



Araştırma Makalesi (Research Article)

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2021, 58 (4):591-600
<https://doi.org/10.20289/zfdergi.840301>

Mustafa KARABIYIK^{1*}

Serkan YEŞİL¹

¹ Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 42250, Selçuklu, Konya, Türkiye

* Sorumlu yazar (Corresponding author):

krbykmsf1@gmail.com

Anahtar sözcükler: CABYV, DAS-ELISA, Mekanik inokulasyon, Virüs, WMV, ZYMV

Keywords: CABYV, DAS-ELISA, Mechanical inoculation, Virus, WMV, ZYMV

Eskişehir ili kabakgil ekim alanlarında görülen virüs hastalıklarının belirlenmesi *

Detection of virus diseases in cucurbit growing areas in Eskişehir province

* Bu makale ilk yazarın yüksekisans tezinden özetlenmiştir. Bu makale Selçuk Üniversitesi BAP tarafından 19201121 Numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Alınış (Received): 14.12.2020

Kabul Tarihi (Accepted): 02.04.2021

ÖZ

Amaç: Bu araştırma, Eskişehir ili kabakgil ekim alanlarında virüs enfeksiyonlarını ve bazı yerel çerezlik kabak genotiplerinin *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV) ve *Watermelon mosaic cucumovirus* (WMV) ve *Papaya ringspot potyvirus-watermelon* (PRSV-W), *Cucurbit green mottle mosaic virus* (CGMMV) ve *Squash mosaic comovirus* (SqMV) etmenlerine karşı testlenmiştir.

Materyal ve Metod: 2019 yılı Ağustos-Eylül aylarında Eskişehir ili kabakgil ekim alanlarında gerçekleştirilen surveyler sonucunda toplanan 164 adet bitki örneği DAS-ELISA yöntemi ile ZYMV, WMV, *Cucurbit aphid borne yellows polerovirus* (CABYV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV), *Papaya ringspot potyvirus-watermelon* (PRSV-W), *Cucurbit green mottle mosaic virus* (CGMMV) ve *Squash mosaic comovirus* (SqMV) etmenlerine karşı testlenmiştir.

Bulgular: DAS-ELISA sonuçlarına göre, kabakgil bitkilerinde CABYV (%49.35), WMV (%44.87), ZYMV (%24.35), CMV (%17.30), PRSV-W (%1.28) ve SqMV (%1.92) ve yabancı ot örneklerinde ise ZYMV (%12.5) ve CABYV (%12.5) yaygın virüslerdir. Çerezlik kabak bitkilerinde mekanik inokulasyon çalışmalarının sonucuna göre, WMV'nin 5, 8 ve 9 numaralı genotipleri (%100) ve ZYMV'nin ise 9 (%95), 3 (%93) ve 7 (%91) numaralı genotipleri yüksek oranda hastalandığı belirlenmiştir. Eskişehir ilinde virüs hastalıklarının ortalama yaygınlık oranı %4.13 olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Eskişehir ilinde yapılan bu çalışma ile kabakgil üretimi yapılan alanlarda sorun olan virüs etmenleri ilk kez DAS-ELISA ile ortaya konulmuştur.

ABSTRACT

Objective: This research was conducted to detection of potential virus infections and to determine reactions of some local edible seed squash genotypes to *Watermelon mosaic potyvirus* (WMV) and *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV) in cucurbit cultivation areas of Eskişehir province.

Material and Methods: As a result of the survey performed in the cucurbit cultivated fields of Eskişehir province during August to September in 2019, a total of 164 plant samples were collected and they were tested for infections of ZYMV, WMV, *Cucurbit aphid-borne yellows polerovirus* (CABYV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV), *Papaya ringspot potyvirus-watermelon* (PRSV-W), *Cucurbit green mottle mosaic virus* (CGMMV) and *Squash mosaic comovirus* (SqMV) with DAS-ELISA method.

Results: According to DAS-ELISA results, CABYV (49.35%), WMV (44.87%), ZYMV (24.35%), CMV (17.30%), PRSV-W (1.28%) and SqMV (1.92%) were detected the most prevalent viruses in cucurbits samples, respectively while ZYMV (12.5%) and CABYV (12.5%) were found most common virus pathogens in weed samples. As to the results of mechanical inoculation studies with edible seed squash plants, WMV highly infected-genotypes were 5, 8, and 9 (100%), while ZYMV highly infected-genotypes were determined as 9 (95%), 3 (93%), and 7 (91%). The average prevalence rate of virus diseases in Eskişehir was determined as 4.13%.

Conclusion: With this study conducted in Eskişehir province, viruses cause serious diseases in cucurbit growing areas were revealed for the first time by DAS-ELISA method.

GİRİŞ

Kabakgil bitkileri; Plantae alemi, Magnoliophyta şubesi, Magnoliopsida sınıfı, Cucurbitales takımı, Cucurbitaceae familyasında bulunmaktadır. Bu familya 119 cins ve 825 tür içermektedir. Dünya'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde kabakgil bitkilerinin üretimi yapılmaktadır. Kavun (*Cucumis melo* L.), hıyar (*Cucumis sativus* L.), kabak (*Cucurbita pepo* L.), karpuz (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai), bal kabağı (*Cucurbita moschata* L.), kestane kabağı (*Cucurbita maxima* L.) ve acur (*Cucumis anguria* L.) bu familyada üretimi yapılan türlerdir (Günay, 1992). Türkiye, Dünya'da en fazla sebze üreten ülkelerden bir tanesi konumundadır. FAO 2018 yılı üretim verilerine göre Dünya'da üretimi yapılan kabakgil bitkileri arasında ülkemiz, kavun üretiminde 1.753.942 ton ile ikinci ve karpuz 4.031.174 tonluk üretim ile üçüncü, hıyar üretiminde 1.848.273 ton ile üçüncü ve kabak üretiminde ise 616.777 ton üretim ile sekizinci sırada yer almaktadır (FAO, 2018). Eskişehir ili ve ilçelerinde, kabakgil bitkilerinden en fazla ekim alanı ve üretim miktarına sahip bitkiler sırasıyla; çerezlik kabak (18.926 da, 1.842 ton), kavun (5.701 da, 13.038 ton) ve karpuz (3.699 da, 10.559 ton)'dur (Anonymous, 2019).

Kabakgil tarımı yapılan arazilerde verim ve kaliteyi olumsuz etkileyen hastalıklar arasında fungal, bakteriyel ve viral etmenler önemli bir yer almaktadır. Viral hastalıklara karşı kimyasal mücadelenin olmayışı virüs hastalıklarının önemli hale getirmektedir. Kabakgiller dünya çapında 60 virüs tarafından hastalandırılabilen ve her geçen gün ise bu virüslere yeni bir virüs tespit edilerek eklenmektedir (Provvidenti, 1996; Lecoq & Desbiez, 2012; Romay et al., 2014). Dünya'da ZYMV, CMV, SqMV, WMV ve PRSV kabakgillere zarar veren en yaygın ve ekonomik olarak da en önemli virüsler olarak kabul edilmektedir (Davis & Mizuki, 1987; Grafton-Cardwell et al., 1996; Papayiannis et al., 2005; Bananej & Vahdat, 2008; Lecoq & Desbiez, 2012; Kone et al., 2017; Zarzyńska-Nowak et al., 2019; Menzel et al., 2020). Türkiye'de ise yine aynı virüslerin yaygın olduğu bildirilmiştir (Nogay & Yorgancı, 1984; Erdiller & Ertunç, 1988; Yılmaz vd., 1992; Şevik & Sökmen, 2001; Köklü & Yılmaz, 2006; Kaya & Erkan, 2011; Topkaya & Ertunç, 2012; Yeşil, 2013; Korkmaz vd., 2018; Yeşil, 2019; 2020; Usta vd., 2020). Gerçekleştirilen bu çalışmada, Eskişehir ilinde kabakgil bitkileri ekim alanlarında sorun olan virüs hastalıkları serolojik yöntemlerle belirlenip ilçeler bazında belirlenen virüslerin yaygınlıkları ve hastalık oranları hesaplanmıştır. Bunun yanında, Eskişehir ili çerezlik kabak üreticilerinin kullandıkları farklı genotiplere ait çerezlik kabak tohumları üreticilerden toplanarak daha önce ülkemizdeki kabakgil üretim alanlarında gerçekleştirilen farklı çalışmalar sonucunda bu bitkilerde en yaygın olarak görüldüğü belirlenmiş olan ZYMV ve WMV virüslerine karşı reaksiyonları mekanik inokulasyon yapılarak belirlenmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan bitki materyalini, tipik virüs hastalıkları belirtilerini gösteren Çerezlik Kabak, Hıyar, Kavun, Karpuz, Sakız Kabağı ve Bal Kabağı bitkilerinin yaprakları, belirti göstermesine bakılmaksızın, belirli bitkilerin yakınında yetişen yabancı otların yaprakları ve bölge üreticisinin tohumluk amaçlı kullandıkları çerezlik kabak çekirdekleri oluşturmuştur.

Yöntem

Bitki örneklerinin toplanması

Araştırma materyali olan bitki ve tohum örneklerinin toplanması amacıyla 2019 yılının Temmuz ve Ağustos aylarında Eskişehir ilinin Çifteler, Mihalgazi, Han, Sivrihisar, Tepebaşı ve Seyitgazi ilçelerinde kabakgil üretimi yapılan tarla, bahçe ve seralarda surveyler gerçekleştirilmiştir (Şekil 1). Bu çalışmalar sırasında, tarla ve seralar rastgele seçilmiş ve surveylerin gerçekleştirildiği üretim alanları toplamlarının Eskişehir ili toplam kabakgil bitkileri üretim alanlarını temsil edecek şekilde, bunların %1'inden daha fazla olması sağlanmıştır. Surveylerde, tipik virüs hastalıklarının belirtilerini gösteren en az 2 farklı bitkiden

olmak üzere ve de bu bitkilerin çevresinde bulunan yabancı otlardan genç sürgün ve yapraklarından toplamda 164 adet farklı bitki örneği toplanmıştır. Çalışma kapsamında testlenen bitki sayıları Çizelge 1'de verilmiştir. Toplanan bitki örnekleri ayrı ayrı olacak şekilde ve üzerinde örneğin alındığı yer, tarih, bitki türü ve çeşidi, arazi boyutu numaralandırılmış kâğıt torbaların içlerine konularak laboratuvara getirilmiştir. Ardından plastik poşetlere alınan bitki örnekleri, serolojik çalışmalarda kullanılmak üzere -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır. Survey çalışmalarında il ve ilçe olarak kabakgil türlerinde Bora ve Karaca (1970)'nin belirttiği şekilde tarla alanları (da) bazında hastalık oranları belirlenerek; il ve ilçe düzeyinde % yaygınlık oranları hesaplanmıştır. Bir üretim alanında kenar payı bırakılarak köşegenler yönünde beş yerde toplam 100 bitki kontrol edilerek ve gerekli bilgiler kayıt altına alınmıştır.



Şekil 1. Survey çalışmalarının gerçekleştirildiği ilçeler, Eskişehir haritası üzerinde siyah noktalarla gösterilmiştir.

Figure 1. Surveyed districts were indicated with black spots on map of Eskişehir province.

DAS-ELISA çalışmaları

Arazi çıkışları sonucu toplanan tüm yaprak örnekleri ve üreticilerden temin edilen yerel çerezlik kabak genotiplerine ait tohumlardan yetiştirilen bitkilerdeki virüs etmenlerinin tespit edilmesinde hızlı, duyarlı, ekonomik ve güvenilir bir yöntem olan Double-antibody sandwich enzime linked immuno sorbent assay (DAS-ELISA) kullanılmıştır (Bostan vd., 2002). Yapılan bu çalışma ile toplanan bitki örneklerinin ZYMV, WMV, CABYV, CMV, PRSV-W, CGMMV ve SqMV etmenleri ile bulaşık olup olmadıkları incelenmiştir. Toplanan bitki örnekleri her biri hassas terazide 0.6 g tartılıp, içlerinde 1:10 oranında PBS-TP (pH:7.4) bulunan plastik ezme poşetlerinin içine konmuş ve homojen olarak ezilmiştir. Bitki ekstraktları mikropipet ile alınarak falkon tüplerine aktarılmış ve +4°C'de muhafaza edilmiştir. Clark & Adams (1977)'in belirttikleri yöntemle göre DAS-ELISA testi aşamaları gerçekleştirilmiştir. ELISA testleri sonuçlarını, ELISA okuyucusunda negatif kontrol için 405 nm'de okunan absorbans değerinin en az iki katı ve daha fazla absorbans değeri veren örnekler pozitif (virüsle enfekteli) olarak kabul edilmiştir (Ertunç, 1992; Barba & Riccioni, 1993; Yeşil, 2020). Her bir örnek için pleytlerde ikişer kuyucuk kullanılmıştır. Pleytlerde kontrol olarak birer adet pozitif (enfekteli), negatif (sağlıklı) ve buffer bulundurulmuştur. DAS-ELISA testi aşamalarında; ticari firmalarından alınan CABYV (Sediag), CGMMV (ADGEN), CMV, PRSV-W, SqMV, WMV ve ZYMV (BIOREBA)'ye spesifik reagent setler (antiserum, pozitif ve negatif kontrollere) ile laboratuvarında hazırlanan ekstraksiyon, kaplama, conjugate, substrat ve yıkama tamponları ile 96 kuyucuklu mikropleytler (Nunc F96 Maxisorp), otomatik pipetler (eppendorf), pipet uçları ve saf su kullanılmıştır. ELISA testlerinin sonuçlarının ortaya konulması amacıyla örnekler ait kuyucukların absorbans değerleri Anthos 2010 (BIOCHROM) markalı ELISA okuyucusunda belirlenmiştir.

Yerel çerezlik kabak genotiplerinin WMV ve ZYMV'ye karşı reaksiyonlarının belirlenmesi

Çalışmanın yürütüldüğü bölgede tohumluk olarak kullanılan yerel çerezlik kabak genotiplerinin, kabakgillerdeki yaygın virüslere karşı reaksiyonlarını ortaya koymak için bu genotiplerden elde edilen bitkilere mekanik inokulasyon yapılmıştır. Mekanik inokulasyon çalışması materyalini Eskişehir ilindeki bazı çerezlik kabak üreticilerinden toplanan çerezlik kabak tohumları ve ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarla kabakgil bitkilerinde önemi ve yaygınlığı belirlenmiş olan ZYMV (Z-13) ve WMV (W-59) izolatları oluşturmaktadır. Bu amaçla kullanılan izolatlar, hem serolojik hem de moleküler olarak teyit edilmiş, aynı zamanda kısmi sekans analizleri gerçekleştirilmiş izolatlardır. (Yeşil & Ertunç, 2012; 2013; Yeşil, 2014; 2019; 2020). İnokulasyon çalışmaları için, havan ve havaneli, fosfat tampon çözeltisi, celite veya karborandum tozu ve çeşme suyu kullanılmıştır. Tohumların ekimi için torf ve plastik kaplar kullanılmıştır. Bitkilerin yetiştirilmesi için yapılan çalışma, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne ait Viroloji laboratuvarı ve iklim odasında bulunan kontrollü bitki büyütme kabininde gerçekleştirilmiştir. Mekanik inokulasyon çalışması için 4 farklı ilçeden 8 farklı çerezlik kabak genotipi temin edilmiştir. Tohumlar 2 tekerrürlü olacak şekilde 16 farklı (4 kontrol, 4 inokulasyon) kaplara toplamda 128 tohum ekimi gerçekleştirilmiştir (25°C, %60 nem). Mekanik inokulasyon çalışmaları kabakgil bitkilerine DAS-ELISA testi sonucunda Yılmaz & Davis (1984)'in yöntemlerine göre yapılmıştır. Hastalık oranlarına göre çerezlik kabak genotiplerinin hassas olduğunu serolojik olarak da ispatlamak için DAS-ELISA testi yapılmıştır. ZYMV ve WMV ile inokule edilen bitkilerde oluşan semptomları 4 haftalık bir periyodun sonunda 0-5 skalasına göre değerlerin Thousand Heuberger* formülü ile hastalık (%) oranları hesaplanmıştır (Sipahioglu vd., 2016).

$$\text{* \% Hastalık Şiddeti} = \frac{\Sigma(\text{Skala değeri} \times \text{Skalada değerlendirilen yaprak sayısı})}{\text{Toplam yaprak sayısı} \times \text{En yüksek skala değeri}} \times 100$$

ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

DAS-ELISA testi sonuçları

Eskişehir ilinde kabakgil üretim alanlarında problem olan 6 farklı virüsün varlığı serolojik testlerden DAS-ELISA testi sonucunda çeşitli oranlarda tespit edilmiştir. Buna göre, 156 kabakgil bitkisinde CABYV, WMV, ZYMV ve CMV tekli ve çoklu enfeksiyon oranları toplamaları sırasıyla, %49.35, %44.87, %24.35 ve %17.30 olarak belirlenmiştir. Toplanan 8 adet yabancı ot örneğinden sadece 2 Horoz ibiği (*Amaranthus retroflexus* L.) bitkisinin 1 tanesinde ZYMV (%12.5) ve 1 tanesinde ise CABYV (%12.5) tespit edilmiştir. Domuz pıtrağı (*Xanthium strumarium* L.) ve Sirken (*Chenopodium album* L.) bitkilerinde herhangi bir viral enfeksiyona rastlanmamıştır.

164 adet örneğin 121 adedinde (%73.78) tekli veya çoklu virüs enfeksiyonu tespit edilmiştir. Tekli enfeksiyonlar değerlendirildiğinde, CABYV 22 örnekte (%13.41), WMV 20 örnekte (%12.19), ZYMV 10 örnekte (%6.09) ve CMV ise sadece bir adet çerezlik kabak örneğinde (%0.6) tespit edilmiştir. Testlenen hiçbir örnekte CGMMV'nin varlığı saptanmamıştır. Bununla birlikte, karışık enfeksiyonlar şeklinde tespit edilen virüslerden SqMV ve PRSV-W'nin tekli virüs enfeksiyonları yine hiçbir örnekte tespit edilmemiştir (Çizelge 1). İkili virüs enfeksiyonu bulunan 42 adet bitki örneğinden 23 tanesi CABYV+WMV (%54.76) ile enfekteli olduğu bulunmuştur. Çoklu virüs enfeksiyonunun görüldüğü bitkilerden 8 tanesi CABYV+WMV+CMV (%36.36) etmenleri ile 3 tanesinin ise CMV+CABYV+WMV+ZYMV (%75) etmenlerinin enfeksiyonu sonucu ortaya çıktığı belirlenmiştir. Arazi surveylerinde 3 farklı türden 8 yabancı ot örneğinin %25'nin (%12.5 ZYMV ve %12.5 CABYV) virüslerle bulaşık olduğu belirlenmiştir. Horoz ibiği, Sirken ve Domuz pıtrağı yabancı otlarından, 4 adet Horoz ibiği bitkisinin 2 adedinde (%50) virüs varlığı saptanmıştır.

Çizelge 1. 2019 yılında toplanan kabakgil ve yabancı ot örneklerinde DAS-ELISA testleri sonucunda belirlenen virüsler

Table 1. Determined viruses and their infection types in cucurbit and weed samples collected in 2019 according to results of DAS-ELISA tests

| Konukçu Bitki Türü | Test Edilen Bitki | Sağlıklı Bitki | Belirlenen Virüsler ve Enfeksiyon Tipleri | | | | | | | | | | Enfeksiyon Oranları (%) |
|-------------------------|-------------------|----------------|---|-------|------|------|-------|------|---------------------|---------------------|-------|-------|-------------------------|
| | | | Tekli Enfeksiyonlar | | | | | | İkili enfeksiyonlar | Çoklu enfeksiyonlar | | | |
| | | | CMV | CGMMV | PRSV | SqMV | WMV | ZYMV | | | CABV | | |
| Balkabağı | 12 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 4 | 83.33 | |
| Çerezlik kabak | 89 | 25 | 1 | 0 | 0 | 0 | 14 | 7 | 15 | 21 | 6 | 71.91 | |
| Sakız kabağı | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 0 | 100 | |
| Hıyar | 37 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 10 | 15 | 78.37 | |
| Karpuz | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 80 | |
| Kavun | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 3 | 0 | 85.71 | |
| Horoz ibiği | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 25 | |
| Sirken | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Domuz pıtrağı | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| TOPLAM | 164 | 43 | 1 | 0 | 0 | 0 | 20 | 10 | 22 | 42 | 26 | 73.78 | |
| Enfeksiyon Oranları (%) | | | 0.6 | 0 | 0 | 0 | 12.19 | 6.09 | 13.41 | 25.60 | 15.85 | | |

Eskişehir ilinde yapılan survey sonucu, gözlenen virüs hastalıklarının ilçe bazındaki ortalama yaygınlık oranı Çizelge 2' de verilmiştir. İlçeler arasında ortaya çıkan viral hastalıkların farklı yaygınlık oranları daha önce yapılan çalışmalarla da paralellik göstermiştir (Lovisolo, 1979; Zitter et al., 1996). Kabakgil üretim alanlarından toplanan bitki örneklerinde saptanan virüsler genelde benzer hastalık belirtileri göstermişlerdir. Bu belirtiler Dünya ve Türkiye'de yapılan araştırmalarda diğer çalışmacıların belirttiği belirtiler ile de benzerlikler göstermektedir (Lecoq et al., 1981; Sammons et al., 1989; Luis-Arteaga et al., 1998; Sevik & Arlı-Sokmen, 2003; Sertkaya et al., 2004; Massumi et al., 2007; Gholamalizadeh et al., 2008; Yeşil & Ertunç, 2012; Yeşil, 2013; 2019; 2020).

Çizelge 2. Eskişehir ili ve ilçelerinde virüs hastalıklarının yaygınlık oranları

Table 2. Prevalence rates of virus diseases in Eskişehir province and its districts

| İl | İlçe | İncelenen Tarla Alanı (da) | Yaygınlık Oranı (%) |
|-----------|------------|----------------------------|---------------------|
| Eskişehir | Çifteler | 148 | 43.9 |
| | Han | 8 | 33.3 |
| | Mihalgazi | 74 | 40.7 |
| | Sivrihisar | 62 | 52.0 |
| | Seyitgazi | 44 | 40.1 |
| | Tepebaşı | 10 | 37.5 |
| Toplam | | 346 | 41.25 |

Tekli virüs enfeksiyonu olarak enfeksiyon oranı en yüksek ilçe Han (%66.66) olduğu tespit edilmiştir. Diğer ilçelerin oranları sırasıyla Tepebaşı (%57.14), Seyitgazi (%52.63), Sivrihisar (%42.85), Çifteler (%36.53) ve Mihalgazi (%14.51) olduğu belirlenmiştir. Tekli virüs enfeksiyonu ilçeler bazında incelendiğinde SqMV, PRSV-W ve CGMMV varlığı belirlenmemiştir (Çizelge 3). Aynı şekilde Tekirdağ, Edirne ve Kırklareli illerinde yapılan bir çalışmada kavun ve karpuz bitki örneklerinde birçok virüs etmeni tespit edilmiş fakat CGMMV enfeksiyonu saptanamamıştır (Köklü & Yılmaz, 2006). Bununla birlikte, yapılan bir çalışma ile Ankara ilinde toplanan bitki örneklerinde yaygın görülen virüslerin tespitiyle birlikte CGMMV (%11.6) etmeninin varlığı da ortaya konulmuştur (Topkaya & Ertunc, 2012).

Çizelge 3. İlçeler bazında viral hastalıklarla bulaşık olduğu belirlenen bitki örnek sayıları ve enfeksiyon oranları**Table 3.** The number of plant samples infected with viruses and relative incidences of viruses by the districts

| İlçeler | Bulaşık Örnek Sayıları | | | | | | | Enfeksiyon Oranları (%) |
|------------|------------------------|------|------|--------|-----|-------|-------|-------------------------|
| | CMV | ZYMV | SqMV | PRSV-W | WMV | CABYV | CGMMV | |
| Mihalgazi | - | - | - | - | 5 | 4 | - | 14.51 |
| Tepebaşı | - | - | - | - | 3 | 1 | - | 57.14 |
| Han | - | - | - | - | - | 2 | - | 66.66 |
| Sivrihisar | - | 1 | - | - | 1 | 7 | - | 42.85 |
| Seyitgazi | 1 | 5 | - | - | - | 4 | - | 52.63 |
| Çifteler | - | 4 | - | - | 11 | 4 | - | 36.53 |

Surveyler sonucu, testlenen yabancı ot örneklerinin %25'nin virüs etmenleri ile bulaşık olması, kabakgillerde yabancı otların virüslere konukçuluk yapabileceğini göstermektedir. DAS-ELISA yöntemiyle, Horoz ibiği bitkilerinin %12,5'nin ZYMV ve %12,5'nin CABYV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Bu sonucu destekleyecek bir çalışmada, Costea et al. (2004) 3 farklı *Amaranthus* türünün, yaklaşık 80 farklı virüs türüne konukçuluk yaptığını bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda yabancı otlarda en yaygın görülen virüsün CMV olduğunu belirtmişlerdir. Sharifi et al. (2008), İran'ın kabakgil yetiştiriciliği yapılan alanlarında *Citrullus colocynthis*'in WMV ile enfekteli olduğunu tespit etmişlerdir. Korkmaz vd. (2016), Karadeniz Bölgesi'nde topladıkları 11 yabancı ot örneği ile *Sicyos angulatus*'un WMV ile bulaşık olduğunu ülkemizde ilk kez bu çalışma ile bildirmişlerdir. Yeşil (2013), Konya, Karaman ve Aksaray illerinde kabakgil üretim alanlarından topladığı 85 yabancı ot örneğini DAS-ELISA ve RT-PCR ile testlemiştir. Sonuçlara göre, yabancı ot örneklerinde CMV (%36,5), WMV (%22,3) ve ZYMV (%15,3) virüslerinin varlığını bildirmiştir.

Türkiye'de ve Dünya'da, yapılan bu araştırma sonucu belirlenen virüslerle ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda tespit edilen virüsler ve bulaşıklık oranları çalışmamız ile paralellik göstermektedir. Diyarbakır ve Mardin illerinde yapılan bir çalışmada kabakgil bitkilerinde görülen virüslerin yoğunluğunun sırasıyla WMV, ZYMV ve CMV olduğu bildirilmiştir (Kızmaz, 2014). Samsun ilinde yapılan bir çalışmada ise en yoğun görülen viral etmenlerin WMV, ZYMV ve CMV etmenleri olduğu bildirilmiştir (Sevik & Arli-Sokmen, 2003). Yozgat ilinde yapılan bir çalışmada çerezlik kabak ekim alanlarında en yaygın görülen virüslerin sırasıyla WMV (%57.85) ve ZYMV (%53.57) olduğu ortaya konulmuştur (Yeşil, 2019). Güller & Usta (2019; 2020), Bingöl ilinden toplanan bal kabağı ve kavun bitkilerindeki ZYMV, CMV ve WMV enfeksiyonlarını RT-PCR testi ile teyit etmişlerdir. Nevşehir ilinde çerezlik kabak üretilen alanlarda virüs hastalıklarının varlığını tespit etmek için 2018 yılında kabak bitkilerinde, virüs hastalıkları semptomu gösteren 134 bitki örneği DAS-ELISA testi ile testlenerek virüs etmenleri saptanmış ve sonuç olarak bitki örneklerinin %97.76'sı ZYMV, WMV, CABYV, CMV, PRSV-W ve SqMV ile bulaşık olduğu belirtilmiştir. Üretim alanında %89.55 oranında WMV'nin varlığı belirlenmiştir. WMV'yi %57.46 oran ile ZYMV'nin takip ettiği bildirilmiştir. Karışık virüs enfeksiyonlarından en çok ZYMV+WMV (%40.29) ve WMV+ZYMV+PRSV-W (%8.20)'nin yaygın oldukları raporlanmıştır (Yeşil, 2020). Topkaya (2020) tarafından Kastamonu kabakgil ekim alanlarında gerçekleştirilen survey çalışmalarında WMV ve ZYMV en yaygın virüsler olarak tespit edilirken, kabakgil örneklerinde SqMV enfeksiyonlarının saptanmadığı bildirilmektedir.

Dünya'da ise Sırbistan'da yapılan bir çalışmada en yaygın virüslerin ZYMV ve CMV olduğu saptanmıştır (Krstic et al., 2002). Tanzanya'da yürütülen bir çalışmada, kabakgillerde görülen virüs hastalıklarını saptamak için üretim alanında enfekteli olduğu düşünülen 223 adet kabakgil bitki örneği toplanmış ve bitki örneklerinin DAS-ELISA testi ile virüslerin varlığının belirlenmesini amaçlamışlardır. Test sonucunda, CMV, ZYMV ve WMV etmenleri %80'e kadar oranlarda tespit edilmiştir. En yaygın olarak WMV (%33.0) *Cucumis sativus* bitkilerinde görülmüştür. Bu virüsü takiben CMV (%13.4) *Cucurbita pepo*'da ve ZYMV (%10.4) *Citrullus lanatus*'ta en yaygın görülen virüsler olarak bildirilmiştir. Ayrıca ZYMV'nin yabancı otlarda en yaygın bulunan virüs olduğunu belirtmişlerdir (Sydanmetza & Mbanzibwa,

2016). Almanya'da yapılan bir çalışmada, hıyar yetiştirilen seralarda 2019 yılının yaz ayında, ekonomik sorunlara neden olan viral etmenlerin tespiti için, 9 adet hıyar bitkilerinden örnek almışlar ve DAS-ELISA ve RT-PCR testleri uygulanmıştır. Bu testler sonucunda, bitki örneklerinde CABYV ile bulaşıklık tespit edilmiştir. CMV ve diğer potyviruslerin varlığı saptanmamıştır. Ayrıca açık araziden alınan kabak bitki örneklerinde, DAS-ELISA testi sonucuna göre bazı örneklerde CGMMV, WMV ve ZYMV'nin karışık virüs enfeksiyonu olarak görüldüğünü saptamışlardır (Menzel et al., 2020).

Yerel çerezlik kabak genotiplerinin WMV ve ZYMV'ye karşı reaksiyonlarının belirlenmesi

Mekanik inokulasyon çalışmalarında, 1. hafta gözlemlerinde lokal ve 3. hafta gözlemlerinde ise sistemik belirtiler görülmüştür. Çerezlik kabak bitkilerinin yapraklarında; mozaik, şekil bozukluğu, iplik yapraklılık, damar açılması, damar bantlaşması, gelişme geriliği ve sararma gibi belirtiler ortaya çıkmıştır. Mekanik inokulasyon çalışması ile testlenen Hanım tırnağı ve Ürgüp sivrisi genotiplerinin hepsinin, WMV ve ZYMV etmenlerine karşı hassas oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Çerezlik kabak bitkilerine inokule edilen WMV ve ZYMV izolatlarının bitkilerde oluşturduğu hastalık oranları (%)

Table 4. Disease severity (%) of WMV and ZYMV isolates on inoculated edible seed squash plants

| Genotip No | Hesaplanan hastalık oranları (WMV/ZYMV, (%)) | | | | |
|------------------|--|----------|----------|----------|----------|
| | 1. Hafta | 2. Hafta | 3. Hafta | 4. Hafta | Ortalama |
| 2 | 20/20 | 60/60 | 73/80 | 94/80 | 62/60 |
| 3 | 0/0 | 28/40 | 44/70 | 64/93 | 34/51 |
| 4 | 0/0 | 32/20 | 68/36 | 91/89 | 48/36 |
| 5 | 0/20 | 47/40 | 60/60 | 100/88 | 52/52 |
| 6 | 0/0 | 15/24 | 60/52 | 69/88 | 36/41 |
| 7 | 0/0 | 20/16 | 60/53 | 90/91 | 43/40 |
| 8 | 0/0 | 27/40 | 80/50 | 100/79 | 52/42 |
| 9 | 8/0 | 40/30 | 74/60 | 100/95 | 56/46 |
| Kontrol Bitkiler | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 |

SONUÇ ve ÖNERİLER

Eskişehir ilinde yapılan bu çalışma ile kabakgil üretimi yapılan alanlarda sorun olan virüs etmenleri ilk kez serolojik yöntemlerden DAS-ELISA ile ortaya koyulmuştur. Birçok virüs hastalığının epidemiyolojisinde rezervuar bitki olarak rol alan yabancı otların özellikle kabakgillerde enfeksiyon yapabilen virüslere de konukçuluk yapabildikleri bu çalışma ile de belirlenmiştir. Dolayısıyla, üretim alanlarının içindeki ve etrafındaki yabancı otlarla titiz bir şekilde mücadele edilmesi bu hastalıkların mücadelesi açısından oldukça büyük bir öneme sahiptir. Temel olarak, kabakgil bitkilerinde enfeksiyonlara sebep olan virüslerle mücadelede öncelikle, virüsü kabakgil yetiştirilen alanlara bulaştırmamak ve özellikle üretimde kullanılacak tohumlukların virüslerle bulaşık olmadığına dikkat etmek gerekmektedir. Bilindiği üzere bazı virüs hastalıkları kabakgil tohumlarıyla da üretim alanlarına taşınabilmektedirler. Bu çalışma ile özellikle gelecekte aynı yörede araştırma yapacak bilim insanları için çok değerli temel bilgiler ortaya konulmuştur. Aynı zamanda bu sonuçların bilinçli üreticiler için yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu yüksekisans tez çalışmasının gerçekleştirilmesi için 19201121 nolu yüksekisans tez projesi ile maddi destek sağlayan Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkürlerimizi borç biliriz.

KAYNAKLAR

- Anonymous, 2019. Eskişehir İl Tarım Ve Orman Müdürlüğü 2016 Yılı Faaliyet Raporu. https://eskisehir.tarimorman.gov.tr/Belgeler/2016_Faaliyet_Raporu/2016%20Y%C4%B1%C4%B1%20Faaliyet%20Raporu.pdf. Erişim: Şubat 2020.
- Bananej, K. & A. Vahdat, 2008. Identification, distribution and incidence of viruses in field-grown cucurbit crops of Iran. *Phytopathologia Mediterranea*, 47 (3), 247-257.
- Barba, M. & L. Riccioni, 1993. Improvement of diagnostic methods to detect *Plum pox virus* in apricot plants. *Agriculture*, 139-141.
- Bora, T. & İ. Karaca, 1970. Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın, 167.
- Bostan, H., H. Kaymak & K. Haliloglu, 2002. Detection of *Cucumber mosaic virus* (CMV) and *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) in squash in Erzurum, Erzincan and Artvin provinces by serological and biological methods. *Journal of Turkish Phytopathology*, 31 (1), 9-14.
- Clark, M.F. & A. Adams, 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of general virology*, 34 (3), 475-483.
- Costea, M., S.E. Weaver & F.J. Tardif, 2004. The biology of Canadian weeds. 130. *Amaranthus retroflexus* L., *A. powellii* S. Watson and *A. hybridus* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 84 (2), 631-668.
- Davis, R. & M. Mizuki, 1987. Detection of cucurbit viruses in New Jersey. *Plant Disease*, 71 (1), 40-44.
- Erdiller, G. & F. Ertunç, 1988. Identification of muskmelon viruses in Ankara Province. *Journal of Turkish Phytopathology*, 17 (2), 47-56.
- Ertunç, F., 1992. Hıyar Mozayik Virüs (*Cucumber mosaic virus*-CMV)'ünün Bazı Kabakgil Tohumlarında ELISA Yöntemleri ile Tesbiti Üzerine Araştırmalar (Detection of *Cucumber mosaic virus* in Seeds of Some Cucurbits by ELISA Assays). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları (1251).
- FAO, 2018. FAO- Faostat Statistics Division. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> [17.05]. Erişim: Şubat 2020.
- Gholamalizadeh, R., A. Vahdat, T. Keshavarz, A. Elahinia & K. Bananej, 2008. Occurrence and distribution of ten viruses infecting cucurbit plants in Guilan province, Iran. *Acta Virologica*, 52 (2), 113.
- Güller A. & M. Usta, 2019. Occurrence and Characterization of Coat Protein Gene of *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV) Isolate Infecting Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) in Bingöl Province (Turkey). *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 6(4): 798-807.
- Güller A. & M. Usta, 2020. Occurrence of *Cucumber mosaic cucumovirus* and *Watermelon mosaic potyvirus* on melon exhibiting viral symptoms in Bingöl province of Turkey and their phylogenetic affinities. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 7(4): 948-958.
- Günay, A., 1992. Özel sebze yetiştiriciliği. Cilt:V, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ankara, 117s.
- Grafton-Cardwell, E.E., T.M. Perring, R.F. Smith, J. Valencia & C.A. Farrar, 1996. Occurrence of mosaic viruses in melons in the Central Valley of California. *Plant Disease*, 80 (10), 1092-1097.
- Kaya, A. & S. Erkan, 2011. İzmir, Aydın, Manisa ve Balıkesir illerinde üretilen kabakgillerdeki viral etmenlerin tanılanması ve yaygınlıklarının belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 51 (4), 387-405.
- Kızmaz, M.Z., 2014. Diyarbakır ve Mardin İlleri Kabakgöl Üretim Alanlarında Görülen Viral Hastalıkların Yaygınlıklarının ve Etmenlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri ENstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Diyarbakır, 2014, 39.
- Kone, N., E. Asare-Bediako, O. Koita, D. Kone & S. Winter, 2017. Seasonal and spatial variation in the prevalence of viral diseases and associated aphid-borne viruses in cucurbits in Cote d'Ivoire. *Annals of Agricultural Sciences*, 62 (2), 227-234.
- Korkmaz F., Karaca, C. Özaslan, Y. Yanar & H. Önen, 2016. Karpuz Mozaik Virüsü (WMV-2)'nün Doğal Konukçusu *Sisyos angulatus*. *Turkish Journal of Weed Science*, 19 (1), 1-5.

- Korkmaz, F., Ş. Topkaya & Y. Yanar, 2018. Tokat Kabakgil Üretim Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan Virüslerin Belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 7 (2), 46-56.
- Köklü, G. & Ö. Yılmaz, 2006. Occurrence of cucurbit viruses on field-grown melon and watermelon in the Thrace region of Turkey. *Phytoprotection*, 87 (3), 123-130.
- Krstic B.B., J.B. Berenji, N.D. Dukic, I.M. Vico, N.I. Katis & C.C. Papavassiliou, 2002. Identification of viruses infecting pumpkins (*Cucurbita pepo* L.) in Serbia. *Proceedings for Natural Sciences, Matica Srpska* 103: 67-79.
- Lecoq, H., M. Pitrat & M. Clément, 1981. Identification et caractérisation d'un potyvirus provoquant la maladie du rabougrissement jaune du melon. *Agronomie*, 1 (10), 827-834.
- Lecoq, H. & C. Desbiez, 2012. Viruses of cucurbit crops in the Mediterranean region: an ever-changing picture. In: *Advances in virus research*, Eds: Elsevier, p. 67-126.
- Lovisolo, O., 1979. Virus and viroid diseases of cucurbits. III Conference on Epidemiology and Control of Virus Diseases of Vegetables 88, 33-82.
- Luis-Arteaga, M., J.M. Alvarez, J.L. Alonso-Prados, J.J. Bernal, F. García-Arenal, A. Lavífa, A. Batlle & E. Moriones, 1998. Occurrence distribution and relative incidence of mosaic viruses infecting field-grown melon in Spain. *Plant Disease*, 82 (9), 979-982.
- Massumi, H., A. Samei, A.H. Pour, M. Shaabani & H. Rahimian, 2007. Occurrence, distribution, and relative incidence of seven viruses infecting greenhouse-grown cucurbits in Iran. *Plant Disease*, 91 (2), 159-163.
- Menzel, W., U. Maeritz & L. Seigner, 2020. First report of *Cucurbit aphid-borne yellows virus* infecting cucurbits in Germany. *New Disease Reports*, 41, 1-1.
- Nogay, A. & Ü. Yorgancı, 1984. Investigations on the identification, seed transmission and host range of viruses infecting the culture plants in the Cucurbitaceae in Marmara region. 1. The identification of viruses infecting cucurbits in Marmara region. *Journal of Turkish Phytopathology*, 13 (1), 9-27.
- Papayiannis, L.C., N. Ioannou, I. Boubourakas, C. Dovas, N. Katis & B. Falk, 2005. Incidence of viruses infecting cucurbits in Cyprus. *Journal of Phytopathology*, 153 (9), 530-535.
- Provvidenti, R., 1996. Diseases caused by viruses. In: *Compendium of Cucurbit Diseases* (Eds. Zitter, T.A., D.L. Hopkins & C.E. Thomas), Minnesota, USA, APS Press, 37-45.
- Romay, G., H. Lecoq, F. Geraud- Pouey, D. Chirinos & C. Desbiez, 2014. Current status of cucurbit viruses in Venezuela and characterization of Venezuelan isolates of *Zucchini yellow mosaic virus*. *Plant Pathology*, 63 (1), 78-87.
- Sammons, B., O.W. Barnett, R. Davis & M.K. Mizuki, 1989. A survey of viruses infecting yellow summer squash in South Carolina. *Plant Disease*, 73 (5), 401.
- Sertkaya, G., E. Sertkaya, E. Yetisir & K. Kaya, 2004. Investigations on Incidence and Transmission of ZYMV in Cucurbits in Hatay Province. *Proceedings of the First Plant Protection Congress of Samsun in Turkey*, 217.
- Sevik, M. & M. Arli-Sokmen, 2003. Viruses infecting cucurbits in Samsun, Turkey. *Plant Disease*, 87 (4), 341-344.
- Sharifi, M., H. Massumi, J. Heydarnejad, A.H. Pour, M. Shaabani & H. Rahimian, 2008. Analysis of the biological and molecular variability of *Watermelon mosaic virus* isolates from Iran. *Virus Genes*, 37 (3), 304-313.
- Sipahioglu, H.M., Ö. Türkmen, M. Usta, A. Güller, M. Seymen, M. Paksoy & S. Fidan, 2016. Bazı Yerli Çerezlik Kabak Çeşit Adaylarının *Zucchini yellow mosaic virus*' üne Karşı Dayanıklılığının Araştırılması. *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi*, 2 (2), 136-145.
- Sydanmetsa, M. & D.R. Mbanzibwa, 2016. Occurrence of *Cucumber mosaic virus*, *Zucchini yellow mosaic virus* and *Watermelon mosaic virus* in cultivated and wild cucurbits in the coastal areas of Tanzania. *African Journal of Agricultural Research*, 11 (40), 4062-4069.
- Şevik, M. & M.A. Sökmen, 2001. Samsun ilinde kabakgil bitkilerinde görülen virüs hastalıkları. IX. Türkiye Fitopatoloji Kongre Bildirileri, 3-8.

- Topkaya, Ş. & F. Ertunc, 2012. Current status of virus infections in cucurbit plantations in Ankara and Antalya provinces. Cucurbitaceae 2012. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Antalya, Turkey, 15-18 October, 2012, 759-762.
- Topkaya, Ş., 2020. Kastamonu İli ve Çevresinde Kabakgil Yetiştirilen Alanlarda Enfeksiyon Oluşturan Viral Etmenlerin Saptanması . Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 9 (1) , 65-72 .
- Usta M., A. Güller & A. Günay, 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):523-534.
- Yeşil, S. & F. Ertunç, 2012. Virus diseases of cucurbits in Konya province. Cucurbitaceae 2012. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Antalya, Turkey, 15-18 October, 2012, 791-796.
- 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, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Konya, 127.
- Yeşil, S. & F. Ertunç, 2013. Virus Diseases of Cucurbits in Aksaray Province. 2nd International Conference Research and Education in Natural Sciences (Rens-2013), Proceedings of the 2nd International Conference Research and Education in Natural Sciences (Rens-2013), Shkodra, Albania, 232-239 p.
- Yeşil, S., 2014. Virus diseases of edible seed squash (*Cucurbita pepo* L.) in Konya province. Book of Proceedings Fifth International Scientific Agricultural Symposium (Agrosym-2014), October.
- Yeşil, S., 2019. Detection of Viruses on Edible Seed Squash (*Cucurbita pepo* L.) in Yozgat Province, Turkey. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9 (3), 1212-1219.
- Yeşil, S., 2020. Detection of Some Virus Diseases of Edible Seed Squash (*Cucurbita pepo* L.) in Nevşehir Province, Turkey. Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences, 34 (1), 49-56.
- Yılmaz, M. & R. Davis, 1984. Purification and particle morphology of TMV, CMV and ZYMV isolated from various cultivated crops grown along the Mediterranean Coast of Turkey. Jpurnal Turkish Phutopathology, 13 (1), 29-38.
- Yılmaz, M., H. Lecoq, K. Abak, S. Baloğlu & N. Sarı, 1992. Türkiye’de kabakgil sebze türlerinde zarar yapan virüsler. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri Cilt: II., 13-16 Ekim, E.Ü. Ziraat Fakültesi Bornova, İzmir, 439-442.
- Zarzyńska-Nowak, A., B. Hasiów-Jaroszewska, D. Budzyńska & N. Borodynko-Filas, 2019. First report of *cucurbit* aphid-borne yellows virus infecting zucchini plants (*Cucurbita pepo* convar. *giromontiina*) in Poland. Plant Disease, 103 (5), 1047-1047.
- Zitter, T., A. Keinath & W. Wintermantel, 1996. Cucurbit diseases. In: Compendium of Cucurbit Diseases (Eds. Zitter TA, D.L. Hopkins & C.E. Thomas), APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 228 pp.