

ÇUKUROVA BÖLGESİ'NDE DOMATES SARI YAPRAK KIVIRCIKLIK VİRÜSÜ (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)'NÜN İRKLARININ ARAŞTIRILMASI*

Investigation of Strains of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) In Cukurova Region

Eray ATALAY
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Muharrem Arap KAMBEROĞLU
Bitki Koruma Anabilim Dalı

ÖZET

Tomato yellow curl virus (TYLCV) örtüaltı domates yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlarda domateste (*Lycopersicum esculentum*) önemli ekonomik kayıplara neden olan bir viral etmendir. TYLCV ile bulaşık bitkilerde gelişme geriliği ile beraber yapraklarda kıvrıcılık, küçülme ve sararma gibi semptomlar görülmektedir. Birçok ırkı rapor edilen TYLCV'nin ırklarının semptomatolojik olarak ayırt edilmesi mümkün değildir. Bu çalışma, 2017 yılında Adana ve Mersin illerinde TYLCV'nin ırklarının araştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Yaprak örnekleri TYLCV ile bulaşık bitkilerden toplanmış ve TYLCV'nin varlığı saptanmıştır. Bu çalışmada kullanılan TYLCV ırklarına spesifik primer çiftleri (TYLCV-IL , TYLCV-Mld) ile iki ırkı tespit edilmiştir. Aynı semptomları gösteren fakat ırklara spesifik primer çiftlerine bant vermeyen izolatlar, V1 kılıf protein bölgesini amplifiye eden (777 bp) primer çiftiyle testlenmiştir. Filogenetik analizler sonucunda, TYLCV-IL ve TYLCV-Mld'e bant veren izolatlar farklı ülkelerde rapor edilmiş bu ırklar ile yaklaşık %99 benzerlik göstermiştir. Ancak Mersin'den alınan iki izolatin, 777 bp büyüklüğündeki kılıf proteinin filogenetik analizinin sonucunda, dünya genelinde rapor edilmiş birçok TYLCV ırkı ve izolatıyla benzerliği olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında, TYLCV'nin birçok viral varyantının Akdeniz Bölgesi'nde örtüaltında gerçekleştirilen domates yetiştiriciliğini tehdit ettiği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler : PCR, Domates, Karakterizasyon, DSYKV, Irk.....

ABSTRACT

Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) is a viral agent causes significant economic loss worldwide on tomato (*Lycopersicum esculentum*) cultivation in greenhouses. The symptoms caused by TYLCV at infected tomato plants are stunting, small chlorotic leaves with upward curling. Many Different strains of TYLCV have been reported from various parts of the World and it's impossible to discriminate the strains by symptoms. This study was carried out for identification and characterization of TYLCV strains in Adana and Mersin provinces (Cukurova region) of Turkey in 2017. With this aim, leaf samples were collected from infected tomato plants and presence of TYLCV was confirmed by PCR. Two different strains of TYLCV (TYLCV-IL, TYLCV-Mld) were identified by using strain specific primers (TYLCV-IL, TYLCV-Mld) in Cukurova region. Similar symptomatic plants

* Aynı Başlıklı Yüksek Lisans Tezinden Üretilmiştir.

were tested with V1 primers amplifying the coat protein (CP) coding gene – 777 bp which had no PCR products for both TYLCV-IL and TYLCV-Mld specific primers. Phylogenetic analysis of TYLCV-IL and TYLCV-Mld proved that these isolates were related to other isolates from several countries. Although, phylogenetic analysis of CP (777 bp) of two isolates from Mersin province had similarities with most of the TYLCV strains and isolates from various countries all around the World. These results showed that TYLCV had many viral variants being a threat for tomato cultivation in greenhouses in the Mediterranean region of Turkey.

Key Words : TYLCV, PCR, ELISA, Characterization, Tomato..... ..

Giriş

Domates (*Lycopersicum esculentum*) dünyada ve ülkemizde en çok tüketilen sebzelerden biri olup, örtüaltında ve açıkta en çok tercih edilen bahçe bitkisidir. Mısır, pirinç, buğday, patates, soya, şeker kamışı ve cassavadan sonra yetiştiriciliği yapılan bitkiler arasında sekizinci sırada domates gelmektedir (Bergougnoux, 2014).

Domates yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapılması aynı zamanda birçok hastalık ve zararlı yaygın olmasına neden olmaktadır. Domateste ekonomik olarak önemli kayıplara yol açan hastalık etmenlerinden biri olan Domates sarı yaprak kıvrıkcılığı virüsü (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV), Geminiviridae familyasının Begomovirus cinsinde yer alan tek iplikli DNA yapısında bir virüstür (Hull, 2009). Enfekteli bitkilerde gelişim geriliğiyle beraber, küçük, kıvrıkcık ve klorotik yaprak semptomlarına neden olmaktadır. Domates üretiminin yapıldığı ülkelerin çoğunda görülen TYLCV'nin birçok ırkı bulunmaktadır ve bunlardan TYLCV-İsrail (EU143755) ve TYLCV-Mild (X76319) dünyada en yaygın olan ırklardır.

Navot ve ark. (1991) TYLCV-IL'in 2787 baz nükleotidden oluştuğu bildirmişler, daha sonra TYLCV'nin Mild izolatının sekansının incelenmesi sonucunda, TYLCV-Mild ile TYLCV'nin İsrail ırkının IR, C1, C4 gen bölgelerinde farklılıklar olduğu saptanmıştır (Antignus ve Cohen, 1994). Lefeuvre ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, TYLCV-IL ile TYLCV-Mld arasında semptomatolojik olarak farklılıkların gözlenemediği, ayırımın dizayn ettikleri primer çiftleri kullanılarak multiplex PCR yöntemiyle mümkün olduğunu belirtmişlerdir.

Türkiye'de domates yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlarda TYLCV'nin varlığı ilk olarak 1978 yılında rapor edilmiş (Yılmaz, 1978), daha sonra Köklü ve ark (2006), Mersin ve Muğla yörelerinden alınan örnekleri moleküler olarak çalışmış ve dizi analizleri ışığında, bu izolatların literatürdeki diğer izolatlardan farklı olabileceğini bildirmişlerdir. Fidan ve ark. (2011) ise, moleküler tanı yöntemleri kullanılarak Mersin ilinde TYLCV'nin ağırlıklı olarak B biyotipi ile yayıldığını saptamışlardır.

Bu çalışma, dünya genelinde oldukça yaygın olan TYLCV'nin Adana ve Mersin illerinde örtüaltında domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda varlığının serolojik ve moleküler yöntemlerle saptanması, var olan ırklarının araştırılması ve dağılımlarının ortaya konulması, bu ırkların sekans analizleri sonucunda

oluşturulan filogenetik ağaçlar yardımıyla moleküler karakterizasyonlarının yapılması amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve Metot

Materyal

Haziran ayı itibarıyla başlayan survey çalışmalarında, Adana (Karataş, Sarıçam) ve Mersin (Erdemli, Akdeniz) illerinde örtüaltı domates yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlardan TYLCV ile bulaşık olduğu şüphesiyle toplam 83 domates bitkisinden yaprak örneği alınmıştır. BIOREBA firmasından ticari olarak temin edilen TYLCV' ye spesifik ELISA kitleri, tampon çözeltiler (yıkama tamponu, kaplama tamponu, konjugat tamponu, substrat tamponu), NUNC marka 96 kuyulu ELISA pleytleri, otomatik pipetler ve pipet uçları ile saf su, ELISA testlerinde materyal olarak kullanılmıştır. ELISA testleri sonucunda örneklerin absorbans değerleri, Medispec markalı ESR 200 model ELISA okuyucusunda okunmuştur. DNA ekstraksiyon işlemi; steril havan ve havan eli, CTAB buffer ve solüsyonlar, ependorf tüpleri, ayarlanabilir mikro pipetler ve pipet uçları, kuru ısıtıcı ve Universal 320R marka masa tipi soğutmalı santrifüj kullanılmıştır. PCR işlemleri, Taq polimerase enzimi (DreamTaq polimerase enzyme, 5U/µl, Thermo Science) ve DreamTaq 10X tampon çözeltisi, dNTP set (dATP, dGTP, dCTP, dTTP, 100 mM, Ampliqon), 1 kbp DNA Ladder marker (NEB), steril su, pipet ve steril pipet uçları, PCR tüpleri ile TYLCV'ye spesifik primer çiftleri kullanılarak yürütülmüştür. TYLCV'ye spesifik primer çiftlerini TYLCV-IL için: TYv2337-TYc138 (Anfoka ve ark., 2009) ile TYLCV1840F-IL2642 (Lefeuvre ve ark., 2007); TYLCV-Mild için: TYLCV1840F-Mld2354R (Lefeuvre ve ark., 2007); TYLCV Kılıf Proteini için: V1 (Kim ve ark., 2011) olmak üzere dört adet primer çifti oluşturmaktadır. Agaroz jel elektroforez çalışmalarında, PCR ürünleri materyal olarak kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforez işlemi, agaroz, tampon çözeltiler, BIORAD marka Mini Sub. DNA Cell Elektroforez cihazı ve güç kaynağı, Ultraviolet (UV) Transilluminator marka UV ışık kaynağı ve jel görüntüleme sisteminden yararlanılmıştır. Elektroforez işlemi sonucunda, beklenen moleküler büyüklüğe sahip band veren örneklere ait PCR ürünleri seçilerek dizileme işlemi amacıyla ticari firmaya (Erdem Lab.) gönderilmiştir.

Metot

Simptomatolojik olarak (yapraklarda sararma, kıvrıcılık, küçülme, bitkide gelişim geriliği ve bitki boyunda kısılma) TYLCV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen domates bitkilerinden yaprak örnekleri naylon torbalara konulmuş ve numaralandırılarak buzluk içerisinde uygun koşullarda laboratuvara getirilmiştir. Toplanan örnekler, yapılacak olan çalışmalarda kullanılıncaya kadar, 4- 7 gün gibi kısa bir süre için +4°C' de, daha uzun bir süre için ise, -20°C' de muhafaza edilmiştir. Double Antibody Sandwich (DAS) ELISA çalışmaları, ELISA kitlerinin temin edildiği firma tarafından bildirilen yöntemle göre yürütülmüştür. DNA ekstraksiyon çalışmaları, arazi çalışmalarında domates bitkilerinden alınan genç yaprak örnekleri kullanılarak Fulton ve ark. (1995)' in önerdiği yöntemle göre PCR işlemi TYLCV izolatlarının moleküler yöntemlerle saptanması ve tanısının

yapılması amacıyla Lefeuvre ve ark. (2007)'nin bildirdiği yöntemle göre uygulanmıştır. PCR ürünleri hazırlanan agaroz jel elektroforezi ile gözlenmiştir (Galitelli ve Minafra, 1994; Desbiez ve ark., 2009). Elektroforez çalışmasından sonra pozitif sonuç elde ettiğimiz örnekler virüsün kısaltması (TYLCV), illerin plaka kodları (Adana: 01, Mersin: 33), ilçelerin baş harfleri olmak (Erdemli: E, Sarıçam: S, Karataş: K) şeklinde kodlanmıştır. Kodlanan örnekler arasından seçilen izolatların dizileme işlemi sonucunda elde edilen baz dizilimleri MEGA7 programı kullanılarak düzenlenmiş ve BLAST işlemi gerçekleştirildikten sonra, filogenetik analizleri (Neighbour-joining – Bootstrap:1000 metodu ile) yapılmıştır.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Adana(Sarıçam, Karataş) ve Mersin (Erdemli, Akdeniz) illerinde örtüaltında domates yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı yerlerde gerçekleştirilmiştir. Ancak, ülkemizdeki domates üretiminde Antalya'dan sonra ikinci sırada yer alan Mersin ili ve çevresi çalışmanın büyük bir kısmınınin yürütüldüğü alanları kapsamıştır. TYLCV'nin moleküler ve serolojik yöntemlerle test edilmesi için örnek toplamak amacıyla bu bölgelere arazi çıkışları Haziran ayında başlamış ve Aralık ayında son arazi çıkışı gerçekleştirilmiştir.

TYLCV'nin semptomatolojik olarak en özgün belirtisi olan yapraklarda kıvrıcılık semptomu göz önünde bulundurularak survey çalışmaları gerçekleştirilmiş ve TYLCV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen domates bitkilerinde yapraklarda kıvrıcılık dışında kaşıklaşma, küçülme, damar aralarında sararma ve bitkilerde gelişme geriliği semptomları gözlenmiştir. Antignus ve Cohen, (1994), Rochester ve ark. (1994), Crespi ve ark. (1995), Bananej ve ark. (2004), Köklü ve ark. (2006), Boukhatem ve ark. (2008), Pakniat ve ark. (2010), Van Brunschot ve ark. (2010) ve Al-Ali ve ark. (2016) yapılan semptomatolojik gözlemler ile survey çalışmamızda TYLCV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen domates bitkilerindeki semptomlar, benzerlik göstermektedir.

TYLCV ile enfekte şüphesi olan domates bitki dokuları, virüsün varlığı ve hangi irkinin enfeksiyona neden olduğunu belirlemek için moleküler ve serolojik çalışmalar yapılmıştır. TYLCV'ye spesifik ELISA kiti kullanılarak DAS-ELISA yöntemiyle serolojik olarak testlenmiştir. 83 izolatta gerçekleştirilen ve birkaç defa tekrarlanan testlemeler sonucunda, spektrofotometre yardımıyla absorbans değerleri ölçümleri değerlendirildiğinde serolojik olarak virüsün varlığı saptanamamıştır.

Begomovirus cinsinde TYLCV dışında, *Mungbean yellow mosaic virus*, *Cotton leaf curl virus* ve *African cassava mosaic virus* gibi birçok farklı virüs türü bulunmaktadır. Firmadan temin edilen *Begomovirus*lere spesifik ELISA kitinde yer alan antiserumun poliklonal olması nedeniyle TYLCV ile hiç ya da zayıf enzimatik reaksiyon gerçekleştirmiş olabilmesi (Acotto ve ark., 2007), toplanan domates yapraklarından izole edilen virüsün konsantrasyonunun düşük olması (Noris ve ark. 1994) ya da bölgemizde tespit edilen TYLCV izolatlarında mutasyon veya rekombinasyondan kaynaklanan kılıf protein yapısındaki farklılıklar (Duffy ve ark. 2008), DAS-ELISA testlerinde serolojik olarak TYLCV'yi saptayamadığımızdaki

unsurlar olabilmektedir. Bölgemizdeki virüsün izole edilerek monoklonal antikorların geliştirilmesi, serolojik yöntemlerle virüsü saptayabilmemizi kolaylaştırabilecektir.

TYLCV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen 83 domates bitkisinin yapraklarından izole edilen DNA'lar kullanılarak, TYLCV'nin ırklarına ve kılıf proteinine özgü spesifik primerlerle yürütülen moleküler çalışmalar, arazi çıkışlarını takiben en fazla bir hafta içerisinde gerçekleştirilmiş ve nükleik asitler -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Moleküler çalışmalarda, 83 izolat TYLCV-IL için: TYv2337- TYc138 ile TYLCV1840F- IL2642; TYLCV-Mild için: TYLCV1840F- Mld2354R; TYLCV Kılıf Proteini için: V1 (Forward ve Reverse) primer çiftleri ile testlenmiştir. TYLCV'nin İsrail ırkına spesifik TYLCV-IL (TYv2337, TYc138) primer çifti ile testlenmiş ve Mersin ilinden elde edilen 15 TYLCV izolatına (Akdeniz ilçesinden 1 izolat, Erdemli ilçesinden 14 izolat) ait 634 bp büyüklüğünde bantlar elde edilirken, Adana ilinden toplanan örnekler için herhangi bir bant gözlenmemiştir. Anfoka ve ark. (2009)'nın yaptıkları çalışmanın sonuçları ile paralellik göstermiştir. Araştırmacılar, TYv primer çifti kullanarak yürüttükleri çalışma sonucunda, 634 bp büyüklüğe sahip bant elde ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmanın sonraki aşamasında, toplanan örneklerden izole edilen nükleik asitler, TYLCV-IL'ye spesifik diğer bir primer çifti (TYLCV-1840F; IL-264R) ve TYLCV-Mld'a spesifik Mld-2354R; IL-264R primer çifti kullanılarak multiplex PCR yöntemiyle testlenmiş ve Adana'nın Sarıçam ilçesinden alınan 1 izolat ile Mersin'in Erdemli ilçesinden alınan 2 izolatta TYLCV-Mild için beklenen baz uzunluğunda (514 bp) bantlar elde edilmiştir. TYLCV-IL ırkına spesifik 802 bp uzunluğunda bant ise, TYLCV-Mild izolatları ile karışık olarak 2 Erdemli izolatında tespit edilmiştir. TYLCV-IL ırkına spesifik TYv2337; TYc138 primer çiftiyle yürütülen moleküler çalışmalar ile toplam 15 izolatta bant gözlenirken, multiplex PCR yönteminde kullanılan primer setinde üç izolatta TYLCV-IL tespit edilmesinin, PCR ile TYLCV'nin çoğaltması amaçlanan hedef gen bölgesindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmüştür (Yang ve ark., 2017).

Bu verilere ek olarak, iki Erdemli izolatında 514 bp ve 802 bp boyunda PCR ürünleri elde edilmiş ve hedef gen bölgesinin iki ırk için de aynı olması nedeniyle, bu izolatlarda TYLCV-IL ve TYLCV-Mild'in karışık enfeksiyona neden olduğu kanısına varılmıştır. Lefeuvre ve ark. (2007) TYLCV-IL ve TYLCV-Mild ırklarıyla gerçekleştirdikleri multiplex PCR çalışmaları sonucunda TYLCV Mild için 514 bp, TYLCV-IL için 802 bp büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir. Araştırmacılar, verileri değerlendirildiğinde, çalışmamızda paralel veriler ortaya çıkmıştır. Simptomatolojik olarak TYLCV ile enfekteli olduğundan şüphelenilen ancak, TYLCV-IL ve TYLCV-Mld'a spesifik primer çiftleri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda PCR ürünü elde edilemeyen TYLCV izolatlarının V1 primer çifti kullanılarak testlenmesi sonucunda Erdemli ilçesinden toplanan 5 TYLCV izolatı 777 bp büyüklüğünde bant vermiştir. Bu izolatlardan 2 tanesi seçilmiş ve baz dizilimi işlemi için firmaya gönderilmiştir. Bu çalışma sonunda elde edilen veriler Kim ve ark. (2011) tarafından bildirilenler ile paralellik göstermektedir. Araştırmacılar,

V1 primer çifti kullanarak yaptıkları PCR çalışmaları sonucunda, benzer şekilde 777 bp büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir.

TYLCV-IL ırkına spesifik primer çiftiyle (TYv2337-TYc138) bu çalışmada elde edilen TYLCV izolatlarının İspanya (DQ317771.1, DQ058084.1), Lübnan (DQ999997.1), İsrail (EU143755.1), İtalya (EU719077.1) gibi Akdeniz ülkelerinin yanı sıra, Amerika (AF260331.1) ve İran (JQ928340.1)'da daha önce çalışılmış TYLCV-IL izolatlarıyla %99 benzerlik gösterdiği BLAST analizlerinin incelenmesi sonucunda ortaya çıkmıştır. Filogenetik analiz sonucunda, TYLCV-33:E:1, TYLCV-33:E:2, TYLCV-33:E:6, TYLCV-33:E:8, TYLCV-33:E:9, TYLCV-33:E:10 olarak kodlu izolatlar aynı grupta olmasına karşın, TYLCV-33:E:1 farklı bir alt grupta, diğer beş izolat ise aynı alt grup içinde yer almıştır. Türkiye'de daha önce tespit edilen TYLCV izolatı (KM096585.1) ile farklı alt gruplarda yer almalarının dışında, İspanya (DQ058084.1, DQ317771.1), İran (JQ928340.1)'da çalışılmış TYLCV izolatları ile benzerlik göstermiş fakat filogenetik olarak farklı alt gruplarda yer almışlardır. Bu izolatlardan farklı olarak, TYLCV-33:E:3 kodlu izolat, Amerika (AF260331.1), İsrail(EU143755.1), Lübnan (DQ999997.1), İtalya (EU719077.1)'da tespit edilen TYLCV izolatları ile aynı grupta toplanmıştır. Alt gruplar incelendiğinde, TYLCV-33:E:3 kodlu izolat İtalya (EU719077.1) izolatı ile aynı alt grupta yer almıştır.

Mild ırkına spesifik (TYLCV1840F-Mld2354R) primer çiftiyle elde edilen TYLCV izolatının dünya genelinde çalışılmış TYLCV-Mld izolatlarıyla benzerlik gösterdiği BLAST analizlerinin incelenmesi sonucunda ortaya çıkmıştır. Japonya (AB921568.1), Çin (KF477277.1), Amerika (KJ913682.1) gibi farklı kıtalarda yer alan ülkelerde tespit edilen Mild izolatlarının benzerlik göstermesi, inokulum kaynaklarının aynı olabileceği düşüncesini beraberinde getirmektedir. Filogenetik analizin incelenmesi sonucunda, TYLCV-01:S:1 kodlu izolat Mild ırklarıyla %99'dan fazla benzerlik göstermesine karşın, farklı bir grupta yer almıştır. Çin (KF477277.1), Amerika (KJ913682.1), İspanya (LN846612.1), İsrail (EF158044.1) gibi farklı kıtalarda yer alan ülkelerde tespit edilen TYLCV-Mild izolatlarının birbirlerine yakın olması inokulum kaynaklarının da aynı olabileceğini göstermektedir (Mabvakure ve ark. 2016).

V1 gen bölgesine (CP) spesifik primer çiftiyle elde edilen PCR ürünlerinin sekans sonuçlarının BLAST analizlerinin diğer TYLCV izolatlarıyla karşılaştırılarak incelenmesi sonucunda, dünya genelinde tespit edilmiş TYLCV izolatlarıyla %99 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Filogenetik analiz sonucunda, Mersin'de tespit edilen TYLCV-33:E:4 ve TYLCV-33:E:12 izolatları farklı gruplarda yer almıştır. TYLCV-33:E:4 izolatı Fransa'da TYLCV İsrail (LN846614.1) ırkıyla, İsveç'te TYLCV-Mild (HF548825.1) ve İsrail'de TYLCV(Homra) (JX444575.1) tespit edilen TYLCV ırk ve izolatlarıyla aynı grupta yer almıştır. Köklü ve ark. 2006 yılında Mersin'de tespit ettikleri TYLCV izolatıyla (AJ812277.1), TYLCV-33:E:12 ile aynı grupta yer aldığı görülmektedir. Herhangi bir ırka spesifik olmayan primer çiftiyle (V1) gerçekleştirilen bu çalışma ile dünya genelinde görülen farklı izolat ve ırklar ile yakın akrabalık göstermesi, TYLCV'nin bu izolatlarının aynı inokulum kaynağı üzerinden belirtilen ülkelere yayılmış olabileceği fikrini düşündürmektedir. Lefeuvre

ve ark. (2010) Akdeniz ülkelerinin TYLCV'nin inokulum merkezi olabileceğini belirtmişlerdir. Ülkemizin iklim koşulları, TYLCV'nin konukçu bitkilerinin bölgemizde bulunması, beyazsineğin uzun süredir ülkemizde zarar neden olması (Kaygısız, 1976) TYLCV'nin Çukurova bölgesinden yayılmış olabileceği ihtimalini güçlendirmektedir.

Sonuçlar

Domates sarı yaprak kıvrıcılık virüsü (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV), özellikle örtüaltı domates yetiştiriciliğinin yapıldığı güz döneminde erken enfeksiyonlar nedeniyle verim kaybını %100'e varan oranlarda düşürebilmektedir (Czosnek, 2007). Beyazsinekler ile taşındığı bilinen TYLCV'nin ırklarının araştırılması amacıyla, Adana ve Mersin illeri ile ilçelerinde yürütülen bu tez çalışmasında, TYLCV ile enfekteli olduğu şüphesiyle toplanan domates örnekleri, serolojik ve moleküler yöntemlerle testlenmiştir. Adana'dan 8 ve Mersin ilinden 75 olmak üzere toplam 83 domates bitkisinden örnekleme yapılmıştır. Adana iline bağlı Sarıçam ve Karataş ilçelerinden 4'er, Mersin iline bağlı Erdemli ilçesinden 66 ve Akdeniz (Kazanlı) ilçesinden 9 örnek toplanmıştır. Yaz aylarının başında başlayan survey çalışmaları, Haziran, Ağustos, Eylül Ekim, Kasım, Aralık, aylarında gerçekleştirilmiştir. Yaz aylarında sıcak olması nedeniyle survey çalışmaları Erdemli ilçesinin yayla gibi yüksek kesimlerinde yürütülmüş, ancak domates bitkilerinde TYLCV tarafından meydana getirilen herhangi bir semptom gözlenmemiştir. Sonbahar ortasında sıcaklıkların düşmesiyle birlikte, örtüaltında yetiştiriciliği yapılan domates bitkilerinde, özellikle Ekim ayı ortasından itibaren yapraklarda kaşıklaşma, sararma, küçülme ve kıvrıcılık ile bitkilerde gelişme geriliği gibi semptomlar gözlenmiştir. Aralık ayının sonlarına doğru TYLCV semptomları daha kolay görülmeye başlanmıştır.

Yapılan tez çalışması sonucunda TYLCV'nin birden fazla ırkının bölgemizdeki ticari olarak yetiştirilen domateslerde enfeksiyona neden olduğu saptanmıştır. DAS-ELISA yöntemi ile TYLCV'ye spesifik antikorların bölgemizde yapılacak testlemelerde yeterli olmayabileceği belirlenmiştir. Örnekleme yapılan bitkilerde virüs konsantrasyonunun düşük olması ve ticari olarak TYLCV'ye spesifik monoklonal antikorların bulunmamasından dolayı, TYLCV'nin varlığının serolojik yöntemlerle saptanmasında problemler yaşanabileceği kanısına varılmıştır. Önümüzdeki yıllarda yapılacak çalışmalarda, bölgemizdeki TYLCV'ye spesifik monoklonal antikorların geliştirilmesi, virüsün saptanmasında kolaylık sağlayacaktır.

Tek iplikli DNA yapısında olan TYLCV, RNA virüsleri kadar fazla değişime uğramaktadır. Akdeniz iklim kuşağında olan ülkemiz ise, bu farklılaşma için gerekli ortamı TYLCV'ye sağlamaktadır. Bu yüzden, TYLCV'ye spesifik primerlerin kullanılmasının yanısıra, birçok ırkı bulunan TYLCV'nin ülkemizde bulunan izolatlarının klonlanması, moleküler çalışmalarda daha güvenilir ve hızlı sonuçlar elde edilmesine yardımcı olacaktır. Ayrıca, TYLCV'nin farklı ırklarının ortaya konulması, cross protection çalışmalarında da kullanılacak daha kesin verilerin elde edilmesini sağlayacaktır.

Diğer zararlı ve hastalıklara karşı etkili kimyasal mücadele yöntemleri olmasına rağmen, TYLCV'nin de dahil olduğu virüsler için direkt olarak kullanılabilen bir kimyasal söz konusu değildir. TYLCV'nin vektörü olan beyaz sineklere karşı yapılan kimyasal mücadele de yeterli olmamaktadır. Buna ilaveten bunların üretim yapılan alana girmesinin ve yayılmasının önüne geçebilmek için gerekli tedbirlerin de (seralarda açık kısımların tül ile kapatılması gibi) alınması gerekmektedir. Bunun yanında, virüs ile bulaşık domates bitkilerin üretim alanından uzaklaştırılıp imha edilmesi de gerekmektedir. Aynı zamanda, TYLCV'ye konukçuluk yapan birçok kültür bitkisi, yabancı ot ve virüsü latent olarak bünyesinde bulunduran ve hobi olarak yetiştiriciliği yapılan süs bitkilerinin de domates yetiştiriciliğini alanlardan uzak tutulmasının mücadeleye katkısı olacaktır. Bir üretim sezonu bitip, bitki artıkları tamamen temizlenmeden, yeni sezon için fidelerin aynı alana dikilmemesine dikkat edilmelidir. Böylece, vektörler yardımıyla, TYLCV'nin domates fidelerine çok erken dönemde bulaşması önlenecek ve çok daha büyük ekonomik kayıpların önüne geçilebilecektir. Özellikle, TYLCV'nin yaygın olarak gözlemlendiği bölgelerde domates üretiminde, bölgenin şartlarına uygun ve TYLCV'ye dayanıklı çeşitlerin seçilmesi de yararlı olacaktır.

Kaynaklar

- Acotto, G.P. and Noris, E., 2007. Detection methods for TYLCV and TYLCSV içinde *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance*, ed. Henry Czosnek (Dordrecht Springer Netherlands, 2007), ss. 241-249.
- Al-Ali, E., Al-Hashash, H., Ben Heji A., Al-Aqeel, H., 2016. First report of tomato yellow leaf curl virus infecting cucumber in Kuwait. Kuwait Institute for Scientific Research, Kuwait City, Kuwait. March 2016, Volume 100, Number 3 Page 656.
- Anfoka, G., Haj Ahmad, F., Abhary, M., Hussein, A., 2009. Detection and molecular characterization of viruses associated with tomato yellow leaf curl disease in cucurbit crops in Jordan. *Plant Pathology* (2009) 58, 754-762.
- Antignus, Y. ve Cohen, S., 1994. Complete Nucleotide sequence of an infectious clone of a mid isolate of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). *Phytopathology* 84:707-712.
- Bananej, K., Kheyri-Pour, A., Hoseini Salekdeh, G., Ahoonmanesh, A., 2004. Complete nucleotide sequence of Iranian tomato yellow leaf curl virus isolate: further evidence for natural recombination amongst begomoviruses. *ArchVirology* (2004) 149: 1435–1443.
- Bergougnoux, V., 2014. The history of tomato: From domestication to biopharming. *Biotechnology Advances* vol. 32, 170-189.
- Boukhatem, N., Jdani, S., Muhovsky, Y., Jacquenin, J.M., Del Rincone, C.L., Diez, M.J., Bouali, A., 2008. Molecular Characterisation of tomato yellow leaf curl virus Alm [Ma:Bk:02] in Morocco: Complete sequence and genome organisation. *Journal of Plant Pathology* (2008), 90(1), 109-112.

- Crespi, S., Noris, E., Vaira, A.M., Accotto, G.P., 1995. Molecular characterization of cloned DNA from a tomato yellow leaf curl virus isolate from Sicily. *Phytopath. Medit.*, 1995, 34, 93-99.
- Desbiez, C., Joannon, B., Wipf-Scheibel, C., Chandeysson, C., Lecoq, H., 2009. Emergence of New Strains of Watermelon Mosaic Virus in Sout-eastern
- Duffy, S., Shackelton, L.A., Holmes, E.C., 2008. Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. *Nat Rev Genet.* ;9:267 –76.
- Fidan, H., Karacaoğlu, M., Çağlar, B.K., Koç, G., Satar G., 2011. Domates Sarı Yaprak Kıvrıcılık Virüsü (Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV)) İrklarının Ve Vektör Bemisia Tabaci (Hemiptera Aleyrodidae) Biotipe İlişkisinin Belirlenmesi Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, 28-30 Haziran 2011.
- Fulton, T., Chunwongse, J. and Tanksley, S.D. (2007). Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 13, 207-209.
- Gallitelli, D and Minafra, A., 1994. Electroforesis. Course on plant virus diagnosis, 15-30 October 1994, Adana, Turkey. Page: 89-99.
- Hull, R., 2009. *Comparative Plant Virology*, Academic Press Elsevier, London, 376s.
- Kaygısız, H., 1976. Akdeniz bölgesi pamuklarda zarar yapan Beyaz sinek (*Bemisia tabaci* Genn)'in tanınması, biyolojisi, yayılışı alanları, zararı, konukçuları ve mücadelesi üzerinde araştırmalar. ADANA Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Yayınları No:45, 58s.
- Kim, S.H., Oh, S., Oh, T.K., Park J.S., Kim, S.C., Kim, S.H., Kim, Y.S., Hong, J.K., Sim, S.-Y., Park, K.S., Lee, H.G., Kyung Jae Kim, K.J., Choi, C.W., 2011. Genetic diversity of tomato-infecting Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) isolates in Korea. *Virus Genes* (2011) 42: 117.
- Köklü, G., Rojas, A., Kvarnheden, A., 2006. Molecular identification and the complete nucleotide sequence of a tomato yellow leaf curl virus isolate from Turkey. *Journal of Plant Pathology* (2006), 88(1), 61-66.
- Lefevre, P., Hoareau, M., Delatte, H., Reynaud, B., Lett, J.M., 2007. A multiplex PCR method discriminating between the TYLCV and TYLCV-Mld clades of Tomato yellow leaf curl virus. *Journal of Virological Methods* Volume 144, Issues 1–2, September 2007, Pages 165-168.
- Lefevre, P., Martin, D.P., Harkins, G., Lemey, P., Gray, A.J.A., Meredith, S., Lakay, F., Monjané, A., Lett, J.M., Varsani, A., Heydarnejad, J., 2010. The Spread of Tomato Yellow Leaf Curl Virus from the Middle East to the World. *PLoS Pathog* 6(10): e1001164.
- Mabvakure, B., Martin, P.D., Kraberger, S., Cloete, L., Van Brunshot, S., Geering, A.D.W., Thomas, J.E., Bananej, K., Lett, J.-M., Lefevre, P., Varsani, A., Harkins, G.W., 2016. Ongoing geographical spread of Tomato yellow leaf curl virus. *Virology* 498. 257-264.

- Navot, N., Pichersky, E., Zeidan, M., Zamir, D., Czosnek, H., 1991. Tomato yellow leaf curl virus: a whitefly-transmitted geminivirus with a single genomic component. *Virology* 185, 131–161.
- Noris, E., Accotto, G.P., Luisoni, E., 1994. Advances in diagnosing tomato yellow leaf curl geminivirus infection. *Mol Biotechnol* (1994) 2: 219.
- Pakniat, A., Behjatnia, S.A.A., Kharazmi, S., Shahbazi, M., Izadpanah, K., 2010. Molecular Characterization and Construction of an Infectious Clone of a New Strain of Tomato Yellow Leaf Curl Virus in Southern Iran. *Iran J. Plant Path.*, Vol. 46, No. 4, 2010: 101-115.
- Rochester, D.E., DePaulo, J.J., Fauquet, C.M., Beachy, R.N., 1994. Complete nucleotide sequence of the geminivirus tomato yellow leaf curl virus, Thailand isolate. *Journal of General Virology* (1994), 75, 477-48.
- Van Brunschot, S.L., Persley, D. M., Geering, A. D., W., Campbell, P. R., Thomas, J. E., 2010. Tomato yellow leaf curl virus in Australia: Distribution, detection and discovery of naturally occurring defective DNA molecules. *Australasian Plant Pathology : AAP*, 39(5), 412-423.
- Yang, X., Wang, B., Luan, J., Xie, Y., Liu, S., Zhou, X., 2017. Molecular variation of tomato yellow leaf curl virus in the insect vector *Bemisia tabaci*. *Scientific Reports*, vol. 7, article number: 16427 (2017).
- Yılmaz M.A., 1978. Tomato yellow leaf curl virus on tomato. *Doğa*, 4: 248-250.