



**TOKAT İLİ BAĞ ALANLARINDA *ARABIS MOSAIC VIRUS*, *GRAPEVINE FLECK VIRUS* VE *GRAPEVINE SYRAH VIRUS-1* ETMENLERİNİN
VARLIĞININ MOLEKÜLER OLARAK BELİRLENMESİ**

VİLDAN KİLİNÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Dr. Öğr. Üyesi Şerife TOPKAYA

Ağustos - 2021

Her hakkı saklıdır

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TOKAT İLİ BAĞ ALANLARINDA *ARABIS MOSAIC VIRUS*, *GRAPEVINE
FLECK VIRUS* VE *GRAPEVINE SYRAH VIRUS-1* ETMENLERİNİN
VARLIĞININ MOLEKÜLER OLARAK BELİRLENMESİ

VİLDAN KİLİNÇ

TOKAT

Ağustos - 2021

Her hakkı saklıdır



Bu tez çalışması;

Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2019/103 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

VİLDAN KİLİNÇ

2 Ağustos 2021

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TOKAT İLİ BAĞ ALANLARINDA *ARABIS MOSAIC VIRUS*, *GRAPEVINE FLECK VIRUS* VE *GRAPEVINE SYRAH VIRUS-1* ETMENLERİNİN VARLIĞININ MOLEKÜLER OLARAK BELİRLENMESİ

VİLDAN KİLİNÇ

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI:DR. ÖĞR. ÜYESİ ŞERİFE TOPKAYA)

Tokat ilinde yürütülen bu çalışma ile bağ yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Merkez, Erbaa, Niksar ve Pazar ilçelerinde kalite ve verim kaybına neden olan bazı viral etmenlerin varlığı araştırılmıştır. Tokat Merkez ve ilçelerindeki bağ alanlarından toplanan 196 asma örneği, *Grapevine fleck virus* (GFkV), *Grapevine Syrah virus-1* (GSyV-1) ve *Arabid mosaic virus* (ArMV) etmenlerinin varlığını tespit etmek amacıyla, virüslere spesifik primerler kullanılarak moleküler bir yöntem olan Reverse Transkriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) testine tabi tutulmuştur. Yapılan RT-PCR analizleri sonucunda ArMV (429 bp), GFkV (714 bp) ve GSyV-1 (611 bp) için beklenen düzeyde DNA amplifikasyonları gözlenmiştir. RT -PCR sonucunda, sırası ile 18 adet ArMV (%9.2), 13 adet GSyV-1 (%6.6), 1 adet GFkV (%0.5) etmenleri tespit edilmiştir. ArMV etmenine sıklıkla Erbaa ilçesinde, GSyV-1 etmene daha çok Pazar ilçesinde, GFkV etmenine ise yalnızca Tokat Merkez ilçesinde rastlanmıştır.

2021, --- SAYFA

ANAHTAR KELİMELEER: *ArMV*, *GFkV*, *GSyV-1*, RT-PCR, Bağ

ABSTRACT

MASTER THESIS

MOLECULAR IDENTIFICATION OF *ARABIS MOSAIC VIRUS*, *GRAPEVINE FLECK VIRUS* AND *GRAPEVINE SYRAH VIRUS-1* IN GRAPEVINE FIELDS IN TOKAT PROVINCE

VİLDAN KİLİNÇ

**TOKAT GAZİOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

(SUPERVISOR:;)DR. ÖĞR. ÜYESİ ŞERİFE TOPKAYA

With this study carried out in the province of Tokat, the presence of some viral factors causing yield loss was investigated in Merkez, Erbaa, Niksar and Pazar districts where vineyard cultivation is intense. Collected 196 grapevine samples were subjected to RT-PCR, a molecular method, using virus-specific primers to detect the presence of *Grapevine fleck virus (GFkV)*, *Grapevine Syrah virus-1 (GSyV-1)* and *Arabis mosaic virus (ArMV)*. As a result of testing the grapevine samples taken from Tokat province by RT-PCR method, expected levels of DNA amplifications were observed for ArMV (429 bp), GFkV (714 bp), GSyV-1 (611bp). As a result of RT-PCR analyses, 18 samples ArMV (9.2%), 13 samples GSyV-1 (6.6%), 1 samples GFkV (0.5%) were determined respectively. ArMV was mostly found in Erbaa district, GSyV-1 was mostly found in Pazar district, and GFkV was found only in central district of Tokat province.

2021, --- PAGE

KEYWORDS: *ArMV*, *GFkV*, *GSyV -1*, RT-PCR, Grapevine

ÖNSÖZ

Öncelikle, çalışmamın her aşamasında yardımını ve desteğini benden esirgemeyen ve her konuda yanımda olan danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi ŞERİFE TOPKAYA'ya (Gaziosmanpaşa Üniversitesi-Bitki Koruma Anabilim Dalı) teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrencileri; AFİDE MERVE ENGÜR ve BURAK GÜVENATEŞ'e teşekkür ederim.

Ayrıca tüm hayatım boyunca olduğu gibi yüksek lisans öğrenimim süresince de beni hep destekleyen, her türlü fedakârlıkta bulunan, maddi manevi her zaman yanımda olan annem ŞERİFE KİLİNÇ' e ve babam CEVDET KİLİNÇ' a sonsuz minnet ve sevgilerimi sunar, teşekkürü bir borç bilirim.

VİLDAN KİLİNÇ

2 Ağustos 2021

İÇİNDEKİLER

<u>Başlık</u>	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	İ
ABSTRACT.....	İi
ÖNSÖZ.....	İii
İÇİNDEKİLER.....	İv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	Vi
ŞEKİL LİSTESİ	Viii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	X
1.GİRİŞ.....	1
2.KAYNAK ÖZETLERİ.....	8
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	12
3.1. Materyal.....	12
3.2. Yöntem.....	13
3.2.1. Komplementer DNA (cDNA) sentezi.....	13
3.2.2. RT-PCR yöntemi.....	13
3.2.3.Agaroz jel elektroforez çalışmaları.....	14
4.BULGULAR.....	15
4.1. RT-PCR sonuçları.....	15
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	25
KAYNAKLAR.....	27

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
bp	Baz çifti
cDNA	Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
ArMV	<i>Arabis mosaic virus</i>
GFkV	<i>Grapevine fleck virus</i>
GSyV-1	<i>Grapevine Syrah virus-1</i>
M	Molar
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
RT	Ters Transkripsiyon
rpm	Dakikada Devir
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviyole
V	Volt
μl	Mikrolitre

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.1. GFkV 'ye spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT-PCR sonucu.....	15
Şekil 4.2. ArMV'ye spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT- PCR sonucu	16
Şekil 4.3. GSyV-1'ye spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT- PCR sonucu	16

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1.	Dünya’da bağ alanları ve üzüm üretim miktarı ile ilk 10’da yer alan ülkeler	2
Çizelge 1.2.	2019 yılı Tokat ili üzüm üretim alanları ve miktarları.....	3
Çizelge 3.1.	Çalışmada kullanılan bitki sayıları ve alındıkları yerler.....	12
Çizelge 3.2.	Çalışmada kullanılan bitki örneklerinin alındıkları köyler ve kodları	12
Çizelge 3.3	Bağ alanlarından alınan örnek sayısı.....	13
Çizelge 3.4.	Çalışmada virüslere spesifik primerler ve baz dizilimleri.....	13
Çizelge 4.1.	Tokat Merkez örneklerinin RT-PCR sonuçları	17
Çizelge 4.2.	Tokat Erbaa örneklerinin RT-PCR sonuçları.....	18
Çizelge 4.3.	Tokat Niksar örneklerinin RT-PCR sonuçları.....	20
Çizelge 4.4.	Tokat Pazar örneklerinin RT-PCR sonuçları.....	21

1. GİRİŞ

Çok geniş bir form zenginliğine sahip olan ve anavatanı Anadolu olarak bilinen asmanın (*Vitis vinifera* L.) kökeni arkeolojik bulgulara göre binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. M.Ö. 6000-6500 yıllarında Anadolu ve Kafkasya’da kültüre alınan asma bitkisi buradan tüm dünyaya yayılmıştır. Asma toprak ve iklim istekleri bakımından çok seçici olmaması, çeşitli değerlendirme yöntemlerinin olması, çoğalma yöntemlerinin kolay olması ve çok yıllık bir ürün olması gibi nedenlerden dolayı dünyadaki en yaygın kültür bitkileri türlerindendir. Bağcılık açısından dünyanın en elverişli iklim koşullarına sahip olan ülkemiz, asmanın en merkezi olmasının yanı sıra oldukça köklü ve eski bir bağcılık kültürüne sahiptir (Çelik ve ark., 1998).

Türkiye’de üzüm; sofralık, şaraplık ve kurutmalık tüketilmesiyle beraber alkol ve üzüm suyu üretiminde, yöresel ürünlerden pestil, köme, hardaliye, koruk suyu yapımında, geleneksel ürünlerden pekmez ve sirke üretiminde kullanılmaktadır. Üzüm ihracatı, Türkiye’nin ekonomisi için önemli bir gelir kaynağı oluşturmaktadır.

2019 yılı istatistiklerine göre dünya bağ alanı 7.1 milyon ha alanda, 79 milyon ton üzüm üretimi yapılmıştır. FAO 2019 verilerine göre bağ alanı en fazla olan ülke İspanya, üretim miktarı en yüksek ülke ise Çin’dir (Anonim, 2019a). Bağcılık yapan ülkeler arasında Türkiye, üzüm üretiminde 6. sırada, bağ alanı açısından 5. Sıradadır (Çizelge 1.1). Türkiye bağcılığına bakıldığında her ilin tarımsal ürün deseni içerisinde en az %1 bağ alanı olduğu görülmektedir. Türkiye’deki bağ alanları her yıl az miktarda değişiklik göstermekle birlikte ortalama 450 bin hektardır. En geniş bağ alanına sahip olan ve yetiştiriciliğin en fazla yapıldığı bölge Ege Bölgesi’dir. Ülkemizin bağ alanlarının yarısına yakını bu bölgede bulunmaktadır. Bu bölgedeki en büyük üretim alanına sahip il Manisa’dır. Diğer büyük üzüm üreticisi iller Denizli ve Mersin’dir.

TÜİK 2019 yılı verilerine göre ülkemiz üzüm üretimi 4,1 milyon ton olup bu üretimin 2,1 milyon tonu sofralık (%50), 1,6 milyon tonu kurutmalık (%39) ve 451 bin tonu şaraplık-şıralık (%11) üzümdür. Aynı yıl içerisinde üzüm üretiminin %38’i Manisa, %11’i Denizli, %8’i Mersin, %4’ü İzmir, %3’erlik kısmı Gaziantep ve Mardin

illerinden ve %34'lük kısmı da diğer illerden sağlanmıştır. Tokat ilinde ise 62 259 da alandan 51 762 ton (Çizelge 1.2) üretim yapılmaktadır (Anonim, 2019b).

Çizelge 1.1. Dünya’da bağ alanları ve üzüm üretim miktarı ile ilk 10’da yer alan ülkeler (Anonim, 2019a)

Sıra No	Ülkeler	Bağ alanı (ha)	Sıra No	Ülkeler	Üretim miktarı(ton)
1	İspanya	920.108	1	Çin	14.842.680
2	Çin	843.407	2	İtalya	8.201.914
3	Fransa	757.234	3	ABD	7.097.723
4	İtalya	668.087	4	Fransa	6.247.034
5	Türkiye	435.227	5	İspanya	5.934.239
6	ABD	409.947	6	Türkiye	4.000.000
7	Arjantin	223.944	7	Hindistan	2.590.000
8	Şili	203.127	8	Şili	2.473.588
9	Hindistan	122.000	9	Güney Afrika	2.008.819
10	Güney Afrika	120.477	10	Arjantin	1.758.418

Çizelge 1.2. 2019 yılı Tokat ili üzüm üretim alanları ve miktarları (Anonim, 2019a)

İlçe Adı	Üretim alanı(dekar)	Üretim miktarı (ton)	Verim(kg/da)
Merkez	22 920	22 632	1 831
Erbaa	18 840	13 314	1 492
Niksar	7 000	5 522	1 224
Zile	6 400	5 555	868
Turhal	3 450	305	194
Pazar	3 426	4 400	2 278
Yeşilyurt	114	3	26
Artova	52	18	346
Almus	50	13	260
Reşadiye	7	1	143
Toplam	62 259	51 762	8 662

Ülkemizde olduğu kadar Tokat ili için de bağcılık büyük ekonomik öneme sahiptir. Üzüm üretiminin yanı sıra bağ alanlarından elde edilen diğer bir üründe yaprak olup, salamura veya taze asma yaprağına olan talep hızla artmaktadır .Tokat ilinde ticari amaçla üretimi yapılan üzüm çeşidi Narince'dir (Çelik,2013). Merkez, Niksar ve Erbaa ilçelerinde salamura yaprakları bölgedeki halkın önemli bir gelir kaynağını oluşturmaktadır. Tokat yöresindeki bağların büyük çoğunluğunu oluşturan Narince beyaz bir üzüm çeşididir. Yapraklarının lezzeti iyi ve salamura için elverişlidir. Yerli üzüm çeşitlerimiz arasında en kaliteli dömişek ve sek şarap yapılan çeşitlerden biridir (Bekar ve Cangi 2017).

Bağlarda sorun olan bazı hastalık ve zararlı etmenler ciddi ürün kayıplarına sebep olabilmektedir. Hastalık etmenlerinin içerisinde yer alan virüsler, bağ alanlarında verimi ve kaliteyi sınırlandıran önemli bir patojen grubunu oluşturmaktadır .

Virüsler, enleri 200nm'den büyük olmayan, ultramikroskopik partiküller olup, RNA ve DNA nükleik asitlerinden yalnızca birini içeren, obligat parazit olan ve patojenik ırklar oluşturabilme yeteneğine sahip etmenlerdir. Virüsler çoğalabilmek için mutlaka canlı hücreye ihtiyaç duyarlar. Çoğalmaları yaşlı yapraklara nazaran genç yapraklarda daha hızlıdır. Virüsler, dünyada ticari amaçla yetiştiriciliği yapılan birçok üründe önemli zararlara sebep olmaktadır. Bitkilerde mekanik yolla, aşıyla, toprakla, tohumla, küskütle, vejetatif çoğalma materyalleriyle ve vektörlerle (böcekler, funguslar,

nematodlar) taşınmaktadırlar. Virüsler bitkilerde mozaik, nekroz, sarılık, cücelik, halkalı leke, anormal büyümeler, yaprak kıvrıcıklığı, şekil bozukluğu gibi lokal ve sistemik semptomlara neden olmaktadır(Martelli, 2014).

Bağlarda viral etmenlerden dolayı meydana gelen hastalıklar sonucunda salkımlarda şeker içeriğinin düşmesi, aşı tutma oranının düşmesi ve bitki ömrünün kısalmasından dolayı ürünlerin pazar değerinde düşüşler olmaktadır (Özaslan ve ark.,1991).

Virüsler bitkilerin metabolizma faaliyetleri ile yakından ilişkili olduğu için doğrudan kimyasal mücadele ile kontrol edilemez (Walkey, 1991). Virüslere karşı alınan önlemlerin büyük çoğunluğu enfeksiyondan korunma şeklindedir. Virüs hastalıkları mücadelesinde eradikasyon, sanitasyon, dezenfeksiyon, sağlıklı ve sertifikalı tohum kullanımı, vektörlerle mücadele ve biyolojik mücadele yöntemleri kullanılmaktadır (Anonim, 2019b).

Virüslerin tanı ve teşhisinde serolojik ve moleküler yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ve PCR bu tanı yöntemleri arasında en çok kullanılan tekniklerdir (Singh ve Somerville, 1992; Barker ve ark., 1993; Spiegel ve Martin, 1993). Ancak PCR, ELISA'ya oranla 100-10.000 kat daha duyarlı ve spesifiktir (Vunsh ve ark., 1990; Koerschneck ve ark., 1991; Rowhani ve ark., 1995).

Polimer zincir reaksiyonu (PCR), RNA ve DNA üzerinde seçilmiş bir ya da birden fazla bölgenin Taq polimeraz enzimi ve oligonükleotit primer kullanılarak otomatik bir "termocycle" sistem (PCR cihazı) yardımıyla çoğaltılması işlemidir (Mathews, 1993). Bu tekniği ilk kez 1985 yılında Saiki ve arkadaşları insanlarda görülen anemi hastalığının teşhis edilmesi için geliştirmiştir. Günümüzde ise insan, bitki ve hayvanlarda hastalığa sebep olan patojenlerin tanısı, farklı kaynaklardan elde edilen DNA'lar arasındaki genetik akrabalıkların saptanması, baz dizilişinin belirlenmesi ve klonlama gibi birçok farklı alanlarda kullanılmaktadır (White, 1993). PCR yöntemi ile aynı anda birkaç virüs belirlenebileceği gibi tek tek de belirlenebilmektedir. Chamberlain ve Chamberlain (1994), tarafından ilk kez m-RT-PCR (multiplex real time polimeraz zincir reaksiyonu) , DNA içeren 9 farklı virüsün DNA kalıpları kullanılarak uygulanmıştır.

Türkiye’de en önemli asma virüslerinin Arabis mozaik virüsü (*Arabis mosaic virus* ArMV), Asma yaprak kıvrılma virüsleri 1,2,3,5,6 ve 7 (*Grapevine leafroll virus* 1,2,3,5,6,7), Asma yelpaze yaprak virüsü (*Grapevine fanleaf virus*-GFLV), Asma A virüsü (*Grapevine A virus*-GVA), Asma flek virüsü (*Grapevine fleck virus*- GFkV), Çilek latent halkalı leke virüsü (*Strawberry latent ringspot virus*-SLRSV), Gövde çukurlaşması virüsü (*Rugose wood complex*) ve Ahududu halkalı leke virüsü (*Raspberry ringspot virus*-RpRSV) olduğu bildirilmektedir (Kepsutlu ve ark. 1962, Tekinel ve ark. 1972, Erdiller 1982, Azeri 1983, Gürsoy ve ark. 1988, Gürsoy 1991, Akbaş ve Erdiller 1993, Özaslan ve Yılmaz 1994, Azeri ve Çiçek 1995, Yılmaz ve ark. 1997, Çağlayan ve Gazel 1998, Köklü 1999, Köklü ve Baloğlu 2000, Çığsar 2002, Akbaş ve ark. 2007, Buzkan ve ark. 2010).

Bağlarda önemli virüs hastalıklarından olan ArMV, Comoviridae familyası Nepovirus cinsinden olup, yaklaşık 30 nm çapında, tek sarmallı RNA içeren ve yuvarlak partiküllü, % 0-46 nükleik asit ve %54-100 protein içerdiği bilinen bir virüstür. Parlak sarı renk değişimleri, klorotik lekeler, yaprak ve sürgün deformasyonu, büyüme geriliği ve fazla ürün kaybı şeklinde belirtiler göstermektedir (Martelli ve Boudon-Padieu, 2006). ArMV’nin varlığı ilk olarak *Arabis hirsuta* bitkisinde görülmüştür, Hastalık etmeni nematod vektörler ile (*Xiphenema Coxi*, *X. bakeri*, *X. Diversicaudatum*), aşılama, mekanik inokulasyon ve tohum ile taşınmaktadır. Etmen bitkilerin birbirine teması ile bulaşmamaktadır. Hastalık etmeninin ülkemizde varlığı birçok çalışma ile bildirilmiştir (Akbaş ve Erdiller 1993, Özaslan ve Yılmaz 1995, Akbaş 1998, Kaya ve Erilmez 2014, Çığsar ve ark. 2002, Karadeniz 2016). Konukçularından bazıları; bazı kabakgiller, şekerpancarı, *Arabis spp*, çilek, bağ, lale, gül , marul ve diğer bir çok yabancı otlarda ortaya çıkmaktadır..

GSyV-1 ilk kez 2009 yılında ABD de iki araştırmacı grup tarafından tespit edilmiştir. Gruplarda biri yabani asmalarda *Grapevine virus Q* (GVQ), diğeri ise şiraz üzüm çeşidinde (Syrah) GSyV-1 olarak adlandırılan iki farklı virüsün varlığını bildirmiştir (Al Rwahnih ve ark., 2009; Sabanadzovic ve ark., 2009). Şiraz üzüm çeşidinde tespit edilen bu yeni virüs Tymoviridae familyası Marafivirus cinsine dahil edilmiştir (Al Rwahnih ve ark., 2009). Bu virüs 2010 yılında Şili, 2015 yılında ise Orta Avrupa

lkelerinden ek Cumhuriyeti ve Slovakya’da saptanmıştır (Glasa ve ark., 2015). ağlayan ve ark. (2017), Syrah, Antep Karası ve Palieri asma çeşitlerine ait dormant sürgünlerde GSyV-1, *Grapevine virüs A* (GVA), *Grapevine pinot gris virüs* (GPGV) ve *Grapevine rupestris stem pitting associated virüs* (GRSPaV) virüslerinin varlığını belirlemek için yapmış oldukları RT-PCR alışmaları sonucu Antep Karası ve Syrah asmalarında dormant sürgünlerden alınan örneklerin iki tanesinde GSyV-1 etmeni belirlenmiştir. Bu alışma ile GSyV-1 etmeninin Türkiye’deki varlığı ilk kez rapor edilmiştir..

GFkV, *Tymoviridae* familyasından *Maculavirus* cinsinden olup RNA’sı floemde bulunur (Boscia ve ark., 1991; Boulila ve ark., 1990). Etmen yapraklarda şekil bozuklukları ve damarlarda renk açılması şeklinde belirtiler ortaya çıkarır. Diğer etmenlerden ayıt edici özelliği klorotik bozulmaların 3. ve 4. derece damarlar boyunca görülmesidir. Etmenin yoğun olduğu durumlarda yapraklarda kıvrılma, buruşma ve yukarı doğru bükülmeler şeklinde belirtiler oluşur (Garau ve ark., 1997). GFkV etmeni 1981 yılında ilk olarak Macaristan’da olduğu bildirilmiştir (Lehoczky ve Farkas,1981). Türkiye’de Martelli (1987)’ nin yaptığı simptomatolojik gözlemlerde flek, yaprak kıvrılma mantarımı s odun, kısa boğum hastalıklarının olduğu rapor edilmiştir.

Tokat ilinde bağ alanlarında viral etmenlerin bulunmasıyla ilgili daha önceden yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Karadeniz (2016), Tokat ilinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinde verim ve kaliteyi olumsuz etkileyen bazı virüslerin varlığının belirlenmesi amacıyla çalışma yapmıştır. Çalışmada bağcılığın yoğun olduğu Tokat Merkez, Erbaa, Zile, Turhal, Niksar ve Pazar ilçelerindeki bağ alanlarında virüs belirtisi gösteren bitkilerden örnek alınmıştır. Alınan rneklerle bağ alanlarında önemli verim kayıplarına neden olan, ArMV, GFkV ,SLRSV, GFLV, GLRaV-1 ve GVA viral etmenlerinin varlığını belirlemek için DAS-ELISA yöntemi uygulanmıştır. Yapılan test sonucuna göre %11.78 GLRaV-1, %5.73 ArMV , %4.77 GVA, %4.45 SLRSV, %0.63 GFkV, %0.31 GFLV viral etmenlerinin varlığı belirlenmiştir.

Sarıtaş (2018), Tokat ilinde bağ alanlarında ürün verimini olumsuz etkileyen bazı viral etmenlerin varlığını moleküler yöntemler kullanarak tespit etmiştir. Tokat Merkez Erbaa, Pazar ve Niksar ilçelerindeki asmaların virüs belirtisi gösteren genç yapraklarından ve bir yaşlı sürgünlerinden örnekler toplamıştır. Toplanan rnekler

moleküler bir yöntem olan RT-PCR testine tabi tutularak GFLV ve GLRaV-1,2,3,4,9 viral etmenlerinin varlığını belirlemiştir. Çalışma sonucuna göre testi yapılan örnekler %52.28 GLRaV-1, %5.18GLRaV-3, %2.53 GLRaV-4, %1.03 GLRaV-2, %1.01 GLRaV-9 ve %1.01 GFLV oranlarında enfekteli bulunmuştur

Yapılan bu çalışma ile Tokat ilinde bulunan bağ alanlarında ArMV, GFkV ve GSyV-1 viral etmenlerinin varlığının moleküler yöntemler kullanılarak tanınması amaçlanmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bağ alanlarında üzüm kalitesini ve verimini düşüren en önemli faktörler hastalıklar ve zararlılardır. Virüs hastalıklarından dolayı üzümlerde önemli ölçüde verim kayıpları yaşanmaktadır. 1960'lı yıllardan sonra Dünya'da bağ alanlarında virüs ve virüs benzeri hastalık etmenleri ile ilgili çalışmalar hız kazanmaya başlamıştır. Başlangıçta sadece 2 tane olan virüs etmenlerinin sayısı 1997'de 43'e 1998'de 46'ya yükselmiştir . Son yıllarda ise ileri moleküler yöntemler sayesinde bu sayının 60'dan fazla olduğu bildirilmektedir. Bu özelliğinden dolayı çok yıllık ürün grubunda en fazla viral hastalığa sahip ürün grubunu oluşturmaktadır. Dünyada virüs hastalıkları nedeniyle bağ alanlarındaki verim kayıpları %14-40 oranında olduğu tahmin edilmektedir (Martelli, 2014). Dünyada ve ülkemizde ArMV, GFkV ve GSyV-1 virüslerin tespiti ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

Özaslan ve ark. (1991), Kahramanmaraş ilindeki bağ alanlarında yaptıkları çalışmada, GLRV-1, GLRV-3, GFkV ve *Alfalfa mosaic virus* (AMV)'ünü ELISA testleri ile varlığını saptamışlardır. Yapılan çalışma sonucunda en yaygın virüsün GFLV olduğu, bunu GLRV3'ün izlediğini saptamışlardır. Bu virüslerin bağlarda yaklaşık %45 oranında ürün kayıplarına neden olduğunu saptamışlardır.

Özaslan ve Yılmaz (1994) Güneydoğu Anadolu Bölgesinde bağ alanlarında yapmış oldukları çalışmada ELISA yöntemi ve biyolojik indeksleme sonucunda ArMV, GFkV, GFLV ve GLRaV virüsünü tespit etmişlerdir.

Özaslan ve ark. (1995), Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki illerde, bağlarda yaptıkları araştırmalarda GFLV, GLRaV-1, GLRaV-3, GFkV ve ArMV virüslerini ELISA ve vitis indikatörler üzerine indekslemelerle belirlemişlerdir.

Akbaş (1998), Karaman, Konya, Nevşehir illeri ve çevresindeki bağ alanlarında yapmış oldukları çalışmada , 344 adet örneği biyolojik (otsu ve odunsu) ve serolojik (agar jel ve ELISA) olarak test etmişlerdir. Testlemeler sonucunda asma örneklerinin GLRaV ArMV, TBRV, SLRSV, GFLV ve RpRSV ile enfekteli olduğunu tespit etmiştir. Bu üç ilde genel olarak en yaygın olan virüs GFLV olup, bunu sırasıyla TBRV ve GLRaV'nin

izlediğini saptamıştır. Test edilen 344 örneğin 247 (%71.8)'sinin bir ya da daha fazla virüs ile bulaşık olduğunu tespit etmiştir.

Mahfoudhi ve ark. (1998), Tunus'ta asmalarda virüs ve benzeri hastalıkların varlığını belirlemek amacı ile çalışma yapmışlardır. Toplamda 669 asma örneği test edilmiş olup, %96.4 enfekteli olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmada, %87,9 GLRaV-3, %69,4 GVA, %51,9 GFkV, %36,8 GLRaV-1, %19,1 GLRaV-2, %18,2 GFLV, %14,8 GVB virüsleri tespit edilmiştir.

Digiario ve ark. (2000), Güneydoğu Anadolu ve Orta Anadolu'daki bağlarda yapmış oldukları çalışmada, en yaygın virüsün GVA olduğunu ve bunu GLRaV-3, GLRaV-1 ve GFkV'nin izlediğini belirtmişlerdir.

Gangl ve ark. (2002), 2000 ve 2001 yıllarında Avusturya'nın Styria bölgesinde asmalarda virüslerin varlığını belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada ELISA ile test edilen örneklerde %44 oranında GLRaV 1, %59 oranında ArMV'nin varlığı belirlenmiştir.

Çığışar (2002), 1999-2002 yılları arasında Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Nevşehir ilinin önemli bağ alanlarında virüs ve virüs benzeri hastalıkların durumunu belirlemek amacı ile yaptığı çalışmada, toplam 1001 adet bağ örneği toplayarak testlemiştir. Toplanan örneklerle biyolojik ve serolojik yöntemler uygulanmıştır. Bölgede en yaygın virüsün GVA (%41,2) olduğunu, bunu GLRaV-1 (%38,1), GFLV (%8,1) ve GFkV (%5,4)'nün izlediğini saptamıştır.

Sarpkaya (2003), Gaziantep ili ve ilçelerinde bulunan bağlarda GFLV, GLRaV-1, GLRaV-3 ve ArMV'nü serolojik yöntemlerle yaygınlıklarını tespit etmişlerdir. Bölgede yaygınlığı en fazla bulunan virüsün GLRaV-3 (%30) olduğunu, bunu sırasıyla GFLV (%24), ArMV (%15) ve GLRaV-1 (%10)'in izlediğini saptamıştır. Toplanan 393 adet örneğin 181 adetini test etmiş olup , örneklerin %52.8'inin en az bir virüsle bulaşık olduğunu, %12.2'sinin ise birden fazla virüs etmeni içeren karışık enfeksiyonlar taşıdığını belirlemiştir.

Gangl ve ark. (2003), Avusturya'nın Southern Burgenland ve Wachau bölgelerinde bağ alanlarında 14 virüsün yaygınlığını belirlemek amacı ile yapmış oldukları çalışmada; Wacahu bölgesinde ArMV, GFkV, GLRaV-1 ve GLRaV-3 , Southern Burgenland bölgesinde ise GFkV, ArMV ve GLRaV 3 virüsleri belirlenmiştir.

Rakhshandehroo ve ark. (2005), İranda asmaları enfekten eden virüslerin dağılımını ve sıklığını belirlemişlerdir. İran'daki 10 eyaletten ve 56 farklı bağ alanlarından symptom gösteren veya göstermeyen toplam 1542 yaprak örneği toplanmış olup GFkV, GFLV, GVA, ArMV, GLRaV3, RpRSV, TRSV etmenleri için ELISA testine tabii tutulmuştur. Virüslerin bulunma sıklığı sırayla GFLV (%11.1), GFkV (%8.6), GVA (%8,4), ArMV (%6,6), GLRaV-3 (%6,4), RpRSV (%2,8) ve TRSV (%0,35) olarak belirlenmiştir.

Fiore ve ark. (2011), 2007 ve 2009 yılları arasında Şili'nin Atacama bölgesinde bağlardaki virüslerin belirlenmesi amacı ile survey gerçekleştirmişlerdir. Ekonomik açıdan önemli olan bağ virüslerinin tespit edilmesi amacı ile belirti gösteren ve göstermeyen 1000 örneği RT-PCR yöntemi ile testlemişlerdir. Çalışma sonucunda saptanan virüslerin bulunma sıklığı sırayla GLRaV-2 %46,8, GFkV %30,7, GVA %12,3 GFLV %9,6 GLRaV-3 %9,1 ve GLRaV-1 %8,8 olarak belirlenmiştir. Tüm virüs etmenleri bakımından pozitif örneklerin oranı %68,7 olarak belirlenmiştir.

Kaya ve Erilmez (2014), 2007 ve 2010 yıllarında İzmir ve Manisa'da, 2009 ve 2010 yıllarında ise Çanakkale ve Denizli illerinde bağ virüs hastalıklarını belirlemek amacıyla çalışma yapmışlardır. Hastalık etmenlerinin belirlenmesi için serolojik ve moleküler yöntemler uygulanmıştır. DAS-ELISA testi sonucu bitkilerde ArMV, GFLV, GFkV, GLRaV 1, 2, 3 ve 4-9 etmenlerinin olduğunu saptamışlardır. PCR analiz sonuçları, DAS-ELISA sonuçları ile birbirini doğrulamıştır. PCR çalışmalarında, GFkV GFLV, GLRaV 1,2,3 ve 4'e ait bantlar elde etmişlerdir.

Erilmez ve Erkan (2014), 2009-2010 yılları arasında yürüttükleri bir çalışmada Aydın, Balıkesir ve İzmir ili zeytin üretim alanlarında %12.80 oranında ArMV bulunduğunu DAS-ELISA metodu ile belirlemişlerdir.

Belir ve Açıkgöz (2005) , Bursa ilinin Orhangazi, Balıkesir ilinin Gömeç ve Edremit, Aydın ilinin Sultanhisar ve Bozdoğan ilçelerinde bulunan zeytin fidanlıklarından CMV,

CLRV, SLRSV ve ArMV etmenlerinin varlığını tespit etmek amacıyla 176 adet çiçek örneği toplamışlardır. Toplanan örnekleri DAS-ELISA testi testlemişlerdir. Çalışma sonucunda 69 örneğin (% 39.20) SLRSV, 64 örneğin (% 36.36) CMV, 60 örneğin (% 34.09) CLRV ve 47 örneğinde (% 26.70) ArMV ile bulaşık oldukları tespit edilmiştir.

Erilmez ve Kaya (2016), İzmir ve Manisa illerinde bulunan bağ alanlarından aldıkları 50 asma örneğini RT-PCR ve DAS-ELISA tekniklerini kullanarak viral hastalıklar yönünden incelemişlerdir. Alınan örneklerde kullandıkları her iki teknikte de GFLV, GLRaV-1,-2,-3,-4, -9, ArMV ve GFkV etmenlerinin varlığını tespit etmişlerdir.

Kocabağ ve ark. (2019), yaptıkları çalışmada son yıllarda ortaya çıkan yeni virüslerden GPGV, GSyV-1, *Grapevine red-blotch associated virus* (GRBaV) ve *Grapevine roditis leaf discoloration virus* (GRLDaV) etmenlerinin Hatay ve Tekirdağ bağ alanlarında varlığını PCR ve DNA dizileme yöntemleriyle tespit etmişlerdir. Tekirdağ'dan 191 adet, Hatay'dan 111 adet virüs benzeri symptom gösteren ve symptomsuz omcalardan örnek alınmıştır. Yapılan çalışma sonucunda Tekirdağ örneklerinde %43,62 oranında GPGV, %1,04 oranında GSyV-1 saptanmıştır. Hatay ilinden toplanan örneklerde ise sadece %0,9 oranında GSyV-1 saptanmış ve GPGV, GRBaV, GRLDaV etmenlerine rastlanmamıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın ana materyalini 2018-2019 tarihleri arasında 2018/52 no'lu BAP projesi kapsamında gerçekleştirilen surveylerde Tokat merkez ve ilçelerindeki bağ alanlarında virüs belirtisi gösteren bitkilerden toplanan 196 asma yaprak örneği oluşturmaktadır. Arazi surveylerinde toplanan yaprak ve sürgün örneklerinin yaprak damarları ve yaprak saplarından alınan parçalar kullanılmıştır.

Alınan örneklerin konum ve kod bilgileri Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bitki sayıları ve alındıkları yerler

YER	BİTKİ SAYISI
Merkez	47
Erbaa	48
Niksar	21
Pazar	80
Toplam	196

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan bitki örneklerinin alındıkları köyler ve kodları

İLÇE	KÖY	KODU
Merkez	Emirseyit	Es
	Büyükyıldız	By
	Küçükyıldız	Ky
	Fakülte	4s-10 3s-8o 10s-11o
Erbaa	Karayaka	Ka
	Ballıbağ	Ba
	Üzümlü	Ü
	Gökçeli	Gç

Niksar	Gürçeşme	G
Pazar	Üzümören	ÜÖ

Surveyler esnasında güdümlü örnekleme yapılmış olup, alınacak örnek sayısı her bir bağın büyüklüğü göz önünde bulundurularak Bora ve Karaca (1970)'ya göre (Çizelge 3.3) belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. Bağ alanlarından alınan örnek sayısı

Bağ Alanı (Dekar)	Her Bağdan Alınan Örnek Sayısı
0-5	5
5-10	7
10-15	9
20>	11

3.2.YÖNTEM

3.2.1. RNA İzolasyonu

2018-2019 tarihleri arasında 2018/52 no'lu BAP projesi kapsamında bağ alanlarından toplanan asma örneklerinden RNA izolasyonu, Li ve ark. (2008)'nın protokolü modifiye edilerek aşağıdaki gibi yapılmıştır;

Her bitki örneğinden 100 mg tartılıp üzerine sıvı azot ilave edilerek havanda ezilmiştir.

Ezilen örnekler 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınmıştır. Her bir tüp üzerine 1 ml CTAB buffer (%2 CTAB, %2 PVP-40, 100 mM Tris-HCl PH:8.0, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA) ilave edilmiştir. Tüpler -20 °C'de 5-10 dk bekletilmiştir. Her bir tüpün içine %0.2 mercaptoethanol ilave edildikten sonra tüpler 65 °C'de 30 dk inkübe edilmiştir.

Daha sonra tüpler 10 000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra yeni bir ependorf tüpe 650 µl supernatant transfer edildikten sonra üzerine eşit miktarda kloroform-isoamly alkol (24/1) ilave edilmiştir. Sonra bu karışım alt üst edilerek karıştırılıp 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Tüpler 15 000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra 500 µl supernatant yeni bir tüpe alınıp üzerine 350 µl isopropanol eklenip 10 dk -20 °C'de bekletilmiştir. Tüpler 15 000 rpm'de 10 dk

santrifüj edildikten sonra oluşan üst sıvılar dökülmüş ve tüplerin içinde kalan peletler 500'er µl %70'lik alkol ile yıkanıp tekrar 15 000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir.

Daha sonra oluşan üst sıvılar uzaklaştırılmış ve tüpler kurutma kağıdı üzerine ters çevrilerek kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işleminin ardından tüplerin içine 50'er µl RNase içermeyen saf su eklenip PCR işlemlerinde kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

RNA izolasyonu yapılan örneklerden elde edilen RNA'lar kullanılarak komplementer DNA (cDNA) sentezi gerçekleştirilmiştir. cDNA sentezi yapılırken ependorf tüpler içerisinde 2 µl toplam RNA, 1 µl random heksamer primer (5'-d(NNNNNN)-3'N = G, A, T veya C)(10 µmol) ve 8 µl distile su ile karıştırılmıştır. Karışım 65 °C'de 5 dakika inkübasyondan sonra buz üzerine alınmıştır ve 3 dakika buzda bekletilmiştir. Tüplerin içerisine 5X MMLV buffer (5X), 0.2 mM dNTP (25 mM), 0.5 µl random hexamer primer (10 µmol), 0.25 µl RNase inhibitör (10u/µl), 0.25 µl reverse transkriptaz (20-20u/µl) ve distile su bulunan karışımdan 10 µl ilave edilerek her bir tüp 20 µl'ye tamamlanmıştır. Tüpler 10 dakika inkübe edilerek cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. RT-PCR yöntemi

İlk aşamada ArMV, GFkV ve GSyV-1 virüsleri için elde edilen cDNA'lar kalıp olarak kullanılmış olup, ilgili virüslere özgü primerlerle (Çizelge 3.4.) PCR işlemi yapılmıştır.

Çizelge 3.4. Çalışmada virüslere spesifik primerler ve baz dizilimleri

Hedef Virüs/Primer	Primer Dizilimi	Baz Uzunluğu	Referans
GFkV-6351F	CTCTCCGCCTCGTCTGATGA	714 bp	Naidu ve Mekuria 2010
GFkV-7064R	TCGGTTCATGACGAGGGAGT		
ArMV-F	TTGGCCCAGATATAGCGTAAAAAT	519 bp	MacKenzie et al., 1997
ArMV-R	CAGCGGATTGGGAGTTTCGT		
GSyV-1-F	TGTCGACGCTCCAATGTCTGA	611bp	Mekuria ve Naidu2010
GSyV-1-R	CATTGCTGCGCTTTGGAGGCTTTA		

PCR analizi için; 5,4 µl d₂ H₂O, 2,5 µl 10X Taq Buffer (Fermantas), 0.5 µl dNTP (10 mM), 1,5 µl MgCl₂ (25 mM), virüse özgü 0,25 µl primer çifti (her biri 10 pmol/µl) , 0,125 µl Taq-DNA polymerase (5 U/µl) ve 2 µl cDNA eklenerek PCR tüplerinin içinde karışım hazırlanmıştır. Tüpler daha sonra thermocycler cihazına yerleştirilerek PCR işlemi gerçekleştirilmiştir.

PCR koşulları çalışmada kullanılan primerlerin bağlanma sıcaklığına göre değişmekte olup literatürde bildirilen koşullara göre aşağıdaki gibi uygulanmıştır.

PCR programları:

ArMV ve GFkV için;

94°C'de 2 dk	} 35 döngü
94 °C'de 30 sn	
50 °C'de 45 sn	
72 °C'de 60 sn	
72 °C'de 5 dk	

GSyV-1 için;

94 °C'de 5 dk	} 35 döngü
94 °C 'de 45 sn	
56 °C 'de 45 sn	
72 °C'de 45 sn	
72 °C'de 7 dk	

3.2.4. Agaroz Jel Elektroforez Çalışmaları

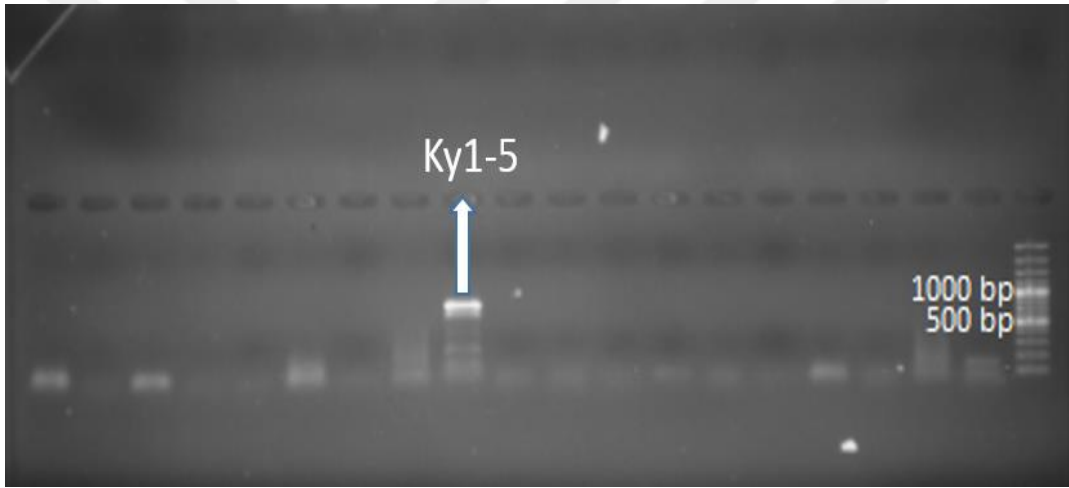
Virüslere spesifik primerlerle yapılan PCR sonucunda elde edilen PCR ürünleri %1.2 oranında hazırlanan, içerisinde 10 mg/ml ethidium bromid bulunan agaroz jelde 100 V'ta 1 saat elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Elektroforez işlemi sonunda görüntüleme cihazında UV ışık altında görüntüleme işlemi yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. RT-PCR SONUÇLARI

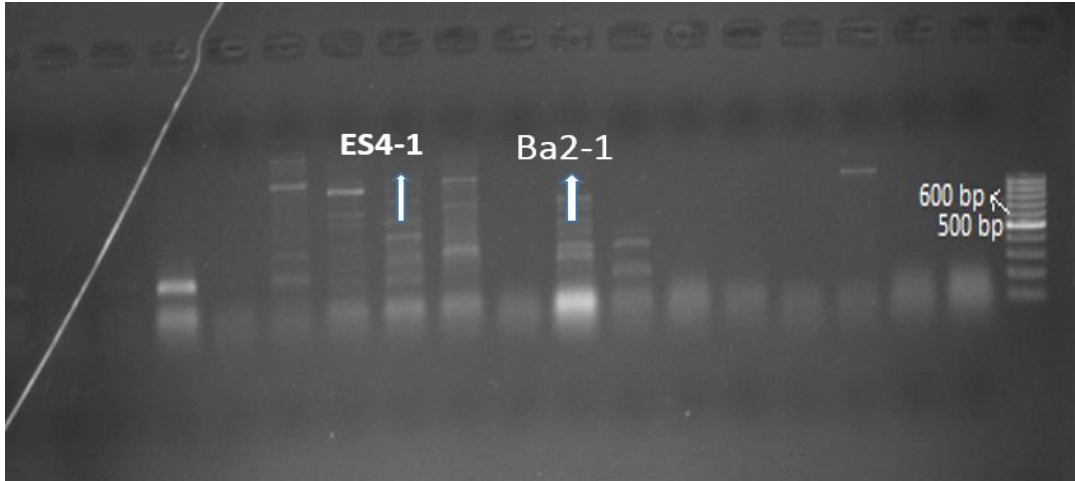
RNA izolasyonu yapılmış 196 asma örneğinin hexamer primerlerle CDNA sentezi yapılmıştır. Araştırma konusu olan virüslerin (ArMV, GFkV ve GSyV-1) tespit edilmesi için bu virüslere spesifik primerlerle RT-PCR yöntemi uygulanmıştır.

GFkV'ye spesifik GFkV-6351F ve GFkV-7064R primerleri ile yapılan RT-PCR sonucunda 196 yaprak örneğinde yalnızca 1 izolatta beklenen büyüklükte (714 bp) bant elde edilmiştir (Şekil 4.1).



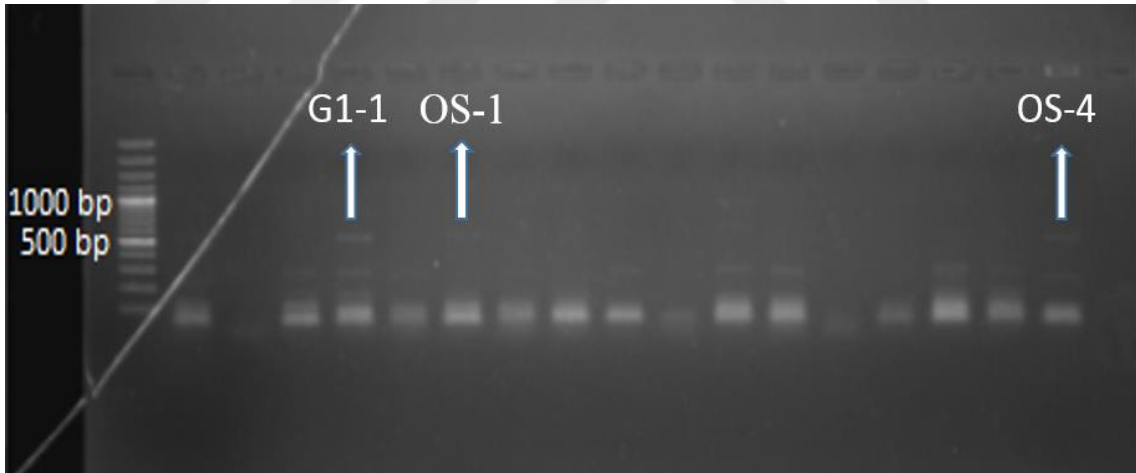
Şekil 4.1. GFkV 'ye spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT-PCR sonucu

ArMV' ye spesifik ArMV-F ve ArMV-R primerleri ile yapılan RT-PCR sonucunda 196 yaprak örneğinde yalnızca 18 izolatta beklenen büyüklükte (519 bp) bant elde edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. ArMV'ye spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT- PCR sonucu

GSyV-1 'e spesifik GSyV-1-F ve GSyV-1-R primerleri ile yapılan RT-PCR sonucunda 196 yaprak örneğinde yalnızca 13 izolatta beklenen büyüklükte (611 bp) bant elde edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. GSyV-1'e spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT- PCR sonucu

ArMV, GFkV ve GSyV-1 virüs etmenlerinin varlığını tespit etmek için yapılan RT-PCR testi sonuçları örneklerin kodları ile birlikte Çizelge 4.1.- 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Tokat Merkez örneklerinin RT-PCR sonuçları

Örnek kodu	ArMV	GFkV	GSyV-1
Es1-1	-	-	-

Es1-2	-	-	-
Es1-3	-	-	-
Es1-4	-	-	-
Es1-5	-	-	-
Es1-6	-	-	-
Es2-1	-	-	-
Es2-2	-	-	-
Es3-1	-	-	-
Es4-1	+	-	-
By1-1	-	-	-
By1-4	-	-	-
By2-1	-	-	-
By2-2	-	-	-
By2-3	-	-	-
By2-4	-	-	-
By3-1	-	-	-
By3-2	-	-	-
By3-3	-	-	-
By4-1	-	-	-
By5-1	-	-	-
By5-2	-	-	-
By5-3	-	-	-
By5-4	-	-	-
Ky1-1	-	-	-
Ky1-2	-	-	-
Ky1-3	-	-	-
Ky1-4	-	-	-
Ky1-5	-	+	-
Ky1-6	-	-	-
Ky1-7	-	-	-
Ky1-8	-	-	-
Ky2-1	-	-	-

Ky2-2	+	-	-
Ky2-3	-	-	-
Ky2-4	-	-	-
Ky2-5	+	-	-
Ky3-1	-	-	-
Ky3-2	-	-	-
Ky3-2	-	-	-
Ky3-3	-	-	-
Ky3-4	-	-	-
Ky3-5	-	-	-
Ky3-6	-	-	-
Ky3-7	-	-	-
4s-10	-	-	-
3s-80	-	-	-
10s-110	-	-	-

RT-PCR testlemeleri sonucunda Çizelge 4.1.' de belirtildiği gibi Tokat Merkez' den alınan 47 örneğin 1 izolatında (%2.1) GFkV , 3 izolatında (%6.3) ArMV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Tokat Merkez örneklerinde GSyV-1 virüs etmeni ile enfekteli örnek tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.2. Tokat Erbaa ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları

Örnek kodu	ArMV	GFkV	GSyV-1
Ka1-1	-	-	-
Ka1-2	-	-	-
Ka1-3	-	-	-
Ka2-1	-	-	-
Ka2-2	-	-	-
Ka2-3	-	-	-
Ka2-4	-	-	-
Ka2-5	-	-	-
Ka2-6	-	-	-

Ka3-1	-	-	-
Ka3-2	-	-	-
Ka3-3	-	-	-
Ka4-1	-	-	-
Ka4-3	-	-	-
Ba1-1	-	-	-
Ba1-2	-	-	-
Ba1-3	-	-	-
Ba1-4	-	-	-
Ba1-5	-	-	-
Ba1-7	-	-	-
Ba2-1	+	-	-
Ba2-2	-	-	-
Ba2-3	-	-	-
Ba2-4	-	-	-
Ba2-5	-	-	-
Ba2-6	-	-	-
Ba3-1	-	-	-
Ba3-2	-	-	-
Ba3-3	-	-	-
Ba4-1	-	-	-
Ba4-2	-	-	-
Ba4-3	-	-	-
Ü1-1	-	-	-
Ü1-5	-	-	-
Ü2-1	-	-	-
Ü2-2	+	-	-
Ü2-3	+	-	-
Ü2-4	+	-	-
Ü3-1	+	-	-
Ü3-2	-	-	-

Ü3-3	-	-	-
Ü3-4	-	-	-
Ü4-1	-	-	-
Ü4-2	-	-	-
Ü4-3	+	-	-
Ü4-4	+	-	-
Ü4-5	-	-	-
Ü4-6	+	-	-

Erbaa ilçesinden toplanmış olan 48 örneğin 8 izolatının (%16.6) ArMV ile enfekteli olduğu tespit edilmiş, GFkV ve GSyV-1 etmenleri ile enfekteli bitki bulunamamıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.3. Tokat Niksar ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları

Örnek Kodu	ArMV	GFkV	GSyV-1
Gç2-1	-	-	-
Gç2-2	-	-	-
Gç2-4	-	-	-
Gç3-1	-	-	-
Gç3-2	-	-	-
Gç3-4	-	-	-
Gç3-5	-	-	-
Gç3-6	-	-	-
G1-1	+	-	+
G1-2	+	-	-
G1-3	-	-	-
G1-4	-	-	-
G1-6	-	-	-
G2-1	-	-	+
G2-2	-	-	-
G2-3	-	-	-

G2-4	-	-	-
G2-5	-	-	-
G3-1	-	-	+
G3-2	-	-	+
G3-3	+	-	+

Niksar ilçesindeki toplam 21 örnekten 3 izolattın (%14.2) ArMV, 5 izolattın (%23.8) GSyV-1 ile enfekteli olduğu tespit edilirken GFkV etmeni ile enfekteli bitkiye rastlanılmamıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.4. Tokat Pazar ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları

Örnek Kodu	ArMV	GFkV	GSyV-1
ÜÖ1-1	-	-	-
ÜÖ1-2	-	-	-
ÜÖ1-3	-	-	-
ÜÖ1-4	-	-	-
ÜÖ1-5	-	-	-
ÜÖ2-1	-	-	-
ÜÖ2-2	-	-	-
ÜÖ2-3	-	-	-
ÜÖ2-4	-	-	-
ÜÖ3-1	-	-	-
ÜÖ3-2	-	-	-
ÜÖ3-3	-	-	-
ÜÖ3-4	+	-	-
ÜÖ3-5	-	-	-
ÜÖ3-6	-	-	-
ÜÖ4-2	-	-	-
ÜÖ4-3	-	-	-
ÜÖ4-4	-	-	-
ÜÖ5-1	-	-	-

ÜÖ5-2	-	-	-
ÜÖ5-3	-	-	-
ÜÖ5-4	-	-	-
ÜÖ5-5	-	-	-
ÜÖ5-6	-	-	-
ÜÖ6-1	-	-	-
ÜÖ6-2	-	-	-
ÜÖ6-3	-	-	-
ÜÖ6-5	-	-	-
ÜÖ6-6	-	-	-
ÜÖ7-1	-	-	-
ÜÖ7-2	-	-	-
ÜÖ7-3	-	-	-
ÜÖ7-4	-	-	-
ÜÖ7-5	-	-	-
ÜÖ7-6	-	-	-
ÜÖ7-7	-	-	-
ÜÖ7-8	-	-	-
ÜÖ7-9	-	-	-
ÜÖ8-1	-	-	-
ÜÖ8-2	-	-	-
ÜÖ8-3	-	-	-
ÜÖ8-4	-	-	-
ÜÖ8-5	-	-	-
ÜÖ8-6	-	-	-
ÜÖ8-7	-	-	-
ÜÖ8-8	-	-	-
ÜÖ9-1	-	-	-
ÜÖ9-2	-	-	-
ÜÖ9-3	-	-	-
ÜÖ9-4	-	-	-

ÜÖ9-6	-	-	-
ÜÖ9-7	-	-	-
ÜÖ9-8	-	-	-
ÜÖ9-9	-	-	-
ÜÖ9-10	-	-	-
ÜÖ9-11	-	-	-
ÜÖ10-1	-	-	-
ÜÖ10-2	-	-	-
ÜÖ10-3	-	-	-
ÜÖ10-4	-	-	-
ÜÖ10-5	-	-	-
ÜÖ10-6	-	-	-
ÜÖ10-7	-	-	-
ÜÖ10-8	-	-	-
OS-1	-	-	+
OS-2	+	-	-
OS-3	-	-	+
OS-4	-	-	+
OS-5	+	-	-
OS-6	-	-	+
OS-7	+	-	-
OS-8	-	-	-
OS-9	-	-	-
OS-10	-	-	-
OS-11	-	-	+
OS-12	-	-	+
OS-13	-	-	-
OS-14	-	-	-
OS-15	-	-	-
OS-16	-	-	+
OS-17	-	-	+

Pazar ilçesinden alınmış toplam 80 örnekten 4 izolatın (%5) ArMV, 8 izolatın (%10) GSyV-1 ile enfekteli olduğu tespit edilmiş, GFkV etmeni ile enfekteli bitki bulunamamıştır (Çizelge 4.4).



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkisel üretimde önemli seviyede ürün kaybına yol açan virüslerin mücadelesinde, diğer tarımsal hastalık ve zararlı etmenlerde olduğu gibi doğrudan bir mücadele şekli bulunmamaktadır. Ayrıca viral etmenlerin oluşturdukları zarar, bir sonraki üretim sezonunu da etkileyebilmektedir. Çok yıllık bir kültür bitkisi olan asmada viral etmenlerin zararı hastalık oluşumunun üzerinden yıllar geçse bile kendini gösterir. Türkiye’de gerek taze ve salamuralık yaprak gerekse sofralık üzüm üretimi yönünden önem arzeden bağcılığa olan talep giderek artmakta ve özellikle Tokat’ın Merkez, Niksar ve Erbaa ilçelerinde üreticilerin önemli bir gelir kapısını oluşturmaktadır. Bu sebeple, üzüm meyvelerinde ve asma yapraklarında verim ve kalite kaybı oluşturan viral etmenlerin tespiti bu bölgenin tarımsal kalkınması açısından önem arz etmektedir.

Tokat Merkez ve ilçelerinden alınan 196 örnek ArMV, GFkV ve GSyV-1 etmenlerinin varlığı yönünden RT-PCR yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Testlemeler sonucunda örnekler üzerinde ArMV (%9.2), GSyV1 (%6.6) ve GFkV (%0.5)’nin varlığına rastlanmıştır. ArMV’nin tüm ilçelerde, GSyV-1’in Niksar ve Pazar ilçelerinde, GFkV’nin ise sadece merkez ilçesinde bulunduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular en çok rastlanan virüs etmeninin ArMV, en az saptanan virüs etmeninin ise GFkV olduğunu göstermiştir. Bu çalışma ile Tokat ilinde GSyV-1 etmeninin varlığı ilk kez araştırılmıştır. Tokat Merkez ve ilçelerindeki bağ alanlarında en fazla karşılaşılan virüs etmeninin %9.2 oranıyla ArMV olduğu belirlenmiştir. Türkiye’de ArMV üzerinde yürütülen çeşitli çalışmalarda farklı oranlarda virüs varlığına rastlanmıştır (Özaslan ve Yılmaz, 1994; Özaslan ve Yılmaz, 1995; Akbaş, 1998; Sarpkaya, 2003; Çağlayan ve ark., 2004; Yardımcı ve Culal, 2009; Kaya ve Erilmez, 2014; Erilmez ve Erkan, 2014; Beler ve Açıkgöz, 2005; Erilmez ve Kaya, 2016). Karadeniz ve ark. (2018), Tokat ilindeki ArMV varlığı üzerine serolojik yöntemlerle (DAS-ELIS) yürütülen çalışmada, virüs varlığının %1,3 olduğu gösterilirken, moleküler yöntemlerin kullanıldığı mevcut çalışmadaki oranda artış olduğu gözlemlenmiştir.

Son yıllarda syrah üzüm çeşitlerinde geriye doğru ölüm oluşturduğu bilinen GSyV-1 etmenine, bu çalışmada Niksar ve Pazar ilçelerinde %6.6 oranında rastlanmış olup

Tokat ilinde ilk kez varlığı tespit edilmiştir. Türkiye’de bu etmenin varlığı ilk kez Antep Karası ve Syrah üzüm çeşitlerinde rapor edilirken, ülke genelinde %5.2 oranında yaygınlık gösterdiği bildirilmiştir (Çağlayan ve ark, 2017; Ulubaş Serçe ve ark. 2018). GSyV-1’in yeni bir virüs etmeni olması sebebiyle teşhisi zor olmakta ve bu da hastalık etmeninin çeliklerle farklı alanlara bulaşmasına sebep olmaktadır.

Bu çalışmada en az karşılaşılan virüs etmeninin %0,5 oranıyla GFkV olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde yürütülen çeşitli çalışmalarda GFkV varlığının mevcut çalışmaya göre daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Kaya ve Erilmez, 2014; Köklü ve ark., 1998; Çığsar ve ark., 2002). Tokat ilindeki GFkV varlığı üzerine serolojik yöntemlerle (DAS-ELISA) yürütülen çalışmalar virüs varlığının %0.7 olduğunu gösterirken, moleküler yöntemlerin kullanıldığı mevcut çalışmada da benzer bir sonuç elde edilmiştir (Karadeniz ve ark., 2018).

Yapılan bu çalışma bağcılıkta önde gelen Tokat ilinde özellikle asma yaprağı kalitesini sınırlandıran virüs etmenlerinin varlığını ve yaygınlığını ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular bu virüslerle mücadele açısından oldukça önem arz etmektedir. Bu virüslerin bulunduğu üretim alanlarında üreticiler virüsle mücadelede yayılma ve bulaşmayı önleyici tedbirler, vektör mücadelesi, dayanıklı ve sertifikalı çeşit kullanımı konusunda bilinçlendirilmelidir. ArMV etmeni nematod vektörlerle (*Xiphinema diversicaudatum*, *X. coxi*, *X. bakeri*) bulaştığı için, bölgede bu nematodların varlığı kontrol edilmelidir. Bununla birlikte virüslerin alternatif konukçuları olan yabancı ot mücadelesi de viral hastalıkların kontrolünde değerlendirilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- Akbaş, B. ve Erdiller, G., 1993. Researches on grapevine virus diseases and determination of their incidences in Ankara. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 22(2-3): 5564
- Akbaş, B., 1998. Karaman, Konya ve Nevşehir ili bağ alanlarında görülen virüs hastalıkları. *Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, 21-25 Eylül 1998, 149-157 s., Ankara.
- Akbaş, B., Kunter, B., İlhan D., 2007. Occurrence and distribution of Grapevine Leafroll Associated Viruses 1,2,3, and 7 in Turkey. *J. Phytopathol.* 155:122-124
- Al Rwahnih, M., Daubert, S., Golino, DA., Rowhani, A., 2009. Deep sequencing analysis of rnas from a grapevine showing Syrah Decline symptoms reveals a multiple virus infection that included a novel virus. *Virology.*, 387(2):395-401.
- Anonim, 2019a. Agricultural Statistics Database. <http://www.fao.org/faostat/en/#home> (18.03.2021).
- Anonim, 2019b. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://www.tuik.gov.tr>.
- Anonim, 2020. Bitki Patojeni Virüsler. Tarım ve Orman Bakanlığı Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/ktae> (15.09.2020).
- Azeri, T., 1983. Ülkemiz bağcılığında virus sorunu ve virüssüz bağ üretim programı. *Bornova Zir. Müc. Araş. Enst. Müdürlüğü, Yıllık*, 1(1) : 61-69.
- Azeri ,T. ve Çiçek, Y., 1995. İntroduksiyon ve klon seleksiyonuyla elde edilmiş bazı bağ çeşitleri ve anaçlarındaki virus ve virus benzeri hastalıkların saptanmasına yönelik araştırmalar. *VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Bildiriler*, s.374-377, Adana.
- Bekar, T. ve Cangi, R., 2017. Tokat'ta Farklı Ekolojilerde Yetiştirilen Narince Üzüm Çeşidinin Fenolojik Gelişme Evreleri ve Etkili Sıcaklık Toplamı İsteklerinin Belirlenmesi. *Türkiye Teknoloji ve Uygulamalı Bilimler Dergisi*, 1(2): 86-90
- Barker, H., Webster, K.D. and Reavy, B., 1993. Detection of Potato virus Y in potato tubers : A comparison of polymerase chain reaction and enzyme linked-immunosorbent assay. *Potato Research*. 36, 13-20.
- Belser, Ö., Açıkgöz, S., 2005. Ege ve Marmara bölgelerindeki zeytin fidanlıkları ve ağaçlarında görülen bazı virüs hastalıklarının elisa testi ile saptanması. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1), 79-84.
- Boscia, D., Elicio, V., Savino, V., Martelli, G. P., 1995. Production of monoclonal antibodies to grapevine fleck virus. *Plant Pathology* 44, 160–163.
- Boscia, D., Martelli, GP., Savino, V., Castellano, M.A., 1991. Identification of the agent of grapevine fleck disease. *Vitis* 30, 97-105.
- Boulila, M., Boscia, D., Di Terlizzi, B., Castellano, M. A., Minafra, A., Savino, V. & Martelli, G. P. 1990. Some properties of a phloem-limited non mechanically-transmissible grapevine virus. *Journal of Phytopathology* 129, 151–158.
- Buzkan, N., Karadağ, S., Öztekin,V., Kaya, A., Minafra,A., Ben-Dov, Y., 2010. First report of the occurrence of Grapevine Leafroll Associated Virus-5 in Turkish vineyards. *J. Phytopathol.* 158: 448-449.
- Chamberlain, J.S. and Chamberlain, J.R., 1994. Optimization of multiplex PCRs. In: Mullis, K.B., Ferre, F., Gibbs, R.A. (Eds.), *The Polymerase Chain Reaction*. Burkhauser, Boston, MA, pp. 38-46.

- Çağlayan, K. ve Gazel, M.H., 1998. Asma virüslerinin saptanmasında F (Ab') 2 Antibadi fragmentlerinin kullanımı. Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi, 21-25 Eylül, Ankara. 158-161
- Çağlayan, K., Fidan, Ü., Tarla, G., Gazel, M., 2004. First report of Olive Viruses In Turkey. Journal of Plant Pathology, 89 (1): 89-90.
- Çağlayan, K., Gazel, M., Kocabag, H.D., 2017. First report of Grapevine syrah virus 1 in grapevine in Turkey. Journal of Plant Pathology, 99 (1), 303.
- Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Maraşlı, B. ve Söylemezoğlu, G., 1998. Genel Bağcılık, Sun Fidan As. Mesleki Kitaplar Serisi, 253 s
- Çelik, H., 2013. Türkiye Bağcılığında Üretim Hedefleri. Vizyon 2023 Bağcılık Çalıştayı, 26-27 Haziran 2013, Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu, Tekirdağ.
- Çığışar, İ., 2002. Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Nevşehir İlinde Bağlarda Zararlı Virüs ve Virüs Benzeri Hastalıkların Biyolojik ve Serolojik Yöntemlerle Saptanması ve İki Yeni Nepovirusün Karakterizasyonu.(Doktora Tezi), Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana
- Digiario, M., Martelli, G.P. and Savino, V., 2000. Phloem-limited viruses of the grapevine in the Mediterranean and Near East. Extended Abstracts 13 TH Icg, Adelaide, 75-76.
- Erdiller, G., 1982. Kısaboğum hastalığı etmeni (Grapevine Fan Leaf Virus Hewitt)'nin morfolojik, serolojik özellikleri ve standart ırklarla karşılaştırılması üzerinde araştırmalar. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yayınları: 834, pp 58.
- Fiore, N., Zamorano, A., Rivera, L., González, F., Aballay, E., Montealegre, J., Pino, A. M., 2011. Grapevine viruses in the Atacama region of Chile. Journal of Phytopathology, 159(11/12): 743-750.
- Gangl, H., Leitner, G., Renner, W., Tiefenbrunner, W., 2002. Grapevine damaging viruses, bacteria and soil-borne vectors in the Austrian winegrowing region Styria. Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Früchteverwertung, 52(1/2): 54-62
- Gangl, H., Leitner, G., Tiefenbrunner, W., 2003. Grapevine damaging viruses, bacteria and soilborne vectors in the Austrian winegrowing regions Wachau and Southern Burgenland. Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Früchteverwertung, 53(3/4): 77-85.
- Garau, R., Prota, V.A., Piredda, R., Boscia, D., Prota, U., 1997. On the possible relationship between Kober stem grooving and Grapevine virus A. Vitis, 33: 161-163.
- Gürsoy, Y.Z., Yorgancı, Ü., Erkan, S., 1988. Horozköy ve çevresindeki bağlarda görülen virüs hastalıkları üzerinde ön çalışmalar. III. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu, Bildiri Özetleri, 1988, Bursa.
- Gürsoy, Y.Z., 1991. Asma Yaprak Kıvrılma Virüsü (Grapevine Leafroll Virus Tip I ve III)'nun bazı üzüm çeşitlerinde ELISA ile saptanması. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 7-11 Ekim 1991, İzmir, 397-400.
- Glasa, M., Predajna, L., Soltys, K., Sabanadzovic, S., Olmos, A., 2015. Detection and molecular characterisation of Grapevine Syrah virus-1 isolates from Central Europe. Virus Genes., 51(1):112-21. doi: 10.1007/s11262-015-1201-1; PMID: 25940164;
- Karadeniz, H., Yağcı, A., Topkaya, Ş., Yanar, Y., 2018. Tokat İli ve İlçelerinde Bazı Bağ Virüs Hastalıklarının Serolojik Yöntemlerle Belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni. Cilt 58, Sayı 2, Sayfa 103-110.

- Kaya, A., Erilmez, S., 2014. Detection of viruses in Aegean Region grapevines. *Journal of Turkish Phytopathology*, 43 (1-3), 45-57.
- Kepsutlu, İ., Özekmekçi, E., Özek, B. ve Uğur A. 1962. Ege bağcılığında Bulaşık Soysuzlaşma (Kısaboğum) üzerinde çalışmalar. Tarım Bakanlığı Mesleki Kitaplar Serisi, D/35.
- Koerschineck, I., G. Himmler, R. Sagl, H. Steinkellner, H. Katinger, 1991. A PCR membrane spot assay for the detection of plum pox virus RNA in bark of infected trees. *J. Virol. Methods*, 31: 139-146.
- Kocabağ, H.D., Çağlayan, K., Gazel, M., 2019. Molecular Detection and Characterization of New Emerging Viruses by PCR Analysis in Hatay and Tekirdag Vineyards. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7 (5), 789-798.
- Köklü, G., 1999. Trakya Bölgesi bağlarında Asma Yaprak Kıvrılma hastalığının karakterizasyonu ve surveyi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 142s.
- Köklü, G., and Baloğlu, S., 2000. Determination of incidence of Grapevine Leafroll Associated Viruses in some grapevine varieties grown in Thrace Region. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 29(2-3), 85-94
- Martelli, G.P., 1987. Virus and virus-like diseases of grapevine in Turkey. A report to the Government of Turkey. Published by FAO: 32, Rome.
- Martelli, G.P., Boudon-Padieu, E., 2006. Directory of infectious diseases of grapevines and viroses and virus-like diseases of the grapevine: bibliographic report 1998-2004, Chiam.
- Martelli, G.P., 2014. Directory of virus and virus-like diseases of the Grapevine and their agents. *Journal of Plant Pathology*, 96 (1S): 1-134.
- Mathews, R. E. F., 1993. *Diagnosis of Plant Virus Diseases*. CRS Press, N.W., Boca Raton, Florida. 374 p.
- Özaslan, M., Baloğlu, S., Yılmaz, M.A., 1991. Kahramanmaraş Bölgesinde lokal olarak yetiştirilen üzüm çeşitlerinde virüs hastalıkları. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Bildiriler, 401-406.
- Özaslan, M., Yılmaz, M.A., 1994. Virus diseases of grapevine in Southeastern Anatolian Region in Türkiye. 9th. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası-Aydın, Türkiye, 425-427 p.
- Özaslan, M., Yılmaz, M.A., 1995. Adana, Tarsus, Şanlıurfa ve Adıyaman bölgelerinde yetiştirilen bağlara zarar veren virüs hastalıkları. Türkiye VII. Fitopatoloji Kongresi, Adana, 306-312.
- Özaslan, M., 2001. Bağlara zarar veren virüs hastalıklarının moleküler tanı ve yöntemleriyle saptanması üzerine araştırmalar. Proje no: (TOGTAK 1557), TÜBİTAK, Gaziantep.
- Rakhshandehroo, F., Pourrahim, R., Zadeh, H Z., Rezaee, S., Mohammadi, M., 2005. Incidence and distribution of viruses infecting Iranian vineyards. *Journal of Phytopathology*, 153(7/8): 480-484.
- Rowhani, A., M.A. Maningas, L.S. Lile, S.D. Daubert., D.A. Galino, 1995. Development of a detection system for viruses of wood plants based on PCR analysis of immobilized virions. *Phytopathology*, 85: 347-352.
- Sarpkaya, K., 2003. Gaziantep ili ve ilçelerinde bağ virüs hastalıklarının serolojik yöntemlerle saptanması. Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 56 s.

- Singh, R.P., Somerville, T.H., 1992. Evaluation of the enzyme-amplified ELISA for the deduction of potato viruses A,M , S, X, Y and leafroll. *Am. Potato J.*, 69: 21-30.
- Spiegel, S., and Martin, R.P., 1993. Improved detection of potato leafroll virus in dormant potato tubers and micro tubers by the polymerase chain reaction and ELISA. *Ann. Appl. Biol.* 121: 493-500.
- Tekinel, N., Dolar, M. S., Nas, Z., Bilgin, N., Salih, H. ve Salcan, Y., 1972. Akdeniz Bölgesi bağlarında Bulaşık Soysuzlaşma (Fanleaf)'nın araştırılması. *Bitki Koruma Bülteni*, 11: (4) 225-246.
- Ulubaş Serçe, Ç., Önder, S., Çiftçi, O., Altan, B., 2018. Grapevine Syrah virus-1 and Grapevine Pinot gris virus prevalence and variability in Turkish Grape Varieties. 19th Congress of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG), April 2018, Santiago, Chile , pp. 174-175. *Diseases of the Grapevine (ICVG)*.
- Vunsh, R.A., Roster, A., Stein, A., 1990. The use of the polymerase chain reaction (PCR) for detection of bean yellow mosaic virus in gladiolus. *Ann. Appl. Biol.* 117 : 561-569.
- Walkey, D.G.A., 1991. *Applied Plant Virology*. St. Edmundsbury Press, Bury St. Edmunds, Suffolk, USA, 338p.
- White, B.A., 1993. *PCR protocols; current methods and applications*, 397 pp. Humana Press, New Jersey, USA.
- Yardımcı, N., Cülal, H., 2009. Occurrence and Incidence of PNRSV, ArMV and ApMV in oil rose in lakes region of Turkey. *New Zealand Journal of Crop And Horticultural Science* 37 (2): 95-98
- Boscia D., G.P. Martelli, V. Savino, M.A. Castellano, 1991. Identification of the agent of grapevine fleck disease. *Vitis* 30, 97-105.
- Yılmaz, M.A., Yurtmen, M.İ., Çığsar, İ. and Özaslan, M., 1997. A Survey of grapevine viruses in Turkey. 12th Meeting of the ICVG. *Extended Abstracts*, Lisbon, Portugal, 113.