

**Araştırma Makalesi**  
(Research Article)

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.,2020, 57 (4):  
529-536 DOI: 10.20289/zfdergi.672819

İsmail Can PAYLAN<sup>1a</sup>

Ayşe ÇANDAR<sup>2b\*</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bornova-İzmir

<sup>2</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Çiçekdağı Meslek Yüksekokulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Tohumculuk Teknolojisi Programı, Çiçekdağı-Kırşehir

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0002-4815-5859

<sup>b</sup>ORCID: 0000-0003-2385-5602

\*sorumlu yazar: ayse.candar@ahievran.edu.tr

**Anahtar Sözcükler:**

Sebze tohumu, virüs, serolojik test, moleküler test

**Keywords:**

Vegetable seeds, virus, serological test, molecular test.

**Bazı Sebze Tohumlarında Viral Enfeksiyonların Bulunma Durumu**

Occurrence Status of Viral Infections in Some Vegetable Seeds

Alınış (Received): 14.01.2020

Kabul Tarihi (Accepted): 08.04.2020

**ÖZ**

**Amaç:** Bu çalışmada, ülkemiz üretiminde önemli yere sahip sebze tohumlarında viral etmenlerin son yıllardaki bulunma durumlarının hızlı ve etkili yöntemlerle ortaya koyulması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Çalışmada, 2014-2018 yılları arasında Ege Üniversitesi (EÜ) Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü ve EÜ Tohum Teknolojisi Merkezi (TOTEM)'ne farklı üreticilerden gelen toplam 430 adet tohum örneği materyal olarak kullanılmıştır. Viral enfeksiyonların tohum örneklerindeki durumları DAS-ELISA (serolojik) ve Reverse Transcriptase PCR (moleküler) testlerden elde edilen sonuçlara göre belirlenmiştir.

**Bulgular:** Çeşitli sebze türlerinde yapılan serolojik ve moleküler testler sonucunda tohum örneklerinde tek ve birden fazla etmenin bulunduğu virüs enfeksiyonlarına rastlanmıştır. Sebze tohum örneklerinde viral etmenlerin bulunma durumları sebze türlerine göre %17-23 oranında (biber %23, domates %19, kabakgıl %17) değişmektedir.

**Sonuç:** Yaptığımız çalışmada domates, biber ve kabakgıl sebze türlerinden oluşan 430 tohum örneğinin %20'sinde çeşitli viral enfeksiyonlar saptanmıştır. Bölgemiz yetiştiriciliğinde ekonomik öneme sahip viral etmenlerin varlığını ortaya koymak gerekli koruma önlemlerinin alınması açısından önemlidir.

**ABSTRACT**

**Objective:** In this study, it has been aimed to determine the status of virus diseases in vegetable seeds which have important position for production of our country by rapid and efficient methods during the recent years.

**Material and Methods:** In the study, totally 430 seed samples come to Department of Plant Protection in Ege University (EU) Faculty of Agriculture and EU Seed Technology Center (TOTEM) from various farmers between the years of 2014-2018 were used as materials. The presence of viral infections in seed samples was determined according to the results obtained from DAS-ELISA (serological) and RT-PCR (molecular) tests.

**Results:** As a result of serological and molecular tests performed in various vegetable species, single and multiple virus infections were found in seed samples. Prevalence of virus infections in vegetable seed samples according to vegetable species varied in between 17% and 23% (23% in pepper, 19% in tomato and 17% in cucurbit seeds).

**Conclusion:** In our study, various viral infections have been detected in 20% of the 430 seed samples of tomato, pepper and Cucurbitaceae vegetable species. It is important to reveal the presence of viral agents of economic importance in the cultivation of our region in terms of taking necessary protection measures.

## GİRİŞ

Bitkisel üretimde kaliteli ürün elde edilmesi ve birim alandan alınan verimin arttırılması için etkili faktörlerden en önemlisi tohumdur. Beslenme amacıyla üretilen bitkisel ürünlerin %90 gibi büyük bir oranının tohumla üretildiği (Erkan, 1998) düşünüldüğünde tohum sağlığı konusunun önemi bir kez daha vurgulanmaktadır.

2017 yılı FAO verileri değerlendirildiğinde dünyada sebze üretimi yapan ülkeler arasında Türkiye, 1.813.422 tonluk kavun üretimiyle Çin'in ardından 2. sırada; 12.750.000 tonluk domates üretimiyle Çin ve Hindistan'ın ardından, 4.011.313 tonluk karpuz üretimiyle Çin ve İran'ın ardından, 2.608.172 tonluk biber üretimiyle Çin ve Meksika'dan sonra 3. sırada yer almaktadır. Hıyar (1.827.782 ton) üretiminde 4. sırada yer alan ülkemiz Çin, İran ve Rusya'dan sonra gelmektedir (Çizelge 1) (FAO, 2017). Türkiye'de 2018 yılı sebze üretim değerleri incelendiğinde 12.150.000 tonluk üretimle domates birinci sırada yer alırken, onu sırasıyla karpuz, biber, hıyar, kavun izlemektedir (Çizelge 2) (TUIK, 2018). Uluslararası tohum ticaretinde söz sahibi ülkeler sırasıyla Hollanda, Fransa, ABD ve Almanya olarak görülmektedir. Hem tohum ithalatında hem de ihracatında ilk sıralarda yer alan bu ülkelerin ardından Türkiye, 248 milyon dolarlık tohum dış ticaret toplamıyla 10. sırada yer almaktadır (ISF, 2016).

**Çizelge 1.** Dünya sebze üretim verileri (ton) (FAO, 2017)

**Table 1.** Production quantities of some vegetables in the world (tonnes) (FAO, 2017)

Domates	Karpuz	Kavun	Biber	Hıyar
Çin 59.514.773	Çin 79.276.300	Çin 17.082.608	Çin 17.795.349	Çin 64.824.643
Hindistan 20.708.000	İran 4.059.786	<b>Türkiye (2)</b> <b>1.813.422</b>	Meksika 3.296.875	İran 1.981.130
<b>Türkiye (3)</b> <b>12.750.000</b>	<b>Türkiye (3)</b> <b>4.011.313</b>	İran 1.591.414	<b>Türkiye (3)</b> <b>2.608.172</b>	Rusya 1.940.010
ABD 10.910.990	Brezilya 2.314.700	Mısır 1.102.599	Endonezya 2.359.441	<b>Türkiye (4)</b> <b>1.827.782</b>
Mısır 7.297.108	Özbekistan 2.030.992	Hindistan 1.033.849	İspanya 1.277.908	ABD 1.012.378

**Çizelge 2.** Türkiye'de sebze üretim değerleri (ton) (TUIK, 2018)

**Table 2.** Production quantities of some vegetables in Turkey (tonnes) (TUIK, 2018)

Bitki Türü	Üretim Miktarı (Ton)
Domates	12.150.000
Karpuz	4.031.174
Biber	2.554.974
Hıyar	1.848.273
Kavun	1.753.942

Ülkeler arasındaki ulaşım olanaklarının kolaylaşması ve işbirliğinin artması nedeniyle dünya tohum ticareti ve endüstrisi gelişim göstermiştir. Bu durum tohum elde etmede hız sağlarken tohumla taşınan hastalık etmenlerinin taşınmasını kolaylaştırmıştır. Hastalıkların çok uzak mesafelere yayılmasının kolaylaşmasını sağlayan enfekteli tohumlar üretim bölgelerinde tohum kaynaklı hastalıkların artışına sebep olmuştur (Erkan, 1998; Paylan ve Erkan, 2013).

Virüs hastalıkları ürün kayıpları ve verim azalması gibi doğrudan zararlara neden olmasının haricinde virüs taşıyan vektörlerle yapılan mücadele gibi dolaylı ekonomik kayıplara da yol açmaktadır. Virüs hastalıklarının sebzelerde bulunma düzeyi çevre koşulları, vektör, konukçu ve virüs şiddeti faktörlerinin yer aldığı hastalık dörtlüğüne ilişkisine bağımlı olarak yıldan yıla değişkenlik göstermektedir. Bazı virüs hastalık etmenlerinin yüksek oranda tohumla taşınma özelliği, epidemilerin kolaylıkla yayılmasına ve üründe %100'e varan oranda enfeksiyon oluşmasına neden olmaktadır (Riedle-Bauer et al., 2002). Yapılan önceki çalışmalarda domates tohumlarında çeşitli virüs etmenlerinin taşınma oranları belirlenmiş, bu oranlar %0.2 ile %94 oranında değişmiştir (Çizelge 3). Kabakgil tohumlarında taşınan *Zucchini yellow mosaic potyvirus* %0 ila %99 (Shukla et al., 1994) oranında ürün eksilişlerine neden olurken, *Tomato mosaic tobamovirus* ve *Tobacco mosaic tobamovirus* domateste sırasıyla %5-50 ve ≤%94 (Walkey, 1991) oranında verim kaybından sorumlu olmuştur.

**Çizelge 3.** Bazı bitki patojeni viral etmenlerin domates tohumlarında taşınma oranları

**Table 3.** Transmission rates of some pathogen viral agents in tomato seeds

Virüs Adı	Taşınma Oranı (%)	Kaynaklar
ArMV	10	(Lister ve Murrant, 1967)
CMV	0.2-8	(Park and Cha, 2002)
TMV	16.5	(Richardson, 1990)
TBRV	10	(Lister ve Murrant, 1967)
TBSV	4-65	(Allen, 1969; Cherif, 1981; Tomlinson ve Faithfull, 1984)
ToMV	94	(Van Winckel, 1968)
ToRSV	3	(Lister ve Murrant, 1967)

Bu çalışmada ülkemiz tarımsal üretiminde önemi bulunan sebze tohumlarıyla taşınan virüslerin hızlı ve etkili yöntemlerle tanılanması ve viral enfeksiyonların bulunma durumlarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmada son yıllarda sebze tohumlarındaki viral enfeksiyonların durumu serolojik ve moleküler testlerle belirlenmiştir.

**MATERYAL VE YÖNTEM****Materyal**

Araştırma materyali olarak 2014-2018 yılları arasında EÜ Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü ve EÜ Tohum Teknolojisi Merkezi (TOTEM)'ne çeşitli üreticilerden gelen 430 tohum örneği kullanılmıştır. Toplam 430 tohum örneğinin 172'si domates, 125'i biber, 40'ı hıyar, 38'i karpuz, 30'u kavun ve 25'ü adet kabak tohumudur.

**Yöntem****Tohumlardaki belirtilerin gözle incelenmesi**

Çalışmanın materyalini oluşturan tohum örnekleri virüs belirtilerinin varlığı yönünden gözle incelenmiştir. Gözlem sırasında tohum örneklerinde

şekil ve renk değişimleri, tohum kabuğunda buruşma, tohum büyüklüğünde azalma, beneklenme, leke, çizgi, nekroz ve tohumda bantlaşma belirtileri kaydedilmiştir (Erkan, 1998).

**Serolojik testler (DAS-ELISA)**

Tohum örneklerindeki virüs etmenlerinin serolojik yöntemlerle tespit edilmesi amacıyla Çizelge 4'de verilen etmenler için DAS-ELISA testi uygulanmıştır (Clark and Adams, 1977; Erkan ve ark., 1994).

Sonuçlar 405 nm dalga boyunda ELISA reader'da gözlenen absorbans değerlerine göre belirlenmiştir. Absorbans değeri negatif kontrolün en az 2 katı olan örnekler pozitif kabul edilmiştir (Erkan ve ark., 1994).

**Çizelge 4.** Serolojik (DAS-ELISA) ve moleküler (RT-PCR) yöntemlerle test edilen viral etmenler, RT-PCR çalışmalarında kullanılan virüse spesifik primer dizileri

**Table 4.** Viral agents tested by serological (DAS-ELISA) and molecular (RT-PCR) methods, virus specific primer sequences used in RT-PCR studies

Viral Etmen	Test Yöntemi		Moleküler Testlerde Kullanılan Virüse Spesifik Primerler Primer Dizilimi ve Döngüsü	Baz Uzunluğu
	Serolojik	Moleküler		
ArMV	+	+	Primer F- TTGGCCAGATATAGCGTAAAAAT Primer R- CAGCGGATTGGGAGTTCTGT 1X (94°C 2 dk); 35X (94°C 30sn/50°C 45 sn/72°C 60sn); 1X (72°C 5dk)	519 bp (MacKenzie et al., 1997)
AMV	+	+	Primer F- GTGGTGGGAAAGCTGGTAAA Primer R- CACCCAGTGGAGGTCAGCATT 1X (94°C 2 dk); 35X (94°C 30sn/54°C 30sn/72°C 30sn); 1X (72°C 10dk)	700 bp (Martínez-Priego et al., 2004)
CGMMV	+	+	Primer F- GTTTCGCCTCAAAATTCC Primer R- TCTAAATATGACAAGTCGC 1X (98°C 60sn); 35X (98°C 10sn/63°C 20sn/72°C 60sn); 1X(72°C 5dk)	359 bp (Moreno et al., 2004)
CMV	+	+	Primer F- ATGGACAAATCTGAATCAAC Primer R- TCAAAGTGGGAGCACCC 1X (94°C 1 dk.); 40X (94°C 30sn/50°C 60sn/72°C 60sn.); 1X (72°C 10dk.)	650 bp (Bhat et al., 2005)
PVY	+	+	Primer F- AAGCTTCCATACTACCCGC Primer R- CATTGTGCCCAATTGCC 1X (94°C 2 dk.); 35X (94°C 30sn/58°C 45sn/72°C 30sn); 1X (72°C 10dk.)	856 bp (Nie and Singh, 2002)
SqMV	+	+	Primer F- ATGGCTTCCATCGTCTCATCCGC Primer R- CATGGTACAGCAGCTTGGAATTATATCCA 1X (95°C 5 dk); 35X (94°C 30sn/60°C 30sn/72°C 90sn); 1X (72°C 7dk)	500 bp (Yoo et al., 2004)
TMV	+	+	Primer F- ATGTCTTACAGTATCACTACTCC Primer R- TCAAGTTGCAGGACCAGAGG 1X (94°C 2 dk.); 40X (94°C 30sn/50°C 60sn/72°C 60sn); 1X (72°C 7dk.)	750 bp (Chung et al., 2007)
TRSV	+	+	Primer F- CTTGCGGCCAAATCTATAA Primer R- ACTTGTGCCAGGAGAGCTA 1X (94°C 2 dk.); 35X (94°C 30sn/53°C 30sn/72°C 60sn); 1X (72°C 7dk.)	348 bp (Walter and Zitter, 2003)
TBRV	+	+	Primer F- ATGGGAGAAGTGCTGG Primer R- AATCTTTTGTGCCAACA 1X (92°C 1 dk.); 35X (92°C 1 dk/42°C 1dk/72°C 2dk); 1X (72°C 10dk)	333 bp (Le Gall et al., 1995)
ToMV	+	+	Primer F- TGGGCCCAACCGGGGT Primer R- TTCAACAGCAGTTCAGCGAG 1X(92°C 2dk.);35X(92°C 30sn/58°C 30sn/72°C 1dk);1X (72°C10dk)	549 bp (Jacobi et al., 1998)
ToRSV	+	+	Primer F- GACGAAGTTATCAATGGCAGC Primer R- TCCGTCCAATCAGCGAATA 1X(94°C 4dk);40X(94°C 1dk/55°C 60sn/72°C 2dk);1X (72°C 10dk)	449 bp (Griesbach et al., 1995)
TSWV	+	+	Primer F- AATTGCCTTGAACCAATTC Primer R- ATCAGTCGAAATGGTCGGCA 1X(94°C 5dk); 30X (94°C 1dk/55°C 1dk/72°C 1dk); 1X (72°C 10dk)	276 bp (Mumford et al., 1994)
WMV	+	+	Primer F- ATCCCTTGAGGGATACAG Primer R- TTGACAGTTGGGTATCACGT 1X (94°C 4dk); 35X(94°C 1dk/55°C 1dk/72°C 2 dk);1X(72°C 10dk)	500 bp (Desbiez and Lecoq, 2004)
ZYMV	+	+	Primer F- CATCGAGGTTGTTGGTCTTGA Primer R- GCAGTGTGCCGTTAGTGTCT 1X (94°C 2dk);35X (94°C 30sn/57°C 45sn/72°C 1dk);1X (72°C 7dk)	66 bp (Zeng et al., 2007)

### Moleküler test yöntemi (RT-PCR)

Moleküler testlerin yürütülebilmesi için öncelikle sebze tohumlarının büyüklüklerine göre 50-500 adet tohum alınıp naylon ezme poşetleri içine koyularak tohum örnekleri hazırlanmıştır. Uygulanan moleküler testler ISTA standartlarına uygun olarak yürütülmüştür (ISTA, 2014).

Örneklerin hazırlanması aşamasının ardından TNA (total nükleik asit) ekstraksiyonu silica-capture yöntemi kullanılarak Foissac et al. (2001)'na göre yapılmıştır. Ardından komplementer DNA (cDNA) sentezi için ThermoFisher Scientific firmasının protokolü ve cDNA sentezi kitleri kullanılmıştır (ThermoFisher, USA).

RT-PCR testleri Çizelde 4'te verilen virüslere spesifik primerler ve bu primerlere ait PCR döngüleri kullanılarak 50 µl (25 µl 2XPCR Master Mix, 1'er µl reverse ve forward primer, 2 µl cDNA, 21 µl nukleaz free su) hacimde uygulanmıştır. Tüpler termal cycler'a yerleştirilmiş ve

her bir virüse özel PCR döngüsü programı uygulanmıştır (Candresse et al., 1995). Elde edilen PCR ürünleri görüntülenmek için önce 60 dk 100V'da elektroforeze tabi tutulmuş, etidium bromid ile boyandıktan sonra Jel Dokümantasyon sisteminde fotoğrafları çekilmiştir.

### ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

#### Tohum Örneklerinde Gözlenen Belirtilere İlişkin Bulgular

Çalışmanın ilkaşamasında tohum materyalinin gözle incelenmesi sırasında tohumlarda şekil bozuklukları, renk değişiklikleri, tohum büyüklüğünde azalma, nekrotik alanlar, tohumda buruşma ve beneklenme gibi virüslerden kaynaklı olabileceği düşünülen belirtiler kaydedilmiştir. Virüslerin tanılanmasında ön basamak olarak kullanılan simptomatolojik incelemeye (Erkan, 1998) ait gözlenen bazı belirtiler Şekil 1'de görülmektedir.



**Şekil 1.** Domates, biber ve kabakgil tohumlarında gözlemlenen belirtiler, (A) Domates tohumlarında şekil ve renk değişikliği, (B) Kabakgil tohumlarında şekil bozukluğu ve renk değişikliği- nekrotik alanlar, (C) Biber tohumlarında nekroz belirtisi ve renk değişikliği  
**Figure 1.** Symptoms observed on tomato, pepper and cucurbit seeds, (A) Color changes and distortions on tomato seeds, (B) Distortions, color changes and necrosis on cucurbit seeds, (C) Necrosis symptom and color changes on pepper seeds

#### Serolojik Testlere İlişkin Bulgular

Virüs enfeksiyonlarının bulunma durumlarının ortaya koyulması için çalışmada 172 domates, 125 biber, 40 hıyar, 38 karpuz, 30 kavun ve 25 kabaktan oluşan toplam 430 tohum örneği için serolojik testlerden DAS-ELISA yöntemi uygulanmıştır.

Çeşitli kurumlardan elde edilen toplam 172 domates örneğinde TMV, CMV, ToMV, ArMV, TBRV, PVY, TSWV, TRSV, ToRSV etmenlerinin varlığı serolojik yöntemle araştırılmıştır. Yapılan testler sonucunda toplam 172 örnekten 30 örneğin bir veya birden fazla etmenle enfekteli, 142 örneğin ise araştırılan virüslerce temiz olduğu saptanmıştır. Enfekteli 30 domates tohum örneğinin 7'sinde TMV, 7'sinde ToMV, 8'inde CMV, 3'ünde TSWV tekli enfeksiyonu saptanırken, 3 örnekte CMV ve

TMV, 2 örnekte ToMV ve TMV karışık enfeksiyonu olduğu görülmüştür.

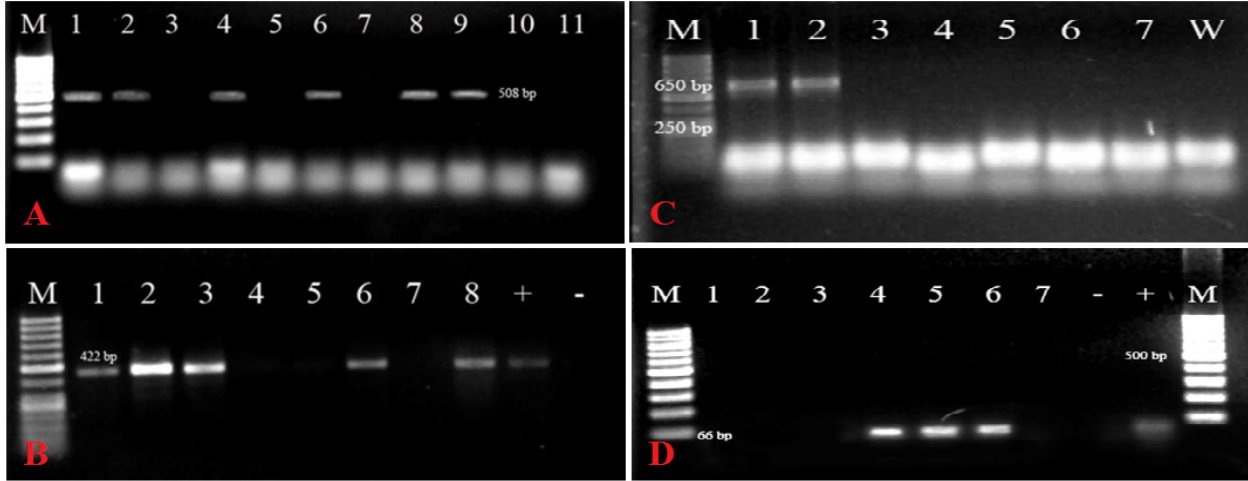
125 biber tohum örneği DAS-ELISA yöntemine göre TMV, TSWV, ToMV, AMV ve CMV virüsleri için test edilmiş, testler sonucunda 28 örneğin bu virüsler tarafından enfekteli, 97 örneğin ise negatif olduğu bulunmuştur. Araştırılan virüslerce enfekteli bulunan 28 tohum örneğinin 8'inde TMV, 3'ünde ToMV, 15'inde CMV tekli enfeksiyonları ve 2 âdetinde TMV, ToMV ve CMV karışık enfeksiyonunun olduğu belirlenmiştir. Biber tohum örneklerinin hiçbirinde TSWV ve AMV'ne rastlanmamıştır.

Toplamda 133 adet kabakgil tohum örneği (40 hıyar, 38 karpuz, 30 kavun, 25 kabak) SqMV, CMV, ZYMV, WMV, CGMMV ve TRSV virüslerine karşı serolojik olarak

test edilmiştir. Testler sonucunda sadece 23 tohum örneğinde virüs enfeksiyonuna rastlanmıştır. Enfekteli 23 kabakgil tohum örneğinden (bunlardan 5'i karpuz, 6'sı kavun, 8'i hıyar, 4'ü kabak tohumudur) 18'inde CMV, 3'ünde ZYMV ve 2'sinde SqMV saptanmıştır. Tohum örneklerinin hiçbirisinde karışık enfeksiyona rastlanmamıştır.

### Moleküler Testlere İlişkin Bulgular

Moleküler yöntemlerin daha hassas sonuçlar verdiği göz önünde bulundurularak hem enfekteli olduğu serolojik testlerle belirlenen hem de testlerde negatif bulunan toplam 430 tohum örneği virüslere spesifik primerler ve döngüler kullanılarak RT-PCR testlerine tabi tutulmuştur (Şekil 2).



**Şekil 2.** Moleküler testlere ait jel görüntüleri, (A) Domates tohumlarında ToMV için uygulanan RT-PCR sonuçları, (B) Domates ve biber tohumlarında TMV için uygulanan RT-PCR sonuçları, (C) Kabakgil tohumlarında CMV için uygulanan RT-PCR sonuçları, (D) Kabakgil tohumlarında ZYMV için uygulanan RT-PCR sonuçları

**Figure 2.** Agarose gel images of molecular tests, (A) ToMV bands detected in tomato seeds by RT-PCR, (B) TMV bands detected in tomato and pepper seeds by RT-PCR, (C) CMV bands detected in cucurbit seeds by RT-PCR, (D) ZYMV bands detected in cucurbit seeds

Toplam 172 domates tohum örneği ArMV, TBRV, CMV, TMV, ToMV, PVY, ToRSV, TSWV, TRSV etmenlerine spesifik primerlerle test edilmiştir. Testlerin sonuçlarına göre 9 örnekte CMV, 8 örnekte TMV, 7 örnekte ToMV, 3 örnekte TSWV, 3 örnekte TMV+CMV ve 2 örnekte TMV+ToMV karışık enfeksiyonlarına rastlanmıştır. Buna göre toplam 32 domates tohum örneğinde virüs enfeksiyonu saptanmış, toplam 140 tohum örneği ise testlenen virüslerce negatif bulunmuştur. Domates tohumlarıyla yürütülen RT-PCR çalışmalarında ArMV, TBRV, PVY, ToRSV, TRSV etmenlerine hiçbir örnekte rastlanmamıştır. Sonuç olarak, domates tohum örneklerinde virüs bulunma oranı %19 olarak belirlenmiştir.

Toplam 125 biber tohum örneği ToMV, TMV, TSWV, AMV ve CMV etmenlerine spesifik primerler kullanılarak RT-PCR yöntemiyle test edilmiştir. Biber örneklerinden 29'u bir veya birden fazla etmenle enfekteli bulunurken, 96 örnekte hiçbir virüse rastlanmamıştır. Bu durumda biber tohumlarında virüs enfeksiyonu bulunma oranı %23 olmuştur. Bulaşık bulunan tohum örneklerinden 9 tanesi TMV, 3 tanesi ToMV, 15 tanesi CMV, 2 tanesi ise TMV+ToMV+CMV etmenleriyle enfekteli bulunmuştur.

Biber tohum örneklerinde TSWV ve AMV etmenlerine moleküler çalışmalar sırasında da rastlanmamıştır.

Kabakgil tohumları (toplam 133 adet) CMV, SqMV, ZYMV, WMV, CGMMV ve TRSV etmenlerine spesifik primerler kullanılarak RT-PCR ile test edilmiştir. PCR çalışmaları sonucunda DAS-ELISA testleriyle paralel olarak toplam 18 örnekte CMV, 2 örnekte SqMV, 3 örnekte ZYMV saptanmıştır. Kabakgil tohum örneklerinde WMV, CGMV, TRSV ve karışık enfeksiyonlara rastlanmazken, virüs enfeksiyonlarının bulunma oranı % 17 olarak hesaplanmıştır.

### Kullanılan Tanılama Yöntemlerinin Bulgularının Birlikte Değerlendirilmesi

Araştırma kapsamında yürütülen serolojik ve moleküler testlerin sonucunda toplam 430 tohum örneğinin %20'sinde çeşitli viral enfeksiyonlar olduğu görülmüştür. Domates tohumlarında viral etmenlerin bulunma oranı %19, biberde %23 ve kabakgil tohumlarında %17 (kavun ve hıyar tohumlarının %20'si, kabak tohumlarının %16, karpuz tohumlarının %13'ü bulaşık) olarak saptanmıştır.

Test edilen domates tohum örneklerinin %7,5'inde TMV enfeksiyonu saptanırken, %7'si CMV, %5'i ToMV, %1,5'i TSWV, %1,5'i TMV+CMV ve %1'i TMV+ToMV etmenleriyle enfekteli bulunmuştur. Biber tohum örneklerinin %13,5'inde CMV, %8,5'inde TMV, %4'ünde ToMV ve %1,5'inde TMV+ToMV+CMV karışık enfeksiyonu olduğu belirlenmiştir. Son olarak kabakgil tohum örneklerinin %13,5'inde CMV, %2'sinde ZYMV ve %1,5'inde SqMV saptanmış olup test edilen hiçbir örnekte karışık enfeksiyona rastlanmamıştır.

Genellikle DAS-ELISA ve RT-PCR sonuçları paralel olmakla birlikte DAS-ELISA ile negatif bulunan domates tohum örneklerinden 1'inde RT-PCR ile TMV, 1'inde CMV; biber tohum örneklerinden 1'inde TMV saptanmıştır. Tohumdaki virüs etmenlerini saptama açısından RT-PCR yöntemi %100 başarılı bulunurken DAS-ELISA'nın başarısı %96,4 olarak hesaplanmıştır. Bulgular, Paylan ve ark. tarafından 2011 yılında (DAS-ELISA %96; RT-PCR %100 başarılı), Saraçoğlu ve Erkan tarafından 2016 yılında (DAS-ELISA %89,85; RT-PCR %100 başarılı) sebze tohumlarında yapılan çalışmaları destekler niteliktedir. Bu durumda sebze tohumlarındaki viral enfeksiyonları saptamada en başarılı yöntem RT-PCR'dir.

DAS-ELISA ve RT-PCR testleri birlikte değerlendirildiğinde domates, biber ve kabakgil tohumlarında herhangi bir virüs bulunma oranı %17-23 arasında değişmiştir. Sonuçlar etmen bazında değerlendirildiğinde ise domates örneklerinde %7,5 bulunma oranıyla TMV, biber ve kabakgil örneklerinde %13,5 oranıyla CMV en çok rastlanan virüs olmuştur (Çizelge 5). Domates tohumlarında TMV (Walkey, 1991), CMV (Richardson, 1990; Park and Cha, 2002) ve ToMV (Erkan ve ark., 1994; Gümüş ve ark, 2001) enfeksiyonlarının yüksek oranda olduğu daha önce yapılan pek çok çalışmada da belirtilmiştir. Özellikle TMV'nin yüksek oranda bulunması tohum kabuğu, endosperm ve tohum dış yüzeyinde taşınabilirliği olmasından kaynaklanmaktadır (Neergaard, 1988).

Yapılan çalışmada CMV ve TMV etmenlerine biber tohumlarında daha yüksek oranda rastlanması Bhat ve Siju (2007) ve Sikora (2004) adlı araştırmacıların biber tohumlarında yaptığı çalışmalar ile paralellik göstermiştir. Benzer şekilde Gümüş ve ark. (2001)'nin yaptığı çalışmada da CMV'nin kabakgil tohumlarında en önemli viral hastalık olduğu ortaya koyulmuştur.

**Çizelge 5.** Domates, biber ve kabakgil tohumlarında saptanan viral etmenler ve bulunma oranları  
**Table 5.** Viral agents detected in tomato, pepper and some cucurbit seeds and incidence of these viruses

Tohum Örneği Türü	Tohum Örneği Sayısı				Test Edilen Viral Etmenler (DAS-ELISA, RT-PCR)																
	Tohum Örnek Sayısı	Sağlıklı Örnek Sayısı	Enfekteli Örnek Sayısı	Enfekteli Örnek %	ArMV	AMV	CMV	CGMMV	ToMV	TMV	TBRV	TSWV	ToRSV	TRSV	PVY	SqMV	ZYMV	WMV	TMV+ToMV+CMV	TMV+CMV	TMV+ToMV
<b>Domates</b>	172	140	32	19	0	--	9+(3)	--	7+(2)	8+(5)	0	3	0	0	0	--	--	--	0	3	2
					%0	--	%7	--	%5	%7.5	%0	%1.5	%0	%0	%0	--	--	--	%0	%1.5	%1
<b>Biber</b>	125	96	29	23	--	0	15+(2)	--	3+(2)	9+(2)	--	0	--	--	--	--	--	--	2	0	0
					--	%0	%13.5	--	%4	%8.5	--	%0	--	--	--	--	--	--	%1.5	%0	%0
<b>Kabakgil</b>	133	110	23	17	--	--	18	0	--	--	--	--	--	0	--	2	3	0	--	--	--
					--	--	%13.5	%0	--	--	--	--	--	%0	--	%1.5	%2	%0	--	--	--

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada ekonomik öneme sahip bitki tohumlarında enfeksiyona neden olan virüslerin güvenilir, hızlı ve hassas yöntemler kullanılarak yoğunlukları saptanmış, bazı tohum örneklerinde tekli, bazılarında karışık enfeksiyonların durumu belirlenmiştir. Bölgemiz yetiştiriciliğinde önemi olan domates, biber ve kabakgil tohum örneklerinde viral etmenlerin varlığını ortaya koymak ve enfeksiyon

seviyelerini belirlemek, virüsten arı tohum alışverişini sağlama ve gerekli koruma önlemlerini alma açısından önem taşımaktadır.

Tanılama yöntemlerinde son zamanlarda yaşanan gelişmeler konukçusu olmadığı düşünülen bitki türlerinde çok farklı viral etmenleri saptamaya olanak sağlamaktadır. Bunun için ülkelerin literatürü de yakından takip ederek test edilecek patojen ve karantina listelerini yeniden düzenlemeleri gerekmektedir.

**KAYNAKLAR**

- Allen, W.R. 1969. Occurrence and seed transmission of Tomato bushy stunt virus in apple. *Canadian Journal of Plant Science*, 49: 797.
- Bhat, A.I., S. Devasahayam, M.N. Venugopal and R. Suseela Bhai. 2005. Distribution and incidence of viral diseases of black pepper in Karnataka and Kerala, India. *Journal of Plantation Crops*, 33: 59-64.
- Bhat, A.I. and S. Siju. 2007. Development of a single-tube multiplex RT-PCR for the simultaneous detection of Cucumber mosaic virus and Piper yellow mottle virus associated with stunt disease of black pepper. *Current Science*, 93 (7): 973-975.
- Candresse, T., T. Lanneau, F. Revers, N. Grasseau, G. Macquaire, S. German, T. Malinowsky and J. Dunez. 1995. An immunocapture PCR assay adapted to the detection and the analysis of the molecular variability of Apple chlorotic leaf spot virus. *Acta Horticulture*, 386: 136-147.
- Cherif, C. 1981. Thèse Diplôme Docteur Troisième Cycle, Université P. & M. Curie, Paris, 84 pp.
- Chung, B.N., J.S. Kim, J.D. Cho, S.R. Cheong and M.I. Jeong. 2007. Tobacco mosaic virus detected in vegetatively propagated petunia hybrids "Surfinia". *The Korean Society of Plant Pathology, Plant Pathology Journal*, 23(1): 34-36.
- Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristic of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
- Desbiez, C. and H. Lecoq. 2004. The nucleotide sequence of Watermelon mosaic virus (WMV, Potyvirus) reveals interspecific recombination between two related potyviruses in the 5' part of the genome. *Archives of Virology*, 149: 1619-1632.
- Erkan, S., M. Gümüş, Ü. Yorgancı ve T. Yoltaş. 1994. Sanayi domatesi tohum örneklerinde domates mozaik virüsü ve bakteriyel kanser etmenlerinin bulunma durumunun saptanması üzerinde araştırmalar. *Sanayi Domatesi Üretimini Geliştirme Projesi Çalışma Raporu*. İzmir. 47s.
- Erkan, S. 1998. Tohum Patolojisi. E. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bornova, İzmir. Gözdem Ofis, 275 s.
- FAO, 2017. Dünyada Sebze Üretim Verileri. <http://www.fao.org/faostat/>. Erişim: Ağustos 2019.
- Foissac, X., L. Svanella-Dumas, M.J. Dulucq, T. Candresse and P. Gentit. 2001. Polyvalent detection in fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by nested RT-PCR using degenerated and inosine containing primers (PDO RT-PCR). *Acta Horticulture*, 550: 37-43.
- Griesbach, J.A. 1995. Detection of Tomato ringspot virus by polymerase chain reaction. *Plant Disease*, 79: 1054-1056.
- Gümüş, M., S. Erkan, Ü. Yorgancı ve İ. Duman. 2001. Bazı sebze tohumlarında bulunan viral etmenlerin saptanması üzerine araştırmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi (3-8 Eylül 2001, Tekirdağ) Bildirileri, Trakya Üniversitesi Yayınları No: 45. s. 191-197.
- ISF, 2016. Uluslararası Tohum Ticaretinde Söz Sahibi Ülkeler. <https://www.worldseed.org/resources/seed-statistics/>. Erişim: Ağustos 2019.
- ISTA, 2014. Organizing and Analyzing Results of the Seed Health Proficiency Tests. <http://www.seedtest.org/en/home.html>, Erişim: Eylül 2014.
- Jacobi, V., G.D. Bachand, R.C. Hamelin and J.D. Castello. 1998. Development of a multiplex immunocapture RT-PCR assay for detection and differentiation of tomato and tobacco mosaic tobamoviruses. *Journal of Virological Methods*, 74: 164-178.
- Le Gall, O., T. Candresse and J. Dunez. 1995. Transfer of the 31 non-translated region of grapevine chrome mosaic virus RNA-1 by recombination to tomato black ring virus RNA-2 in pseudorecombinant isolates. *Journal of General Virology*, 76: 1285-1289.
- Lister, R.M. and A.F. Murant. 1967. Seed transmission of nematode-borne viruses. *Annals Applied Biology*, 59:49-62.
- MacKenzie, D.J., M.A. McLean, S. Mukerji and M. Green. 1997. Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Plant Disease*, 81: 222-226.
- Martínez-Priego, L.I., M.C. Córdoba, and C. Jordá. 2004. First report of Alfalfa mosaic virus in *Lavandula officinalis*. *Plant Disease*, 88 (8): 908.
- Moreno, I.M., J.R. Thompson and F. Garcia-Arenal. 2004. Analysis of the systemic colonization of cucumber plants by Cucumber green mottle mosaic virus. *Journal of General Virology*, 85: 749-759.
- Mumford, R.A., I. Barker and K.R. Wood. 1994. The detection of Tomato spotted wilt virus using the polymerase chain reaction. *Journal Virological Methods*, 46: 303- 311.
- Neergaard, P. 1988. Seed Pathology Vol. I and II, MacMillan Pres, Hong Kong, XXV+1191p.
- Nie, X. and R.P. Singh. 2002. A new approach for the simultaneous differentiation of biological and geographical strains of potato virus Y by uniplex and multiplex RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 104: 41-54.
- Park, K. and B. Cha. 2002. Detection of TMV, ToMV and CMV from tomato seeds and plant. *Research in Plant Disease*, 8 (2): 101-106.
- Paylan, İ.C., S. Erkan, M. Ergün ve A. Çandar. 2011. Bazı sebze türlerinin tohumlarındaki viral etmenlerin saptanması amacıyla kullanılan yöntemlerin duyarlılık durumunun karşılaştırılması. *Türkiye Fitopatoloji Derneği Dergisi*, 40 (1-2-3): 21-31.
- Paylan, İ.C. ve S. Erkan. 2013. Bazı sebze tohumlarındaki viral etmenlerin saptanması ve yaygınlık oranlarının belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50 (3): 231-240.
- Richardson, M.J. 1990. An Annotated List of Seed Borne Diseases. The International Seed Testing Association Zurich, Switzerland, 27p.
- Riedle-Bauer, M., B. Suarez and H.J. Reinprecht. 2002. Seed transmission and natural reservoirs of patojen Zucchini yellow mosaic virus in Cucurbita pepo var. styriaca. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 109: 200-206.
- Saraçoğlu, K. ve S. Erkan. 2016. Fasulye tohumlarındaki viral etmenlerin saptanmasında tanı yöntemlerinin duyarlılıklarının incelenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 53 (3): 309-315.
- Sikora, E.J. 2004. *Plant Disease Notes*. Alabama A&M and Auburn Universities, Anr-867.
- Shukla, D.D., C.W. Ward and A.A. Brunt. 1994. *The Potyviridae*. CAB International, Wallingford, UK., 22-26.
- Tomlinson, J.A. and A. Faithfull. 1984. Studies on the occurrence of Tomato bushy stunt virus in English Rivers. *Annals of Applied Biology*, 104 (3): 485-495.
- TÜİK, 2018. Türkiye'de Sebze Üretim Değerleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/>. Erişim: Ağustos 2019.
- van Winckel A. 1968. Natuurlijke inactivering van het tabakmozaiek

- virus (TMV) op tomatenzaad. *Parasitica*, XXIV, 1: 1-9.
- Walkey, D.G.A. 1991. *Applied Plant Virology*. Great Britain by St Edmundsbury Press, 338p.
- Walter, S.A. and T.A. Zitter. 2003. *Compendium of cucurbit diseases*. *HortScience*, 38 (65): Page 42.
- Yoo, B.C., F. Kragler, E. Varkonyi-Gasic, V. Haywood, S. Archer-Evans, Y.M. Lee, T.J. Lough and W.J. Lucas. 2004. A systemic small RNA signaling system in plants. *American Society of Plant Biologist, The Plant Cell*, 16: 1979-2000.
- Zeng, R., Q. Liao, J. Feng, D. Li and J. Chen. 2007. Synergy between Cucumber mosaic virus and Zucchini yellow mosaic virus on Cucurbitaceae hosts tested by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(6): 431-437.