



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKRONİZE CaCO_3 'ÜN HIYAR MOZAYİK VİRÜSÜ (Cucumber Mosaic Virus, Cucumovirus) İLE İNFEKTELİ BİBER (*Capsicum annuum* L.) BİTKİLERİNDE OLUŞTURDUĞU BİYOKİMYASAL TEPKİLER

MUHAMMED MUSTAFA GÜLLÜOĞLU

BİTKİ KORUMA

**Şanlıurfa
2025**



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MİKRONİZE CaCO_3 'ÜN HIYAR MOZAYİK VİRÜSÜ (Cucumber Mosaic
Virus, Cucumovirus) İLE İNFEKTELİ BİBER (*Capsicum annuum* L.)
BİTKİLERİNDE OLUŞTURDUĞU BİYOKİMYASAL TEPKİLER**

MUHAMMED MUSTAFA GÜLLÜOĞLU

**BİTKİ KORUMA
Tez Danışmanı: Prof. Dr. MEHMET ERTUĞRUL GÜLDÜR**

**Şanlıurfa
2025**

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim. Tezimin tüm aşamasında katkı ve yön veren danışmanım sayın Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR'e, Laboratuvar analizlerinin yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen Diyarbakır Zirai Mücadele Enstitüsü çalışanları Dr. Behzat BARAN ve Ziraat Yüksek Mühendisi Osman ÇİFÇİ'ye şükranlarımı sunarım. Ayrıca çalışmanın laboratuvar analizlerinin yapılmasında yardımcı olan tüm Bitki Koruma Hocalarıma, istatistiksel analizlerde yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğretim Üyesi Shahid FAROOQ'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
KISALTMALAR	iv
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1. Gereç	11
3.1.1. Araştırmanın Yürütüldüğü Yer ve Materyaller	11
3.1.2. Virüs Materyali	11
3.1.3. Mikronize Kalsit	11
3.1.4. Testlemelerde Kullanılan Antiserum ve Tampon Çözeltiler	11
3.1.5. Biyokimyasal Analizlerde Kullanılan Materyaller	11
3.2. Yöntem	12
3.2.1. Virüsün Çoğaltılması	12
3.2.2. Mekanik inokulasyon yöntemi	12
3.2.3. Serolojik Testler	12
3.2.4. Test Örneklerinin Hazırlanması	12
3.2.5. DAS-ELISA Testinin Uygulanması	12
3.2.6. Deneme bitkilerinin yetiştirilmesi ve deneme deseninin oluşturulması	13
3.2.7. Biyokimyasal Analiz Çalışmaları	14
3.2.8. Bitkilerde klorofil analizi	14
3.2.9. Bitkilerde Peroksidaz (POX) Analizi	14
3.2.10. Bitkilerde Katalaz Analizi	15
3.2.11. Bitkilerde Protein Analizi	15
3.2.12. Lipit peroksidaz (MDA) analizi	15
3.2.13. Jasmonik asit analizi	16
3.2.14. Salisilik asit analizi	16
3.3. İstatistiksel Analizler	16
4. BULGULAR	17
4.1. Virüs İzolatının Çoğaltılması	17
4.2. ELISA Testleri	17
4.3. Biber Bitkisinde Biyokimyasal Değişimler	17
4.3.1. CMV Etmeninin Toplam Klorofil Miktarına Etkisi	18
4.3.2. CMV Etmeninin Protein İçeriğine Etkisi	19
4.3.3. CMV Etmeninin Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesine Etkisi	20
4.3.4. CMV Etmeninin Katalaz Enzim Aktivitesine Etkisi	20
4.3.5. CMV Etmeninin Lipit Peroksidaz (MDA) Enzim Aktivitesine Etkisi	21
4.3.6. CMV Etmeninin Salisilik Asid (SA) Enzim Aktivitesine Etkisi	22
4.3.7. CMV Etmeninin Jasmonik Asid (JA) Enzim Aktivitesine Etkisi	22
4.3.8. Farklı Biyokimyasal ve Fizyolojik Parametreler Arasındaki Korelasyon	23
5. TARTIŞMA	24
6. SONUÇLAR	29
7. ÖNERİLER	30
KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	38

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKRONİZE CaCO_3 'ÜN HIYAR MOZAYİK VİRÜSÜ (Cucumber Mosaic Virus, Cucumovirus) İLE İNFEKTELİ BİBER (*Capsicum annuum* L.) BİTKİLERİNDE OLUŞTURDUĞU BİYOKİMYASAL TEPKİLER

MUHAMMED MUSTAFA GÜLLÜOĞLU

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA

Tez Danışman: Prof. Dr. MEHMET ERTUĞRUL GÜLDÜR

Yıl: 2025, Sayfa : 38

Hıyar Mozaik Virüsü (CMV), üretim alanlarında biber bitkilerinde ekonomik zararlara neden olan en önemli virüslerden bir tanesidir. Biber (*Capsicum annuum*) yetiştirme döneminde birçok biyotik ve abiyotik stres faktörlerine de maruz kalmaktadır. Biyotik stres faktörlerinden olan virüsün yaprak bitleriyle bitkiden bitkiye taşınması nedeniyle yıkıcı etkisi daha şiddetli olarak ortaya çıkmaktadır. Bu araştırmada, yapay olarak virüs ile bulaştırılan ve mikronize CaCO_3 (MC) uygulanan biber bitkilerinin tepkisi virüs stresi altında incelenmiştir. Çalışma CMV etmeni ile bulaştırılan bitkilerde tesadüf parselleri deneme desenine göre beş grupta altı tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür. Bu gruplar; a) kontrol, b) CMV ile infekteli bitkiler, c) CaCO_3 uygulaması yapılan sağlıklı bitkiler, d) CaCO_3 uygulanan CMV ile infekteli bitkiler. e) CMV ile enfekteli CaCO_3 uygulaması yapılan bitkilerden oluşmuştur. Mikronize kalsitin etkinliğini belirlemek için kontrol, hastalıklı, hastalıklı + MC uygulanmış, MC + hastalık uygulanmış bitkilerde klorofil, protein, jasmonik asit (JA), salisilik asit (SA), katalaz (CAT), peroksidaz (POX) ve malondialdehit (MDA) analizleri yapılmıştır. Sağlıklı yapraklara kıyasla CMV ile enfekteli biber yapraklarında CAT, POX ve MDA enzim içerikleri artış gösterirken; protein, klorofil JA ve SA içeriği azalış göstermiştir ($P<0.05$). MC uygulanmış enfekteli bitkiler CMV enfekteli bitkilere kıyasla klorofil, JA ve SA içerikleri artan bir eğilim göstermiştir. Bu çalışma ile biber bitkisinde CMV etmeninin meydana getirdiği klorofil, protein içeriği ve antioksidan enzimlerin değişimi ilk kez araştırılmıştır. MC uygulamasının biber bitkilerinde patojenik baskıyı azalttığını göstermektedir. Biber bitkisinde CMV etmeninin biyokimyasal tepkilerinin bilinmesi hastalık kontrol stratejilerinin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELE: CaCO_3 , Jasmonik asit , Biber, CMV, MDA

ABSTRACT

MASTER THESIS

BIOCHEMICAL RESPONSES OF MICRONIZED CaCO_3 ON PEPPER (*Capsicum annuum* L.) PLANTS INFECTED WITH CUCUMBER MOSAIC VIRUS (Cucumber Mosaic Virus, Cucumovirus)

MUHAMMED MUSTAFA GÜLLÜOĞLU

HARRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE EDUCATION
PLANT PROTECTION

Thesis Supervisor: Prof. Dr. MEHMET ERTUĞRUL GÜLDÜR

Year: 2025, Page : 38

Cucumber Mosaic Virus (CMV) is one of the most important viruses that cause economic losses in pepper plants in production areas. Pepper (*Capsicum annuum*) is exposed to many abiotic and biotic stress factors during the growing period. Since the virus, which is one of the biotic stress factors, is transmitted from plant to plant by aphids, its destructive effect becomes more severe. In this study, the response of pepper plants artificially infected with the virus and micronized CaCO_3 (MC) was investigated under virus stress. The study was carried out in plants infected with CMV according to the randomized plot design with six replications in five groups. These groups consisted of; a) control, b) CMV-infected plants, c) CaCO_3 -applied healthy plants, d) CaCO_3 -applied CMV-infected plants. e) CMV-infected plants treated with CaCO_3 . To determine the effectiveness of micronized calcite, chlorophyll, protein, jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA), catalase (CAT), peroxidase (POX) and malondialdehyde (MDA) analyses were performed on control, diseased, diseased + MC applied, MC + diseased plants. While CAT, POX and MDA enzyme contents increased in CMV-infected pepper leaves compared to healthy leaves, protein, chlorophyll JA and SA contents decreased ($P<0.05$). MC applied infected plants showed an increasing trend in chlorophyll, JA and SA contents compared to CMV infected plants. In this study, the changes in chlorophyll, protein content and antioxidant enzymes caused by CMV agent in pepper plants were investigated for the first time. It shows that MC application reduces pathogenic pressure in pepper plants. It is thought that knowing the biochemical responses of CMV agent in pepper plants will make significant contributions to the development of disease control strategies.

KEYWORDS: CaCO_3 , Jasmonic acid, Pepper, CMV, MDA

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. MİY ile inokule edilen tütün (<i>N. sylvestris</i>) bitkisinde oluşan damar açılması ve mozaik belirtileri	17
Şekil 4.2. CMV ile enfekteli ve MC uygulanmış biber bitkilerinin 65. gündeki durumu (Soldan sağa doğru; 1: kontrol, 2: CMV enfekteli, 3: 3MC uygulanmış, 4: CMV enfekteli 3MC uygulanmış, 5: 3MC+CMV uygulanmış).	18
Şekil 4.3. CMV ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam klorofil içeriği (CMV= Hıyar Mosaic Virüsü; MC= mikronize kalsit)	18
Şekil 4.4. CMV ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam protein içeriği (CMV= Hıyar Mosaic Virüsü; MC= mikronize kalsit)	19
Şekil 4.5. CMV ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam peroksidaz içeriği (CMV= Hıyar Mosaic Virüsü; MC= mikronize kalsit)	20
Şekil 4.6. CMV ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam katalaz içeriği (CMV= Hıyar Mosaic Virüsü; MC= mikronize kalsit)	21
Şekil 4.7. CM ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam Lipit Peroksidaz (MDA) içeriği (CMV= Hıyar Mosaic Virüsü; MC= mikronize kalsit)	21
Şekil 4.8. CM ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam salisilik asit (SA) içeriği (CMV= Hıyar Mosaic Virüsü; MC= mikronize kalsit)	22
Şekil 4.9. CM ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam jasmonik asit (JA) içeriği (CMV= Hıyar Mosaic Virüsü; MC= mikronize kalsit)	23
Şekil 4.10. Farklı biyokimyasal ve fizyolojik parametreler arasındaki korelasyon	23

KISALTMALAR

CAT	Katalaz
g	gram
JA	Jasmonik asit
MDA	Malondialdehit
mL	Mililitre
Peroksidaz	POX
SA	Salisilik asit
°C	Santigrat derece
µl	Mikro litre
µM	Mikro molar

1. GİRİŞ

Biber (*Capsicum annuum* L.) ihracatımız içerisinde önemli bir yeri olan, boya ve ilaç sanayisinde kullanılan içerdiği zengin mineral maddeler, vitaminler nedeniyle insan beslenmesinde ve doğal olarak da gıda sanayisinde önemli bir yer edinen sebze türüdür. Biber Magnoliphyta bölümü, Magnoliopsida sınıfı, Solanales takımı ve Solanaceae familyasına aittir. Ilıman ve subtropik ülkelerde bir yıllık, tropikal ülkelerde ise iki yıllık veya çok yıllık olarak yetiştirilen genellikle tatlı ve acı olmak üzere sınıflandırılan bir bitkidir. Dünyada üretilen 37.000.000 ton biberin % 45.5'i Çin'de, % 8.41'i Meksikada, %8.17'si Endonezyada, % 8.16'sı Türkiye'de, ve % 4.14'ü İspanya'da üretilmektedir. Bu beş ülke dünya üretiminin % 74.4'ünü oluşturmaktadır (FAO, 2024). Türkiye'de yılda üretilen 3.428 milyon ton biberin % 69'unu kapa biber, % 12'sini sivribiber, % 11'ini çarliston biber teşkil eder (TÜİK 2024). Dünyada nüfusun hızla artması ve besin kaynaklarının giderek azalması daha fazla ürün yetiştirme zorunluluğunu beraberinde getirmektedir. Sebze üretim alanlarının sınırlı olması nedeniyle mevcut miktarın korunması ve birim alandan alınacak üretimin artırılması gerekmektedir. Sebze tarımında üretimi ve daha fazla miktarda verim alınmasını engelleyen birçok biyotik ve abiyotik etmen bulunmaktadır.

Biber yetiştiriciliğinde karşılaşılan en önemli sorunlardan biri, kimyasal mücadele yöntemlerinin bulunmaması nedeniyle etkin şekilde kontrol altına alınamayan virüs hastalıklarıdır. Bu hastalıklar, bitkilerin fizyolojik gelişimini olumsuz yönde etkileyerek ürün miktarında düşüşe, pazarlanabilir ürün niteliğinin azalmasına ve bazı durumlarda meyve oluşumunun tamamen engellenmesine neden olmaktadır. Dolayısıyla virüs hastalıkları, tarımsal üretimde ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Biyotik etmenler içerisinde, virüslerin özgün yapıları ve enfeksiyon mekanizmaları nedeniyle ayrı bir öneme sahip olduğu belirtilmektedir. Virüslerin bitki bünyesindeki yayılım hızları, çoğalma özellikleri, oluşturdıkları semptomlar ile kimyasal ve fiziksel özelliklerinin yanı sıra, etkin bir mücadele yönteminin geliştirilememiş olması bu önemi daha da artırmaktadır (Yılmaz vd., 1993; Yılmaz ve Davis, 1984).

Kültür bitkilerinde yaygın zararlara yol açan virüs hastalıkları arasında, Tütün Mozaik Virüsü (TMV)'nden sonra en geniş konukçu spektrumuna sahip patojenlerden biri Hıyar Mozaik Virüsü (Cucumber mosaic virus, CMV)'dür. CMV, Cucumovirus cinsine ait olup, 365 takım ve 85 familyaya ait en az 775 bitki türünü enfekte edebildiği bildirilmiştir (Francki vd., 1979; Kaper ve Waterworth, 1981; Tien

vd., 1987). Virüs, yaklaşık 30 nm çapında ve aynı sedimentasyon katsayısına sahip üç farklı ikosahedral partikülden oluşmaktadır (Francki vd., 1979). CMV partiküllerinin yaklaşık %18'i tek iplikli RNA'dan oluşmaktadır. Viral genom, pozitif polariteli tek iplikli üç RNA segmentinden (RNA 1, RNA 2 ve RNA 3) meydana gelmektedir (Paden ve Symons, 1973; Lot vd., 1974). Bunlara ek olarak, protein kılıfın sentezinden sorumlu RNA segmenti RNA 4 olarak adlandırılmaktadır (Schwinghamer ve Symons, 1975; Gould ve Symons, 1983).

CMV ile ilişkili bir diğer önemli genetik yapı ise "satellit RNA" (CARNA-5) olarak adlandırılmaktadır (Martelli ve Quacquarelli, 1988; Kaper ve Waterworth, 1981). Bu küçük nükleik asit molekülleri, çoğalabilmek için yardımcı bir virüse bağımlı olmaları nedeniyle doğrudan bitki genomu ile ilişkili değildirler. Satellit RNA'lar, yardımcı virüsün genomu ile homolog olabildikleri gibi, tamamen farklı yapılar da sergileyebilirler. Ancak her iki durumda da bu moleküllerin replikasyonu, sistemik taşınımı ve enfeksiyon oluşturmaları için CMV gibi yardımcı bir virüsün varlığı gereklidir. Ayrıca, bu RNA'lar enfekte konukçu bitkilerde oluşturulan hastalık semptomlarının şiddetini artırabilir veya azaltabilirler. Bu özellikleri nedeniyle bazı satellit RNA'ların, virüs kaynaklı hastalıkların kontrolünde çapraz koruma stratejilerinde biyolojik ajan olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (Montasser vd., 1998; Monti vd., 1999).

Mikronize nanoteknolojik kalsit, kalsit minerallerinin mekanik olarak aktif hâle getirilmesiyle elde edilen ileri düzeyde işlenmiş bir üründür. Bu materyalin kimyasal bileşimi yaklaşık olarak %50 oranında kalsiyum oksit (CaO), %1 magnezyum oksit (MgO), %0.2 demir(III) oksit (Fe₂O₃) ve %0.4 silisyum dioksit (SiO₂) içermektedir. pH aralığı ise nötr ile hafif alkali arasında değişmekte olup, yaklaşık 7–10 arasında seyretmektedir (Anonymous, 2015).

Tortul ve denizel kökenli kaynaklardan elde edilen kalsit, fiziksel işleme mikro ve nano boyutlara kadar parçalanarak yüksek yüzey alanına sahip bir toz hâline getirilmektedir. Bu yapısal özelliği sayesinde su içinde kolaylıkla süspanse olabilmekte ve bitki yapraklarına püskürtme yöntemiyle uygulanabilmektedir. Uygulama sonrası bitki yüzeyine tutunan mikronize kalsit parçacıkları, gözeneklerden bitki dokularına nüfuz etmekte ve burada kalsiyum oksit (CaO) ile karbondioksit (CO₂) bileşenlerine ayrışmaktadır. Açığa çıkan CO₂, doğrudan bitkinin fotosentez sürecine dâhil edilmekte ve bu süreçte güneş ışığı ile birlikte organik bileşiklerin üretimine katkı sağlamaktadır.

Fotosentez hızı, genellikle ortamda bulunan ışık şiddeti ve karbondioksit derişimiyle sınırlı olduğundan, mikronize nanoteknolojik kalsit uygulaması bu süreç üzerinde dolaylı fakat önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, kalsiyum içeriğı sayesinde hücre duvarı bütünlüğünün korunması, hücre bölünmesi ve çeşitli enzimatik faaliyetlerin düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik sürece de olumlu katkılar sağlamaktadır. Böylelikle, bu tür ürünler sadece besin elementi kaynağı olarak değil, aynı zamanda bitkisel üretim süreçlerinde metabolik düzenleyici olarak da değerlendirilmektedir.

Bitkiler, çevresel koşullardan kaynaklanan abiyotik stresler ile patojen kaynaklı biyotik stres faktörlerine maruz kaldıklarında, bu streslere karşı çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal tepkiler geliştirerek hastalığın şiddetini doğrudan etkileyebilmektedir. Aynı anda maruz kalınan stres türleri, bitki türüne, patojenin biyolojisine ve stresin şiddetine bağlı olarak sinerjistik ya da antagonistik etkiler gösterebilmekte ve bu etkileşim patojenlere karşı bitki duyarlılığında artışa veya azalmaya neden olabilmektedir. Varela vd. (2019) tarafından yürütölen bir çalışmada, börölce bitkilerine eşzamanlı olarak uygulanan tuz stresi (abiyotik) ve şiddetli börölce mozaik virüsü (CPSMV) enfeksiyonunun (biyotik), CPSMV'ye karşı bitki duyarlılığını artırdığı ve bu durumun stres faktörleri arasında katkı etkisi oluşturduğu bildirilmiştir.

Benzer şekilde, Akkurak vd. (2022) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, '*Candidatus Phytoplasma asteris*' ile enfekte edilmiş marul (*Lactuca sativa*) bitkilerinde fizyolojik ve biyokimyasal değişimler değerlendirilmiştir. Araştırma sonuçları, enfekteli bitkilerde toplam protein ve klorofil içeriğinin azaldığını; buna karşılık malondialdehit (MDA) birikimi ile prolin, peroksidaz (POX) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinde artış meydana geldiğini ortaya koymuştur.

Buna benzer olarak, Ayvacı vd. (2022), '*Candidatus Phytoplasma aurantifolia*' etmeni ile enfekte edilmiş yonca (*Medicago sativa*) bitkilerinde meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri incelemişlerdir. Bu çalışmada da enfekteli bitkilerde protein ve toplam klorofil miktarının azaldığı; MDA birikimi, prolin, CAT, POX enzim aktiviteleri ile fenolik bileşikler, salisilik asit ve jasmonik asit içeriklerinin enfeksiyon koşullarında artış gösterdiği rapor edilmiştir.

Bu doğrultuda yürütölecek olan mevcut çalışmada, biyotik stres faktörü olarak mekanik inokölasyon yoluyla biber bitkilerine bulaştırılan virüs enfeksiyonu

altında, mikronize kalsiyum karbonat (CaCO_3) uygulamasının biyokimyasal etkileri araştırılacaktır. Araştırmanın temel amacı, virüs enfeksiyonu koşullarında mikronize CaCO_3 uygulamasının bitki savunma sistemleri ve fizyolojik yanıtları üzerindeki potansiyel düzenleyici etkilerini ortaya koymaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Cucumber mosaic virus (CMV) ilk olarak hıyar (*Cucumis sativus*) bitkisinde tanımlanmıştır (Brunt vd., 1990). Bu virüs, Bromoviridae familyasına bağlı Cucumovirus cinsi içerisinde yer almaktadır (Martelli, 2003). Cucumovirus cinsinde, CMV dışında, önemli ekonomik kayıplara neden olan Peanut stunt virus (PSV), Tomato aspermy virus (TAV) ve Bean distortion mosaic virus (BDMV) gibi diğer virüsler de bulunmaktadır (Kaper ve Waterworth, 1981; Palukaitis vd., 1992; White vd., 1995).

Hıyar Mozaik Virüsü (Cucumber Mosaic Virus - CMV), biber bitkilerinin kalitesini ve verimini etkileyen yaygın bir virüstür. Şiddetli yerel salgınlar sırasında %80'den fazla verim kaybına neden olabilmektedir (Li vd., 2020). CMV, 100 familyaya ait 1200'den fazla bitki türünü etkileyebilen geniş bir konakçı yelpazesine sahiptir. Virüs, 80'den fazla yaprak biti türü tarafından kalıcı olmayan bir şekilde taşınmaktadır (Palukaitis ve Garcíaarenal, 2003). CMV ile enfekte olmuş biber bitkilerinde görülen belirtiler arasında beneklenme, mozaik, damar açılması, sarı renk bozukluğu, yapraklarda daralma veya deformasyon bulunmaktadır (Green ve Kim, 1991). Enfekte bitkiler ciddi şekilde bodurlaşma ve azalmış çiçek oluşumu gösterirler. Meyveler küçük, şekli bozulmuş, pürüzlü, kısmen rengi değişmiş olabilir ve çökük lekeler veya nekrotik lezyonlar gösterebilir (Li vd., 2020).

Kalsiyum, farklı canlı organizmalarında evrensel bir haberci olarak işlev görür ve patojenlerden korunma dahil olmak üzere çoğu fizyolojik süreci düzenler. Son araştırmalar, kalsiyum sinyalizasyonunun bitkilerde antiviral koruma için önemli bir rol

oyndığını göstermektedir (Zvereva vd., 2023). Kalsiyum sinyalizasyonu, hem hücre yüzeyi hem de hücre içi reseptör proteinlerinin aktivasyonunun ardından doğal bağışıklık savunma reaksiyonlarının kurulmasında kilit bir rol oynamaktadır. Bu savunma reaksiyonları, mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK'lar) aracılığıyla sinyal iletimini, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini, salisilik asit (SA) birikimini ve bitkilerde çeşitli patojenlere karşı yerel ve sistemik bağışıklık tepkisini indüklemek için kapsamlı transkripsiyonel yeniden programlamayı içerir (Garcia-Brugger vd., 2006; Gilroy vd., 2016; Choi vd., 2017). Son yıllarda, fonksiyonel kalsiyum kanallarının biyotrofik ve nekrotrofik patojenlere karşı bağışıklık için gerekli olduğu açıklık kazanmıştır (Koster vd., 2022; Xu vd., 2022). Bu kanallar, kalsiyumu hücre içi ve hücre dışı depolardan serbest bırakarak sitoplazmadaki serbest kalsiyum konsantrasyonunda hızlı bir artışı kolaylaştırır. Bu,

hücre içi kalsiyum deşifre edicilerini aktive eder, bunlar da hedef proteinlerini aktive ederek bağışıklık tepkilerine yol açar.

Kalsiyum, bitki ikincil metabolitlerinin sentezinde doğrudan rol oynayarak büyüme ve gelişmeyi iyileştirir (Jurić vd., 2020). Hücre duvarı ve membran yapısında gerekli bir element olup, vakuolde anyonlar için bir karşı katyon ve sitozolde hücre içi bir haberci olarak işlev görür (White ve Broadley, 2003). Kalsiyum karbonat nanopartikülleri (CaCO_3 NP'ler), bitki beslenmesi için bir kalsiyum kaynağı olarak kullanıldığında, kalsiyumun bitkideki hareketliliğini ve etkilediği tüm süreçleri iyileştirebilir (Hua vd., 2015). Motlhalamme vd. (2025) tarafından yapılan bir çalışmada, CaCO_3 nanopartiküllerinin domates bitkilerinin metabolomik profilini önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir. CaCO_3 NP'lerin uygulanması, işlem görmemiş bitkilere kıyasla hem meyvelerde hem de yapraklarda terpenoidlerin ve flavonoidlerin varlığını artırmıştır.

CaCO_3 mikro ve nanopartikülleri, çeşitli fungal patojenler, bakteriyel patojenler ve virüsleri güçlü bir şekilde inaktive edebilmektedir (Motlhalamme vd., 2025). Kalsiyum karbonat nanopartikülleri, bitkilerde savunma mekanizmalarını güçlendirerek

patojenlere karşı direnci artırabilir.

Kearney vd. (1990), CMV'nin mekanik inokülasyonla başarılı bir şekilde taşınabildiğini, bu işlem sırasında pH'sı 7–8 arasında değişen ve 0.01–0.05 M konsantrasyonlarında sodyum fosfat tampon çözeltisi kullandıklarını rapor etmişlerdir. Shifriss vd. (1994) ise, CMV'nin *Capsicum annuum*'un farklı direnç seviyesine sahip çeşitlerinde enfeksiyon gelişimini değerlendirmiş; dirençli çeşitlerde hastalığın daha yavaş geliştiğini tespit etmişlerdir.

Yılmaz vd. (1995), Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) bölgesinde yaptıkları saha çalışmalarında, biber bitkilerinde CMV, Potato virus Y (PVY) ve Tobacco mosaic virus (TMV) varlığını belirlemiş; özellikle CMV'nin Gaziantep ve Şanlıurfa illerinde yaygın ve zararlı olduğunu bildirmiştir. Palukaitis vd. (1992), CMV'nin hem kültür hem de yabani bitkiler dâhil olmak üzere 85 farklı bitki familyasına ait 800'den fazla türde enfeksiyona neden olabildiğini ortaya koymuştur. Benzer şekilde, Kaper ve Waterworth (1981), CMV'nin tahıllar, meyve ağaçları, sebzeler ve süs bitkileri gibi çok sayıda tarımsal ürün grubunda önemli ekonomik kayıplara yol açtığını vurgulamıştır.

Cucumber mosaic virus (CMV) enfekte bitkilerde yapraklarda mozaik desenleri, deformasyonlar, bodurlaşma, eğrelti otu benzeri yaprak şekillenmeleri (Kearney vd., 1990), yapraklarda “ayakkabı bağı” formasyonu ve meyvelerde nekrotik lezyonlar gibi belirtiler oluşturmaktadır (Blancard, 1988). Konukçu bitki türüne ve kullanılan virüs izolatına bağlı olarak, büyüme bozuklukları, yanıklıklar, halkalı lekeler, meyve nekrozları ve hatta bitki ölümüne kadar varan etkiler gözlemlenebilmekte; bu durum ürün veriminde %50’ye varan kayıplara neden olabilmektedir (Kucharek vd., 1998).

CMV’nin yayılış mekanizması çoğunlukla yaprak bitleri (Aphididae) aracılığıyla olup, bu vektörler virüsü non-persistent (kalıcı olmayan) tarzda taşımaktadır. Pollard (1973), virüsün bitkiden bitkiye, bölgeden bölgeye ve ülkeler arasında bu yolla taşınabildiğini belirtmiştir. Palukaitis vd. (1992), CMV’nin 75’ten fazla yaprak biti türü ile taşınabildiğini, Kaper ve Waterworth (1981) ise bu sayının 60’tan fazla olduğunu rapor etmişlerdir.

Tanne ve Zimmermann-Schriess (1980), *Myzus persicae*’nin bazı CMV izolatlarını *Aphis gossypii*’den daha etkin bir şekilde taşıyabildiğini ortaya koymuştur. Türkiye’de yapılan çalışmalar, muz bitkilerinde öz çürüklüğüne neden olan iki virulent CMV izolatının *Aphis gossypii* tarafından kolaylıkla taşınabildiğini; ayrıca *Aphis fabae* ve *Micromyzus rosea* türlerinin de CMV’nin potansiyel vektörleri olduğunu ortaya koymuştur (Yılmaz, 1979; 1993).

Virüs hastalıklarıyla mücadelede kültürel önlemler, kimyasal ve fiziksel mücadele yöntemleri, karantina uygulamaları ile biyoteknolojik stratejiler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda, bu geleneksel yöntemlere alternatif oluşturabilecek çevre dostu ve sürdürülebilir kontrol stratejileri üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır. Bu bağlamda, bitkinin doğal savunma mekanizmasının uyarılmasına dayanan Sistemik Kazandırılmış Dayanıklılık (Systemic Acquired Resistance; SAR) yaklaşımı, özellikle viral patojenlere karşı dikkat çekici bir kontrol yöntemi olarak öne çıkmaktadır.

SAR, bitkilerde doğal bağışıklık tepkilerinin yapay olarak indüklenmesini hedefler. Bu tepkinin uyarılmasını sağlayan maddelere bitki aktivatörleri adı verilmektedir. Aktivatörler, bitkinin endojen savunma sistemlerini aktive ederek, dış çevre koşullarına ve biyotik stres etmenlerine karşı dayanıklılığın artırılmasını sağlamakta; aynı zamanda bitkilerin besin elementlerinden daha etkin yararlanmasına katkıda bulunmaktadır. Bunun yanı sıra, bu bileşiklerin ürün kalitesi

üzerinde de olumlu etkiler gösterdiği, doğal kökenli kimyasal direnç indükleyicileri olarak işlev gördüğü ve toprak yapısının iyileştirilmesinde rol oynayabildiği bildirilmektedir. Uyarılmış dayanıklılık (Induced Resistance; IR) stratejisinde temel amaç, bitkinin savunma mekanizmalarının önceden aktive edilerek patojen saldırılarına karşı daha hazırlıklı bir duruma getirilmesidir. Eğer uyarı sadece enfeksiyon bölgesinde sınırlı kalırsa bu durum Lokal Kazandırılmış Dayanıklılık (Localized Acquired Resistance; LAR) olarak tanımlanır. Ancak dayanıklılık bitkinin tamamına sistematik bir şekilde yayılıyorsa Sistemik Kazandırılmış Dayanıklılık (SAR) olarak adlandırılmaktadır (Rasmussen vd., 1991).

Dayanıklılık uyarımına yönelik çalışmalarda hem biyotik hem de abiyotik uyarıcıların etkili olduğu bildirilmiştir. Biyotik uyarıcılar arasında patojen olmayan fungal ve bakteriyel inokulantlar ile fungus ve mayaların hücre duvarlarından elde edilen oligosakkarit bileşenler yer almaktadır. Abiyotik uyarıcılar ise salisilik asit (SA), β -amino bütirik asit (BABA), acibenzolar-S-methyl (ASM), ultraviyole (UV) ışınlar ve bazı herbisitleri içermektedir (Weller, 1988; Tüzün ve Kloepper, 1995; Van Loon vd., 1998; Hammerschmidt ve Smith-Becker, 1999; Tüzün ve Bent, 1999).

Salisilik asit, birçok bitkide oluşan ve uyarılmış dayanıklılıkta sinyal şörevi yapan fenolik bir bileşiktir. Bitkilerde patojenler tarafından şerçeleştirilen enfeksiyonlardan sonra SA'da artış şözlendiği bilinmektedir (Yang vd., 1997). TMV'ye dayanıklı tütün bitkilerinde, TMV inoküle edilmiş yapraklarda Salisilik asit düzeyinin 50 kat arttığı saptanmıştır. Bu oran enfekteli olmayan yapraklarda 10 kat olmuştur (Malamy vd., 1990). Diğer bir çalışma da Salisik asit ya da diğer benzoik asitlerin uyuşulanmasından sonra tütün bitkisinde dayanıklılığın uyarıldığı proteinlerin arttığı saptanmıştır (White, 1979).

Salisilik asitinin bir analogu olan acibenzolar-S-methyl (ASM) uygulamasıyla indüklenen sistemik dayanıklılık, bitki koruma alanında yeni bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. ASM'nin, kavun bitkisinde fungal bir etmen olan *Colletotrichum lagenarium* ile viral bir etmen olan Cucumber mosaic virus (CMV)'e karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Açık tarla ve sera koşullarında gerçekleştirilen çalışmalarda, ASM uygulamasının SAR (Systemic Acquired Resistance) yanıtını indüklediği ve bunun sonucunda sistemik düzeyde kitinaz birikiminin gözlemlendiği belirlenmiştir. Sera koşullarında yapılan denemelerde, 50 veya 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonundaki ASM uygulamasının CMV yayılımını sınırladığı ve fungal etmenlere karşı da tam koruma sağladığı rapor edilmiştir. Ayrıca, CMV baskısı ortadan kalktıktan sonra ASM'nin meyve oluşumu üzerinde olumsuz bir etkisinin

olmadığı belirtilmiştir (Smith-Becker vd., 2003).

Bitkilerde savunma sistemlerinin uyarılması sonucunda çeşitli biyokimyasal savunma tepkileri aktive olmaktadır. Bu tepkiler arasında lokalize hücre ölümü (Hypersensitive Reaction; HR), lignifikasyon ve papilla oluşumu, patogeneze bağlı proteinlerin (PR proteinleri) sentezi, fitoaleksinlerin üretimi ve birikimi yer almaktadır. HR tepkisi, patojenin giriş yaptığı bölgede konukçu bitki hücrelerinin hızlı bir şekilde ölmesiyle nekrotik bir alanın oluşması ve böylece patojenin bitki dokusu içerisinde yayılmasının önlenmesi şeklinde tanımlanmaktadır (Momol vd., 2004). Bu mekanizma sayesinde konukçu bitki, patojene karşı etkin bir direnç geliştirmektedir.

Bitki aktivatörlerinin virüslere karşı savunma tepkilerini aktive etme kapasiteleri üzerine yapılan araştırmalarda, Tütün Mozaik Virüsü (TMV), Hıyar Mozaik Virüsü (CMV) ve Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV) gibi virüslere karşı hastalık şiddetinin ve yayılımının azaldığı bildirilmiştir (Smith-Becker vd., 2003; Momol vd., 2004).

Son yıllarda nanoteknolojik uygulamalar da bitki savunma sistemlerinin desteklenmesinde potansiyel araçlar olarak değerlendirilmektedir. Bu kapsamda, mikronize kalsit kullanımının, yaprak gözeneklerinin açılıp kapanma süreci ve dokulardaki karbondioksit konsantrasyonundaki artışla bağlantılı olarak olumlu etkiler sağladığı bildirilmektedir. Böylelikle bitkilerin özellikle kurak ve düşük nemli dönemlerde suyu daha ekonomik kullanmaları mümkün olmaktadır (Anonymous, 2015).

Ayrıca, mikronize kalsit uygulanan bitkilerde polifenol içeriğinde artış gözlemlenmiştir. Bu artış; ürünlerin görünüm, aroma ve koku özelliklerinin iyileşmesine katkı sağlarken, aynı zamanda bitkilerin hastalıklara karşı dayanıklılığını da önemli ölçüde artırmaktadır (Anonymous, 2015).

Nanoteknolojik kalsit günümüzde birçok ülkede etkin bir şekilde kullanılmıştır ve kullanılmaya devam edilmektedir. Fransa ve Türkiye’de Tahıllarda (buğday, arpa) yapılan uygulamalarda artan fotosentez sonucu olarak %20-25 verim artışı ve hasatta 10 gün erkencilik; Hırvatistan, Fransa ve Türkiye de şeker pancarında yapılan uygulamalarda şeker oranında %1.5-3, verimde %25’lere varan artış, kabaklarda verimde %30-50 oranında artış olduğu saptanmıştır (Anonymous, 2015).

Türkiye'de Toprak ve Su kaynakları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü arazilerinde şeker pancarları üzerinde 2011 yılında yapılan denemelerde 15 gün arayla 4 sefer sabahın erken saatlerinde ve mümkün olduğunca yaprak altlarına gelecek şekilde Nanoteknolojik mikronize kalsit uygulaması yapılmıştır. Uygulamalar sonrasında mikronize kalsit uygulanan parseldeki bitkilerin daha sağlıklı ve iyi gelişmiş oldukları gözlemlenmiştir. (Anonymous, 2015).

Harran üniversitesinde Özalp ve Yanık (2013) tarafından pamukta yapraktan uygulanan mikronize kalsitin pamuk bitkisinde *Thrips* spp. ve *Tetranychus* spp. popülasyonlarına ve kütlü pamuk verimi üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada mikronize kalsitin *Thrips* spp. ve *Tetranychus* spp. popülasyon yoğunluğuna istatistiksel olarak etkisinin olmadığı fakat mikronize kalsitin uygulandığı parselde kütlü pamuk verimi yönünden istatistiki olarak önemli derecede verim artışının (%59.9) olduğu rapor edilmiştir

Nanoteknolojik mikronize kalsit bitkiye atılır atılmaz, bitki üzerindeki reseptörler, bir patojen veya stres varlığındaki gibi gönderilen sinyalle istilacı organizmanın veya stres faktörlerinin etkilerini en aza indirerek savunma sistemini aktif hale getirmektedir. Kalsit aynı zamanda savunma sinyallerinin iletiminde de önemli bir rol oynar. Bitki, kimyasal ve fiziksel savunma sistemlerini oluşturmaya başlar. Böylece bitki daha sonraki muhtemel bir patojen ve stres faktörüne karşı en üst düzeyde alarmda kalarak kendini en iyi biçimde savunabilir. Mikronize kalsit uygulandığında hücrede 1nmol/l düzeyinde bulunan sitoplazmik kalsiyum oranı 1mol/l düzeyine ulaşır. Böylece hücrenin dış yüzeyindeki negatif yük ile iç yüzeyindeki pozitif yük arasındaki fark nedeniyle Ca gibi iyonlar hücre içine akarak hücre içerisindeki bakır alüminyum, çinko ve sodyum toksisitesini en aza indir (Nayyar, 2003; Farooq vd., 2023).

Mikronize CaCO_3 'ün yapraktan uygulanarak bitki gelişimine olan etkisi ile ilgili fazla bir çalışma bulunmamaktadır. CaCO_3 'ün bitki hastalıklarını azalttığı ve bitkiyi hastalıklara karşı koruduğu bilinmektedir. Bununla birlikte mikronize kalsitin virüslü biber bitkilerinde nasıl bir etki yaptığı bilinmemektedir. Bu çalışma, mikronize kalsitin (CaCO_3)'ün biber bitkilerinde Hıyar Mozaik Virüsü enfeksiyonuna karşı biber yapraklarında meydana gelen fiziksel ve biyokimyasal etkileri ortaya koymak için yapılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırmanın Yürütüldüğü Yer ve Materyaller

Bu çalışma, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji ve Fitopatoloji Laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Çalışmanın bitkisel materyalini biber bitkileri ve mekanik inokulasyon için virüs izolatının çoğaltılacağı tütün (*Nicotiana sylvestris*) bitkileri oluşturmuştur. Virüsle mekanik olarak inokule edilecek *Capsicum annuum* var kapy 4-6 yapraklı dönemde fide olarak satın alınmıştır. Virüsün çoğaltılması için tütün bitkileri tohumdan yetiştirilmiştir.

3.1.2. Virüs Materyali

Çalışmada kullanılacak tanısı yapılmış CMV virüs izolatı Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünden Doç. Dr. Behçet Kemal Çağlar'dan temin edilmiştir.

3.1.3. Mikronize Kalsit

Araştırmada kullanılacak mikronize kalsit Naturegreen firmasından temin edilmiştir.

3.1.4. Testlemelerde Kullanılan Antiserum ve Tampon Çözeltiler

Testlemeler için Cucumber Mosaic Virus (CMV) antiserumu kiti, DAS ELISA Plate ve tampon çözeltiler kullanılmıştır.

3.1.5. Biyokimyasal Analizlerde Kullanılan Materyaller

Biber bitkilerinde CMV ile inokule edilmiş ve mikronize kalsit uygulanmış bitkilerde biyokimyasal tepkimelerini ölçmek için gerekli aşamalarda materyal olarak spektrofotometre, hassas tartı, pH ölçer, santrifüj cihazı kullanılmıştır. Klorofil analizinde Aseton; protein analizinde Coomassie Brilliant Blue G-250, %95 Etanol, Fosforik asit; prolin içeriğinde glacial asetik asit, asit ninhydrin, fosforik asit, tolüen, sulfalislik asit; katalaz ve peroksidaz enzim içeriğinde guaiacol, Na₂Fosfat ve Na₂ EDTA kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Virüsün Çoğaltılması

Liyofilize CMV izolatu mekanik inokulasyon yöntemi ile *Nicotiana sylvestris* L. tütün çeşidinde çoğaltılmıştır. *N. sylvestris* bitkilerinde çoğaltılan virüs izolatu mekanik inokulasyon yöntemi ile 4-6 yaprak dönemindeki biber fidelerinin enfektelenmesinde kullanılmıştır.

3.2.2. Mekanik inokulasyon yöntemi

Çalışmada biyolojik ve moleküler tanısı yapılmış saf CMV tütün bitkisinde çoğaltılacaktır CMV'nin tütün bitkisinde çoğaltılmasında ve biber bitkilerine inokulasyonun da mekanik inokulasyon yöntemi kullanılmıştır (Louws vd., 2001; Kang ve Buchenauer, 2001; Bokshi vd., 2003; Baysal vd., 2003). CMV'li tütün yaprakları havanda 1:5 oranında (W/V) 0.01 M Fosfat tampon çözeltisi (pH 7.4) içerisinde ezilmiştir. Elde edilen özsuya eldiven giyilmiş işaret parmağı batırılmış ve karborandum tozu serpilmiş biber bitkilerinin yapraklarına sürülmek suretiyle virüs mekanik olarak aşılanmıştır.

3.2.3. Serolojik Testler

Serolojik çalışmalarda 'Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay' (DAS-ELISA) yöntemi kullanılmıştır (Clark ve Adams, 1977). Mekanik inokule edilen biber bitkileri örnekleri ve araziden alınacak *Physalis* spp. bitkileri, Cucumber Mosaic Virus (CMV)virüsüne karşı testlenmiştir.

3.2.4. Test Örneklerinin Hazırlanması

Denemede kullanılan ve CMV ile inokule edilen tüm biber bitkileri inokulasyondan 15 gün sonra CMV için teslenmiştir. Herbir biber bitkisinin genç yapraklarından 0.2 g tartılmış, buz dolu kaplarda bekletilen steril porselen havan içerisinde 1:10 hacimde PBS ekstraksiyon tampon ile iyice ezilmiştir. Tampon çözelti ile homojen edilen bitki ekstraktları temiz plastik tüpler içerisine aktarılmış, örnek numaraları yazılarak buz dolu kaplar veya buzdolabında testleme işlemi gerçekleştirilinceye kadar bekletilmiştir.

3.2.5. DAS-ELISA Testinin Uygulanması

Antijen spesifik poliklonal IgG, kaplama tampon çözeltisi içinde, antiserumların temin edildiği ticari firmaların tespit etmiş olduğu oranlarda

sulandırılacak ve mikrotiter plateler üzerindeki çukurlar herbirine 100µl olacak biçimde kaplanmıştır.

Kaplanan plateler 37°C’de 2 saat bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, yıkama tampon çözeltisiyle üç kez üç dakika aralıklarla yıkayıp, kağıt havlular üzerinde iyice kurulmuştur.

Önceden ekstrakte edilmiş yaprak örnekleri 100µl/çukur olacak biçimde ELISA platelerinde her örnek için iki adet çukur doldurmak suretiyle eklenmiştir. Platelere testlenecek örnekler haricinde pozitif (hasta), negatif (sağlıklı) ve tampon çözelti kontrolleri de konulmuştur. Daha sonra 4°C’de gece boyunca 16 saat bırakılmıştır.

Platelar daha önce belirtildiği gibi yıkanmıştır. Enzim-antibody konjugatı her çukura 100 µl gelecek biçimde uygun oranlarda konjugasyon tampon çözeltisiyle sulandırılarak konulmuş ve 37°C’de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresinin sonunda kaplar yıkama tamponuyla yıkanmıştır. Substrat tampon çözeltisiyle taze hazırlanan enzim-substratı 0.75 mg/ml konsantrasyonunda herbir çukura konulmuştur. Bu aşama oda sıcaklığında sürdürülmüştür. Pozitif kontrollerde renk sarıya döndüğünde MIB-A5111950 Multiskan Skyhigh Microplate Spectrophotometer ile 405 nm de okumalar yapılmış ve absorbans oranı sağlıklı kontrolün iki katı olanlar virüsle bulaşık olarak kabul edilmiştir (Clark ve Adams, 1977).

3.2.6. Deneme bitkilerinin yetiştirilmesi ve deneme deseninin oluşturulması

Denemede kullanılan biber çeşidi 1;1 oranında torf ve perlit içeren 17×17×17 cm ebatlarındaki saksılara birer adet olmak üzere ekilmiştir. Araştırma tesadüf blokları deneme desenine göre 6 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Denemede bitkilere 18X18X18+ Mikro element içeren gübreden her sulama suyunda bitki başına günlük 1gr olacak biçimde verilmiştir. Bitkiler 3000 lüks ışık şiddetinde 26 °C’de kontrollü şartlarda yetiştirilmiştir. İhtiyaç halinde bitkiler düzenli olarak sulanmıştır (Bokshi vd., 2003).

Mikronize CaCO₃ (MC) 3gr/lt dozda 10 gün ara üç defa uygulanmıştır. Uygulamalara bitki boyları yaklaşık 10 cm’ye ulaştığında başlanmıştır. Tekerrürler aşağıdaki biçimde oluşturulmuştur.

1-) Birinci uygulamayı, virüsün taşınmasında kullanılan tampon çözelti inokule edilmiş sağlıklı biber bitkileri oluşturmuştur (Kontrol).

2-) İkinci uygulamayı biber bitkileri üzerine sadece CMV inokule edilen bitkiler oluşturmuştur (CMV).

3-) Üçüncü uygulamayı virüs inoküle edilmeden, yine 10 gün arayla 3 kez mikronize CaCO_3 uygulanan bitkiler oluşturmuştur (3MC).

4-) Bu gruptaki bitkiler üzerine virüs inokule edildikten 10 gün sonra 10 gün arayla 3 kez mikronize CaCO_3 uygulanan bitkiler oluşturmuştur (CMV+3MC).

5-) Bu gruptaki bitkileri; 3 kez mikronize CaCO_3 uyguladıktan 10 gün sonra CMV inokule edilen bitkiler oluşturmuştur (3MC+CMV).

3.2.7. Biyokimyasal Analiz Çalışmaları

Tüm uygulama görmüş ve görmemiş biber yapraklarından toplam klorofil, peroksidaz (POX), katalaz (CAT), protein, lipid peroksidaz (MDA), jasmonik asit (JA), salisik asit (SA) analizleri yapılmıştır.

3.2.8. Bitkilerde klorofil analizi

Arnon (1949) metoduna göre klorofil tayini gerçekleştirilmiştir. Enfekte bitkilerden alınan 0.5 g yaprak örneği, 5 ml aseton-su (%80 v/v) karışımında homojenize edilmiştir. Ardından, karışım kağıt filtre yardımıyla süzölmüş ve ışık geçirmeyen tüplere aktarılmıştır. Klorofil a konsantrasyonu, 663 nm’de; klorofil b konsantrasyonu ise 645 nm’de, %80 aseton kontrolü karşısında ölçölmüştür. Aseton ekstratlarında klorofil konsantrasyonu, aşağıda verilen formöl kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam klorofil (mg/l)} = 20.2A_{645} + 8.02A_{663} \cdot 5$$

3.2.9. Bitkilerde Peroksidaz (POX) Analizi

Peroksidaz aktivitesi, Cvikorová vd. (1994) tarafından önerilen metodolojiye göre ölçölmüştür. 0.5 g yaprak örneği, 10 ml 50 mM Na-fosfat tamponu (pH 6.5) içinde homojenize edilmiştir. Elde edilen yaprak ekstraktından 100 µl alınarak, 3 ml

reaksiyon karışımına eklenmiştir. Bu karışım, 13 mM guaiacol, 5 mM H₂O₂ ve 50 mM Na-fosfat tamponundan (pH 6.5) oluşmaktadır. Reaksiyon, H₂O₂'nin ilavesiyle başlatılmış ve peroksidaz aktivitesi, 470 nm'de ve 25°C'de ölçülmüştür.

3.2.10. Bitkilerde Katalaz Analizi

Katalaz enzimi aktivitesinin ölçümü, Milosevic ve Slusarenko (1996) metoduna dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde, 50 µl bitki ekstraktı (0.5 g bitki örneği, 10 ml sodyum fosfat çözeltisinde hazırlanmış) 2.95 ml reaksiyon karışımına eklenmiştir. Reaksiyon karışımı, 10 mM H₂O₂, 50 mM K-fosfat tampon çözeltisi (pH 7.0) ve 4 mM Na₂ EDTA içermektedir. Katalaz aktivitesine ilişkin ölçümler, 240 nm'de spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

3.2.11. Bitkilerde Protein Analizi

Protein miktarı, Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir. Bu prosedürde, 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250, 50 ml %95'lik etanol ile çözülmüş ve ardından %85'lik 100 ml fosforik asit eklenerek bir litreye tamamlanmıştır. Protein içeriği yaklaşık 10-100 µg arasında olan 100 µl hacmindeki bitki ekstraktları, 5 ml Coomassie Blue çözeltisiyle karıştırılmış ve örneksiz Coomassie Blue çözeltisi ile karşılaştırılarak, 595 nm'de absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.12. Lipit peroksidaz (MDA) analizi

Sariam ve Saxena (2000) metoduna dayanan bu prosedür, bitkilerde lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır. Bu yöntem, malondialdehit (MDA) seviyelerinin belirlenmesine odaklanmaktadır. Deney için 0.5 g yaprak örneği, 10 ml %0.1 triklor asetik asit çözeltisi ile homojenize edilip, ardından 10,000 g'da 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası, 1 ml sıvı örneği alınıp, üzerine 4 ml %5'lik tiobarbiturik asit eklenmiştir. Elde edilen karışım, 95°C'de 30 dakika inkübe edilip, ardından buz içerisinde hızla soğutulmuştur. Soğutma işleminin tamamlanmasının ardından tüpler 10 dakika yeniden 10,000 g'da santrifüj edilmiştir. Karışımdan üst faz, mikropipet kullanılarak alınmış ve 532 nm ile 600 nm dalga boylarında absorbans ölçümleri yapılmıştır. MDA seviyeleri, elde edilen absorbans verileri kullanılarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{MDA (nmol g}^{-1} \text{ fresh g)} = [\text{Extraction volume (ml)} [(A_{532}-A_{600}) / (155 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1})] / \text{Sample quantity (g)}] 103$$

3.2.13. Jasmonik asit analizi

Jasmonik asit analizi Annigeri vd. (2011)'e göre yapılmıştır. 1 g taze biber bitkisi yaprağı alınarak üzerine 10 ml etanol eklenmiş ve 12 saat boyunca oda sıcaklığında karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Bu işlem sonrasında karışımlar filtre kâğıtlarından (Whatman No:1) süzölmüştür. Homojenize edilen karışımlardan 1 ml alınarak 323 nm'de spektrofotometre (Epoch-Bio Tek) cihazında okutulmuştur. JA

konsantrasyonunun hesaplanmasında mutlak etanol içinde çözöndürölmüş farklı JA konsantrasyonlarından hazırlanan standart eğri kullanılmıştır.

3.2.14. Salisilik asit analizi

Salisilik asit analizi, Rainsford (2004) tarafından hazırlamış olan metoda göre yapılmıştır. Öncelikle 1 g taze biber bitkisi yaprak örneğı 10 ml etanol içinde 12 saat boyunca oda sıcaklığında karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Homojenize olan çözelti daha sonra 10000 rpm'de 10 dakika santriföj edilmiştir. Supernatant kısmından 100 µl alınıp %1'lik 2.9 ml ferrik klorür (FeCl_3) ile karıştırılmıştır

Karışımın toplam hacmi daha sonra reaksiyon karışımı ile 3 ml'ye tamamlanacaktır. Fe^{3+} iyonu ile SA arasında oluşan pembe renkli karışım spektrofotometre (Epoch-Bio Tek) cihazında 540 nm'de ölçölecektir. SA içeriğı etanol içinde hazırlanan 0-100 ppm arasındaki farklı SA konsantrasyonları kullanılarak hazırlanmıştır. Bunun sonucunda SA standart eğrisi oluşturulmuş ve buna göre hesaplamalar yapılmıştır.

3.3. İstatistiksel Analizler

Biyokimyasal analizlerde elde edilen veriler ANOVA (tek yönlü varyans analizi) kullanılarak Tukey Test Yöntemi ile SPSS programı vasıtasıyla analiz edilmiştir ($P<0.05$).

4. BULGULAR

4.1. Virüs İzolatının Çoğaltılması

Liyofilize olarak alınan CMV izolatı tütün (*N. sylvestris*) bitkisinde çoğaltılmıştır. Mekanik olarak aşılana biber tütün bitkileri aşılamadan beş gün sonra damarlarda açılma ve aşılamadan on beş gün sonra ise sistemik mozaik belirtileri oluşturmuştur (Şekil 4.1.). Oluşan bu belirtiler virüsün tütün bitkisinde çoğaldığını ve deneme desenindeki biber bitkilerinin mekanik inokulasyon yöntemi (MİY) ile inokulasyonunda inokulum kaynağı olarak kullanılacağını göstermiştir.



Şekil 4.1. MİY ile inokule edilen tütün (*N. sylvestris*) bitkisinde oluşan damar açılması ve mozaik belirtileri

4.2. ELISA Testleri

Virüsün mekanik inokulasyon yöntemiyle çoğaltıldığı tütün bitkileri, deneme desenini oluşturan ve mekanik inokulasyon yöntemiyle inokule edilen biber bitkilerinin tümü inokulasyondan 15 gün sonra ELISA testinde CMV'ne karşı pozitif sonuç vermiştir. Kontrol olarak alınan biber bitkilerinin tümü ise deneme sonuna kadar ELISA testinde CMV'ye karşı negatif sonuç vermiştir. Pozitif sonuçlar biber ve tütün bitkilerinin CMV ile bulaştırıldığını, hasat zamanına kadar kontrol bitkilerinin negatif olarak bulunması ise bu bitkilerin virüsle bulaşık olmadığını göstermiştir.

4.3. Biber Bitkisinde Biyokimyasal Değişimler

Bu çalışmada Mikronize Kalsitin CMV stresi altında bulaşık biber bitkisi fizyolojisinde meydana getirdiği biyokimyasal değişimler incelenmiştir. Tüm

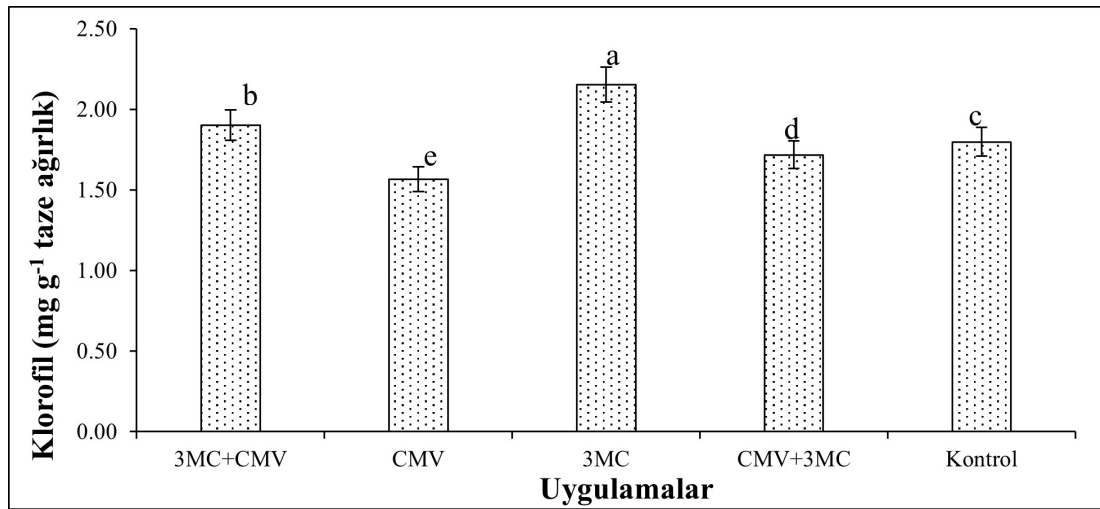
uygulama görmüş ve görmemiş yapraklardan 65 gün sonra (Şekil 4.2) klorofil, protein, lipid peroksidaz, katalaz, peroksidaz, salisilik asit ve jasmonik asit enzim analizleri yapılmıştır.



Şekil 4.2. CMV ile enfekteli ve MC uygulanmış biber bitkilerinin 65. gündeki durumu (Soldan sağa doğru; 1: kontrol, 2: CMV enfekteli, 3: 3MC uygulanmış, 4: CMV enfekteli 3MC uygulanmış, 5: 3MC+CMV uygulanmış).

4.3.1. CMV Etmeninin Toplam Klorofil Miktarına Etkisi

Çalışmada CMV etmeni ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol grubundaki sağlıklı yapraklar arasındaki toplam klorofil içeriğinde önemli farklılıklar elde edilmiştir ($P < 0.05$). Klorofil içeriği CMV ile enfekteli yapraklarda düşük seviyelerde seyrederken, sağlıklı kontrol ve MC grubunda daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3)



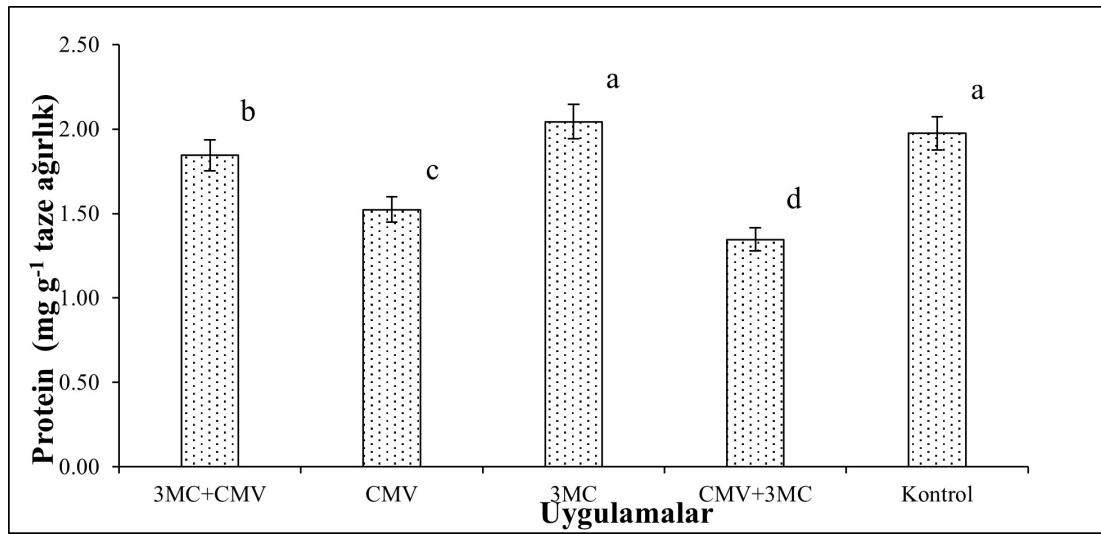
Şekil 4.3. CMV ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam klorofil içeriği (CMV= Hıyar Mazaik Virüsü; MC= mikronize kalsit)

Fitoplazma ile enfekteli badem, antepfıstığı, asma, elma ve mısırdaki klorofil içeriğinin azaldığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Akkurak vd., 2024). Enfekteli bitkilerde fotosenteze etki eden genlerin baskılanarak klorofil içeriğinde azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (Hernández-Hernández vd., 2019; Hull, 2014). Akkurak vd. (2022) antepfıstığında yaptıkları çalışmada fitoplazma enfeksiyonunun bitkide kloroplast ve klorofil mekanizmasını bozduğunu ve bunun klorofil miktarını azalttığını bildirmişlerdir.

4.3.2. CMV Etmeninin Protein İçeriğine Etkisi

Biber yapraklarında protein içeriğinin CMV uygulanmış, MC uygulanmış ve kontrol grubundaki sağlıklı yapraklar arasındaki toplam protein içeriğinde önemli farklılıklar elde edilmiştir ($P < 0.05$). CMV hastalık etmeni uygulanmış bitkilerde kontrol grubuna kıyasla yapraklarda protein içeriğinde azalma olduğu belirlenmiştir.

Sağlıklı, MC uygulanmış bitkiler ve CMV bulaşık bitkiler kontrol grubuna kıyasla hastalık etmeni ile enfekteli biber yapraklarda protein içeriğinde azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. CMV ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam protein içeriği (CMV= Hıyar Mazaik Virüsü; MC= mikronize kalsit)

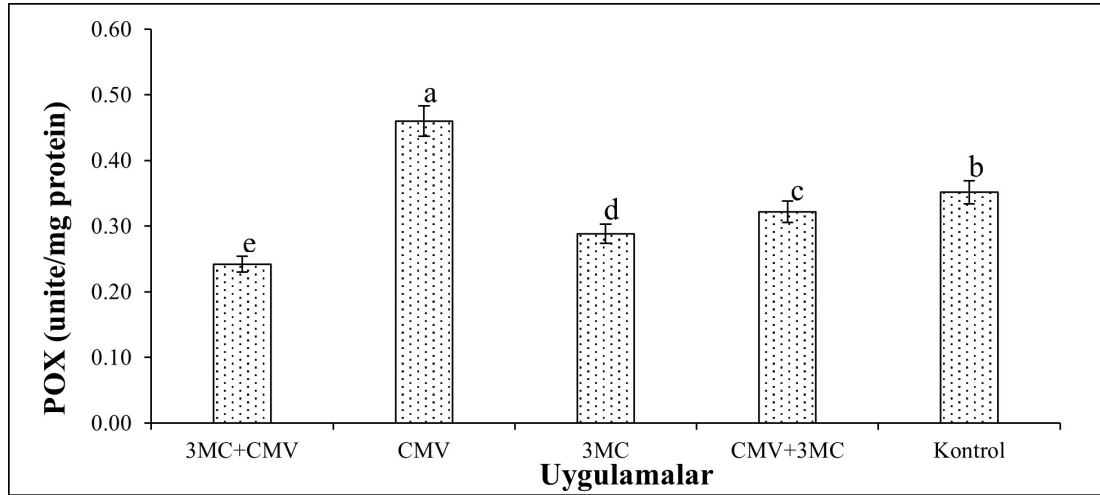
Farklı hastalık etmenleri konukçu bitkide çözülebilir proteinin bozulmasına yol açarak azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (Abbas vd., 2017). Fitoplazma enfeksiyonunun protein içeriğinde azalmaya neden olduğu daha önce antepfıstığı, bademde ve yoncada bildirilmiştir (Akkurak vd., 2024).

Bu çalışmadakine benzer bulgular fitoplazma ile bulaşık susamda rapor edilmiştir (Najar vd., 2019). Prolin bir aminoasit olup stres mekanizmasıyla yakından ilişkilidir. Fitoplazma enfeksiyonuyla artan prolin miktarının hastalığın etkilerini ölçmede iyi bir belirleyici olduğu rapor edilmiştir (Dikilitaş vd., 2020).

4.3.3. CMV Etmeninin Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesine Etkisi

Biber yapraklarında CMV enfeksiyonun Peroksidaz enzim aktivitesinde MC uygulanmış ve sağlıklı kontrol grubuna kıyasla önemli değişiklere neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Sağlıklı ve sadece MC uygulanmış bitkilerde POX enzim içeriğinde azalma, CMV ile enfekteli biber yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5.).

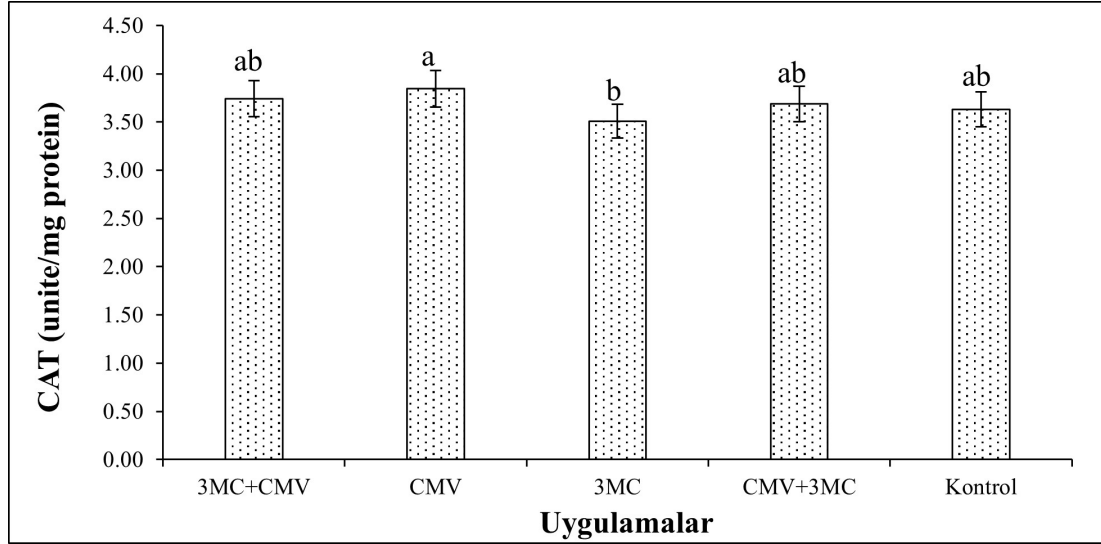
Benzer şekilde Ayvacı vd. (2022), yoncada *Ca. P. australasia* enfeksiyonuyla peroksidaz enzim aktivitesinde önemli düzeyde artış olduğunu bildirmiştir



Şekil 4.5. CMV ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam peroksidaz içeriği (CMV= Hıyar Mazaik Virüsü; MC= mikronize kalsit)

4.3.4. CMV Etmeninin Katalaz Enzim Aktivitesine Etkisi

Biber yapraklarında *Alternaria* enfeksiyonunun katalaz enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). *Alternaria* ile enfekteli biber yapraklarında katalaz enzimi artarken, sağlıklı kontrol grubunda azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6).

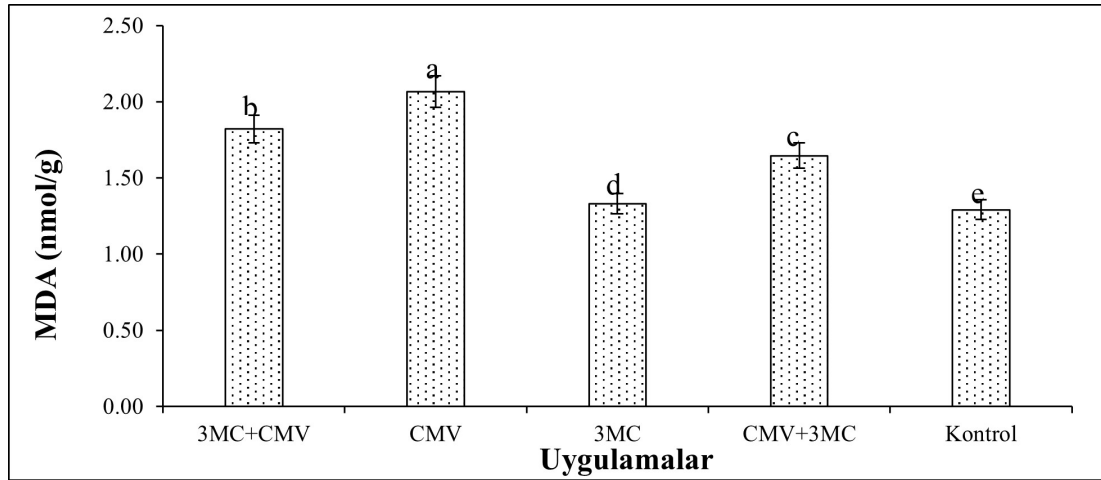


Şekil 4.6. CMV ile infekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam katalaz içeriği (CMV= Hıyar Mazaik Virüsü; MC= mikronize kalsit)

Genellikle katalaz enzimi stres koşullarında yükselir (Magbanua vd., 2007). Serbest radikal saldırılarına karşı katalaz enzimi, koruma sağlama kabiliyetine sahip önemli enzimlerden biridir (Ighodaro ve Akinloye, 2018).

4.3.5. CMV Etmeninin Lipit Peroksidaz (MDA) Enzim Aktivitesine Etkisi

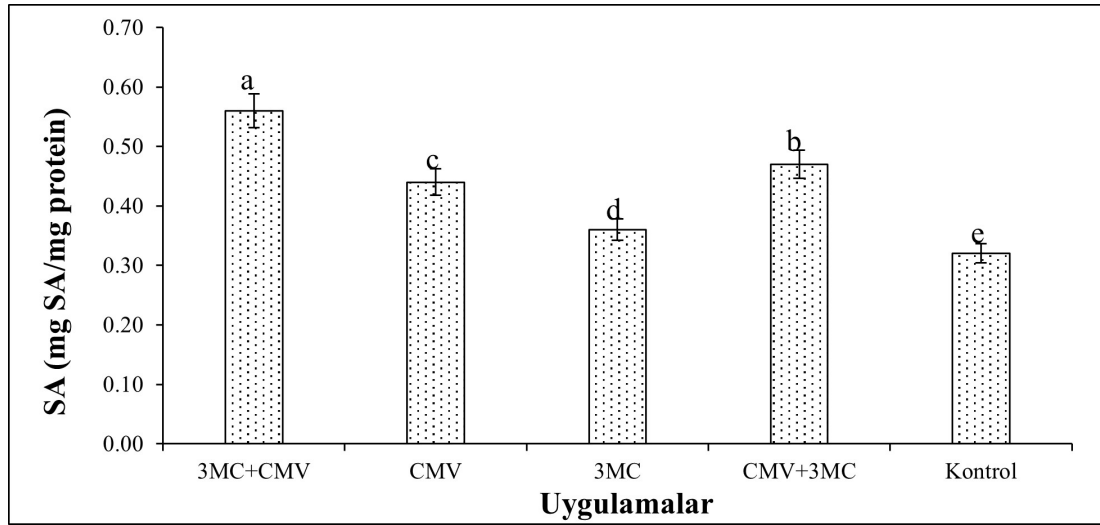
Biber yapraklarında CMV enfeksiyonunun MDA enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). CMV ile enfekteli biber yapraklarında MDA enzimi artarken, sağlıklı kontrol grubunda azalma olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı ve sadece MC uygulanmış bitkilerde MD enzim içeriğinde azalma, CMV ve MC uygulanmış enfekteli patates yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. CM ile infekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam Lipit Peroksidaz (MDA) içeriği (CMV= Hıyar Mazaik Virüsü; MC= mikronize kalsit)

4.3.6. CMV Etmeninin Salisilik Asid (SA) Enzim Aktivitesine Etkisi

Biber yapraklarında CMV enfeksiyonunun SA enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). CMV ile enfekteli biber yapraklarında SA enzimi artarken, sağlıklı kontrol grubunda azalma olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı ve sadece MC uygulanmış bitkilerde SA enzim içeriğinde azalma, CMV ve CMVA+MC uygulanmış enfekteli patates yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

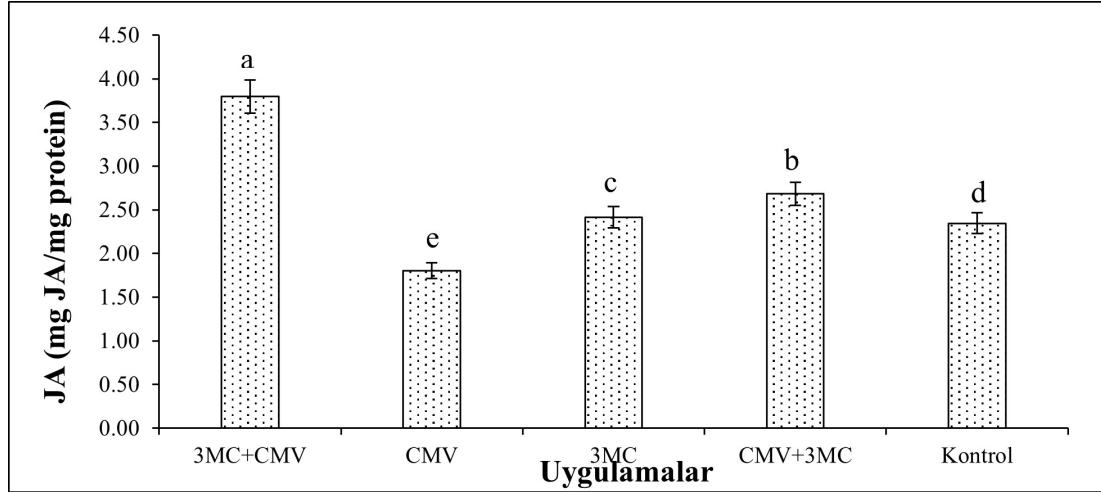


Şekil 4.8. CM ile enfekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam salisilik asit (SA) içeriği (CMV= Hıyar Mazaik Virüsü; MC= mikronize kalsit)

Literatürdeki mevcut veriler, SA'nın biber bitkilerinde hastalıklara karşı etkili bir savunma mekanizması oluşturabileceğini göstermektedir. Bulaşık bitkilerde savunma mekanizmalarını güçlendirerek kontrole göre artış göstermiştir (Şekil 4.8).

4.3.7. CMV Etmeninin Jasmonik Asid (JA) Enzim Aktivitesine Etkisi

Patates yapraklarında CMV enfeksiyonunun JA enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). CMV ile enfekteli ve CMV+MC uygulanmış biber yapraklarında JA enzimi artarken, sağlıklı kontrol grubunda azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. CM ile infekteli, MC uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam jasmonik asit (JA) içeriği (CMV= Hıyar Mazaik Virüsü; MC= mikronize kalsit)

Literatürdeki mevcut veriler, CaCO_3 'ün biber bitkilerinde CMV hastalığına karşı etkili bir savunma mekanizması oluşturabileceğini göstermektedir. CaCO_3 , bitkilerde pH düzenlemesi yaparak ve savunma mekanizmalarını güçlendirerek hastalıkla mücadelede rol oynayabilir. Ancak, CaCO_3 'ün etkilerinin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılabilmesi için, farklı uygulama dozları, zamanlamaları ve uygun çevresel koşullar altında yapılan daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

4.3.8. Farklı Biyokimyasal ve Fizyolojik Parametreler Arasındaki Korelasyon

Klorofil ve protein, sağlıklı fizyolojik durum göstergeleri olup, oksidatif stres belirteçleri olan MDA, POX, CAT ile genellikle negatif ilişkili bulunmuştur. JA ve SA, stres koşullarının yanıtı olarak yer almaktadır. JA'nın POX ile kuvvetli negatif korelasyonu, iki farklı savunma yolunun (jasmonat vs. peroksidaz tabanlı) karşıt işleyebileceğini düşündürülebilir. SA ile MDA arasında pozitif ilişki, salisilik asidin oksidatif stres yanıtında önemli rol oynadığını desteklemektedir (Şekil 4.10).

Variables	Toplam Klorofil	Protein	CAT	MDA	POX	SA	JA
Toplam Klorofil	1						
Protein	0.742	1					
CAT	-0.441	-0.339	1				
MDA	-0.643	-0.629	0.494	1			
POX	-0.735	-0.411	0.329	0.408	1		
SA	-0.197	-0.441	0.339	0.708	-0.317	1	
JA	0.358	0.167	-0.012	0.027	-0.849	0.688	1

Şekil 4.10. Farklı biyokimyasal ve fizyolojik parametreler arasındaki korelasyon

5. TARTIŞMA

Korofil analizinde yer alan bulgular, CMV (Cucumber Mosaic Virus) enfeksiyonunun bitki fizyolojisi üzerindeki etkilerini ve üç kez uygulanan mikronize kalsit (3MC) tedavisinin bu etkilere karşı potansiyel koruyuculuğunu göstermektedir. CMV enfeksiyonu ile muamele edilen bitkilerde, kontrol grubuna kıyasla belirgin fizyolojik stres belirtileri gözlemlenmiştir. Bu durum, virüsün bitkinin fotosentetik kapasitesini düşürdüğünü ve genel biyokimyasal dengeleri bozduğunu göstermektedir (Hull, 2014).

3MC uygulamasının, virüs enfeksiyonunun neden olduğu olumsuz etkileri kısmen hafiflettiği görülmektedir. Özellikle 3MC + CMV grubundaki bitkilerde, sadece CMV uygulananlara göre daha yüksek klorofil düzeyi ve daha dengeli büyüme eğrileri gözlemlenmiştir. Bu bulgu, mikronize kalsitin CMV enfeksiyonuna karşı bitki direncini artırabileceğini ve indüklenmiş sistemik direnç (ISR) mekanizmalarını aktive edebileceğini düşündürmektedir (Walters vd., 2013).

Klorofil analizi grafik verileri 3MC uygulamasının tek başına da bitki gelişimini desteklediğini ortaya koymaktadır. Bu durum, kalsit uygulamasının sadece stres koşullarında değil, aynı zamanda normal koşullarda da bitki performansını artırabileceğini göstermektedir. Mikronize kalsitin yaprak yüzeyinde koruyucu bir tabaka oluşturarak hem abiyotik hem de biyotik stres faktörlerine karşı fiziksel bir bariyer işlevi görebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, Üç Defa Mikronize Kalsit (3MC) uygulamasının, Cucumber Mosaic Virus (CMV) enfeksiyonuna karşı biber bitkilerinde oluşturduğu etkiler incelenmiştir. Bulgular, 3MC uygulamasının bitkinin fizyolojik performansını olumlu yönde etkilediğini göstermektedir.

3MC uygulaması yapılan bitkilerde, hastalık şiddeti belirgin şekilde azalmıştır. Bu bulgular, kalsiyum karbonatın özellikle yaprak yüzeyinde fiziksel bir bariyer oluşturarak virüs partiküllerinin penetrasyonunu engelleyebileceğini göstermektedir (Kumar vd., 2020). Aynı zamanda, mikronize kalsitin iyon salınımı sayesinde bitkisel savunma mekanizmalarının aktive olduğu düşünülmektedir.

Fotosentez pigmentleri (klorofil a, klorofil b ve karotenoidler) açısından değerlendirildiğinde, 3MC uygulaması bu parametrelerde anlamlı artış sağlamıştır. CMV enfeksiyonunun, fotosentez enzimleri ve pigment sentez yolları üzerinde

baskılayıcı etkiler oluşturduğu bilinmektedir (Zaitlin ve Palukaitis, 2000). Ancak, kalsiyum uygulaması ile fotosentetik kapasitenin korunması ve virüs kaynaklı oksidatif stresi azaltma potansiyeli literatürde desteklenmektedir (White ve Broadley, 2003).

Bu bulgular, mikronize kalsitin bitkide hem fiziksel koruma hem de biyokimyasal savunma aktivasyonu sağladığını ortaya koymaktadır. Özellikle kalsiyumun hücre duvarı stabilitesi ve sinyal iletimindeki rolü, bitkisel patojen savunmasında kritik bir faktördür (Hepler, 2005).

Daha önce yapılan çalışmalar, nano ve mikronize partikül formundaki kalsiyum bileşiklerinin viral hastalıklara karşı indükleyici etki gösterebildiğini bildirmiştir. Örneğin, Abbas vd. (2017), domates bitkilerinde nano- CaCO_3 uygulamasının TYLCV virüsüne karşı antiviral etki sağladığını göstermiştir. Bu bağlamda, mevcut çalışmada kullanılan 3MC uygulamasının benzer savunma yanıtlarını biber bitkisinde de oluşturduğu söylenebilir.

CMV enfeksiyonu uygulanmış biber bitkilerinde ve buna ek olarak üç defa mikronize kalsit (3MC) uygulanan bitkilerde peroksidaz (POX) enzim aktivitesindeki değişim karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. CMV uygulanan bitkilerde POX aktivitesinde belirgin bir artış gözlemlenirken, bu artışın 3MC uygulanan bitkilerde daha yüksek düzeye ulaştığı görülmektedir. Bu durum, POX enziminin bitkisel savunma mekanizmasındaki merkezi rolünü ve mikronize kalsitin bu yanıtı daha da güçlendirebildiğini ortaya koymaktadır. Peroksidaz, reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonunda görev almakta olup, aynı zamanda lignin sentezi yoluyla hücre duvarını güçlendirerek patojen girişini engeller (Passardi vd., 2005).

Mikronize kalsit uygulamasının POX aktivitesini artırması, indüklenmiş sistemik direnç (ISR) mekanizmasının devreye girdiğini düşündürmektedir. ISR, genellikle kalsiyum sinyallemesiyle bağlantılıdır ve bu tür mineral uygulamalarıyla aktive olabilir (Hepler, 2005). Ayrıca, kalsiyum iyonları oksidatif stres sinyallerini modüle ederek POX ve benzeri savunma enzimlerinin gen ekspresyonunu artırır (Demidchik vd., 2014).

Bu bulgular, mikronize kalsit uygulamasının yalnızca fizyolojik değil, aynı zamanda biyokimyasal düzeyde de koruyucu rol üstlendiğini ve POX aktivitesi üzerinden CMV'ye karşı savunma yanıtını pekiştirdiğini göstermektedir.

Hıyar Mozaik Virüsü (CMV) ile enfekte edilen biber bitkilerinde katalaz (CAT) enzim aktivitesi, bitkinin oksidatif stres yanıtının bir göstergesidir. Virüs enfeksiyonları, bitkide reaktif oksijen türleri (ROS) birikimine yol açmakta ve bu durum savunma mekanizmalarını tetiklemektedir (Hull, 2014). CMV enfeksiyonunun ardından CAT aktivitesindeki değişimler, bitkinin patojenle mücadele kapasitesi ile ilişkilendirilebilir.

Üç defa mikronize kalsit (3MC) uygulaması ise bitkinin mineral beslenmesini düzenleyerek stres toleransını artırabilir. Kalsiyum bileşenleri, hücre duvarı stabilitesi ve sinyal iletim mekanizmalarında kritik rol oynamakta, ayrıca enzim aktivitesini dolaylı olarak etkilemektedir (White ve Broadley, 2003). Bu nedenle 3MC uygulaması, CMV'nin neden olduğu oksidatif stresin hafifletilmesinde katalaz aktivitesini optimize edebilir.

Bu nedenle, CMV ve 3MC uygulamaları birlikte değerlendirildiğinde, katalaz aktivitesindeki değişim hem biyotik stresin etkisini hem de mineral takviyesinin bu etkiyi modüle etme kapasitesini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, bitki stres biyolojisi ve virüs-bitki etkileşimleri üzerine yapılan çalışmalarla uyumludur (Miller vd., 2010; Ding vd., 2022).

Hıyar Mozaik Virüsü (CMV) ile enfekte edilen biber bitkilerinde malondialdehit (MDA) düzeyleri, hücre zarlarındaki lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Virüs kaynaklı biyotik stres, bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimine yol açar ve bu durum membran yapılarında oksidatif hasara neden olur (Hull, 2014; Sharma vd., 2012). CMV enfeksiyonu sonrasında MDA seviyelerindeki artış, hücre zarının yapısal bütünlüğünün bozulduğunu ve oksidatif stresin şiddetlendiğini göstermektedir.

Üç defa mikronize kalsit (3MC) uygulaması, kalsiyum desteği sağlayarak bitki stres toleransını güçlendirebilir. Kalsiyum iyonları, membran stabilitesini koruma, sinyal iletimi ve antioksidan savunma sistemlerinin düzenlenmesinde kritik rol oynamaktadır (White ve Broadley, 2003). Kalsit uygulaması, CMV'nin neden olduğu oksidatif zararı azaltarak MDA birikimini sınırlayabilir. Sonuç olarak, CMV enfeksiyonu ile MDA seviyelerinde artış gözlenirken, 3MC uygulaması bu artışı baskılayıcı bir etki gösterebilir. Bu durum, mineral uygulamalarının bitki savunma mekanizmalarını güçlendirerek biyotik stresin etkilerini hafifletebileceğini destekleyen çalışmalarla uyumludur (Demidchik vd., 2014; Ding vd., 2022).

CMV (Cucumber mosaic virus; Hıyar Mozaik Virüsü) ile inoküle edilmiş biber bitkilerinde ve 3MC (üç defa mikronize kalsit uygulaması yapılmış) biber bitkilerinde salisilik asit (SA) düzeylerindeki değişimler gösterilmektedir. CMV uygulaması sonucunda SA konsantrasyonunda belirgin bir artış gözlenmektedir. Bu artış, viral patojene karşı bitkide sistemik kazanılmış direnç (SAR) mekanizmasının aktive olduğunu göstermektedir. SAR aktivasyonu, patojen algısı sonrası SA birikimi ile ilişkili olup PR (pathogenesis-related) proteinlerinin ekspresyonunu uyararak bitkinin hastalıklara karşı toleransını artırır (Vlot vd., 2009; Durner ve Klessig, 1997).

Üç defa MC uygulanan biber bitkilerinde de SA seviyesinde yükselme tespit edilmiştir. Bu durum, kalsit uygulamasının bitkinin savunma yanıtlarını dolaylı olarak uyardığını düşündürmektedir. Kalsiyum karbonat esaslı kalsit, bitki metabolizmasında sinyal yollarını etkileyerek stres tepkilerini modüle edebilir (Poovaiah vd., 1987). Bu bağlamda, 3MC uygulaması SA düzeylerinde artış sağlayarak, CMV'ye karşı direnç mekanizmalarının güçlendirilmesine katkıda bulunabilir.

CMV (Cucumber Mosaic Virus; Hıyar Mozaik Virüsü) ile inoküle edilmiş biber bitkilerinde ve 3MC (üç defa mikronize kalsit uygulanmış) biber bitkilerinde jasmonat asit (JA) düzeylerindeki değişimler gösterilmektedir. CMV uygulaması sonrasında JA seviyelerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Bu artış, bitkinin viral patojene karşı savunma mekanizmasının aktive olduğunu ve jasmonat sinyal yolunun stres tepkilerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Wasternack ve Hause, 2013).

Üç defa MC uygulanan biber bitkilerinde de JA düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Bu durum, kalsit uygulamasının bitki savunma sistemini dolaylı olarak uyardığını düşündürmektedir. Kalsiyum karbonat esaslı kalsit uygulamaları, hücre sinyal iletimini etkileyerek stres yanıtlarını modüle edebilir ve JA ile ilişkili savunma yollarının etkinleşmesini sağlayabilir (Poovaiah vd., 1987).

Korelasyon grafiği, çalışmada ölçülen fizyolojik ve biyokimyasal parametreler arasındaki ilişkileri ortaya koymaktadır. Pozitif korelasyon katsayısına sahip değişken çiftleri arasında doğrudan orantılı bir ilişki olduğu; negatif korelasyon katsayısına sahip değişken çiftleri arasında ise ters orantılı bir ilişki bulunduğu görülmektedir. Örneğin, CMV (Cucumber Mosaic Virus) uygulaması sonrası

salisilik asit (SA) ve jasmonat asit (JA) düzeyleri ile patogene兹 ilişkili protein (PR proteinleri) ekspresyonu arasında anlamlı pozitif korelasyonlar tespit edilmiştir. Bu durum, viral enfeksiyonun savunma hormonları ile ilişkili biyokimyasal yanıtları artırdığını göstermektedir (Vlot vd., 2009; Wasternack ve Hause, 2013).

Negatif korelasyonlar incelendiğinde, büyüme parametreleri ile stres belirteçleri arasında ters yönlü ilişkiler gözlenmiştir. Bu, artan stres yanıtlarının bitkinin gelişimsel süreçleri üzerinde baskılayıcı bir etki oluşturduğunu desteklemektedir (Mittler, 2002).

6. SONUÇLAR

CMV hastalık etmeni ve Mikronize Kalsit uygulanmış biber yapraklarında meydana gelen biyokimyasal etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

Biber yapraklarında tipik CMV hastalık etmeninin belirtileri olan damarlarda sararma ve bodurlaşma saptanmıştır.

CMV enfeksiyonunun biber yapraklarında sebep olduğu biyokimyasal tepkimeler incelenmiştir.

Sağlıklı yapraklara kıyasla CMV ile enfekteli biber Patates yapraklarında enzim aktivitesi (Peroksidaz; POX ve Katalaz: CAT) artış gösterirken; protein içeriği azalış göstermiştir.

Toplam klorofil içeriğinin CMV enfekteli biber yapraklarında önemli miktarda azaldığı belirlenmiştir.

Sağlıklı ve sadece MC uygulanmış bitkilerde POX enzim içeriğinde azalma, CMV ile enfekteli biber yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir.

Klorofil içeriği CMV ile enfekteli yapraklarda düşük seviyelerde seyrederken, sağlıklı kontrol ve MC grubunda daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir.

Sağlıklı, MC uygulanmış ve kontrol grubuna kıyasla hastalık etmeni ile enfekteli biber yapraklarda protein içeriğinde azalma olduğu belirlenmiştir.

Sağlıklı ve sadece MC uygulanmış bitkilerde katalaz içeriğinin düştüğü, enfekteli yapraklarda ise katalaz içeriğinin artış eğiliminde olduğu saptanmıştır.

Sağlıklı ve sadece MC uygulanmış bitkilerde MD enzim içeriğinde azalma, CMV ve MC uygulanmış enfekteli patates yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir

7. ÖNERİLER

Bu çalışma ile biberde CMV hastalık etmenin meydana getirdiği protein, klorofil içeriği ve antioksidant enzimlerin değişimi ilk kez araştırılmıştır. Buna ilave olarak mikronize kalsit uygulanmış biber yapraklarında CMV etmeninin biyokimyasal tepkilerinin bilinmesi dayanıklılık ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesinde önemli ipuçları sağlayacağı düşünülmektedir.

CaCO_3 , bitki hücrelerinde kalsiyum sinyalizasyonunu etkileyerek doğal bağışıklık tepkilerini güçlendirebilir. Kalsiyum sinyalleri, virüslere karşı savunma mekanizmalarının kurulması için gerekli olabilir.

CaCO_3 nanopartikülleri, savunma ile ilgili ikincil metabolitlerin üretimini artırabilir. Bu bileşikler, bitkilerin patojenlere karşı savunmasında önemli rol oynayabilir.

Kalsiyum, hücre duvarı yapısında önemli bir elementtir. CaCO_3 uygulaması, hücre duvarını güçlendirerek virüsün hücreler arası hareketini kısıtlayabilir.

CaCO_3 mikro ve nanopartikülleri, virüs partiküllerini doğrudan inaktive edebilir.

Kalsiyum sinyalizasyonu, salisilik asit birikimini teşvik ederek sistemik kazanılmış direnci indükleyebilir, bu da bitkinin virüslere karşı genel direncini artırabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas, A., Khan, M. A., & Ali, M. A. (2017). Effect of nano calcium carbonate on Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) in tomato plants. *Journal of Plant Pathology*, 99(2), 413–419.
- Akkurak, H., Güldür, M., & Dikilitaş, M. (2022). Biochemical alterations in lettuce (*Lactuca sativa* L.) infected with ‘Candidatus Phytoplasma asteris’ related strain (16SrI-B subgroup). *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 26(1), 15-24.
- Annigeri, S., Shakil, N., Kumar, J., & Singh, K. (2011). Jasmonate (Jasmonic Acid) yaprak spreyinin Kök-ur nematodu, Meloidogyne incognita ile enfekte olmuş domateslerde direnç üzerine etkisi. *Annals of Plant Protection Sciences*, 19(2), 446-450.
- Anonymous, 2002. International Committee on Taxonomy of Viruses, Cucumovirus, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB>.
- Anonymous, 2015. www.megamineral.com.tr (son erişim tarihi: 10/06/2025)
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1-15.
- Ayvacı, H., Güldür, M. E., & Dikilitaş, M. (2022). Physiological and biochemical changes in lucerne (*Medicago sativa*) plants infected with ‘Candidatus Phytoplasma australasia’-related strain (16SrII-D Subgroup). *The Plant Pathology Journal*, 38(2), 146.
- Blancard, D. (1988). *Maladies de la tomate. Observer, identifier, lutter* (pp. 212-p). INRA Editions.
- Bokshi, A. I., Morris, S. C., & Deverall, B. J. (2003). Effects of benzothiadiazole and acetylsalicylic acid on β -1, 3-glucanase activity and disease resistance in potato. *Plant pathology*, 52(1), 22-27.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., & Gibbs, A. (Eds.). (1990). *Viruses of tropical plants. Descriptions and lists from the VIDE database* (pp. xiv+-707).
- Choi, W. G., Hilleary, R., Swanson, S. J., Kim, S. H., & Gilroy, S. (2016). Rapid, long-distance electrical and calcium signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 67(1), 287-307.
- Clark, M. F., & Adams, A. (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.
- Cvikrová, M., Hrubcová, M., Vägner, M., Macháčková, I., & Eder, J. (1994). Phenolic acids and peroxidase activity in alfalfa (*Medicago sativa*) embryogenic cultures after ethephon treatment. *Physiologia Plantarum*, 91(2),

- Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S. S., Pozhvanov, G. A., Sokolik, A., & Yurin, V. (2014). Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*, 65(5), 1259–1270.
- Dikilitas, M., Simsek, E., & Roychoudhury, A. (2020). Role of proline and glycine betaine in overcoming abiotic stresses. *Protective chemical agents in the amelioration of plant abiotic stress: biochemical and molecular perspectives*, 1-23.
- Ding, Y., Shi, Y., & Yang, S. (2022). Advances and challenges in understanding plant abiotic stress responses. *Nature Plants*, 8, 1342–1355.
- Durner, J., Shah, J., & Klessig, D. F. (1997). Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends in Plant Science*, 2(7), 266–274.
- FAO, (2024). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Bitkisel üretim verileri. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (erişim tarihi: 10 Temmuz 2025).
- FAOSTAT. (2018). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Farooq, M. A., Niazi, A. K., Akhtar, J., Saifullah, Farooq, M., Souri, Z., Karimi, N., & Rengel, Z. (2023). Nanotechnology for sustainable crop production: Current status, challenges and future prospects. *Science of The Total Environment*, 857, 159300.
- Francki, R.I.B., Mossop, D.W., And Hatta, T., 1979. CMI/AAB Description Viruses No. 213:6p. <http://image.fs.uidaho.edu/vide/descr909.htm>
- Garcia-Brugger, A., Lamotte, O., Vandelle, E., Bourque, S., Lecourieux, D., Poinssot, B., ... & Pugin, A. (2006). Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. *Molecular Plant-microbe Interactions*, 19(7), 711-724.
- Gilroy, S., Białasek, M., Suzuki, N., Górecka, M., Devireddy, A. R., Karpiński, S., & Mittler, R. (2016). ROS, calcium, and electric signals: key mediators of rapid systemic signaling in plants. *Plant Physiology*, 171(3), 1606-1615.
- Gordon, K. H., & Symons, R. H. (1983). Satellite RNA of cucumber mosaic virus forms a secondary structure with partial 3'-terminal homology to genomic RNAs. *Nucleic Acids Research*, 11(4), 947-960.
- Green, S. K., & Kim, J. S. (1991). *Characteristics and control of viruses infecting peppers: a literature review* (No. 18, pp. 60-pp).
- Green, S. K., & Kim, J. S. (1994). Sources of resistance to viruses of pepper (*Capsicum* spp.): A catalog. Technical Bulletin No. 20. Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan. Guerriero,
- Hammerschmidt, R. And Smgth-Becker, J.A., 1999. The role of salicylic acid

- in disease resistance. In: Agrawal, A. A., Tuzun, S., & Bent, E. (eds) *Induced plant defenses against pathogens and herbivores: Biochemistry, Ecology, and Agriculture* (pp 37–53) The American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota.
- Hepler, P. K. (2005). Calcium: A central regulator of plant growth and development. *The Plant Cell*, 17(8), 2142–2155.
- Hernández-Hernández, H., Quiterio-Gutiérrez, T., Cadenas-Pliego, G., Ortega-Ortiz, H., Hernández-Fuentes, A. D., Cabrera de la Fuente, M., ... & Juárez-Maldonado, A. (2019). Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. *Plants*, 8(10), 355.
- Hull, R. (2014). *Plant Virology* (5th ed.). Academic Press.
- Jurić, S., Šegota, S., & Vinceković, M. (2019). Influence of surface morphology and structure of alginate microparticles on the bioactive agents release behavior. *Carbohydrate Polymers*, 218, 234-242.
- Kaper, J. M. And Waterworth, H. E. (1981). Cucumoviruses. In *Handbook of Plant Virus Infections. Comparative Diagnosis* (Ed. E. Kurstak), Elsevier/North Holland, Biomedical Press, Amsterdam, 257-332s.
- Kearney, C. M., Gonsalves, D., & Provvidenti, R. (1990). A severe strain of cucumber mosaic virus from china and associated satellite RNA. *Plant Disease*, 74, 819-823.
- Koster, J., Kulik, A., Hander, T., Kolarik, M., Wanke, F., Scharff, L. B., Thurow, C., Gatz, C., Zipfel, C., & Hedrich, R. (2022). OSCA1.3 mediates bacterial-induced calcium signaling and plant immunity. *Nature*, 605(7908), 162-168.
- Kucharek, T. A., Purcifull, D. E., Christie, R. G., & Perkins, K. D. (1998). The association of severe epidemics of cucumber mosaic in commercial fields of pepper and tobacco in North Florida with inoculum in *Commelina benghalensis* and *C. communis*. *Plant Disease*, 82(10), 1172-1172.
- Kumar, S., Yadav, V., & Mishra, P. (2020). Role of mineral nanoparticles in plant disease management. *Plant Pathology Journal*, 36(3), 165–177.
- Li, N., Yu, C., Yin, Y., Gao, S., Wang, F., Jiao, C., & Yao, M. (2020). Pepper crop improvement against cucumber mosaic virus (CMV): A review. *Frontiers in Plant Science*, 11, 598-798.
- Lot, H., Marchoux, G., Marrou, J., Kaper, J. M., West, C. K., Van Vloten-Doting, L., & Hull, R. (1974). Evidence for three functional RNA species in several strains of cucumber mosaic virus. *Journal of General Virology*, 22(1), 81-93.
- Louws, F. J., Wilson, M., Campbell, H. L., Cuppels, D. A., Jones, J. B., Shoemaker, P. B., ... & Miller, S. A. (2001). Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Disease*, 85(5), 481-488.
- Malamy, J., Carr, J. P., Klessig, D. F., & Raskin, I. (1990). Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral

- infection. *Science*, 250(4983), 1002-1004.
- Martelli, G.P. (2003). New Classification of Plant Viruses. Course on Integrated Pest Management of Mediterranean Fruit Crops in IAM-B (Chiam). s.1-36.
- Martelli, G. P., & Quacquarelli, A. (1982, September). The present status of tomato and pepper viruses. In *IV Conference on Recent Advances in Vegetable Virus Research* 127 (pp. 39-64).
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., & Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell & Environment*, 33(4), 453–467.
- Milosevic, N., & Slusarenko, A. J. (1996). Active oxygen metabolism and lignification in the hypersensitive response in bean. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 49(3), 143-158.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410.
- Momol, M. T., Olson, S. M., Funderburk, J. E., Stavisky, J., & Marois, J. J. (2004). Integrated management of tomato spotted wilt on field-grown tomatoes. *Plant Disease*, 88(8), 882-890.
- Montasser, M. S., Tousignant, M. E., & Kaper, J. M. (1998). Viral satellite RNAs for the prevention of cucumber mosaic virus (CMV) disease in field-grown pepper and melon plants. *Plant Disease*, 82(12), 1298-1303.
- Monti, M. M., Valanzuolo, S., Cassani, G., & Colombo, M. (1999). Transgenic tomatoes expressing a cucumber mosaic virus satellite RNA: Field testing and analysis of satellite RNA spread. *Journal of Plant Pathology*, 113-122.
- Motlhalamme, T., Kaningini, A. G., Thema, F. T., Mohale, K. C., & Maaza, M. (2025). Nanotechnology in agriculture: Exploring the influence of calcium carbonate nanoparticles on tomato leaf and fruit metabolomic profiles. *South African Journal of Botany*, 180, 615-624.
- Najar, R., Aydi, S., Sassi-Aydi, S., Zarai, A., & Abdelly, C. (2019). Effect of salt stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in *Medicago truncatula*. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153(1), 88-97.
- Nayyar, H. (2003). Calcium as environmental sensor in plants. *Current Science*, 893-902.
- Özalp, F. (2014). *Şanlıurfa ilinde pamuk bitkisinde Thrips spp. ve Tetranychus spp.'nin popülasyon yoğunluğuna bitki aktivatörünün etkisinin belirlenmesi/Determination of the effect of plant activator on the population density of Thrips spp. and Tetranychus spp. of cotton plant in Sanliurfa province* (Doctoral dissertation).
- Palukartıs, P., Rossinck, M. J., Dietzgen, R. G., & Franckı, R. I. B. (1992). Cucumber Mosaic Cucumovirus, In Advance in Virus Research Academic,

San Diego, p.281-348.

- Palukaitis, P., & Garcíaarenal, F. (2003). Cucumoviruses. *Advances in Virus Research*, 62, 241-323.
- Palukaitis, P., Roossinck, M. J., Dietzgen, R. G., & Francki, R. I. B. (1992). Cucumber mosaic virus. *Advances in Virus Research*, 41, 281-348.
- Passardi, F., Cosio, C., Penel, C., & Dunand, C. (2005). Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports*, 24(5), 255-265.
- Peden, K. W. C., & Symons, R. H. (1973). Cucumber mosaic virus contains a functionally divided genome. *Virology*, 53(2), 487-492.
- Pollard, D. G. (1973). Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera, Aphidoidea): a review. *Bulletin of Entomological Research*, 62(4), 631-714.
- Poovaiah, B. W., Reddy, A. S. N., & Leopold, A. C. (1987). Calcium messenger system in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 6(1), 47-103.
- Ramsford, K. D. (2004). *Aspirin and related drugs*. CRC Press.
- Rasmussen, J. B., Hammerschmidt, R., & Zook, M. N. (1991). Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv *syringae*. *Plant Physiology*, 97(4), 1342-1347.
- Sairam, R. K., & Saxena, D. C. (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 184(1), 55-61.
- Schwinghamer, M. W., & Symons, R. H. (1975). Fractionation of cucumber mosaic virus RNA and its translation in a wheat embryo cell-free system. *Virology*, 63(1), 252-262.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012(1), 217037.
- Smith-Becker, J., Keen, N. T., & Becker, J. O. (2003). Acibenzolar-S-methyl induces resistance to *Colletotrichum lagenarium* and cucumber mosaic virus in cantaloupe. *Crop Protection*, 22(5), 769-774.
- Tanne, E., & Zimmerman-Gries, S. (1980). Cucumber mosaic virus on eggplant in Israel. *Plant Disease*, 64(4), 371-372.
- Tien, P. O., Zhang, X., Qiu, B., Qin, B., & Wu, G. (1987). Satellite RNA for the control of plant diseases caused by cucumber mosaic virus. *Annals of Applied Biology*, 111(1), 143-152.
- TÜİK, (2024). Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=t r> (erişim tarihi: 10 Temmuz 2025).
- Tüzün, S. & Bent, E. (1999). *The Role of Hydrolytic Enzymes in Multigenic and Microbially-Induced Resistance in Plants*. (A.A Agrawal, S. Tüzün., and

- E.Bent eds.) Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores. Biochemistry, Ecology and Agriculture. Press, St. Paul, Minn., 95-115s
- Tüzün, S. & Kloepper, J. (1995). *Practical Application and Implementation of Induced Resistance*. (R. Hammerschmidt and J. Kuc, eds.) Induce Resistance to Disease in Plants. Kluwer Academic Publishers, London. p. 152-168.
- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., & Pieterse, C. M. J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1), 453-483.
- Varela, A. L. N., Oliveira, J. T. A., Komatsu, S., Silva, R. G. G., Martins, T. F., Souza, P. F. N., ... & Silveira, J. A. G. (2019). A resistant cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) genotype became susceptible to cowpea severe mosaic virus (CPSMV) after exposure to salt stress. *Journal of proteomics*, 194, 200-217.
- Vlot, A. C., Dempsey, D. A., & Klessig, D. F. (2009). Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology*, 47, 177–206.
- Walters, D. R., Ratsep, J., & Havis, N. D. (2013). Controlling crop diseases using induced resistance: Challenges for the future. *Journal of Experimental Botany*, 64(5), 1263–1280.
- Wasternack, C., & Hause, B. (2013). Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *An Update. Annals of Botany*, 111(6), 1021–1058.
- Weller, D. M. (1988). Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual review of phytopathology*, 26(1), 379-407.
- White, P. J., & Broadley, M. R. (2003). Calcium in plants. *Annals of Botany*, 92(4), 487–511.
- White, R. F. (1979). Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology*, 99(2), 410-412.
- Xu, J., Zhu, Y., Ge, Q., Li, Y., Sun, J., Zhang, Y., & Liu, X. (2022). Calcium-binding protein 1 is a critical regulator of pepper immunity against *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Experimental Botany*, 63(2), 695-709.
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762.
- Yang, Y., Shah, J., & Klessig, D. F. (1997). Signal perception and transduction in plant defense responses. *Genes & Development*, 11(13), 1621-1639.
- Yılmaz, M. A. & Davis, R.F. (1985). Identification of Viruses Infecting Vegetable Crops Along The Mediterranean Sea Coast in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 14(1):1-8.
- Yılmaz, M. A., Baloğlu, S., Özarslan, M. & Güldür, M. E. (1995). GAP Bölgesinde Kültür Bitkilerinde Belirlenen Virüsler. GAP Bitki Koruma Sorunları ve

Çözüm Önerileri Simpozyumu, 27-29 Nisan, anlıurfa.241- 250s

- Yılmaz, M. A., Kağka, N., Gezerel, Ö., & Çınar, A. (1979). Turfanda domateslerde ekim ve dikim zamanlarının virüs hastalıklarına etkisi. TÜBİTAK Proje no: ABBAÜ-11.
- Yılmaz, M.A., & Davis, R.F. (1984). Purification and Particle Morphology of TMV, CMV, and ZYMV Isolated from Various Cultivated Crops Grown along the Mediterranean Coast of Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology* 13(1), 29-38.
- Yılmaz, M.A., Davis, R.F., & Varney, E.H. (1993). Viruses on Vegetable Crops along the Mediterranean Coast of Turkey. *Phytopathology*, 73, 378.
- Zaitlin, M., & Palukaitis, P. (2000). Advances in understanding plant viruses and virus diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 38(1), 117–143.
- Zvereva, A. S., Klingenbrunner, M., & Teige, M. (2023). Calcium signaling: an emerging player in plant antiviral defense. *Journal of Experimental Botany*, 74(5), 1265-1273.