su kontrolde ise herhangi bir bant elde edilmemiştir.

TSWV ile ilgili ülkemizde yapılmış çalışmalarda İzmir ve Manisa, Samsun, Balıkesir, Uşak illerinin (Azeri, 1981; Azeri, 1994) yanı sıra, Akdeniz Bölgesinde de oldukça yaygın olduğu bildirilmiştir (Güldür vd. 1995). TSWV Şanlıurfa'da domates üretim alanlarında ELISA yöntemi ile (Güldür, 1997) tespit edilmesine karşın bu çalışma ile Diyarbakır da virüsün varlığı tespit edilmemiştir. Sertkaya vd. 2017 yılında yaptıkları çalışmada Hatay'da TSWV tespit edilmiş fakat ToRSV tespit edilememiştir. ToRSV ilk olarak İzmir ve Muğla'da tespit edilmiştir (Fidan, 1995). Yeşilçöllü vd. 2011 yılında Ege Bölgesindeki çilek alanlarında yaptıkları çalışmada ToRSV tespit etmişlerdir. Bölgede ToRSV ile ilgili kayıt bulunmaz iken bu çalışma ile de ToRSV tespit edilememiştir.

#### 4.2.3. Multipleks RT-PCR yöntemi ile testlenen örneklerin ToMV ve PVY ile enfekteli olup olmadığının tespit edilmesine dair bulgular

Diyarbakır ili domates alanlarından toplanan örneklerde ToMV ve PVY'nin varlığını tespit etmek amacı ile Multipleks RT-PCR testi uygulanmıştır (Şekil 4.8). Yürütülen PCR testlerinde Agdia firmasından temin edilen ToMV ve PVY'ye ait pozitif kontrol numuneleri sırası ile 621 bp ve 480 bp büyüklüğünde DNA bandı oluştururken su kontrolde ise herhangi bir bant elde edilmemiştir. Testlenen 278 domates yaprağı örneğinden 41'inin ToMV (%14.7), 21'nin PVY (%7.6) ile bulaşık oldukları tespit edilmiş ve 6 örnekte de ToMV+PVY (%2.2) karışık enfeksiyon tespit edilmiştir (Çizelge 4.1.), (Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11).



Şekil 4.8. Diyarbakır ilinden alınan domates örneklerinde ToMV ve PVY'nin varlığını tespit etmek için uygulanan Multipleks RT-PCR testinin agaroz jel görüntüsü, M: Marker (100-1000 bp), P: Pozitif Kontrol, S: Su Kontrol

Çizelge 4.1. Diyarbakır ilinde sürveyler sonucu alınan örneklerde tespit edilen virüsler ve bulunma oranları

Sürvey yapılan ilçeler	Örnek sayıları	TSWV	ToRSV	ToMV		PVY		ToMV + PVY		TYLCV
				EBS	BO	EBS	BO	EBS	BO	
Sur	9	-	-	1	%11.1	-	-	-	-	-
Kayapınar	11	-	-	1	%9	-	-	-	-	-
Yenişehir	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hazro	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ergani	91	-	-	20	%22	12	%13.2	2	%2.2	-
Çüngüş	13	-	-	7	%53.8	2	%15.4	2	%15.4	-
Çınar	17	-	-	1	%5.9	1	%5.9	-	-	-



Çizelge 4.1' in devamı

Kulp	23	-	-	1	%4.3	1	%4.3	-	-	-
Lice	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bismil	16	-	-	2	%12.5	3	%18.8	2	%12.5	-
Çermik	21	-	-	5	%23.8	2	%9.5	-	-	-
Eğil	10	-	-	1	%10	-	-	-	-	-
Dicle	21	-	-	2	%9.5	-	-	-	-	-
Hani	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>TOPLAM</b>	<b>278</b>			<b>41</b>	<b>%14.7</b>	<b>21</b>	<b>%7.6</b>	<b>6</b>	<b>%2.2</b>	

Yürütülen moleküler testler sonucunda virüs varlığı tespit edilen bazı bitkilerde gözlemlenen mozaik, yaprakta kabarcık ve deformasyon gibi belirtiler ile hangi virüslerin tespit edildiği aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.9. ToMV ile enfekteli domates bitkisi görüntüsü



Şekil 4.10. PVY ile enfekteli domates bitkisi görüntüsü





Şekil 4.11. ToMV ve PVY ile bulaşık domates bitkisi görüntüsü

Alınan örneklerden ToMV %53.8 bulaşıklık oranıyla en yüksek bulunduğu ilçe Çüngüş olurken, PVY %18.8 bulaşıklık oranıyla en yüksek bulunduğu ilçe Bismil olmuştur. Lice, Hazro, Hani ilçelerinden alınan domates örneklerinde araştırılan virüsler tespit edilmemiştir. Sur, Kayapınar, Eğil ve Dicle ilçelerinde ToMV tespit edilirken PVY tespit edilmemiştir.

ToMV ve PVY ile ilgili ülkemizde yapılmış çalışmalarda Yılmaz vd. 1995 yılında Diyarbakır, Şanlıurfa'da ELISA yöntemi ile gerçekleştirdikleri taramada ToMV ve PVY varlığına rastlamamışlardır. Değirmenci, 2005 yılında Aydın ilinde ToMV tespit ederken, Seher, 2017 yılında Bursa ve Yalova illerinde gerçekleştirdikleri çalışmada ToMV tespit etmiştir. Sertkaya vd. 2017 yılında Hatay ilinde domates alanlarında yaptıkları çalışmada ToMV tespit edilmez iken, PVY tespit edilmiştir. Bu çalışma kapsamında domates alanlarında ToMV ve PVY'nin varlığı moleküler olarak tespit edilirken, alanlarda bu virüslerin yoğun olduğu gözlemlenmiştir.

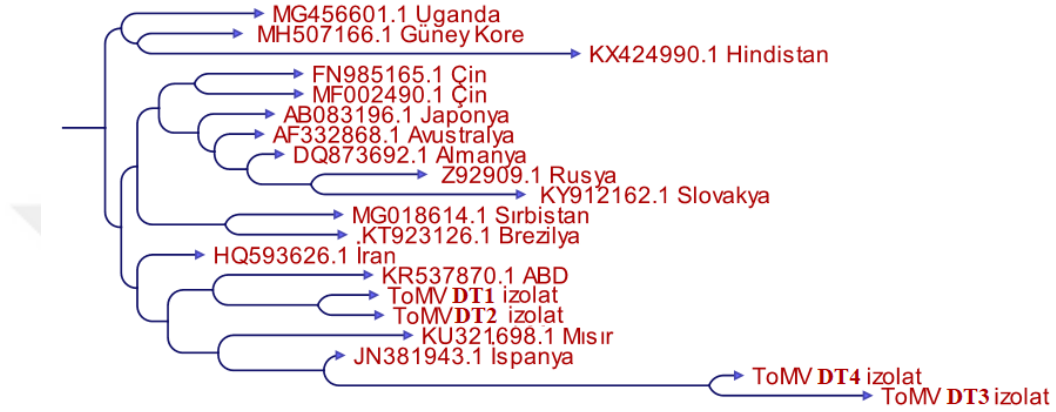
#### **4.2.4. Tespit edilen virus izolatlarına ait kılıf protein genlerinin moleküler karakterizasyonu**

Domateste tespit edilen ToMV (DT1, DT2, DT3, DT4) ve PVY (DP1, DP2, DP3, DP4)'ye ait rastgele seçilmiş 4'er izolata ait kılıf protein gen dizileri karakterize edilmiştir.

##### **4.2.4.1. ToMV izolatlarının moleküler karakterizasyonu**

DNA dizisi tespit edilen ToMV'ye ait DT1, DT2, DT3, DT4 izolatlarının kılıf protein geni, gen bankasına MK945664-MK945667 kayıt numaraları ile kaydedilmiştir.

Filogenetik ağaç CLC Main Workbench 8.1 programı yardımı ile yapılmıştır. İzolatlar arasındaki nükleotit benzerlik ve farklılıklar ağaçta dallanmalara neden olmuştur. ToMV izolatlarının kılıf protein genine ait baz dizisi bugüne kadar gen bankasından yayımlanmış diğer ToMV izolatları ile karşılaştırıldığında farklı oranlarda benzerlikler gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.12).

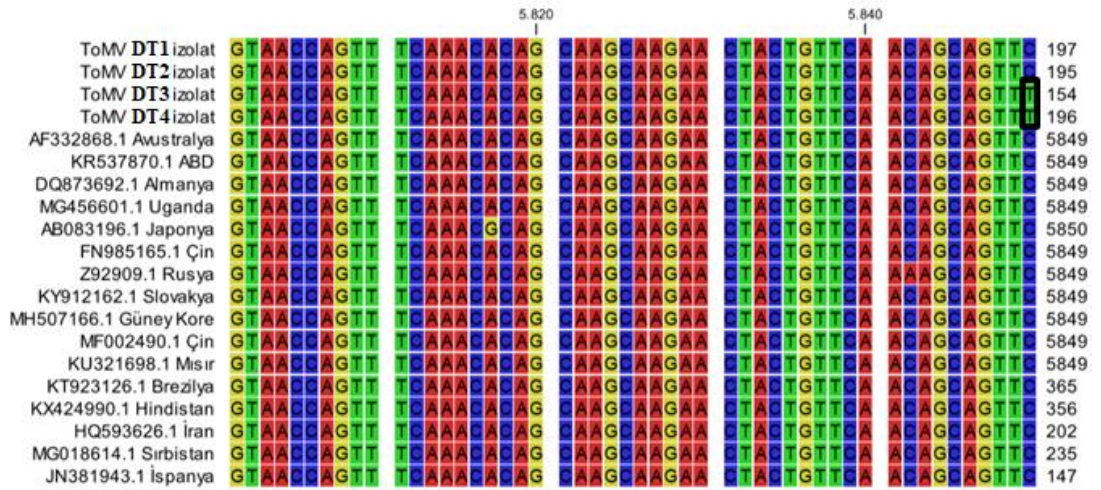


Şekil 4.12. ToMV (DT1, DT2, DT3, DT4) izolatlarının dünyada tespit edilmiş diğer ToMV izolatları ile CLC Main Workbench 8.1 programı aracılığıyla moleküler benzerliğini gösteren 100 tekerrürlü olarak oluşturulmuş filogenetik ağaç

ToMV izolatlarına yapılan çoklu dizi karşılaştırması ile DT1 ve DT2 izolatları aynı grupta olup, %99.8 benzerlik oranı ile KR537870.1 ulaşım numaralı ABD izolatı ile gruplanmıştır. DT3 ve DT4 izolatları ise %99.2 benzerlik oranı ile JN381943.1 ulaşım numaralı İspanya izolatı ile gruplanmıştır. Nükleotit karşılaştırmasında kullanılan izolatlar Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Nükleotit karşılaştırmasında kullanılan Gen Bankasında kayıtlı ToMV izolatlarına ait ulaşım numarası, ülke, genom yapısı ve gen uzunluğu bilgileri

Sayı	Ulaşım Numarası	Ülke	Gen	Baz uzunluğu (bp)
1	AF332868	Avustralya	Tüm genom	6383
2	KR537870	ABD	Tüm genom	6383
3	DQ873692	Almanya	Tüm genom	6384
4	MG456601	Uganda	Tüm genom	6383
5	AB083196	Japonya	Tüm genom	6385
6	FN985165	Çin	Tüm genom	6383
7	Z92909	Rusya	Tüm genom	6383
8	KY912162	Slovakya	Tüm genom	6383
9	MH507166	Güney Kore	Tüm genom	6383
10	MF002490	Çin	Tüm genom	6383
11	KU321698	Mısır	Tüm genom	6383
12	KT923126	Brezilya	Kılıf Protein	780
13	KX424990	Hindistan	Kılıf Protein	764
14	HQ593626	İran	Kılıf Protein	609
15	MG018614	Sırbistan	Kılıf Protein	592
16	JN381943	İspanya	Kılıf Protein	480



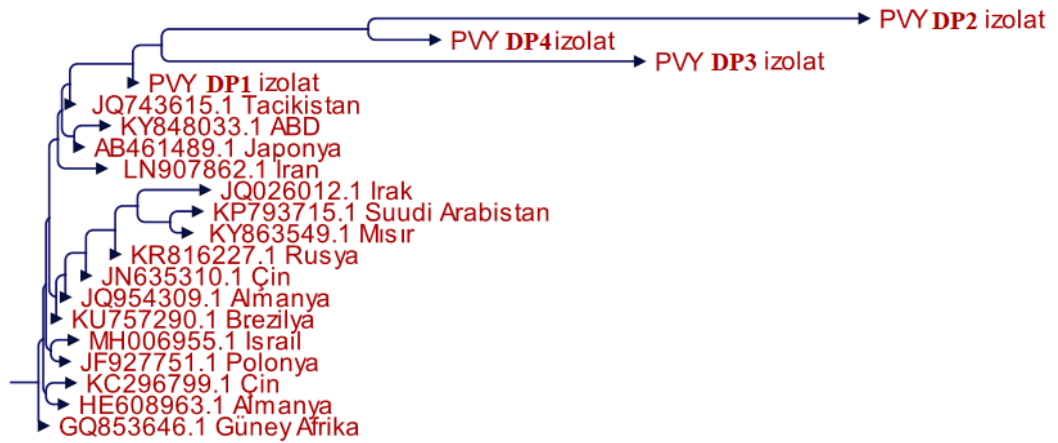
Şekil 4.13. ToMV (DT1, DT2, DT3, DT4 izolatları) kılıf protein genlerinin CLC Main Workbench 8.1 programı yardımı ile yapılmış çoklu nükleotit dizi karşılaştırması

ToMV'ye ait 4 izolatın kılıf protein gen nükleotitlerinin dünyadaki 16 ToMV izolatı ile yapılan karşılaştırmasında DT1 ve DT2 izolatlarının 1'er nükleotidinde yer değiştirme mutasyonu olduğu gözlenmiştir. DT3 ve DT4 izolatlarında ise 5'er yer değiştirme mutasyonu olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.13).

#### 4.2.4.2. PVY izolatlarının moleküler karakterizasyonu

Tespit edilen PVY'ye ait DP1, DP2, DP3, DP4 izolatlarının kılıf protein geni, gen bankasına MK992250-MK992253 kayıt numarası ile girişi yapılmıştır.

Filogenetik ağaç CLC Main Workbench 8.1 programı yardımı ile yapılmıştır. İzolatlar arasındaki nükleotit benzerlik ve farklılıklar ağaçta dallanmalara neden olmuştur. PVY izolatlarının kılıf protein genine ait baz dizisi bugüne kadar gen bankasından yayımlanmış diğer PVY izolatları ile karşılaştırıldığında farklı oranlarda benzerlikler gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.14. PVY (DP1, DP2, DP3, DP4) izolatlarının dünyada tespit edilmiş diğer PVY izolatları ile CLC Main Workbench 8.1 programı aracılığıyla moleküler benzerliğini gösteren 100 tekerrürlü olarak oluşturulmuş filogenetik ağaç

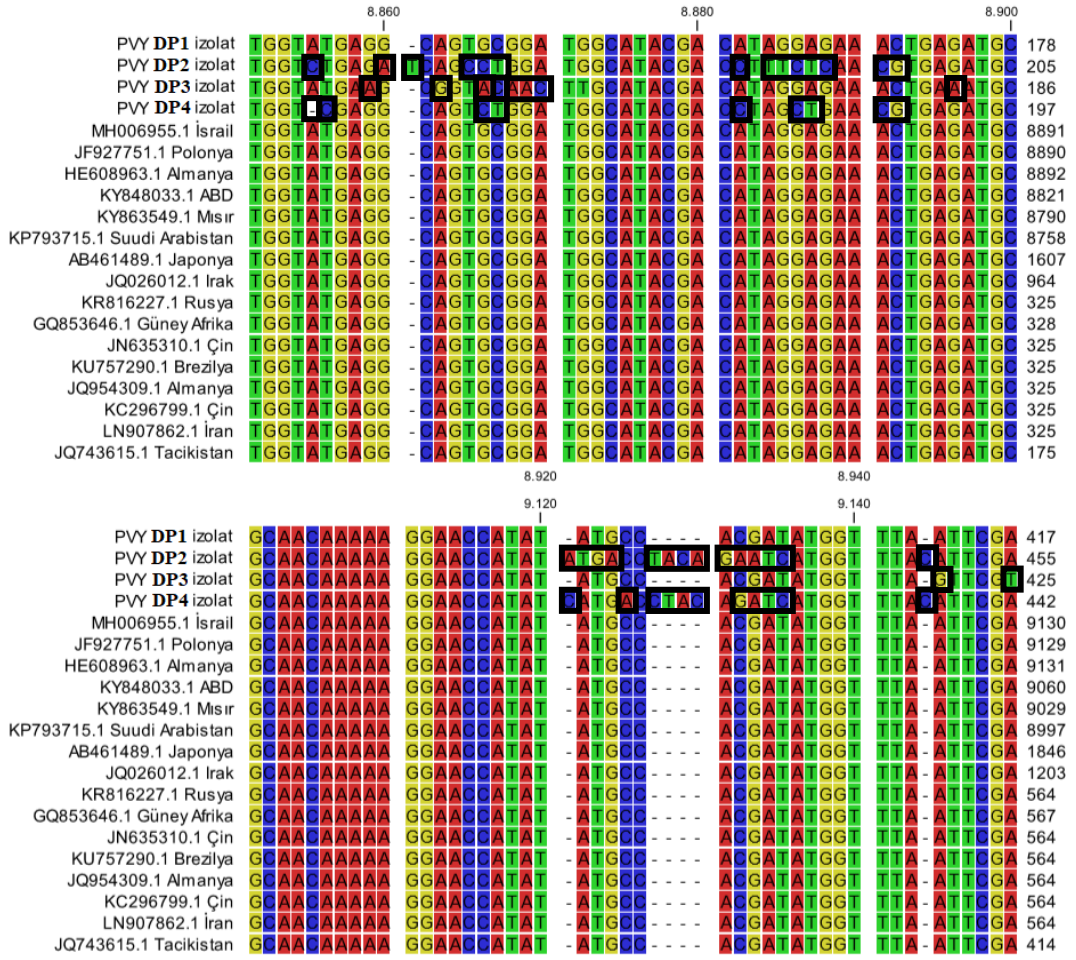
PVY'ye ait DP1 izolatı %98.8 benzerlik oranı ile JQ743615.1 ulaşım numaralı Tacikistan izolatı ile gruplanmıştır. DP2 izolatı ise %88 benzerlik oranı ile KY863549.1 ulaşım numaralı Mısır izolatı ile gruplanmıştır. DP3 izolatı %98.7 benzerlik oranı ile JQ743615.1 ulaşım numaralı Tacikistan izolatı ile gruplanmıştır. DP4 izolatı %94.5 benzerlik oranı ile KU757290.1 ulaşım numaralı Brezilya izolatı

ile gruplanmıştır (Şekil 4.14). Nükleotit karşılaştırmasında kullanılan izolatlar Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Nükleotit karşılaştırmasında kullanılan Gen Bankasında kayıtlı PVY izolatlarına ait ulaşım numarası, ülke, genom yapısı ve gen uzunluğu bilgileri

Sayı	Ulaşım Numarası	Ülke	Gen	Baz uzunluğu (bp)
1	MH006955	İsrail	Tüm genom	9595
2	JF927751	Polonya	Tüm genom	9697
3	HE608963	Almanya	Tüm genom	9699
4	KY848033	ABD	Tüm genom	9633
5	KY863549	Mısır	Tüm genom	9593
6	KP793715	Suudi Arabistan	Tüm genom	9511
7	AB461489	Japonya	Polyprotein ve Kılıf Protein	2394
8	JQ026012	Irak	Kısmi Polyprotein ve Kılıf Protein	1771
9	KR816227	Rusya	Kısmi Kılıf Protein	801
10	GQ853646	Güney Afrika	Kısmi Kılıf Protein	807
11	JN635310	Çin	Kısmi Kılıf Protein	801
12	KU757290	Brezilya	Kısmi Kılıf Protein	804
13	JQ954309	Almanya	Kısmi Kılıf Protein	801
14	KC296799	Çin	Kısmi Kılıf Protein	803
15	LN907862	İran	Kısmi Kılıf Protein	801
16	JQ743615	Tacikistan	Kısmi Kılıf Protein	480





Şekil 4.15. PVY (DP1, DP2, DP3, DP4 izolatları) kılıf protein genlerinin CLC Main Workbench 8.1 programı yardımı ile yapılmış çoklu nükleotid dizi karşılaştırması

PVY'ye ait 4 izolatın kılıf protein gen nükleotidlerinin dünyadaki 16 PVY izolatı ile yapılan karşılaştırmasında DP1 izolatında 2 nükleotitte yer değiştirme mutasyonu olduğu gözlenmiştir. DP2 izolatında ise 14 nükleotit ekleme mutasyonuna uğramışken 34 nükleotidinde yer değiştirme mutasyonu olduğu gözlenmiştir. DP3 izolatında 26 nükleotidinde yer değiştirme mutasyonu olduğu gözlenmiştir. DP4 izolatında ise 7 nükleotit ekleme mutasyonuna uğramışken, 1 nükleotit silme mutasyonu ve 16 nükleotidinde yer değiştirme mutasyonu olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.15).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diyarbakır ili domates alanlarındaki virüslerin belirlenmesini hedefleyen bu çalışma ile ilde yapılmış diğer çalışmalardan farklı olarak moleküler yöntemler kullanılmıştır. 2018 yılında, Domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüsü, Patates Y virüsü, Domates mozaik virüsü, Domates lekeli solgunluk virüsü ve Domates halkalı leke virüsünü belirlemek amacıyla Diyarbakır iline bağlı 17 ilçenin 14'ünde toplam 278 adet domates yaprak örneği alınarak moleküler testte tabi tutulmuştur.

Domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüsünün varlığını araştırmak için PCR yöntemi, Patates Y virüsü ve Domates mozaik virüsünün varlığının araştırılması için Multipleks RT-PCR yöntemi, Domates lekeli solgunluk virüsü ve Domates halkalı leke virüsünün varlığını araştırmak için RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Moleküler yöntemler ile testlenen 278 domates yaprağı örneğinden 56 (%20.1)'sının virüs ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Testlenen örneklerin 41'inin Domates mozaik virüsü (%14.7), 21'nin Patates Y virüsü (%7.6) ile bulaşık oldukları tespit edilmiş ve 6 örnekte de Domates mozaik virüs + Patates Y virüs (%2.2) ile karışık enfeksiyon tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında yapılan testler sonucunda örneklerde Domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüsü, Domates lekeli solgunluk virüsü ve Domates halkalı leke virüs tespit edilmemiştir.

Alınan örneklerden Domates mozaik virüsü %53.8 bulaşıklık oranıyla en yüksek bulunduğu ilçe Çüngüş olurken, Patates Y virüs %18.8 bulaşıklık oranıyla en yüksek bulunduğu ilçe Bismil olmuştur. Lice, Hazro, Hani ilçelerinden alınan domates örneklerden araştırılan virüsler tespit edilmemiştir. Sur, Kayapınar, Eğil ve Dicle ilçelerinde ToMV tespit edilir iken, PVY tespit edilmemiştir.

Tespit edilen her virüse ait 4'er izolat seçilerek kılıf protein genleri karakterize edilmiştir. Domates mozaik virüsü (Gen bankası Ulaşım No. MK945664-MK945667) ve Patates Y virüsü (Gen bankası Ulaşım No. MK992250-MK992253) Gen Bankasına kayıtları gerçekleştirilmiştir.

Domates mozaik virüsüne ait DT1, DT2, DT3 ve DT4 izolatları dünyadaki 16 farklı izolatın nükleik asitleri ile %99.2-99.8 arasında değişen oranlarda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Patates Y virüsüne ait DP1, DP2, DP3 ve DP4 izolatları dünyadaki 16 farklı izolatın nükleik asitleri ile %88-99.8 arasında değişen oranlarda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Bu çalışma ile Domates mozaik virüsü ve Patates Y virüsü Diyarbakır ili domates alanlarında ilk defa rapor edilmiştir.

Dünya’da ve ülkemizde domates üretim alanlarında verim ve kalite kayıplarına neden olan virüs hastalıkları ile mücadele zamanında ve koşullara uygun yapılması gerekmektedir. Çünkü kültür bitkilerinin üretiminde verim ve kaliteyi artırmanın yollarında biri de bitkiyi hastalık ve zararlılardan korumaktır. Nitekim domateste çok ciddi virüslerin olması bu çalışmada tespit ettiğimiz virüslerin önemsiz olduğu düşüncesine neden olmaktadır. Fakat domateste gözlemlenen bu virüslerin ne kadar ciddi kayıplara neden olabileceği bu çalışmada görülmüştür. Özellikle Domates mozaik virüsü’nün her ne kadar Broadbent 1976 yılında yaptığı çalışmada verimi %20’ye kadar düşürdüğü bildirilmiş olsa da bu kaybın çok daha fazla olduğu görülmüştür. Enfekte olmuş domatesler, açık ve koyu yeşil yapraklarda beneklenme, genç yapraklarda ve meyvede deformasyona neden olduğu, bitkiler genellikle ciddi şekilde bodurlaştığı ve verim büyük ölçüde azaldığı görülmüştür. Domates mozaik virüsü bu denli yaygın olmasının nedeninin kültürel işlemlerle kolayca yayılıyor olması; ayrıca tohumlara ve toprağa da bulaşabilir olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu virüsün yayılmasının engellenmesi için ciddi önlemlerin alınması gerekmektedir. Özellikle tohumla taşınabildiği için temiz tohum kullanılması, virüsün toprağa bulaşabilmesinden dolayı virüsün bulunduğu alanda konukçusu olmayan kültür bitkilerine yönelmek gerekmektedir.

Domates mozaik virüsü’nün doğal bir vektörü bilinmemektedir (Broadbent, 1965a, 1965b; Broadbent ve Fletcher, 1966). Çekirge deneysel olarak taşınmasına rağmen bilinen hiçbir doğal spesifik vektörü yoktur. Domates mozaik virüsü nadiren de olsa küsküt türleri ile taşınabilmektedir (Schmelzer, 1956). Bu virüsü taşıyan vektörlerin belirlenmesi ve bunun kapsamlı bir çalışma ile ortaya konulması hastalık ile mücadelede önem arz etmektedir. Domates mozaik virüsünün vektörlerinin tespit edilmesi ve mücadele olanaklarının araştırılması gerekmektedir.

Patates Y virüsünün tohumla taşınmadığı dikkate alındığında virüsün taşınmasının en büyük nedeni olan yaprak bitleri ile mücadeleyi önemli kılmaktadır. Vektörler ile mücadele edildiği takdirde bu virüsün yayılımında ciddi azalmalar olacaktır. Vektöre ve virüse konukçu olabilecek yabancı ot ile mücadelenin yapılması ve bu virüslere toleranslı çeşitler kullanılması hem virüsün yayılmasını engelleyeceği hem de bu virüsten kaynaklı verim ve kalite etkilerini azaltacaktır.



## 6. KAYNAKLAR

- Abak, K., Düzyaman, E., Şeniz, V., Gülen, H., Pekşen, A. & Kaymak, H.Ç. (2010). Sebze Üretimini Geliştirme Yöntem ve Hedefleri (pp 477-492). *Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, 11-15 Ocak 2010, Ankara.
- Abu-Shirbi, A., Mansour, A., Salem, N. & Al-Tamimi, N. (2012). Viral diseases affecting open field tomato in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*. 173(800), 1-14.
- Adkins, S. (2000). *Tomato Spotted Wilt Virus* Positive Steps Towards Negative Success. *Molecular Plant Pathology*. 1(3), 151-157.
- Alavi, S. and Massumi, H. (2014). Distribution, biological properties and genetic diversity of Iranian *tomato mosaic virus* isolates. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 50 (1), 37-52.
- Anonim, (2018a). Virüs taksonomi verileri. [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_9th\\_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna\\_viruses/206/bunyaviridae-figures](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna_viruses/206/bunyaviridae-figures). (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Anonim, (2018b). Virüs taksonomi verileri. [https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv\\_9th\\_Report/Negative-Sense-Rna-Viruses-2011/W/Negrna\\_Viruses/206/Bunyaviridae-Figures](https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv_9th_Report/Negative-Sense-Rna-Viruses-2011/W/Negrna_Viruses/206/Bunyaviridae-Figures). (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Anonim, (2018c). Virüs taksonomi verileri. [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/ssdna-viruses/w/geminiviridae/392/genus-begomovirus](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/ssdna-viruses/w/geminiviridae/392/genus-begomovirus). (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Anonim, (2018d). Virüs taksonomi verileri. [https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv\\_Online\\_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Potyviridae/572/Genus-Potyvirus](https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv_Online_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Potyviridae/572/Genus-Potyvirus). (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Anonim, (2018e). Virüs taksonomi verileri. [https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv\\_Online\\_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Potyviridae/572/Genus-Potyvirus](https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv_Online_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Potyviridae/572/Genus-Potyvirus). (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Anonim, (2018f). Virüs taksonomi verileri. [https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv\\_Online\\_Report/Positive-Sense-RnaViruses/W/Virgaviridae/672/Genus-Tobamovirus](https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv_Online_Report/Positive-Sense-RnaViruses/W/Virgaviridae/672/Genus-Tobamovirus). (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Anonim, (2018g). Virüs taksonomi verileri. [https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv\\_Online\\_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Virgaviridae/672/Genus-Tobamovirus](https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv_Online_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Virgaviridae/672/Genus-Tobamovirus). (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Anonim, (2018h). Virüs taksonomi verileri. [https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv\\_Online\\_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Virgaviridae/672/Genus-Tobamovirus](https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv_Online_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Virgaviridae/672/Genus-Tobamovirus). (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Anonim, (2018i). Virüs taksonomi verileri. [https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv\\_Online\\_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Virgaviridae/672/Genus-Tobamovirus](https://Talk.İctvonline.Org/İctv-Reports/İctv_Online_Report/Positive-Sense-Rna-Viruses/W/Virgaviridae/672/Genus-Tobamovirus). (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Aramburu, J., Galipienso, L. & Matas, M. (2006). Characterization Of *Potato Virus Y* Isolates From Tomato Crops İn Northeast Spain. *European Journal Of Plant Pathology*. 115(2), 247-258.

- Azeri, T. (1981). Preliminary report of *tomato spotted wilt virus* (TSWV) and its epidemy on tobacco in the Canakkale region of Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*. 10, 2-3.
- Azeri, T. (1994). Detection of tomato spotted wilt virus in tobacco and tomato cultivars by enzyme linked immunosorbent assay. *Journal of Turkish Phytopathology*. 23(1), 37-46.
- Bayraktar, K. (1973). Sebze Yetiştirme. pp. 169-276. Cilt. I (Sebzeçiliğe Ait Temel Bilgiler). *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova.
- Botermans, M., Verhoeven, J. T. J., Jansen, C. C. C., Roenhorst, J. W., Stijger, C. C. M. M. & Pham, K. T. K. (2009). First report of *Tomato yellow leaf curl virus* in tomato in the Netherlands. *Plant Disease*. 93(10), 1073-1073.
- Bora, T. ve Karaca, G. (1970). Bitki Hastalıkları Surveyi, Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı*, Yayın No: 167, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova.
- Brittlebank, C. C. (1919). Tomato diseases. *Journal of the Department of Agriculture in Victoria*. 17, 1348-1352
- Brunt, A. A. (1986). *Tomato mosaic virüsü*. pp. 181-204. In: M. H. V. Van Regenmortel, Heinz Fraenkel-Conrat (Ed). *The plant viruses*. Springer, Boston, MA.
- Broadbent, L. (1965a) The epidemiology of tomato mosaic: XI. Seed-transmission of TMV. *Annals of Applied Biology*. 56(2), 177-205.
- Broadbent, L., Read, W. H. & Last, F. T. (1965b) The epidemiology of tomato mosaic X. Persistence of TMV infected debris in soil, and the effects of soil partial sterilization. *Annals of Applied Biology*. 55(3), 471-483.
- Broadbent, L. & Fletcher, J. T. (1966). The epidemiology of tomato mosaic: Sources of TMV in commercial tomato crops under glass. *Annals of Applied Biology*, 57(1), 113-120.
- Broadbent, L. (1976). Epidemiology and control of *tomato mosaic virus*. *Annual Review of Phytopathology*. 14(1), 75-96.
- Chrzanowska, M. (1991). New isolates of the necrotic strain of *potato virus Y* (PVY N) found recently in Poland. *Potato Research*. 34(2), 179-182.
- Choi, S. K., Cho, I. S., Choi, G. S. & Yoon, J. Y. (2014). First report of *Tomato spotted wilt virus* in *Brugmansia suaveolens* in Korea. *Plant Disease*. 98(9), 1283-1283.
- Citovsky, V. & Zambryski, P. (2000). Systemic transport of RNA in plants. *Trends in Plant Science*. 5(2), 52-54.
- Cohen, S. & Harpaz, I. (1964). Periodic, rather than continual acquisition of a new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly (*Bemisia Tabaci Gennadius*). *I. Entomologia Experimentalis et Applicata*. 7(2), 155-166.

- Clinton, G. P. (1909). Tomato calico, lima bean, string bean, and muskmelon chlorosis: peach yellows, tobacco and tomato mosaic. *Connecticut Agricultural Experiment Station*. 8, 854
- Czosnek, H., Ber, R., Antignus, Y., Cohen, S., Navot, N. & Zamir, D. (1988). Isolation of *tomato yellow leaf curl virus*, a geminivirus. *Phytopathology*. 78(5), 508-512.
- De Haan, P., Wagemakers, L., Peters, D. & Goldbach, R. (1989). Molecular cloning and terminal sequence determination of the S and M RNAs of *tomato spotted wilt virus*. *Journal of general virology*. 70(12), 3469-3473.
- De Haan, P., Wagemakers, L., Peters, D. & Goldbach, R. (1990). The S RNA segment of *tomato spotted wilt virus* has an ambisense character. *Journal of General Virology*. 71(5), 1001-1007.
- De Haan, P., Kormelink, R., de Oliveira Resende, R., Van Poelwijk, F., Peters, D. & Goldbach, R. (1991). *Tomato spotted wilt virus* L RNA encodes a putative RNA polymerase. *Journal of General Virology*. 72(9), 2207-2216.
- Değirmenci, N. F. & S. Açıkgöz. (2005). Aydın ilinde yaygın olarak kullanılan sertifikalı domates tohumlarındaki bazı viral etmenlerin saptanmasında biyolojik ve serolojik yöntemlerin kullanılması (pp. 379-380). *Türkiye II. Tohumculuk Kongresi*, 9-11 Kasım 2005, Adana.
- Dias, H. F. & Cation, D. (1976). The characterization of a virus responsible for peach rosette mosaic and grape decline in Michigan. *Canadian Journal of Botany*. 54(11), 1228-1239.
- Díez, M. J., & Nuez, F. (2008). Tomato. pp. 249-323. In: Jaime Prohens, Fernando Nuezin (Ed.), *Vegetables II*. Springer, New York, NY.
- Edwardson, J. R. & Christie, R. G. (1997). *Viruses Infecting Peppers and Other Solanaceous Crops*. pp.336. Vol. I and II. University of Florida. Gainesville, FL, USA.
- Erkan, E., (2008). Samsun ili Buğday Üretim Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan Virüslerin Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 102p.
- FAO, (2018a). Dünya bitkisel üretim istatistikleri. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- FAO, (2018b). Dünya bitkisel üretim istatistikleri <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- FAO, (2018c). Dünya bitkisel üretim istatistikleri <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- FAO, (2018d). Dünya bitkisel üretim istatistikleri <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- FAO, (2018e). Dünya bitkisel üretim istatistikleri <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Fenner, F. (1976). The classification and nomenclature of viruses. *Journal of General Virology*. 31(3), 463-470.

- Fidan, Ü. (1995). Virus diseases of vegetables in greenhouses in İzmir and Muğla. *Journal of Turkish Phytopathology*. 24(1), 7-14.
- Fuchs, M., Perry, K. & Golino, D. (2015). Biology and spread of *grapevine red blotch-associated virüs*. pp 269. In: Thomas Esser (Ed.) Research Progress Reports. California Department of Food and Agriculture, Sacramento, CA.
- German, T. L., Ullman, D. E. & Moyer, J. W. (1992). Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships. *Annual Review of Phytopathology*. 30(1), 315-348.
- Gibbs, A. (1986). Tobamovirus classification. pp. 167-180. In: M. H. V. Van Regenmortel, Heinz Fraenkel-Conrat (Ed). The plant viruses. Springer, Boston, MA
- Glais, L., Tribodet, M. & Kerlan, C. (2005). Specific detection of the PVYN-W variant of *Potato virus Y*. *Journal of Virological Methods*. 125(2), 131-136.
- Glick, E., Levy, Y. & Gafni, Y. (2009). The viral etiology of tomato yellow leaf curl disease a review. *Plant Protection Science*. 45(3), 81-97.
- Griep, R. A., Prins, M., van Twisk, C., Keller, H. J., Kerschbaumer, R. J., Kormelink, R. & Schots, A. (2000). Application of phage display in selecting *Tomato spotted wilt virüs* specific single-chain antibodies (scFvs) for sensitive diagnosis in ELISA. *Phytopathology*. 90(2), 183-190.
- Grzela, R., Szolajska, E., Ebel, C., Madern, D., Favier, A., Wojtal, I. & Chroboczek, J. (2008). Virulence factor of *potato virus Y*, genome-attached terminal protein VPg, is a highly disordered protein. *Journal of Biological Chemistry*. 283(1), 213-221.
- Günay, A. (1992). Özel Sebze Yetiştiriciliği. pp. 81-91. In: Atilla Günay (Ed.). Cilt 4. Çağ Matbaası, Ankara. 531p
- Guldur, M. E., Marchoux, G. & Yilmaz, M. A. (1995). A new virus destructive on tomatoes growing in Mersin and its provinces: *tomato spotted wilt virus* (TSWV) (pp. 303-305). VII. *Congress of Phytopathology in Turkey*, Cukurova University, Faculty of Agriculture. 26-29 Sep 1995, Adana.
- Güldür, M. E. (1997). Şanlıurfa ili için yeni bir virüs: Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*). *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 1(3), 71-76.
- Gul-Seker, M., Ekinci, H., Ozturk, C. & Elibuyuk, I. O. (2015). Current situation of tomato yellow leaf curl disease (TYLCD) in Antalya, Turkey. *Plant Protection Science*. 51(4), 208-213.
- Harrison, B. D., Finch, J. T., Gibbs, A. J., Hollings, M., Shepherd, R. J., Valenta, V. & Wetter, C. (1971). Sixteen groups of plant viruses. *Virology*. 45(2), 356-363.
- Hämäläinen, J. H., Watanabe, K. N., Valkonen, J. P. T., Arihara, A., Plaisted, R. L., Pehu, E. & Slack, S. A. (1997). Mapping and marker-assisted selection for a gene for extreme resistance to *potato virus Y*. *Theoretical and Applied Genetics*. 94(2), 192-197.

- Matthews, R. E. F. & Hull, R. (2002). Single-Stranded DNA Viruses. pp. 174-180. In: Roger Hull (Ed.). *Matthews' plant virology*. Elsevier's Science Technology Rights Department in Oxford, UK.
- Hollings, M. & Huttinga, H. (1976). *Tomato mosaic virus*. *Descriptions of Plant Viruses*. 156
- Kheyr-Pour, A., Bendahmane, M., Matzeit, V., Accotto, G. P., Crespi, S. & Gronenborn, B. (1991). *Tomato yellow leaf curl virus* from sardinia is a whitefly-transmitted monopartite geminivirus. *Nucleic Acids Research*. 19(24), 6763-6769.
- Kil, E. J., Park, J., Choi, H. S., Kim, C. S. & Lee, S. (2017). Seed transmission of *Tomato yellow leaf curl virus* in white soybean (*Glycine max*). *The Plant Pathology Journal*. 33(4), 424.
- Kim, S. H., Oh, S., Oh, T. K., Park, J. S., Kim, S. C., Kim, S. H. & Lee, H. G. (2011). Genetic diversity of tomato-infecting *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) isolates in Korea. *Virus genes*, 42(1), 117-127.
- Köklü, G., Rojas, A. & Kvarnheden, A. (2006). Molecular identification and the complete nucleotide sequence of a *Tomato yellow leaf curl virus* isolate from Turkey. *Journal of Plant Pathology*. 52(1), 61-66.
- Lapidot, M., Friedmann, M., Pilowsky, M., Ben-Joseph, R. & Cohen, S. (2001). Effect of host plant resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) on virus acquisition and transmission by its whitefly vector. *Phytopathology*. 91(12), 1209-1213.
- Leiser, R. M. & Richter, J. (1978). Purification and some characteristics of *potato virus Y*. *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz*. 14(6), 337-350.
- Liu Wei. (2018). Molecular identification of the infection by Yunnan *tomato chloro virus* and *tomato yellow leaf curl virus*. *Journal of Horticulture*. 45(3), 552-560.
- Marei, E. M. & Magdy, M. (2017). Isolation and characterization of basil mosaic virus in Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 50(13-14), 687-699.
- Mohamed, N. A., Randles, J. W. & Francki, R. I. B. (1973). Protein composition of *tomato spotted wilt virus*. *Virology*. 56(1), 12-21.
- Moriones, E. & Navas-Castillo, J. (2000). *Tomato yellow leaf curl virus*, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Research*. 71(1-2), 123-134.
- Mumford, R. A., Barker, I. & Wood, K. R. (1996). The biology of the tospoviruses. *Annals of Applied Biology*. 128(1), 159-183.
- Novat, N., Pichersky, E., Zeidan, M., Zamir, D. & Czosnek, H. (1991). *Tomato yellow leaf curl virus*: a whitefly-transmitted geminivirus with a single genomic component. *Virology*. 185(1), 151-161.
- Nikolić, D., Vučurović, A., Stanković, I., Radović, N., Zečević, K., Bulajić, A. & Krstić, B. (2018). Viruses affecting tomato crops in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*. 152(1), 225-235.

- Nono-Womdim, R., Swai, I. S., Green, S. K., Gebre-Selassie, K., Laterrot, H., Marchoux, G. & Opena, R. T. (1996). Tomato viruses in Tanzania: identification, distribution and disease incidence. *Journal of the Southern African Society for Horticultural Sciences*. 6(1), 41-44.
- Oraman, M.N. (1968). Sebze ilmi. pp. 117. In: Nail Oraman (Ed.) Ankara Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları. Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Ogawa, T., Tomitaka, Y., Nakagawa, A. & Ohshima, K. (2008). Genetic structure of a population of *Potato virus Y* inducing *potato tuber necrotic ringspot disease* in Japan; comparison with North American and European populations. *Virus Research*. 131(2), 199-212.
- Peralta, I. E., Knapp, S. & Spooner, D. M. (2005). New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: *Solanaceae*) from Northern Peru. *Systematic Botany*. 30(2), 424-434.
- Robaglia, C., Durand-Tardif, M., Tronchet, M., Boudazin, G., Astier-Manificier, S. & Casse-Delbart, F. (1989). Nucleotide sequence of *potato virus Y* (N strain) genomic RNA. *Journal of General Virology*. 70(4), 935-947.
- Romancer, M. L., Kerlan, C. & Nedellec, M. (1994). Biological characterisation of various geographical isolates of *potato virus Y* inducing superficial necrosis on potato tubers. *Plant Pathology*. 43(1), 138-144.
- Roselló, S., Díez, M. J. & Nuez, F. (1996). Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop: The Tomato spotted wilt virus a review. *Scientia Horticulturae*. 67(3-4), 117-150.
- Russo, M., Cohen, S. & Martelli, G. P. (1980). Virus like particles in tomato plants affected by the yellow leaf curl disease. *Journal of General Virology*. 49(1), 209-213.
- Rybicki, E. P., Bridson, R. W., Brown, J. K., Fauquet, C. M., Maxwell, D. P., Harrison, B. D. & Stanley, J. (2000). Family geminiviridae (pp. 285-297). VII. Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 9-13 august, Sydney, Australia
- Geyik, S. (2017). Marmara bölgesindeki domates üretim alanlarında virüs hastalıklarının saptanması üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Hatay, 52p
- Sertkaya, G. & Sertkaya, E. (2004). Incidence and Insect Transmission of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* in Hatay Province of Turkey (pp. 423-428). *I International Symposium on Tomato Diseases*. 20-24 June, Florida, USA.
- Sertkaya, G. & Yılmaz, M. (2017). Hatay İli Örtüaltı Organik Domates Yetiştiriciliğinde Bazı Begomovirüslerin Enfeksiyon Oranları ile Doğal Taşınması ve Diğer Konukçularının Araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 22(1), 1-15.
- Schmelzer, K. (1956). Contributions to the knowledge of virus inhibitors in *Cuscuta* species. *Zygopichia Nitrophila Serrano*. 2(109), 20-22.

- Sikora, E. J., Gudauskas, R. T., Murphy, J. F., Porch, D. W., Andrianifahanana, M., Zehnder, G. W. & Lester, D. F. (1998). A multivirus epidemic of tomatoes in Alabama. *Plant Disease*. 82(1), 117-120.
- Singh, M. & Sing, R.P., (1997). *Potato virus Y* deduction: sensitivy of RTPCR depends on the size of fragment amplified. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 19, 149-155.
- Smith, K. M. (1931). On the composite nature of certain potato virus diseases of the mosaic group as revealed by the use of plant indicators and selective methods of transmission. *Series B, Containing Papers of a Biological Character*. 109(762), 251-267.
- Şevik, M. A. (2007). Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV)'nün Samsun İlinde Domates Üretim Alanlarındaki Yayılış Durumunun ve Bazı Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi. Yayımlanmamış Doktora tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 117s.
- Tas, P. W. L., Boerjan, M. L. & Peters, D. (1977). The structural proteins of *tomato spotted wilt virus*. *Journal of General Virology*, 36(2), 267-279.
- Tang, J., Khan, S., Delmiglio, C. & Ward, L. I. (2014). Sensitive detection of *Tomato ringspot virus* by real-time TaqMan RT-PCR targeting the highly conserved 3'-UTR region. *Journal of virological methods*. 201, 38-43.
- Tekinel, N., Dolar, M. S., Sağsöz, S. & Salcan, Y. (1969). Mersin Bölgesinde ekonomik bakımdan önemli bazı sebzelerin virüsleri üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*. 9(1), 37-49.
- Turhan, P. & Korkmaz, S. (2006). Çanakkale ilinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün serolojik ve biyolojik yöntemlerle saptanması. *Tarım Bilimleri Dergisi*. 12(2), 130-136.
- TÜİK, (2017a.) Türkiye bitkisel üretim istatistikleri <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- TÜİK, (2017b.) Türkiye bitkisel üretim istatistikleri <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (Erişim tarihi: 30/01/2018).
- Urcuqui-Inchima, S. (2001). Potyvirus proteins: a wealth of functions. *Virus Res*. 74, 157-175.
- Varveri, C. (2000). *Potato Y potyvirus* detection by immunological and molecular techniques in plants and aphids. *Phytoparasitica*. 28(2), 141.
- Vandewalle, M. J. & Siegel, A. (1976). A study of nucleotide sequence homology between strains of *tobacco mosaic virus*. *Virology*. 73(2), 413-418.
- Van Regenmortel, M. H. V. (1975). Antigenic relationships between strains of *tobacco mosaic virus*. *Virology*. 64(2), 415-420.
- Van Regenmortel, M. H. V. (1981). Tobamoviruses. pp. 541–564. In: Kurstak, E. (Ed.) *Handbook of Plant Virus Infections and Comparative Diagnosis*. Elsevier, North Holland Medical Press, Amsterdam

- Yazgan, A. & Fidan, S. (1996). Tokat koşullarına uygun kiraz domates (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiforme*) çeşitlerinin belirlenmesi (pp. 19- 23). *GAP I. Sebze Tarımı Sempozyumu*, 7-10 Mayıs, Şanlıurfa.
- Yeşilçöllü, S., Gümüş, M. & Paylan, İ. C. (2011). Ege Bölgesi Çilek Üretim Alanlarındaki Viral Etmenlerin Tanılanması Üzerinde Çalışmalar. *The Journal of Turkish Phytopathology*. 40(1-2-3), 13-20.
- Yılmaz, M. A., Baloğlu, S., Özaslan, M. & Güldür, M. E. (1995). GAP bölgesinde kültür bitkilerinde belirlenen virüsler (pp. 241-250). *GAP Bölgesi Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri Sempozyumu*. 27-29 Nisan, Şanlıurfa.
- Wani, S. H., Sanghera, G. S. & Singh, N. B. (2010). Biotechnology and plant disease control-role of RNA interference. *American Journal of Plant Sciences*. 1(02), 55.
- Walker, M., Chisholm, J., Wei, T., Ghoshal, B., Saeed, H., Rott, M. & Sanfaçon, H. (2015). Complete genome sequence of three tomato ringspot virus isolates: evidence for reassortment and recombination. *Archives of Virology*. 160(2), 543-547.
- Webb, S. (1998). Configuration options for intensity-modulated radiation therapy using multiple static fields shaped by a multileaf collimator. II: Constraints and limitations on 2D modulation. *Physics in Medicine & Biology*. 43(6), 1481.
- Wijkamp, I. & Peters, D. (1993). Determination of the median latent period of two tospoviruses in *Frankliniella occidentalis*, using a novel leaf disk assay. *Phytopathology New York And Baltimore Then St Paul*. 83, 986-986
- Wijkamp, I., Almarza, N., Goldbach, R. & Peters, D. (1995). Distinct levels of specificity in thrips transmission of tospoviruses. *Phytopathology*. 85(10), 1069-1074.



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad Soyad:** Feyzullah YILMAZ

**Doğum Yeri ve Tarihi:** Diyarbakır/24.01.1988

**Adres:** Silvan yolu 7. Km Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü  
Sur/Diyarbakır

**E-Posta:** Feyzullah.yilmaz@tarimorman.gov.tr

**Lisans (Mezun olduğu Fakülte, Bölüm ve Yıl):** Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi  
Bahçe Bitkileri bölümü, 2014

### Mesleki Deneyim ve Ödüller:

- 2009-2011 Aksu/ANTALYA İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık (Memur)
- 2012-2014 GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi  
Müdürlüğü (Tekniker)
- 2015 Diyarbakır Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (Mühendis)