

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nurullah ÇETİZ

**ADANA VE CİVARINDA BUĞDAY YETİŞTİRİLEN
ALANLARDA ARPA SARI CÜCELİK HASTALIĞIYLA
İLİŞKİLİ VİRÜSLERİN (BARLEY YELLOW DWARF VİRUS,
BYDV)'NÜN SAPTANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2022

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ADANA VE CİVARINDA BUĞDAY YETİŞTİRİLEN ALANLARDA ARPA SARI CÜCELİK HASTALIĞIYLA İLİŞKİLİ VİRÜSLERİN (BARLEY YELLOW DWARF VİRUS, BYDV)'NÜN SAPTANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Nurullah ÇETİZ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
Yıl: 2021, Sayfa: 68
Jüri : Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
: Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ
: Doç. Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR

Buğday birçok bölgede insanoğlunun temel besin kaynağıdır. Son birkaç yılda ülkemiz buğdaylarında, özellikle Trakya Bölgesinde Arpa sarı cücelik virüs (*Barley Yellow Dwarf Virus*, BYDV) hastalığı ciddi epidemiler yapmış ve önemli oranlarda ürün kaybına neden olmuştur. Adana’da 2018 üretim yılında yürütülen bu çalışmada buğday tarımı yapılan ilçelerde BYDV hastalık etmeninin durumunu saptamak amacıyla survey çalışmaları yapılmıştır.

Yapılan survey çalışmalarında, toplanan örnekler antiserumu mevcut olan, buğdaygillerde zararlı virüslere karşı, DAS-ELISA ve tüm örnekler moleküler yöntemlerden Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR; Polymerase Chain Reaction, PCR) ile testlenmiştir. Çalışmada biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler sonucunda toplanan örneklerde 16 BYDV-PAV ve 12 BYDV-MAV ve 4 örnekte karışık enfeksiyon, buğday (*Triticum aestivum L.*), arpa (*Hordeum vulgare L.*), yulaf (*Avena sativa L.*) ve kanyaş yabancı otlarında (*Sorghum halepense*) saptanmıştır. Çalışmada örneklere ait PZR ürünlerinin DNA dizileri elde edilmiş, DNA dizilerine dayalı olarak yapılan filogenetik analizler sonucunda, Türkiye’de saptanan BYDV hastalık etmeninin BYDV-PAV ve BYDV-MAV hastalıkları dünyada bulunan diğer ırklar ile akrabalık dereceleri de ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: RT-PCR, ELISA, BYDV-PAV, BYDV-MAV

ABSTRACT

MSc THESIS

DETERMINATION AND CHARACTERIZATION OF BARLEY YELLOW DWARF VIRUS, BYDV IN WHEAT-GROWING LAND IN ADANA AND OF ITS AROUND

Nurullah ÇETİZ

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
Year: 2022, Pages: 68
Jury : Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
: Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ
: Assoc. Prof. Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR

Wheat is the main source of human food in many regions. Over the past few years, Barley Yellow Dwarf Virus (Barley Yellow Dwarf Virus, BYDV) has caused serious epidemics in wheat in our country, especially in the Thrace region, and has led to significant production losses. In this study, which was conducted in Adana in production year 2018, survey studies were conducted to determine the status of the BYDV disease agent in wheat-growing areas. In review studies, collected samples were tested by DAS-ELISA and all samples by molecular polymerase chain reaction (PCR; polymerase chain reaction verified by PCR) methods. In samples taken as a result of biological, serological and molecular methods, strains BYDV-PAV 16 of and BYDV-MAV 12 of the mix enfections 4 pathogen were found in wheat (*Triticum aestivum* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.), oats (*Avena sativa* L.) and *Sorghum halepense*. DNA sequences of PCR products were obtained and phylogenetic analyz based on DNA sequences was carried out. The degree of relatedness of the PAV and MAV strains of the BYDV disease agent found in Turkey was compared with other suchs found in the world.

Keywords: RT-PCR, ELISA, BYDV-PAV, BYDV-MAV

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Buğday birçok bölgede insanoğlunun temel besin kaynağıdır. Ülkemizde de buğday yetiştiriciliği son derece önemli olup yıllık ortalama 22 milyon ton üretim ile dünya üretiminde % 4 gibi bir paya sahiptir. Buğday insan beslenmesinde, doğrudan ve dolaylı olarak yer almakta, sanayi için iyi bir girdi ve en önemlisi de ekmeğin ham maddesi olması nedeniyle son derece önemli ve stratejik bir üründür.

Buğdayın, diğer bitkisel ürünlerde olduğu gibi yetiştirilmesinden tüketilmeye kadar olan aşamalarında verimini ve kalitesini olumsuz etkileyen birçok biyotik ve abiyotik etmen söz konusudur. Biyotik olarak zarar veren böcekler, yabancı otlar ve fungus ile bakteriyel hastalıklar dışında virüs hastalıkları da diğer bitkilerde olduğu gibi buğday yetiştiriciliğinde değişen oranlarda öneme sahiptir. Son birkaç yılda ülkemizde, özellikle Trakya Bölgesi'nde Arpa sarı cücelik virüs (Barley Yellow Dwarf Virus, BYDV) hastalığı ciddi epidemiler yapmış ve önemli oranlarda ürün kaybına neden olmuştur.

Çukurova Bölgesi yüzyıllardan beri buğday yetiştiriciliğinin yapıldığı önemli bir bölgedir. Diğer bitkilerde olduğu gibi birçok viral hastalık değişen oranlarda üründe verim ve kaliteye etki etmekte ve bölgemizde buğdaylarda zararlı virüs hastalıklarının mevcut durumu yeterince bilinmemektedir. Buğdaylarda en önemli zararı oluşturan viral etmen BYDV olup ülkemizde Trakya Bölgesi'nde olduğu gibi bazı bölgelerde epidemiler yaparak verimi büyük oranda olumsuz etkilemiştir. Çukurova Bölgesi'nde 20 yıl önce BYDV ile ilgili yapılmış bir çalışma olmasına rağmen; değişen iklim koşulları, hastalığı taşıyan vektör popülasyonlarının muhtemel değişiklikleri, gelişen tarım teknolojileri, vektörler ile mücadele yöntemlerindeki gelişmeler ve en önemlisi yetiştirilen buğday çeşitlerinde değişme ve gelişmeler topluca göz önüne alındığında BYDV'nin bölgemizde buğdaygillerde şu anki mevcut durumu bilinmemektedir. Son dönemlerde meydana gelen epidemiler de dikkate alındığında konunun önemi artmıştır. Ülkemizin buğday yetiştiriciliğinde önemli paya sahip olan Çukurova Bölgesi'nde BYDV'nin durumu,

etmenin serolojik ve moleküler olarak tanısı ve buna bağı olarak karakterizasyonun yapılması çalışmanın esas amacını oluşturmuştur.

“Çukurova Bölgesi’nde Buğday Yetiştirilen Alanlarda Arpa Sarı Cücelik Virüsünün (Barley Yellow Dwarf Virus, BYDV) Belirlenmesi ve Karakterizasyonu” konulu proje, Adana ili ve ilçelerinde buğday üretimi yapılan alanlarında öncelikle survey çalışmaları ile belirtilere bağı olarak BYDV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen ya da virüs benzeri belirtiler gösteren bitkiler ile buğday tarlaları kenarında inokulum kaynağı olma potansiyeli olan, özellikle dar yapraklı yabancı otlardan örnekler alınmıştır. Alınan bu şüpheli örnekler öncelikle ELISA testi ile serolojik olarak mevcut kitler kullanılarak ve moleküler testlerle virüsün varlığı saptanmış, buna bağı olarak etmenin muhtemel yaygınlığı, ırkları ve moleküler karakterizasyonu yapılarak BVYDV’nin diğr ülke ve bölgelerdeki ırkları ile akrabalık ilişkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Sonuç olarak Çukurova bölgesinde 226 adet buğday (*Triticum aestivum* L.), 70 adet arpa (*Hordeum vulgare* L.), 38 adet yulaf (*Avena sativa* L.) ve 18 adet kanyaş (*Sorghum halepense*) olmak üzere virüs benzeri şüpheli belirtiler gösteren 351 farklı yaprak örneğı toplanmıştır. Ova kesiminden toplanan örnekler için yapılan DAS-ELISA testlerinde pozitif bir sonuç bulunmazken yüksek bölgelerden alınan örneklerden 6 örnekte BYDV-MAV, 8 örnekte de BYDV-PAV ırkının varlığı saptanmıştır.

RT-PCR testlemelerinde (BYDV -PAV) ve (BYDV -MAV) primer çiftleri kullanılarak RNA-1 geni üzerinde 641 bç’lik bölge ve 660 bç’lik bölge çoğaltılmış ve sonuç olarak 16 izolat 641 bç’lik(BYDV-PAV) ve 13 izolat 660 bç(BYDV-MAV) DNA bandı gözlenmiştir. Buna göre buğdaylardan alınan örneklerde hastalık oranı %4,42 BYDV-PAV, %3,09 oranında BYDV-MAV ve BYDV-PAV+MAV karışık enfeksiyon oranı %0,88 olarak saptanmıştır. Arpada, %2,86 BYDV-PAV ve %1,43 oranında BYDV-MAV etmeni belirlenirken yabani yulafta, %7,89 oranında BYDV-PAV, %13,16 oranında BYDV-MAV ve %5,26 oranında BYDV-PAV+BYDV-

MAV karışık enfeksiyonu saptanmıştır. Kanyaşta ise %5,55 oranında sadece BYDV-PAV'ın varlığı belirlenmiştir.





TEŞEKKÜR

Çalışmanın her aşamasında değerli katkılarıyla beni yönlendiren, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, yardımlarını eksiksiz gördüğüm değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU'na sonsuz teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca literatür, arazi çalışmaları ve laboratuvar çalışmalarında bana değerli bilgi ve deneyimini eksiksiz aktaran değerli hocam Sayın Doç. Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR'a sonsuz teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Çalışma arkadaşlarım olan Zir. Yük. Müh. Dilan KONUR'a, Zir. Yük. Müh. Eray ATALAY'a ve Zir. Yük. Müh. Ali GÜNEŞ'e katkı ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca beni destekleyen abim Mehmet Veysi ÇETİZ ve eşim Gülbahar ÇETİZ'e teşekkür ederim

Bunlara ek olarak, sağladığı maddi olanaklarla bu ve bunun gibi önemli projelerin yürütülmesinde destek olan Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Proje Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
3. MATERYAL ve METOT	19
3.1. Materyal	19
3.1.1. Survey Alanı ve Çalışma Materyalleri.....	19
3.1.2. Arazi Çalışmalarında BYDV şüphesi ile toplananan çalışma materyalleri	19
3.1.3. Serolojik Çalışmalarda Kullanılan Materyaller	21
3.1.4. Moleküler Çalışmalarında Kullanılan Materyaller	22
3.1.5. Agaroz Jel Elektforezi Çalışmasında Kullanılan Materyaller	23
3.1.5. DNA Dizi Analizinde Kullanılan Materyaller	23
3.2. Metot	23
3.2.1. Simtomolojik Gözlemler ve Örneklemeler.....	23
3.2.2. Serolojik Çalışmalar	24
3.2.2.1. DAS-ELISA	25
3.2.3. Moleküler Çalışmalar	26
3.2.3.1. Total Nükleik Asitlerin (tNA) Elde Edilmesi.....	26
3.2.3.2. RT-PCR, PCR Çalışmaları.....	27
3.2.4. Agarose Gel Elektforez Çalışmaları.....	28

3.2.5. Dizi Analizi (Sekans Analizi) ve Filogenetik Sınıflandırma	
Çalışmalar	30
4. BULGULARI ve TARTIŞMA	31
4.1. Survey Çalışmaları.....	31
4.2. DAS-ELISA Testi Çalışmaları	39
4.3. Moleküler Çalışmalar.....	42
4.3.1. RT-PCR ve PCR Çalışmaları.....	42
4.4. DNA Dizileme ve Filogenetik Analiz Çalışmaları	47
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	61
EKLER.....	63
Ek. 1. ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler.....	65
Ek. 2. Total RNA Analizlerinde Kullanılan Solüsyonlar	66
Ek. 3. Agaroze Jel Elektrophorezde Kullanılan Tampon Çözeltiler	67
Ek 4. DNA Analizlerinde Kullanılan Çözeltiler.....	68

ÇİZELGELER

SAYFA

Çizelge 1.1. Dünya’da yıllara göre ülkelerin buğday üretimi	2
Çizelge 1.2. Dünya’da yıllara göre ülkelerin buğday ekim alanı	3
Çizelge 1.3. Dünya’da yıllara göre ülkelerin buğday ekim alanının alınan verim	4
Çizelge 1.4. Buğdaygil familyası bitkilerinde görülen önemli virüs hastalıkları.....	5
Çizelge 3.1. BYDV’nin Tanısında kullanılan primerler.....	23
Çizelge 4.1. Arazi çıkışı yapılan alanlar ve ELISA testi sonucu BYDV ile enfekteli olan buğdaygil bitkileri.....	42
Çizelge 4.2. Arazi çıkışı yapılan alanlardan 5’li ve 3’lü karmalarda ELISA testi sonucu BYDV ile enfekteli buğdaygil bitki örneklerinin PCR testleri	45
Çizelge 4.3. BYDV’nin tespit edildiği ilçe ve bitkiler.....	48



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Çalışmanın yürütüldüğü Adana ili ve ilçeleri (Anonim,2020)	19
Şekil 3.2. BYDV için arazi de aranan hastalık belirtilerinden bazıları	20
Şekil 3.3. Survey çalışmalarında hedef alınan BYDV'nin buğday bitkisinde sarılık ve cücelik belirtileri	21
Şekil 4.1. BYDV-K:K:184; Kozan ilçesi Çukurören Beldesi Kanyaş yabancı otunda BYDV-PAV pozitif izolatinın kızarıklık ve yaprak ucu kuruma belirtisi	32
Şekil 4.2. BYDV-K:B:159; Kozan ilçesi Kemer Beldesi Buğday kültür bitkisinde	32
Şekil 4.3. BYDV-K:Y:186; Kozan ilçesi Tufanlı Beldesi Yabani Yulaf yabancı otunda BYDV-PAV ve BYDV-MAV pozitif izolatinın yapraklarda kızarıklık belirtisi	35
Şekil 4.4. BYDV-T:B:46; Tufanbeyli ilçesi İstiklal Beldesi Buğday kültür bitkisinde BYDV-PAV pozitif izolatinın cücelik belirtisi	35
Şekil 4.5. BYDV-İ:B:224; İmamoğlu ilçesi Buğday kültür bitkisinde BYDV-MAV pozitif izolatinın yaprak ucu kuruması ve yapraklarda kızarıklık belirtisi	36
Şekil 4.6. BYDV- İ:B:208; İmamoğlu ilçesi Tuna Beldesi Buğday kültür bitkisinde BYDV-PAV pozitif izolatinın yaprak ucu kuruması ve yapraklarda kızarıklık belirtisi	36
Şekil 4.7. BYDV-K:B:165; Kozan ilçesi Çandık Beldesi Buğday kültür bitkisinde BYDV-PAV ve BYDV-MAV pozitif izolatinın yaprak ucu kuruması ve yapraklarda kızarıklık belirtisi	37
Şekil 4.8. BYDV- İ:A:213; İmamoğlu İlçesi Ağzıkaraca Beldesi Arpa Kültür bitkisinde BYDV-PAV pozitif izolatinın yaprak ucu sararma ve bodurluk belirtisi	37
Şekil 4.9. a) BYDV-İ:B:215; İmamoğlu İlçesi Koyunevi Beldesi Buğday kültür bitkisinde BYDV- PAV pozitif izolatinın yaprak ucu sararma	

ve bodurluk belirtisi. b) BYDV-K:Y:158; Kozan İlçesi Kemer Beldesi Yabani Yulaf yabancı otunda BYDV-MAV pozitif izolatının yapraklarda sararma ve yaprak ucu kuruma belirtisi	38
Şekil 4.11. BYDV-T:A:29; Tufanbeyli İlçesi Polatlı Beldesi Arpa kültür bitkisinde BYDV-PAV pozitif izolatının yapraklarda sarama belirtisi	38
Şekil 4.12. BYDV PAV ve MAV antiserumları ile 5'li paçal halinde 27 örnek iki tekerrür halinde ELISA testlenmesi	40
Şekil 4.13. BYDV-PAV antiserumu ile ELISA testi pozitif izolatlar.....	41
Şekil 4.14. BYDV-PAV primeri elde edilen 641 bç'lik bantlar.	43
Şekil 4.15. BYDV-PAV primeri elde edilen 641 bç'lik bantlar.	43
Şekil 4.16. BYDV-PAV primeri elde edilen 641 bç'lik bantlar.	44
Şekil 4.17. BYDV-MAV primeri elde edilen 660 bç'lik bantlar.	44
Şekil 4.18. BYDV-MAV primeri elde edilen 660 bç'lik bantlar.	45
Şekil 4.19. RT-PCR ürünlerinin DNA dizilerine göre yapılan filogenetik analiz sonucu.....	49
Şekil 4.20. RT-PCR ürünlerinin DNA dizilerine göre yapılan filogenetik analiz sonucu.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Adenin
Aa	: Amino asit
bp	: Base pair
BMV	: Brome mosaic bromovirus
B/CYDV	: Barley/Cereal yellow dwarf virus
BaMMV	: Barley mild mosaic virus
BaYMV	: Barley yellow mosaic virus
BSMV	: Barley stripe mosaic hordeivirus
BYD	: Barley yellow dwarf
BYDV	: Barley yellow dwarf luteoviruses
BYDV-GAV	: Barley yellow dwarf virus-GAV
BYDV-GPV	: Barley yellow dwarf virus-GPV
BYDV-MAV	: Barley yellow dwarf virus-MAV
BYDV-PAV	: Barley yellow dwarf virus-PAV
BYDV-RMV	: Barley yellow dwarf virus-RMV
BYDV-SGV	: Barley yellow dwarf virus-SGV
BYSMV	: Barley yellow streak mosaic virus
BMV	: Brom mosaic bromovirus
C	: Sitozin
°C	: Santigrad derece
cDNA	: Komplementer Deoksiribo Nükleik asit
CP	: Coat protein (Kılıf protein)
CYDV-RPS	: Cereal yellow dwarf virus-RPS
CYDV-RPV	: Cereal yellow dwarf polerovirus-RPV
DAS-ELISA	: Double Antibody Sandwich –ELISA
dATP	: Deoksiadenozintrifosfat
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
DNase	: Deoksiribonükleaz

dNTP	: Deoksinüklotidtrifosfat
EDTA	: Ethylenediaminotetraaceticacid
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EtOH	: Etanol
FAO	: Dünya Tarım Örgütü
HCl	: Hidroklorik Asit
KH ₂ PO ₄	: Potasyum di Hidrojen Sülfat
MDMV	: Maize dwarf mosaic virus
ME	: Mercaptoethanol
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
MMV	: Maize mosaic virus
MSPV	: Maize stripe virus
NaI	: Sodyum iyodür
NaOAc	: Sodyum asetat
Nt	: Nükleotid
OGSV	: Oat golden stripe virus
OMV	: Oat mosaic virus
ONMV	: Oat necrotic mottle virüs
PCR	: Polymerase chain reaction
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
rDNA	: Ribozomal DNA
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RNAse	: Ribo Nükleaz enzim
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
RT	: Reverse Transkriptase
SBCMV	: Soil-borne cereal mosaic virus
SBWMV	: Soil borne wheat mosaic furovirus
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
T	: Timin
TAE	: Tris Asetat EDTA

TAS-ELISA : Triple antibody sandwich-ELISA

TBE : Tris Borate EDTA

TNA : Total Nükleik Asit

T  K : Türkiye İstatistik Kurumu

U : Urasil

WDV : Wheat dwarf virus

WSMV : Wheat streak mosaic tiritimovirus

WYMV : Wheat yellow mosaic virus

V : Hacim

W/V : Ağırlık/Hacim

1. GİRİŞ

Buğday (*Triticum spp. L.*) buğdaygiller ailesine ait bir serin iklim bitkisidir. Buğdayın anavatanının Güney Doğu Anadolu bölgesi olduğu bilinmektedir (Yavuz, 2010).

Poaceae familyası, yulaf, arpa, buğday, pirinç, mısır, çeltik ve çavdarın da bulunduğu yaklaşık olarak 400 cins ve 4500 türü içinde barındırmaktadır. Bu türlerin arasında özellikle buğday insan hem de hayvan beslenmesine kullanılması, iklim ve toprak koşullarında kolaylıkla yetişebilmesi nedeni ile dünyanın birçok bölgesinde tarımı yapılan tek yıllık, dar yapraklı bir bitki olup taksonomisi aşağıdaki şekildedir (Kün,1996; İlbağı, 2003).

Alem : Plantae
Şube : Magnoliophyta
Sınıf : Liliopsida
Takım : Poales
Familya: Poaceae
Cins : Triticum L.

Buğdayın insan ve hayvan beslenmesinde temel besin kaynaklarının hammaddesi olması ve ürün olarak depolanmasının kolay olmasından dolayı oldukça önemli bir bitki grubudur. Buğdaydan elde edilen un, makarna, bulgur ve nişasta insan beslenmesinde; yetiştirilen buğday bitkilerinin sapları ise kepek ve saman olarak hayvan beslenmesi yanında kâğıt-karton sanayiinde de ham madde olarak da kullanılmaktadır (Kızılaslan, 2004; Süzer 2008).

FAO (2018) verilerine göre dünyada yaklaşık 128 ülkede buğday üretimi yapılmakta ve 2018 verilerine göre yıllık ortalama 734 milyon ton buğday üretimi gerçekleşmektedir. Dünya buğday üretiminde, Çin 131,4 milyon ton ile ilk sırada yer alırken Türkiye dünya buğday üretiminde 11. sırada yer almakta ve yine 2018 yılı

verilerine göre 20 milyon ton buğday üretimi ile önemli bir paya sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Dünya’da yıllara göre ülkelerin buğday üretimi (FAO, 2018)

SIRA	ÜLKE	2014	2015	2016	2017	2018
1	ÇİN	126,2	132,6	133,3	134,3	131,4
2	HİNDİSTAN	95,5	86,5	92,2	98,5	99,7
3	RUSYA	59,7	61,8	73,3	86,0	72,1
4	ABD	55,1	55,8	62,8	47,3	51,3
5	FRANSA	38,9	42,7	29,3	38,7	35,8
6	KANADA	29,4	27,6	32,1	29,9	31,8
7	ALMANYA	27,8	26,5	24,5	24,5	20,3
8	PAKİSTAN	26,0	25,0	25,6	26,7	25,1
9	AUSTRALİA	25,3	23,7	22,3	31,8	20,9
10	UKRANYA	24,1	26,5	26,1	26,2	24,6
11	TÜRKİYE	19,0	22,6	20,6	21,5	20,0
	DİĞER	201,7	210,3	206,2	208,0	201,0
	TOPLAM	728,7	741,6	748,3	773,4	734,0

Bir diğer değerlendirmede ekim alanları olarak yine Çin ilk sırada yer alırken üretimde 11. sırada yer alan ülkemiz ekim alanları açısından da 8. sırada yer almaktadır (Tablo 1.2).

Artan nüfus, çarpık kentleşme sonucunda diğer ekim alanlarında olduğu gibi tüm dünyada buğday ekim alanlarında da bütün ülkelerde son beş yılda bir azalma görülmektedir. Hindistan yaklaşık otuz milyon hektar ile ilk sırada yer alırken Türkiye yaklaşık yedi buçuk milyon hektar alan ile dünya buğday ekim alanında 8. sırada yer almaktadır.

Buğday ekim alanı ile ülkemizin yarısından az olan Almanya dekardan 800 kg/da civarında buğday verimi alarak dünyada önemli buğday ekimi yapan ülkeler arasında en yüksek verim oranına sahip iken Türkiye’ de ise dekardan yaklaşık ortalama 275 kg/da verim elde edilmektedir (FAO, 2018).

Çizelge 1.2. Dünya’da yıllara göre ülkelerin buğday ekim alanı (Milyon Hektar)

SIRA	ÜLKE	2014	2015	2016	2017	2018
1	HİNDİSTAN	30,5	31,5	30,4	30,8	29,6
2	ÇİN	24,7	24,6	24,7	24,5	24,2
3	RUSYA	23,9	25,9	27,3	27,5	26,4
4	ABD	18,8	19,1	17,8	15,2	16,0
5	AUSTRALİA	12,6	12,4	11,3	12,2	10,9
6	KANADA	9,6	9,6	9,0	9,0	9,9
7	PAKİSTAN	9,2	9,2	9,2	8,9	8,8
8	TÜRKİYE	7,8	7,8	7,6	7,6	7,3
9	UKRANYA	6,0	6,8	6,2	6,4	6,6
10	FRANSA	5,3	5,5	5,5	5,3	5,2
11	ALMANYA	3,2	3,3	3,2	2,2	3,0
	DİĞER	68,1	67,7	66,8	68,8	66,3
	TOPLAM	219,7	223,4	219,0	218,4	214,2

FAO, 2018 verilenlerine göre Türkiye’de kişi başına düşecek olması gereken, yani buğdaya olan arz-talebe bakıldığında 25,3 milyon ton üretim olması gerektiği açıkça ifade edilmektedir. Buğday ekim alanlarımızın azalmasının önüne geçilebilmesi zor olan bu dönemde birim alandan yüksek verim esas hedef haline gelmiştir.

Dirençli hastalıkların oluşması aynı zamanda da çevre şartlarının değişmesi birim alandan alınan verimi etkileyen en önemli sebepler arasındadır. Tüm ürünlerde olduğu gibi buğday yetiştiriciliğinde de hasat öncesi, sonrası, biyotik ve abiyotik birçok faktör ürün kayıplarına neden olmaktadır. Biotik olanlardan zarar veren böcek, akar ve nematodlar dışında hastalık etmeni olarak fungus, bakteri ve virüsler diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi değişen oranlarda ve önemde buğdaygil ürünlerinde verim ve kalite kaybına neden olmaktadır (Bockus vd 2010, Gider 2018).

Çizelge 1.3. Dünya’da yıllara göre ülkelerin buğday ekim alanının alınan verim (FAO, 2018)

SIRA	ÜLKE	2014	2015	2016	2017	2018
1	ALMANYA	862	808	764	764	667
2	FRANSA	735	780	528	725	684
3	ÇİN	524	539	539	548	541
4	UKRANYA	401	387	420	410	372
5	HİNDİSTAN	314	275	303	319	337
6	KANADA	308	289	358	333	321
7	ABD	293	292	354	311	311
8	PAKİSTAN	282	272	277	297	285
9	TÜRKİYE	242	288	270	280	274
10	RUSYA	249	238	268	312	272
11	AUSTRALİA	200	191	197	261	191

Buğdaylarda zarar yapan birçok hastalık mevcut olup değişik yayınlarda değişik rakamlar verilmektedir. Örneğin Murray ve ark., (2020) 104 farklı fungusun neden olduğu 49 fungal hastalık ve 9 bakteriyel hastalıktan söz ederken 46 farklı virüs hastalığının da varlığını bildirmektedirler. Bunun yanında bir başka listelemede ise 95 farklı hastalık etmeninin neden olduğu 50 fungal hastalık, 7 bakteriyel ve 38 viral hastalık olduğundan söz edilmektedir (Anonymous, 2020). Bir başka yayında da Brunt ve ark., (1996) buğday üretim alanlarında saptanmış az veya çok önemli olmak üzere 55 virüs hastalı etmeninin varlığını rapor etmişlerdir. Bunların yanında iki fitoplasma hastalığının varlığı da bildirilmektedir. Görüldüğü gibi buğdayı etkileyen hastalıklar arasında virüs hastalıklarının önemli bir yeri olup, çok sayıda virüsün doğal konukçusu olduğu bilinmektedir. Buğdaylarda zararlı bazı önemli virüsler Çizelge 1.4’ te verilmiştir.

Türkiye’de de buğday üretimini etkileyen fungal etmen ve zararlılarla mücadele konusunda kimyasal mücadele yaygın kullanılır ve sonuçları etkili

olurken, en önemli hastalık etmenlerinden virüslerle henüz kimyasal bir mücadelenin söz konusu olmaması bu etmen grubunu diğer ürünlerde olduğu gibi buğday yetiştiriciliğinde de daha önemli hale getirmektedir. Virüslerin kontrolünde dayanıklılık çalışmaları büyük bir önem arz etmektedir. Buğday virüslerinin doğru ve güvenilir bir şekilde tanımlanması, hastalık mekanizmasının bilinmesi, moleküler genom özelliklerinin ortaya konması durumunda dayanıklılık çalışmaları yapılabilir. Virüs ve vektörlerine karşı etkili ve ekonomik bir mücadele yapılabilmesi için ise buğday virüsleri ve vektörlerinin ve bunların epidemiyolojilerinin de iyi bilinmesi gerekmektedir.

Çizelge 1.4. Buğdaygil familyası bitkilerinde görülen önemli virüs hastalıkları (Fauquet ve Mayo, 1999)

Virüs	Simge	Familya	Cins
Barley yellow dwarf virus-PAV	BYDV-PAV	Luteoviridae	Luteovirus
Barley yellow dwarf virüs-MAV	BYDV-MAV	Luteoviridae	Luteovirus
Soil-borne wheat mosaic virus	SBWMV	Virgaviridae	Furovirus
Cereal yellow dwarf virus-RPV	CYDV-RPV	Luteoviridae	Polerovirus
Wheat streak mosaic virus	WSMV	Potyviridae	Tritimovirus
Wheat dwarf virus	WDV	Geminiviridae	Mastrevirus
Wheat spindle streak virus	WSSMV	Potyviridae	Bymovirus
Barley yellow striate mosaic vir	BYSMV	Rhabdoviridae	Cytorhabdovirus

Buğdaylarda enfeksiyona neden olan viral hastalık etmenleri, bitkilerin yapraklarında şerit halinde çizgi moziği, beneklenme, sararma veya kırmızımsı-mor renk gelişimi gibi belirtilerinin yanı sıra cücelik, nekroz, rozetleşme ve kızarıklık belirtilerine de neden olmaktadır. Özellikle yaprak renginde değişikliğe neden olan bazı belirtiler beslenme ve abiyotik etmenlerin oluşturduğu belirtiler ile karıştırılabilmektedir. Ayrıca, aynı bitkide enfeksiyona neden olan birçok virüsün

birlikte, yani karışık enfeksiyonlar şeklinde bulunma durumuna da sıklıkla rastlanmaktadır (Irwin ve Thresh, 1990)

Son yıllarda ülkemizde, özellikle Trakya Bölgesinde Arpa sarı cücelik virüs (Barley Yellow Dwarf Virus, BYDV) hastalığı ciddi epidemiler yapmış ve önemli oranlarda ürün kayıplarına neden olmuştur. Bölgemizde değişen iklim koşulları, hastalığı taşıyan vektör popülasyonlarının muhtemel değişiklikleri, gelişen tarım teknolojileri, vektörle mücadele yöntemlerindeki gelişmeler ve en önemlisi yetiştirilen buğday çeşitlerinde değişme ve gelişmeler topluca göz önüne alındığında BYDV'nin bölgemizdeki mevcut durumu son yıllar itibari ile bilinmemektedir. Son dönemlerde meydana gelen epidemiler de dikkate alındığında buğdaylarda virüs hastalıklarının, özellikle de BYDV'nin önemi artmıştır. Ülkemiz buğday yetiştiriciliğinde önemli paya sahip olan Çukurova Bölgesi'nde buğdaylarda mevcut virüslerin ve özellikle BYDV'nin mevcut durumunun belirlenmesi, etmenin biyolojik, serolojik ve moleküler olarak tanısının ve buna bağlı olarak karakterizasyonunun ve ayrıca belirlenen virüs ırklarının filogenetik analizinin yapılması bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Buğday üretim alanlarında bugüne kadar farklı buğdaygil türlerinde saptanmış az veya çok önemli olmak üzere Wiese (1987) 30 civarında virüsün buğdayı doğal olarak enfekte ettiğini bildirirken Brunt ve ark., (1996) tarafından 55 virüsün varlığı rapor edilmiştir. Buğdaygillerde saptanan bu virüsler içinde en yaygın olarak görülen virüs hastalıkları, Arpa sarı cücelik virüsü (Barley yellow dwarf virüs, BYDV), Toprak kökenli mozaik virüsü (Soilborne wheat mosaic virüsü, SWMV) ve Buğday sarı mozaik virüs (Wheat yellow mosaic virüsü, WYMV)'leridir. Bunların dışında Cereal yellow dwarf virus (CYDV-RPV), Brome mosaic virus (BMV), Wheat dwarf virus (WDV), Barley stripe mosaic virus (BSMV) ve Wheat streak mosaic virus (WSMV)'leri de sık görülen virüsler arasında yer almaktadır (Hofmann ve Kolb, 1998; Duveiller ve ark., 2007; Gaunce ve Bockus, 2015).

Buğdaygil familyası bitkilerinde görülen önemli virüs hastalıklarını özetleyen Fauquet ve Mayo (1999), zararlı virüsleri familya ve cinsleri ile sırasıyla Luteoviridae familyası Luteovirus cinsi içinde Barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV) ve BYDV-MAV); Polerovirus cinsinden Cereal yellow dwarf virus-RPV (CYDV-RPV) ve diğer familya ve cinslerden Soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV, Virgaviridae, Furovirus); Wheat streak mosaic virus (WSMV, Potyviridae, Tritimovirus); Wheat dwarf virus (WDV, Geminiviridae, Mastrevirus); Wheat spindle streak virus (WSSMV, Potyviridae, Bymovirus) ve Barley yellow striate mosaic virus (BYSMV, Rhabdoviridae, Cytorhabdovirus) olduğunu bildirmişlerdir.

BYDV'nin oluşturduğu verim kayıpları, enfeksiyon zamanı, çevre koşulları ve vektör böceklerinin popülasyon skalasına göre değişmektedir. Enfeksiyon belirtileri olarak, kök büyümesinde ve kardeşlenmede azalma, bodurluk, yapraklarda renk değişikliği ve görülse de virüs enfeksiyonlarının verimde ciddi kayıplara yol açtığı birçok araştırmacı tarafından da ifade edilmiştir (Pike, 1950; Banks ve ark, 1995).

BYDV'nin yaptığı ekonomik kayıplar, moleküler tekniklerin yetersizliği ve diğer biyotik ve abiyotik faktörlerin etkilerine benzeyen belirtileri nedeniyle hastalığı tanımadaki faktörlerin azalmasından kaynaklanmıştır. Bu da yıllarca bitki besin eksikliği sanılıp bilinçsizce gübre kullanımını da beraberinde getirmiştir. Bu durum üzerine yoğunlaşan bazı araştırmacılar, örneğin Oswald ve Houston (1951) BYDV'yi ilk olarak ABD'nin Kaliforniya eyaletinde tahıllar üzerinde yapılan bir çalışmada yeni bir virüs olarak rapor etmişlerdir.

BYDV'nin tahıllarda kuru ağırlığı ve yaprak ayası alanının azalmasına neden olduğu, ayrıca transpirasyonu azalttığı Erion ve Riedel (2012) tarafından bildirilmiştir. BYDV'nin, buğdaylarda bitki yüksekliğini %45,9 oranında azalttığı, dane ağırlığı/bitki oranının % 89,2 ve dane ağırlığı/başak oranının da ise % 85,9 oranında azalmasına neden olduğu rapor edilmiştir (Szunics 1984).

Cunfer ve ark. (1988) WSSMV'nin tahıl gurubundan olan buğday yetiştiriciliği yapılan alanlarda önemli verim ve kalite kayıplarına neden olduğunu ifade etmişler, Lemmetty ve Huusela-Veistola (2005) ise Buğday cücelik virüsü (WDV)' nün, bitkilerde bodurlaşmaya, sararma, sağlıklı olmayan veya hiç oluşmamış başaklanma gösteren bitkilerin oluşmasına neden olduğunu ve verim kaybının yaklaşık olarak %20-40 arasında olduğunu, zaman zaman ise %100 'lere kadar ulaştığını rapor etmişlerdir.

Litvanya'da 2000-2002 yılları arasında çayır yem bitkileri ve yazlık tahıllarda BYDV ve CYDV etmenlerinin varlığı araştırılmış, çalışma boyunca toplanan 1479 çayır ve yem bitkisi, 743 yazlık arpa, 367 yazlık yulaf olmak üzere toplam 2589 yaprak örneği TAS-ELİSA yöntemi ile testlenmiştir. Test sonuçlarına göre BYDV'nin PAV ve MAV ırkları, CYDV'nin ise RPV ırkı saptanmıştır. Toplanan şüpheli buğdaygil örneklerinin % 9-15 BYDV, çayır ve yem bitkilerinin ise BYDV ve CYDV oranının % 2-19 aralığında olduğu belirlenmiştir (Bisnieks ve ark., 2004).

Thackray ve ark., (2005) Avustralya'nın Güney Batısında yetiştirilen buğdaylarda üç farklı tahıl parselinde BYDV'nin verim üzerinde rolü ve vektörlerin

hastalık üzerindeki etkisini araştırmak için yürüttükleri çalışma sonucunda BYDV'nin RMV ırkı ile CYDV'nin görülme oranını düşük olarak saptarlarken, BYDV'nin PAV ırkının ise daha yaygın görüldüğünü rapor etmişlerdir. Çalışma yürüttükleri deneme parsellerinde diğer bazı sonuçlar gözden geçirildiğinde, BYDV-PAV ırkının görülme sıklığının % 1'lik artışı durumunda verim kaybının hektara 55-72 kg arasında düşüş gösterdiği belirlenmiş ve bu sonuçların Avustralya'nın Güney Batısında Akdeniz iklim koşullarında yetiştiriciliği yapılan buğdaylardaki gibi verimi önemli ölçüde azalttığını rapor etmişlerdir. Thackray ve ark. (2005) ayrıca yaprak bitlerinin erken dönemde bulaştığı buğdaylarda kış dönemi boyunca aktif kalmalarının da önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Edwards ve ark. (2001) ABD'nin Kuzey Dakota eyaletinde yaptıkları bir araştırmada, BYDV-PAV izolatını üç farklı arpa çeşidine erken dönemde inokule ederek verim ve malt kalitelerini kontrol etmişler, sonuç olarak BYDV-PAV izolatı ile enfekte olan arpanın genel veriminde % 32-38 oranında düşme, bir yıl sonraki tekrerde ise % 8-20 oranında azalma olduğu, aynı çalışmada genel olarak bin dane ağırlığının %13-15, dane hacminin de % 5-17 oranında azaldığı rapor edilmiştir. Bu araştırma ile BYDV-PAV'nın arpa bitkisinde ciddi verim kaybı ve dane kalitesi üzerinde önemli derecede zarar yaptığı saptanmıştır.

BYDV'nin kışlık sert buğday çeşitlerinde başak sayısı ve her bir başaktaki dane sayısı ile dane ağırlığında ve sonuç olarak önemli oranlarda verimde azalmaya, neden olduğu saptanmıştır. Ayrıca özellikle sonbahar enfeksiyonlarının daha fazla verim kaybına neden olduğu, tüm çeşitlerde hastalıklı bitki örneklerinin hektolitreye ve bin dane ağırlıklarının azaldığı rapor edilmiştir (Fitzgerald ve Stoner, 1967).

Jensen ve ark. (1971) BYDV hastalığının 10 farklı yazlık buğday çeşidindeki durumlarının karşılaştırılmasında, çeşitlerin tarımsal özellikler bakımında değişkenlik gösterdiği ve bu özellikler bakımından BYDV'nin karakteristik özellikleri açısından bazı etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir. BYDV ile enfekteli bitkilerin verim açısından sağlıklı bir bitkiye göre % 50 veya % 75 oranında kayba neden olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı bitkilerde herhangi bir

fizyolojik belirti bulunmaz iken, hastalıklı bitkilerde yapraklarda klorozlar meydana geldiği saptanmıştır.

Arpa sarı cücelik virüsleri, küresel açıdan önemli virüs hastalık guruplarından birini oluşturmaktadır. Tahıl üretim alanlarında hemen hemen tamamında etkin bir epidemi oluşturma potansiyeline sahip olan BYDV, buğdayda % 80'ne varan verim kayıplarına neden olduğu ve ekonomik olarak son derece önemli bir hastalık olarak dikkate alındığı bildirilmiştir (İlbağı, 2016).

BYDV ırkları içerisinde virüs izolatlarının virülensliği ile konukçu arpa ve buğday çeşitleri arasındaki patojen-konukçu ilişkilerine dayalı olarak BYDV-MAV'ın orta derecede, BYDV-PAV'ın en saldırgan olduğu saptanmıştır. Diğer ırkların ise virüslensliği az ve zayıf ırklar olarak belirlenmiştir. Burnett ve Plump (1998) BYDV ırklarına karşı ekim tarihi üzerinde bazı değişiklikler yaparak hastalık oranlarının azalacağı, birim alandan daha yüksek dane verimi elde edilebileceğini saptamışlar. Doğru tarihlerde yapılacak cypermethrin etkili maddeli insektisitlerle vektörlere karşı ilaçlama yapmanın ekim tarihi ile birlikte kombine edilerek, BYDV-PAV ve BYDV-MAV karşı başarı ile mücadele edilebileceğini bildirmişlerdir.

Parizoto ve ark. (2013), Brezilya'da BYDV'nin PAV, MAV ve CYDV-RPV virüslerinin mevsimsel yayılımını ortaya koymak için yapmış oldukları çalışmada BYDV-PAV'ın kış aylarında yulaf ve buğdayda, yaz aylarında ise mısır bitkisinde en yoğun ve etkin olduğunu tespit etmişlerdir.

Nancarrow ve ark. (2014) BYDV-PAV ırkının buğday bitkisinde yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık ve mevsim normalindeki sıcaklıkla alakalı yoğunluk incelemesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, BYDV-PAV ırkının mevsim normalindeki sıcaklıklarda çok daha yoğun olduğunu gözlemlemişlerdir.

Porras ve ark. (2018) Buğdaylarda görülen BYDV'nin PAV ve RMV ırklarını ve etmenin vektörü olan *Rhopalosiphum padi* ile *R. maidis* yaprak bitlerinin doğurganlıkları ve kolonileşmesini incelemişler, ayrıca virüsün bulaştığı buğday bitkilerinde besin içerik analizlerini yapmışlar, sonuçta esansiyel aminoasitlerin, sterollerin ve karbonhidratların önemli artışlar gösterdiğini belirlemişlerdir. Bu tür

besin artışlarının, virüs ile bulaşık bitkiler üzerindeki yaprak bitlerinin etkileşimlerin ve doğurganlıklarını kolaylaştırdığını da saptamışlardır. Araştırmacıların elde ettikleri sonuçlar, bitkinin virüs ırklarının yaprak bitlerinin beslenme hızlarını ve doğurganlığını önemli ölçüde artırdığını, ayrıca vektörleri için uygun gelişme ortamı sağladığını rapor etmişlerdir.

ABD'nin güney eyaletlerinden Arkansas'da kışlık ekilen buğday yetiştiriciliğinde BYDV ile bulaşıklılığı saptamak amacı ile Mahmood ve ark. (1993), enfekteli olduğu düşünülen buğday ve diğer buğdaygil örneklerini toplayıp ELISA testi uygulamışlar ve testler sonucunda alınan örneklerden % 97 BYDV-PAV ve % 3 oranında BYDV-RPV izolatları ile bulaşık olduğunu bulmuşlardır. Kültür bitkileri dışındaki diğer buğdaygillerden olan yabani yulaf, çavdar ve çim türlerinden alınan örneklerde de BYDV'nin varlığı bu çalışmada saptanmış, ayrıca özellikle çim türlerinin BYDV-PAV izolatının önemli yazlık konukçuları olduğu da aynı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Kendall ve ark. (1996) İngiltere'de yürüttükleri bir çalışmada mera ve çim bitkilerinden topladıkları 14 örnekte BYDV'nin RPV, PAV ve MAV ırklarını ELISA testi ile ortaya koymuşlar, iki yıl tekerrürlü süren çalışmalarında araştırmacılar üç ırkında her iki yılda bulunduğunu, RPV ve PAV ırklarının özellikle İngiltere'nin güney bölgelerinde daha yoğun olduğunu rapor etmişlerdir.

Delmiglio ve ark. (2010) Yeni Zelanda'nın güney bölgesinde gerçekleştirdikleri çalışmada, konukçusu olabilecek 15 doğal ve 3 egzotik çim türünde, ELISA testi ile BYDV-PAV ve BYDV-MAV virüslerini araştırmışlar, BYDV-PAV'ın konukçuları olarak *Dichelachne crinita* ve *Microlaena stipoides*, BYDV-MAV virüsünün konukçuları olarak da *Poa cita*, *Festuca novae-zelandiae*, *Hierochloe redolens* türlerini belirlemişlerdir.

BYDV ile bulaşık yulaf yapraklarından elde edilen bitki ekstraktlarının tanınması için Figueira ve ark. (1997) ELISA ve PCR yöntemlerinin duyarlılıklarının karşılaştırmasını yapmışlar ve elde edilen sonuçlara göre PCR'ın daha duyarlı ve bu çoğaltım tekniğinin saflaştırılan virüslerin 0.1 pg gibi az bir

oranda olan RNA'yı belirleyebileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucundaki bulgular BYDV-PAV'nin doğru teşhisi için PCR yönteminin en uygun yöntem olduğu araştırmacılar tarafından bildirmiştir.

Yürütülen bir dayanıklılık çalışmasında, Koev ve ark. (1998) yulaf bitkisinde BYDV-PAV ırkına karşı RNA polimeraz enzimi üreten geni transfer etmişlerdir. Daha sonra bu bitkilere BYDV-PAV patojeni inokule edilmiş ve aynı zamanda da transgenik olmayan yulaf bitkisine de kontrol olarak patojen inokule edilmiştir. Sonuç olarak, BYDV'ye karşı geliştirilen transgenik yulaf bitkilerindeki T2 ve T3 genleri sayesinde hastalık belirtisi gösterse de bitkilerde bir zarar görülmemiş ancak kontrol bitkilerinin çoğunluğunun enfeksiyon sonucunda öldüğü görülmüştür. Bu çalışma ile doğal dayanıklılık mekanizmasının BYDV-PAV virüsüne karşı yeterli olmadığı ortaya konulmuştur.

BYDV ve CYDV etmenlerini birbirlerinden ayırt edebilen ve tanılama işlemini kolaylaştıracak iki fragment veren multipleks RT-PCR yöntemini geliştiren Malmstrom ve ark. (2004) bu yöntem ile yaklaşık 830 bp uzunluğunda fragment veren BYDV-MAV, BYDV-PAV ve BYDV-SGV virüsleri; yaklaşık 372 bp uzunluğunda fragment veren BYDV-RMV, CYDV-RPV, ve BYDV-GPV virüslerinin saptanmasında kullanılacağını bildirmişlerdir. Bu çalışma BYDV ve CYDV virüslerinin tanısı yanında bu etmenlerin ekolojik rolünü ve uzun dönemde epidemolojilerini kontrol etme açısından da örnek olduğu söylenmektedir.

Mısır'da yürütülen bir çalışmada, BYDV'nin kılıf protein geninin moleküler karakterizasyonu sonucu beş farklı ırk (PAV, RMV, RPV, MAV ve SGV) varlığı bildirilmiştir (Nagy ve ark., 2007). Aynı araştırmacılar ayrıca BYDV-PAV ırkının mısır bitkisinde daha yaygın olduğunu rapor etmişlerdir. BYDV ile bulaşık buğday bitkilerinden ve yaprak bitlerinden tRNA elde edilmiş, RT-PCR çalışmaları için PAV ve RMV ırklarına ait kılıf proteinlerin çoğaltılması için spesifik primerler dizayn etmişler, RT-PCR sonucunda elde edilen PCR ürünlerinden DNA dizi analizleri yapılmış ve gen bankasında karşılaştırılmış, sonuç olarak % 93 oranında benzerlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Bunun yanında PAV ve RMV ırkları için

buğdaydaki virüs konsantrasyonu, yaprak bitlerinde ki virüs konsantrasyonunun yarısı kadar olduğu görmüşler ve araştırmacılar RT-PCR'ın klasik PCR yöntemine göre 3 ila 5 kat daha duyarlı olduğunu da rapor etmişlerdir.

Tao ve ark. (2012) Çin'de yaptıkları çalışmada buğday virüslerinin tespiti için multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (mRT-PCR) geliştirmiş olup bu teknik sayesinde BYDV'nin PAV, GPV ve GAV olan üç ırkı, WYMV, WBD, BSMV ve WDV gibi ürünlerde büyük zarara neden olan patojenleri aynı anda test eden yöntemi geliştirdiklerini bildirmiştir.

Türkiye'de ilk kez Batı Anadolu Bölgesi'nde tahıllar ile ilgili yapılan bir çalışmada Bremer ve Ark. (1975), yaprak bitleri ve tarafından taşınan ve enfeksiyon oluşturan bazı hastalıkları belirlemişlerdir. Enfeksiyona neden olan ve *R. Maidis*, *R. padi*, ve *Sipha kurdjumovi* (Mord.) yaprak biti türleri ile taşınan ve yayılma gösteren hastalığın BYDV olduğunu rapor etmişlerdir.

Ülkemizde 1999 yılında Trakya Bölgesinde kışlık ekmeklik buğday tarlalarında ilk defa BYDV epidemisi gözlenmiş (İlbağı, 2003) ve bunun üzerine çalışmalarına periyodik olarak devam eden araştırmacı gözlemlerinin sonucunda hastalığın Trakya Bölgesi'nde epidemik boyutlara ulaştığını saptamıştır. Daha sonra araştırmacı ve ekibi araştırmalarında arpa, tritikale, makarnalık buğday, ekmeklik buğday, yulaf, ve birçok yabancı ot türünde hastalığın bulunduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak BYDV-PAV izolatının Trakya Bölgesi'nde buğdaygillerde en önemli virüs hastalığı olduğu ve verimde % 32-33 verim kaybı oluşturduğu rapor edilmiştir (İlbağı ve ark., 2003).

Köklü, (2004) Tekirdağ'da arpa sarı cüce luteovirüslerinin (BYDV-MAV ve BYDV-PAV), tahıl sarı cüce polerovirüs (CYDV-RPV), arpa şerit mozaik hordeovirüs (BSMV), buğday cüce monogeminivirüsü (WDV) ve brom mozaik bromovirüs (BMV)'lerini belirlemek amacıyla bir araştırma yapmıştır. Çalışmada 26 buğday tarlasından sararma, bodurluk veya çizgilenme-şeritleme gibi belirtiler gösteren 260 buğday örneği toplamış, bu örnekler, poliklonal antiserum kullanılarak ELISA yöntemi ile altı virüsün varlığı için testlenmiştir. Serolojik çalışmalar

sonucunda Türkiye'de test edilen 6 virüsün Tekirdağ'da bulunduğu belirlenmiş, testlenen virüsler arasında BYDV-MAV'nin en yaygın virüs olduğu saptanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde testlenen 260 buğday örneğinin dağılımında örneklerin % 25'inin BYDV-MAV ile bulaşık olduğu BYDV-PAV % 22,3, WDV % 16,5, CYDV-RPV % 8,5, BMV % 3,1 ve BSMV ise % 1,5'nin izlediği görülmüş ve rapor edilmiştir.

Çukurova Bölgesi'nde Adana ve Hatay ile Türkiye'nin diğer bölgelerinde de BYDV'nin varlığı artan önemi üzerine araştırma konusu olmaya başlamıştır. Nitekim Çukurova Bölgesinde sadece mevcut iki çalışma yapılmıştır. Bunlardan ilki dane mısır (*Zea mays* L.) üretim alanlarında BYDV hastalığının araştırılması ve saptanması ile ilgilidir (Fidan ve Yılmaz, 2004).

Çukurova Bölgesi'nde aynı dönemlerde yaptığı survey ve tanı çalışmaları ile Bıçkıcı (2004) buğdaygillerde BYDV'nin varlığı saptanmış ve bölgede yoğunluğunu rapor edilmiştir. Bölgede 2002-2004 yılları arasında yürütülen bu çalışmada buğdaygillerde Arpa sarı cücelik virüsünün saptanması ve yaygınlık oranının belirlenmesi amaçlanmış ve Adana, Mersin, Kahramanmaraş, Hatay ile Osmaniye illerinde survey çalışmaları yürütülmüştür. Çalışmada 204 farklı buğdaygil üretim alanından BYDV'nin varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacı ile virüs benzeri belirtiler sergileyen ve bulaşık olduğu şüphesi ile 378 adet bitki ve ayrıca bu bitkiler üzerinde bulunan 23 yaprak biti örneği testlenmek üzere alınmıştır. Bu örneklerin dağılımı 275 adet buğday, 22 adet arpa ve 81 adet yabancı ot bitki örneği şeklinde olup ELISA testleri sonucunda 275 buğday örneğinin 34 tanesinde BYDV saptanmıştır. BYDV ile bulaşık buğday örneğinin 28 tanesi BYDV-PAV, 6 tanesinin ise BYDV-MAV ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Hastalıkla bulaşık olduğu şüphesi ile toplanan 22 arpa örneğinden ise sadece birinde BYDV-MAV ırkı belirlenmiştir. Yabani yulaf, yabani arpa, kuşyemi, tilki kuyruğu ve brom olarak alınan yabancı otlardan toplam 81 örneğin sadece birinde BYDV-MAV ırkı saptanmıştır. BYDV etmenin vektörü olarak düşünülen 23 yaprak biti örneğinin %

30.4'nde (7 adet) BYDV-PAV, % 13 ünde (3 adet) ise BYDV-MAV ırkları ELISA yöntemi ile saptanmıştır (Bıckıcı, 2004).

İlbağı ve ark. (2006) Trakya bölgesinde yaygın bulunan adi kamış (*Phragmites communis Trin.*) yabancı otunun konukçu olabileceği düşünülerek tahıl virüslerinin varlığı için araştırılmıştır. Çalışmada toplanan 234 örneğin tahıl virüsleri olan, BYDV-PAV, CYDV-RPV, MDMV ve Şeker kamışı mozaik virüsü (SCMV)'nin varlığı DAS-ELİSA ve PTA-ELİSA yöntemleri ile testlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda adi kamışın BYDV-PAV, MDMV ve SCMV etmenleri ile bulaşık olduğu saptanmıştır.

Pehlivan ve ark. (2016) buğday yaprakbiti olan *Sitobion avena* (F.) (Hemiptera, Aphididae)'nin popülasyon yoğunluğu, bazı buğday çeşit ve genotiplerinde Adana ili Balcalı yöresinde tarla koşullarında araştırmışlar ve çalışmada 17 buğday çeşit ve genotipi üzerinde parsel denemelerini (6m²) 3 tekrarlı olarak yürütmüşlerdir. Yaprak bitleri örneklemeleri esas olarak buğday bitki başaklarından yapılmıştır. Genel olarak yaprakbiti yoğunluğunun çeşit ve genotiplerde nisan ayı sonu veya mayıs ayı ortalarında arttığı, daha sonraları belirgin olarak azaldığı belirlenmiştir. Çeşitler bazında ortalama yaprakbiti sayıları Tam/Gru 90/Kauz 'S', Buc/Prl/Weaver 12 Bow//Buc/Bul ve Pastor//Munia/Altar 84 genotiplerinde yüksek; Balatilla çeşidi, Croc 1/*Ae.squarrosa*-1 ve 1/*Ae.squarrosa*-2 genotiplerinde ise önemli düzeyde düşük olduğu bulunmuştur (P<0.05). En yüksek ortalama yaprak biti yoğunluğu geçici bir genotip olan Tam/Gru 90/Kuaz 'S' üzerinde saptanmıştır. *S. avenae* yoğunlukları yönünden belirgin farklılıkların görüldüğü genotiplerle ileri düzeyde çalışmalar planlanarak, dayanıklılığın genetik mekanizmasının araştırılmasının da yararlı olacağı rapor edilmiştir.

Karadeniz Bölgesi'nin Samsun ilindeki buğday alanlarında Erkan ve Kutluk (2009) BYDV-PAV ve BYDV-MAV etmenlerini DAS-ELİSA yöntemi kullanarak bölgede varlığını rapor etmişlerdir. Yürüttükleri çalışmada 2006 yılında toplanan 154 örneğin 5'inin BYDV-PAV, 3'ünün de BYDV-MAV ile bulaşık olduğunu

saptamışlardır. Ayrıca örneklerin sadece 1 tanesinde ise BYDV-PAV+MAV ikili karışık enfeksiyonu gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Trakya Bölgesindeki ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) ekim alanlarında DAS-ELISA testi ile Hamamcı (2012) tarafından yürütülen bir çalışmada toplanan 336 yaprak örneğinde tahıllarda zararlı birçok bitki virüsüne karşı testlemelere yapılmıştır. Sonuç olarak testlenen örneklerde % 80.17 oranında BYDV-PAV, % 4.83 oranında WDV ve % 6.61 oranında CYDV-RPV türleri saptanmıştır. Bu çalışmada BYDV-MAV ve diğer türlere toplanan örneklerde rastlanılmadığı bildirilmiştir.

Doğu Anadolu Bölgesi buğday alanlarında BYDV-MAV, BYDV-PAV, BYDV-RMV, BYDV-SGV ve CYDV-RPV, Buğday çizgi mozaik virüs (WSMV) ve Toprak kaynaklı buğday mozaik virüslerini (SBWMV) belirlemek amacı ile yürütülen bir çalışmada 900 buğday örneğinden 50 örneğin BYDV-PAV (%5.5) ile en yüksek oranda sonrasında ise 44'nün BYDV-SGV (% 4.8) ise ikinci en yoğun hastalık olarak tespit edilmiş, 8'inin ise WSMV (% 0.8) ile bulaşık olduğu ve son olarak 4'nün CYDV-RPV (% 0.4) ve belirlenmiştir. (Usta ve ark., 2013).

Fidan ve ark. (2014) Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti tahıl üretim alanlarında ve özellikle arpalarda BYDV'nin vektörleri ve yayılış durumlarını belirlemek amacı ile Lefkoşa, Girne, Gazi Magosa, İskele ve Güzelyurt Bölgelerinde tarla tarımı yapılan 72 tarladan BYDV etmeninin belirtilerine benzer görüntüler sergileyen toplam 256 örneği DAS-ELISA yöntemi ile testlemişler ve BYDV-MAV, BYDV-PAV ile CYDV-RPV'nin varlığını belirlemişlerdir. Örneklerle beraber tarladan alınan yaprak bitleri (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*) türlerinde RT-PCR ile PAV ve MAV ırkları da saptanmıştır. Sonuç olarak, KKTC tahıl alanlarında, özellikle arpalarda BYDV ve BYDV'nin vektörleri olan *R. padi* ve *Macrosiphum* (*Sitobion*) *avenae* türleri belirlenmiştir.

Çapkan ve Paylan (2016) İzmir ve Aydın illerindeki buğday üretim alanlarında TÜİK verileri ile orantılı olarak, BYDV etmeni ile bulaşık olduğu şüphelenilen 214 buğday bitkisinin DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri kullanılarak etmenin

varlığını saptamışlardır. Sonuç olarak toplanan örneklerin bulaşıklık oranı % 9.8 olarak belirlenmiş ve bölgede izolatların gen dizilimi Türkiye izolatı ile % 100 ve % 99, Amerika, Fransa, Tunus ve Fas, izolatları ile % 99; İzmir izolatının ise Brezilya, Amerika, Çin, Azerbaycan, İsveç Fas, Mısır ve Türkiye izolatları ile % 99 oranında benzer olduğunu rapor etmişlerdir.

Edirne, Tekirdağ ve Kırklareli illerinde tahıl üretim alanlarından İlbağı (2017) sarılık, kızarıklık ve cücelik belirtilerinin görüldüğü buğday, arpa ve yulaf bitki örnekleri toplamış, DAS-ELISA ile BYDV'nin MAV, PAV ırkına ve CYDV-RPV ırkına karşı testlemiştir. Ayrıca testlenen bu örnekler RT-PCR testi ile de tekrar test edilmiş, sonuç olarak testlenen 187 adet yaprak örneğinin 89 (% 47.59)'unda BYDV-PAV, 30 (% 16.04)'unda, CYDV-RPV ve 4 (% 2.14)'ünde ise oranında BYDV-MAV virüslerinin belirlendiğini rapor etmiştir.

Aydın (2017), çeltikte (*Oryza sativa* L.) BYDV virüsünü saptamak için Trakya Bölgesi'nde geniş ekim alanlarına sahip Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerinden 120 adet enfekteli olduğundan şüphelenilen çeltik yaprak örneği ve ayrıca çalışmada BYDV virüsüne konukçuluk yaptığı, belirgin virüs belirtileri gösteren karnı, kanyaş, darıcan ve yabancı hardal olmak üzere toplam 21 örnek toplamıştır. DAS-ELISA testi ile 24 adet çeltik bitkisinde, 2 adet kanyaş ve 1 adet darıcan örneğinde CYDV-RPV ve 1 adet karnı ile 4 adet çeltik örneğinde ise BYDV-PAV virüsü saptanmıştır. Bunun yanında CYDV-RPV ve BYDV-PAV virüsünün varlığı 1 adet karnı ve 8 adet çeltik örneğinde karışık enfeksiyon olarak saptanmıştır. Test edilen örneklerin hiçbirinde BYDV-MAV virüsüne rastlanılmamış olup sonuç olarak; çeltik bitkisinde BYDV-PAV ve CYDV-RPV bulunması Türkiye'deki ilk kayıt olarak ortaya konmuştur.

Afyonkarahisar ve Isparta illerindeki buğdaygil üretim alanlarında Kılıç ve ark. (2018)'nin yaptığı bir çalışmada BYDV'nin PAV ve MAV tanılması amacıyla BYDV ile bulaşık olduğu şüphelenilen 94 adet buğday yaprak örneği toplamışlar ve DAS-ELISA yöntemi ile etmenin varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar testlemeler

sonucunda 94 örnekte 2 adet BYDV-MAV, 68 adet PAV ırkı ve 4 adet te karışık enfeksiyonun varlığını ortaya koymuşlardır.

Karaozan (2019), Mardin ve ilçelerinde buğdaygil üretim alanlarında Arpa sarı cücelik virüslerini belirlemek amacı ile 400 buğday bitkisi örneğini virüs tespiti için toplamışlar ve virüslerin varlığını belirlemek için multipleks RT-PCR ve RT-PCR yöntemlerini kullanmışlardır. Test edilen 400 örneğin 10 adet BYDV-PAV, 7 adet BYDV-SGV, 2 adet CYDV-RPV ve 1 adet BYDV-RMV saptamışlar, pozitif izolatların 7'sinde BYDV-PAV+BYDV-SGV ve 1'inde BYDV-PAV+CYDV-RPV karışık enfeksiyonunu belirlemiş ancak BYDV-MAV tespit edilememiştir.

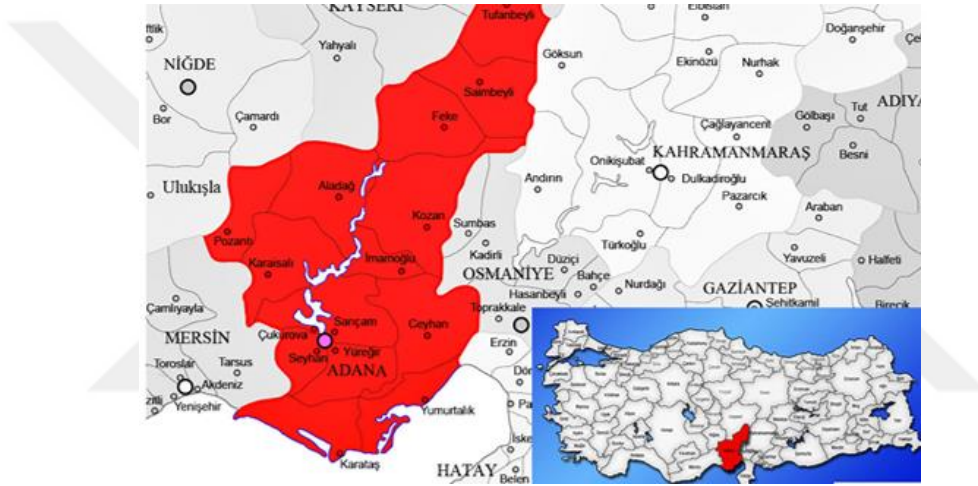
Bursa ilinde buğdaygil ekim alanlarında Erler (2019), BYDV'nin belirlenmesi amacıyla yaptığı çalışmada 21 tarladan alınan 210 adet buğday örnek test edilmiştir. Yapılan çalışmanın sonucuna göre % 11 CYDV-RPV, % 10 WSMV, % 3,8 WDV, % 2,9 BYDV-MAV, % 0,5 BYDV-PAV, % 0,5 WSSMV pozitif olarak tespit edilmiştir. Karışık enfeksiyonlarda ise test edilen bitkilerin % 4.8'in de belirlenmiştir.

3. MATERİYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Survey Alanı ve Çalışma Materyalleri

Survey çalışmaları, Adana ilinde buğdaygil üretiminin yoğun yapıldığı İmamoğlu, Kozan, Ceyhan, Karataş, Yumurtalık, Sarıçam, Yüreğir, Karaisalı ve Tufanbeyli ilçeleri ve çevresinde yürütülmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Çalışmanın yürütüldüğü Adana ili ve ilçeleri (Anonim,2020)

3.1.2. Arazi Çalışmalarında BYDV şüphesi ile toplananan çalışma materyalleri

Buğday (*Triticum aestivum* L.), Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Yulaf (*Avena sativa* L.), Kanyaş (*Sorghum halepense*) gibi bitkilerden virüs ve virüs benzeri belirtileri gösteren virüs şüpheli bitkilerden alınan özellikle genç ve belirti gösteren yaprak örnekleri çalışmanın asıl materyalini oluşturmuştur. Ayrıca buğday tarlalarında inokulum kaynağı olabileceği düşünülen diğer yabancı otlardan yaprak ve sürgün örnekleri de çalışmada materyali olarak kullanılmıştır.

Çalışmada örnek olarak seçilen Şekil 3.2 ve 3.3. de olduğu gibi bitkilerde değişen şiddetlerde sararma, bodurluk, uçtan geriye doğru ölüm, kızarma ve yeşilden

kırmızı-mor bordoya dönen renklenme görüntüleri aranmış ve bu belirtileri gösteren bitkiler şüpheli kabul edilerek örnekler toplanmıştır. Survey çalışması bitkilerin gelişme durumu, sıcaklık faktörleri, yaprak biti aktivitesi ve buğday ekim alanı göz önüne alınarak Adana'nın güney ilçelerinden başlanmış olup rakımı yüksek alanlarda son verilmiştir.

Toplanan örneklerin incelenmesi ve ilgili tanı testleri ile ilgili çalışmalar Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji Laboratuvarında yürütülmüştür.



Şekil 3.2. BYDV için arazi de aranan hastalık belirtilerinden bazıları



Şekil 3.3. Survey çalışmalarında hedef alınan BYDV'nin buğday bitkisinde sarılık ve cücelik belirtileri

3.1.3. Serolojik Çalışmalarda Kullanılan Materyaller

Araziden BYDV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen buğday ve diğer bitkilerin yapraklarından alınan örnekler, DAS-ELISA testlerinde tanı kitleri için Bioreba firmasından ticari olarak temin edilen BYDV-PAV ve BYDV-MAV ırklarına spesifik ELISA kitleri, ELISA testi için muhtelif tampon çözeltiler (Ek 1.),

Nunc marka 96 çukurlu ELISA pleytleri, muhtelif otomatik pipetler ve pipet uçları, saf su materyal olarak kullanılmıştır. Test sonuçlarının absorbands değerleri, Medispec markalı ESR 200 model ELISA okuyucusunda 405 nm de değerlendirilmiştir

3.1.4. Moleküler Çalışmalarında Kullanılan Materyaller

Survey çalışmalarında virüs şüpheli karakteristik belirti gösteren örnekler, ELISA testinde özellikle düşük absorbands değeri ile pozitif sonuç verenler ile kesin pozitif sonuç veren örneklerden elde edilen bitki özuları moleküler çalışmaların ana materyalini oluşturmuştur. Total Nükleik Asitler (TNA) ekstraksiyon işleminde; steril havan ve havan eli, moleküler çalışmalarda kullanılan bazı tampon çözeltiler ve solüsyonlar (Ek 2), ependorf tüpleri, ayarlanabilir mikro pipetler ve pipet uçları, kuru ısıtıcı ve Universal 320R marka masa tipi soğutmalı santrifüj kullanılmıştır.

Sonuç olarak BYDV'nin moleküler yöntemlerle tanınması amacıyla yapılan RT-PCR ve PCR çalışmalarında, ELISA testleri sonucunda pozitif ve düşük absorbands değeri veren BYDV ile bulaşık olan her bir bitkiden elde edilen Total Nükleik Asitler (TNA) materyal olarak kullanılmıştır. RT-PCR çalışmaları 200 µl'lik PCR eppendorf tüpleri, toplanan örneklerle ait nükleik asitlerin çoğaltılması amacıyla komplementer DNA (cDNA)'ya dönüştürülmesi için kullanılan Reverse Transcriptase enzimi (M-MLV, 200 u/µl), Reverse Transcriptase buffer (M-MLV buffer 5X), RNase inhibitörü (40/µl), dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP (100mM) RNA'nın kılıf protein kodlayan hedef bölgesine spesifik tek iplikli oligonükleotid reverse, ayrıca cDNA'nın çoğaltılması amacıyla gerekli yüksek ısıya dayanıklı (termotabil) DNA polimeraz enzimi (Taq polimeraz, 5u/µl), PCR buffer (10X) gibi kimyasal ve (RNA'nın hedef bölgesine spesifik tek iplikli) oligonükleotid forward primerler (Tablo 3.1.) materyal olarak kullanılmıştır. Nükleik asitlerin çoğaltım işlemleri Applied Biosystem marka Veriti model "thermocycle" aleti kullanılarak sağlanmıştır.

Çizelge 3.1. BYDV'nin Tanısında kullanılan primerler

Primer Çiftleri	Dizi (5'-...-3')	Bç	Kaynak
BYDV-PAV	PAV-R 5'-CCGGTGTTGAGGAGTCTACC-3' PAV-F 5'-CCACTAGAGAGGTGGTGAATG-3'	641	Kundu., 2008
BYDV-MAV	MAV-R 5'-CGGATCAGGTTTGGGCTCTG-3' MAV-F 5'-ATGAATTCAGTAGGCCGTAG-3'	660	Bisniek ve ark., 2004

3.1.5. Agaroz Jel Elektroforezi Çalışmasında Kullanılan Materyaller

Agaroz jel elektroforez çalışmalarında, PCR ürünleri materyal olarak kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforez işleminde, 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.

3.1.5. DNA Dizi Analizinde Kullanılan Materyaller

RT-PCR ve PCR çalışmaları sonrasında testlenen örneklerin PCR ürünleri, agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. Elektroforez işlemi sonucunda, beklenen moleküler büyüklüğe sahip bant veren örneklerle ait PCR ürünleri, dizileme işlemi amacıyla ticari firmaya (Letgenbio İzmir/Türkiye) gönderilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Simptomolojik Gözlemler ve Örneklemeler

Survey çalışmaları, Adana ili ve ilçelerinde buğday tarımının yoğun yapıldığı alanlarda sırası ile oavadan başlanarak yüksek kesimlere doğru 2019 yılı nisan, mayıs ve haziran aylarında yürütülmüştür. Şekil 3.1 ve Şekil 3.2 'de verilen belirtiler gösteren ile BYDV benzeri belirtileri gösteren şüpheli buğdaygil bitkilerinden (buğday, arpa, yulaf ve kanyaş) yaprak örnekleri aranmış, belirlenmiş, fotoğrafları çekilerek numaralanmış ve alınan yaprak örnekleri naylon torbalara etiketlenerek konulmuş ve 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. Arazi koşullarında, BYDV ile bulaşık olan bitkilerin belirlenmesi amacıyla öncelikle simptomatolojik gözlemler yapılmıştır. Örnek alınan bitkilerde, BYDV’nin neden olduğu, yapraklarda sararma, bodurluk, kızarıklık ve uçtan geriye doğru ölüm gibi belirtiler aranmıştır (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2).

Genellikle BYDV tarafından meydana getirilen bu belirtilerin bir veya birkaçını gösteren buğday bitkilerinden yukarıda anlatıldığı şekilde bitki dokuları alınmış ve çalışmalarda kullanılmıştır. Örneklemelerde 1’den 270’e kadar sıralı örnek numarası verilmiş ve bunların bir kısmı antiserumun ekonomik kullanılması amacıyla 5’li gruplar, bir kısmı da 3’lü gruplar halinde düzenlenerek testlerde kullanılmıştır.

Toplanan örneklerin kodlanmasında örneğin alındığı yerlerin karışmaması amacıyla, virüsün kısaltması (BYDV), ilçelerin baş harfleri (İmamoğlu: İ, Kozan: K, Tufanbeyli: T), örnek alınan bitkinin baş harfi (Buğday: B, Arpa: A, Yulaf: Y, Konya: K) olacak şekilde düzenlenmiştir. Örneğin, virüsün kısaltması olan BYDV’nin Adana’nın Kozan ilçesinden alınan 156 numaralı yulaf örneği BYDV:K:Y:156 şeklinde kodlandırılmıştır.

3.2.2. Serolojik Çalışmalar

Serolojik çalışmalarda, araziden virüs belirtilerine benzer belirtiler gösteren ve örnek olarak toplanan Buğdaygil bitki örnekleri, BYDV’nin varlığının ortaya konulması amacı ile öncelikle Double Antibody Sandwich (DAS) ELISA yöntemi ile testlenmiştir. Antiserum tasarrufu sağlamak amacıyla örnekler beşli ve üçlü gruplar olarak öncelikle testlenmiş, bu gruplardan pozitif sonuç veren gruplar daha sonra tek tek tekrar DAS-ELISA testine tabi tutulmuş ve böylece pozitif veya BYDV şüpheli örnekler serolojik olarak belirlenmeye çalışılmıştır.

3.2.2.1. DAS-ELISA

Araziden toplanan tüm bitki yaprak örnekleri gruplar halinde veya tek olarak testlenmiş ve Double Antibody Sandwich- Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) testi Clark ve Adams, (1977) ve ELISA kitlerinin temin edildiği firmanın (BIOREBA AG) bildirdiği işlemler akışı dikkate alınarak BYDV-PAV ve BYDV-MAV'ı belirlemek amacıyla yapılmıştır. Testler aşağıda verilen aşamalar takip edilerek yürütülmüştür:

1. BYDV virüsüne spesifik γ -globulin, kaplama tamponu içerisinde belirli oranda sulandırılarak, ELISA pleytlerine her çukura 100 μ l konulmuştur.
2. Pleytler, 30°C'de 4 saat inkübasyona tabi tutulduktan sonra, yıkama tamponu ile her yıkama 3'er dakika olacak şekilde 3 kere yıkanmıştır.
3. Ekstraksiyon tampon çözeltisinde 1/10 oranında hazırlanmış olan testlenecek örnek bitki dokularının ekstraktlarından hangi çukura hangi örneğin konduğu şemaya işaretlenerek her kuyuya 100'er μ l konulmuş ve pleytler +4°C'de bir gece inkübasyona bırakıldıktan sonra yıkama tamponu ile 2. aşamada belirtildiği gibi yıkanmıştır.
4. Konjugat tamponu çözeltisi içerisinde sulandırılmış olan enzimle işaretli γ - globulinden (konjugate) her kuyuya yine 100'er μ l konulmuş ve 30°C' de 5 saat inkübasyondan sonra pleytler yıkama tamponu ile 2. aşamada belirtildiği gibi tekrar yıkanmıştır.
5. Son olarak pleytlerin her bir kuyusuna substrate tampon çözeltisinde 1.0 mg/ml olacak şekilde hazırlanan substrattan (p-nitrophenylphosphate) 100'er μ l ilave edilmiş ve pleytler 30-60 dakika veya reaksiyon gelişimini takip için daha uzun süre oda sıcaklığında ışıksız ortamda bekletildikten sonra ELISA okuyucuda okunmuştur. Okumadan sonra reaksiyonun durdurulması için her bir çukura 50 μ l

3M NaOH çözeltisi ilave edilmiş ve pleytler bir süre muhafaza altına alınmıştır.

Yapılan ELISA testlerinde her bir örnek için ikişer kuyu kullanılmış ve her bir ELISA pleytinde birer çift çukura 100 µl olarak pozitif kontrol amacıyla BYDV ile hastalıklı örnek (enfekteli kontrol) ve negatif kontrol olarak sağlıklı bitki ekstarktı yanında ayrıca sadece tampon çözelti solüsyonu ilave edilmiştir. ELISA testleri sonunda, ELISA okuyucusunda sağlıklı kontrol amacıyla ilave edilen negatif kontrol için 405 nm’de okunan absorbans değerinin en az iki katı ve daha fazla absorbans değeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiş, testin uygun yürütülüp yürütülmediğini anlamak amacıyla da hastalıklı bitki doku ekstraktı, yani pozitif kontrol ile tampon çözeltinin verdiği absorbans değerleri dikkate alınmıştır (Barba ve Riccioni, 1993; Helguera ve ark., 2002).

3.2.3. Moleküler Çalışmalar

3.2.3.1. Total Nükleik Asitlerin (tNA) Elde Edilmesi

Total nükleik asit elde edilmesi çalışmalarında tipik ve karakteristik belirtiler gösteren bitkilerin belirti gösteren genç yaprakları ile ELISA testinde pozitif veya pozitif şüpheli sonuç veren bitki örnekleri kullanılmıştır. Total NA izolasyonu Astruc ve ark. (1996)’nın önerdiği yöntemle göre yapılmış, aşamaları aşağıda özetlenmiş ve total NA çalışmalarında kullanılan tampon çözeltiler Ek 2’de verilmiştir. Total NA çalışmalarında izlenen aşamalar,

1. Örnekler ekstraksiyon bufferı (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 50 mM EDTA, pH 7.0, 500 NaCl, 10 mM 2. mercapto-ethanol 1/1000) ile 1:2 (w/v) oranında sulandırılarak havan içerisinde havaneli yardımı ile ezilmiş ve bitki özsuğu süzölmüştür. Bitki özsuğundan 1ml alınarak eppendorf tüpleri içerisine yerleştirilmiştir.
2. Ezilen bitki özsuğu 3 dakika 4.000 rpm’de santrifüj edilmiştir.

3. Supernatanta 50µl Sodium Dodecylsulfat (% 20) ilave edilerek vortekste karıştırıldıktan sonra tüpler 65 °C'de 30 dakika su banyosunda bekletilmiştir.
4. Örnekler üzerine 250 µl potasyum asetat (5M) ilave edilerek 20 dakika buz içerisinde bekletilmiştir.
5. Daha sonra örnekler 15 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
6. Süpernatanttan 500 µl alınarak yeni hazırlanan eppendorf tüplerine konulup, üzerine % 100'lük Ethanol 500 µl ilave edilerek 1 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra tüpler vortekslenip karıştırılmıştır.
7. Daha sonra tüplere 50 µl sodium asetat (3M) ilave edilerek ve örnekler tekrar karıştırılarak -20 °C'de bir gece bekletilmiştir.
8. Örnekler 15 dakika 14.000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant ortamdan uzaklaştırılmış ve eppendorf tüpleri ters çevrilerek filtre kâğıdı üzerinde 5 dakika kurutulup daha sonra pellet üzerine 1 ml ethanol (%70) ilave edilmiştir.
9. Tüplerdeki örneklere ait RNA ların çökmesi için 5 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edilerek tüp içerisindeki ethanol atılarak eppendorf tüpleri kurutma kağıtları ile dikkatlice kurulanmıştır.
10. Elde edilen total nükleik asitler 50 µl RNase free saf su ile sulandırılmıştır. Örnekler eppendorf tüpleri içerisinde -20°C'de muhafaza edilmiş ve daha sonra PCR çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2.3.2. RT-PCR, PCR Çalışmaları

ELISA testinde pozitif (Negatif-sağlıklı kontrolün iki veya daha yüksek absorbans değeri verenler) veya pozitif şüpheli (negatif kontrolün iki katına yakın absorbans değeri verenler) örneklerin her biri ayrı ayrı RT-PCR ile testlenmiştir. Bu amaçla da serolojik veya simptomolojik olarak BYDV'nin PAV ve MAV izolatları ile bulaşık olduğu saptanan örneklerinden elde edilen total NA'lar karışık enfeksiyon olması da ihtimali göz önüne alınarak her biri hem BYDV'nin PAV ve MAV ırkına

molekül çalışmalarında kullanılmıştır. RT-PCR yöntemi değişik araştırmacıların bildirdikleri yöntemlere göre Sidek ve ark. (1999) ve Prieto ve ark. (2001)'na göre yürütülmüştür. İki aşamalı olarak yürütülmüş olan RT-PCR yönteminde birinci aşamada; RT (Reverse transcription) işlemi ile cDNA'lar elde edilmiş, ikinci aşamada ise; bu cDNA'lar kullanılarak PCR işlemi yapılmıştır. PCR işlemi, BYDV izolatlarının moleküler yöntemlerle saptanması ve tanısının yapılması amacıyla, elde edilen total nükleik asitler kullanılarak yapılmış ve yöntem Lefeuvre ve ark. (2007)'nın bildirdiği gibi aşağıdaki şekilde yürütülmüştür. PCR yönteminde izlenen aşamalar sırasıyla;

1. PCR çalışması için domatesten izole edilen DNA, 10X DreamTaq Polimeraz Buffer (20 mM MgCl₂ içeren), DreamTaq DNA Polimeraz, dNTP (10 mM), primer çiftleri (forward, F; reverse, R), DNase-free su karışımı hazırlanmıştır.
2. PCR tüplerinin içinde 50µl (1 µl DNA, 5 µl Dream Taq PCR buffer (10X), 1 µl dNTP (2 mM), 1 µl forward primer ve 1 µl reverse primer, 0.25 µl Dream Taq DNA polymerase, 40.75 µl DNase-free H₂O) hazırlanan PCR karışımı termocyclera yerleştirilmiştir. BYDV-MAV için reaksiyon 35 döngüde gerçekleştirilmiş, 95 °C 'de 1 dak (ilk denatürasyon), 53 °C 'de 1 dak (hibridizasyon), 72 °C 'de 1 dak (uzama) ve son uzama aşaması 72 °C 'de 7 dak olarak belirlenmiştir. BYDV-PAV için reaksiyon 35 döngüde gerçekleştirilmiş, 95 °C 'de 1 dak (ilk denatürasyon), 58 °C 'de 1 dak (hibridizasyon), 72 °C 'de 1 dak (uzama) ve son uzama aşaması 72 °C 'de 7 dak olarak belirlenmiştir.

3.2.4. Agarose Gel Elektroforez Çalışmaları

Agaroz jel elektroforez çalışmalarında total NA analizleri sonucunda elde edilen BYDV-PAV ve MAV virüsüne ait total NA ve RT-PCR çalışması sonucunda, viral NA'den sentezlenip çoğaltılan DNA'lar kontrol edilmiştir. Aşağıdaki şekilde

hazırlanan % 1'lik agaroz jel elektroforez yöntemine tabi tutularak gözlenmiştir. Gallitelli ve Minafra (1994) ile Desbiez ve ark. (2009)'a göre uygulanan yöntem aşağıdaki aşamalarda gerçekleştirilmiştir:

1. Cam erlen içerisine 100 mg agaroz ve 10 ml 1 X TAE tampon çözeltisi (4.84 gr Tris, 2 ml 0.5 M Na₂ EDTA, 1.142 ml Glucial Asetic Acit/1lt) konulmuş ve agaroz tam olarak eriyinceye kadar mikrodalga fırında tutulmuştur. Daha sonra, üzerine tampon çözeltiden ilave edilerek son hacim 10 ml olacak şekilde ayarlanmıştır.
2. Karışım bir süre soğumaya bırakılmış ve elektroforez aparatında jel hazırlanan kısma boşaltılarak tarak takılmıştır.
3. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çekilmiş ve bu kısım elektroforez tankına yerleştirilerek üzerine jeli 1-2 mm geçecek kadar 1 X TAE tampon çözeltisi ilave edilmiştir.
4. Örnekler, 4 µl örnek, 1µl DNase-free su ve 1 µl 6x Loading buffer olacak şekilde hazırlandıktan sonra toplam 6 µl karışım jeldeki kuyulara dikkatli bir şekilde yüklenmiştir. İlk kuyuya marker (4 µl marker, 1µl DNase-free su, 1 µl loading buffer) konulmuştur.
5. Loading buffer içerisindeki turuncu renk (Orange G) jelin sonuna gelene kadar elektroforez tankına 5 U/cm elektrik akımı verilmiştir.
6. Jel, elektroforez işlemi sonunda, oda sıcaklığında 10 dk. süre ile 30 µl (10 mg/ml saf su) ethidium bromid/100 ml saf su çözeltisinde çalkalanarak boyanmış ve daha sonra fazla ethidium bromidi uzaklaştırmak için 5 dk. saf su içerisinde tutulmuştur.
7. Yıkanan jel, UV Transilluminatör üzerine konularak, UV ışıktaki ortaya çıkan bantlar gözlenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.5. Dizi Analizi (Sekans Analizi) ve Filogenetik Sınıflandırma Çalışmalar

Serolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda BYDV ve ırkları ile enfekteli olarak saptanan farklı bölgelerden ve çeşitlerden örnekler dizi analizi ve filogenetik sınıflandırma amacıyla seçilmiş ve analiz çalışmalarında izolat olarak kullanılmıştır.

DNA dizi belirleme çalışmalarında serolojik ve moleküler olarak tanısı yapılan virüslere ait BYDV-PAV, BYDV-MAV PCR ürünleri diziliminin belirlenmesinde Letgen Biyoteknoloji firmasından özel hizmet alınmış olup elde edilen olan sonuçlar doğrultusunda izolatların çoğaltılan kısımları ülkemizde ve dünyada saptanmış olan diğer izolatlarla karşılaştırılarak benzerlik oranları ve hastalık kaynakları belirlenmeye çalışılmıştır.

Dizileme işlemi sonucunda elde edilen baz dizilimleri MEGA X programı kullanılarak düzenlenmiş ve BLAST işlemi gerçekleştirildikten sonra, filogenetik analizleri (Neighbour-joining – Bootstrap:1000 metodu kullanılarak) yapılmıştır.

4. BULGULARI ve TARTIŞMA**4.1. Survey Çalışmaları**

Dünyada buğday yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerin çoğundan rapor edilen BYDV, neden olduğu ekonomik kayıplar göz önüne alındığında hastalığı tanımanın ve hastalıkla mücadelenin buğday yetiştiriciliğinde rolünün oldukça önemli olduğu önceki çalışmalarla da saptanmıştır. Bu çalışmada arazi çıkışları, Adana ili ve ilçelerinde buğday tarımının yoğun olarak yapıldığı İmamoğlu, Kozan, Karataş, Ceyhan, Yumurtalık, Yüreğir ve Tufanbeyli’de yürütülmüştür. BYDV’nin moleküler ve serolojik yöntemlerle test edilmesi için bitki örneği toplamak amacıyla bu bölgelere arazi çıkışları nisan, mayıs ve haziran aylarında gerçekleştirilmiş, yol boyu buğday tarlaları gezilerek şüpheli belirti gösteren örnekler toplanmıştır.

BYDV’nin en belirgin belirtileri olan yapraklarda sararma, kızarıklık ve bodurluk göz önünde bulundurularak survey çalışmaları gerçekleştirilmiş ve BYDV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen buğday, arpa, yulaf ve kanyaş bitkilerinde; yapraklarda sararma, cücelik, yapraklarda kızarıklık, yaprak ucu kuruma belirtileri survey yapılan alanlarda değişen yoğunluklarda gözlenmiştir. Ayrıca tarla içinde hastalığın karakteristik yayılış tipi olan ocaklar halinde bulunma durumu da surveyler sırasında belirlenmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).

İlbağı (2003), Köklü G. (2004); İlbağı ve ark. (2005), Erkan ve ark. (2009), Deligöz ve ark. (2011), Fidan ve ark. (2014), Çaplan ve ark. (2016) ile Usta ve ark. (2016) tarafından bildirilen gözlem ve belirtilere bu çalışmada BYDV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen ve ELISA veya Moleküler çalışmalar ile hastalıklı olduğu belirlenen buğday ve diğer çalışmaya konu olan bitkilerde saptanan belirtiler ile birbirine benzerlik gösterdiği ortaya konmuştur.

Adana’nın güney ilçelerinden olan Karataş, Yumurtalık, Sarıçam ve Yüreğir ile bu civardaki köylerde mart ayının son haftasından başlanıp nisan ayının ikinci haftasına kadar yapılan survey çalışmalarında hastalıkla bulaşık olduğu şüphesi ile

135 örnek toplanmıştır. Ancak bu bölgede belirti gösteren fazla sayıda örneğe rastlanmamıştır.



Şekil 4.1. BYDV-K:K:184; Kozan ilçesi Çukurören Beldesi Kanyaş yabancı otunda BYDV-PAV pozitif izolatinın kızarıklık ve yaprak ucu kuruma belirtisi.



Şekil 4.2. BYDV-K:B:159; Kozan ilçesi Kemer Beldesi Buğday kültür bitkisinde BYDV-PAV pozitif izolatinın yaprak ucu kuruması ve sarılık belirtisi.

Thackray ve ark. (2005) Avustralya'nın Güney Batısında yetiştirilen buğdaylarda üç farklı tahıl parselinde BYDV'nin verim üzerinde rolü ve vektörlerin hastalık üzerindeki etkisini araştırmak için yürüttükleri çalışma sonucunda BYDV'nin PAV ırkının daha yaygın görüldüğünü rapor etmişlerdir. Türkiye'de ilk defa Batı Anadolu Bölgesi'nde tahıllar ile ilgili yapılan bir çalışmada Bremer ve Ark. (1975), yaprak bitleri ve diğer vektör böcek türleri tarafından taşınan ve infeksiyon oluşturan bazı hastalıkları belirlemişlerdir. Çalışmada, yoğun olarak infeksiyona neden olan ve *Rhopalosiphum padi*, *R. maidis* ve *Sipha kurdjumovi* (Mord.) yaprakbiti türleri ile taşınan ve yayılma gösteren hastalığın BYDV olduğunu rapor etmişlerdir. Pehlivan ve ark. (2010) buğday yaprakbiti olan *Sitobion avena* (F.) (Hemiptera, Aphididae)'nin popülasyon yoğunluğunu bazı buğday çeşit ve genotiplerinde Adana ili Balcalı yöresinde tarla koşullarında araştırmışlar ve genel olarak yaprakbiti yoğunluğunun çeşit ve genotiplerde nisan ayı sonu veya mayıs ayı ortalarında arttığı, daha sonraları belirgin olarak azaldığını belirlemişlerdir. Pehlivan ve ark. (2010)'nın yaptığı çalışma Adana bölgesinde gerçekleşmiş ve buğdayın da gelişme dönemi göz önüne alındığında güney ilçelerdeki çalışmanın ilk surveylerini nisan sonu ve mayıs ortalarında gerçekleştirerek yaprak biti popülasyonunun en yüksek hedeflenen dönemde yapılması ile benzerlik göstermiştir.

Belirtilen kaynaklar ışığında bu dönemde yapılan survey çıkışlarında ova çiftçilerinin, buğday yetiştiriciliğinde hastalık ve zararlılara karşı yoğun bir şekilde kimyasal mücadele yaptıkları görülmüş ve bu durum doğal olarak yaprakbiti popülasyonunu engellemesi veya yok etmesi nedeniyle ve sonuçta BYDV'nin vektör aracılığıyla yayılamamasına neden olmaktadır ve bu da yapılan çalışmanın kaynak gösterilen çalışmalarla bulguların benzerlik gösterdiği anlamına geldiğini düşündürmüştür.

Mayıs ayının son haftasında ova bölgesinde yürütülen survey çalışmalarını takiben geçit bölgelere, Kozan, İmamoğlu, Ceyhan, Aladağ ve Karahisalı ilçelerinde survey çalışmalarına devam edilmiştir. Yapılan surveylerde; tarla tarımının yerini bahçe tarımının aldığı ve buğday alanlarının küçüldüğü ve bu arazilerin çoğunda

pestisit kullanımının nispeten sınırlı olduğu saptanmış ve bu bölgeden de sadece 135 virüs şüpheli buğdaygil bitkisi örneği toplanmıştır (şekil 4.1, şekil 4.2, şekil 4.3, şekil 4.5, şekil 4.6, şekil 4.7, şekil 4.8, şekil 4.9, şekil 4.10.)

Surveylerde, bölgede diğer çalışmalara benzerlik gösteren bir diğer bulgu ise, Aydın (2017), çeltik bitkisinde BYDV virüsünü saptamak için Trakya Bölgesi ekim alanlarında enfekteli olduğundan şüphelenilen çeltik yaprak örnekleri toplamış, BYDV virüsüne konukçuluk yaptığı belirgin virüs semptomları gösteren kamış, kanyaş, darıcan ve yabancı hardal olmak üzere toplam 21 örnek almıştır. DAS-ELISA testi ile 24 adet çeltik bitkisinde, 2 adet kanyaş ve 1 adet darıcan CYDV-RPV, 1 adet kamış ve 4 adet çeltik örneğinde de BYDV-PAV virüsü saptanmıştır. CYDV-RPV ve BYDV-PAV virüsün ise 1 adet kamış ve 8 adet çeltik örneğinden karışık enfeksiyon tespit edilmiştir. Surveylerde, bölgede diğer çalışmalara benzerlik gösteren bir diğer bulgu ise, buğdaygil yetiştiriciliğinde yoğun herbisit kullanımının söz konusu olması BYDV'nin yabancı otlarda inokulum kaynağı oluşturamamasına neden olmaktadır. Hem yaprakbiti hem de ara konukçu olacak yabancı otlar ile kimyasal mücadele edilmesi nedeniyle buğdaygil tarlalarında hastalık etmeninin taşınmaması ve BYDV etmeninin başlangıç popülasyonunun az olması nedeniyle bu bölgede virüsün yaygın bulunmama ihtimalini güçlendirmiştir. Ancak yapılan ikinci ve üçüncü surveylerde toplamda 38 adet yulaf ve 18 adet kanyaş bitki örneğinde hastalıkla bulaşık olduğu ve karışık enfeksiyon tespit edilmiştir (şekil 4.1, 4.3, 4.10).

Survey çalışmalarının haziran ayı ortalarında rakımın deniz seviyesinden 1400-1500 metrelere çıktığı Tufanbeyli ilçesi ve civarından ise BYDV belirtisi gösteren şüpheli 81 adet buğdaygil örneği toplanmıştır. Sonuç olarak çalışma süresince bölgeyi temsil edecek farklı alanlardan ve farklı gelişme dönemlerinde BYDV belirtileri ile benzerlik gösteren toplam olarak 351 muhtelif buğdaygil bitki örneği toplanmıştır.



şekil 4.3. BYDV-K:Y:186; Kozan ilçesi Tufanlı Beldesi Yabani Yulaf yabancı otunda BYDV-PAV ve BYDV-MAV pozitif izolatının yapraklarda kızarıklık belirtisi.



şekil 4.4. BYDV-T:B:46; Tufanbeyli ilçesi İstiklal Beldesi Buğday kùltür bitkisinde BYDV-PAV pozitif izolatının cùcelik belirtisi.



Şekil 4.5. BYDV-İ:B:224; İmamoğlu ilçesi Buğday kültür bitkisinde BYDV-MAV pozitif izolatının yaprak ucu kuruması ve yapraklarda kızarıklık belirtisi.



Şekil 4.6. BYDV- İ:B:208; İmamoğlu ilçesi Tuna Beldesi Buğday kültür bitkisinde BYDV-PAV pozitif izolatının yaprak ucu kuruması ve yapraklarda kızarıklık belirtisi.



Şekil 4.7. BYDV-K:B:165; Kozan ilçesi Çandık Beldesi Buğday kültür bitkisinde BYDV-PAV ve BYDV-MAV pozitif izolatinın yaprak ucu kuruması ve yapraklarda kızarıklık belirtisi.



Şekil 4.8. BYDV- İ:A:213; İmamoğlu İlçesi Ağzıkaraca Beldesi Arpa Kültür bitkisinde BYDV-PAV pozitif izolatinın yaprak ucu sararma ve bodurluk belirtisi.



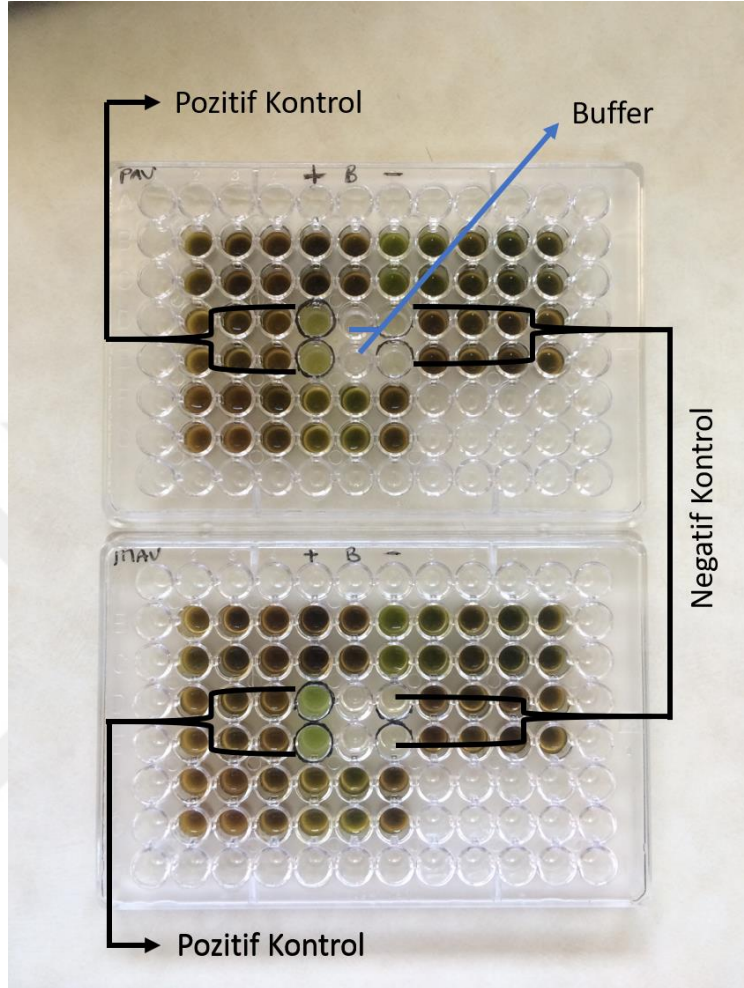
şekil 4.9. a) BYDV-İ:B:215; İmamoğlu İlçesi Koyunevi Beldesi Buğday kültür bitkisinde BYDV- PAV pozitif izolatının yaprak ucu sararma ve bodurluk belirtisi. b) BYDV-K:Y:158; Kozan İlçesi Kemer Beldesi Yabani Yulaf yabancı otunda BYDV-MAV pozitif izolatının yapraklarda sararma ve yaprak ucu kuruma belirtisi.



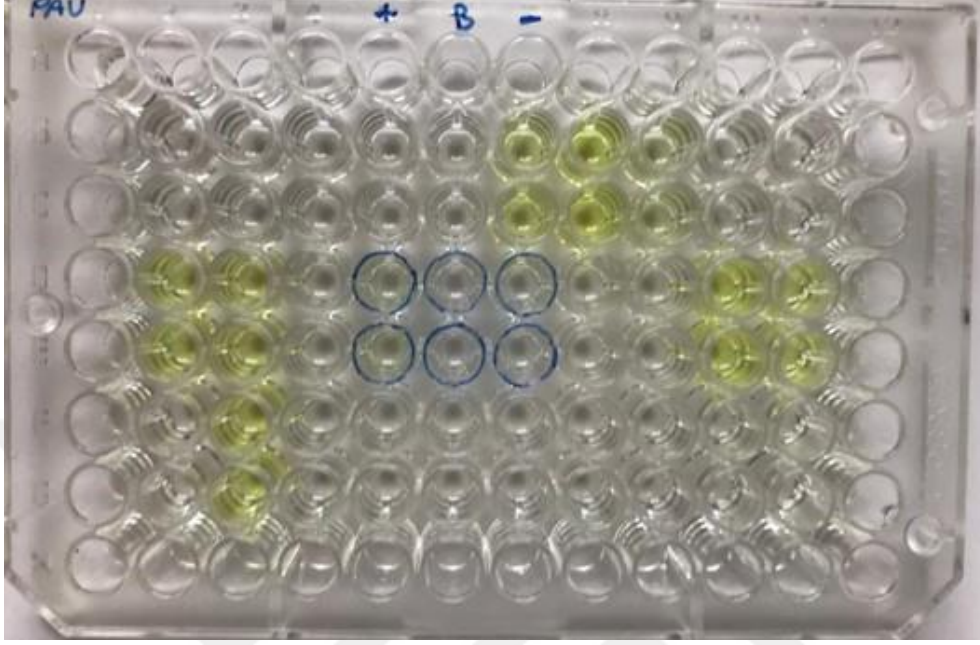
şekil 4.10. BYDV-T:A:29; Tufanbeyli İlçesi Polatlı Beldesi Arpa kültür bitkisinde BYDV-PAV pozitif izolatının yapraklarda sararma belirtisi

4.2. DAS-ELISA Testi Çalışmaları

Survey çalışmalarında virüs ve benzeri belirti gösteren 351 buğdaygil bitki örneği alınmıştır. 2018’de Adana ili ve ilçelerinden toplanan örnekler geldikleri bölgeler de dikkate alınarak sıralı 3’lü ve 5’li birleştirilerek, yani paçal yaparak tarama amacıyla ELISA testlerine tabi tutulmuştur. Bu amaçla toplam 81 grup (5’li paçal; beş örneği karıştırıp testleme yapılması, 3’li paçal; üç örneği karıştırıp testleme yapılması) örnek tanı yapmak ve virüsün varlığını ortaya koymak amacıyla, Clark ve Adams, (1977) tarafından bildirilen genel yönteme ve kitin temin edildiği firmanın (Bioreba Ag) önerileri doğrultusunda Double Antibody Sandwich- Enzyme Linked-Immunosorbent Assay (DAS- ELISA) testi uygulanmıştır.



Şekil 4.11. BYDV PAV ve MAV antiserumları ile 5'li paçal halinde 27 örnek iki tekerrür halinde ELISA testlenmesi



Şekil 4.12. BYDV-PAV antiserumu ile ELISA testi pozitif izolatlar

Yapılan çalışma sonucunda testlenen toplam 351 örnekten sadece 17 adet örnekte negatif kontrolün iki katının üzerinde absorbands değeri ile BYDV etmeniyle bulaşık buğdaygil enfeksiyonu saptanmıştır. Sonuç olarak; BYDV için ELISA testinde pozitif bulunan 17 beşli ve üçlü paçal örnekler tek tek olarak RT-PCR testlemelerinde doğrulaması yapılmak üzere kullanılmıştır.

Doğu Akdeniz Bölgesi'nde (Bıçkıcı, 2004), 2002-2004 yılları arasında yürütülen bir çalışmada buğdaygillerde Arpa sarı cücelik virüsünün saptanması ve yaygınlık oranının belirlenmesi amaçlanmış ve Adana, Mersin, Kahramanmaraş, Hatay ile Osmaniye illerinde survey çalışmaları yürütülmüştür. Çalışmada 204 farklı buğdaygil üretim alanından BYDV' nin varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacı ile virüs benzeri belirtiler sergileyen ve bulaşık olduğu şüphesi ile 378 adet bitki ve ayrıca bu bitkiler üzerinde bulunan 23 yaprak biti örneği testlenmek üzere alınmıştır. Bu örneklerin dağılımı 275 adet buğday, 22 adet arpa ve 81 adet yabancı ot bitki örneği şeklinde olup ELISA testleri sonucunda 275 buğday örneğinin 34 tanesinde

BYDV saptanmıştır. BYDV ile bulaşık buğday örneğinin 28 tanesi BYDV-PAV, 6 tanesinin ise BYDV-MAV ile bulaşık olduğu rapor edilmiş ve bu çalışmada elde edilen bulgular ile paralellik olduğu görülmüştür.

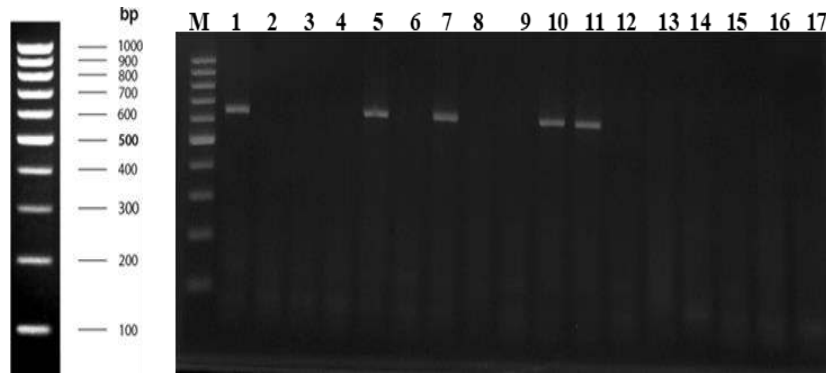
Çizelge 4.1. Arazi çıkışı yapılan alanlar ve ELISA testi sonucu BYDV ile enfekteli olan buğdaygil bitkileri

İl	İlçe	ELISA TESTLERİNDE ÖRNEK SAYILARI			
		Testlenen	BYDV-PAV (+)	BYDV-MAV (+)	BYDV PAV-MAV
ADANA	Karataş	35	-	-	-
	Yumurtalık	35	-	-	-
	Ceyhan	30	-	-	-
	Yüreğir	35	-	-	-
	Sarıçam	30	-	-	-
	Karaisali	15	-	-	-
	Aladağ	10	-	-	-
	Kozan	40	8	8	4
	İmamoğlu	40	4	5	-
	Tufanbeyli	81	4	-	-
GENEL TOPLAM		351	16	13	4

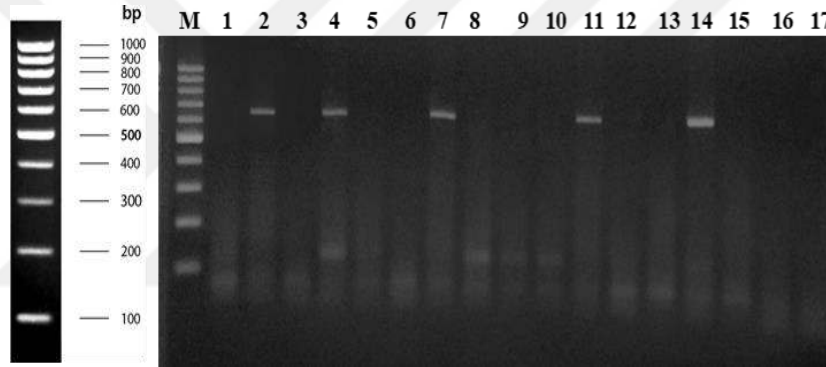
4.3. Moleküler Çalışmalar

4.3.1. RT-PCR ve PCR Çalışmaları

BYDV izolatlarının aralarındaki genetik farkın ortaya konulması ve filogenetik sınıflandırmada akrabalıklarının ortaya konulması ve en yakın izolatların belirlenmesi amacıyla yapılan RT-PCR çalışmasında (BYDV -PAV) ve (BYDV -MAV) primer çiftleri kullanılarak RNA-1 geni üzerinde 641 bç'lik bölge ve 660 bç'lik bölge çoğaltılmıştır. PCR ürünleri kapilar elektroforez yöntemi ile kontrol edilmiş, 16 izolat 641 bç'lik ve 13 izolat da beklenen 660 bç DNA bandı gözlenmiştir (Şekil 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18).

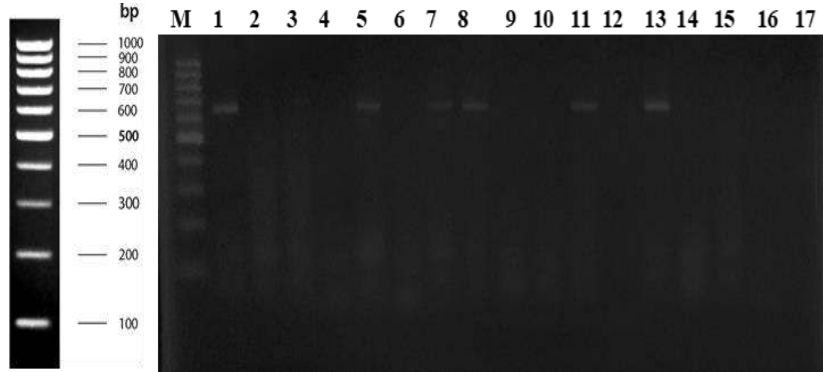


Şekil 4.13. BYDV-PAV primeri elde edilen 641 bç'lik bantlar. BYDV-K:Y:156 (1), BYDV-K:Y:160 (5), BYDV-K:Y:162 (7), BYDV-K:B:165 (10), BYDV-K:B:166 (11)

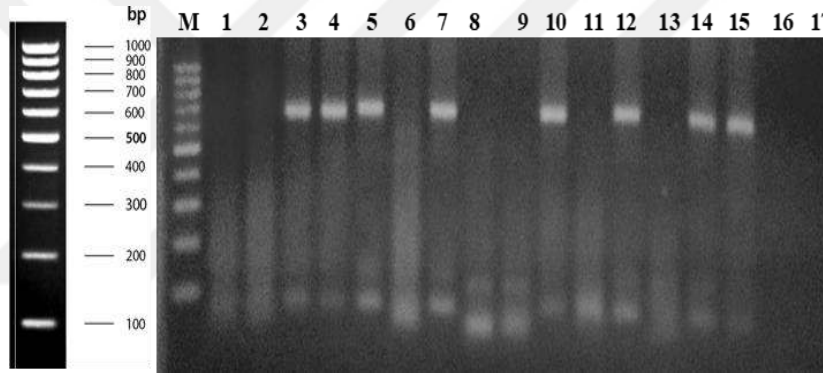


Şekil 4.14. BYDV-PAV primeri elde edilen 641 bç'lik bantlar. BYDV-K:K:184 (2), BYDV-K:B:186 (4), BYDV-K:B:189 (7), BYDV-İ:B:208 (11), BYDV-İ:A:213 (14)

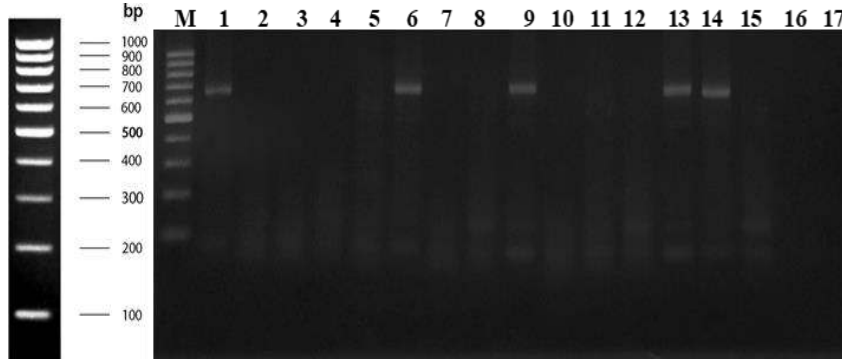
Serolojik ve moleküller testleri sonucunda Kozan, İmamoğlu ve Tufanbeyli ilçelerinde BYDV-PAV, BYDV-MAV ve karışık enfeksiyonlar da tespit edilmiştir (Tablo 4.3.1.).



Şekil 4.15. BYDV-PAV primeri elde edilen 641 bç'lik bantlar. BYDV-İ:B:215 (1), BYDV-İ:B:223 (5), BYDV-T:B:28 (7), BYDV-T:A:29 (8), BYDV-T:B:38 (11), BYDV-T:B:46 (13)



Şekil 4.16. BYDV-MAV primeri elde edilen 660 bç'lik bantlar. BYDV-K:Y:158 (3), BYDV-K:B:159 (4), BYDV-K:Y:160 (5), BYDV-K:Y:162 (7), BYDV-K:B:165 (10), BYDV-K:Y:182 (12), BYDV-K:Y:183 (14), BYDV-K:B:186 (15).



Şekil 4.17. BYDV-MAV primeri elde edilen 660 bç'lik bantlar. BYDV-İ:B:204 (1), BYDV-İ :B:209 (6), BYDV-İ :B:212 (9), BYDV-İ :B:224 (13)

Çizelge 4.2. Arazi çıkışı yapılan alanlardan 5'li ve 3'lü karmalarda ELISA testi sonucu BYDV ile enfekteli buğdaygil bitki örneklerinin PCR testleri

Kod	Alındığı Alan	PCR		Kod	Alındığı Alan	PCR	
		MAV	PAV			MAV	PAV
BYDV-K:Y:156	Kemer	-	+	BYDV-İ:B:204	Merkez	+	-
BYDV-K:Y:158	Kemer	+	-	BYDV-İ:B:212	Tuna	+	-
BYDV-K:B:159	Kemer	+	-	BYDV-İ:B:208	Tuna	-	+
BYDV-K:Y:160	Kemer	+	+	BYDV-İ:B:209	Tuna	+	-
BYDV-K:Y:162	Kemer	+	+	BYDV-İ:A:213	Ağzıkaraca	-	+
BYDV-K:B:165	Çandık	+	+	BYDV-İ:B:215	Koyunevi	-	+
BYDV-K:B:166	Çandık	-	+	BYDV-İ:B:223	Merkez	-	+
BYDV-K:Y:182	Çukurören	+	-	BYDV-İ:B:224	Merkez	+	-
BYDV-K:Y:183	Çukurören	+	-	BYDV-İ:A:225	Merkez	+	-
BYDV-K:K:184	Çukurören	-	+	BYDV-T:B:28	Polatlı	-	+
BYDV-K:B:186	Tufanlı	+	+	BYDV-T:A:29	Polatlı	-	+
BYDV-K:B:189	Tufanlı	-	+	BYDV-T:B:38	Polatpınarı	-	+
BYDV-T:B:46	İstiklal	-	+				

Karataş, Yumurtalık, Sarıçam, Karaisalı, Ceyhan, Aladağ ve Yüreğir ilçelerinden buğdayda 130, arpada 40, yulafta 9 ve kanyaş yabancı otunda 12 toplamda ise 190 adet bitki örneği test edilmiştir. Ancak test edilen bu bitkilerden BYDV-PAV ve BYDV-MAV etmenlerinin bulgusuna rastlanmamıştır.

Kozan'da BYDV ile bulaşık olduğu şüphesi ile test edilen 25 buğday kültür bitkisinde 4 adet BYDV-PAV, 3 adet BYDV-MAV ve 2 adet BYDV-PAV+BYDV-MAV karışık enfeksiyon olduğu saptanmıştır, ayrıca civarda inokulum kaynağı olabilecek 3 adet kanyaş ve 7 yabancı yulaf yabancı otu testlenmiş olup kanyaşta 1 adet BYDV-PAV etmeni, yabancı yulafta ise 3 adet BYDV-PAV, 5 adet BYDV-MAV ve 2 adet BYDV-PAV+BYDV-MAV ile karışık enfeksiyon olduğu saptanmıştır. Kozanda test edilen buğday bitki örneğinden BYDV-PAV enfeksiyon oranı %16, BYDV-MAV enfeksiyon oranı %12, kanyaş yabancı otunda BYDV-PAV %33,3, yulafta ise BYDV-PAV %42,86, BYDV-MAV %71,43 ve BYDV-PAV+BYDV-MAV karışık enfeksiyonundan da %28,57 olarak saptanmıştır. İlçeler bazında test edilen bitkilerde enfeksiyon oranına bakıldığında %20 hastalık etmeni ile bulaşık olarak birinci sırada olduğu saptanmıştır.

İmamoğlu ilçesinde BYDV ile bulaşık olduğu şüphesi ile test edilen 25 buğday kültür bitkisinde 3 adet BYDV-PAV, 4 adet BYDV-MAV enfeksiyon olduğu saptanmıştır. 5 adet arpa kültür bitkisinde 1 adet BYDV-PAV, 1 adet BYDV-MAV etmeni tespit edilmiştir. Test edilen buğday bitkilerinde enfeksiyon oranı, BYDV-PAV %12 ve BYDV-MAV %16 olduğu, arpadaki enfeksiyon oranı ise BYDV-PAV %25 ve BYDV-MAV %25 olduğu tespit edilmiştir.

Surveylerde BYDV ile bulaşık olduğu tespit edilen bir diğer ilçe olan Tufanbeyli ilçesi, serin ve geç ekimin olması nedeni ile en son survey alanı seçilmiş ve burada 46 adet buğday bitkisi, 20 adet arpa bitkisi ve 15 adet BYDV etmenine inokulum olabileceğini düşünülen yabancı yulaf bitkisi yaprak örnekleri alınarak toplamda 81 örnek buğdaygil bitkisi yaprağı toplanmış 3'lü paçal olacak şekilde 27 örnek haline getirilip iki tekerrürden 96'lık ELISA pleytlerinde BYDV-PAV ve BYDV-MAV antiserumlarına ve bu pleytten pozitif kontrolün iki katı şeklinde

absorbans değeri sonucunu veren örnekler pozitif kabul edilip seçilmiş, daha sonra bu 3'li paçal olan örnekler üçlü kümeden çıkartılıp her üçüne de BYDV-PAV ve BYDV-MAV Primerleri ile moleküler yöntemler ile test edilmiş ve böylece küme haline getirilen üç örneğin hangisini pozitif olduğunu antiserumlardan tasarruf edilerek sonuca daha hızlı varılmıştır. Bu aşamalar sonucunda buğdayda 3 adet BYDV-PAV ve arpada ise 1 adet BYDV-PAV saptanmıştır. Tufanbeyli ilçesinde test edilen bitki sayısına göre hastalık oranına buğdayda %6,52 oranında BYDV-PAV, arpada %4 BYDV-PAV olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada buğday bitkisinde alınan örneklerde hastalık oranı %4,42 BYDV-PAV, %3,09 oranında BYDV-MAV ve BYDV-PAV+MAV karışık enfeksiyon oranı %0,88 olduğu tespit edilmiştir. Arpada, %2,86 BYDV-PAV ve %1,43 oranında BYDV-MAV etmeni tespit edilmiştir. Yabani yulafta, %7,89 oranında BYDV-PAV, %13,16 oranında BYDV-MAV ve %5,26 oranında BYDV-PAV+BYDV-MAV karışık enfeksiyonu tespit edilmiştir. Kanyaşta ise %5,55 oranında BYDV-PAV tespit edilmiştir.

4.4. DNA Dizileme ve Filogenetik Analiz Çalışmaları

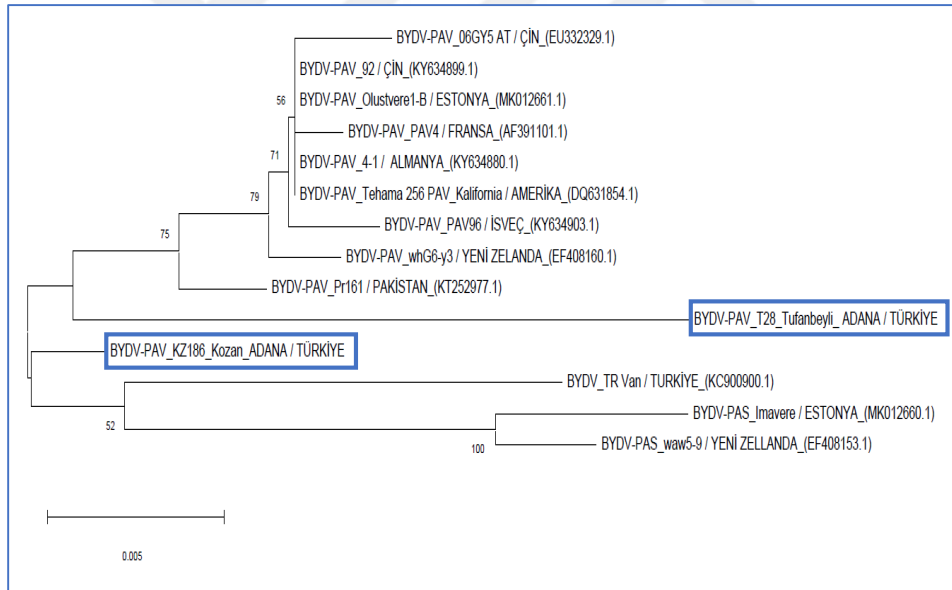
BYDV-benzeri belirti taşıyan buğdaygillerden alınan örneklerde PCR ile tanılanan ırklarını belirlemek ve ırklar arası akrabalık ilişkilerini belirlemek üzere PCR DNA'larının nükleotid dizinleri, homolog ve heterolog primer çiftleri kullanılarak doğrudan çift yönlü olarak dizilenmiştir. Nükleotid dizinleri MEGA X programı kullanılarak ClustalW ile hizalanmış, Blastn ile NCBI'da kayıtlı nükleotid dizin benzerliği gösteren virüs izolatlarıyla karşılaştırılarak benzerlikleri belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. BYDV'nin tespit edildiği ilçe ve bitkiler.

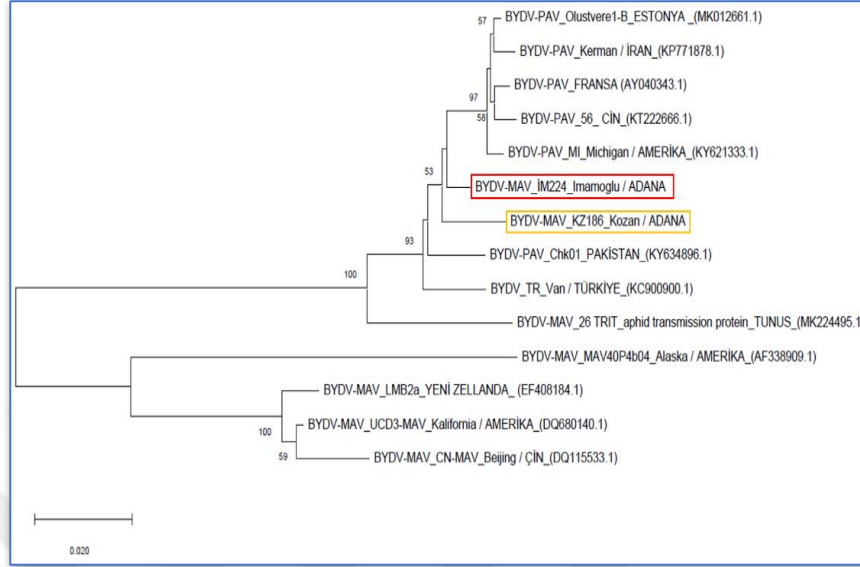
Bitki	İlçe/Belde/Mah.	ELISA TESTLERİNDE ÖRNEK SAYILARI			
		Testlenen	BYDV-PAV	BYDV-MAV	BYDV – PAV-MAV
Buğday	Kozan	25	4	3	2
	İmamoğlu	25	3	4	-
	Tufanbeyli	46	3	-	-
	Karataş	20	-	-	-
	Yumurtalık	20	-	-	-
	Ceyhan	20	-	-	-
	Yüreğir	25	-	-	-
	Sarıçam	25	-	-	-
	Karaisali	10	-	-	-
	Aladağ	10	-	-	-
	Toplam	226	10	7	2
Arpa	Kozan	5	-	-	-
	İmamoğlu	5	1	1	-
	Tufanbeyli	20	1	-	-
	Karataş	10	-	-	-
	Yumurtalık	10	-	-	-
	Ceyhan	5	-	-	-
	Yüreğir	5	-	-	-
	Sarıçam	5	-	-	-
	Karaisali	5	-	-	-
	Aladağ	-	-	-	-
	Toplam	70	2	1	-
Yulaf	Kozan	7	3	5	2
	İmamoğlu	7	-	-	-
	Tufanbeyli	15	-	-	-
	Karataş	-	-	-	-
	Yumurtalık	2	-	-	-
	Ceyhan	2	-	-	-
	Yüreğir	2	-	-	-
	Sarıçam	1	-	-	-
	Karaisali	-	-	-	-
	Aladağ	-	-	-	-
	Toplam	38	3	5	2
Kanyaş	Kozan	3	1	-	-
	İmamoğlu	3	-	-	-
	Tufanbeyli	-	-	-	-
	Karataş	3	-	-	-
	Yumurtalık	3	-	-	-
	Ceyhan	3	-	-	-
	Yüreğir	3	-	-	-
	Sarıçam	-	-	-	-
	Karaisali	-	-	-	-
	Aladağ	-	-	-	-
	Toplam	18	1	-	-
GENEL TOPLAM		351	16	13	4

BYDV-benzeri belirti taşıyan buğdaygillerden alınan örneklerde PCR ile tanımlanan ırklar arası akrabalık ilişkilerini belirlemek üzere PCR DNA'larının

nükleotid dizinleri, homolog ve heterolog primer çiftleri kullanılarak doğrudan çift yönlü olarak dizilenmiştir. Nükleoit dizinleri MEGA X programı kullanılarak ClustalW ile hizalanmış, Blastn ile NCBI’da kayıtlı nükleotid dizin benzerliği gösteren virüs izolatlarıyla karşılaştırılarak benzerlikleri belirlenmiştir. Buna göre BYDV- Mav-İM_İM224 ve BYDV- Mav-KZ186’nın Amerika (KY621333.1) Çin (KT222666.1 Fransa (AY040343.1) İran (KP771878.1) Estonya (MK012661.1) izolatları ile kardeş takson da yer aldığı görülmekte iken BYDV-PAV farklı iki taksonda yer aldığı görülmektedir. BYDV-PAV KZ186’nin Van (KC900900.1) Estonya (MK012660.1) ve Yeni Zelanda (EF408153.1) izolatlarıyla aynı taksonda yer aldığı görülmekteyken BYDV-PAV T128 tek başına bir taksonda olduğu kardeş taksonda diğer izolatların yer aldığı görülmektedir.



Şekil 4.18. RT-PCR ürünlerinin DNA dizilerine göre yapılan filogenetik analiz sonucu.



Şekil 4.19. RT-PCR ürünlerinin DNA dizilerine göre yapılan filogenetik analiz sonucu.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Buğday gerek dünyadaki diğer ülkelerde gerekse Türkiye’de insan beslenmesindeki en temel besinlerin (unlu mamuller, bulgur, makarna, bisküvi, irmik) hammaddesi olması sebebiyle diğer tarımsal ürünlere göre daha fazla önem arz etmektedir. Son yıllarda artan nüfus, gelişen sanayi ile birlikte beslenme alışkanlıklarının değişmesi bunun da etkisi ile mutfak kültürünün değişmesi buğdaya olan talebi daha da artırmıştır. Ayrıca son zamanlarda oluşan pandemik hastalıklar özellikle Covid-19 salgının etkisiyle makarna gibi dayanıklı kuru gıda ürünlerine talebin artması buğdaya olan talebin artışına ek olarak neden olmuştur. Türkiye’de Covid-19 ile ilgili olarak ilk vakanın açıklandığı tarihlerde makarna satışları önceki dönemlere göre %300 artmıştır (Anonim, 2020). Türkiye’de toplam tarım alanı içerisinde yaklaşık %40’lık payı tahıl ekili alanlar oluştururken toplam tahıl ekili alan içerisinde yaklaşık %45’lik payı buğday oluşturmaktadır. Bu kadar ekim alanına rağmen ülkemiz buğday ihtiyacının %100 henüz karşılanamamaktadır. Bunun da üzerine bazı yıllar iklim koşullarının elverişli olmaması ve zaman zaman epidemi boyutlarına varan viral hastalıklardan BYDV’nin buğdayda %80’lere ulaşan verim kayıplarına neden olduğu (örneğin son zamanlarda Trakya Bölgesi’nde meydana gelen epidemik durum) raporlarda yer almaktadır. Bu nedenlerle de buğdaya olan talep yeterince karşılanamamakta ve sonuç olarak ithalat yapılmak zorunda kalınmaktadır. Son 20-30 yılda buğdaydaki BYDV hastalık etmeninin biyolojisi, tanısı, taşınması ve verim kaybı üzerinde ülkemizde ve dünyada konunun önemi üzerinde durulmuş ve birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan Jensen ve ark. (1971) BYDV hastalığının 10 farklı yazlık buğday çeşidindeki durumlarının karşılaştırılmasında, çeşitlerin tarımsal özellikler bakımında değişkenlik gösterdiği ve bu özellikler bakımından BYDV’nin karakteristik özellikleri açısından bazı etkilerinin bulunduğunu bildirmişlerdir. BYDV ile enfekteli bitkilerin verim açısından sağlıklı bir bitkiye göre %50 veya %75 oranında kayba neden olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı bitkilerde herhangi bir fizyolojik belirti bulunmaz iken,

hastalıklı bitkilerde yapraklarda klorozlar meydana geldiği belirtilmektedir (Antignus ve ark.,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). Survey çalışmalarında yapılan simptomatolojik gözlemler BYDV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen buğday bitkilerindeki belirtilerin diğer birçok araştırmacının rapor ettiği belirtiler ile benzeştiği görülmüştür (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11).

Yapılan çalışma ile benzerlik gösteren bir diğer çalışma Figueira ve ark. (1997), BYDV ile bulaşık yulaf yapraklarından elde edilen bitki ekstraktlarının tanınması için ELISA ve PCR yöntemlerinin duyarlılıklarının birbirlerine karşılaştırmasını yapmışlar ve elde edilen sonuçlar PCR'ın daha duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmanın sonucundaki bulgular BYDV-PAV'nin doğru teşhisi için PCR yönteminin en uygun yöntem olduğunu araştırmacılar bildirmişlerdir. Bu çalışmaları ile serolojik yöntemlerin yerine geliştirdikleri protokolün, hastalıkların tür teşhisinde ve aldandırılmasında hızlı ve güvenilir sonuçların alınması için önemli olduğunu vurgulamışlardır. Söz konusu bu çalışmalardaki sonuçlar ile benzer olarak bu çalışmada da surveyler sonucunda BYDV hastalığı belirtisi gösteren bitkileri hem ELISA hem de PCR ile testlerinde sonuçlar paralel olarak bulunmuştur.

Dünyada ve ülkemizde BYDV ile yapılan çalışmalar göz önüne alındığında günümüzde hastalığın saptanması için yapılan testlemeler de BYDV-PAV en yaygın olarak bulunmuştur. Söz konusu etmenin daha yoğun görülmesinin nedenin bu ırkın en virulent ırk olması, hastalığın yaygınlığının nedeninin veya en önemli faktörün vektörlerin varlığı olması ve vekörlere ilk inokulum olabilecek tarla kenarındaki yabancı otların bulunması gibi gerekçelere bu çalışmada da bulgu olarak daha önce yapılmış ve yayınlanmış çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Yürütülen bu çalışmada Adana'nın güney bölgelerindeki survey çıkışlarında BYDV etmenine rastlanmamıştır. Bunun nedeni, söz konusu bölge ova kesimi olup ova üreticileri buğday yetiştiriciliğinde faaliyetlerini sürdürdükleri geniş alanlarda

modern tarım teknikleri uygulamakta, hastalık, zararlılara ve yabancı otlara karşı da yoğun kimyasal mücadele uygulamaktadırlar. Bu nedenledir ki etkili vektörler ve ara konukçularda popülasyon çok azalmakta veya yok olmakta, sonuç olarak başlangıç inoklunun yetersizliği ve vektör yokluğu BYDV'nin yayılamamasının nedeni olarak açıklanabilir. Yaprakbiti popülasyonunu engellenmesi veya yok edilmesi, aynı şekilde inokulum olabilecek yabancı otların popülasyonunu engellemesi veya yok edilmesi sonuçta söz konusu BYDV'nin diğer çalışmalarda da açıldığı gibi yayılmanın ve zararın olmamasına neden olmakta ve bölge BYDV'den etkilenmemektedir.

Sonuç olarak, son yıllarda ülkemizde BYDV hastalık etmeninin artması ile araştırmanın yürütüldüğü Adana ili buğday üretiminde büyük bir paya sahip olmasından dolayı ve bölgede en son çalışmanın 15 yıl öncesine ait olduğu bu süre zarfında sanayinin gelişmesi ile değişen tohum çeşidi, pestisitler, tarım makinaları, tarım kültürü ve tüm bunlardan bağımsız olarak değişen iklim çeşidi bunun da beraberinde getirdiği BYDV hastalık etmeninin taşınmasındaki en önemli faktör olan vektörlerin muhtemel popülasyonlarının değişmesi ile BYDV hastalık etmeninin bölgede varlığı veya risk durumu bilinmemekteydi. Yapılan bu çalışma ile buğday bitkilerinde alınan örneklerde hastalık oranının %4,42 BYDV-PAV, %3,09 oranında BYDV-MAV ve BYDV-PAV+MAV karışık enfeksiyon oranını da %0,88 olduğu saptanmıştır. Arpada, %2,86 BYDV-PAV ve %1,43 oranında BYDV-MAV etmeni tespit edilmiştir. Yabani yulafta, %7,89 oranında BYDV-PAV, %13,16 oranında BYDV-MAV ve %5,26 oranında BYDV-PAV+BYDV-MAV karışık enfeksiyonu tespit edilmiştir. Kanyaşta ise %5,55 oranında BYDV-PAV tespit edilmiştir. Ancak bazı ilçelerde hastalık bulgusuna rastlanmazken Kozan ilçesinde yabani yulafta BYDV-PAV % 42,86, BYDV-MAV % 71,43 ve BYDV-PAV+BYDV-MAV karışık enfeksiyonundan da % 28,57 olarak saptanması konunun önemi artmakta ve bununla birlikte vektörlerle ve yabancı otlarla entegre mücadele kapsamındaki kimyasal mücadelenin ne kadar gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak araştırma Adana ilinin buğday üretim alanlarında BYDV hastalık etmeninin durumunu, ilçelerde test edilen örneklerle göre yaygınlığının serolojik ve moleküler olarak varlığı ortaya konmuş, hastalığın diğer bölgelerde ki kadar yaygın olmamasının gerekçeleri de belirlenmiştir. Öneri olarak, önemli ürün kayıplarından olan BYDV'nin buğdaygil alanlarında çevre ve insan sağlığı da dikkate alınarak yabancı ot ve vektör mücadelesinin yapılmasının yararlı olacağı sonucuna varılmış olup herhangi bir zarar veya epideminin de oluşmaması için hastalığın devamlı takibinin yararlı olacağı görüşü mücadele açısından ön plana çıkmıştır.

KAYNAKLAR

- Anonim,2020.<https://www.tarim.gov.tr>
- Anonymous, 2020. List Of Wheat Diseases. https://En.Wikipedia.Org/Wiki/List_Of_Wheat_Diseases#Viral_Diseases.
- Aydın, Ö., 2017. Trakya Bölgesi Çeltik Üretim Alanlarında Arpa Sarı Cücelik Virüs Hastalıkları (Barley Yellow Dwarf Viruses-Bydvs)’nın Saptanması.
- Banks, P. M., Davidson, J. L., Bariana, H. S., And Larkin, P. J. 1995. Effects Of Barley Yellow Dwarf Virus On The Yields Of Winter Wheat. Aust. J. Agric. Res.46:935-946.
- Bisnieks, M., Kvarnheden, A., Sığvald, R., Valkonen, J. P. T., 2004. Molecular Diversity Of The Coat Protein-Encoding Region Of Barley Yellow Dwarf Virus-Pav And Barley Yellow Dwarf Virus-Mav From Latvia And Sweden. Archives Of Virology 149: 843–853pp.
- Bremer, K., Raatikainen, M., 1975. Cereal Diseases Transmitted Or Caused By Aphids And Leafhoppers İn Turkey. Ann. Acad. Sci. Fenn. A, Iv (Biological) 203: 1-14pp.
- Burnett, P. A. And Plump, R. T., 1998. Present Status Of Controlling *Barley Yellow Dwarf Virus*. A. Hadidi R. K. Khetarpal H. Koganezawa Plant Virus Disease Control. 448-458pp. Aps Press St. Paul, Mn.
- Çapkan, D. Ve Paylan, İ., 2016. Ege Bölgesi Buğday Üretim Alanlarında Barley Yellow Dwarf Virus (Bydv)’Nin Bulunma Durumunun ve Moleküler Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. Uluslararası Katılımlı Türkiye V1. Bitki Koruma Kongresi, 5-8 Eylül Konya, 554s.
- Delmiglio C, Pearson MN, Lister RA, Guy PL (2010). Incidence of cereal and pasture viruses in New Zealand’s native grasses. Annals of Applied Biology, 157, 25–36.
- Edwards, M. C., T. G. Fetch, P. B. Schwarz, And B. J. Steffenson. 2000. Effect Of Barley Yellow Dwarf Virus İnfection On Yield. Plant Dis. 85: 202–207pp.

- Erion G G, Riedell W E (2012). Barley Yellow Dwarf Virus Effects On Cereal Plant Growth And Transpiration. Crop Science, 52(6): 2794-2799.
- Erkan, E., Kutluk, Yılmaz, N. D., 2009. Samsun İli Buğday Üretim Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan Virüslerin Saptanması, Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi. 24 (2): 67-75s.
- FAO, 2018 <https://www.fao.org/home/en>
- Fıdan, H., Yılmaz, M. A., 2004. Çukurova Bölgesi Mısır Ekim Alanlarında Zararlı Spiroplasma ve Önemli Virüs Hastalık Etmenlerinin Saptanması. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 8-10 Eylül 2004, Samsun, 210s.
- Figueira, A. R., Domier, L. L., D'arcy, C. J., 1997. Comparison Of Techniques For Detection Of Barley Yellow Dwarf Virus-Pav-II. Plant Dis. 81: 1236–1240pp.
- Fitzgerald, P.J., And W.N. Stoner. 1967. Barley Yellow Dwarf Studies İn Wheat (*Triticum Aestivum* L.) I. Yield And Quality Of Hard Red Winter Wheat Infected With Barley Yellow Dwarf Virus. Crop Sci. 7: 337-341.
- Hamamcı, G., 2012. Tekirdağ İli'nde Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Alanlarında Yaygın Olarak Görülen Virüs Hastalıklarına Karşı bazı çeşitlerin reaksiyonlarının saptanması üzerine.
- İlbacı, H., 2003. Trakya Bölgesinde Üretimi Yapılan Bazı Buğday Türlerinde Verim Kayıplarına Neden Olan Viral Kökenli Enfeksiyonların Etmenlerinin Tanılanması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 136s.
- İlbacı, H., Pocsai, E., Cıtır, A., Muranyı, I., Vıda, G. And Korkut, Z.K., 2003. Results Of Two Years Study On İncidence Of Barley Yellow Dwarf Viruses, Cereal Yellow Dwarf Virusrpv And Wheat Dwarf Virus İn Turkey. 3rd International Plant Protection Symposium At Debrecen University, 15-16 October, Debrecen-Hungary. 53-63pp.
- İlbacı, H., 2006. The Common Reed (*Phragmites Communis* Trin) Is A Natural Host of Important Cereal Viruses in The Trakya Region of Turkey. Phytoparasitica, 34: 441-448pp.

- Jensen, S.G., P.J. Fitzgerald and J. R. Thysell., 1971, Physiology and Field Performance of Wheat Infected with Barley Yellow Dwarf Virus. Crop Sci. 11:775-780pp.
- Karaozan A., 2019, Mardin İli Buğday Üretim Alanlarındaki Arpa Sarı Cücelik Virüs Barley Yellow Dwarf Viruses Bydvslerinin Multipleks Rtpcr Yöntemi ile Araştırılması ve Bazı Virüs İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonları, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.
- Kendall, D.A., George, S. Ve Smith, B.D., 1996, Occurrence of Barley Yellow Dwarf Viruses in Some Common Grasses (Gramineae) in South West England, Plant Pathology, 45(1): 29-37.
- Kılıç ve Ark.,2018. Afyonkarahisar ve Isparta İllerindeki Buğday Üretim Alanlarında Barley Yellowdwarf Virus-Pav ve Barley Yellow Dwarf Virus-Mav'ın Belirlenmesi, Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 34, 2019.
- Koev, G., Mohan, B. R., Dinesh-Kumar, S. P., Torbert, K. A., Somers, D. A. And Lemmetty A, Huusela-Veistola E (2005). First Report of Wheat Dwarf Virus in Winter Wheat in Finland. Plant Disease, 89(8): 912-912.
- Mahmood, T., Gergerich, R. C., Milus, E. A., West, C. P., D'arcy, C. J., 1993. Barley Yellow Dwarf Viruses in Wheat, Endophyte Infected and Endophyte-Free Tall Fescue and Other Hosts in Arkansas. Plant Disease 77: 225-228pp.
- Malmstrom, C. M., Shu R., 2004. Multiplexed Rt-Pcr for Streamlined Detection and Separation of Barley and Cereal Yellow Dwarf Viruses. Journal of Virological Methods 120: 69-78pp.
- Murray, T. D, W. W. Bockus, R. L. Bowden, R. M. Hunger Ve R.W, 2020.
- Nagy, A. A., Sharaf, A. N., Soliman, M. H., Shalaby, A. A., Youssef, S. A., 2007. Molecular Characterization of Barley Yellow Dwarf Virus Coat Protein Gene in Wheat and Aphids. Arab J.Biotech., 10 (1): 207-218pp.
- Nancarrow, N., Constable, F. E., Finlay, K. J., Freeman, A. J., Rodoni, B. C., Trebicki, P., Vassiliadis, S., Yen, A. L. And Luck, J. E., 2014, The Effect of

- Elevated Temperature on Barley Yellow Dwarf Virus-Pav in Wheat. *Virus Research*, 186:97-103.
- Oswald, J.W. Houston, B.R. 1951. A New Virus Disease of Cereals, Transmissible By Aphids. *Plant Dis. Rep.* 35: 471-475.
- Parizoto, G., Rebonatto, A., Schons, J. and Lau, D., 2013, Barley Yellow Dwarf Virus-pav in Brazil: Seasonal Fluctuation and Biological Characteristics. *Tropical Plant Pathology*, 38(1): 11-19.
- Pehlivan. S ve E. Atakan, "Adana İli Balcalı ve Doğankent Yörelerinde Buğday Tarlasında Sitobion Avenae (Hemiptera: Aphididae) ile Avcı Syrphidae (Diptera) Türlerinin Popülasyon Değişimleri," *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, Vol.7, Pp.111-122, 2016
- Pike, K. S. 1990. A Review Of Barley Yellow Dwarf Virus Grain Losses. *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf Virus*. 6-11 July 1987, Italy. 356-359.
- Porras M., Consuelo M., Moraes D., Mark C.M., Edwin G.R., Tomas A.C., *Scientific Reports* | (2018) 8:11709 | Doi:10.1038/S41598-018-30023-6
- Szunics L, Szunics L (1984). Damage Caused By Barley Yellow Dwarf Virus On Wheat. *Foreign Title: Az Árpá Sárga Törpülés Viacuturus Kártétele A Búzán. Növényvédelem*, 20(4):152-157.
- Tao, Y., Man J., Devwu Y., 2012. Development Of A Multiplex Polymerase Chain Reaction For Simultaneous Detection Of Wheat Viruses and A Phytoplasma in China. *Arch. Virol* . 157: 1261-1267.
- Thackray, D. J., Ward, L. T., Thomas-Caroll, M. L., Jones, R. A., 2005. *Australian Journal Of Agricultural Research* 56(10) 1089-1099pp.
- Usta, M., Sıpaııoglu, H. M. Ve Guller, A., 2016. Doğu Anadolu Bölgesi'nde Buğday Üretim Alanlarındaki Bazı Buğday Virüslerinin Multipleks-Rt-Pcr Yöntemi ile Araştırılması ve Moleküler Karakterizasyonu. *Bildiriler. Uluslararası Katılımlı Türkiye V1. Bitki Koruma Kongresi*, 5-8 Eylül, Konya, 669 S.

Yavuz, M., 2010. Wheat Flour From Turkey. Export Promotion Center Of Turkey.
[Http://Www.Economy.Gov.Tr/Upload/Sectoralreports/Wh
Eat%20flour.Pdf](http://www.Economy.Gov.Tr/Upload/Sectoralreports/WhEat%20flour.Pdf).





ÖZGEÇMİŞ

Nurullah ÇETİZ. İlkokulu Siverek ilçesine bağlı Keçiburcu Köyünde, ortaokulu Siverek'te ve Lise eğitimin ise ilk üç senesini Ankara'da, son senesini tekrar memleketi Sivereğ'e dönüp tamamladı. 2012 yılında Bingöl Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümüne başlayıp aynı bölümden 2016 yılında Ziraat Mühendisi olarak mezun oldu. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Bitki virolojisi alanında gerçekleştirmiş olduğu yüksek lisans eğitimini, 2017-2022 yılları arasında yapmış olduğu tez çalışmasının sona ermesi ile tamamlamış bulunmaktadır.





EKLER



Ek. 1. ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

- 1- Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7.4 (Fosfat tamponu) 8.0 gr NaCl 0.2 gr KH_2PO_4 2.9 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ veya 2.3 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.44 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.15 gr Na_2HPO_4 (anhydrous) 0.2 gr KCl 0.2 gr NaN_3 Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH' s ı 0.1 N NaOH veya 0.1 N HCl ile ayarlanmış ve 4°C 'de saklanmıştır.
- 2- Coating buffer pH 9.6 (Kaplama tamponu) 1.59 gr Na_2CO_3 2.93 gr NaHCO_3 0.2 gr NaN_3 Yukarıda miktarı verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH' s ı ayarlanmış ve 4°C' de saklanmıştır.
- 3- Washing Buffer (Yıkama tamponu) Bir litre PBS tamponu 0.5 ml Tween-20 ilave edilerek hazırlanmıştır.
- 4- Sample Extraction Buffer (Örnek tamponu) Bir litre yıkama tamponu çözeltisi içine 20 gr Polyvinylpyrrolidone (PVP-40) ilave edilerek hazırlanmıştır.
- 5- Enzyme Conjugate Buffer (Konjugat tamponu) Bir litre örnek tampon çözeltisine 2 gr ovalbumin (egg albumin) ilave edilerek hazırlanmıştır.
- 6- Substrat Buffer pH 9.8 (Substrat tamponu) 97 ml Diethanolamine 800 ml saf su içine ilave edildikten sonra 0.2 gr NaN_3 konmuş ve HCl ile pH 9.8' e ayarlanarak 1 litreye tamamlanmıştır.

Ek. 2. Total RNA Analizlerinde Kullanılan Solüsyonlar

- 1- Ekstraksiyon bufferı (0.1M glycine-NaOH, pH.9,0; 50mM NaCl; 10mM EDTA; %2 sodium dodecyl sulfate [SDS]; %0,2 sodium diethyldithiocarbamate [DİECANa]; ve %1 sodium lauryl sarcosine). 0.750 gr glycine 80 ml saf su içerisinde eritilmiş ve NaOH kullanılarak pH' sı 9,0 olarak ayarlanmıştır. Daha sonra bunun üzerine 0.292 gr NaCl ve 0.288 gr EDTA ilave edilerek eriyinceye kadar karıştırılmıştır. Karışım iyice eridikten sonra üzerine 2 gr SDS, 0,2 gr DİECA ve 1 gr sodium lauryl sarcosine ilave edilmiş bütün karışımlar eridikten sonra son hacim 100 ml ye tamamlanmıştır.
- 2- Phenol/chloroform/isoamylalkol (25:24:1) 25 ml 1X TAE buffer ile satire edilmiş phenol, 24 ml chloroform ve 1 ml isoamylalkol karıştırılmıştır.
- 3- Sodyum asetat CH_3COONa (3M) 40.824 gr sodium asetat 60 ml su içerisinde çözülmüş ve volum 100 ml' ye tamamlanmıştır.
- 4- 1X TE buffer (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA; pH 8,0) 0.157 gr Tris-HCl ve 0.037 gr EDTA 80 ml saf su içerisinde eritilmiştir. Çözeltinin pH sı 8,0 olarak ayarlanıp sonra son hacim 100 ml' ye tamamlanmıştır.

Ek. 3. Agaroz Jel Elektrophorezde Kullanılan Tampon Çözeltiler

- 1- TBE buffer (89 mM Tris, 89 mM boric acide, 2 mM EDTA) (pH: 8,3)
1X TBE buffer hazırlamak için 10.777 gr Tris-Base, 5.502 gr boric acide ve 0.744 gr EDTA 900 ml saf su içerisinde eritilmiştir. Çözeltinin pH' s ı 8,3 olarak ayarlandıktan sonra son hacim 1000 ml' ye tamamlanm ıştır.
- 2- TAE buffer (10mM Tris, 5mM Sodium acetate, 0,5 mM EDT (pH: 8.3)
1X TAE buffer hazırlamak için 1.211 gr Tris-Base, 0.680 gr sodium acetate ve 0.186 gr EDTA 900 ml saf su içerisinde eritilmiştir. Çözeltinin pH' s ı 8,3 olarak ayarlandıktan sonra son hacim 1000 ml' ye tamamlanm ıştır.
- 3- Farklı konsatrasyonlarda agaroz jel hazırlamak için; %1,2' lik agaroz jel için 360 mg agaroz 30 ml 1x TBE yada TAE içerisinde %2' lik agaroz jel için 600 mg agaroz 30 ml 1x TBE yada TAE içerisinde %1,5' lik agaroz jel için 450mg agaroz 30 ml 1x TBE yada TAE içerisinde
- 4- Ethidium bromide 10 mg ethidium bromide 1 ml saf su içerisinde ependorf tüpünde eritilmiştir. Daha sonra bu ana stoktan 30 µl alınarak 100 ml saf su içerisine ilave edilmiştir.

Ek 4. DNA Analizlerinde Kullanılan Çözeltiler

- 1- Extraction(CTAB) Buffer 1.4 M Na Cl 100 mM Tris (pH 8.0) 20 mM EDTA (pH 8.0) %2 β -Mercaptoethanol %2 CTAB pH 8'e ayarlandıktan sonra çözelti sıvının içinde homojen oluncaya kadar karıştırılır. Oda sıcaklığında saklanır.
- 2- Chloroform : isoamylalcohol (24:1) Karışımı

