

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ŞANLIURFA İLİNDE ANTEPFISTIĞI (*Pistacia vera* L.) AĞAÇLARINDA
VİROİD ENFEKSİYONLARININ BELİRLENMESİ**

Mohammad ALHASAN

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

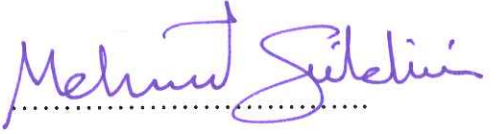
ŞANLIURFA

2020

Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR danışmanlığında Mohammad ALHASAN'ın hazırladığı “Şanlıurfa İlinde Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) Ağaçlarında Viroid Enfeksiyonlarının Belirlenmesi” konulu bu çalışma 19/02/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR



Üye : Doç. Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR



Üye : Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ



Bu Tezin Bitki Koruma Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

**Enstitü Müdürü
Doç. Dr. İsmail HİLALİ**

**Bu çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: 19099**

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
1-GİRİŞ	1
2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3- MATERYAL ve YÖNTEM	9
3.1. MATERYAL	9
3.1.1. Araştırmanın Yürütüldüğü Yer ve Bitkisel Materyaller	9
3.1.2. RT-PCR Çalışmaları için Materyalin Oluşturulması	9
3.2. YÖNTEM	9
3.2.1. Örnek Alınacak Bitkilerin Seçimi	9
3.2.2. Total Nükleik Asit (TNA) İzolasyonu	10
3.2.3 Total RNA ları elde olan Örneklerin RT-PCR Yöntemi ile Teşhis Edilmesi	11
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	13
4.1 Simptomatolojik Bulgular	13
4.2. RT-PCR Analizi Sonucunda Elde Edilen Bulgular	16
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	17
6. KAYNAKLAR	18
ÖZGEÇMİŞ	23

ÖZET

ŞANLIURFA İLİNDE ANTEPFISTIĞI (*Pistacia vera* L.) AĞAÇLARINDA VİROİD ENFEKSİYONLARININ BELİRLENMESİ

Mohammad ALHASAN

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR
YIL: 2020, Sayfa: 23

Bu çalışma, Türkiye ve Şanlıurfa ili tarımında önemli bir payı olan Antepfıstığı ağaçlarında viroid hastalığının varlığını ve etmenlerinin karakterizasyonunu belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Şerbetçi otu cücelik viroidi (HSVd) birçok odunsu bitkileri infekte etmektedir. Suyrveyler sırasında bodurluk, dallarda ve gövdelerde şişmeler, yaprak epinastisi, nekroz, rozetleşme ve küçük yaprak gibi viroidlerin neden olduğu semptomlara benzer belirti gösteren ağaçlardan 47 örnek alınmıştır. HSVd'nin saptanmasında RT-PZR (Reverse Transcriptase - Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi kullanılmıştır. RT-PZR viroid etmenlerin teşhisinde kullanılan en hassas ve etkili bir yöntemdir. Araştırmada viroid ile infekteli olduğu şüphelenilen örneklerden viroid etmeni saptanmamıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Antepfıstığı, Viroid, RT-PCR, HSVd.

ABSTRACT

MSc Thesis

Determination of Viroid infections on Pistachio (*Pistacia vera* L.) Trees in Sanliurfa Province

Mohammad ALHASAN

**Harran University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Plant Protection**

**Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR
Year: 2020, page: 23**

This study conducted to determine presence and characterization of factors for viroid disease of Sanliurfa pistachios. Hop stunt viroid (HSVd) infects many woody species. We collected 47 samples from pistachio trees showing common viroid symptoms were noticed as such dwarfing, swells on stem and branches, leaf dropping, leaf necrosis, leaf curling, rosette, and petiole necrosis during surveys. RT-PCR have been used for determination of HSVd. RT-PCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction) is the most used sensitive and effective method for identification of viroid agents. In this study, viroid agent was not detected from the suspected cases of viroid infections in Sanliurfa province Pistachio trees.

KEY WORDS: Pistachio, Viroid, RT-PCR, HSVd.

TEŞEKKÜR

Daniőmanım sayın Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR' e alıőma suresinde yardımlarını esirgemediğinden dolayı çok teşekkür ederim. Ayrıca tez çalıőmamda bana yardımcı olan yüksek lisans ve doktora öğrencileri olan Eray Şimşek, Hava Gümüş, Nesibe Kılıç ve Hümeyra Ayvacı'ya teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim süresince desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen aileme de ayrıca teşekkür ederim.



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 4. 1. Hastalıklı ağaç semptomu	13
Şekil 4. 2. Nikroz ve sarama semptomu	14
Şekil 4. 3. Dallarda ve gövdelerde şişmeler	14
Şekil 4. 4. Dallarda ve gövdelerde şişmeler	15
Şekil 4. 5. Bodurlaşma	15



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3. 1. Çalışmada kullanılan primerler ve baz dizilimleri	11
---	----



SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

Kg: Kilogram

M: Molar

mM: Mili molar

μ l: mikrolitre

rpm: devir/dakika

U: unite

KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

cDNA: tamamlayıcı DNA

DDT: Diklorodifeniltrikloroetan

dH₂O: Distile su

DNA: Deoksiribonükleik Asid

dk: Dakika

HCl: Hidroklorik asit

HSVd: Hop Stunt Viroid

KCl: Potasyum klorür

MgCl₂: Magnezyum klorür

NaCl: Sodyum Klorür

PAGE: Poliakrilamid jel elektroforez.

PAVA: Pistachio ampelovirus

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PLMVd: Peach latent mosaic viroid

RNA: Ribonükleik Asit

RT-PCR: Reverse Transcriptase - Polimeraz Zincir Reaksiyonu

TUİK : Türkiye İstatistik Kurumu

UV : Ultraviyole

1-GİRİŞ

Antepfıstığı'nın anavatanı, Türkiye, Kafkasya, İran ve Yakın-Doğunun yüksek bölgesidir aynı zamanda kültür çeşitlerinin oluşumu, en önemli gen kaynağı ve gelişim merkezidir. Antepfıstığı yazları sıcak ve kurak havalara, kışları oldukça soğuk olan iklim koşullarına gereksinim göstermekte olan bir bitki türüdür. Diğer pek çok kültür bitkisinin kolayca yetişemeyeceği kadar kıraç, kayalık ve kireçli alanlarda kolayca yetiştirilebilmektedir.

Güneydoğu Anadolu Bölgesi, Antepfıstığı'nın ilk kültüre alındığı yer olması yanında, bu tip topraklara sahip olması, Antepfıstığı'nın özel iklim isteklerine cevap vermesi, pazar değerinin yüksek, bakım masraflarının diğer kültür bitkilerine göre daha ucuz olması sebebi ile ülkemizin en önemli üretim merkezi durumundadır. Türkiye'nin 55 ilinde Antepfıstığı üretiminin yapıldığı bildirilmesine karşın, ekonomik anlamda Antepfıstığı yetiştiriciliği, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin Şanlıurfa, Gaziantep, Adıyaman, Siirt, Mardin ve Diyarbakır illerinde yapılmaktadır. Türkiye'de toplam 70 087 123 adet olan Antepfıstığı ağacından 240 000 ton üretim alınmıştır. Türkiye üretiminin yaklaşık %36,5'i ve ağaç sayısının yaklaşık 41% Şanlıurfa ilinde bulunmaktadır (TUİK, 2018). Türkiye; ağaç varlığı ile dünya da İran'dan sonra 2. sırada, üretim miktarı ile ABD ve İran 'den sonra 3. sırada yer almaktadır. Türkiye ve Şanlıurfa için Antepfıstığı üretim miktarı, ağaç varlığıyla kıyaslandığında oldukça düşük olduğu görülmektedir. Ortalama ağaç başına verim Türkiye'de 4-5 kg iken, bu değer ABD'de 16-18 kg'a kadar çıkmaktadır. Bu üretim düşüklüğünün başlıca nedenlerini: üretimin sulu koşullarda yapılmaması, ağaç varlığının büyük bir kısmının ürün vermeyen yaşta olması, ekosistemdeki değişikliklere paralel olarak hastalık ve zararlıların yoğunluklarındaki artış, bahçelerde yeterli erkek ağaç olmaması, uygun toprak işleme, gübreleme ve budama gibi yetiştiricilik tekniklerinin yeterince yapılmaması şeklinde sıralayabiliriz.

Şanlıurfa ilinde genellikle kuru şartlarda yapılan Antepfıstığı yetiştiriciliği son yıllarda Güneydoğu Anadolu Projesi ile birlikte sulu şartlarda da yapılmaya başlanmıştır. Bu imkânların artması ile birlikte bölge ikliminde meydana gelecek

değişiklikler, beraberinde Antepfıstığı hastalıklarından karazenk, Meyve çürüklükleri, solgunluk gibi hastalıkların şiddetini daha da arttırabileceği gibi, geçmiş yıllarda bu alanlarda rastlanılmayan veya ekonomik zarara neden olmayan bazı hastalıkların sorun haline gelmesine de sebep olabilecektir. Nitekim 2014 yılında Şanlıurfa ilinde Antepfıstığında *Candidatus* Phytoplasma solani adlı fitoplazma etmeni saptanmıştır (Güldür ve ark., 2014).

Elleuch ve ark. (2013), Tunus'ta Antepfıstığı ağaçlarında görülen nekrozlara Hop Stunt Viroid (HSVd)' nin neden olduğunu rapor etmişlerdir. Türkiye'de 2017 yılında Kahramanmaraş 'de Antepfıstığında yapılan araştırmada HSVd saptandığı rapor edilmiştir (Balsak ve ark., 2017). Maddahian ve ark. (2019), İran'da HSVd'nin Antepfıstığında varlığını rapor etmişlerdir.

ABD'deki Antepfıstığı ağaçlarında PAVA *Pistachio ampelovirus* (*Ampelovirus*, *Closteroviridae*) ve (CBCVd-pis) *Citrus bark cracking viroid-pistachio* (*Cocadviroid*, *Pospiviroidea*) bulunduğu saptanmıştır (Al Rwahnih ve ark., 2019).

Antepfıstığı ağaçlarında ekonomik zarar meydana getiren birçok hastalık veya zararlı etmen ile mücadelede kimyasalların kullanımı ile başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir. Ancak virüs, viroid ve fitoplazma gibi etmenler ile kimyasal mücadele de herhangi bir başarı elde edilememektedir.

Virüs ve benzeri hastalıklar dünyada meyve yetiştirilen hemen hemen her yerde sorun olmaktadır. Bu durumun başlıca nedeni, üretim materyali olan anaç ve kalemin kontrolsüz bir biçimde dağıtılması ve bunun ardından da bazı hastalıkların vektörler ile yayılmasıdır (Gümüş ve ark. 2007). Ve viroidler aşı gözü ve anaç gibi, üretim materyali ile de kolaylıkla uzun mesafelere yayılmaktadır. (Hammond ve Owens, 2006).

Kimyasal mücadele olanağı bulunmaması nedeni ile virüs ve virus benzeri etmenlerinin ayrı bir önemi vardır. Bu tip etmenlerin ağacın ömrünü kısalttığı gibi

verim kalitesi ve miktarı açısından da büyük önem taşımaktadır. Virüs, fitoplazma ve viroid gibi hastalık etmenleri; ağaçların zayıflamasına, ölümüne, ürünlerin kalitelerinin düşmesine, aşı-kalem uyuşmazlığı ve köklenme oranının düşmesine neden olabilmektedir. Virüs benzeri hastalık etmenleri içerisinde son yıllarda çok büyük önem arz eden ve varlıkları üzerine son 20 yıldır çalışmalar başlatılan etmenlerden biri de viroidlerdir (Pallás ve ark., 2007).

20. yüz yılların ortalarına kadar süren bir dönem boyunca bitkilerdeki viroid hastalıklarının çok sayıda araştırmacı tarafından bitki virüslerinin neden olduğu düşünülmekteydi. Fakat 1967 yılında Diener ve Raymer in patates üzerine yürütülen bir araştırmada patates iğ yumru hastalığının virüsün değil, başka bir grup olan viroidler in neden olduğu bulmuştur.

En küçük bitki patojenleri olarak bilinen viroidler çok fazla bitki türünde enfeksiyon yapmaktadır. Viroidler dairesel ve kovalent olarak bağlanmamış küçük serbest tek ipliğe sahip olan RNA moleküllerinden oluşmaktadır. Viroid türüne bağlı olarak 246 ile 401 nükleotid uzunluğa sahiptir (Flores ve ark., 2005; Ding, 2009). Viroidler herhangi peptit yada protein kodlamamaktadır ve viroid çoğalması tamamen konukçunun RNA polimeraz enzimini kullanarak olmaktadır.

Günümüze kadar tanılanmış iki familyada sınıflandırılmış 30'dan fazla viroid türü bulunmaktadır: *Pospiviroidae*; merkez korunmuş bölgeye sahip, ribozom aktivitesi bulunmayan, nükleus veya nükleolusta asimetric mekanizma ile çoğalmaktadır ve *Avsunviroidae*; merkezde korunmuş bölge bulunmayıp, ribozom aktivitesi bulunmaktadır ve kloroplastta simetric daire mekanizması ile çoğalmaktadır (Erkan, 2017; Koltunow ve Rezaian, 1989; Flores ve ark., 2005). Viroidlerin bazıları latent olup, bazıları tehlikeli ve çok zararlı olabilmektedir (Riesner ve Gross, 1985).

Viroidler konukçu bitkilerdeki etkilerini bitkisel enzimleri kullanarak konukçu bitkide büyüme ve gelişmeyi idare eden genleri değiştirmektedir (Góra-Sochacka, 2004).

Viroidlerin çeşitliliğinde en etkin mekanizma RNA sarmalında yer alan merkezi korunmuş bölgedir. Bu bölgedeki nükleotidlerin sıralanışı viroidlerde hem çeşitliliğin ve sistematığın oluşmasında hem de viroidlerin tanılanmasında rol oynamaktadır (Góra-Sochacka, 2004).

Viroidler; aşı, küsküt türleri, böcekler, tohum, çiçek tozu ve mekanik yöntemler ile bitkiden bitkiye taşınmaktadır. Viroidlerin konukçu ağının bu kadar geniş olmasındaki önemli bir sebep de taşınma yollarının fazla olmasıdır (Sano ve Shikata, 2008).

Bitki viroidlerinin tanısında protein kılıflarının olmaması nedeni ile serolojik olarak tanılanamamaktadır ancak hibridizasyon ve RT-PCR gibi moleküler yöntemler ile saptanabilmektedir (Ragozzino ve ark., 2004; Sano ve Shikata, 2008).

Viroidlerin saptanmasında RNA'ya dayalı yöntemlerden poliakrilamid jel elektroforez (Polyacrilamide gel electrophoresis, PAGE) (Faggioli ve ark., 1997), radyoaktif ve radyoaktif olmayan problarla nokta blot hibridizasyonu (Hernandez ve Flores, 1992; Shamloul ve ark., 1995; Kyriakopoulou ve ark., 2001), ve doku blotlama hibridizasyonu (Mandic ve ark., 2008), High Throughput Sequencing analizi (Al Rwahnih ve ark., 2019) yöntemi virüs ve virüs benzeri etmenlerini belirlenmesinde olumlu sonuçlar vermiştir. Ayrıca spesifik primer dizileri kullanılarak yapılan RT-PCR analizleri de güvenilir sonuçlar vermektedir (Loreti ve ark., 1999; Ragozzino ve ark., 2004; Shamloul ve ark., 1995; Shamloul ve Hadidi, 1999).

Bu çalışma Şanlıurfa ili Antepfıstığı üretim alanlarında dünyada birçok otsu ve odunsu bitkiyi etkileyen Hop stunt viroid enfeksiyonunu tespit etmek amacıyla yürütülmüştür.

2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Japonya da 1968 yılında HSVd olarak bilinen Şerbetçi otu cüceleşme viroidi, şerbetçi otu üretiminin yapıldığı yerlerde bulaşıklık oranının %17 ile % 60 arasında bulunduğu ve üretimde çok fazla kayıplara neden olduğu rapor edilmiştir (Yamamoto ve ark. 1973).

HSVd ilk olarak Yamamoto ve ark., (1973) tarafından tanılanmış ve Sasaki ve ark., (1977) tarafından ise hastalıklara sebep olan viroid olarak teşhis edilmiştir.

Hindistan cevizi, avokado ve patatesten viroid enfeksiyonundan dolayı önemli mahsul kayıplarının olduğu bildirilmiştir. Viroidler arasında CCCVd (*Coconut Cadang Cadang Viroidi*) en küçük viroid olarak bilinmektedir. 1982 yılında bu viroid Filipinler’de Hindistan cevizinde 30 milyondan fazla ağacı etkilemiştir ve viroid enfeksiyonundan yaklaşık 500 bin ağacın ölümüne neden olmuştur (Hanold ve Randles 1991).

Sano ve ark., (1992), viroid familyalarının replikasyon yönünden farklılıklar gösterdiklerini belirtmişlerdir. *Pospiviroidae* familyasında yer alan viroidler çekirdekte, *Avsunoviroidae* familyasında yer alan viroidler ise kloroplastlarda replike olduğunu bildirmişlerdir.

Kofalvi ve ark., (1997), HSVd’nin asma, turunçgil ve Prunus cinsleri gibi bir dizi konukçuya bulaşabileceğini, filogenetik analizlerde ise HSVd izolatlarının üç büyük gruba ayrıldığını (plum-type, hop-type ve citrus-type) rapor etmişlerdir. Ayrıca doğal olarak enfekteli sekiz Prunus kaynağından HSVd varyantlarını çoğaltılmış ve HSVd’nin on moleküler varyantı tanımlanmıştır. Hop tipi, erik tipi ve narenciye tipi grupları arasında bir rekombinasyonun oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Şerbetçiotu Cüceleşme Viroidi (HSVd) *Hostuviroid* cinsinden (*Pospiviroidae* familyasından), ve 294-303 nükleotid ve merkezi korunmuş bölgeden (CCR) oluşmaktadır (Li ve ark., 2006; Yang ve ark., 2006; Zhou ve ark., 2006).

Konukçu dizisi çok geniş olan HSVd, ilk defa şerbetçi otunda saptanmış ve daha sonra bağ, turunçgiller, şeftali, erik, armut, kaysı, salatalık, bağdam ve tut gibi birçok odunsu bitkide belirlenmiştir (Shikata, 1990; Astruc ve ark.1996; Polivka ve ark., 1996; Canizares ve ark. 1999; Elbeaino ve ark. 2011). HSVd bazı bitkilerde cüceleşme, erik ve şeftalilerde benekli meyveler, turunçgillerde cachexia hastalığı ve kaysı meyvelerinde dejenerasyon gibi hastalıklara neden olmaktadır (Shikata, 1990; Reanwarakorn ve Semancik, 1999; Amari ve ark., 2001; Sano, 2003a, 2003b).

Flores ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada viroidlerin sınıflandırılmasının ilk kez Koltunow ve Rezaian (1989) tarafından yapıldığını nükleotid dizilim benzerliklerine göre viroidleri *Avsunviroidae* ve *Pospiviroidae* olacak şekilde 30'dan fazla türünün bulunduğu iki farklı familyaya ayrıldığını rapor etmişlerdir.

Hanold ve ark., (2003), PCR ve moleküler hibridizasyon yöntemlerinin, viroidlerin tespitinde normal PAGE (Poliakrilamid jel elektroforez) yönteminin yerini önemli ölçüde alsa de elektroforez tekniğinin yeni ve tanımlanmayan viroid benzeri moleküler etmenlerin belirlenmesinde önemli olduğunu belirtmişlerdir. Viroidlerin tanısında kullanılan moleküler yöntemler içinde sadece PAGE yönteminde herhangi nükleotid dizilimi kullanılmamaktadır. Bilinen nükleotid dizisi olduğunda, hibridizasyon ve RT-PCR analizi gibi tekniklerin avantajlı olmasına rağmen PAGE analizinin çok yönlü ve kolay olmasından dolayı bu yöntemin viroid araştırmalarında önemli bir teknik olmayı devam etmekte olduğunu rapor etmişlerdir.

Randles, (2003), yaptıkları çalışmalarda viroidlerin dünyada yaygın olarak bulunduğunu, armut, asma, avokado, domates, elma, hindistan cevizi, krizantem, patates, patlıcan, şeftali, şerbetçi otu ve turunçgiller gibi bitkilerde ekonomik kayıplara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Ragozzino ve ark. (2005), HSVd enfeksiyonlarını İtalya'da turunçgil ağaçlarında saptamıştır. Araştırmacılar viroidlerin bitki dokusundan saflaştırma çalışmalarında standart fenol yöntemiyle ticari kit kullanımını karşılaştırmışlardır.

Viroidin tanınmasında kullanılan RT-PCR metodu aynı tüp içerisinde gerçekleştirildiğinde, metodun çok daha hassas, yanlış pozitif sinyal olasılığının az ve kontaminasyon riskinin ortadan kalktığını rapor etmişlerdir. Ticari kit kullanılarak yapılan saflaştırma çalışmalarıyla yapılan PCR analizlerinde sonuçların daha etkin olduğunu ve ticari kit kullanımının zaman tasarrufu yaptığını belirtmişlerdir.

Sert çekirdekli meyve ağaçlarının viroid, fungus ve fitoplazma ile hastalanma oranlarını tespit etmek amacıyla Sipahioğlu ve arkadaşları 2003 ve 2004 yıllarında inceleme yapmışlardır. Çalışmalarında moleküler hibridizasyon testleri kullanarak PLMVd ve HSVd'nin varlığını araştırmışlardır. Toplam 491 ağacın 16 tanesi dışındaki tüm ağaçlarda bu viroidleri bulmuşlardır. PLMVd enfeksiyonu 15 şeftali çeşidinde bulunurken (%3), HSVd enfeksiyonu nadir olarak sadece kayıslarda (%0,1) tespit edilmiştir. Viroid enfeksiyonunun ortalama oranı %3,2'dir. Doğu Anadolu'da HSVd saptanmış ancak asıl kayısı yetiştiriciliği yapılan illerde (Malatya, Elâzığ) PLMVd ile bulunmamıştır (Sipahioğlu ve ark., 2006).

Gazel ve ark. (2008), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde kayısı, erik, şeftali, kiraz ve badem ağaçlarından toplamış oldukları örneklerden saflaştırdıkları HSVd'nin karakterizasyonunu yapmışlardır.

2009 yılında Adana da ur belirtisi gösteren beş turuncgil ağaçında yapılan araştırmada yapılan sPAGE analisti neticesinde seçilen portakal ağaçlarından Adana (1) dışında hepsinde bir veya karışık viroid enfeksiyonu bulunmuştur (Eker, 2009).

Elleuch ve ark. (2013) Tunus'ta ilk defa Antepfıstığı ağaçlarında görülen nekrozlara Hop Stunt Viroid (HSVd)'nin neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Balsak ve ark. (2017), Kahramanmaraş Sütçü İmam üniversitesinden toplanan örneklerde RT-PCR yöntemiyle Antepfıstığında HSVd ilk defa Türkiye'de rapor etmişlerdir Maddahian ve ark. (2019), İran'da HSVd'ini Antepfıstığında rapor etmişlerdir.

ABD'deki Antepfıstığı ağaçlarında pistachio ampelovirus A (PAVA) ve citrus bark cracking viroid-pistachio (CBCVd-pis) bulunduğu rapor edilmiştir (Al Rwahnih ve ark. 2019).

Stamler ve ark. (2015) Antepfıstığında bushy top sendromu'na *Rhodococcus fascians* neden olduğunu bildirmişlerdir.



3- MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırmanın Yürütüldüğü Yer ve Bitkisel Materyaller

Araştırma Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji Laboratuvarında yürütülmüştür.

Araştırmalarda kullanılan örnekler Şanlıurfa ili ve ilçelerinden viroid belirtileri gösteren Antepfıstığı ağaçlarından Mayıs 2018 - Eylül 2019 aylar arasında alınmıştır.

3.1.2. RT-PCR Çalışmaları için Materyalin Oluşturulması

Şanlıurfa ili Antepfıstığı ağaçlarında viroid semptomu gösteren ağaçlardan alınan yaprak örneklerinden elde edilen total nükleik asitler RT-PCR çalışmaları için materyal olarak kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örnek Alınan Bitkilerin Seçimi

Şanlıurfa ili Antepfıstığı ağaçlarında bodurluk, dallarda ve gövdelerde şişmeler, yaprak epinastisi, nekroz, rozetleme ve küçük yaprak biçiminde genel viroid semptomları gösteren ağaçların yapraklarından alınan 47 örnek plastik poşetlere konularak, alındığı yer ve tarihe ilişkin verileri içerecek şekilde etiketlenerek buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilmiştir ve nükleik asit izolasyonu yapılmaya kadar +4°C de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Toplam Nükleik Asit (TNA) İzolasyonu

Total TNA izolasyonu çalışmalarında Astruc ve ark., (1996)'nın yöntemi kullanılmıştır.

- a-** İnfekteli bitkilerin yapraklarından alınan örnekler ekstraksiyon buferi (100 mM Tris HCl pH=8.0, 50 mM EDTA pH= 7.0, 500mM NaCl, 10mM 2-mercaptoethanol (1/1000)), ile 1:2 oranında sulandırılarak ekstraksiyon bitki öz suyu steril tübentte süzümüştür ve bitki öz suyundan eppendorf tüplerine 1ml alınmıştır.
- b-** Örnekler 4000 rpm de 3 dakika santrifüj edilmiştir.
- c-** Pellete 50 µl SDS (Sodium Dodecylsulfat) (20%) ilave yapılarak vortekste karıştırılmıştır ve sonra tüpler 65°C de 30 dakika su banyosunda inkubasyona bırakılmıştır.
- d-** Daha sonra tüplere 250 mikrolitre potasium asetate (5M) ilave edilerek buz içerisinde 20 dakika bekletilmiştir.
- e-** Tüpler 13.000 rpm 15 dakika santrifüj edilmiştir.
- f-** Süpernetant ikiye bölünüp 500 µl alınarak yeni eppendorf tüplerine aktarılmıştır ve -70 °C de saklanmıştır. Geriye kalan bölümü 100% lük 500 µl etanol ilave edilerek 1000 µl ye tamamlanıp vortekste iyice karıştırılmıştır.
- g-** Sonra tüplere 50 µl sodium asetate (3M) ilave edilecektir ve örnekler yeniden karıştırılarak -70 °C de bir gece bekletilmiştir.
- h-** Daha sonra tüpler 14 bin devirde 15 dakika santrifüj edilmiştir ve süpernat çıkarılmıştır.
- i-** Tüpler filtre kâğıdı üzerinde ters çevrilerek 5 dakika kurutulup, pellet üzerine 1 ml %70 lük etanol ilave edilmiştir.
- j-** Örneklerin RNA ları çöktürülmüş ve 5dakika, 13000 rpm, santrifüj edilmiştir.
- k-** Tüp içerisindeki etanol çıkartılarak tüpler kurutma kağıttı ile dikkatlice kurutulmuştur.
- l-** Elde edilen total RNA lar 50 µl RNAse free distile su ile sulandırılmıştır.

m- Örnekler ikiye bölünerek (15 µl ve 35 µl olacak şekilde) tüpler içerisinde -70 °C de saklanarak bekletilmiştir.

3.2.3 Total NA ları elde olan Örneklerin RT-PCR Yöntemi ile Teşhis Edilmesi

3.2.3.1. cDNA Sentezi

Total NA'si elde edilmiş olan örnekler RT-PCR yöntemi ile analiz edilmiştir. Reverse transkripsiyon (RT) adımı uygulanarak RT-PCR yöntemine başlanmıştır. (Visvader ve Symons 1985). RT işlemi için 1 µl Reverse primer ve 4 µl NA'ya 1 µl tamamlayıcı dNTP (10 mM) karışımını 12 µl tamamlamak için 6 µl RNase enzim içermeyen dH₂O ilave yapılmıştır ve thermal cycler da (Veriti 96 – Applied Biosystems) 65 °C'de 5 dakika inkübe yapılmıştır. İnkübasyondan çıkarılan tüpler buz içine konulmuş ve santrifüj yapılmıştır. Bu ekstraksiyona 4 µl RT bufferi (5X) (250 mM Tris-HCl pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl₂, ve 2 µl 0,1 M DTT) üzerine 1 µl RNaseOUT ilave yapılarak karıştırılmış ve 37 °C'de 2 dk inkübe edilmiştir. Thermo Fisher science dan 1 µl RT enzimi olan MMLV (Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transkriptase) 200 u/ µl eklenerek karıştırılmış ve 37 °C'de 50 dk. inkübe edilmiştir ve sonra 70 °C'de 15 dk. tutularak +4°C soğutulmuştur.

3.2.3.2. PCR Analizi

Çalışmada RT-PCR yöntemi kullanılmıştır RT-PCR analizleri için kullanılan HSVd viroidlerine özgü primerler, baz dizilimleri, sentezleme pozisyonu, çoğaltılacak DNA boyutu Çizelge 3.1. 'de verilmiştir.

PCR işlemi için, 50 µl PCR karışımın hazırlanmıştır. Sentezlenen cDNA'dan 2 µl cDNA, 5 µl 10X PCR çözeltisi (200 mM Tris-HCl pH 8.4, 500 mM KCl), 0.4 µl Taq-DNA polimeriz enzimi (5 U/µl), 1.5 µl MgCl₂ (50 mM), 1 µl V19 primer (10 mM), 1 µl V20 primer (10 mM) ve 38.1 µl dH₂O ilave edilmiştir. Örnekler 1 dakika 94 °C'de tutulmuş. Sonra 1 dakika 94 °C'de, 1 dakika 60 °C'de ve 1 dakika 72 °C'de toplam 35 döngüden sonra 5 dakika 72 °C de bekletilerek +4°C de soğutulmuştur DNA sentezlenmiştir (Visvader ve Symons, 1985).

Çizelge 3. 1. Çalışmada kullanılan primerler, baz dizimleri, sentezleme pozisyonu ve çoğaltılan DNA boyutu.

Primer adı	Baz Dizilimi	Çoğaltılan DNA (bp)	Kaynak
VP-19	5'-GCCCCGGGGCTCCTTTCTCAGGTAAG-3'	300	Kovalvi ve ark. 1997
VP-20	5'-CCCGGGGCAACTCTTCTCAGAATCC-3'		
VP-98	5'-CTCCAGAGCACCGCGGCCCTC-3'	300	Amari ve ark. 2001
VP-99	5'-CTGGGGAATTCTCGAGTT GCCGC-3'		

3.2.2.3. PCR ürünlerinin analizi

PCR ürünleri TBE tampon çözeltisi içinde 30 dakika 70 mA'de % 2'lik agar jelde yürütülmüş ve ethidium bromide (0.5 mg EtBr/400 ml dH₂O) ile boyanmıştır. Sonuçlar UV transilluminatör ile görüntülenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1 Simptomatolojik Bulgular

Araştırma sırasında, Şanlıurfa merkez, Karaköprü ve Bozova ilçelerinden örnek alınmıştır.

Örnek alınan AntepfıŐtıđı ağaçlarında bodurluk (Şekil 4.5), dallarda ve gövdelerde ŐıŐmeler (Şekil 4.3 ve 4.4), yapraklarda nekroz, sararma ve küçük yaprak (Şekil 4.2), rozetleşme (Şekil 4.1) biçiminde genel viroid belirtilerine benzer belirtiler gözlenmiştir.



Şekil 4.1: Rozetleşme belirtisi



Şekil 4.2: Nekroz ve sararma simptomsu



Şekil 4.3: Dallarda ve gövdelerde şişmeler



Şekil 4.4: Dallarda ve gövdelerde şişmeler



Şekil 4.5: Bodurlaşma

4.2. RT-PCR Analizi Sonucunda Elde Edilen Bulgular

Toplanan 47 adet örneğin, HSVd ile enfekteli olup olmadığını tespit etmek amacıyla RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Bodurluk, dallarda ve gövdelerde şişmeler, yapraklarda nekroz, sararma, küçük yaprak ve rozetleşme şeklinde simptom gösteren 47 adet örneğin hiçbirinde viroid saptanmamıştır.

Elleuch ve ark. (2013) tarafından Antepfıstığı ağaçlarında sararma ve kloroz belirtisi gösteren ağaçlarda HSVd saptamışlardır. Ancak Şanlıurfa ilinde benzer belirti gösteren antepfıstığı ağaçlarında HSVd saptanmamıştır. Viroid simptomlarına benzer belirtilerin hiç birin de HSVd'nin bulunamaması bu tip belirtilerin başka hastalık etmenleri tarafından oluşturulabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle bu konuda daha detaylı çalışmaların yürütülmesi gereklidir Nitekim ABD de 2019 yılında Al Rwahnih ve ark., High-throughput sequencing (yeni nesil dizileme) kullanarak Antepfıstığında novel ampelovirus ve putative olarak iki yeni viroid saptamışlardır. Bu bize genel belirtilerin yanıltıcı olabildiğini ve bu belirtilerle HSVd arasındaki ilişkilerin daha detaylı incelenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

HSVd aşısı ve budama aletleri ile taşınabilen bir etmen (Reanwarakorn & Semancik, 1999) dir. Genellikle viroidler odunsu ağaçlarda uzun yıllar latent şekilde kalmaktadır. Elma bitkisinde viroid meyve verene kadar latenttir, bağlarda ise HSVd neredeyse her zaman latentdir (Hurt ve ark. 1996; Kawaguchi-Ito et al., 2009; Singh ve ark., 2003). Antep fıstığında ise simptomatolojik olarak viroid belirtisi gösteren ağaçlarda hastalık etmeninin saptanmaması bölgede HSVd'nin bulunmadığını göstermektedir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Şanlıurfa ilindeki Antepfıstığı ağaçlarında HSVd enfeksiyonlarının belirlenmesi için yapılmıştır. Şanlıurfa ili Antepfıstığı alanlarında HSVd'yi belirlemek amacıyla 47 adet örnek toplanmıştır. Viroid hastalığına benzer belirtiler olarak bodurluk, dallarda ve gövdelerde şişmeler, yapraklarda nekroz, sararma, küçük yaprak ve rozetleşme şeklinde belirtiler gözlenmiştir. Toplanan örneklerde viroid tespit edilmemiştir.

Sonuçlar Şanlıurfa ilindeki Antepfıstığı ağaçlarının özellikle HSVd açısından temiz olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte Antepfıstığında başka viroid türlerinin bulunabileceği göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle üreticiler viroid hastalığını önlemek için taşınma yollarından mekanik taşımaya dikkat edilmeli ve budama zamanlarında ağaçtan ağaç geçildiğinde budama aletleri hipoklorit ile dezenfekte edilmelidir.

Antep fıstığı ağaçlarında farklı viroidlerin bulunabileceği gözardı edilmemeli ve farklı viroidler için de bölgedeki ağaçlar testlenmelidir.

Aşı için kullanılmakta olan bitkilerin virüs ve virüs benzeri etmeden arınmış olmasına özen gösterilmeli ve yeni fidanların sertifikasyon programlarından geçmiş olmasına ve sağlıklı olduğunu gösteren belgeleri içermesine dikkat edilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- AL RWAHNIH, M., ROWHANI, A., WESTRICK, N., STEVENS, K., DIAZ-LARA, A., TROUILLAS, F., ve GOLINO, A. D., 2019. Discovery of viruses and virus-like pathogens in pistachio using high-throughput sequencing. *Plant Disease*, 102: 1419–1425. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-17-1988-RE>
- AMARI, K., GOMEZ, G., MYRTA, A., DI-TERLIZZI, B., ve PALLÁS, V., 2001. The molecular characterization of 16 new sequence variants of Hop stunt viroid reveals the existence of invariable regions and a conserved hammerhead-like structure on the viroid molecule. *Journal of General Virology*, 82: 953–962.
- ASTRUC, N., MARCOS, J. F., MACQUAIRE, G., CANDRESSE, T., ve PALLAS, V., 1996. Studies on the diagnosis of hop stunt viroid in fruit trees: Identification of new hosts and application of a nucleic acid extraction procedure based on non-organic solvents. *European Journal of Plant Pathology*, 102: 837–846.
- BALSAK, S.C., BUZKAN, N., AY, M.Z., ve GÜRBÜZ, M., 2017. Occurrence of Hop stunt viroid (HSVD) in Turkish pistachio trees. *Phytopathologia Mediterranea* 56: 376.
- CANIZARES, M. C., MARCOS, J. F., ve PALLÁS, V., 1999. Molecular characterization of an almond isolate of hop stunt viroid (HSVD) and conditions for eliminating spurious hybridization in its diagnosis in almond samples. *European Journal of Plant Pathology*, 105: 553–558.
- DI SERIO, F., FLORES, R., VERHOEVEN, J. T. J., LI, S. F., PALLAS, V., RANGLES, J. W., ve OWENS, R. A., 2014. Current status of viroid taxonomy. *Archives of Virology*, 159: 3467–3478.
- DIENER, T.O., ve RAYMER, W.B., 1967. Potato Spindle Tuber Virus: A plant Virus with Properties of Nucleic Acid Science 158:378-381.
- DING, B., 2009. “The biology of viroid- host infections. *Annual Review of Phytopathology*, 47: 105-131.
- EKER, Y., 2009. Turunçgil Ağaçlarında Ur Oluşumlarının Turunçgil Viroidleri Açısından İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi. 48 s.
- ELBEAINO, T., ABOU KUBAA, R., CHOUEIRI, E., DIGIARO, M., ve NAVARRO, B., 2011. Occurrence of Hop stunt viroid in mulberry (*Morus alba*) in Lebanon and Italy. *Journal of Phytopathology*, 160, 48–51.
- ELLEUCH, A., HAMDİ, I., ELLOUZE, O., GHRAB, M., FKAHFAKH, H., ve DRIRA, N., 2013. Pistachio (*Pistacia vera* L.) is a new natural host of Hop stunt viroid. *Virus Genes*, 47: 330–337.
- ERKAN, S., 2017. Viroidlerin Sınıflandırılması; Bitki Viroid Hastalıkları; Erkan, S., Sipahioğlu, H. M., ve Gümüş, M., Editörler; Meta Basım Matbaacılık; Bornova – İzmir.
- FAGGIOLI, F., LORETI, S., ve BARBA, M., 1997. Occurrence of Peach latent mosaic viroid (PLMVD) on plum in Italy. *Plant Dis* 81:423.
- FLORES, R., RANGLES, J.W., BAR-JOSEPH, M., ve DIENER, T.O., 2000. Subviral agents: viroids. Pages 1009-10024 in: *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.*

- FLORES, R., RANGLES, J.W., ve BAR-JOSEPH, M., 2005. A proposed scheme for viroid classification and nomenclature. www. thesis library. adelaide. edu. au/ uploads/ approved/ adt.
- GAZEL, M., ULUBAŞ-SERÇE, Ç., ÇAĞLAYAN, K., ve FAGGIOLI, F., 2008. Sequence variability of Hop stunt viroid isolates from stone fruits in Turkey. *Journal of Plant Pathology* 90 (1):23-28.
- GÓRA-SOCHACKA, A., 2004. Viroids; unusual small pathogenic RNAs. *Acta Biochimica Polonica*, Vol. No. 3/2004: 587-607.
- GÜLDÜR, M.E., ÇAĞLAR, B.K., FİDAN, H., ŞİMŞEK, E., DİKİLİTAŞ, M., ve BALOĞLU, S., 2014. Şanlıurfa İlinde Antepfıstığı (*Pistacia vera*) Ağaçlarında "Ca. Phytoplasma Solani" nin Saptanması ve Karakterizasyonu. Türkiye V. Bitki koruma kongresi. sayfa: 192.
- GÜMÜŞ, M., PAYLAN, İ. C., MATİC, S., MYRTA, A., SİPAHİOĞLU H. M. VE ERKAN, S., 2007. Occurrence and distribution of stone fruit viruses and viroids in commercial plantings of Prunus species in western Anatolia, Turkey. *Journal Of Plant Pathology*, 89 (2): 265-268.
- HAMMOND M. O., ve OWENS, R. A., 2006. Viroids: New and Continuing Risks for Horticultural and Agricultural Crops. USDA, Molecular Plant Laboratory, Plant Sciences Institute.
- HANOLD, D., ve RANGLES, J.W., 1991. Coconut Cadang Cadang Disease and Its Viroid Agent. *Plant Disease*, 75:330.
- HANOLD, D., SEMANCIK, J.S., ve OWENS, R.A., 2003. Polyacrylamide Gel Electrophoresis. İn: viroids A. Hadidi. R. Flores, j. W. Randles, ve J.S Semancik.Eds. Csiro publishing: Australia. Page 95-103.
- HERNANDEZ, C., ve FLORES, R., 1992. Plus and minus RNAs of peach latent mosaic viroid self-cleave in vitro via hammerhead structures, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:3711–3715.
- HORMAZA, J. I., ve WÜNSCH, A., 2007. Pistachio. “in: Genome mapping and molecular breeding in plants, fruits and nuts. (Ed.) Kole, C., Berlin, Heidelberg: Springer. Vol. IV: 243–251.
- HSU, Y. H., CHEN, W., ve OWENS, R. A., 1994. Nucleotide sequence of a hop stunt viroid variant isolated from citrus growing in Taiwan. *Virus Genes*, 9: 193–195.
- HURTT, S. S., PODLECKIS, E. V., ve HOWELL, W. E., (1996). Integrated molecular and biological assays for rapid detection of apple scar skin viroid in pear. *Plant Disease*, 80: 458–462.
- KAWAGUCHI-ITO, Y., LI, S. F., TAGAWA, M., ARAKI, H., GOSHONO, M., YAMAMOTO, S., TANAKA, M., NARITA, M., TANAKA, K., LIU, S., SHIKATA, E., ve SANO, T., 2009. Cultivated grapevines represent a symptom- less reservoir for the transmission of hop stunt viroid to hop crops: 15 years of evolutionary analysis. *PLOS ONE*, 4(12): e8386.
- KOFALVI, S. A., MARCOS, J. F., CANIZARES, M. C., PALLÁS, V., ve CANDRESSE, T., 1997. Hop stunt viroid (HSVd) sequence variants from Prunus species: Evidence for recombination between HSVd isolates. *Journal of General Virology*, 78: 3177–3186.
- KOLTUNOW, A.M., ve REZAIAN, M.A., 1989. A Scheme for viroid classification. *Intervirology*, 30:194.

- KREUTZBERG, V.E., 1940. A new virus of *Pistacia vera* L. Proc. Acad. Sci. USSR, Geochem. Sect., 27:614-617
- KYRIAKOPOULOU, P.E., GIUNCHEDI, L., ve HADIDI, A., 2001. Peach latent mosaic viroid and pome fruit viroids in naturally infected cultivated pear *Pyrus communis* and wild pear *P. amygdaliformis*: implications on possible origin of these viroids in the Mediterranean region, J. Plant Pathol, 83:51–62.
- LI, S.F., GUO, R., TSUJI, M., ve SANO, T., 2006. First reports of two grapevine viroids in China and the possible detection of a third. Plant Pathology, 55:564.
- LORETI, S., FAGGIOLI, F., CARDONI, M., MORDENTI, G., BANINI, A.R., POGGIOLLINI, C., ve BARBA, M., 1999. Comparison of different diagnostic methods for the detection of peach latent mosaic viroid, OEPP Bull. EPPO Bull.29: 433-438.
- MADDAHIAN, M., MASSUMI, H., HEYDARNEJAD, J., HOSSEINIPOUR, A., KHEZRI A., ve SANO, T., 2019. Biological and molecular characterization of hop stunt viroid variants from pistachio trees in Iran. Journal of Phytopathology, 2019:1–11
- MANDIC, S.M., AL RWAHNIH, M., MYRTA, A., GOMEZ, G., ve PALLAS, V., 2008. Incidence and genetic diversity of peach latent mosaic viroid and hop stunt viroid in stone fruits in Serbia. Eur. J. Plant Pathol, 120: 167–176.
- PALLÁS, V., AMARI, K., GOMEZ, G., ABOU GHANEM-SABANADZOVIC N. ve DI SERIO, F., 2007. Viroids Of Stone Fruits: Incidence and Diseases In The Mediterranean. <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/b45/03001785.pdf> (16.07.2007).
- POLIVKA, H., STAUB, U., ve GROSS, H. J., 1996. Variation of viroid profiles in individual grapevine plants: Novel grapevine yellow speckle viroid 1 mutants show alterations of hairpin I. Journal of General Virology, 77: 155–161.
- RAGOZZINO, E., FAGGIOLI, F., and BARBA, M., 2004. Development of an one-tube RT-PCR protocol for the detection of seven viroids in four genera: *Apscaviroid*, *Hostuviroid*, *Pelamoviroid* and *Pospiviroid*. J. Virol. Methods, 121: 25-29.
- RAGOZZINO, E., FAGGIOLI, F., AND BARBA, M., 2005. Detection and distribution of Citrus exocortis viroid and Hop stunt viroid in citrus orchards of antral Italy as revealed by one-tube one step RT-PCR sixteenth to CV conterence, 463-465.
- RANGLES, J.W., 2003. Viroids. Economic Impact of Viroid Diseases pp. 3-11.
- REANWARAKORN, ve K., SEMANCIK, J. S., 1999. Correlation of hop stunt viroid variants to cachexia and xyloporosis diseases of citrus. Phytopathology, 89: 568–574.
- RIESNER, D., and GROSS, H.J., 1985. Viroids. Annual Reviews of Biochemistry 54: 531-564.
- SANO, T., CANDRESSE, T., HAMMOND, R.W., DIENER, T.O., ve OWENS, R.A., 1992. Identification of multiple structural domains regulating viroid pathogenicity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10104-10108.

- SANO, T., OHSHIMA, K., HATAYA, T., UYEDA, I., SHIKATA, E., CHOU, T., ve OKADA, Y., 1986. A viroid resembling hop stunt viroid in grape- vines from Europe, the United States and Japan. *Journal of General Virology*, 67: 1673–1678.
- SANO, T., Hataya, T., Terai, Y., ve Shikata, E., 1989. Hop stunt viroid strains from Dapple fruit disease of plum and peach in Japan. *Journal of General Virology*, 70: 1311–1319.
- SANO, T., 2003a. Hop stunt viroid. In *Viroids* (Ed) Hadidi, A., Flores, R., Randles, J. W., Semancik. J. S., Collingwood: CSIRO Publishing. (pp. 207–212).
- SANO, T., 2003b. Hop stunt viroid in plum and peach. In *Viroids* (Ed) Hadidi, A., Flores, R., Randles, J. W., Semancik. J. S., Collingwood: CSIRO Publishing. (s. 165–167).
- SANO, T., ve SHIKATA, E., 2008. Hop stunt viroid. <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=326>. (27.08.2008).
- SASAKI, M., ROISTACHER, C.N., ve HARPER, K.L., 1977. Application of selected viroids for dwarfing and enhancement of production of Valencia orange j. *Hort. Sci.* 72:563-570.
- SHAMLOUL, A.M., MINAFRA, A., HADIDI, A., GIUNCHEDI, L., WATERWORTH, H.E., ve ALLAM, E.K., 1995. Peach latent mosaic viroid: nucleotide sequence of an Italian isolate, sensitive detection using RT-PCR and geographic distribution, *Acta Hort.* 386:522–530.
- SHAMLOUL, A.M., ve HADIDI, A., 1999. Sensitive detection of potato spindle tuber and temperate fruit viroids by reverse transcription-polymerase chain reaction– probe capture hybridization, *J. Virol Methods* 80:145–155.
- SHIKATA, E., 1990. New viroids from Japan. *Seminars in Virology*, 1, 107–115.
- SINGH, R. P., READY, K. F. M., ve NIE, X., 2003. Biology. In *Viroids* (Ed) Hadidi, A., Flores, R., Randles, J. W., Semancik. J. S., Collingwood: CSIRO Publishing. (s. 30–48).
- SINGH, R. P., ve Ready, K. F. M. (2003). Biological indexing. In: *Viroids* (Ed) Hadidi, A., Flores, R., Randles, J. W., Semancik. J. S., Collingwood: CSIRO Publishing. (s. 89–94).
- SIPAHIOGLU, H.M., DEMIR, S., MYRTA, A., AL RWAHNIH, M., POLAT, B., SEHENA, L., USTA, M., AKKOPRU, A., SELCUK, M., IPPOLITO, A., ve MINAFRA, A., 2006. Viroid, phtoplasma and fungal diseases of Stone fruit in eastren Anatolia, Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34:1-6.
- STAMLER, R.A., KILCREASE, J., KALLSEN, C., FICHTNER, E. J., COOKE, P., HEEREMA, R. J., ve RANDALL, J.J., 2015. First report of *Rhodococcus fascians* isolates causing pistachio bushy top syndrome on UCB-1 rootstocks in California and Arizona. *Plant Dis.* 99:1468-1476.
- TUİK, 2018: <http://www.tuik.gov.tr/PreTabloArama.do date 08-10-2019>.
- VERNIÈRE, C., PERRIER, X., DUBOIS, C., DUBOIS, A., BOTELLA, L., CHABRIER, C., ve DURAN-VILA, N., 2004. Citrus viroids: Symptom expression and effect on vegetative growth and yield of clementine trees grafted on trifoliate orange. *Plant Disease*, 88, 1189–1197.
- VISVADER, J.E., ve SYMONS, R.H., 1985. Eleven new sequence variants of citrus exocortis viroid and the correlation of sequence with pathogenicity. *Nucl. Acids Res.*, 13: 2907-2920.

- YAMAMOTO, H., KAGAMI, Y., KRUKOWA, M., NISHIMURA, S., UKAWA, S., ve KUBO, S., 1973. Studies on Hop Stunt Disease in Japan. Rept. Res. Lab. Kirin Brewery Co., Ltd. 16:49-62.
- YANG, Y., GUO, R., SANO, T., ve LI, S.F., 2006. First report of hop stunt viroid in apricot in China. *Plant Disease* 90:828.
- ZHANG, B., LIU, G., ve LIU, C., 2009. Characterisation of Hop stunt viroid (HSVd) isolates from jujube trees (*Ziziphus jujuba*). *European Journal of Plant Pathology*, 125: 665–669.
- ZHOU, Y., GUO, R., CHENG, Z., SANO, T., ve LI, S.F., 2006. First report of hop stunt viroid from peach (*Prunus persica*) with dapple fruit symptoms in China. *Plant Pathology* 55:564.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Mohammad ALHASAN
Uyruğu : Çifte vatandaş (Suriye ve Türkiye)
Doğum tarihi ve yeri : 13.03.1989 Halep /Suriye
Medeni hali : Evli – üç çocuk babası
Telefon : 0 546 416 60 14
e-posta : m-alhasan09@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Harran Üniversitesi / Bitki Koruma Bölümü	2020
Lisans	Halep Üniversitesi/ Bitki Koruma Bölümü	2012

Yabancı Dil

İngilizce, Arapça

Yayınlar: ALHASAN, M., GÜLDÜR, M. E., 2019. Determination of Hop Stunt Viroid infections on Pistachio (*Pistacia vera* L.) trees in Şanlıurfa Province. 1st International Gobeklitepe Agriculture Congress, Şanlıurfa 25-27 November.

ALHASAN, M., ŞİMŞEK, E., GÜMÜŞ, H., GÜLDÜR, M. E., 2018. Fruit trees: Certification why it's important? 1st International GAP Agriculture and Livestock Congress, Şanlıurfa 25-28 April.