





# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

*Araştırma Makalesi*

## Burdur ili Kabakgillerinde Watermelon mosaic virus ve Cucumber mosaic virus'unun Belirlenmesi

 Handan ÇULAL KILIÇ<sup>a,\*</sup>,  Ahmet KAHRAMAN<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, TÜRKİYE

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: handankilic@isparta.edu.tr

DOI: 10.29130/dubited.1283096

### Öz

Burdur ili kabakgil üretim alanlarında 2021 yılında gerçekleştirilen sörvey çalışmalarında Watermelon mosaic virus (WMV) ve Cucumber mosaic virus (CMV)'nü saptamak amacıyla 92 kabakgil yaprak örneği toplanmıştır. Sürveyler sırasında bitkilerde mozayik, kıvrıcıklaşma, deformasyon, nekroz ve sararma belirtileri gözlemlenmiştir. Örnekler WMV ve CMV'ye spesifik antikorlar kullanılarak DAS-ELISA (Double antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. DAS-ELISA testi sonucunda alınan 92 adet yaprak örneğinin 13'ünde (%14.13) WMV, 15'inde (%16.30) CMV enfeksiyonu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kabakgiller, virus, WMV, CMV, DAS-ELISA

## Detection of Watermelon Mosaic Virus-2 and Cucumber Mosaic Virus in Cucurbits in Burdur Province

### ABSTRACT

In order to determine of Watermelon mosaic virus (WMV) and Cucumber mosaic virus (CMV) in cucurbit growing areas in Burdur province, totally 92 cucurbit leaf samples were collected in 2021. It was observed that the virus symptoms in plants were mosaic, curling, deformations, necrosis and chlorosis in leaves during surveys. The samples were tested by DAS-ELISA (Double antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay) using WMV and CMV specific polyclonal antibodies. As a result of DAS-ELISA test, WMV-2 infection was detected in 13 (14.13%) and CMV infection in 15 (16.30%) of 92 leaf samples.

**Keywords:** Cucurbits, virus, WMV, CMV, DAS-ELISA

# I. GİRİŞ

Sürekli artan dünya nüfusuna paralel olarak tarımsal üretime olan talebinde artması tarımsal arazilerden elde edilecek ürünlerde verim ve kalitenin artmasını kaçınılmaz hale getirmektedir. Türkiye ve dünyada en çok yetiştirilen sebzeler; domates, hıyar, kavun, karpuz ve biberdir [1]. FAO (2022) verilerine göre dünyada en fazla kavun üretimi 13.5 milyon ton ile Çin’de yapılmaktadır. İran ve Türkiye, Çin’den sonra en fazla kavun üretimi yapan ülkelerdir. Ülkemiz karpuz üretiminde üçüncü, kabak üretiminde ise onbirinci sırada yer almaktadır [2].

*Cucurbitaceae* familyası içerisinde bulunan kabakgil bitkileri yüksek su içeriklerine sahip olmalarından dolayı yaz mevsiminde bolca tüketilen sebzelerdendir. Kavun (*Cucumis melo* L.), hıyar (*C. sativus* L.), kabak (*Cucurbita* sp.) ve karpuz (*Citrullus lanatus* L.) bu familyanın önemli türleridir [3].

Göller bölgesinde yer alan Burdur ilinde 56.644 dekar (da) sebze alanında 196.615 ton sebze üretimi yapılmaktadır. İlde kabakgil üretimi ise yaklaşık 12.735 dekar alanda gerçekleştirilmektedir. Bu alanda 10.591 ton hıyar (sofralık), 83 ton hıyar (turşuluk), 29.314 ton karpuz, 14.556 ton kavun, 1874 ton kabak (sakız) üretimi yapılmaktadır [4].

Kabakgillerde çok sayıda abiyotik ve biyotik faktörler etkili olmaktadır. Bu faktörlerden virüsler kabakgillerde önemli zararlar oluşturmaktadır. Dünyada farklı araştırmacılar tarafından tespit edilen önemli virüs hastalıkları şunlardır: Cucumber mosaic Virus (CMV), Watermelon mosaic virus (WMV), Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV), Kabak mozayik virüsü (Squash mosaic virus, (SqMV) ve Papaya ring spot virus (PRSV) bunlardan bazılarıdır [5].

CMV, geniş bir konukçu dizisine sahip olup *Bromoviridae* familyası içerisinde yer almaktadır. Üç ikozahedral partikülden oluşmaktadır. Yaprak bitleri ile non-persistent olarak, mekaniksel olarak ve tohumla taşınabilmektedir [6].

WMV, *Potyviridae* familyası *Potyvirus* cinsine ait bir virüstür. Kıvrımlı iplikçik şeklindedir. Bu virüste mekaniksel ve 29 yaprak biti türü ile taşınmaktadır ve en yaygın türler, *Myzus persicae* (Sulzer) ve *Aphis craccivora* (Koch)’dır [7].

Virüs hastalıkları ile kimyasal mücadele yapılamamaktadır. Sadece kültürel önlemlerle kontrol altına alınmaya çalışılmaktadır. Bu sebeple öncelikle virüslerin doğru ve uygun zamanla teşhis edilmesi önem taşımaktadır.

Bu çalışma, Burdur ili kabakgil üretim alanlarında Hıyar mozayik virüsü ve Karpuz mozayik virüsü’nün belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

## II. MATERYAL VE METOD

### **A. BİTKİ ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI**

Burdur ili kabakgil üretim alanlarında CMV ve WMV’nin saptanması amacıyla sürveyler yapılmıştır. Sürveyler sırasında virüs benzeri semptom sergileyen karpuz, kavun, hıyar ve kabak bitkilerinden 92 yaprak örneği alınmıştır (Tablo 1). Alınan örnekler, numaralandırılarak buzdolabı poşetlerine konulmuş ve laboratuvara getirilerek çalışmalarda kullanılmaya kadar -20 °C de muhafaza edilmiştir. Arazi çıkışları 2021 yılı kabakgil üretim döneminde gerçekleştirilmiştir. Toplam 92 kabakgil örneği toplanmıştır (Tablo 1). Arazi çalışmalarında; yapraklarda mozayik, sararma, bitki boyunda kısılma, nekrotik leke oluşumu, damar açılması, kabarcıklanma ve klorotik lezyonlar semptomu sergileyen bitkiler tercih edilmiştir.

*Tablo 1. Burdur ilçelerinden alınan kabakgil örnek sayısı*

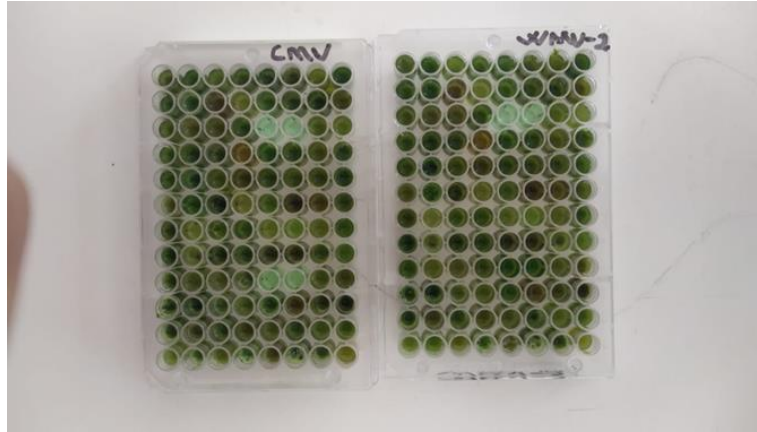
<b>Burdur İlçeleri</b>	<b>Kavun</b>	<b>Karpuz</b>	<b>Kabak</b>	<b>Hıyar</b>	<b>Toplam</b>
Çeltikçi	2	3	20	10	35
Bağsaray	2	-	16	15	33
Bucak	4	-	6	5	15
Ağlasun	2	-	2	5	9
<b>Toplam</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>44</b>	<b>35</b>	<b>92</b>

## **B. SEROLOJİK TEST YÖNTEMİ**

Virüslerin teşhisinde DAS-ELISA yöntemi kullanılmıştır. Testleme de CMV ve WMV virüslerine spesifik ELISA kitleri kullanılmıştır. Kitler DSMZ firmasından temin edilmiş ve yöntem, firmanın belirttiği şekilde uygulanmıştır.

Buna göre;

1. ELISA tabaklarının her bir çukurcuğu 1:1000 oranında kaplama tamponu ile seyreltilmiş virüslere özgü antikor ile hazırlanmış tampon çözelti ile kaplanmış ve 37 °C’de 4 saat bekletilmiştir.
2. Yıkamayı takiben ekstraksiyon tampon çözeltisinde örnekler 1:20 oranında ezilerek her bir çukura 200’er µl konulmuş ve buzdolabında tüm gece bekletilmiştir (Şekil 1).



*Şekil 1. Ekstraksiyon tampon çözeltisinde ezilen örneklerin ELISA tabaklarına eklenmiş hali.*

3. Yıkama işlemi tekrarlanmıştır.
4. Konjugat buffer ve konjugatlar sulandırılarak her bir çukura ilave edilmiş ve 37 °C’de tekrar bekletilmiştir.
5. İnkubasyondan sonra tekrar tüm çukurlar yıkama tamponu ile yıkanmıştır.
6. Substrat tamponu ile hazırlanmış olan substrat her bir çukura ilave edilmiş ve oda sıcaklığında bekletilerek renk değişimi gözlenmiştir.

Sonuçlar 405 nm dalga boyunda okunmuştur. Kontrol bitkisinin absorbans değerlerine göre kontrol değerinin en az iki katı okuma değeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir [8].

### **III. BULGULAR VE TARTIŞMA**

Burdur ili kabakgil alanlarında yapılan srveylerde, yapraklarda mozayik, sararma, kabarcıklanma, damar açılması, nekrotik lekeler ve bitkide gelişme geriliği, bitki boyunda kısıalma, deformasyon, gözlemlenmiştir (şekil 2,3,4). Çalışmada srvey alanlarında gözlemlenen belirtiler farklı araştırmacılar tarafından da ifade edilmiştir [9], [10].



*şekil 2. Karpuz bitkisinde mozayik, deformasyon belirtileri*



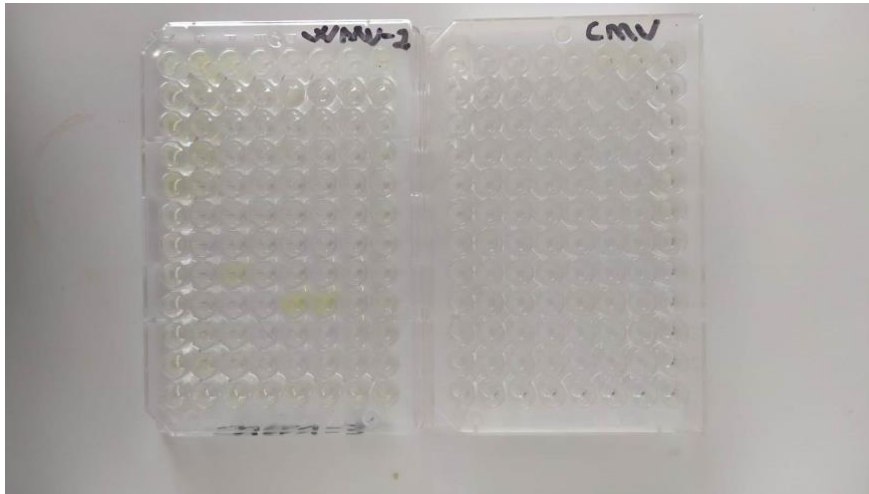
*şekil 3. Kabak bitkisinin yapraklarında deformasyon ve bitki boyunda kısıalma*



*Şekil 4. Hıyar bitkisinde mozayik, deformasyon ve kabarcıklanma symptomu*

Çalışma kapsamında Burdur iline bağlı Çeltikçi, Bağsaray, Bucak ve Ağlasun ilçeleri kabakgil üretim alanlarından toplanan yaprak örnekleri CMV ve WMV antiserumları ile DAS-ELISA testine tabi tutulmuştur (Şekil 5).

DAS-ELISA testi sonuçlarına göre; toplanan 92 kabakgil örneğinin 15' i CMV, 13'ü ise WMV ile enfekteli bulunmuştur. Örneklerin hiçbirinde karışık enfeksiyona rastlanmamıştır.



*Şekil 5. ELISA tabaklarında CMV ve WMV'nin oluşturduğu reaksiyonlar*

ELISA testlerinin sonucunda test edilen örneklerin; %16.30'unun CMV, %14.13'ünün WMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir.



*Tablo 2. Toplanan kabakgil örneklerinde virüslerin bulunma durumu*

Bitki	Örnek sayısı	CMV	% Hastalık	WMV	% Hastalık
Hıyar	35	4	11.42	6	17.14
Kabak	44	10	22.72	6	13.63
Kavun	10	1	10	1	10
Karpuz	3	-	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>92</b>	<b>15</b>	<b>16.30</b>	<b>13</b>	<b>14.13</b>

Burdur iline bağlı farklı ilçelerden toplanan 35 hıyar örneğinin 10 adedinde virüs enfeksiyonu tespit edilmiştir. Toplanan örneklerde CMV enfeksiyon oranı %11.42 olarak belirlenirken, WMV %17.14 olarak belirlenmiştir.

Kabak bitkisinde ise; test edilen örnek sayısı 44 iken, enfekteli örnek sayısı 16 dır. Kabak bitkisinde CMV enfeksiyon oranı %22.72, WMV enfeksiyon oranı %13.63'dür.

Kavun alanlarından alınan 10 örneğin 2 adedinde virüs tespit edilmiş ve yöredeki enfeksiyon oranı %20 olarak belirlenmiştir. Kavun alanlarında örneklerin %10'u CMV, %10'u ise WMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Karpuz alanlarından alınan örneklerde ise tekli veya karışık herhangi bir enfeksiyona rastlanmamıştır.

Ülkemizin farklı bölgelerinde kabakgil üretim alanlarında bu iki virüsün varlığı farklı yöntemlerle araştırılmıştır [9], [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16], [17], [18], [19], [20], [21], [22], [23].

Şevik ve Sökmen [9] Samsun ilinde yaptıkları çalışmada, CMV, ZYMV ve WMV'nin kabakgillerde oldukça yaygın virüsler olduğunu belirtirken; Kızmaz vd. [15], Diyarbakır ve Mardin ili örneklerinde de WMV ve CMV'nin en yaygın virüsler olduğunu ifade etmişlerdir.

Eskişehir ili kabakgil üretim alanlarında virüslerin belirlenmesinde DAS-ELISA yöntemi kullanılmış ve WMV enfeksiyon oranı %44.87 olarak tespit edilirken CMV bizim çalışmamıza benzer olarak %17.30 olarak tespit edilmiştir [19].

Kastamonu'da yapılan çalışmada; test edilen örneklerde virüslerin bulunma oranlarının, WMV için %36.63, CMV için %3,96 olduğu bildirilmektedir [8]. İzmir, Aydın, Manisa ve Balıkesir illeri kabakgil alanlarında en yaygın virüsün WMV ve CMV olduğu yapılan çalışma ile ortaya konulmuştur [21].

Daha önce aynı bölgede yapılan çalışmalarda ise Topkaya [22] Burdur ili kabakgil üretim alanlarında 5 örnekten 2 adedinde ZYMV, 2 adedinde ise WMV tespit etmiştir. Çulal-Kılıç vd [23] aynı bölgede yaptıkları farklı bir çalışmada da 94 kabakgil örneğinin % 9.5'unun ZYMV ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir.

Burdur ilindeki kabakgil üretim alanlarında CMV'nin varlığı ilk olarak yapılan bu çalışma ile tespit edilmiştir.

Burdur ili ve ilçelerindeki kabakgil üretim alanlarında CMV ve WMV'nin tanınması ile ilgili yapılan arazi çalışmalarında virüs benzeri semptom sergileyen yaprak örnekleri toplanmış ve bu örnekler serolojik çalışmalarda kullanılmıştır. Bu semptomlu örneklerin CMV ve WMV ile bulaşık olmaması ve negatif sonuç vermesi, farklı virüslerinde bu örneklerde bulunabileceği ihtimalini uyandırmaktadır. Bu bakımdan daha sonraki çalışmalarda örnek sayısı artırılarak farklı viral etmenlerin varlığını tespit etmeye yönelik çalışmaların yapılması planlanmaktadır.

## **IV. SONUC**

Virüs hastalıklarıyla mücadelede izlenecek programları belirlemeden önce virüslerin tanılanması gerekmektedir. Kabakgil yetiştiriciliğini sınırlayan ve etkin mücadele yöntemi bulunmayan CMV ve WMV'nin, Burdur ili kabakgil üretim alanlarında tanılanması amacıyla yürütülen bu çalışma daha sonra yapılacak olan çeşitli çalışmalara basamak oluşturacaktır. Ayrıca bu çalışma ile bölgede bulunan üreticiler bilgilendirilerek, hastalıkların oluşturduğu zararın minimuma indirilmesinde katkı sağlayacaktır.

Bundan sonra bölgede varlığı tespit edilen CMV ve WMV'nin karakterize edilmesi ve ırklarının ortaya konularak aralarındaki farklılıkların saptanması ile ilgili çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Kültür bitkilerini virüs hastalıklarından korumada etkili bir strateji olan dayanıklılık çalışmalarına ağırlık verilmelidir.

Ayrıca bu virüslerin kontrol altına alınabilmesi için vektörü olan yaprak bitleri ile mücadele edilmesi, bölgedeki populasyon durumlarının belirlenmesi ve virüse ara konukçuluk yapan yabancı otların yok edilmesi gerekmektedir. Böylece kimyasal mücadelesi yapılamayan ve çok sayıda kültür bitkisinde zararlı olan CMV ve WMV'nin kontrol altına alınması söz konusu olacaktır.

**TEŞEKKÜR:** Bu çalışma, TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı tarafından desteklenmiştir.

## **V. KAYNAKLAR**

- [1] S. Engindeniz, "Türkiye'de sebze üretimi ve gelecek için bazı öneriler," *MPM Verimlilik Dergisi*, s. 2 ss. 99-117, 2009.
- [2] FAO, [Online] Available: <https://www.fao.org/faosta/en>, 2022.
- [3] A. Günay, "Özel sebze yetiştiriciliği," *Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi*, 117, 1993.
- [4] TÜİK, [Online] Available: <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>, 2021.
- [5] H. Lecoq and C. Desbiez, "Viruses of cucurbit crops in the Mediterranean region: an ever changing picture," *Advances in Virus Research*, vol. 84, pp. 67-126, 2012.
- [6] M. Jacquemond, "Cucumber mosaic virus," *Advances in Virus Research*, vol. 84, pp. 439-504, 2012.
- [7] M.A. Kamberoğlu, C. Desbiez and A.F. Çalışkan, "Characterization of an emerging isolate of watermelon mosaic virus in Turkey," *International Journal of Agriculture Biology*, vol. 17, pp. 211-215, 2015.
- [8] Ş. Topkaya, "Kastamonu ili ve çevresinde kabakgil yetiştirilen alanlarda enfeksiyon oluşturan viral etmenlerin saptanması," *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, vol. 9, no.1, ss. 65-72, 2020.
- [9] M. Şevik and M. Arlı-Sökmen, "Viruses infecting cucurbits in Samsun, Turkey," *Plant Disease*, vol. 87, no. 4, pp. 341-344, 2003.
- [10] S. Yeşil and Ertunç, F. "Virus diseases of cucurbits in Konya province," *Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae*, 2012, pp. 791-796.

- [11] M. A. Şevik ve M.A. Sökmen, “Samsun ilinde kabakgil bitkilerinde görülen virüs hastalıkları,” *IX. Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, Tekirdağ, Türkiye, 2001, ss. 180-189.
- [12] M. Özasan, T. Aytekin, B. Bas, I. H., Kılıç, I.D. Afacan and S. Dağ, “Virus diseases of cucurbits in Gaziantep- Turkey,” *Plant Pathology Journal*, vol. 5, no. 1, pp. 24-27, 2006.
- [13] A. Karamanlı, “Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (KKTC)’ nde kabakgil yetiştirilen alanlarda Hıyar mozaik virüsü (Cucumber Mosaic Virus, CMV) ve Kabak Sarı Mozaik Virüsü (Zucchini Yellow Mosaic Virus, ZYMV)’nün surveyi,” Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana, Türkiye, 2007.
- [14] N. Yardımcı and H. Özgönen, “First report of Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in Turkey,” *Australasian Plant Disease Notes*, vol. 2, p. 59, 2007.
- [15] M., Kızmaz, Z.A. Sağır ve S. Baloğlu, “Diyarbakır ve Mardin illeri kabakgil üretim alanlarında görülen viral hastalıkların yaygınlıklarının ve etmenlerinin belirlenmesi,” *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, vol. 53, no. 4, ss. 397-406, 2016.
- [16] A. Çat, N. Yardımcı ve H. Çulal- Kılıç, “Antalya İli ve İlçelerindeki örtüaltı hıyar (*Cucumis sativus* L.) ve kabak (*Cucurbita pepo* L.) üretim alanlarında viral etmenlerin saptanması,” *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, vol. 20, no. 1, ss. 129-132, 2016.
- [17] S. Topkaya, C. Desbiez and F. Ertunç, “Presence of cucurbit viruses in Ankara and Antalya province and molecular characterization of coat protein gene of *Zucchini yellow mosaic virus* Turkish isolates,” *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 28, no. 4, pp. 2442-2449, 2019.
- [18] M. Usta, Güller, A. and Günay, A. “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*, vol. 48, no. 2, pp. 523-534, 2020.
- [19] M. Karabıyık ve S. Yeşil, “Eskişehir ili kabakgil ekim alanlarında görülen virüs hastalıklarının belirlenmesi,” *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, vol. 58, no. 4, 591-600, 2021.
- [20] A.Karanfil ve S. Korkmaz, “Güney Marmara Bölgesi kabakgil üretim alanlarında cucumber mosaic virus enfeksiyonunun tespiti ve kılıf protein gen diziliminin filogenetik analizi,” *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, vol.58, no. 2, 239-246, 2021.
- [21] A. Kaya and Erkan, S, “İzmir, Aydın, Manisa ve Balıkesir illerinde üretilen kabakgillerdeki viral etmenlerin tanılanması ve yaygınlıklarının belirlenmesi,” *Bitki Koruma Bülteni*, vol. 51, no. 4, 387-405, 2011.
- [22] Ş. Topkaya, “Kabak sarı mozaik virüsü izolatlarının kodladığı genlerin diziliminin belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu,” Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 2015.
- [23] H. Çulal-Kılıç, K. Doğan N. Yardımcı and L. Isparta, “Detection of Zucchini yellow mosaic virus from cucurbits in Burdur province Turkey,” *Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology*, vol. 3, no. 4, 4510-4512, 2016.