



T.C

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

**TOKAT İLİ BAĞ ALANLARINDA *GRAPEVINE PINOT GRIS*
VIRUS, *GRAPEVINE A VIRUS* VE *STRAWBERRY LATENT*
RINGSPOT VIRUS ETMENLERİNİN VARLIĞININ MOLEKÜLER
OLARAK BELİRLENMESİ**

BURAK GÜVENATEŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI
Dr. Öğr. Üyesi ŞERİFE 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 *GRAPEVINE PINOT GRIS VIRUS*,
GRAPEVINE A VIRUS VE *STRAWBERRY LATENT RINGSPOT VIRUS*
ETMENLERİNİN VARLIĞININ MOLEKÜLER OLARAK
BELİRLENMESİ**

BURAK GÜVENATEŞ

**TOKAT
Ağustos - 2021
Her hakkı saklıdır**



Bu tez çalışması;

**Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından
2020/17 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TOKAT İLİ BAĞ ALANLARINDA *GRAPEVINE PINOT GRIS VIRUS*, *GRAPEVINE A VIRUS* VE *STRAWBERRY LATENT RINGSPOT VIRUS* ETMENLERİNİN VARLIĞININ MOLEKÜLER OLARAK BELİRLENMESİ

BURAK GÜVENATEŞ

**TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

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

2019 yılında Tokat ilinde yapılan bu çalışmada, bağcılığın yoğun olarak yapıldığı Merkez, Erbaa, Niksar, Pazar ve Zile ilçelerindeki bazı bağ alanlarından asmaların virüs belirtisi gösteren genç yapraklarından ve bir yaşlı sürgünlerinden örnekler toplanmıştır. Toplanan 189 adet asma örneği *Grapevine pinot gris virus* (GPGV), *Grapevine A virus* (GVA), *Strawberry latent ringspot* (SLRSV) virüslerinin varlığını tespit etmek amacıyla, virüslere spesifik primerler kullanılarak moleküler bir yöntem olan RT-PCR testine tabi tutulmuştur. Test edilen 189 adet örneğin 2 (%1.05) tanesinde birden fazla virüse rastlanmıştır. Toplam 189 bitki örneğinin 80'i GVA (%42.32), 3'ü GPGV (%1.58) tespit edilmiş ve SLRSV ise (%0) saptanmamıştır. Tokat Merkez ve ilçelerinden toplanan bitki örneklerinde en yaygın görülen virüsün GVA olduğu saptanmıştır. En az saptanan virüsler ise GPGV ve SLRSV olarak tespit edilmiştir. GVA enfekteli izolatların çift yönlü sekans analizleri yapılmış ve MEGA10 bilgisayar programında hizalanmış ve gen bankasına kayıtlı izolatlarla karşılaştırması yapılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenetik analiz çalışmalarına göre, GVA gen bankasında kayıtlı farklı izolatlarla ve kendi içinde de farklı dallanmalar göstermiştir. GVA ile enfekteli izolatlar kayıtlı diğer izolatlarla %92-94 oranlarında benzerlik göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Asma, Tokat, GPGV, GVA, SLRSV, RT-PCR

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

MOLECULAR DETERMINATION OF THE EXISTENCE OF GRAPEVINE PINOT GRIS VIRUS, GRAPEVINE A VIRUS AND STRAWBERRY LATENT RINGSPOT VIRUS IN VINEYARD AREAS OF TOKAT PROVINCE

BURAK GÜVENATEŞ

TOKAT GAZİOSMANPAŞA UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

(SUPERVISOR: DR. LECTURER ŞERİFE TOPKAYA)

In this study, which was carried out in Tokat in 2021, samples were collected from young leaves and one-year-old shoots of vines showing virus symptoms from some vineyard areas in Merkez, Erbaa, Niksar, Pazar and Zile districts where viticulture is intense. Collected 189 grapevine samples were subjected to RT-PCR test, which is a molecular method using virus-specific primers, in order to detect the presence of *Grapevine pinot gris virüs* (GPGV), *Grapevine A virus* (GVA), *Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV). More than one virus was found in 2 (1.05%) of 189 tested samples. Out of a total of 189 plant samples, 80 (42.32%) of GVA, 3 (1.58%) of GPGV were detected and SLRSV (0%) was not detected. It was determined that the most common virus in the plant samples collected from Tokat Center and its districts was GVA. The least detected viruses were GPGV and SLRSV. Bidirectional analyzes of GVA sequenced isolates were performed and similar phylogenetic tree samples with MEGA10 different aligned and gene local isolates. According to phylogenetic analysis studies, GVA showed different branching within and with different isolates registered in the gene bank. GVA-infected isolates showed similarity with other registered isolates at rates of 92-94%.

KEYWORDS: *Vitis vinifera*, Tokat, GPGV, GVA, SLRSV, RT-PCR

ÖNSÖZ

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

Yüksek lisans öğrencileri; Vildan KILINÇ'a, çalıştığım kurumda yüksek lisans eğitimim için gerekli olan izinleri sağlayan idari amirlerime 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 babam Alaatdin GÜVENATEŞ ve annem Selma GÜVENATEŞ'e sonsuz minnet ve sevgilerimi sunar, teşekkürü bir borç bilirim.

BURAK GÜVENATEŞ
Ağustos 2021

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.

BURAK GÜVENATEŞ

Ağustos 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
TEZ BEYANI.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER TABLOSU	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	9
3.1. Materyal.....	9
3.2. Yöntem	9
3.2.1 Arazi surveyleri.....	9
3.2.2 Toplam RNA izolasyonu.....	11
3.2.3 RT-PCR yöntemi.....	12
3.4 Agaroze jel elektroforez çalışmaları	13
3.5 Filogenetik analiz çalışmaları.....	13
4.BULGULAR.....	14
4.1 Survey sonuçları	14
4.2 Rt-pcr Sonuçları.....	24
4.3. Filogenetik analiz sonuçları.....	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
6. KAYNAKLAR	37

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

bp
cDNA
Dntp
DNA
FAO
GPGV
GVA
SLRSV
M
M-MLV RT
PCR
RNA
RT
Rpm
TÜİK
UV
V
Ml

Açıklamalar

Baz çifti
Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit
Deoksiribonükleotid trifosfat
Deoksiribonükleik asit
Gıda ve Tarım Örgütü
GRAPEVINE PINOT GRIS VIRUS
GRAPEVINE A VIRUS
STRAWBERRY LATENT RINGSPOT
Molar
Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transkriptaz
Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Ribonükleik asit
Ters Transkripsiyon
Dakikada Devir
Türkiye İstatistik Kurumu
Ultraviyole
Volt
Mikrolitre

ŞEKİLLER TABLOSU

Şekil 3. 1 Survey yapılan ilçeler	9
Şekil 3.2. Survey alanlarından örneklerin toplanması	10
Şekil 4. 1 a) Yapraklar içe doğru kıvrılma, şekil bozukluğu b) Düzensiz renklenme c) Yapraklar arası yeşil-yaprak arası kırmızımsı d) Damarlar yeşil-damar aralarında sararma	15
Şekil 4. 2 GVA'ya spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT-PCR sonucu.....	24
Şekil 4. 3 GPGV'e spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT-PCR sonucu	25
Şekil 4. 4 GVA ile enfeksiyon tespit edilen asma örneklerindeki belirtiler	25
Şekil 4. 5 GVA ile elde edilen filogenetik ağaç.....	33



ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 1. 1. 2019 yılı Tokat ili üzüm üretim alanları ve miktarlar (TÜİK, 2019).....	1
Çizelge 3. 1. Bağ alanlarından alınan örnek sayısı	10
Çizelge 3. 2. Tokat Merkez - ilçelerin bağ alanları ve alınan örnek sayıları.....	11
Çizelge 3. 3. Çalışmada virüslere spesifik olarak kullanılan primerler ve baz dizilimleri	12
Çizelge 4. 1. Tokat Merkez, Erbaa, Niksar, Pazar ve Zile'den alınan örnek sayıları.....	14
Çizelge 4. 2. Tokat Merkez'den toplanan örnekler.....	16
Çizelge 4. 2. (Devam) Tokat Merkez'den toplanan örnekler.....	17
Çizelge 4. 3. Tokat Erbaa ilçesinden toplanan örnekler.....	18
Çizelge 4. 3. (Devam) Tokat Erbaa ilçesinden toplanan örnekler.....	19
Çizelge 4. 4. Tokat Niksar ilçesinden toplanan örnekler	19
Çizelge 4. 4. (Devam) Tokat Niksar ilçesinden toplanan örnekler	20
Çizelge 4. 5. Tokat Pazar ilçesinden toplanan örnekler	21
Çizelge 4. 5. (Devam) Tokat Pazar ilçesinden toplanan örnekler	22
Çizelge 4. 6. Tokat Zile ilçesinden toplanan örnekler.....	23
Çizelge 4. 7. Tokat Merkez örneklerinin RT-PCR sonuçları.....	26
Çizelge 4. 7. (Devamı) Tokat Merkez örneklerinin RT-PCR sonuçları.....	27
Çizelge 4. 8. Tokat Erbaa ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları	27
Çizelge 4. 8. (Devamı) Tokat Erbaa ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları	28
Çizelge 4. 9. Tokat Niksar ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları	29
Çizelge 4. 10. Tokat Pazar ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları	30
Çizelge 4. 11. Tokat Zile ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları	31
Çizelge 4. 12. Tokat bağ alanlarında saptanan virüslerin ilçelere göre dağılımı.....	32

1. GİRİŞ

Türkiye 34-49 kuzey enlemleri arasındaki konumuyla Dünya üzerinde bağcılık için en elverişli iklim kuşağından birisidir. Anadolu, kültür asmasının (*Vitis vinifera* L.) gen merkezi ve bağcılık kültürünün beşiği olarak bilinmektedir. Bağın ürünü salamuralık yaprak, kuru üzüm, sofralık üzüm, şıralık, meyve suyu ve şaraplık olarak değerlendirmiştir. Bu nedenle üzüm, dünyada en fazla üretilen ve tüketilen meyveler arasındadır. FAO verilerine göre dünyada 7.33 milyon ha alanda bağcılık yapılmakta olup, toplam üzüm üretimi 66.53 milyon tona sahiptir. Ülkemiz, bağcılık yönünden dünya üzerinde önemli ülkelerden birisi olup 435227 ha bağ alanı ile dünyada bağ alanları bakımından beşinci, 4.1 milyon tonluk üzüm üretimi ile üretimi sıralamasında beşinci sırada yer almıştır (FAO, 2018; TÜİK, 2018). Türkiye’de üretilen üzümlerin yaklaşık %52’si sofralık, %38’i kurutmalık ve %10’u da şaraplık olarak değerlendirilir. Üretilen üzümün yaklaşık %63’ü çekirdekli, %37’i ise çekirdeksizdir. Türkiye’de yılda yaklaşık 250.000 ton kuru üzüm üretimi yapılmaya devam etmektedir. Türkiye’de çekirdeksiz kuru üzüm üretimi Ege Bölgesi’nde yoğun bir şekilde yapılmaktadır. Çekirdeksiz kuru üzüm asıl olarak Sultani ve Yuvarlak Çekirdeksiz çeşitlerinden üretilmektedir. Türkiye ürettiği çekirdeksiz kuru üzümün yaklaşık %80’ini farklı ülkelere ihraç etmektedir (TÜİK, 2018). Türkiye uluslararası piyasaya Sultana olarak bilinen Sultani ve Yuvarlak Çekirdeksiz çeşitlerini çekirdeksiz kuru üzüm ve sofralık üzüm olarak arz edilmiştir. Uluslararası piyasaya sunulan diğer sofralık üzüm çeşitleri ise Yalova İncisi, Perlette, Antep Karası ve Hatun Parmağı gibi çeşitler yer almaktadır. Türk sofralık üzümünün başlıca tüketicileri Rusya Federasyonu, Almanya, Avusturya, Hollanda ve Suudi Arabistan yer alır. Çekirdeksiz kuru üzüm ve sofralık üzüm ihracatı sektörün övünç kaynağı konumundadır. Tokat ilinde ise 62 259 da alandan 51 762 ton üretim yapılmaktadır (Çizelge 1.1).

Çizelge 1. 1. 2019 yılı Tokat ili üzüm üretim alanları ve miktarlar (TÜİK, 2019)

İlçe Adı	Alan(dekar)	Üretim(ton)	Verim(kg/da)
Merkez	22 920	22 632	1 826
Zile	6 400	5555	868
Erbaa	18 840	13 314	1 492
Niksar	7 000	5 522	1 224
Pazar	3 426	4 400	2 278
Toplam	58.586	51.423	7.688

Dünyada ortalama üzüm verimi 1045 kg da-1, Türkiye’de 893,9 kg da-1’dır (TÜİK,2018). Ülkemizde bağlarımızın birim alana verimi dünya ortalamasından %14.51 daha düşük olup bunun en önemli nedenleri bağ tesislerinin, asma anaç ve üzüm çeşitlerinin çeşit özelliklerinin yeterince detaylı olarak tespit edilmeden kalite özellikleri belli olmayan, klon seleksiyonu yapılmamış, hastalık ve zararlılarla ilgili sanitasyon durumu dikkate alınmadan, sertifikasız materyalle kurulmuş olması ve modern yetiştirme tekniklerinin yeterince uygulanmamasıdır (Kara, 2018).

Virüs hastalıkları, kültür bitkilerini değişik ölçülerde etkileyerek verimlerinin önemli ölçüde azalmasına sebep olurlar. Zararları da nicel ve nitel olarak senelik veya çok senelik bitkilerin ürünlerini etkiler. Asma bitkisi gibi çok yıllık kültür bitkilerinde bu zarar her yıl devam eder ve dikimden 10-20 yıl sonra bile kendisini gösterebilir. Virüs hastalıklarına yakalanan çok yıllık bitkilerin ömürleri boyunca enfekteli olarak kalması gerek ürün kaybı ve gerekse de inokulum kaynağı olarak hizmet etmesi açısından oldukça dikkat edilmesi gerekmektedir.

Virüs hastalıklarının öncelikli zararı ürün ve dolayısı ile gelir kaybına neden olmasıdır. Dünya bağ alanlarının yaklaşık yarısını (%49) Avrupa Birliği ülkeleri oluşturur ve bağ alanlarında yapılan bir hesaba göre yıllık 75 milyar Avro düzeyinde zarara sebep olur (Sobrinho ve ark., 2013). Bu Dünya ölçeğinde 150 milyar Avro’nun üzerinde bir zarara sebep olduğu anlaşılmaktadır. Ülkemiz bağ alanlarının dünya bağ alanlarının %5’ini oluşturduğu dikkate alındığında yıllık virüs hastalıklarının neden olduğu zararın yaklaşık 7.5 milyar Avronun üzerinde olduğu tahmin edilmektedir (Villa ve ark., 2010). Bağlarda önemli virüs hastalıklarından birisi olan *Grapevine pinot gris virus* (GPGV), *Trichovirus* cinsinde pozitif duyarlı, tek zincirli bir RNA virüsüne sahiptir. Asma bitkilerinin yapraklarının ve meyvelerinin büyümesini etkiler ve asma meyvesi iç nekroz virüsüne benzerliği ile dikkat çeker. Yeni nesil sekans analiz yönteminin bitki virolojisi alanında yoğun olarak kullanılmaya başlaması ile birlikte ilk kez 2012 yılında İtalya’da saptanmış yeni bir virüstür. GPGV’nin İtalya izolatının tüm genom sekans analizi yapılmış ve bu virüsün *Trichovirus* cinsine giren *Grapevine berry inner necrosis virus* (GINV) ile çok yakın akraba olduğu bildirilmiştir (Giampetruzzi ve ark., 2012). Avrupa’da çoğunlukla şaraplık üzüm çeşitlerinde saptanan bu virüs şu ana kadar Avrupa dışında sadece Kore’de üzüm salkımlarında nekrozlar şeklinde symptom oluşturan sofralık “Tamnara” üzüm çeşidinde saptanmıştır (Cho ve ark., 2013). İlk kez Kuzey

İtalya’da Pinot gris üzüm çeşidinde saptandığı için bu isimle anılmaktadır. İlerleyen yıllarda bu virüs Kore (Cho ve ark., 2013), Slovenya (Plesko ve ark., 2014), Slovakya, Çek Cumhuriyeti (Glasa ve ark., 2014), Fransa (Beuve ve ark., 2015) ve Türkiye’de (Gazel ve ark., 2016) saptanarak her geçen yıl farklı ülkelerden kayıtlar bildirilmektedir (Salderelli ve ark., 2017). GPGV ile enfekte olan bağ gözleri ve yapraklardaki semptomlu alanlardan toplanan *Colomerus vitis*(=*Eriophyes*) olarak bilinen Bağ yaprak uyuzu akar örnekleri ile spesifik primerler kullanarak yapılan Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) analizlerinde akar bünyesinde GPGV tespit edilip bildirilmiştir. Gerek doğal koşullarda gerekse deneysel taşıma denemelerinde GPGV ile enfekteli asmalardan toplanan akarlar sağlıklı bitkilere aktarılmış ve her iki koşulda da GPGV başarılı bir şekilde taşındığı görülmüştür. Çalışma da *C. vitis*’in bu virüsün potansiyel bir vektörü olduğu bildirilmiştir (Malagnini ve ark.,2016).

Grapevine A virus (GVA), *Vitis* türlerinde dünya çapında meydana gelen, 800 nm uzunluğunda lifli parçacıklara sahip, farklı çapraz bantlar gösteren özelliklere sahip bir virüstür. Virüs, çok dar bir aralıktaki otsu konukçulara bitki özsuğu inokülasyonu yoluyla güçlükle iletilebilen bir asma patojeni olup enfekte materyalin orta ve uzun mesafelere taşınması ve bitkiler arasında ise elma pamuklu biti vektörleri ile taşındığı bilinmektedir. Ayrıca asmanın odunsu kısmında görülen belirtiler ile bilinmektedir. Aşı yerinde anaç ve kalem uyumsuzluğu gibi görülen şişkinlikler meydana gelmektedir. Asmalarda fark edilebilir bodurluğa sebep olur (Akbaş ve ark. 2008).

Strawberry latent ringspot virus (SLRSV) oldukça geniş bir konukçu çevresine sahip bir virüstür. Gül, çilek, şeftali, nektarin, nane, hıyar, şeker pancarı, marul, domates, tütün, bağ ve bir çok yabancı ot konukçuları arasında bulunur (Murant, 1976). SLRSV’nin coğrafi yayılım alanı içerisinde çoğu Avrupa ülkesi, İsrail, Türkiye, Kanada, ABD, Avustralya ve Yeni Zelanda bulunmaktadır (Anonymous, 2009). Bir Nepovirüs olan *SLRSV*’nin doğada taşınması *Xiphinema diversicaudatum* (Micol.) isimli nematod tarafından gerçekleştirilmektedir. Nematodun hem larva hem de ergin döneminde virüsü taşıdığı saptanmıştır. Virüs ayrıca mekaniksel olarak, aşı ile ve tohumla da taşınabilmektedir. (Lister, 1964; Murant, 1976; Lamberti ve ark., 1986). Virüs, yapraklarda kıvrılma ve daralmaya, çalılışmaya, ürün azalmasına, meyve ve çekirdekte deformasyonlara neden olduğu ile bilinmektedir.

Bu çalışma ile daha önce Tokat ilinde serolojik olarak varlığı rapor GVA ve SLRSV ile Türkiye’de yeni rapor edilen GPGV’un varlığının moleküler yöntemlerle tanımlanması amaçlanmıştır. Türkiye’de yeni rapor edilen GPGV etmeninin Tokat ilinde varlığı ilk defa bu çalışmada test edilmiştir.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bağcılık her zaman ekonomik açıdan önemli tarım kollarından birisi olmuştur. Bağcılığın önemli sorunları arasında virüs hastalıkları gelmektedir. Virüs hastalıklarından dolayı üzümlerde önemli verim kayıpları yaşanmaya devam edilmektedir. Virüslerle ilgili günümüzde eradikasyon ve kültürel önlemler dışında herhangi bir mücadele yönteminin olmayışı, virüslerin tanısının modern teknikler kullanılarak erken dönemde hızlı ve güvenilir tanı yöntemleriyle başarılı bir şekilde yapılmasının ne kadar önemli olduğunu açıkça ortaya koymaktadır (Önder ve ark., 2016). Dünya’da bağ virüs ve virüs benzeri hastalık etmenleri ile ilgili çalışmalar 1960’lı yıllardan sonra hız kazanmaya başlamış, yalnızca 2 tane olan virüs hastalıklarının sayısı 1997’de 43’e 1998’de 46’ya çıktığı bilinmektedir. Son yıllarda virüslerin tanısında ileri moleküler yöntemlerin kullanılmasıyla günümüzde bu sayının 60’dan fazla olduğu bilinir. Ülkemizde ise bağ virüsleri ile ilgili çalışmalar 1950’li yıllarda başlamıştır (Martelli ve Boudon-Padieu, 2006). Asma virüs hastalıkları ile ilgili çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Mahfoudhi ve ark. (1998), Tunus’ta asmalarda virüs ve benzeri hastalıkların varlığını araştırmak amacı ile toplamda 669 asma örneği test etmişlerdir. Çalışma sonucunda örneklerin %96,4’nun enfekteli olduğu bildirilmiştir. Çalışmada %87,9 *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3), %69,4 GVA, %51,9 *Grapevine fleck virus* (GFkV), %36,8 *Grapevine leafroll-associated virus 1* (GLRaV-1), %19,1 *Grapevine leafroll-associated virus 2* (GLRaV-2), %18,2 *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), %14,8 *Grapevine virus B* (GVB) virüslerini belirlemişlerdir.

Rakhshandehroo ve ark. (2005), İran’da asmaları enfekte eden virüslerin dağılımını ve sıklığını belirlemek amacıyla İran’daki 10 eyaletten ve 56 farklı bağ alanlarından belirti gösteren veya göstermeyen toplam 1542 yaprak örneği toplanmış olup GFkV, GFLV, Arabis mosaic virus (ArMV), GLRaV3, GVA, *Raspberry ringspot virus* (RpRSV), *Tobacco ringspot virus* (TRSV) etmenleri “Double Antibody Sandwich Enzyme-linked Immuno Sorbent Assay” (DAS-ELISA) testi yapılmıştır. 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 saptanmıştır.

Fiore ve ark. (2011), Şili'de Atacama bölgesinde 2007 ve 2009 yılları arasında bağlardaki virüslerin belirlenmesi amacıyla survey çalışması yürütmüşlerdir. Ekonomik açıdan önemli olan bağ virüslerinin tespit edilmesi amacıyla belirti gösteren ve göstermeyen 1000 örnekte RT-PCR yöntemi ile test yapmışlardır. Pozitif örneklerin oranı GLRaV-2 %46,8, GFkV için %30,7, Grapevine virus A (GVA) için %12,3 GFLV için %9,6 GLRaV-3 %9,1 ve GLRaV-1 için %8,8 olarak saptamışlardır. Tüm virüs enfeksiyonları açısından pozitif örneklerin oranı %68,7 olarak olduğunu tespit etmişlerdir.

Akbaş ve Erdiller (1993), Ankara'nın 8 ilçesinde bağ alanlarından örnekler almışlardır. Aldıkları bu örneklerde SLRSV, GFLV, ArMV, TBRV, AMV ve GLRaV virüslerini tespit etmişlerdir. Bu aldıkları örneklerin belirti gösterdiklerini ve bu belirtiler ile birlikte DAS-ELISA yöntemi uygulayarak hastalığı tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Çağlayan (1997), Hatay'da bağ yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı bölgelerde virüs hastalıklarını belirlemek için çalışmanın amacına uygun gerekli surveyler yaparak rastgele 36 bağdan numune almış ve ELISA yönteminin uygulandığını bildirmiştir. Belirti gösteren omcalardan alınan örnekleri ELISA yöntemi ile test ettiğinde 162 örneğin 38 tanesinde sadece bir virüs veya birden fazla virüs hastalığı ile bulaşık olduğunu saptamıştır. Yaygınlık sırasına göre GFLV (%9.87), ArMV (%8.02), SLRV (%3.09) ve GFkV (%2.47) olduğunu bulmuştur.

Köklü ve ark. (1998), 1997 yılında Trakya'da yapmış oldukları çalışmada asma virüslerinin yaygınlıkları ile ilgili çalışma yürütmüşlerdir. GVA'nın %52,1, GLRaV-3'ün %49,1, GLRaV-1'in % 33,3 oranında yaygın olduğu, GLRaV-6'nın %16,4, GLRaV-2'nin %11,5, GLRaV-7'nin %3 oranında yaygın olduğunu belirtmişlerdir.

Akbaş (1998), Karaman, Konya, Nevşehir illeri ve çevresindeki bağ alanlarında yaptığı çalışmada, 344 adet örneği biyolojik (otsu ve odunsu) ve serolojik (agar jel ve ELISA) olarak test etmiştir. Testlemelerin sonucunda asma örneklerinin ArMV, TBRV, SLRSV, GFLV, RprSV ve GLRaV ile enfekteli olduğunu saptamıştır. Bu üç ilde genel olarak en yaygın olan virüs GFLV olup, bunu sırasıyla TBRV ve GLRaV'nin izlediğini bildirmiştir. Test edilen 344 örneğin 247 (%71.8)'sinin bir ya da daha fazla virüs ile bulaşık olduğunu bulmuştur.

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 takip ettiğini bildirmişlerdir.

Çığışar (2002), 1999-2002 yılları arasında Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Nevşehir ilinin önemli bağ alanlarında virüs ve virüs benzeri hastalıkların durumunu saptamak amacıyla yaptığı çalışmada, toplam 1001 adet örneği toplayarak test etmiştir. Toplanan örnekler biyolojik ve serolojik teşhis metotları kullanmıştır. Bölgede en yaygın virüsün GVA (%41,2) olduğunu, bunu GLRaV-1 (%38,1), GFLV (%8,1) ve GFkV (%5,4)'nün izlediğini bildirmiştir.

Belir ve Açıkgöz (2005) yılında Balıkesir ilinin Edremit ve Gömeç, Bursa ilinin Orhangazi ve Aydın ilinin Sultanhisar ve Bozdoğan ilçelerinde bulunan zeytin fidanlıklarından toplanan 176 adet çiçek örneğinin DAS-ELISA testi uygulaması sonucu 64 örneğinde (% 36.36) CMV, 60 örneğinde (% 34.09) *Cherry leaf roll virus* (CLRV), 69 örneğinde (% 39.20) SLRSV ve 47 örneğinde (% 26.70) ArMV ile bulaşık olduklarını saptamıştır.

Karadeniz (2016) Tokat ilinde varlığının belirlenmesi için yapılan çalışmada, bağcılığın yoğun olarak yapıldığı Tokat merkez, Zile, Erbaa, Niksar, Pazar ve Turhal ilçelerinde bağcılık yapılan işletmelerden hastalık belirtisi gösteren bitkilerden örnek alınmıştır. Alınan örnekler, bağlarda önemli verim kayıplarına neden olan SLRSV, GLRAV-1, GFLV, ArMV, GVA, GFkV viral etmenlerinin varlığını belirlemek amacıyla DAS-ELISA yöntemi ile testlenmiştir. Test sonucuna göre alınan örneklerde % 11.78 GLRaV-1, % 5.73 ArMV, % 4.77 GVA, % 4.45 SLRSV, % 0.63 GFkV, % 0.31 GFLV oranlarında viral etmenlerin varlığının olduğunu bulunmuştur.

Kocabağ ve ark. (2019) Tekirdağ ilinden toplanan bağ örneklerinde %43,62 oranında GPGV, %1,04 oranında *Grapevine Syrah virus-1* (GSyV1) saptanmıştır. Hatay ilinden toplanan örneklerde ise sadece %0,9 oranında GSyV1 tespit edilmiş ve testlenen örnekler GPGV, GRBaV, GRLDaV açısından temiz çıkmıştır. Tekirdağ örneklerinin

GPGV için yapılan RT-PCR analizlerinde kısmi kılıf protein, hareketlilik ve replikaz genlerini çoğaltan primerler kullanıldığında sırasıyla 411 bp, 302 bp ve 618 bp büyüklüğünde PCR ürünleri elde edilmiştir. Bu ürünlerin doğrudan iki yönlü sekans analizi sonucunda ve her üç gen bölgesinin de nükleotid dizilimlerinin gen bankasında kayıtlı farklı GPGV izolatları ile yüksek oranda homoloji gösterdiğini bildirmişlerdir.



3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın ana materyali 2019 yılında Tokat ilinde bağ alanlarında GPGV, GVA, SLRSV'nın tipik hastalık belirtisi gösteren gövde çukurlaşması, yapraklarda kıvrılma, çalılama, klorotik beneklenme, deformasyon ve kırmızımsı asmalardan örnekler alınmıştır. Arazi surveylerinde toplanan yaprak ve sürgün örneklerinin yaprak damarları ve yaprak saplarından alınan parçalar çalışma materyalini oluşturmuştur. Surveylerden toplanan örnekler buzdolabında -20 °C' de muhafaza edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1 Arazi surveyleri

Tokat ilinde bağcılığın yoğun olarak yapıldığı Merkez, Erbaa, Niksar, Zile ve Pazar ilçelerindeki bağ alanlarında 2019 yılı yaz döneminde surveyler yapılmıştır(Şekil 3.1.).



Şekil 3. 1 Survey yapılan ilçeler

Surveyler esnasında bağlarda, virüs belirtisi gösteren omçaların genç yapraklarından ve bir yaşlı sürgünlerinden örnekler alınmıştır(Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Survey alanlarından örneklerin toplanması

Toplanan örnekler polietilen torbalar içinde etiketlenerek buz kutusunda laboratuvara getirilmiş ve testleninceye kadar kısa süre için + 4°C’ de uzun süre için -20°C’ de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Surveyler esnasında güdümlü örnekleme yapılmış olup, alınacak örnek sayısı her bir bağın büyüklüğü göz önünde bulundurularak Bora ve Karaca (1970)’ya göre (Çizelge 3.1) belirlenmiştir.

Çizelge 3. 1. Bağ alanlarından alınan örnek sayısı

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

Örnekleme toplam alanın yüzde ikisini kapsayacak şekilde tablodaki oranlara dahilinde yapılmıştır(Çizelge 3.2).

Çizelge 3. 2. Tokat Merkez - ilçelerin bağ alanları ve alınan örnek sayıları

İlçe Adı	Ekilen alan(dekar)	Gezilecek alan	Örnek sayısı (adet)
Merkez	21 180	423,6	43
Zile	17 000	340	35
Erbaa	16 880	337,6	36
Niksar	7 200	144	32
Pazar	3.300	66	43
Toplam	65.560	1.311,2	189

3.2.2 Toplam RNA izolasyonu

Bağ alanlarından toplanan örneklerden RNA izolasyonu Foissac ve ark. (2001) protokolüne göre çalışılmıştır. Buna göre, her bitki örneğinden 100 mg tartılıp üzerine 1 ml ekstraksiyon buffer (0.2 M sodyum asetat içeren 6 M guanidintiyosiyanat, 25 mM EDTA, 1 M potasyum asetat, %2.5 PVP-40 ve %1 mercaptoethanol) ilave edilerek havanlarda ezilerek ve yeni bir steril tüpe aktarıldıktan sonra üzerine 100 µl %10' luk sodyum laurylsarcosyl solüsyonu eklenmiş olup daha sonra tüpler 70 °C'de 10 dk inkübe edildikten sonra buz üzerinde 5 dakika bekletilmiştir.

Ependorf tüpler 14.000 rpm'de 10 dk santrifügasyondan sonra 150 µl etanol, 25 µl silika ve 300 µl 6 M sodyum iyodür içeren yeni bir ependorf tüpe 300 µl supernatant transfer edilmiştir. Daha sonra bu karışım aralıklı olarak çalkalanarak 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. 6000 rpm'de 1 dk santrifüj edildikten sonra supernatant eklendikten sonra pelletler 500 µl yıkama bufferı (0.05 mM EDTA içeren 10 mMTris-HCl, 50 mMNaCl ve %50 etanol) ile yıkanmıştır. Tekrar 6000 rpm'de santrifügasyondan sonra bir kez daha yıkama bufferı ile yıkayıp ardından yine 6000 rpm'de santrifügasyona tabi tutulup oluşan supernatantlar uzaklaştırılıp ve tüpler kurutma kâğıdı üzerinde ters çevrilerek kurutulmuştur.

Daha sonra üzerlerine 300'er µl RNase içermeyen saf su eklenerek ve 70 °C'de 4 dk inkübe edilmiş olup daha sonra 14.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilerek üst sıvı yeni bir

ependorf tüpü içine aktarılarak ve PCR işlemlerinde kullanılıncaya kadar -20°C’de saklanmıştır.

3.2.3 RT-PCR yöntemi

3.2.3.1. *Komplementer DNA (cDNA) sentezi*

RNA izolasyonu yapılan örneklerden elde edilen RNA’lar kullanılarak komplementer DNA (cDNA) sentezi yapılmıştır. cDNA sentezi yapılırken ependorf tüpler içerisinde 2 µl toplam RNA, 1µl random heksamer primer (5’-d(NNNNNN)-3’N = G, A, T veya C)(10µmol) ve 8 µl distile su ile karıştırılmıştır. Karışım 65 °C’de 5 dakika inkübasyondan sonra buz üzerine alınarak ve 3 dakika buzda bekletilmiştir.

Tüplerin içerisine 5X MMLV buffer (5X), 0,2 mMdNTP (25 mM), 0,5 µl random heksamerprimer (10 µmol), 0,25 µl RNase inhibitör (10u/µl), 0,25 µl Reversetranscriptase (20-20u/µl) ve distile su bulunan karışımdan 10 µl ilave edilerek her bir tüp 20 µl’ye tamamlanmıştır. Tüpler daha sonra thermocycler cihazında 25 °C’de 5 dakika, 42 °C’de 60 dakika 85 °C’de 5 dakika ve 10 °C’de 4 dakika inkube edilerek cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.2. *PCR yöntemi*

İlk aşamada elde edilen cDNA kalıp olarak kullanılarak virüslere spesifik primerlerle (Çizelge 3.3) Pcr işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3. 3. Çalışmada virüslere spesifik olarak kullanılan primerler ve baz dizilimleri

Hedef Virüs/Primer	Primer Dizilimi	Baz Uzunluğu	Referans
GVA-H	GACAAATGGCACACTACG	430 bp	Minafra et al. 1992
GVA-C	AAGCCTGACCTAGTCATCTTGG		
SLRSV-F	CCTCTCCAACCTGCTAGACT	497 bp	Amira et al. 2014
SLRSV-R	AAGCGCATGAAGGTGTAAC		
GPGV-F	GGAGTTGCCTTCGTTTACGA	770bp	Beuve et al.2015
GPGV-R	GTAATTGATTCGCCTCGCTCA		

PCR koşulları çalışmada kullanılan primerlerin bağlanma sıcaklığına göre değişmekte olup literatürde bildirilen koşullar uygulanmıştır.

3.4 Agaroz jel elektroforez alışmaları

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'da 1 saat elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Elektroforez işlemi sonunda görüntüleme cihazında görüntüleme işlemi yapılmıştır.

3.5 Filogenetik analiz alışmaları

Filogenetik alışmalar için RT-PCR sonunda pozitif sonuç veren izolatlardan GVA etmenine ait 10 tane izolatın RT-PCR ürünleri sekansa gönderilmiştir. Sekanslama sonunda elde edilen veriler MEGA10 bilgisayar programı ile analiz edilmiştir. Veriler daha sonra National Center for Biotechnology Information (NCBI) gen bankasında kayıtlı referans izolatlarla kıyaslanarak filogenetik ağaç oluşturulmuş ve akrabalık dereceleri karşılaştırılmıştır.

4.BULGULAR

Tokat ilinde ekonomik açıdan bağcılık önemli bir yere sahiptir. Bağcılığın önemli sorunlarından biri olan virüs hastalıklarından dolayı üzümlerde önemli verim kayıpları yaşanmaya devam etmektedir. Tokat ili bağ alanlarında viral etmenlerin bulunmasıyla ilgili daha önceden yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yürütülen bu çalışma ile Tokat Merkez, Erbaa, Niksar, Pazar ve Zile ilçelerindeki bazı bağ alanlarında, GPGV, GVA, SLRSV virüslerinin varlığı moleküler yöntemlerle (RT-PCR) araştırılmıştır. Araştırmada filogenetik analiz çalışmaları yapılmış, RT-PCR testleri sonucunda pozitif sonuç veren izolatlar çift yönlü sekans analizine gönderilmiş olup, analiz sonucunda elde edilen veriler MEGA10 bilgisayar programı ile analiz edilerek filogenetik ağaç oluşturulmuş ve akrabalık dereceleri karşılaştırılmıştır.

4.1 Survey sonuçları

Çalışma için 2019 yılında Tokat Merkez köylerinden Güryıldız'dan 20, Küçük Yıldız'dan 23 toplam 43 adet; Erbaa Doğanyurt köyünden toplam 36 adet; Niksar Gökçeli köyünden 32 adet; Pazar Üzümlören Beldesinin Dereköy köyünden 43 adet ve Zile Merkez 35 adet olmak üzere toplam 189 adet asma örneği toplanmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1. Tokat Merkez, Erbaa, Niksar, Pazar ve Zile'den alınan örnek sayıları

İlçe	Örnek Sayısı (Adet)
Merkez	43
Erbaa	36
Niksar	32
Pazar	43
Zile	35
Toplam	189

Alınan örneklerdeki belirtiler; mozaik, sararma, damarlar yeşil-damar aralarında sararma, damarlarda sararma-damar aralarında yeşil renk oluşumu, damarlarda renk açılması, damar bantlaşması, şekil bozuklukları, kızarıklık, yaprakların ana damarları yeşil-damar aralarında kırmızılaşma, nekrotik lekeler, kahverengi lekeler, beneklenme,

kabarmalar, yapraklarda içe doğru kıvrılma, yelpaze yaprak oluşumu ve küçülme, meyve tutumunda azalma, irili ufaklı tane oluşumu, düzensiz renklenme, gelişme geriliği ve genel bodurluk şeklinde gözlemlenmiştir(Şekil 4.2 a,b,c,d).



Şekil 4. 1 a) Yapraklar içe doğru kıvrılma, şekil bozukluğu b) Düzensiz renklenme c) Yapraklar arası yeşil-yaprak arası kırmızımsı d) Damarlar yeşil-damar aralarında sararma

Alınan asma örneklerinin alındığı bağın yeri, alınan örneklerin kodu ve örneklerde gözlemlenen semptomlar Çizelge 4.2- 4.6’te verilmiştir.

Çizelge 4. 2. Tokat Merkez’den toplanan örnekler

İLÇE	KÖY	KOD	Belirtiler
MERKEZ	Güryıldız	T-1	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Güryıldız	T-2	Nekrotik leke, sararma
	Güryıldız	T-3	Nekrotik leke, sararma
	Güryıldız	T-4	Nekrotik leke, sararma
	Güryıldız	T-5	Kabarma, sararma
	Güryıldız	T-6	Damarlar yeşil-damarlar arası kızarıklık
	Güryıldız	T-7	Hafif sararma
	Güryıldız	T-8	Hafif kabarma, sararma
	Güryıldız	T-9	Kızarıklık
	Güryıldız	T-10	Mozaik, kızarıklık
	Güryıldız	T-11	Kızarıklık
	Güryıldız	T-12	Kızarıklık
	Güryıldız	T-13	Nekrotik leke, kızarıklık
	Güryıldız	T-14	Nekrotik leke, sararma
	Güryıldız	T-15	Mozaik
	Güryıldız	T-16	Sararma
	Güryıldız	T-17	Kızarıklık
	Güryıldız	T-18	Mozaik, hafif sararma
	Güryıldız	T-19	Mozaik, hafif sararma
	Güryıldız	T-20	Sararma
	Küçükyıldız	T-21	Nekrotik leke
	Küçükyıldız	T-22	Nekrotik leke, sararma, kızarıklık
	Küçükyıldız	T-23	Damar bantlaşma, sararma
	Küçükyıldız	T-24	Kızarıklık

Çizelge 4. 2. (Devam) Tokat Merkez’den toplanan örnekler

MERKEZ	Küçük yıldız	T-25	Kızarıklık, nekrotik leke
	Küçük yıldız	T-26	Kızarıklık, nekrotik leke
	Küçük yıldız	T-27	Kızarıklık, nekrotik leke
	Küçük yıldız	T-28	Kızarıklık, sararma, nekrotik leke
	Küçük yıldız	T-29	Kızarıklık, nekrotik leke
	Küçük yıldız	T-30	Mozaik
	Küçük yıldız	T-31	Mozaik, nekrotik leke
	Küçük yıldız	T-32	Mozaik, nekrotik leke
	Küçük yıldız	T-33	Kızarıklık
	Küçük yıldız	T-34	Kızarıklık
	Küçük yıldız	T-35	Hafif sararma, nekrotik leke, kızarıklık
	Küçük yıldız	T-36	Sararma, nekrotik leke
	Küçük yıldız	T-37	Kızarıklık
	Küçük yıldız	T-38	Damar bantlaşma
	Küçük yıldız	T-39	Hafif kabarma, sararma
	Küçük yıldız	T-40	Damar bantlaşma, sararma
	Küçük yıldız	T-41	Sararma
	Küçük yıldız	T-42	Damar bantlaşma, sararma
	Küçük yıldız	T-43	Mozaik

Çizelge 4. 3. Tokat Erbaa ilçesinden toplanan örnekler

ERBAA	KÖY	KOD	BELİRTİLERİ
	Doğanyurt	D-1	Hafif sararma, mozaik, kızarıklık
	Doğanyurt	D-2	Yapraklar içe doğru kıvrılma, şekil bozukluğu
	Doğanyurt	D-3	Belirti yok
	Doğanyurt	D-4	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-5	Kırmızımsı
	Doğanyurt	D-6	Sararma ve mozaik
	Doğanyurt	D-7	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-8	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-9	Sararma
	Doğanyurt	D-10	Sararma ve mozaik
	Doğanyurt	D-11	Sararma ve mozaik
	Doğanyurt	D-12	Hafif kabarmalar, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-13	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-14	Kızarıklık
	Doğanyurt	D-15	Kızarıklık
	Doğanyurt	D-16	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-17	Mozaik
	Doğanyurt	D-18	Damar bantlaşma
	Doğanyurt	D-19	Nekrotik leke, mozaik
	Doğanyurt	D-20	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-21	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma, hafif kabarma

Çizelge 4. 3. (Devam) Tokat Erbaa ilçesinden toplanan örnekler

ERBAA	Doğanyurt	D-22	Mozaik
	Doğanyurt	D-23	Hafif sararma
	Doğanyurt	D-24	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-25	Sararma
	Doğanyurt	D-26	Kızarıklık
	Doğanyurt	D-27	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma, hafif kabarma
	Doğanyurt	D-28	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma, mozaik
	Doğanyurt	D-29	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-30	Sararma
	Doğanyurt	D-31	Hafif sararma, mozaik
	Doğanyurt	D-32	Kabarma, mozaik, hafif sararma
	Doğanyurt	D-33	Mozaik
	Doğanyurt	D-34	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Doğanyurt	D-35	Sararma
	Doğanyurt	D-36	Hafif kızarıklık, mozaik

Çizelge 4. 4. Tokat Niksar ilçesinden toplanan örnekler

NİKSAR	KÖY	KOD	BELİRTİLERİ
	Gökçeli	N-1	Nekrotik leke, mozaik
	Gökçeli	N-2	Kabarma, sararma
	Gökçeli	N-3	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma
	Gökçeli	N-4	Sararma
	Gökçeli	N-5	Kızarıklık
	Gökçeli	N-6	Sararma, nekrotik leke

Çizelge 4. 4. (Devam) Tokat Niksar ilçesinden toplanan örnekler

NİKSAR	Gökçeli	N-7	Mozaik
	Gökçeli	N-8	Hafif sararma
	Gökçeli	N-9	Nekrotik leke, damarlanma
	Gökçeli	N-10	Kızarıklık
	Gökçeli	N-11	Sararma
	Gökçeli	N-12	Damar bantlaşma
	Gökçeli	N-13	Kızarıklık
	Gökçeli	N-14	Sararma
	Gökçeli	N-15	Mozaik
	Gökçeli	N-16	Mozaik
	Gökçeli	N-17	Hafif sararma
	Gökçeli	N-18	Kabarma, mozaik
	Gökçeli	N-19	Kızarıklık, hafif sararma
	Gökçeli	N-20	Düzensiz renklenme
	Gökçeli	N-21	Mozaik, sararma
	Gökçeli	N-22	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Gökçeli	N-23	Sararma
	Gökçeli	N-24	Mozaik, hafif sararma
	Gökçeli	N-25	Kızarıklık
	Gökçeli	N-26	Sararma
	Gökçeli	N-27	Nekrotik leke
	Gökçeli	N-28	Mozaik, sararma
	Gökçeli	N-29	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Gökçeli	N-30	Mozaik, sararma
	Gökçeli	N-31	Sararma
	Gökçeli	N-33	Damarlar yeşil, damar aralarında sararma

Çizelge 4.5. Tokat Pazar ilçesinden toplanan örnekler

	KÖY	KOD	BELİRTİLERİ
PAZAR	Dereköy	Ü-1	Sararma, mozaik
	Dereköy	Ü-2	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma, mozaik
	Dereköy	Ü-3	Mozaik
	Dereköy	Ü-4	Mozaik
	Dereköy	Ü-5	Hafif sararma, düzensiz renklenme
	Dereköy	Ü-6	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Dereköy	Ü-7	Sararma, mozaik
	Dereköy	Ü-8	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Dereköy	Ü-9	Mozaik, hafif sararma
	Dereköy	Ü-10	Sararma, mozaik
	Dereköy	Ü-11	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Dereköy	Ü-12	Nekrotik renklenme, sararma
	Dereköy	Ü-13	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Dereköy	Ü-14	Kabarma, hafif sararma, mozaik
	Dereköy	Ü-15	Hafif sararma
	Dereköy	Ü-16	Nekrotik leke, damarlanma
	Dereköy	Ü-17	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Dereköy	Ü-18	Mozaik, sararma
	Dereköy	Ü-19	Mozaik, sararma
	Dereköy	Ü-20	Mozaik, sararma
	Dereköy	Ü-21	Kırmızımsı, sararma
	Dereköy	Ü-22	Nekrotik leke

Çizelge 4. 5. (Devam) Tokat Pazar ilçesinden toplanan örnekler

PAZAR	Dereköy	Ü-23	Mozaik, sararma, damarlanma
	Dereköy	Ü-24	Mozaik, sararma
	Dereköy	Ü-25	Nekrotik leke, sararma
	Dereköy	Ü-26	Mozaik, sararma, nekrotik leke
	Dereköy	Ü-27	Mozaik, sararma
	Dereköy	Ü-28	Mozaik, sararma
	Dereköy	Ü-29	Kabarma, Mozaik, Sararma
	Dereköy	Ü-30	Kızarıklık, nekrotik leke
	Dereköy	Ü-31	Kızarıklık
	Dereköy	Ü-32	Kızarıklık, sararma, nekrotik leke
	Dereköy	Ü-33	Düzensiz leke, kızarıklık, sararma
	Dereköy	Ü-34	Kızarıklık
	Dereköy	Ü-35	Sararma, kızarıklık
	Dereköy	Ü-36	Düzensiz leke, kızarıklık, sararma
	Dereköy	Ü-37	Düzensiz renklenme
	Dereköy	Ü-38	Kızarıklık
	Dereköy	Ü-39	Düzensiz renklenme
	Dereköy	Ü-40	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Dereköy	Ü-41	Mozaik, sararma
	Dereköy	Ü-42	Kızarıklık
	Dereköy	Ü-43	Sararma, nekrotik leke

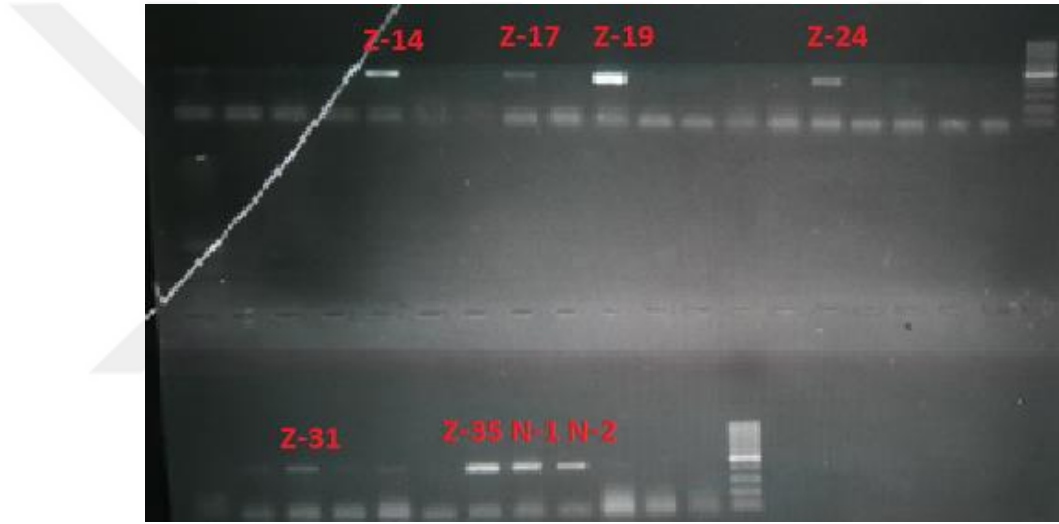
Çizelge 4.6. Tokat Zile ilçesinden toplanan örnekler

ZİLE	Merkez	Z-1	Kabarma, şekil bozukluğu, nekrotik leke
	Merkez	Z-2	Kızarıklık, mozaik
	Merkez	Z-3	Kızarıklık
	Merkez	Z-4	Nekrotik leke, sararma
	Merkez	Z-5	Nekrotik leke, sararma
	Merkez	Z-6	Mozaik, sararma, damarlanma
	Merkez	Z-7	Mozaik, hafif sararma
	Merkez	Z-8	Sararma
	Merkez	Z-9	Nekrotik leke, sararma
	Merkez	Z-10	Mozaik, sararma
	Merkez	Z-11	Mozaik, sararma
	Merkez	Z-12	Kızarıklık
	Merkez	Z-13	Nekrotik leke, sararma
	Merkez	Z-14	Sararma, nekrotik leke
	Merkez	Z-15	Mozaik
	Merkez	Z-16	Mozaik
	Merkez	Z-17	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Merkez	Z-18	Mozaik, sararma
	Merkez	Z-19	Kızarıklık
	Merkez	Z-20	Sararma
	Merkez	Z-21	Şekil bozukluğu
	Merkez	Z-22	Kızarıklık
	Merkez	Z-23	Damarlar yeşil-damarlar arası sararma
	Merkez	Z-24	Mozaik
	Merkez	Z-25	Sararma
	Merkez	Z-26	Şekil bozukluğu, yapraklar içe doğru kıvrılma
	Merkez	Z-27	Sararma
	Merkez	Z-28	Kızarıklık, sararma
	Merkez	Z-29	Sararma
	Merkez	Z-30	Nekrotik leke, sararma
	Merkez	Z-31	Kızarıklık
	Merkez	Z-32	Mozaik
	Merkez	Z-33	Kızarıklık, nekrotik leke
	Merkez	Z-34	Sararma
	Merkez	ZL1-35	Kızarıklık

4.2 Rt-pcr Sonuçları

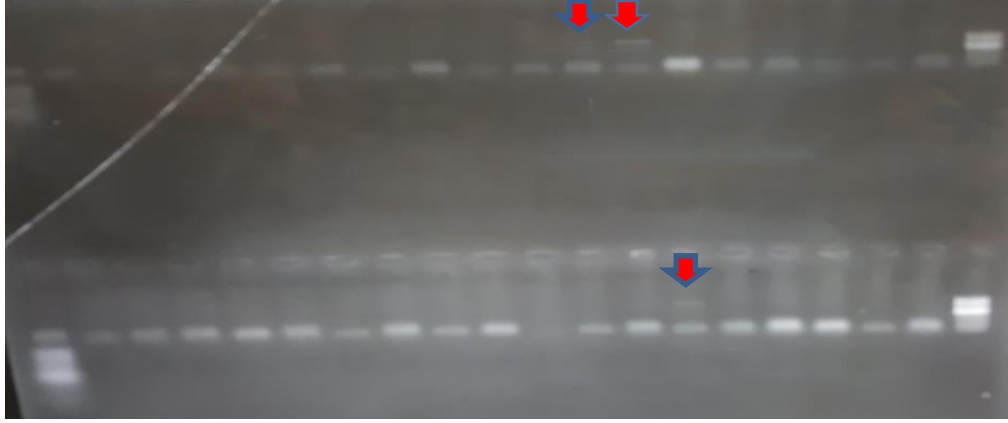
Toplanan 189 adet asma örneğinden virüslerin varlığını tespit etmek üzere RNA izolasyonu yapılmıştır. Daha sonra RNA izolasyonu yapılan örneklerden hexamer primerle cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir ve asma örnekleri araştırma konusu virüslerin (GPGV, GVA, SLRSV) belirlenmesi için virüslere spesifik primerlerle RT-PCR işlemine tabii tutulmuştur.

GVA'ya spesifik GVA 1-F ve GVA 1-R primerleri ile yapılan RT-PCR testi sonucunda toplam 81 örnekte beklenen büyüklükte (430 bp) bant elde edilmiştir (Şekil 4.2.).



Şekil 4. 2 GVA'ya spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT-PCR sonucu

GPGV'ye spesifik GPGV 2-F ve GPGV 2-R primerleri ile yapılan RT-PCR testi sonucunda Niksar ilçesine ait üç örnekte (N-1, N-2, N-22) beklenen büyüklükte (770 bp) bant elde edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4. 3 GPGV'e spesifik primerle yapılan bazı izolatlara ait RT-PCR sonucu

GVA ile enfeksiyon tespit edilen asma örneklerindeki belirtileri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4. 4 GVA ile enfeksiyon tespit edilen asma örneklerindeki belirtiler

Çizelge 4. 7. Tokat Merkez örneklerinin RT-PCR sonuçları

Kodu	GVA	GPGV	SLRSV
T-1	+	-	-
T-2	+	-	-
T-3	-	-	-
T-4	-	-	-
T-5	-	-	-
T-6	-	-	-
T-7	+	-	-
T-8	+	-	-
T-9	-	-	-
T-10	+	-	-
T-11	-	-	-
T-12	-	-	-
T-13	-	-	-
T-14	-	-	-
T-15	-	-	-
T-16	+	-	-
T-17	-	-	-
T-18	-	-	-
T-19	+	-	-
T-20	-	-	-
T-21	-	-	-
T-22	-	-	-
T-23	-	-	-
T-24	-	-	-
T-25	+	-	-
T-26	+	-	-
T-27	+	-	-
T-28	-	-	-
T-29	-	-	-
T-30	+	-	-
T-31	-	-	-
T-32	-	-	-
T-33	-	-	-
T-34	-	-	-

Çizelge 4. 7. (Devamı) Tokat Merkez örneklerinin RT-PCR sonuçları

T-35	+	-	-
T-36	-	-	-
T-37	-	-	-
T-38	-	-	-
T-39	+	-	-
T-40	-	-	-
T-41	-	-	-
T-42	+	-	-
T-43	-	-	-

+: pozitif sonuç -: negatif sonuç: çalışılmadı

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan testler sonucunda Tokat Merkez’den toplanan 43 adet örneğin 14 tanesinin (%32.5) enfekteli olduğu belirlenmiştir. Enfekteli 14 adet örneğin GVA ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. Tokat Merkez’den toplanan asma örneklerinde GPGV ve SLRSV virüsleri ile bulaşık örnek tespit edilmemiştir. Merkez’den toplanan ve enfekteli bulunan örnekler içerisinde en yaygın görülen virüsün GVA olduğu saptanmıştır. Merkez’de bağ alanlarından alınan örnekler içerisinde enfekteli örneklerden Küçükyıldız ve Güryıldız köyünde yaklaşık aynı oranda tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 8. Tokat Erbaa ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları

Kodu	GVA	GPGV	SLRSV
D-1	+	-	-
D-2	+	-	-
D-3	+	-	-
D-4	+	-	-
D-5	+	-	-
D-6	+	-	-
D-7	+	-	-
D-8	+	-	-
D-9	+	-	-
D-10	-	-	-
D-11	-	-	-

Çizelge 4. 8. (Devamı) Tokat Erbaa ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları

D-12	+	-	-
D-13	+	-	-
D-14	+	-	-
D-15	+	-	-
D-16	+	-	-
D-17	+	-	-
D-18	-	-	-
D-19	-	-	-
D-20	-	-	-
D-21	+	-	-
D-22	+	-	-
D-23	+	-	-
D-24	+	-	-
D-25	+	-	-
D-26	+	-	-
D-27	+	-	-
D-28	+	-	-
D-29	-	-	-
D-30	-	-	-
D-31	-	-	-
D-32	-	-	-
D-33	+	-	-
D-34	+	-	-
D-35	-	-	-
D-36	-	-	-

+: pozitif sonuç -: negatif sonuç: çalışılmadı

Çizelge 4.8.'de belirtildiği gibi RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan testler sonucunda Tokat Erbaa ilçesinden toplanan ve test edilen 36 adet örneğin 25 tanesi (%69.4) GVA ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. GPGV ve SLSRV virüsleri ile bulaşık örnek tespit edilmemiştir. Erbaa ilçesinden toplanan ve enfekteli bulunan örnekler içerisinde en yaygın görülen virüsün GVA olduğu saptanmıştır. Erbaa ilçesindeki Doğanyurt köyünde bağ alanlarından alınan örnekler GVA ile yoğun bir şekilde enfekteli örnek tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 9. Tokat Niksar ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları

Kodu	GVA	GPGV	SLRSV
N-1	+	+	-
N-2	+	+	-
N-3	-	-	-
N-4	-	-	-
N-5	-	-	-
N-6	-	-	-
N-7	+	-	-
N-8	+	-	-
N-9	-	-	-
N-10	-	-	-
N-11	-	-	-
N-12	+	-	-
N-13	+	-	-
N-14	-	-	-
N-15	-	-	-
N-16	+	-	-
N-17	+	-	-
N-18	-	-	-
N-19	-	-	-
N-20	+	-	-
N-21	-	-	-
N-22	-	+	-
N-23	-	-	-
N-24	-	-	-
N-25	-	-	-
N-26	-	-	-
N-27	-	-	-
N-28	-	-	-
N-29	-	-	-
N-30	-	-	-
N-31	-	-	-
N-32	+	-	-

+: pozitif sonuç -: negatif sonuç: çalışılmadı

Çizelge 4.9.'da belirtildiği gibi RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan testler sonucunda Tokat Niksar'dan toplanan 32 adet örneğin 2 tanesinin (%5.71) birden fazla virüs ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Test edilen 32 adet örneğin 8 tanesi (%25) GVA, 1 tanesi (%3.12) GPGV ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. SLRSV virüsü ile bulaşık örnek tespit edilmemiştir. Ayrıca enfekteli örneklerin 2'si GVA + GPGV çoklu enfeksiyonları ile enfekteli olarak saptanmıştır. Niksar ilçesinden toplanan ve enfekteli bulunan örnekler içerisinde en yaygın görülen virüsün GVA olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4. 10. Tokat Pazar ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları

Kodu	GVA	GPGV	SLRSV
Ü-1	+	-	-
Ü-2	+	-	-
Ü-3	+	-	-
Ü-4	+	-	-
Ü-5	+	-	-
Ü-6	+	-	-
Ü-7	+	-	-
Ü-8	+	-	-
Ü-9	-	-	-
Ü-10	-	-	-
Ü-11	+	-	-
Ü-12	-	-	-
Ü-13	-	-	-
Ü-14	-	-	-
Ü-15	-	-	-
Ü-16	-	-	-
Ü-17	-	-	-
Ü-18	-	-	-
Ü-19	-	-	-
Ü-20	-	-	-
Ü-21	-	-	-
Ü-22	-	-	-
Ü-23	-	-	-
Ü-24	+	-	-
Ü-25	+	-	-
Ü-26	+	-	-
Ü-27	+	-	-
Ü-28	+	-	-
Ü-29	+	-	-
Ü-30	-	-	-
Ü-31	-	-	-
Ü-32	+	-	-
Ü-33	-	-	-
Ü-34	-	-	-
Ü-35	+	-	-
Ü-36	+	-	-
Ü-37	+	-	-
Ü-38	-	-	-
Ü-39	-	-	-
Ü-40	-	-	-
Ü-41	-	-	-
Ü-42	-	-	-
Ü-43	-	-	-

+: pozitif sonuç -: negatif sonuç: çalışılmadı

Çizelge 4.10’da belirtildiği gibi RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan testler sonucunda Tokat Pazar’dan toplanan 43 adet örneğin 19 tanesinin (%44.1) enfekteli olduğu belirlenmiştir. Test edilen 43 adet örneğin 19 tanesi (%44.1) GVA ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. GPGV ve SLRSV virüsleri ile bulaşık örnek tespit edilmemiştir. Pazar ilçesi Üzümlören köyünden toplanan ve enfekteli bulunan örnekler içerisinde en yaygın görülen virüsün GVA olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4. 11. Tokat Zile ilçesi örneklerinin RT-PCR sonuçları

Kodu	GVA	GPGV	SLRSV
Z-1	-	-	-
Z-2	-	-	-
Z-3	-	-	-
Z-4	-	-	-
Z-5	-	-	-
Z-6	+	-	-
Z-7	+	-	-
Z-8	-	-	-
Z-9	-	-	-
Z-10	+	-	-
Z-11	-	-	-
Z-12	-	-	-
Z-13	-	-	-
Z-14	+	-	-
Z-15	-	-	-
Z-16	-	-	-
Z-17	+	-	-
Z-18	-	-	-
Z-19	+	-	-
Z-20	-	-	-
Z-21	-	-	-
Z-22	-	-	-
Z-23	-	-	-
Z-24	+	-	-
Z-25	-	-	-
Z-26	-	-	-
Z-27	-	-	-
Z-28	-	-	-
Z-29	-	-	-
Z-30	+	-	-
Z-31	+	-	-
Z-32	+	-	-
Z-33	+	-	-
Z-34	-	-	-
ZL1-35	+	-	-

+: pozitif sonuç -: negatif sonuç: çalışılmadı

Çizelge 4.11’de belirtildiği gibi RT-PCR yöntemi kullanılarak yapılan testler sonucunda Tokat Zile’den toplanan 35 adet örneğin 12 tanesinin (%34.28) enfekteli olduğu belirlenmiştir. Test edilen 35 adet örneğin 12 tanesi (%34.28) GVA ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. GPGV ve SLRSV virüsleri ile bulaşık örnek tespit edilmemiştir.

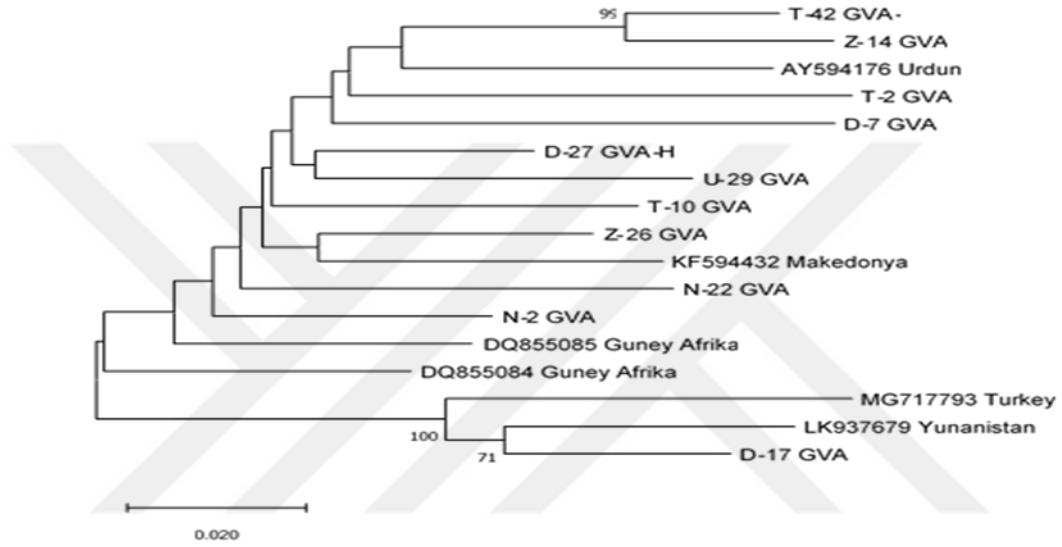
Tokat Merkez ve ilçelerinden alınan toplam 189 tane örnek GVA, GPGV ve SLRSV virüslerinin varlığı açısından test edilmiştir. Test edilen toplam 189 adet asma örneğinin 81’sinde pozitif sonuç elde edilmiştir. Test edilen toplam 189 bitki örneğinin 80’i GVA (%42.32) ve 3’ü GPGV (%1.58) ile enfekteli bulunmuştur. Tokat Merkez ve ilçelerinden toplanan bitki örneklerinde en yaygın görülen virüsün GVA olduğu ve bunu GPGV’nin izlediği saptanmıştır. SLRSV ile enfekteli örnek tespit edilmemiştir. Tokat bağ alanlarında saptanan virüslerin ilçelere göre dağılımı aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.12.)

Çizelge 4. 12. Tokat bağ alanlarında saptanan virüslerin ilçelere göre dağılımı

İlçe	Enfekteli Bitki Sayısı	GVA	GPGV	SLRSV
Merkez	14	14	-	-
Erbaa	25	25	-	-
Niksar	13	10	3	-
Pazar	19	19	-	-
Zile	12	12	-	-
Toplam	83	80	3	-

4.3. Filogenetik analiz sonuçları

GVA ile enfekteli 10 örneğe ait 347 baz uzunluğundaki CP bölgesine ait sekans verileri ile yapılan filogenetik analiz sonucunda, çalışmada elde edilen D17 izolatu Yunanistan izolatu ile benzer dallanma gösterirken, diğ er izolatlar Makedonya, Ürdün ve Güney Afrika izolatlarına yakın benzerlik göstermiş ve ayrı bir dallanma oluşturmuştur(Şekil 4.5).



Şekil 4. 5 GVA ile elde edilen filogenetik ağaç

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Anadolu dünyanın önemli üzüm üreticisi konumunda olmasına rağmen son 20-25 yıldır Anadolu'da bağcılığın gerilemeye başladığı görülmektedir. Bu gerilemenin nedenleri arasında çok çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bunların başında hiç kuşkusuz bitki koruma problemleri gelmektedir. Bitki koruma faktörleri arasında da üretim materyalleri ile hızlı bir şekilde yayılan ve gözle görülebilir belirtilerini bağ tesisinden 4-5 yıl sonra gösteren virüs hastalıklarının ayrı bir yeri ve öneme sahiptir.

Virüs hastalıkları, kültür bitkilerini değişik ölçülerde etkileyerek verimlerinin önemli ölçüde azalmasına sebep olurlar. Zararları da nicel ve nitel olarak senelik veya çok senelik bitkilerin ürünlerini etkiler. Asma bitkisi gibi çok yıllık kültür bitkilerinde bu zarar her yıl devam ederek gideceğinden dikimden 10-20 yıl sonra bile kendisini gösterebiliyor.

Virüs hastalıklarına yakalanan çok yıllık bitkilerin ömürleri boyunca enfekteli olarak kalması gerek ürün kaybı ve gerekse de inokulum kaynağı olarak hizmet etmesi açısından oldukça dikkat edilmesi gerekmektedir. Belirli bir ağaçta virüsün neden olduğu belirtilerle ortaya çıkan ürün kaybı yıldan yıla değişiklik gösterebilir. Bağlarda önemli kayıplara neden olan hastalık (külleme) ve zararlılar (salkım güvesi) ile mücadele yapılabiliyorken bağ virüsleri ile henüz doğrudan uygulanabilen bir ilaçlı mücadele yöntemi bulunmamaktadır.

Bu yüzden virüsler ile gereken önlemin erkenden alınması oldukça hayatidir. Tokat İlinde yoğun bir şekilde yapılan bağcılığın gelişimi için de alınacak önlemler ve tespitler ciddi önem kazanmaktadır. Bağcılığın yaygın olarak yapıldığı Tokat ilinde virüs hastalıklarının oluşturduğu zararlar göz önüne alındığında bu çalışma ile bağ alanlarında zarar oluşturacak virüs hastalıklarının varlığının tespiti önem arz etmektedir. Çünkü virüs hastalıklar ile mücadelede öncelikli olarak viral etmenin tanımlanmasıdır.

Asmada zarar yapan virüs ve virüs benzeri hastalık etmenleri bitkide gelişme geriliklerine, şekil bozukluğuna, yapraklarda renk değişimine ve ürün kayıplarına neden olur.

Bunlar içerisinde asmada ekonomik olarak zarar yapan önemli etmenler arasında asma gövde çukurlaşma hastalığına sebep olan GVA virüsü asmalarda fark edilebilir bodurluğa neden oluşturduğu bildirilmektedir (Akbaş ve ark. 2008). Bağcılığın yaygın olarak yapıldığı ülkemizde virüs hastalıklarının oluşturduğu zararlar göz ardı edilmemelidir. Varlığının tespiti ve alınması gereken önlemler bu olumsuz koşulları ortadan kaldırmak için önemlidir.

Yapılan bu çalışma ile Tokat Merkez ve ilçelerinden alınan toplam 189 tane örnek GVA, GPGV ve SLRSV virüslerinin varlığı açısından test edilmiştir. Test edilen toplam 189 adet asma örneğinin 81'sinde pozitif sonuç elde edilmiştir. Test edilen toplam 189 bitki örneğinin 80'i GVA (%52.28) ve 3'ü GPGV (%1.01) ile enfekteli bulunmuştur. Tokat Merkez ve ilçelerinden toplanan bitki örneklerinde en yaygın görülen virüsün GVA olduğu ve bunu GPGV'nin izlediği saptanmıştır. SLRSV ile enfekteli örnek tespit edilmemiştir.

Karadeniz (2016) tarafından 2016 yılında yapılan çalışmada bağcılığın yoğun olarak yapıldığı Tokat merkez, Zile, Erbaa, Niksar, Pazar ve Turhal ilçelerinde bağcılık yapılan işletmelerden hastalık belirtisi gösteren bitkilerden örnek alınmıştır. Alınan 298 örneğin 15 tanesinde GVA ile enfekteli olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma ile 189 asma örneğinden 80 tanesinin GVA ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Buradan çıkarılacak en önemli sonuç Tokat ilinde her geçen yıl hastalığın bulaşma oranını artırır.

Ayrıca bu çalışma ile Türkiye'de yeni rapor edilen GPGV, moleküler yöntemlerle tanımlanması yapılmıştır. Türkiye'de yeni rapor edilen GPGV etmenlerinin Tokat ilinde varlığı ilk defa bu çalışmada test edilmiştir. Gazel ve ark (2016) yılında yaprak deformasyonu ve meyve verim ve kalitesini düşüren beneklenme belirtileri gözlemlenen on sekiz şüpheli numune toplanarak GPGV için RT-PCR testi uygulamışlardır. Test sonucu Türkiye'de asmada GPGV ilk raporu elde etmişlerdir.

Kocabağ ve ark. (2019) Tekirdağ ve Hatay ilinde bağ alanlarından asma örnekleri toplamışlar ve toplam olarak Tekirdağ ilinden 191, Hatay ilinden ise 111 örnek toplanmıştır. Tekirdağ ilinden toplanan bağ örneklerinde %43,62 oranında GPGV saptamışlardır.

Çalışmada SLRSV ait çalışmada herhangi bir enfekteli örnek bulunmamış olsa daha önce Beler ve Açıkgöz (2015) yılında rapor edilen Balıkesir ilinin Edremit ve Gömeç, Bursa ilinin Orhangazi ve Aydın ilinin Sultanhisar ve Bozdoğan ilçelerinde bulunan zeytin fidanlıklarından toplanan 176 adet çiçek örneğinin DAS-ELISA testi uygulaması sonucu 69 örneğinde (% 39.20) SLRSV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre söz konusu viral etmenlerin bulaşıklık oranı düşük olmasına veya bu çalışmada saptanmamasına rağmen bölgede yayılma riskleri yüksektir. Bu nedenle viral etmenlerin yayılmasını önlemeye yönelik tedbirlerin alınması ve üreticilerin bu konuda bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Bu etmenin taşınmasında rol alan vektör nematodlarla da mücadele edilmesi gerekmektedir. Araştırma konusu diğer virüsler kabuklu bit ve akar türleriyle taşındığından dolayı vektör böceklerle mücadele edilmesi gerekmektedir.

Türkiye’de bağcılık tarımsal bir iş kolu olarak önem arz etmekte ve bitkisel üretimde önemli bir paya sahip olmaya devam etmektedir. Üzüm üretiminin yanı sıra taze ve salamuralık asma yaprağına olan ilgi giderek arttığı görülmektedir. Tokat yöresinde yetiştirilen ve bağların büyük bir kısmını oluşturan Narince çeşidi ticari sarmalılık yaprak üretiminde önemli bir yere sahiptir. Söz konusu virüsler meyvede oluşturduğu zararların yanı sıra asma yapraklarında deformasyonlara ve yaprak kalitesinin düşmesine neden olurlar. Bitki virüs hastalıkları ile kimyasal mücadele böcekler ve fungal hastalıklara karşı yapılan mücadele gibi ortadan kaldırılması mümkün değildir. Bu nedenle GPGV, GVA ve SLRSV etmenlerinin yayılmasında önemli rol oynayan kalem, anaç gibi aşı materyalinin virüsten ari olmasına özen gösterilmeli ve bunun için fidan üretiminde gerekli tedbirlere daha önem verilmelidir. Üreticiler sertifikalı asma fidanı kullanma konusunda bilinçlendirilme çalışmaları yapılmalıdır. GVA ve GPGV virüsleri mekanik yollarla taşındığından dolayı bağlarda kullanılan alet ve ekipmanlar dezenfekte edilmeli ve mücadelede koruyucu önlemlere özen gösterilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- Anonim, 2019. Molecular Evolutionary Genetics Analysis, <http://www.megasoftware.net/> (17.09.2019)
- Anonymous, 2009. Strawberry latent ringspot „nepovirus“. <http://www.eppo.org>. Erişim Tarihi: (17.09.2019)
- Akbaş, B., & Erdiller, G. (1993). Research on grapevine virus diseases and determination of their incidences in Ankara, Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 22(2-3), 55-63.
- Akbaş, B., & Erdiller, G. (1998). Karaman, Konya ve Nevşehir ili bağ alanlarında görülen virüs hastalıkları. *Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, 21-25.
- Akbas, B., Kunter, B., & Ilhan, D. (2007). Occurrence and distribution of grapevine leafroll-associated viruses 1, 2, 3 and 7 in Turkey. *Journal of Phytopathology*, 155(2), 122-124.
- Azeri, T. (1994, September). Detection of virus diseases of stone fruits in Aegean region of Turkey. In *9 th Congress of Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası, Aydın, Türkiye* (pp. 511-513).
- Belç, 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.
- Beuve M, Candresse T, Tannieres M, Lemaire O. 2015. First report of *Grapevine pinot gris virus* (GPGV) in France. *Plant Disease*, 99(2): 293.2 - 293.2. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-10-14-1008-PDN>;
- Birişik, N. 2009. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında gövde zararlanmalarına neden olan viral etmenlerin biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemlerle saptanması ve karakterizasyonu, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 179.
- Blanco-Montenegro, I., De Ritis, R., & Chiappini, M. (2007). Imaging and modelling the subsurface structure of volcanic calderas with high-resolution aeromagnetic

- data at Vulcano (Aeolian Islands, Italy). *Bulletin of Volcanology*, 69(6), 643-659.
- Bora, T., Karaca, I., 1970, Measurement of Disease and Injury in Cultivated Plants. Ege University, Assistant Textbook, Publication No. 167, Bornova, Izmir, 8.
- Buzkan, N., Karadağ, S., Kaya, A., Baloglu, S., Minafra, A., & Ben-Dov, Y. (2010). First Report of the Occurrence of Grapevine leafroll-associated virus-5 in Turkish Vineyards. *Journal of phytopathology*, 158(6), 448-449.
- Buzkan, N., La Notte, P., Karadag, S., Aktan, A., Saldarelli, P., & Minafra, A. (2015). Detection of Grapevine rupestris stem pitting-associated virus in autochthonous grapevine cultivars in Turkey. *J Plant Pathol*, 97(2), 387-389.
- Clark, M. F., & Adams, A. N. (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of general virology*, 34(3), 475-483.
- Caglayan, K. (1997). Incidence of grapevine leafroll, grapevine virus A and tomato black ring virus in the vineyards of Hatay province. *Journal of Turkish Phytopathology*, 26, 121-128.
- Cho IS, Jung SM, Cho JD, Choi GS, Lim HS. 2013. First report of Grapevine Pinot gris virus infecting grapevine in Korea. *New Diseases Reports.*, 27,10. <http://dx.doi.org/10.5197 /j.2044-0588.2013.027.010>;
- Çelik, H., Marasalı, B., Demir, İ., & Erdiller, G. (1991). Virüssüz Asma Üretim Materyali Elde Edilmesi, Muhafazası ve Dağıtımı, Türkiye I. Fidancılık Semp., Tokat, 69-78.
- Çelik, H., Marasalı, B., Söylemezoğlu, G., Gürsoy, Z., Baydar, N. G., Yüksel, İ., ... & İlhan, İ. (2000). Türkiye'de Virüssüz Sertifikalı Asma Fidanı Üretim Tekniğinin Geliştirilmesi (EUREKA EU 679 VITIS). *TUBİTAK TOAG-1108 nolu proje sonuç raporu. Ankara.*
- Çığsar I, Digiario M, Gokalp K, Abou Ghanem-Sabanadzovic N, De Stradis A, Boscia D, Martelli GP. 2003. Grapevine deformation virus, a novel nepovirus from Turkey. *J Plant Pathol* 85: 183-191.
- Çığsar İ, Digiario M, Martelli GP. 2002. Sanitary status of grapevine in south-eastern and central Anatolia (Turkey). *EPPO Bull.* 32: 471-475.

- 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.
- Converse, R.H, Stace-Smith, R. 1971. "Rate of spread and effect of tomato ringspot virus on red raspberry in the field", Technical Journal paper, 2987, 1104-1106.
- Daubeney, H.A., Hucs, A., Freeman, J. A., Stace-Smith, R. 1975." Effects of tomato ringspot virus on drupelet set of red raspberry cultivars", Can. J. Plant Sci., 55, 755-759.
- Digiario, M., Martelli G.P. and Savino V., 2000. Phloem-limited viruses of the grapevine in the Mediterranean and Near East. Extended Abstracts 13th ICGV, Adelaide, pp.75-76.
- FAO. (2018). <http://www.fao.org/fao/en/#data/QC>. Erişim tarihi. 01.05.2018.
- 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.
- Fuchs, M., Abawi, G. S., Marsella-Herrick, P., Cox, R., Cox, K. D., Carroll, J. E., & Martin, R. R. (2010). Occurrence of Tomato ringspot virus and Tobacco ringspot virus in highbush blueberry in New York State. Journal of Plant Pathology, 451-459.
- Gazel, M., Caglayan, K., Elçi, E., & Öztürk, L. (2016). First report of Grapevine Pinot gris virus in grapevine in Turkey. *Plant Disease*, 100(3), 657-657.
- Kara, Z. 2018. Bağcılık. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Ders Kitabı. 147 s.
- Karadeniz, H., 2016. Tokat İli Ve İlçelerinde Bağ Virüs Hastalıklarının Serolojik Yöntemlerle Saptanması. (Y. Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Kaya, A. ve Erilmez, S., 2014.Ege Bölgesi Bağlarında Virüs Hastalıklarının Belirlenmesi.Türkiye Fitopatoloji Derneği Dergisi, 43 (1-3), 45-57.
- Kocabağ, H. D., Çağlayan, K., & Gazel, M. (2019). Bağlarda yeni saptanan virüslerin Hatay ve Tekirdağ ili bağ alanlarında PCR yöntemiyle belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu.

- Köklü G, Baloğlu S. 2000. Determination of Incidence of Grapevine leafroll Associated Viruses in Some Grapevine Varieties Grown in Thrace Region. J Turk Phytopathol 29 (2-3):85-94.
- Köklü G, Baloğlu S. 2001a. Asma Yaprak Kıvrılması İle İlişkili Virüs 3 (GLRaV-3)'ün Saflaştırılması ve Antiserum Üretimi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi 1(1): 5-8.
- Köklü G, Baloğlu S. 2001b. Trakya Bölgesi Yetiştirilen Bağlarda dsRNA Analizleriyle Asma Yaprak Kıvrılması ile İlişkili Virüslerin Tespit Edilmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi 1(1): 1-4.
- Köklü G, Digiario M, Savino V. 1998. A survey of grapevine viruses in Turkish Thrace. Phytopathol Mediterr 37: 140-142.
- MacKenzie D.J., McLean M.A., Mukerji S. and Green M. 1997. Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by reverse transcription-polymerase chain reaction. Plant Disease, 81:222-226.
- Malagnini V, de Lillo E, Saldarelli P, Beber R, Duso C, Raiola A, Zanotelli L, Valenzano D, Giampetruzzi A, Morelli M, Ratti C, Causin R, Gualandri V. 2016 Arch Virol.,161(9):2595-9.
- Maliogka VI, Olmos A, Pappi PG, Lotos L, Efthimiou K, Grammatikaki G, Candresse T, Katis NI, Avgelis AD. 2015. A novel grapevine badnavirus is associated with the *Roditis leaf discoloration disease*. Virus Research., 203:47-55. doi: 10.1016/j.virusres.2015.03.003; PMID: 25791736
- Martelli GP. 2014. Directory of Virus and Virus-Like Diseases of The Grapevine and Their Agents. J Plant Pathol 96: 1-4.
- Martelli, G.P. veBoudon-Padieu, E., 2006. Directory of InfectiousDiseases of GrapevinesandVirosesandViruslikeDiseases of the Grapevine: Bibliographic Report 1998-2004, Chiam, 2006.
- Mahfoudhi N, Digiario M, Savino V, Terlizzi B. di (1998). Viruses and virus diseases of grapevine in Tunisia. Bulletin OEPP, 28(1/2): 197-204.
- Minafra, A., Hadidi, A., & Martelli, G. P. (1992). Detection of grapevine closterovirus A in infected grapevine tissue by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Vitis*, 31(4), 221-227.

- Murant, A.F. 1976. Strawberry latent ringspot virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 126. Association of Applied Biologists, Wellesbourne, UK.
- OEPP/EPPO, 2005. Tomato ringspot nepovirus. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 35, 313–318.
- OEPP/EPPO, 2013. “PM 3/32 (2) Tomato ringspot virus in fruit trees and grapevine: inspection”, Phytosanitary procedures, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 43 ,3, 397.
- Özaslan, M. 1995. Adana, Tarsus, Gaziantep, Şanlıurfa ve Adıyaman Bölgelerinde Yetiştirilen Bağlarda Zararlı Virüs Hastalıklarının Serolojik ve Biyolojik Yöntemlerle Saptanması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü., Doktora Tezi., 102 s.
- Özaslan, M. (1998). The Effect of Virus Diseases on the Yield of Grapevine in Gaziantep and Kils Provinces in Tuerkiye. *JOURNAL OF TURKISH PHYTOPATHOLOGY*, 27, 47-57.
- Özaslan, M., 2001. Bağlara Zarar Veren Virüs Hastalıklarının Moleküler Tanı ve Yöntemleriyle Saptanması Üzerine Araştırmalar. Proje no: (TOGTAK 1557), TÜBİTAK, Gaziantep.
- Özaslan, M., Baloğlu, S., Yılmaz, M.A., 1993. The Effect of Virus Disease on Grape Production in Kahramanmaraş Region in Turkiye. 11th Proc. Of. Icvg.Montreux, Switzerland., No: 33, P: 70-71.
- Plesko MI, Marn VK, Seljak G, Zezlina I. 2014 First report of *Grapevine Pinot gris virus* in grapevine in Slovenia. Plant Dis., 98(7): 1014.<http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-11-13-1137-PDN>
- Powell, C. A., Hadidi, A., & Halbrecht, J. M. (1991). Detection of tomato ringspot virus in nectarine trees using ELISA and transcribed RNA probes. *HortScience*, 26(10), 1290-1292.
- Price, W. (1936). Specificity of acquired immunity from Tobacco-ring-spot diseases. *Phytopathology*, 26(7).
- 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.

- Saldarelli, P., Gualandri, V., Malossini, U., & Glasa, M. (2017). Grapevine Pinot gris virus. In *Grapevine viruses: molecular biology, diagnostics and management* (pp. 351-363). Springer, Cham.
- Samuitienė, M., Zitikaitė, I., Navalinskienė, M., & Valiūnas, D. (2003). Identification of tomato ringspot nepovirus by RT-PCR. *Biologija*, 4, 35-38.
- Lamberti, F., Roca, F., Landriscina, S., & Ciancio, A. (1986). Seasonal transmissibility of strawberry latent ringspot virus by *Xiphinema diversicaudatum*. *Nematologia mediterranea*.
- Le Gall O., Iwanami T., Karasev A.V., Jones T.A., Lehto K., Sanfaçon H., Wellink J., Wetzels T., Yoshikawa N., 2005. Family *Comoviridae*. In: Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A. (eds). *Virus Taxonomy. Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, pp. 691-701. Elsevier/Academic Press, Amsterdam, The Netherlands.
- Lister, R. 1964. Strawberry latent ringspot: a new nematode-borne virus. *Annals of Applied Biology*. 54: 167-176.
- Sarpkaya, K., 2003. Gaziantep İli Ve İlçelerinde Bağ Virüs Hastalıklarının Serolojik Yöntemlerle Saptanması. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi. 56 s.
- Sanfaçon H., Iwanami T., Karasev A.V., van der Vlugt R., Wellink J., Wetzels T., Yoshikawa, N., 2011. Family *Secoviridae*. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. (eds). *Virus Taxonomy. Ninth Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses*, pp. 881-899. Elsevier/Academic Press, Amsterdam, The Netherlands
- Šneideris, D., Zitikaitė, I., Žižytė, M., Grigaliūnaitė, B., & Staniulis, J. (2012). Identification of nepoviruses in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Žemdirbystė= Agriculture*, 99(2), 173-8.
- Sobrino, C. C., Méndez, A. M. P., Rioja, M. B., & Berrios, J. G. (2013). Analysis of the losses due to grapevine leafroll disease in Albariño vineyards in Rias Baixas (Spain). *Ciência e técnica vitivinícola*, 28(2), 43-50.
- Stace-Smith, R. 1984. "Tomato ringspot virus" ,CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 290 AAB, Wellesbourne (GB).
- TÜİK, 2018. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. Erişim tarihi. 01.05.2018.

- TÜİK, 2019,Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri2019,Erişim Tarihi:18.05.2019.
- Tzanetakis, I.E., Martin, R.R. 2013. “Expanding Field of Strawberry Viruses Which Are Important in North America”, International Journal of Fruit Science, 13,184–195.
- Villa, F., Regina, M. de A., Alveranga, A.A., Pasqual, M. ve Stopa, R.A., 2010, Prospecção clonal e ocorrência de viroses da cultivar folha de figo na região de Caldas, MG. Scientia Agraria, Curitiba, 1(2), 155-161.
- Yılmaz, M., Baloğlu, A., Özaslan, S., Kamberoğlu, M., Çağlar, A.A., Can, B.K., 2002. Tohumla Taşınan Virüslerin Modern Tekniklerle Saptanması. TUBİTAK TARP-2431 nolu proje sonuç raporu, Ankara.
- Youssef S. A., Shalaby A. A. 2009, “Single-step multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (m-RT-PCR) for simultaneous detection of five RNA viruses affectin stone fruit trees”, International Journal of Virology, 5, 2, 100-108.
- Zindovic, J., Marn, V.M., Plesko, I.M. 2014.“Phytosanitary status of grapevine in Montenegro”. EPPO Bulletin. 44, 1, 60-64.