

T.C.
MALATYA TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ŞEFTALİ LATENT MOZAİK VİROİDİ (*Peach Latent Mosaic*
Pelamoviroid-PLMVd)'NİN GÜVENİLİR TEŞHİSİ İÇİN UYGUN ZAMAN ve**
UYGUN BİTKİ DOKUSUNUN RT-PCR YÖNTEMİ ile BELİRLENMESİ

Mert BARAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

TEMMUZ - 2024

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Şeftali latent mozaik viroidi (*Peach Latent Mosaic Pelamoviroid-Plmvd*)’ nin güvenilir teşhisi için uygun zaman ve uygun bitki dokusunun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Mert BARAN

ÖZET

Yüksek Lisans

ŞEFTALİ LATENT MOZAİK VİROİDİ (*Peach Latent Mosaic Pelamoviroid-PLMVd*)'NİN GÜVENİLİR TEŞHİSİ İÇİN UYGUN ZAMAN ve UYGUN BİTKİ DOKUSUNUN RT-PCR YÖNTEMİ ile BELİRLENMESİ

Mert BARAN

Malatya Turgut Özal Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

81+xiii sayfa

2024

Danışman: Doç. Dr. H. Diğdem OKSAL

Viroidler protein kodlama özelliğine sahip olmayan, 246-401 nt uzunlukta olan, dairesel tek iplikçikli RNA molekülünden oluşan ve bitkileri hastalandırma yeteneğine sahip en küçük patojenlerdir. PLMVd *Avsunviroidae* familyasının *Pelamoviroid* cinsinin tip üyesidir. Bu tez çalışmasında PLMVd ile bulaşık bitkilerde uygun örneklem zamanının ve uygun örneklem dokusunun tespiti amaçlanmıştır. Çalışma daha önce PLMVd ile bulaşık olduğu tespit edilmiş olan TH7 (erişim no:MZ289071) ve TH9 (erişim no:MZ289070) numaralı 2 adet Trabzon hurması ağacında yürütülmüştür. Örneklemeler 2021 yılı Mart ve 2022 yılı Şubat ayları arasında aylık periyotlar halinde yapılmış, her ay mevcut olan bitki dokuları alınarak önce TRNA ekstraksiyonuna sonrasında RT-PCR testine tabi tutulmuştur. Çalışma sonucunda mevsimsel sınırlama olduğunda en güvenilir testleme organlarının ve zamanlarının Nisan ayında bitkide bulunan çiçek tomurcuğu, kabuk ve yaprak dokusu, Mayıs ayında bitkide bulunan çiçek, yaprak, kabuk ve meyve dokusu, Eylül ayında ise bitkide bulunan kabuk, yaprak ve meyve dokusu olduğu sonucuna varılmıştır. Mevsimden bağımsız olarak ise kabuk, yaprak ve meyve dokusu örneklerinin güvenilir sonuç verdiği görülmüştür. İklim verilerinin PLMVd konsantrasyonunun pozitif veya negatif sonuç verme olasılığının tespit edilmesinde bağımsız örneklem t testi kullanılmış ve anlamlılığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; sıcaklığın 14.40-20.90 °C olduğu, nem oranının %41.40-49.30 olduğu dönemde, ortalama toprak sıcaklığının 7.35-11.875 °C olduğu, güneşlenme süresinin 223.10–345.00 saat olduğu zamanlarda, güneşlenme şiddetinin ise 223.56–313.33 cal÷cm² dönemlerde örneklem yapılmasının daha uygun olduğu tespit edilmiştir. Örneklemenin viroidin biyolojisinin, konukçunun fenolojik döneminin ve bölgesel iklim koşullarının göz önüne alınarak yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: PLMVd, RT-PCR, Trabzon hurması, uygun örneklem zamanı, uygun doku

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF SUITABLE PLANT TISSUE AND SAMPLING TIME FOR RELIABLE DETECTION OF PLMVd BY RT-PCR METHOD

Malatya Turgut Özal University

Institute of Graduate Studies

Department of Plant Protection

81+xiii pages

2024

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. H. Diğdem OKSAL

Viroids are the smallest pathogens with no protein-coding properties, made up of a circular single-stranded RNA molecule, 246-401 nt length causing plant diseases. PLMVd is the type member of the Pelamoviroid genus of the Avsunviroidae family. This thesis study aimed to find out the optimal sampling time and tissue in plants infected with PLMVd. The study was conducted on two persimmon plants number TH7 and TH9 with NCBI accession numbers MZ289071 and MZ289070, respectively, which had previously been shown to be infected with PLMVd. Sampling was performed monthly between March 2021 and February 2022, and all available plant tissues were extracted and tested for TRNA using RT-PCR. The study concluded that the most reliable testing organs and times when there is a seasonal limitation are the flower bud, bark, and leaf tissue in April, the flower, leaf, bark, and fruit tissue in May, and the bark, leaf, and fruit tissue in September. It has been concluded that bark, leaf, and fruit tissue samples provide consistent results regardless of season. The independent sample T test was used to estimate the likelihood that the PLMVd concentration in climatic data would yield positive or negative findings and its significance. According to the study results, sampling is recommended between 14.40-20.90 °C, humidity rate 41.40-49.30%, average soil temperature 7.35-11.875 °C, sunshine duration 223.10-345.00 hours, and insolation intensity 223.56-313.33 cal÷cm². It was determined that sampling should be conducted by the viroid's biology, the host's phenological phase, and regional meteorological circumstances.

KEY WORDS: PLMVd, RT-PCR, persimmon, suitable sampling time, suitable tissue

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın hazırlanmasında, bilgi ve tecrübesiyle bana rehberlik eden, akademik sürecimde her zaman yanımda olan, değerli zamanını ve desteğini esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. H. Diğdem Oksal'a en derin teşekkürlerimi sunarım. Kendisinin sunduğu rehberlik ve katkılar, hem bu çalışmanın ortaya çıkmasında hem de gelecekteki mesleki yaşamımda büyük bir ilham kaynağı olacaktır.

Görüş ve önerileriyle çalışmama değer katan ayrıca, bilgi ve tecrübelerinden her zaman yararlandığım, değerli hocam Doç. Dr. Erçin OKSAL'a çok teşekkür ederim.

Görüş ve önerileriyle çalışmama değer katan değerli hocam Doç.Dr. Mustafa USTA'ya çok teşekkür ederim.

İstatistiksel analizlerimde yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Osman UYSAL'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda bana yardımcı olan Dr. Murat YILDIZ, Zir. Müh. Elif DERTLİ ve Zir. Yük. Müh. Songül AYDIN'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her aşamasında yanımda olan desteklerini esirgemeyen aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONUR SÖZÜ	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGE DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	21
3.1. Materyal.....	21
3.2. Yöntem.....	22
3.2.1. Arazi çalışmaları	22
3.2.2. Laboratuvar çalışmaları.....	26
3.2.2.1. Total nükleik asit izolasyonu.....	26
3.2.2.2. cDNA (komplementer DNA) sentezi	27
3.2.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	28
3.2.2.4. Agaroz jel elektroforezi.....	28
3.2.3. İstatistiksel analizler.....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	31
4.1. Laboratuvar Çalışmaları	31
4.2. İstatistiksel Analiz.....	40
4.2.1. Kabuk istatistiksel analizleri	44
4.2.1.1. Nem değişkenin kabuk istatistiksel analizi.....	44
4.2.1.2. Sıcaklık değişkenin kabuk istatistiksel analizi.....	45
4.2.1.3. Yağış değişkenin kabuk istatistiksel analizi	46
4.2.1.4. Ortalama toprak sıcaklığı değişkenin kabuk istatistiksel analizi ..	47
4.2.1.5. Güneşlenme şiddeti değişkenin kabuk istatistiksel analizi	48
4.2.1.6. Güneşlenme süresi değişkenin kabuk istatistiksel analizi	49
4.2.2. Meyve istatistiksel analizleri.....	50

4.2.2.1. Nem değişkenin meyve istatistiksel analizi	50
4.2.2.2. Sıcaklık değişkenin meyve istatistiksel analizi.....	51
4.2.2.3. Yağış değişkenin meyve istatistiksel analizi	52
4.2.2.4. Ortalama toprak sıcaklığı değişkenin meyve istatistiksel analizi..	53
4.2.2.5. Güneşlenme şiddeti değişkenin meyve istatistiksel analizi	54
4.2.2.6. Güneşlenme süresi değişkenin meyve istatistiksel analizi	55
4.2.3. Yaprak istatistiksel analizleri	56
4.2.3.1. Nem değişkenin yaprak istatistiksel analizi.....	56
4.2.3.2. Sıcaklık değişkenin meyve istatistiksel analizi.....	57
4.2.3.3. Yağış değişkenin meyve istatistiksel analizi	58
4.2.3.4. Ortalama toprak sıcaklığı değişkenin meyve istatistiksel analizi..	59
4.2.3.5. Güneşlenme şiddeti değişkenin meyve istatistiksel analizi	60
4.2.3.6. Güneşlenme süresi değişkenin meyve istatistiksel analizi	61
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	67
6. KAYNAKLAR.....	70

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 1.1 Trabzon hurmasının bilimsel taksonomisi (EPPO, 2022a).....	1
Çizelge 1.2 Türkiye, Ortadoğu Anadolu ve Malatya’da bulunan meyve veren yaştaki Trabzon hurması ağaç sayısı, toplu meyvelik alanı, verim ve üretim miktarı (TÜİK, 2023).....	3
Çizelge 1.3 Viroidlerin Sınıflandırılması (ICTV, 2024).....	5
Çizelge 3.2.1.1 Trabzon hurması bitkisinden alınan doku örnekleri (2021 yılı Mart -2022 yılı Şubat)	23
Çizelge 3.2.2.3.1 RT-PCR testinde kullanılan kimyasalların miktarı.....	28
Çizelge 4.1.1 Aylara göre Trabzon hurması bitki dokularındaki PLMVd enfeksiyon oranları	37
Çizelge 4.1.2 PLMVd’nin aylara ve bitki dokusuna göre PCR testlerindeki enfeksiyon oranı.....	39
Çizelge 4.2.1 2021 yılı Mart - 2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama nispi nem (%) verileri	40
Çizelge 4.2.2 2021 yılı Mart - 2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama yağış ($\text{mm}=\text{kg}\div\text{m}^2$) verileri.....	41
Çizelge 4.2.3 2021 yılı Mart - 2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama güneşlenme şiddeti ($\text{cal}\div\text{cm}^2$) verileri	41
Çizelge 4.2.4 2021 yılı Mart - 2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$) verileri	42
Çizelge 4.2.5 2021 yılı Mart-2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama toprak sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$) verileri	42
Çizelge 4.2.6 2021 yılı Mart-2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama güneşlenme süresi (saat) verileri	43
Çizelge 4.2.1.1.1 Nem değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	44
Çizelge 4.2.1.2.1 Sıcaklık değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	45
Çizelge 4.2.1.3.1 Yağış değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	46
Çizelge 4.2.1.4.1 Ortalama toprak sıcaklığı değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	47
Çizelge 4.2.1.5.1 Güneşlenme şiddeti değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	48
Çizelge 4.2.1.6.1 Güneşlenme süresi değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	49
Çizelge 4.2.2.1.1 Nem değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	50
Çizelge 4.2.2.2.1 Sıcaklık değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	51
Çizelge 4.2.2.3.1 Yağış değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	52

Çizelge 4.2.2.4.1 Ortalama toprak sıcaklığı değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	53
Çizelge 4.2.2.5.1 Güneşlenme şiddeti değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	54
Çizelge 4.2.2.6.1 Güneşlenme süresi değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	55
Çizelge 4.2.3.1.1 Nem değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	56
Çizelge 4.2.3.2.1 Sıcaklık değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	57
Çizelge 4.2.3.3.1 Yağış değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	58
Çizelge 4.2.3.4.1 Ortalama toprak sıcaklığı değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	59
Çizelge 4.2.3.5.1 Güneşlenme şiddeti değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	60
Çizelge 4.2.3.6.1 Güneşlenme süresi değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 PLMVd'nin dünyada tespit edildiği ülkeler (EPPO 2022b).....	7
Şekil 1.2 Türkiye’de PLMVd’nin tespit edildiği alanlar	8
Şekil 3.1.1 Örnekleme yapılan il haritası (Malatya)	21
Şekil 3.2.1.1 PLMVd ile bulaşık ağaçtan örnek alınması	22
Şekil 3.2.1.2 (A) Trabzon hurması çiçeği (2021 yılı Mayıs) (B) Trabzon hurması olgun meyvesi (2021 yılı Ekim).....	23
Şekil 3.2.1.3 (A) 2021 yılı nisan ayında yapılan arazi çalışmasında alınan yaprak örnekleri (B) 2021 yılı mayıs ayında yapılan arazi çalışmasından alınan yaprak ve çiçek örnekleri (C) 2021 yılı haziran ayında yapılan arazi çalışmasından alınan yaprak ve olgunlaşmamış meyve örnekleri (D) 2021 yılı ekim ayında yapılan arazi çalışmasından alınan yaprak ve olgun meyve örnekleri.....	24
Şekil 3.2.1.4 (A) 2021 yılı ekim ayında alınan olgun Trabzon hurması meyvesi (B) 2021 yılı ekim ayında örnek alınan Trabzon hurması ağacı görüntüsü (C) 2021 yılı kasım ayına ait arazi çalışması görüntüsü (D) 2022 yılı ocak ayına ait arazi çalışması görüntüsü	25
Şekil 4.1.1 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin mart ayına ait jel görüntüsü 1:9C, 2:9B, 3:7B, 4:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol NK: Negatif Kontrol	31
Şekil 4.1.2 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin nisan ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9A, 2:9C, 3:9D; (B) 1:7A, 2:7C, 3:7D, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	32
Şekil 4.1.3 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin mayıs ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, (C) 1:9E, 2:7E M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	32
Şekil 4.1.4 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin haziran ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	33
Şekil 4.1.5 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin temmuz ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	33
Şekil 4.1.6 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin ağustos ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	34
Şekil 4.1.7 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin eylül ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	34
Şekil 4.1.8 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin ekim ayına ait jel görüntüsü.(A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	35

Şekil 4.1.9 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin kasım ayına ait jel görüntüsü. 1:9C, 2:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	35
Şekil 4.1.10 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin aralık ayına ait olan jel görüntüsü. 1:9C, 2:7C, 3:9C, 4:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	36
Şekil 4.1.11 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin ocak ayına ait olan jel görüntüsü. 1:9C, 2:7C, 3:9C, 4:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	36
Şekil 4.1.12 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin şubat ayına ait olan jel görüntüsü. 1:9C, 2:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol	37



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	:Santigrat derece
μl	:Mikrolitre
dk	:Dakika
g	:Gram
ι	:iota
M	:Molar
mg	:Miligram
MgCl ₂	:Magnezyum klorür
ml	:Mililitre
mA	:Mili Amper
mM	:Milimolar
pmol	:Pikomol
sn	:Saniye
yy	:Yüzyıl
κ	:kappa
λ	:lambda

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACLSV	: <i>Apple chlorotic leaf spot virus</i>
ApMV	: <i>Apple mosaic virus</i>
ArMV	: <i>Arabis mosaic virus</i>
bp	: Baz çifti
C	: Sitozin
cDNA	: Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit
CEVd	: <i>Citris exocortis viroid</i>
CLRV	: <i>Cherry leaf roll virus</i>
cRNA	: Komplementer Ribo Nükleik Asit
CSVd	: <i>Chrysanthemum stunt viroid</i>
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DNAse	: Deoksiribonükleaz
dNTP	: Deoksinüklotidtrifosfat
DTT	: Ditiyotritol
EDTA	: Ethylenediaminotetraasetik asit
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
EPPO	: European and Mediterranean Plant Protection Organization
ESFY	: European Stone Fruit Yellows
FAO	: Food and Agriculture Organization
G	: Guanin
HSVd	: <i>Hop stunt viroid</i>
INSV	: <i>Impatiens necrotic ring spot virus</i>
M	: Marker
nt	: Nükleotit
PBNSPaV	: <i>Plum bark necrosis stem pitting-associated virus</i>
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDV	: <i>Prune dwarf virus</i>
PLMVd	: <i>Peach latent mosaic viroid</i>
PNRSV	: <i>Prunus necrotic ringspot virus</i>
PPV	: <i>Plum pox virus</i>
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RNAi	: Ribo Nükleaz enzim interfazı
RNAse	: Ribo Nükleaz enzim
RNQP	: Regulated Non-Quarantine Pests
RPM	: Revolutions Per Minute
RpRSV	: <i>Raspberry ringspot virus</i>
RT-LAMP	: Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification
RT-PCR	: Reverse transcription Polymerase Chain Reaction
RT-RPA	: Reverse transcription Recombinase Polymerase Amplification

RT-qPCR	: Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulfate–Polyacrylamide Gel Electrophoresis
SLRV	: <i>Strawberry latent ringspot virus</i>
TAE	: Tris Asetat EDTA
Taq DNA	: <i>Thermus aquaticus</i> Deoksiribo Nucleic Acid
TBRV	: <i>Tomato black ring virus</i>
ToRSV	: <i>Tomato ringspot virus</i>
TRNA	: Total Ribo Nükleik Asit
U	: Urasil



1. GİRİŞ

Trabzon Hurmasının Anavatanı ve Sistematiği

Trabzon hurması (*Diospyros kaki* Thunb.) dünyada genellikle subtropik iklim kuşağında yetişen bir meyve türü olup, anavatanı Çin'dir (Tuzcu ve Yıldırım, 2000). Trabzon hurmasının Türkiye'de yetiştiriciliğinin çok eski tarihlere dayandığı bilinmektedir. Türkiye'de üretimin en fazla olduğu bölge Akdeniz Bölgesi'dir. Ayrıca Karadeniz, Ege ve Marmara Bölgelerinde üretimi bulunmakta, ancak küçük ölçekli ve dağınık bir şekilde yapılmaktadır (Onur, 1990; Tuzcu ve Yıldırım, 2000).

Trabzon hurması bitkisi, Türkiye'deki diğer illere yoğunlukla Trabzon ili üzerinden dağıtımı yapıldığı için yaygın olarak Trabzon hurması ismi kullanılmaktadır. Ülkemizde yerel olarak; Hurma, Amme, Aşılı Uyazi, Rus Hurması, Japon Hurması, Batum Hurması, Laz Hurması ve Cennet Hurması gibi farklı isimleri de kullanılmaktadır (Kaya vd., 2016).

Trabzon hurmasındaki zengin askorbik asit ve fenolik asit içeriği bu meyvenin antioksidan aktivitesinin yüksek olmasına katkıda bulunmaktadır (Yönel vd., 2008). Trabzon hurması bilimsel olarak *Diospyros kaki* Thunb. ismi ile ifade edilmektedir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1 Trabzon hurmasının bilimsel taksonomisi (EPPO, 2022a)

Alem	Plantae
Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Angiospermae
Takım	Ericales
Familya	Ebenaceae
Cins	Diospyros
Tür	<i>Diospyros kaki</i>

Trabzon hurmasında enfeksiyon yapan pek çok fungus, bakteri, virüs, viroid ve fitoplazma etmeni bulunmaktadır. Önemli fungal patojenler arasında; *Cladosporium cladosporioides*, (Kwon ve Park, 2003; Palou vd., 2015). *Colletotrichum hori* (Xie vd., 2010) *Cercospora* yaprak lekesi (Ding vd., 2013), *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum* spp., *Pestalotiopsis clavispora*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium expansum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* (Palou vd., 2015) ve *Adisciso kaki* (Sato vd., 2012) yer almaktadır. Trabzon hurmasında enfeksiyon yapan tek bakteriyel etmen olarak *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Scortichini vd., 1998) tespit edilmişken, rapor edilmiş olan tek fitoplazma *Cantitatus phytoplasma ziziphi* (Wang vd., 2015)'dir. Trabzon hurmasında enfeksiyon yapan virüs ve virüs benzeri etmenler arasında *Persimmon cryptic virus* (PeCV) ve *Persimmon virus A* (PeVA) (Cho vd., 2016), viroidlerden ise *Persimmon viroid* ve *Apple fruit crinkle viroid* (AFCVd) (Nakaune ve Nakano, 2008) yer almaktadır. Tez çalışma konusu olan *Peach latent mosaic viroid* (PLMVd) etmeninin Trabzon hurmasında enfeksiyona neden olduğu ilk olarak Malatya Turgut Özal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji laboratuvarında yapılan bir çalışma sonucu ortaya konulmuştur (Oksal vd., 2021).

Trabzon Hurmasının Türkiye'deki İstatiksel Verileri

Trabzon hurması bir diğer adıyla Cennet elmasının ülkemizdeki yıllık üretimi 2022 yılı verilerine göre 97 560 ton, Malatya ilindeki yıllık üretimi ise 279 tondur. Ayrıca, ülkemizde 2021 yılında 1 663 793 adet meyve veren ağaç bulunurken, Malatya ilinde bu sayının yaklaşık %1,1'ne denk gelen 12 824 adet meyve veren Trabzon hurması ağacı bulunmaktadır. Trabzon hurmasının ülkemizdeki üretim alanı ise 59 491 da olup, bu alan Malatya ili için ise 301 da olarak tespit edilmiştir. Trabzon hurması üretimi her yıl düzenli bir şekilde artış göstermekte olup, bu artıştan kaynaklı ülkemizde ekonomik geliri artacak olan ürünler arasında yer almaktadır (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2 Türkiye, Ortadoğu Anadolu ve Malatya’da bulunan meyve veren yaştaki Trabzon hurması ağaç sayısı, toplu meyvelik alanı, verim ve üretim miktarı (TÜİK, 2023)

	TÜRKİYE			ORTADOĞU ANADOLU			MALATYA		
	2020	2021	2022	2020	2021	2022	2020	2021	2022
Meyve Veren Yaştaki Ağaç Sayısı (Adet)	1 244 110	1 405 025	1 663 793	19 293	19 550	19 826	12 531	12 675	12 824
Meyve Vermeyen Yaştaki Ağaç Sayısı (Adet)	611 768	768 038	892 408	18 700	18 640	20 479	6 077	6 102	8 014
Toplu Meyveliklerin Alanı (Da)	40 400	49 519	59 491	640	644	726	216	221	301
Verim (Kg/Meyve Veren Ağaç)	49	55	59	24	24	25	21	21	22
Üretim Miktarı (Ton)	60 661	77 131	97 560	564	470	489	257	264	279

Viroidler

Viroidler protein kodlama özelliğine sahip olmayan, 246-401 nt uzunlukta olan, dairesel tek iplikçikli RNA molekülünden oluşan ve bitkileri hastalandırma yeteneğine sahip en küçük patojenlerdir (Flores vd., 2004).

20 yy. ortalarına kadar kültür bitkilerinde ekonomik kayıplara yol açan viroidlerin bitki virüsleri olduğu düşünülmekteydi (Bitters, 1952). Daha önceleri virüs olduğu düşünülen patates iğ yumru hastalığının, farklı bir patojen grubu olan viroid olduğu 1967 yılında tespit edilmiştir (Diener ve Raymer, 1967).

Başlangıçta şüpheyile bakılmış olsa da, sonrasında yapılmış olan çalışmalarda; *Citrus exocortis viroid* (CEVd) (Semancik ve Weathers, 1972) ve *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd) (Diener ve Lawson, 1973) etmenlerin tanısıyla beraber yapılan diğer çalışmalar da viroidlerin bitkilerde hastalığa neden olan etmenler olduğu kanaatine varılmasını güçlendirmiştir.

Viroidler yalnızca yüksek yapılı bitkilerde enfeksiyona neden olurlar. Bazı viroid türleri bitkilerde belirti oluşturmada veya çok az sevide zarara sebep olurken, bazı viroidler ise fazla düzeyde zarar veren hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır (Riesner ve Gross, 1985).

Viroidler, Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesine (International Committee on Taxonomy of Viruses-ICTV) göre 2 familya, 8 cins ve 44 tür olarak sınıflandırılmıştır (Çizelge1.3). *Pospiviroidae* familyası merkezi korunmuş bölgeye (Central Conserved Region-CCR) sahiptir ancak çekiç kafa yapısı bulunmaz. *Avsunviroidae* familyasında ise merkezi korunmuş bölge (Central Conserved Region-CCR) yoktur ve çekiç kafa yapısı bulunmaktadır (Flores vd., 1998).

Çizelge 1.3 Viroidlerin Sınıflandırılması (ICTV, 2024)

Familiya	Cins	Tür *	Akronim
VİROIDLER	Pospiviroidae	Potato spindle tuber viroid	PSTVd
		<i>Chrysanthemum stunt viroid</i>	CSVd
		<i>Citris exocortis viroid</i>	CEVd
		<i>Columnea latent viroid</i>	CLVd
		<i>Iresine viroid I</i>	IrVd-I
		Pospiviroid	
		<i>Mexican papita viroid</i>	MPVd
		<i>Pepper chat fruit viroid</i>	PCFVd
		<i>Tomato apical stunt viroid</i>	TASVd
		<i>Tomato cholorotic dwarf viroid</i>	TCDVd
		<i>Tomato planta macho viroid</i>	TPMVd
		<i>Portulaca Platent viroid</i>	PLVd
		Hostuviroid	
		Hop stunt viroid	HSVd
		Cocadviroid	
		Coconut cadang-cadang viroid	CCCVd
		<i>Coconut tinangaja viroid</i>	CTİVd
		<i>Citrus bark crasking viroid</i>	CBCVd
		<i>Hop latent viroid</i>	HLVd
		Apscaviroid	
		Apple scar skin viroid	ASSVd
		<i>Apple dimple fruit viroid</i>	ADFVd
		<i>Australian grapevine viroid</i>	AGVd
		<i>Citrus bent leaf viroid</i>	CBLVd
		<i>Citrus dwarfing viroid</i>	CDVd
		<i>Citrus viroid V</i>	CVd-V
		<i>Citrus viroid VI</i>	CVd-VI
		<i>Grapevine yellow speckle viroid 1</i>	GYSVd-1
		<i>Grapevine yellow speckle viroid 2</i>	GYSVd-2
		<i>Pear blister canker viroid</i>	PBCVd
		<i>Apple cholorotic fruit spot viroid</i>	ACFSVd
		<i>Citrus viroid VII</i>	CVd-VII
		<i>Dendrombium viroid</i>	DVd

Çizelge 1.3'ün devamı

VİROİDLER	Familya	Cins	Tür *	Akronim
	Pospiviroidae	Apscaviroid	<i>Grapevine latent viroid</i>	GLVd
			<i>Lychee viroid</i>	IVd
			<i>Persimmon viroid</i>	PVd
			<i>Persimmon viroid-2</i>	PVd-2
			<i>Plum viroid</i>	PIVd-1
		Coleviroid	<i>Coleus blumei viroid 1</i>	CbVd-1
			<i>Coleus blumei viroid 2</i>	CbVd-2
			<i>Coleus blumei viroid 3</i>	CbVd-3
			<i>Coleus blumei viroid 5</i>	CbVd-5
			<i>Coleus blumei viroid 6</i>	CbVd-6
		Avsunviroidae	<i>Avocado sun blotch viroid</i>	ASBVd
			<i>Peach latent mosaic viroid</i>	PLMVd
			<i>Chrysanthemum chlorotic mottle viroid</i>	CChMVd
			<i>Apple hammerhead viroid</i>	AHVd
			<i>Eggplant latent viroid</i>	ELVd

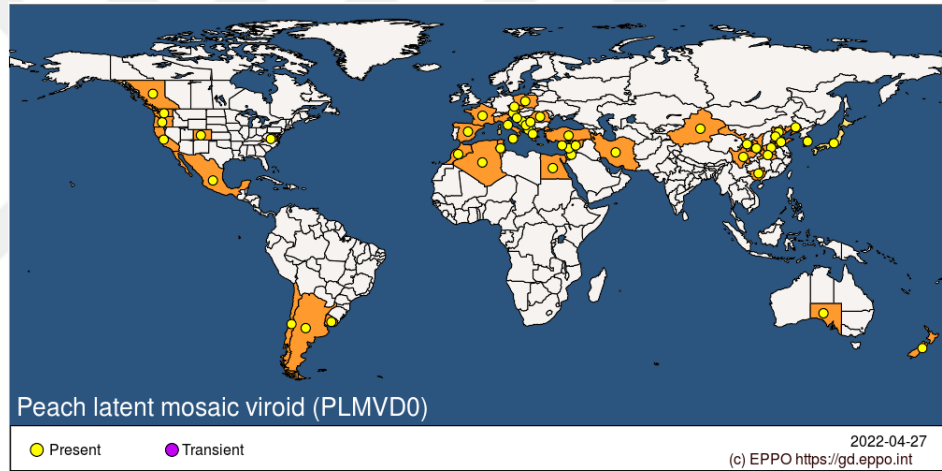
* Tür ve akronim sütunu içindeki tip üyeleri koyu ve siyah renkli gösterilmiştir.

Viroidler bitki hücrelerinde kılıf ya da zarla çevrili olmaksızın yalnızca RNA molekülleri olarak bulunmaktadır ve çok az sayıda nükleotid içeren tek bir RNA çubuğuna (ipliğine) sahiptir. Pospiviroidae familyasında merkezi korunmuş bölge bulunmakta ve enfekteli hücrelerin çekirdeğinde çekiç kafa ribozimi yardımı ile değil, muhtemelen RNA polimerase II'yi kullanarak asimetrik yuvarlanan daire stratejisi ile replike olmaktadır. Avsunviroidae familyasında ise merkezi korunmuş bölge mevcut değildir, enfekteli bitkilerin kloroplastlarında kloroplastik RNA polimeraz enzimini kullanarak hem pozitif hem negatif iplikçikli çekiç kafa ribozimleri yardımıyla simetrik strateji ile replike olmaktadır (Strauss vd., 2007).

Peach Latent Mosaic Viroid (PLMVd)

PLMVd *Avsunviroidae* familyasının *Pelamoviroid* cinsinin tip üyesidir (Çizelge 1.3). Bilimsel ismi 2024 yılında Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi (International Committee on Taxonomy of Viruses-ICTV) tarafından *Pelamoviroid latenspruni* olarak değiştirilmiştir. Etmen ilk kez Desvignes (1976) tarafından şeftali latent mozaik hastalığı olarak Fransa’da tanımlanmıştır.

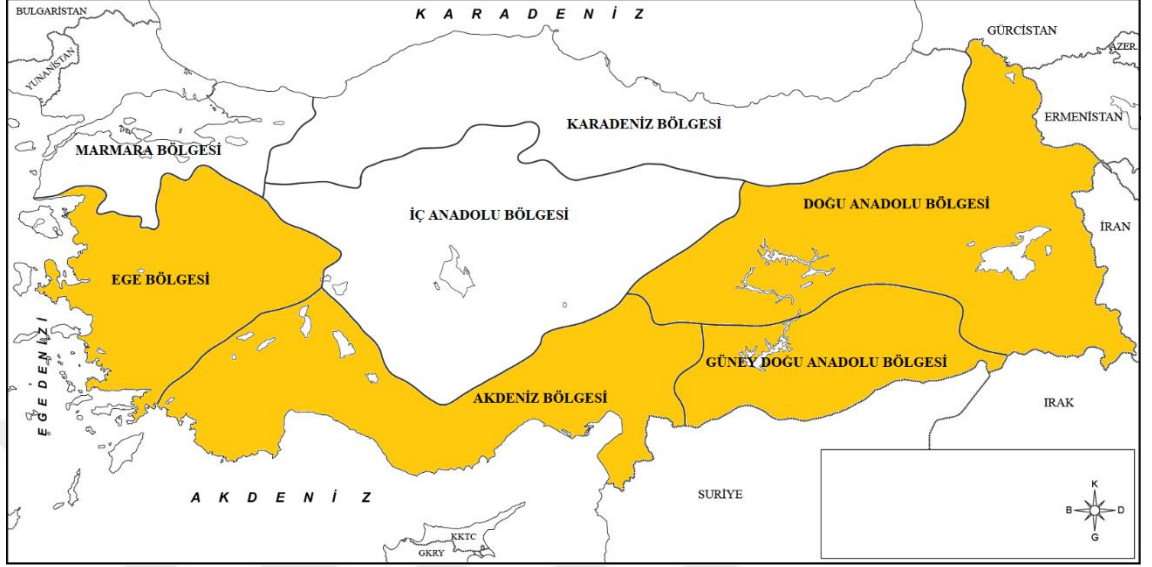
PLMVd’nin dünyadaki varlığı Amerika kıtasında; Kanada, Meksika, Uruguay, Arjantin ve Şili, Afrika kıtasında; Fas, Cezayir, Tunus ve Mısır, Avrupa kıtasında; Türkiye, İspanya, Fransa, Yunanistan, Avusturya, Sırbistan, Karadağ, İtalya gibi ülkeler, Asya kıtasında; İran, Çin, Japonya, Ürdün, Kore ve Suriye ile Okyanusya’da; Yeni Zelanda ve Avustralya’da bulunmaktadır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 PLMVd'nin dünyada tespit edildiği ülkeler (EPPO 2022b)

PLMVd’nin varlığı sert çekirdekli meyve türlerinde yapılan çalışmalar ile 2006 yılında Doğu Anadolu Bölgesinde Iğdır ilinde şeftalide, 2004-2005 yıllarında Batı Anadolu Bölgesindeki Bursa, Çanakkale, İzmir, Aydın, Afyon, Kütahya ve Manisa illerinde kayısı ve şeftalide, 2008 yılında Doğu Akdeniz Bölgesinde şeftali ve nektarinde (Sipahioğlu vd., 2006; Gümüş vd., 2007; Gazel vd., 2008). Malatya ilinde 2020 yılında cevizde, 2021 yılında bir yabancı ot olan kanyaş ve Trabzon hurmasında, 2021 yılında Elazığ’da şeftali ve nektarinde Mardin’de ceviz bitkisinde, 2022 yılında Güneydoğu

Anadolu Bölgesinde ise (Diyarbakır, Şanlıurfa ve Siirt) antep fıstığında tespit edilmiştir (Tuncel vd., 2020; Oksal vd., 2021; Çiftçi vd., 2021; Yılmaz, 2024) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 Türkiye’de PLMVd’nin tespit edildiği alanlar

* Sarı renkle boyanmış olan alanlar PLMVd’nin tespit edilmiş oldukları alanları temsil etmektedir.

Şeftali latent mozaik viroidinin bugüne kadar, sert ve yumuşak çekirdekli meyve türlerini içeren *Rosaceae* familyasındaki bazı bitkileri enfekte ettiği bildirilmiştir. Yapılan ilk çalışmada etmenin Fransa’da meyve bahçelerindeki şeftali meyvesinde doğal olarak bulunduğu, diğer bir yapılan çalışmada ise ABD’deki nektarin ve şeftali meyve bahçelerinde yaygın olduğu bildirilmiştir (Skrzeczowski vd., 1996; Flores vd., 2003; Hadidi vd., 2003’ten). Son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanan hassas analiz yöntemleri sayesinde asma, süs eriği, badem, elma, erik, mango, Japon eriği, kayısı, kiraz, ceviz, armut, ayva, Trabzon hurması, bir yabancı ot olan kanyaş ve antep fıstığında tespit edilmiştir (Hadidi vd., 1997; Faggioli vd., 1997; Osaki vd., 1999; Kyriakopoulou vd., 2001; Hassen vd., 2005; El-DougDoug vd., 2012; Kyriakopoulou vd., 2017; Tuncel vd., 2020; Oksal vd., 2021; Çiftçi vd., 2021; Yılmaz, 2024).

Şeftali bitkisinde PLMVd genel olarak latent seyretmektedir. Bazı viroid izolatları şeftali yapraklarında krem renkli mozaik veya klorotik lekelenmeler, sürgünün bir

bölümü ya da tamamında, meyve yapraklarında albino veya calico benzeri belirtiler göstermektedir. Fidanların bulaşık olduğu alanlarda etmenin belirtileri dikimden takriben 2 yıl sonra belirgin olmaya başlar ve yapraklanmada, çiçeklenmede ve olgunlaşmada 4-6 günlük gecikme oluşmaktadır. Etmen bitkinin meyvesinde şekil ve renk bozulması, çatlak benzeri yara izi, çekirdekte ise yuvarlak ve yassı oluşumlar gözlemlenmektedir. Ayrıca, çiçeğin petal yapraklarında kesik çizgili pembe renklenmeler oluşturur. Tomurcuk nekrozu, gövdede oyuklaşma, gelişmede yavaşlama ve ağacın çabuk yaşlanması gibi belirtilere sebep olmaktadır (Flores vd., 2003; Flores vd., 2011).

PLMVd aşısı materyaliyle (göz ve kalem) kolayca taşınabilir (Desvignes, 1986) ancak, tohumla taşınmaktadır (Howell vd., 1997; Barba vd., 2007). *Aphis gossypii* ve *Aphis spiraecola* afit türleriyle PLMVd'nin deneysel olarak taşınmadığı, *Myzus persicae* türüyle düşük oranda taşınabildiği bildirilmiştir (Flores vd., 1992). Tarım alet ve makineleri (aşı bıçağı, budama makası vb.) PLMVd'ni meyve bahçelerinde yayılmasında önemli bir role sahiptir (Hadidi vd., 1997; Flores vd., 1990). Şeftali çeşitine bağlı olarak PLMVd'nin farklı oranlarda polenle taşındığı ancak, şeftali ağaçlarının kökleriyle taşınmadığı ortaya konulmuştur (Barba vd., 2007).

PLMVd mücadelesinde etmeden ari üretim materyali kullanmak ve üretim yapılan alanlarda sık sık gözlem yaparak bulaşık olan bitkilerin imha edilmesi gerekmektedir. Üretim alanında kullanılan tarım alet ve makineleri (aşı bıçağı, budama makası vb.) düzenli olarak dezenfekte edilmelidir. PLMVd ile enfekteli olan şeftali ağaçlarından ari üretim materyali üretmek için mikro aşılama yöntemi sıcaklık uygulamalarıyla (37 °C'de 35-40 gün) birlikte kullanılmaktadır (Barba vd., 1994; Flores vd., 2003; Flores vd., 2011).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünyada PLMVd ile ilgili yapılmış olan çalışmalar

Desvignes (1986), şeftali latent mozaïği hastalığının şeftali mozaik ve şeftali sarı mozaik virüs hastalıklarıyla ilişkisini araştırdığı bir çalışmada her 3 hastalığın da ortak özelliklere sahip olduklarını bildirmiştir. Bu özellikler arasında şeftalinin ana konukçu olması, otsu bitkilerin dayanıklı olması, etmenlerin tanımlanmamış olması, yapraklanma ve olgunlaşmada gecikme, klorotik beneklenme ve meyvelerde deformasyon gibi belirtiler olması, doğal yayılımın eriyofit ve yaprak bitleri vektörler aracılığı ile gerçekleşmesi, strainler arası çapraz korunma olması, çok kısa temas periyodu olması ve ısıya dayanıklılık gibi ortak özellikler bulunduğunu bildirmiştir. Temel farklılıklar ise diğer *Prunus* türlerindeki (kayısı, badem, erik) belirtilerin tanımıdır. Muhtemelen bu 3 hastalığın aynı spesifik virüs hastalığı olduğunu bildirmiştir.

Flores ve Ll  cer (1988), mozaik belirtileri gösteren şeftali latent mozaik (PLM) etmeninin şiddetli bir türü ile enfekte olmuş GF-305 şeftali fidelerinden elde edilen nükleik asit ekstraktlarında viroid benzeri bir RNA tespit etmişlerdir ancak sağlıklı kontrollerden elde edilen ekstraktlarda bu RNA tespit edilememiştir. Bu viroid benzeri RNA'nın jelde 371 nükleotid'lik CEVd ve 297 nükleotid'lik HSVd gibi dairesel yapılar oluşturduğunu söylemişlerdir. İlki ile aynı hareketliğe sahip olan bu ikinci viroid benzeri RNA PLMVd'nin ılımlı türleriyle enfekte edilmiş semptom göstermeyen GF-305 şeftali fidelerinin nükleik asitlerinden elde edilmiştir. Bu RNA'ların PLMVd etmeniyle ilişkileri bu hastalığın PMV ve PYMV ile ilişkili olduğunu göstermekte olduğunu rapor etmişlerdir.

Faggioli vd., (1997), İtalyan erik bah  lerinde yakın zamanda yapılan bir araştırma, PLMVd'nin Orta İtalya'daki farklı coğrafi konumlarda iki erik   eşidinde (Black Diamond ve Angeleno) bulunduğunu göstermiştir. Erik örneklerinde dallarda ve gövdede kabuk nekrozu ve kabuk çatlaması görülmüşlerdir ayrıca, 1 veya 2 yaşındaki sürgünler, gövde ve boğum aralarının kısılması ile cüceleşme belirtilerini tespit etmişlerdir PLMVd'nin varlığı veya yokluğu, çift yönlü poliakrilamid jel elektroforetik (dPAGE) analizi ve Hadidi tarafından sağlanan PLMVd cRNA probu ile nokta hibridizasyon testi ile belirlemişlerdir. İtalya'da erikte PLMVd'nin ortaya çıkışına ilişkin ilk rapordur.

Hadidi vd., (1997), Amerika kıtasında, Avrupa ve Asya'da PLMVd'nin yoğun bir enfeksiyon (%55) oluşturduğunu belirtmiştir. Araştırmada PLMVd'nin kiraz örneklerinde 337 bp uzunluğunda DNA bandı verdiği gözlemlenmiştir. Mekanik taşınım (budama aletleri) PLMVd ile bulaşık olan bitkiler aracılığıyla GF-305 şeftali çeşitlerinin gövde ve yeşil sürgünlerine kolayca bulaştığı (%50-70) gözlemlenmiştir. Bu sonuçlarla meyve bahçelerine viroidin bulaşmasının budama aletleriyle olduğu tespit edilmiştir.

Bussiere vd., (2000), PLMVd'nin sekonder yapısı ve dallanmış viroid yapısını ilk kez tespit etmiştir. Ayrıca bu çalışmayla PLMVd'nin dallanmış ve karışık olan sekonder yapısı da tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada biyoinformatik programlar kullanarak ikincil yapıyı oluşturdukları, daha önce yapılmış olan diğer çalışmalarla benzer olduğu ve pseudoknot bulundurduğunu tespit etmiştir. Aynı pseudoknotun *Chrysanthemum chlorotic mottle viroid* (CChMVd)'inde bulunduğunu, PLMVd alt grubu viroid üyelerinin eşsiz bir özelliği olduğunu rapor etmişlerdir

Flores vd., (2000), viroidlerin taksonomik olarak iki farklı familyaya ayrıldığı, bunların *Pospiviroidae* ve *Avsunviroidae* olduğu ve yaklaşık 30 viroid türünün tanımlandığı rapor etmişlerdir.

Pelchat vd., (2000), 34 yeni PLMVd izolatının sekans dizilimi 9 farklı şeftali çeşidinde yapılmıştır. PLMVd izolatlarının varyantlarını ve bunlar arasındaki farklılıklar Kuzey Amerika'daki bu çalışma ile ortaya koymuşlardır. Bu varyantlar Avrupa izolatlarından farklı değildir. İzolatlar her bir türdeki RNA'ların kompleks karışımlarından oluşmuştur. Baz dizisi kovaryantları (ortak değişim), 3 yeni pseudoknot içeren kompleks dallanmış yapıya sahiptir. Sonuçta elde edilen küre benzeri yapı, şimdiye kadar benimsenmiş olan diğer viroidlere ait olan yapıdan farklıdır.

Al Rwahnih vd., (2001), Ürdün'deki sert çekirdekli meyve ağaçlarındaki virüs ve viroidlerin araştırıldığı çalışmada, ticari bahçeler, damızlık parseller ve çeşitli koleksiyonlarda surveyler yaparak hastalık durumunun belirlenmesi amaçlamışlardır. Virüs ve viroidlerin tespiti için ELISA ve moleküler hibridizasyon testleri uygulanmıştır. 1312 örnek ELISA metodu ile testlenmiş ve genel enfeksiyon oranı %14 olarak bulunmuştur. Farklı meyve ağaçlarının enfeksiyon oranı şeftali %18, kiraz %15, badem %14, kayısı %11 ve erikte %10 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca *Plum pox virus* (PPV),

Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV), *Prune dwarf virus* (PDV), *Apple mosaic virus* (ApMV), *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Hop stunt viroid* (HSVd) ve *Peach latent mosaic viroid* (PLMVd) enfeksiyonları da bulunmuştur. ApMV, ACLSV, PLMVd ve HSVd etmenlerinin, Ürdün için ilk kayıt olduğunu bildirmişlerdir.

Crescenzi vd., (2002), Güney İtalya'daki kiraz ağaçlarının hastalık durumu üzerine yaptıkları bir araştırma sırasında PLMVd enfeksiyonlarının olası varlığını araştırmışlardır. Birkaç kiraz çeşidinin bulunduğu ticari bahçelerdeki ağaçlardan tomurcuk (aşı kalemi) ve yaprak örnekleri toplanmışlardır. Aşı kalemleri varsa PLMVd'nin geri kazanılması ve konukçuda çoğaltılması için GF 305 anaçları üzerine aşılamışlardır. Aşılama yapılan indikatör bitkilerin birkaç ay boyunca semptomsuz kaldığını bildirmişlerdir. Total nükleik asitleri, her kiraz veya GF 305 anacının yapraklarından 250 mg alarak ekstrakte ettiklerini ve formaldehit ile denatüre edip, digoxigenin etiketli tam uzunluklu PLMVd cRNA probu ile dot-blot analizi ile hibridize etmişlerdir. Hibridizasyon testleri sonucunda; PLMVd'nin GF 305 anacına aşılama başarılı sonuç verdiğini ve 15 kiraz ağacından 5'inin doğal olarak viroid ile enfekteli olduğunu bildirmişlerdir.

Pallás vd., (2003), sert çekirdekli meyvelerde viroid hastalıkları ve oranları ile ilgili yaptıkları çalışmada, 2 viroidin sert çekirdekli meyveleri etkilediğini ve bunların *Hop stunt viroid* ve *Peach latent mosaic viroid* olduğunu belirtmişlerdir. PLMVd Avrupa ve Asya ülkelerinden en çok şeftalide, bazen de erik, kayısı ve kirazda bulunduğunu, HSVd' nin Akdeniz ülkelerinde birkaç sert çekirdekli meyve türünde (kayısı, şeftali, erik, badem) sıklıkla tespit edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca son zamanlarda, örnek ekstraksiyonundan kaçınan ve direk bitki materyalinin (meyve, yaprak, gövde, sap, kök) transferini isteyen bir teknik olan doku baskı hibridizasyonu sert çekirdekli meyvelerde bu viroidlerin tespiti için başarılı bir şekilde uygulanacağını da belirtmişlerdir.

Flores vd., (2004), viroidlerin küçük (246–401 nükleotide sahip), kodlama yapmayan, yuvarlak ve bitkilerde çoğalan patojenler olduğunu söylemişlerdir. *Pospiviroidae* ve *Avsunviroide* familyalarının üyeleri çekirdek ve kloroplastta replike olmaktadır.

Lee vd., (2004), tarafından yapılan bir çalışmada polifenoller ve polisakkaridlerin bitki dokularında yoğun bir şekilde bulunması sonucunda nükleik asit ekstraksiyonu çalışmalarında RT-PCR'ın nükleik asitleri üzerinde tespit edilebilirliği üzerinde olumsuz etkileri veya reverse transkriptaz enzimini engellediği hakkında bazı işaretler bulunmuştur. Ekstraksiyon kitleriyle beraber sodyum sülfid kullanarak bu engelleyicileri saf dışı bırakmaya çalışmışlardır ve bitki dokularının ekstraksiyon sırasında bitkilerin koyu renge bürünmesini engelleme çalışmışlar ve RT-PCR sonuçlarının etkileyip etkilemediğini rapor etmişlerdir. Sodyum sülfid kullanıldıktan sonra bitki dokularından yapılan testlerde nükleik asitleri belirlemekte RT-PCR'ın daha başarılı olduğu ve nükleik asit ekstraksiyonu sonrasında RT-PCR incelendiğinde yüksek kalitede nükleik asitlerin elde ettikleri görülmüştür.

Fekih Hassen vd., (2005), RT-PCR tekniğiyle PLMVd'nin varlığını Tunus'taki badem ağaçlarında test etmişlerdir. Bu teknikle analizi yapılan 17 ağacın 2 tanesinde 337 nükleotid büyüklüğünde bant oluşturan PLMVd'yi tespit ettiklerini ve izolatların diğer PLMVd izolatlarıyla benzerlik oranlarının %94-98 olduğunu belirtmişlerdir.

Hassen vd., (2005), PLMVd'nin tanı ve tespitini hassas ve hızlı bir şekilde yaparak Tunus'ta armut ve şeftali bahçelerinde PLMVd'yi tespit etmişlerdir. Daha önce tespit edilen diğer izolatlarla bu çalışmada elde edilen izolatlar karşılaştırılmış ve analizi yapılmıştır. Bitki özsuğu seyreltilerek kullanmasının bu çalışmada etmenin daha kolay tanımlanmasını sağladığı bildirilmiştir.

Rodio vd., (2006), daha önce kaliko belirtileri gösteren bir PLMVd varyantının spesifik pozisyonundaki 12-13. nükleotidlerindeki eklenme çalışmasını genişleterek, 2 yeni izolatta daha çalışmışlardır. Her iki izolattan da semptomatik ve asemptomatik dokular GF-305'e aşılınmış ve inokulum kaynağının fenotipi üretilmiştir. Varyantlar eşit olmayan şekilde tekil bitkide dağılarak patojenitede değişiklik göstermiştir. Ayrıca, PC-P1 kaynağının inokulasyonundan elde edilen yeni bitkiler, tip 1 ve 2'deki eklenmelerin semptomatik ve asemptomatik bitkilerde predominant olduğunu göstermiştir. Eklenmeler enfeksiyon sırasında kazanılabiliyor veya kaybedilebileceğini, bu da latent varyantların patojenik varyantlara dönüşebileceğini ya da tam tersi olabileceğini göstermektedir.

Barba vd., (2007), şeftalide PLMVd etmeninin polenle taşınması hakkında bir çalışma yürütmüşlerdir. Taşınmasının mekanik yolla, budama araçlarıyla bazen de afitlerle olabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmanın polen, tohum ve köklerin PLMVd'nin yayılmasını belirlemek için olduğunu ifade etmişlerdir. Viroidle bulaşık olan ağaçlarının polenleriyle tozlanma yapılan 18 ağacın 5'nin PLMVd ile enfekteli olduğu, viroidle enfekteli olan ağaçlarda yapılan testlerle tohumun enfekteli olduğu fakat fidanların köklerinde herhangi simptome rastlanmadığı bildirilmiştir. Enfekteli fidelerle beraber sağlıklı fideler kapalı bir kap içerisinde 6 yıl boyunca tutulmuş ve sağlıklı fidelerde herhangi bir bulaşma gözlemlenmemiştir. Sonuç olarak PLMVd'nin enfekteli şeftali ağaçlarının kökleri ve tohumlarıyla taşınmadığı, polenle taşındığı ortaya konulmuştur.

Xu vd., (2008), farklı belirtiler gösteren 6 şeftali PLMVd izolatını tek sarmallı yapı polimorfizm ve nükleotid sekans analizi ile incelemiştir. Sonuçlar, PLMVd'nin biri %32-57 arasında baskın ve diğerleri de %4-5 sıklıkta olmak üzere genetik olarak ilişkili varyantlardan (haplotipler) oluştuğunu göstermiştir. Her bir predominant ve bazı predominant olmayan haplotip karşılaştırma amaçlıyla sekanslanmıştır. Her bir izolatta sekans hizalanması, predominant haplotipin diğerleri ile en az varyasyona sahip olduğunu ve sekansının konsensus sekansı ile benzer olduğunu, bu durumda predominant haplotipin diğerleri için geniş bir temsili sekans gösterdiğini göstermiştir. Aynı semptomatik kaynaktan alınan predominant şeftali izolatları arasındaki benzerlik yüksek (%98.8), genetik uzaklık ise düşük (<%1) bulunmuştur. Bu izolatlar için bazı belirli varyasyonlar gösterilmiş ve yaprak kenarlarında renksizleşme belirtisi gösteren izolatların 169. nt pozisyonunda guanin ya da urasil içermekte olduğunu, yaprak sararması belirtisi gösteren izolatların 115 ve 116. nt'lerinde urasil ya da sitozin içermekte olduğunu, mozaik belirtisi gösteren izolatlarda ise çeşitlilik görüldüğünü bildirmişlerdir.

Meziani vd., (2009), Cezayir'de sert çekirdekli meyvelerin üreme organlarındaki hastalık durumunu belirlemek için sert çekirdekli meyve ağaçlarının yetiştirildiği bölgede sert çekirdekli meyveleri etkileyen virüs ve viroidle enfekteli olduğu düşünülen örnekler toplanıp serolojik ve moleküler olarak analizi yapılacağı bir survey çalışması planlanmıştır. Bu amaçla enfekteli olduğu düşünülen 2000 ağaçtan örnek alınıp test edilmiş olup bu ağaçların %9'u PNRSV, %3'u ApMV, %1,5'i, PDV %9 'u PLMVd, %5'i ise HSVd ile enfekteli olarak tespit edilmiştir.

Boubourakas vd., (2009), Yunanistan’da, PLMVd’nin ana konukçusu olan şeftali ve bitkisel gen kaynakları hakkında bilgi olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada şeftali ve şeftali gen kaynağı, diğer *Prunus* türlerinde ve yumuşak çekirdekli meyve türlerinde PLMVd varlığını incelemişlerdir. Viroidin varlığı RT-PCR analizleri, dot-blot hibridizasyonu, nükleotid dizilimi ve RT-LAMP testleri ile tespiti yapılmıştır. Alınan örneklerin Şeftali (48/53), erik (11/24), kayısı (4/15) ve kiraz (2/15) PLMVd ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir.

Musa vd., (2010), Arnavutluk’ta sert çekirdekli meyve ağaçlarında virüs ve viroid hastalıklarının tespiti için survey çalışması gerçekleştirmiştir. Gözlemlenen 5000 ağaçtan 749 bitki PNRSV, ACLSV, PDV ve PLMVd testlenmiştir ve %23’ü testlenen virüsler açısından bulaşık bulunmuştur. Özellikle şeftalilerin %60’ının viroid ya da virüslerden herhangi biri enfekteli olduğu tespit edilmiştir.

Dube vd., (2011), viroidlerinin yapısının bilinmesinin viroidin yaşam döngüsü adımlarında çeşitli RNA motiflerinin oynadığı rolün açıklanması için önemli olduğunu belirtmişlerdir. Bu amaçla primer ekstensiyonu ile RNA seçici 22-hidroksil asilasyonu (SHAPE analiz programı) isimli yeni bir tekniğin hızlı, güvenilir ve pek çok RNA molekülüne uygulanabilir olduğunu göstermişlerdir. Bu metod, PLMVd’nin sekans varyantlarını problemada kullanılmıştır.

Jevremovic ve Paunovic (2014), PLMVd’nin Sırbistan’daki varlığını tespit etmek amacı ile 2011-2013 yılları arasında 9 farklı damızlık alanında survey yapmıştır. 43 damızlık parselinden toplam 315 şeftali ve nektarin örneği toplamış ve RT-PCR ile testlemişlerdir. PLMVd 13 örnekte %4,13 oranında ve 7 farklı çeşitte tespit edilmiştir. Sonuçlar damızlık parsellerde PLMVd’nin düşük oranda da olsa varlığını bildirmektedir.

Jo vd., (2015), *Peach latent mosaic viroid* (PLMVd)’ in *Avsunviroidae* familyası *Pelamoviroid* cinsinin üyesi olduğunu ve şeftali ağaçlarını enfekte ettiğini ifade etmişlerdir. Şeftali transkriptomundan PLMVd genomunu sil baştan topladıklarını ve Sanger sekanslaması ile 20 PLMVd genomu sekanslamadan sonra tek bir şeftali çeşidinde 18 varyant tanımladıklarını bildirmişlerdir.

Sangha vd., (2015) yaptıkları çalışmada patojen enfeksiyonu sonucunda bitki savunma mekanizmasının ürettiği bir elisitör olan karragenanların domates klorotik

cücelik viroidi (TCDVd) replikasyonu ve simptome üzerindeki etkisini incelemiştir. Üç haftalık domates bitkilerine 1 g-L⁻¹ oranında iota(ι)-, lambda(λ)- ve kappa(κ)-karragenan püskürtülmüş ve 48 saat sonra TCDVd ile inoküle edilmiştir. λ-karragenan, sekiz haftalık inokülasyondan sonra viroid simptomlarını önemli ölçüde baskılamış, uygulama yapılan bitkiler %28 tepe kıvrıcıklığı sptomları gösterirken kontrol grubunda bu oran %82 olmuştur. Çalışmada, λ-carrageenan içerikli büyüme ortamında inkübe edilen enfekteli sürgün kesitlerinde viroid konstrasyonu azalmıştır. Bağımsız örneklem t testi kullanılarak yapılan proteom analizi, λ-carrageenan ile muamele edilen bitkilerde 16 domates proteininin farklılıklarını ortaya konulmuştur.

RNAi ile sessizleştirme virüs enfeksiyonlarına karşı 4 farklı DCL proteini temeli ile çalışan önemli bir savunma mekanizmasıdır. DCL proteinlerinin patates iğ yumru viroid enfeksiyonuna etkilerini incelemek için *Nicotiana benthamiana*'yı model olarak inceledikleri çalışmada, Katsarou vd., (2016) dört DCL geninin tümü ve bunların kombinasyonları için bitkiler yetiştirmiş ve bitki gelişimlerdeki farklılığın ortaya konulabilmesi için bağımsız örneklem t testi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde Pospoviroidlerin, viroid enfektivitesi üzerinde daha az zararlı etkileri olan bir DCL proteini gibi görüldüğü için DCL4 tarafından öncelikli olarak işlenecek şekilde evrimleşmiş olabileceğini ortaya konulmuştur. Bu bulgular, viroidler ve bitki RNA susturma yanıtı arasındaki ilişkinin karmaşıklığını tanımlamanın yolunu açmaktadır.

Gucek vd., (2017), viroidlerin teşhisinde hızlı ve güvenilir metotların öneminden bahsetmişlerdir. Her viroid-konukçu kombinasyonu spesifiktir ve güvenilir bir tanılama için örneklemeden son teste kadar tüm aşamaların doğru ve tam olarak yapılması gerekmektedir. Makalede çeşitli viroid tanılama yöntemlerinin birbirine olan avantajları ve dezavantajları ile tartışılmıştır.

Wei vd., (2019) bitki viroidlerinin filamentli mantarlarda çoğalıp çoğalamayacağı ve simptomlara neden olup olamayacağını araştırmışlardır. Bitki hücrelerinin çekirdeğinde veya kloroplastında çoğalan viroid gruplarını temsil eden yedi bitki viroidi, üç bitki patojeni fungus olan *Cryphonectria parasitica*, *Valsa mali* ve *Fusarium graminearum* aşılantıdır. Viroidlerin ayrıca mantarları etkili bir şekilde etkilemekte ve viroid RNA'ları mantar misellerine dışsal olarak uygulandığında hastalık semptomlarına neden olduğu bağımsız örneklem t testi ile ortaya konulmuştur. Elde edilen bu bulgular,

viroid replikasyonu, konak aralığı ve patojenitesi ile doğadaki diğer organizmalara yayılma potansiyelleri ortaya çıkartılmıştır.

Pappi vd., (2020), TaqMan kimyasına dayanan üç katlı gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (gerçek zamanlı RT-PCR) yöntemi kullanılarak *Apple Chlorotic Leaf Spot Virus* (ACLSV), *Plum Pox Virus* (PPV), *Prunus Nectoric Ring Spot Virus* (PNRSV), *Prune Dwarf Virus* (PDV), *Peach Latent Mosaic Viroid* (PLMVd) ve *European Stone Fruit Yellows* (ESFY) tespitinde kullanmıştır.

Lee vd., (2020), PLMVd etmenini şeftali ağacında yapraklarında ve polenlerinde tespit etmek amacıyla İzotermal nükleik asit çoğaltma ve tespit etme metodu olan RT-RPA geliştirilmiştir. RT-RPA yöntemiyle şeftalide yaygın olan diğer virüs etmenleri ile çapraz reaksiyon gösterdiğini tespit etmiştir, yöntem 42 °C’de ve 5 dk. civarında sürmektedir. Yapılan bu çalışmada izotermal nükleik asit çoğaltma ve tespit etme metodunun, ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonundan 1000 kat daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan bu yöntemle araziden toplanan örneklerin başarılı bir şekilde test edildiği ifade edilmiştir. Yeni geliştirilmiş olan bu yöntemle daha hassas, hızlı ve güvenilir bir yöntem olduğunu, karantina ve sertifikasyon programlarında etkili bir yöntem olarak faydalanılabileceğini bildirmişlerdir.

Afanasenkov vd., (2022), geniş coğrafi dağılıma sahip zararlı bir karantina hastalığı olan patates iğ yumru viroidi (PSTVd)’nde farklı kökenlere sahip 39 modern patates çeşidinin dört PSTVd suşuna karşı tepkileri değerlendirilmiştir. Farklı kökenli dört PSTVd suşu ara VP35, VP87 ve GenBank’ta depolanan iki ayrı suş FP10-13 ve NicTr-3 kullanılmıştır. Domates özsuyu ile PSTVd inokülasyonundan önce, tüm bitkiler ELISA ile viral enfeksiyon açısından test edilmiştir. Enfekte bitkilerde PSTVd’nin varlığı RT-PCR ile ve ayrıca aşılama sonrası altmış günde RT-qPCR ile doğrulanmıştır. Çeşitlerin viroid enfeksiyonuna verdiği yanıtta suşa özgüllük ortaya çıkmıştır. Bitkilerin tüm PSTVd suşları ile ilk aşılmasından sonra normal şekilli yumruların oluştuğu beş çeşit tanımlanmıştır. Enfekte ancak normal şekilli yumrulardan türetilen bir sonraki neslin tüm bitkileri güçlü hastalık belirtileri göstermiştir ve aradaki fark bağımsız örneklem t testi ile ortaya konulmuştur. Ayrıca PSTVd ve karışık viroid/viral enfeksiyonu (PVY + PSTVd, PVM+PSTVd ve PVY+PVS+PSTVd) çalışılan çeşitlerin çoğunda yumru sayısı ve ağırlığında önemli bir azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir.

Bao ve Chen, (2023), yaptıkları çalışmada, on bir patates çeşidinin dayanıklılığını değerlendirilmiş ve enfeksiyon oranlarının çeşitler arasında önemli ölçüde değiştiği (%21-90,7 arasında) bağımsız örneklem t testi ile ortaya konulmuştur. Çalışmada, iki çeşit (Kexin NO.1 ve DongNong 308) PLRV'ye karşı güçlü direnç gösterirken, HuTou tolerans ve NeiShu NO.7, LongShu NO.3 ve ZhongShu NO.11 orta derecede direnç göstermiştir. Atlantic ve Desiree çeşitleri orta derecede duyarlılık gösterirken, Shepody, Faverita ve Russet Burbank PLRV'ye karşı duyarlıdır. Ayrıca, çalışmada PLRV ile enfeksiyon sırasında farklı çeşitlerin yapraklarındaki nitrik oksit (NO) ve antioksidan enzimler, süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri araştırılmış ve PLRV ile aşılanmış dayanıklı ve orta derecede dayanıklı çeşitlerde, duyarlı ve aşılanmamış bitkilere kıyasla önemli ölçüde daha yüksek NO, SOD ve POD seviyeleri ortaya çıkmıştır. Bu bulgular, antioksidan enzimlerin patates bitkilerinin viral enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmasında önemli bir rol oynayabileceğini göstermekte olup, PLRV'ye dayanıklı patates çeşitlerinin geliştirilmesi için seçici ıslahın pratik önemini ortaya çıkarmıştır.

Türkiye’de PLMVd ile ilgili yapılmış olan çalışmalar

Sipahioğlu vd., (1999), Türkiye’nin Doğu Anadolu Bölgesinde yer alan farklı meyve türlerinin olduğunu belirterek, öncelikli olarak sert çekirdekli meyve üretiminin yapıldığı damızlık ve ticari amaç için kullanılan bahçelerde virüs ve virüs benzeri organizmaları teşhis edilmesi amacıyla ELISA, biyolojik indeksleme ve moleküler hibridizasyon yöntemlerini kullanmıştır. Test sonuçlarına göre ACLSV, PDV ve PNRSV etmenlerine rastlanırken PPV, ApMV, TBRV, RpRSV, SLRV, CLRV, ArMV ve ToRSV, viroidlerden ise PLMVd ve HSVd etmenlerine rastlanmadığı bildirmiştir.

Sipahioğlu vd., (2006), sert çekirdekli meyve ağaçlarında fungus, fitoplazma ve viroid hastalıklarını tespit amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada PLMVd ve HSVd’nin tespiti için moleküler hibridizasyon yöntemi kullanmıştır. Toplamda 491 ağaç testlenmiş ve 16 ağaç hariç diğerlerinin viroid ile enfekteli olduğu bulunmuştur. HSVd enfeksiyonunun kayısındaki yaygınlık oranı (%0,1) PLMVd enfeksiyonunun yaygınlık oranı ise (%3) olarak belirlenmiştir. Viroid enfeksiyonunun ortalama yaygınlık oranı %3,2 olarak tespit edilmiştir. Çalışma alanı olan Doğu Anadolu Bölgesi’nde ilk olarak HSVd

tespit edilmiş olup, kayısı yetiştiriciliğinin yapıldığı Malatya ve Elazığ illerinde PLMVd enfeksiyonunun varlığına rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Gümüş vd., (2007), 2004-2006 yıllarında Batı Anadolu Bölgesinde yer alan Bursa, Çanakkale, İzmir, Aydın, Afyon, Kütahya ve Manisa illerinde sert çekirdekli meyve türlerinde 7 virüs ve 2 viroid etmeninin varlıkları ve bulaşma oranları üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Farklı 1732 bitkiye ELISA, Tissue Printing Moleküler Hybridization ve PCR testleri sonucunda; *Hop stunt viroid* (HSVd), *Peach latent mosaic viroid* (PLMVd), *Apricot latent virus* (ApLV), *Plum pox virus* (PPV), *Plum bark necrosis stem pitting-associated virus* (PBNSPaV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple mosaic virus* (ApMV), *Prune dwarf virus* (PDV) ve *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV)'ün enfeksiyon oranı %30 olarak tespit etmişlerdir.

Duman, (2007), yaptığı çalışmada İzmir ilindeki şeftali, erik ve kayısı ağaçlarında PLMVd etmeninin varlığı RT-PCR yöntemi ile araştırmış ve örneklerin 12'sinde PLMVd tespit etmiştir.

Gazel vd., (2008), 2004-2005 yıllarında Doğu Akdeniz Bölgesi'nde farklı üretim alanlarından topladıkları 51 şeftali ve 5 nektarin örneğinin PLMVd bulaşıklılık durumunu RT-PCR ile testlemiştir. Çoğu gen kaynağı koleksiyonundan alınan ve simptom göstermeyen bu örneklerden 3 nektarin ve 8 şeftali PLMVd ile bulaşık bulunmuştur. Bu 11 PLMVd izolatının nükleotid sekans dizileri de belirlenmiş ve diğer PLMVd izolatları gibi 336-340 nt arasında nükleotidde sahip oldukları, 11 izolatın 31 klonunun PLMVd Grup III'e ait olduğu, 99 no.lu izolatın 3 klonunun en büyük variabiliteyi gösterdiği tespit edilmiştir.

Tuncel vd., (2020), sert kabuklu meyve türlerinden olan cevizden 2018 yılında 12 örnek alarak RT-PCR yöntemiyle test etmişlerdir. Örnek alınan bitkilerden 4 tanesinin PLMVd ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ile PLMVd etmeni ceviz bitkisinde ilk kez tespit edilmiştir.

Oksal vd., (2021), Malatya'da yapmış oldukları çalışmada 12 Trabzon hurması ve bu ağaçların etrafında bulunan 6 farklı yabancı ot türünden örnekler alarak RT-PCR yöntemiyle test etmişlerdir. Trabzon hurması örneklerinden 4 tanesinde ve testlenen

yabancı ot türlerinden ise kanyaşta (*Sorghum halepense*) PLMVd enfeksiyonunun varlığını ilk kez tespit etmişlerdir.

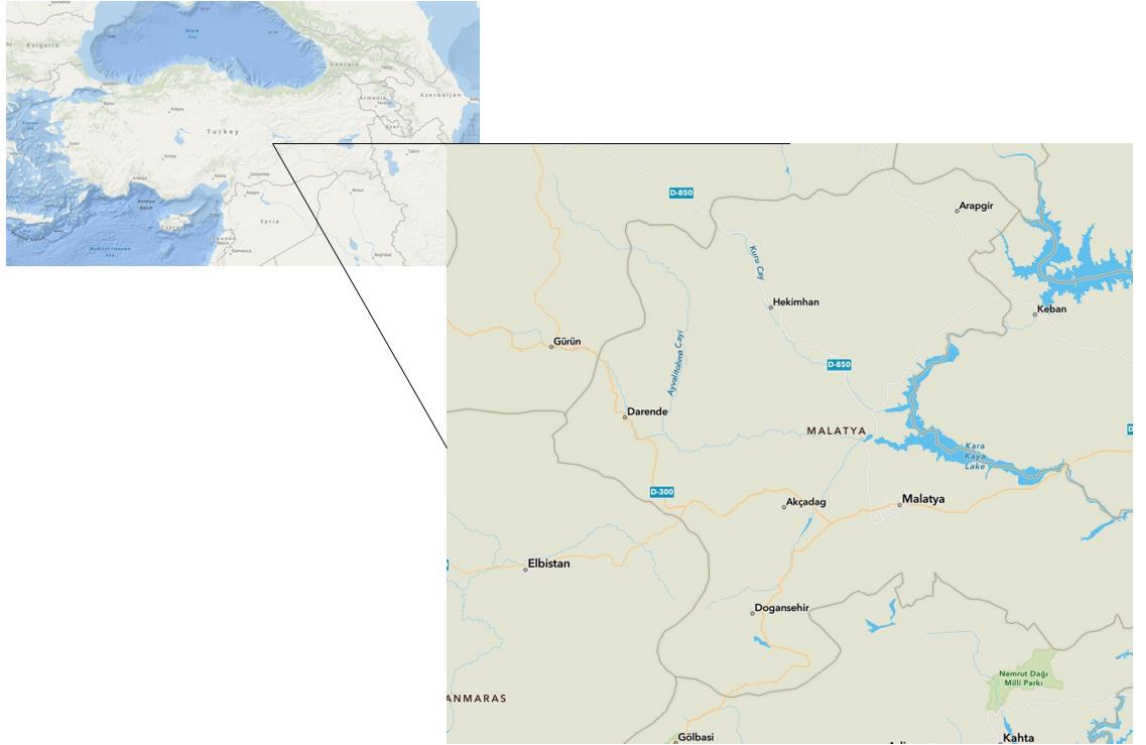
Çevik Akoğul, (2021), Malatya, Elazığ ve Adıyaman illerinde 2019-2020 yıllarında yapmış olduğu surveyde badem ve ceviz ağaçlarında PLMVd aramıştır. Toplamda 530 örnek toplamış ve RT-PCR testine tabi tutmuştur, badem örneklerinde PLMVd'nin varlığını tespit edemezken, Elazığ ve Malatya (Hekimhan) illerinde ceviz üretim alanlarında PLMVd varlığını ilk kez tespit etmiştir.

Yılmaz, (2024), 2021-2022 yılları arasında Şanlıurfa, Diyarbakır ve Siirt illerinden toplam 649 antepfıstığı ve 230 ceviz bitkisinden örnek aldığı örnekleri Real-Time RT-PCR analizine tabi tutmuştur. Çalışma sonucunda 649 antepfıstığı ağacının %14.7'sinde *Hop stunt viroid*, %5.4'ünde *Peach latent mosaic viroid* tespit etmiştir. 230 ceviz bitkisinde ise %11.3'ünde *Hop stunt viroid*, %12.6'sında *Plum pox virus*, %42.2'sinde *Cherry leaf roll virus* ve %5.7'sinde *Peach latent mosaic viroid* tespit etmiştir. Yapılan bu çalışmayla *Peach latent mosaic viroid*'inin varlığı antep fıstığında dünyada ilk kez raporlamıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın ana materyali Oksal vd., (2021) tarafından Malatya ilinde PLMVd ile bulaşık olduğu tespit edilmiş olan TH7 (erişim no: MZ289071) ve TH9 (erişim no: MZ289070) 2 adet Trabzon hurması bitkisidir (Şekil 3.1.1). Ayrıca kuru blok ısıtıcı, çalkalayıcı, vortex, santrifüj, thermocycler, elektroforez aleti, güç kaynağı, jel görüntüleme sistemi, çeşitli tampon çözeltiler, primerler, buzdolabı, mikropipet seti, el homojenizatörü, polietilen ekstraksiyon poşeti ve çeşitli kimyasal maddeler çalışmada kullanılacak olan diğer materyali oluşturmuştur.



Şekil 3.1.1 Örnekleme yapılan il haritası (Malatya)

3.2. Yöntem

3.2.1. Arazi çalışmaları

PLMVd ile bulaşık olduğu bilinen ağaçlardan doğru teşhis organı ve zamanını belirlemek amacıyla 2021 yılı Mart–2022 yılı şubat tarihleri arasında her ay ağaç üzerinde bulunan o aya ait doku örnekleri (çiçek tomurcuğu, yaprak tomurcuğu, yaprak, kabuk, çiçek ve meyve) alınmıştır (Şekil 3.2.1.1). Alınan örnekler etiketlenip, polietilen poşetler içerisinde buz kutusunda soğuk zincir korunarak laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen örneklere hemen RNA ekstraksiyonu yapılmış olup fazla kalan dokular polietilen poşetler içinde -86°C ‘de saklanmıştır.



Şekil 3.2.1.1 PLMVd ile bulaşık ağaçtan örnek alınması

Çizelge 3.2.1.1 Trabzon hurması bitkisinden alınan doku örnekleri (2021 yılı Mart -2022 yılı Şubat)

	Yaprak Tomurcuğu	Çiçek Tomurcuğu	Kabuk	Yaprak	Çiçek	Meyve
Mart						
Nisan						
Mayıs						
Haziran						
Temmuz						
Ağustos						
Eylül						
Ekim						
Kasım						
Aralık						
Ocak						
Şubat						

*Örneklerin alındığı aylar ve dokular gri renkle gösterilmiştir.

Çalışmada 12 ay boyunca Trabzon hurmasının gelişen dokularından örnek alınarak TRNA ekstraksiyonu yapılmış ve RT-PCR testine tabi tutulmuştur. Her ay kabuk dokusu, bir ay yaprak tomurcuğu, çiçek tomurcuğu ve çiçek (Mart, Nisan ve Mayıs), yedi ay yaprak (Nisan, Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül ve Ekim) ve altı ay da meyve (Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül ve Ekim) dokularından örnekler alınarak RT-PCR testleri yapılmıştır (Çizelge 3.2.1.1 ve Şekil 3.2.1.2).



Şekil 3.2.1.2 (A) Trabzon hurması çiçeği (2021 yılı Mayıs) (B) Trabzon hurması olgun meyvesi (2021 yılı Ekim)

Bitkide o ay bulunan dokular ayın son haftası toplanıp tRNA ekstraksiyonu ve RT-PCR yapılmıştır. Fenolojik olarak çiçek erken açtığından kaynak çiçek dokusu hemen alınmıştır (Şekil 3.2.1.3).



Şekil 3.2.1.3 (A) 2021 yılı nisan ayında yapılan arazi çalışmasında alınan yaprak örnekleri (B) 2021 yılı mayıs ayında yapılan arazi çalışmasından alınan yaprak ve çiçek örnekleri (C) 2021 yılı haziran ayında yapılan arazi çalışmasından alınan yaprak ve olgunlaşmamış meyve örnekleri (D) 2021 yılı ekim ayında yapılan arazi çalışmasından alınan yaprak ve olgun meyve örnekleri



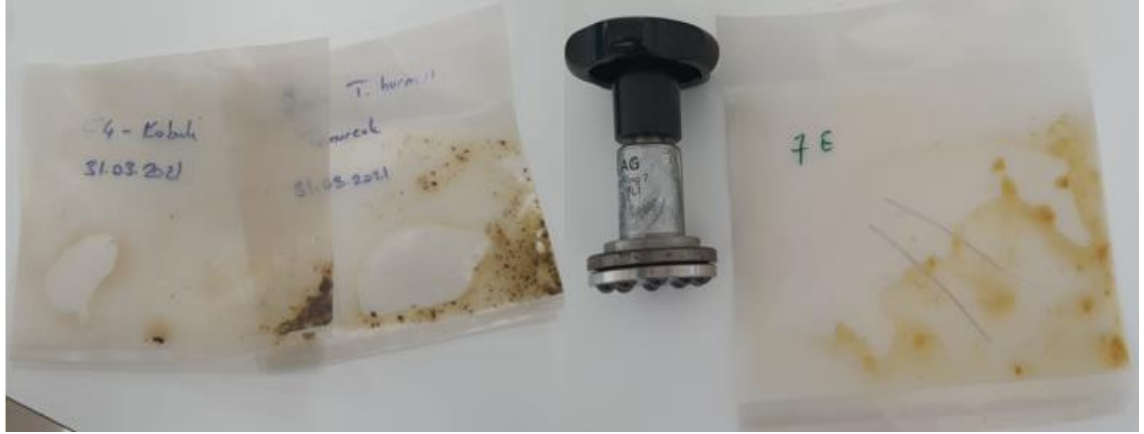
Şekil 3.2.1.4 (A) 2021 yılı ekim ayında alınan olgun Trabzon hurması meyvesi (B) 2021 yılı ekim ayında örnek alınan Trabzon hurması ağacı görüntüsü (C) 2021 yılı kasım ayına ait arazi çalışması görüntüsü (D) 2022 yılı ocak ayına ait arazi çalışması görüntüsü

Çalışmada kullandığımız Trabzon hurması çeşidinde çekirdek olmaması nedeni ile tohumdan TRNA ekstraksiyonu yapılamamış ve RT-PCR testine tabi tutulamamıştır. (Şekil 3.2.1.4).

3.2.2. Laboratuvar çalışmaları

3.2.2.1 Total nükleik asit izolasyonu

RNA ekstraksiyonunda Foissac vd., (2001) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle göre 100 mg yaprak örneği 1 ml %1 2-mercaptoethanol (Carl Roht 4224.1, Almanya) içeren Grinding buffer ekstraksiyon tampon solüsyonu ile ekstraksiyon torbalarında ezilerek homojenize hale getirilmiştir (Şekil 3.2.2.1.1). Homojenize edilen bitki ekstraktından 500 µl alınarak, üzerine %10 Sodium lauryl sarcosyl solüsyonu 100 µl eklenmiş ve tüpler belirli aralıklarla karıştırılarak kuru blok ısıtıcıda (Daihan Scientific MaXtable H10-Set, Kore) 70°C’de 10 dk. boyunca inkübasyona tabi tutulmuştur. Inkübasyondan sonra 5 dk. buzda bekletilmiştir. Tüpler 10 dk. 14000 rpm’de santrifüj (Sigma 1-14, Almanya) edildikten sonra üst sıvının 300 µl alınarak yeni steril mikro santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüplere 150 µl ethanol, 300 µl 6 M Sodium iodide, 25 µl resuspanse silika ilave edilecek ve karışım 10 dk. oda sıcaklığında sallayıcı (Thermo Scientific F8KT24007, Kore) üzerinde inkübe elde edilmiştir. 1 dk. 6000 rpm’de santrifüj edildikten sonra üst sıvı atılarak silika partiküllerini yıkamak amacıyla 500 µl yıkama tamponu solüsyonu eklenmiştir. Bu işlem daha saf RNA elde etmek için iki defa yapılmıştır. Birinci yıkamada 2 dk. ikinci yıkamada ise 5 dk. beklenip yıkama tampon solüsyonu atılmıştır. Elde edilen peletler, 100 µl RNase free su ile vortekslenip (Velp Scientifica F202A0173, İtalya) çözündürüldükten sonra 70°C’de 4 dk. thermoblok ısıtıcıda (Thermo Fisher 5020, Finlandiya) inkübe edilmiştir. Inkübasyonun ardından, örnekler 3 dk. 14000 rpm’de santrifüj (Sigma 1-14, Almanya) edilmiştir ve sonra üst sıvı yeni hazırlanan steril mikro santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Böylece, 100 µl hacmindeki total RNA örnekleri, cDNA sentezine kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2.2.1.1 Total nükleik asit izolasyonu işlemi için ekstraksiyon poşeti içerisinde ezilmiş bitki dokuları

3.2.2.2 cDNA (komplementer DNA) sentezi

Loreti vd., (1999) tarafından tasarlanmış olan Reverse transkripsiyon ve RT-PCR testlerinde kullanılan 339 bp'lik 25 bazdan oluşan primerler (PLMVd-F-5'-AAC TGC AGT GCT CCG AAT AGG GCA C-3' PLMVd-R-5'-CCC GAT AGA AAG GCT AAG CAC CTC G-3') cDNA sentezinde kullanılmıştır.

cDNA sentezi için: 1 µl 2 pmol/ µl spesifik primer, 3 µl total RNA, 1 µl 10 mM dNTP (Promega U1515 ABD) karışımı yapılmıştır. RNase ve DNase free su ile 12 µl ye tamamlandıktan sonra karışım köpürtmeden vortekslenmiştir. Karışımın tüpün dibine inmesi için 4-5 bin rpm hızında kısa bir santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından, karışım 5 dk. süreyle 65°C'de kuru blok ısıtıcıda inkübe edilmiş ve hızlıca buz üzerine daldırılarak soğutulmuştur. Buz üzerinde iken, karışıma 4 µl 5X RT buffer (Promega M1701, ABD) ve 2 µl 0.1 M DL-Dithiothreitol (DTT) (Sigma 43816, Almanya) eklenmiştir. Tüpler vortekslenmiş ve 2 dk. boyunca 42°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, tüplere 1 µl reverse transcriptase enzimi (Promega M1701, ABD) eklenmiş ve 42°C'de 50 dakika süreyle inkübe edilerek transkripsiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Reverse transcriptase enzimini inaktive etmek amacıyla, inkübasyon sonrası tüpler 15 dk. boyunca 70°C'de termoblok ısıtıcıda (Thermo Fisher 5020, Finlandiya) bekletilmiştir. Son olarak, tüpler PCR işlemi yapılana kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.2.2.3 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Loreti vd., (1999) tarafından tasarlanmış olan PCR’da primerlere spesifik program (95°C 45sn. 58°C 45sn. 72°C 1dk. 40 döngü 72°C 7dk.) kullanılmıştır.

RT-PCR çalışmaları tek aşamalı olarak kit protokolüne göre 25 µl hacimde gerçekleştirilmiştir:

Çizelge 3.2.2.3.1’de belirtilen miktardaki PCR bileşenleri PCR tüplerine eklendikten sonra tüpler mini santirüf cihazında (Thermo Scientific SPROUT ABD) santirüf edilip sonrasında tüpler Thorma blok ısıtıcı (Thermo Fisher 5020 Finlandiya) yerleştirilerek viroid için spesifik program uygulanmıştır.

Çizelge 3.2.2.3.1 RT-PCR testinde kullanılan kimyasalların miktarı

PCR mix.	Hacim
RNAse ve DNAse free su	12,3 µl
5X PCR buffer (Promega M7805 ABD)	5 µl
MgCl ₂ (Promega M7805 ABD)	1,5 µl
dNTP(10mM) (Promega U1515 ABD)	1 µl
Spesifik primer R	1 µl
Spesifik primer F	1 µl
Taq DNA (Promega M7805 ABD)	0.2 µl
cDNA	3 µl
Toplam mix. Miktarı	25 µl

3.2.2.4 Agaroz jel elektroforezi

Çoğaltılan PCR ürünleri %2’lik agaroz jel içerisinde elektroforeze tabi tutularak, jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir. Bu amaçla 100 ml 1X TAE (Tris–Asetik asit-EDTA) solüsyonu içerisine 2 gr agaroz (Biomax Prona Agarose) eklenmiştir ve mikrodalgada eritilmiş ve jel tepsisine dökülerek yaklaşık 25 dk. beklenerek jelin katılaşması sağlanmıştır. Katılaştıran jel elektroforez (Fisher Scientific CS-300V ABD) tankına jel çukurlarına DNA marker(100bp) (Jena Bioscience Mid Range M-203S Almanya), PCR amplifikasyon ürünleri, pozitif kontrol ve negatif kontroller koyularak 80 Volt 400 mA elektrik akımıyla 40 dk. süreyle koşturulmuştur.

3.2.3. İstatistiksel analizler

Çalışmada verilerin istatistiki değerlendirmesinde enfekteli olduğu bilinen 2 adet Trabzon hurması ağacında kabuk, meyve ve yaprak kısımlarının 2021 Mart-2022 Şubat döneminde ölçümü yapılan nem, sıcaklık, yağış, ortalama toprak sıcaklığı, güneşlenme şiddeti ve güneşlenme süresi değişkenlerinin viroid titrasyonuna olan etkisi ölçülmüştür. Örneklerin pozitif ve negatif sonuç verme durumu arasındaki farkın tespit edilmesinde aylara göre ortalama ve standart sapma gibi tanımlayıcı istatistikler ile çalışmanın amaçlarına ulaşılmasına katkı sağlayacak hipotezleri ölçmek amacıyla bağımsız örneklem t testi kullanılmıştır. PLMVd ile enfekteli ağaçların bulunduğu bölgeye ait 1 yıllık aylık ortalama nispi nem, aylık ortalama toplam yağış, aylık ortalama güneşlenme şiddeti aylık ortalama sıcaklık aylık ortalama toprak sıcaklığı (5 cm, 10 cm, 20 cm, 50 cm ve 100 cm) ve aylık ortalama güneşlenme sürelerini içeren iklim verileri Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden resmi yazı ile temin edilmiştir.

t-testinde, deney ve kontrol grupları için aynı örneklem büyüklüğüne sahip olmak idealdir (List vd., 2011). Trabzon hurmasında kabuk, meyve ve yaprak kısımlarında viroide olan etkiler eşit örneklem büyüklüğüne sahip olduğundan eşit olmayan varyans varsayımı ($n_1 \neq n_2$) dikkate alınmıştır. Testleme sonucu pozitif çıkan ve çıkmayan birbirine eşit olmadığında t- istatistiği şu şekilde ifade edilmiştir (Rasch vd., 2011).

$$t = \frac{\bar{y}_1 + \bar{y}_2}{s} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

Formülde, $\bar{y}_1$ ve $\bar{y}_2$ değerleri örneklem gruplarının ortalama değerlerini, s değeri ise standart sapmayı vermektedir. Standart sapmanın karesi alındığında örneklem büyüklüğüne ilişkin varyans elde edilmektedir. İncelenen verilerin varyansının tespitinde;

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} (y_{1i} - \bar{y}_1)^2 + \sum_{i=1}^{n_2} (y_{2i} - \bar{y}_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

formülü kullanılmıştır. Bağımsız örneklem t-testi, $\bar{y}_1$ ve $\bar{y}_2$ değerlerinin ortalamalarından (μ_1 ve μ_2) meydana gelen sapmaları ifade ettiğinden t-değerleri;

$$\lambda = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sigma} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} = \frac{\delta}{\sigma} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

ile tespit edilmiştir. Eğer hesaplanan t- değeri tablo değerinden büyük ($p \leq 0,01$ veya $p \leq 0,05$) ise incelenen değişkeler arasında istatistiki açıdan bir farklılık olduğu ve bu farkın anlamlı (%99 veya %95) olduğu ortaya çıkmıştır.

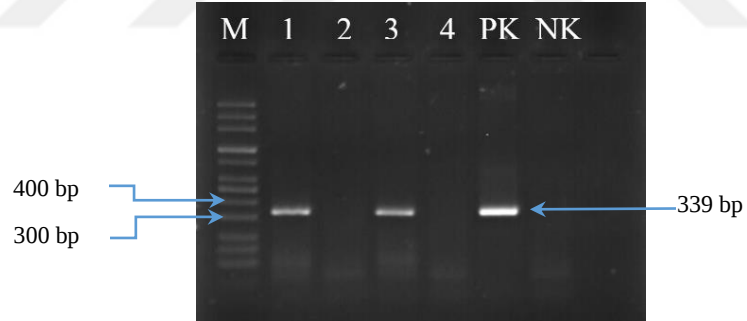


4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Laboratuvar Çalışmaları

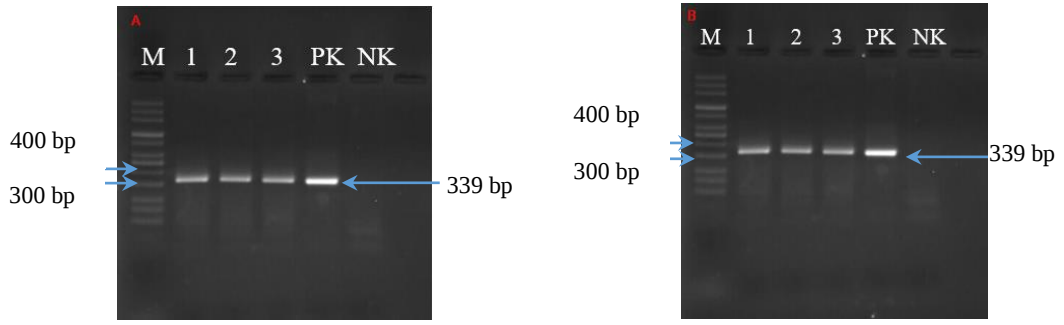
Daha önce Oksal vd., (2021) tarafından PLMVd ile enfekteli olduğu belirlenmiş olan Trabzon hurması örneklerinin çiçek tomurcuğu, yaprak tomurcuğu, yaprak, kabuk, çiçek ve meyve dokuları tRNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Tüm örnekler 2021 yılı mart ve 2022 yılı şubat ayları arasında aylık periyotlar halinde her ay mevcut olan bitki organı alınarak TRNA ekstraksiyonu ve akabinde RT-PCR testine tabi tutulmuştur. TRNA ekstraksiyonu Foissac vd., (2001) yöntemine göre yapılmıştır. Elde edilen TRNA'lar sırasıyla reverse transkripsiyon işlemi ile cDNA'ya dönüştürülmüş ve daha sonra da PCR yöntemi ile amplifiye edilmiştir. Elektroforeze tabi tutulan amplikonlardan 339 bp büyüklüğünde bant verenler PLMVd açısından pozitif olarak kabul edilmiştir.

Mart ayında Trabzon hurması ağaçlarının mevcut dokuları olan yaprak tomurcuğu ve kabuk dokuları testlenmiştir. Test sonuçlarına göre 9 numaralı ağacın yaprak tomurcuğu (9B) negatif, kabuk dokusu (9C) pozitif sonuç verirken, 7 numaralı ağacın yaprak tomurcuğu (7B) pozitif, kabuk dokusu (7C) negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.1).



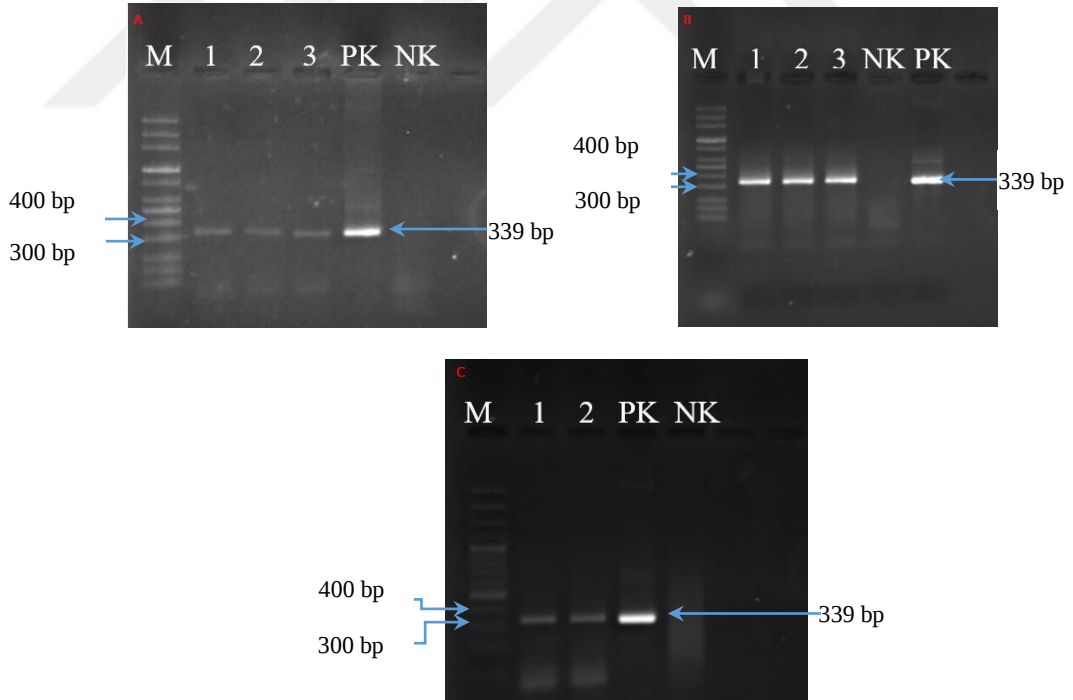
Şekil 4.1.1 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin mart ayına ait jel görüntüsü 1:9C, 2:9B, 3:7B, 4:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol NK: Negatif Kontrol

Nisan ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk, yaprak ve meyve dokusu örnekleri pozitif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.2).



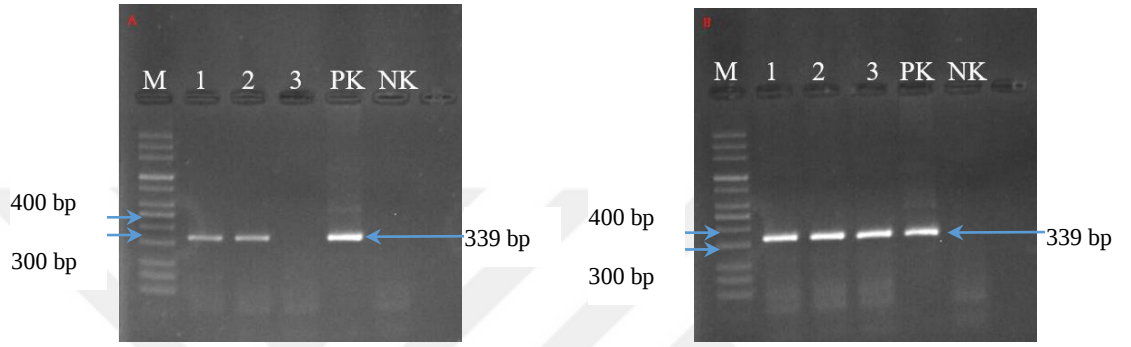
Şekil 4.1.2 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin nisan ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9A, 2:9C, 3:9D; (B) 1:7A, 2:7C, 3:7D, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Mayıs ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk, yaprak, çiçek ve meyve dokusu örnekleri pozitif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.3)



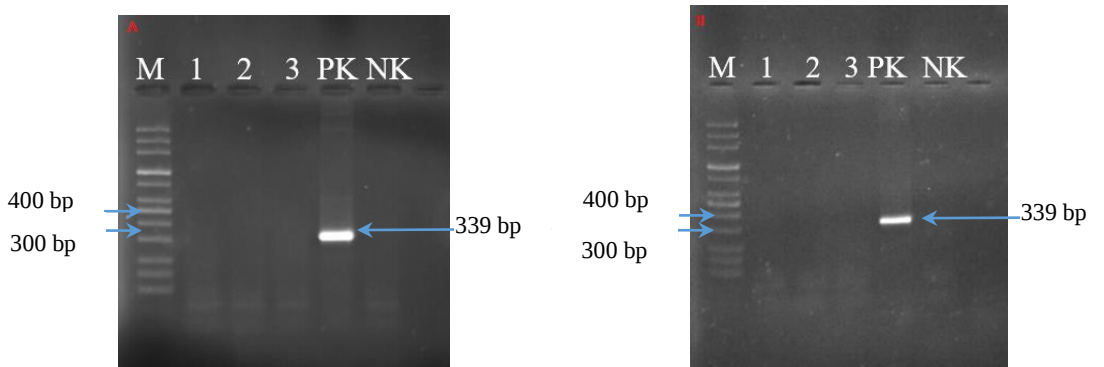
Şekil 4.1.3 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin mayıs ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, (C) 1:9E, 2:7E M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Haziran ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkilerinin kabuk, yaprak ve meyve dokularına PLMVd yönünden RT-PCR testine tabi tutulmuştur. Test sonuçlarına göre 9 numaralı ağaçtan alınan kabuk (9C) pozitif, yaprak (9D) pozitif ve meyve dokusu (9F) negatif 7 numaralı ağaçtan alınan kabuk (7C) pozitif, yaprak (7D) pozitif ve meyve dokusu (7F) pozitif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.4).



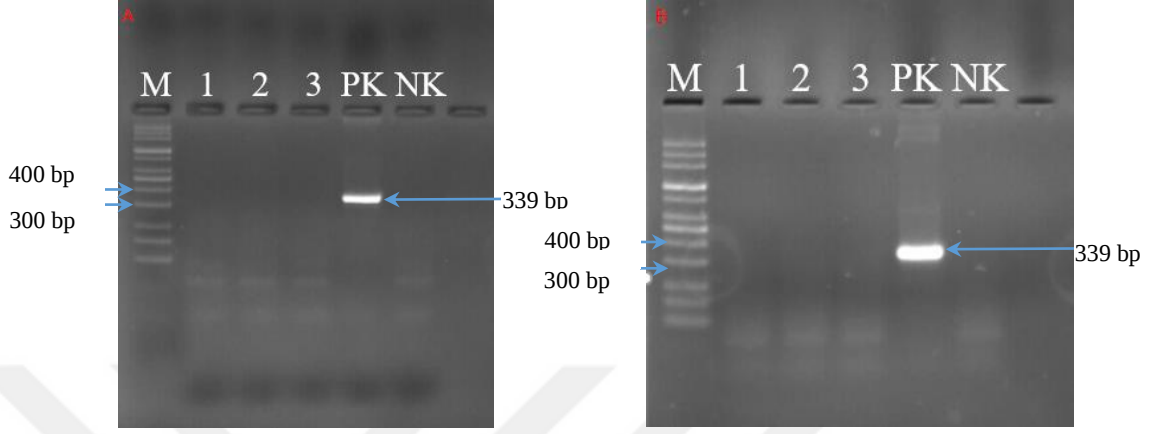
Şekil 4.1.4 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin haziran ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Temmuz ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk, yaprak ve meyve dokusu örnekleri negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.5).



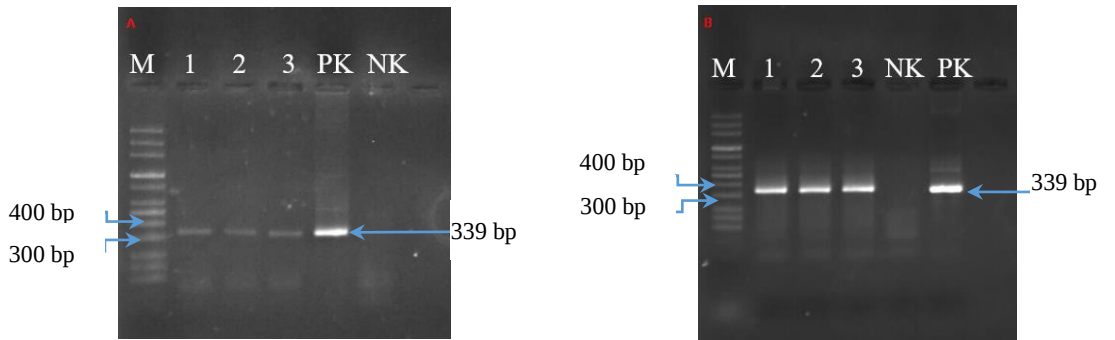
Şekil 4.1.5 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin temmuz ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Ağustos ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk, yaprak ve meyve dokusu örnekleri negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.6).



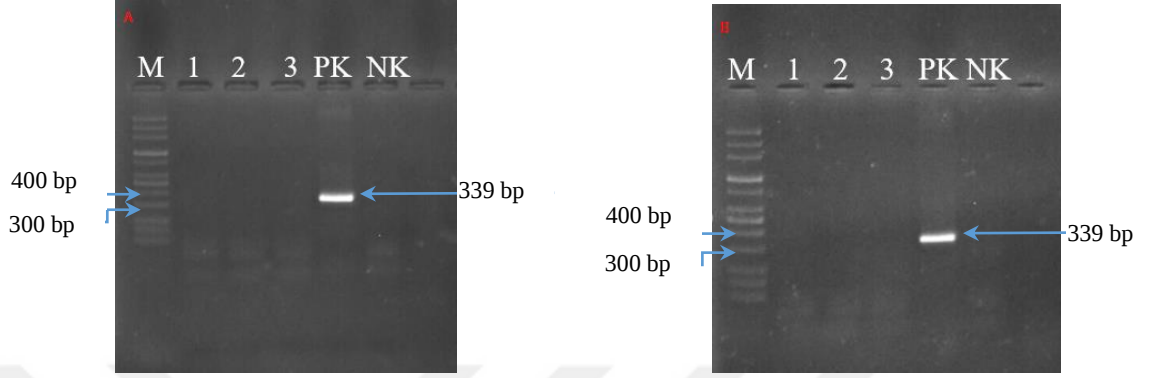
Şekil 4.1.6 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin ağustos ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Eylül ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk, yaprak ve meyve dokusu örnekleri pozitif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.7).



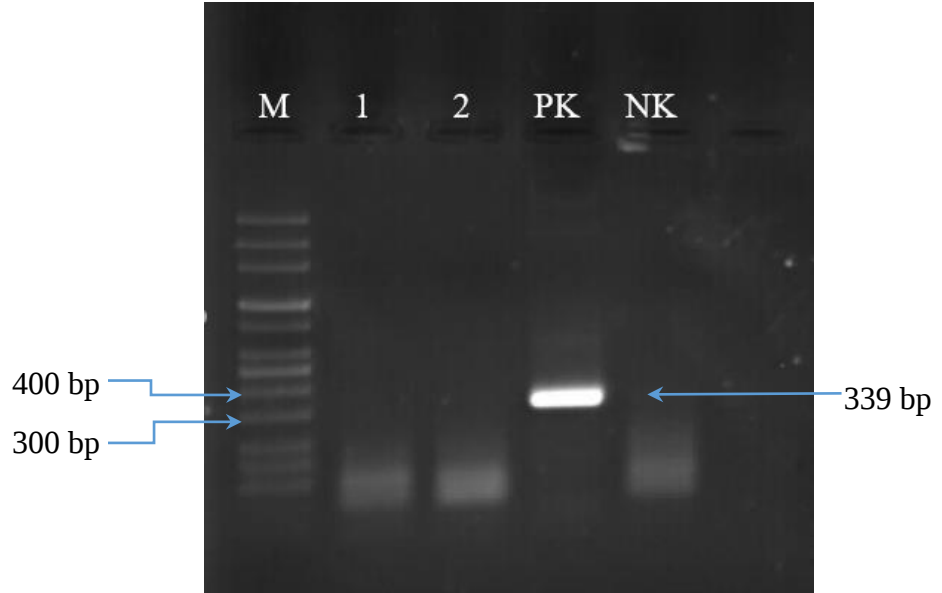
Şekil 4.1.7 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin eylül ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Ekim ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk, yaprak ve meyve dokusu örnekleri negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.8).



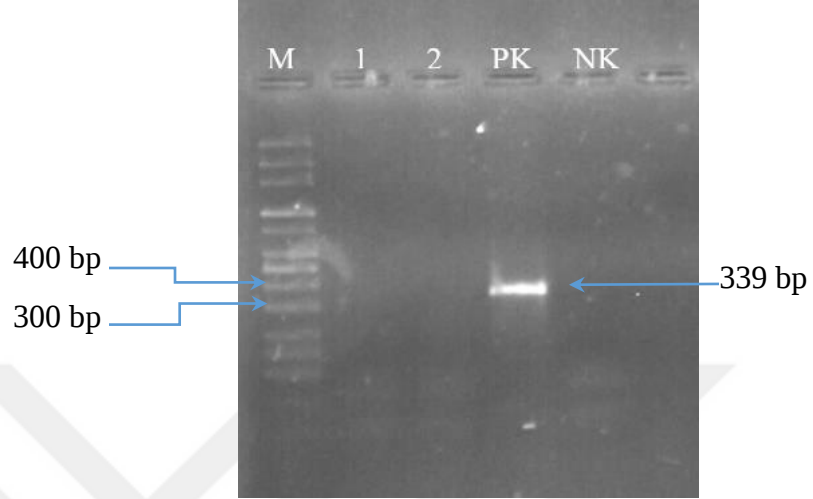
Şekil 4.1.8 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin ekim ayına ait jel görüntüsü. (A) 1:9C, 2:9D, 3:9F; (B) 1:7C, 2:7D, 3:7F, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Kasım ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk dokusu örnekleri negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.9).



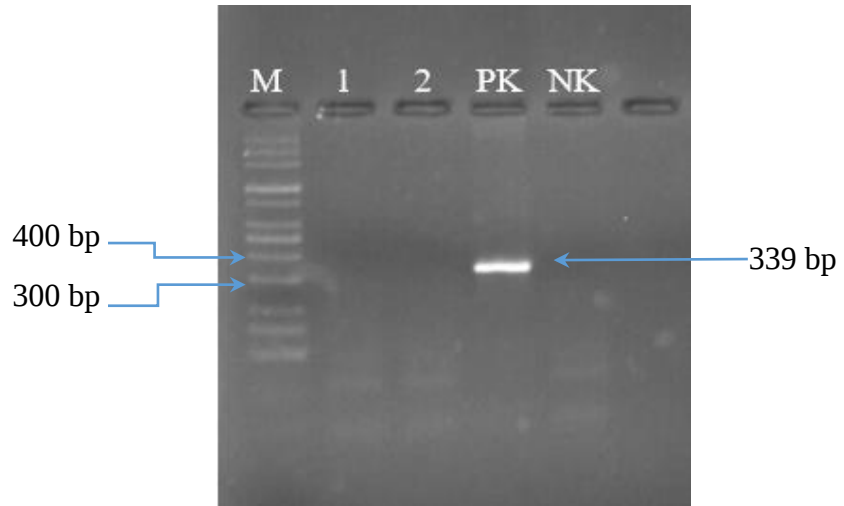
Şekil 4.1.9 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin kasım ayına ait jel görüntüsü. 1:9C, 2:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Aralık ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk dokusu örnekleri negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.10).



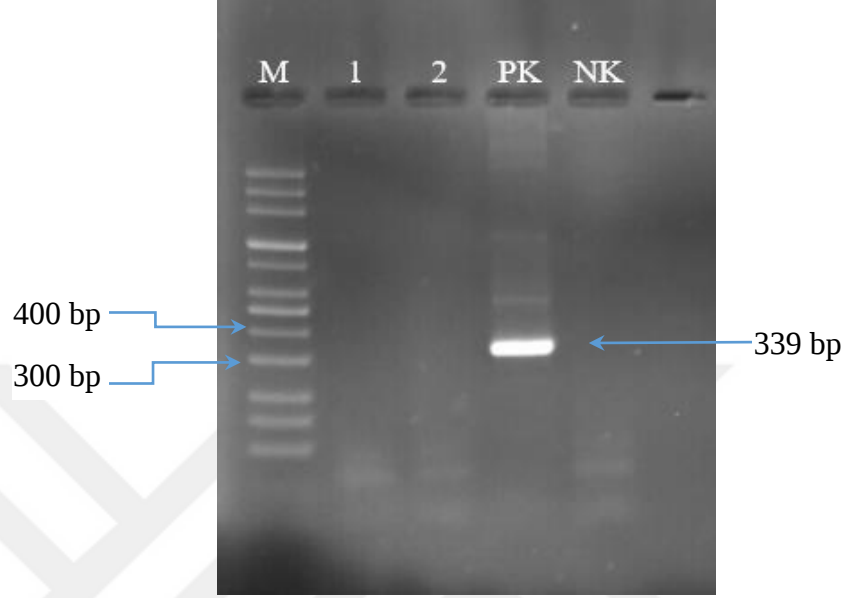
Şekil 4.1.10 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin aralık ayına ait olan jel görüntüsü.
1:9C, 2:7C, 3:9C, 4:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

2022 yılı Ocak ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk dokusu örnekleri negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.11).



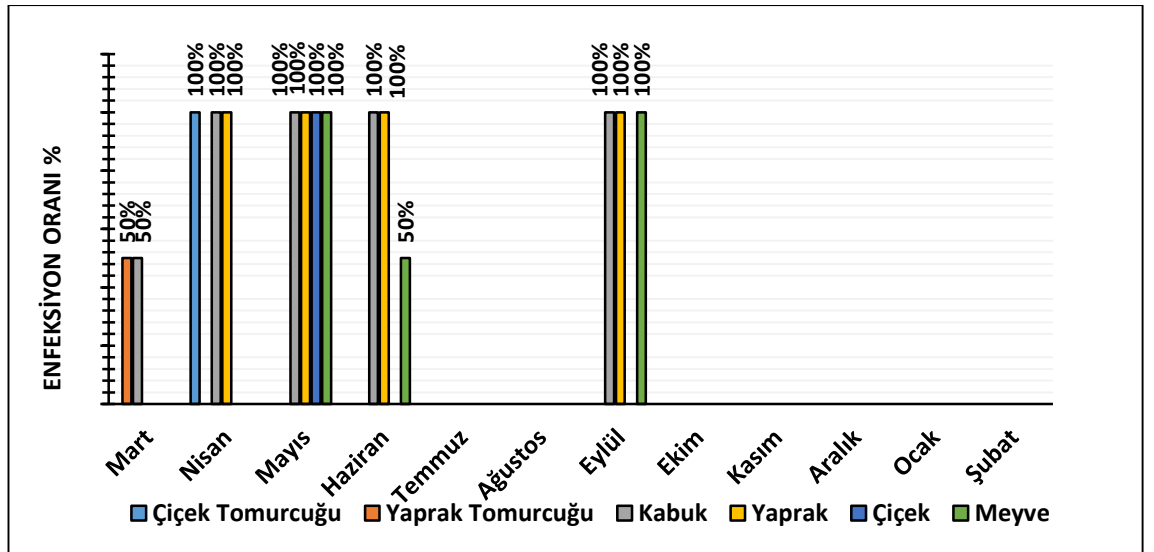
Şekil 4.1.11 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin ocak ayına ait olan jel görüntüsü
1:9C, 2:7C, 3:9C, 4:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

2022 yılı Şubat ayında alınmış olan Trabzon hurması bitkileri testlenmiş ve sonuçlara göre 9 ve 7 numaralı ağaçlardan alınan kabuk dokusu örnekleri negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.1.12).



Şekil 4.1.12 Trabzon hurması PLMVd örneklerinin şubat ayına ait olan jel görüntüsü.
1:9C, 2:7C, M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Çizelge 4.1.1 Aylara göre Trabzon hurması bitki dokularındaki PLMVd enfeksiyon oranları



RT-PCR testlerinin sonucunda aylara göre enfeksiyon oranları ve ile bulaşık olan dokular tabloda verilmiştir (Çizelge 4.1.1).

Mart ayında her iki ağaçtan yaprak tomurcuğu ve kabuk dokuları alınıp testleme yapılmıştır. Sonuçlara göre her ağaçta bir dokunun pozitif olduğu ve enfeksiyonun oranının her iki ağaç için %50 olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1.1).

Nisan ayında her iki ağaçtan çiçek tomurcuğu, kabuk ve yaprak dokuları alınıp testleme yapılmıştır. Sonuçlara göre her iki ağaçta bütün organların pozitif olduğu ve enfeksiyon oranının %100 olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1.1).

Mayıs ayında her iki ağaçtan kabuk, yaprak, çiçek ve meyve dokuları alınıp testleme yapılmıştır. Sonuçlara göre her iki ağaçta bütün organların pozitif olduğu ve enfeksiyon oranının %100 olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1.1).

Haziran ayında her iki ağaçtan kabuk, yaprak ve meyve dokuları alınıp testleme yapılmıştır. Sonuçlara göre her iki ağaçta meyve hariç diğer organların pozitif olduğu ve enfeksiyon oranının %100 olduğu, meyvede ise sadece bir ağacın pozitif sonuç verdiği ve enfeksiyon oranının %50 olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1.1).

Temmuz ve Ağustos aylarında her iki ağaçtan kabuk, yaprak ve meyve dokuları alınıp testleme yapılmıştır. Tüm organlar PLMVd açısından negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.1.1).

Eylül ayında her iki ağaçtan kabuk, yaprak ve meyve dokuları alınıp testleme yapılmıştır. Sonuçlara göre her iki ağaçta da bütün organların pozitif olduğu ve enfeksiyon oranının %100 olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1.1).

Ekim ayında her iki ağaçtan kabuk, yaprak ve meyve dokuları alınıp testleme yapılmıştır. Tüm organlar PLMVd açısından negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.1.1).

Kasım, Aralık, Ocak ve Şubat aylarında kabuk dokusu alınıp testleme yapılmıştır. Sonuçlara göre kabuk dokusu negatif çıkmıştır (Çizelge 4.1.1).

Çizelge 4.1.2 PLMVd'nin aylara ve bitki dokusuna göre PCR testlerindeki enfeksiyon oranı

Bitki Dokuları	Örnek Numarası	Aylar											
		Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat
Çiçek Tomurcuğu	9	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Oran %	-	100%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yaprak Tomurcuğu	9	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Oran %	50%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kabuk	9	P	P	P	P	N	N	P	N	N	N	N	N
	7	N	P	P	P	N	N	P	N	N	N	N	N
	Oran%	50%	100%	100%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%
Yaprak	9	-	P	P	P	N	N	P	N	-	-	-	-
	7	-	P	P	P	N	N	P	N	-	-	-	-
	Oran%	-	100%	100%	100%	0%	0%	100%	0%	-	-	-	-
Çiçek	9	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Oran%	-	-	100%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Meyve	9	-	-	P	N	N	N	P	N	-	-	-	-
	7	-	-	P	P	N	N	P	N	-	-	-	-
	Oran%	-	-	100%	50%	0%	0%	100%	0%	-	-	-	-

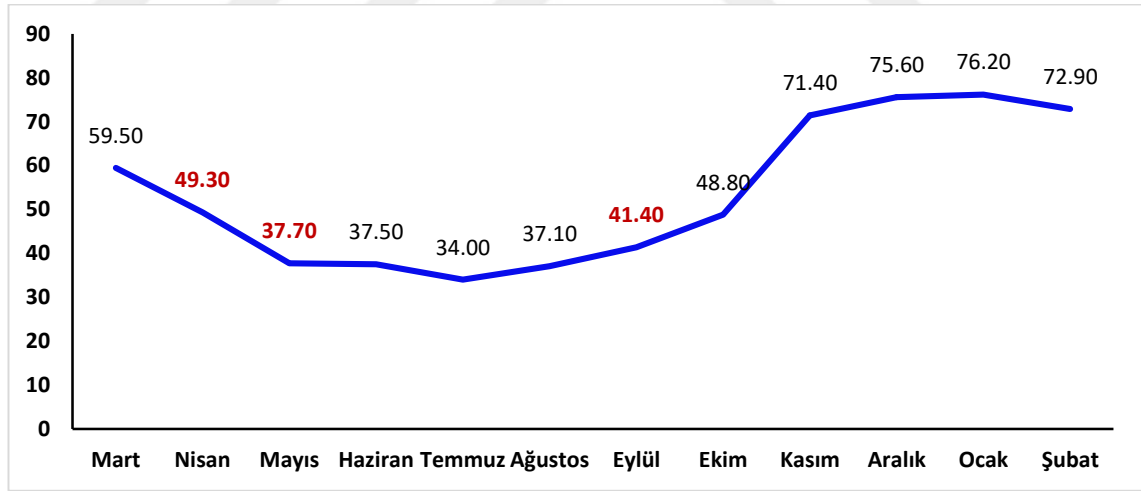
2021 Mart–2022 Şubat ayları arasında alınmış olan örneklerle yapılan RT-PCR testlerinde etmenin bitkide bulunma oranları tespit edilmiştir. 12 ay boyunca sadece kabuk dokusundan, 7 ay boyunca yaprak dokusundan, 6 ay boyunca meyve dokusundan, sadece 1 ay çiçek tomurcuğu, yaprak tomurcuğu ve çiçek dokularından örnek alınmış olup, Trabzon hurması meyvesinde tohum bulunmadığı için tohum testlenememiştir (Çizelge 4.1.2).

4.2. İstatiksel Analiz

Araştırma PLMVd ile enfekteli olduğu bilinen 2 Trabzon hurması bitkisinde yürütülmüştür. Çalışmanın yapıldığı 1 yıllık süre için Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden ağaçların bulunduğu bölgeye ait olan aylık ortalama nispi nem (Çizelge 4.2.1), aylık ortalama toplam yağış (Çizelge 4.2.2), aylık ortalama güneşlenme şiddeti (Çizelge 4.2.3), aylık ortalama sıcaklık (Çizelge 4.2.4), aylık ortalama toprak sıcaklığı (5cm, 10cm, 20cm, 50cm ve 100cm'lik toprak sıcaklıklarının ortalaması alınmıştır) (Çizelge 4.2.5) ve aylık ortalama güneşlenme süresi (Çizelge 4.2.6) ait verileri temin edilmiştir.

Bu veriler örneklerin pozitif ve negatif sonuç verme bulguları ile birleştirip, SPSS istatistik programında bağımsız örneklem T testi kullanılarak iklim verilerinin PLMVd konsantrasyonu ve tespit edilebilirliği üzerinde istatistiksel olarak herhangi bir etkisinin olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır.

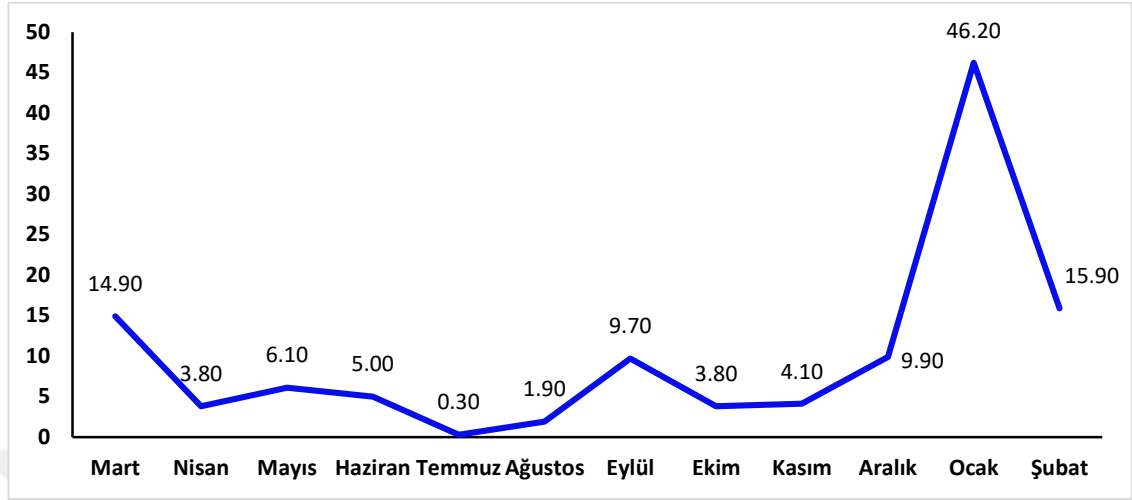
Çizelge 4.2.1 2021 yılı Mart - 2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama nispi nem (%) verileri



*Kırmızı renk en uygun örnekleme zamanı ve iklim verilerini temsil etmektedir.

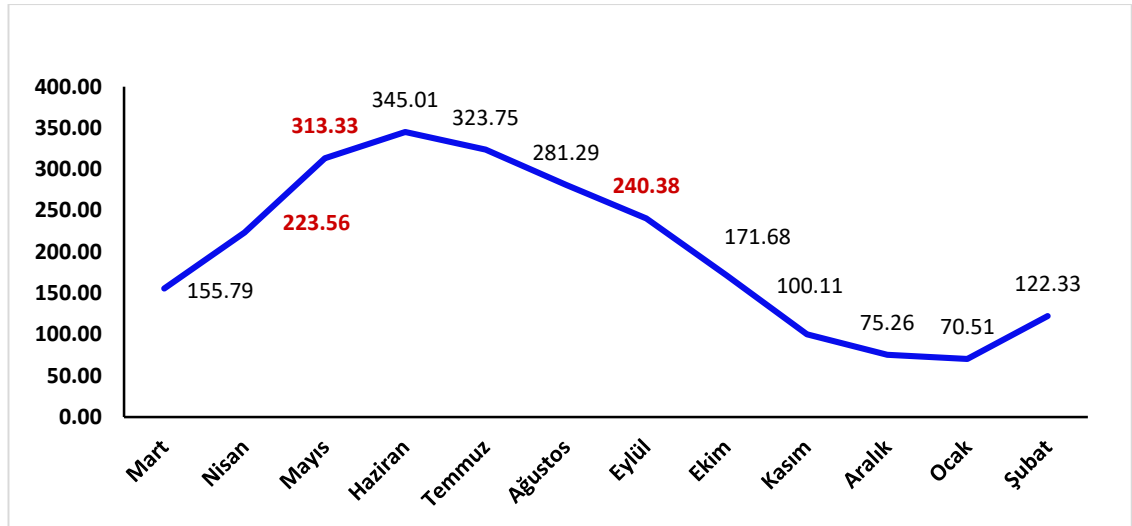
Veriler Trabzon hurmasının bulunduğu bölgenin ortalama aylık nispi nem verileridir (Çizelge 4.2.1)

Çizelge 4.2.2 2021 yılı Mart-2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama yağış (mm=kg÷m²) verileri



Veriler Trabzon hurmasının bulunduğu bölgenin ortalama aylık yağışa ait verilerdir (Çizelge 4.2.2)

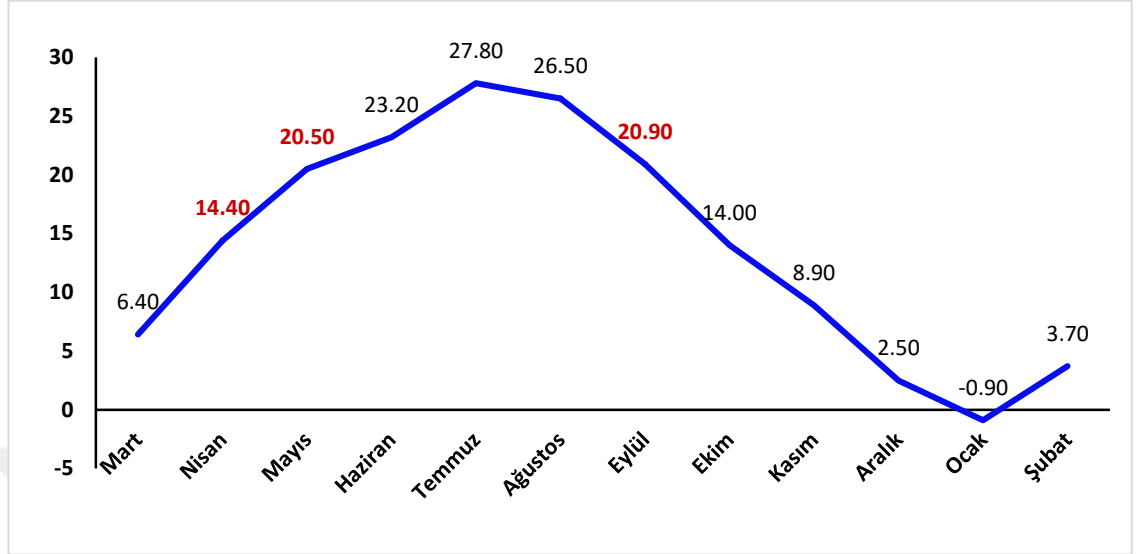
Çizelge 4.2.3 2021 yılı Mart-2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama güneşlenme şiddeti (cal÷cm²) verileri



*Kırmızı renk en uygun örnekleme zamanı ve iklim verilerini temsil etmektedir.

Veriler Trabzon hurmasının bulunduğu bölgenin ortalama aylık güneşlenme şiddetine ait verilerdir (Çizelge 4.2.3)

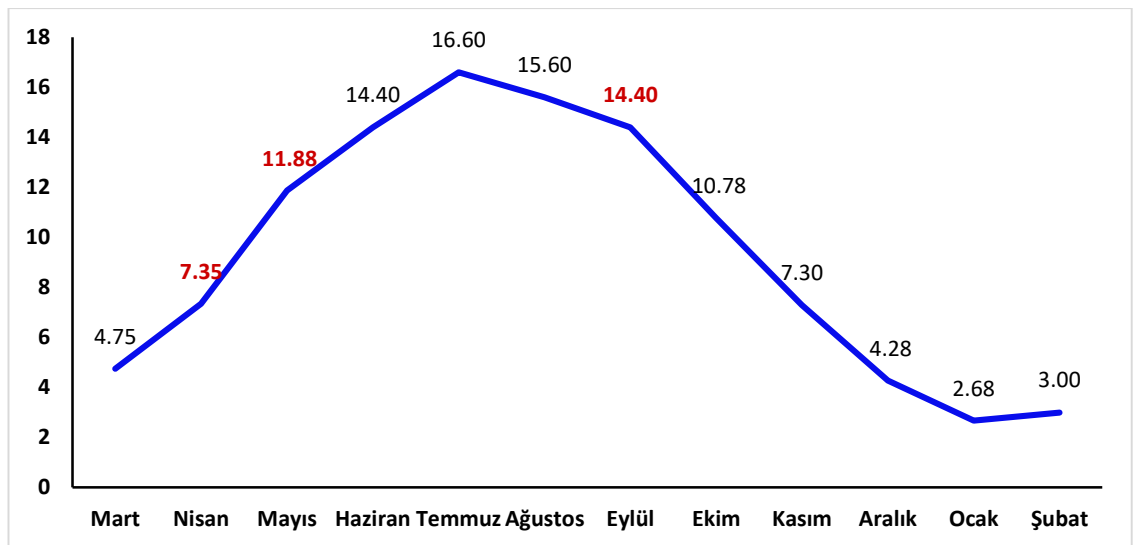
Çizelge 4.2.4 2021 yılı Mart - 2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama sıcaklık (°C) verileri



*Kırmızı renk en uygun örnekleme zamanı ve iklim verilerini temsil etmektedir.

Veriler Trabzon hurmasının bulunduğu bölgenin ortalama aylık sıcaklığa ait verilerdir (Çizelge 4.2.4)

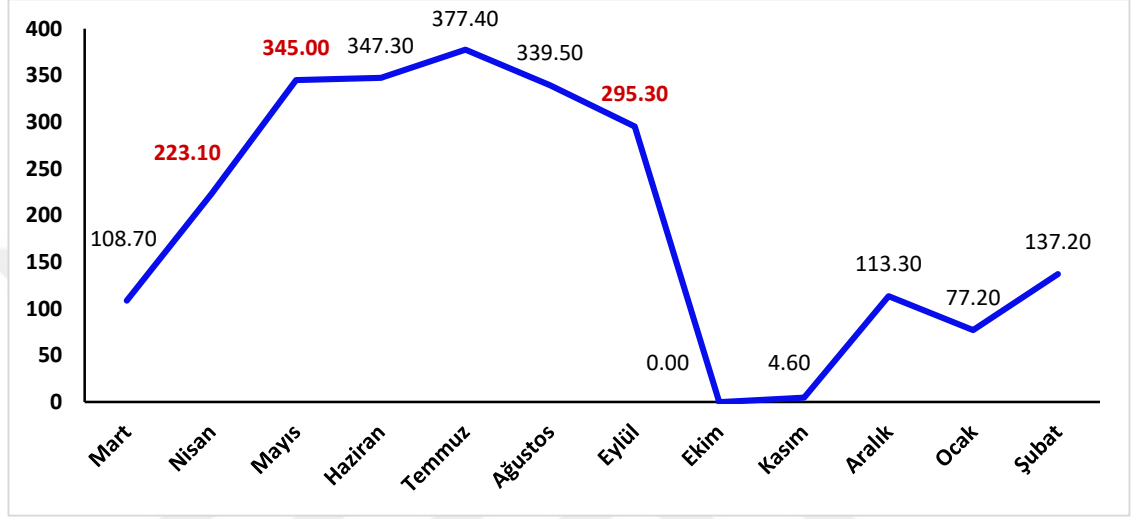
Çizelge 4.2.5 2021 yılı Mart-2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama toprak sıcaklığı (°C) verileri



*Kırmızı renk en uygun örnekleme zamanı ve iklim verilerini temsil etmektedir.

Veriler Trabzon hurmasının bulunduğu bölgenin ortalama aylık toprak sıcaklığı ait verilerdir (Çizelge 4.2.5)

Çizelge 4.2.6 2021 yılı Mart-2022 yılı şubat aylarına ait aylık ortalama güneşlenme süresi (saat) verileri



*Kırmızı renk en uygun örnekleme zamanı ve iklim verilerini temsil etmektedir.

Veriler Trabzon hurmasının bulunduğu bölge'nin ortalama aylık güneşlenme süresi ait verilerdir (Çizelge 4.2.6)

4.2.1. Kabuk istatistiksel analizleri

4.2.1.1 Nem değişkenin kabuk istatistiksel analizi

Çalışmada nem değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.1.1.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 59,43; standart sapması 17,42 ve standart hata ortalaması 4,49 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 43,47; standart sapması 7,67 ve standart hata ortalaması 2,55 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.1.1.1).

Çizelge 4.2.1.1.1 Nem değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri										
Nem	Nem Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması					
	Grup 1 (negatif)	15	59,4333	17,42632	4,49946					
	Grup 2 (pozitif)	9	43,4778	7,67606	2,55869					
Bağımsız Örnek Testi										
	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi				Ortalama Eşitlikleri için t testi					
	F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Farkı	Hata	En Küç.	En Büy.
	Eşit Varyans	14,762	0,001	2,583	22	0,017	15,95556	6,17774	3,14371	28,76740
Nem	Eşit Olmayan Varyans		3,083	20,726	0,006***	15,95556	5,17610	5,18259	26,72852	

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Nem azaldıkça ağaç kabuğundan etmenin teşhis edilme olasılığı yükselmektedir (Çizelge 4.2.1.1.2).

4.2.1.2 Sıcaklık değişkeninin kabuk istatistiksel analizi

Çalışmada sıcaklık değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.1.2.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 11,42 standart sapması 10,77 ve standart hata ortalaması 2,78 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 18,26; standart sapması 5,51 ve standart hata ortalaması 1,83 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.1.2.1).

Çizelge 4.2.1.2.1 Sıcaklık değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Sıcaklık	Sıcaklık Sonuç		N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması			
	Grup 1 (negatif)		15	11,4267	10,77208	2,78134			
	Grup 2 (pozitif)		9	18,2667	5,51407	1,83802			
Bağımsız Örnek Testi									
Sıcaklık	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi		Ortalama Eşitlikleri için t testi						
			F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı
	Eşit Varyans	5,952	0,023	-1,761	22	0,092	-6,84000	3,88498	-14,89696
Eşit Olmayan Varyans			-2,052	21,667	0,052 *	-6,84000	3,33379	-13,76004	,08004

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Sıcaklık arttıkça ağaç kabuğundan etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.1.2.1).

4.2.1.3 Yağış değişkeninin kabuk istatistiksel analizi

Çalışmada yağış değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.1.3.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 11,94 standart sapması 14,93 ve standart hata ortalaması 3,85 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 7,12; standart sapması 3,65 ve standart hata ortalaması 1,21 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.1.3.1).

Çizelge 4.2.1.3.1 Yağış değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Yağış	Yağış Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
	Grup 1 (negatif)	15	11,9400	14,93791	3,85695				
	Grup 2 (pozitif)	9	7,1222	3,65643	1,21881				
Bağımsız Örnek Testi									
Yağış		Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi				Ortalama Eşitlikleri için t testi			
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.
	Eşit Varyans	4,989	0,036	0,943	22	0,356	4,81778	5,10965	-5,77899
Yağış	Eşit Olmayan Varyans		1,191	16,645	0,250	4,81778	4,04494	-3,73019	13,36574

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Yağışın ağaç kabuğundan etmenin teşhis edilme olasılığı üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır (Çizelge 4.2.1.3.1).

4.2.1.4 Ortalama toprak sıcaklığı değişkenin kabuk istatistiksel analizi

Çalışmada ortalama toprak sıcaklığı değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.1.4.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 8,34 standart sapması 5,49 ve standart hata ortalaması 1,41 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 11,20; standart sapması 3,76 ve standart hata ortalaması 1,25 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.1.4.1).

Çizelge 4.2.1.4.1 Ortalama toprak sıcaklığı değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri										
		Ort. Top. Sic. Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
Ort. Top. Sic.		Grup 1 (negatif)	15	8,3467	5,49704	1,41933				
		Grup 2 (pozitif)	9	11,2000	3,76030	1,25343				
Bağımsız Örnek Testi										
		Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi			Ortalama Eşitlikleri için t testi					
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
Ort. Top. Sic.	Eşit Varyans	3,191	0,088	-1,371	22	0,184	-2,85333	2,08150	-7,17009	1,46342
	Eşit Olmayan Varyans			-1,507	21,484	0,146	-2,85333	1,89356	-6,78582	1,07915

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Ortalama toprak sıcaklığının ağaç kabuğundan etmenin teşhis edilme olasılığı üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır (Çizelge 4.2.1.4.1).

4.2.1.5 Güneşlenme şiddeti değişkenin kabuk istatistiksel analizi

Çalışmada güneşlenme şiddeti değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.1.5.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 178,60 standart sapması 94,12 ve standart hata ortalaması 21,59 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 290,48; standart sapması 47,53 ve standart hata ortalaması 21,25 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.1.5.1).

Çizelge 4.2.1.5.1 Güneşlenme şiddeti değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Güneşlenme Şiddeti	Güneşlenme Şiddeti Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
	Grup 1 (negatif)	19	178,6085	94,12736	21,59430				
	Grup 2 (pozitif)	5	290,4882	47,53245	21,25716				
Bağımsız Örnek Testi									
Güneşlenme Şiddeti	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi	Ortalama Eşitlikleri için t testi							
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.
	Eşit Varyans	3,207	0,087	-2,543	22	0,019	-111,87971	43,98999	-03,10935
Eşit Olmayan Varyans			-3,692	13,355	0,003 ***	-111,87971	30,30149	-77,16563	-46,59378

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %95 düzeyinde anlamlıdır. Güneşlenme şiddeti arttıkça ağaç kabuğundan etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.1.5.1).

4.2.1.6 Güneşlenme süresi değişkenin kabuk istatistiksel analizi

Çalışmada güneşlenme süresi değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.1.6.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 163,64 standart sapması 134,50 ve standart hata ortalaması 30,85 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 325,58; standart sapması 27,65 ve standart hata ortalaması 12,36 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.1.6.1).

Çizelge 4.2.1.6.1 Güneşlenme süresi değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Güneşlenme Süresi	Güneşlenme Süresi Sonuç		N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması			
	Grup 1 (negatif)		19	163,6474	134,50167	30,85680			
	Grup 2 (pozitif)		5	325,5800	27,65768	12,36889			
Bağımsız Örnek Testi									
Güneşlenme Süresi	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi		Ortalama Eşitlikleri için t testi						
	F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
	Eşit Varyans	8,815	0,007	-2,636	22	0,015	-161,93263	61,43662	-89,34438
Eşit Olmayan Varyans			-4,871	21,725	0,000 ***	-161,93263	33,24352	-30,92608	-92,93919

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %95 düzeyinde anlamlıdır. Güneşlenme süresi arttıkça ağaç kabuğundan etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.1.6.1).

4.2.2. Meyve istatistiksel analizleri

4.2.2.1 Nem değişkenin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada nem değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.2.1.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 57,21; standart sapması 16,40 ve standart hata ortalaması 3,76 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 39,14; standart sapması 2,06 ve standart hata ortalaması 0,92 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.2.1.1).

Çizelge 4.2.2.1.1 Nem değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Nem	Nem Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
	Grup 1 (negatif)	19	57,2158	16,40543	3,76366				
	Grup 2 (pozitif)	5	39,1400	2,06470	0,92336				
Bağımsız Örnek Testi									
Nem	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi				Ortalama Eşitlikleri için t testi				
	F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
	Eşit Varyans	18,487	0,000	2,419	22	0,024	18,07579	7,47170	2,58044
	Eşit Olmayan Varyans		4,664	19,908	0,000 ***	18,07579	3,87528	9,98970	26,16188

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Nem azaldıkça meyvede etmenin teşhis edilme olasılığı yükselmektedir (Çizelge 4.2.2.1.1).

4.2.2.2 Sıcaklık değişkeninin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada sıcaklık değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.2.2.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 12,09 standart sapması 9,99 ve standart hata ortalaması 2,29 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 21,20; standart sapması 1,13 ve standart hata ortalaması 0,50 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.2.2.1).

Çizelge 4.2.2.2.1 Sıcaklık değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Sıcaklık	Sıcaklık Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
	Grup 1 (negatif)	19	12,0947	9,99336	2,29263				
	Grup 2 (pozitif)	5	21,2000	1,13578	0,50794				
Bağımsız Örnek Testi									
Sıcaklık	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi			Ortalama Eşitlikleri için t testi					
	F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
	Eşit Varyans	10,902	0,003	-2,001	22	0,058	-9,10526	4,54991	-18,54119
	Eşit Olmayan Varyans		-3,878	19,598	0,001 ***	-9,10526	2,34823	-14,01003	-4,20050

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Sıcaklık arttıkça meyvede etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.2.2.1).

4.2.2.3 Yağış değişkeninin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada yağış değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.2.3.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 10,87 standart sapması 13,52 ve standart hata ortalaması 3,10 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 7,32; standart sapması 2,21 ve standart hata ortalaması 0,99 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.2.3.1).

Çizelge 4.2.2.3.1 Yağış değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Yağış	Yağış Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
	Grup 1 (negatif)	19	10,8737	13,52327	3,10245				
	Grup 2 (pozitif)	5	7,3200	2,21856	0,99217				
Bağımsız Örnek Testi									
	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi	Ortalama Eşitlikleri için t testi							
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.
	Eşit Varyans	2,948	0,100	0,576	22	0,570	3,55368	6,16659	-9,23504
Yağış	Eşit Olmayan Varyans		1,091	20,887	0,288	3,55368	3,25724	-3,22234	10,32971

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Yağışın meyvede etmenin teşhis edilme olasılığı üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır (Çizelge 4.2.2.3.1).

4.2.2.4 Ortalama toprak sıcaklığı değişkeninin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada ortalama toprak sıcaklığı değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.2.4.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 8,37 standart sapması 5,13 ve standart hata ortalaması 1,17 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 13,39; standart sapması 1,38 ve standart hata ortalaması 0,61 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.2.4.1).

Çizelge 4.2.2.4.1 Ortalama toprak sıcaklığı değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri										
		Ort. Top. Sic. Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
Ort. Top. Sic.		Grup 1 (negatif)	19	8,3711	5,13484	1,17801				
		Grup 2 (pozitif)	5	13,3900	1,38300	0,61850				
Bağımsız Örnek Testi										
		Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi			Ortalama Eşitlikleri için t testi					
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
Ort. Top. Sic.	Eşit Varyans	8,177	,009	-2,133	22	,044	-5,01895	2,35325	-9,89929	-,13861
	Eşit Olmayan Varyans			-3,772	21,828	,001 ***	-5,01895	1,33051	-7,77952	-2,25838

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Ortalama toprak sıcaklığının arttıkça meyvede etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.2.4.1).

4.2.2.5 Güneşlenme şiddeti değişkenin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada güneşlenme şiddeti değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.2.5.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 178,60 standart sapması 64,12 ve standart hata ortalaması 21,59 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 290,48; standart sapması 47,53 ve standart hata ortalaması 21,25 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.2.5.1).

Çizelge 4.2.2.5.1 Güneşlenme şiddeti değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri										
		Güneşlenme Şiddeti Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
Güneşlenme Şiddeti	Grup 1 (negatif)		19	178,6085	94,12736	21,59430				
	Grup 2 (pozitif)		5	290,4882	47,53245	21,25716				
Bağımsız Örnek Testi										
		Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi			Ortalama Eşitlikleri için t testi					
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
Güneşlenme Şiddeti	Eşit Varyans	3,207	,087	-2,543	22	,019	-111,87971	43,98999	-03,10935	-20,65006
	Eşit Olmayan Varyans			-3,692	13,355	,003 ***	-111,87971	30,30149	-77,16563	-46,59378

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Güneşlenme şiddeti artıkça meyvede etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.2.5.1).

4.2.2.6 Güneşlenme süresi değişkeninin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada güneşlenme süresi değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.1.6.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 163,64 standart sapması 134,50 ve standart hata ortalaması 30,85 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 325,58; standart sapması 27,65 ve standart hata ortalaması 12,36 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.1.6.1).

Çizelge 4.2.2.6.1 Güneşlenme süresi değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri										
Güneşlenme Süresi	Güneşlenme Süresi Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması					
	Grup 1 (negatif)	19	163,6474	134,50167	30,85680					
	Grup 2 (pozitif)	5	325,5800	27,65768	12,36889					
Bağımsız Örnek Testi										
Güneşlenme Süresi	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi	Ortalama Eşitlikleri için t testi								
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
		Eşit Varyans	8,815	0,007	-2,636	22	0,015	-161,93263	61,43662	-89,34438
Eşit Olmayan Varyans			-4,871	21,725	0,000 ***	-161,93263	33,24352	-30,92608	-92,93919	

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Güneşlenme süresi arttıkça meyvede etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.1.6.1).

4.2.3. Yaprak istatistiksel analizleri

4.2.3.1 Nem değişkenin yaprak istatistiksel analizi

Çalışmada nem değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.3.1.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 57,21; standart sapması 16,40 ve standart hata ortalaması 3,76 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 39,14; standart sapması 2,06 ve standart hata ortalaması 0,92 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.3.1.1).

Çizelge 4.2.3.1.1 Nem değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri										
Nem	Nem Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması					
	Grup 1 (negatif)	19	57,2158	16,40543	3,76366					
	Grup 2 (pozitif)	5	39,1400	2,06470	0,92336					
Bağımsız Örnek Testi										
Nem	Eşit Varyans	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi				Ortalama Eşitlikleri için t testi				
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
		18,487	0,000	2,419	22	0,024	18,07579	7,47170	2,58044	33,57114
Nem	Eşit Olmayan Varyans			4,664	19,908	0,000 ***	18,07579	3,87528	9,98970	26,16188

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Nem azaldıkça yaprakta etmenin teşhis edilme olasılığı yükselmektedir (Çizelge 4.2.3.1.1).

4.2.3.2 Sıcaklık değişkeninin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada sıcaklık değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.3.2.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 12,09 standart sapması 9,99 ve standart hata ortalaması 2,29 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 21,20; standart sapması 1,13 ve standart hata ortalaması 0,50 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.3.2.1).

Çizelge 4.2.3.2.1 Sıcaklık değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Sıcaklık	Sıcaklık Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
	Grup 1 (negatif)	19	12,0947	9,99336	2,29263				
	Grup 2 (pozitif)	5	21,2000	1,13578	0,50794				
Bağımsız Örnek Testi									
Sıcaklık	Eşitlikler için Levens Testi	Ortalama Eşitlikleri için t testi							
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.
	Eşit Varyans	10,902	0,003	-2,001	22	0,058	-9,10526	4,54991	-18,54119
Eşit Olmayan Varyans			-3,878	19,598	0,001 ***	-9,10526	2,34823	-14,01003	-4,20050

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Sıcaklık arttıkça yaprakta etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.3.2.1).

4.2.3.3 Yağış değışkenin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada yağış değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.3.3.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 10,87 standart sapması 13,52 ve standart hata ortalaması 3,10 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 7,32; standart sapması 2,21 ve standart hata ortalaması 0,99 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.3.3.1).

Çizelge 4.2.3.3.1 Yağış değışkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri										
Yağış	Yağış Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması					
	Grup 1 (negatif)	19	10,8737	13,52327	3,10245					
	Grup 2 (pozitif)	5	7,3200	2,21856	0,99217					
Bağımsız Örnek Testi										
Yağış		Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi				Ortalama Eşitlikleri için t testi				
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
	Eşit Varyans	2,948	0,100	0,576	22	0,570	3,55368	6,16659	-9,23504	16,34241
Yağış	Eşit Olmayan Varyans			1,091	20,887	0,288	3,55368	3,25724	-3,22234	10,32971

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Yağışın yaprakta etmenin teşhis edilme olasılığı üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır (Çizelge 4.2.3.3.1).

4.2.3.4 Ortalama toprak sıcaklığı değişkeninin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada ortalama toprak sıcaklığı değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.3.4.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 8,37 standart sapması 5,13 ve standart hata ortalaması 1,17 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 13,39; standart sapması 1,38 ve standart hata ortalaması 0,61 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.3.4.1).

Çizelge 4.2.3.4.1 Ortalama toprak sıcaklığı değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri										
		Ort. Top. Sic. Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
Ort. Top. Sic.		Grup 1 (negatif)	19	8,3711	5,13484	1,17801				
		Grup 2 (pozitif)	5	13,3900	1,38300	0,61850				
Bağımsız Örnek Testi										
		Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi			Ortalama Eşitlikleri için t testi					
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
Ort. Top. Sic.	Eşit Varyans	8,177	,009	-2,133	22	,044	-5,01895	2,35325	-9,89929	-,13861
	Eşit Olmayan Varyans			-3,772	21,828	,001 ***	-5,01895	1,33051	-7,77952	-2,25838

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Ortalama toprak sıcaklığının arttıkça yaprakta etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.3.4.1).

4.2.3.5 Güneşlenme şiddeti değişkenin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada Güneşlenme süresi değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.3.5.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 178,60 standart sapması 64,12 ve standart hata ortalaması 21,59 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 290,48; standart sapması 47,53 ve standart hata ortalaması 21,25 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.3.5.1).

Çizelge 4.2.3.5.1 Güneşlenme şiddeti değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Güneşlenme Şiddeti	Güneşlenme Şiddeti Sonuç	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması				
	Grup 1 (negatif)	19	178,6085	94,12736	21,59430				
	Grup 2 (pozitif)	5	290,4882	47,53245	21,25716				
Bağımsız Örnek Testi									
Güneşlenme Şiddeti	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi	Ortalama Eşitlikleri için t testi							
		F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.
	Eşit Varyans	3,207	,087	-2,543	22	,019	-111,87971	43,98999	-03,10935
Eşit Olmayan Varyans			-3,692	13,355	,003 ***	-111,87971	30,30149	-77,16563	-46,59378

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Güneşlenme şiddeti artıkça yaprakta etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.3.5.1).

4.2.3.6 Güneşlenme süresi değişkenin meyve istatistiksel analizi

Çalışmada güneşlenme süresi değerlerinin karşılaştırılabilmesi ve analizlerinin yapılabilmesi için negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayı dikkate alınmıştır. Bu çerçevede negatif sonuç veren dokular grup 1, pozitif sonuç veren doku örnekleri ise grup 2'yi oluşturmaktadır (Çizelge 4.2.3.6.1).

Grup istatistiklerinin değerlendirilmesinde ortalama, standart sapma ve standart hata ortalamasına ait değerler dikkate alınmıştır. Bu bağlamda negatif sonuç veren (grup 1) doku örneklerine ait ortalama 163,64 standart sapması 134,50 ve standart hata ortalaması 30,85 iken pozitif sonuç veren (grup 2) ortalama 325,58; standart sapması 27,65 ve standart hata ortalaması 12,36 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2.3.6.1).

Çizelge 4.2.3.6.1 Güneşlenme süresi değişkenine ait grup istatistikleri ve bağımsız örnek testi

Grup İstatistikleri									
Güneşlenme Süresi	Güneşlenme Süresi Sonuç		N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması			
	Grup 1 (negatif)		19	163,6474	134,50167	30,85680			
	Grup 2 (pozitif)		5	325,5800	27,65768	12,36889			
Bağımsız Örnek Testi									
Güneşlenme Süresi	Varyans Eşitlikleri İçin Levens Testi		Ortalama Eşitlikleri için t testi						
	F	P değeri	T değeri	S.D.	P değeri	Ort. Fark	Std. Hata Farkı	En Küç.	En Büy.
	Eşit Varyans	8,815	0,007	-2,636	22	0,015	-161,93263	61,43662	-89,34438
Eşit Olmayan Varyans			-4,871	21,725	0,000 ***	-161,93263	33,24352	-30,92608	-92,93919

Negatif ve pozitif sonuç veren doku örneği sayısı birbirine eşit olmadığı için eşit olmayan varyans parametreleri dikkate alınmıştır. Gruplar arasındaki fark %99 düzeyinde anlamlıdır. Güneşlenme süresi artıkça yaprakta etmenin teşhis edilme olasılığı azalmaktadır (Çizelge 4.2.3.6.1).

Tartışma

Yapılan literatür taramasında virüs ve virüs benzeri hastalıkların PLMVd'nin meyve ağaçlarında doğru teşhis organı ve zamanı üzerindeki etkileri ile ilgili tek bir çalışma olduğu görülmüştür. Bu çalışmada; Loreti vd., (1999), özellikle uluslararası sertifikasyon şemalarında kullanılmaya uygun hassas, güvenilir ve az zaman alıcı teknikleri tespit etmek için iki farklı teşhis metodunu karşılaştırmışlardır. Biyolojik indeksleme ve moleküler teknikler (dot blot, tissue-blot hybridization ve RT-PCR) bitkilerin farklı organlarından (yaprak, tomurcuk ve kabuk) alınan örneklerle iki farklı nükleik asit izolasyon yöntemini kullanarak testlemeler yapmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, karantina ve sertifikasyon programlarında PLMVd'den ari şeftali üretim materyali elde etmek için kullanılabilecek en güvenilir test metodunun tomurcuk dokusundan digoxigenin ile işaretlenmiş probe kullanılarak testlenmesi olduğu sonucuna varmıştır. Bizim çalışmamızda ise en güvenilir testleme organının ve zamanı nisan ayında; çiçek tomurcuğu, kabuk ve yaprak, mayıs ayında; çiçek, yaprak, kabuk ve meyve, eylül ayında; ise kabuk, yaprak ve meyve dokuları olduğu sonuçlarına varılmıştır.

Virüs ve virüs benzeri etmenlerin uygun teşhis zamanı ve dokusu ile ilgili olarak yapılmış olan diğer çalışmalara bakıldığında;

Gazel vd., (2020), '*Candidatus Phytoplasma pyri*' teşhisinde mevsimsel bir sınırlama olmadığında en uygun dokunun meyve ve çiçek olduğunu, en uygun dokunun ise mevsimden bağımsız olarak kök, floem ve sürgün kambiyum dokusu ve yapraklar olduğunu bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise mevsimsel sınırlama olduğunda en güvenilir testleme organının Nisan ayında çiçek tomurcuğu, kabuk ve yaprak dokusunun, Mayıs ayında çiçek, yaprak, kabuk ve meyve dokusunun, Eylül ayında ise kabuk, yaprak ve meyve dokusu olduğu sonucuna varılmıştır. Mevsimden bağımsız olarak ise kabuk ve yaprak dokusu örneklerinin güvenilir sonuç verdiği görülmüştür.

EPPO, (2023)'nın PM 7/32 (2) no.lu *Plum pox potyvirus* teşhis standardında uygun örnekleme teşhisi için kritik olduğuna değinilerek, örnekleme virüsün biyolojisi ve bölgesel iklim koşullarının göz önüne alınarak yapılması gerektiği, özellikle gelişme mevsimindeki hava koşullarının önemli olduğuna değinilmiştir. Örnekleme virüs titresinin azaldığı 25°C ve üzeri sıcaklıklarda yapılmaması gerektiği, kışın dormant

periyotta virüs titresinin düşük olduğu, testlerin en yüksek analitik hassasiyet gösterdiği dönemde örnek alınması gerektiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da PLMVd için benzer bir sonuca ulaşılmış olup, PLMVd yoğunluğunun dormant dönemlerde yanlış negatif sonuç verecek kadar düştüğü, sıcaklığın da 14.4-20.9°C civarında olduğu dönemlerde örnekleme yapılmasının uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

EPPO, (2005)'nin PM7/49(1) no lu *Tomato ringspot nepovirus* teşhis standardında uygun örneklemenin teşhis için kritik olduğuna değinilerek, örneklemenin virüsün biyolojisi ve bölgesel iklim koşullarının göz önüne alınarak yapılması gerektiği, özellikle gelişme mevsimindeki hava koşullarının önemli olduğuna değinilmiştir. Örnekleri testlemek için en iyi örnek alma zamanın Kasım ve Nisan arasında veya sıcaklığın daha az olduğu zamanlarda alınması gerektiği, ayrıca çiçekli veya genç yapraklar test edildiğinde, odunsu bitkiler için ilkbahar aylarının en iyi sonucu verdiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlara ulaşılmış olup, PLMVd'nin Kasım ve Şubat arasındaki dormant dönemde konsantrasyonun düşük olduğu, hava sıcaklıklarının artmasıyla Mart ve Haziran ayları arasında örnekleme yapılabileceği, ayrıca nisan ayında çiçek tomurcuğu, kabuk ve yaprak, mayıs ayında çiçek, yaprak, kabuk ve meyve, eylül ayında ise kabuk, yaprak ve meyve dokuları olduğu tespit edilmiştir.

EPPO, (2020)'nin PM7/62(3) no lu *Candidatus Phytoplasma mali*, 'Ca. P. Pyri' ve *Ca. P. prunorum* standart teşhis metodunda, örneklemenin fitoplazmanın biyolojisi ve bölgesel iklim koşullarının göz önüne alınarak yapılması gerektiği, özellikle gelişme mevsimindeki hava koşullarının önemli olduğuna değinilmiştir. Fitoplazma ile enfekteli olduğu düşünülen ağaçların en az 3 farklı yerinden kök örneklerinin alınması gerektiği ve kayısı ağaçlarında *Ca. P. prunorum*'un kışın başlarında toplanan kök dokusunun teşhis açısından daha güvenilir olduğu belirtilmiştir. *Cydonia oblonga*'ya aşıl原因 *Pyrus* türü ağaçların köklerinin test edilmemesine dikkat edilmelidir çünkü bu tür 'Ca. P. pyri'ye karşı farklı duyarlılık göstermektedir. 'Ca. P. pyri' için testleme yapılırken ise yaprak örnekleri alınması tavsiye edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise, bitkinin dormant dönemde olduğu aylarda etmenin testlerde negatif sonuç verdiği, yaprak dokusunun ise nisan, mayıs, haziran ve eylül aylarında pozitif sonuç verdiği görülmüştür.

EPPO, (2006)'nin PM 7/67 (1) no lu teşhis standardına göre *American plum line pattern virus* (APLPV) standart teşhis metodunda ilkbaharda yapraklar çiçek ve kabuk

dokusundan daha iyi bir virüs kaynağı olduğu, yaz aylarında ise olgun meyvelerin yapraklardan daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Dormant tomurcuklar kış aylarında test için güvenilir bir doku kaynağıdır. Bizim çalışmamızda ise ilkbaharda nisan ayında çiçek tomurcuğu, kabuk ve yaprak, mayıs ayında çiçek, yaprak, kabuk ve meyve sonbaharda ise eylül ayında kabuk, yaprak ve meyve dokularının en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir.

EPPO, (2022c)'nın PM 7/146 (2) no lu teşhis standardına göre *Tomato brown rugose fruit virus*'un bitkinin farklı kısımlarındaki yoğunluğu önemli ölçüde değişiklik gösterebilir. Mevcut verilere dayanarak, testlemede genç yapraklar tavsiye edilmekte olup, bu genç yaprakların farklı bitkilerin tepe veya yan sürgünlerinden toplanılması önerilmektedir.

EPPO, (2022d)'nin P7/30(3) nolu teşhis standardına göre *Beet necrotic yellow vein virus* için pancar bitkisinden sarı lekelerden numune alınması ve yaprakların ise rutin analizlerde kullanmayacağı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise PLMVd etmeni latent karakterde olup herhangi bir belirti göstermemektedir. *Beet necrotic yellow vein virus*'un analiz kriterlerinin aksine çalışmamızda nisan, mayıs ve eylül aylarında alınan yaprak örneklerinde PLMVd'nin pozitif sonuç verdiği ve rutin analizlerde bitkinin bu dokusunun da kullanılabileceği belirlenmiştir.

Martínez-García vd., (2004) tarafından yapılan western blot deneylerinde, *Cucumber vein yellowing virus* (CVYV) ile inokule edilmiş salatalık bitkilerinin tüm organ ve dokularında (kök, gövde, yaprak, yaprak sapı, filizler, çiçekler ve meyveler) CVYV'nin varlığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise ilkbaharda nisan ayında çiçek tomurcuğu, kabuk ve yaprak, mayıs ayında çiçek, yaprak, kabuk ve meyve sonbaharda ise eylül ayında kabuk, yaprak ve meyve dokularının en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir.

EPPO, (2013)'nin PM7/118(1) nolu teşhis standardına göre *Tomato infectious chlorosis virus* tanısı için damarlar arası hafif sararma gösteren, tamamen gelişmiş yapraklardan örnek alınmalıdır. Virüs konsantrasyonunun yaşlı simptomatik yapraklarda (parlak sararma, bronzlaşma veya nekroz) ve genç asimptomatik yapraklarda muhtemelen düşük olması veya tespit edilememesi muhtemeldir. Bu etmen meyvelerde de tespit edilebilir. Bu durumun aksine çalışmamızda iklim koşullarına bağlı olarak hem genç hem de yaşlı yapraklarda PLMVd başarıyla tespit edilmiştir. Ayrıca, bu çalışmaya paralel

olarak bizim çalışmamızda da iklim koşullarına bağlı olarak meyve örnekleri de PLMVd tanısı için uygun bir dokudur.

Jeffries, (1998) *Andean potato latent virus* ve *Andean potato mild mosaic virus* 'un tanısı için yaklaşık 25 cm yüksekliğindeki bir bitkinin her bir gövdesinin üst kısmından ve orta noktasından tam olarak gelişimini tamamlamış yapraklardan örnek alınmasını tavsiye etmiştir. Her iki virüs de bu aşamada genellikle nispeten yüksek konsantrasyonlara ulaştığından 5 bitkinin yaprak materyali bir araya toplanabilir.

Pospiviroid teşhisi için turunçgil türlerinin (örn. *Citrus medica* L., *Poncirus trifoliata*) kabuk dokusu, simptomatik veya asimptomatik fidelerden ve genç sürgünlerden örnek alınabilir (Rizza vd., 2009). Anaç bitkilerde ise pullanma belirtileri gösterebilen ağaçlarda, yeşil kabuk dokuları büyüme döneminde yani yaz aylarında toplanabilir (Ragozzino vd., 2005). Genel olarak üstteki ve tamamen gelişmiş genç yapraklar yani büyüyen doku test için en iyi olanlardır. Viroid konsantrasyonları önemli ölçüde farklılık gösterebileceğinden ve çevresel koşullara (sıcaklık ve fotoperiyot) bağlı olduğundan alınacak olan örneğin büyüklüğü testlemenin özelliğine göre değişiklik gösterdiğini bildirmiştir (Verhoeven vd., 2008; 2016). Bizim çalışmamızda ise benzer sonuçlara ulaşılmıştır, iklim koşullarına bağlı olarak kabuk dokusu PLMVd için uygun bir dokudur. Ayrıca, yazın sadece haziran ayında meyve dokusu hariç diğer dokular (kabuk ve yaprak) örnekleme için uygundur. Sıcaklık (14.4-20.9 °C) ve fotoperiyot (223.1–345 saat) örnek almada çalışmamızda da büyük önem taşımaktadır.

Belirli tospovirus-konukçu kombinasyonlarını içeren sınırlı enfeksiyon durumunda belirli biber çeşitlerinde (INSV *Impatiens necrotic ring spot virus*), örnekler tercihen simptomatik materyallerden alınır (Roenhorst & Verhoeven, 1997). Bizim çalışmamızda ise PLMVd etmeni latent karakterde olup herhangi bir belirti göstermemektedir. Dolayısıyla, örnekleme asimptomatik bitki kısımlarından gerçekleştirilmiştir.

'Ca. P. phoenicium' çiçek yapraklarında, yaprak saplarında veya orta damarlarda bulunabilir, ancak en yüksek konsantrasyon gövde ve köklerin floem dokusundadır. 'Ca. P. phoenicium'un konsantrasyonu, sonbahar hariç tüm mevsimlerde gövde ve köklerin floem dokusunda yüksek kalır (Jawhari vd., 2015). Bu çalışmanın aksine bizim

çalışmamızda sonbahar mevsiminde (özellikle eylül ayı) kabuk, yaprak ve meyve dokularının en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir.

EPPO (2022e)'nın PM7/152 (1) nolu teşhis standardına göre virüs konsantrasyonu begomovirüs ırkına veya türlerine, konukçu bitki türüne, bitkinin gelişim aşamasına ve hava koşullarına bağlıdır. Ayrıca, bitkinin farklı kısımlarındaki virüs konsantrasyonu önemli ölçüde farklılık gösterebilir; bu nedenle begomovirüslerin teşhisi için mümkün olduğunca semptomatik bitkilerin test edilmesi önerilir. Begomovirüslerin çoğunluğu için virüs, bitkinin yaşlı kısımlarından ziyade bitkinin en üst kısımlarındaki taze açılmış genç yapraklarda daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bazı konukçu bitkilerde asimptomatik enfeksiyonlar meydana gelebilir ve begomovirüs enfeksiyonu şüphesi varsa bitkinin farklı kısımlarından numune alınması önemlidir. Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiş olup, hava koşulları PLMVd konsantrasyonu üzerinde etkili bulunmuş ve PLMVd latent olduğu için bitkinin farklı kısımlarından örneklemeler gerçekleştirilmiştir.

Tarım ve Orman Bakanlığının survey talimatına göre meyve bahçelerinde survey zamanı nisan ve mayıs aylarında çiçeklerin oluşuyla başlayıp yazın sonuna kadar örnekleme yapılabileceği belirtilmiştir (PLMVd Survey Talimatı 2021). Bizim çalışmamızda da kısmen benzer sonuçlara ulaşılmıştır. İlkbaharda nisan ayında çiçek tomurcuğu, kabuk ve yaprak, mayıs ayında çiçek, yaprak, kabuk ve meyve sonbaharda ise eylül ayında kabuk, yaprak ve meyve dokuları örneklemenin en iyi olduğu zaman olarak tespit edilmiştir. Ancak, yazın sadece haziran ayında meyve dokusu hariç diğer dokular (kabuk ve yaprak) örnekleme için uygundur.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

PLMVd, Türkiye’de Bitki Karantinası Yönetmeliği’nin Ek-1/A “İthale Mani Teşkil Eden Karantinaya Tabi Zararlı Organizmalar -Türkiye’de varlığı Bilinmeyen ve İthale Mani Teşkil Eden Karantinaya Tabi Zararlı Organizmalar” listesinde yer almaktadır. Daha önce EPPO A1 listesinde yer alan PLMVd, 1992 yılında EPPO A2 listesine eklenmiştir. Avrupa Birliği’nde ise 2019 yılında RNQP (Regulated Non-Quarantine Pests: Annex IV) listesine alınmıştır. Hem karantina hem de sertifikasyon listelerinde yer alan PLMVd konukçularında belirti göstermeden uzun yıllar boyunca varlığını sürdüren ve ekonomik kayıplara neden olan bir patojendir.

Simptomatolojik olarak teşhisinin güç olmasının yanı sıra, özellikle karantina ve sertifikasyon için uygun zamanda ve uygun bitki dokusundan örnek alınması etmenin doğru teşhisi ve gerekli mücadele yöntemlerinin hızlıca uygulanarak etmenin eliminasyonu açısından önem taşımaktadır. PLMVd’nin konukçusu olan tüm sert çekirdekli meyve türlerinde yapılan analizlerde, fidan üretim alanlarından alınan örneklerde enfeksiyon tespit edilmesi durumunda, enfekte bitkilerden alınan aşı gözleri ile çoğaltılan tüm bitkilerin imha edilmesi gerektiği belirtilmiştir.

Tarım ve Orman Bakanlığı Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü tarafından belirlenen meyve ve fidan sertifikasyonu yönetmeliğine göre, fidanlıklarda PLMVd etmeninin düzenli olarak kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu doğrultuda, örneklerin alınarak yetkili laboratuvarlarda PLMVd analizi yapılmalı ve sonuçlar Bakanlığa rapor edilmelidir. Ayrıca, eradikasyonu gerçekleştirilen alanlarda, PLMVd konukçusu olan bitkilerden aynı toprağa yeniden bahçe tesis edilirken aynı türe ait bitkilerin seçilmemesi gerektiği vurgulanmaktadır (PLMVd Survey Talimatı, 2021).

Şeftali latent mozaik viroidi (*Peach latent mosaic pelamoviroid*-PLMVd)’nin güvenilir teşhisi için uygun zaman ve uygun bitki dokusunun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesini amaçlayan bu çalışmada Trabzon hurması bitkisinden 2021 Mart–2022 Şubat ayları arasında her ay ağaçlar üzerinde bulunan bitki dokularından örnekler alınmıştır. Etmenin tespiti için RT-PCR testi kullanılmıştır.

Trabzon hurması PLMVd için yeni bir konukçudur. Dolayısıyla etmenin bu yeni konukçusunun hangi dönemlerde güvenilir bir teşhis edilebileceği ile ilgili bir çalışma

bulunmamaktadır. Çalışmamız ile bu konu hakkında çalışacak olan diğer araştırmacılara yol gösterici olacaktır.

Çalışmada Oksal vd., 2021 tarafından PLMVd ile enfekteli olduğu tespit edilen TH7 (erişim no: MZ289071)-TH9 (erişim no:MZ289070) iki Trabzon hurması ağacı kullanılmıştır. Çalışmamız her ay ağaçta bulunan organlardan örnek alınarak yapılmıştır.

RT-PCR test sonuçlarına göre, PLMVd'nin tespiti için Trabzon hurması ağacında en iyi örnek alma zamanı ve bitki dokusu nisan ayında çiçek tomurcuğu, kabuk ve yaprak, mayıs ayında alınan kabuk, yaprak, çiçek ve meyve, eylül ayında ise kabuk, yaprak ve meyve dokuları dokularıdır. Bu konuda çalışma yapacak olan araştırmacıların doğru sonuçları alabilmeleri için belirtilen aylarda örnek almaları önerilmektedir. Çalışmamız Malatya ilinde yapılmıştır ve çalışma materyali bu bölge ait olup, çalışma yapacak olan araştırmacıların kendi bölgelerindeki iklim ve ekolojik koşulları ile bitkinin fenolojik dönemini dikkate alarak yapmaları gerekmektedir.

Meteoroloji Genel Müdürlüğünden alınan iklim verileri SPSS istatistik programında bağımsız örneklem T testi kullanılarak PLMVd konsantrasyonu ve tespit edilebilirliği üzerinde istatistiksel olarak herhangi bir etkisinin olup olmadığına bakılmıştır. Kabuk, meyve ve yaprak dokularının istatistiksel analiz sonuçlarına göre PLMVd testlemesi için sıcaklığın yüksek olduğu zamanların uygun olmadığı, en uygun örneklem sıcaklığının 14.40-20.90 °C olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bitkinin dormant dönemlerde olduğu sonbahar (Eylül hariç) ve kış aylarının da örneklem için uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. PLMVd testlemesi için uygun olan nem oranının %41.40-49.30 olduğu sonucuna varılmıştır. Örneklem için uygun ortalama toprak sıcaklığı ise 7.35-14.40 °C olarak tespit edilmiştir. Güneşlenme süresi 223.10-345.00 saat olduğu zamanlar örneklem için daha uygun olarak tespit edilmiştir. Güneşlenme şiddeti ise 223.56-313.33 cal÷cm² olduğunda örneklem yapmak daha uygundur. Çalışmamızda kullandığımız iklim verileri Malatya iline ait olup, sonuçlarımız bu verilere dayanarak oluşturulmuştur. Çalışma yapacak olan araştırmacıların bu koşulları dikkate alması gerekmektedir.

Virüsler ve viroidlerle mücadelenin uygun zamanda ve uygun koşullarda yapılması gereklidir. Mücadele yapılmadığı takdirde bitkilerde kalite ve verim

kayıplarına neden olmaktadır. PLMVd'nin polen (Barba vd., 2007), üretim materyali, aşı bıçağı ve budama makası vb. tarım aletleriyle taşındığı bilinmektedir (Desvignes, 1986). PLMVd'nin afitlerle (*Myzus persicae*) düşük oranlarda taşındığı deneysel çalışmalarla tespit edilmiştir (Flores vd., 1992).

PLMVd kaynaklı ekonomik kayıpları ve bulaşmayı önleyebilmek açısından; virüs ve viroidlerden arı üretim materyalleri kullanılması, sertifikalı ve sağlıklı dikim materyallerinin kullanılması gerekmektedir. Aynı zamanda bu etmenlerin yayılmasının engellenmesi için ise düzenli olarak yaprak biti mücadelesi, belirti gösteren veya bulaşık olduğu belirlenen bitkilerin imha edilmesi, mekanik ve kültürel bakım işlemlerinde kullanılan alet ve ekipmanların sık sık ve düzenli olarak %5-20'lik çamaşır sulu (sodyum hipoklorit) çözeltiyle dezenfekte edilmesi etmenin mücadelesi için önem teşkil etmektedir.

PLMVd farklı familyadaki bitkilerde enfeksiyon yapabilmektedir. Enfeksiyon bazı bitkilerde latent olmaktadır, bu nedenle etmenin yayılmasını engellemek için polikütür tarımdan kaçınılması gerekmektedir. PLMVd meyve ağaçlarının dışında yabancı otlarda da enfeksiyona neden olmaktadır. Bu yüzden yabancı otlarla mücadele de etmenin yayılmasını engellemede önem arz etmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Afanasenko, O. S., Lashina, N. M., Mironenko, N. V., Kyrova, E. I., Rogozina, E. V., Zubko, N. G., & Khiutti, A. V. (2022). Evaluation of responses of potato cultivars to potato spindle tuber viroid and to mixed viroid/viral infection. *Agronomy*, 12(12), 2916.
- Al Rwahnih, M., Myrta, A., Abou-Ghanem, N., Di Terlizzi, B., Savino, V. (2001). Viruses and viroids of stone fruits in Jordan. *OEPP/EPPO, Bulletin* 31, 95-98.
- Bao, S., and Chen, E. (2023). Resistance evaluation of eleven potato varieties against *potato leaf-roll virus* and physiological responses to virus infection. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3132387/v2>
- Barba, M., Ragozzino, E., Faggioli, F. (2007). Pollen Transmission Of *Peach Latent Mosaic Viroid*. *Journal of Plant Pathology* 89 (2), 287-289.
- Barba, M., Cupidi, A., Loreti, S., Faggioli, F., Martino, L. (1994). In vitro micrografting: a technique to eliminate peach latent mosaic viroid from peach. In *XVI International Symposium on Fruit Tree Virus diseases* 386 (pp. 531-535).
- Bitters, W.P. (1952). Exocortis disease of citrus California Agriculture 6:5-6.
- Boubourakas, I.N., Faggioli, F., Fucuta, S., Barba, M., Kyriakopoulou, P.E. (2009). The presence of *Peach latent mosaic* (PLMVd) in Greece. *Phytopathologia Mediterranea* 48(2), p 321.
- Bussiere, F., Ouellet, J., Co'te', F., Le'vesque, D. and Perreault, J. P. (2000). Mapping in Solution Shows the *Peach latent mosaic viroid* to Possess a New Pseudoknot in a Complex, Branched Secondary Structure. *J. Virol.*, 74: 2647– 2654.
- Cho, I. S., Park, M. J., Kwon, S. J., Choi, G. S., Hammond, J., Lim, H. S. (2016). First report of *Persimmon cryptic virüs* and *Persimmon virus A* in Korea. *Journal of Plant Pathology* 2016 98 3 694
- Crescenzi, A., Piazzolla, P., Hadidi, A. (2002). First Report Of *Peach latent mosaic viroid* In Sweet Cherry In Italy. *Pathology* 84 (2), 167-168.

- Çevik Akoğlu., T. (2021). Malatya, Elazığ ve Adıyaman İlleri Badem (*Prunus dulcis* Mill.) ve Ceviz (*Juglans regia* L.) Üretim Alanlarında *Peach latent mosaic viroid* (PLMVd) Etmeninin Araştırılması ve Moleküler Karakterizasyonu Doktora Tezi, Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Malatya, 107p.
- Desvignes, J. C. (1986). *Peach latent mosaic* and its relation to peach mosaic and *peach yellow mosaic virus* diseases. – *Acta Horticulturae* 193: 51-58.
- Desvignes, J. C. (1976). The virus diseases detected in greenhouse and in field by the peach seedling GF 305 indicator. In X International Symposium on Fruit Tree Virus Diseases 67 (pp. 315-323).
- Diener, T.O. and Raymer, W.B. (1967). *Potato Spindle Tuber Virus*: A plant Virus with Properties of Nucleic Acid Science 158:378-381.
- Diener, T.O. and Lawson, R.H. (1973). Chrysanthemum stunt: a viroid disease. *Virology*, 51, 94-101.
- Ding, X., Liu, X. and Chen, Z. (2013). The Main Diseases On Chinese Persimmon Tree. *Acta Hortic.* 996, 299-306
- Dubé, A., Bolduc, F., Bisaillon, M., Perreault, J.P. (2011). Mapping studies of the *Peach latent mosaic viroid* reveal novel structural features. *Molecular Plant Pathology* 12(7), 688–701.
- Duman, K. (2008). Sert çekirdekli meyve ağaçlarında görülen *Peach latent mosaic viroid* (PLMVd) ve *Hop stunt viroid* (HSVd)'lerinin RT-PCR yöntemi ile tanımlanmasına yönelik çalışmalar Ege Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans 51 s.
- El-DougDoug, K.A., Rehab, D.A., Rezk, A.A., Sofy, A.R. (2012). Incidence of fruit trees viroid diseases by tissue print hybridization in Egypt. *Int. J. Virol* 8, 114-120.
- EPPO. (2013). Data sheets on quarantine organisms, *Tomato infectious chlorosis virus* *OEPP/EPPO Bulletin* 43, 462–470 <https://doi.org/10.1111/epp.12062>
- EPPO. (2022c). Data sheets on quarantine organisms, *Tomato brown rugose fruit virus* *OEPP/EPPO Bulletin* 2022;52:665–692 <https://doi.org/10.1111/epp.12891>

- EPPO. (2022d). Data sheets on quarantine organisms, *Beet necrotic yellow vein virus* OEPP/EPPO Bulletin 2022;52:87–97 <https://doi.org/10.1111/epp.12807>
- EPPO. (2022e). Data sheets on quarantine organisms, *Begomovirüsler* OEPP/EPPO Bulletin 2022;52:643–664 <https://doi.org/10.1111/epp.12887>
- EPPO. (2005). Data sheets on quarantine organisms, *Candidatus Phytoplasma mali*, ‘*Ca. P. pyri*’ and ‘*Ca. P. prunorum*’ OEPP/EPPO Bulletin 50, 69–85 <https://doi.org/10.1111/epp.12612>
- EPPO. (2005). Data sheets on quarantine organisms, *Tomato ringspot nepovirus* OEPP/EPPO Bulletin 35, 313–318 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2005.00831.x>
- EPPO. (2006). Data sheets on quarantine organisms, *American plum line pattern virus* (APLPV) OEPP/EPPO Bulletin 36, 157–160 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2006.00928.x>
- EPPO. (2022a). Trabzon hurmasının taksonomisine ait bilgi [Diospyros kaki \(DOSKA\)\[Overview\]](#) EPPO Global Database (Erişim Tarihi 27.04.2024)
- EPPO. (2022b). *Peach latent mosaic viroid* ’ine ait Dünya’da yayılışına ait bilgiler. <https://gd.eppo.int/search?k=plmvd> (Erişim Tarihi 27.04.2024)
- EPPO. (2023). Data sheets on quarantine organisms, *Plum pox virus*. OEPP/EPPO Bulletin 2023; 53:518–539. <https://doi.org/10.1111/epp.12948>
- Faggioli, F., Loreti, S., Barba, M. (1997). Occurrence of *Peach latent mosaic viroid* (PLMVd) on plum in Italy. *Plant Dis* 81:423.
- Fekih Hassen, I., Marbot, S., Kummert, J., Fakhfakh, H., Marrakchi, M., Juaklı, M.H. (2005). *Peach latent mosaic viroid* detected for the first time on almond trees in Tunisia. *Plant Dis* 89:1244.
- Flores, R., Llácer, G. (1988). Isolation of a viroid-like RNA associated with *peach latent mosaic* disease. – *Acta Horticulturae* 235: 325-332.

- Flores, R., Hernández, C., Desvignes, J. C., Llacer, G. (1990). Some properties of the viroid inducing peach latent mosaic disease. *Research in Virology*. **141(1)**, 109-118.
- Flores, R., Hernandez C., Avinent, L., Llacer, G., Arregui, J.M., Hermoso, A., Juarez, J., Navarro, L., Desvignes, J.C., (1992). Studies of the detection transmission and distribution of Peach latent mosaic viroid (PLMVd) in peach trees. *Acta Horti* 309:325–330.
- Flores, R., Randles, J. W., Bar-Joseph, M., Diener, T. O. (1998). A proposed scheme for viroid classification and nomenclature. *Arch Virol* 143/3 (1998).
- Flores, R., Randles, J.W., Bar-Joseph, M., 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., Hernandez, C., Llácer, G., Shamloul, A.M., Giunchedi, L. and Hadidi, A. (2003). Stone Fruit Viroids, Chapter 22, *Peach latent mosaic viroid in Peach*. In *Viroids*, P: 156.
- Flores, R., Delgado, S., Gas, M.E., Carbonell, A., Molina, D., Gago, S., De la Pena, M. (2004). Viroids: the minimal non-coding RNAs with autonomous replication. *FEBS Letters* 567 (2004) 42–48.
- Flores, R., Di Serio, F., Hernandez, C., Barba, M., Hadidi, A. (2011). Peach latent mosaic viroid and its diseases in peach trees. *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*, 219-224.
- Foissac, X., Svanella- Duas, L., Dulucq, M. J., Candresse, T. and Gentit P. (2001). Polyvalent detection of fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by Nested RT-PCR using (PDO RT-PCR). *Acta Horticulture*, 55037-55043.
- Gazel, M., Serçe, Ç. U., Öztürk, H., Çağlayan, K. (2020). Detection of ‘*Candidatus Phytoplasma pyri*’ in different pear tissues and sampling time by PCR-RFLP analyses. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(3), 406-412.

- Gazel, M., Ulubas Serce, C., Caglayan, K., Luigi, M., Faggioli, F. (2008). Incidence and Genetic Diversity of *Peach Latent Mosaic Viroid* Isolates In Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 90 (3), 495-503.
- Gucek, T., Trdan, S., Jakse, J., Javornik, B., Matousek, J. and Radisek, S. (2017). Diagnostic techniques for viroids. *Plant Pathology* 66, 339–358 Doi: 10.1111/ppa.12624
- Gümüş, M., Paylan, İ. C., Matic, S., Myrta, A., Sipahioğlu H. M. and 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 JUL
- Hadidi, A., Flores, R., Randles, J.W., Semancik, J.S. (2003). Viroids. (ed. By Hadidi, A./Flores, R./Randles, J.W./Semancik, J.S.) Collingwood, Australia: CSIRO Publishing, xiv + 370pp.
- Hadidi, A., Giunchedi, L., Shamloul, A. M., Poggi-Pollini, C., Amer, M. A. (1997). Occurrence of *peach latent mosaic viroid* in stone fruits and its transmission with contaminated blades. *Plant Diseases*, 81: 154–158.
- Hadidi, A., Giunchedi, L., Shamloul, A.M., Poggi-Pollini, C. and Amer, M.A. (1997). Occurrence of *Peach latent mosaic viroid* in Stone fruits and its transmission with contaminated blades. *Plant Dis.* 81:154–158.
- Hassen, I. F., Roussel, S., Kummert, J., Fakhfakh, H., Marrakchi, M., Jijakli, M. H. (2005). Detection and epidemiological characteristics of *Peach latent mosaic viroid* in Tunisia. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 70 (3) : 115-128.
- Howell, W. E., Skrzeczkowski, L. J., Mink, G. I., Nunez, A., Wessels, T. (1997). Non-transmission of *apple scar skin viroid* and *peach latent mosaic viroid* through seed (pp 635-640). *XVII International Symposium Virus and Virus-Like Diseases of Temperate Fruit Crops*, 1 November 1998, Bethesda, MD, USA.
- ICTV. (2024). Viroidlerin sınıflandırılması <https://ictv.global/taxonomy> (Erişim Tarihi 01.06.2024)

- Strauss, E. G., Strauss, J. H. (2007). Viruses and human disease. *Elsevier*.
- Jawhari, M., Abrahamian, P., Sater, A. A., Sobh, H., Tawidian, P., Abou-Jawdah, Y. (2015). Specific PCR and real-time PCR assays for detection and quantitation of ‘*Candidatus Phytoplasma phoenicium*’. *Molecular and cellular probes*, 29(1), 63-70.
- Jeffries, CJ (1998). Patates (No. 19). Bioversity International.
- Jevremović, D. and Paunović, S. (2014). Low incidence of *Peach latent mosaic viroid* in peach mother blocks in Serbia. *Pesticides and Phytomedicine* 29 (2), 109–114 UDC 632.38:634.25(497.11) DOI: 10.2298/PIF1402109J
- Jo, Y., Yoo, S.H., Chu, H., Cho, J.K., Choi, H., Yoon, J.Y., Choi, S.K., Cho, W.K. (2015). Complete Genome Sequences of *Peach Latent Mosaic Viroid* from a Single Peach Cultivar. *Genome Announc* 3(5):e01098-15. doi:10.1128/genomeA.01098-15.
- Katsarou, K., Mavrothalassiti, E., Dermauw, W., Van Leeuwen, T., Kalantidis, K. (2016). Combined activity of DCL2 and DCL3 is crucial in the defense against potato spindle tuber viroid. *PLoS Pathogens*, 12(10), e1005936.
- Kaya, C., Yücel, E.E., Bayram, M., Meşe, M., Aybakan, E., Gökgöz, G., Sözer, T.T. (2016). *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 47 (2): 107-112
- Kwon, J.H., Park, C.S. (2003). Sooty Mold of Persimmon (*Diospyros kaki*) Caused by *Cladosporium cladosporioides*. *The Plant Pathology Journal* Volume 19 Issue 5 Pages.266-268
- Kyriakopoulou, P. E., Giunchedi, L. and 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.
- Kyriakopoulou, P. E., Giunchedi, L., Barba, M., Boubourakas, N., Kaponi, M.S. and Hadidi, A. (2017). Chapter 30 - *Peach latent mosaic viroid* in Temperate Fruit Trees Other Than Peach. *Viroids and Satellites*, 2017, Pages 317-329. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801498-1.00030-9>

- Lee, H.J., Kim, H.J., Lee, K., Jeong, R.D. (2020). Rapid detection of *Peach latent mosaic viroid* by reverse transcription recombinase polymerase amplification. *Molecular and Cellular Probes* 53 (2020) 101627.
- Lee, S. H., Kim, H. R., Kim, J. H. and Kim, J. S. (2004). Improvement of RT-PCR Sensitivity for Fruit Tree Viruses by Small-scale dsRNA Extraction and Sodium Sulfite. *Plant Pathology J.*:20(2) 142-146
- List, J. A., Sadoff, S., Wagner, M. (2011). So you want to run an experiment, now what? Some simple rules of thumb for optimal experimental design. *Experimental Economics*, 14, 439-457.
- Rasch, D., Kubinger, K. D., Moder, K. (2011). The two-sample t test: pre-testing its assumptions does not pay off. *Statistical papers*, 52, 219-231.
- Xie, L., Zhang, J. Z., Cai, L., & Hyde, K. D. (2010). Biology of *Colletotrichum horii*, the causal agent of persimmon anthracnose. *Mycology*, 1(4), 242-253.
- Loreti, S., Faggioli, F., Cardoni, M., Mordenti, G., Babini, A. R., Poggi Pollini, C., Barba, M. (1999). Comparison of different diagnostic methods for detection of *Peach latent mosaic viroid*. *EPPO Bulletin Volume* 29 Issue 4, Pages 433 – 438.
- Martínez-García, B., Marco, C. F., Goytia, E., López-Abella, D., Serra, M. T., Aranda, M. A., López-Moya, J. J. (2004). Development and use of detection methods specific for *Cucumber vein yellowing virus* (CVYV). *European journal of plant pathology*, 110, 811-821.
- Meziani, S., Rouag, N., Milano, R., Kheddami, M., Djelouah, K. (2010). Assessment of the main stone fruit viruses and viroids in Algeria 21st International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops July 5 - 10, 2009 Neustadt, Germany.
- Musa, A., Merkuri, J., Milano, R., Djelouah, K. (2010). Assessment of the main stone fruit viruses and viroids in Algeria 21st International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops July 5 - 10, 2009 Neustadt, Germany.

- Nakaune, R., Nakano, M. (2008). Identification of a new *Apscaviroid* from Japanese persimmon. *Arch Virol* 153:969–972 DOI 10.1007/s00705-008-0073-2
- Oksal, H.D., Aydın, S., Baran, M., Emir, C., Karanfil, A., Bozdoğan, O., Sipahioğlu, H. M. (2021). Persimmon (*Diospyros kaki* L.) and Johnsongrass [*Sorghum halepense* (L.) Pers.] Are New Natural Hosts Of *Peach Latent Mosaic Viroid*. *Applied Ecology And Environmental Research* 19(6):4629-4639.
- Onur, S. (1990). Trabzon hurması. *Derim*, 7: 4-47.
- Osaki, H., Yamamuchi, Y., Sato, Y., Tomita, Y., Kawai, Y., Miyamoto, Y., Ohtsu, Y. (1999). *Peach latent mosaic viroid* isolated from stone fruits in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 65, 3-8.
- Çiftçi, O., Yılmaz, F., Çaplık, D. (2022). Elazığ ve Mardin İllerinde *Peach Latent Mosaic Viroid* (PLMVd)' nin Durumu. *Ulusal Meyvecilik Sempozyumu*, Eğirdir Isparta.
- Pallás, V., Amari, K., Gomez, G., Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., Di Serio, F. (2003). *Viroids Of Stone Fruits: Incidence And Diseases In The Mediterranean*. Bari: CIHEAM, 2003. p. 129-133
- Palou, L., Montesinos-Herrero, C., Tarazona, I., Besada, C., Taberner, V. (2015). Incidence and etiology of postharvest fungal diseases of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb. cv. Rojo Brillante) in Spain. *Plant Disease*, 99(10), 1416-1425.
- Pappi, P., Fotiou, L., Efthimiou, K., Katis, N., Maliogka, V. (2020). Development of three duplex real-time RT-PCR assays for the sensitive and rapid detection of a phytoplasma and five viral pathogens affecting stone fruit trees. *Molecular and Cellular Probes*. 53. 101621. 10.1016/j.mcp.2020.101621.
- Parseker Yönel, S., Uylaser, V., Yonak., S. (2008). Trabzon Hurmasının Bileşimi ve Besleyici Değeri. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs, Erzurum
- Pelchat, M., Levesque, D., Ouellet, J., Laurendeau, S., Levesque, S., Lehoux, J., Perreault, J. P. (2000). Sequencing of peach latent mosaic viroid variants from nine North American peach cultivars shows that this RNA folds into a complex secondary structure. *Virology*, 271(1), 37-45.

- PLMVd survey talimatı. (2021). Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü [tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB Bitki Sagligi/Survey/45-PLMVd Survey Talimati 2021.pdf](http://tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Bitki_Sagligi/Survey/45-PLMVd_Survey_Talimati_2021.pdf) (Erişim Tarihi 01.16.2024).
- Ragozzino, E., Barba, M., Faggioli, F. (2005). Distribution of *Citrus Exocortis Viroid* and *Hop Stunt Viroid* in Cirtus Orchards of Central Italy as Revealed by One-Tube One-Step RT-PCR. *Phytopathologia mediterranea*.1000-1005.
- Riesner, D., Gross, H. J. (1985). Annual Review of Biochemistry. *Viroids*, 54(1), 531-564.
- Rizza, S., Nobile, G., Tessitori, M., Catara, A., Conte, E. (2009). Real time RT-PCR assay for quantitative detection of Citrus viroid III in plant tissues. *Plant Pathology*, 58(1), 181-185.
- Rodio, M.E., Delgado, S., Flores, R., DiSerio, F. (2006). Variants of *Peach latent mosaic viroid* inducing peach calico: uneven distribution in infected plants and requirements of the insertion containing the pathogenicity determinant. *Journal of General Virology* 87, 231–240 DOI 10.1099/vir.0.81356-0
- Roehorst, J.W., Verhoeven. J.T.J. (1997). *Virology*. In: *Verslagen en Mededelingen van de Plantenziektenkundige Dienst 186 (Annual Report Diagnostic Centre 1996)*, pp. 92–106.
- Sangha, J. S., Kandasamy, S., Khan, W., Bahia, N. S., Singh, R. P., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2015). λ -carrageenan suppresses *tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd) replication and symptom expression in tomatoes. *Marine drugs*, 13(5), 2875-2889.
- Scortichini, M., D'Ascenzo, D., Silvestro, D.D. (1998). Leaf necrosis and twig dieback of sweet persimmon (*Dyospiros kaki* L.) caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in Italy. *European Journal of Plant Pathology* volume 104, pages625–627
- Semancik, J.S. and Weathers, L.G. (1972). Exocortis disease: evidence for a new species of “infectious” low molecular weight RNA in plants. *Nature New Biol.*, 237, 242-244.

- Sipahioğlu, H.M., Myrta, A., Abou-Ghanem, N., Di Terlizzi, B. and Savino, V. (1999). Sanitary status of stone-fruit trees in East Anatolia (Turkey) with particular reference to apricot. *OEPP/EPPO Bulletin* 29, 439-442
- Sipahioğlu, H.M., Demir, S., Myrta, A., Al Rwahnih, M., Polat, B., Sehen, L., Usta, M., Akkopru, A., Selcuk, M., Ippolito, A. and Minafra, A. (2006). Viroid, phloplasma and fungal diseases of Stone fruit in eastern Anatolia, Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34:1-6.
- Skrzeczowski, L. J., Howell, W. E. and Mink, G. I. (1996). Occurrence of *peach latent mosaic viroid* in commercial peach and nectarine cultivars in the U.S. *Plant Dis.* 80, 823.
- TÜİK. (2023). Türkiye, Ortadoğu Anadolu, Malatya İllerinde Trabzon Hurması Bitkisine ait üretim bilgileri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim Tarihi 27.06.2023)
- Tuncel, F., Tekkaş, N., Türk, G., Oksal, H. D., Sipahioğlu, H. M. (2020). First Detection and Molecular Characterization of *Peach latent mosaic viroid* in a New Natural Host: Walnut (*Juglans regia* L.). – *Alinteri Journal of Agriculture Sciences* 35(2): 37-44.
- Tuzcu, Ö. ve Yıldırım, B. (2000). Trabzon Hurması (*Diospyros kaki* L) ve Yetiştiriciliği. TÜBİTAK TARP Yayınları, Adana.
- Verhoeven, J. T. J., Jansen, C. C. C., Roenhorst, J. W. (2008). First report of pospiviroids infecting ornamentals in the Netherlands: *Citrus exocortis viroid* in *Verbena* sp., Potato spindle tuber viroid in *Brugmansia suaveolens* and *Solanum jasminoides*, and *Tomato apical stunt viroid* in *Cestrum* sp. *Plant Pathology*, 57(2).
- Verhoeven, J. T. J., Westenberg, M., Van Ede, E. P. M., Visser, K., Roenhorst, J. W. (2016). Identification and eradication of potato spindle tuber viroid in dahlia in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology*, 146(2), 443-447.
- Wang, J., Gao, R., Yu, X.M., An, M., Qin, Z.H., Liu, J., Ai C.X. (2015). Identification of ‘*Candidatus phytoplasma ziziphi*’ associated with persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) fasciation in China *Forest Pathology* Volume45, Issue 4Pages 342-345

- Wei, S., Bian, R., Andika, I. B., Niu, E., Liu, Q., Kondo, H., Sun, L. (2019). Symptomatic plant viroid infections in phytopathogenic fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(26), 13042-13050.
- Xu, W., Hong, N., Wang, G. and Fan, X. (2008). Population Structure and Genetic Diversity within *Peach latent mosaic viroid* Field Isolates from Peach Showing three Symptoms. *Journal of Phytopathology* 156, 565–572 doi: 10.1111/j.1439-0434.2008.01398.x.
- Yamamoto, J., Tanaka, K., Ohtaka, N., Sato, T. (2012). Black leaf spot of Japanese persimmon (*Diospyros kaki*), a new disease caused by *Adisciso kaki* sp. nov. *Journal of General Plant Pathology* volume 78, pages 99–105
- Yılmaz, F. (2024). Güneydoğu Anadolu Bölgesi Ceviz ve Antep Fıstığındaki Bazı Virüs ve Viroid Hastalıklarının Araştırılması ve Moleküler Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Malatya, 153p.