SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SELÇUK
ÜNİVERSİTESİ

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ESKİŞEHİR İLİ DOMATES VE BİBER EKİM ALANLARINDA GÖRÜLEN BAZI VİRÜS HASTALIKLARININ BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONLARI

Faruk ÖNCÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Haziran 2021
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESKİŞEHİR İLİ DOMATES VE BİBER EKİM ALANLARINDA GÖRÜLEN BAZI VİRÜS HASTALIKLARININ BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONLARI

Faruk ÖNCÜ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Serkan YEŞİL

2021, 116+viii Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Filiz ERTUNÇ
Prof. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ
Dr. Öğr. Üyesi Serkan YEŞİL

Bitki virüs hastalıkları sürdürülebilir tarımsal üretimi etkileyen unsurlar arasında yer almaktadır. Bu çalışma, sebze üretiminde önemli bir potansiyele sahip olan Eskişehir ilinde 2019 yılında açık alan ve örtü altı üretim alanlarında, 107 domates (*Solanum lycopersicum* L.) ve 63 biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisinden toplanan 170 yaprak ve meyve örneklerindeki virüs hastalıklarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.DAS-ELISA yöntemi ile serolojik olarak %60,7'sinin enfekteli olduğu saptanan domates örneklerinde enfeksiyon oranına göre sırasıyla, %30,8 oranında *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), %16,8 oranında *Cucumber mosaic virus* (CMV), %8,4 oranında *Potato virus Y* (PVY), %2,8 oranında *Tomato mosaic virus* (ToMV) ve %1,9 oranında *Tobacco mosaic virus* (TMV) enfeksiyonu tespit edilmiştir. Biber örneklerinin enfeksiyon oranına göre sırasıyla %50,8 oranında TSWV, %28,6 oranında CMV, %6,3 oranında PVY ve %3,2 oranında TMV virüslerinin enfeksiyonu sonucunda, %92'sinin enfekteli olduğu saptanmıştır. *Pepino mosaic virus* (PepMV), *Tomato chlorosis virus* (ToCV) ve *Tobacco necrosis virus* (TNV) virüsleri her iki bitki türüne ait örneklerde de DAS-ELISA yöntemi ile tespit edilememiştir.

Seçilen 40 örnekte RT-PCR yöntemi ile, nükleokapsid protein (N) tam gen bölgesi ile TSWV'nin ve kılıf protein (CP) kısmi gen bölgesi ile CMV'nin, moleküler tespiti yapılarak DAS-ELISA sonuçları doğrulanmıştır. 5 TSWV (MW767714, MW767715, MW767716, MW767717, MW767718) ve 2 CMV (MW775034,MW775035) izolatının nükleik asit sekansları belirlenip filogenetik analizler yapılmıştır ve ayrıca sekans bilgileri NCBI Genbank veritabanına kaydedilmiştir. Kendi aralarında %99, ile %99,9 (amino asit: %98,6 ile %100) oranında benzer olan ve filogenetik ağaçta hep birlikte gruplanan TSWV izolatlarının Avrupa izolatları ile yakın ilişki içinde olduğu saptanmıştır. CMV izolatlarından domates izolatının dünya genelinde yaygın olduğu kabul edilen alt grup IA'da, biber izolatının ise Asya kökenli olduğu bilinen alt grup IB'de yer aldığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biber, DAS-ELISA, domates, Eskişehir, RT-PCR, sekans, virüs

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME VIRUS DISEASES ON TOMATO AND PEPPER PLANTS IN ESKİŞEHİR PROVINCE

FARUK ÖNCÜ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN PLANT PROTECTION

Advisor: Assist. Prof. Dr Serkan YEŞİL

2021, 116+viii Pages

Jury
Prof. Dr. Filiz ERTUNÇ
Prof. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ
Assist. Prof. Dr. Serkan YEŞİL

Plant virus diseases are one of the factors affecting sustainable agricultural production. This study was conducted to determine the virus diseases in 170 samples collected from 107 tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and 63 pepper (*Capsicum annuum* L.) plants grown in open field and greenhouses in 2019 in Eskişehir, which has an important potential in vegetable production. It was determined that 60.7% of tomato samples were infected by the serologically based DAS-ELISA method. According to the results, the detected viruses and their infection rates are as follows; 30.8% *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), 16.8% *Cucumber mosaic virus* (CMV), 8.4% *Potato virus Y* (PVY), 2.8% *Tomato mosaic virus* (ToMV), 1.9% *Tobacco mosaic virus* (TMV). It was determined that 92% of the pepper samples were infected as a result of the infection of 50.8% TSWV, 28.6% CMV, 6.3% PVY and 3.2% TMV viruses, respectively, according to the infection rate. *Pepino mosaic virus* (PepMV), *Tomato chlorosis virus* (ToCV) and *Tobacco necrosis virus* (TNV) viruses could not be detected in both plant species by DAS-ELISA method.

DAS-ELISA results were confirmed by molecular determination of the nucleocapsid protein (N) full gene region of TSWV and the coat protein (CP) partial gene region of CMV by RT-PCR method in the selected 40 samples. Nucleic acid sequences of 5 TSWV (MW767714, MW767715, MW767716, MW767717, MW767718) and 2 CMV (MW775034,MW775035) isolates were determined, recorded in the NCBI Genbank database, and phylogenetic analyzes were performed. It has been determined that TSWV isolates, which are 99% to 99.9% (amino acide: 98,6% to 100%) similar among themselves and grouped together in phylogenetic tree, are in close relationship with European isolates. Among the CMV isolates, it has been determined that tomato isolate is in the subgroup IA, which is accepted to be widespread worldwide, and the pepper isolate is in the subgroup IB, which is known to be of Asian origin.

Keywords: DAS-ELISA, Eskişehir, pepper, RT-PCR, sequence, tomato, virus

ÖNSÖZ

Yüksek lisans sürecimin yürütülmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Serkan YEŞİL'e, lisans dönemi stajımın verimli geçmesindeki katkılarından dolayı ve yüksek lisans dönemimde de desteklerini esirgemeyen Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Viroloji Birimi'nden Ali Ferhan MORCA'ya, desteklerinden dolayı Oligomer Biyoteknoloji ve BMLabosis firmalarına, laboratuvarının kapılarını açan Selçuk Üniversitesi Zootekni Bölümü'nden Doç. Dr. İbrahim AYTEKİN'e, fikir ve yardımları için bölüm hocalarıma ve yüksek lisans dönem arkadaşlarıma, maddi desteklerinden dolayı Selçuk Üniversitesi BAP yönetimine, eğitim hayatımın tüm aşamalarında maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

FARUK ÖNCÜ
Konya-2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**

ABSTRACT ..... **ii**

ÖNSÖZ ..... **iii**

İÇİNDEKİLER ..... **iv**

ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **vi**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **viii**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Domates ve Biberin Taksonomisi ve Orijini 1
1.2. Domates ve Biberin Üretimi ve Ekonomik Önemi 2
1.3. Domates ve Biberde Görülen Virüs Hastalıkları 6
1.3.1. Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*- TSWV) 9
1.3.2. Hıyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic virus*- CMV) 11
1.3.3. Patates Y virüsü (*Potato virus Y*- PVY) 13
1.3.4. Tütün mozaik virüsü (*Tobacco mosaic virus*- TMV) 14
1.3.5. Domates mozaik virüsü (*Tomato mosaic virus*- ToMV) 15
1.3.6. Pepino mozaik virüsü (*Pepino mosaic virus*- PepMV) 15
1.3.7. Domates kloroz virüsü (*Tomato chlorosis virus*- ToCV) 16
1.3.8. Tütün nekroz virüsü (*Tobacco necrosis virus*-TNV) 17

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **18**

2.1. Dünyada Domates ve Biber Virüsleri ile İlgili Tespit Çalışmaları 18
2.2. Ülkemizde Domates ve Biber Virüsleri ile İlgili Tespit Çalışmaları 21
2.3. TSWV ve CMV Virüsleri ile İlgili Filogenetik Çalışmalar 26

3. MATERYAL VE METOT **30**

3.1. Materyal 30
3.1.1. Arazi çalışmaları ve bitki örneklerinin toplanması 30
3.1.2. Serolojik test (DAS-ELISA) çalışmasında kullanılan materyaller 30
3.1.3. Moleküler karakterizasyon çalışmasında kullanılan materyaller 31
3.2. Metot 33
3.2.1. Arazi çalışmaları, örnekleme ve hastalık yaygınlık oranı hesabı 33
3.2.2. Serolojik testleme (DAS-ELISA yöntemi) 34
3.2.3. Moleküler karakterizasyon 35

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **44**

4.1. Arazi Çalışmaları, Örnekleme ve Hastalık Yaygınlık Oranı Hesabı 44

4.2. Arazi Çalışmasına Ait Simptomatolojik Gözlemler ve Tespit Edilen Sorunlar 46
4.3. Serolojik Test (DAS-ELISA) Çalışmasına İlişkin Sonuçlar 53
4.3.1. Domates örneklerinin DAS-ELISA sonuçları 57
4.3.2. Biber örneklerinin DAS-ELISA sonuçları 60
4.3.3. Çoklu enfeksiyonların DAS-ELISA sonuçları 64
4.4. Moleküler Karakterizasyon Çalışmalarına İlişkin Sonuçlar 67
4.4.1. RT-PCR sonuçları 67
4.4.2. Filogenetik analiz sonuçları 70

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 80

5.1. Sonuçlar 80
5.2. Öneriler 83

6. KAYNAKLAR 85

7. EKLER 110

8. ÖZGEÇMİŞ 116

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünyada domates ve biberin ülkelere göre 2019 yılı üretim miktarı, ekim alanı ve verim sıralamaları.....3

Çizelge 3.1. İl ve ilçe geneli bitki türüne göre örtü altı ve açık alandan toplanan örnek sayısı.....30

Çizelge 3.2.DAS-ELISA'da kullanılan antiserumlar (ELISA kitleri) ve sulandırma oranları.....31

Çizelge 3.3. PCR çalışmalarında kullanılan primerlerin hakkında bilgiler.....32

Çizelge 3.4. PCR protokolüne ait reaktif miktarları (sol kolon) ve sıcaklık döngüsü (sağ kolon).....39

Çizelge 3.5. Filogenetik analizde kullanılan CMV izolatlarının bilgileri.....41

Çizelge 3.6.Filogenetik analizde kullanılan TSWV izolatlarının bilgileri.....42

Çizelge 4.1. İl ve ilçe genelinde bitki türü ve alan tipine göre; incelenen alan sayısı ve büyüklüğü (da), örnek alınan alan sayısı ve örnek sayısı, hastalık yaygınlık oranı (%)...45

Çizelge 4.2. Genel toplama göre il ve ilçe genelinde yaygınlık oranı.....45

Çizelge 4.3. Bitki türüne, alan tipine göre DAS-ELISA testi sonucu pozitif örnek sayısı54

Çizelge 4.4.İlçelere ve alan tipine göre domates örneklerinin DAS-ELISA test sonuçları 57

Çizelge 4.5.İlçelere ve alan tipine göre biber örneklerinin DAS-ELISA testi sonuçları..61

Çizelge 4.6. DAS-ELISA test sonuçlarına göre tekli, ikili ve üçlü virüs enfeksiyonu görülen örnek sayıları.....64

Çizelge 4.7. RT-PCR yapılan örnekler hakkında bilgiler 68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. DAS-ELISA yönteminde örnek yüklenmiş mikroplaka (a), pozitif örnekli (sarı kuyucuklar) mikroplaka (b) ve ELISA okuyucusu (c) 35

Şekil 3.2. NCBI'de TSWV S-RNA RefSeq'ı üzerinden primer tasarımı 38

Şekil 4.1. Domateste gözlemlenen viral simptomlar 48

Şekil 4.2 Biberde gözlemlenen viral simptomlar..... 49

Şekil 4.3. RT-PCR yapılan TSWV örneklerinin agaroz jel görüntüsü (M: Marker;1-20: Örnekler)..... 68

Şekil 4.4. RT-PCR yapılan CMV örneklerinin agaroz jel görüntüsü (M: Marker;1-20: Örnekler)..... 68

Şekil 4.5. Dizi analizi için RT-PCR'ı tekrarlanan örneklerin agaroz jel görüntüsü 69

Şekil 4.6. TSWV'nin N gen bölgesine göre Eskişehir izolatlarının Türkiye'deki ve dünyadaki çeşitli izolatlar arasındaki yerini gösteren filogenetik ağaç..... 71

Şekil 4.7. TSWV izolatlarının nükleik asit (alt) ve amino asit (üst) benzerlik oranı matrisi 74

Şekil 4.8. TSWV izolatlarının N gen bölgesinin kısmi nükleik asit dizilimi (605. ile 726. baz arası)..... 74

Şekil 4.9. CMV'nin CP gen bölgesine göre Eskişehir izolatlarının Türkiye'deki ve dünyadaki çeşitli izolatlar arasındaki yerini gösteren filogenetik ağaç..... 75

Şekil 4.10. CMV izolatlarının nükleik asit (alt) ve amino asit (üst) benzerlik oranı matrisi 79

Şekil 4.11. CMV izolatlarının CP gen bölgesinin kısmi nükleik asit dizilimi 79

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

µl	Mikrolitre
bp	Baz Çifti (Base Pair)
da	Dekar
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
nt	Nükleotid
ºC	Santigrat derece
pH	Çözeltinin asitlik bazlık seviyesi (Power of Hydrogen)
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı (Revolutions Per Minute)
sn	Saniye
w/v	Ağırlık/Hacim
ha	Hektar

KISALTMALAR

CMV	*Cucumber mosaic virus*
CP	CMV kılıf proteini (Coat protein)
DAS-ELISA	Double Antibody Sandwich-ELISA
DNA	Deoksiriboznükleik Asit
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
N	TSWV nükleokapsid proteini (Nucleocapsid protein)
OD405	405 nm'deki absorbans değeri (Optical density at 405 nm)
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PepMV	*Pepino mosaic virus*
PVY	*Potato virus Y*
RNA	Ribonükleik asit
RT-PCR	Reverse Transcription PCR
TMV	*Tobacco mosaic virus*
TNA	Toplam nükleik asit
TNV	*Tobacco necrosis virus*
ToCV	*Tomato chlorosis virus*
ToMV	*Tomato mosaic virus*
TSWV	*Tomato spotted wilt virus*
vb.	Ve benzeri

1.GİRİŞ

1.1.Domates ve Biberin Taksonomisi ve Orijini

Dünyada besleyici gıdadan yoksun milyonlarca insan ve giderek artan sayıda obeziteden muzdarip insan vardır. Farklılıklara sahip insan toplulukları, değişen dünya koşulları ve artan nüfus karşısında, gelecekte gıda üretim sistemlerimizi daha çeşitli, daha çevreci, daha ulaşılabilir ve sürdürülebilir hale getirmemiz gerekmektedir. İncelenen 288 bitki familyası içerisinde 2319 cinse ait, 7039 yenilebilir bitki türünden sadece 417 tür, FAO'nun listelerinde mahsül olarak nitelendirilmektedir (Antonelli ve ark., 2020).

Başta gıda olmak üzere ilaç, alkoloid, süs amaçlı kullanımı olan birçok türe sahip familyalardan birisi de Solanaceae familyasıdır. Kapalı tohumlular (Angiospermae) içinde yaklaşık olarak 100 cins ve 3000-4000 tür ile aşırı çeşitliliğe sahip bir familyadır (Grandillo ve ark., 2011; Samuels, 2015). En büyük 10 bitki cinsinden biri olan *Solanum* L. cinsi içerisinde yer alan domates (*Solanum lycopersicum* L.) ve *Capsicum* L. cinsi içerisinde yer alan biber (*Capsicum annuum* L.) Solanaceae familyasına ait bitkilerdendir. Domatesin isimlendirilmesinde farklı isimler (örneğin *Lycopersicon esculentum*) geçmişte kullanılmış olsa da günümüzde taksonomistler ve ıslahçılar domatesi *Solanum* L. cinsi içerisinde kabul etmekte ve taksonomik veri tabanlarında *Solanum lycopersicum* L. olarak geçmektedir (Grandillo ve ark., 2011; Mongkolporn ve Taylor, 2011; Samuels, 2015; ITIS, 2020).

Solanum L. cinsi içerisinde yaklaşık 1350 tür bulunmaktadır ve kültüre alınan domates türünün yer aldığı takson basamağında 13 farklı tür vardır. *Capsicum* L. cinsi içerisinde 37 yabani taksondan 5'i kültüre alınmıştır. Kültüre alınanlarla ilişkili olan veya kültüre alınmamış olan türler, farklı iklimlerde/olumsuz toprak koşullarında yetiştiricilik, hastalık/zararlı dayanıklılığı gibi çeşitli konularda yapılacak çalışmalar için genetik kaynak vazifesi görmektedir (Dempewolf ve ark., 2014; Samuels, 2015; Khoury ve ark., 2020).

Domates ve biberin kültüre alınma süreci, arkeolojik ve genetik araştırmalara göre günümüzden 6000 yıl önce Aztek (Orta Amerika) ve İnka (Güney Amerika) topraklarında başlamıştır ve bu topraklar anavatanları olarak kabul edilmektedir. Colombus'un Amerika kıtasını keşfi ile Avrupa kıtasının tanıdığı, ilk zamanlarda çiçeği için dikilen ve zehirli olduğu düşünülen domates ve acı tadı nedeniyle Eski Dünya'da baharat olarak kullanılmakta olan karabiber (*Piper nigrum* L.)'e benzetilen biber, 16. yüzyıldan itibaren Avrupa mutfak kültürünün önemli bir parçasını oluşturmaya başlamışlardır (Uhri, 2011). Domates, Osmanlı İmparatorluğu zamanında Halep'e getirildikten sonra Anadolu'ya

Adana civarından yayılmıştır (Güvenç, 2017). Biber, Orta Asya'daki ticaret yolları vasıtasıyla Hatay-Halep civarına getirilmiş ve buradan Anadolu'ya, sonrasında İstanbul üzerinden Balkanlara ve Orta Avrupa'ya yayılmıştır (Andrews, 1999).

1.2.Domates ve Biberin Üretimi ve Ekonomik Önemi

Farklı tiplerde domates (sırık, oturak, pembe, salkım, çeri, kokteyl, vb.) ve biber (sivri, dolmalık, çarliston, üçburun, kapya, cin, şili, jalapeno, vb.) varlığı üretim ve tüketimde çeşitlilik sağlamaktadır. Sofralık ve sanayi tipinde açık alanda veya örtü altında üretimi yapılan domates ve biber, taze tüketiminin yanında kullanım alanındaki çeşitlilik nedeniyle farklı şekillerde (salça, sos, konserve, baharat, turşu, püre, soyulmuş, doğranmış, kurutulmuş, reçel, meyve suyu, toz, vb.) tüketilebilmektedir. Ayrıca domates ve biberdeki bazı maddelerle ilişkili olarak boya, kozmetik ve ilaç konularında çalışmalar yapılmaktadır (Ertürk ve Çirka, 2014; Strati ve Oreopoulou, 2014; Duman, 2016; Costa ve Heuvelink, 2018; Baenas ve ark., 2019; Mitrea ve ark., 2020)

Sağlık açısından, %95'i su olan domates ve acımsı tadıyla bilinen biber, yüksek miktarda çeşitli vitamin (A, B, C, E, vb.), mineral (potasyum, fosfor, magnezyum, vb.) karotenoid (likopen, β-karoten, vb.), alkolid (kapsaisin, tomatin, vb.), organik asit, fenolik bileşik ve benzeri fitokimyasalları içermelerinden dolayı anti-oksidant ve anti-inflamatuar etki gösterebilmektedirler. Bileşenlerinin bazı kanser, kalp damar, romatizma ve sinir hastalıklarında önleyici ve tedavi edici etki ortaya çıkardığı bilinmektedir (Raiola ve ark., 2014; Sönmez ve Ellialtıoğlu, 2014; Gölükçü ve ark., 2016; Durmuş ve ark., 2018; Saleh ve ark., 2018; Szabo ve ark., 2018; Baenas ve ark., 2019; Yaşar ve İnanç, 2019)

Dünyada yaş sebze üretiminde, en çok üretilen ürün olması nedeniyle domates ilk sırada bulunurken biber yedinci sıradadır. Ancak her ikisi de ülkemiz için kritik öneme sahip ürünlerdendir (UİB, 2019). Çizelge 1.1'de FAO'nun en güncel (2019 yılına ait) verileri kullanılarak domates ve biberin ilk 5 ülkeye göre üretim miktarı, ekim alanı ve verim sıralamaları gösterilmiştir. Türkiye her iki bitki türünde de üretim miktarı ve ekim alanında ilk 5 ülke arasında yer almasına karşın verim konusunda aynı başarıya sahip değildir ve benzer iklime sahip Akdeniz havasındaki diğer ülkelerin (İtalya, İsrail, Lübnan, Yunanistan, Filistin, vb.) gerisindedir. Öte yandan, modern tarım teknolojilerinin kullanıldığı Orta ve Kuzey Avrupa ülkelerinde üretimde yüksek verim elde edilmektedir. Ancak örtü altı varlığında dünyada dördüncü, Avrupa'da İspanya'dan sonra ikinci sırada

olan ülkemiz, büyük bir potansiyel barındırmaktadır (Abak, 2016; FAOSTAT, 2020; TOB, 2020).

Çizelge 1.1. Dünyada domates ve biberin ülkelere göre 2019 yılı üretim miktarı, ekim alanı ve verim sıralamaları

Bitki	Sıralama	Üretim miktarı (ton)	Ekim alanı (ha)	Verim (ton/ha)
Domates	1	Çin (62 milyon)	Çin (1 milyon)	Hollanda (505)
	2	Hindistan (19 milyon)	Nijerya (836 bin)	Belçika (473)
	3	Türkiye (12 milyon)	Hindistan (781 bin)	Finlandiya (449)
	4	ABD (10 milyon)	Türkiye (181 bin)	İsveç (422)
	5	Mısır (6 milyon)	Mısır (173 bin)	Danimarka (392)
	33	-	-	Türkiye (70)
Biber	1	Çin (19 milyon)	Çin (798 bin)	Belçika (266)
	2	Meksika (3 milyon)	Endonezya (300 bin)	Hollanda (250)
	3	Türkiye (2,6 milyon)	Meksika (149 bin)	Birleşik Krallık (234)
	4	Endonezya (2 milyon)	Nijerya (99 bin)	Almanya (126)
	5	İspanya (1 milyon)	Türkiye (92 bin)	Finlandiya (102)
	28	-	-	Türkiye (28)

Domates ve biber, dünya çapında ekonomik açıdan önemli ürünlerdir. Ülkemizde hem örtü altında hem de açık alanda yetiştiriciliğe uygun iklim koşullarına sahip olması nedeniyle yıl boyunca üretim yapılabilmektedir. 2019 verilerine göre ülkemizde kişi başı tüketim yaklaşık olarak domateste 110 kg, biberde 25 kg'dır (Güvenç, 2019; TEBGE, 2020; TÜİK, 2020).

Türkiye'de 2019 yılı verilerine göre 37 milyon hektar tarım alanın 790 bin hektarı sebze alanı olarak kullanılmıştır ve 23,2 milyon tonu açıkta, 7,8 milyon tonu örtü altında olmak üzere 31 milyon ton sebze üretimi (50 milyar TL) gerçekleşmiştir. Yaklaşık olarak 173 bin hektarda 12 milyon ton domates (20 milyar TL), 792 bin dekarda 2,5 milyon ton biber (6 milyar TL) üretilmesine karşın biberde 47 bin ton, domateste 125 bin ton üretim kaybının yanında 1,5 milyon ton domates ve 230 bin ton biber taşınma, işlenme ve depolama aşamalarında kayba uğramıştır (TOB, 2020; TÜİK, 2020).

Yıllara göre değişmekle birlikte yaklaşık olarak %30'u örtü altında, %70 açıkta yetiştirilen domates; ülkemizde toplam sebze üretiminin %40-45'ni, örtü altı sebze üretiminin %50'sini (ilk sırada) oluşturmaktadır. 2019 yılında örtü altında 4 milyon ton domates üretilirken 749 bin ton üretilen biber ise örtü altı sebze üretiminin %9'nu oluşturmaktadır ve geçmiş yıllara göre üretim miktarı örtü altında hızla artmaktadır (Güvenç, 2019; TEBGE, 2020; TÜİK, 2020).

Son on yılda örtü altı işletme büyüklüğü iki katına yükselmiştir ve toplamda 790 bin dekara ulaşmıştır. Örtü altı sebze üretimde %48'lik paya sahip Antalya ilk sırada yer

alır, ardından Mersin (%16), Adana (%13), Muğla (%9) illeri gelmektedir. Bu dört ildeki üretim, toplam örtü altı üretimimizin yaklaşık %86'sını karşılamaktadır. Domates ve biber üretiminde en önemli üç bölge Akdeniz, Ege ve Marmara'dır. 2019 yılı verilerine göre domates üretiminde ön plana çıkan ilk üç il sırasıyla Antalya, Bursa, Mersin, biber üretiminde ise Antalya, Mersin, Çanakkale'dir (TEBGE, 2020; TOB, 2020; TÜİK, 2020).

Eskişehir, içinde bulunduğu Doğu Marmara istatistiki bölgesindeki iller (Bursa, Bilecik, Kocaeli, Sakarya, Düzce, Bolu, Yalova) arasında toplamda en fazla tarım alanına sahip ildir ve toplam sebze üretim alanı açısından Bursa'dan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Bu bölge içerisinde Eskişehir, domates üretim miktarında çok az bir farkla Bilecik'ten sonra üçüncü sırada, biber üretim miktarında Bursa'dan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Eskişehir ili 2019 yılı verilerine göre Türkiye'de, domates üretiminde 98 bin ton sofralık, 2 bin ton salçalık olmak üzere 100 bin ton (14 bin da) ile 23'ncü; 4 bin ton kapya ve dolmalık, 8 bin ton sivri olmak üzere biber üretiminde de 16 bin ton (3 bin da) ile yine 23'ncü sıradadır. Eskişehir ili, verim konusunda domateste (6,8 ton/da) 15'nci sırada, biberde (4 ton/da) 4'ncü sıradadır ve her ikisinde de Türkiye ortalamasının (4,8 ton/da-2 ton/da) üzerindedir (TÜİK, 2020).

2019 verilerine göre 5,5 milyon dekar tarım alanının 100 bin dekarı sebze üretim alanı olan Eskişehir, 3879 dekar örtü altı üretim alanı ile Türkiye genelinde 11'nci sıradadır ve il geneli 35 mahallede 982 üretici örtü altı yetiştiricilik yapmaktadır (EİTOM, 2019; TOB, 2020; TÜİK, 2020). Sakarya havzasının bir parçası olan Orta Sakarya Vadisi'nin içerisinden geçen Sakarya nehri nedeniyle çevre ilçelerde mikroklima özelliği görülmektedir ve bu durum örtü altı tarımın gelişmesine katkı sağlamaktadır. Eskişehir ilinde mikroklima özelliği görülen Sarıcakaya (1770 da) ve Mihalgazi (1510 da) ilçeleri en fazla örtü altı alanına sahip ilçelerdir. Örtü altı alana sahip ilçeler (14 ilçeden 9'u) arasında üçüncü sırada olan Tepebaşı (434 da) ilçesi dışındakiler, 100 dekar altında örtü altı alanına sahiptirler (BEBKA, 2015b; EİTOM, 2019; TÜİK, 2020).

Eskişehir ilinde domates biber üretiminde örtü altında Sarıcakaya ve Mihalgazi ön plana çıkarken açık alanda üretimde ise Odunpazarı ve Tepebaşı ilçeleri ön plana çıkmaktadır. Nitekim Sarıcakaya her iki üründe toplam üretimin yaklaşık %40'nı karşılayabilmektedir. Tepebaşı ve Odunpazarı ilçelerinin toplam üretime domateste %40, biberde %25 katkısı olmaktadır (TÜİK, 2020).

Eskişehir ilinde üretim miktarı ve ekim alanı bakımından domateste Sarıcakaya (42270 ton-4310 da), Tepebaşı (23898 ton-4480 da), Odunpazarı (20954 ton-3780 da), Mahmudiye (3420 ton-160 da), Mihalgazi (3000 ton- 270 da), Seyitgazi (1588 ton-525 da)

ve biberde Sarıcakaya (9031 ton-1515 da), Mihalgazi (2406 ton-412 da), Odunpazarı (2309 ton-689 da), Tepebaşı (2204 ton-1030 da) ilçeleri ön plana çıkmaktadır. Diğer ilçelerde üretim düşük miktarlarda gerçekleştirilmektedir (TÜİK, 2020).

Ürün çeşitliliğin bol olduğu Sarıcakaya ve Mihalgazi'de başta domates olmak üzere üretilen ürünlerin büyük bir bölümü İstanbul ve Ankara'ya gönderilmektedir. Ayrıca Sarıcakaya ve Mihalgazi sayesinde Eskişehir, bazı ürünlerde (kuşkonmaz, roka, tere, vb.) Türkiye'de en önemli üretici konumundadır. Eskişehir'de domates üretimi, jeotermal su kaynaklarının varlığı sayesinde topraksız tarım seralarında da yapılmaktadır. Bölgede sebze üretiminin daha da artması için uygulamalar, tedbirler ve projeler üzerinde çalışmalar devam etmektedir (BEBKA, 2015b; 2015a; EİTOM, 2018; 2019; TÜİK, 2020).

Tüketici davranışlarındaki değişimler sonucunda, özellikle AB ülkeleri başta olmak üzere, dünyada ve ülkemizde bilinçli tüketicilerin sayısı giderek artmaktadır. Bu nedenle meyve sebze üretimden tüketimine kadar olan süreç ile ilgili olarak GLOBALG.A.P. (GAP: Good Agricultural Practices), İTU (İyi Tarım Uygulamaları), Organik Tarım, IPM (Integrated Pest Management: Zararlılarla Entegre Mücadele), IDM (Integrated Disease Management: Hastalıklarla Entegre Mücadele); ICM (Integrated Crop Management: Entegre Ürün Yönetimi) gibi çeşitli protokoller, uygulamalar, standartlar ve yöntemler benimsenmektedir. Bu çalışmalarla; insan, hayvan ve çevre sağlığının gözetildiği, gıda güvenliğinin sağlandığı, izlenebilir ve sürdürülebilir bir tarımsal sistem amaçlanmaktadır. Ülkemiz, dünyadaki bu değişime ortak olarak birçok konuda sürdürülebilir tarım sistemlerini benimsemeye ve giderek artan hızda uygulamaya başlamıştır (Engindeniz, 2009; Aydın-Eryılmaz ve Kılıç, 2018; Dal ve Kızılaslan, 2019; Eryılmaz ve ark., 2019).

Türkiye, içinde bulunduğu coğrafyanın ekolojik koşulları ve iklim özellikleri, mevcut potansiyeli ve uygulamalardaki yenilikler neticesinde yaş sebze meyve ticaretinde, üretici ülkeler arasında 4'ncü sırada olması nedeniyle dünyada önemli bir ülke konumundadır ve birçok üründe ilk sıralarda yer almaktadır. Türkiye sebze meyve dış ticaretinde ihracatın ithalatı fazlasıyla karşıladığı bilinmektedir. Üretilen sebze miktarı iç pazarın talep ettiğinden fazla olması sebebiyle dış pazarda değerlendirilmesi önemli bir konudur (Bashimov, 2016; Everest ve ark., 2019; Güvenç, 2019; UİB, 2019).

Türkiye'nin yaş sebze ihracatında ilk sırada yer alan domates, karşılaştırmalı üstünlük durumu ve rekabet gücünü giderek arttırması nedeniyle en önemli ihracat ürünümüzdür. Yıllara göre değişmekle birlikte ülkemizde taze domates ihracat miktarı yılda yaklaşık 500 bin tondur ve bu miktar sebze ihracatının %50'sini oluşturmaktadır. Geçmiş yıllara göre ihracat rakamlarında artış olsa da toplam domates üretiminin %5'i

ihracatta değerlendirilmektedir. Domates daha çok Ortadoğu, Avrupa ve Rusya pazarlarına ihraç edilmektedir ve ayrıca düşük miktarlarda taze, soyulmuş ve salça halinde ithal edilmektedir. Dünya domates ihracatında 1993-2018 verilerine göre sırasıyla ilk üçte Meksika, İspanya ve Hollanda yer alırken Türkiye dördüncü sıradadır, ithalatta ise sırasıyla ABD, Almanya, Fransa ve Rusya yer almaktadır (Güvenç, 2019; UİB, 2019; FAOSTAT, 2020; TEBGE, 2020).

Türkiye'de yaş sebze ihracatında domatesten sonra ikinci sırada gelen biberin üretim miktarındaki artışa paralel olarak ihracatta miktar ve değer artışı yaşanmaktadır ve rekabet gücünde avantajlı konuma yükselmektedir. Dünya taze biber ihracatında 1993-2018 verilerine göre sırasıyla ilk üçte Meksika, İspanya, Hollanda yer alırken Türkiye ilk 10 ülke arasındadır, ithalatta ise sırasıyla ABD, Almanya, Birleşik Krallık, Fransa ve Kanada yer almaktadır (TB, 2017; UİB, 2019; FAOSTAT, 2020; Güvenç, 2020).

Domates ve biber üretiminin sürdürülebilir olması, verimliliğin arttırılması ve ticari potansiyellerinin korunması için; modern tarım tekniklerinin yaygınlaşması, üretimde standardizasyonun sağlanması, iç ve dış piyasada aranan çeşitlerin ıslah edilmesi, hastalık ve zararlılarla etkili mücadele yapılması, yetiştiricilik yapılan ortam ve çevresel şartların iyi analiz edilmesi gibi bazı konulara dikkat edilmelidir (Abak ve ark., 2010; Sönmez ve Ellialtıoğlu, 2014; Kandemir ve ark., 2016; Özcan, 2016; Güvenç, 2020; TEBGE, 2020).

1.3.Domates ve Biberde Görülen Virüs Hastalıkları

Küresel ölçekte bitki hastalıkları nedeniyle her türlü tedbir ve mücadeleye rağmen üretimin %15'i hasat öncesi kaybedilmektedir. Ülkemizdeki sebze üretiminde maliyet, pazarlama, standardizasyon, iklimsel olaylar, uygun olmayan üretim koşulları, kalitesiz üretim materyali, teknik bilgi eksikliği gibi çeşitli konularda problemler yaşanmaktadır. Hastalıklar, zararlılar ve abiyotik sorunlar, bu problemlerin nedeni veya sonucu olarak ortaya çıkmaktadır ve sürdürülebilir tarımsal üretimi etkileyen faktörler arasında yer almaktadır (Güvenç ve Kaymak, 2008; Abak ve ark., 2010; Popp ve Hantos, 2011; Yucel ve ark., 2013; Duman, 2016; Güvenç, 2020).

Domates ve biber üretiminde çok sayıda hastalık (virüs, fungus, bakteri, fitoplazma, viroid, vb.) ve zararlı, başta örtü altı olmak üzere tüm üretim koşullarında (açık alan, topraksız tarım, vb.) doğrudan veya dolaylı olarak, verim ve kalite düşüşüne neden olmaktadırlar. Ayrıca beslenme bozuklukları, herbisit zararı, parazit yabancı otlar, iklimsel faktörler, domates ve biber üretiminde olumsuz etki ortaya çıkarabilmektedir (Weintraub,

2007; Yucel ve ark., 2008; Blancard, 2012; Bosland ve ark., 2012; Toprakçı ve Göçmen, 2016; Kışlak, 2018; Vallad ve ark., 2018; Wakil ve ark., 2018).

Bitkiler için hastalık etmenleri arasında yer alan virüslerin, kimyasal mücadele olanaklarının çok kısıtlı olması ve genetik materyallerinde kolaylıkla değişimlerin meydana gelebilmesi nedeniyle, mücadeleleri ayrı bir öneme sahiptir. Çünkü enfeksiyon gerçekleştikten sonraki süreçte yapılabilecekler sınırlıdır ve genelde eradikasyon uygulaması ile sonuçlanır. Bu nedenle virüs hastalıkları ile mücadele stratejilerinde koruyucu tedbirler ön plana çıkmaktadır. Virüs hastalıklarına karşı dayanıklı çeşit kullanımı ve vektör mücadelesi, koruyucu tedbirler açısından en etkili önemlerdir. Ortaya yeni çıkan veya mevcut virüslerin yayılmasına karşı, mücadele stratejilerinin geliştirmesi için öncelikle hangi virüsün veya virüslerin hastalığa neden olduğunun belirlenmesi gerekmektedir. Sonrasında virüs-vektör-konukçu interaksiyonlarının aydınlatılması için yapılan çalışmalar sonucu oluşan bilgi birikimi sayesinde, virüs hastalıklarının zararını en az indirebilmek mümkün olabilmektedir (Güldür ve Yılmaz, 1995; García-Arenal ve ark., 2001; EPPO, 2004; Ünlü ve Güldür, 2004; Özaslan ve ark., 2006; Yucel ve ark., 2008; Çulal-Kılıç ve ark., 2015; Ong ve ark., 2020).

Bitki virüslerinin, üretim materyali (tohum, fide, fidan, vb.), vektör canlılar (fungus, böcek, nematod, yabancı ot, vb.), su (sulama suyu, atık su, hidroponik besin solüsyonu, vb.), toprak, polen ve insan faaliyetleri aracılığıyla yayılabildikleri bilinmektedir (Okada ve ark., 2000; Boben ve ark., 2007; Şevik, 2011; Mehle ve Ravnikar, 2012; Roberts, 2014; Paylan ve Çandar, 2018; Bačnik ve ark., 2020; Bhat ve Rao, 2020; Singh ve ark., 2020).

Bitki virüslerinin epidemiyolojisinde birçok faktörün rol aldığı bilinmektedir. Ancak bitkisel üretim materyallerinin ticaretinin uluslararası boyutta gerçekleşmesi ve küresel iklim değişikliğinin bir sonucu olarak yeni virüslerin ve virüs vektörlerinin dünya çapında yeni alanlara taşınması ve çoklu enfeksiyonlarında rol aldığı rekombinasyonların meydana gelmesi nedeniyle, bitkilerde hastalığa neden olan virüs türlerinin epidemiyolojisinde ve çeşitliliğinde değişimlerin meydana gelmesi kaçınılmazdır (Çiçek ve Yorgancı, 1991; Hanssen ve ark., 2010; Bebber ve ark., 2013; Kenyon ve ark., 2014; Sastry ve Zitter, 2014; Juroszek ve ark., 2020; Trebicki, 2020).

Bitkilerde viral hastalıklar nedeniyle virüs türüne, enfeksiyon tipine (tekli veya çoklu), bitki çeşidine ve diğer faktörlere bağlı olmakla birlikte fizyolojik (fotosentezde azalma, klorofil içeriğinde azalma, peroksidaz enzimi aktivitesinde artış, solunumda artış, hormon konsantrasyonunda değişim, metabolit miktarlarında değişim, vb.) ve morfolojik (meyve uzunluğu, çapı, et kalınlığı, hacmi; yaprak sayısı ve alanı; bitki biyokütlesi ve boyu;

kök uzunluğu ve çapı, vb.) parametrelerde azalma/artma sonucu verim ve kalite düşüklüğü meydana gelmektedir. Morfolojik ve fizyolojik değişiklikler sonucunda kloroz, nekroz, şekil bozukluğu gibi simptomlar gözlemlenir (Culver ve Padmanabhan, 2007; Bosland ve ark., 2012; Pazarlar ve ark., 2013; Damiri, 2014; Öztürk ve ark., 2019; Ertunç, 2020).

Ayrıca viral hastalıklar, dolaylı olarak bu bitkilerin kullanımıyla elde edilen ikincil ürünlerde de (salça, baharat, konserve, vb.) bazı değerlerin düşmesine ve renk kaybına neden olmaktadır (Apablaza-Hidalgo, 2001; Öztürk ve ark., 2019).

Yaklaşık olarak domateste 136, biberde 70 farklı virüs türünün enfeksiyon yapabildiği bilinmektedir ve gün geçtikçe yeni virüs türleri ortaya çıkmaktadır (Brunt, 1996; Pernezny ve ark., 2003; Hanssen ve ark., 2010; Kenyon ve ark., 2014).

Ülkemizde bugüne kadar farklı araştırmacılar tarafından domateste TSWV, CMV, TMV, ToMV, PVY, ToCV, PepMV, PVX (*Potato virus X*), TYLCV (*Tomato yellow leaf curl virus*), AMV (*Alfalfa mosaic virus*), TBRV (*Tomato black ring virus*), ToBRFV (*Tomato brown rugose fruit virus*), ToRSV (*Tomato ringspot virus*), PLRV (*Potato leaf roll virus*); biberde TSWV, CMV, TMV, ToMV, PVY, PepMV, PVX, AMV, PLRV, TBRV, TEV (*Tobacco etch virus*), PepMoV (*Pepper mottle virus*), PMMoV (*Pepper mild mottle virus*), PVMV (*Pepper veinal mottle virus*), BWYV (*Beet western yellows virus*) ve TRV (*Tobacco rattle virus*) türleri tespit edilmiştir (Fidan, 1995; Arlı-Sökmen ve ark., 2005; Arlı-Sökmen ve Şevik, 2006; Değirmenci ve Uzunoğulları, 2007; Buzkan ve ark., 2013; Çulal-Kılıç ve ark., 2017b; Özdağ ve Sertkaya, 2017; Sertkaya ve Yılmaz, 2017; Fidan ve ark., 2019; Öztürk ve Baloğlu, 2019; Yeşilyurt ve Çevik, 2019).

Karantina tedbirleri açısından bu tezde araştırılan TSWV, PepMV ve ToCV (Türkiye'de karantina etmeni değil) virüsleri, EPPO A2 (EPPO ülkelerinde yaygın olmayan etmenler) listesinde ve ülkemizde de Bitki Karantinası Yönetmeliği'nde EK-1 "Türkiye'de sınırlı olarak bulunan ve ithale mani teşkil eden karantinaya tabi zararlı organizmalar" listesinde yer almaktadırlar. Ayrıca PVY virüsü, Bitki Karantinası Yönetmeliği'nde EK-2 "Türkiye'de sınırlı olarak bulunan karantinaya tabi zararlı organizmalar" listesinde yer almaktadır (BYK, 2011; EPPO, 2020b).

Bu çalışma ile Eskişehir ilinde domates ve biber üretim alanlarında aşağıda ilgili bilgileri sunulan TSWV, CMV, PVY, TMV, ToMV, ToCV, PepMV, TNV virüs türlerinin serolojik olarak enfeksiyon oranları tespit edilmiştir. Elde edilen TSWV ve CMV izolatlarının moleküler karakterizasyonu için nükleik asit dizilimleri belirlenerek, dünyadaki ve ülkemizdeki izolatlar arasındaki yerleri ve genetik benzerlikleri tespit edilmiştir. Sonuçlar daha önce yapılan çalışmalar ile karşılaştırılmıştır.

1.3.1. Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*- TSWV)

Tomato spotted wilt virus (TSWV)*, Bunyavirales* takımının *Tospoviridae* familyasında *Orthotospovirus* cinsi içerisinde tip tür (cinsi temsil eden tür) olarak bulunmaktadır ve ssRNA (+/-: ambisens polariteli yani hem pozitif hem negatif yönde anlamlı okunma) genom yapısına sahiptir (ICTV, 2020). Mevcut düzenlemeler öncesindeki raporlarda TSWV, *Tospovirus* cinsi *Perubunyaviridae* familyası *Bunyavirales* takımı içerisinde geçmektedir.

Küresel şekilli zarflı partikül yapısına olan TSWV genomu, S-Small (proteinler: N, NSs), M-Medium (NSm, Gn/Gc) ve L-Large (RdRp, L) olmak üzere 3 segmente sahiptir. S RNA segmentinden kodlanan nükleokapsid protein'i (N), filogenetik ayrım sağlamakla beraber viral kapsül oluşumunda ve replikasyonda rol almaktadır. Ayrıca biberde *Tsw* geni aracılı TSWV dayanıklılığının kırılması ile ilişkilendirilmektir (Tentchev ve ark., 2011; Kulshrestha ve ark., 2013; Oliver ve Whitfield, 2016).

Önemli kültür ve süs bitkilerinin de arasında bulunduğu 1300'den fazla bitki türünü enfekte edebilen TSWV'nin, en az 10 farklı thrips (Thysanoptera:Thripidae) türü ile persistent (böcek dolaşım sistemine virüs ulaşır) ve propagatif (böcek bünyesinde virüs çoğalır) olarak etkili bir şekilde taşındığı, *Frankliniella occidentalis*'in dünyada ve ülkemizde TSWV'nin yayılmasında büyük rol aldığı için en önemli vektörü olduğu ve *Thrips tabaci*'nin vektörlük açısından ikinci sırada yer aldığı bilinmektedir (Mertelik ve ark., 1996; Parrella ve ark., 2003; Şevik, 2008; Riley ve ark., 2011; EFSA, 2012; Atakan ve ark., 2013; EPPO, 2020a; Singh ve ark., 2020).

Tomato spotted wilt virus, biber ve domates bitkilerinin yapraklarında kloroz, nekroz, klorotik halka deseni, bronzlaşma, kıvrılma ve şekil bozukluğu, sürgün ölümü; meyvelerinde klorotik veya nekrotik lekeler, eş merkezli veya ortası şişkin kesişen halka desenleri, düzensiz olgunlaşma, renk değişiklikleri, çatlama; gövdesinde nekrotik çizgi, bitki genelinde tek taraflı solgunluk veya ölüm belirtilerinin oluşumuna neden olur (Blancard, 2012; Kenyon ve ark., 2014; EPPO, 2020a). TSWV enfeksiyonu erken evrede gerçekleştiğinde sistemik olarak yayılıp bitki geneli şiddetli belirtiler görülürken, meyve gelişimi dönemindeki enfeksiyonlarda ise daha çok lokal olarak sınırlı kalmaktadır (Batuman ve ark., 2020). Ancak TSWV enfeksiyonu sonucunda domates meyvelerindeki anormal görünüm nedeniyle pazarlanabilir meyve üretimi oldukça düşmektedir (Moriones ve ark., 1998).

Türkiye'de TSWV ilk olarak Tekinel ve ark. (1969) tarafından marulda tespit edilmiştir ancak öncesinde Bremer (1954) tarafından bulunma ihtimali olduğu bildirilmiştir (Tekinel (1973). Domateste Tekinel (1973); Fidan (1993); Azeri (1994); Fidan (1995); Güldür ve ark. (1995); Yılmaz ve ark. (1995); Güldür (1997) tarafından, biberde ise Yurtmen ve ark. (1999) tarafından ilk tespitler yapılmıştır. Dünyada ise ilk olarak Avustralya'da domateste (Brittlebank, 1919) tarafından tespit edilmiştir.

Dünyada en önemli ilk 10 bitki virüsü arasında ikinci sırada TSWV yer almaktadır ve tüm dünyada bitkisel üretimde ciddi ekonomik kayba neden olmaktadır (Riley ve ark., 2011; Scholthof ve ark., 2011; Chen ve ark., 2015). Bitkisel üretimde dünya çapında yıllık 1 milyar dolar civarında kayba neden olduğu tahmin edilen TSWV'nin, Georgia'da (ABD eyaleti) 10 yıllık verilere dayanarak domates ve biberde yıllık ortalama 9'ar milyon dolar kayıp ortaya çıkardığı tahmin edilmiştir (Prins ve Goldbach, 1998).

Geniş konukçu dizisi, vektör thripslerle etkili bir şekilde taşınabilmesi, mutasyonlar sonucu dayanıklı çeşitlerin üstesinden gelebilmesi gibi nedenler, TSWV'nin dünya üzerinde tüm kıtalarda görülmesine ve birçok ülkede farklı bitki türlerinde epidemi oluşturmasına yol açmaktadır (Jones, 2004; Pappu ve ark., 2009; Turina ve ark., 2012).

Her ne kadar Azeri (1994) yaptığı bir çalışmada TSWV epidemisini tohumla taşınmaya dayandırsa da gelişen test teknikleri ve güncel çalışmalar, TSWV'nin tohum enfeksiyon yeteneğinin düşük olduğu ve bunun hastalık yayılmasında önemsiz olduğunu göstermiştir (Dominguez ve ark., 2010; Hajiabadi ve ark., 2012).

Genom yapısı nedeniyle TSWV'de reassortment (tek konukçudaki virüs izolatları arasında bir veya daha fazla genomik RNA'nın kendi aralarında değişimi) ve rekombinasyon olayı görülebilmektedir (Tsompana ve ark., 2005; Lian ve ark., 2013). Bu durumun, virüsün yayılışında ve vektör taşıyıcılığında etkisi vardır (EPPO, 2020a). Nitekim *F. occidentalis*'in dünya çapında yayılması sonrasında TSWV'nin farklılaşmış filogenetik grupları belirlenmiştir (Tentchev ve ark., 2011; Oliver ve Whitfield, 2016).

Domateste TSWV'ye karşı çeşitli dayanıklılık genleri (*Sw-1*, *Sw-2*, S*w-3*, *Sw-4*) tespit edilmiştir ve *Sw-5* geni ticari çeşitlere aktarılmıştır ancak dünya genelinde *Sw-5* geninin aktarıldığı çeşitlerinin yaygın kullanımına bağlı olarak, birçok ülkede ve Türkiye'de NSm genindeki doğal mutasyon sonucu iki farklı noktada (C118Y, T120N) tek amino asit değişikliği nedeniyle *Sw-5* aracılı dayanıklılığın üstesinden gelen TSWV izolatları tespit edilmiştir (Wangai ve ark., 2001; López ve ark., 2010; Crescenzi ve ark., 2015; Debreczeni ve ark., 2015; Batuman ve ark., 2017; Ferrand ve ark., 2019; Fidan ve Sarı, 2019; Spanò ve ark., 2020). Öte yandan, yeni dayanıklılık genleri keşfetmek için

çalışmalar yapılmaktadır ve TSWV'ye karşı *Sw-7* olarak adlandırılan yeni bir dayanıklılık geni tespit edilmiştir (Padmanabhan ve ark., 2019).

Biberde TSWV'ye karşı dayanıklılık için *Tsw* geni aktarılmış ticari çeşitler kullanılmaktadır. Fakat domatese benzer şekilde biberde de ülkemizde ve dünyanın farklı bölgelerinde *Tsw* geni aracılı dayanıklılığın üstesinden gelen izolatlar tespit edilmiştir (Deligöz ve ark., 2014; Almási ve ark., 2015; Aramburu ve ark., 2015; Debreczeni ve ark., 2015; Jiang ve ark., 2017; Güneş ve Gümüş, 2019; Almási ve ark., 2020). Almási ve ark. (2015) biberde *Tsw* geninin sağladığı TSWV dayanıklılığın kırılmasında, korunmuş bir mutasyon olmadığını, izolatlarının coğrafik açıdan ve mutasyon mekanizmaları açısından ayrı ayrı geliştiklerini belirlemişlerdir.

1.3.2.Hıyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic virus*- CMV)

Cucumber mosaic virus (CMV), *Martellivirales* takımının *Bromoviridae* familyasında *Cucumovirus* cinsi içerisinde tip tür olarak bulunmaktadır ve ssRNA(+) genom yapısına sahiptir (ICTV, 2020). İzometrik (çok yüzlü) zarfsız partikül yapısındaki CMV'nin genomu 3 segmentlidir. RNA1 (1a), RNA2 (2a, 2b) ve RNA3 (3a, CP) olmak üzere 3 genomik RNA ile RNA4 ve RNA4A subgenomik RNA'larına sahiptir. RNA3 segmentindeki RNA4A subgenomik bölgesinden kodlanan kılıf protein (CP), virüs partikülü ile ilişkilidir ve bitkide hücreden hücreye taşınmada görev alması yanında yaprak biti vektörleriyle bulaşmada da rol alır. CP'nin belirli amino asitlerdeki değişiklikleri, konukçu bitkideki simptomları ve virüsün bulaşma etkililiğini etkileyebilmektedir (Palukaitis ve García-Arenal, 2003; Zitter ve Murphy, 2009; Mochizuki ve Ohki, 2012; Topkaya ve Ertunç, 2017; Li ve ark., 2020).

Cucumber mosaic virus izolatları, seroloji ve genom dizilerinin filogenetik analizine dayalı olarak I (IA ve IB) ve II olmak üzere 2 ana alt grupta sınıflandırılır. Sıcak iklimlerde alt grup I izolatları daha sık görülmektedir. Alt grup II'nin de, neden olduğu simptomların şiddeti daha azdır. Ancak IA ve II alt gruplarına ait izolatlar tüm dünyada yaygın olmasına karşın IB alt grubundaki izolatlar genellikle Asya kıtasında yoğunlaşmıştır (Roossinck, 2002; Moury ve Verdin, 2012; Li ve ark., 2020).

Bazı CMV izolatlarında genom tarafından kodlanan, çeşitli fonksiyonlara sahip ancak virüsün yaşam döngüsü için gerekli olmayan küçük RNA parçacıkları olarak bilinen uydu RNA'lar bulunmaktadır. Uydu RNA'ların varlığı ile simptomların yoğunluğunda

artma veya azalma görülebilmektedir. Nitekim bu uydu RNA'ların 80'ler 90'lardaki CMV salgınlarında rol aldıkları belirtilmektedir (Jacquemond, 2012; Kenyon ve ark., 2014).

Cucumber mosaic virus, aralarında birçok önemli kültür bitkisinin de bulunduğu 500 farklı cinse ait yaklaşık 1300 bitki türünde enfeksiyon oluşturabilmektedir. Doğada non-persistent (beslenme sırasında hızlıca virüsün alınıp verilmesi) bir şekilde en az 75 yaprak biti (Hemiptera:Aphididae) türü tarafından taşınabilen CMV'nin en etkili vektörleri *Myzus persicae* ve *Aphis gossypii*'dir (Palukaitis ve ark., 1992; Jacquemond, 2012).

Aralarında domates ve biberinde olduğu bazı bitkilerde CMV'nin tohumla taşınabildiği ve domateste mekanik olarak bulaşabildiği bilinmektedir (Jacquemond, 2012; Singh ve ark., 2020). Ülkemizde biber tohumlarında CMV tespit edilmiş ancak tohumla taşınmanın hastalığın yayılmasında önemli bir etkisi olmadığı saptanmıştır (Buzkan ve Yüzer, 2009; Gümüş ve Paylan, 2013).

Cucumber mosaic virus ile enfekteli bitkilerin yapraklarda sistemik mozaik, beneklenme, kıvrılma, deformasyon, kabarcıklaşma, aşırı ipliksi görünüm; meyvelerde kabarık alanlar ve grimsi renkte çökük alanlar şeklinde nekrotik görünüm ve genel bodurluk belirtileri ortaya çıkar (Palukaitis ve ark., 1992; Blancard, 2012; Jacquemond, 2012; Petrov, 2015).

Türkiye'de CMV ile ilgili domateste Göbelez (1953); Karaca (1961); Özalp (1961; 1964); Yılmaz ve Davis (1985); Nogay (1986); Güllü ve Çalı (1994); Güldür ve Yılmaz (1995); Özgöz ve ark. (1995); Yılmaz ve ark. (1995) tarafından, biberde ise Özkan (1957); Özalp (1961; 1964); Tekinel ve ark. (1969); Yılmaz ve Davis (1985); Güllü ve Çalı (1994); Yılmaz ve ark. (1995) tarafından ilk tespitler yapılmıştır (Tekinel (1973) kaynaklarına eklemeler yapılmıştır). CMV ilk olarak ABD'de Jagger (1916) ve Doolittle (1916) tarafından 1916 yılında kavun ve hıyar bitkilerinde saptanması sonrasında dünya çapında farklı yerlerde birçok tespit bildirilmiştir (Palukaitis ve ark. (1992) atıflarına göre).

Dünyada en önemli ilk 10 bitki virüsü arasında dördüncü sırada CMV yer almaktadır ve bitkisel üretimde büyük ekonomik kayıplara neden olur (Scholthof ve ark., 2011; Jacquemond, 2012). CMV'nin uydu RNA'lar ile ilişkili/ilişkisiz olarak geçmiş yıllarda ABD, İtalya, İspanya ve Çin'de domates alanlarında salgına neden olduğu ve %100'e varan verim kayıpları ortaya çıkardığı bilinmektedir (Kaper ve ark., 1990; Kearney ve ark., 1990; Jordá ve ark., 1992; Sikora ve ark., 1998). CMV'nin biberde, pazarlanabilir meyve sayısında ve meyve ağırlığında azalış gibi etkileri sonucunda, %80'e kadar verim kaybına yol açabildiği bilinmektedir (Avilla ve ark., 1997; Li ve ark., 2020).

Domateste CMV'ye karşı ticari kullanımı olan henüz iyi seviyede doğal dayanıklılık sağlayan gen tespit edilememesine karşın biberde kısmi dayanıklılık sağlayan bazı genler (*cmr1*, *cmr2*) tespit edilmiştir (Stamova ve Chetelat, 2000; Choi ve ark., 2018; Heusden ve Lindhout, 2018; Li ve ark., 2020; Spanò ve ark., 2020).

1.3.3.Patates Y virüsü (*Potato virus Y*- PVY)

Potato virus Y (PVY), *Patatavirales* takımının *Potyviridae* familyasında *Potyvirus* cinsi içerisinde tip tür olarak bulunmaktadır, ssRNA (+) genom yapısına sahiptir ve esnek çubuk şeklinde zarfsız partikül yapısındadır. PVY'nin yüksek düzeyde ırk (patotip) oluşturma yeteneği vardır. Irkların, genetik ayrımda, vektör-konukçu spesifikliğinde ve belirti oluşumunda önemli rolü vardır (Tsedaley, 2015; ICTV, 2020). Ülkemizde domates ve biberde çeşitli PVY ırkları tespit edilmiştir (Çandar ve Gümüş, 2018; Deligöz ve Arlı-Sökmen, 2020).

Potato virus Y, öncelikle *Solanaceae* familyasındakiler (patates, domates, biber, tütün, vb.) olmak üzere 72 cinste 495 bitki türünü enfekte edebilmektedir. PVY doğada başta *Myzus persicae* olmak üzere 73 farklı afit (yaprak biti) türünün vektörlüğü ile non-persistent (beslenme sırasında hızlıca virüsün alınıp verilmesi) şekilde taşınabilmesi yanında bulaşık üretim materyali ve mekanik olarak da taşınabilmektedir (Kerlan ve Moury, 2009; Tsedaley, 2015; Lacomme ve ark., 2017).

Irkına göre değişiklik göstermekle birlikte PVY, domates ve biber yapraklarında yeşil renkli mozaik, aşırı sayıda nekrotik leke, beneklenme, sararma ile birlikte dal ve gövde üzerinde nekrotik çizgi belirtilerinin oluşumuna yol açar ancak meyve üzerinde belirgin bir simptomu yoktur (Kerlan ve Moury, 2009; Blancard, 2012; Tsedaley, 2015).

Dünyada en önemli ilk 10 bitki virüsü arasında beşinci sırada PVY yer almaktadır. Irk oluşturma yeteneği, yaprak bitleri ile hızlıca taşınabilmesi, diğer virüslerle sinerjistik etkileşimi gibi çeşitli faktörler PVY'nin epidemiyolojisini anlamayı ve neden olduğu hastalıkla mücadeleyi zorlaştırmaktadır. PVY'nin neden olduğu hastalık, biber için birincil öneme sahipken domates için ikincil öneme sahiptir. Ancak bazı durumlarda her iki üründe de %100'e varan kayıplara neden olabilmektedir (Avilla ve ark., 1997; Kerlan ve Moury, 2009; Scholthof ve ark., 2011; Tsedaley, 2015).

Türkiye'de PVY ile ilgili domateste Güldür ve Yılmaz (1995), Yılmaz ve ark. (1995); biberde Yılmaz ve Davis (1985), Erkan (1986) tarafından ilk tespitler yapılmıştır.

Tarihsel olarak PVY ırklarının ilk karakterize edilmesi 1930'a kadar dayanmaktadır ve sonrasında dünyanın birçok yerinde tespit edilmiştir (Bellstedt ve ark., 2017).

Bu virüse karşı biberdeki bazı dayanıklılık genlerini (*pvr2*$^{+}$, *pvr2*^{1}, *pvr2*^{2}, *Pvr4*) taşıyan ticari çeşitlerin yaygın olarak kullanılmasına karşın domatesteki dayanıklılık genini (*pot-1*) taşıyan ticari çeşitler yaygın olarak kullanımda değildir (Kerlan ve Moury, 2009).

1.3.4.Tütün mozaik virüsü (*Tobacco mosaic virus*- TMV)

Tobacco mosaic virus (TMV), *Martellivirales* takımının *Virgaviridae* familyasında *Tobamovirus* cinsi içerisinde bulunmaktadır, ssRNA(+) genom yapısına sahiptir ve düzgün çubuk şeklinde zarfsız partikül yapısındadır (Kenyon ve ark., 2014; ICTV, 2020).

Dünya genelinde yaygın olan TMV'nin, 30 familyaya ait 199 farklı bitki türünü enfekte edebildiği tespit edilmiş olsa da neden olduğu hastalık *Solanaceace* familyası türlerinde daha fazla görülür (Bagley, 2001; Alishiri ve ark., 2013).

Tobacco mosaic virus'ün kültürel işlemler sırasında mekanik olarak kolayca bulaşabildiği, bulaşık bitki kalıntıları ve üretim ekipmanlarında uzun süre stabil kalabildiği, tohumla taşınabildiği bilinmektedir. Hatta TMV ile enfekteli tütünden yapılan sigarada hayata kalan virüsün, kişinin elinden tekrar bitkilere bulaşabildiği bilinmektedir (Çiçek ve Yorgancı, 1991; Baker ve Adkins, 2000; Hajiabadi ve ark., 2012; Gümüş ve Paylan, 2013; Kenyon ve ark., 2014; Singh ve ark., 2020). Ülkemizde Çiçek ve Yorgancı (1991), domateste %98 ve biberde %18 oranında TMV'nin tohum enfeksiyonunu bildirmişlerdir.

Tobacco mosaic virus ile enfekteli bitkilerde bodurluk; yapraklarda mozaik, kloroz şekil bozukluğu, ipliksi görünüm, nekroz, dökülme; meyvelerde nekroz, küçülme belirtileri görülmektedir (Baker ve Adkins, 2000; Blancard, 2012; Pazarlar ve ark., 2013).

Türkiye'de TMV ile ilgili domateste Bremer (1954); Arı (1956); Karaca (1961); Özalp (1964); Tekinel (1973); Yılmaz ve Davis (1985); Nogay (1986); Demir ve Erdiller (1988); Özgöz ve ark. (1995); Yılmaz ve ark. (1995) tarafından, biberde ise Özalp (1964); Tekinel ve ark. (1969); Erkan ve Yorgancı (1983); Yılmaz ve Davis (1985); Güllü ve Çalı (1994); Yılmaz ve ark. (1995); Kıran ve Ertunç (1998) tarafından ilk tespitler yapılmıştır (Tekinel (1973) kaynaklarına eklemeler yapılmıştır). TMV her ne kadar bitki patojeni olarak anılsa da izole edildiği 1800'lü yıllardan günümüze kadarki süreçte, yapılan birçok çalışma sayesinde biyoloji ve viroloji biliminde çeşitli konuların aydınlatılmasına katkı sunmuştur (Scholthof, 2004; Van Regenmortel, 2009).

Dünyada en önemli ilk 10 bitki virüsü arasında birinci sırada TMV yer almaktadır (Scholthof ve ark., 2011). Tütünde ciddi ekonomik kayba neden olduğu bilinen ve etkili bir vektörünün olmamasına rağmen mekanik olarak hızlı yayılabilen TMV, domates ve biberde önemli düzeyde verimi etkilemektedir (Broadbent, 1976; Baker ve Adkins, 2000).

1.3.5.Domates mozaik virüsü (*Tomato mosaic virus*- ToMV)

Tomato mosaic virus (ToMV)*, Martellivirales* takımının *Virgaviridae* familyasında *Tobamovirus* cinsi içerisinde bulunmaktadır ve ssRNA(+) genom yapısına sahiptir ve düzgün çubuk şeklinde zarfsız partikül yapısındadır (Lewandowski, 2009; ICTV, 2020).

Bilinen spesifik bir vektörü olmayan ToMV'nin, kültürel işlemler (koltuk alma, budama, vb.) sırasında temas yoluyla mekanik olarak önemli düzeyde bulaşabildiği ve bulaşık toprak aracığıyla yayılabildiği bilinmektedir. Ayrıca ToMV'nin önemli düzeyde tohum ile taşındığı da bilinmektedir. Ülkemizde de domates ve biber tohumlarında tespit edilmiştir (Erkan ve ark., 1994; Chitra ve ark., 2002; Gümüş ve Paylan, 2013; Kenyon ve ark., 2014; Yadav ve Yadav, 2017; Mheedi ve Kassem, 2018; Singh ve ark., 2020).

Geniş konukçu aralığına sahip olmasına rağmen çoğunlukla Solanaceae familyasında görülen ToMV, yapraklarda mozaik, açık renkli beneklenme, kabarcıklaşma, şekil bozukluğu, ipliksi görünüm, nekroz; meyvede üst kısımlarda sarı yeşil renk değişimi, düzensiz olgunlaşma, iç dokuda kahverengileşme, nekroz; bitki geneli bodurluk belirtileri ortaya çıkarır ve %15-25 verim kaybına yol açar (Broadbent, 1976; Blancard, 2012).

Türkiye'de ToMV'nin domateste Bremer (1954); Arı (1956); Özalp (1961; 1964); Tekinel (1973); Güllü ve Çalı (1994); Fidan (1995); Güldür ve Yılmaz (1995); biberde Fidan (1995) tarafından ilk tespitleri yapılmıştır (Tekinel (1973) atıflarına eklemeler yapılmıştır). Dünya'da ToMV ile ilgili ilk çalışmalar Hollanda (Westerdijk, 1910) ve ABD'de (Allard, 1916) yayınlanmıştır (Broadbent (1976) atıflarına göre). İlk olarak 1757 civarında Avrupa'da ortaya çıkmış olduğu düşünülen ToMV'nin, Orta ve Doğu Asya'ya da Avrupa üzerinden geçişler neticesinde yayıldığı belirtilmektedir (Xu ve ark., 2021).

1.3.6.Pepino mozaik virüsü (*Pepino mosaic virus*- PepMV)

Pepino mosaic virus (PepMV), *Tymovirales* takımının *Alphaflexiviridae* familyasında *Potexvirus* cinsi içerisinde bulunmaktadır, ssRNA(+) genom yapısına sahiptir

ve esnek çubuk şekilli zarfsız partikül yapısındadır (Hanssen ve Lapidot, 2012; ICTV, 2020).

Enfekte edebildiği 41 farklı bitki bilinen PepMV, daha çok Solanaceae familyası bitkilerini hastalandırmaktadır. PepMV, üretim ekipmanlarıyla ve kültürel işlemler sırasında temas yoluyla mekanik olarak kolaylıkla bulaşır. Ayrıca tohumla taşınması yanında hidroponik sistemlerde besin solüsyonu, tozlayıcı arılar, biyolojik mücadelede kullanılan böcekler ve *Olpidium virulentus* fungusunun kök enfeksiyonu aracılığıyla taşınabildiği bilinmektedir (Hanssen ve Lapidot, 2012; Şevik ve Deligöz, 2016).

Yaprak damarları arasında sararma, anormal renk değişimi, mozaik benzeri bir görünüm, yamalar halinde renk açılması, belirgin küçük sarı beneklenme; meyvede ebru deseni, alacalı görünüm, çanak yapraklarında nekrotik ve klorotik leke belirtileri PepMV ile enfekteli bitkilerde görülmektedir (Blancard, 2012; Şevik ve Deligöz, 2016).

Türkiye'de PepMV ilk olarak Özdemir (2010) tarafından Dalaman'da (Muğla) domateste tespit edilmiştir ve yaprakta %68, çiçekte %100 enfeksiyon oranı saptamıştır. Diğer tespitler domateste Çulal-Kılıç ve ark. (2017b) , biberde Özdağ ve Sertkaya (2017) tarafından yapılmıştır. 1974'te pepino bitkisinden izole edilen PepMV, 1999'da domateste tespit edilmesi sonrasında başta Akdeniz ve Avrupa ülkeleri olmak üzere tüm dünyada salgınlara neden olmuştur (Hanssen ve Lapidot, 2012; Şevik ve Deligöz, 2016).

2000 yılından itibaren özellikle örtü altı üretimde Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde ciddi sorunlara yol açan PepMV'nin ülkeye bağlı olarak %5-15 arasında verim kaybına neden olabildiği; İspanya'da bunun %40'lara ulaştığı; kolayca bulaşması nedeniyle agresif bir ırkının 6 hafta içinde bir seranın en az %70'ni enfekte edebildiği belirlenmiştir. PepMV'nin kıtasal olarak farklı genotiplere ayrıldığı ve bu genotiplerin farklı düzeyde hastalık ortaya çıkardığı bilinmektedir (Hanssen ve Thomma, 2010; Blancard, 2012).

1.3.7.Domates kloroz virüsü (*Tomato chlorosis virus*- ToCV)

Tomato chlorosis virus (ToCV), *Martellivirales* takımının *Closteroviridae* familyasının *Crinivirus* cinsi içerisinde yer almaktadır ve ssRNA(+) genom yapısına sahiptir, zarfsız ipliksi esnek partikül yapısındadır (Tzanetakis ve ark., 2013; ICTV, 2020).

Tomato chlorosis virus için ana konukçu olarak domates kabul edilse de önemli kültür ve süs bitkilerinde olduğu 13 familyadan 30 bitki türünü enfekte edebilmektedir. ToCV'nin yayılmasında beyaz sinekler rol almaktadır ve en etkili vektörü olarak *Bemisia*

tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae) görülmektedir (Wintermantel ve Wisler, 2006; Fortes ve ark., 2012; Tzanetakis ve ark., 2013).

Tomato chlorosis virus ile enfekteli bitkilerde yapraklarda damarlar arasında giderek artan klorotik leke ve bunlar üzerinde kahverengi küçük nekrotik leke, yaşlı yapraklarda kıvrılma, kalınlaşma, kırılgan hale gelme, çiçek dökümü belirtileri oluşur (Çevik ve Erkış, 2008; Blancard, 2012; Fortes ve ark., 2012; Çevik ve Öztunç, 2016).

Ülkemizde ToCV ilk defa Çevik ve Erkış (2008) tarafından 2007 yılında Muğla'da örtü altı domates alanlarında tespit edilmiştir. Diğer tespitler domateste Çevik ve Öztunç (2016) tarafından Antalya'da, Akdura-Yeşilyurt ve Çevik (2017) tarafından Isparta ve Burdur illerinde yapılmıştır. Dünyada ilk olarak 1993 yılında ABD'de örtü altı domates alanlarda tanımlanan ToCV, Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere dünya genelinde birçok ülkede tespit edilmiştir ve bazı ülkelerde salgınlara neden olduğu bilinmektedir (Hanssen ve ark., 2010; Fortes ve ark., 2012; Tzanetakis ve ark., 2013).

1.3.8.Tütün nekroz virüsü (*Tobacco necrosis virus*-TNV)

Tobacco necrosis virus (TNV)'ün, *Tolivirales* takımında *Tombusviridae* familyasında *Alphanecrovirus* cinsi içerisinde *Tobacco necrosis virus A* türü, *Betanecrovirus* cinsi içerisinde *Tobacco necrosis virus D* türü bulunmaktadır ve her ikisi de tip türdür ve ssRNA(+) genom yapısına sahiptir (ICTV, 2020). TNV'nin, bir tür fungus olan *Olpidium brassicae*'nin zoosporları ile taşındığı bilinmektedir. TNV'nin 37 familyadan 80 bitki türünü enfekte ettiği bilinse de yaygın bir patojen değildir ve ekonomik etkisi azdır. Enfekte ettiği bitkilerin köklerinde tespit edilebilen TNV, istisnaları olsa da genelde sistemik olarak hastalık ortaya çıkarmadığı, bitki büyümesini engellemediği ve belirgin bir konukçusu tespit edilemediği için diğer bitki virüsleri kadar öneme sahip değildir. Ancak epidemiyolojini anlamak için yapılan çalışmalar çok kısıtlı olsa da virüsün sahip olduğu bazı özellikler viroloji bilimi için önemli kabul edilmektedir (Price, 1938; Fraenkel-Conrat, 1988; Singh ve ark., 2020). Ülkemizde, TNV'yi içeren ulaşılabilen tek güncel çalışma, Koç ve Fidan (2017) tarafından sütotu (*Polygala myrtifolia*) bitkisinde DAS-ELISA yöntemi tespit çalışmasıdır ancak TNV için sonuç negatif bulunmuştur.

2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kaynak araştırması bölümünde, bu tez çalışmasında araştırılan virüslerin, domates ve biber özelinde ele alındığı tespit ve tanılama çalışmaları özetlenmiştir. Ayrıca TSWV ve CMV virüslerinin filogenetik analizine yönelik çalışmalarda ele alınmıştır.

2.1.Dünyada Domates ve Biber Virüsleri ile İlgili Tespit Çalışmaları

Sikora ve ark. (1998) 1992-1993 yıllarında ABD'de (Alabama) virüs hastalıklarının salgın halinde görüldüğü domateste, ELISA yöntemi ile ~6 bin örneği inceledikleri çalışmada, tüm örneklerin %70'den fazlasında CMV'nin, tekli veya PVY/TEV virüsleri ile karışık halde, tüm araştırma alanın %90'nından fazlasında mevcut olduğunu; TSWV ve TMV virüslerinin de araştırılan alanlarda tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Hiskias ve ark. (1999), 1994 yılında Etiyopya'da biber (286 örnek) ve domates (222) alanlarından topladıkları örneklerde ELISA yöntemi ile, biberlerin %72'sinin PVY (%26), EPMV (*Ethiopian pepper mottle virus;* %17), PVMV (%4), ToMV (%3); domateslerin %48'nin TMMV (*Tomato mild mottle virus;* %31), PVY (%8), ToMV (%3) virüsleri ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir.

Mijatović ve ark. (2000), 1998 yılında Sırbistan'da açık alan (a-275) ve örtü altı (ö-240) domates alanlarından topladıkları örneklerde DAS-ELISA yöntemi ile ToMV (a:%45-ö:%58), PVY (%49-%20), TMV (%40-%45), CMV (%27-%19), TSWV (%10-%20), PVX (%17-%7), TBRV (%6-%7), ToRSV (%5-%3), TAV (*Tomato aspermy virus;* %3-%0), AMV (%1-%0) virüslerini tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Moussa ve ark. (2000), 1997-1998 yıllarında Tunus'ta domates üretimi yapılan üç farklı bölgeden topladıkları 257 örnekte DAS-ELISA yöntemi ile sezon ve bölgeye göre değişen oranlarda TMV (%14-92), CMV (%8-83), TEV (%15-72), PVY (%9-83), ToMV (%10-34), TSWV (%0-40), TRV (%0-34), ToRSV (%0-70), PVMV (%0-52), AMV (%0-25), TAV (%0-25), PVX (%0-24) virüslerinin enfeksiyon oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Murphy ve ark. (2003), 2002'de ABD'de (New York) 100 biber örneğinde serolojik yöntemler ile CMV, PVY, TMV, TSWV, TRSV (*Tobacco ringspot virus*), AMV, PepMoV, TEV virüslerinden sadece TMV (%18) virüsünü tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Rodríguez ve ark. (2004), 1999'da Venezuela'da biber alanlarından topladıkları 85 örnekte ELISA yöntemi ile TRV (%6), PVY (%7), CMV (%23), ToRSV (%31), TMV (%34), TEV (%50), PMMoV (%55), TRSV (%59) virüslerinin saptandığını bildirmişlerdir.

Sepúlveda ve ark. (2005) 2001-2003 yıllarında Şili'de 841 biber örneğinde DAS-ELISA yöntemi ile CMV (%23), TSWV (%21), AMV (%15), PVY (%14), TMV (%5), INSV (*Impatiens necrotic spot virus*; %3), ToMV (%2) virüslerini tespit etmişlerdir.

Massumi ve ark. (2009) 2003-2005 yıllarında İran'da domates alanlarından topladıkları 1910 örneğin 488'nin (%25,6) bulaşık olduğunu; 3 farklı ELISA yöntemi ile ArMV (*Arabis mosaic virus*; %25,6) CMV (%23,4), BCTV (*Beet curly top virus*; %6,1), TSWV (%5,8), TMV (%5,6), PVY (%5), ToMV (%4,8), TYLCV (%1,6) virüslerinin tekli ve çoklu enfeksiyonlarını tespit ettikleri; TBSV (*Tomato bushy stunt virus*), TAV, TSV (*Tobacco streak virus*), PVS (*Potato virus S*), TRSV'nin tespit edilmediğini; çevredeki 20 yabancı ot türünde TSWV, TMV, PVY, CMV'nin tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Petrović ve ark. (2010) 2009 yılında Sırbistan'da biberde yaptıkları çalışmada fidelik (f-121), açık alan (a-207) ve örtü altı (ö-129) alanlardan topladıkları örneklerde (457) DAS-ELISA yöntemi ile CMV (f:%18-a:%37-ö:31), TSWV (%0-%0-%23), PVY (%3-%51-%33), AMV (%2-%21-%17) virüslerinin tekli ve çoklu enfeksiyonlarını tespit ettiklerini ancak TMV ve PVX'in enfeksiyonlarının tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Soler ve ark. (2010) 2007 yılında İspanya'da domates açık alanlarından topladığı 1300 örneğin %58,9'unda (766) DAS-ELISA yöntemi ile ToMV (%34,1), PVY (%27,1), CMV (%8,5), PepMV (%4,7), TSWV (%2,8), TYLCV (%1,3), PMoV (*Parietaria mottle virus;* %1,2) virüslerinin tekli (%42,4) ve çoklu (%16,5) enfeksiyonlarını tespit etmiştir. Çiftçilerin kendi tohumlarından kurulan tarlalarda (%64,2), ticari tohum/fide'den kurulan (%49,1) tarlalara göre daha fazla enfeksiyon görüldüğünü belirlemişlerdir.

Svoboda ve Svobodová-Leišová (2012) Çekya'da 2006-2010 yılları arasında biber üretim alanlarından topladığı 375 örnekte ELISA yöntemi ve elektron mikroskobu ile PVY (%29), CMV (%24), BBWV-1 (*Broad bean wilt virus 1;* %5), AMV (%4) virüslerinin tespit edildiğini; TMV, TSWV, PMMoV virüslerinin tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Hajiabadi ve ark. (2012) 2007 yılında İran'da domates alanlarından topladıkları 742 örneğin %20,5'sinde (152) ELISA yöntemi ile TMV (%13,5), CMV (%5,7), TSWV (%1,4) virüslerinin tekli enfeksiyonlarını tespit ettiklerini; PVY, TYLCV, TCSV, TBSV, ToRSV, TAV, BCTV virüslerinin tespit edilmediği; *Myzus persicae* ve *Aphis gossypii* türlerinde CMV'nin tespit edildiğini; enfekteli bitkilerden elde edilen tohumlarda TMV'nin tespit edildiğini ancak TSWV'nin edilmediğini bildirmişlerdir.

Kim ve ark. (2012) Kore'de 2007'den itibaren 5 yıl boyunca süren incelemelerinde, 53 farklı sebze türünde, yaklaşık 3000 örnekte, 40 farklı virüs türünün tekli ve çoklu enfeksiyonunu tespit etmişlerdir. İncelenen bitki türleri arasında yüksek sayıda örneğe

sahip olan, biberde CMV'nin %25 ve TSWV'nin %15; domateste TSWV'nin %15 ve CMV'nin %9 oranında enfeksiyon oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Tüm bitki türleri arasında TSWV ve CMV'nin en yaygın virüsler arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Soleimani ve ark. (2014) 2012-2013 yıllarında İran'da biber alanlarından topladığı 500 örnek üzerinde yürüttüğü çalışmada DAS-ELISA yöntemi ile PVMV (%11), PMMoV (%4,6), AMV (%4), CMV (%3,6), PMV (%3), PVY (%3), TSWV (%2,6) virüslerinin tekli ve çoklu enfeksiyonlarını tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Olawale ve ark. (2015) Nijerya'da 2010-2011 yıllarında biber alanlarından topladığı örneklerde ACP-ELISA yöntemi ile PVY (%79), TEV (%67), CMV (%61), PVMV (%58), PVX (%57), PMMoV (%43), TMV (%38), ToMV (%22) virüslerini tespit etmişlerdir.

Parrella ve ark. (2016) 2012-2015 yıllarında İtalya'da biber alanlarından topladıkları örneklerde CMV, TSWV, ToMV, AMV, PMMoV virüslerine ve potyvirus grubuna karşı ELISA testi yaptıklarında sadece PMoV virüsünü tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Ayo-John ve Odedara (2017) 2011 yılında Nijerya'da domates (58) ve biber (77) alanlarından topladıkları örneklerin (135) DAS-ELISA sonuçlarına göre %74,8'nin bulaşık olduğunu; domateste CMV (%5), PVY (%5), PVMV (%39,7) virüslerinin, biberde CMV (%19,5), ToMV (%3,9), PVMV (%67,5) virüslerinin tekli ve çoklu enfeksiyonlarını tespit ettiklerini ancak TSWV ve TYLCV virüslerini tespit etmediklerini bildirmişlerdir.

Wang ve ark. (2017) Çin'de 2014-2015 yıllarında 253 biber örneğinde 20 farklı virüsün tespitine yönelik RT-PCR çalışması yaptıktan sonra elde edilen izolatların karakterizasyonunu yapmışlardır. Bu tezde araştırılan virüslerden CMV'nin en yüksek oranda (%60) tespitlerden biri olmasına ek olarak, TMV'nin (%24,9), ToMV'nin (%9), PVY'nin (%6,7) tespit edildiği ancak TSWV'nin tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Nikolić ve ark. (2018) Sırbistan'da 2011-2012 yıllarında 3.220 domates örneğinde DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri ile CMV (%42), PVY (%40), AMV (%11), TSWV (%8,6), ToMV (%2,3), TMV (%1,3) virüslerinin tekli ve çoklu enfeksiyonlarının tespit edildiğini; PepMV, PVX, TYLCV, ToRSV virüslerinin tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Kil ve ark. (2018) 2015-2017 yıllarında Kore'de biber (b) ve domates (d) alanlarından topladıkları 1215 örnekte RT-PCR yöntemi ile en yaygın olarak CMV (b:%50-d:%25,5) ve TSWV (%12-38) virüslerini tespit etmişlerdir ve sezon içinde virüs yoğunluğunda değişim meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Desbiez ve ark. (2019) 2014-2015 yıllarında Azerbaycan'da ELISA ve RT-PCR çalışması ile domateste (137 örnek) CMV (%32-72), PVY (%9-26), TMV (%1), TSWV

(%1), TYLCV (%); biberde (112) CMV (%19-41), PVY (%1-18), PMMoV (%6), AMV (%3,5) virüslerini tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Laprom ve ark. (2019) 2016-2019 yıllarında Tayland'da topladıkları 2149 biber örneğinde ELISA yöntemi ile tekli ve çoklu *Begamovirus* grup (%33), CMV (%25,7), ChiVMV (*Chilli veinal mottle virus*; %21,5), TNRV (*Tomato necrotic ringspot virus;* %19,5) enfeksiyonları olmak üzere %70 (1482) oranında bulaşıklık saptadıklarını; ancak PVY, TSWV, TMV virüslerinin saptanmadığını bildirmişlerdir.

Liu ve ark. (2019) 2013-2017 yılları arasında Çin'de önemli sebze familyalarına ait türlerdeki virüs hastalıklarını belirmek amacıyla ~42 bin bitki örneğini serolojik ve moleküler yöntemler ile inceleyerek yaptıkları çalışmada, 63 farklı virüs belirlediklerini; *Solanaceae* familyası bitkilerinde (~16 bin) 40 farklı virüsün tespit edildiğini; domateste (d, ~6 bin) 25, biberde (b, ~8 bin) 33 farklı virüsün saptandığını; hem tüm türlerde hem de *Solanaceae* familyası türlerinde, en yaygın virüsler arasında CMV (d:%13, b:%20) ve TMV'nin (d:%8, b:%14) başı çektiğini bildirmişlerdir.

Batuman ve ark. (2020) 2007-2013 yılları arasında yaptıkları incelemeler neticesinde ABD'de domates alanlarında önemli sorun haline gelen TSWV'nin, epidemiyolojisi ile ilgili model geliştirdiklerini ve bu sayede entegre mücadele yöntemi (IPM) tasarladıklarını bildirmişlerdir.

Desbiez ve ark. (2020) 2016-2017 yıllarında Fransa'da sebze alanlarındaki araştırmalarında DAS-ELISA ve moleküler yöntemler ile domateste (d) ve biberde (b) CMV (d:%6-7, b:%8-17), PVY (%1-23,%9-25), TSWV (%6-16,%0-50), EMDV (*Eggplant mottled dwarf virus*; %1-5,%7-5), AMV (%1-10,%0), PMoV (d:%1-b:%4), PepMV (d:%5-b:%0), ToMV (d:%4-8), ToCV (d:%0-10) virüslerini tespit etmişlerdir.

2.2.Ülkemizde Domates ve Biber Virüsleri ile İlgili Tespit Çalışmaları

Özalp (1961) Ege bölgesindeki 9 ilde (İzmir, Manisa, Aydın, Denizli, Muğla, Uşak, Kütahya, Balıkesir, Çanakkale) sebze üretiminde ön plana çıkan yerlerden topladığı domates ve biber örneklerinde serolojik yöntemler ile TMV, CMV ve PVX tespit etmiştir.

Özalp (1964) İzmir ilinde sebze alanlarında 1963 yılında ciddi virüs enfeksiyonu görülmesi üzerine yaptığı çalışmada domates ve biberde biyolojik yöntemler ile domates ve biberde PVX, CMV ve TMV virüslerini tespit etmiştir.

Tekinel (1973) Adana, Antalya, Hatay, Mersin illerinden toplanan domates örneklerinde serolojik ve biyolojik yöntemler ile TSWV, CMV, ToMV, TMV+PVX virüsleri tespit etmiş ve bunlar hakkında çeşitli bilgiler sunmuştur.

Yılmaz ve Davis (1985) Akdeniz sahil şeridinde sebze üretimi yapılan illerden (Antalya, Mersin, Hatay, Adana) toplanan örneklerde serolojik ve biyolojik yöntemler ile domates ve biberde TMV, CMV, PVY virüslerini tespit etmişlerdir.

Nogay (1986) 1981-1982 yıllarında Trakya'da bölgesinden topladıkları domates örneklerinde (51 adet) serolojik ve biyolojik yöntemler ile CMV (4), TMV (2) ve TMV+PVX (3) enfeksiyonlarını tespit etmiştir.

Azeri (1994) 1993 yılında İzmir ve Manisa illerinden toplanan domateslerde biyolojik indeksleme ve ELISA yöntemi ile TSWV tespitini gerçekleştirmiştir.

Güllü ve Çalı (1994) tarafından 1989-1991 yıllarında Adana, Hatay ve Mersin illerinde örtü altı sebze alanlarında yürütülen çalışmada mekanik inokulasyon çalışmaları ile biberde TMV ve CMV, domateste ToMV, CMV, PVX virüslerin tekli ve çoklu enfeksiyonları tespit etmişlerdir. Ayrıca Mersin'de çiçek ve meyve dönemi incelemelerinde domateste %71,4'ten %85,7'ye; biberde %50'den %87,5'e ulaşan düzeyde hastalık belirtisi gösteren bitki sayısı artışı gözlemlediklerini belirmişlerdir.

Fidan (1995) 1992-1994 yılları arasında İzmir ve Muğla illerinden topladığı 136 domates (d) ve 15 biber (b) örneğinde mekanik inokulasyon ve DAS-ELISA yöntemi ile ToMV (d:16-b:2), TBRV (40-1), TRSV (28-2), TSWV (d:21) virüslerini tespit etmiştir.

Yılmaz ve ark. (1995) GAP bölgesinde (Şanlıurfa, Mardin, Diyarbakır, Adıyaman) 1988-1991 yıllarında topladıkları örneklerde mekanik inokulasyon ve DAS-ELISA çalışmaları sonucunda, TSWV ve PVY virüslerini sadece domateste; TMV ve CMV virüslerin hem domateste hem de biberde tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Güldür ve Yılmaz (1995) 1990-1992 yılları arasında Şanlıurfa ilinde domates alanlarından topladıkları 61 örnekte immunodifüzyon, mekanik inokulasyon ve DAS-ELISA yöntemleri ile ToMV (%42,6), CMV (%11,5), PVY (%3,3) virüslerinin tekli ve çoklu enfeksiyonlarını tespit etmişlerdir.

Kıran ve Ertunç (1998) 1989 yılında Van ilinde topladıkları biber örneklerinde mekanik inokulasyon çalışması sonucu TMV virüsünü hâkim tür olarak saptamışlardır.

Yardımcı ve Kılıç (2002) 2000-2001 yıllarında Isparta ilinde domates üretim alanlarından topladıkları örneklerde DAS-ELISA yöntemi ile CMV (%31,8) ve TMV (%22,7) virüslerini tespit etmişlerdir.

Bostan ve ark. (2002) 200-2001 yıllarında Erzurum ve Artvin illerinde domates ve hıyar alanlarından topladıkları örneklerde DAS-ELISA yöntemi ile TMV (%1,8-1), ToMV (%0,18-1,4), TSWV (%0,2) virüslerini tespit ettiklerini, ancak domateste TRSV, PVX, CMV virüslerini tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Ünlü ve Güldür (2004) 2003 yılında Şanlıurfa'da biber alanlarında yürüttükleri çalışmada DAS-ELISA yöntemi ile CMV virüsün çiçek döneminde %47, hasat döneminde %76 oranında hastalık oluşturduğu tespit etmiştir.

Arlı-Sökmen ve ark. (2005) 1998-1999 yıllarında Samsun ilinde biber alanlarından topladıkları 313 örneğin %41,5'nin (130) en az bir virüs ile bulaşık olduğunu DAS-ELISA yöntemi belirlemişlerdir. Örneklerde PVY (%20,2), ToMV (%9,8), TMV (%7,8), CMV (%7,7), AMV (%2,2), TSWV (%2,2) virüslerinin tekli ve çoklu enfeksiyonlarını belirlemişlerdir. Çeşitli yabancı ot türlerinde de bu virüsleri saptamışlardır.

Arlı-Sökmen ve Şevik (2006) 2002-2003 yıllarında Samsun'da topladıkları 186 domates örneğini DAS-ELISA testlediklerinde, %64,5'nin (120 örnek) ToMV (%52,1), TSWV (%12,9), PVX (%10,7) ve CMV (%6,9) virüslerinden en az biri ile enfekteli olduğunu ve örneklerin %16'sında (30) çoklu enfeksiyon tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Buzkan ve ark. (2006), 2004 yılında kırmızı biber üretiminde önemli yeri olan Hatay, Kahramanmaraş, Şanlıurfa ve Gaziantep illerinden topladıkları, 515 bitki örneğinin %64,8'inde (334) DAS-ELISA yöntemi ile PVY (%26,4), PVX (%25,8), AMV (%25,2), TEV (%23), PMMoV (%9,1), CMV (%8,3) virüslerini saptamışlardır.

Güldür ve Çağlar (2006) 2006'da Şanlıurfa örtü altı biber alanlarında şiddetli simptomlar görülen bitkilerde DAS-ELISA yöntemi ile 42 örnekte, CMV, PVY, TMV, TSWV, PMMoV, TEV virüslerini araştırmıştır. 42 örneğin hepsinde ve 12 tohum örneğinde sadece PMMoV virüsünü tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Özaslan ve ark. (2006) 2001 yılında Gaziantep ili biber alanlarından topladıkları 81 örneğin DAS-ELISA yöntemi ile %40'nın CMV (%19,7) veya TMV (%20,9) ile enfekteli olduğunu, TSWV ve PMMoV virüslerinin tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Turhan ve Korkmaz (2006) 2003-2004 yıllarında Çanakkale ilinde domates açık alanlarından topladığı 200 örnekte DAS-ELISA yöntemi ile %4,5'inde (9) TSWV enfeksiyonu tespit etmiştir. Pozitif sonuçları DTBIA (Direct Tissue Blot Immunoassay/ Direkt Doku Emdirme Yöntemi) ve mekanik inokulasyon çalışması ile doğrulamıştır.

Yardımcı ve Eryigit (2006) Kuzeybatı Akdeniz bölgesindeki domates alanlarından topladıkları örneklerde (138) DAS-ELISA yöntemi ile CMV'yi (%38,4) saptamışlardır.

Değirmenci ve Uzunoğulları (2007) 2003-2004 yıllarında Bursa, Bilecik, Sakarya, Tekirdağ illerinde domates alanlarında artan şikayetler üzerine yaptıkları çalışmada topladıkları 708 bitki örneğinde DAS-ELISA yöntemi ile TSWV (%5,5-78,6), CMV (%9-68,7), PVY (%7,7-37,5), ToMV (%1,2-35,3) ve PVX (%4,8-18,1) virüslerini tespit etmişlerdir. TSWV'nin incelenen bölge için ciddi bir sorun olduğunu belirtmişlerdir.

Özdemir ve Erilmez (2007) 2005-2006 yıllarında Denizli ilinde sebze üretim alanlarında yürüttükleri çalışmada DAS-ELISA yöntemi ile biberde TSWV (%81), CMV (%1,9), AMV virüslerinin tekli ve çoklu enfeksiyonlarını tespit etmişlerdir.

Kaya ve ark. (2009) 2002-2004 yılların arasında Muğla ilinde örtü altı domates alanlarından topladıkları 78 yaprak örneğinde DAS-ELISA yöntemi ile TMV (%30), TSWV (%3,8) ve CMV (%2,5) virüslerini tespit etmişlerdir. Ayrıca sezon başında tohum ve fidelerin, DAS-ELISA ile inceledikleri virüsler (TMV, CMV, TSWV, ToMV, PVY, TYLCV) açısından temiz olduğunu, sezon içinde belirti gösteren bitkilerde moleküler hibridizasyon yöntemleri ile %55,2 TYLCV enfeksiyonu tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Özdemir ve ark. (2009) 2005 ve 2006 yıllarında Denizli ilinde örtü altı domates alanlarından topladıkları örnekleri DAS-ELISA ile testlediklerinde, 71 yaprak örneğinin %60'nın (43) ve 7 meyve örneğinin 7'sinin de TSWV ile bulaşık olduğunu ve 41 yabancı ot örneğinin %36,5'nin de (15) TSWV ile bulaşık olduğunu saptamışlardır.

Yardımcı ve Çulal-Kılıç (2009) Batı Akdeniz Bölgesi'nde 2006-2007 yıllarında sebze üretim alanlarından topladıkları 337 bitki örneğini DAS-ELISA yöntemi ile testlediklerinde %46,5'nin (157) TSWV ile bulaşık olduğunu ve bunun %67'sinin biber, %66,6'sının marul, %46,9'nun domates, %16,6'sının kabak olduğunu bildirmişlerdir.

Bostan ve Dursun (2011) 2001 yılında Erzincan (Kemaliye) ve Artvin (Yusufeli) biber üretim alanlarından topladıkları 45 yaprak örneğinde ELISA yöntemi ile 17 PVY ve 10 TMV tekli enfeksiyonu ve 1 PVY+TMV ikili enfeksiyonu tespit etmişlerdir. PVX ve CMV virüsleri tespit edilmemiş olsa da tarlalardaki bitkilerin çoğunda virüslere özgü simptomlar görüldüğü bildirmişlerdir.

Buzkan ve ark. (2013) 2011 yılında Türkiye (Hatay) ve Tunus'ta açık alandan topladıkları biber örneklerinde DAS-ELISA yöntemi ile, her iki ülkede genel olarak PVY (Türkiye için; %15,3), TEV (%19,6) ve CMV (%4,8), virüslerinin yaygın olduğunu; TSWV (%0,5), ToMV (%0,5) ve PMMoV (%6,9) virüslerinin daha az yaygın olduklarını; RT-PCR yöntemi ile tespit edilen *Polerovirus* (BWYV ve PVYV (*Pepper vein yellows virus*)) enfeksiyonun toplamda en yaygın (%70,5) olduğunu tespit etmişlerdir.

Çulal-Kılıç ve ark. (2015), 2012-2013 yılları arasında Burdur'da biber üretim alanlarından topladıkları 124 örnekte, 20 örneğin virüsle bulaşık olduğunu, bunun 8'nin CMV, 8'nin PMMoV 4'nün ikili enfeksiyon (CMV+PMMoV) şeklinde görüldüğü DAS-ELISA yöntemi saptamışlardır. Ayrıca RT-PCR ile CMV örneklerini doğrulamışlardır.

Şin ve Arlı-Sökmen (2016) 2014 yılında topladıkları 510 adet simptomlu domates örneğinin DAS-ELISA sonucuna göre Amasya'da %13, Samsun'da %22,6, Tokat'da %13,5 TSWV enfeksiyon oranı tespit etmişlerdir.

Çulal-Kılıç ve ark. (2017a) 2014 yıllında Isparta ve Burdur illerinde domates alanlarından topladığı 78 yaprak örneğini DAS-ELISA yöntemi ile TSWV'ye karşı testlediklerinde hepsini negatif olduğunu bulmalarına karşın RT-PCR yöntemi ile 15 örneğin pozitif olduğunu tespit etmişlerdir.

Çulal-Kılıç ve ark. (2017b) 2012-2013 yıllarında Batı Akdeniz Bölgesi örtü altı domates alanlarında ciddi virüs zararı görülmesi üzerine 6 farklı yerden toplanan 186 domates yaprağı örneğini DAS-ELISA yöntemi ile testlediklerinde %63,4'ünde (118 örnek) tekli veya çoklu enfeksiyon görüldüğünü; oransal olarak %28,4 TSWV, %23 TYLCV ve %11,8 PepMV virüslerinin enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir.

Çulal-Kılıç ve ark. (2017c) 2012-2013 yılları arasında Burdur, Isparta, Denizli illerinde biber alanlarından topladığı 448 örnekte TSWV varlığını biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler ile araştırmıştır. DAS-ELISA testine göre 61 örneğin pozitif tespitine ek olarak, 86 örneğin (25 negatif ve 61 pozitif) TSWV'ye karşı moleküler olarak testlenmesinde RT-PCR yöntemi ile 63 örnek pozitif bulunurken, IC-RT-PCR yöntemi ile 70 örneğin pozitif olduğunu tespit etmişlerdir.

Özdağ ve Sertkaya (2017) 2013 ve 2015 yılları arasında Hatay ilinde açık alan ve örtü altı biber üretim alanlarından topladıkları sarılık belirtileri gösteren 303 adet biber örneğinde DAS-ELISA yöntemi ile tekli ve çoklu halde PVY (%13,8), CMV (%5,5), ToMV (%2,6), TEV (%2,6), BWYV (%1,9) virüslerini ve %1'den az oranda TSWV, PepMV, TRV, PMMoV, PLRV, PVX, AMV virüslerini tespit etmişlerdir.

Sertkaya ve Yılmaz (2017) 2009-2010 yıllarında Hatay ilinde örtü altı organik domates yetiştiriciliği alanlarından topladıkları 214 bitki örneğinde DAS-ELISA yöntemi ile %22,4 TYLCV, %7 PVY, %3,7 CMV, %1,4 TSWV, %0,9 PLRV, %0,4 AMV virüslerinin tekli ve çoklu enfeksiyonlarını tespit etmişlerdir. PVX, ToRSV ve ToMV virüslerinin enfeksiyonun tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Çulal-Kılıç (2019) 2012-2013 yıllarında Denizli ve Burdur illerinden toplanan 209 biber yaprağı örneğinde ToMV'nin varlığını biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler

ile araştırmıştır. DAS-ELISA testi sonucunda enfekteli bulunan ve biyolojik testleme yapılarak doğrulanan 10 örnek ile negatif sonuç veren 20 örnek, IC-RT-PCR yöntemi ile analiz edildiğinde hepsinin ToMV açısından pozitif olduğunu saptamıştır.

Öztürk ve Baloğlu (2019) 2014 ve 2015 yıllarında Doğu Akdeniz Bölgesi (Adana, Mersin, Hatay, Kahramanmaraş ve Osmaniye) açık alanda yetiştirilen biberlerdeki virüslerin saptanması, yaygınlıklarının belirlenmesi, izolatlar elde edilmesi ve muhafazası için virüs hastalığı belirtisi gösteren, 1225 bitki örneği toplamışlardır. DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri ile %59,4'ü (728) enfekteli bulunan bitki örneklerinde CMV (%33,68), TEV (%22,26), PVY (%19,64), PVMV (%11,38), TSWV (%4,66), PepMoV (%3,3), PMMoV (%1,52), ToMV (%1,2), TMV (%1,08) ve AMV (%1,08) olmak üzere 10 farklı virüsün değişen oranlarda enfeksiyonlarını tespit etmişlerdir. ChiVMV, PVX ve TYLCV virüslerinin bulunmadığını belirtmişlerdir.

Yılmaz ve Sipahioğlu (2020) 2018 yılında Diyarbakır ilinde domates üretim alanlarından toplandıkları 278 örnekte PCR yöntemi ile %20,1'nin (56) en az bir virüs ile bulaşık olduğunu moleküler olarak tespit etmişlerdir. Testlenen örneklerde ToMV (%14,7), PVY (%7,6) ve TMV+PVY (%2,2) enfeksiyonlarının görülmesine karşın TYLCV, TSWV ve ToRSV enfeksiyonlarının görülmediğini bildirmişlerdir.

2.3.TSWV ve CMV Virüsleri ile İlgili Filogenetik Çalışmalar

Bonnet ve ark. (2005) İspanya'da 1989-2002 arasında domates, biber, kavun ve kabak kaynaklı 159 CMV izolatının genetik karakterizasyonu için RPA (Ribonuclease protection assay) yöntemi, sekanslama çalışması ve filogenetik analizler ile 3 genom segmentinin de incelenmesi sonucunda, izolatların %64'nün IA alt grubunda, %12'sinin ise IB alt grubunda yer aldığını, tespit ettikleri rekombinasyon ve reassortment olaylarının RNA3'te RNA 1 ve RNA 2 segmentlerine göre daha sık görüldüğü bildirmişlerdir.

Tsompana ve ark. (2005) TSWV'nin popülasyon genetiği ile ilgili yaptıkları çalışmada, filogenetik analizlere göre bu virüsün coğrafik olarak alt popülasyonlara ayrıldığını ve yüksek genetik çeşitlilik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Mun ve ark. (2008) 2006'da Kore'de biber alanlarında ciddi hastalık belirtileri görülmesi üzerine meyve örnekleri ile RT-PCR çalışması yaptıklarında TSWV, CMV, PepMoV, PMMoV virüslerinden sadece CMV ve TSWV'nin tespit edildiğini, dizileme çalışması yapıldığında da aminoasit dizilerinin nükleokapsid protein (TSWV) ve kılıf protein (CMV) ile %100 ve %98 oranında eşleştiğini belirtmişlerdir.

Koundal ve ark. (2011) Hindistan'da domatesten izole ettiği CMV'nin tam genom sekansı ile 15 farklı tam genom CMV sekansı kullanarak filogenetik ve rekombinasyon analizi yaptıkları çalışmada, izolatın IB grubunda yer aldığını, RNA 3 segmentinin diğer Hindistan izolatları ile %89,2-97,4 oranında benzer olduğu, başka çalışmalarda sık olduğundan bahsedilen alt gruplar arası rekombinasyon ve reassortment olayının daha nadir olduğunu ancak bu durumun genetik değişikliklerin önemsiz olduğu anlamına gelmeyeceğini belirtmişlerdir.

Lee ve ark. (2011) Kore'de biber ve domates kaynaklı 3 farklı TSWV izolatının tam genom sekans verisini çıkardıkları çalışmada, N genin filogenetik ağacında 4 farklı grup oluştuğunu ve bunun coğrafik kökenli olduğunu, bu durumun izolatların ayrımında önemli rol aldığını bildirmişlerdir. Ayrıca genom segmentlerinin nükleotid uzunlukları açısından domates ile biber izolatları arasında farklılık olduğunu ve bu durumun genomda meydana gelen eklenme veya silinmeden meydana gelebileceğini belirtmişlerdir.

Tentchev ve ark. (2011) TSWV'nin genetik çeşitliliğini değerlendirmek amacıyla Avrupa'nın çeşitli yerlerine ait 224 farklı domates ve biber izolatını 3 RNA segmetine göre analiz ettiklerinde izolatların %83'nün coğrafik olarak gruplara ayrıldığını belirlemişlerdir.

Zindović ve ark. (2011) Karadağ'da farklı sebze çeşitleri ve yabancı otlarda DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri ile TSWV'nin tespiti sonrasında yaptıkları, dizileme çalışması ile N gen bölgesinin filogenetik analizine göre Karadağ'daki izolatların diğer Avrupa ülkelerindeki izolatlarla yüksek seviyede (%97-99,9) benzerlik gösterdiğini, 2 izolat haricinde incelenen izolatların aynı coğrafik bölgeden olanlar ile kümelendiğini ve 7 ayrı alt grup oluştuğunu belirlemişlerdir.

Lian ve ark. (2013) Kore'de çeşitli sebzelerden 10 farklı TSWV izolatının tam genom sekansının belirledikleri çalışmada filogenetik ve rekombinasyon analizlerine göre, Kore'deki TSWV izolatlarının iki gruba ayrıldığını, izolatların L ve M segmentlerinin Avrupa ve Kuzey Amerika kökenli olmasına karşın S segmentinin Çin ve Japonya kökenli olduğunu saptamışlardır. Ayrıca rekombinasyon ve reassortment olaylarının TSWV'nin moleküler çeşitliliğinde rol aldığını kanıtlayan bilgiler ortaya çıkarmışlardır.

Kayode ve ark. (2014) 2013'te Nijerya'da 92 domates örneğinin 24'ünde ELISA ile CMV tespit sonrasında, 7 izolat ile CP gen bölgesine göre RT-PCR ve sekanslama çalışması yaptıklarında 4'nün IA, 3'nün IB alt grubunda yer aldığını belirlemişlerdir.

Kim ve ark. (2014) Kore'de biber kaynaklı 45 CMV izolatlarının tam genom sekansı ile yaptıkları popülasyon genetiği çalışmasında, çeşitli rekombinasyon ve

reassortment olayı tespit ettiklerini, izolatların enleme göre coğrafik olarak kümelendiği ve tüm izolatların alt grup IA (yoğunlukta) ve IB'de yer aldığını bildirmişlerdir.

Eyvazi ve ark. (2015) 2012-2013 yıllarında İran'da, domates ve biber ile çeşitli kültür bitkilerine ait 132 örnekten 31'nde ELISA yöntemi ile CMV tespiti sonrasında, farklı bitki türlerinden 5 izolat ile CP gen bölgesine göre PCR ve sekanslama çalışması yaptıklarında, tek domates izolatı ile birlikte iki izolatın (yabancı ot, kereviz) IB alt grubunda, diğer izolatların (tütün, hıyar) ise IA alt grubunda yer aldığını belirlemişlerdir.

French ve ark. (2016) ABD'de (New Mexico) 2006-2010 yıllarında 6 farklı kültür bitkisinden (domates, biber, yerfıstığı, patates, börülce, kabak) topladıkları 302 örneğin 285'nde RT-PCR ile TSWV'nin N geninin amplikonlarını tespit ettiklerini, 241 izolat dizilendiğinde 74 farklı grup oluştuğunu ve bunlardan 6 farklı temsili dizi ile filogenetik analiz yaptıklarını belirtmişlerdir. Buna göre izolatların istisnalar olsa da Avrupa, Asya ve Amerika olmak üzere coğrafik olarak büyük gruplar oluşturduğunu ve kendi izolatlarının tümünün Amerika grubunda alt grup olarak kümelendiğini bildirmişlerdir.

Şin ve Arlı-Sökmen (2016) 2014 yılında Samsun'da domateste yaptıkları bir çalışmada RT-PCR yöntemi ile TSWV'nin N protein gen bölgesini çoğaltıp dizi analizlerini yapmışlardır. Filogenetik analizlerine göre izolatların kendi aralarında %97-%99 arası ve dünya izolatlarıyla %79-99 arası benzerlik gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Zhang ve ark. (2016) Çin kaynaklı 3 TSWV izolatının (1 tütün, 2 biber) tam genom sekansının filogenetik analizine göre, Çin izolatlarının S segmentine göre temelde iki ayrı (Kore ve ABD) gruba ayrıldığını, genel olarak bir arada gruplanmadığını ve bu durumun tespit ettikleri rekombinasyon ve reassortment olayı kaynaklı olduğunu bildirmişlerdir.

Abadkhah ve ark. (2018) İran'da 2015-2016 yıllarında domates örneklerinde ELISA ve RT-PCR ile TSWV'nin tespiti sonrasında, 4 izolatın L, N ve NSs gen bölgelerinin sekans verileri ile filogenetik analiz yaptıklarında N protein gen bölgesine göre İran izolatlarının birlikte ayrı bir grup oluşturduğu ve Avrupa izolatları ile yakın, Asya izolatları ile uzak ilişkili görüldüğünü belirlemişlerdir. Ayrıca farklı çalışmalarda bildirildiği gibi TSWV'nin coğrafik olarak gruplanmadığını ve izotlarının kendi aralarında %99 nükleotid, %98 amino asit özdeşliği gösterdiğini belirtmişlerdir.

Uzunoğulları ve Gümüş (2018) Bursa, İstanbul ve Bilecik illerinde 2012-2015 yıllarında domates alanlarından topladıkları örneklerde DAS-ELISA yöntemi ile TSWV'yi tespit etmeleri sonrasında, RT-PCR ve dizileme çalışması ile N protein bölgesi çoğaltılan 22 izolatın, kendi aralarında ve dünya izolatları arasında nükleotid ve amino asit düzeyinde %97'nin üzerinde benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Güneş ve Gümüş (2019) Antalya'da 2015 yılında topladıkları biber örneklerini (148) DAS-ELISA ile testlediklerinde 53 TSWV (%35,8) ve 11 CMV (%7,3) enfeksiyonu tespit ettiklerini; RT-PCR ve dizileme çalışması sonucu elde edilen sekans verileri Türkiye ve dünya izolatlarıyla kıyasladığında TSWV'nin %92-97 ve CMV'nin %89-96 oranında benzerlik gösterdiğini; TSWV izolatının, Türkiye, İtalya ve İspanya'da daha önceden tespit edilen dayanıklılık kırıcı izolatlarla %92,9 oranında benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Ahsan ve ark. (2020) Pakistan'da 2016-2017 yıllarında domates ve biber ile birlikte çeşitli kültür bitkilerinde CMV'nin ELISA ve RT-PCR ile tespiti sonrası 10 izolatın CP gen dizilimi ile filogenetik analiz yaptıklarında, tek domates ve bir biber izolatı ile birlikte 4 izolatın alt grup II'de, diğer bir biber izolatı ile birlikte 3 izolatın alt grup IB'de yer aldığını; alt grup II izolatlarının yaygın olmasını, dünyadaki diğer bölgelerde olduğu gibi örnek topladıkları bölgenin de ılıman bölge olmasıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Desbiez ve ark. (2020) 2016-2017 yıllarında Fransa'da serolojik moleküler ve HTS (High Throughput Sequencing) yöntemleri ile kabak, kavun, domates ve biber bitkilerinden 1530 örnekte çeşitli virüsleri araştırdıklarında, CMV'nin kısmi genom sekansına (RNA3 segmenti için CP proteini ele alınmış) göre, domates ve biberde tüm alt gruplarda tespitler görüldüğünü ancak izolatların büyük çoğunluğunun (214) IA alt grubunda yer aldığını ve IB alt grubundaki domates izolatlarının Türkiye ve İran izolatları ile %99'dan fazla oranda benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Fontana ve ark. (2020) İtalya'da 2014-2015 yıllarında biber kökenli 6 TSWV izolatının tam genom sekansı ile filogenetik analiz yaptıklarında, N protein gen bölgesine göre izolatların önceden Sialer ve ark. (2002) tarafından bildirilen "A-like (domateste dayanıklılık kırıcı)" ve "D-like (dayanıklılık kıramayan)" gruplarına ek olarak üçüncü bir grupta daha yer aldığını; bazı izolatlarda S ve M segmentlerinde reassortment ve rekombinasyon olayı tespit ettiklerini ve bu durumun izolatların dayanıklılık kırıcı izolatla kümelenme görüldüğü için önemli bir durum olduğunu bildirmişlerdir.

Vinodhini ve ark. (2020) Hindistan'da 2018-2019 yıllarında biberde RT-PCR ve ELISA ile CMV tespit ettikleri örneklerden 3 izolatın tam genom sekansı ile filogenetik analiz yaptıklarında, IB grubunda yer alan kendi izolatlarının CP sekans dizilimine göre alt grup IB ile %97-98, alt grup IA ile %92-93, alt grup II ile %81-82 oranında benzerlik gösterdiği, rekombinasyon ve reassortment olayı görüldüğünü bildirmişlerdir.

3.MATERYAL VE METOT

3.1.Materyal

3.1.1.Arazi çalışmaları ve bitki örneklerinin toplanması

Arazi çalışmaları kapsamında 2019 yılının Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında Eskişehir (Mihalgazi, Sarıcakaya, Tepebaşı, Odunpazarı, Sivrihisar, Seyitgazi) ilinin örtü altı ve açıkta domates (*Solanum lycopersicum*) ve biber (*Capsicum annuum*) yetiştiriciliği yapılan alanlarında virüs hastalığı şüphesi taşıyan ve virüs hastalıklarına benzer belirti gösteren bitkilerden toplanan yaprak ve meyve örnekleri, bu tezin ana materyalini oluşturmaktadır. Bitki türüne ve alan tipine göre ilçe geneli toplanan örneklerin sayısı Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. İl ve ilçe geneli bitki türüne göre örtü altı ve açık alandan toplanan örnek sayısı

İl	İlçe	Bitkiler						Toplam
		Domates		Domates	Biber		Biber	
		Örtü altı	Açık alan	toplam	Örtü altı	Açık alan	toplam	
Eskişehir	Mihalgazi	35	7	42	35	4	39	81
	Odunpazarı	-	19	19	-	3	3	22
	Sarıcakaya	30	4	34	4	11	15	49
	Seyitgazi	3	3	6	-	-	-	6
	Tepebaşı	-	6	6	-	6	6	12
Alan toplam		68	39	107	39	24	63	170

3.1.2.Serolojik test (DAS-ELISA) çalışmasında kullanılan materyaller

Arazi çalışmalarında toplanan bitki örnekleri, DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich- Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile serolojik olarak testlenecek materyal olarak kullanılmıştır. DAS-ELISA yöntemi; test materyali, spesifik ELISA kitleri, tampon solüsyonları (fosfat, kaplama, yıkama, örnek ekstraksiyon, konjugat, substrat), 96 kuyucuklu düz tabanlı yüksek bağlanma kapasitesine sahip MaxiSorp™ F96 (NUNC™) ve Costar™ 3590 (Corning®) model mikroplakalar, hassas terazi (Ohaus®, Adventurer™Pro AV264C), inkübatör (Nüve®, EN400), etüv (Nüve®, FN400), pH metre (WTW, PH3110 Set2 Sentix®), homojenizatör, ezme poşeti, ayarlanabilir mikropipetler ve pipet uçları ve saf su kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ELISA test sonuçlarının elde

edilmesinde ELISA okuyucusu (Biochrom Anthos 2010) ve 405nm dalga boylu filtre kullanılmıştır. Kullanılan ELISA tampon solüsyonları EK-1'de verilmiştir.

DAS-ELISA yönteminde kullanılan BIOREBA AG (İsviçre) firmasından TSWV, CMV, TMV, PVY mono-cock, ToMV virüslerine spesifik ELISA kitleri ile LOEWE® Biochemica GmbH (Almanya) firmasından TNV, PepMV, ToCV virüslerine spesifik ELISA kitleri temin edilmiştir. Kitler hakkında bilgiler Çizelge 3.2'de verilmiştir. Araştırma kapsamında gerçekleştirilen DAS-ELISA testi çalışmaları, Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Viroloji Laboratuvarında yürütülmüştür.

Çizelge 3.2.DAS-ELISA'da kullanılan antiserumlar (ELISA kitleri) ve sulandırma oranları

Akronim	Virüs	Marka	IgG Tipi (Coating/Conjugat)	Seyreltme Oranı
TSWV	*Tomato spotted wilt virus*	BIOREBA	Poliklonal/Monoklonal	1/1000
CMV	*Cucumber mosaic virus*	BIOREBA	Poliklonal/Poliklonal-Monoklonal	1/1000
PVY	*Potato virus Y* (mono-cock)	BIOREBA	Monoklonal/Monoklonal	1/1000
TMV	*Tobacco mosaic virus*	BIOREBA	Poliklonal/Poliklonal	1/1000
ToMV	*Tomato mosaic virus*	BIOREBA	Poliklonal/Poliklonal	1/1000
PepMV	*Pepino mosaic virus*	LOEWE	Poliklonal/Poliklonal	1/200
ToCV	*Tomato chlorosis virus*	LOEWE	Poliklonal/Poliklonal	1/200
TNV	*Tobacco necrosis virus*	LOEWE	Poliklonal/Poliklonal	1/200

3.1.3.Moleküler karakterizasyon çalışmasında kullanılan materyaller

Bazı bitki örneklerindeki TSWV ve CMV virüslerinin varlığını moleküler olarak ortaya koymak ve tanılamak için yapılan, iki aşamalı RT-PCR ve filogenetik analiz çalışmalarında TNA ekstraksiyonu, cDNA sentezi, primer tasarımı, PCR ve agaroz jel görüntüleme yönteminde çeşitli materyaller ile filogenetik analizde sekans verileri, çeşitli araçlar ve yazılımlar kullanılmıştır.

3.1.3.1.Toplam nükleik asit (TNA) ekstraksiyonunda kullanılan materyaller

Toplam nükleik asit (TNA) izolasyonu, Foissac ve ark. (2001)'nın silika jel protokolüne göre yapılmıştır. Bu protokol için, tampon çözeltiler (ekstraksiyon tamponu, yıkama tamponu, %10'luk SDS, sodium iodin, silika jel), etanol (%98-99), 2-mercaptoethanol, nükleaz ari su (RNase-DNase free water), santrifüj (Wisd, WiseSpin® CF-10), vorteks (Wisd, WiseMix® VM-10), ısıtıcı kuru blok (Mtops®, DMB-2), ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Mtops®, MS300HS), hassas terazi (Ohaus®, Adventurer™Pro AV264C), ayarlanabilir mikropipetler ve pipet uçları, farklı hacimlerde mikrotüpler, steril

havan ve havan eli kullanılmıştır. Kullanılan tampon çözelti ve solüsyonların içeriği ve hazırlanışları EK-2'de verilmiştir.

3.1.3.2.Komplementer DNA (cDNA) sentezinde kullanılan materyaller

TNA ekstraksiyonu yapılan örneklerden cDNA sentezi gerçekleştirmek amacıyla Fermantas marka cDNA sentez kiti (RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit, K1621) kullanılmıştır. Kit içeriğinden RevertAid™ M-MuLV Reverse Transcriptase enzimi (200 U/µL), RiboLock™ RNase inhibitörü (20 U/µL), 5X RT reaksiyon tampon çözeltisi, random hexamer primer (100 µM), dNTP Mix (10 mM) ve nükleaz ari su kullanılmıştır. Sentezin gerçekleştirilmesinde PCR cihazı (Bio-Rad, T100™ Thermal Cycler), santifüj cihazı, mikro tüp, mikropipet ve pipet uçları kullanılmıştır.

3.1.3.3.PCR çalışmalarında kullanılan materyaller

PCR çalışmasında, reaksiyon için cDNA'nın yanında Fermantas marka 2X PCR Master Mix (K0171; İçeriği: 0,05 U/µl *Taq* DNA polimeraz enzimi, 4 mM $MgCl_2$, 0,4 mM dNTP'ler (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), reaksiyon tampon çözeltisi), ileri (forward) ve geri (reverse) yönlü primerler (10µM) ve nükleaz ari su kullanılmıştır. Çalışmanın gerçekleştirilmesinde PCR cihazı (Bio-Rad, T100™ Thermal Cycler), mikro tüp, mikropipet ve pipet uçları kullanılmıştır. Viroloji laboratuvarında daha önceki çalışmalardan kalan CMV (Alfa DNA) ve bu çalışmada tasarlanan TSWV primerleri ile ilgili baz dizilimleri, amplifikasyon bölgeleri ve uzunlukları ile TM sıcaklıkları hakkındaki bilgiler Çizelge 3.3'de verilmiştir. Bu tez çalışması için tasarlanan TSWV primerleri Oligomer Biyoteknoloji A.Ş.(Ankara) tarafından sentezlenmiştir.

Çizelge 3.3. PCR çalışmalarında kullanılan primerlerin hakkında bilgiler

Virüs/ Segement, Gen Bölgesi	Primer Adı	Primer Baz Dizilimi (5′-3′)	Ürün Boyutu	TM Sıcaklığı	Kaynak
TSWV/ S-RNA Nucleokapsid geni (Tamamı)	NC-For	CACACTAAGCAAGCACAAGCA	948 bp	59,67ºC	Bu çalışmada tasarlandı.
	NC-Rev	ACCTAAGAAACGACTGCGGG		60,04ºC	
CMV/ RNA-3 Kılıf protein geni (Kısmi)	CPf	TATGATAAGAAGCTTGTTTCGCG	488 bp	59,2ºC	Wylie ve ark. (1993)
	CPr	GCCGTAAGCTGGATGGACAA		60,5ºC	

3.1.3.4.Agaroz jel elektroforez yönteminin uygulanmasında kullanılan materyaller

Çoğaltılan PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforez yöntemi ile görüntülenmesi için PCR ürünü, Fermantas marka (SM0241) DNA boyut işaretleyici (DNA GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder (0.1µg/µL)) ve 6X DNA Loading Dye, agaroz (AppliChem, A8963), nükleik asit boyası (Ethidium bromide), 1X TAE tampon çözeltisi (EK-3), elektroforez ünitesi (Thermo Scientific, Owl™ EasyCast™ B2), güç kaynağı (Bio-Rad, PowerPac™ Basic), jel görüntüleme sistemi (UV-Transillüminatör, Vilber Lourmat) ve mikro dalga fırın kullanılmıştır.

3.2.Metot

3.2.1.Arazi çalışmaları, örnekleme ve hastalık yaygınlık oranı hesabı

2019 yılında Eskişehir ilinin merkez ve çevre ilçelerinde yürütülen arazi çalışmaları kapsamında, örtü altı ve açık alanda yetiştirilen domates ve biber bitkilerindeki virüs enfeksiyonlarının belirlenmesi amacıyla güdümlü örnekleme (Bora ve Karaca, 1970) yapılmıştır. Bu örnekleme yönteminde, problemin (bitkilerdeki virüs enfeksiyonu) en tipik biçimde gözlenebileceği (belirti gösteren bitkiler) alt grup örneklem olarak seçilir.

İncelenen arazilerde mozaik, nekroz, halkalı leke, beneklenme, kloroz, şekil bozukluğu, bodurluk gibi virüs hastalıklarıyla ilişkilendirilen belirtilere sahip bitkiler dikkate alınmıştır. Arazide toplanan her bir bitki örneği, Memento Database (2019,Versiyon 4.6.5) mobil uygulamasına ayrı ayrı etiket bilgileri (alan tipi, bitki türü, lokasyon, tarih) yazılarak kaydedilmiş, fotoğraflanmış ve plastik torbalar içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Örnekler serolojik ve moleküler çalışmalarda kullanılıncaya kadar -20ºC'de çalışan derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Hastalık yaygınlık oranının belirlenmesi için arazi çalışmalarında üretim alanlarındaki gözlemlere dayalı olarak hastalık belirtisi gösteren bitki sayısı, toplam bitki sayısına oranlanarak her alan için yakalanma oranı (%) tespit edilmiştir. Yakalanma oranı üzerinden il ve ilçe geneli yaygınlık oranı hesabı Bora ve Karaca (1970)'nın önerdiği aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$\text{Hastalık yaygınlık oranı} = \frac{(a_1 \times b_1)+(a_2 \times b_2)+(a_3 \times b_3)+\cdots}{\text{Maksimum hastalık oranı (Toplam tarla alanı (da)} \times 100)} \times 100$$

a: Her bir tarla için hesaplanan yakalanma oranı (%), b: Tarla alanı (da)

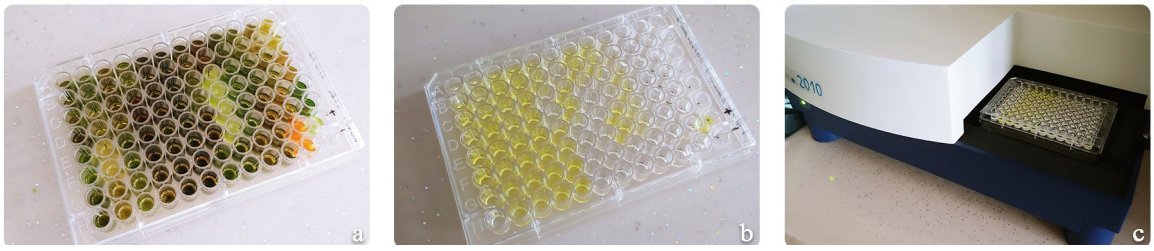
3.2.2.Serolojik testleme (DAS-ELISA yöntemi)

Arazi çalışmalarında toplanan ve sonrasında laboratuvara getirilen domates ve biber örnekleri, virüs etmenlerinin tespiti amacıyla öncelikle serolojik (antikor-antijen ilişkisine dayanan) olarak test edilmiştir. Serolojik test metodu olarak DAS-ELISA yöntemi kullanılmıştır. DAS-ELISA yöntemi ile örneklerde TSWV, CMV, PVY, TMV, ToMV, PepMV, TNV ve ToCV virüslerinin varlığı serolojik olarak araştırılmıştır.

DAS-ELISA yöntemi, Clark ve Adams (1977) ile kitlerin temin edildiği firmaların önerileri doğrultusunda standart DAS-ELISA protokolü dikkate alınarak, her örnek için çift tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Şekil 3.1'de yöntemle ilgili bazı görseller yer almaktadır. Yöntem, aşağıda sıralı halde verilen işlemler gerçekleştirilerek yapılmıştır.

1. Kaplama işleminde, 1/200 veya 1/1000 oranında IgG'lerin (IgG Coating) sulandırıldığı kaplama tampon çözeltisi, mikro pipet ile 100 µl hacimde mikroplakaların her bir kuyucuğuna ilave edilmiştir. Sonrasında mikroplakalar 37ºC'de 4 saat ya da 1 gece (en az 16 saat) +4ºC'de inkübasyona tabi tutulmuştur.
2. Yıkama işlemi, inkübasyon ardından kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp, yıkama tampon çözeltisi (PBST) ile kuyucuklar doldurularak 3 dakika beklenip ardından boşaltma yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu işlem 3 kez tekrarlandıktan sonra mikroplakalar ters çevrilerek kurutma kâğıdı üzerinde kurumaları sağlanmıştır.
3. Bitki örnekleri (yaprak, meyve), örnek ekstraksiyon tampon çözeltisi ile 1/10 oranında hazırlanarak ezme poşeti içerisinde ezilmiştir. Örnekler, pozitif (enfekteli) ve negatif (sağlıklı) kontroller ile birlikte mikroplaka kuyucuklarına 100 µl hacimde çift tekerrürlü olacak şeklide mikro pipet yardımıyla ilave edilmiştir. Sonrasında mikroplakalar +4ºC'de bir gece inkübasyona tabi tutulmuştur.
4. Bir gecelik inkubasyondan sonra mikroplakalar, kuyucuklar arası karışma olmayacak şekilde boşaltılmıştır. Boşaltma sonrasında mikroplakalara, aynı süre ve tekrar sayısı ile daha önce tarif edilen yıkama işlemi uygulanmıştır.
5. Konjugat tampon çözeltisi içerisine 1/200 veya 1/1000 oranında seyreltilen alkalen fosfataz enzimi ile işaretli IgG'ler (IgG-AP Conjugate), mikro pipet yardımıyla mikroplakaların her bir kuyucuğuna 100 µl ilave edilmiştir. Sonrasında mikroplakalar inkübatörde 37ºC'de 4 saat inkübasyona tabi tutulmuştur.
6. İnkubasyon sonrası mikroplakalar boşaltılıp, aynı süre ve tekrar sayısı ile daha önce tarif edilen yıkama işlemi uygulanmıştır.

7. Substrat tampon çözeltisi ile 1mg/ml oranında hazırlanan substrattan (p-nitrophenyl phosphate), mikro pipet yardımıyla mikroplakaların her bir kuyucuğuna 100 µl ilave edilmiştir. Sonrasında mikroplakalar oda ısısında karanlık bir ortamda inkübasyona tabi tutulmuştur.
8. İnkübasyon süreci ardından ELISA testi sonuçları, öncelikle kuyucukların görsel olarak kontrol edilmesiyle ve ardından ELISA okuyucusunda OD_{405} değerinin alınmasıyla elde edilmiştir. Okuma işlemi 30'ncu dakika ve 60'ncı dakikalarda olmak üzere iki kez gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol kuyucuğuna ait OD_{405} değerinin en az iki katı ve üzerinde değer veren kuyucuklardaki örnekler virüsle enfekteli (pozitif) olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.1. DAS-ELISA yönteminde örnek yüklenmiş mikroplaka (a), pozitif örnekli (sarı kuyucuklar) mikroplaka (b) ve ELISA okuyucusu (c)

3.2.3.Moleküler karakterizasyon

Serolojik test çalışması sonrasında pozitif sonuç alınan bazı örnekler ile iki aşamalı RT-PCR çalışması yapılarak moleküler düzeyde virüs enfeksiyonlarının varlığı doğrulanmıştır. Bu doğrultuda RT-PCR çalışması için TNA ekstraksiyonu, cDNA sentezi, primer tasarımı, PCR, agaroz jel görüntüleme işlemleri gerçekleştirilmiştir. RT-PCR çalışması sonucunda seçilen bazı izolatların, nükleik asit sekanslama çalışması ile dizilimi belirlenerek filogenetik analizi gerçekleştirmiştir.

3.2.3.1.Toplam nükleik asit (TNA) ekstraksiyonu

Toplam nükleik asit (TNA) ekstraksiyonu, Foissac ve ark. (2001)'nın protokolüne göre aşağıda sıralı halde verilen işlemler gerçekleştirilerek yapılmıştır.

1. 100 mg bitki dokusu 1ml ekstraksiyon tamponu (Grinding buffer) ile steril havan içerisinde homojenize edilmiştir.

2. Homojenize edilen örnekten 0,5 ml alınmış ve önceden hazırlanmış steril mikro tüp içine aktarılmıştır.
3. Tüp içerisine 5 µl 2-mercaptoethanol ve 100 µl %10 SDS (Sodium dodecyl sulfate) ilave edilmiştir. Daha sonra tüpler vorteks ile iyice karıştırılmıştır.
4. Tüpler zaman zaman sallanmak kaydı ile 10 dakika 70ºC'de inkübasyona bırakılmış ve ardından 5 dakika buz içerisinde bekletilmiştir.
5. Buz içerisinden çıkarılan tüpler, 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpün üstünde kalan 300 µl'lik sıvı (süpernatant) yeni bir tüpe alınarak üzerine 150 µl etanol (%99,9), 35 µl silika jel ve 300 µl sodyum iodin ilave edilmiştir.
6. Bir önceki aşamada elde edilen karışım, sallayıcı platform (shaker) üzerinde 10 dakika oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.
7. Sallayıcı platformdan alınan tüpler 6000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra üst sıvı atılmış ve 500 µl yıkama tamponu ilave edilmiştir. Tüpler iyice vorteks ile karıştırıldıktan sonra 6000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Yıkama işlemi 1 kez daha tekrarlanmıştır.
8. Üst sıvı atıldıktan sonra tüplere 75 µl nükleaz ari su ilave edilmiş ve vorteks ile karıştırıldıktan sonra pelet çözdürülmüştür. Tüpler daha sonra 70ºC'de 4 dakika inkübe edilmiştir.
9. İnkübasyon işleminin ardından 3 dakika 14000 rpm'de santrifüj edilmiş ve sonunda oluşan üst sıvı yeni bir tüpe aktarılmıştır ve -20ºC'de muhafaza altına alınmıştır.

3.2.3.2.Komplementer DNA (cDNA) sentezi

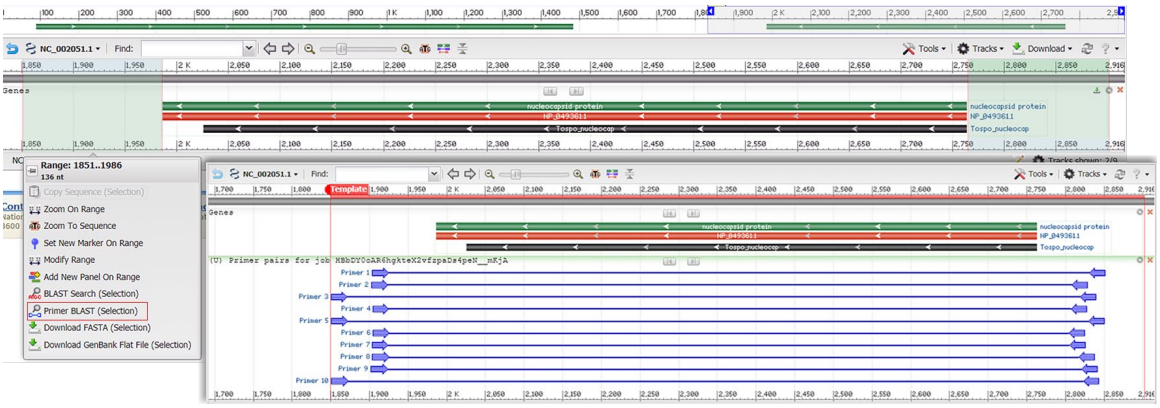
TNA ekstraksiyonu yapılan örneklerden cDNA sentezi, Fermantas marka cDNA sentez kiti ile firmanın önerdiği protokol doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Bu protokole göre, ilk olarak mikro tüpler içerisine 4 µl TNA, 1 µl random hexamer primer konulmuş ve 7 µl nükleaz ari su eklenerek 12 µl'ye tamamlanmıştır. 70ºC'de 5 dakika inkübasyon uygulandıktan sonra mikro tüpler buz üzerine konulmuş ve içlerine sırasıyla 4 µl reaksiyon tampon çözeltisi, 1 µl Ribolock RNase inhibitörü, 2 µl dNTP mix eklenmiştir. Kısa süreli santrifüj (35 saniye) uygulandıktan sonra 25ºC'de 5 dakika inkübasyon uygulanmış ve mikro tüplerin içine 1 µl M-MuLV RT enzimi eklenerek toplamda 20 µl'lik son hacime ulaşılmıştır. Karışım daha sonra, PCR cihazında 25ºC'de 10 dakika, 42ºC'de 60 dakika ve 70ºC'de 10 dakika inkübasyon uygulanarak cDNA sentez aşaması tamamlanmıştır.

Böylece RT-PCR çalışmasının ilk kısmı tamamlanmıştır. PCR çalışması yapılıncaya kadar cDNA'lar -20ºC'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.3.Primer tasarımı, kontrolü ve kullanıma hazırlanması

Moleküler ve filogenetik çalışmalarında kullanmak için TSWV'nin nükleokapsid proteinini kodlayan gen bölgesini (N) amplifiye eden spesifik primer tasarımı yapılmıştır. Bu amaçla NCBI genom veri tabanı içerisinde TSWV'nin genomunda (Genom veri tabanı kodu: 56599) N gen bölgesini barındıran S-RNA segmentine (Erişim kodu: NC_002051.1) ait referans sekansına (RefSeq) ulaşılmıştır ve grafik ara yüzünde görüntülenmiştir. Sonrasında sekans üzerinde N gen bölgesinin tamamının (1987-2763) öncesinde ve sonrasındaki yaklaşık 130 baz uzunluğundaki aralıklar seçilmiştir. Seçilen aralıklar üzerinden Primer-BLAST (Ye ve ark. (2012), https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) aracına geçiş yapılmıştır ve parametre ayarlarında veri tabanı (Database) kısmında varsayılan olarak gelen "RefSeq mRNA" değiştirilerek "RefSeq representative genome" seçilmiştir ve sonrasında "Get Primers" komutu ile olası primer dizilimleri ve bilgileri elde edilmiştir. Şekil 3.3'de gerçekleştirilen işlemler gösterilmeye çalışılmıştır.

Sonuçlar arasından TM sıcaklığı, %GC içeriği, uzunluk gibi özelliklerden istenilen değerlere sahip olan, dimer ve hairpin yapıları da kontrol edilen bir primer çifti seçilmiştir. Seçilen primer çiftinin özellikleri Oligo Calc v3.27 (Kibbe (2007), http://biotools.nubic.northwestern.edu/OligoCalc.html) online hesaplayıcısı ile teyit edilmiştir. Tasarlanan ve mevcut primerlerin bağlanma sıcaklıkları, dimer ve hairpin yapıların kontrolü, referans sekans üzerinde Unipro UGENE v37 (Okonechnikov ve ark., 2012) yazılımında *in silico* PCR aracı ile yapılmıştır. *in silico* PCR sonuncunda teorik olarak seçilen primer çiftinin istenilen bant büyüklüğünde amplifikasyon ürünü oluşturabildiği teyit edilmiştir.



Şekil 3.2. NCBI'de TSWV S-RNA RefSeq'ı üzerinden primer tasarımı

Primer sentezi yaptırılan firmadan (Oligomer Biyoteknoloji A.Ş., Ankara) liyofilize halde gelen primerleri kullanıma hazırlamak amacıyla tüplerin üzerine firmanın 100 µM derişim için belirttiği miktarda (belirtilmemişse nmol değerinin 10 katı) nükleaz ari su (alternatifi Tris-EDTA tampon çözeltisi) eklenip, mikro pipet yardımıyla çözdürülmüştür ve -20ºC'de muhafaza edilmiştir. Bu işlem sonucunda stok primer elde edilmiştir ancak çalışmalarda 10 µM derişimde primer kullanıldığı için ayrı bir mikro tüpte nükleaz ari su ile 1:10 oranında seyretme işlemi yapılmıştır.

3.2.3.4.PCR çalışmaları

Hızlı, güvenli ve spesifik olarak nitelendirilen PCR metodu, belirli enzimler ve primeler sayesinde *in vitro* koşullarda, düşük miktarda bile olsa belirli bir uzunluktaki DNA dizisinin çoğaltılmasına imkân sağladığı için yaygın olarak birçok amaç (teşhis ve tespit, miktar belirleme, klonlama, dizi analizi, vb.) doğrultusunda kullanılmaktadır. PCR metodunun bir çeşidi olan RT-PCR'da, iki adımlı (farklı tüplerde) veya tek adımlı (tek tüpte) reaksiyon ile çoğaltılmak istenen tek iplikli RNA, RT (Reverse Transcriptase) enzimleri sayesinde çift iplikli cDNA (Komplementer DNA) haline çevrilmektedir (Okutucu ve Pehlivan, 2003; Kahya ve ark., 2013; Yılmaz ve Devran, 2016).

Bitki örneklerinin TNA'larından sentezlenen cDNA'lar kullanılarak yapılan PCR çalışması, bu tezde RT-PCR çalışmasının ikinci kısmını oluşturmaktadır. Domates ve biber bitkilerinde enfeksiyon gerçekleştiren TSWV ve CMV virüslerinin PCR reaksiyonu için virüse özgü primelerle birlikte gerekli reaktifler kullanılarak virüslere ait genetik materyal çoğaltılmıştır ve böylece bitki örneklerdeki TSWV ve CMV virüslerinin varlığı, moleküler düzeyde tespit edilmiştir.

TSWV ve CMV virüslerinin PCR çalışması için öncelikle, DNA'nın replikasyonunu gerçekleştiren Taq DNA polimeraz enziminin yanında bu enzimin çalışmasını ve polimerizasyon işleminin devamlılığını sağlayan uygun bileşenleri ($MgCl_2$, dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), reaksiyon tampon çözeltisi) içerisinde bulunduran 2X PCR Master Mix'ten 12,5 µl alınıp, kalıp DNA iplikçiklerine komplementer haldeki 1 µl ileri (NC-for veya CPf) ve 1µl geri (NC-Rev veya CPr) yönlü primer ile 8,5 µl nükleaz ari su karışım haline getirilmiştir.

Bu karışımdan mikro tüplere 18 µl aktarıldıktan sonra, üzerine örneklerden elde edilen TNA'dan sentezlenen cDNA'dan 2 µl eklenmiştir. Son olarak mikro tüpler PCR cihazına yerleştirilerek belirlenen sıcaklık döngülerinde reaksiyon başlatılmıştır.

NC-for/NC-Rev (komplementer bölgeleri: 1904-1924/2832-2851) primer çifti ile TSWV'nin S-RNA segmentinde, nükleokapsid protein (N) gen bölgenin tamamını içerisine alan 948 bp uzunluğundaki bölge çoğaltılmıştır. CPf/CPr (komplementer bölgeleri: 1551-1573/2019-2038) primer çifti ile CMV'nin RNA-3 segmentinde capsid protein (CP) gen bölgesinin bir kısmını içeren 488 bp uzunluğundaki bölge çoğaltılmıştır.

TSWV'nin ve CMV'nin PCR çalışmalarında miktar ve sıcaklık döngüsünde, 2X PCR Master Mix'in sağlandığı firma önerisi dikkate alınarak optimizasyonu sağlanmıştır.

Her iki virüs için PCR protokolünde aynı miktarda reaktifler kullanılmıştır ve aynı sıcaklık döngüsünde reaksiyon gerçekleştirilmiştir. PCR protokolünde kullanılan reaktif miktarları ve sıcaklık döngüleri Çizelge 3.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. PCR protokolüne ait reaktif miktarları (sol kolon) ve sıcaklık döngüsü (sağ kolon)

Kullanılan Reaktif	**Miktar (1X)**
PCR Master Mix	12,5 µl
İleri yönlü primer	1 µl
Geri yönlü primer	1 µl
cDNA	2 µl
Nükleaz ari su	8,5 µl
Toplam hacim	25 µl

TSWV'nin ve CMV'nin PCR Sıcaklık Döngüsü			
Olay	**Sıcaklık**	**Süre**	**Döngü**
İlk denetürasyon	94ºC	2 dk	1
Denetürasyon	94ºC	1 dk	
Primer bağlanması	60ºC	1dk	35
Primer uzaması	72ºC	2 dk	
Sonlanma	72ºC	10 dk	1
Bekleme	+4ºC	∞	

3.2.3.5.Agaroz jel elektroforez görüntüleme

Agaroz jel elektroforez görüntüleme çalışması, PCR ile çoğaltılmak istenen virüsün genetik materyaline ait DNA fragmentlerinin varlığı veya yokluğunun görsel kontrolüne yönelik, Voytas (2000)'ın önerileri dikkate alınarak yapılmıştır. Görüntüleme için ilk olarak %1,5'luk agaroz jel hazırlanmıştır. Bunun için 100 ml 1X TAE tampon çözeltisi

içerisinde 1,5 gr agaroz karıştırılarak mikrodalga fırında eriyip homojen hale gelmesi sağlanmıştır ve ardından içerisine 4 µl nükleik asit boyası (Ethidium bromide) eklenmiştir. Sonrasında karışım, tarakları takılmış ve bant ile açık kenarları kapatılmış jel tepsisine boşaltılmıştır. Jel donduktan sonra jel tepsisi elektroforez tankı içerisine yerleştirilip, gereken miktarda (tankta belirtilen çizgiye kadar veya jel üzerine geçecek kadar) 1X TAE tampon çözeltisi eklendikten sonra taraklar çıkarılmıştır. Jelde yürütülecek PCR ürünlerinden 10 µl alınıp üzerine 2 µl yükleme tamponu (Lodding Dye) eklenerek 12 µl karışım haline getirilmiştir ve ardından jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. Yürütme işlemi, örneklerle birlikte bir kuyucuğa 2 µl DNA boyut işaretleyici (DNA Ladder) yüklenerek 70V'da 60-90 dakikada gerçekleştirilmiştir. Yürütme işlemi sonrasında jel görüntüleme sistemine (UV-Transillüminatör) aktarılan jel üzerinde, TSWV için 948 bp ve CMV için 488 bp uzunluğuna denk gelen DNA fragmentlerinin varlığı kontrol edilmiştir ve jel görüntüsü kaydedilmiştir.

3.2.3.6.Filogenetik analizler

RT-PCR çalışması sonrası 5 TSWV ve 2 CMV izolatının nükleik asit dizilimlerinin belirlenmesi amacıyla BMLabosis (BM Lab. Sist. Ltd. Şti., Ankara) firmasından Sanger sekanslama hizmeti alınmıştır. Filogenetik analizi için, hizmet alınan firmadan gelen ileri ve geri yönlü ham sekans verileri, Unipro UGENE v37 (Okonechnikov ve ark., 2012) yazılımında "Sanger Data Analysis" aracı kullanılarak referans dizi ile kıyaslanarak ve düşük kalitedeki baz okumalarından temizlenerek her örneğin konsensus dizileri (birleştirilmiş tek diziler) elde edilmiştir. Analizler bu diziler üzerinden yürütülmüştür. Ayrıca sekans verileri (oluşturulan konsensus diziler) NCBI GenBank veri tabanına kaydedilerek Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5'de verilmiş olan erişim kodları alınmıştır. İzolatlara ait nükleik asit dizilimleri EK-4'te verilmiştir.

NCBI GenBank veri tabanında Eskişehir TSWV ve CMV izolatlarının sekans dizilimlerine benzer dizileri belirlemek amacıyla BLAST (Altschul ve ark. (1997), https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?) aracı ile analiz gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda %95 üstü benzerlik gösterenler arasından seçilen, farklı ülkelere ve konukçu bitkilere ait izolatların sekans verisi indirilmiştir.

MEGAX v10.2.4 (Kumar ve ark., 2018) yazılımında gerçekleştirilen filogenetik analizlerde Eskişehir izolatları ile birlikte NCBI GenBank veri tabanında indirilen ve kaynak araştırmasındaki çalışmalarda yer alan izolatlar kullanılmıştır. İzolatlara ait bilgiler

Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6'de verilmiştir. Dış grup olarak TSWV için INSV (NC_003624, *Impatiens necrotic spot virus*, *Orthotospovirus*), CMV için PSV (NC_002040, *Peanut stunt virus*, *Cucumovirus*) kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. Filogenetik analizde kullanılan CMV izolatlarının bilgileri

Erişim kodu	Alt grup*	Bitki	Ülke	Kaynak
AJ585522	IA	Biber	Avustralya	Sulistyowati ve ark. (2004)
AJ810258	IA	Kabak	ABD	Deyong ve ark. (2005)
AJ829770	IA	Kabak	İspanya	Bonnet ve ark. (2005)
AM183119	IA	Domates	İspanya	Aramburu ve ark. (2007)
AY153421	IA	Domates	Brezilya	Eiras ve ark. (2004)
HE971665	IA	Biber	Tunus	Ben Tamarzizt ve ark. (2013)
HF572916	IA	Fasulye	ABD	Thompson ve ark. (2015)
JX865603	IA	Domates	İran	Farzadfar ve ark. (2013)
KC527751	IA	Biber	Kore	Kim ve ark. (2014)
KC989615	IA	Kavun	Türkiye	Yeşil (2013)
KM091953	IA	Domates	Nijerya	Kayode ve ark. (2014)
LC066500	IA	Lahana	Türkiye	Ohshima ve ark. (2016)
LC066512	IA	Küçük turp	Türkiye	Ohshima ve ark. (2016)
MH426932	IA	Kanola	Türkiye	Karanfil ve Korkmaz (2020)
MK030135	IA	Muz	Türkiye	Fidan ve Koç (2019)
MK064498	IA	Biber	Türkiye	Fidan ve Koç (2019)
MK890142	IA	Tütün	Türkiye	Usta ve ark. (2020)
MN985118	IA	Hıyar	Türkiye	Karanfil ve Korkmaz (2021)
MN985119	IA	Kavun	Türkiye	Karanfil ve Korkmaz (2021)
MW775035	IA	Biber	Türkiye (Eskişehir)	Bu çalışma
AB069971	IB	Muz	Endonezya	-
AJ810259	IB	Biber	Tayland	Deyong ve ark. (2005)
AJ810260	IB	Biber	Hindistan	Deyong ve ark. (2005)
GU111229	IB	Domates	Hindistan	Koundal ve ark. (2011)
HE962480	IB	Biber	İtalya	-
HE971666	IB	Biber	Tunus	Ben Tamarzizt ve ark. (2013)
JX993912	IB	Domates	Çin	Zhang ve ark. (2018)
KC527742	IB	Biber	Kore	Kim ve ark. (2014)
KC989614	IB	Hıyar	Türkiye	Yeşil (2013)
KJ173753	IB	Domates	İran	Eyvazi ve ark. (2015)
LC066473	IB	Turp	İran	Ohshima ve ark. (2016)
LC066506	IB	Turp	Türkiye	Ohshima ve ark. (2016)
MF351527	IB	Domates	Pakistan	Anwer ve ark. (2019)
MK890145	IB	Tütün	Türkiye	Usta ve ark. (2020)
MN985117	IB	Hıyar	Türkiye	Karanfil ve Korkmaz (2021)
MN990934	IB	Domates	Fransa	Desbiez ve ark. (2020)
MW775034	IB	Domates	Türkiye (Eskişehir)	Bu çalışma
AY871067	II	Hıyar	İran	Bashir ve ark. (2006)
EF202597	II	Domates	Çin	Chen ve ark. (2007)
L15336	II	Ak üçgül	Macaristan	Salánki ve ark. (1994)
MH119066	II	Biber	Pakistan	Ahsan ve ark. (2020)
U10923	II	Ispanak	ABD	Yang ve ark. (1997)

* Veri tabanındaki bilgilere ve yapılan filogenetik ağaca göre izolatın tespit edilen "alt grup" bilgisi

Çizelge 3.6.Filogenetik analizde kullanılan TSWV izolatlarının bilgileri

Erişim kodu	Bitki*	Ülke	Kaynak
AJ418779	Domates	Bulgaristan	Heinze ve ark. (2003)
AY744474	Yıldız çiçeği	ABD	Tsompana ve ark. (2005)
AY744477	Yer fıstığı	ABD	Tsompana ve ark. (2005)
AY744479	Domates	İspanya	Tsompana ve ark. (2005)
DQ376181	Biber (RB)	İtalya	Margaria ve ark. (2007)
FR693047	Biber	Fransa	Tentchev ve ark. (2011)
FR693058	Domates	Fransa	Tentchev ve ark. (2011)
FR693173	Biber	İspanya	Tentchev ve ark. (2011)
GU339505	Biber	Karadağ	Zindović ve ark. (2011)
GU369723	Domates	Sırbistan	Zindovic ve ark. (2014)
HM581936	Domates	Kore	Lee ve ark. (2011)
HM594685	Domates	Çin	-
HQ406983	Domates	ABD	Sundaraj ve ark. (2014)
JF960235	Domates	Çin	Hu ve ark. (2011)
KC261958	Biber	Kore	Lian ve ark. (2013)
KJ649611	Biber	Macaristan	Almási ve ark. (2015)
KM096542	Domates	İtalya	Margaria ve ark. (2015)
KM379141	Biber (RB)	Türkiye (Samsun)	Deligöz ve ark. (2014)
KM379142	Biber	Türkiye (Samsun)	Deligöz ve ark. (2014)
KM407603	Biber	Türkiye (Antalya)	Özer-Dilmen ve Sipahioğlu (2017)
KM657114	Biber	Çin	Zhang ve ark. (2016)
KT160282	Biber	ABD	Margaria ve Rosa (2015)
KT192623	Domates	Türkiye (Samsun)	Şin ve Arlı-Sökmen (2016)
KT192624	Domates	Türkiye (Samsun)	Şin ve Arlı-Sökmen (2016)
KT192625	Domates	Türkiye (Tokat)	Şin ve Arlı-Sökmen (2016)
KU179569	Domates	ABD	-
KU179591	Biber	ABD	-
KU976396	Marul	Çin	-
KX618635	Domates	Türkiye (Bursa)	Uzunoğulları ve Gümüş (2018)
KX618636	Domates	Türkiye (Bursa)	Uzunoğulları ve Gümüş (2018)
KY437080	Biber	Bosna Hersek	-
KY973679	Biber	Türkiye (Antalya)	Güneş ve Gümüş (2019)
MG989673	Biber	İtalya	Fontana ve ark. (2020)
MH367502	Domates (RB)	Türkiye (Antalya)	Fidan ve Sarı (2019)
MK692930	Biber (RB)	Türkiye (Antalya)	-
MW767714	Domates	Türkiye (Eskişehir)	Bu çalışma
MW767715	Domates	Türkiye (Eskişehir)	Bu çalışma
MW767716	Biber	Türkiye (Eskişehir)	Bu çalışma
MW767717	Biber	Türkiye (Eskişehir)	Bu çalışma
MW767718	Domates	Türkiye (Eskişehir)	Bu çalışma

*Parantez içindeki "RB" ifadesi, izolatın veri tabanındaki bilgilerine göre *Tsw* veya *Sw-5* gen kaynaklı TSWV dayanıklılığını kırıcı izolat (Resistance-Breking) olduğunu belirtilmektedir.

MEGAX v10.2.4 (Kumar ve ark., 2018) yazılımında Clustal W (Thompson ve ark., 1994) metodu ile çoklu dizi hizalama işlemi yapılarak GenBank veri tabanından indirilen sekans verileri ile Eskişehir izolatlarının sekans verileri hizalanmıştır. Bazı sekanslarda

ilgilenilen gen dışında verilerde bulunduğu için kırpma işlemi yapılmıştır. Ayrıca veri tabanından indirilen TSWV izolatlarının sekans verilerindeki yön (sense-ambisens) farklılığı düzenlenerek hepsinin aynı yönde olması sağlanmıştır. Hizalama sonrası Maximum Likelihood (ML) metodu, 1000 bootstrap değeri ve belirlenen modeller ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Modeller (en düşük BIC (Bayesian Information Criterion/ Bayes Bilgi Kriteri) değerine sahip), MEGAX yazılımında en iyi model bulma aracı kullanılarak TSWV'de nükleotit için Tamura-3 (Tamura, 1992), amino asit için JTT (Jones ve ark., 1992) ve CMV'de nükleotit için Kimura-2 (Kimura, 1980), amino asit için JTT (Jones ve ark., 1992) olarak belirlenmiştir.

Eskişehir izolatlarının kendi aralarındaki ve GenBank'tan indirilen ülkemizdeki ve dünyadaki diğer izolatlar ile nükleotid ve aminoasit düzeyinde benzerlik oranlarının yüzdeleri MEGAX v10.2.4 (Kumar ve ark., 2018) yazılımında genetik uzaklık hesaplama aracı (Distance-Compute Pairwase Distances) kullanılarak p-distance değeri üzerinden hesaplanmıştır. SDT v1.2 (Muhire ve ark., 2014) yazılımında izolatlar arası nükleik asit ve amino asit düzeyinde benzerlik oranları matris olarak görsel hale getirilmiştir.

4.ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1.Arazi Çalışmaları, Örnekleme ve Hastalık Yaygınlık Oranı Hesabı

Bu çalışma dünyada ve ülkemizde birçok bitki türünde ciddi sorunlara yol açabilen TSWV, CMV, PVY, TMV, ToMV, ToCV, PepMV, TNV virüslerinin, Eskişehir ilinde açık alanda ve örtü altında yetiştirilen domates ve biber bitkilerindeki varlığını tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla mikroklima özelliği nedeniyle örtü altı üretimde ön plana çıkan Mihalgazi ve Sarıcakaya ilçeleri ile açık alan üretiminde ön plana çıkan Odunpazarı ve Tepebaşı ilçelerine ek olarak Seyitgazi ilçesi ile toplamda 5 farklı ilçede 101 farklı alan (239,26 dekar) taranmıştır. Güdümlü örnekleme (Bora ve Karaca, 1970) yönteminin kullanıldığı incelemeler sonucunda, virüs enfeksiyonu nedeniyle oluştuğu düşünülen çeşitli belirtilere sahip 107 adet domates ve 63 adet biber olmak üzere toplamda 170 adet bitki örneği toplanmıştır. Güdümlü örnekleme yönteminin, bitkilerde virüs ve diğer etmenlerin neden olduğu hastalıklar ile ilgili çalışmalarda farklı araştırmacılar tarafından kullanıldığı bilinmektedir (Çarpar ve Sertkaya; Erilmez ve Kaya, 2016; Ruşen ve Önelge; Durak ve ark., 2017; Ünlü ve ark., 2017).

Yürütülen arazi çalışmalarına ilişkin il ve ilçe genelinde bitki türüne ve alan tipine göre; incelenen alan sayısı ve alan büyüklüğü (da), örnek alınan alan sayısı ve toplanan örnek sayısı ile hesaplanmasında Bora ve Karaca (1970) tavsiye ettiği üzere tartılı ortalama yöntemi kullanılan hastalık yaygınlık oranı (%) bilgileri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Ayrıca ilçe geneli ürün ve alan ayrımı yapılmadan hesaplanan hastalık yaygınlık oranı (%) bilgileri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2 incelendiğinde Eskişehir genelinde üretim alanlarında gözlemlere dayalı olarak hesaplanan, en fazla Mihalgazi (%11,36), en az Tepebaşı (%3,23) ilçesinin sahip olduğu virüs kaynaklı hastalık yaygınlık oranının, il genelinde %5,38; alan tipine göre açık alan için %4,2, örtü altı için %10,18; bitki türüne göre domateste %4,72, biberde ise %11,36 olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1. İl ve ilçe genelinde bitki türü ve alan tipine göre; incelenen alan sayısı ve büyüklüğü (da), örnek alınan alan sayısı ve örnek sayısı, hastalık yaygınlık oranı (%)

Bitki	İlçe	Alan tipi	İncelenen alan büyüklüğü (da)	İncelenen/örnek alınan alan sayısı	Örnek sayısı	Yaygınlık oranı (%)
Domates	Mihalgazi	Açık alan	1,49	3/3	7	7,28
	Odunpazarı		73,72	10/8	19	5,61
	Seyitgazi		4,6	4/3	3	5
	Sarıcakaya		1,32	5/3	4	3,42
	Tepebaşı		96,5	11/3	6	2,49
	Mihalgazi	Örtü altı	13,58	20/10	35	9,21
	Sarıcakaya		22,5	24/13	30	7,81
	Seyitgazi		1,66	2/2	3	13,92
Domates toplam			215,37	79/45	107	4,72
Biber	Mihalgazi	Açık alan	1,92	4/3	4	6,45
	Odunpazarı		3,93	2/1	3	0,76
	Sarıcakaya		0,33	1/1	11	40
	Tepebaşı		10	4/4	6	10,39
	Mihalgazi	Örtü altı	6,55	9/7	35	18,19
	Sarıcakaya		1,16	2/2	4	16,85
Biber toplam			23,89	22/18	63	11,36
Alan toplam		Açık alan	193,82	44/29	63	4,2
		Örtü altı	45,45	57/34	107	10,18
Genel toplam			239,26	101/63	170	5,38

Çizelge 4.2. Genel toplama göre il ve ilçe genelinde yaygınlık oranı

İl	İlçe	İncelenen alan (da)	Yaygınlık oranı (%)
Eskişehir	Mihalgazi	23,54	11,36
	Sarıcakaya	25,32	8,42
	Seyitgazi	6,26	7,36
	Odunpazarı	77,65	5,37
	Tepebaşı	106,50	3,23
Genel toplam		239,26	5,38

Eskişehir ilinde domates ve biber üretim alanlarında virüs kaynaklı hastalık yaygınlık oranlarının belirlenmesine benzer olarak, ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda bitkilerdeki belirtilere göre çeşitli oranlarda tahminler yapılmıştır. Tekinel (1973), bu tezde kullanılan aynı yöntemi kullanarak Adana, Antalya, Hatay, Mersin illerinde domateste üretim alanlarında görülen virüs hastalıkları için %21-54 arasında yaygınlık oranı hesaplamıştır. Fidan (1995) İzmir ve Muğla illerinde yaptığı çalışmada virüs hastalıkları açısından domateste %30,7-100, biberde %70,5-100 arasında yaygınlık oranları belirlemiştir. Ünlü ve Güldür (2004), bu tezde kullanılan yöntemi kullanarak Şanlıurfa ilinde biber üretim alanlarında %1,3-79,6 arasında değişen oranlarda simptomatolojik olarak bulaşık bitki tespit edilmiştir. Sepúlveda ve ark. (2005) Şili'de biber üretim alanında 2 yıllık gözlemlere dayanarak yaptıkları çalışmada, hastalık oranın konuma ve sezona göre farklılıklar göstermesi yanında genel olarak fidelerin sağlık

durumundan büyük ölçüde etkilendiğini, sağlıklı fide kullanıldığında sezon sonunda hastalık oranının daha düşük olduğunu saptamışlardır. Nikolić ve ark. (2018) Sırbistan'da domates alanlarındaki virüslere özgü belirtileri gösteren bitkilerin sayısına göre tahmini hastalığı oranının %40-80 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Olawale ve ark. (2015) Nijerya'da iki yıllık gözlem verilerine göre biberlerde virüs hastalığı oranın bazı yerlerde %100'e çıksa da genel yıl ortalamasının %76-79 olduğunu bildirmişlerdir.

Hastalık yaygınlık oranı genel olarak makroskobik gözlemlere dayalı olması nedeniyle sabit değerli veri elde edilmesi olanaksızdır (Tekinel, 1973). Nitekim ölçülmesi nispeten kolay ve hızlı olsa da hastalık yaygınlık oranı ile hastalık şiddeti ve verim kaybı arasında ilişki, yapraklarda sayıca az lezyon görüldüğünde bile "hastalıklı" olarak değerlendirilebileceğinden, düşük düzeyde olabilmektedir (Agrios, 2005).

Öte yandan hastalık yaygınlık oranında, çeşitli faktörlerin (etmen, konukçu, çevre, zaman, vb.) değişimine bağlı olarak farklılıklar ortaya çıktığı bilinmektedir (Agrios, 2005). Örneğin Ünlü ve Güldür (2004), aynı üretim döneminde iki farklı zamanda yaptıkları bir çalışmada ikinci arazi incelemesinin birinciye göre daha fazla bulaşıklık oranına sahip olduğunu; bu durumun hastalığın vektörlerle yayılmasından ve hedeflenen virüs türü dışındaki türlerin neden olduğu bulaşıklılığı da "virüslü" olarak düşünmelerinden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Yapılan bu tez çalışmasında da lokasyon, bitki türü ve alan tipine göre viral hastalık oranlarının değişkenlik gösterdiği hesaplamalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Ayrıca viral hastalıklarda bu tez çalışmasında araştırılmayan ancak yaygınlık oranına etki eden diğer faktörlerin (virüs ırkı, vektör, çevre koşulları, bitki çeşidi, vb.) potansiyel etkilerinin Eskişehir ilinde var olduğu düşünülmektedir.

4.2.Arazi Çalışmasına Ait Simptomatolojik Gözlemler ve Tespit Edilen Sorunlar

Arazi çalışmaları süresince incelenen bitkilerde farklı tipte belirtilerle karşılaşılmıştır. Bunlardan bazılarının virüs enfeksiyonu sonucu ortaya çıkan hastalık belirtileri olabileceği düşünülmüştür. Yapılan çalışmalar neticesinde de belirtili bitkilerde çeşitli virüsler tespit edilmiştir. Genel olarak domateste meyve, biberde yaprak belirtilerinin daha belirgin olarak ortaya çıktığı gözlemlenmiştir.

Domateste enfekteli bitkilerin meyvelerinde klorotik leke, nekrotik alan, halkalı leke izleri, keskin/yumuşak kenarlı renk değişikliği, şekil bozukluğu, ebru (mermer) görünümü, düzensiz olgunlaşma, küçülme; yapraklarında kloroz, nekroz, mozaik, içe

doğru kıvrılma, kırışma, kaşıklaşma, şekil bozukluğu, damarlar arası sararma, ipliksi görünüm, solma, boğumlar arası kısalma, gevrekleşme; gövdede nekrotik alanlar, sürgün ölümü, bitki genelinde gelişme geriliği, kuruma, bodurluk gibi belirtiler gözlemlenmiştir.

Biberde enfekteli bitkilerin yapraklarında mozaik, kloroz, klorotik leke, halkalı leke izleri, beneklenme, nekroz, kırışma, şekil bozukluğu, içe doğru kıvrılma, orta damar zikzaklaşması, kaşıklaşma, damar arası sararma; meyvelerinde halkalı leke izleri, klorotik leke, nekrotik alan, renk değişikliği, çöküntüler, şekil bozukluğu, küçülme; bitki geneli bodurluk, tepe kıvırcıklığı, gelişme geriliği gibi belirtiler gözlemlenmiştir.

Bu tez çalışmasında arazide gözlemlenen virüs hastalıklarıyla ilişkilendiren belirtiler, birçok araştırmacı tarafından ülkemizde ve dünyada yapılan diğer çalışmalardaki gözlemler ile benzerlik göstermektedir (Tekinel, 1973; Azeri, 1994; Blancard, 2012; Hanssen ve Lapidot, 2012; Olawale ve ark., 2015; Çulal-Kılıç ve ark., 2017b; Özdağ ve Sertkaya, 2017; Nikolić ve ark., 2018; Güneş ve Gümüş, 2019; Laprom ve ark., 2019; Moodley ve ark., 2019; Batuman ve ark., 2020; Yılmaz ve Sipahioğlu, 2020).

Simptom oluşumu ve yoğunluğu virüs türü, bitki çeşidi, enfeksiyon aşaması, sıcaklık, ışık yoğunluğu, toprak yapısı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir (Walkey, 2012). Örneğin yüksek sıcaklıkta yapraklarda simptom yoğunluğu maskelenebilirken, tam tersi bir şekilde yüksek sıcaklıkta bazı domates çeşitlerinde ToMV veya TMV enfeksiyonu sonucu nekrotik simptomlar ortaya çıkabildiği bilinmektedir (Blancard, 2012).

Şekil 4.1'de domateste, Şekil 4.2'de biberde virüs ile enfekteli olduğu tespit edilen bitkilerde gözlemlenen simptomlar gösterilmiştir. Şekil 4.1'de domates belirtilerinde meyvede nekrotik çöküntüler ve alanlar (a,d,e,g), renk değişimleri (b,c,ç,f), halkalı leke izleri (c,ç,g), mermer ve ebru deseni (b,f), düzensiz olgunlaşma (b,c,e,f), küçük meyve oluşumu (ç,g,ğ); sürgün ölümü (e), gövde üzerinde ve çanak yapraklarda nekrotik izler (e,ğ); yaprakta nekrotik alanlar (h,k), mozaikleşme (ı), kırışma (ı,i), kaşıklaşma (i), kloroz (ı,i,k), ipliksi görünüm (j), gevrekleşme (k), şekil bozukluğu (ı,i,j,l) görülebilmektedir. Şekil 4.2'de biber belirtilerinde yaprakta mozaik (b,c,d,ğ), halkalı leke (a,ç,g), nekrotik alanlar (ç,e), kırışma (b,f,ğ,ı), içe doğru kıvrılma (e,f), orta damar zikzaklaşması (h); tepe kıvırcıklığı (ı), bitkide bodurluk (i); meyvede şekil bozukluğu (j), halkalı leke izleri (k), çöküntü ve nekrotik alanlar (l), küçük meyve oluşumu (j) görülebilmektedir.



Şekil 4.1. Domateste gözlemlenen viral simptomlar



Şekil 4.2 Biberde gözlemlenen viral simptomlar

Virüs hastalıklarının epidemiyolojisini anlamak için yabancı ot problemi, entomolojik sorunlar, bulaşık üretim materyali, yanlış yetiştiricilik uygulamaları gibi bazı sorunlar da ele alınmalıdır (Sastry ve Zitter, 2014).

Yabancı otlar, üretim yapılmayan dönemlerde dahil olmak üzere yıl boyunca virüslere konukçuluk ederek varlıklarını sürdürmesine yol açmaktadır (Hančinský ve ark., 2020). Türkiye'deki 50 istilacı yabancı ot türünde en çok TSWV, TMV, PVY, CMV ve TYLCV virüslerinin görüldüğü ve diğer önemli virüs etmenlerinin, çok hızlı yayılan istilacı yabancı otlarla beraber farklı alanlara taşınabildiği bilinmektedir (Şin ve Önen, 2015). Hatay ilinde domates ve biber alanlarındaki yabancı otlarda TSWV, CMV, PVY, AMV, TYLCV virüsleri tespit edilmiştir (Özdağ ve Sertkaya, 2017; Sertkaya ve Yılmaz, 2017). Arlı-Sökmen ve ark. (2005) biber alanlarında 28 familyaya ait 79 yabancı ot türünün var olduğunu ve bunlardan 15 familyaya ait 24 yabancı ot türünden 16'sının CMV, PVY, TMV, ToMV, TSWV virüslerinden en az biri ile enfekteli olduğunu bildirmişlerdir. Özdemir ve ark. (2009) örtü altı domates alanlarında genel olarak yaygın olan 9 farklı yabancı ot familyasına ait 10 farklı tür içinde, aralarında parazit *Orobanche* spp.'nün de bulunduğu 7 türde TSWV saptamışlardır. Türkiye'de yabancı otlarda bulunma oranı %5 ile %25 arasında olan TSWV, 11 bitki familyasına ait 17 yabancı ot türünde saptanmış olsa da Kore'deki bir çalışmada TSWV'nin 23 farklı kültür bitkisi ve 42 farklı yabancı ot türü aracılığıyla yıl boyunca 3 farklı yaşam döngüsü içinde doğal olarak yayılış gösterebildiği tespit edilmiştir (Atakan ve ark., 2013; Kil ve ark., 2020). Nadasa bırakılan alanlarda veya meyve bahçelerinde, ortaya çıkan yabancı otlar ve topraktaki virülifer (virüsü taşıyan) thripsler TSWV'nin inokulum kaynağı olarak rol almaktadır (Batuman ve ark., 2020). Biber alanlarına yaprak bitleri aracılığında, başta CMV olmak üzere TEV ve PVY virüslerinin taşınmasında güney feneri (*Physalis* spp.) bitkisinin alternatif konukçulukta önemli rolü olabileceği tespit edilmiştir (Şimşek ve Güldür, 2016). Tespitler ve bilgiler ışığında Eskişehir'de domates ve biber üretim alanlarında gözlemlenen, besin ve su kaybına sebep olan yabancı otların varlığı, virüslere konukçuluk etmeleri yanında vektörlere ve diğer hastalıklara da ev sahipliği yapabilmeleri nedeniyle dikkate alınmalıdır.

Virüs hastalıklarının salgın haline gelmesinde birçok faktör etkili olsa da en önemli rol, virüsleri farklı taşıma stratejileri (sirkülatif, persistent, vb.) sayesinde hızlıca geniş alanlara yayabilen vektörlere aittir. Arlı-Sökmen ve Şevik (2013) tarafından zamana ve mesafeye bağlı olarak TSWV'nin yayılması üzerine yapılan bir çalışmada thrips popülasyonu ile enfekteli bitki sayısı arasındaki pozitif ilişkinin yansıması olarak inokulum kaynağının varlığından 3 hafta sonra yaklaşık 25 metre uzaklıktaki bitkilerde enfeksiyon

görüldüğünü ve 8'nci haftaya kadar enfekteli bitki sayısının arttığı belirlenmiştir. Azeri (1994) yaptığı bir çalışmada TSWV'nin daha çok haziran ve temmuz aylarında epidemi yaptığını saptamıştır. Güllü ve Çalı (1994) hasat döneminde çiçek dönemine göre hem domateste hem de biberde daha yüksek oranda belirtili bitki görüldüğünü bildirmişlerdir. Hasat döneminde çiçek dönemine göre daha yüksek oranda virüs enfeksiyonu görülmesi, vektör türlerin yayılması ile ilişkili olabilmektedir (Ünlü ve Güldür, 2004).

Virüs hastalığının yayılmasında, yabancı otların vektör türlere konukçuluk etmeleri yanında virüsün vektör tür üzerindeki etkileri de rol almaktadır. Atakan ve ark. (2013), Mersin ilinde sebze üretimi yapılan örtü altı ve açık alanlarda yaptıkları çalışmada TSWV'nin, 82 yabancı ot türünün 80'inde yaşayan en yaygın tür olarak tespit ettikleri *F.occidentalis* ile bulaşma oranın %33 ile %85 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. TSWV'nin *F. occidentalis*'in gelişiminde ve üremesinde değişikliğe yol açtığı belirlenmiştir (Wan ve ark., 2020). TSWV ile enfekteli bitkilerin, sağlıklı bitkilere göre *F. occidentalis*'i daha fazla cezbettiği bulunmuştur (Maris ve ark., 2004). *F. fusca* üzerinde de aynı etkinin gözlemlendiği ve yumurta bırakmak için özellikle enfekteli domatesleri tercih ettiği saptanmıştır (Chaisuekul, 2004).

Vektör mücadelesi, yapılmadığında virüs yoğunluğunun artması sebebiyle üretimi çok büyük ölçüde etkileme ve yapıldığında ise düşük virüs yoğunluğu ile sonuçlanabilme potansiyeli nedeniyle, virüs hastalıklarının mücadelesinde en önemli faktör olarak nitelendirilmektedir. Bu durumun önemini kavramak, sürdürülebilir tarım için elzemdir. Sertkaya ve Yılmaz (2017) Hatay'da örtü altı organik domates üretim alanlarında özellikle beyaz sineklerle taşınan virüslerin enfeksiyon oranın yüksek olmasının, sera açıklıklarının vektör böcekleri önleyecek şekilde kapatılmaması ve tuzaklar ile popülasyonu azaltıcı tedbirlerin alınmaması gibi mücadele yöntemlerinin yetersizliği nedeniyle kaynakladığını belirtmişlerdir. Ciddi oranda virüs enfeksiyonu görülmesine bağlı olarak organik üretimden vazgeçilmeye başlandığını; bu nedenle üreticiler için hastalık/zararlı eğitim programlarının gerekliliğinden ve üretim sistemlerine gerekirse farklılığa gidilebileceğinden bahsetmişlerdir. Bu duruma benzer olarak Cebolla-Cornejo ve ark. (2012) İspanya'da üreticilerin domates yerine başka sebze türlerinin üretimine geçmelerindeki temel faktörün viral hastalıkların görülme sıklığı olduğunu bildirmişlerdir. Özalp (1961) yaptığı bir çalışmada en çok virüs hastalığının İzmir'de görülmesini, ithal çeşitlerin kullanımı ile yeni virüslerin bulaşması ve vektör böcekler konusundaki bilgisizlik nedeniyle olduğunu belirtmiştir. Öte yandan Ünlü ve Güldür (2004) Şanlıurfa'da bazı

ilçelerde biberlerde CMV virüsünün düşük enfeksiyon oranına sahip olmasını, vektör böcek türleriyle mücadele yapılmasına bağlamaktadırlar.

Virüs hastalıklarıyla mücadelede, vektör mücadelesi yanında etkili bir diğer faktör dayanıklı çeşit kullanımıdır. Dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi konusunda, tespit edilen genlerin izolata özgü olması veya çalışmaların deneysel seviyede sınırlı kalması nedeniyle başarılı sonuçlar kısıtlı sayıdadır (Spanò ve ark., 2020). Bu nedenle dayanıklı çeşit olsun ya da olmasın bitkisel üretimde hastalıklar açısından önleyici tedbirlerin alınması elzemdir.

Entegre mücadele kapsamında ekimden önce (dayanıklı çeşit seçimi, thrips ve virüs inokulumlarının ortadan kaldırılması, ekim zamanı ve dikim yeri planlama), büyüme dönemi (erken thrips mücadelesi, enfekte olmuş bitkilerin uzaklaştırılması) ve hasat sonrası (sezon içinde büyüyen ve kış dönemine geçişte rol alan yabancı otların mücadelesi) olmak üzere üç ana zaman temelli olarak uygulanan stratejiler ile domates alanlarında TSWV'ye karşı başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Batuman ve ark., 2020). Ayrıca *Sw-5* geni dayanıklılığı kırılmış olsa da dayanıklılık kırıcı izolatların bulunduğu bölgelerde, *Sw-5* geni dayanıklılığına sahip bazı çeşitlerin *Sw-5* geni dayanıklılığını koruduğu veya hassasiyeti düşürmeyen başka özelliklere sahip olduğu görüldüğünden bunların kullanılmasına devam edilmesi önerilmektedir (Batuman ve ark., 2020).

Sertifikasız tohum kullanımı ve tohumla taşınan virüslerin yaygınlaşması, virüs hastalıkları açısından önem arz etmektedir. Buzkan ve ark. (2006) sertifikasız kırmızı biber üretim materyalinin kullanımı sonucu virüs enfeksiyonlarına bağlı olarak üretim miktarı ve kalitesinde önemli düşüşlerin yaşandığını belirtmişlerdir. Güldür ve Çağlar (2006) yaptıkları bir çalışmada biberdeki PMMoV virüsünün salgınını, yüksek tohum iletim yeteneği ile bağdaştırmaktadır. Soler ve ark. (2010) kendi tohumu ile domates üretimi yapan üreticilerin alanlarında, ticari üretim materyali kullanılan alanlara göre daha fazla tekli ve çoklu enfeksiyon görüldüğü bildirmişlerdir. Ayo-John ve Odedara (2017) Nijerya'da domates ve biber alanlarında yüksek oranlarda (%74,8) virüs enfeksiyonu görülmesini, mücadele yapılmaması ve virüssüz tohum yetersizliği ile ilişkilendirmektedir. Değirmenci ve Uzunoğulları (2007) Muğla'da çalışmalarını gerçekleştirdikleri bölgede üreticilerin, üretim materyallerinin kontrol ve test edilmesi konularını ihmal ettiklerini belirtmişlerdir. Eskişehir ilinde domates ve biber yetiştiriciliğinde, il içindeki ve il dışındaki ticari firmalar aracılığıyla temin edilen sertifikalı üretim materyalinin kullanımının yaygın olduğu gözlemlenmiştir. Bu açıdan üretim materyaline bağlı olarak ortaya çıkan virüs enfeksiyonları konusunda Eskişehir ilinin avantajlı olduğu düşünülmektedir.

Ekim zamanının, ekim şekli ve ekim yerinin, virüs hastalıklarına dolaylı veya doğrudan etkisi olduğu bilinmektedir. Batuman ve ark. (2020) geç ekim yapılan domates alanlarında TSWV'nin yaygınlığının, erken ekim yapılan alanlara göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Buzkan ve ark. (2006) tarafından Şanlıurfa'da biber alanlarında kabakgil ve diğer *Solanaceae* familyası bitkileri ile karışık ekim sorunu gözlemlenmiştir. Bostan ve Dursun (2011) Kemaliye ve Yusufeli ilçelerinin mikroklima özelliği sayesinde yüksek ürün çeşitliliği yanında, sınırlı tarım arazisi mevcudiyeti nedeniyle sebze ve meyve arazilerinin iç içe olması, farklı türdeki bitkilerin yan yana veya aynı yere münavebeli ekiminin yapılması sonucunda virüs hastalıkları açısından sorunlar yaşanabileceğini, zira patates ve biberin yan yana ekildiğini bildirmişlerdir. Eskişehir'de Sarıcakaya ve Mihalgazi ilçelerinde mikroklima özelliğinin görülmesi ve benzer problemlerin varlığı, virüs hastalıkları açısından sorun yaşanabileceğini düşündürmektedir. Ancak Eskişehir ilinde domates ve biber alanlarında karışık ekim gözlemlenmemesi olumlu bir gelişmedir.

4.3.Serolojik Test (DAS-ELISA) Çalışmasına İlişkin Sonuçlar

Hassas tespit yöntemleri, viral hastalıklara karşı kontrol stratejilerinin yerinde ve zamanında olması açısından önemli rol üstlenmektedir (Tatineni ve ark., 2020). Bu açıdan DAS-ELISA yöntemi; düşük kontaminasyon riski, işlevsellik, güvenilir sayısal sonuç elde edilmesi gibi özelliklerinden dolayı, bitki virüslerinin serolojik olarak tanılama ve tespitinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Clark ve ark., 1986; Turhan ve Korkmaz, 2006). Özdemir ve ark. (2009)'nın çalışmasında olduğu gibi DAS-ELISA yöntemi ile meyve ve yaprak örneklerinde başarılı bir şekilde virüs tespit edilebilmektedir. Bu tez çalışmasında da domates ve biber örneklerinin, yaprak ve meyve kısımlarındaki virüslerin tespiti DAS-ELISA yöntemi ile başarılı bir şekilde yapılmıştır.

Eskişehir ilinin Mihalgazi, Sarıcakaya, Odunpazarı, Tepebaşı, Seyitgazi ilçelerinde 2019 yılında açık alanda ve örtü altında yetiştirilen domates ve biber bitkilerinde hastalığa neden olan virüslerin varlığının serolojik olarak belirlenmesi amacıyla DAS-ELISA yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem ile arazi çalışmaları kapsamında toplanan 170 bitki örneği TSWV, CMV, PVY, TMV, ToMV, PepMV, ToCV, TNV virüsleri için testlenmiştir. Test sonuçlarına göre Eskişehir ilinde; TSWV, CMV, PVY, TMV, ToMV virüsleri tespit edilmiş ancak PepMV, ToCV ve TNV virüsleri tespit edilememiştir. Ülkemizde bu virüslerin varlığı daha önce domateste ve biberde farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Arlı-Sökmen ve Şevik, 2006; Kaya ve ark., 2009; Buzkan ve ark.,

2013; Çulal-Kılıç ve ark., 2017b; Özdağ ve Sertkaya, 2017; Sertkaya ve Yılmaz, 2017; Öztürk ve Baloğlu, 2019; Yeşilyurt ve Çevik, 2019; Yılmaz ve Sipahioğlu, 2020).

Bitki türüne ve alan tipine göre tekli ve çoklu enfeksiyonlar dahil pozitif örnek sayısı Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Bitki türüne, alan tipine göre DAS-ELISA testi sonucu pozitif örnek sayısı

Bitki türü	Alan tipi	Örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı							
			TSWV	CMV	PVY	TMV	ToMV	PepMV	ToCV	TNV
Domates	Açık alan	39	4	12	5	-	2	-	-	-
	Örtü altı	68	29	6	4	2	1	-	-	-
Toplam		107	33	18	9	2	3	-	-	-
Biber	Açık alan	24	4	10	2	2	-	-	-	-
	Örtü altı	39	28	8	2	2	-	-	-	-
Toplam		63	32	18	4	2	-	-	-	-
Alan toplam	Açık alan	63	8	22	7	2	2	-	-	-
	Örtü altı	107	57	14	6	4	1	-	-	-
Bitki toplam		170	65	36	13	6	3	-	-	-

DAS-ELISA testi sonuçlarına göre Eskişehir geneli 170 bitki örneğinin 123'ü (%72,3) en az bir virüs türü ile bulaşıktır ve en yaygın virüs TSWV'dir (%38,2) ve ardından sırasıyla CMV (%21,2), PVY (%7,6), TMV (%3,5), ToMV (%1,8) gelmektedir. İl genelinde PepMV, ToCV ve TNV virüsleri ile enfekteli herhangi bir domates veya biber örneği tespit edilmemiştir. Ayrıca domateste açık alanda TMV, biberde hem açık alanda ve hem de örtü altında ToMV ile enfekteli bitki örneği tespit edilmemiştir.

İl geneli domates ve biber dahil, açık alanda incelenen 63 örnekte sırasıyla CMV (%34,9), TSWV (%12,7), PVY (%11,1), TMV (%3,2), ToMV (%3,2) virüslerinin; örtü altında incelenen 107 örnekte sırasıyla TSWV (%53,3), CMV (%13,1), PVY (%5,6), TMV (%3,7), ToMV (%0,9) virüslerinin yaygın olduğu tespit edilmiştir.

Öte yandan bu tez çalışmasında olduğu gibi simptomlu veya simptomsuz örneklerde, araştırılan virüslerin bazılarının enfeksiyonuna rastlanılmaması olası bir durumdur. Domateste Bostan ve ark. (2002) Erzurum ve Artvin'de CMV, TRSV, PVX; Massumi ve ark. (2009) İran'da TBSV, TAV, TSV, PVS, TRSV; Hajiabadi ve ark. (2012) İran'da PVY, TYLCV, TCSV, TBSV, ToRSV, TAV, BCTV; Ayo-John ve Odedara (2017) Nijerya'da TSWV; Sertkaya ve Yılmaz (2017) Hatay'da ToMV; Yılmaz ve Sipahioğlu (2020) Diyarbakır'da TSWV, TYLCV, ToRSV virüslerinin tespit edilmediğini bildirmişlerdir. Biberde de Güldür ve Çağlar (2006) Şanlıurfa'da TSWV, CMV, PVY, TMV, TEV; Özaslan ve ark. (2006) Gaziantep'te TSWV, PMMoV; Petrović ve ark. (2010) Sırbistan'da TMV, PVX; Bostan ve Dursun (2011) Erzincan ve Artvin'de CMV, PVX;

Svoboda ve Svobodová-Leišová (2012) Çekya'da TMV, TSWV, PMMoV; Parrella ve ark. (2016) İtalya'da CMV,TSWV, ToMV, AMV, PMMoV; Ayo-John ve Odedara (2017) Nijerya'da TSWV; Wang ve ark. (2017) Çin'de TSWV; Laprom ve ark. (2019) Tayland'da PVY, TMV, TSWV; Öztürk ve Baloğlu (2020) Doğu Akdeniz Bölgesi'nde PVX, TYLCV ChiVMV virüslerinin tespit edilmediğini bildirmişlerdir. Adı geçen çalışmaları yapan araştırıcılar ve başka araştırıcılar bu durumun, simptom gözlemlense bile ilgili virüslerin o bölgede mevcudiyetinin olmamasından kaynaklanabileceği gibi araştırılan türler dışındaki virüs türlerinin/diğer patojenlerin/stres koşullarının varlığı nedeniyle veya örneklemenin yapıldığı dönem ile ilgili olabileceğini düşünmektedirler (Arlı-Sökmen ve Şevik, 2006; Kaya ve ark., 2009; Svoboda ve Svobodová-Leišová, 2012; Özdağ ve Sertkaya, 2017; Laprom ve ark., 2019).

Domates ve biber üretim alanlarındaki virüs enfeksiyonlarının oranını, farklı araştırmacılar çeşitli nedenler ile bağdaştırmaktadır. Örneğin Yılmaz ve ark. (1995) GAP bölgesinde sulama olanaklarının artmasına bağlı olarak, artan vektör thrips popülasyonu karşısında mücadeleye önem verilmezse TSWV'nin yayılma alanın artacağını öne sürmüştür. Nitekim Özaslan ve ark. (2006) GAP bölgesinde su kullanımımın artması sonucu, vektör türlerin daha geniş alanlara yayıldığını ve yaprak biti türlerinin çeşitliliğinde artış olduğunu belirtmiştir. Lavina ve ark. (1996) İspanya'da domates alanlarında yaptıkları bir çalışmada, CMV ve TSWV'nin kıyı kesimlerde daha etkili olmasına karşın TSWV'nin iç kesimlerde neredeyse olmadığını; sonbaharda yaza kıyasla domateste hem TSWV'nin hem de CMV'nin, yabancı otlarda da TSWV'nin daha yüksek enfeksiyona neden olduğunu tespit etmişlerdir. Turhan ve Korkmaz (2006) yaptıkları çalışmada Çanakkale ilinde tek bir beldede TSWV'nin saptanmasını, bu yerin polikültür tarımın yapıldığı, sebze ve meyve alanlarının yoğun olduğu, vektör türlerin beslenebileceği bitki türünün fazla olduğu, denize yakınlık nedeniyle yazın sıcaklık ve nemin yüksek olduğu bir yer olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Kil ve ark. (2018) Kore'de üretim sezonunun başında, ortasında ve sonunda örnekleme yaparak ulaştıkları sonuçlara göre, TSWV'nin sezon içinde yoğunluğunun düşmesini, virüsün fidelerle üretim alanına dışarıdan geldiğine; CMV'nin sezon başında düşük iken sonraki süreçte yüksek virüs yoğunluğuna ulaşmasını, virüsün üretim alanında konukçu bitkilerde veya vektör bünyelerinde mevcut olduğuna kanaat getirmişlerdir. Moussa ve ark. (2000) Tunus'ta farklı sezonlarda yaptıkları çalışmada TSWV'nin bazı bölgelerdeki artışını, thripslerin güneyden kuzeye doğru yayılması ile ilişkilendirmişlerdir. Sikora ve ark. (1998) ABD'de Nisan-Mayıs ayında dikim yapıldığında domateslerde daha düşük oranda CMV görülmesine karşın, Haziran-

Temmuz aylarında dikim yapılan domateslerde erken dönemde enfeksiyon gerçekleşmesine bağlı olarak CMV'nin daha yüksek oranda ortaya çıktığını ve daha fazla verim kaybına neden olduğunu saptanmışlardır ve bununla ilişkili olarak bölgedeki afit popülasyonun CMV artışının olduğu Haziran dönemi öncesinde zirveye ulaştığını tespit etmişlerdir. Güldür ve Yılmaz (1995) Şanlıurfa'da PVY virüsünün düşük oranda görülmesinin nedeni olarak dar konukçu dizisine sahip olması ve konukçu vektör ilişkisinin kurulamamasına bağlı olabileceğini öne sürmüştür. Öte yandan Svoboda ve Svobodová-Leišová (2012), Çekya'da 2008 yılında CMV ve PVY'nin maksimum oranda görülmesini, yüksek oranda tespit edilen afit mevcudiyeti ile ilişkilendirmektedir.

PepMV Eskişehir domates üretim alanlarında tespit edilmemiş olmasın karşın Özdağ ve Sertkaya (2017) Hatay'da yaptıkları bir çalışmada 303 örnek arasında 1 örnekte PepMV; Çulal-Kılıç ve ark. (2017b) Batı Akdeniz bölgesi domates alanların yaptıkları çalışmada 186 örnek arasında 22 örnekte PepMV tespit edildiğini bildirmişlerdir. Ülkemizde PepMV tespit edilmiş olsa da nispeten düşük düzeylerde hastalık oluşturmaktadır. Nitekim Soler ve ark. (2010) İspanya'da PepMV'in düşük yoğunlukta (%4,7) olduğunu değerlendirip önemli bir problem olmadığını belirtmişlerdir.

ToCV Eskişehir domates ve biber üretim alanlarında tespit edilmemiş olmasına karşın Çevik ve Öztunç (2016) Antalya ilinde örtü altı domates üretim alanlarında ToCV'nin %50 oranında enfeksiyon yaptığını RT-PCR ile belirlemişler ve bölgede ToCV'nin yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Fakat Akdura-Yeşilyurt ve Çevik (2017) Isparta (%5,7) ve Burdur'da (%8) düşük yoğunlukta ToCV tespit etmişlerdir. Bu illerdeki enfeksiyon yoğunluğu ile daha önce bahsedilen Antalya'daki yoğunluğun arasındaki farkın hastalığın henüz yayılmaması ve az sayıda bitkide sınırlı kalması, daha da önemlisi ilkim şartları nedeniyle vektör beyaz sinek yoğunluğunun bölgede az olması nedeniyle ortaya çıkmış olabileceğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında da ToCV'nin Eskişehir ilinde hiç tespit edilmemesi, benzer nedenlerden dolayı kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Genel duruma bakıldığında Eskişehir ilinde, thripsler ile etkili bir şekilde taşınan TSWV'nin yanında afitler ile kolayca yayılabilen PVY ve CMV virüslerinin de tespit edilmiş olması, ancak beyaz sineklerle taşınan ToCV virüsünün tespit edilmemiş olması önemli bir bulgudur. Her ne kadar etkili bir vektörü bilinmeyen ancak mekanik olarak kolayca bulaşabildiği bilinen TMV ve ToMV virüslerinin tespit edilmiş olması, fakat PepMV ve TNV virüslerinin tespit edilmemiş olması da önemli bir bulgudur.

4.3.1.Domates örneklerinin DAS-ELISA sonuçları

İl, ilçe ve alan tipi genelinde DAS-ELISA testine göre TSWV, CMV, PVY, ToMV, TMV virüsleri açısından pozitif domates örneklerinin sayısı Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. İlçelere ve alan tipine göre domates örneklerinin DAS-ELISA test sonuçları

İlçe	Alan tipi	Örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı					Enfeksiyon oranı (%)
			TSWV	CMV	PVY	ToMV	TMV	
Mihalgazi	Açık alan	7	-	5	-	-	-	71,4
	Örtü altı	35	21	4	1	-	-	74,3
Toplam		42	21	9	1	-	-	73,8
Sarıcakaya	Açık alan	4	2	1	2	1	-	150
	Örtü altı	30	8	2	3	1	2	53,3
Toplam		34	10	3	5	2	2	64,7
Odunpazarı	Açık alan	19	-	5	2	1	-	42,1
	Örtü altı	-	-	-	-	-	-	-
Toplam		19	-	5	2	1	-	42,1
Seyitgazi	Açık alan	3	-	1	1	-	-	66,7
	Örtü altı	3	-	-	-	-	-	0
Toplam		6	-	1	1	-	-	33,3
Tepebaşı	Açık alan	6	2	-	-	-	-	33,3
	Örtü altı	-	-	-	-	-	-	-
Toplam		6	2	-	-	-	-	33,3
Genel toplam		107	33	18	9	3	2	60,7

İncelenen 107 domates örneğinin %60,7'si en az bir virüs ile enfekteli olduğu saptanmıştır. Virüslerin enfeksiyon oranı sıralamasının genel toplamda TSWV (%30,8), CMV (%16,8), PVY (%8,4), ToMV (%2,8), TMV (%1,9) şeklinde olmasına karşın 68 örtü altı örneğinde TSWV (%42,6), CMV (%8,8), PVY (%5,9), TMV (%2,9), ToMV (%1,5) şeklinde; 39 açık alan örneğinde ise CMV (%30,8), PVY (%12,8), TSWV (%10,3), ToMV (%5,1) şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

Eskişehir ilindeki genel domates enfeksiyon oranına (%60,7) benzer olarak Fidan (1995) İzmir ve Muğla illerinde örtü altında ortalama %7,3; Çulal-Kılıç ve ark. (2017b) Batı Akdeniz Bölgesi'nde örtü altında genel olarak %63,4; Sertkaya ve Yılmaz (2017) Hatay'da örtü altında genel olarak %39,7; Kil ve ark. (2018) Kore'de 2 yıllık çalışmada %70-87; Nikolić ve ark. (2018) Sırbistan'da genel olarak %74 oranında enfeksiyon gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

TSWV, Eskişehir domates üretim alanlarında %26,7 ile %60 arası enfeksiyon oranı ile örtü altında ve il geneli en yoğun tespit edilen virüstür. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer ve farklı şekillerde domateste TSWV'nin çeşitli oranlarda enfeksiyonları, Türkiye'nin ve dünyanın birçok yerinde farklı araştırmacılar tarafından saptanmıştır.

Domateste TSWV'nin Fidan (1995) İzmir ve Muğla'da %15,4; Mijatović ve ark. (2000) Sırbistan'da açık alanda %10, örtü altında %20; Moussa ve ark. (2000) Tunus'ta %0-40; Bostan ve ark. (2002) Erzurum'da %0,2; Arlı-Sökmen ve Şevik (2006) Samsun'da %12,9; Turhan ve Korkmaz (2006) Çanakkale'de %4,5; Değirmenci ve Uzunoğulları (2007) Bursa, Bilecik, Sakarya, Tekirdağ illerinin genelinde %5,5-78,6; Kaya ve ark. (2009) Muğla'da örtü altında %3,8; Massumi ve ark. (2009) İran'da %5,8; Özdemir ve ark. (2009) Denizli'de örtü altında %70; Yardımcı ve Çulal-Kılıç (2009) Batı Akdeniz Bölgesi'nde %46,9; Soler ve ark. (2010) İspanya'da %2,8; Hajiabadi ve ark. (2012) İran'da %1,4; Kim ve ark. (2012) Kore'de %15; Şin ve Arlı-Sökmen (2016) Amasya'da %13, Tokat'ta %13,5, Samsun'da %22,6; Çulal-Kılıç ve ark. (2017a) Isparta ve Burdur'da %19,2; Çulal-Kılıç ve ark. (2017b) Batı Akdeniz Bölgesi'nde örtü altında %28,6; Sertkaya ve Yılmaz (2017) Hatay'da örtü altında %1,4; Kil ve ark. (2018) Kore'de %38,4; Nikolić ve ark. (2018) Sırbistan'da %8,6; Desbiez ve ark. (2019) Azerbaycan'da %1; Desbiez ve ark. (2020) Fransa'da %6-16 oranında enfeksiyon yaptığı bildirmişlerdir.

CMV, Eskişehir domates üretim alanlarında %6,7 ile %71,4 arası enfeksiyon oranına sahiptir ve açık alanda en yoğun tespit edilen virüstür. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer ve farklı şekillerde domateste CMV'nin çeşitli oranlarda enfeksiyonları, Türkiye'nin ve dünyanın birçok yerinde farklı araştırmacılar tarafından saptanmıştır. Domateste CMV'nin Nogay (1986) Trakya'da %7,8; Güldür ve Yılmaz (1995) Şanlıurfa'da %11,5; Sikora ve ark. (1998) ABD'de %70 (en yaygın); Mijatović ve ark. (2000) Sırbistan'da açık alanda %27, örtü altında %19; Moussa ve ark. (2000) Tunus'ta %8-23; Yardımcı ve Kılıç (2002) Isparta'da %31,8; Arlı-Sökmen ve Şevik (2006) Samsun'da %6,9; Yardımcı ve Eryigit (2006) Kuzeybatı Akdeniz Bölgesi'nde %38,4; Değirmenci ve Uzunoğulları (2007) Bursa, Bilecik, Sakarya, Tekirdağ illerinin genelinde %9-68,7; Kaya ve ark. (2009) Muğla'da %2,5; Massumi ve ark. (2009) İran'da %23,4; Soler ve ark. (2010) İspanya'da %8,5; Hajiabadi ve ark. (2012) İran'da %5,7; Kim ve ark. (2012) Kore'de %9; Ayo-John ve Odedara (2017) Nijerya'da %5,2; Sertkaya ve Yılmaz (2017) Hatay'da %3,7; Kil ve ark. (2018) Kore'de %25,5; Nikolić ve ark. (2018) Sırbistan'da %42,1 (en yaygın); Desbiez ve ark. (2019) Azerbaycan'da %32-72 (en yaygın); Liu ve ark. (2019) Çin'de %13 (en yaygın); Desbiez ve ark. (2020) Fransa'da %6-7 oranında enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir.

PVY, Eskişehir domates üretim alanlarında %2,9 ile %50 arası enfeksiyon oranı ile nispeten düşük yoğunlukta sayılabilir, ancak açık alanda en yaygın ikinci virüs türüdür. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer ve farklı şekillerde domateste PVY'nin çeşitli oranlarda

enfeksiyonları, Türkiye'de ve dünyanın birçok yerinde farklı araştırmacılar tarafından saptanmıştır. Domateste PVY'nin Güldür ve Yılmaz (1995) Şanlıurfa'da %3,3 (en az); Hiskias ve ark. (1999) Etiyopya'da %8; Mijatović ve ark. (2000) Sırbistan'da açık alanda %49, örtü altında %20; Moussa ve ark. (2000) Tunus'ta %9-83; Değirmenci ve Uzunoğulları (2007) Bursa, Bilecik, Sakarya, Tekirdağ illerinin genelinde %7,7-37,5; Massumi ve ark. (2009) İran'da %5; Soler ve ark. (2010) İspanya'da %27; Ayo-John ve Odedara (2017) Nijerya'da %5,2; Sertkaya ve Yılmaz (2017) Hatay'da %7; Nikolić ve ark. (2018) Sırbistan'da %40; Desbiez ve ark. (2019) Azerbaycan'da %9-26; Desbiez ve ark. (2020) Fransa'da %1-23; Yılmaz ve Sipahioğlu (2020) Diyarbakır'da %7,6 oranında enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir.

ToMV'nin Eskişehir domates üretim alanlarında %2,8 ile %25 arası enfeksiyon oranı ile nispeten düşük yoğunlukta sayılabilir, nitekim alan tipine göre en düşük yoğunlukta tespit edilen türdür. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer ve farklı şekillerde domateste ToMV'nin çeşitli oranlarda enfeksiyonları, Türkiye'nin ve dünyanın birçok yerinde farklı araştırmacılar tarafından saptanmıştır. Domateste ToMV'nin Fidan (1995) İzmir ve Muğla'da %11,7; Güldür ve Yılmaz (1995) Şanlıurfa'da %42,6 (en yaygın); Hiskias ve ark. (1999) Etiyopya'da %3; Mijatović ve ark. (2000) Sırbistan'da açık alanda %45, örtü altında %58; Moussa ve ark. (2000) Tunus'ta %10-34; Bostan ve ark. (2002) Erzurum'da %1,4, Artvin'de %0,18; Arlı-Sökmen ve Şevik (2006) Samsun'da %52,1 (en yaygın); Değirmenci ve Uzunoğulları (2007) Bursa, Bilecik, Sakarya, Tekirdağ illerinin genelinde %1,2-35,3; Massumi ve ark. (2009) İran'da %5,8; Soler ve ark. (2010) İspanya'da %34,1 (en yaygın); Nikolić ve ark. (2018) Sırbistan'da %2,3; Desbiez ve ark. (2020) Fransa'da %4-8; Yılmaz ve Sipahioğlu (2020) Diyarbakır'da %14,7 (en yaygın); oranında enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir.

TMV, Eskişehir domates üretim alanlarında sadece örtü altında %6,7 enfeksiyon oranı ile domateste en düşük yoğunlukta tespit edilen virüstür. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer ve farklı olarak domateste TMV'nin çeşitli oranlarda enfeksiyonlar, Türkiye'nin ve dünyanın birçok yerinde farklı araştırmacılar tarafından saptanmıştır. Domateste TMV'nin Nogay (1986) Trakya'da %9,8; Mijatović ve ark. (2000) Sırbistan'da açık alanda %40, örtü altında %45; Moussa ve ark. (2000) Tunus'ta %14-92; Bostan ve ark. (2002) Erzurum'da %1,8, Artvin'de %1; Yardımcı ve Kılıç (2002) Isparta'da %22,7; Kaya ve ark. (2009) Muğla'da örtü altında %30 (en yaygın); Massumi ve ark. (2009) İran'da %5,6; Hajiabadi ve ark. (2012) İran'da %13,5 (en yaygın); Nikolić ve ark. (2018) Sırbistan'da %1,3;

Desbiez ve ark. (2019) Azerbaycan'da %1; Liu ve ark. (2019) Çin'de %8 oranında enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir

Eskişehir'den toplanan domates örneklerinin DAS-ELISA testi sonuçlarına göre tekli ve çoklu enfeksiyonlar dahil, virüs türü ve alan tipi fark etmeksizin ilçe geneli enfeksiyon oranı sıralaması; Mihalgazi (%74,3), Sarıcakaya (%64,7), Odunpazarı (%42,1), Tepebaşı (%33,3) ve Seyitgazi (%33,3) şeklindedir ve il geneli oran %60,7'dir. Domates örneklerinde alan ayrımı yapılmadan tekli ve çoklu enfeksiyonlar dahil, virüs türlerinin enfeksiyon oranına göre ilçelerin sıralaması; TSWV için Mihalgazi (%50), Tepebaşı (%33,3), Sarıcakaya (%29,4); CMV için Odunpazarı (%26,3), Mihalgazi (%21,4), Seyitgazi (%16,7), Sarıcakaya (%8,8); PVY için Seyitgazi (%16,7), Sarıcakaya (%14,7), Odunpazarı (%10,5), Mihalgazi (%2,4); ToMV için Sarıcakaya (%5,9), Odunpazarı (%5,3); TMV için sadece Sarıcakaya (%5,9) olarak bulunmuştur.

Virüs türünden bağımsız olarak alan tipine göre domateste ilçelerin enfeksiyon oranı sıralaması; örtü altında Mihalgazi (%74,3), Sarıcakaya (%53,3); açık alanda Sarıcakaya (%150), Mihalgazi (%71,4), Seyitgazi (%66,7), Odunpazarı (%42,1), Tepebaşı (%33,3) şeklindedir. Mihalgazi'de en fazla açık alanda CMV (%71,4) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve ardından örtü altında TSWV (%60), CMV (%11,4), PVY (%2,9) gelmektedir. Sarıcakaya'da en fazla açık alanda TSWV (%50) ve PVY (%50) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve ardından örtü altında TSWV (%26,7), açık alanda CMV (%25) ve ToMV (%25), örtü altında PVY (%10), CMV (%6,7), TMV (%6,7), ToMV (%3,3) gelmektedir. Odunpazarı'da en fazla açık alanda CMV (%26,3) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve ardından yine açık alanda PVY (%10,5) ve ToMV (%5,3) gelmektedir. Seyitgazi'de sadece açık alanda CMV (%33,3) ve PVY (%33,3) enfeksiyonu tespit edilmiştir. Tepebaşı'nda sadece açık alanda TSWV (%33,3) enfeksiyonu tespit edilmiştir. Bu tespitler dışında Eskişehir'de domateste virüs tespiti yoktur. Domateste tespit edilen farklı virüs türü sayısına göre ilçelerin sıralaması; örtü altında Sarıcakaya (5), Mihalgazi (3); açık alanda Sarıcakaya (4), Odunpazarı (3), Seyitgazi (2), Mihalgazi (1), Tepebaşı (1) şeklindedir.

4.3.2.Biber örneklerinin DAS-ELISA sonuçları

İl, ilçe ve alan tipi genelinde DAS-ELISA testine göre TSWV, CMV, PVY, TMV virüsleri açısından pozitif biber örneklerinin sayısı Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. İlçelere ve alan tipine göre biber örneklerinin DAS-ELISA testi sonuçları

İlçe	Alan tipi	Örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı				Enfeksiyon oranı (%)
			TSWV	CMV	PVY	TMV	
Mihalgazi	Açık alan	4	-	1	-	-	25
	Örtü altı	35	28	7	2	1	108,6
Toplam		39	28	8	2	1	100
Sarıcakaya	Açık alan	11	1	8	-	1	90,9
	Örtü altı	4	-	1	-	1	50
Toplam		15	1	9	-	2	80
Odunpazarı	Açık alan	3	1	-	1	-	66,7
	Örtü altı	-	-	-	-	-	-
Toplam		3	1	-	1	-	66,7
Tepebaşı	Açık alan	6	2	1	1	1	83,3
	Örtü altı	-	-	-	-	-	-
Toplam		6	2	1	1	1	83,3
Genel toplam		63	32	18	4	4	92,1

İncelenen 63 biber örneğinin yaklaşık %92'si en az bir virüs ile enfekteli olduğu saptanmıştır. Virüslerin enfeksiyon oranı sıralamasının genel toplamda TSWV (%50,8), CMV (%28,6), PVY (%6,3), TMV (%3,2) şeklinde olmasına karşın 39 adet örtü altı örneğinde TSWV (%71,8), CMV (%20,5), PVY (%5,1), TMV (%5,1) şeklinde; 24 adet açık alan örneğinde ise CMV (%41,7), TSWV (%16,7), PVY (%8,3), TMV (%8,3) şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

Eskişehir ilindeki genel biber enfeksiyon oranına (%92) benzer olarak Fidan (1995) İzmir ve Muğla illerinde örtü altında ortalama %2,4; Olawale ve ark. (2015) Nijerya'da 2 yıllık çalışmada %76-79; Kil ve ark. (2018) Kore'de 2 yıllık çalışmada %91-93; Öztürk ve Baloğlu (2019) Doğu Akdeniz Bölgesi'nde açık alanda %59,4 oranında enfeksiyon gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

TSWV, Eskişehir biber üretim alanlarında %9,1 ile %80 arası enfeksiyon oranı ile örtü altında ve il geneli en yoğun tespit edilen virüstür. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer ve farklı olarak biberde TSWV'nin çeşitli oranlarda enfeksiyonları, Türkiye'nin ve dünyanın birçok yerinde farklı araştırmacılar tarafından saptamıştır. Biberde TSWV'nin Arlı-Sökmen ve ark. (2005) Samsun'da %2,2; Sepúlveda ve ark. (2005) Şili'de %21; Özdemir ve Erilmez (2007) Denizli'de %81; Yardımcı ve Çulal-Kılıç (2009) Batı Akdeniz Bölgesi'nde %67; Petrović ve ark. (2010) Sırbistan'da örtü altında %23; Kim ve ark. (2012) Kore'de %15; Buzkan ve ark. (2013) Hatay'da açık alanda %0,5; Soleimani ve ark. (2014) İran'da %2,6 (en az); Çulal-Kılıç ve ark. (2017c) Burdur, Isparta ve Denizli illerinin genelinde %13,6; Özdağ ve Sertkaya (2017) Hatay'da %0,3; Kil ve ark. (2018) Kore'de %12,2; Güneş ve Gümüş (2019) Antalya'da %%35,8; Öztürk ve Baloğlu (2019) Adana'da

açık alanda %10,6, Mersin'de %9,3, Osmaniye'de %2,1, Hatay'da %1,3 oranında enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir.

CMV, Eskişehir biber üretim alanlarında %16,7 ile %72,7 arası enfeksiyon oranına sahiptir ve açık alanda en yoğun tespit edilen virüstür. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer ve farklı olarak biberde CMV'nin çeşitli oranlarda enfeksiyonları, Türkiye'nin ve dünyanın birçok yerinde farklı araştırmacılar tarafından saptanmıştır. Biberde CMV'nin Rodríguez ve ark. (2004) Venezuela'da %23; Ünlü ve Güldür (2004) Şanlıurfa'da %47-76; Arlı-Sökmen ve ark. (2005) Samsun'da %7,7; Sepúlveda ve ark. (2005) Şili'de %23; Buzkan ve ark. (2006) Gaziantep'te %3,8 (en az), Kahramanmaraş'ta %4,6 (en az), Şanlıurfa'da %11,2, Hatay'da %23,7; Özaslan ve ark. (2006) Gaziantep'te %19,7; Özdemir ve Erilmez (2007) Denizli'de %1,9; Petrović ve ark. (2010) Sırbistan'da örtü altında %31, açık alanda %37, fideliklerde %18; Kim ve ark. (2012) Kore'de %25; Svoboda ve Svobodová-Leišová (2012) Çekya'da %24; Buzkan ve ark. (2013) Türkiye'de (Hatay) %4,8, Tunus'ta %75,8; Soleimani ve ark. (2014) İran'da %3,6; Çulal-Kılıç ve ark. (2015) Burdur'da %6,4; Olawale ve ark. (2015) Nijerya'da %61; Ayo-John ve Odedara (2017) Nijerya'da %19,5; Özdağ ve Sertkaya (2017) Hatay'da %5,5; Wang ve ark. (2017) Çin'de %60; Kil ve ark. (2018) Kore'de %50; Desbiez ve ark. (2019) Azerbaycan'da %19-41 (en yaygın); Güneş ve Gümüş (2019) Antalya'da %%7,3; Laprom ve ark. (2019) Tayland'da %25,5; Liu ve ark. (2019) Çin'de %20 (en yaygın); Öztürk ve Baloğlu (2019) açık alanda Mersin'de %23,7, Adana'da %25,5, Hatay'da %28,5, Kahramanmaraş'ta %43,1, Osmaniye'de %47,6 oranında enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir.

PVY, Eskişehir biber üretim alanlarında %5,1 ile %33,3 arası enfeksiyon oranı ile nispeten düşük yoğunlukta görüldüğü tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer ve farklı olarak biberde PVY'nin çeşitli oranlarda enfeksiyonları, Türkiye'nin ve dünyanın birçok yerinde farklı araştırmacılar tarafından saptanmıştır. Biberde PVY'nin Hiskias ve ark. (1999) Etiyopya'da %26; Rodríguez ve ark. (2004) Venezuela'da %7; Arlı-Sökmen ve ark. (2005) Samsun'da %20,2 (en yaygın); Sepúlveda ve ark. (2005) Şili'de %14; Buzkan ve ark. (2006) Şanlıurfa'da %38,2 (en yaygın), Hatay'da %33,9, Kahramanmaraş'ta %21,1, Gaziantep'te %16,5; Petrović ve ark. (2010) Sırbistan'da (en yaygın) örtü altında %33, açık alanda %51, fideliklerde %3; Bostan ve Dursun (2011) Erzincan'da %36,6 ve Artvin'de %40; Svoboda ve Svobodová-Leišová (2012) Çekya'da %29; Buzkan ve ark. (2013) Türkiye'de (Hatay) %15,3 ve Tunus'ta %19,9; Soleimani ve ark. (2014) İran'da %3; Olawale ve ark. (2015) Nijerya'da %79 (en yaygın); Özdağ ve Sertkaya (2017) Hatay'da %13,8 (en yaygın); Wang ve ark. (2017) Çin'de %6,7; Desbiez

ve ark. (2019) Azerbaycan'da %1-18; Öztürk ve Baloğlu (2019) Adana'da %30,1 (en yaygın), Hatay'da %28,5, Mersin'de %17,3, Kahramanmaraş'ta %12,5 Osmaniye'de %9,8 oranında enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir.

TMV, Eskişehir biber üretim alanlarında %2,9 ile %25 arası enfeksiyon oranı ile en düşük yoğunlukta tespit edilen virüstür. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer ve farklı olarak biberde TMV'nin çeşitli oranlarda enfeksiyonları, Türkiye'nin ve dünyanın birçok yerinde farklı araştırmacılar tarafından saptanmıştır. Biberde TMV'nin Murphy ve ark. (2003) ABD'de %18; Rodríguez ve ark. (2004) Venezuela'da %34; Arlı-Sökmen ve ark. (2005) Samsun'da %7,8; Sepúlveda ve ark. (2005) Şili'de %5; Özaslan ve ark. (2006) Gaziantep'te %20,9; Bostan ve Dursun (2011) Erzincan'da %23,3 ve Artvin'de %20; Olawale ve ark. (2015) Nijerya'da %38; Wang ve ark. (2017) Çin'de %24,9; Liu ve ark. (2019) Çin'de %14; Öztürk ve Baloğlu (2019) Adana'da %0,8, Hatay'da %0,8, Mersin'de %1, Osmaniye'de %2,8 oranında enfeksiyon yaptığını bildirmişlerdir.

ToMV, Eskişehir biber üretim alanlarında, başka çalışmalarda da olduğu gibi tespit edilememiştir. Ancak Fidan (1995) İzmir ve Muğla'da %13,3; Hiskias ve ark. (1999) Etiyopya'da %3; Arlı-Sökmen ve ark. (2005) Samsun'da %9,8; Sepúlveda ve ark. (2005) Şili'de %2; Buzkan ve ark. (2013) Hatay'da %0,5; Olawale ve ark. (2015) Nijerya'da %22; Ayo-John ve Odedara (2017) Nijerya'da %3,9; Özdağ ve Sertkaya (2017) Hatay'da %2,6; Wang ve ark. (2017) Çin'de %9; Çulal-Kılıç (2019) Denizli ve Burdur'da %4,7; Öztürk ve Baloğlu (2019) Hatay'da %0,4, Adana'da %0,5, Mersin'de %1,3, Osmaniye'de %4,9 oranında ToMV'nin biberde enfeksiyon yaptığını tespit bildirmişlerdir.

Eskişehir'den toplanan biber örneklerinin DAS-ELISA testi sonuçlarına göre tekli ve çoklu enfeksiyonlar dahil, virüs türü ve alan tipi fark etmeksizin ilçe geneli enfeksiyon oranı sıralaması; Mihalgazi (%100), Sarıcakaya (%80), Odunpazarı (%66,7), Tepebaşı (%83,33) ve Seyitgazi (%33,3) şeklindedir ve il geneli oran %92,1'dir. Biber örneklerinde alan ayrımı yapılmadan tekli ve çoklu enfeksiyonlar dahil, virüs türlerinin enfeksiyon oranına göre ilçelerin sıralaması; TSWV için Mihalgazi (%71,8), Tepebaşı (%33,3), Odunpazarı (%33,3), Sarıcakaya (%6,7); CMV için Sarıcakaya (%60), Mihalgazi (%20,5), Tepebaşı (%16,7); PVY için Odunpazarı (%33,3), Tepebaşı (%16,7), Mihalgazi (%5,1); TMV için Tepebaşı (%16,7), Sarıcakaya (%13,3), Mihalgazi (%2,6) olarak bulunmuştur.

Virüs türünden bağımsız olarak biberde alan tipine göre ilçelerin enfeksiyon oranı sıralaması; örtü altında Mihalgazi (%108,6), Sarıcakaya (%50); açık alanda Sarıcakaya (%90,9), Tepebaşı (%83,3), Odunpazarı (%66,7), Mihalgazi (%25) şeklindedir. Mihalgazi'de en fazla örtü altında TSWV (%80) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve bunun

ardından açık alanda CMV (%25); örtü altında CMV (%20), PVY (%5,7), TMV (%2,9) gelmektedir. Sarıcakaya'da en fazla açık alanda CMV (%72,7) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve ardından örtü altında CMV (%25) ve TMV (%25); açık alanda TSWV (%9,1) ve TMV (%9,1) gelmektedir. Tepebaşı'nda sadece açık alanda TSWV (%33,3), CMV (%16,7), PVY (%16,7), TMV (%16,7) enfeksiyonları tespit edilmiştir. Odunpazarı'nda sadece açık alanda eşit oranda TSWV (%33,3) ve PVY (33,3) enfeksiyonu tespit edilmiştir. Bu tespitler dışında Eskişehir'de biberde virüs tespiti yoktur. Biberde tespit edilen farklı virüs türü sayısına göre ilçelerin sıralaması; örtü altında Mihalgazi (4), Sarıcakaya (2); açık alanda Tepebaşı (4), Sarıcakaya (3), Odunpazarı (2), Mihalgazi (1) şeklindedir.

4.3.3.Çoklu enfeksiyonların DAS-ELISA sonuçları

Eskişehir ilinde domates ve biber üretim alanlarından toplanan bitki örneklerinde DAS-ELISA yöntemi ile tespit edilen tekli ve çoklu enfeksiyonların sayısı virüs türleri ve kombinasyonlarına göre Çizelge 4.6'de verilmiştir.

Çizelge 4.6. DAS-ELISA test sonuçlarına göre tekli, ikili ve üçlü virüs enfeksiyonu görülen örnek sayıları

Enfeksiyon tipi	Virüs türü	Pozitif örnek sayısı*		Toplam
		Domates	Biber	
Tekli enfeksiyon	TSWV	28	24	52
	CMV	12	10	22
	PVY	5	-	5
	TMV	2	1	3
	ToMV	1	-	1
Toplam		48	35	83
İkili enfeksiyon	TSWV+CMV	$3^{M,s}$	$4^{M,s(3),R,a(1)}$	7
	TSWV+PVY	$2^{R,a,s}$	$1^{Y,a}$	3
	TSWV+TMV	-	$1^{M,s}$	1
	CMV+TMV	-	$1^{R,s}$	1
	CMV+ToMV	$1^{R,a}$	-	1
	CMV+PVY	$1^{Y,a}$	-	1
Toplam		7	7	14
Üçlü enfeksiyon	TSWV+CMV+ PVY	-	$2^{M,s}$	2
	CMV+PVY+TMV	-	$1^{T,a}$	1
	CMV+PVY+ToMV	$1^{O,a}$	-	1
Toplam		1	3	3

*R:Sarıcakaya, M:Mihalgazi, O:Odunpazarı, T:Tepebaşı, Y:Seyitgazi, a:Açık alan, s:Örtü altı

Sonuçlara göre 6 farklı ikili, 3 farklı üçlü kombinasyon halinde çoklu virüs enfeksiyonu tespit edilmiştir. Tüm domates ve biber örnekleri genelinde tekli enfeksiyon oranı %48,8, çoklu enfeksiyon oranı ise ikili enfeksiyon oranı %8,2 ve üçlü enfeksiyon oranı %1,8 olmak üzere %10'dur. Tekli enfeksiyonların %62,7'sini TSWV (tüm örnekler

içindeki oranı %30,6), %26,5'ni CMV (%12,9), %6'sını PVY (%2,9), %3,6'sını TMV (%1,8), %1,2'sini ToMV (%0,6) oluşturmaktadır.

İkili enfeksiyonların %50'sini TSWV+CMV (%4,1), %21,4'nü TSWV+PVY (%1,8), %7,1'ni TSWV+TMV (%0,6), %7,1'ni TSWV+TMV (%0,6), %7,1'ni TSWV+TMV (%0,6), %7,1'ni CMV+TMV (%0,6), %7,1'ni CMV+ToMV (%0,6), %7,1'ni CMV+PVY (%0,6) kombinasyonları oluşturmaktadır. Ayrıca ikili enfeksiyonların %64,3'ü örtü altı alanda, %35,7'si açık alanda; %50'si Mihalgazi'de, %28,6'sı Sarıcakaya'da, %14,3'ü Seyitgazi'de tespit edilmiştir.

Bazı araştırıcılar yaptıkları çalışmalarda Eskişehir ilindeki çoklu enfeksiyonlara benzer tespitler bildirmeleri yanında, Eskişehir ilinde görülmeyen tespitler de bildirmişlerdir. Örneğin Güldür ve Yılmaz (1995) Şanlıurfa'da domateste Eskişehir ilinde tespit edilen CMV+ToMV (%19,7) ve CMV+PVY (%1,6) ikilileri yanında Eskişehir'de görülmeyen ToMV+PVY (%4,9) ikilisini tespit etmişlerdir. Arlı-Sökmen ve ark. (2005) Samsun'da biberde Eskişehir ilinde olmayan PVY+TMV (%15,4) ikilisinin enfeksiyonunu en yaygın olarak tespiti yanında Eskişehir ilinde de saptanan CMV+PVY (%4,6), TSWV+PVY (%3,1), CMV+ToMV (%2,3), CMV+TMV (%2,3), TSWV+TMV (%2,3) ikililerini tespit etmişlerdir. Arlı-Sökmen ve Şevik (2006) Samsun ilinde domateste, Eskişehir ilinde olmayan TSWV+ToMV (%6,4) ikilisini en yaygın bulmaları yanında, Eskişehir ilinde en yaygın olan TSWV+CMV (%0,5) ikilisi ile beraber CMV+ToMV (%3,2) ikilisini de tespit etmişleridir. Massumi ve ark. (2009) İran'da domateste TMV+CMV (%1), ToMV+CMV (%0,7), TSWV+CMV (%0,3), CMV+PVY (%0,2) ikililerini tespit etmişlerdir. Petrović ve ark. (2010) Sırbistan'da biberde hem açık alanda (%19) hem de örtü altında (%12) Eskişehir ilinde görülmeyen PVY+CMV ikilisinin yaygın olduğunu tespit etmişlerdir. Soler ve ark. (2010) İspanya'da domateste Eskişehir ilinde bulunan ikili enfeksiyonların benzer oranlarını tespit etmeleri yanında Eskişehir ilinde görülmeyen PVY+ToMV ikilisinin de en yaygın (%8,5) olduğunu bildirmişlerdir. Kim ve ark. (2012) Kore'de, Eskişehir'de de görülen CMV+TSWV ikilisinin domateste %4, biberde %0,5 oranında enfeksiyon oluşturduğunu saptamışlardır. Soleimani ve ark. (2014) İran'da biber örneklerinde, Eskişehir ilinde en fazla görülen TSWV+CMV (5 örnek) ikilisinin ve Eskişehir ilinde biberde görülmeyen CMV+PVY (3 örnek) ikilisinin tespitini gerçekleştirmişlerdir. Özdağ ve Sertkaya (2017) Hatay'da biberde Eskişehir'de görülmeyen CMV+PVY (%0,9) ikili enfeksiyonunu tespit etmişlerdir. Nikolić ve ark. (2018) Sırbistan'da tespit ettikleri çoklu enfeksiyonlarda, Eskişehir'de tespit edilen

CMV+PVY'nin en yaygın görülmesini, Mascia ve ark. (2010)'nın açıkladığı CMV ve PVY arasındaki sinerjistik ilişkiye dayandırmaktadırlar.

Üçlü enfeksiyonların %66,7'sini TSWV+CMV+PVY (%1,2), %33,3'nü CMV+PVY+TMV (%0,6), %33,3'nü CMV+PVY+ToMV (%0,6) kombinasyonları oluşturmaktadır. Ayrıca bu enfeksiyonların %66,7'si açık alanda, %33,3'ü örtü altı alanda; %66,7'si Mihalgazi'de, %33,3'ü Odunpazarı'nda, %33,3'ü Tepebaşı'nda tespit edilmiştir.

Bu tezde domateste tespit edilen tek üçlü enfeksiyonu (CMV+PVY+ToMV) Güldür ve Yılmaz (1995) da Şanlıurfa'da %3,3 oranında tespit etmiştir. Biberde ise TSWV+CMV+ PVY üçlü enfeksiyonu, Özdağ ve Sertkaya (2017) tarafından Hatay'da %0,3 oranında tespit edilmiştir. Ayrıca Soler ve ark. (2010) İspanya'da, Eskişehir ilinde de tespit edilen CMV+PVY+ToMV üçlüsünün en yaygın (%1,23) olduğunu tespit etmişlerdir. Eskişehir ilinde üçlü enfeksiyonlar arasında birden fazla örnekte tespit edilen tek üçlü (TSWV+CMV+PVY) enfeksiyon, benzer olarak Soleimani ve ark. (2014) tarafından İran'da biber alanlarında bir örnekte tespit edilmiştir. Bahsi geçen çalışmalardan anlaşılacağı üzere Eskişehir'de görülen ve görülmeyen çeşitli kombinasyonlardaki çoklu enfeksiyonlar hem ülkemizde hem de dünyanın farklı yerlerinde mevcuttur.

Sinerjistik veya antagonistik etkinin görülebildiği karışık enfeksiyonlar (farklı türler veya aynı türün farklı izolatları), bitkilerde daha yıkıcı bir şekilde hastalığa neden olarak verim ve kalite azalışlarının daha belirgin ortaya çıkmasına neden olabilmektedirler (Syller, 2012; Aramburu ve ark., 2015; Melcher ve Ali, 2018; Tatineni ve ark., 2020). Nitekim Damiri (2014) biberde karışık enfeksiyonlar nedeniyle hem meyve sayısında hem de meyve ağırlığında yaklaşık %50 azalmanın yaşandığını belirlemiştir. Petrov (2015) domateste çoklu enfeksiyonların daha ciddi nekrotik belirtilerin oluşumuna neden olduğunu ve tekli enfeksiyona göre ekonomik kaybı arttırdığını saptamıştır. García-Cano ve ark. (2006) domateste yaptıkları çalışmada ToCV ile TSWV'nin ikili enfeksiyonun, sinerjistik etki sonucu bitkileri daha hızlı öldürdüğünü ve bu etkinin TSWV'ye dayanıklı çeşitlerde de görüldüğünü saptamışlardır. Avilla ve ark. (1997) biberde CMV ve PVY'nin ikili enfeksiyonun, bitki başına daha az meyve oluşumuna ve oluşan meyvelerinde pazarlanamaz durumda olmasına yol açtığını saptamışlardır.

Ayrıca karışık veya tekli virüs enfeksiyonlarının ortaya çıkardığı hastalıklarda, meteorolojik ve çevresel faktörlerin doğrudan veya dolaylı etkileri görülebilmektedir (Sastry ve Zitter, 2014). Örneğin Kiss ve ark. (2003) Macaristan'da 1968'den beri biber alanlarında yaptıkları araştırmalarında, Hódmezővásárhely şehrinin 1980-1999 verilerine dayanarak, iklim faktörleri ve virüs enfeksiyonu arasında yakın korelasyon bulmuşlardır.

Buna göre mayıs ayındaki yağış, optimal miktarda olduğunda vektör popülasyonlarının gelişimini desteklediğinden virüs enfeksiyonunun arttığını, çok fazla olduğunda ise virüs enfeksiyonunun azaldığını; haziran ayında aşırı sıcağın virüs enfeksiyonunu arttırdığını; temmuz ayında çok yağmurlu (serin) hava durumunun virüs enfeksiyonunu azalttığını bildirmişlerdir. Damiri ve ark. (2018) Endonezya'da Sumatra adasında biberlerde CMV'nin hastalık şiddetini ve verime etkisini rakıma bağlı değişime göre araştırdıklarında, düşük rakımda (5-10 m) daha şiddetli ve daha fazla verim kaybı olduğunu saptamışlardır.

4.4.Moleküler Karakterizasyon Çalışmalarına İlişkin Sonuçlar

4.4.1.RT-PCR sonuçları

RT-PCR yöntemi ile TSWV ve CMV'nin moleküler tespiti, DAS-ELISA sonuçlarını doğrulamak veya direk teşhis amacıyla hem ülkemizde hem de dünyanın farklı yerlerinde birçok araştırmacı tarafından başarıyla yapılabilmiştir (Kayode ve ark., 2014; Çulal-Kılıç ve ark., 2015; Eyvazi ve ark., 2015; Şin ve Arlı-Sökmen, 2016; Çulal-Kılıç ve ark., 2017a; Abadkhah ve ark., 2018; Nikolić ve ark., 2018; Uzunoğulları ve Gümüş, 2018; Güneş ve Gümüş, 2019; Öztürk ve Baloğlu, 2019; Desbiez ve ark., 2020; Vinodhini ve ark., 2020; Yılmaz ve Sipahioğlu, 2020).

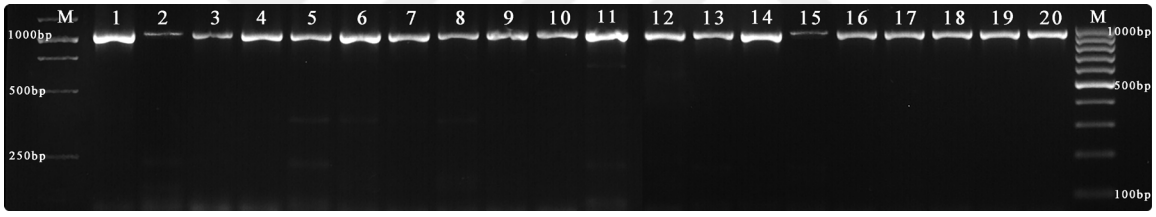
Bu tezde RT PCR çalışması, DAS-ELISA test sonuçlarına göre bulaşık olarak saptanan bazı domates ve biber örneklerdeki TSWV ve CMV virüslerinin, varlıklarının moleküler olarak doğrulanması ve dizi analizi çalışmasında kullanılacak amplifikasyon ürünlerinin elde edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Hem TSWV hem de CMV'nin RT-PCR çalışması için lokasyon ve belirti farklılıkları dikkate alınarak 20 domates ve 20 biber örneği seçilmiştir. Tek bir virüs için 20 farklı örnekte, toplamda da 40 farklı örnekte RT-PCR yöntemi ile moleküler olarak virüs varlığı saptanmaya çalışılmıştır ve örnekler hakkında bilgiler Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. RT-PCR yapılan örnekler hakkında bilgiler

Virüs	TSWV		CMV	
Örnek kodları ve bilgileri*	1-D75 T,a,m	11-D106 R,s,y	21-D37 M,a,y	31-B19 M,s,m
	2-D83 R,s,k	12-D47 M,s,m	22-D29 O,a,m	32-B20 M,s,k
	3-D49 M,s,m,d	13-D51 M,s,m	23-D36 M,a,y	33-B45 M,a,m
	4-D53 M,s,m,d	14-D61 M,s,k	24-D40 M,s,k	34-B46 R,a,y,d
	5-D22 R,s,m,d	15-D28 R,s,m	25-D62 O,a,y	35-B47 R,a,k
	6-B2 M,s,m	16-B38 M,s,k	26-D67 O,a,m	36-B49 R,a,y
	7-B9 M,s,k	17-B10 M,s,y,d	27-D80 R,s,m,d	37-B50 R,a,k
	8-B24 M,s,k	18-B35 M,s,m,d	28-D81 R,s,k	38-B52 R,a,y
	9-B40 M,s,k	19-B43 M,s,y	29-D86 M,a,k	39-B53 R,a,y
	10-B27 T,s,k	20-B6 M,s,k	30-D87 M,a,k	40-B55 R,a,k

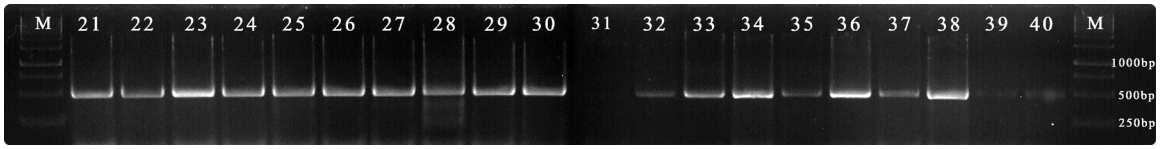
*R:Sarıcakaya, M:Mihalgazi, O:Odunpazarı, T:Tepebaşı, a:Açık alan, s:Örtü altı, m:Meyve, y:Yaprak, k:Meyve+Yaprak, d:Dizi analizi yapılan izolat

TSWV için NC-for/NC-rev primer çifti ile gerçekleştirilen RT-PCR çalışmasında 10 domates ve 10 biber izolatının tümünde, S segmentinde N genini de kapsayan 948 bp'lik bölge çoğaltılmıştır ve agaroz jelde bant görüntüsü elde edilmiştir. Bilgileri Çizelge 4.7'de var olan ilk 20 örneğin (TSWV,1-20) agaroz jel görüntüsü Şekil 4.3'de yer almaktadır.



Şekil 4.3. RT-PCR yapılan TSWV örneklerinin agaroz jel görüntüsü (M: Marker;1-20: Örnekler)

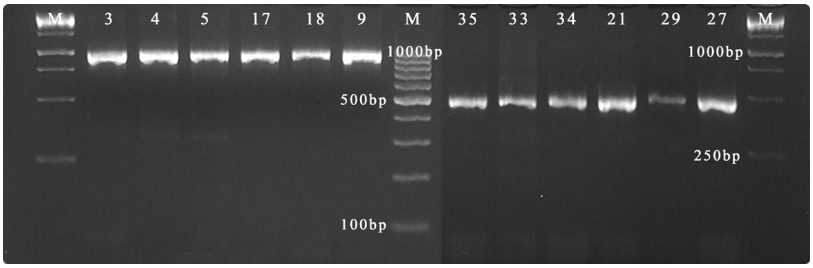
CMV için CPf/CPr primer çifti ile gerçekleştirilen RT-PCR çalışmasında, 10 domates ve 10 biber izolatından 1 negatif (31) ve 2 zayıf (39,40) dışındaki tüm izolatlarda, CP geninin bir bölümünü kapsayan 488 bp'lik bölge çoğaltılmıştır ve agaroz jelde bant görüntüsü elde edilmiştir. Bilgileri Çizelge 4.7'de var olan son 20 örneğin (CMV,21-40) agaroz jel görüntüsü Şekil 4.4'de yer almaktadır.



Şekil 4.4. RT-PCR yapılan CMV örneklerinin agaroz jel görüntüsü (M: Marker;1-20: Örnekler)

Dizi analiz çalışması için seçilen örneklere ait PCR ürünlerinin miktarını arttırmak ve sonuçları doğrulamak amacıyla, tekrar RT-PCR çalışması yapılmıştır. Tekrarlama sonuçları, önceki sonuçlar ile paralel olup herhangi bir belirgin farklılık göstermemiştir.

Bilgileri Çizelge 4.7'de var olan dizi analizi için seçilen örneklere ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.5'de yer almaktadır.



Şekil 4.5. Dizi analizi için RT-PCR'ı tekrarlanan örneklerin agaroz jel görüntüsü

RT-PCR çalışması ile seçilen domates örneklerinin tamamında ve seçilen biber örneklerinin de büyük çoğunluğunda (1 negatif ve 2 zayıf dışındaki), TSWV ve CMV virüslerinin moleküler olarak saptanması, serolojik test (DAS-ELISA) sonuçlarını doğrular niteliktedir. Ayrıca RT-PCR çalışması, dizi analiz çalışmasında kullanılacak amplifikasyon (çoğaltılan bölge) ürünü elde edilmesini sağlamıştır.

TSWV için bu tez çalışması kapsamında tasarlanan, NC-for/NC-rev primer çifti ile nispeten uzun bir bölge çoğaltmasına rağmen başarılı bir şekilde sonuç alınabilmiştir. Öte yandan CMV için kullanılan CPf/CPr primer çifti, dünyada ve ülkemizde birçok araştırmacı tarafından, bu çalışmada olduğu gibi başarılı bir şekilde çeşitli konukçu bitkilerde CMV'nin tespitinde kullanılmıştır (Liu ve ark., 2012; Erilmez ve Erkan, 2014; Kayode ve ark., 2014; Arogundade ve ark., 2019; Ogunsola ve ark., 2020).

Choi ve ark. (1998) biberde hem TMV hem CMV'nin RT-PCR veriminin, meyvede sap ve çevresindeki dokularının meyve uç kısmına göre daha yüksek olmasına rağmen, her iki virüsün meyve çeperi dokusunun tüm kısımlarında tespit edilebilir olduğunu belirtmişlerdir. Daş (2020) ELISA ve RT-PCR testlerine göre domateste meyve kısmının yeşil aksama göre daha fazla CMV ile bulaşık olduğunu bulmuştur. Bu tez çalışmasında da RT-PCR yönteminde sadece meyve çeperi dokusu kullanılan bazı biber örneklerinin ve sadece meyvesi kullanılan bazı domates örneklerinin virüs varlığı açısından pozitif sonuç vermesi bahsi geçen durumları destekler niteliktedir.

Çulal-Kılıç ve ark. (2015) biberde yaptığı bir çalışmada PMMoV virüsünün DAS-ELISA'da pozitif çıkmasına rağmen RT-PCR'da bant elde edememelerini, bitki örneklerinin saklama koşullarındaki değişimi (donma-çözünme) ve örneklerdeki virüs konsantrasyonunun azalması nedeniyle olabileceğini düşünmüşlerdir. Bu tezdeki CMV'nin RT-PCR çalışmasında, ELISA testinde pozitif sonuç elde edilmesine rağmen bir

örnekte negatif ve iki örnekte de zayıf bant görüntüsü elde edilmesi bahsedilen nedenlerden dolayı olabileceği düşünülmektedir.

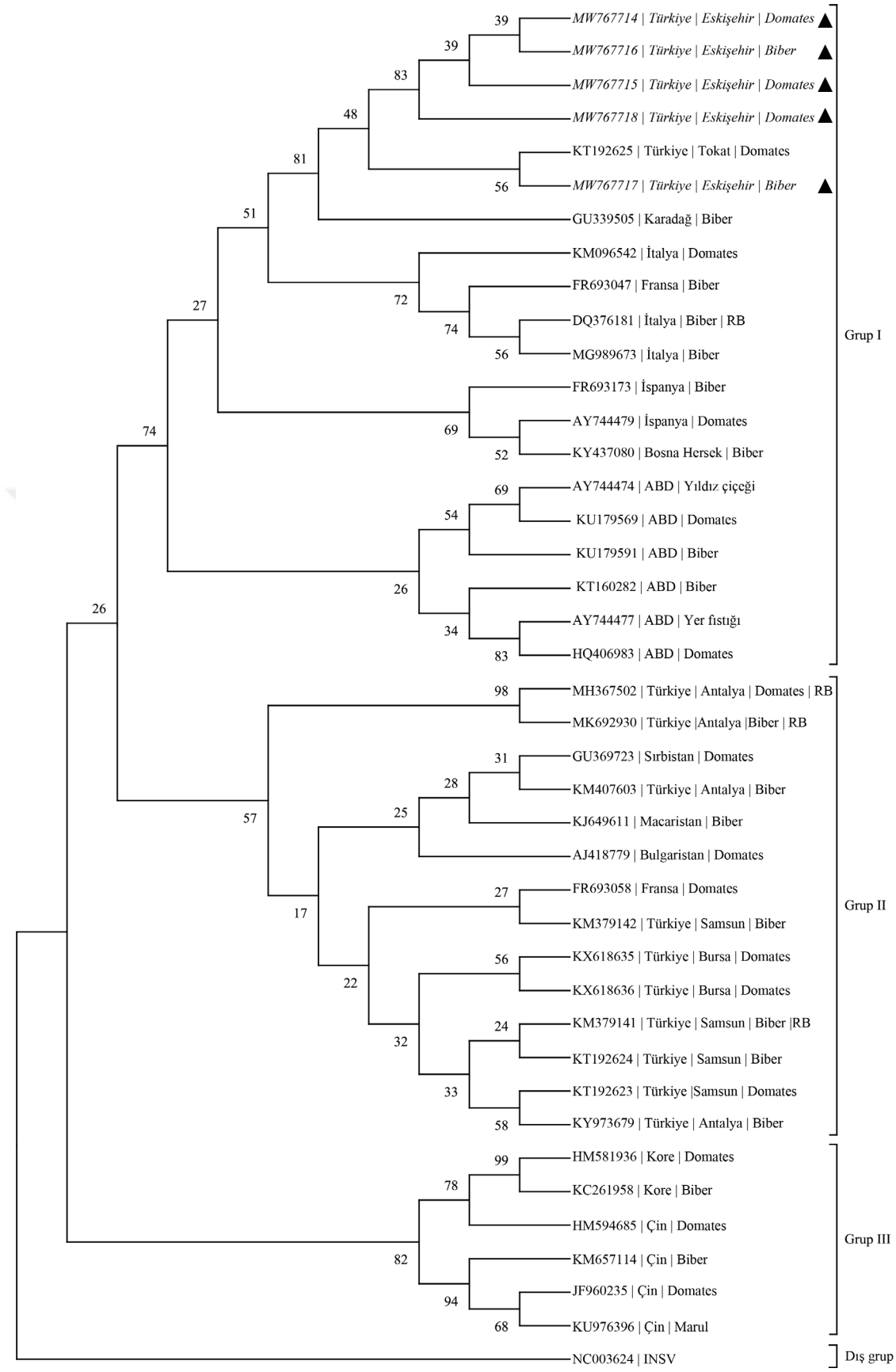
4.4.2.Filogenetik analiz sonuçları

Dünyada ve ülkemizde yapılan sekanslama çalışmaları, RT-PCR'da amplifiye edilen ürünün nükleotid diziliminin belirlenmesini sağlayarak ilgilenilen virüsün yüksek doğrulukta tanılamasını, dayanıklılık çalışmaları için genetik değişikliklerin ortaya çıkarılmasını, filogenetik analizlerle epidemiyolojisinin ve popülasyon genetiğinin anlaşılması sağlanmaktadır (Mun ve ark., 2008; Koundal ve ark., 2011; Kalaycıoğlu, 2013; Kim ve ark., 2014; Abadkhah ve ark., 2018; Güneş ve Gümüş, 2019; Ahsan ve ark., 2020; Desbiez ve ark., 2020; Fontana ve ark., 2020). Bu tez çalışmasında da sekanslama sonucu belirlenen nükleik asit dizilimi sayesinde TSWV'nin ve CMV'nin moleküler karakterizasyonu başarılı bir şekilde yapılmıştır.

Çift yönlü ham sekans verilerinden Unipro UGENE v37 (Okonechnikov ve ark., 2012) yazılımında konsensus dizilerin oluşturulması sonrasında BLAST (Altschul ve ark., 1997) analizi yapılarak, izolatların NCBI GenBank veri tabanında hangi organizmanın hangi bölümü ile eşleştiğinin bilinmesi ve filogenetik ağaç oluşturulmasında kullanılacak diğer homolog (benzer) izolatların tespit edilmesi sağlanmıştır. BLAST (Altschul ve ark., 1997) analizine göre Eskişehir TSWV izolatlarının tümü, bu organizmanın S segmentinde N protein gen bölgesi içeren 1000 farklı izolat ile %91,89 ile %99,74 arası oranda benzerlik gösterdiği, CMV izolatlarının ise bu organizmanın RNA 3 segmentinde CP gen bölgesini içeren 998 izolat ile %88,45 ile %100 arası oranda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

İzolatların nükleik asit sekans verisi üzerinden MEGAX v10.2.4 (Kumar ve ark., 2018) yazılımında Clustal W (Thompson ve ark., 1994) metodu ile çoklu dizi hizalama işlemi sonrası Maximum Likelihood (ML) metodu, 1000 bootstrap değeri, Tamura-3 (Tamura, 1992) modeli ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Şekil 4.6'da TSWV için oluşturulan filogenetik ağaç gösterilmiştir. Filogenetik ağacta, dış grup (INSV) haricinde, izolatlar nükleik asit sekanslarına göre 3 ana gruba ayrılmıştır. İzolatların amino asit dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik ağaçtaki grup ayrımı, nükleik asit dizilime göre oluşturulan ağaçtaki ile aynı şekilde gerçekleşmiştir. Gruplar I, II ve III olarak adlandırılmıştır. Grup I, iki alt grup içerir. Alt gruplardan biri tüm ABD izolatları (AY744474, AY744477, HQ406983, KT160282, KU179569, KU179591) tarafından oluşturulmuşken, diğeri Avrupa ve Türkiye izolatları tarafından oluşmuştur.



Şekil 4.6. TSWV'nin N gen bölgesine göre Eskişehir izolatlarının Türkiye'deki ve dünyadaki çeşitli izolatlar arasındaki yerini gösteren filogenetik ağaç (Filogenetik ağaç ML metodu ve Tamura-3 modeline göre 1000 bootstrap değeri ile oluşturulmuştur. Eskişehir izolatları *italik* yazılmıştır ve "▲" simgesi ile gösterilmiştir.)

Grup II'de, Avrupa ve Türkiye izolatlarından oluşmuştur. Grup I'deki ABD izolatlarının varlığı dışında, grup II ile birlikte grup I'in, tamamı Çin ve Kore izolatlarından (HM581936, HM594685, JF960235, KC261958, KM657114, KU976396) oluşan Asya kökenli grup III'den ayrı olarak, Avrupa ve Türkiye izolatlarından oluşan tek bir grup olduğu görülebilmektedir.

Eskişehir TSWV izolatlarının (MW767714, EskD22, Sarıcakaya, Domates; MW767715, EskD53, Mihalgazi, Domates; MW767716, EskB10, Mihalgazi, Biber; MW767717, EskB35, Mihalgazi, Biber; MW767718, EskD49, Mihalgazi, Domates) tümü grup I'deki Avrupa alt grubunda yer almaktadır. Eskişehir izolatları ilçe veya konukçu bitki türü fark etmeksizin hepsi birlikte kümelenmiştir ancak bu kümenin bir parçası olarak MW767717 (EskB35, Mihalgazi) izolatı, ülkemizdeki KT192625 (Tokat, Domates) izolatı ile birlikte kümelenerek diğer izolatlardan ayrı bir küme oluşturmuştur. Avrupa alt grubunda, Eskişehir TSWV izolatları ve ülkemizden tek KT192625 (Tokat, Domates) izolatı ile birlikte Karadağ (GU339505), İspanya (FR693173, AY744479), İtalya (KM096542, DQ376181, MG989673), Fransa (FR693047) ve Bosna Hersek (KY437080) ülkelerinden çeşitli izolatlar yer almaktadır.

Tokat (KT192625) izolatı dışında ülkemizdeki Samsun (KM379141, KM379142, KT192623, KT192624), Antalya (KM407603, KY973679, MH367502, MK692930) ve Bursa (KX618635, KX618636) illerine ait diğer izolatlar, Eskişehir izolatlarının bulunduğu grup I'den farklı olarak Macaristan (KJ649611), Bulgaristan (AJ418779), Sırbistan (GU369723), Fransa (FR693058) ülkelerine ait bazı Avrupa izolatları ile birlikte grup II'de bulunmaktadır.

Şekil 4.6'da gösterilen filogenetik ağaç genel anlamda, Eskişehir iline ait TSWV izolatlarının diğer izolatlar arasındaki yerini göstermesi yanında, TSWV'nin dünyada coğrafik olarak gruplara ayırdığını bildiren Tsompana ve ark. (2005), Lee ve ark. (2011), Tentchev ve ark. (2011), Zindović ve ark. (2011), Lian ve ark. (2013)'nın çalışmalarını destekler nitelikte bilgi sunmaktadır. Ayrıca bu ağaç, ülkemizdeki diğer izolatların Avrupa izolatları ile benzerlik gösterdiğini bildiren önceki çalışmaları (Deligöz ve ark., 2014; Güneş ve Gümüş, 2019) doğrular niteliktedir.

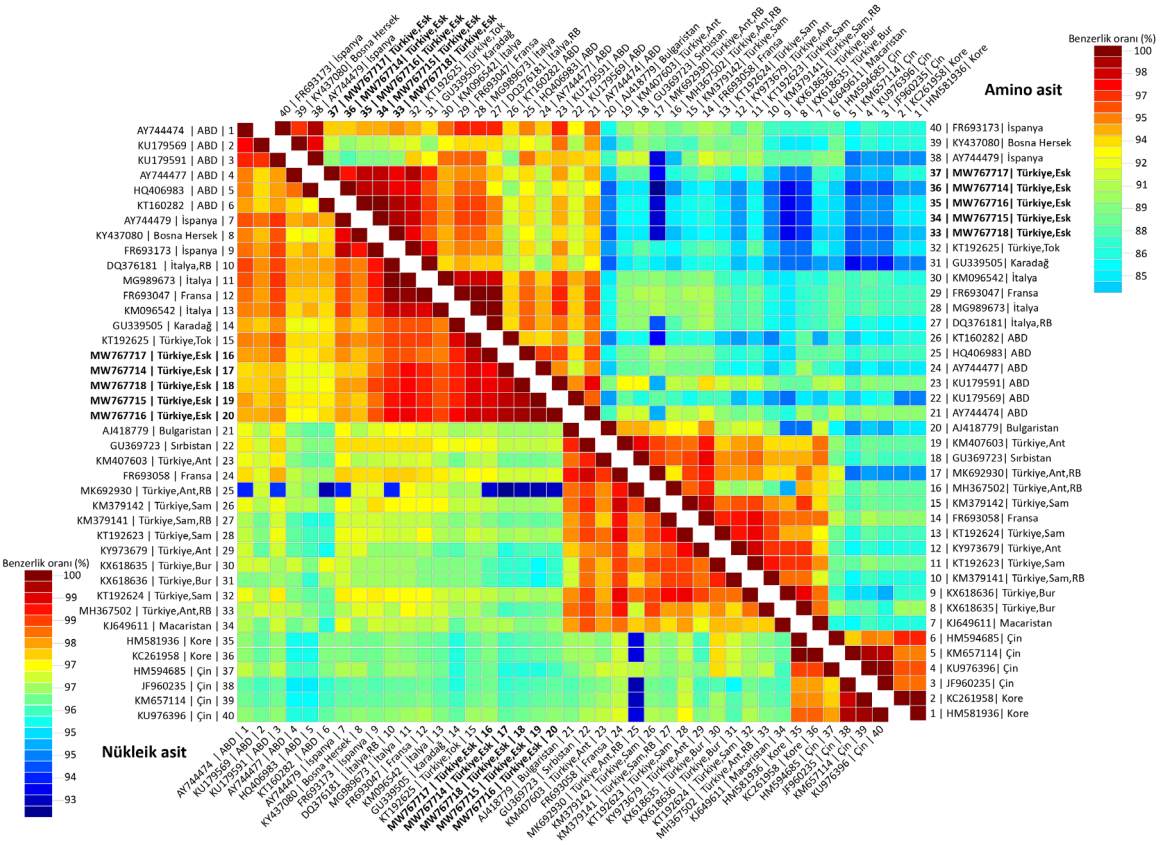
Filogenetik ağaçlara göre TSWV'nin coğrafik kökene dayalı olarak dağılım gösterdiği genel olarak kabul görse de bazı araştırmacılar çeşitli faktörlerden (yüksek genetik çeşitlilik ortaya çıkaran rekombinasyon ve reassortment olayı gibi) kaynaklı olarak istisnai durumlar bildirmekte ve bazıları da coğrafik olarak dağılım görülmediğini belirtmektedirler (French ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2016; Abadkhah ve ark., 2018).

Bu tez çalışmasında da genel anlamda coğrafik dağılım görülse de tüm Türkiye ve Avrupa ülkelerine ait izolatların, Çin ve ABD gibi çok yakın olarak birlikte gruplanmak yerine farklı gruplar halinde bulunmaları dikkat çeken bir durumdur. Bahsi geçen olaya, araştırmacıların bahsettiği çeşitli faktörlerin etkisi yanında, GenBank veri tabanından indirilen izolat seçiminin de etkisi olabileceği düşünülmektedir.

TSWV'nin domateste *Sw-5* geni aracılı dayanıklılığının kırılmasında M segmentindeki NSm proteinindeki değişikliklerin, biber ise *Tsw* geni aracılı dayanıklılığın kırılmasında S segmentindeki NSs proteinindeki değişikliklerin sebep olduğu bilinmektedir (Ferrand ve ark., 2019; Fidan ve Sarı, 2019; Güneş ve Gümüş, 2019; Almási ve ark., 2020). Ancak N protein gen bölgesi de dayanıklılık kırıcı izolatların filogenetik analizinde irdelenmektedir (Deligöz ve ark., 2014; Güneş ve Gümüş, 2019; Fontana ve ark., 2020). Eskişehir TSWV izolatlarının, aynı grupta yer almasına rağmen Margaria ve ark. (2007)'nın İtalya'da biberde dayanıklılık kırıcı olarak bildirdiği DQ376181 izolatı ile çok yakın olarak kümelenmemesi yanında, ülkemizde Fidan ve Sarı (2019)'nın Antalya'da domates ve biberde dayanıklılık kırıcı olarak bildirdiği MH367502 ve MK692930 izolatları ile Deligöz ve ark. (2014)'nın Samsun'da biberde dayanıklılık kırıcı olarak bildirdiği KM379141 izolatının farklı grupta yer almaları dikkate değer bir durumdur.

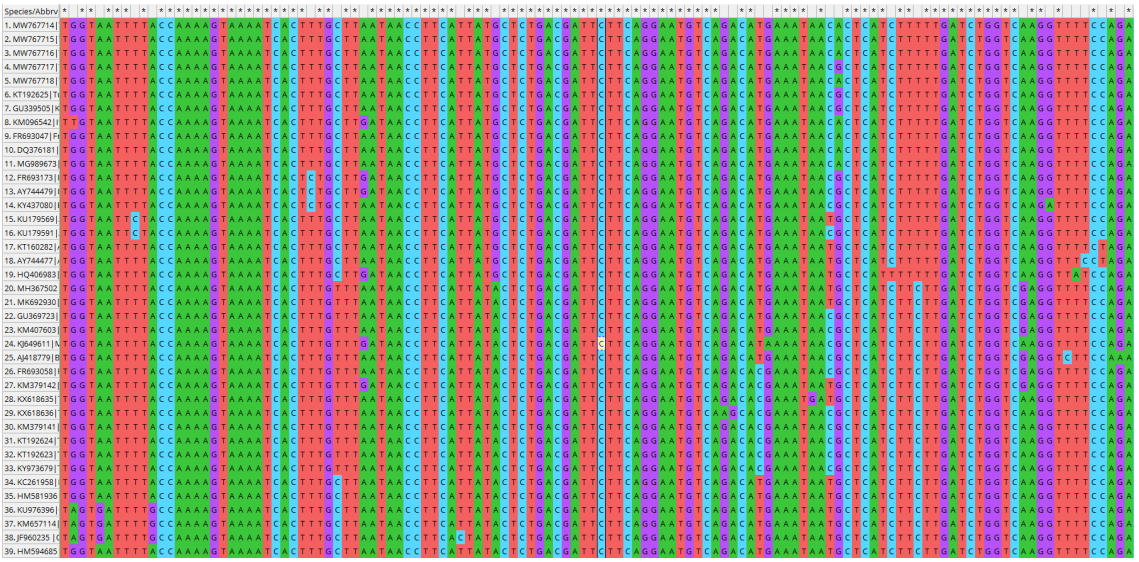
Güneş ve Gümüş (2019), Uzunoğulları ve Gümüş (2018), Abadkhah ve ark. (2018), Şin ve Arlı-Sökmen (2016), Zindović ve ark. (2011) çalışmalarında olduğu gibi bu tez çalışmasında da TSWV'nin N geni üzerinden yürütülen analizlerde izolatlar arasında yüksek benzerlik tespit edilmiştir. TSWV izolatlarının MEGAX v10.2.4 (Kumar ve ark., 2018) yazılımında p-distance değeri ile yapılan benzerlik oranı tespitinde nükleotid düzeyinde MW767714 (EskD22, Sarıcakaya) izolatı %93,3 ile %99,6 (amino asit: %91 ile %99,6) oranında; MW767715 (EskD53, Mihalgazi) izolatı %93,5 ile %99,7 (amino asit: %91,7 ile %100) oranında; MW767716 (EskB10, Mihalgazi) izolatı %93,6 ile %99,9 (amino asit: %91,7 ile %100) oranında; MW767717 (EskB35, Mihalgazi) izolatı %93,8 ile %99,6 (amino asit: %99,6 ile 91) oranında; MW767718 (EskD49, Mihalgazi) izolatı %93,5 ile %99,4 (amino asit: %91,7 ile %99,6) oranında tüm izolatlar ile benzer bulunmuştur. Eskişehir TSWV izolatları kendi aralarındaki benzerlik oranı %99 ile %99,9 (amino asit: %98,6 ile %100) arasındadır ve ortalaması %99,5'dir (amino asit: %99,4). Grup I içindeki ortalama benzerlik oranı %98,4 (amino asit: %98,7), grup II içindeki ortalama benzerlik oranı %98,3 (amino asit: %98,5), grup III içindeki ortalama benzerlik oranı %98,2'dir (amino asit: %97,9). Tüm TSWV izolatlarının ortalama benzerlik oranı %97,4'tür.

TSWV izolatlarının SDT v1.2 (Muhire ve ark., 2014) yazılımında oluşturulan nükleik asit ve amino asit benzerlik oranı matrisi Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



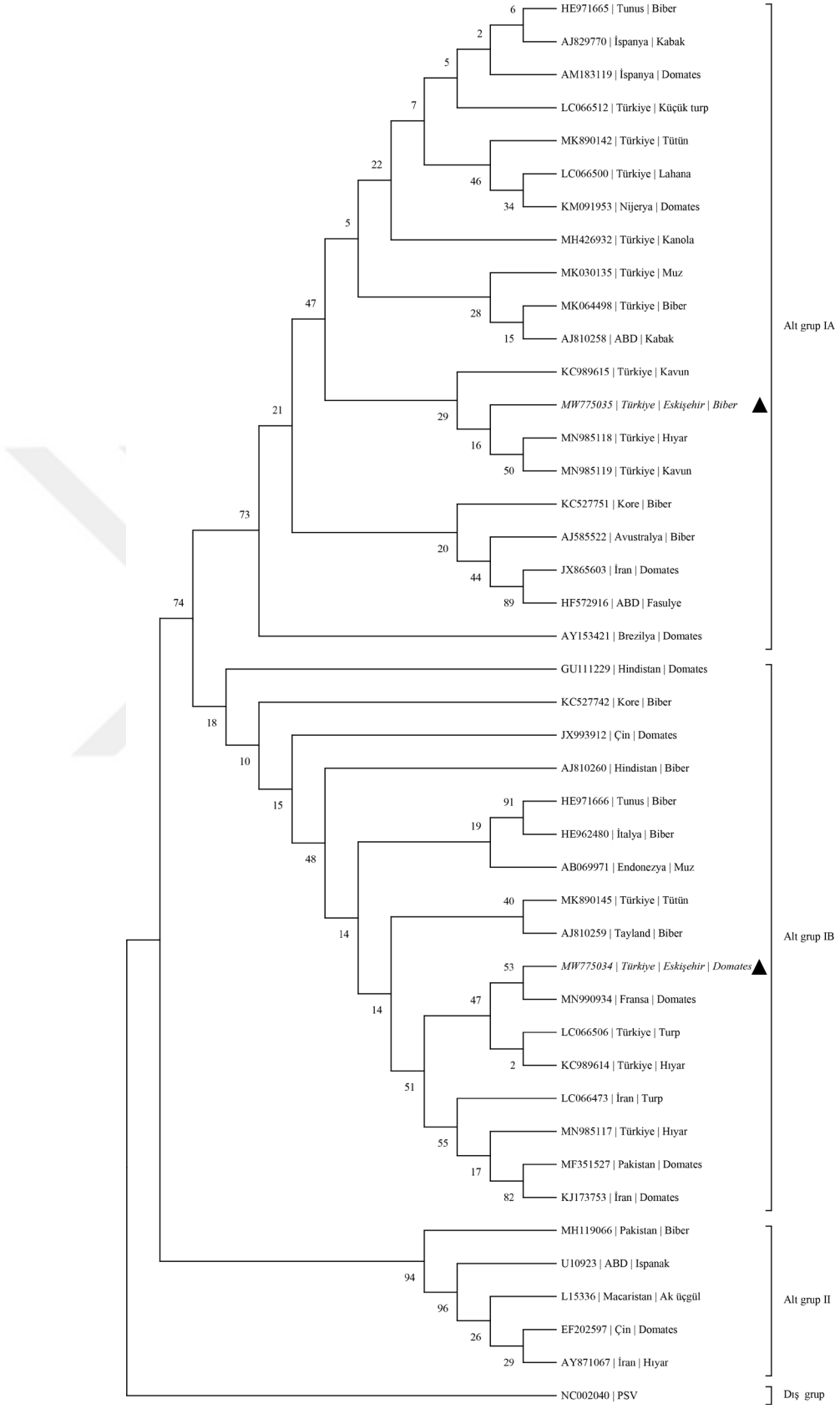
Şekil 4.7. TSWV izolatlarının nükleik asit (alt) ve amino asit (üst) benzerlik oranı matrisi

TSWV izolatlarının, N protein gen bölgesinde 605'nci ve 726'ncı bazları arasındaki kısmi bölgenin MEGAX v10.2.4 yazılımındaki görüntüsü Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. TSWV izolatlarının N gen bölgesinin kısmi nükleik asit dizilimi (605. ile 726. baz arası)

CMV için oluşturulan filogenetik ağaç, Şekil 4.9'de gösterilmiştir.



Şekil 4.9. CMV'nin CP gen bölgesine göre Eskişehir izolatlarının Türkiye'deki ve dünyadaki çeşitli izolatlar arasındaki yerini gösteren filogenetik ağaç (Filogenetik ağaç ML metodu ve Kimura-2 modeline göre 1000 bootstrap değeri ile oluşturulmuştur. Eskişehir izolatları *italik* yazılmıştır ve "▲" simgesi ile gösterilmiştir.)

Şekil 4.9'da gösterilen CMV'nin filogenetik ağacında, dış grup (PSV) haricinde izolatlar nükleik asit sekanslarına göre 3 farklı gruba ayrılmıştır. İzolatların amino asit dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik ağaçtaki grup ayrımı, nükleik asit dizilime göre oluşturulan ağaçtaki ile aynı şekilde gerçekleşmiştir. Gruplar, alt grup IA, IB ve II olarak adlandırılmıştır. Alt gruplarda, çeşitli konukçu bitkilerden farklı ülkelere ait izolatlar yer almaktadır. Aynı kıtaya ait izolatların birlikte gruplanmaması, CMV'nin belirgin olarak coğrafyaya göre bir dağılıma sahip olmadığını düşündürmektedir. Ancak alt grup IA ve II'nin dünya çapında yaygın olduğu bilinirken, alt grup IB'nin daha çok Asya kökenli izolatlardan oluştuğu bilinmektedir (Roossinck, 2002; Koundal ve ark., 2011; Moury ve Verdin, 2012; Kim ve ark., 2014; Ahsan ve ark., 2020). Oluşturulan filogenetik ağaca göre alt grup IB izolatlarının, istisnaları olsa da Asya kökenli olması ile alt grup IA ve alt grup II'nin farklı kıtalardan izolatlar içermesi bahsi geçen durumu destekler niteliktedir.

Ayrıca izolatların gruplanmasında, yetiştiricilik yapılan bölgelerin iklimine bağlı olarak bir ayrımdan bahsedilmektedir. Buna göre alt gruplar arasında, istisnaları olsa da genel olarak tropik ve subtropik bölgelerde alt grup I, ılıman çevre şartlarında alt grup II izolatlarının yaygın olduğu belirtilmektedir (Hord ve ark., 2001; Moury ve Verdin, 2012; Ahsan ve ark., 2020).

Eskişehir ilinde veya Türkiye genelinde bahsi geçen duruma göre CMV izolatlarının ayrımının yapılabilmesi için, elde edildiği ortamın çevresel koşulları hakkında bilgi sahibi olunan daha fazla sayıda izolata ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Bölge bazında iklimsel koşullar biliniyor olsa da Eskişehir ilinde olduğu gibi mikroklima özelliği gösteren alanların varlığı ve il geneli üretim alanı çeşitliliği nedeniyle, CMV izolatlarının çevresel koşullara göre ayrımında farlılıkların ortaya çıkması muhtemeldir. Öte yandan kısmi coğrafik dağılımdan veya çevresel koşullar göre dağılımdan bahsedilmesine karşın, GenBank'ta artan izolat çeşitliliği sayesinde, düşük sayıda izolat seçimi nedeniyle, CP gen bölgesi gibi nispeten küçük genom bölgeleri ile filogenetik ağaç oluşturulmasında farklı sonuçların elde edilebilmesinin mümkün olduğu görülmüştür.

Alt grup IA, farklı kıtalarda bulunan ülkelerden domates, biber, hıyar, kavun, kabak, turp, fasulye, tütün, kanola, lahana ve muz bitkilerine ait izolatlar içermektedir. Grup içinde Kore (KC527751), İspanya (AJ829770, AM183119), Brezilya (AY153421), Nijerya (KM091953), Avustralya (AJ585522), Tunus (HE971665), İran (JX865603) ve ABD (HF572916, AJ810258) izolatları yanında Türkiye'den de 10 izolat (MW775035, MH426932, MN985118, MN985119, LC066500, LC066512, MK890142, KC989615, MK030135, MK064498) yer almaktadır.

Alt grup IB, Asya kıtası ülkeleri yoğunlukta olmak üzere farklı ülkelerden domates, biber, hıyar, turp, tütün ve muz bitkilerine ait izolatlar içermektedir. Grup içinde Kore (KC527742), Endonezya (AB069971), Tayland (AJ810259), Çin (JX993912), Pakistan (MF351527), Hindistan (AJ810260, GU111229), İran (KJ173753, LC066473), Fransa (MN990934), İtalya (HE962480) ve Tunus (HE971666) izolatları yanında Türkiye'den de 5 izolat (MW775034, MN985117, LC066506, MK890145, KC989614) yer almaktadır.

Alt grup II, Macaristan (L15336), Pakistan (MH119066), İran (AY871067), ABD (U10923) ve Çin (EF202597) olmak üzere farklı kıtalarda bulunan ülkelerden domates, biber, hıyar, ıspanak, ak üçgül bitkilerine ait izolatlar içermektedir. Alt grup II içerisinde Türkiye'ye ait hiçbir izolat yer almamaktadır.

Eskişehir iline ait MW775035 (EskD80, Sarıcakaya, Domates) izolatı, alt grup IA'da Türkiye'den KC989615 (Kavun), MN985118 (Hıyar) ve MN985119 (Kavun) izolatları ile birlikte kümelenmiştir. Eskişehir iline ait MW775034 (EskB46, Sarıcakaya, Biber) izolatı ise, alt grup IB'de Türkiye'den LC066506 (Turp) ve KC989614 (Hıyar) izolatları ile Fransa'dan MN990934 (Domates) izolatı ile birlikte kümelenmiştir.

Eskişehir iline ait iki izolattan, birinin (MW775035, EskD80, Sarıcakaya) dünya genelinde yaygın olarak görüldüğü bilinen IA grubunda yer alması yanında, diğerinin de (MW775034, EskB46, Sarıcakaya) genel olarak Asya kökenli olarak anılan ve daha kısıtlı bir dağılım alanına sahip olduğu belirtilen IB grubunda yer alması önemli bir bulgudur.

Eskişehir izolatları dışında çeşitli bitkilere ait CMV'nin filogenetik ağacı için seçilen 13 Türkiye izolatının, çoğunluğunun (9) alt grup IA'da yer almasına karşın az bir kısmının da (4) alt grup IB'de yer aldığı belirlenmiştir.

Eskişehir ilindeki iki izolatın ve Türkiye'deki diğer izolatların, iki farklı alt grupta yer aldığının tespit edilmiş olması, gruplar arasında ya da grup içinde rekombinasyon ve reassortment olaylarının meydana gelmesiyle gerçekleşen genetik çeşitliliğin artışına katkı sağlayabilmesi nedeniyle, önemli bir bulgudur. Nitekim rekombinasyon ve reassortment olaylarının, genetik çeşitliliğin artışına katkı sağladığı birçok araştırıcı tarafından bildirilen bir durumdur (Roossinck, 2002; Bonnet ve ark., 2005; Chen ve ark., 2007; Koundal ve ark., 2011; Kim ve ark., 2014; Ahsan ve ark., 2020; Vinodhini ve ark., 2020).

Domates ve biberde CMV'nin CP gen bölgesine göre yapılan filogenetik analizlerde Bonnet ve ark. (2005), Kayode ve ark. (2014), Kim ve ark. (2014), Eyvazi ve ark. (2015), Ahsan ve ark. (2020), Desbiez ve ark. (2020)'nın çalışmalarına göre farklı alt gruplara ait izolatların birlikte tespit edilmesinin yaygın bir durum olduğu görülmüştür. Buna karşın coğrafik veya çevresel kaynaklı dağılım ya da incelenen tek bir örnek olması

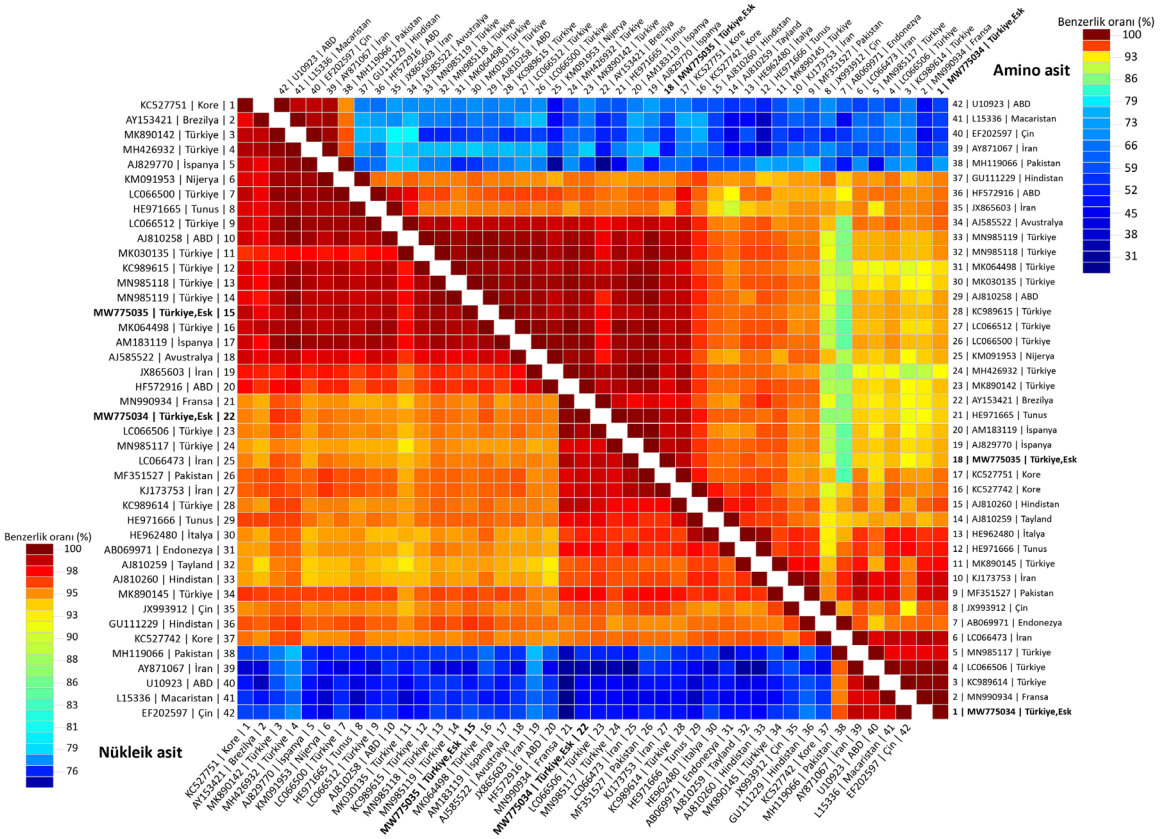
gibi sebepler sonucunda Vinodhini ve ark. (2020) ile Koundal ve ark. (2011)'nın çalışmalarında olduğu gibi tek bir alt grup tespiti de görülebilmektedir.

Güneş ve Gümüş (2019), Desbiez ve ark. (2020) çalışmalarında olduğu gibi CMV'nin CP geni üzerinden yürütülen analizlerde izolatlar arasında yüksek benzerlik tespit edilmiştir. CMV izolatlarının MEGAX v10.2.4 (Kumar ve ark., 2018) yazılımında p-distance değeri ile yapılan benzerlik oranı tespitinde nükleolid düzeyinde, izolatların kendi aralarında IA alt grubunda ortalama %97,8 (amino asit: %96) oranında, IB alt grubunda %95,6 (amino asit: %90) oranında ve II alt grubunda ortalama %96,3 (amino asit: %92) oranında benzer olduğu belirlenmiştir. Ayrıca alt grup fark etmeksizin tüm izolatlar kendi aralarında ortalama %91,5 (amino asit: %82,5) oranında benzer olduğu belirlenmiştir.

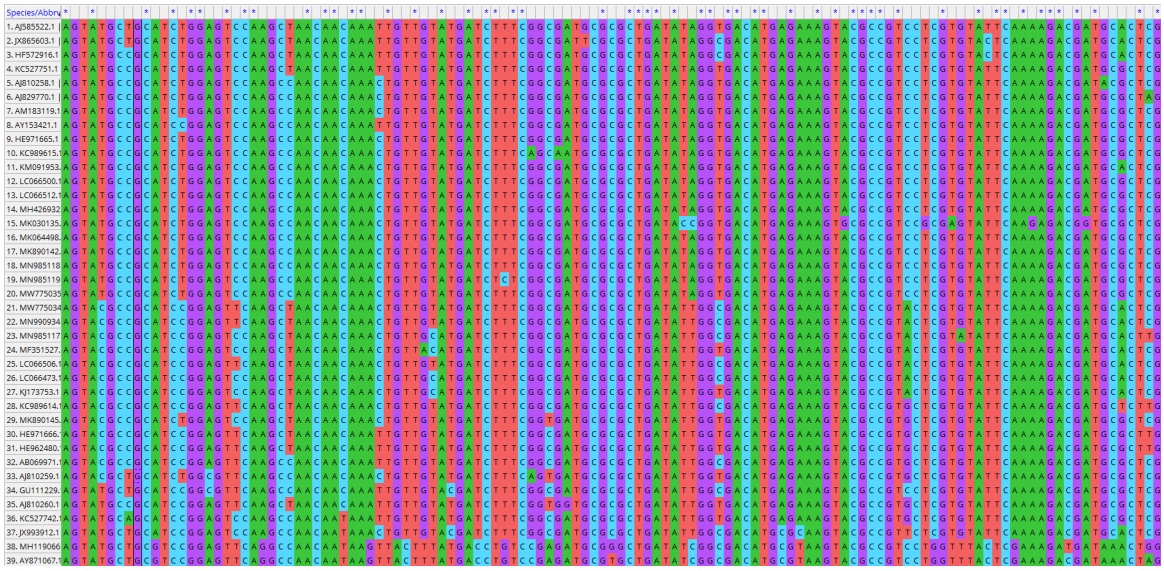
Eskişehir CMV izolatlardan MW775034 (EskB46, Sarıcakaya) izolatının IA alt grubu ile ortalama %93,7 (amino asit: %87,3) oranında, IB alt grubu ile ortalama %96,8 (amino asit: %93) oranında, II alt grubu ile %77,6 (amino asit: %56,2) oranında benzerlik gösterdiği tespit edilirken; MW775035 (EskD80, Sarıcakaya) izolatının IA grubu ile ortalama %98 (amino asit :%96,2) oranında, IB alt grubu ile %93,4 (amino asit:%86,6) oranında, II alt grubu ile %78,5 (amino asit:%58) oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Her iki izolatın kendi aralarında benzerlik oranı ise %93,7 (amino asit: %87,2) olarak saptanmıştır.

CMV izolatlarının SDT v1.2 (Muhire ve ark., 2014) yazılımında oluşturulan nükleik asit ve amino asit benzerlik oranı matrisi Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

Ayrıca CMV izolatlarının, CP protein gen bölgesinde 168'nci ve 290'ncı bazları arasındaki kısmi bölgenin MEGAX v10.2.4 (Kumar ve ark., 2018) yazılımındaki görüntüsü Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.10. CMV izolatlarının nükleik asit (alt) ve amino asit (üst) benzerlik oranı matrisi



Şekil 4.11. CMV izolatlarının CP gen bölgesinin kısmi nükleik asit dizilimi (168. ile 290. baz arası)

5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1.Sonuçlar

Eskişehir ilinde 2019 yılı yaz sezonunda açık alanda ve örtü altında yetiştirilen domates ve biber bitkilerindeki, mevcut virüs hastalıklarının saptanması ve elde edilen virüs izolatlarının moleküler karakterizasyonu amacıyla yapılan bu çalışmada genel olarak aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

1. Eskişehir ilinde güdümlü örnekleme yöntemi ile açık alan ve örtü altında incelenen ve toplanan bitkilerde, genelde olarak domateste meyve belirtilerinin, biberde ise yaprak belirtilerinin daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Enfekteli bitkilerde klorotik ve nekrotik lekelenmeler, mozaiklenme, halkalı leke izleri, renk değişiklikleri, şekil bozukluğu, kıvrılma, küçülme, gevrekleşme, sürgün ölümü, bodurluk gibi çeşitli virüs hastalıkları ile ilişkilendirilen belirtiler gözlemlenmiştir.
2. Arazi gözlemlerine dayalı olarak hesaplanan hastalık yaygınlık oranına en fazla Mihalgazi (%11,36), en az Tepebaşı (%3,23) ilçelerinin sahip olması yanında, bu oranın il genelinde %5,38, açık alanda %4,2, örtü altıda %10,18, domateste %4,72 ve biberde de %11,36 olduğu hesaplanmıştır.
3. DAS-ELISA yöntemi ile testlenen, 170 bitki örneğinin 123'nün en az bir virüs hastalığı ile bulaşık olduğu serolojik olarak belirlenmiş ve enfeksiyon oranı %72,3 olarak saptanmıştır.
4. İl geneli en yaygın virüsün TSWV (%38,2) olduğu ve ardından sırasıyla CMV (%21,2), PVY (%7,6), TMV (%3,5), ToMV (%1,8) virüslerinin geldiği belirlenmiştir.
5. İl geneli açık alanda incelenen 63 örnekte sırasıyla CMV (%34,9), TSWV (%12,7), PVY (%11,1), TMV (%3,2), ToMV (%3,2) virüslerinin; örtü altında incelenen 107 örnekte sırasıyla TSWV (%53,3), CMV (%13,1), PVY (%5,6), TMV (%3,7), ToMV (%0,9) virüslerinin yaygın olduğu tespit edilmiştir.
6. Domates örneklerinin 107 tanesinin (%60,7); TSWV (%30,8), CMV (%16,8), PVY (%8,4), ToMV (%2,8) ve TMV (%1,9) virüslerinden en az biri ile enfekteli olduğu saptanmıştır. Örtü altı domates örneklerinde (68), enfeksiyon oranına göre sırasıyla TSWV (%42,6), CMV (%8,8), PVY (%5,9), TMV (%2,9) ve ToMV (%1,5) enfeksiyonlarının yaygın olduğu bulunurken; açık alan örneklerinde (39) ise CMV (%30,8), PVY (%12,8), TSWV (%10,3) ve ToMV (%5,1) enfeksiyonlarının yaygın olduğu bulunmuştur.

7. Domates örneklerinde ilçelerin enfeksiyon oranı sıralaması; Mihalgazi (%74,3), Sarıcakaya (%64,7), Odunpazarı (%42,1), Tepebaşı (%33,3) ve Seyitgazi (%33,3) olarak bulunmuştur. Alan bazında sıralama ise örtü altında Mihalgazi (%74,3), Sarıcakaya (%53,3); açık alanda Sarıcakaya (%150), Mihalgazi (%71,4), Seyitgazi (%66,7), Odunpazarı (%42,1) ve Tepebaşı (%33,3) şeklindedir.
8. Biber örneklerinin (63) yaklaşık %92'sinin TSWV (%50,8), CMV (%28,6), PVY (%6,3) ve TMV (%3,2) virüslerinden en az biri ile enfekteli olduğu saptanmıştır. Örtü altı biber örneklerinde (39) enfeksiyon oranına göre sırasıyla, TSWV (%71,8), CMV (%20,5), PVY (%5,1), TMV (%5,1) virüslerinin yaygın olduğu bulunurken; açık alan örneklerinde (24) ise CMV (%41,7), TSWV (%16,7), PVY (%8,3), TMV (%8,3) virüslerinin yaygın olduğu bulunmuştur.
9. Biber örneklerinde ilçelerin enfeksiyon oranı sıralaması; Mihalgazi (%100), Sarıcakaya (%80), Odunpazarı (%66,7), Tepebaşı (%83,33) ve Seyitgazi (%33,3) olarak bulunmuştur. Alan bazında sıralama ise örtü altında Mihalgazi (%108,6), Sarıcakaya (%50); açık alanda Sarıcakaya (%90,9), Tepebaşı (%83,3), Odunpazarı (%66,7), Mihalgazi (%25) şeklindedir.
10. Mihalgazi'de domateste en fazla açık alanda CMV (%71,4) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve ardından örtü altında TSWV (%60), CMV (%11,4), PVY (%2,9) gelmektedir. Biberde ise en fazla örtü altında TSWV (%80) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve ardından açık alanda CMV (%25); örtü altında CMV (%20), PVY (%5,7), TMV (%2,9) gelmektedir.
11. Sarıcakaya'da domateste en fazla açık alanda TSWV (%50) ve PVY (%50) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve ardından örtü altında TSWV (%26,7), açık alanda CMV (%25) ve ToMV (%25), örtü altında PVY (%10), CMV (%6,7), TMV (%6,7), ToMV (%3,3) gelmektedir. Biberde ise en fazla açık alanda CMV (%72,7) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve ardından örtü altında CMV (%25) ve TMV (%25); açık alanda TSWV (%9,1) ve TMV (%9,1) gelmektedir.
12. Odunpazarı'da en fazla açık alanda CMV (%26,3) enfeksiyonu tespit edilmiştir ve ardından yine açık alanda PVY (%10,5) ve ToMV (%5,3) gelmektedir. Biberde ise sadece açık alanda TSWV (%33,3) ve PVY (%33,3) enfeksiyonu tespit edilmiştir.
13. Tepebaşı'nda domateste sadece açık alanda TSWV (%33,3) enfeksiyonu tespit edilmiştir. Biberde ise sadece açık alanda TSWV (%33,3), CMV (%16,7), PVY (%16,7), TMV (%16,7) enfeksiyonları tespit edilmiştir.

14. Seyitgazi'de sadece domateste açık alanda CMV (%33,3) ve PVY (%33,3) enfeksiyonu tespit edilmiştir.
15. Virüs bazında ilçelerin enfeksiyon oranı sıralaması TSWV için domateste Mihalgazi (%50), Tepebaşı (%33,3), Sarıcakaya (%29,4), biberde Mihalgazi (%71,8), Tepebaşı (%33,3), Odunpazarı (%33,3), Sarıcakaya (%6,7); CMV için domateste Odunpazarı (%26,3), Mihalgazi (%21,4), Seyitgazi (%16,7), Sarıcakaya (%8,8), biberde Sarıcakaya (%60), Mihalgazi (%20,5), Tepebaşı (%16,7); PVY için domateste Seyitgazi (%16,7), Sarıcakaya (%14,7), Odunpazarı (%10,5), Mihalgazi (%2,4), biberde Odunpazarı (%33,3), Tepebaşı (%16,7), Mihalgazi (%5,1); ToMV için domateste Sarıcakaya (%5,9), Odunpazarı (%5,3) biberde ; TMV için domateste Sarıcakaya (%5,9), biberde Tepebaşı (%16,7), Sarıcakaya (%13,3), Mihalgazi (%2,6) olarak bulunmuştur.
16. Domateste açık alanda TMV virüsünün ve biberde de hem açık alanda ve hem de örtü altında ToMV virüsünün tespit edilememesi yanında, her iki bitki türünde de PepMV, ToCV ve TNV virüsleri tespit edilememiştir.
17. DAS-ELISA sonuçlarına göre 6 farklı ikili, 3 farklı üçlü kombinasyon halinde çoklu virüs enfeksiyonu tespit edilmiştir. Tekli enfeksiyon oranı %48,8, çoklu enfeksiyon oranı ise ikili enfeksiyon oranı %8,2 ve üçlü enfeksiyon oranı %1,8 olmak üzere %10 olarak saptanmıştır.
18. İkili enfeksiyonların (%64,3'ü örtü altı alanda, %35,7'si açık alanda) TSWV+CMV (%4,1), TSWV+PVY (%1,8), TSWV+TMV (%0,6), CMV+TMV (%0,6), CMV+ToMV (%0,6) ve CMV+PVY (%0,6) kombinasyonları tarafından, üçlü enfeksiyonların ise (%66,7'si açık alanda, %33,3'ü örtü altı alanda) TSWV+CMV+PVY (%1,2), CMV+PVY+TMV (%0,6) ve CMV+PVY+ToMV (%0,6) kombinasyonları tarafından oluşturulduğu saptanmıştır.
19. RT-PCR çalışması ile seçilen domates ve biber örneklerde TSWV ve CMV virüslerinin moleküler olarak tespiti gerçekleştirilmiştir ve DAS-ELISA sonuçları doğrulanmıştır.
20. RT-PCR çalışması ile TSWV'nin N gen bölgesine göre 10 domates ve 10 biber örneğinin tamamında, CMV'nin CP gen bölgesine göre 10 domates örneği ile 1 negatif ve 2 zayıf örnek dışında 7 biber örneğinde tespitler gerçekleştirilmiştir.
21. Bu tez çalışması kapsamında TSWV'nin N gen bölgesinin tamamının amplifikasyonu için tasarlanan, NC-for/NC-rev ismi verilen primer çifti ile başarılı bir şekilde sonuç alınabildiği bulunmuştur.
22. RT-PCR çalışmasında hem meyve dokusundan ve hem de yaprak dokusundan virüs tespitinin başarılı bir şekilde gerçekleşebildiği görülmüştür.

23. Eskişehir iline ait TSWV (5) ve CMV (2) izolatlarının dünyadaki ve Türkiye'deki diğer izolatlar arasındaki yerinin saptanması amacıyla, sekans (dizileme) çalışması yapılarak nükleik asit dizilimleri belirlenmiş ve filogenetik ağaçlar oluşturmuştur.
24. TSWV'nin N gen bölgesine göre oluşturulan filogenetik ağacında, izolatların I, II, III olmak üzere 3 grup oluşturduğu ve grupların coğrafik olarak dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Eskişehir izolatlarının hepsinin birlikte kümelenerek grup I içinde Avrupa alt grubunda bazı Türkiye izolatları ile birlikte yer aldığı saptanmıştır. Diğer Türkiye izolatların bazı Avrupa izolatları ile grup II içinde yer aldığı görülmüştür.
25. Eskişehir TSWV izolatlarının kendi aralarındaki benzerlik oranı %99,12 ile %99,89 arasında bulunmuştur ve dahil oldukları Grup I içindeki benzerlik oranı %95,5 ile %99,87 arasında saptanmıştır.
26. CMV'nin CP gen bölgesine göre oluşturulan filogenetik ağacında, izolatların IA, IB, II olmak üzere 3 grup oluşturduğu görülmüştür. Eskişehir izolatlarından birinin dünya çapında yaygın olduğu belirtilen IA alt grubunda, diğerinin ise Asya kökenli olduğu bilinen IB alt grubunda yer aldığı saptanmıştır. Türkiye izolatlarının IA ve IB alt gruplarına yer aldığı görülmüştür.
27. Eskişehir CMV izolatlarının aralarındaki benzerlik oranı %93,48 olarak bulunmuştur. IA alt grubuna dahil olan izolatın grup ile %95,32-99,37 oranında, IB alt grubunda dahil olan izolatın ise grup ile %92,87-99,74 oranında benzer olduğu saptanmıştır.
28. Serolojik testleme sonrasında yapılan RT-PCR ve dizileme çalışması sayesinde Eskişehir iline ait izolatların moleküler karakterizasyonu başarılı bir şekilde yapılmıştır.

5.2.Öneriler

Bu çalışmanın başlangıç aşamasından son aşamasına kadarki süreçte elde edilen veriler ve gözlemler ışığında ilgili paydaşları ilgilendiren öneriler aşağıda özetlenmiştir.

- Üreticiler için öneriler;

1. Üretimin her sürecinde ve sorunlar karşısında, insan ve çevre sağlığı gözetilmelidir.
2. Virüs hastalıkları ile mücadelenin koruyucu tedbirler olduğu, herhangi bir kimyasal ile iyileştirici tedavinin olmadığı, tüm çabaların enfeksiyonu önlemeye yönelik olduğu unutulmamalı ve buna göre davranılmalıdır.
3. Vektör böceklere karşı entegre mücadele anlayışı benimsenmeli, kimyasal mücadele doğru zaman ve uygun dozda hedefe yönelik olarak gerçekleştirilmeli, biyoteknik

(yapışkan tuzak, feromon, vb.) ve biyolojik (predatör, parazitoid, vb.) mücadele yöntemlerinin kullanımına ağırlık verilmelidir.

4. Virüslere karşı dayanıklı çeşitler tercih edilmeye devam edilmeli, sertifikalı üretim materyali (fide, tohum, vb.) kullanımı tercih edilmeli, karışık ekimden kaçınılması sürdürülmeli, üretim alanlarında münavebeye dikkat edilmelidir.
5. Üretim alanı içerisindeki ve çevresindeki yabancı otlarla mücadeleye devam edilmeli, hastalıklı bitkiler ve sökülen yabancı otlar üretim alanından uzaklaştırılmalıdır.
6. Kültürel tedbirler (bitkilerin su, besin ve iklimsel ihtiyaçlarının karşılanması, örtü altında açıklıklarının kapatılması, vb.) her durumda yerine getirilmelidir.

- Kurum ve kuruluşlar için öneriler;

1. Üreticilerin virüs hastalıkları hakkında farkındalıklarının oluşması sağlanmalı, alınması gereken tedbirlerin gerçekleştirilmesinde üreticilere destek olunmalıdır.
2. Virüs hastalıklarının üretim alanlarında, çeşitli şartlara bağlı olarak epidemi veya pandemi gerçekleştirmesine karşı hazırlıklı olmak için bilgi birikimi arttırılmalıdır.
3. İl genelinde virüs yoğunluğunun az olduğu alanların potansiyellerinin farkına varılmalı, yüksek düzeyde virüs yoğunluğunun olduğu alanlarda gereken tedbirlerin (vektör böceklerle etkili mücadele, etkili münavebe sistemi, vb.) alınması sağlanmalıdır.
4. Viral karantina etmenlerinin bölgeye olası girişlerini önlemek için tespit ve takip çalışmalarının sürekliliğinin sağlanmasına önem verilmelidir.

- Araştırmacılar için öneriler;

1. Eskişehir ili genelinde domates ve biber üretim alanlarında örneklem sayısı arttırılarak daha geniş çaplı araştırmalar gerçekleştirilmeli, tespit edilen virüslerin diğer kültür bitkileri, yabancı otlar ve vektör böceklerdeki bulunma durumu ortaya koyulmalıdır.
2. Alt grupların, olası agresif ırkların veya dayanıklılık kırıcı izolatların tespiti için Eskişehir iline ait virüs izolatlarının moleküler karakterizasyonları yapılmalıdır.
3. Ülkemizde ve dünyanın farklı yerlerinde mevcut ya da yeni ortaya çıkan virüslerin Eskişehir ilindeki tespitine yönelik çalışmalarda geç kalınmamalıdır.
4. Virüs hastalıklarının araştırılmasında basit biyoinformatik analizlerin ötesinde ileri düzey biyoinformatik analizler yapılmalıdır.
5. Sezon içindeki değişiklikler nedeniyle oluşabilecek farklılıklara karşı araştırma planlaması dikkatli şekilde yapılmalı, alternatif araştırma metotları bilinmelidir.

6.KAYNAKLAR

Abadkhah, M., Koolivand, D. ve Eini, O., 2018, A New Distinct Clade for Iranian *Tomato spotted wilt virus* Isolates Based on the Polymerase, Nucleocapsid, and Non-structural Genes, *The plant pathology journal*, 34 (6), 514-531.

Abak, K., Düzyaman, E., Şeniz, V., Gülen, H., Pekşen, A. ve Kaymak, H. Ç., 2010, Sebze üretimini geliştirme yöntem ve hedefleri. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi. Ankara**:** 477-492.

Abak, K., 2016, Türkiye'de domatesin dünü, bugünü ve yarını, *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 17, 8-13.

Agrios, G. N., 2005, Plant pathology *Burlington, Ma. USA*, Elsevier Academic Press, p. 273.

Ahsan, M., Ashfaq, M., Mukhtar, T. ve Abbasi, N. A., 2020, Current status and genetic variability of *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) isolates infecting major cucurbits and solanaceous vegetables in Pothwar region of Pakistan, *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 57 (5), 1353-1361.

Akdura-Yeşilyurt, N. ve Çevik, B., 2017, Isparta ve Burdur İli Domates Üretim Alanlarında *Tomato chlorosis virus*' un Nested-RT-PCR Yöntemiyle Tanılanması, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12 (1), 11-23.

Alishiri, A., Rakhshandehroo, F., Zamanizadeh, H.-R. ve Palukaitis, P., 2013, Prevalence of *Tobacco mosaic virus* in Iran and Evolutionary Analyses of the Coat Protein Gene, *The plant pathology journal*, 29 (3), 260-273.

Allard, H. A., 1916, The mosaic disease of tomatoes and petunias., *Phytopathology*, 6, 328-325.

Almási, A., Csilléry, G., Csömör, Z., Nemes, K., Palkovics, L., Salánki, K. ve Tóbiás, I., 2015, Phylogenetic analysis of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) NSs protein demonstrates the isolated emergence of resistance-breaking strains in pepper, *Virus Genes*, 50 (1), 71-78.

Almási, A., Nemes, K. ve Salánki, K., 2020, Increasing diversity of resistance breaking pepper strains of *Tomato spotted wilt virus* in the Mediterranean region, *Phytopathologia Mediterranea*, 59 (2), 385-391.

Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. ve Lipman, D. J., 1997, Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs, *Nucleic Acids Res*, 25 (17), 3389-3402.

Andrews, J., 1999, The pepper trail: history and recipes from around the world, The University of North Texas Press, p. 22-24.

Antonelli, A., Fry, C., Smith, R. J., Simmonds, M. S. J., Kersey, P. J., Pritchard, H. W., Abbo, M. S., Acedo, C., Adams, J., Ainsworth, A. M., Allkin, B. ve etc., 2020, State of the World's Plants and Fungi 2020, *Royal Botanic Gardens, Kew*.

Anwer, M., Akhtar, K. P., Ullah, N., Saleem, M. Y. ve Cheema, H. M. N., 2019, First report of *Cucumber mosaic virus* subgroup IB and II isolates infecting tomatoes in Pakistan, *Journal of Plant Pathology*, 101 (3), 775-775.

Apablaza-Hidalgo, G., 2001, El marchitamiento manchado (TSWV) : enfermedad virosa Importante en producciones de tomate y pimiento., *Agronomía y Forestal UC*, 3 (12), 14-16.

Aramburu, J., Galipienso, L. ve López, C., 2007, Reappearance of *Cucumber mosaic virus* Isolates Belonging to Subgroup IB in Tomato Plants in North-eastern Spain, *Journal of Phytopathology*, 155 (9), 513-518.

Aramburu, J., Galipienso, L., Soler, S., Rubio, L. ve López, C., 2015, A severe symptom phenotype in pepper cultivars carrying the *Tsw* resistance gene is caused by a mixed infection between resistance-breaking and non-resistance-breaking isolates of *Tomato spotted wilt virus*, *Phytoparasitica*, 43 (5), 597-605.

Arı, O., 1956, Domates ziraatimizi tehdit eden iki mühim virüs (bir ve iki çizgili virüs hastalıkları), *Ziraat dergisi*, 144–145, 30-35.

Arlı-Sökmen, M., Mennan, H., Şevik, M. A. ve Ecevit, O., 2005, Occurrence of viruses in field-grown pepper crops and some of their reservoir weed hosts in Samsun, Turkey, *Phytoparasitica*, 33 (4), 347–358.

Arlı-Sökmen, M. ve Şevik, M. A., 2006, Viruses infecting field-grown tomatoes in Samsun province, Turkey, *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 39 (4), 283–288.

Arlı-Sökmen, M. ve Şevik, M. A., 2013, Spread of *Tomato spotted wilt virus* from an internal virus source by thrips species in Samsun, Turkey, *Phytoparasitica*, 41 (2), 159-168.

Arogundade, O., Balogun, O. S. ve Kumar, P. L., 2019, Seed transmissibility of *Cucumber mosaic virus* in Capsicum species, *International Journal of Vegetable Science*, 25 (2), 146-153.

Atakan, E., Kamberoğlu, M. A. ve Uygur, S., 2013, Role of weed hosts and the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, in epidemiology of *Tomato spotted wilt virus* in the Çukurova region of Turkey, *Phytoparasitica*, 41 (5), 577–590.

Avilla, C., Collar, J. L., Duque, M. ve Fereres, A., 1997, Yield of bell pepper (*Capsicum annuum*) inoculated with CMV and/or PVY at different time intervals *Journal of Plant Diseases and Protection*, 104 (1), 1-8.

Aydın-Eryılmaz, G. ve Kılıç, O., 2018, Türkiye'de sürdürülebilir tarım ve iyi tarım uygulamaları, *Tarim ve Doga Dergisi*, 21 (4), 624.

Ayo-John, E. I. ve Odedara, O. O., 2017, Serological detection of viruses infecting tomato and pepper in Southwest Nigeria and their distribution, *Nigerian Journal of Biotechnology*, 33 (1), 78-82.

Azeri, T., 1994, Detection of *Tomato spotted wilt virus* in tobacco and tomato cultuvars by ELISA, *J. Turkish Phytopathology*, 23 (1), 37–46.

Bačnik, K., Kutnjak, D., Pecman, A., Mehle, N., Tušek-Žnidarič, M., Gutiérrez-Aguirre, I. ve Ravnikar, M., 2020, Viromics and infectivity analysis reveal the release of infective plant viruses from wastewater into the environment, *Water Research*, 177, 115628.

Baenas, N., Belović, M., Ilic, N., Moreno, D. A. ve García-Viguera, C., 2019, Industrial use of pepper (*Capsicum annum* L.) derived products: Technological benefits and biological advantages, *Food Chemistry*, 274, 872-885.

Bagley, C. A., 2001, Controlling *Tobacco mosaic virus* in Tobacco through Resistance, Doctoral dissertation, *Virginia Polytechnic Institute and State University*.

Baker, C. ve Adkins, S., 2000, Peppers, tomatoes, and Tobamoviruses, Division of Plant Industry, Florida Department of Agriculture & Consumer Svcs.

Bashimov, G., 2016, Türkiye'nin Domates İhracat Performansı ve Rakabet Gücü, *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 31 (2).

Bashir, N. S., Kalhor, M. R. ve Zarghani, S. N., 2006, Detection, differentiation and phylogenetic analysis of *Cucumber mosaic virus* isolates from cucurbits in the northwest region of Iran, *Virus Genes*, 32 (3), 277-288.

Batuman, O., Turini, T. A., Oliveira, P. V., Rojas, M. R., Macedo, M., Mellinger, H. C., Adkins, S. ve Gilbertson, R. L., 2017, First Report of a Resistance-Breaking Strain of *Tomato spotted wilt virus* Infecting Tomatoes With the *Sw-5* Tospovirus-Resistance Gene in California, *Plant disease*, 101 (4), 637-637.

Batuman, O., Turini, T. A., LeStrange, M., Stoddard, S., Miyao, G., Aegerter, B. J., Chen, L. F., McRoberts, N., Ullman, D. E. ve Gilbertson, R. L., 2020, Development of an IPM Strategy for Thrips and *Tomato spotted wilt virus* in Processing Tomatoes in the Central Valley of California, *Pathogens*, 9 (8).

Bebber, D. P., Ramotowski, M. A. T. ve Gurr, S. J., 2013, Crop pests and pathogens move polewards in a warming world, *Nature Climate Change*, 3 (11), 985-988.

BEBKA, 2015a, Bursa Eskişehir Bilecik Bölge Planı 2014-2023, *Bursa Eskişehir Bilecik Kalkınma Ajansı (BEBKA)- Planlama*.

BEBKA, 2015b, Orta Sakarya Vadisi Raporu, *Bursa Eskişehir Bilecik Kalkınma Ajansı (BEBKA)*.

Bellstedt, D. U., Glais, L., Davie, K. ve Lacomme, C., 2017, Evolution and Origin of PVY, In: *Potato virus Y*: biodiversity, pathogenicity, epidemiology and management, Eds: Lacomme, C., Glais, L., Bellstedt, D. U., Dupuis, B., Karasev, A. V. ve Jacquot, E.: Springer, p. 77-101.

Ben Tamarzizt, H., Montarry, J., Girardot, G., Fakhfakh, H., Tepfer, M. ve Jacquemond, M., 2013, *Cucumber mosaic virus* populations in Tunisian pepper crops are mainly composed of virus reassortants with resistance-breaking properties, *Plant Pathology*, 62 (6), 1415-1428.

Bhat, A. I. ve Rao, G. P., 2020, Virus Transmission Through Pollen, In: Characterization of Plant Viruses : Methods and Protocols, Eds: Bhat, A. I. ve Rao, G. P., *New York, NY*: Springer US, p. 61-64.

Blancard, D., 2012, Tomato diseases: identification, biology and control: A Colour Handbook, CRC Press.

Boben, J., Kramberger, P., Petrovič, N., Cankar, K., Peterka, M., Štrancar, A. ve Ravnikar, M., 2007, Detection and quantification of *Tomato mosaic virus* in irrigation waters, *European Journal of Plant Pathology*, 118 (1), 59-71.

Bonnet, J., Fraile, A., Sacristán, S., Malpica, J. M. ve García-Arenal, F., 2005, Role of recombination in the evolution of natural populations of *Cucumber mosaic virus*, a tripartite RNA plant virus, *Virology*, 332 (1), 359-368.

Bora, T. ve Karaca, İ., 1970, Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi, *Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın*, 167.

Bosland, P. W., Votava, E. J. ve Votava, E. M., 2012, Peppers: vegetable and spice capsicums, CABI

Bostan, H., Demirci, E. ve Sahin, F., 2002, Determination of virus diseases on tomato and cucumber grown in greenhouses in Erzurum and Artvin provinces by ELISA, *Journal of Turkish Phytopathology*, 31 (1), 23-29.

Bostan, H. ve Dursun, A., 2011, Kemaliye ve Yusufeli İlçelerindeki Biber (Capsicum annum L.) Üretim Alanlarındaki Bazı Virüs Hastalıklarının Belirlenmesi / Identification of Some Virus Diseases in Pepper Production Areas in Kemaliye and Yusufeli Districts, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33 (4).

Bremer, H., 1954, Türkiye Fitopatolojisi Cilt : III, *Tarım Bakanlığı Neşriyat Müdürlüğü*.

Brittlebank, C. C., 1919, Tomato diseases, *Journal of the Department of Agriculture in Victoria*, 17, 231.

Broadbent, L., 1976, Epidemiology and Control of *Tomato mosaic virus*, *Annual Review of Phytopathology*, 14 (1), 75-96.

Brunt, A. A., 1996, Plant viruses online: descriptions and lists from the VIDE database, http://bio-mirror.im.ac.cn/mirrors/pvo/vide/refs.htm: [14.12.2020].

Buzkan, N., Demir, M., Öztekin, V., Mart, C., Çağlar, B. K. ve Yılmaz, M. A., 2006, Evaluation of the status of capsicum viruses in the main growing regions of Turkey, *EPPO Bulletin*, 36 (1), 15–19.

Buzkan, N. ve Yüzer, D., 2009, Kahramanmaraş Kırmızı Biberlerinde Tohumla Taşınan Virüslerin Moleküler Tanısı, *Alatarım*, 8 (1), 1-7.

Buzkan, N., Arpaci, B. B., Simon, V., Fakhfakh, H. ve Moury, B., 2013, High prevalence of poleroviruses in field-grown pepper in Turkey and Tunisia, *Archives of Virology*, 158 (4), 881–885.

BYK, 2011, Bitki Karantinası Yönetmeliği, Mevzuat No: 15548, Resmî Gazete Tarihi: 03.12.2011, Resmî Gazete Sayısı: 28131, https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=15548&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5: [15.01.2021].

Cebolla-Cornejo, J., Soler, S. ve Nuez, F., 2012, Genetic erosion of traditional varieties of vegetable crops in Europe: tomato cultivation in Valencia (Spain) as a case study, *International Journal of Plant Production*, 1 (2), 113-128.

Chaisuekul, C., 2004, Host plant and temperature effects on population dynamics of thrips vectors of *Tomato spotted wilt virus*, Doctoral dissertation, University of Georgia

Chen, T.-C., Jan, F.-J., Tennant, P. ve Fermin, G., 2015, Tomato spotted wilt, *Virus diseases of tropical and subtropical crops. Oxfordshire: CAB International*, 162-176.

Chen, Y., Chen, J., Zhang, H., Tang, X. ve Du, Z., 2007, Molecular evidence and sequence analysis of a natural reassortant between *Cucumber mosaic virus* subgroup IA and II strains, *Virus Genes*, 35 (2), 405-413.

Chitra, T. R., Prakash, H. S., Albrechtsen, S. E., Shetty, H. S. ve Mathur, S., 2002, Indexing of leaf and seed samples of tomato and bell pepper for tobamoviruses, *Indian phytopathology*, 55, 84-86.

Choi, J., Kim, H., Yoon, J., Park, S., Kim, D. ve Lee, S., 1998, Detection of virus in fruit and seed of vegetables using RT-PCR, *Korean Journal of Plant Pathology*, 14 (6), 630-635.

Choi, S., Lee, J. H., Kang, W. H., Kim, J., Huy, H. N., Park, S. W., Son, E. H., Kwon, J. K. ve Kang, B. C., 2018, Identification of Cucumber mosaic resistance 2 (cmr2) That Confers Resistance to a New *Cucumber mosaic virus* Isolate P1 (CMV-P1) in Pepper (Capsicum spp.), *Front Plant Sci*, 9, 1106.

Clark, M. F. ve Adams, A. N., 1977, Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses, *J Gen Virol*, 34 (3), 475-483.

Clark, M. F., Lister, R. M. ve Bar-Joseph, M., 1986, ELISA techniques, *Methods in enzymology*, 118, 742-766.

Costa, J. M. ve Heuvelink, E., 2018, The global tomato industry, In: Tomatoes, Eds: Heuvelink, E., *Boston, USA: CABI*, p. 1-26.

Crescenzi, A., Fanigliulo, A. ve Viggiano, A., 2015, Resistance Breaking *Tomato spotted wilt virus* Isolates on Resistant Tomato Cultivars in Italy, 95-98.

Culver, J. N. ve Padmanabhan, M. S., 2007, Virus-induced disease: altering host physiology one interaction at a time, *Annu Rev Phytopathol*, 45, 221-243.

Çandar, A. ve Gümüş, M., 2018, Küçük Menderes Havzasında domates bitkilerinde PVY ırklarının multiplex RT-PCR yöntemiyle belirlenmesi, *Uluslararası Katılımlı Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi* Muğla.

Çarpar, H. ve Sertkaya, G., 2016, Hatay İli Patates Üretiminde Önemli Bazı Viral Sorunların Belirlenmesi, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 135-143.

Çevik, B. ve Erkış, G., 2008, First report of *Tomato chlorosis virus* in Turkey, *Plant Pathology*, 57 (4), 767.

Çevik, B. ve Öztunç, H., 2016, Antalya İli Domates Üretim Seralarında *Tomato chlorosis virus*'ün hsp70 Geni Kullanılarak Tanılanması ve Kısmi Moleküler Karakterizasyonu, *The Journal of Turkish Phytopathology*, 45 (2-3), 63–72.

Çiçek, Y. ve Yorgancı, Ü., 1991, Studies on the incidence of *Tobacco mosaic virus* on certified seed of tomato, pepper and eggplant in Aegean region, *Journal of Turkish Phytopathology*, 20 (2-3), 57-68.

Çulal-Kılıç, H., Yardımcı, N., Toplu, S. ve Konu, A., 2015, *Cucumber mosaic virus* and *Pepper mild mottle virus* in pepper growing areas in Burdur Province, Turkey, *International Journal of Scientific and Technological Research*, 1 (1), 50-60.

Çulal-Kılıç, H., Isparta, L., Yardımcı, N. ve Doğan, K., 2017a, Isparta ve Burdur İlleri Üretim Alanlarında Yetiştirilen Domateslerde Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Tanılanması, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8 (1), 34-39.

Çulal-Kılıç, H., Ürgen, G. ve Yardımcı, N., 2017b, Greenhouse tomato crops affected by viruses in the west mediterranean region of Turkey, *Bangladesh Journal of Botany*, 46 (4), 1421–1424.

Çulal-Kılıç, H., Yardımcı, N., Bal, A., Güneş, A. ve Deniz, F., 2017c, Sensitive detection of *Tomato spotted wilt virus* from pepper plants by DAS-ELISA, RT-PCR and IC-RT-PCR, *Romanian Biotechnological Letters*, 22 (5), 12934.

Çulal-Kılıç, H., 2019, Biological, serological and molecular detection of *Tomato mosaic virus* infecting pepper plants from Turkey, *Applied Ecology and Environmental Research*, 17 (3), 6337-6347.

Dal, B. ve Kızılaslan, H., 2019, Avrupa Birliği Uyum Sürecinde Türkiye'nin Yaş Sebze ve Meyve Sektörü. XI. IBANESS Kongreler Serisi. Tekirdağ/Türkiye 157-163.

Damiri, N., 2014, Mixed viral infection and growth stage on Chilli (*Capsicum annuum* L.) production, *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 37 (2), 275-283.

Damiri, N., Hamidson, H. ve Rahim, S., 2018, Mosaic disease and chilli production on different altitudes in South Sumatra, Indonesia, *Malaysian Applied Biology Journal*, 47 (3), 23-28.

Daş, F., 2020, Adana ve Mersin İlleri Domates Alanlarında Hıyar Mozaik Virüsü (*Cucumber mosaic virus*, CMV)'nün Karakterizasyonu, YÜKSEK LİSANS TEZİ, *ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ*, ADANA, 89.

Debreczeni, D. E., López, C., Aramburu, J., Darós, J. A., Soler, S., Galipienso, L., Falk, B. W. ve Rubio, L., 2015, Complete sequence of three different biotypes of *Tomato spotted*

wilt virus (wild type, tomato *Sw-5* resistance-breaking and pepper *Tsw* resistance-breaking) from Spain, *Archives of Virology*, 160 (8), 2117-2123.

Değirmenci, K. ve Uzunoğulları, N., 2007, Marmara Bölgesinde domates yetiştiricilik alanlarında sorun olan virüslerin belirlenmesi, *Bitki Koruma Bülteni*, 47 (1-4), 72-77

Deligöz, İ., Arlı-Sökmen, M. ve Sarı, S., 2014, First report of resistance breaking strain of *Tomato spotted wilt virus* (Tospovirus; Bunyaviridae) on resistant sweet pepper cultivars in Turkey, *New Disease Reports*, 30 (26), 2044-0588.2014.

Deligöz, İ. ve Arlı-Sökmen, M., 2020, Samsun ilinde biber alanlarında enfeksiyon oluşturan *Potato virus Y* -patotiplerinin belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu, *Anadolu Tarim Bilimleri Dergisi*, 35 (3), 483–495.

Demir, E. ve Erdiller, G., 1988, The effects of the mosaic disease on total soluble solible color, ascorbic asid and titration acidity of tomatoes grown in glass- housses Antalya province, *The Journal of Turkish Phytopathology*, 17 (3), 90.

Dempewolf, H., Eastwood, R. J., Guarino, L., Khoury, C. K., Müller, J. V. ve Toll, J., 2014, Adapting Agriculture to Climate Change: A Global Initiative to Collect, Conserve, and Use Crop Wild Relatives, *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 38 (4), 369-377.

Desbiez, C., Verdin, E., Moury, B., Lecoq, H., Millot, P., Wipf-Scheibel, C., Mirzayeva, S., Sultanova, N., Balakishiyeva, G., Mammadov, A., Kheyr-Pour, A. ve Huseynova, I., 2019, Prevalence and molecular diversity of the main viruses infecting cucurbit and solanaceous crops in Azerbaijan, *European Journal of Plant Pathology*, 153 (2), 359-369.

Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., Millot, P., Berthier, K., Girardot, G., Gognalons, P., Hirsch, J., Moury, B., Nozeran, K., Piry, S., Schoeny, A. ve Verdin, E., 2020, Distribution and evolution of the major viruses infecting cucurbitaceous and solanaceous crops in the French Mediterranean area, *Virus research*, 286, 198042.

Deyong, Z., Willingmann, P., Heinze, C., Adam, G., Pfunder, M., Frey, B. ve Frey, J. E., 2005, Differentiation of *Cucumber mosaic virus* isolates by hybridization to oligonucleotides in a microarray format, *J Virol Methods*, 123 (1), 101-108.

Dominguez, G. R., Salgado Siclán, M. L., Ortigoza, C. A., Aquíno Martínez, J. G. ve Rámirez Davila, J. F., 2010, *Tomato spotted wilt orthotospovirus* (TSWV) is not transmitted by tomato seed, *Remexca (Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas)*, 10 (6), 1449-1455.

Doolittle, S. P., 1916, A new infectious mosaic disease of cucumber, *Phytopathology*, 6 (2), 145-147.

Duman, İ., 2016, Sanayilik domates yetiştiriciliği, *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 17, 18-21s.

Durak, H., Belgüzar, S., Cangi, R. ve Yanar, Y., 2017, Asma Ur Hastalığı Etmeni *Rhizobium vitis*' in Tokat İli Bağlarında Bulunma Oranı ve Tanılanması, *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 6 (3), 73-84.

Durmuş, M., Yetgin, Ö., Abed, M. M., Haji, E. K. ve Akcay, K., 2018, Domates bitkisi, besin içeriği ve sağlık açısından değerlendirmesi, *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1 (2), 59-74.

EFSA, P. o. P. H., 2012, Scientific Opinion on the pest categorisation of the tospoviruses, *EFSA Journal*, 10 (7).

Eiras, M., Boari, A., Colariccio, A., Chaves, A., Briones, M., Figueira, A. ve Harakava, R., 2004, Characterization of isolates of the Cucumovirus *Cucumber mosaic virus* present in Brazil, *Journal of Plant Pathology*, 61-69.

EİTOM, 2018, Topraksız Tarımın Merkezi Eskişehir Oluyor, Eskişehir İl Tarım ve Orman Müdürlüğü (EİTOM)-Haber, https://eskisehir.tarimorman.gov.tr/Haber/532/Topraksiz-Tarimin-Merkezi-Eskisehir-Oluyor: [14.12.2020].

EİTOM, 2019, 2019 Yılı Faaliyet Raporu, Eskişehir İl Tarım ve Orman Müdürlüğü (EİTOM)-Faaliyet Raporları, https://eskisehir.tarimorman.gov.tr/Menu/2/Faaliyet-Raporlari#index80: [12.12.2020].

Engindeniz, S., 2009, Türkiye'de Sebze Üretimi ve Gelecek İçin Bazı Öneriler, *Verimlilik Dergisi* (2), 99-117.

EPPO, 2004, Solanaceous crops under protected cultivation, *EPPO Bulletin*, 34 (1), 65-77.

EPPO, 2020a, PM 7/139 (1) Tospoviruses (Genus Orthotospovirus), *EPPO Bulletin*, 50 (2), 217-240.

EPPO, 2020b, EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests, version 2020-09, https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A2_list#virus: [15.01.2021].

Erilmez, S. ve Erkan, S., 2014, Aydın, Balıkesir ve İzmir illerinde zeytin ağaçlarındaki viral hastalık etmenlerinin tanılanması ve bulunma durumlarının belirlenmesi, *Bitki Koruma Bülteni*, 54 (1), 45-67.

Erilmez, S. ve Kaya, A., 2016, Asma virüslerinin tanılanmasında DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemlerinin duyarlılıklarının karşılaştırılması, *Bitki Koruma Bülteni*, 56 (1), 1-14.

Erkan, S. ve Yorgancı, Ü., 1983, A strain of *Tobacco mosaic virus* (TMV) affecting pepper plants, *Journal of Turkish Phytopathology*, 12 (2), 83-101.

Erkan, S., 1986, *Potato virus Y* on Pepper, in Turkey, *Phytopathologia Mediterranea*, 25 (1/3), 149-150.

Erkan, S., Yorgancı, Ü., Gümüş, M. ve Yoltas, T., 1994, The Studıes on The Presence of *Tomato mosaic virus* and Bacterıal Wilt in Seed Samples of Processıng Tomato Plants in Turkey, *Acta Hortic.*, 376, 395-398.

Ertunç, F., 2020, Physiology of virus-infected plants, In: Applied Plant Virology, Eds: Awasthi, L. P., *Cambridge, MA, USA*: Academic Press, p. 199-205.

Ertürk, Y. E. ve Çirka, M., 2014, Türkiye'de ve Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi (KDAB)'nde domates üretimi ve pazarlaması, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 25 (1), 84-97.

Eryılmaz, G. A., Kılıç, O. ve Boz, İ., 2019, Türkiye'de organik tarım ve iyi tarım uygulamalarının ekonomik, sosyal ve çevresel sürdürülebilirlik açısından değerlendirilmesi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29 (2), 352-361.

Everest, B., Semerci, A. ve Tan, S., 2019, Türkiye'de Tarım Sektöründe Son 10 Yılda Meydana Gelen Değişimlerin İncelenmesi, *XI. IBANESS Kongreler Serisi*, Tekirdağ / Türkiye, 149-156.

Eyvazi, A., Dizadji, A., Rastgou, M. ve Habibi, M. K., 2015, Bioassay and phylogeny of five Iranian isolates of *Cucumber mosaic virus* from different hosts based on CP gene sequence, *Plant Protection Science*, 51 (4), 200-207.

FAOSTAT, 2020, FAOSTAT statistical database, FAO (Food and Agriculture Organization), http://www.fao.org/faostat/en/#data/TP/visualize: [07.12.2020].

Farzadfar, S., Pourrahim, R. ve Arafati, N., 2013, Molecular identification of *Cucumber mosaic virus* subgroup IB isolates in south Iran, *Journal of Plant Pathology*, 423-428.

Ferrand, L., Almeida, M., Orílio, A., Dal Bó, E., Resende, R. ve García, M., 2019, Biological and molecular characterization of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) resistance-breaking isolates from Argentina, *Plant Pathology*, 68 (9), 1587-1601.

Fidan, H. ve Koç, G., 2019, Occurrence, ecology and phylogeny of *Banana streak badnavirus* (BSV) and *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) in *Musa sp.* production areas of the mediterranean coastline of Turkey, *Appl. Ecol. Environ. Res*, 17 (3), 5935-5951.

Fidan, H. ve Sarı, N., 2019, Molecular characterization of resistance-breaking *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) isolate medium segment in tomato, *Applied Ecology and Environmental Research*, 17 (2), 5321-5339.

Fidan, H., Sarikaya, P. ve Calis, O., 2019, First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato in Turkey, *New Disease Reports*, 39, 18.

Fidan, Ü., 1993, Recent records on virus diseases of vegetables in greenhouses, *Journal of Turkish Phytopathology*, 22 (1), 45.

Fidan, Ü., 1995, Virus diseases of vegetables in greenhouses in İzmir and Muğla, *Journal of Turkish Phytopathology*, 24 (1), 7-14.

Foissac, X., Svanella-Dumas, L., Dulucq, M. J., Candresse, T. ve Gentit, P., 2001, Polyvalent detection in fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by nested RT-PCR using degenerated and inosine containing primers (PDO RT-PCR). *Acta Horticulturae*, 550, 37-44.

Fontana, A., Albanese, G., Manglli, A., Tomassoli, L. ve Tiberini, A., 2020, Phylogenetic analysis based on full genome sequencing of Italian *Tomato spotted wilt virus* isolates

identified in “Roggianese” sweet pepper and chilli pepper, *Annals of Applied Biology*, 176 (2), 170-179.

Fortes, I. M., Moriones, E. ve Navas-Castillo, J., 2012, *Tomato chlorosis virus* in pepper: prevalence in commercial crops in southeastern Spain and symptomatology under experimental conditions, *Plant Pathology*, 61 (5), 994-1001.

Fraenkel-Conrat, H., 1988, Tobacco Necrosis, Satellite Tobacco Necrosis, and Related Viruses, In: The Plant Viruses: Polyhedral Virions with Monopartite RNA Genomes, Eds: Koenig, R., *Boston, MA*: Springer US, p. 147-161.

French, J. M., Goldberg, N. P., Randall, J. J. ve Hanson, S. F., 2016, New Mexico and the southwestern US are affected by a unique population of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) strains, *Archives of Virology*, 161 (4), 993-998.

García-Arenal, F., Fraile, A. ve Malpica, J. M., 2001, Variability and genetic structure of plant virus populations, *Annual Review of Phytopathology*, 39 (1), 157-186.

García-Cano, E., Resende, R. O., Fernández-Muñoz, R. ve Moriones, E., 2006, Synergistic Interaction Between *Tomato chlorosis virus* and *Tomato spotted wilt virus* Results in Breakdown of Resistance in Tomato, *Phytopathology*, 96 (11), 1263-1269.

Göbelez, M., 1953, Domateslerde önemli bir virüs hastalığı (Fern leaf ve- ya Fuger yapraklılık), *Tomurcuk*, 2 (15).

Gölükçü, M., Toker, R. ve Tokgöz, H., 2016, Domatesin Beslenme Özellikleri Ve Gıda Sanayisinde Değerlendirilmesi, *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*.

Grandillo, S., Chetelat, R., Knapp, S., Spooner, D., Peralta, I., Cammareri, M., Perez, O., Termolino, P., Tripodi, P. ve Chiusano, M. L., 2011, Solanum sect. Lycopersicon, In: Wild crop relatives: Genomic and breeding resources, Eds: Springer, p. 129-215.

Güldür, M. E., Marchoux, G., Yurtmen, M. ve Yılmaz, M. A., 1995, Mersin ve çevresinde yetiştirilen domateslerde zararlı yeni bir virüs: *Tomato spotted wilt virus*, *VII: Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, 26 (29), 303-305.

Güldür, M. E. ve Yılmaz, M. A., 1995, Şanlıurfa İlinde Domateslerde Saptanan Virüsler, *GAP Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri Sempozyumu*, Şanlıurfa, 27-29.

Güldür, M. E., 1997, Şanlıurfa ili için yeni bir virüs: Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted vilt virus), *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1 (3), 71–76.

Güldür, M. E. ve Çağlar, B. K., 2006, Outbreaks of *Pepper mild mottle virus* in greenhouses in Sanliurfa, Turkey, *Journal of Plant Pathology*, 88 (3), 341.

Güllü, M. ve Çalı, S., 1994, Doğu Akdeniz Bölgesi Örtüaltı Sebze Alanlarında Görülen Virüs Hastalıklarının Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar, *Bitki Koruma Bülteni*, 34 (3-4), 79-93.

Gümüş, M. ve Paylan, İ. C., 2013, Detection of viruses in seeds of some vegetables by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR), *African Journal of Biotechnology*, 12 (25), 3891-3897.

Güneş, N. ve Gümüş, M., 2019, Detection and Characterization of *Tomato spotted wilt virus* and *Cucumber mosaic virus* on Pepper Growing Areas in Antalya, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 25, 259–271.

Güvenç, İ. ve Kaymak, H. Ç., 2008, Türkiye'de Sebze Üretim ve Tüketimindeki Değişme, Gereksinim ve Projeksiyon, *Alınteri Zirai Bilimler Dergisi*, 15 (2), 40-45.

Güvenç, İ., 2017, Sebzecilik: Temel Bilgiler, Muhafaza ve Yetiştiricilik, Nobel Yayınları, p. 288.

Güvenç, İ., 2019, Türkiye'de Domates Üretimi, Dış Ticareti ve Rekabet Gücü, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22 (1), 57.

Güvenç, İ., 2020, Türkiye'de Biber Üretimi, Dış Ticareti ve Rekabet Gücü, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23 (2), 441-445.

Hajiabadi, A. M., Asaei, F., Abdollahi Mandoulakani, B. ve Rastgou, M., 2012, Natural incidence of tomato viruses in the North of Iran, *Phytopathologia Mediterranea*, 51 (2), 390-396.

Hančinský, R., Mihálik, D., Mrkvová, M., Candresse, T. ve Glasa, M., 2020, Plant Viruses Infecting Solanaceae Family Members in the Cultivated and Wild Environments: A Review, *Plants*, 9 (5), 667.

Hanssen, I. M., Lapidot, M. ve Thomma, B. P. H. J., 2010, Emerging Viral Diseases of Tomato Crops, *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23 (5), 539-548.

Hanssen, I. M. ve Thomma, B. P., 2010, *Pepino mosaic virus*: a successful pathogen that rapidly evolved from emerging to endemic in tomato crops, *Molecular Plant Pathology*, 11 (2), 179-189.

Hanssen, I. M. ve Lapidot, M., 2012, Major tomato viruses in the Mediterranean basin, In: Advances in virus research, Eds: Elsevier, p. 31-66.

Heinze, C., Willingmann, P., Schwach, F. ve Adam, G., 2003, An unusual large intergenic region in the S-RNA of a Bulgarian *Tomato spotted wilt virus* isolate, *Arch Virol*, 148 (1), 199-205.

Heusden, S. v. ve Lindhout, P., 2018, Genetics and Breeding, In: Tomatoes, Eds: Heuvelink, E., *Boston, USA: CABI.*

Hiskias, Y., Lesemann, D. E. ve Vetten, H. J., 1999, Occurrence, Distribution and Relative Importance of Viruses Infecting Hot Pepper and Tomato in the Major Growing Areas of Ethiopia, *Journal of Phytopathology*, 147 (1), 5-11.

Hord, M. J., García, A., Villalobos, H., Rivera, C., Macaya, G. ve Roossinck, M. J., 2001, Field Survey of *Cucumber mosaic virus* Subgroups I and II in Crop Plants in Costa Rica, *Plant Dis*, 85 (9), 952-954.

Hu, Z.-Z., Feng, Z.-K., Zhang, Z.-J., Liu, Y.-B. ve Tao, X.-R., 2011, Complete genome sequence of a *Tomato spotted wilt virus* isolate from China and comparison to other TSWV isolates of different geographic origin, *Archives of Virology*, 156 (10), 1905.

ICTV, 2020, ICTV Master Species List 2019.v1. July 2019,MSL #35. EC 51,Berlin, Germany, International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV).

ITIS, 2020, *Solanum lycopersicum* L. - Taxonomic Serial No.: 521671, ITIS (Integrated Taxonomic Information System) on-line database, https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=521671#null: [06.12.2020].

Jacquemond, M., 2012, *Cucumber mosaic virus*, *Advances in virus research*, 84, 439–504.

Jagger, I. C., 1916, Experiments with the cucumber mosaic disease, *Phytopathology*, 6 (2), 149-151.

Jiang, L., Huang, Y., Sun, L., Wang, B., Zhu, M., Li, J., Huang, C., Liu, Y., Li, F., Liu, Y., Dong, J., Zhang, Z. ve Tao, X., 2017, Occurrence and diversity of *Tomato spotted wilt virus* isolates breaking the *Tsw* resistance gene of *Capsicum chinense* in Yunnan, southwest China, *Plant Pathology*, 66 (6), 980-989.

Jones, D. T., Taylor, W. R. ve Thornton, J. M., 1992, The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences, *Bioinformatics*, 8 (3), 275-282.

Jones, R. A., 2004, Using epidemiological information to develop effective integrated virus disease management strategies, *Virus Res*, 100 (1), 5-30.

Jordá, C., Alfaro, A., Aranda, M., Moriones, E. ve Garcia-Arenal, F., 1992, Epidemic of *Cucumber mosaic virus* plus satellite RNA in tomatoes in eastern Spain, *Plant disease*, 76 (4), 363-366.

Juroszek, P., Racca, P., Link, S., Farhumand, J. ve Kleinhenz, B., 2020, Overview on the review articles published during the past 30 years relating to the potential climate change effects on plant pathogens and crop disease risks, *Plant Pathology*, 69 (2), 179-193.

Kahya, S., Büyükcangaz, E. ve Carlı, K. T., 2013, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Optimizasyonu, *Veteriner Hekimlikte Araştırma Dergisi*, 32 (1).

Kalaycıoğlu, A. T., 2013, Nükleotid Dizilerinin Aminoasit Formatına Dönüştürülmesi ve Dünya Veri Tabanlarındaki Verilerle Karşılaştırılması, *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 19 (2), 359-363.

Kandemir, D., Kurtar, S. ve Demirsoy, M., 2016, Türkiye örtüaltı domates yetiştiriciliğindeki gelişmeler, *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 5 (17), 22-27.

Kaper, J., Gallitelli, D. ve Tousignant, M., 1990, Identification of a 334-ribonucleotide viral satellite as principal aetiological agent in a tomato necrosis epidemic, *Research in Virology*, 141 (1), 81-95.

Karaca, İ., 1961, Genel Fitopatoloji, *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Yayınl.*.

Karanfil, A. ve Korkmaz, S., 2020, Çanakkale ve Tekirdağ İlleri Kanola Üretim Alanlarında Önemli Virüs Hastalıklarının Tanılanması ve Karakterizasyonu, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 57 (1), 53-62.

Karanfil, A. ve Korkmaz, S., 2021, Güney Marmara Bölgesi Kabakgil Üretim Alanlarında *Cucumber mosaic virus* Enfeksiyonunun Tespiti ve Genetik Çeşitliliği, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 58 (2), 31-40.

Kaya, A., Özdemir, S., Yasarakinci, N., Gümüs, M. ve Erkan, S., 2009, The detection of virus diseases in the protected tomato production areas around Muğla Province., *Acta Horticulturae*, 808, 203-206.

Kayode, A. B., Odu, B. O., Ako-Nai, K. A. ve Alabi, O. J., 2014, Occurrence of *Cucumber mosaic virus* Subgroups IA and IB Isolates in Tomatoes in Nigeria, *Plant disease*, 98 (12), 1750.

Kearney, C., Gonsalves, D. ve Provvidenti, R., 1990, A severe strain of *Cucumber mosaic virus* from China and its associated satellite RNA, *Plant disease*, 74 (10), 819-823.

Kenyon, L., Kumar, S., Tsai, W. S. ve Hughes, J., 2014, Virus diseases of peppers (*Capsicum spp.*) and their control, *Adv Virus Res*, 90, 297-354.

Kerlan, C. ve Moury, B., 2009, Potato Virus Y, In: Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology, Eds: van Regenmortel, M. H. ve Mahy, B. W.: Academic Press, p. 289-298.

Khoury, C. K., Carver, D., Barchenger, D. W., Barboza, G. E., Zonneveld, M., Jarret, R., Bohs, L., Kantar, M., Uchanski, M., Mercer, K., Nabhan, G. P., Bosland, P. W. ve Greene, S. L., 2020, Modelled distributions and conservation status of the wild relatives of chile peppers (Capsicum L.), *Diversity and Distributions*, 26 (2), 209–225.

Kibbe, W. A., 2007, OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator, *Nucleic Acids Research*, 35 (suppl_2), W43-W46.

Kil, E. J., Chung, Y. J., Choi, H. S., Lee, S. ve Kim, C. S., 2020, Life Cycle-Based Host Range Analysis for *Tomato spotted wilt virus* in Korea, *Plant Pathol J*, 36 (1), 67-75.

Kil, H., Kang, M., Choi, W.-S., Kim, J.-I., Phan, M. S. V., Im, J., Kim, M. ve Park, M.-R., 2018, Survey of the routes and incidence of viral infection of tomato and paprika growing in greenhouses in Cherwon province, Korea during 2015-2017, *Research in Plant Disease*, 24 (2), 145-152.

Kim, J.-S., Lee, S.-H., Choi, H.-S., Kim, M.-K., Kwak, H.-R., Kim, J.-S., Nam, M., Cho, J.-D., Cho, I.-S. ve Choi, G.-S., 2012, 2007-2011 Characteristics of plant virus infections on crop samples submitted from agricultural places, *Research in Plant Disease*, 18 (4), 277-289.

Kim, M. K., Seo, J. K., Kwak, H. R., Kim, J. S., Kim, K. H., Cha, B. J. ve Choi, H. S., 2014, Molecular genetic analysis of *Cucumber mosaic virus* populations infecting pepper suggests unique patterns of evolution in Korea, *Phytopathology*, 104 (9), 993-1000.

Kimura, M., 1980, A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences, *Journal of Molecular Evolution*, 16 (2), 111-120.

Kıran, Ö. F. ve Ertunç, F., 1998, Detection of the diseases of Solanaceous plants in Van province, *J. Turkish Phytopathology*, 27 (2-3), 105–111.

Kiss, E., Huszka, T. ve Ocsko, I., 2003, Pepper pathogen viruses and their control by resistance breeding and light summer oils. IOBC WPRS BULLETIN, 26(3), 201-210

Kışlak, R., 2018, Domates Bitkisinde Hastalık Oluşturan Pospiviroid Cinsi Viroidler, *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33 (1), 45–56.

Koç, G. ve Fidan, H., 2017, Türkiye'de *Cucumber mosaic virus* (CMV) için herdem yeşil bir konukçu: Polygala myrtifolia, *Derim*, 34 (1), 29–36.

Koundal, V., Haq, Q. M. R. ve Praveen, S., 2011, Characterization, Genetic Diversity, and Evolutionary Link of *Cucumber mosaic virus* Strain New Delhi from India, *Biochemical Genetics*, 49 (1), 25-38.

Kulshrestha, S., Sharma, A. ve Seth, C. A., 2013, Molecular biology of *Tomato spotted wilt virus*: An update, *Journal of Applied Horticulture*, 15 (2), 71-80.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. ve Tamura, K., 2018, MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms, *Molecular biology and evolution*, 35 (6), 1547-1549.

Lacomme, C., Pickup, J., Fox, A., Glais, L., Dupuis, B., Steinger, T., Rolot, J.-L., Valkonen, J. P., Kruger, K. ve Nie, X., 2017, Transmission and epidemiology of *Potato virus Y*, In: *Potato virus Y*: biodiversity, pathogenicity, epidemiology and management, Eds: Lacomme, C., Glais, L., Bellstedt, D. U., Dupuis, B., Karasev, A. V. ve Jacquot, E.: Springer, p. 141-176.

Laprom, A., Nilthong, S. ve Chukeatirote, E., 2019, Incidence of viruses infecting pepper in Thailand, *Biomolecular concepts*, 10 (1), 184-193.

Lavina, A., Aramburu, J. ve Moriones, E., 1996, Occurrence of tomato spotted wilt and *Cucumber mosaic virus*es in field-grown tomato crops and associated weeds in northeastern Spain, *Plant Pathology*, 45 (5), 837-842.

Lee, J.-S., Cho, W. K., Kim, M.-K., Kwak, H.-R., Choi, H.-S. ve Kim, K.-H., 2011, Complete genome sequences of three *Tomato spotted wilt virus* isolates from tomato and pepper plants in Korea and their phylogenetic relationship to other TSWV isolates, *Archives of Virology*, 156 (4), 725-728.

Lewandowski, D. J., 2009, Tobamovirus, In: Desk encyclopedia of plant and fungal virology, Eds: van Regenmortel, M. H. ve Mahy, B. W.: Academic Press, p. 330-334.

Li, N., Yu, C., Yin, Y., Gao, S., Wang, F., Jiao, C. ve Yao, M., 2020, Pepper Crop Improvement Against *Cucumber mosaic virus* (CMV): A Review, *Frontiers in Plant Science*, 11 (1932).

Lian, S., Lee, J.-S., Cho, W. K., Yu, J., Kim, M.-K., Choi, H.-S. ve Kim, K.-H., 2013, Phylogenetic and Recombination Analysis of *Tomato spotted wilt virus*, *PloS one*, 8 (5), e63380.

Liu, F., Feng, L., Chen, X., Han, Y., Li, W., Xu, W., Cai, B. ve Lin, M., 2012, Simultaneous Detection of Four Banana Viruses by Multiplex PCR, *Journal of Phytopathology*, 160 (11-12), 622-627.

Liu, Y., Li, F., Li, Y., Zhang, S., Gao, X., Xie, Y., Yan, F., Zhang, A., Dai, L., Cheng, Z., Ding, M., Niu, Y., Wang, S., Che, H., Jiang, T., Shi, X., He, Z., Wu, Y., Zhang, D., Qing, L., Yan, W., Yang, X., Tang, Y., Zheng, H., Tang, Q., Zhang, S., Zhang, D., Cai, L. ve Tao, X., 2019, Identification, distribution and occurrence of viruses in the main vegetables of China, *Scientia Agricultura Sinica*, 52 (2), 239-261.

López, C., Aramburu, J., Galipienso, L., Soler, S., Nuez, F. ve Rubio, L., 2010, Evolutionary analysis of tomato *Sw-5* resistance-breaking isolates of *Tomato spotted wilt virus*, *The Journal of general virology*, 92, 210-215.

Margaria, P., Ciuffo, M., Pacifico, D. ve Turina, M., 2007, Evidence That the Nonstructural Protein of *Tomato spotted wilt virus* Is the Avirulence Determinant in the Interaction with Resistant Pepper Carrying the Tsw Gene, *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 20 (5), 547-558.

Margaria, P., Ciuffo, M., Rosa, C. ve Turina, M., 2015, Evidence of a *Tomato spotted wilt virus* resistance-breaking strain originated through natural reassortment between two evolutionary-distinct isolates, *Virus Res*, 196, 157-161.

Margaria, P. ve Rosa, C., 2015, First complete genome sequence of a *Tomato spotted wilt virus* isolate from the United States and its relationship to other TSWV isolates of different geographic origin, *Archives of Virology*, 160 (11), 2915-2920.

Maris, P. C., Joosten, N. N., Goldbach, R. W. ve Peters, D., 2004, *Tomato spotted wilt virus* Infection Improves Host Suitability for Its Vector *Frankliniella occidentalis*, *Phytopathology*, 94 (7), 706–711.

Mascia, T., Cillo, F., Fanelli, V., Finetti-Sialer, M. M., De Stradis, A., Palukaitis, P. ve Gallitelli, D., 2010, Characterization of the Interactions Between *Cucumber mosaic virus* and *Potato virus Y* in Mixed Infections in Tomato, *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 23 (11), 1514-1524.

Massumi, H., Shaabanian, M., Pour, A. H., Heydarnejad, J. ve Rahimian, H., 2009, Incidence of viruses infecting tomato and their natural hosts in the southeast and central regions of Iran, *Plant disease*, 93 (1), 67-72.

Mehle, N. ve Ravnikar, M., 2012, Plant viruses in aqueous environment – Survival, water mediated transmission and detection, *Water Research*, 46 (16), 4902-4917.

Melcher, U. ve Ali, A., 2018, Virus–Virus Interactions in Plants, In: Plant Viruses: Diversity, Interaction and Management, Eds: Gaur, R. K., Khurana, S. P., Dorokhov, Y. : CRC Press, p. 249-266.

Memento Database, 2019, *Memento Database (Verisyon 4.6.5) [Mobil telefon uygulaması]*, Erişim: Google Play Store (https://play.google.com/store/apps/details?id=com.luckydroid.droidbase&hl=tr&gl=US).

Mertelik, J., Götzová, B. ve Mokrá, V., 1996, Epidemiological aspects of *Tomato spotted wilt virus* infection in the Czech Republic, *IX International Symposium on Virus Diseases of Ornamental Plants 432*, 368-375.

Mheedi, R. N. ve Kassem, N. A., 2018, Evaluation Transmission viruses *Tomato mosaic virus* (ToMV) by Soil on Nineveha Governorate / Iraq, *Journal of Kerbala for Agricultural Sciences*, 5 (5), 653-668.

Mijatović, M., Zdravković, J., Marković, Ž. ve Obradović, A., 2000, Disease intensity of some tomato viroses in Serbia, *Acta Physiologiae Plantarum*, 22 (3), 332-335.

Mitrea, L., Călinoiu, L.-F., Martău, G.-A., Szabo, K., Teleky, B.-E., Mureșan, V., Rusu, A.-V., Socol, C.-T. ve Vodnar, D.-C., 2020, Poly (vinyl alcohol)-Based Biofilms Plasticized with Polyols and Colored with Pigments Extracted from Tomato By-Products, *Polymers*, 12 (3), 532.

Mochizuki, T. ve Ohki, S. T., 2012, *Cucumber mosaic virus*: viral genes as virulence determinants, *Molecular Plant Pathology*, 13 (3), 217–225.

Mongkolporn, O. ve Taylor, P. W., 2011, Capsicum, In: Wild Crop relatives: Genomic and breeding resources, Eds: Springer, p. 43-57.

Moodley, V., Gubba, A. ve Mafongoya, P. L., 2019, Prevalence, epidemiology and molecular studies of *Tomato chlorosis virus* (ToCV) in South Africa, *PloS one*, 14 (7), e0220298-e0220298.

Moriones, E., Aramburu, J., Riudavets, J., Arnó, J. ve Laviña, A., 1998, Effect of plant age at time of infection by *Tomato spotted wilt tospovirus* on the yield of field-grown tomato, *European Journal of Plant Pathology*, 104 (3), 295-300.

Moury, B. ve Verdin, E., 2012, Viruses of pepper crops in the Mediterranean basin: a remarkable stasis, *Advances in virus research*, 84, 127-162.

Moussa, A. B., Makni, M. ve Marrakchi, M., 2000, Identification of the principal viruses infecting tomato crops in Tunisia, *EPPO Bulletin*, 30 (2), 293-296.

Muhire, B. M., Varsani, A. ve Martin, D. P., 2014, SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation, *PloS one*, 9 (9), e108277.

Mun, H. Y., Park, M.-R., Lee, H. B. ve Kim, K.-H., 2008, Outbreak of *Cucumber mosaic virus* and *Tomato spotted wilt virus* on bell pepper grown in Jeonnam province in Korea, *The plant pathology journal*, 24 (1), 93-96.

Murphy, J. F., Zitter, T. A. ve Erb, A., 2003, *Tobacco mosaic virus* in Jalapeno Pepper in New York, *Plant disease*, 87 (2), 202-202.

Nikolić, D., Vučurović, A., Stanković, I., Radović, N., Zečević, K., Bulajić, A. ve Krstić, B., 2018, Viruses affecting tomato crops in Serbia, *European Journal of Plant Pathology*, 152 (1), 225-235.

Nogay, A., 1986, Trakya'da Önemli Domates Ekim Alanlarında Görülen Domates Sürgün Yanıklığı Üzerinde Ön Çalışmalar, *Bitki Koruma Bülteni*, 26 (1-2), 23-39.

Ogunsola, K. E., Ilori, C., Fatokun, C. A., Boukar, O., Ogunsanya, P. ve Kumar, P. L., 2020, Disease incidence and severity in cowpea lines evaluated for resistance to single and multiple infections of endemic viruses in Nigeria, *Journal of Crop Improvement*, 1-26.

Ohshima, K., Matsumoto, K., Yasaka, R., Nishiyama, M., Soejima, K., Korkmaz, S., Ho, S. Y., Gibbs, A. J. ve Takeshita, M., 2016, Temporal analysis of reassortment and molecular evolution of *Cucumber mosaic virus*: Extra clues from its segmented genome, *Virology*, 487, 188-197.

Okada, K., Kusakari, S.-i., Kawaratani, M., Negoro, J.-i., Ohki, S. T. ve Osaki, T., 2000, *Tobacco mosaic virus* Is Transmissible from Tomato to Tomato by Pollinating Bumblebees, *Journal of General Plant Pathology*, 66 (1), 71-74.

Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M. ve team, t. U., 2012, Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit, *Bioinformatics*, 28 (8), 1166-1167.

Okutucu, B. ve Pehlivan, S., 2003, Reverz-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ve Uygulama Alanları, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 12 (2).

Olawale, A., Samuel, B. O., Solomon, A. S. O. ve Kumar, P. L., 2015, Surveys of virus diseases on pepper (*Capsicum spp*.) in South-west Nigeria, *African Journal of Biotechnology*, 14 (48), 3198-3205.

Oliver, J. E. ve Whitfield, A. E., 2016, The Genus Tospovirus: Emerging Bunyaviruses that Threaten Food Security, *Annual Review of Virology*, 3 (1), 101-124.

Ong, S. N., Taheri, S., Othman, R. Y. ve Teo, C. H., 2020, Viral disease of tomato crops (*Solanum lycopesicum* L.): an overview, *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127 (6), 725-739.

Özalp, M. O., 1961, Ege bölgesinde görülen sebze virüsleri, *Bitki Koruma Bülteni*, 2 (10), 25-30.

Özalp, M. O., 1964, İzmir'de sebzeler de görülen virüs hastalıkları, *Bitki Koruma Bülteni*, 4 (1), 18-25.

Özaslan, M., Baş, B., Aytekin, T. ve Sığırcı, Z., 2006, Identification of Pepper Viruses by Das-ELISA Assays in Gaziantep-Turkey, *Plant Pathology Journal*, 5 (1), 11–14.

Özcan, M., 2016, Domateste Muhafaza Yöntemleri, *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 17, 28–31.

Özdağ, Y. ve Sertkaya, G., 2017, Investigation on viruses causing yellowing disease in pepper in Hatay-Turkey, *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (1), 16–22.

Özdemir, S. ve Erilmez, S., 2007, Denizli İlinde Yetiştirilen Biber, Patlıcan ve Marul Üretim Alanlarında Bazı Viral Etmenlerin Saptanması, *Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi*, Isparta.

Özdemir, S., Erilmez, S. ve Kaçan, K., 2009, Detection of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) on Tomato Crops and Some Weeds in Denizli Province of Turkey, *Acta Horticulturae*, 808, 171–174.

Özdemir, S., 2010, First report of *Pepino mosaic virus* in Tomato in Turkey, *Journal of Plant Pathology*, 92 (4), S107.

Özer-Dilmen, M. ve Sipahioğlu, M., 2017, Investigation The Viral Diseases Using RT-PCR in The Tomato Growing Areas of VAN Lake Basin, *The 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity*, Minsk - Belarus, 556.

Özgöz, A., Baykal, N. ve Erkan, S., 1995, Studies on determination and incidence of tomato virus diseases in Bursa province. 7th Turkish Phytopathology Congress held at the University of Cukurova. Adana,Turkey**:** 256 – 259.

Özkan, M., 1957, Türkiye Sebze Ziraatinde Hıyar Mozayık Virüsü, *Tomurcuk*, 6 (65), 16-21.

Öztürk, P. K., Argün, D., Baloğlu, S. ve Keleş, D., 2019, Effects of *Tobacco etch virus* (TEV) on the Yield and Quality of Karaisali Pepper Populations, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 25 (2), 247–257.

Öztürk, P. K. ve Baloğlu, S., 2019, Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Açık Alanda Yetiştirilen Biberlerde Bazı Virüslerin Serolojik ve Moleküler Tanısı, *Alatarım*, 18 (1), 1–11.

Öztürk, P. K. ve Baloğlu, S., 2020, Adana İlinde Açık Alanda Yetiştirilen Biberlerde Virüs Hastalıklarının Belirlenmesi, *Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 39 (7).

Padmanabhan, C., Ma, Q., Shekasteband, R., Stewart, K. S., Hutton, S. F., Scott, J. W., Fei, Z. ve Ling, K.-S., 2019, Comprehensive transcriptome analysis and functional characterization of PR-5 for its involvement in tomato Sw-7 resistance to *Tomato spotted wilt tospovirus*, *Scientific reports*, 9 (1), 7673.

Palukaitis, P., Roossinck, M. J., Dietzgen, R. G. ve Francki, R. I., 1992, *Cucumber mosaic virus*, *Adv Virus Res*, 41, 281-348.

Palukaitis, P. ve García-Arenal, F., 2003, Cucumoviruses, *Adv Virus Res*, 62, 241-323.

Pappu, H. R., Jones, R. A. C. ve Jain, R. K., 2009, Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: Successes achieved and challenges ahead, *Virus research*, 141 (2), 219-236.

Parrella, G., Gognalons, P., Gebre-Selassiè, K., Vovlas, C. ve Marchoux, G., 2003, An update of the host range of *Tomato spotted wilt virus*, *Journal of Plant Pathology*, 85 (4), 227–264.

Parrella, G., Greco, B. ve Troiano, E., 2016, Severe Symptoms of Mosaic and Necrosis in Bell Pepper Associated With Parietaria mottle virus in Italy, *Plant disease*, 100 (7), 1514.

Paylan, İ. C. ve Çandar, A., 2018, Türkiye'de sebze tohumlarında bulunabilen viral etmenlerin durumu, Uluslararası Katılımlı Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi, *Muğla.*

Pazarlar, S., Gümüş, M. ve Öztekin, G. B., 2013, The effects of *Tobacco mosaic virus* infection on growth and physiological parameters in some pepper varieties (*Capsicum annuum L.*), *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41 (2), 427–433.

Pernezny, K., Roberts, P. D., Murphy, J. F. ve Goldberg, N. P., 2003, Compendium of pepper diseases, *St. Paul*, American Phytopathological Society (APS Press).

Petrov, N., 2015, Mixed viral infections in tomato as a precondition for economic loss, *Agricultural Science and Technology*, 7 (1), 124–128.

Petrović, D., Bulajić, A., Stanković, I., Ignjatov, M., Vujaković, M. ve Krstić, B., 2010, Prisustvo i rasprostranjenost virusa paprike u Srbiji, *Field & Vegetable Crops Research/Ratarstvo i povrtarstvo*, 47 (2).

Popp, J. ve Hantos, K., 2011, The impact of crop protection on agricultural production, *Studies in Agricultural Economics*, 113 (1), 47-66.

Price, W., 1938, Studies on the virus of tobacco necrosis, *American journal of botany*, 25 (8), 603-612.

Prins, M. ve Goldbach, R., 1998, The emerging problem of tospovirus infection and nonconventional methods of control, *Trends in Microbiology*, 6 (1), 31-35.

Raiola, A., Rigano, M. M., Calafiore, R., Frusciante, L. ve Barone, A., 2014, Enhancing the Health-Promoting Effects of Tomato Fruit for Biofortified Food, *Mediators of Inflammation*, 2014, 139873.

Riley, D. G., Joseph, S. V., Srinivasan, R. ve Diffie, S., 2011, Thrips Vectors of Tospoviruses, *Journal of Integrated Pest Management*, 2 (1), I1-I10.

Roberts, A. G., 2014, Plant Viruses: Soil-borne, *eLS*, 1-12.

Rodríguez, Y., Rangel, E., Centeno, F., Mendoza, O. ve Parra, A., 2004, Detection of viral diseases affecting sweet pepper in Counties Iribarren, Jiménez and Torres of Lara State, Venezuela, using ELISA technique, *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*, 21 (2), 105-115.

Roossinck, M. J., 2002, Evolutionary history of *Cucumber mosaic virus* deduced by phylogenetic analyses, *Journal of Virology*, 76 (7), 3382-3387.

Ruşen, K. ve Önelge, N., 2016, Domates Bitkisinde Pospiviroid Cinsi Viroid Etmenlerinin Varlığının Araştırılması ve Moleküler Karakterizasyonu, *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 31 (2), 27-34.

Salánki, K., Thole, V., Balázs, E. ve Burgyán, J., 1994, Complete nucleotide sequence of the RNA 3 from subgroup II of *Cucumber mosaic virus* (CMV) strain: Trk7, *Virus research*, 31 (3), 379-384.

Saleh, B., Omer, A. ve Teweldemedhin, B., 2018, Medicinal uses and health benefits of chili pepper (*Capsicum spp*.): a review, *MOJ Food Process Technol*, 6 (4), 325-328.

Samuels, J., 2015, Biodiversity of food species of the Solanaceae family: a preliminary taxonomic inventory of subfamily Solanoideae, *Resources*, 4 (2), 277-322.

Sastry, K. S. ve Zitter, T. A., 2014, Ecology and Epidemiology of Virus and Viroid Diseases of Tropical Crops, In: Plant Virus and Viroid Diseases in the Tropics: Volume 2: Epidemiology and Management, Eds: Sastry, K. S. ve Zitter, T. A., *Dordrecht*: Springer Netherlands, p. 1-148.

Scholthof, K.-B. G., 2004, *Tobacco mosaic virus*: a model system for plant biology, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 42, 13-34.

Scholthof, K. B. G., Adkins, S., Czosnek, H., Palukaitis, P., Jacquot, E., Hohn, T., Hohn, B., Saunders, K., Candresse, T. ve Ahlquist, P., 2011, Top 10 plant viruses in molecular plant pathology, *Molecular Plant Pathology*, 12 (9), 938-954.

Sepúlveda, P. R., Larraín, P. S., Quiroz, C. E., Rebufel, P. A. ve Graña, F. S., 2005, Identification and incidence of pepper viruses in north central Chile and its association with vectors, *Agricultura Tecnica*, 65 (3), 235-245.

Sertkaya, G. ve 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.

Sialer, M. M. F., Lanave, C., Padula, M., Vovlas, C. ve Gallitelli, D., 2002, Occurrence of Two Dıstınct *Tomato spotted wılt vırus* Subgroups in Southern Italy, *Journal of Plant Pathology*, 84 (3), 145-152.

Sikora, E. J., Gudauskas, R. T., Murphy, J. F., Porch, D. W., Andrianifahanana, M., Zehnder, G. W., Bauske, E. M., Kemble, J. M. ve Lester, D. F., 1998, A Multivirus Epidemic of Tomatoes in Alabama, *Plant Dis*, 82 (1), 117-120.

Singh, S., Awasthi, L. ve Jangre, A., 2020, Transmission of plant viruses in fields through various vectors, In: Applied Plant Virology, Eds: Elsevier, p. 313-334.

Soleimani, P., Hosseini, S. ve Hosseini, A., 2014, Distribution of some viral disease on pepper (*Capsicum annuum*) plants in Dezful fields from Iran, *Bulletin of Environmental, Pharmacology and Life Sciences*, 3, 111-114.

Soler, S., Prohens, J., López, C., Aramburu, J., Galipienso, L. ve Nuez, F., 2010, Viruses Infecting Tomato in València, Spain: Occurrence, Distribution and Effect of Seed Origin, *Journal of Phytopathology*, 158 (11-12), 797-805.

Sönmez, K. ve Ellialtıoğlu, Ş., 2014, Domates, karotenoidler ve bunları etkileyen faktörler üzerine bir inceleme, *Derim*, 31 (2), 107-130.

Spanò, R., Ferrara, M., Gallitelli, D. ve Mascia, T., 2020, The role of grafting in the resistance of tomato to viruses, *Plants*, 9 (8), 1042.

Stamova, B. S. ve Chetelat, R. T., 2000, Inheritance and genetic mapping of *Cucumber mosaic virus* resistance introgressed from *Lycopersicon chilense* into tomato, *Theoretical and Applied Genetics*, 101 (4), 527-537.

Strati, I. F. ve Oreopoulou, V., 2014, Recovery of carotenoids from tomato processing by-products – a review, *Food Research International*, 65, 311-321.

Sulistyowati, E., Mitter, N., Bastiaan-Net, S., Roossinck, M. J. ve Dietzgen, R. G., 2004, Host range, symptom expression and RNA 3 sequence analyses of six Australian strains of *Cucumber mosaic virus*, *Australasian Plant Pathology*, 33 (4), 505-512.

Sundaraj, S., Srinivasan, R., Culbreath, A. K., Riley, D. G. ve Pappu, H. R., 2014, Host plant resistance against *Tomato spotted wilt virus* in peanut (*Arachis hypogaea*) and its impact on susceptibility to the virus, virus population genetics, and vector feeding behavior and survival, *Phytopathology*, 104 (2), 202-210.

Svoboda, J. ve Svobodová-Leišová, L., 2012, Occurrence of viruses on pepper plantations in the Czech Republic-Short communication, *Horticultural Science*, 39 (3), 139-143.

Syller, J., 2012, Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections, *Mol Plant Pathol*, 13 (2), 204-216.

Szabo, K., Cătoi, A.-F. ve Vodnar, D. C., 2018, Bioactive compounds extracted from tomato processing by-products as a source of valuable nutrients, *Plant Foods for Human Nutrition*, 73 (4), 268-277.

Şevik, M. A., 2008, Thrips (Thripidae: Thysanoptera) Türleri İle Taşınan Bitki Virüsleri, *Derim*, 25, 01-11.

Şevik, M. A., 2011, Topraksız Tarımda (Hidroponik Kültür) Bitki Patojeni Virüsler, *Anadolu Tarim Bilimleri Dergisi*, 26 (2), 176-180.

Şevik, M. A. ve Deligöz, İ., 2016, Ülkemizde Domateslerde Görülen Yeni Bir Viral Etmen: *Pepino mosaic virus* (PepMV), *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26 (2), 300–307.

Şimşek, E. ve Güldür, M. E., 2016, Şanlıurfa İlinde Biber Yetiştirilen Alanlarda Bazı Virüslerin Yaprak Bitleriyle (Hemiptera: Aphididae) Yayılmasında *Physalis spp.* Bitkilerinin Rolü, *Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi*, Konya.

Şin, B. ve Önen, H., 2015, İstilacı Yabancı Otlarda Görülen Önemli Bazı Virüs Hastalıkları, *Türkiye Herboloji Dergisi*, 18 (3), 67–68.

Şin, B. ve Arlı-Sökmen, M., 2016, Amasya, Samsun ve Tokat İllerinden Alınan Domates Örneklerinde *Tomato spotted wilt virus* Enfeksiyonunun Araştırılması, Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi,

Tamura, K., 1992, Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+ C-content biases, *Mol Biol Evol*, 9 (4), 678-687.

Tatineni, S., Stewart, L. R., Sanfaçon, H., Wang, X., Navas-Castillo, J. ve Hajimorad, M. R., 2020, Fundamental Aspects of Plant Viruses-An Overview on Focus Issue Articles, *Phytopathology*, 110 (1), 6-9.

TB, 2017, Yaş Sebze ve Meyve Sektörü Raporu, *Ticaret Bakanlığı (TB) - Sektör Raporları*.

TEBGE, 2020, Domates, *Tarım ve Orman Bakanlığı*, *TEBGE (Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Müdürlüğü), Tarım Ürünleri Piyasaları Raporu, Ürün No: BÜ-06*.

Tekinel, N., Dolar, M. S., Sağsöz, S. ve Salcan, Y., 1969, Mersin bölgesinde ekonomik bakımdan önemli bazı sebzelerin virüsleri üzerinde araştırmalar, *Bitki Koruma Bülteni*, 9 (1), 37–49.

Tekinel, N., 1973, Adana, Antalya, Hatay ve İçel illerinde domates virüs hastalıklarının yayılış alanlarının ve oranlarının tespiti üzerinde araştırmalar, *Bitki Koruma Bülteni*, 13 (3), 107-141.

Tentchev, D., Verdin, E., Marchal, C., Jacquet, M., Aguilar, J. M. ve Moury, B., 2011, Evolution and structure of *Tomato spotted wilt virus* populations: evidence of extensive reassortment and insights into emergence processes, *Journal of General Virology*, 92, 961-973.

Thompson, J. D., Higgins, D. G. ve Gibson, T. J., 1994, CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice, *Nucleic Acids Research*, 22 (22), 4673-4680.

Thompson, J. R., Langenhan, J. L., Fuchs, M. ve Perry, K. L., 2015, Genotyping of *Cucumber mosaic virus* isolates in western New York State during epidemic years: Characterization of an emergent plant virus population, *Virus Res*, 210, 169-177.

TOB, 2020, Örtü Altı Yetiştiricilik Bitkisel Üretim Verileri, Tarım ve Orman Bakanlığı (TOB) Konuları, https://www.tarimorman.gov.tr/Konular/Bitkisel-Uretim/Tarla-Ve-Bahce-Bitkileri/Ortu-Alti-Yetistiricilik: [08.12.2020].

Topkaya, Ş. ve Ertunç, F., 2017, Bitki Patojeni Virüslerde Örtü Proteininin (Cp) Yapısı ve Fonksiyonları, *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 6 (3), 116–126.

Toprakçı, N. ve Göçmen, H., 2016, Domates zararlıları, *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 17, 60-65.

Trebicki, P., 2020, Climate change and plant virus epidemiology, *Virus research*, 286, 198059.

Tsedaley, B., 2015, A review paper on *Potato virus Y* (PVY) biology, economic importance and its managements, *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 5 (9), 110-126.

Tsompana, M., Abad, J., Purugganan, M. ve Moyer, J., 2005, The molecular population genetics of the *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) genome, *Molecular Ecology*, 14 (1), 53-66.

Turhan, P. ve Korkmaz, S., 2006, Çanakkale ilinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün serolojik ve biyolojik yöntemlerle saptanması, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12 (2), 130–136.

Turina, M., Tavella, L. ve Ciuffo, M., 2012, Tospoviruses in the Mediterranean area, *Adv Virus Res*, 84, 403-437.

TÜİK, 2020, Tarımsal Veritabanları, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)-Veritabanları, https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=Tarim-111: [09.12.2020].

Tzanetakis, I., Martin, R. ve Wintermantel, W., 2013, Epidemiology of criniviruses: an emerging problem in world agriculture, *Frontiers in microbiology*, 4 (119).

UİB, 2019, Yaş Meyve Sebze Sektör Raporu, *Uludağ İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği Arge Şubesi*.

Usta, M., Güler, A. ve Günay, A., 2020, The molecular characterization of the coat protein sequence and differentiation of CMV- subgroup I on tobacco from native flora in Turkey, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48 (2).

Uzunoğulları, N. ve Gümüş, M., 2018, Bilecik, Bursa ve İstanbul illerinde domates bitkilerinde Tospovirusların tespiti ve moleküler karakterizasyonu, *Uluslararası Katılımlı Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi* Muğla.

Ünlü, A., Baysal, Ö., Polat, İ., Sülü, S. M., İkten, H., Devran, Z. ve Gümrükçü, E., 2017, Batı Akdeniz Bölgesi örtüaltı yetiştiriciliğinde sorun olan domateste Bakteriyel Benek (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* "Okabe" YD &W) hastalık etmeni izolatlarının genetik farklılıklarının moleküler yöntemlerle tespiti, *Derim*, 34 (2), 122-130.

Ünlü, Ş. ve Güldür, M. E., 2004, Şanlıurfa ilinde biberlerde Hıyar mozayik virüsü (CMV)'nün bulaşıklık oranının belirlenmesi, *Hr. Ü. ZF Dergisi*, 8 (3/4), 83–89.

Vallad, G. E., Messelink, G. ve Smith, H. A., 2018, Crop protection: Pest and Disease Management, In: Tomatoes, Eds: CABI, p. 207-257.

Van Regenmortel, M. H., 2009, *Tobacco mosaic virus*, In: Desk encyclopedia of plant and fungal virology, Eds: van Regenmortel, M. H. ve Mahy, B. W.: Academic Press, p. 324-330.

Vinodhini, J., Rajendran, L., Raveendran, M., Rajasree, V. ve Karthikeyan, G., 2020, Characterization of *Cucumber mosaic virus* (CMV) subgroup IB infecting chilli in Tamil Nadu, India, *3 Biotech*, 10 (11).

Voytas, D., 2000, Agarose gel electrophoresis, *Current protocols in molecular biology*, 51 (1), 2.5 A. 1-2.5 A. 9.

Wakil, W., Brust, G. E. ve Perring, T. M., 2018, Tomato and Management of Associated Arthropod Pests: Past, Present, and Future, In: Sustainable Management of Arthropod Pests of Tomato, Eds: Elsevier, p. 3-12.

Walkey, D. G., 2012, Virus Symptoms, In: Applied Plant Virology 2nd Edition, Eds: Walkey, D. G.: Springer Science & Business Media, p. 70-102.

Wan, Y., Hussain, S., Merchant, A., Xu, B., Xie, W., Wang, S., Zhang, Y., Zhou, X. ve Wu, Q., 2020, *Tomato spotted wilt orthotospovirus* influences the reproduction of its insect vector, western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, to facilitate transmission, *Pest Management Science*, 76 (7), 2406-2414.

Wang, S., Tan, W., Yang, Y., Dai, H., Sun, X., Qiao, N. ve Zhu, X., 2017, Molecular detection and identification of main viruses on pepper in Shandong province, *Sci Agr Sin*, 50, 2728-2738.

Wangai, A., Mandal, B., Pappu, H. ve Kilonzo, S., 2001, Outbreak of *Tomato spotted wilt virus* in tomato in Kenya, *Plant disease*, 85 (10), 1123-1123.

Weintraub, P. G., 2007, Integrated control of pests in tropical and subtropical sweet pepper production, *Pest Management Science*, 63 (8), 753-760.

Westerdijk, T., 1910, Die Mosaikkrankheit der Tomaten, *Med. Phytopathol. Lab. 'Willie Commelin Scholten', Baam l.*

Wintermantel, W. M. ve Wisler, G. C., 2006, Vector Specificity, Host Range, and Genetic Diversity of *Tomato chlorosis virus*, *Plant disease*, 90 (6), 814-819.

Wylie, S., Wilson, C., Jones, R. ve Jones, M., 1993, A polymerase chain reaction assay for *Cucumber mosaic virus* in lupin seeds, *Australian Journal of Agricultural Research*, 44 (1), 41-51.

Xu, Y., Zhang, S., Shen, J., Wu, Z., Du, Z. ve Gao, F., 2021, The phylogeographic history of *Tomato mosaic virus* in Eurasia, *Virology*, 554, 42-47.

Yadav, K. ve Yadav, P., 2017, The effect of different mechanism of transmission on transavaibility of *Tomato mosaic virus*, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6 (6), 448-450.

Yang, Y., Kim, K. S. ve Anderson, E. J., 1997, Seed transmission of *Cucumber mosaic virus* in spinach, *Phytopathology*, 87 (9), 924-931.

Yardımcı, N. ve Kılıç, H. Ç., 2002, Isparta yöresindeki domateslerde tütün mozayik virusu ve hıyar mozayik virusunun saptanması, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6 (2), 51–56.

Yardımcı, N. ve Eryigit, H., 2006, Identification of *Cucumber mosaic virus* in tomato (*Lycopersicon esculentum*) growing areas in the north-west Mediterranean region of Turkey, *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34 (2), 173–175.

Yardımcı, N. ve Çulal-Kılıç, H., 2009, *Tomato spotted wilt virus* in vegetable growing areas in the west mediterranean region of Turkey, *African Journal of Biotechnology*, 8 (18), 4539–4541.

Yaşar, Y. ve İnanç, N., 2019, Kırmızı Biberin Besin Alımı ve Enerji Metabolizması Üzerine Etkileri, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8 (4), 451-459.

Ye, J., Coulouris, G., Zaretskaya, I., Cutcutache, I., Rozen, S. ve Madden, T. L., 2012, Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction, *BMC Bioinformatics*, 13, 134.

Yeşil, S., 2013, Konya, Karaman ve Aksaray illeri kabakgil ekim alanlarında görülen virüs hastalıklarının serolojik ve moleküler yöntemlerle tespiti ve enfeksiyon kaynaklarının belirlenmesi, Doktora Tezi, *Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 1-127.

Yeşilyurt, N. ve Çevik, B., 2019, Genetic diversity and phylogenetic analyses of *Tomato chlorosis virus* isolates using the coat protein gene sequences, *Journal of Plant Pathology*, 101 (4), 1143-1150.

Yılmaz, F. ve Sipahioğlu, M., 2020, Diyarbakır ili domates üretim alanlarındaki bazı önemli virüslerin moleküler yöntemler ile teşhisi ve moleküler karakterizasyonu, *Bitki Koruma Bülteni*, 60 (4), 49-58.

Yılmaz, M. A. ve Davis, R. F., 1985, Identification of viruses infecting vegetable crops along the Mediterranean Sea coast in Turkey, *Journal of Turkish Phytopathology*, 14 (1), 1–8.

Yılmaz, M. A., Baloğlu, S., Özaslan, M. ve Güldür, M. E., 1995, GAP bölgesinde kültür bitkilerinde belirlenen virüsler, *GAP Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri Sempozyumu*, Şanlıurfa, 241-250.

Yılmaz, S. ve Devran, Z., 2016, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Bitki Biyoteknolojisinde Yaygın Uygulamaları, *Derim*, 20 (1), 31-42.

Yucel, S., Can, C., Yurtmen, M., Cetinkaya-Yildiz, R. ve Aysan, Y., 2008, Tomato pathology in Turkey, *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 2 (1), 38-47.

Yucel, S., Kececi, M., Yurtmen, M., Yildiz, R. C., Ozarslandan, A. ve Can, C., 2013, Integrated pest management of protected vegetable cultivation in Turkey, *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 7 (1), 7-13.

Yurtmen, M., Güldür, M. E. ve Yılmaz, M. A., 1999, *Tomato spotted wilt virus* on peppers in Icel Province of Turkey, *Petria*, 9 (3), 243–344.

Zhang, X., Zhao, H., Wang, D., Guo, S., Liu, Y. ve Niu, Y., 2018, Sequence and subgroup analysis of two new isolates of *Cucumber mosaic virus* (CMV) in Shanxi, *Acta Phytopathologica Sinica*, 48 (1), 35-45.

Zhang, Z., Wang, D., Yu, C., Wang, Z., Dong, J., Shi, K. ve Yuan, X., 2016, Identification of three new isolates of *Tomato spotted wilt virus* from different hosts in China: molecular diversity, phylogenetic and recombination analyses, *Virology Journal*, 13, 8-8.

Zindovic, J., Ciuffo, M. ve Turina, M., 2014, Molecular characterization of *Tomato spotted wilt virus* in Montenegro, *Journal of Plant Pathology*, 96 (1), 201-205.

Zindović, J., Bulajić, A., Krstić, B., Ciuffo, M., Margaria, P. ve Turina, M., 2011, First Report of *Tomato spotted wilt virus* on Pepper in Montenegro, *Plant Dis*, 95 (7), 882.

Zitter, T. ve Murphy, J., 2009, Cucumber mosaic, *The Plant Health Instructor*, 10, 516-518.

7.EKLER

EK-1. DAS-ELISA yönteminde kullanılan tampon çözeltiler ve hazırlanışları..... 111

EK-2. Silika jel protokolünde kullanılan tampon çözeltiler ve miktarları 112

EK-3. 1L 50X TAE solüsyonu için gereken kimyasalların miktarı ve hazırlanışı 113

EK-4. Eskişehir izolatlarına ait nükleik asit dizilimleri 114

EK-1. DAS-ELISA yönteminde kullanılan tampon çözeltiler ve hazırlanışları

1.Fosfat tampon çözeltisi (Phosphate Buffered Saline-PBS)

Sodium choloride (NaCl)	8,0 g
Potassium phosphate monobasic (anhydrous- KH_2PO_4)	0,2 g
Sodium phosphate dibasic dodecahydrate ($Na_2HPO_4.12H_2O$) veya	2,9 g
Sodium phosphate dibasic heptahydrate ($Na_2HPO_4.7H_2O$)	2,3 g
Sodium phosphate dibasic dihydrate ($Na_2HPO_4.2H_2O$)	1,44 g
Sodium phosphate dibasic (anhydrous-Na_2HPO_4)	1,15 g
Potassium chloride (KCl)	0,2 g
Sodium azide (NaN_3)	0,2 g

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'ı 0,1 M NaOH veya 0,1 M HCl ile 7,4'e ayarlanıp ve +4ºC'de muhafaza edilmiştir.

2.Kaplama tampon çözeltisi (Coating Buffer)

1,59 g Sodium carbonate (Na_2CO_3), 2,93 g Sodium bicarbonate ($NaHCO_3$) ve 0,2 g Sodium azide (NaN_3) 1 litre saf suda eritilip pH'ı 9,6'ya ayarlanıp +4ºC'de muhafaza edilmiştir.

3.Yıkama tampon çözeltisi (Washing Buffer-PBST)

Bir litre fosfat tampon çözeltisine (PBS) 0,5 ml Tween-20 ilave edilerek hazırlanıp +4ºC'de muhafaza edilmiştir.

4.Örnek ekstraksiyon tampon çözeltisi (Sample Extraction Buffer)

Bir litre yıkama tamponu çözeltisi (PBST) içine 20 g Polyvinylpyrolidone (PVP-40) ilave edilerek hazırlanıp +4ºC'de muhafaza edilmiştir.

5.Konjugat tampon çözeltisi (Enzyme Congugate Buffer)

Bir litre örnek tampon çözeltisine 2 g ovalbumin (egg albumin) ilave edilerek hazırlanıp +4ºC'de muhafaza edilmiştir.

6.Substrat tampon çözeltisi (Substrat Buffer)

97 ml Diethanolamine 800 ml saf su içine ilave edildikten sonra 0,2 g Sodium azide (NaN_3) konulup, HCl ile pH'ı 9,8'e ayarlanarak 1 litreye tamamlanıp +4ºC'de muhafaza edilmiştir.

EK-2. Silika jel protokolünde kullanılan tampon çözeltiler ve miktarları

1.Ekstraksiyon tamponu (Grinding buffer) (100 ml)

0,2 M Sodium acetate (pH:5,2)	1,641 g	Sodium acetate 100 ml hacimli bir beher içinde belirtilen miktarda 20-25 ml distile su içinde eritilir ve pH 5,2 ayarlanır. pH ayarlandıktan sonra diğer kimyasallar sırası ile belirtilen miktarlarda PVP hariç behere ilave edilir. Çözelti içine konulan kimyasallar eğer erimez ise bir miktar manyetik karıştırıcıda ısıtılabilir. Hazırlanan çözelti son olarak 100 ml'ye tamamlanır ve otoklav şişesine aktarılır ve otoklav edilir (121ºC- 1,2 atm basınç- 25 dakika). Otoklav işlemi bittikten sonra şişe içerisine PVP ilave edilir. Çözelti +4ºC'de saklanır.
25 mM EDTA	0,730 g	
1 M Potasium acetate	9,815 g	
4 M Guanidine thiocyanate veya 6 M Guanidine hydrochloride	47,264 g veya 57,318 g	
%2,5 PVP	2,5 g	

2.%10'luk SDS (100 ml)

Sodium dodecyl sulfate (SDS)	10 gr	SDS bir beher içinde yaklaşık 40-50 ml distile su içinde eritilir. Daha sonra 100 ml tamamlanır. Çözelti daha sonra 0,22 µl filtreden geçirilir ve oda ısısında saklanır.

3.Yıkama tamponu (Washing buffer) (500 ml)

10 mM TRİS-HCl (pH: 7,5)	0,788 g	Tris-HCI bir beher içerisinde yaklaşık 200 ml distile su içinde eritilir ve HCl ile pH:7,5 ayarlanır. Daha sonra diğer kimyasallar sırası ile ilave edilir ve 250 ml distile su ile tamamlanır. Çözelti 500 ml'lik otoklav şişesine aktarılır ve otoklav edilir (121ºC- 1,2 atm basınç- 25 dakika). Otoklavdan çıkan çözeltinin üzerine 250 ml saf alkol ilave edilir ve çözelti +4ºC'de saklanır.
0,05 M EDTA	0,073g	
50 mM Sodium chloride	1,461 g	

4.Sodium İodide (10 ml)

6 M Sodium iodide	8,993 g	2-3 ml distile su içerisinde Sodium iodide belirtilen miktarlarda eritilir. Daha sonra Sodium sulfate ilave edilir ve çözelti 10 ml tamamlanır. Çözelti koyu renkli bir şişede +4ºC'de saklanır.
0,15 M Sodium sulfate	0,189 g	

5.Silika Jel (5 ml)

Silicon dioxide (pH: 2)	5 g	5 ml distile su içerisine belirtilen miktarlarda Silicon dioxide ilave edilir. Hazırlanan karışımın pH kâğıdı yardımı ile pH:2'ye ayarlanır.

EK-3. 1L 50X TAE solüsyonu için gereken kimyasalların miktarı ve hazırlanışı

2 M Tris-Base	242,28 g	Tüm bileşenler yaklaşık 600 ml distile su içerisinde çözdürülür. Daha sonra çözelti 1000 ml'ye tamamlanır.
1 M Glacial Acetic Acid	57,1 ml	
0.5 M EDTA	100 ml	

EK-4. Eskişehir izolatlarına ait nükleik asit dizilimleri

>TSWV1_MW767718_EskD49_Domates_Mihalgazi_918bp
AAGCAATAAAGATAAAGAAAGCTTTTTATATTTATAGGCTTTTTTATAATTTAACTTACAGCTGCTTTTAAGCAAGTTCTG
CAAGTTTTGCCTGTTTTTTAACCCCAAACATTTCATAGAACTTGTTAAGAGTTTCACTGTAATGTTCCATAGCAATACTTCC
TTTAGCATTAGGATTGCTGGAGCTAAGTATAGCAGCATACTCTTTCCCCTTCTTCACCTGATCTTCATTCATTTCAAATGCT
TTGCTTTTCAGTACAGTGCAAACTTTCCCTAAAGCTTCCCTGGTGTCATACTTCTTTGGGTCGATCCCGAGGTCCTTGTATT
TTGCATCCTGATATATAGCCAAGACAACACTGATCATCTCAAAGCTATCGACTGAAGCAATAAGAGGTAAGCTACCTCCC
AGCATTATGGCAAGCCTCACAGACTTTGCATCATCAAGAGGTAATCCATAGGCCTGAATCAGAGGGTGGGAAGCAATCTT
AGATTTGATAGTATTGAGATTCTCGGAATTCCCAGTTTCCTCAACAAGCCTGACCCTGATCAAGCTATCAAGCCTTCTGAA
GGTCATGTCAGTAGCTCCAATCCTGTCTGAAGTTTTCTTTATGGTAATTTTACCAAAAGTAAAATCACTTTGCTTAATAAC
CTTCATTATGCTCTGACGATTCTTCAGGAATGTCAGACATGAAATAACACTCATCTTTTTGATCTGGTCAAGGTTTTCCAG
ACAAAAAGTCTTGAAGTTGAATGCTACCAGATTCTGATCTTCCTCAAACTCAAGGTCTTTGCCTTGTGTCAACAAAGCAAC
AATGCTTTCCTTAGTGAGCTTAACCTTAGACATGATGATCGTAGAAGTTGTTATATGCTTTGACCGTATGTAGTTCAAGGT
GCAAAAGTGCAACTCTGTATCCCGCA

>TSWV2_MW767715_EskD53_Domates_Mihalgazi_923bp
AGCACAAGCAATAAAGATAAAGAAAGCTTTTTATATTTATAGGCTTTTTTATAATTTAACTTACAGCTGCTTTTAAGCAAG
TTCTGCAAGTTTTGCCTGTTTTTTAACCCCAAACATTTCATAGAACTTGTTAAGAGTTTCACTGTAATGTTCCATAGCAATA
CTTCCTTTAGCATTAGGATTGCTGGAGCTAAGTATAGCAGCATACTCTTTCCCCTTCTTCACCTGATCTTCATTCATTTCAA
ATGCTTTGCTTTTCAGTACAGTGCAAACTTTCCCTAAGGCTTCCCTGGTGTCATACTTCTTTGGGTCGATCCCGAGGTCCTT
GTATTTTGCATCCTGATATATAGCCAAGACAACACTGATCATCTCAAAGCTATCGACTGAAGCAATAAGAGGTAAGCTAC
CTCCTAGCATTATGGCAAGCCTCACAGACTTTGCATCATCAAGAGGTAATCCATAGGCCTGAATCAGAGGGTGGGAAGCA
ATCTTAGATTTGATAGTATTGAGATTCTCGGAATTCCCAGTTTCCTCAACAAGCCTGACCCTGATCAAGCTATCAAGCCTT
CTGAAGGTCATGTCAGTAGCTCCAATCCTGTCTGAAGTTTTCTTTATGGTAATTTTACCAAAAGTAAAATCACTTTGCTTA
ATAACCTTCATTATGCTCTGACGATTCTTCAGGAATGTCAGACATGAAATAACACTCATCTTTTTGATCTGGTCAAGGTTT
TCCAGACAAAAAGTCTTGAAGTTGAATGCTACCAGATTCTGATCTTCCTCAAACTCAAGGTCTTTGCCTTGTGTCAACAAA
GCAACAATGCTTTCCTTAGTGAGCTTAACCTTAGACATGATGATCGTAGAAGTTGTTATATGCTTTGACCGTATGTAATTC
AAGGTGCAAAAGTGCAACTCTGTATCCCGCA

>TSWV3_MW767714_EskD22_Domates_Sarıcakaya_919bp
CAAGCAATAAAGATAAAGAAAACTTTTTATACTTATAGGCTTTTTTATAATTTAACTTACAGCTGCTTTTAAGCAAGTTCT
GCAAGTTTTGCCTGTTTTTTAACCCCAAACATTTCATAGAACTTGTTAAGAGTTTCACTGTAATGTTCCATAGCAATACTTC
CTTTAGCATTAGGATTGCTGGAGCTAAGTATAGCAGCATACTCTTTCCCCTTCTTCACCTGATCTTCATTCATTTCAAATGC
TTTGCTTTTCAGTACAGTGCAAACTTTCCCTAAGGCTTCCCTGGTGTCATACTTCTTTGGGTCGATCCCGAGGTCCTTGTAT
TTTGCATCCTGATATATAGCCAAGACAACACTGATCATCTCGAAGCTATCGACTGAAGCAATAAGAGGTAAGCTACCTCC
CAGCATTATGGCAAGCCTCACAGACTTTGCATCATCAAGAGGTAATCCATAGGCCTGAATCAGAGGGTGGGAAGCAATCT
TAGATTTGATAGTATTGAGATTCTCGGAATTCCCAGTTTCCTCAACAAGCCTGACCCTGATCAAGCTATCAAGCCTTCTGA
AGGTCATGTCAGTAGCTCCAATCCTGTCTGAAGTTTTCTTTATGGTAATTTTACCAAAAGTAAAATCACTTTGCTTAATAA
CCTTCATTATGCTCTGACGATTCTTCAGGAATGTCAGACATGAAATAACACTCATCTTTTTGATCTGGTCAAGGTTTTCCA
GACAAAAAGTCTTGAAGTTGAATGCTACCAGATTCTGATCTTCCTCAAACTCAAGGTCTTTGCCTTGTGTCAACAAAGCA
ACAATGCTTTCCTTAGTGAGCTTAACCTTAGACATGATGATCGTAGAAGTTGTTATATGCTTTGACCGTATGTAATTCAAG
GTGCAAAAGTGCAACTCTGTATCCCGCA

EK-4. Eskişehir izolatlarına ait nükleik asit dizilimleri (devamı)

>TSWV4_MW767716_EskB10_Biber_Mihalgazi_913bp
ATAAAGATAAAGAAAGCTTTTTATATTTATAGGCTTTTTTATAATTTAACTTACAGCTGCTTTTAAGCAAGTTCTGCAAGT
TTTGCCTGTTTTTTTAACCCCAAACATTTCATAGAACTTGTTAAGAGTTTCACTGTAATGTTCCATAGCAATACTTCCTTTAG
CATTAGGATTGCTGGAGCTAAGTATAGCAGCATACTCTTTCCCCTTCTTCACCTGATCTTCATTCATTTCAAATGCTTTGCT
TTTCAGTACAGTGCAAACTTTCCCTAAGGCTTCCCTGGTGTCATACTTCTTTGGGTCGATCCCGAGGTCCTTGTATTTTGCA
TCCTGATATATAGCCAAGACAACACTGATCATCTCAAAGCTATCGACTGAAGCAATAAGAGGTAAGCTACCTCCCAGCAT
TATGGCAAGCCTCACAGACTTTGCATCATCAAGAGGTAATCCATAGGCCTGAATCAGAGGGTGGGAAGCAATCTTAGATT
TGATAGTATTGAGATTCTCGGAATTCCCAGTTTCCTCAACAAGCCTGACCCTGATCAAGCTATCAAGCCTTCTGAAGGTCA
TGTCAGTAGCTCCAATCCTGTCTGAAGTTTTCTTTATGGTAATTTTACCAAAAGTAAAATCACTTTGCTTAATAACCTTCAT
TATGCTCTGACGATTCTTCAGGAATGTCAGACATGAAATAACACTCATCTTTTTGATCTGGTCAAGGTTTTCCAGACAAAA
AGTCTTGAAGTTGAATGCTACCAGATTCTGATCTTCCTCAAACTCAAGGTCTTTGCCTTGTGTCAACAAAGCAACAATGCT
TTCCTTAGTGAGCTTAACCTTAGACATGATGATCGTAGAAGTTGTTATATGCTTTGACCGTATGTAATTCAAGGTGCAAAA
GTGCAACTCTGTATCCCGCA

>TSWV5_MW767717_ EskB35_Biber_Mihalgazi_916bp
GCAATAAAGATAAAGAAAGCTTTTTATATTTATAGGCTTTTTTATAATTTAACTTACAGCTGCTTTTAAGCAAGTTCTGTA
AGTTTTGCCTGTTTTTTTAACCCCAAACATTTCATAGAACTTGTTAAGAGTTTCACTGTAATGTTCCATAGCAATACTTCCTT
TAGCATTAGGATTGCTGGAGCTAAGTATAGCAGCATACTCTTTCCCTTTCTTCACCTGATCTTCATTCATTTCAAATGCTTT
GCTTTTCAGTACAGTGCAAACTTTCCCTAAGGCTTCCCTGGTGTCATACTTCTTTGGGTCGATCCCGAGGTCCTTGTATTTT
GCATCCTGATATATAGCCAAGACAACACTGATCATCTCAAAGCTATCAACTGAAGCAATAAGAGGTAAGCTACCTCCCAG
CATTATGGCAAGCCTCACAGACTTTGCATCATCAAGAGGTAATCCATAGGCCTGAATCAGAGGGTGGGAAGCAATCTTAG
ATTTGATAATATTGAGATTCTCGGAATTCCCAGTTTCCTCAACAAGCCTGACCCTGATCAAGCTATCAAGCCTTCTGAAGG
TCATGTCAGTAGCTCCAATCCTGTCTGAAGTTTTCTTTATGGTAATTTTACCAAAAGTAAAATCACTTTGCTTAATAACCTT
CATTATGCTCTGACGATTCTTCAGGAATGTCAGACATGAAATAACGCTCATCTTTTTGATCTGGTCAAGGTTTTCCAGACA
AAAAGTCTTGAAGTTGAATGCTACCAGATTCTGATCTTCCTCAAACTCAAGGTCTTTGCCTTGTGTCAACAAAGCAACAAT
GCTTTCCTTAGTGAGCTTAACCTTAGACATGATGATCGTAGAAGTTGTTATATGCTTTGACCGTATGTAATTCAAGGTGCA
AAAGTGCAACTCTGTATCCCGCA

>CMV1_MW775034_ EskD80_Domates_Sarıcakaya_476bp
AGCTTGTTTCGCGCATTCAAATTCGAGTTAATCCTTTGCCGAAATTTGATTCTACCGTGTGGGTGACGGTCCGTAAAGTTC
CTGCCTCCTCGGACATGTCCGTTGCCGCCATCTCTGCTATGTTCGCGGACGGAGCCTCACCGGTACTGGTTTATCAGTACG
CCGCATCCGGAGTTCAAGCTAACAACAAACTGTTGTATGATCTTTCGGCGATGCGCGCTGATATTGGCGACATGAGAAAG
TACGCCGTACTCGTGTATTCAAAAGACGATGCACTCGAGACGGATGAACTAGTACTTCATGTCGACATCGAGCACCAACG
TATTCCCACATCTGGGGTGCTCCCAGTTTGAACTCGTGTTTTCCAGAACCCTCCCTCCGATTTCTGTGGCGGGAGCTGAGT
TGGCAGTGTTGCTATAAACTGTCTGAAGTCACTAAACGCTCTGCGGTGAACGGGTTGTCCATCCGCCTTACGG

>CMV2_MW775035_EskB46_Biber_ Sarıcakaya_487bp
TATGATAAGGAAGCTTGTTTCGCGCATTCAAATTCGAGTTAATCCTTTGCCGAAATTTGATTCTACCGTGTGGGTGACAGT
CCGTAAAGTTCCTGCCTCCTCGGACTTATCCGTTACCGCCATCTCTGCTATGTTTGCGGACGGAGCCTCACCGGTACTGGT
TTATCAGTATGCCGCATCTGGAGTCCAAGCCAACAACAAACTGTTGTATGATCTTTCGGCGATGCGCGCTGATATAGGTG
ACATGAGAAAGTACGCCGTCCTCGTGTATTCAAAAGACGATGCGCTCGAGACGGACGAGCTAGTACTTCATGTTGACATC
GAGCACCAACGCATTCCCACATCTGGAGTGCTCCCAGTTTGATTCCGTGTTCCCAGAATCCTCCCTCCGATCTCTGTGGCG
GGAGCTGAGTTGGCAGTTTTGCTATAAACTGTCTGAAGTCACTAAACGTTTTACGGTGAACGGGTTGTCCATCCAGCTTAC
GGC