

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aysel GÜVELOĞLU

**DOĞU AKDENİZ BÖLGESİ'NDE YETİŞTİRİCİLİĞİ
YAPILAN GÜLLERDE VİRÜS VE FİTOPLAZMA
HASTALIKLARININ SAPTANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2022

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aysel GÜVELOĞLU

**DOĞU AKDENİZ BÖLGESİ'NDE YETİŞTİRİCİLİĞİ
YAPILAN GÜLLERDE VİRÜS VE FİTOPLAZMA
HASTALIKLARININ SAPTANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2022

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOĞU AKDENİZ BÖLGESİ'NDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN
GÜLLERDE VİRÜS VE FİTOPLAZMA HASTALIKLARININ
SAPTANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

Aysel GÜVELOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu tez 18.02.2022 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Mukaddes KAYIM
ÜYE

.....
Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Not : Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOĞU AKDENİZ BÖLGESİ'NDE YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN GÜLLERDE VİRÜS VE FİTOPLAZMA HASTALIKLARININ SAPTANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Aysel GÜVELOĞLU

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
Yıl: 2022, Sayfa 54
Jüri : Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
: Prof. Dr. Mukaddes KAYIM
: Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ

Bu araştırma Doğu Akdeniz Bölgesi Adana ve Mersin illerinde örtü altı ve açık daki peyzaj ve rekreasyon alanlarında yetiştirilen güllerde zarar yapan virüs ve fitoplazma hastalıklarının simptomolojik ve moleküler olarak varlığının belirlenmesi, ve karakterizasyonunun yapılması amacıyla 2020-2021 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Yürütülen surveyler sırasında gül bitkilerinin yapraklarında mozaik, kloroz, deformasyon, nekrotik lekeler ve bodurlaşma gibi belirtiler görülmüştür. Virus veya benzeri hastalık belirtileri gösteren gül örnekleri bölgeden toplanmış, bu örneklerin tamamı RT Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile ArMV, ApMV, PNRSV, SLRSV, RRV, RSDaV, RoLCV virüslerin kılıf protein genine spesifik farklı primerler ile testlenmiştir. Ancak yapılan test sonuçlarına göre testlenen bitkiler söz konusu virüsler açısından negatif bulunmuştur. Seyhan ile Çukurova ilçelerinde rekreasyon alanlarından fitoplazma belirtileri gösteren şüpheli örnekler için yapılan direkt ve nested PCR sonucundan elde edilen PCR ürünlerinin *EcoRI* enzimi kullanılarak RFLP çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Alınan örneklerde fitoplazma kaynaklı bir hastalığın varlığı hem simptomolojik hem de moleküler olarak ortaya konmuştur. Nested PCR'da 1250bp bant veren patojenin *EcoRI* enzimi ile kesimi sonucu 750 ve 500 bp' lik bantlar belirlenerek etmenin fitoplazma olduğu kesinleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gül, Virüs, Fitoplazma, PCR, RFLP, Nested PCR

ABSTRACT

Msc. THESIS

DETECTION AND CHARACTERIZATION OF VIRUS DISEASES AND PHYTOPLASMA IN ROSE GROWING IN THE EASTERN MEDITERRANEAN REGION

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

Supervisor : Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
Year: 2022, Page 54
Jury : Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
: Prof. Dr. Mukaddes KAYIM
: Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ

This research was carried out between 2020-2021 in order to determine and characterize the presence of virus and phytoplasma diseases that cause harm to roses grown in decked and open landscape and recreation areas in the Eastern Mediterranean Region of Adana and Mersin provinces symptomologically and molecularly. During the surveys carried out, symptoms such as mosaic, chlorosis, deformation, necrotic spots and stunting were observed on the leaves of rose plants. Rose samples showing signs of a virus or virus like disease were collected from the region, all of these samples were tested by RT Polymerase Chain Reaction (PCR) with different primers specific for the coat protein gene of ArMV, ApMV, PNRSV, SLRSV, RRV, RSDaV, RoLCV viruses. However, according to the test results, the tested plants were found to be negative for the viruses in question. PCR products obtained from direct and nested PCR results for suspicious samples showing signs of phytoplasma from recreation areas in Seyhan and Çukurova districts were used to perform RFLP studies using the EcoRI enzyme. In the samples taken, the presence of a disease caused by phytoplasma was revealed both symptomologically and molecularly. As a result of restriction the pathogen giving 1250bp band with the EcoR1 enzyme in Nested PCR, bands of 750 and 500 bp were determined and it was confirmed that it was a phytoplasma.

Key words: Rose, Virus, Phytoplasma, PCR, RFLP, Nested-PCR

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Doğu Akdeniz Bölgesi illerinden Adana ve Mersin’de Gül üretimi yapılan açık ve örtü altı alanlar ile peyzaj ve rekreasyon amaçlı park ve bahçelerde güllerde bulunan veya zarar yapan virüs ve fitoplazma hastalıklarının durumu tam olarak bilinmemektedir. Önemli bir tarım kolu olan süs bitkileri yetiştiriciliğinde güllerde zararlı virüs ve fitoplazma hastalıklarının Adana ve Mersin illerinde mevcut örtü altı veya açık alanlardaki muhtelif güllerde simptomolojik ve moleküler olarak belirlenmesi, varlığı veya yaygın olduğu saptanan viral etmenler ile fitoplazmaların karakterizasyonunun yapılması bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

Süs bitkisi türleri içerisinde önemli yeri olan gül bitkisi *Rosaceae* familyasının *Rosa* cinsine ait, çiçekli bir çok yıllık bitki türüdür. Çoğu gül türünün anavatanı Asya’dır. Ticareti yapılan 14 farklı gül çeşidi bulunmaktadır. Gül, çiçek açma zamanı, boyları, çiçek yapısı gibi farklı şekillerde sınıflandırılabilir.

Adana ve Mersin illeri ve ilçelerinde gül bitkisinde zararlı virüs ve fitoplazma hastalıklarına karşı etkili bir mücadele yöntemi henüz yaygın olmadığı için etmenin tanısı, yaygınlığı ve taşınma yollarının bilinmesi, özellikle üretimi ticari olarak yapan işletmeler için önemli mücadele konuları olarak karşımıza çıkmaktadır.

Mersin ve Adana bölgesinde yapılan survey çalışmalarında virüs ve fitoplazma belirtileri gösterirken kesinlikle virüs veya fitoplazma diyebileceğimiz bir örnekle karşılaşmamamız bize bu bölgede virüs veya fitoplazma hastalıklarının yoğun olmadığı veya çeşitlerin bu hastalıklara karşı duyarlılığını kaybettiği konusunda soru işareti uyandırmış ve böyle bir çalışmanın planlanmasına sebep olmuştur.

Surveyler sonucunda alınan 236 örnekte yapılan moleküler testlemeler sonucunda virüs etmenlerine rastlanmazken 6 adet örnekten pozitif sonuç fitoplazma etmeni için yapılan analizlerde elde edilmiştir.

Moleküler testlemeler sırasında kullanılan bitkilerin kaynağını Adana ve Mersin illeri ve ilçelerinde gül üretimi yapılan işletmelerden, park ve bahçelerden, rekreasyon alanlarından virüs belirtileri gösteren ve virüsle bulaşık olabileceğinden şüphelenilen bitkilerin hastalık belirtisi gösteren genç yaprakları oluşturmuştur. Virüs etmenine karşı yapılan moleküler testlemelerde genç yapraklar kullanılırken, fitoplazma için bitki ana damarlarından elde edilen ekstraksiyon materyali kullanılmıştır. Toplanan örneklerin belirti gösteren genç yapraklarının önce fotoğrafları çekilmiş toplandıktan sonra numaralandırılıp etiketlenerek buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilmiştir.

Survey alanlarından toplanan örneklerden elde edilen total nükleik asitlerin tamamı ApMV, PNRSV, SLRSV ve ArMV için hedef nükleik asit olmuş ve ilgili bulaşıklık durumlarını ortaya koymak amacıyla öncelikle RT-PCR çalışmalarda materyal olarak kullanılmışlardır. Daha sonra agaroz jelde görüntülenmiştir.

Patojen	Primer ismi ve Primer baz dizilimi	Ürün (bp)	Referans
ArMV	ArMV-S: 5'-AAAGAATTGGCAGCGGATTGG-3' ArMV-A: 5'-GAGTTCGATGATAGGGAGAACG-3'	453 bp	Bertioli ve ark., 1991
ApMV	ApMV-S: 5-GGCCATTAGCGACGATTAGTC-3 ApMV-A: 5-GGCCATTAGCGACGATTAGTC-3'	820 bp	Petrzik ve Lenz., 2002)
PNRSV	PNRSV-C537: 5'-ACGCGCAAAAGTGTGAAATCTAAA-3' PNRSV-H83: 5'-TGGTCCCACTCAGAGCTCAACAAAG-3'	455 bp	MacKenzie ve ark., 1997
SLRSV	SLRSV-S: 5'-CCTCTCCAACCTGCTAGACT -3' SLRSV-A: 5'-AAGCGCATGAAGGTGTAAC-3'	497 bp	Postman ve ark., 2004
RRV	RRV3F2: 5'- AGACTTGAATGAGTCTGATGTTCT-3' RRV3R2: 5'-GCATCATCGAAAGGAGTAGTCTC-3	411 BP	Sara ve ark., 2017
RSDaV	RSDVFor 5'-TCACAATCAACAACCTTAAGGC-3' RSDVRev 5'-CGAGCTGGGTCCATTTCCTG-3'	377 bp	Paulina ve ark., 2010
RoLCV	5'-GGA TCC TCA AGC CCA AGA AAC ACT T-3' 5'-GGA TCCA CACTCG TT TACA TC CTCA -3 ' '	411 bp	Rashid ve ark., 2021
PHYTOPLAZMA	Üniversal R16F1: 5'-AAGACGAGGATAACAGTTGG-3' R16R0: 5'-GGATACCTTGTACGACTTAACCCC-3'	1.400 bp	Davis ve ark., 1997
	Nested R16F2n: 5'-ACGACTGCTAAGACTGG-3' R16R2: 5'-TGAC GGGCGGTGTGTACAAACCCCG-3'	1.250 bp	Schneider ve ark., 1997

Çalışmada patojenlere ait kullanılmış primer çiftleri

Bu primer çiftleri kullanılarak RT-PCR çalışmaları yürütülmüştür. Yapılan testlemelerde herhangi bir virüs etmenine rastlanmazken bitkilerde görülen ve resimlenen semptomlarda virüs belirtilerine benzer belirtiler görülmüştür.

Fitoplazma için yapılan testlemelerde ise araziden toplanan örneklerin anadamar kullanılarak elde edilen elde edilen nükleik asitleri PCR testlerinde kullanılmıştır. PCR testleri etmenin 16SrDNA geni kullanılmış olup, PCR testlerinde örneklerde etmenin saptanması amacıyla Direkt-PCR ve Nested-PCR gibi moleküler testler kullanılmıştır. Direkt-PCR’da 1.400 bp ürün veren universal R16F1/R16RO primerleri ve Nested-PCR’da 1.250 bp ürün veren R16F2n/R16R2 primer çiftleri kullanılmıştır. Daha sonra ise RFLP çalışması ile fitoplazma etmenine ait olup olmadığını EcoR1 enzimi sayesinde kontrol edilmiştir (Nejat ve ark.2009). EcoR1 enzimi ile kullanılarak bu bant kesildiğinde fitoplazma hastalığının belirtisi olarak 750 ve 500 bp lik ayrı ayrı bantlara ayrılan örnekler elde edilmiş ve bu da etmenin fitoplazma olduğunu kesinleştirmiştir.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince benden hiçbir yardımını esirgemeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Saadettin BALOĞU' na teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım boyunca beni yalnız bırakmayan sayın Doç. Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR, Doç.Dr. Gökmen KOÇ, Zir. Yük. Müh. Dilan KONUR ve tüm Çukurova Üniversitesi Subtropik Meyveler Araştırma Merkezi çalışanlarına,

İhtiyaç duyduğum her an yanımda olan hem meslektaşım hem eşim Zir.Müh. İzzet GÜVELOĞLU'na, tüm Bitki Koruma Bölümü hocalarıma,

Beni bugünlere getiren maddi/manevi desteğini esirgemeyen ve hep arkamda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	25
3.1. MATERYAL	25
3.1.1. Çalışmanın Yapıldığı Bölge ve Materyal Hakkında Bilgiler	25
3.2. Yöntem.....	28
3.2.1. Örneklerin Toplanması.....	28
3.2.2 DNA ekstraksiyonu çalışmaları	30
3.2.3 Total Nükleik asit (TNA) Ekstraksiyonu Çalışmaları	31
3.2.4 Reverse Transcriptase - Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) Çalışmaları	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	37
4.1. Simptomolojik Gözlemler.....	37
4.2. Moleküler Çalışmalar.....	39
4.2.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve RFLP Çalışmaları	39
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	43

ÖZGEÇMİŞ	49
EKLER.....	51
EK 1. DNA Analizlerinde Kullanılan Çözeltiler	53
EK 2. Total RNA Analizlerinde Kullanılan Solüsyonlar	54



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Gül bitkisi sistematigi	3
Çizelge 1.2. En çok bilinen gül çeşitlerinin bilimsel ve Türkçe isimleri	4
Çizelge 1.3. 2020 yılında ülkemizde gül üretim değerlerinin illere göre dağılımı.....	6
Çizelge 1.4. Güllerde saptanmış olan virüs hastalıkları.....	8
Çizelge 2.1. Güllerde zararlı olduğu belirlenmiş bakteriyel hastalıklar ve diğerleri.....	13
Çizelge 2.2. Güllerde zararlı olduğu belirlenmiş fungal hastalıklar	14
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan bitkisel materyallerin ilçelere göre dağılımı.....	26
Çizelge 3.2. Çalışmaya konu olan virüs ve benzeri etmenler	27
Çizelge 3.3. Moleküler çalışmalarda kullanılan spesifik primer çiftleri.....	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Doğu Adeniz Bölgesi Adana ve Mersin illerinin yer aldığı survey alanı	25
Şekil 3.2. Çalışmada güllerde aranan virüs ve benzeri hastalık belirtileri.....	30
Şekil 3.3. Total Nükleik asit (TNA) Ekstraksiyonu Çalışmaları	33
Şekil 3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Çalışmaları.....	34
Şekil.4.1. Surveyler sırasında Adana ili yapılan surveylerde yapraklarda bulunan renk açılmaları ve yaprak kıvrılmaları.....	38
Şekil.4.2. Adana ili örtü altında surveylerde beyaz güllerde bulunan renk kırçillaşması.....	38
Şekil.4.3. Surveyler sırasında Mersin ili yapılan surveylerde yapraklarda renk açılmaları ve yaprak kıvrımları.	39
Şekil.4.4. Adana ilinde yapılan surveylerde numune alınan örtü altı alanları ...	39
Şekil 4.5. Agaroz jelde R16F2n/R16R2 primer çifti ile yapılan PCR sonucu elde edilen DNA bantları. M;1kb DNA marker, a-h; gülbahçesi, ı-n; Seyhan parklar ve negatif control.....	40
Şekil.4.6. Eco R1 enzimi kullanılarak yapılan RFLP analiz sonucu. DNA Marker 1 kb (M) ve a, b, c, d, e, f, + kontrol izolatlarına ait 500 bp ve 750 bp lik DNA bandları (RFLP profili).	40

SİMGELER VE KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
ApMV	: Apple mosaic virüs
ArMV	: Arabis mosaic virüs
bp	: baz pair- baz çifti
cDNA	: Komplementer Deoksiribo nükleik asid
CTAB	: C ₁₉ H ₄₂ BrN
DNA	: Deoksiribo nükleik asid
dNTP	: Deoksinükleotidtrifosfat
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	: Enzim-Linked Immunosorbent Assay
gr	: gram
kb	: kilo baz
M	: Molar
mM	: mili molar
Nested PCR	: Yuvalı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Ph	: potential of <u>Hydrogen</u> şeklinde Asitlik Derecesi
Pr	: Primer
PRNSV	: Prunus nekrotik ringspot virüs
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon Fragment Length Polymorphism
RMD	: Rose mosaic disease
RNA	: Ribonükleik asit
RoLCV	: Rose leaf curl virüs
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
RRV	: Rose rosetta virüs
RSDaV	: Rose spring dwarf virüs

RT	: Reverse Transcriptase
SDS	: Sodyum Dodesyl Sulfate
SLRSV	: Strawberry latent ringspot virüsvirus
Taq	: Termo Stabil Polimeraz Enzimi
TNA	: Total Nükleik asit
tNA	: total Nükleik Asit
TSV	: Tabacco streak virus



1. GİRİŞ

Bitkisel üretim çeşitli bağ-bahçe ve tarla ürünlerini kapsamakta, insanların beslenme ve diğer ihtiyaçlarının karşılanmasında temel rol oynamaktadırlar. Aynı zamanda bitkisel ürünler hayvansal üretimin de vazgeçilmez ürünleri durumundadır. Ancak insan hayatında bitkisel üretim ürünleri sadece beslenme ve barınma ihtiyaçları için kullanılmamakta, bazı bitkisel ürünler daha mutlu, estetik ve insanlar arasında iyi ilişkiler kurmak, yaşadığı çevreyi güzelleştirmek için de kullanılmaktadırlar. Bunlar süs bitkileri olup genel olarak, saksılı salon bitkileri, rekreasyon amaçlı süs, ağaç ve çalı bitkileri ile kesme çiçek olarak süs bitkileri şeklinde ayrılmakta ve insan hayatında çok önemli bir yer tutmaktadırlar. Durum böyle olunca da tarımda “*süs bitkileri yetiştiriciliği*” önem kazanmış, ayrı bir sektör haline gelmiştir

İnsanlar, hayatlarında yaşam kalitelerini arttırmak için bireylere göre değişen, ve bireylerin kendilerini mutlu edecek arayışlar içerisinde bulunmuşlardır. Güzel ve iyi bir yaşam yeri tanımlamasında süs bitkileri yetiştiriciliği insanlar için yaşanan güzel ve ferah bir ortam yaratma isteğine neden olmakta, ve ayrıca hobi olarak görselliği daha güzel, hoş hale getirmek için insanlarda uğraş alanı oluşturmaktadır.

Süs bitkileri daha çok güzellikleri için yetiştirilmekte ve bitkisel üretimde yetiştirilen ürünlerinin de pazarlandığı, gelir getiren bir tarımsal üretim kolu oluşturmaktadır. Ağaç ve çalı olarak kullanılan süs bitkileri dışında “süs bitkileri” ayrıca hem saksıda hem de kesme çiçek olarak üretilen ve park, bahçe ve rekreasyon alanlarındaki çiçekli bitkilerden oluşmaktadır. Bu bitkiler iç ve dış mekan tasarımları için kullandığımızdan dolayı günümüzde daha çok “süs bitkileri” yerine peyzaj mimarları tarafından “tasarım bitkileri” ismi ile anılmaya başlamıştır. Süs bitkileri ile ilgilenen birçok ülkede bu konuda yürütülen çalışmalar artmış ve süs bitkileri yetiştiriciliğinde ciddi yatırımlar yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Ülkeler arasında bu konuda oluşan ciddi bir

rekabette söz konusudur. Kesme çiçek üretiminde dünyada Amerika Birleşik Devletleri söz sahibi iken bunu sırasıyla Hollanda, Fransa, İtalya takip etmekte hatta Kenya gibi Afrika ülkeleri de süs bitkileri sektöründe yerini almaktadır. Ticari olarak üretilen çiçekler arasında en fazla üretim miktar ve alan açısından gül ve karanfil iken, bunları lale ve kasımpatı gibi bitkiler takip etmektedir. Kesme çiçek ticaretinde çok önemli bir paya sahip olan gül için üretim aşamasında çok değişik kültürel uygulamalar yapılmakta, özellikle özel günlere hedefli güllerde budama, besleme ve sulama organizasyonu ile gonca oluşumu düzenlenmektedir. Sonuç olarak ileri ve yeni bazı kültürel uygulamalar ile yetiştirme periyodundaki kritik noktalar ayarlanabilmektedir. Güllerin gonca veya çiçek açma zamanları ve buna bağlı olarak da hasat zamanı bu kültürel uygulamalar ile öne alınmakta veya geciktirilebilmektedir. Bu da tüketicinin taleplerini karşılamada ve dolayısıyla pazarlama koşullarının iyileşmesine katkı sağlayarak süs bitkileri üreticilerin gelirlerinin arttırmaktadır (Korkut, 1998).

Ülkemizde süs bitkileri üretimi çok eski tarihlerden beri devam etmekte, ancak modern anlamda ticari gül yetiştiriciliği 1940'lı yıllardan sonra artış eğilimine girmiştir. Özellikle ticari gül yetiştiriciliği İstanbul civarında ve Adalar'da, özellikle de Yalova'da başlamış ve hızlanmıştır. Bu bölgede üreticilerin 1945 yılında kurdukları kooperatiflerle hem pazarlama kolaylığı hem de üreticilerin örgütlenmesi ile birlikte yetiştiricilik koşulları da olumlu gelişme göstermiştir (Erengül, 2008).

Kesme süs bitkisi yetiştiriciliği Marmara Bölgesi'nden Ege Bölgesi'ne 1970'li yıllardan sonra kaymaya başlamış ve özellikle de İzmir civarında süs bitkileri yetiştiriciliği önem kazanmıştır. Ülkemiz de maalesef süs bitkileri ve özellikle de gül yetiştiriciliği konusunda üreticilerin bilgi yetersizliği ve resmi kuruluşların süs bitkisi üretimini önemsememesi nedeniyle halen yetersiz ve sınırlı alanda yapılmaktadır. Ancak yine de yayınlanan raporlara göre ülkemiz dünyadaki önemli kesme çiçek üreticisi ülkelerden biri olduğu, iklim ve toprak koşullarının kesme çiçek üretimine daha uygun olduğu bildirilmektedir (Erengül, 2008).

Gül üretimi çok eski tarihlere kadar gitmekte ve karanfil üretimine göre daha yüksek getiri sağladığı rapor edilmiştir. Her ne kadar Cairns ve ark. (2000), gülün Afrika da kültüre alındığını tahmin etse de yaygın kanı gülün anavatanının Orta Asya olduğu şeklindedir ve 1830'lu yıllarda Margi isimli bir araştırmacı ilk insanların gülü tanıdıklarını ve Orta Asyadan beri Türklerin gül yetiştiriciliği yaptığını bildirmiştir (Cairns ve ark., 2000).

Gülün sistematigi Çizelge 1.1'de verilmiş olup, dünyada yetiştiriciliği yapılan yüzlerce gül türüne ait binlerce çeşit bulunduğu bilinmektedir. Bu gün için gül yetiştiriciliği 3 ana tür içinde bulunan çeşitler ile yapılmaktadır. Bu türler *Rosa gallica*, *R. indica*, ve *R. lutea* türlerinden oluşmaktadır.

Ticari olarak yetiştiriciliği yapılan 14 adet farklı gül türü Çizelge 1.2'de verilmiş olup, bu türlerden sadece bir kısmı İstanbul ve Trakya Bölgesi'nde yetiştirildiği görülmektedir. İstanbul ile çevresinde bu türlerden en yaygın yetiştirileni veya bulunanı yabani güldür. Diğer türlere ait çeşitler yanında, yediveren asma gülüne (*R. multiflora*) ait farklı çeşit ve renkte güllere de park ve bahçelerde rastlamak mümkündür.

Çizelge 1.1. Gül bitkisi sistematigi (Cairns ve ark. 2000)

Alem	Plantae
Bölüm	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Rosales
Familya	Rosaceae
Alt Familya	Rosaidea
Cins	Rosa
Türler	<i>Rosa gallica</i> , <i>R. indica</i> <i>R. lutea</i> ve diğer türler

Gül yağı sanayinin önemli hammadde kaynaklarından olması nedeniyle de gül sanayi bitkisidir. Türkiye, Bulgaristan ve Fas önemli gül yağı üreticisi ülkelerdir. Gülyağı üretimi amacıyla yetiştiriciliği yapılan güller ise *Rosa*

damascena türünden oluşmaktadır. Ülkemizde bu çeşitler yaygın olarak üretilmekte olup, söz konusu tür yüksek oranda yağ içermekte ve ülkemizi gülyağı üretiminde ayrıcalıklı bir konuma taşımaktadır.

Çizelge 1.2. En çok bilinen gül çeşitlerinin bilimsel ve Türkçe isimleri

Bilimsel Adı	Türkçe Adı
<i>Rosa canina</i>	Kuşburnu
<i>Rosa chinensis</i>	Çingölü
<i>Rosa dumalis</i>	Glaucous Dog Rose, Köpek gülü
<i>Rosa eglantheria</i>	Yakut renkli gül
<i>Rosa gallica</i>	Çal gülü, Fransız gülü
<i>Rosa gigantea</i>	Cesim gülü
<i>Rosa glauca</i>	Mavi yeşil renkli gül
<i>Rosa laevigata</i>	Cherokee Rose, Kamelya gülü
<i>Rosa multiflora</i>	Yediveren (asma gülü) gülü
<i>Rosa persica</i>	Fars gülü
<i>Rosa roxburghii</i>	Kestane gülü
<i>Rosa rugosa</i>	Japon gülü
<i>Rosa stellata</i>	Bektaş gülü
<i>Rosa virginiana</i>	Virginia gülü

Süs bitkisi olarak kesme ve rekreasyon amaçları dışında gülün önemli bir endüstri bitki olmasının esas nedenleri arasında çiçeklerinden gül suyu ile önemli olarak ince ve kalın gül yağı üretilmesidir (Bektaşoğlu, 2007). Ülkemizde 2019 yılı verilerine göre 16.5 bin ton yağlık gül üretimine karşılık yaklaşık 10 milyon dolar gelir elde edilmiş ve ayrıca üretilen gül yağlarından elde edilen kozmetik ürünlerinden de 50 milyon dolar civarında ihracat geliri elde edildiği rapor edilmiştir (Bektaşoğlu, 2009).

Ülkemizde gül yetiştiriciliğinde en önemli il olarak Isparta öne çıkmakla beraber süs bitkisi olarak kesme gül yetiştiriciliğinde Yalova, Antalya, Mersin ve Samsun önemli üretici iller olarak görülmektedir. Yıllık kişi başına süs bitkisi harcamaları Norveç ve Almanyada 100 \$ üzerinde iken İspanya ve İngilterede 20

doların üzerinde, buna karşılık ülkemizde ise kişi başına yıllık süs bitkisi harcamaları ne yazık ki 1.0 \$ altında gerçekleşmektedir (Öğmen, 2008).

Türkiye’de 2018 yılı verilerine göre kesme çiçek üretim alanlarını toplamı yaklaşık 12.000 dekar olup bu üretim alanlarında ağırlıklı olarak gül ve karanfil yetiştiriciliği yapılmaktadır. Kesme çiçek ihracatının da yarısından fazlası Akdeniz Bölgesi illerde gerçekleşmektedir. Coğrafi konumu nedeniyle özellikle sahil kesimlerinden yüksek rakımlı yaylalara kadar yıl boyu kesme çiçek üretimi yapıldığı rapor edilmektedir (Bağdatlıoğlu, 2008). Genel bir değerlendirme yapıldığında ülkemizin mevcut jeopolitik ve coğrafi üstünlükleri nedeniyle kesme çiçek üretimi potansiyeli yüksek olup bu günkü üretim değerleri ne yazık ki olması gerekenin altında gerçekleşmektedir. Ancak son yıllarda AB uyum yasaları ve ilgili mevzuatlarda yapılan değişiklikler ve TS 3714 sayılı gül kesme çiçek standardı gibi uygulamalar sonucu sektörün geleceğe ümitle baktığı bildirilmiştir. Diğer bitkisel üretim sektörlerinde olduğu gibi kesme gül sektöründe de hastalıklardan arı sağlıklı üretim materyalinin yeterince olmaması nedeniyle gül yetiştiriciliğinin sürdürülebilir bir gelişme veya büyüme gösteremeyeceği bildirilmektedir (Yıldızeli, 2008).

Bazı değerlendirmelere göre süs bitkileri sektöründe mevcut pazarlama, ihracat, ar-ge gibi konulardaki problemlerin çözülmesi sonucu yıllık 300 milyon doların üzerinde bir ihracat gertirsinin olabileceği ileri sürülmektedir. Peyzaj ve rekreasyon amaçlı olarak yetiştirilen güllerden başka ticari amaçlı kesme gül üretimi ülkemiz de belli bölgelerde yoğunlaşmıştır. Çizelge 1.3’de verildiği gibi gül yetiştiriciliği özel bir sektör halini almıştır (Erengül, 2008).

Çizelge 1.3. 2020 yılında ülkemizde gül üretim değerlerinin illere göre dağılımı (Tüik, 2020).

İL	Adana		Mersin					Ordu	Osmaniye	Samsun	Yalova	İstanbul	İzmir
İLÇE	Karaisalı	Seyhan	Akdeniz	Erdemli	Mezitli	Tarsus	Toroslar						
ALAN (da)	50	505	44	35	8,5	21,4	65	6	5	18	344,9	5	78,2
ÜRETİM MİKTARI (X1000 ADET)	2,5	29750	5280	700	1020	1803	3180	240	185	362	16545	75	26000

Bölgemizde yaklaşık 750 dekar alanda ticari gül yetiştiriciliği yapılmakta olup rekreasyon alanları, parklar ve ev bahçeleri dahil olmak üzere önemli oranda gül yetiştiriciliği yapılmaktadır. Süs bitkileri adet olarak üretim miktarına bakıldığında 2020 yılında %3,5 oranında azalma görülmüştür. Süs bitkileri üretimi içinde kesme çiçek üretimi %7,7 oranında azalmıştır.

Diğer bitki türleri gibi güller de değişen oranlarda zararlara neden olan birçok biyotik ve abiyotik hastalık veya zararlılar söz konusudur. Özellikle örtü altı yetiştiriciliğinde bakteriyel ve fungal hastalıklar yanında verimi ve görüntüyü etkileyip kalite kaybına da neden olan hastalık ve zararlılar son derece önemlidir. Gül yetiştiriciliğinde sorun olan onlarca hastalık, zararlı ve abiyotik etmen vardır. Bu etmenler sonuç olarak gül yetiştiriciliğinde kalite ve verimin önemli oranda etkilenmesine neden olmaktadır (Horst ve Cloyd 2007).

Diğer bitkilerde olduğu gibi güllerde zarar yapan hastalıklar içinde virus ve benzerleri ile fitoplazma hastalıkları da bulunmakta, yapraklarda halkalı leke, rozetleşme, sararmalar, mozayik belirtileri, cücelik, yapraklarda kıvrıkcıklaşma ve çiçek renginin açılması, petallerde kırçılma ve deformasyonlar sonucu gonca, yaprak ve sürgünlerin şekillerinin bozulması belirtileri görülmektedir.

Güllerde bu güne kadar 11 farklı virüs hastalığının varlığı tespit edilerek raporlanmış olup en yaygın olanı Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV, Erik

halkalı leke virüsü), Apple mosaic virus (ApMV, Elma mozayik virüsü) ve Arabis mosaic virus (ArMV) virüsleri olup güllerde oluşturdıkları hastalık “gül mozaik hastalığı” olarak isimlendirilmektedir. Bunun dışında güllerde önemli bir hastalık etmeni olarak Strawberry latent ring spot virüs (SLRSV, Çilek halkalı leke virüsü) virüsü yanında diğer bazı hastalıklarda (Çizelge 1.4) rapor edilmiştir (Anonymous, 2021; Horst ve Cloyd, 2007).

Yürütülen ön çalışmalarda Doğu Akdeniz Bölgesi illerinde ticari olarak örtü altında gül yetiştiriciliği yapılan alanlarda güllerde zararlı virüs hastalıklarının yeterince bilinmediği veya gül üreten işletmelerin veya firmaların bu konuyu çok fazla önemsemediği saptanmıştır. Ayrıca, özellikle örtü altı gül yetiştiriciliğinde tip dışı yada farklı belirtiler gösteren anormal olarak gelişen bitkilerin etmeni veya nedeninin ne olduğuna bakmaksızın iptal edildiği belirtilmiştir. Gül de virüs hastalıkları hem yurt içi ve hem de yurt dışı satışta kalite ve verimde ciddi problemler yaşatmakta, kalite kayıplarına neden olmaktadır. Önemslenmediği takdirde eğer varsa virüs hastalıklarının giderek yayılmasının potansiyel problem olabileceği düşünülmüştür.

Çizelge 1.4. Güllerde saptanmış olan virüs hastalıkları (Anonymous, 2021)

VİRÜS HASTALIĞININ ADI	HASTALIK ETMENİ
Gül Mozayik Hastalığı (Rose mosaic)	Mozaik hastalığına veya belirtilerine <u>Ilarvirus</u> grubundan <u>Prunus necrotic ringspot virus</u> (PNRSV) ve <u>Apple mosaic virus</u> (ApMV), ayrıca nematodlar ile taşınan <u>Nepovirus</u> grubundan <u>Arabis mosaic virus</u> (ArMV) ve <u>Strawberry latent ringspot virus</u> (SLRV)'leri tek veya birlikte karışık infeksiyon olarak hastalığa neden olmaktadır.
Gül Rozetleşme Hastalığı (Rose rosette)	<u>Rose rosette emaravirus</u> , (Akarlarla taşınma)
Gül Çizgi Virüs Hastalığı (Rose streak)	<u>Rose streak virus</u> (RSV), Aşı Yoluyla Taşınma, (GTP)
Gül Halkalı Leke Hastalığı (Rose ring pattern)	Aşı Yoluyla Taşınan Etmen (Virüs ??) (Virus suspected, GTP)
Yabangülü Yaprak Rozetleşme Virüs Hastalığı (Wild rose leaf rosette disease)	<u>Rose leaf rosette-associated virus</u> (RLRaV)
Gül Yaprak Kırışıklığı Hastalığı (Rose leaf curl)	Virüs ?? şüpheli
Gül Çiçek Kırıklığı – (Çizgi) Hastalığı (Rose flower break)	Etmeni Belirsiz Aşı Yoluyla Taşınan Etmen (AYT) (Undetermined Graft Transmissible Pathogen, GTP)
Gül Bodurluk Hastalığı (Rose Spring Dwarf)	Etmeni Bilinmiyor (Virüs ?? şüpheli)

Diğer ürünlere oranla bölgemizde daha sınırlı alanda yapılan gül yetiştiriciliğinde diğer tüm bitkilerde olduğu gibi birçok biyotik ve abiyotik faktör zarar oluşturmakta ürün kaybına neden olmaktadır. Özellikle göze hitap eden güllerde uzun sap ve canlı renkte goncalar talep edilmekte, ayrıca örneğin oda sıcaklığında vazoda bile belli bir süre sağlıklı ve dayanıklı kalması gibi özellikler istenmektedir. Bu nedenler ile gülün yaprak, sürgün ve goncalarında her hangi bir leke veya deformasyon istenmemekte, gösterişli olması talep edilmektedir. Durum böyle olunca hastalık ve zararlıların kontrolü önem kazanmaktadır.

Biyotik zararlılar olarak böcek ve akar zararlıları yanında önemli ve mücadele gerektiren fungal ve bakteriyel hastalıklarda güllerde mevcuttur. Aşı yoluyla veya akar ya da böcek vektörlerle taşınan virüs ve benzeri hastalıklar özellikle görüntü bozukluğuna neden olan, goncalarda ve yapraklarda renk kırılması, muhtelif mozaik benzeri lekeler ve verim düşüklüğü problem olmakta, doğrudan mücadelesi olmayan bu hastalıklar için çoğunlukla eradikasyon uygulanmakta, anormal gelişenler sürekli iptal edilmektedir.

Doğu Akdeniz Bölgesi illerinden Adana ve Mersin’de gül üretimi yapılan açık ve örtü altı alanlar ile peyzaj ve rekreasyon amaçlı park ve bahçelerde güllerde bulunan veya zarar yapan virüs veya benzeri etmenlerin durumu tam olarak bilinmemektedir. Önemli bir tarım kolu olan süs bitkileri yetiştiriciliğinde güllerde zararlı virüs ve benzeri hastalıklar ile fitoplazma hastalıklarının Adana ve Mersin illerinde mevcut örtü altı veya açık alanlardaki muhtelif güllerde simptomolojik ve moleküler olarak belirlenmesi, varlığı veya yaygın olduğu saptanan viral etmenler ile fitoplazmaların karakterizasyonunun yapılması bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Gül, boyu 2 metreye kadar uzayabilen, çok yıllık, saçak köklü, çalimsı bir bitki olup dallarındaki yaprakları 5, 7 veya 9 parçadan oluşmakta ve gövde ile dalları dikenli bir bitkidir. Gül çiçeğinin erkek organları sarı başlıdır. Çiçek beş petal yapraktan oluşur. Çiçekleri farklı renklerde olup genellikle pembe, beyaz, kırmızı, sarı, portakal renklerinde olabilmektedir. (Akpınar, 2007))

Gül yetiştiriciliği için en uygun ortalama gece sıcaklığı 16°C olup genellikle güneşli günlerde sera içi sıcaklık 21-22°C olabilir. Sıcaklığın artışı ile beraber güllerde gelişme süresi kısaltmakta ve ayrıca verim artmaktadır, ancak zaman zaman özellikle çiçek kalitesinde bozulmalar olabilmektedir. Gül yetiştiriciliğinde yeni şaşırtılan bitkiler için başlangıçta ortam sıcaklığının kontrolü çok önemlidir. Gül yetiştiriciliğinde en önemli ve kritik dönem oluşan tomurcukların nohut büyüklüğüne ulaşması için gerekli sürede ortam sıcaklığını 21°C civarında olması gerkenlidir. Ve bu dönem aşıldığında sıcaklık 16°C ye düşürülmelidir. Böylece uygulanan bu sıcaklık ayarlaması ile bitkilerden çok daha kısa sürede çiçek alınmakta ve hasat sezonu da kısaltılabilmektedir (Yelboğan, 1988).

Işık ve ışıklanma güllerde vejetasyon süresini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Özellikle örtü altında, seralarda yetiştirilen güllerin gelişiminde ışığı şiddeti ve ışıklanma süresi çok önem taşımaktadır. Yaz aylarında ışığın yoğunluğunun yüksek olması nedeniyle yazın gül kesimi daha hızlı ve daha fazla gül hasadını sağlamaktadır. Ancak hem kalite hem de hastalıklar nedeniyle sera içi sıcaklığı ve nem durumuna bağlı olarak havalandırmada yapılması son derece önemlidir ve özellikle sera sıcaklığının artması ve 21°C'nin üzerine çıkması durumunda mutlaka havalandırma sağlanmalıdır (Yelboğan, 1988).

Gül yetiştiriciliğinde suyun yanında fotosentez kapasitesin tam olarak sağlanabilmesi için Karbondioksit kullanımı da son derece önemlidir. Yeterli fotosentez sonucu bitkinin büyüme ve gelişme hızı, kapasitesi artmaktadır.

Bilindiği gibi ortamdaki CO₂ miktarı yükseldiğinde fotosentez de kullanılan CO₂ oranında artarak sonuçta fotosentez miktarının artışı ve sonuçta tüketiciler için önemli olan güllerde sap uzunluğunun artışı gerçekleşmektedir. Netice itibari ile bu da güllerde kalite artışı demek olup goncalar da daha kaliteli oluşmaktadır. Seralardaki CO₂ ihtiyacını havalandırma yanında bazı uygulamalar ile (propan, alkol gibi yakıtların kullanımı) karşılanabilmektedir.

Sulamanın da gül yetiştiriciliğinde çok önemli bir yeri vardır. Yapılan hesaplamalara göre bir dekar gül için tüm yıl boyunca gerekli olan su miktarının 2000–2500 ton arasında değiştiği bildirilmektedir. Gül yetiştirilen toprakların organik maddece zengin killi tınlı yapıda ve kolay işlenebilen geçirgen yapıda olması tercih edilmektedir. Özetle güller her toprak tipinde aynı oranda büyüyemez veya yetişmezler. Eğer toprak istekleri iyi karşılanmaz ağır bünyeli farklı yapıdaki topraklarda yetiştiricilik yapılacak olur ise özellikle kök ve kök boğazı hastalıkları ortaya çıkar veya zararları artar.

Gül kesme çiçek olarak en çok ralaranılan bitki olup değişik renkelerde ve değişik amaçlar ile üretilen bir çok tür ve çeşidi mevcuttur. Park, bahçe, yol kenarları ve sosyal alanların rekreasyonunda vaz geçilmeyen süs bitkilerinden biri yine önemli şekilde güldür. Gülden görsel olarak yararlanıldığı gibi endüstriyel olarak yağı da önem taşımakta, ayrıca yabancı gül (kuşburnu) da ticari öneme sahiptir.

Yamankaradeniz (1982)' e göre örneğin ülkemizde Erzurum bölgesinde bulunan kuşburnu meyvelerinin yüksek miktarda C ve P vitamini içermektedir. Ülkemiz gül bitkisini anavatanı olması nedeni ile çok farklı yabancı gül klonları bulunmakta bu nedenle de farklı bölgelerde ki kuşburnu meyvelerinin C ve P içerikleri değişkenlik göstermektedir. Kuşburnu çaylarında önemli içecekler arasında yer almaktadır.

Güllerde diğer bitkilerde olduğu gibi kalite ve kantite zararlarına neden olan bir çok biyotik ve abiyotik zara etmenleri mevcuttur. Güllerde bu güne kadar biyotik etmenlerden 11 farklı virüs hastalığı saptanıp rapor edilmiştir (Çizelge 1.4).

Virüs ve benzerleri yanında güllerde Çizelge 2.1 ve 2.2 de verildiği gibi bir çok fungal ve bakteriyel hastalığında varlığı rapor edilmiştir (Anonymous, 2021).

Ayrıca bitki patojenlerinden olan Fitoplazmalar önceleri virüs veya virüs benzeri etmen olarak düşünülmüş, ancak sonraları güllerde değişik fitoplasma hastalıkları da belirlenmiştir (Anonymous, 2021). Güllerde virus ve benzeri hastalıklarla ilgili olarak değişik ülkelerrde bir çok araştırmacı tarafından araştırmalar yapılmış ve zararlı olan virus hastalıklarından önemli olanlar ile ilgili olarak taranan bazı literatürler özet olarak verilmiştir.

Çizelge 2.1. Güllerde zararlı olduğu belirlenmiş bakteriyel hastalıklar ve diğerleri

HASTALIK	BAKTERİ
Bakteriyel Leke-Yanıklık Hastalığı (Bacterial leaf spot or blast)	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>mors-prunorum</i>
Bakteriyel ur hastalığı (Crown gall)	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Bakteriyel Saçak Köklülük Hastalığı (Hairy root)	<i>Agrobacterium rhizogenes</i>
Güllerde Zararlı Değişik Hastalık ve Bozulmalar	
Gül Çoklu Gonca Hastalığı (Rose flower proliferation)	Etmeni Saptanmamış (Undetermined)
Gül Bodurluğu (Rose spring dwarf)	Etmeni Saptanmamış (Undetermined)
Gül Solgunluğu (Rose wilt)	Etmeni Saptanmamış (Undetermined)

Güllerin en önemli viral hastalığı olarak bilinen ve kabul edilen “gül mozaik hastalığı” na da neden olan Apple Mosaic Virus (ApMV, Elma mozaik virüsü) ilk önce ABD de *Rosa* spp. familyasında ve elma da, yani *Malus domestica* da görülmüştür (White,1928; Bradford ve Joley, 1933).

Çizelge 2.2. Güllerde zararlı olduğu belirlenmiş fungal hastalıklar

HASTALIK	ETMEN FUNGUS/FUNGUSLAR
Alternarya Yaprak Leke Hastalığı (Alternaria leaf spot)	<i>Alternaria alternata</i> , <i>A.brassicae</i> , <i>A. brassicicola</i>
Siyah Küf Hastalığı (Black mold)	<i>Ceratocystis paradoxa</i>
Kara Leke Hastalığı (Black spot)	<i>Diplocarpon rosae</i> , <i>Marssonina rosae</i> [anamorph]
Botritis Yanıklığı (Botrytis blight) (bud, twig, and flower; also cane canker)	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Botryotinia fuckeliana</i> [teleomorph]
Gül Pası Hastalığı (Brand canker)	<i>Coniothyrium wernsdorffiae</i>
Kahverengi Kanser Hastalığı (Brown canker)	<i>Cryptosporella umbrina</i>
Cane blight canker	<i>Botryosphaeria eriothidea</i> , <i>Fusicoccum aesculi</i> [anamorph], <i>B. ribis</i> , <i>Fusicoccum</i> sp. [anamorph], <i>Discostroma corticola</i> , <i>Seimatosporium lichenicola</i> [anamorph]
Serkospora Yaprak Leke Hastalığı, (Cercospora leaf spot)	<i>Pseudocercospora puderi</i> , <i>Cercospora puderii</i> , <i>C. rosicola</i> , <i>Mycosphaerella rosicola</i> [teleomorph]
Gövde Kanseri (Common stem canker)	<i>Diapleella coniothyrium</i> , <i>Coniothyrium fuckelii</i> [anamorph]
Gonca Kanseri (Crown canker)	<i>Cylindrocladium scoparium</i> , <i>Calonectria kyotensis</i> [teleomorph]
Mildiyö (Downy mildew)	<i>Peronospora sparsa</i>
Fungal Kanser (Fungal canker)	<i>Cryptosporium minimum</i> , <i>Nectria cinnabarina</i> , <i>Tubercularia vulgaris</i> [anamorph], <i>Diaporthe eres</i> , <i>Phomopsis oblonga</i> [anamorph], <i>Diplodia</i> sp.
Graft canker	<i>Coniothyrium rosarum</i>
Külleme (Powdery mildew)	<i>Podosphaera pannosa</i>
Pas (Rust)	<i>Phragmidium mucronatum</i> , <i>P. rosae-pimpinellifoliae</i> ve ilaveten <i>Phragmidium</i> spp.
Septorya Yaprak Leke Hastalığı (Septoria leaf spot)	<i>Septoria rosae</i> , <i>Sphaerulina rehmana</i> [teleomorph]
Antraknoz (Spot anthracnose)	<i>Elsinoë rosarum</i> , <i>Sphaceloma rosarum</i> [anamorph]
Vertisilyum Solgunluğu (Verticillium wilt)	<i>Verticillium albo-atrum</i> , <i>V.dahliae</i>

Mekanik inokulasyon çalışmalarında duyarlı konukçularından hıyarda (*Cucumis sativus*) klorotik lokal lezyonlar, sistemik kloroz, bodurluk oluştururken, *Amaranthus tricolor*, *Teramnus uncinatus* bitkilerinde küçük kahverengi lokal lezyonlar, börülcede (*Vigna unguiculata*) sistemik klorotik çizgiler ve halkalar, *Chenopodium quinoa* da beneklenme, *Crotalaria juncea* da nekrozlar, *Yamopsis tetragonoloba* bitkisinde nekrotik lokal lezyonlar, *Torenia fournieri* de ise parlak sarı mozaik şeklinde belirtilerin oluşumuna neden olmaktadır.

Çağlar ve ark. (2011) Adana’da yaptıkları çalışmada faidalık, sera ve parklardan yaprak sararması ve çiçek tablası dejenerasyonu gösteren örnekler ile tesadüfi seçilen sağlıklı görünümlü gül örneklerinde direk ve nested PCR çalışmaları yapmışlar ve sonuç olarak belirti gösteren örneklerde fitoplazma etmeni varlığını saptamışlardır.

Fulton (1952), yaptığı çalışmada gülde bulunan Rose mosaic virüsünü zor olmasına rağmen otsu bitkilere taşımayı başarmış ve 1967 yılında antiserumlar kullanarak bu virüs üzerinde çalışmaya başlamıştır. Yaptığı çalışmalarda da RMV virüsünün apple mosaic virus (ApMV) ile yakından ilişkili olduğunu görmüştür. (Fulton, 1952). ApMV partiküllerinin % 16 nükleik asit ve % 84 protein; % 0 lipit içerdiği, ve 25 -29 nm çapında, genomu tek iplikli RNA şeklindedir (Gonsalves ve Fulton, 1977).

Moury ve ark., (2001) nın bildirdiğine göre gül bitkisi bir veya birden fazla virüs hastalıklarına karşı hassastır. Bu hastalıklar yüzünden gül yağı üretiminde ciddi oranda etkilenmektedir. Bu virüs hastalıkları 2 cinse ait olup bu cinsler Ilarvirus ve Nepoviruslerdir. Dünyanın farklı bölgesinde üretilen çeşitli gül üretim alanlarında Ilarviruslerden *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), Apple mosaic virus (ApMV) ve Tobacco streak virus (TSV); Nepoviruslerden ise Arabis mosaic virus (ArMV), Strawberry latent ringspot virus (SLRSV), Tobacco ringspot virus (TRSV) ve Tomato ringspot virus (TomRSV) enfeksiyonları saptandığı belirtilmiştir.

Horst ve Cloyd (2007) gül bitkisinde zarar yapabilen 11 farklı virüs hastalığı belirlemiştir. Bu etmenlerinde en etkili ve yoğun olarak görülen *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple mosaic virus* (ApMV) ve *Arabis mosaic virus* (ArMV) virüsleri gül mozaik hastalığına sebep olmaktadır. Ayrıca gül bitkisi yaprakalarında köşeli sarı yaprak lekelerine, bitkide cücelik ve yapraklarda şekil bozukluklarına neden olan *Strawberry latent ring spot virus* (SLRSV) bir başka virüs olarak raporlanmıştır.

Horst ve Cloyd (2007) yaptıkları çalışmaya göre yine gül mozaik virüsü hastalığının genellikle *Ilarvirus* ve *Nepovirus* isimli iki taksona ait virüslerin karışık enfeksiyonlarından oluştuğunu belirtmiştir. *Ilarvirus* cinsi içinde en fazla *Prunus nekrotik ringspot virüsü* (PNRSV) ve *Apple mosaic virüsüdür* (ApMV). PNRSV yaygın olduğu için dünya çapındaki devletlerden izole edilmiştir. *Nepovirus* cinsi arasında yeralan ApMV ağırlıklı olarak ABD'den izole edilmiştir. *Arabis mozaik virüsü* (ArMV) ve *Strawberry ringpot virüsü* (SLRSV) yalnız başına veya kompleks halinde *İlavirüs*lerdir ve sadece ABD'de yetişen güllerde olmadığına inanılıyor. Diğer nepovirüsler, özellikle *Tütün ringspot virüsü* (TRSV) ve *Domates ringspot virüsü* (ToRSV), ABD'deki simptomatik güllerden de izole edilmiştir (Horst ve Cloyd, 2007).

Yine gül mozaik hastalığı etmeni PNRSV' de ilk kez ABD' den Cochran ve Hutchins (1941) tarafından şeftali bitkilerinde (*Prunus persica*) rapor edilmiştir. Şeftalide belirtilerin kahverengi çizgiler ve halkalar şeklinde görüldüğü, gülde ise klorotik çizgiler ve halkalar, meşe yaprağı desenleri şeklinde ortaya çıktığı ve kalıcı olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında şerbetçiotu bitkilerinde belirti görülmez iken hıyar bitkisinde (*Cucumis sativus*)'da klorotik lokal lezyonlar ile sistemik nekroz ve ciddi bodurluk belirtileri oluşturduğu görülmüştür.

PNRSV dünya çapında yayılmış bir virüstür olup mekanik inokulasyon ve aşı yoluyla taşınan bir virüstür. Bitkiler arasında temasla bulaşmadığı, tohum taşındığı da bildirilen etminin in vitroda 6-18 saat canlı kalabildiği, partiküllerinin

23, 25 ve 27 nm çapında olduğu, % 16 nükleik asit içerdiği ve genom RNA'sının tek iplikli olduğu bildirilmiştir (Loesch ve Fulton, 1975).

Arabis mosaic virüs (ArMV) Smith ve Markham (1944) tarafından İngiltere'de *Arabis hirsuta* bitkisinde ilk olarak rapor edilmiştir. Mekanik olarak taşına virüs; aşı yoluyla da taşınmakta olup bitkiler arasında temasla bulaşmamakta, ayrıca tohum ile de taşınmaktadır. Gül mozayik hastalığı etmenleri arasında yer alan virüsün nematodla taşındığı ve vektörleri arasında *Xiphinema bakeri*, *X. coxi*, *X. diversicaudatum* nematodlarının olduğu, başlıca doğal vektör nematodun da *X. diversicaudatum* olduğu bildirilmiştir.

Strawberry latent ringspot virüs (SLRV) Lister (1964) tarafından ilk kez İskoçya'da çilek (*Fragaria vesca*) ve ahududu (*Rubus idaeus*) bitkilerinden rapor edilmiştir. *Xiphinema diversicaudatum* nematodu ile taşınan etmen virus ayrıca mekanik inokulasyon, aşılama ve tohum ile de taşıabilmektedir. Hastalığın Avustralya, Belçika, Kanada, Finlandiya, Fransa, Almanya, İrlanda, İsrail, İtalya gibi ülkelerde görüldüğü, etminin in vitroda 12-50 gün arasında canlı kalabildiği, 38 % nükleik asit (B); 62 % protein (T) içerdiği, genom RNA'sının tek iplikli olduğu Mayo ve ark., (1974) tarafından rapor edilmiştir.

Sipahioğlu ve ark., (2001) Adana ve Mersin illerinde gül seralarında PRNSV ve ApMV virus hastalıklarının yaygınlıklarının saptanması amacıyla yaptıkları çalışmada toplam 45 dekar gül sera alanından topladıkları şüpheli gül bitkisi örneklerinde ELISA testi ile çalışmışlar ve survey yapılan alanlardan alınan örneklerin hiçbirisinde ApMV tespit edilemezken bazı örneklerde PRNSV'yi saptadıklarını rapor etmişlerdir.

Akpınar (2007) yaptığı çalışmada Trakya bölgesinde güllerde zararlı virüsleri araştırmıştır. Nisan ayından Ekim ayına kadar yapılan arazi surveylerinde Edirne, İstanbul, Kırklareli ve Tekirdağ'ın 18 ilçesinden simptomolojik hastalık belirtileri gösteren gül bitkilerinden toplam 287 yaprak örneği toplanmış, ve serolojik olarak testlemiştir. Toplanan yaprak örneklerine Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) serolojik testi

uygulanmış ve bu numunelerde *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple mosaic virus* (ApMV) ve *Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV) virüs varlığı saptanmaya çalışılmıştır. Bu örneklerin 18 adetinde ApMV, 17 adetinde ise PNRSV saptandığını rapor etmiştir.

Windham (2019) gül hastalıkları ile ilgili yapmış olduğu çalışmada güllerdeki bakteriyel, fungal ve virüs hastalıklarından ve semptomlarından bahsetmişlerdir. Virüs hastalıklarında gül mozaik virüsüne bazen tek bir virüs neden olabileceği gibi 2 yada 3 virüsünde etki edebileceğini belirtmişlerdir. Bu virüslerin *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple mosaic virus* (ApMV) ve *Arabis mosaic virus* (ArMV) olduğunu belirtip gül virüslerinin birçoğunun vektör, budama veya böceklerle yayıldığını belirtmişlerdir. Tek güvenli çözümün virüsten arı bitki elde etmek ve virüs belirtisi gösteren bitkileri parklara, bahçelere ve seralara girdirilmemesi gerektiğinin altını çizmişlerdir. Rose rosetta virüs hastalığının da ölümcül bir hastalık olabileceğinden bahsetmişler ve bu hastalığa ise bir akarın taşıyıcılık ettiğini belirtmişlerdir.

Epstein ve ark., (1995) Rose rosetta virüs hastalığında mekanik iletimin mümkün oluşunu ancak bu şekilde yayılmasının mümkün olmadığını belirlemiştir. Raghuwinder ve ark., (2016) Louisiana şehrinde park ve peyzaj alanlarındaki güller üzerinde Rose rosetta virüs semptomlarını ifade eden belirtiler görülmüş bunun üzerine bir araştırma yapıp bunu raporlamışlardır. Bu rapora göre sürgünlerde çalılama, yeni sürgünlerde aşırı ve yumuşak dikenler, yine yeni sürgünlerde kırmızı rengin baskın olması ve yapraklarda deformasyon görüldüğü belirtilmiştir. Bu virüsün ortaya çıkmasında *Phyllocoptes fructiphilus* Keifer (Arachnida: Acari: Eriophyidae) etkisinin olduğu belirtilmiştir.

Laney ve ark., (2011)' nin raporlarına göre rose rosetta hastalığı gülün en yıkıcı hastalığıdır ve 1940 lı yılların başında ortaya çıkmıştır. Bu patojen bir Emaravirüs cinsinin yeni üyesidir. Araştırmacılar virüs belirtisi gösteren 84 gül bitkisinin tamamında PCR yöntemleri ile yapmış olduğu çalışmada Emaravirus (negatif iplikli RNA virüsü) tespit edilmiştir.

Ong ve ark., (2013) Rose rosetta virüs hastalığının yayılma süreci ile ilgili yaptıkları bir çalışmada bu hastalığın 1940 lı yılların erken dönemlerinde belirtilmelerini göstermeye başladığını ve 70 yıldan fazla bir süredir bu hastalığın yaygın olduğunu belirtmişlerdir.

Milleza ve ark. (2013) yaptığı çalışmada Yeni Zelanda’da gülü infekte eden virüsleri belirlemek için Yeni Zelanda’nın hem kuzey hem güney adalarında survey çalışmaları yapmış, özel ve halka açık bahçe, park ve seralardan alınan 89 örnek, bilinen 17 virüs için RT-PCR yöntemiyle test edilmiştir. Test edilen 89 örneğin 48’inde Rose cryptic virüsü, 22’sinde Prunus necrotic ringspot virüsü, 20’inde Rose spring dwarf virüsü, 10’unda Rose yellow wein virüsü ve 2’sinde Arabis mosaic virüsü tespit edilmiş olup 35 örnekte herhangi bir virüs tespit edilememiştir.

Kuack (2013), yaptığı bir araştırmada Rose rosetta virüsünün 1940’lı yılların başından itibaren görülmüş olsa da bu hastalığın nedeninin 2011 yılına kadar açıklanamadığını belirtmiştir. Araştırmacı bu hastalığın en belirgin belirtilmelerinin cadısüpergesi gibi sürgünler, yan sürgün uzaması, yapraklarda parlak kırmızı renklenme ve çiçek ve yapraklarda bozulma olduğunu vurgulamış ancak cadısüpergesi görünümünün bazen herbisit etkisinden de olabileceğini unutulmaması gerektiğinin altını çizmiştir. Herbisit etkisinden dolayı oluşan görünümün bir sonraki sezonda etkisini kaybedeceğini ve sürgünlerin normale döneceğini belirtmiştir. Bu hastalığın yayılmasını önlemek için virüsten arı bitki kullanılması ve bu hastalığın yayılmasını sağlayan akar türlerini kontrol etmek için sistemik veya farklı etkili maddelerin dönüşümlü olarak kullanılması gerektiği açıklanmıştır.

Jones, (2019) Rose rosetta virüs hastalığının Kuzey Amerika’da çok yaygın olarak görüldüğünü ve bu hastalığın gözle görülemeyecek kadar küçük bir akar tarafından taşındığını belirtmiştir. Dolayısıyla bu akarın insektisitlerle kontrollerinin zor olduğunu ve virüsle bulaşık bitkilerin mümkün olduğunca diğer bitkilerden uzaklaştırılarak imha edilmesi gerektiğini belirtmiştir. Japonya’dan

getirilen yabancı multiflora gülünün (*Rosa multiflora*) Rose rosetta virüse karşı özellikle hassas olduğunu, bu gülün bir zamanlar erozyon kontrolü ve korunma amacıyla yaygın şekilde ekildiğini, ancak şimdi Kuzey Amerika'nın çoğunda istilacı hale geldiğini ve Rose rosetta virüsü için bir aşı kaynağı olabileceğinin yine altını çizmiştir.

Sertkaya (2010), Hatay 'da Rose Mosaic virüs hastalığı ile ilgili yapmış olduğu bir araştırmada Apple mosaic virus (ApMV), Arabis mosaic virus (ArMV) and Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV) için saha incelemelerinin yapıldığı ve bulunan bitkilerin mekanik inokulasyon ve ELISA testi ile testlendiğini ve sonuçta ortaya çıkan virüsün Prunus necrotic ringspot virüsü (PNRSV) olduğunu belirtmiştir. Kesin olarak yayılımın nasıl devam ettiğini öğrenmek için çalışmaların sürdürülmesi gerektiğini de belirtmiştir.

Yardımcı ve ark., (2007) Isparta da yağ üretimi için yetiştirilen gül çeşidi (*Rosa damascena* Mill.) üretim alanlarında yapmış olduğu araştırmalar sırasında virüs benzeri semptomlar gösteren 10 farklı yağ üretimi için gül bitkisi üretim alanındaki süpheli 142 yaprak örneğinin DAS-ELISA (Double antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay) tekniği ile test edilmesi ile 36 örnekte Strawberry latent ringspot virüsü (SLRSV) saptanmıştır. Bu çalışma ile Türkiye'de yağ üretimi için gül bitkisi üretim alanlarında SLRSV'nin varlığı ilk kez belirlenmiştir.

Çağlayan ve Gazel (1999) göre fitoplazma etmeni temel hayatsal faaliyetlerini gerçekleştirmek için bazı genlere sahip olsada bunun yanında bazı metabolik genlerinde olmadığını çalışmalarında belirtmişlerdir. Ayrıca sert çekirdekli meyvelerde de sarılık fitoplazma etmeni ile alakalı belirtilere ait verileri 1999 yılında raporlamışlardır.

Polonya'da aster sarısı fitoplazma hastalığı ve güllerde geriye ölüm (solgunluk hastalığı- *Verticillium albo-atrum*) hastalığı arasındaki ilişkiyi belirlemek ve güllerde zararlı geriye ölüm hastalığının etmenini belirlemek amacıyla Kaminska ve ark. (2003) tarafından yürütülen bir çalışmada PCR, RFLP

analiz (restriction fragment length polymorphism analysis) PCR ürünlerinden cDNA dizilemesi (sequencing of PCR-amplified cDNA), aşılama çalışmaları ve mikolojik testleri kullanmışlardır. Hastalanmış bitkilerde nükleotid dizisinin analizine dayalı olarak aster sarılık (AY) grubunun alt grubunda 16SrI-B'de sınıflandırılan fitoplazma ile enfekte olduğu ve 16S rRNA geninin 1101-bp'lik bir fragmanını (GenBank erişim no. AF450325) içerdiği belirlenmiştir. Güllerde *Verticillium albo-atrum*'un enfeksiyonuna dair hiçbir kanıt elde edilemezken serada ısıtmasız ve açık dış koşullarda bulunan güllerde incelendiğinde dış koşullarda olanlarda külleme (*Peronospora sparsa*) geliştiğini gözlemlemişlerdir.

Kaliforniya Üniversitesi Davis kampüsünde 400 den fazla gül çeşidinde yapılan virolojik test çalışmaları sırasında filloidi belirtileri gözlenmiş ve fitoplazmaların neden olduğu rapor edilmiştir. 2003 yılında yapılan çalışmalarda belirti gösteren güllerde PCR testi kullanılarak fitoplazma belirlenmiş ve 10 farklı çeşitte fitoplazma saptandığı bildirilmiştir (Sim ve ark., 2004)

Sertkaya ve ark., (2005) fitoplazma etmenine nasıl tanı konulması gerektiğini araştırırken, Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yapılan araştırmalarda patajen etmenin bitkideki semptomlarına göre tanı yapıldığı görülmüştür. Bu etmen çok belirgin ve tanıdık belirtiler ortaya çıkmasını sağlamıştır. Fitoplazma etmeninin teşhisinde semptomoloji önem kazansada moleküler testlemeler daha net ve güvenilir ve ayrıca da hızlı bir yöntem olduğu için tercih edilen bir yöntemdir. Moleküler testlemelerde ilk tanı çalışmalarında (PCR-RFLP), DAPI (4'-6-diamidino-2-phenylindole ile DNA boyama) ve elektron mikroskop (TEM) teknikleri kullanılmaya başlanmıştır.

Kaminska ve ark., (2006) tarafından Polonya'da yürütülen bir çalışmada güllerde dejenerasyon belirtilerinin gül çalılışması (rose proliferation) ve geriye ölümlerin fitoplazma ile olan ilişkileri ve fitoplazma hastalığının etiolojisi araştırılmıştır. Çalışmada toplanan 33 çeşit gül bitkisinde bodurlaşma, çalılışma, yaprak ve çiçek renklerinde değişimler ve malformasyon ile geriye ölüm belirtileri gözlemlemişler, belirtilerin yıllara ve çeşit ile yetiştirildiği lokasyona bağlı olarak

etkilenen güllerde yüzdenin değiştiğini görmüşlerdir. Bazen bir sonraki sezonda güllerin tamamen iyileştiği ve belirtilerin kaybolduğu görülmüştür. Sonuç olarak PCR-RFLP analizi, belirtilerin tipi ve şiddetindeki farklılıklara rağmen ortaya çıkan hasatlığın sarı aster fitoplazması (16SrI-B) olduğunu rapor etmişlerdir. Ek olarak, bir gül çeşidinin bitkisinde 16SrX-A grubuna sınıflandırılan fitoplazma belirlenirken, başka bir çeşidin bitkilerinin hem 16SrI-B hem de 16SrX-A fitoplazmaları ile enfekte olduğu saptanmıştır. Geriye ölüm ve proliferasyon belirtilerin göstern güllerde Kaminska ve ark., (2006) 16SrI-B fitoplazmanı 16S rDNA fragmanlarının sekansını da yapmışlardır.

Bertacci (2007), Fitoplazma etmeni bitkilerde geri dönüşü olmayan zararlar verirken en önemli taşıyıcısı böceklerdir. Böceklerde bitki floeminde bulunan bu patojeni alarak diğer bitkilere emgi sırasında bulaştırmaktadır.

Polonyada seralarda yetiştirilen değişik gül çeşitlerinde (Patina, Papillon ve Mercedes) 1998 yılında ağır bir hastalık gözlenmiş, bitkilerin bodurluk tomurcuklarda anormal büyümeler, yapraklarda şekil bozuklukları ve çiçek tomurcuklarında azalmalar saptanmıştır. Bu arada bazı bitkilerin büyük tomurcuk yapılarına dönüşen çiçek tomurcukları ve dejenere çiçekler oluşturduğu da gözlenmiştir. Şiddetli belirtiler gösteren güllerde aşılama ve küsküt yoluyla deneysel olarak enfekte edilmiş bitkilerde fitoplazma varlığı, R16F2/R2 veya R16F1/R0 ve R16(I)F1/ primer çiftleri ile nested PCR testi ile gösterilmiş ve bu çalışma moleküler düzeyde tanımlanan güldeki sarı fitoplazma hastalığı hakkındaki ilk rapor olmuştur (Kaminska ve ark., 2008).

Hogenhout ve ark (2008), Fitoplazma etmeni 500 nm çaplarında, tek bir hücre membranı ile çevrili, belirgin bir şekli olmayan küçük bakterilerdir. Fitoplazma etmeninin yaşayabilmesi için canlı dokuya ihtiyacı bulunmaktadır. Fitoplazma etmeni bitkiden böceğe ve böcekten bitkiye sürekli bir geçiş sayesinde hayatta kalabilmektedir.

Sertkaya ve ark., (2011) Bu dönemde başta meyve ağaçlarında olmak üzere birçok fitoplazma etmeni ve bu etmenlerin yayılmasında etkili olan vektörlere karşı araştırmalar hızlanmıştır.

Mikhail ve ark., (2012) Mısırda doğal olarak infekte olmuş gül bitkilerinde fillodi belirtilerine neden olan fitoplazmaları saptamışlar ve infekte olmuş bitkilerin floem dokularında çapları 0,4 ila 0,8 µm arasında değişen fitoplazmalar ile ilgili bazı oluşumları saptamışlardır. Belirti gösteren örneklerden ekstrakte edilen DNA, sırasıyla P1/P7 primer çifti kullanılarak 1.8 kb ve R16F2/R2 primer çiftleri kullanılarak 1.2 kb'lik ürünlerin amplifikasyonu için şablon olarak kullanmışlar ve üç örnekte PCR ile beklenen büyüklükte (1.200 bp) amplikonlar olan PCR ürünleri elde edilirken belirti göstermeyenlerde hiçbir PCR ürünü elde edilememiş, ve bu çalışmanın güllerde filloidi için Mısırda yapılan ilk çalışma olduğunu, Tetrasiklin hidroklorürün iki farklı konsantrasyonu ile yapılan çalışmalarda kontrolün mümkün olduğunu bildirmişlerdir

Yağ gülü yetiştiriciliği Hindistanda'da önemli olup *Rosa damascena* türü güllerde daha önce tanımlanmamış sarılık, küçük yaprak oluşumu ve sürgün uçlarında anormallikler ile cadı süpürgesi belirtisi gösteren bitkiler görülmüştür. Bu bitkilerden alınan örneklerde jenerik primer çiftleri P1/P6 ve R16F2n/R16R2 kullanılarak PCR ile testlenmiş ve PCR ürünü klonlanıp dizilenerek etmenin bit fitoplasma olduğu ortaya konmuştur. Sonuçta *Candidatus Phytoplasma balanitae* (HG937644), *Balanites triflora'* cadılar-süpürgesi fitoplazması (BltWB) (AB689678) ve Periwinkle yellows fitoplasması (EU375835) ve ayrıca 16SrV grubunun diğer üyeleri ile %97-98 benzerlik gösterdiği belirlenmiş ve ilk kayıt olarak rapor edilmiştir (Saed ve ark., 2015).

Standart koşullarda, BAP 1 mg l-1 ve sürekli 20°C sıcaklıkta besiyerinde iki yıllık doku kültürü sırasında Sacha ve Jazz gül çeşitlerinin hastalıklı bitkilerinde PCR ile fitoplazmanın saptanabildiğini Kaminska ve Podwysznska., (2011) belirlemişlerdir. Hatta mikroçoğaltımın ikinci yılında, bulaşık güllerin dokularında fitoplazma tespit oranının arttığını görmüşlerdir. Fitoplazmaların sıcaklığa ve ışık

yoğunluğuna duyarlı olup olmadığını test etmek için fitoplazmadan etkilenen mikro çoğaltılmış gül bitkileri ile yürüttükleri denemede PCR analizi ile 4 haftalık kültürleme sırasında fitoplazmanın saptanmasının uygulanan deneme koşullarından etkilenmediğini ortaya koymuşlardır. Bir başka gözlem de de 25.0 veya 50.0 mg l-1 konsantrasyonunda Gentamisin veya Baytril içeren ortamda tutulan mikro çoğaltılmış gül sürgünlerinde büyümenin azaldığı ancak yapraklarda klorotik lekelerin kaldığı görülmüş, bununla birlikte, uygulanan antibiyotiklerin fitoplazmaların saptanması üzerine doğrudan etkisi olmadığı konusu kanıtlanamamıştır (Kaminska ve Podwysznska., 2011).

tomurcuk yada yeni açmış goncaları da alınmıştır (Örneğin pozitif olması durumunda sürgün, yaprak, gonca ve petal gibi kısımlarda virüsün varlığını kontrol amacıyla).

Çalışma boyunca 2020 Mart ve Kasım ile 2021 Mayıs aylarında değişik zamanlarda bölgede yetiştirilen veya mevcut kırmızı, pembe, sarı ve beyaz güllerden 236 adet şüpheli belirtiler gösteren örnek alınmış ve illere göre dağılımı Çizelge 3.1 de verilmiştir. Şüpheli olarak aranan virüslerin isimleri ve taşınma yolları Çizelge 3.2’ de özetlenmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan bitkisel materyallerin illelere göre dağılımı

SURVEY ALANI	TOPLANAN GÜL ÖRNEKLERİ		
	SERA ⁽¹⁾	AÇIK ALAN ⁽²⁾	TOPLAM
ADANA			
Yüreğir	28	12	40
Sarıçam	12	23	35
Seyhan	0	8	14
Çukurova	0	10	10
Karaisali		6	0
MERSİN			
Tarsus	36	9	45
Yenice	44	12	56
Silifke	0	36	36
TOPLAM	120	116	236

(1) Ticari Gül Üretimi Yapan Modern Yüksek Seralar

(2) Açık Alanlar, Park, Yol Kenarları, Ev Bahçeleri, Rekreasyon Alanları

3.1.2. Moleküler Çalışmalarda (Total Nükleik Asit İzolasyonu, RT-PCR ve Agaroze jel) Kullanılan Materyaller

Survey çalışmalarında gülde zararlı muhtelif virüs hastalıklarının belirtilerine benzer belirtiler gösteren virüs hastalığı ile bulaşık olduğu düşünülen şüpheli bitkiler total nükleik asit ekstraksiyonu çalışmalarında materyal olarak kullanılmıştır. Virüs ile bulaşık olan farklı izolatlara ait nükleik asitler RT-PCR çalışmaları için hedef nükleik asit materyallerinin kaynağını oluşturmuştur. Çalışmaya konu olan virüsler için moleküler çalışmalarda çizelge 3.3. ‘te verilen primer çiftleri kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Çalışmaya konu olan virüs ve benzeri etmenler

SIRA	Virüs Adı (Türkçe)	Virüs Adı (İngilizce)	Kısa Adı	Taşıma Şekli
1	Elma Mozaik Virüsü	<i>Apple Mosaic Virüs</i>	APMV	A-M-P
2	Seftali Halkalı Leke virüsü	<i>Prunus Necrotic Virüs</i>	PRNSV	T-P
3	Çilek Latent Ringspot virüsü	<i>Strawberry Ringspot</i>	SLRVR	A-M
4	Gül Çizgi Virüsü	<i>Rose Streak Virüs</i>	RSV	A-M
5	Çilek Latent Virüs Hastalığı	<i>Strawberry Latent Virüs</i>	SLRVR	N
6	Gül Rozet Hastalığı	<i>Rose Rosetta Disease</i>	RRD	A
7	Gül Yaprak Kırışıklığı Hastalığı	<i>Rose Leaf Curl Disease</i>	RoLCuV	BS
8	Gül Bahar Cüce Hastalığı	<i>Rose Spring Dwarf</i>	RSDaV	A-YB
9	Tütün Çizgi virüs	<i>Tobacco Streak Virüs</i>	TSV	M-T-YO
10	Asma mozaik virüs	<i>Arabis Mosaic Virüs</i>	ArMV	N-A-M-T

Taşıma Yolları: A: Aşı, P: Polen, M: Mekanik İnokulasyon, T: Tohum, YB: Yaprak Biti, YO : Yabancı otlar, N: Nematodlar, A: Akarlar, BS: Beyaz Sinekler

3.1.3. RFLP Çalışmaları İçin Bitkisel Materyallerin Hazırlanması

Denize sahili olan Adana ve Mersin illerinin içinde yer aldığı Doğu Akdeniz Bölgesi'nde gül üretim alanlarında bulunan ve fitoplazma belirtileri gösteren güllerin yaprakları kullanılarak DNA izolasyonu yapılmış ve elde edilen bu DNA'lar RFLP testlerinde kullanılmıştır. RFLP çalışmalarında enzim olarak EcoRI (Thermo Scientific, ABD), enzimi kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Moleküler çalışmalarda kullanılan spesifik primer çiftleri

Patojen	Primer ismi ve Primer baz dizilimi	Ürün (bp)	Referans
ArMV	ArMV-S: 5'-AAAGAATTGGCAGCGGATTGG-3' ArMV-A: 5'-GAGTTCGATGATAGGGAGAACG-3'	453 bp	Bertioli et al., 1991
	ApMV-S: 5'-GGCCATTAGCGACGATTAGTC-3 ApMV-A: 5'-GGCCATTAGCGACGATTAGTC-3'	820 bp	Petrzik ve Lenz, 2002
PNRSV	PNRSV-C537: 5'-ACGCGCAAAAGTGTCGAAATCTAAA-3' PNRSV-H83: 5'-TGGTCCCCTCAGAGCTCAACAAAG-3'	455 bp	MacKenzie ve ark., 1997
	SLRSV-S: 5'-CCTCTCCAACCTGCTAGACT 3' SLRSV-A: 5'-AAGCGCATGAAGGTGTAAC 3'	497 Bp	Postman et al., 2004
PHYTOPLAZMA	Üniversal R16F1: 5'-AAGACGAGGATAACAGTTGG-3' R16R0: 5'-GGATACCTTGTACGACTTAACCCC-3'	1.400 bp	Davis ve ark., 1997
	Nested R16F2n: 5'-ACGACTGCTAAGACTGG-3' R16R2: 5'-TGAC GGGCGGTGTGTACAAACCCCG-3'	1.250 bp	Schneider ve ark., 1997

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Toplanması

Güllerde zararlı olduğu listelenen virüs ve virüsten şüpheli hastalıklar için örtü altı veya açıkta değişik amaçlarla yetiştirilen güllerde Mart-Kasım 2020 ve Mayıs 2021 tarihleri arasında 236 örnek toplanmıştır. Örnekler virüs ve benzeri şüpheli belirti gösteren bitkilerden gonca ve yaprak bulunduran sürgünler alınmıştır. Alınan her bir örnek kodlanarak, resimleri çekilip etiketlenmiştir. Alınan örnekler ayrı ayrı torbalanıp buz kutusu içinde laboratuvara getirilecek ve buzdolabında kullanılıncaya kadar muhafaza edilecek, ilk hafta içinde örnekler ile çalışıldıktan sonra pozitif olduğu belirlenen örneklerin kalan kısmı -20 °C de saklanmıştır.

Sonuç olarak alınan yaprak örnekleri, üzerinde örneklerin alındığı yerin adı, örnekleme yapılan tarih ve örnek numarası yazılarak polietilen torbalar içerisine yerleştirilerek paketlenildikten sonra buz kutusu içerisinde muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiştir. Bitki örnekleri moleküler çalışmalardan önce + 4 °C'de, çalışmalardan sonra -20°C'de muhafaza edilmiştir. Laboratuvar işlemleri

için Ç.Ü Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Viroloji laboratuvarı veya Subtropik Meyveler Araştırma ve Uygulama Merkezi laboratuvarında kullanılmıştır.

Virüs ve benzeri hastalıklar için survey çalışmalarında aranan virus ve benzeri hastalıklar için belirtiler Şekil 3.1.'de verilmiştir. Çalışmalarda bu veya bunlara benzer belirtiler gösteren gül bitkilerinden testlenmek üzere örnekler survey yapılan örtü altı ve açıkla alanlardan seçilerek alınmıştır.

Örnek olarak belirti göstrene bitkilerin yeni sürgünleri ve varsa gencaları da alınmış, etiktelenerek plastic torbalara konmuş ve buz kutusu içinde laboratuvara getirilerek hemen kullanılmııs durumunda 4, daha sonar kullanılacak ise -20 °C de derin dondurucuya konmuştur.

RT-PCR çalışmaları 200µl'lik PCR eppendorf tüpleri, izolatlara ait tNA'lerin çoğaltılması amacıyla komplementer DNA (cDNA)'e dönüştürülmesi için kullanılan "Reverse Transcriptase" enzimi (M-MLV, 200u/l), "Reverse Transcriptase buffer" (M-MLV buffer 5X), RNase inhibitörü (40/l), dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP (100mM)), RNA'in hedef bölgesine spesifik tek iplikli oligonükleotid reverse primeri (Microsynth marka) (Çizelge 3.3.) ve ayrıca cDNA'ın çoğaltılması amacıyla gerekli yüksek ısıya dayanıklı (Termostabil) DNA polimeraz enzimi (Dream Taq polimeraz, 5u/l), "Dream Taq Green PCR buffer" (10X), ve RNA'in hedef bölgesine spesifik tek iplikli "oligonükleotid forward primer" farklı firmalardan satın alınmıştır. RT-PCR çalışmalarında moleküler kimyasal olarak THERMO markası kullanılmıştır. RT-PCR çalışmalarında nükleik asitlerin çoğaltım işlemleri TECHN marka termocycle aleti kullanılarak viroloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Agaroz jel elektroforez çalışmasında kontrol edilen materyal olarak PCR sonucu elde edilen ürünler kullanılmış, diğer kimyasallar viroloji laboratuvarından ve 1 kb DNA marker firmalardan satın alınmıştır.



Şekil 3.2. Çalışmada güllerde aranan virüs ve benzeri hastalık belirtileri

3.2.2 DNA ekstraksiyonu çalışmaları

Örneklerin fitoplazmalara karşı testlenmesi amacıyla DNA ekstraksiyonunda Ahrens ve Seemüller (1992)'nin kullandığı yöntem uygulanmıştır. DNA ekstraksiyon aşamasında kullanılan kimyasallar EK 1. de verilmiş olup işlemler aşağıdaki gibi sıralanmıştır.

a- Bitkilerin genç yaprak ve floemlerinden alınan örnekler (1 g örnek için 4 ml) CTAB buffer (2% w/v cetyltrimethylammonium bromide, 1.4 M NaCl, 0.2 % 2-β-mercaptoethanol, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl, 2% polyvinylpyrrolidone, pH 8.0) ile porselen havan içinde havan eli yardımı ile ezilmiştir.

b- Bu ekstraksiyon dan 500 mikrolitre alınıp 1.5 ml lik eppendorf tüplerine konulacak ve tüpler 30 dakika 60 °C de su banyosunda inkubasyona bırakılmıştır.

c- Daha sonra parçalama için tüpler içerisine 500 mikrolitre chloroform / izoamylalkol (24:1) ilave edilerek 1 dakika süreyle vortek yapılmıştır.

d- Tüpler 12.000 devir/dakika da 10 dakika santrifüj edilmiştir. (c aşaması 2 kez yapılmıştır)

e- Supernatanttan 400 microlitre alınarak yeni eppendof tüplerine aktarılmış ve üzerine 2/3 oranında soğuk isopropanol ilave edilip -20 °C de 20 dakika bekletilmiştir.

f- Daha sonra tüpler 12.000 devir/dakika da 15 dakika santrifüj edilmiştir.

g- Pellet %70' lik etil alkol ile yıkanacak oda sıcaklığında kurutulmuştur. Daha sonra pellet 100µl TE (1X) buffer ile çözdürülecek ve elde edilen DNA' ler kullanılıncaya kadar -70 °C de muhafaza edilmiştir.

3.2.3 Total Nükleik asit (TNA) Ekstraksiyonu Çalışmaları

TNA elde edilmesi çalışmalarında toplanan tüm örneklerin genç sürgün ve yaprakları, eğer var ise tercihen belirti gösteren genç sürgün ve yaprakları kullanılmıştır.

Toplanan şüpheli örnekler beşerli gruplar olarak hazırlanmış ve gruptan tNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan beşli gruplar test sonucunda pozitif çıkması durumunda beşlinin her birinde tekrar tNA izolasyonu yapılması planlanmıştır.

Total NA izolasyonu Astruc ve ark., (1996)'nın önerdiği yöntemle yapılmıştır. TNA çalışmalarında kullanılan kimyasallar EK 2. de verilerek izlenen basamaklar sırasıyla:

a-Örnekler ekstraksiyon bufferi (100mM Tris-HCl pH.8.0, 50mM EDTA pH. 7.0, 500 NaCl, 10mM 2. mercapto-ethanol 1/1000) ile 1:2 (w/v) oranında sulandırılıp porselen havan içerisinde havaneli yardımı ile ezilecek ve bitki özsuğu

steril tülbentten süzölmüştür. Bitki özsu yundan 1ml alınarak eppendorf tüpleri içerisine yerleştirilmiştir.

b-Örnekler 3 dakika 4.000 rpm de santrifü j edilmiştir.

c- Süpernatant'a 50 µl Sodium Dodecylsulfat (%20) ilave edilerek vorteks te karıştırılacak ve sonra tüpler 65 °C de 30 dakika su banyosunda bekletilmiştir.

d-Tüplere 250 µl potasium asetate (5M) ilave edilerek 20 dakika buz içerisinde bekletilmiştir.

e-Tüpler 15 dakika 13.000 rpm de santrifü j edilmiştir.

f-Süpernatant ikiye bölünüp ve 500 µl si yeni hazırlanmış eppendorf tüplerine konarak -70 °C te saklanmıştır. Geriye kalan 500 µl süpernatant yeni hazırlanan eppendorf tüplerine konulup, üzerine % 100 lük Ethanolden 500 µl ilave edilerek 1ml ye tamamlanmıştır. Daha sonra tüpler vortekste karıştırılmış tır.

g-Sonra tüplere 50 µl sodium asetate (3M) ilave edilecek ve örnekler tekrar karıştırılarak -70 °C de bir gece bekletilmiştir.

h-Örnekler 15 dakika 14.000 rpm de santrifü j edilerek süpernatant ortamdan uzaklaştırılıp eppendorf tüpleri ters çevrilmiş filtre kağıdı üzerinde 5 dakika kurutulup daha sonra pellet üzerine 1ml ethanol (% 70) ilave edilmiştir.

i-Örnekler RNA ların çökmesi için 5 dakika 13.000 rpm de santrifü j edilerek tüp içerisindeki ethanol atılarak eppendorf tüpleri kurutma kağıtları ile dikkatlice kurulanmıştır.

k-Elde edilen total RNA lar 50 µl RNase free distile su ile sulandırılmış tır. Örnekler 15µl ve 35 µl olmak üzere ikiye bölünerek eppendorf tüpleri içerisinde -20 °C de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. Total Nükleik asit (TNA) Ekstraksiyonu Çalışmaları

3.2.4 Reverse Transcriptase - Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) Çalışmaları

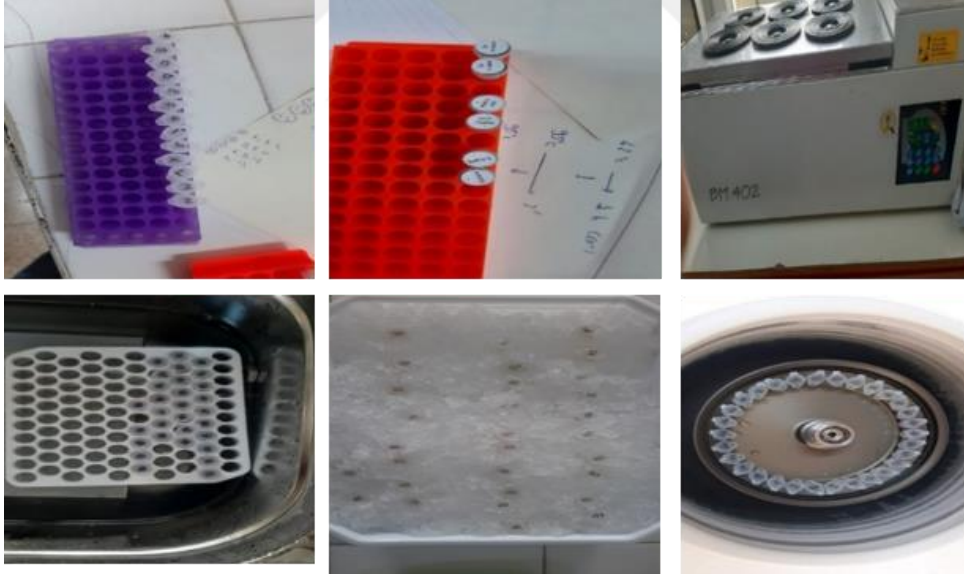
Çalışmada toplanan örneklerde mevcut virüs hastalıklarının saptanması ve tanılanması amacıyla, PCR (*Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction*) çalışmaları yapılmıştır. RT-PCR metodu, öncelikle ELISA kiti temin edilemeyen testlemelerde ve de dolayısıyla serolojik olarak saptanamayan virüsler, kontrol amacıyla diğer virüsler için uygulanmıştır.

Bu amaçla yapılacak çalışmalarda, enfekteli bitkilerin dokularından elde edilecek total nükleik asitler kullanılıp Prieto ve ark (2001) göre çalışma yürütülmüştür. PCR yöntemi, saptanan virüslerin moleküler karakterizasyonu için gerekli olan PCR ürünlerinin elde edilmesi amacıyla kullanılmıştır.

DNA yapısındaki virüsler için direkt olarak PCR aşaması uygulanırken, RNA yapısındaki virüsler için RT aşaması yapıldıktan sonra PCR işlemine geçilmiştir. Birinci aşama olan RT (Reverse transcription) aşamasında cDNA'lar elde edilecek ve diğer aşamada da, bu elde edilen cDNA lar kullanılarak PCR testi yapılmıştır.

I. RT aşamasında; PCR tüpünün her birine, 1 µl total NA 1 µl reverse primer ve 13 µl H₂O konularak 95 °C'de 3 dakika bekletilecek, daha sonra tüpler buz üzerine alınmıştır. Bu PCR tüplerine, 5,9 µl saf su, 2,5 µl RT buffer, 1 µl dNTP (2 mM), 0.3 µl RNase inh ve 0.3 µl RT enzimi ilave edilerek, 42 °C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.

II. PCR aşamasında, 1 µl cDNA, 5 µl, PCR (10X) buffer, 1 µl dNTPs (10 mM), 1 µl PrR, 1 µl PrF, 0,250 µl Taq, 40,75 µl H₂O ilave edilmiştir. Daha sonra tüpler thermocycler'a yerleştirilerek PCR işlemi tamamlanmıştır.



Şekil 3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Çalışmaları

RT - PCR Thermocycle Programı

Denatüreasyon

95 °C de 3 dk ve Buz

RT Mix

42 °C de 60 dk 1 döngü

PCR

95 °C de 3 dk 1 döngü

bağlı

95 °C de 1 dk

53°C de 1 dk 35 döngü

72 °C de 1 dk

bağlı

72 °C de 10 dk 1 döngü

Çalışma sonucunda çoğaltılan PCR ürünleri 1X lik TAE (pH 8.3) de hazırlanmış %1'lik agarose jelde aşağıda özetlendiği şekilde uygulanarak kontrol edilmiştir.

3.2.5. Fitoplazmaların saptanması için PCR

Araziden toplanan örneklerden elde edilen nükleik asitler PCR testlerinde kullanılmıştır. PCR testleri etmenin 16SrDNA geni kullanılmış olup, PCR testlerinde örneklerde etmenin saptanması amacıyla Direkt-PCR ve Nested-PCR gibi moleküler testler kullanılmıştır. Direkt-PCR'da 1.400 bp ürün veren universal R16F1/R16RO primerleri ve Nested-PCR'da 1.250 bp ürün veren R16F2n/R16R2 primer çiftleri kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

3.2.6 PCR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimler İle Kesilmesi (RFLP)

RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism/Kesilmiş Parça Uzunluğu Polimorfizmi) çalışması için PCR ve aşamasında agaroz jel elektroforez yöntemi ile bant görüntüsü elde edilen PCR ürünlerinin bir fitoplazma etmenine ait

olup olmadığını EcoR1 enzimi sayesinde kontrol edilmiştir (Nejat ve ark.2009). EcoR1 enzimi ile kullanılarak bu bant kesildiğinde fitoplazma hastalığının belirtisi olarak 750 ve 500 bp lik ayrı ayrı bantlara ayrılan örnekler elde edilmiş ve bu da etmenin fitoplazma olduğunu kesinleştirmiştir.

3.2.7 Agarose Gel Elektroforez Çalışmalar

Agarose Gel Elektroforez çalışmalarında PCR ve RFLP çalışmaları sonucunda çoğaltılacak DNA'lar kontrol edilmiştir. Agarose Jel Elektroforez çalışması Galitelli ve Minafra, (1994) 'e göre yapılmıştır. İşlemler sırasıyla:

a- Agarose 360 mg olacak şekilde 30 ml 1x TAE buffer (89 mM Tris, 89 mM boric acide, 2 Mm EDTA) içerisine konulmuştur.

b- Bu agarose-TAE buffer karışımı kaynayınca ve agarose eriyinceye kadar mikrodalgalı bir fırın içerisinde ısıtıldıktan sonra volum 30 ml'ye ayarlanmıştır.

c- Karışım tekrar 60 °C ye kadar soğumaya bırakılacak ve tarak geçirilmiş olan tank içerisine boşaltılmıştır.

d- Jel donduktan sonra tarak dikkatli bir şekilde çekilip gel'in üzerini 1-2mm kadar kaplayınca kadar tank içerisine TAE buffer ilave edilmiştir.

e- 10 ml örnek jel deki çukurlara dışına taşmayacak şekilde yerleştirilmiştir. En baştaki çukura 10ml 1 kb marker konulmuştur. Loading buffer daki turuncu renk (orange G) jel' in sonuna gelene kadar jel tankına akımı verilmiş ve en sona gelince akım kesilerek jel alınmıştır.

f- Runnin işlemi bittikten hemen sonra jel, oda sıcaklığında 10 dakika 100 ml H₂O +30 ml (10mg/ml distilate su) ethidium bromide karışımı içerisinde bekletilerek boyanması sağlanmıştır.

Jeldeki fazla ethidium bromide uzaklaştırınca kadar 5 dakika distile su içerisinde bekletilmiştir.

Sonuçlar transilluminatör de kontrol edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Simptomolojik Gözlemler

Araştırma denize sahili olan Adana ve Mersin illerinin içinde yer aldığı Doğu Akdeniz Bölgesi'nde örtü altı veya açıkta yapılan gül yetiştiriciliği ile bazı park ve ev bahçelerinde bulunan güller çalışmanın esas materyallerini oluşturmuştur.

Bu materyallerle yapılan moleküler testler sonucunda herhangi bir virüs bulunamamış fakat bu örneklerin bazılarında fitoplazma olduğu tespit edilmiştir. Virüs hastalığının neden tespit edilemediği konusunda ise yine bölgede yapılan surveylerde açıkta yetişen, park bahçe ve rekareasyon alanlarındaki gül bitkilerine ait bitki yapraklarında deformasyonlar, yapraklardaki renk açılmaları veya yaprak kıvrıcıklığı, çiçeklerdeki renk kırçılması (Şekil 4.1 ve 4.2) görülmüştür. Fakat bu belirtilerin böcek zararı veya iklimsel değişimler sonucunda da ortaya çıkabileceği düşünülmüştür.

Beyaz güllerde gonalarda ve açmış güllerde kırmızımsı renk kırçılması virüs belirtisi olarak düşünülürken gece ve gündüz sıcaklık farklarından olabileceği düşünülmüştür. Yapılan moleküler testlemelerde virüs hastalıklarından herhangi biri için pozitif sonuca rastlanmayınca iklimsel faktörlerden dolayı bu belirtilerin ortaya çıktığı varsayımı güçlenmiştir.

Örtü altında yetiştiricilik yapılan alanlardan numune alımında ise bu alanlara yetkili birisinin dışında kimsenin bu alanlara girmesine izin verilmediği görülmüştür. Örtü altı alanlarda yetiştiricilik yapılırken hastalık ve zararlılarla mücadelede daha profesyonel ve bilgili kişilerin ilgilendiği yani kısaca ticari bir faaliyet olarak üretim yapıldığı için sorumluk sahibi kişiler tarafından bu işlemlerin yapıldığı görülmüştür.

Örtü altında yetişen bitkiler daha sağlıklı görünmekte ve düzenli bir ilaçlama ve gübreleme programının olduğu görülmüştür. Sera ve tünellerde böcekten arı üretim alanı oluşturmak için ayrıca sadece ilaçlama değil hava boşluklarını da izole ederek üretim yaptıkları görülmüştür.

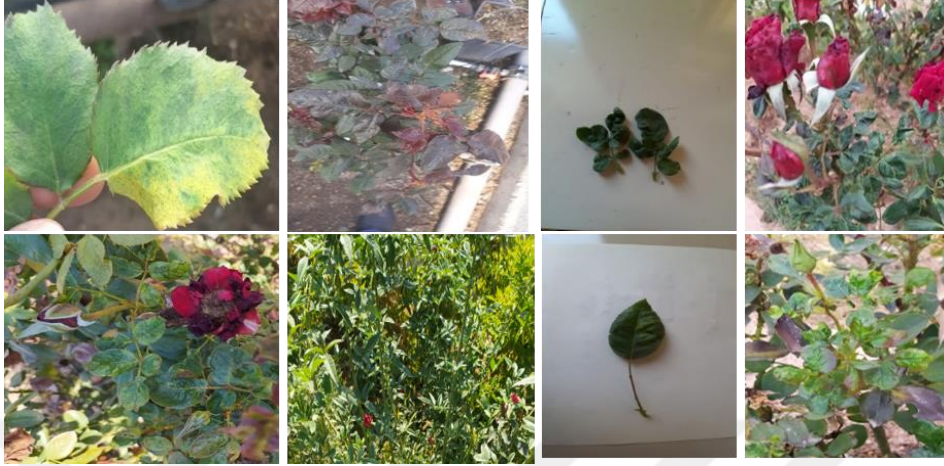
Örtü alan içindeki en ufak bir bitkinin fiziksel farklılığında, içindeki üretim materyalini korumak adına farklı bitkiyi uzaklaştırarak üretim yapıldığı üreticilerinde bize verdiği bilgiler arasındadır. Oysa açık alan yetiştiriciliğinde özellikle park ve bahçelerde yetişen bitkilerde hastalık ve zararlı kontrolleri çok nadir yapılmakta, hatta budama yapılırken bile bir kaç bahçe veya park aynı budama makası ve kişi tarafından budanmakta, bu durum da herhangi bir patojen varlığında mekanik bulaşmaya neden olmaktadır.



Şekil.4.1. Surveyler sırasında Adana ili yapılan surveylerde yapraklarda bulunan renk açılmaları ve yaprak kıvrılmaları



Şekil.4.2. Adana ili örtü altında surveylerde beyaz güllerde bulunan renk kırçillaşması



Şekil.4.3. Surveyler sırasında Mersin ili yapılan surveylerde yapraklarda renk açılmaları ve yaprak kıvrımları.

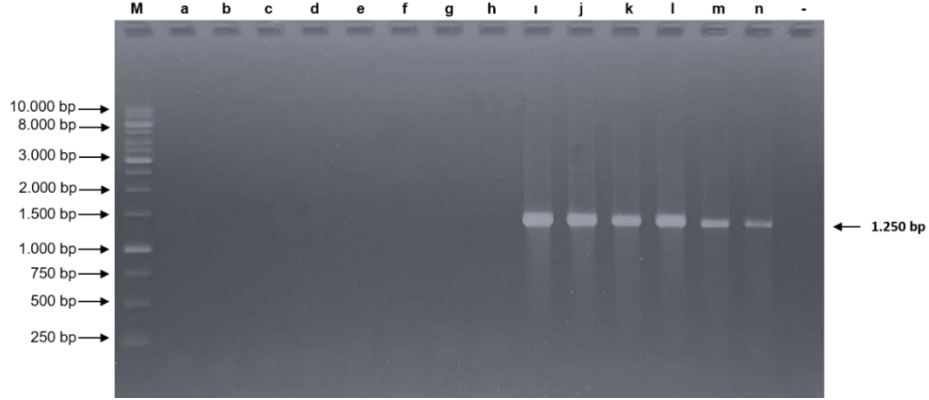


Şekil.4.4. Adana ilinde yapılan surveylerde numune alınan örtü altı alanları

4.2. Moleküler Çalışmalar

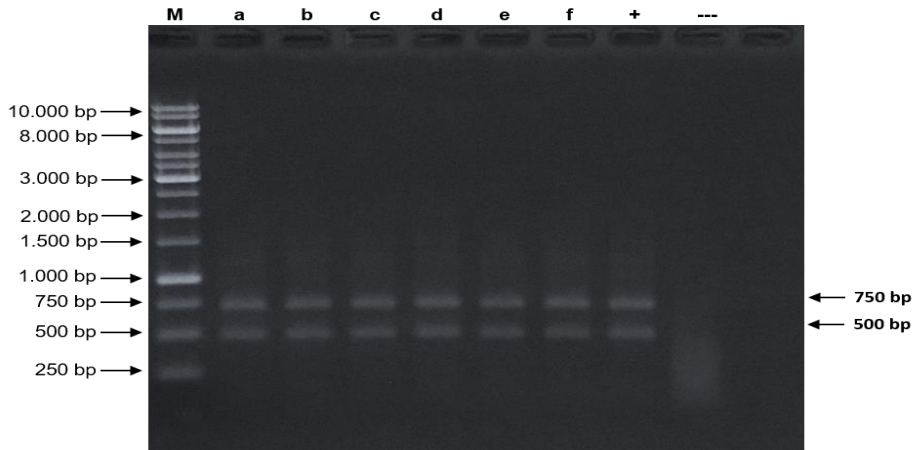
4.2.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve RFLP Çalışmaları

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) işlemi, Direct -PCR ve Nested PCR olmak üzere iki aşamada yapılmış olup, Nested-PCR da 1.250 bp büyüklüğünde bant veren R16F2n /R16R2 primer çiftleri kullanılmıştır (Şekil 4.3.).



Şekil 4.5. Agaroz jelde R16F2n/R16R2 primer çifti ile yapılan PCR sonucu elde edilen DNA bantları. M;1kb DNA marker, a-h; gülbahçesi, i-n; Seyhan parklar ve negatif control.

Çalışma sonucunda agaroz jel elektroforezi görüntülenerek incelenmiş ve beklenen düzeyde (1250bp) bant veren patojenin fitoplazma olup olmadığını kesinleştirmek için EcoR1 enzimi kullanılmıştır (Nejat ve ark.,2009). 1250 bp lik Nested-PCR ürünleri EcoR1 enzimi kullanılarak kesildiğinde 750 ve 500 bp' lik bantlara ayrılarak PCR sonucunda etmenin fitoplazma olduğu kesinleştirilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil.4.6. Eco R1 enzimi kullanılarak yapılan RFLP analiz sonucu. DNA Marker 1 kb (M) ve a, b, c, d, e, f, + kontrol izolatlarına ait 500 bp ve 750 bp lik DNA bantları (RFLP profili).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yapılan survey çalışmalarında toplanan örneklerde güllerde zararlı virüs ve benzeri hastalıklar ile fitoplazma hastalık belirtilerine benzeyen münferit örnekler belirlenmiştir. Şüpheli örnekler moleküler testler ile testlenmiş ancak viral olarak her hangi bir etmen için pozitif sonuç alınamamıştır. Sadece Seyhan ve Çukurova ilçelerinde merkez mahallelerde park ve peyzaj alanlarından toplanan 6 örnekte fitoplazma saptanmıştır. Muhtemelen her iki ilçeden saptanan fitoplasma bulaşık bitkilerin orijini aynı olabilir. Çünkü bu iki ilçe tamamen bir birine yakın, hatta on yıl öncesinde tek ilçe idi ve tüm rekreasyon alanları aynı personel, aynı alet ekipman ve önemlisi aynı kaynaktan gelen bitkisel materyal ile rekreasyon alanları yaratılmıştır. Sonradan iki ilçeye ayrılan bu bölgede fitoplasma ile bulaşık olduğu saptanan bitkiler de bir birine çok yakın alanlarda saptanmıştır. Dolayısıyla bulaşık bitkilerin kaynağı, yani orijininin aynı merkez olduğu söylenebilir.

Bu fitoplazmaların varlığı eğer gerekli önlemler alınmaz ve dikkat edilmez ise ticari alanlarada ulaşması ihtimal dahilindedir. Çünkü gül üretiminde zaman zaman anaç olarak kullanılan yabancı güller özellikle çok profesyonel olmayan fidan üreticileri tarafından rekreasyon alanlarından veya park bahçelerden alınmakta, fidan üretiminde kullanılmaktadır. Bu konunun da epidemiyolojik olarak çalışılmasının gerekli olduğu söylenebilir.

Bu sonuçlara göre gül üreticileri için yapılabilecek öneriler;

- Ticari üretimi yapılacak gül çeşitleri, özellikle ithalat yolu ile getirilen üretim materyali güller virüs ve benzeri hastalıklar ile bulaşık olup olmadığının belirlenmesi amacıyla ELISA ve RT-PCR yöntemleri ile testlenmelidir. Dikim yapılacak bölgeler için özellikle bulaşıklığı önlemek için duyarlılığı daha yüksek olan RT-PCR testlerinin uygulanması tercih edilmelidir.

- Gül fidanı olarak virüsten ari sertifikalı fidanlar kullanılmalı ve emin olunmayan üretim yerlerinden fidan veya üretim materyali alınmamalıdır.
- Güllerde önemli olan virüs hastalık etmenlerinden PNRSV esas olarak sert çekirdekli meyvelerde zarar yapmaktadır, bu nedenle sert çekirdekli meyvelerde virüslerden ari materyaller ile bahçe tesisi yapılması ve bu tesislerin gül plantasyonları ile yakın olmamasına dikkat edilmesi özellikle gül mozayik hastalığı açısından önem taşıdığı söylenebilir
- Gül üretimi yapılan alanlarda zararlı böcek ve akar kontrollerine de dikkat edilmeli, havalandırma alanları ve boşluklar böcek ve akarlara karşı tülennmeli, korunaklı hale getirilmelidir.
- Gül üretimi üretim ile uğraşan işlwtmelerde mevcut teknik elemanlar ile çalışanların zararlılar, hastalıklar ve özellikle daha az bilindiği saptanmış olan virüs ve benzeri hastalıklar hakkında bilgilendirilmeleri veya eğitim çalışmalarının yapılması yararlı olacaktır
- Vektör olabilecek böcek ve diğer zararlılar için örtü altı tiacri gül yetiştiriciliği yapılan alanlar ile rekreasyon alanlarında peryodik olarak mücadeleleri yapılmalıdır.
- Gül yetiştiriciliği yapılan alanlarda da diğer üretim alanlarında olduğu gibi alet - ekipman ve çalışanların hijyen durumuna öncelik vermelidirler.
- Gül yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlarda etkili mücadele yöntemi olmayan virüs ve benzeri hastalık belirtileri gösteren bitkilerin derhal sökülüp imha edilmesi, eradikasyonu önem taşımaktadır şeklinde özetlenebilir.

KAYNAKLAR

- Ahrens U., Seemüler E. 1992. 16S rRNA geninin bir dizisini çoğaltan bir polimeraz zincir reaksiyonu ile bitki patojenik mikoplazma benzeri organizmaların DNA'sının tespiti. *Fitopatoloji* 82: 828-832.
- Akpınar, G., 2007. Türkiye’de Trakya Bölgesinde Güllerde Görülen Virüslerin Biyolojik ve Serolojik Yöntemlerle Saptanması Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. 1-41.
- Anonymous, 2021. List of pests and diseases of roses.
- Astruck, N., Marcus, J.F., Macquarie, G., Candresse, G.T., and Pallas, V., 1996. Studies on the Diagnosis of hop Stunt Viroid in Fruit Trees: Identification of New Host and Application of a Nucleic Acid Extraction Procedure Based on Non-Organic Solvents. *European Journal of Plant Pathology*, 102, 837-846.
- Bağdatlıoğlu, O., 2008. Kesme çiçek sektörü. *Standard 45 (555)* :26-29.
- Bektaşoğlu, S., 2007. Uçucu Yağlar, T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı, İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi, Ankara.
- Bektaşoğlu, S., 2009. Uçucu Yağlar, T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı, İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi, Ankara.
- Bertaccini, A., Duduk, B., Paltrinieri, S., Contaldo, N., 2007. *American Journal of Plant Sciences*, 05 (12):1763-1788, DOI:10.4236/ajps.2014.512191
- Bradford, F.C., Joley, L., 1933. Infectious variegation in the apple. *Journal of Agricultural Research* 46, 901-903
- Cairns, T., (ed.), Young, M., (assoc.ed.), Adams, J., (assoc.ed.), ve Edberg, B., (assoc.ed.), (2000). *Modern Roses IX: The World Encyclopedia of Roses*. Academic Press, San Diego, CA U. S.A
- Clark, M.F., and Adams, A.N., 1977. Characteristic of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the detection of Plant Viruses. *J. Gen. Viral.* 34; 475-483.

- Cochran, L.C., ve Hutchins, L.M., (1941). Fitopatoloji 31 B 860.
- Çağlar BK, Küsek M, Satar S ve Elbeaino T, 2011. Türkiye’de gülde fitoplazmayla ilgili çiçek tablası dejenerasyonu hastalığının saptanması ve moleküler karakterizasyonu. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş.
- Çaglayan, K., Gazel, M., 1999. Primary studies for viroid and phytoplasma problems of stone fruits in East Mediterranean Area of Turkey. Proceedings XIVth International Plant Protection Congress (IPPC), Jerusalem. p.16.
- Epstein, A. H., and Hill, J. H., 1995. “The Biology of Rose Rosette Disease: A Mite Associated Disease of Uncertain Aetiology.” Journal of Phytopathology 143:353–360.
- Erengül, M., 2008. Türkiye’de Çiçek Kültürü Henüz Oturmadı. Standard 47(555): 30-33. Horst RK (1983). Compendium of Rose Diseases. The APS, Minnesota, USA., 50p.
- Fulton, R. W., 1952. Mechanical transmission and properties of rose mosaic virus. Phytopathology 42:413-416.
- Galitelli, D., and Minafra, A., 1994. Electroforesis. Course on Plant Virus Diagnosis, 15-30 October 1994. Adana-Turkey. Page: 89-99
- https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_pests_and_diseases_of_roses.
- Gonsalves, D., Fulton, R.W., 1977, Plant Production and Protection Div. Activation of Prunus necrotic ringspot virus and rose mosaic virus by RNA 4 components of some Ilarviruses. Virology (USA). (Sep 1977). v. 81(2) p. 398-407.
- Hogenhout S, Oshima K, Ammar El-D, Kakizawa S, Kingdom HN and Namba S, 2008. Phytoplasmas: Bacteria that manipulate plants and insects. Mol. Plant Pathol. 9: 403- 423.
- Horst, RK., Cloyd, R., 2007. Compendium of Rose Disease and Pests. Second edition A.P.S. Press. St Paul, MN, U.S.A. 96 p. Itkin R, Frost RR (1976).

- Virus Disease of Roses.II. Strawberry latent ringspot virus Phytopathol. Z. 87: 205–203.DOI:10.5586/asbp.2005.023
- Jones, M., 2019. Extension Agent, Agriculture - Commercial Ornamental and Consumer Horticulture N.C. Cooperative Extension, Chatham County Center 2019.Rose Rosetta Disease of North America
- Korkut, AB., 1998. Çiçek Yetiştiriciliği. Hasad Yayıncılık s: 28-43
- Kuack, D., 2013. Reducing The Spread of Rose Rosetta Disease www.greenhousegrower.com
- Kamińska, M., Sliwa, H., Malinowski, T. Ve Skrzypczak, C., 2003. The association of aster yellows phytoplasma with rose dieback disease in Poland. Journal of Phytopathology, 2003 151 7/8 469-476, ISSN 0931-1785, DOI 10.1046/j.1439-0434.2003.00756.x., <https://www.cabi.org/ISC/abstract/20033147315>
- Kaminska, M., Sliwa, H., Malinowski, T., 2006.Occurence of Rose Degeneration symptoms in Rose Plants in Poland; Presumed Phytoplasmal Aetiolog of Rose Proliferation and Dieback. Acta Hortic. 722, 163-174, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.722.20>
- Kaminska, M., Dziekanowska, D., ve Rudzinska-Langwald, A.,2008. Detection of Phytoplasma Infection in Rose, with Degeneration Symptoms, DOI:10.1046/j.1439-0434.2001.00554.x, J. Phytopathology 149(1):3 – 10
- Kaminska, M., ve Podwyszyńska, M., 2011. Phytoplasma detection in rose shoots propagated in vitro. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 74(3):181-186,
- Laney, A. G., Keller, K. E., Martin, R. R., and Tzanetakis, I. E., 2011. “A Discovery 70 Years in the Making: Characterization of the Rose Rosette Virus.”Journal of General Virology 92:1727–1732.
- Lister, R.M., 1964. Strawberry latent ringspot: a new nematode-borne virus <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1964.tb01180.x>

- Loesch, L.S., Fulton, R.W., 1975. Prunus Necrotic Ringspot Virus As A Multicomponent System. ISSN: 0042-6822 <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0042682275901488> DOI:10.1016/0042-6822(75)90148-8
- Mayo, M.A., Murant, A.F., Harrison, B.D. and Goold, R.A., 1974. J. gen. Virol. 24: 29.
- Mikhail, M.S., Hashem, M. El-Banna, Elham, A., Khalifa and Mohammed, A.M.S., 2012. Detection and Control of Rose Phytoplasma Phyllody Disease, Egypt. J. Phytopathol., Vol. 40, No. 1, pp. 87-100
- Milleza, E.J.M., Ward, L.I., Tang, J., Delmiglio, C., 2013. A survey of viruses infecting Rosa spp. in New Zealand <https://www.researchgate.net/journal/Australasian-Plant-Pathology-0815-3191> DOI:10.1007/s13313-012-0191-x
- Moury, B. Cardin, L., Onesto, J.P., Candresse, T., Poupet, A., (2001). Survey of prunus necrotic ringspot virus in rose and its variability in rose and Prunus spp. Phytopathology 91:84-91
- Ong K., Giesbrecht M., Woodson, D., (2013). Rose Rosetta Disease Demystified, Texas A&M Agrilife Extension Service, The Texas A&M University System.
- Öğmen, A.O., (2008). Dünyamızda ve Ülkemizde çiçek kültürü. Standard 45(555): 42-43
- Prieto, H., Bruna, Bir., Hinrichsen, P., and Munoz, C., 2001. Isolation and Molecular Characterization of a Chilean Isolate of Zucchini yellow mosaic virus. Plant Disease, 85:644-648.
- Raghuwinder, Singh., Rodrigo, V., Madeline, C., 2016. Department of plant pathology and Crop Physiology Louisiana State university Agricultural center, Baton Rouge 70803; Allen, O., Hammond Research Station, Louisiana State University Agricultural center, Hammond 70403. First Report of Rose Rosetta disease caused by Rose rosetta virus on Knock out Roses in Louisiana. 2016. 17:195-196
<http://dx.doi.org/10.1094/PHP-BR-16-0022>

- Saeed, S.T., Khan, A., Samad, A., 2015. First Report on the Molecular Identification of Phytoplasma (16SrII-D) Associated with Witches' Broom of Kalmegh (*Andrographis paniculata*) in India. DOI: 10.1094/PDIS-08-14-0854-PDN
- Sana, T., Saeed, I., Atul, K., Srivastava 1., Saroj, A., Khan, A., Samad, A., 2015. Phylogenetic analysis of “rose witches'-broom” phytoplasma from cultivated *Rosa damascena* in India representing a new subgroup V-B1 in 16S rRNA gene group V. *Plant Gene*, Volume 5, March 2016, Pages 71-77
- Sertkaya G, Martini M, Musetti R, Osler R, 2007. Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting sesame and solanaceous crops in Turkey. *Bulletin of Insectology* 60 (2): 141-142.
- Sertkaya, G., 2010. An investigation on Rose Mosaic Disease of Rose. University of Mustafa Kemal, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 31034 Antakya-Hatay, Turkey *Julius-Kühn-Archiv*, 427, 2010
- Sertkaya G, Martini M ve Osler R, 2011. Akdeniz Bölgesi elma alanlarında Elma Aşırı Sürgün Fitoplazma (‘*Candidatus Phytoplasma mali*’) hastalığının araştırılması. 4. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Kahramanmaraş. 329 (FP14) KSÜ Basımevi, Kahramanmaraş.
- Sim, S., Rowhani, A., Golino, D., 2004. Phyllody in roses, Department Of Plant Pathology, University of California, Davis One Shields Avenue, Davis, CA 95616-8600 • <http://fps.ucdavis.edu>. *American Rose*, 38(18):32-34, 2004
- Sipahioglu H.M, Çağlar B.K ve S. Baloğlu, 2001. Doğu Akdeniz Bölgesinde güllerde zararlı PNRSV ve ApMV virüs hastalıklarının serolojik olarak yaygınlıklarının saptanması. *Türkiye IX Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, 3-8 Eylül 2001
- Smith, K. M. and Markham, R., 1944. Two new viruses affecting tobacco and other plants. *Phytopathology* 34:324-329

- TÜİK (2020). <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=104&locale=tr>
(Son erişim: 03.11.2020).
- White, R.P., 1928. An infectious chlorosis of roses. The plant disease reporter 13,33-34
- Windham, A. S., 2019. A Survey of Rose rosette virus and Eriophyid Mites Associated with Roses in the Southeastern United States. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14653-20>
- Yelboğan Ş. 1988.Serada Gül Yetiştiriciliği. Seracılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Antalya
- Yamankaradeniz, R., 1982. Erzurum Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Kuşburnunun Bileşimi ve Değerlendirme Olanakları Üzerine Araştırmalar. Atatürk Üniv. Ziraat Fak (Doktora Tezi) Erzurum.
- Yardımcı N, Çulal H.,2007. Isparta Yağlık Gül Üretim Alanlarında Virüs ve Virüs Benzeri Hastalık Belirtileri.Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri.27-29 Ağustos 2007 Isparta. s: 313 Yıldızeli C (2008). Kesme Çiçek ve Standardlar. Standard 47(555) : 20-25.
- Yardımcı N, Çulal H., 2007. Isparta Yağlık Gül Üretim Alanlarında Virüs ve Virüs Benzeri Hastalık Belirtileri.Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. 27-29 Ağustos 2007-Isparta. s: 313
- Yıldızeli ,C., 2008. Kesme Çiçek ve Standardlar. Standard 47(555) : 20-25.
- www.igeme.com.tr. 2009. T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı, İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi web sitesi

ÖZGEÇMİŞ

1999 Yılında eğitimime başladığım Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim Programı Bitki Koruma Alt Programını 2003 yılında bitirdim. 2004-2008 yılları arasında Monsanto Türkiye Kalite kontrol Sorumlusu olarak çalıştım.2008-2017 yılları arasında AG TARIM’da kendi şirketimi kurdum.2017-2020 Timac Agro da Ziraat Mühendisi olarak çalıştım. 2021- itibaren Hektaş’ta bitki besleme satış temsilcisi olarak çalışmaktayım.









EK 1. DNA Analizlerinde Kullanılan Çözeltiler

1.Extraction (CTAB) Buffer

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

2. Chloroform: isoamylalcohol Karışımı (24:1)

EK 2. Total RNA Analizlerinde Kullanılan Solüsyonlar

Ekstraksiyon bufferı (100mM Tris-HCl pH.8.0, 50mM EDTA pH. 7.0, 500 NaCl, 10mM 2. mercapto-ethanol (1/1000))

Tris-HCl	2.4228 gr
EDTA	3.7224 gr
NaCl	5.844 gr

Yukardaki miktarlar 150 ml distile su içerisinde sırasıyla çözülmüş pH ayarlaması yapılmış ve toplam hacim 200 ml ye tamamlanmıştır. Daha sonra 1/1000 oranında 2-Mercaptoethanol ilave edilmiştir.

% 20 Sodium Dodecyl Sülfate (SDS)

20 gr sodium dodecyl sülfate 80 ml distile su içerisinde çözülmüş ve volum 100 ml ye tamamlanmıştır.

Potassium asetat (CH₃COOK) (5M)

49.075 gr potassium asetat 60 ml su içerisinde çözülmüş ve volum 100 ml ye tamamlanmıştır.

Sodium asetat CH₃COONa(3M)

40.824 gr sodium asetat 60 ml su içerisinde çözülmüş ve volum 100 ml ye tamamlanmıştır.

% 70 lik Ethanol

70 ml %99' luk ethanol ile 29 ml su karıştırılarak % 70 lik ethanol hazırlanmıştır.