

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**BURSA, BİLECİK VE BOLU İLLERİNDE ŞEFTALİ ÜRETİM ALANLARINDA
GÖRÜLEN BAZI VİRAL HASTALIKLARIN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

Ali ÇELİK

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**ANKARA
2020**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

BURSA, BİLECİK VE BOLU İLLERİNDE ŞEFTALİ ÜRETİM ALANLARINDA GÖRÜLEN BAZI VİRAL HASTALIKLARIN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Ali ÇELİK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Filiz ERTUNÇ

Bu çalışma ile Türkiye'nin yoğun şeftali üretiminin yapıldığı bir bölgede sert çekirdekli meyve ağaçlarının önemli viral hastalıklarından olan Plum pox virus (PPV), Prune dwarf virus (PDV) ve Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV) etmenlerinin serolojik ve moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Serolojik çalışmalar sonucunda survey bölgesinden toplanan 486 örneğin 286'sında (%58,84) virüslerden en az bir tanesi tespit edilmiştir. Bölgedeki en yüksek enfeksiyon oranı PPV (%52,05) için belirlenmiş ve bu virüsü sırasıyla PDV (%3,90) ve PNRSV (%2,88) takip etmiştir. Yapılan moleküler karakterizasyon çalışmaları sonucunda 24 PPV, 11 PDV ve 8 PNRSV izolatına ait toplamda 43 kısmi nükleotid dizisi elde edilmiş ve GenBank'ta kayıtlı referans izolatlar ile karşılaştırılmıştır. GenBank veri tabanında kayıtlı referans izolatlarla ait nükleotid dizileri ile yapılan karşılaştırmalar sonucuna elde edilen PPV izolatlarının %97-99, PDV izolatlarının %87-97 PNRSV izolatlarının ise %96-100 düzeyinde sekans benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir. Referans izolatlar ile yapılan filogenetik analiz çalışmaları sonucunda PPV, PDV ve PNRSV izolatları filogenetik ağaç üzerinde referans izolatlar ile uyumlu bir dağılım göstermiştir. Çalışma sonucunda Türkiye'de şeftali PDV izolatlarına ait ilk kısmi nükleotid dizileri elde edilmiştir. PPV ırk tespiti çalışmaları bölgede PPV-M ve PPV-D ırklarının yaygın olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ticari değeri yüksek ve yeni kurulan bahçelerde PPV-M ırkı yaygın iken, eski ve geleneksel ev tipi bahçelerde tespit edilen PPV izolatlarının tamamı PPV-D olarak tespit edilmiştir. Bursa ilindeki fidanlık kapasitesinin yüksek oluşu ve PPV-M enfeksiyonunun fidanlıklardaki yaygınlığı, virüsün ülkenin farklı üretim bölgelerine yayılma ihtimalini güçlendirmektedir. Elde edilen sonuçlara göre bölgede karantina tedbirlerinin daha sıkı uygulanması virüsün yayılımını önlemek açısından önemlidir.

Kasım 2020, 149 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bursa, Bilecik, Bolu, PPV, PDV, PNRSV, serolojik, moleküler, filogenetik

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

SEROLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME VIRAL DISEASES IN PEACH PRODUCTION AREAS OF BURSA, BILECIK AND BOLU PROVINCES

Ali ÇELİK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Filiz ERTUNÇ

In this study, serological and molecular characterization of PPV (Plum pox virus), PDV (Prune dwarf virus) and PNRSV (Prunus necrotic ringspot virus) were carried out, which are important viral diseases of stone fruit trees. Serological studies showed that at least one of the viruses was detected in 286 (58,84%) of 486 samples collected from the survey area. The highest infection rate in the region was determined as PPV (52,05%), followed by PDV (3,90%) and PNRSV (2,88%), respectively. As a result of molecular characterization studies, a total of 43 partial nucleotide sequences belonging to 24 PPV, 11 PDV and 8 PNRSV isolates were obtained and compared with reference isolates registered in GenBank. In the comparative studies, PPV, PDV and PNRSV isolates showed 97-99%, 87-97, %96-100 similarity with GenBank reference isolates at nucleotide level respectively. As a result of phylogenetic analysis studies conducted with reference isolates, PPV, PDV and PNRSV isolates were distributed on the phylogenetic trees as expected. One of the most important outputs of the study is obtaining the first partial nucleotide sequences of peach PDV Turkey isolates. PPV strain identification studies indicated that PPV-M and PPV-D widespread in the region. While PPV-M strain is widespread in newly established gardens with high commercial value, all of the PPV isolates detected in old and traditional home gardens have been identified as PPV-D. Both the nursery capacity in Bursa province and the prevalence of PPV-M infection in seedlings strengthen the possibility of the virus spreading to different regions of the country. Therefore, it is recommended that absolute quarantine measures should be implemented in the region.

November 2020, 149 pages

Key words: Bursa, Bilecik, Bolu, PPV, PDV, PNRSV, serological, molecular, phylogenetic

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının belirlenmesinde ve son haline kadar her aşamasında yol gösteren, meslek hayatıma olan katkılarını yakından hissettiğim ve bundan sonraki hayatımda da hissetmeye devam edeceğim danışman hocam sayın Prof. Dr. Filiz ERTUNÇ'a (Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı) çok teşekkür ederim.

Tez izleme komitesinde yer alan kıymetli hocam sayın Prof. Dr. İ. Özer ELİBÜYÜK'e (Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı) değerli yönlendirmeleri ve özel katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca tez izleme komitesinin diğer üyesi, her zaman samimi desteğini yakından hissettiğim, laboratuvar olanakları ve deneyimi ile bu çalışmaya katkıda bulunan Doç. Dr. Göksel ÖZER'e (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı) yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Survey çalışmaları esnasında bana rehberlik eden Bursa İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'ne ve survey bölgesinde yer alan tüm Bursa Tarım ve Orman İlçe Müdürlükleri çalışanlarına, Bilecik Osmaneli Tarım ve Orman İlçe Müdürlüğü'ne ve ilgili teknik personele teşekkürü bir borç bilirim.

Tez savunma sınavına hazırlık aşamasında sağladığı teknik destekten ötürü kıymetli dostum Arş. Gör. Hakkı Ekrem SOYDEMİR'e ve ayrıca çalışmanın her safhasında motivasyon kaynağı olan fakültemizde görevli araştırma görevlisi arkadaşlara özellikle teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince verdiği moral ve destek ile beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sevgili eşim Betül CENGİZ ÇELİK'e sonsuz teşekkür eder ve sevgilerimi sunarım

Ali ÇELİK

Ankara, Kasım 2020

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1.GİRİŞ.....	1
2.KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
2.1 Sert Çekirdekli Bitkilerde PDV ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	6
2.1.1 PDV'nin tanımı, ekonomik önemi ve simptomatoloji.....	6
2.1.2 Dünyada PDV'de serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları.....	9
2.1.3 Türkiye'de PDV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları.....	13
2.2 Sert Çekirdekli Bitkilerde PNRSV ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	14
2.2.1 PNRSV'nin tanımı, ekonomik önemi ve simptomatoloji.....	14
2.2.2 Dünyada PNRSV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları.....	16
2.2.3 Türkiye'de PNRSV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları.....	21
2.3 Sert Çekirdekli Bitkilerde PPV ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	24
2.3.1 PPV'nin tanımı, ekonomik önemi ve simptomatoloji.....	24
2.3.2 Dünyada PPV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları.....	26
2.3.3 Türkiye'de PPV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları.....	28
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
3.1 Virüs İzolatlarının Temini.....	32
3.2 Survey Çalışmaları.....	33
3.3 Serolojik Çalışmalar.....	33

3.4 Moleküler Çalışmalar.....	35
3.4.1 Total RNA izolasyonu.....	35
3.4.2 cDNA (Komplementer DNA) sentezi.....	38
3.4.3 PCR çalışmaları.....	38
3.4.4 Agaroz jel elektroforez çalışmaları.....	39
3.4.5 Filogenetik ilişkinin belirlenmesi.....	40
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	41
4.1 Survey ve Simptomatoloji.....	41
4.1.1 Simptomlar.....	47
4.2 Serolojik Test (DAS-ELISA) Sonuçları.....	53
4.3 RNA izolasyonu ve RT-PCR Sonuçları.....	62
4.3.1 PPV PCR çalışmaları.....	63
4.3.2 PDV PCR çalışmaları.....	64
4.3.3 PNRSV PCR çalışmaları.....	66
4.4 Filogenetik İlişkinin Belirlenmesi.....	67
4.4.1 PDV izolatlarının filogenetik ilişkisi.....	68
4.4.2 PNRSV izolatlarının filogenetik ilişkinin belirlenmesi.....	77
4.4.3 PPV izolatlarının filogenetik ilişkisinin belirlenmesi.....	87
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	99
5.1 Survey ve Simptomatoloji.....	100
5.2 Serolojik test (DAS-ELISA).....	102
5.3 RNA İzolasyon Çalışmaları.....	104
5.4 Dizileme ve Filogenetik Analiz Çalışmaları.....	105
5.4.1 PDV dizileme ve filogenetik analiz çalışmaları.....	105
5.4.2 PNRSV dizileme ve filogenetik analiz çalışmaları.....	107
5.4.3 PPV dizileme ve filogenetik analiz çalışmaları.....	108
5.5 Öneriler.....	110
KAYNAKLAR.....	112
EKLER.....	129
EK 1 Dizilenen PDV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları.....	130
EK 2 Dizilenen PNRSV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları.....	134

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları.....	137
ÖZGEÇMİŞ.....	147



SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrad derece
µl	Mikrolitre
H ₂ O	Su
L	Litre
M	Molar
MgCl ₂	Magnezyum klorür
mM	Milimolar
rpm	Dakika devir
V	Volt

Kısaltmalar

ACLSV	Apple chlorotic leaf spot virus
ApMV	Apple mosaic virus
ArMV	Arabis mosaic virus
bp	Base pair (Baz çifti)
cDNA	Komplementer deoksiribonükleik asit
cm	Santimetre
CP	Coat protein (Kılıf proteini)
da	Dekar (1000 m ²)
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotidtrifosfat
ds	Double stranded (Çift iplikli)
EDTA	Ethylene diamin tetraasetik asit
gr	Gram
IC	Immuno capture
IgG	Immunoglobulin G
m	Metre
mg	Miligram

mRNA	Messenger Ribonükleikasit
NA	Nükleik Asit
NaCl	Sodyum Klorür
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ng	Nanogram
nm	Nanometre (10^{-9} m)
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
PCR	Polimerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
PDV	Prune dwarf virus
pH	power of Hydrogen (Çözeltinin asitlik bazlık seviyesi)
PNRSV	Prunus necrotic ringspot virus
ppm	Part per million (milyonda bir oran)
PPV	Plum pox virus
PVP	Polyvinylpyrrolidon
RFLP	Resrtriction fragment length polymorphism (Fragment kesimi ile polimofizm analizi)
RNA	Ribonükleikasit
RNAsin	Ribonükleaz inhibitörü
rpm	Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)
RT	Reverse transkriptaz
RT-PCR	Reverse transkriptaz- Polimeraz zincir reaksiyonu
sn	Saniye
ss	Single stranded (Tek iplikli)
TAE	Tris asetik asit
TE	Tris EDTA
TÜİK	Türkiye istatistik kurumu
UV	Ultraviyole
V	Volt
WB	Washing buffer (Yıkama solüsyonu)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 PDV genom yapısı.....	7
Şekil 2.2 PNRSV'e ait şematik genom yapısı.....	15
Şekil 2.3 PPV genom yapısı.....	24
Şekil 3.1 Survey kapsamındaki illerin haritası.....	32
Şekil 3.2 Survey kapsamında örnek toplanan lokasyonların Google Maps üzerinde işaretlenen konumları.....	33
Şekil 3.3 Örneklerin kuyucuklara yüklenmesi (a), yıkama solusyonu ile plakaların yıkanması (b), test sonucu plakalarda meydana gelen renk değişimi (c).....	35
Şekil 3.4 Örneklerin sıvı azot yardımıyla ezilmesi.....	37
Şekil 4.1 Test sonucu PDV ile enfekteli belirlenen örnekte yaprak kıvrılması ve klorotik renk değişimi (Bilecik-Osmaneli).....	47
Şekil 4.2 Bursa Kestel'de PDV enfeksiyonu belirlenen şeftali yaprağındaki klorotik lekeler (a) ve bulaşık bitkide meydana gelen bodurlaşma (b).....	48
Şekil 4.3 Osmangazi'den toplanan ve PNRSV tespit edilen bir örnekte yaprak kıvrılması ve klorotik renk değişimi (a), nekrotik saçma deliği şeklinde alanlar (b).....	49
Şekil 4.4 İnegöl'den toplanan ve PNRSV tespit edilen örneklerde yaprak kıvrılması ve kenarlarda dişlenme (a), yaprak üzerinde renk açılması (b).....	50
Şekil 4.5 Kestel ilçesinden toplanan ve PNRSV tespit edilen bir örnekte gözlenen klorotik renk değişikliği	50
Şekil 4.6 Erken dönemde PPV tespit edilen örnekte yaprak damarları etrafındaki belirtiler (Bilecik-Osmaneli).....	51
Şekil 4.7 İznik'te bir şeftali bahçesinde gözlenen ilerlemiş PPV enfeksiyonu şeftali yapraklarının genel görünümü (a,b), kloroz başlangıcı (c), kurumaya eğilim (d).....	52
Şekil 4.8 Tekrarlanan kloroform izoamil alkol uygulama aşamasından sonra tüp tabanından fenolik bileşik ve polisakkaritlerin uzaklaştırılması	62
Şekil 4.9 RNA izolasyonu sonucu ölçülen konsantrasyon değeri.....	63
Şekil 4.10 PPV pozitif örneklerden elde edilen 244 büyüklüğündeki bant görüntüsü.....	63
Şekil 4.11 PP3/PCI primer çifti ile yapılan PCR sonucu elde edilen 836 bp uzunluğunda bant görüntüsü.....	64
Şekil 4.12 PDV spesifik primer çifti ile yapılan PCR sonucu elde edilen 862 bp uzunluğundaki bant görüntüsü.....	65
Şekil 4.13 PDV spesifik primer çifti ile yapılan PCR sonucu elde edilen 862 bp uzunluğundaki bant görüntüsü.....	65

Şekil 4.14 PNRSV spesifik primerlerle yapılan PCR sonucu elde edilen 616 bp büyüklüğündeki bant görüntüsü.....	66
Şekil 4.15 PNRSV spesifik primerlerle yapılan PCR sonucu elde edilen 616 bp büyüklüğündeki bant görüntüsü.....	67
Şekil 4.16 PDV izolatlarının dünya izolatları ile filogenetik ilişkisi.....	70
Şekil 4.17 PDV şeftali izolatlarının Genbank veritabanından seçilen izolatlar ile nükleotid düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi.....	71
Şekil 4.18 PDV (şeftali) izolatlarının dünya izolatları ile aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi.....	72
Şekil 4.19 PDV şeftali izolatlarının Genbank veritabanından seçilen izolatlar ile aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi	73
Şekil 4.20 PDV (şeftali) izolatlarının diğer Türkiye izolatları ile nükleotid düzeyinde filogenetik ilişkisi.....	74
Şekil 4.21 PDV Türkiye izolatları ile nükleotid düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi.....	75
Şekil 4.22 PDV (şeftali) izolatlarının diğer Türkiye izolatları ile aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi.....	76
Şekil 4.23 PDV Türkiye izolatları ile aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi.....	77
Şekil 4.24 PNRSV izolatlarının dünya izolatları ile nükleotid düzeyinde filogenetik ilişkisi.....	80
Şekil 4.25 PNRSV şeftali izolatları ve GenBank veri tabanından seçilen izolatlar kullanılarak oluşturulan renklendirilmiş nükleotid düzeyinde benzerlik matrisi.....	82
Şekil 4.26 PNRSV izolatlarının dünya izolatları ile aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi.....	83
Şekil 4.27 PNRSV şeftali izolatları ve GenBank veri tabanından seçilen izolatlar kullanılarak oluşturulan renklendirilmiş aminoasit düzeyinde benzerlik matrisi.....	84
Şekil 4.28 Türkiye (şeftali) PNRSV izolatlarının diğer Türkiye izolatları ile nükleotid düzeyinde filogenetik ilişkisi.....	85
Şekil 4.29 Dizilenen PNRSV şeftali izolatlarının GenBank veri tabanında kayıtlı Türkiye PNRSV izolatları ile nükleotid düzeyinde oluşturduğu renklendirilmiş benzerlik matrisi.....	86
Şekil 4.30 Türkiye (şeftali) PNRSV izolatlarının diğer Türkiye izolatları ile aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi.....	86

Şekil 4.31 PNRSV şeftali izolatlar ve Genbank veri tabanında kayıtlı Türkiye PNRSV izolatları ile aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi.....	87
Şekil 4.32 Türkiye PPV izolatlarının nükleotid düzeyinde filogenetik ilişkisi.....	89
Şekil 4.33 Ülkemiz PPV izolatları ile çalışma kapsamında dizilene şeftali PPV izolatlarının nükleotid düzeyinde elde edilen renklendirilmiş benzerlik matrisi.....	90
Şekil 4.34 Türkiye PPV izolatlarının aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi.....	91
Şekil 4.35 PPV Türkiye izolatları ile çalışma kapsamında dizilene izolatların aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi.....	93
Şekil 4.36 PPV'nin tüm ırkları ile oluşturulan nükleotid düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaç.....	95
Şekil 4.37 PPV'nin dünyadan farklı ırkları ile nükleotid düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi.....	96
Şekil 4.38 PPV'nin tüm ırkları ile oluşturulan aminoasit düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaç.....	97
Şekil 4.39 PPV'nin dünyadan farklı ırkları ile aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi.....	98

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Ülkemizde şeftali üretimi açısından öne çıkan iller.....	2
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan primer bilgileri ve PCR koşulları.....	38
Çizelge 4.1 Toplanan örnekler ve gözlenen semptomlar.....	41
Çizelge 4.2 Serolojik testler sonucunda izolatlarda tespit edilen virüslerin dağılımı.....	53
Çizelge 4.3 Serolojik çalışmalar sonucunda virüslerin ilçelere göre dağılımı.....	60
Çizelge 4.4 Filogenetik analizlerde kullanılan PDV izolatlarına ait bilgiler.....	68
Çizelge 4.5 Filogenetik analizlerde kullanılan PNRSV izolatlarına ait bilgiler.....	78
Çizelge 4.6 Filogenetik analiz için seçilen PPV Türkiye izolatları ve erişim numaraları.....	88
Çizelge 4.7 Türkiye ve dünyadan seçilen farklı PPV ırkları ve erişim numaraları.....	93

1. GİRİŞ

Şeftali (*Prunus persica* L.) Rosales takımının Rosaceae familyasında bulunan, Prunoidea alt familyasına bağlı *Prunus* cinsi içerisinde yer alan ve Anavatani Çin olarak kabul edilen sert çekirdekli bir meyve türüdür (Seçmen vd. 2018). Şeftali tarımı dünyada genellikle Ekvatorial bölgede 25-45 enlemleri arasında yer alan bölgelerde yapılmaktadır (Westwood 1978). Şeftali bitkisi -23 °C ile -26 °C sıcaklıklarda etkili olan kış donlarına dayanabilmekte ve 7 °C'nin altında yaklaşık olarak 1.000-1.200 saat soğuklama ihtiyacı duymaktadır (Demirören 1992). Şeftali meyvesi A ve C vitaminleri bakımından zengin bir meyve olup lif bakımından da besin değeri oldukça yüksektir (Manzoor vd. 2012). Ayrıca potasyum, antosiyanin, flavonoid gibi fitokimyasallar bakımından da oldukça zengin bir meyvedir (Saidani vd. 2017, Polatçı vd. 2018). Şeftali meyvelerinin çeşitli antioksidanların doğal kaynağı oldukları bildirilmiştir (Zhao vd. 2015). Şeftalinin stres ile mücadelede (Sun vd. 2002) şeker hastalığı, kanser ve dolaşım sistemi ile ilgili sağlık sorunlarına karşı düzenli kullanımda fayda sağladığı bildirilmiştir (Vinholes vd. 2016). Şeftali, hazır olarak tüketilmesinin yanı sıra Yunanistan, İspanya, ABD ve İtalya'da gibi ülkelerde sanayi ürünü olarak da kullanılmaktadır (Ünek 2015). Ayrıca ülkemizde de azımsanmayacak ölçüde sanayide şeftali alt ürünlere işlenmektedir. Sanayide çeşitli uygulamalar sonrası meyve şurupları, meyve salataları, meyve suyu, meyveli yoğurt gibi işlenmiş ürünler ortaya çıkmaktadır. (Bassı ve Pirazzoli 1998).

Dünyada şeftali ve nektarin üretimi bakımından Çin yaklaşık 14 milyon ton üretim değeri ile ilk sırada yer almakta iken global ölçekte dünya şeftali üretimine bakıldığında 2007 yılında yaklaşık 20 milyon ton olan üretimin, 2017 yılının sonlarına doğru 25 milyon tona yaklaştığı görülmektedir (İlgin ve Yüce 2019). Dünyanın 80'den fazla ülkesinde yetiştiriciliği yapılan şeftali ve nektarinin en önemli üreticisi olan Çin'i, İspanya, İtalya, Yunanistan, ABD ve Türkiye sırasıyla takip etmektedir (İkinci ve Bolat 2018).

Tropikal iklimde yetiştiriciliği yapılan şeftali, meyve türleri arasında ıslah çalışmalarının en fazla yapıldığı türlerden birisi olup global ölçekte ise 4.000'den fazla şeftali ve nektarin çeşidinin yer aldığı bildirilmiştir (Huang vd. 2008). Yapılan ıslah çalışmaları sonucunda şeftali yetiştiriciliğinin günümüzde tropikal ve subtropikal bölgelerde

yapılabildiği bildirilmiştir (İkinci ve Bolat 2018). Şeftalinin ıslahı ve farklı iklim koşullarına adaptasyonu üzerine dünyada çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Dumitru vd. 2002, Tsipouridis vd. 2002, Papanikolaou vd. 2005, Carter vd. 2006, Rakonjac ve Živanović 2008, Cline ve Norton 2012) ve Türkiye’de (Kaşka ve Küden 1988, Kaşka vd. 1992, Önal ve Ercan 1992, Küden vd. 1995, Küden vd. 1997, Tosun vd. 2001, Ercan ve Özkarakaş 2003, Evliyaoğlu ve Ferhatoğlu 2003, Güven vd. 2007, Polat vd. 2010, Gür vd. 2011, Polat ve Çalışkan 2011, Gerçekçioglu vd. 2014).

Ülkemiz sahip olduğu jeopolitik konumu ve iklim çeşitliliği sayesinde pek çok meyve sebze türünün tarımının yapılabildiği nadir ülkeler arasında yer almaktadır. Türkiye’de TÜİK (2019) verilerine göre yaklaşık 379.424 da alanda 685.973 ton şeftali üretimi yapılmaktadır (Anonim 2020). Ülkemizde şeftali üretimi açısından öne çıkan iller çizelge 1.1’de yer almaktadır.

Çizelge 1.1 Ülkemizde şeftali üretimi açısından öne çıkan iller.

İl	Üretim miktarı (ton)	Dikili alan (da)
Çanakkale	126.487	49.039
Mersin	113.795	53.645
Bursa	109.916	65.165
İzmir	74.200	40.746
Denizli	52.581	28.053
Aydın	24.625	9.192
Sakarya	17.558	8.629
Manisa	16.708	12.356
Antalya	15.482	19.487
Bilecik	14.158	20.826

Şeftali yetiştiriciliğinde verim ve kaliteyi kısıtlayıcı biyotik (virüs, viroid, fitoplazma, bakteri, fungus, zararlılar) ve abiyotik (besin elementi eksikliği, iklimsel faktörler, toprak yapısı, hatalı tarımsal işlemler) birçok faktör bulunmaktadır. Üretimi kısıtlayan fungal hastalıklardan bazıları, Monilya (*Monilinia fructicola*), yaprak lekesi (*Cladosporium carpophilum*), şeftali yaprak kıvrıcıklığı (*Taphrina deformans*), beyaz çürüklük (*Botryosphaeria dothidea*), külleme (*Sphaerotheca pannosa*), *Phytophthora* kök çürüklüğü (*Phytophthora* spp.), *Armillaria* kök çürüklüğü (*Armillaria* spp.) olarak bilinirken bakteriyel hastalıklardan kök uru (*Agrobacterium tumefaciens*), bakteriyel yaprak lekesi (*Xanthomonas campestris* pv. *pruni*), bakteriyel kanser (*Pseudomonas* spp.) olarak ön plana çıkmaktadır (Anonymous 2019a). Şeftalide hastalık oluşturan birçok virüs, viroid ve fitoplazma hastalık etmenleri tanımlanmıştır. Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV), Plum pox virus (PPV), Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV), Prune dwarf virus (PDV) ve Apple mosaic virus (ApMV) etmenleri şeftaliyi enfekte eden 5 ana virus olarak ön plana çıkmaktadır (Hadidi vd. 2011, Yu vd. 2013a). Viral patojenlerin yanı sıra şeftalide enfeksiyon oluşturabilme yeteneğinde bazı virodiler de bulunmaktadır. Şeftali patojeni viroidler arasında Peach latent mosaic viroid (PLMVd) ve Hop stunt viroid (HSVd) rapor edilmiştir (Hadidi vd. 2011).

Sert çekirdekli meyvelerin önemli virüsleri arasında yer alan PDV, şeftali, kiraz, vişne, kayısı ve erik gibi diğer *Prunus* türlerini enfekte etme yeteneğinde olan bir RNA virüsüdür (Nemeth 1986). Genom, %14 oranında nükleik asitten ve %86 proteinden oluşmakta ve örtü protein bölgesi yaklaşık 24 kDa'dır (Brunt vd. 1996). PDV'nin de yer aldığı Bromoviridae familyası üyesi virüsler 3 parçalı, pozitif duyarlılıkta tek sarmal RNA'dan oluşmaktadır (Kozieł vd. 2017). Ayrıca virüs replikasyonu esnasında RNA-4 olarak tanımlanan ve kılıf proteinin sentezinden sorumlu bir alt genomik sınıflandırma da yapılmaktadır. Bromoviridae üyelerinin bir başka özelliği enfekte olmuş hücrelerde yüksek konsantrasyonda yapısal olmayan serbest kılıf proteini yapılarının oluşmasıdır (Kozieł vd. 2017).

PDV aşısı, polen ve tohumla bulaşmakta ve genel belirtiler klorotik halka şeklinde lekeler şeklinde kendisini göstermektedir (Proebsting vd. 1995). PDV belirtileri konukçunun türü, sıcaklık, virüsün genetik özellikleri başta olmak üzere çeşitli

faktörlerden etkilenmesine rağmen yaygın olarak görülür (Diekmann ve Putter 1996). Sutic vd. (1999)' a göre genelde PDV ile enfekte olan ağaçlar küçük ve dar ya da kıvrılmış yapraklara, kısa internodlara ve özellikle kiraz ve vişne yaprakları klorotik halka lekelerine sahip olur. PDV'nin genellikle yapraklar dışındaki bitki organlarını enfekte etmediği bildirilse de PNRSV ile karışık PDV enfeksiyonu olan ağaçlar, azalmış sayıda meyve tomurcuğuna sahiptir ve yapraksız sürgünler oluşturur (Kunze 1988).

Başta şeftali olmak üzere erik, kayısı, badem, kiraz, vişne diğer sert çekirdekli meyveler PNSRV'nin ana konukçuları arasında yer almaktadır (Sokhandan-Bashir vd. 2017). Birçok *Prunus* ve *Rosa* türlerini enfekte eden virüs Bromoviridae familyasında yer alan *Iarvirus* cinsine aittir (Pallas vd. 2012). PNRSV üç parçalı genomdan oluşan pozitif duyarlılıkta tek sarmal RNA yapısında olup RNA-1 ve RNA-2 bölgelerinde virüs replikasyonu ile ilgili proteinlerin sentezi gerçekleşirken RNA-3 genomunda hareket proteini ve örtü proteini sentezlenmekte ve örtü proteini sentezinden sorumlu gen bölgesi farklı bir alt alt grup olarak ele alınıp sgRNA-4 adı altında incelenmektedir (Sokhandan-Bashir vd. 2017). PNRSV polen, tohum ve yayılma materyali tarafından taşınabilmektedir (Fiore vd. 2008). Konukçusu üzerinde nekrotik ve klorotik halkalar ile mozaik şekilli klorozlar meydana getiren etmen, konukçusunda hiçbir belirti vermeden latent olarak da bulunabilir (Sokhandan-Bashir vd. 2017). Konukçu türü, virüs tipi, iklim koşulları gibi sebepler PNRSV enfeksiyonun latent kalmasına neden olabilir. PNRSV, klorotik sarı çizgilerden, mozaik lekeler, ve deliklere yol açabilir. Kirazlarda tomurcuk ölümü, enfeksiyondan sonra düşük tomurcuklanma, meyvede olgunlaşmanın gecikmesi, meyve üzerinde soluk lekeler ve kayısıda soluk halkalar şeklinde kendini gösterebilir. Genel olarak PNRSV enfeksiyonu ilk yılda (akut) olarak ortaya çıkar ve sonrasında enfeksiyon latent olarak seyreder (Nyland vd. 1976, Wells ve Kirkpatrick 1986). Enfekte olmuş kiraz ağaçlarında yapraklar küçülür ve dağınık klorotik halkalar zamanla kuruyarak dökülebilir (Uyemoto ve Scott 1992).

Şarka olarak bilinen PPV, sert çekirdekli meyve ağaçlarının önemli bir viral sorunudur (Nemeth 1986). Hastalık etmenin doğal konukçuları kayısı, şeftali, badem, erik, vişne gibi sert çekirdekli meyve ağaçlarıdır (Thompson vd. 2001). Hastalık belirtileri Dunez ve Sutic (1987) tarafından detaylı olarak ortaya konulmuştur. İlkbaharda yapraklar üzerinde

açık klorotik lekeler, bantlar veya halkalar, damarlarda renk açılması, hatta şeftalilerde yaprak deformasyonu şeklindedir. Enfekte meyvelerde ise klorotik lekeler veya halkalar göstermekte olup, hastalıklı erik ve kayısı meyvelerinde anormal şekil değişiklikleri, meyve etinin esmerleşmesi ve çekirdeklerde soluk halkalar veya lekeler meydana gelmektedir. İlk tespitinden bu yana virüs birçok ülkeye yayılmıştır. Çeşitli çalışmalarda virüsün ABD'de (Levy vd. 2000), Kanada'da (Thompson vd. 2001), Kazakistan'da (Spiegel vd. 2004a), Çin'de (Navratil vd. 2005) ve Arjantin (Dal Zotto vd. 2006) gibi dünyanın çeşitli bölgelerinde görülmesi, ilk tespitinden 100 yıl sonra bile, PPV'nin yayılımı ve veya dağılımında bir artış olduğu anlamına gelmektedir. PPV 750 nm uzunluğunda ve 15 nm çapında tek iplikçikten oluşan bir RNA virüsüdür. RNA genom büyüklüğü yaklaşık 10 kb olup, P1, HCPro, P3, 6K1, CI, 6K2, NIa-VPg, NIaPro, NIb ve CP proteinlerinden oluşmaktadır (Salvador vd. 2008). Günümüzde M (Marcus), D (Dideron), C (Cherry), EA (El Amar), T (Turkey), W (Winona), CR (Cherry Russian), AM (Ancestor Marcus), CV ve Rec (Recombinant) olmak üzere PPV'nin farklı ırkları tanımlanmıştır (Palkovics vd. 1993, Nemchinov vd. 1996, Glasa vd. 2004, James ve Varga 2005, Myrta vd. 2006, Ulubaş Serçe vd. 2009b, Palmisano vd. 2012, Glasa vd. 2013, Chirkov vd. 2017). Türkiye'de PPV ile ilgili ilk çalışmalar Şahtiyancı (1978) tarafından yapılmıştır. Ülkemizde özgü olan PPV-T ırkı ise bugüne kadar sadece Türkiye'de tespit edilmiştir (Ulubaş Serçe vd. 2009b). Ulubaş Serçe vd. (2009b), Ankara ilinden izole ettikleri virüsün nükleotid dizilimini belirleyip, bu ırka T (Türkiye) adını vermişlerdir.

Bu tez çalışmasında yoğun olarak şeftali yetiştiriciliğinin yapıldığı Bursa, Bilecik ve Bolu illerinden virüsle enfekteli olduğu değerlendirilen bitki kısımları toplanmış ve şeftalide yaygın olarak görülen PPV, PDV ve PNRSV virüslerinin varlığı ve yaygınlığı araştırılmıştır. Serolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda tespit edilen virüslerin kısmi genom yapıları ortaya çıkarılarak ülkemiz ve dünya referans izolatları ile filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

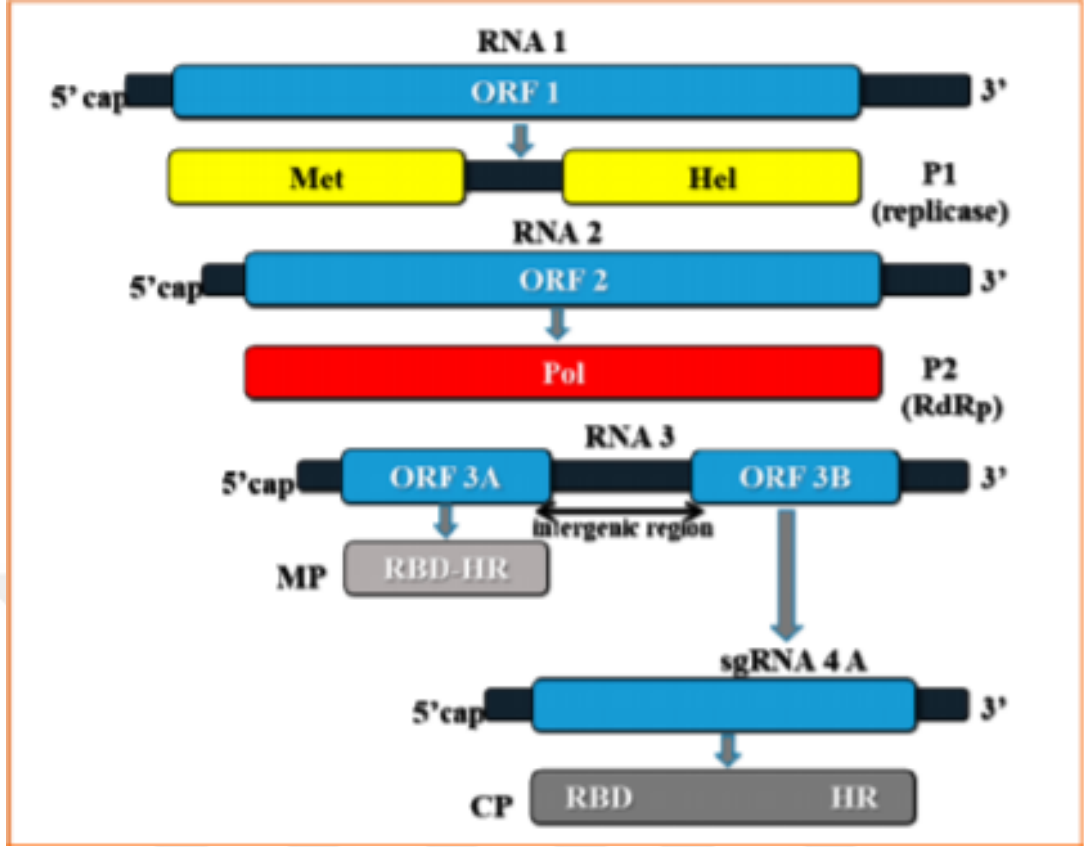
2.1 Sert Çekirdekli Bitkilerde PDV ile İlgili Yapılan Çalışmalar

2.1.1 PDV'nin tanımı, ekonomik önemi ve simptomatoloji

PDV ilk kez Avrupa'da 1936 yılında Thomas ve Hildebrand adlı iki araştırmacı tarafından sert çekirdekli cüceleşmesi olarak adlandırılmıştır (Brunt vd. 1996).

Çeşitli taksonomik gruplardan sert çekirdekli meyveleri enfekte edebilen 30'dan fazla virüsün olduğu bildirilmiştir. Bu virüsler arasında yer alan PDV, Bromoviridae familyası *Illavirus* genusu içerisinde yer almakta ve sert çekirdekli meyve ağaçlarının (kiraz, vişne, şeftali, erik, badem) ekonomik açıdan en önemli virüslerinden biri olarak kabul edilmektedir. Virüs mekanik inokulasyon, aşı, üretim materyali nakli ve polen ile yeni konukçulara yayılabilmektedir. (Nemeth 1986).

PDV genomunda RNA-1 3.374 nükleotidden oluşan ORF-1 olarak tanımlanan tek bir okuma çerçevesi bulunduran ve yapısal olmayan protein PI (replikaz kodlama bölgesi) içermektedir (Şekil 2.1). RNA-1'e benzer olarak RNA-2 bölgesi ORF-2 olarak adlandırılan bir okuma çerçevesine sahip olup 2.593 nükleotidden meydana gelmektedir (Scott vd. 1998). RNA-1 ve RNA-2'nin aksine RNA-3 molekülü dicistronik yapıya sahip olup 2.129 nükleotidden meydana gelmektedir (Bachman vd. 1994).



Şekil 2.1 PDV genom yapısı (Kozielec vd. 2017)

Scott vd. (1998), PDV ve PNRSV'nin birlikte enfeksiyonları sonucunda meydana gelebilecek verim kaybının %60'lara kadar çıkabileceğini bildirmiştir.

Sert çekirdekli meyvelerin önemli bir viral hastalık etmeni olan PDV'nin ApMV ve PNRSV ile bitkilerde karışık enfeksiyon halinde olabileceği bildirilmiştir. PDV'nin yayılımında aşı, polen ve üretim materyalinin etkin bir rol oynadığı bildirilmiştir (Fonseca vd. 2005).

Sert çekirdekli tarımının yapıldığı yerlerde PDV enfeksiyonu yoğun olarak gözlenmekte olup, özellikle bulaşık kiraz ve vişne bitkilerinde ciddi oranda verim ve kalite kayıplarının görülebileceği bildirilmiştir (Myrta ve Savina 2005).

PDV ile bulaşık bitkilerin bazen simptomsuz seyrebileceği fakat vişne ve kirazda simptom görülme olasılığının yüksek olduğu görülmüştür. Bu simptomların kiraz yapraklarında klorotik lekeler şeklinde olabileceği bildirilmiştir (Massart vd. 2008).

Onyeddi yaşındaki şeftali ağaçlarından toplanan örneklerde PNRSV ve PDV enfeksiyonunun görüldüğü bitkilerin klorotik lekeler, damarlarda renk açılması, nekrotik alanlar ve bodurlaşma belirtileri sergiledikleri bildirilmiştir (Zindović vd. 2013).

PDV'nin hücreden hücreye yayılımında plazmodesmatolar yoluyla viral replikasyon veya hücreden hücreye hareket düzenlenmesinde rol oynayan ana bileşenler hala bilinmemektedir. PDV, geniş bir yelpazedeki bitki konakçılarında doğal savunma mekanizmalarının üstesinden gelme konusunda büyük bir yeteneğe sahip olduğu ve PDV enfeksiyonunun ilk belirtileri, spesifik hücre zarı değişiklikleri ve hücreler içerisinde PDV RNA replikasyonunu destekleyen replikaz komplekslerinin oluşumu olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte yaşam döngüsünün her aşamasında virüsün, bitki bünyesinde yayılmak için hücre bileşenlerini kullandığı bildirilmiştir (Kozielec vd. 2017).

Ilarvirus generi içerisinde 2016 yılında bazı güncellemeler yapılmış olup, generi içerisinde American plum line pattern virus (APLPV), Apple mosaic virus (ApMV), Asparagus virus 2 (AV-2), Blackberry chlorotic ringspot virus (BCRV), Blueberry shock virus (BShV), Citrus leaf rugose virus (CiLRV), Citrus variegation virus (CCV), Elm mottle virus (EMoV), *Fragaria chiloensis* latent virus (FCILV), *Humulus japonicus* latent virus (HJLV), Lilac leaf chlorosis virus (LLCV), Lilac ring mottle virus (LiRMoV), Parietaria mottle virus (PMoV), Prune dwarf virus (PDV), Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV), Spinach latent virus (SpLV), Strawberry necrotic shock virus (SNSV), Tobacco streak virus (TSV), Tulare apple mosaic virus (TaMV) virüsleri yer almaktadır. PDV'e benzer olarak bu generi içerisindeki virüsler de vejetatif yolla, polenle ve tohumla taşınmaktadır. (Anonymous 2019b).

Etmen ile bulaşık bitkilerde kıvrılmış yapraklar, kısa internodların görülebileceği bildirilmiş özellikle kiraz ve vişnede klorotik halkaların belirgin bir şekilde ortaya çıkabileceği rapor edilmiştir (Kamenova vd. 2019).

2.1.2 Dünya’da PDV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları

PDV 19-26 nm yuvarlak partiküller içeren 73 nm büyüklüğünde tek sarmal RNA yapısında ve basil şeklindedir. Bromoviridae familyasından *Ilarvirus* genusu içerisinde yer alan PDV’nin kılıf protein molekül ağırlığı 24 kDa büyüklüğündedir. Viral partikül %14 RNA içermektedir (Brunt vd. 1996).

İlk olarak, Kanada’da kirazdan elde edilen bir izolattan RNA-1 genomu dizilenmiştir (Rampitsch ve Eastwell 1997). Yapılan dizileme çalışması PDV’e ait ilk detaylı verileri içermektedir.

Vašková vd. (2000)’e göre Orta Avrupa’da erik, kiraz ve şeftali ağaçlarından elde edilen PDV’e ait 11 izolatının kılıf protein geninin sekans dizisi belirlenmiştir. Tüm izolatların karşılaştırılması sonucunda, kılıf protein geninin yüksek (%88) oranda korunan bir bölge olduğu belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda amino asit süstitüsyonları ve konukçu tür ve izolatların coğrafi kökenleri arasında makul bir ilişki gözlenmemiştir. Diğer ilarvirüslerin kılıf protein genleri ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda, PDV genomunun en çok, Apple mosaic virus (ApMV), Elm mottle virus (EMoV), Lilac ring mottle virus (LiRMoV) ve Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV) ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Badem bitkilerinde PDV ve PNRSV’nin varlığını tespit etmek için yürütülen bir çalışmada 175 badem ağacında virüs varlığı DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemlerinin karşılaştırılması amacıyla 3 yıl boyunca testlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda RT-PCR tekniğinin ELISA’ya göre daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. RT-PCR’ın vejetasyonun herhangi bir döneminde PDV tespitinde büyük avantaja sahip olduğu belirlenmiştir (Mekuria vd. 2003).

Fonseca vd. (2005) badem bitkisinden elde ettikleri PDV’nin 12 izolatının kılıf protein bölgesinin dizisini ortaya çıkarmışlardır. Aynı bölgede farklı sert çekirdekli konukçulardan izole edilen diğer PDV izolatları ile karşılaştırıldığında PDV’nin çok

yüksek genetik varyans gösterdiği tespit edilmiştir. Hedef bölgedeki yüksek çeşitliliğe rağmen kılıf protein bölgesinin N terminus ucunda amfipatic bir bölge olduğu ve bu bölgenin viral bağlanma ile ilgili olduğu belirtilmiştir. Yapılan genetik farklılık analizleri sonucunda bademden izole edilen 13 izolatın ve diğer sert çekirdekli konukçulardan elde edilen 14 izolatın birbirinden yüksek derecede farklı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu farklılık içerisinde badem izolatlarının kendi aralarında oldukça yüksek nükleotid farklılıkları oluşturduğu görülmüştür. Bu farklılığın badem izolatları ile diğer sert çekirdekli konukçulardan elde edilen izolatlar arasında tarımsal faaliyetlerden kaynaklı olabileceği tartışılmıştır.

PDV genomunda evrimsel değişikliği incelemek amacıyla uluslararası veri tabanlarından 31 adet PDV dizisi Tunus'dan elde edilen yeni bir PDV izolatı da kullanılarak incelenmiştir. İki farklı rekombinasyon analiz programının kullanıldığı çalışmada 15 virüsün kılıf proteini bölgesinde bazı rekombinasyonlar belirlenmiştir. MEGA 4 programı ile genom üzerinde bazı insertion/deletion bölgeleri tespit edilmiştir (Boulila 2009).

Sert çekirdekli meyvelerde PDV varlığını tespit etmek amacıyla one step RT-PCR ve real-time PCR yöntemleri geliştirilmiştir. Farklı konukçu ve bölgelerde elde edilen 55 izolatın kullanıldığı çalışmada çeşitli tanılama yöntemlerinin duyarlılıkları karşılaştırılmıştır. Virüsün dokulardaki yoğunluğunun belirlenebilmesi için geliştirilen real-time PCR yönteminde referans gen ailesi olarak 18s ribozomal RNA ve actin genleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda birden fazla housekeeping gen ailesinin kontrol olarak kullanılmasının daha doğru sonuçlar vereceği bildirilmiştir (Jarošová ve Kundu 2010).

2006-2008 yıllarında Çek Cumhuriyeti'nde PDV ve PNRSV enfeksiyonlarının varlığını belirlemek için yapılan survey çalışmalarında 1438 hastalıklı bitki örneği toplanmıştır. Yapılan serolojik çalışmalar sonucunda toplam enfeksiyonun %17,7 olduğu belirlenmiş ve %10,9 oranında PDV enfeksiyonuna rastlanırken %6,3 PNRSV enfeksiyonu saptanmıştır (Suchá ve Svobodová 2010).

PDV'nin serolojik olarak tespiti için yapılan bir çalışmada 1 Almanya, 7 İtalya, 13 Polonya ve 1 adet Amerika izolatı serolojik değişkenlikleri ortaya koyabilmek amacıyla

testlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre virüsün 13 farklı serolojik karakter sergilediği tespit edilmiştir (Paduch-Cichał vd. 2011a).

2011 ve 2012 yıllarında, İran'ın Charmahal-va-Bakhtiari eyaletinin sert çekirdekli bahçelerinde PDV'nin tespiti için 251 yaprak örneği toplanmıştır. DAS-ELISA testi ile serolojik olarak PDV varlığını tespit edildikten örneklerden total RNA ekstre edilerek PDV'nin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Toplam 251 örneğin 181'inde serolojik ve iki aşamalı RT-PCR analizleri kullanılarak PDV enfeksiyonu doğrulanmıştır. Bu çalışma Charmahal-va-Bakhtiari bölgesinde sert çekirdekli meyve bahçelerinde PDV'nin ilk raporu olma özelliğindedir (Soltani vd. 2013).

Çin'deki kiraz bahçelerinde PNRSV ve PDV varlığını araştırmak için virüs hastalığına benzer belirtiler gösteren toplam 57 yaprak örneği toplanmıştır. CTAB bazlı bir yöntemle elde edilen total RNA ile kurulan RT-PCR testleri sonucunda, 57 örneğin 34'ünde PNRSV (%59,6) ve 27'sinde PDV (%47,4) tespit edilmiştir. Örneklerin 22'sinin aynı anda her iki virüs tarafından da enfekte edildiği ve bitkilerde yapısal bodurluk, kısalmış boğum araları ve meyve çatlaması gibi belirtiler görülmüştür (Zong vd. 2013).

Kılıf protein bölgesinin tüm dizisinin elde edilmesinin amaçlandığı bir çalışmada 23 izolat farklı sert çekirdekli meyvelerden izole edilmiş izolatlar, GenBank'da yer alan 57 referans izolat ile karşılaştırılmıştır. Tüm sekanslı virüs izolatlarının karşılaştırılması, nükleotit seviyesinde %86-100 ve aminoasit seviyesinde %79-100 benzerlik göstermiştir (Kalinowska vd. 2014).

Çeşitli *Prunus* spp. türlerinde enfeksiyon oluşturmuş PDV genom çalışmalarında genellikle kılıf proteini bölgesi üzerinden çalışmalar yapılmış olup son zamanlarda virüsün hareket proteini sentezinden sorumlu gen bölgesi üzerine bazı çalışmalar da yapılmaktadır. Bu çalışmada kılıf protein bölgesinden farklı olarak RNA-3 üzerinde yer alan hareket proteinine özgü primer dizayn etmek suretiyle virüsün moleküler karakterizasyonunu ortaya koyulmuştur. Çalışmada yeni dizayn edilen primer çiftinin daha yüksek polivalense sahip veriler ürettiği tespit edilmiştir. İzolatların kısıtlı bir coğrafi bölgeden elde edilmesine rağmen, elde edilen dizilerin izolatlar arasında yüksek

derecede farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan değerlendirmeler neticesinde konukçu ve coğrafi farklılıklar açısından önemli değişkenlik gözlemlenmemiştir. Veriler PDV'nin genetik çeşitliliğinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. (Predajna vd. 2017).

Kinoti vd. (2018) tarafından Avustralya'da *Prunus* türlerinde yürütülen bir çalışmada 127 adet virüsle bulaşık olduğu düşünülen örnek toplanmış ve ApMV ve PDV varlığı açısından testlenmiş, 4 adet ApMV 10 adet PDV izolatu tespit edilmiştir. Yapılan dizileme çalışmaları sonucunda PDV ve ApMV izolatlarının filogenetik analizleri yapılmış ve dünya izolatları ile olan ilişkileri ortaya konulmuştur.

Bulgaristan'ın altı bölgesinde 10 noktada 43 ticari ve 3 koleksiyon kiraz ve vişne bahçesinde PDV sürveyleri yapılmıştır. Virüs benzeri simptomlar gösteren ve göstermeyen 2090 ağaçtan alınan yaprak örnekleri PDV enfeksiyonu için DAS-ELISA ile test edilmiştir. Kiraz ve vişnede ortalama PDV enfeksiyonu seviyesi %14,4 olarak belirlenmiş %92,4'ünde PDV tek patojen iken %7,6'sında PNRSV ile karışık enfeksiyon şeklinde görülmüştür. Simptomları PDV enfeksiyonu ile ilişkilendirmek için görsel gözlemler yapılmış, Enfekte ağaçların %56,2'sinde PDV semptomları varken, %43,8'inde herhangi bir simptoma rastlanmamıştır. Dört bölgeden 14 izolatın 654 nükleotidten oluşan kılıf proteini (CP) dizileri belirlenmiştir. Nükleotid ve aminoasit sekans karşılaştırmaları referans izolatlar ile sırasıyla %87-100 ile %93-100 benzerlik göstermiştir. Bulgaristan'dan PDV izolatlarının kılıf proteini genlerinin ve GenBank veri tabanından elde edilen 38 kiraz izolatının kılıf proteini genlerinin nükleotid ve amino asit dizileri ile oluşturulan filogenetik analizler, sırasıyla üç ve iki filogenetik grubun varlığını göstermiştir. Çalışılan izolatların filogenetik gruplaması ile enfekte ağaçların ve/veya örnekleme bölgesinin simptomları arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir (Kamenova vd. 2019).

2.1.3 Türkiye’de PDV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi deneme alanlarında yer alan badem bitkisinde viral enfeksiyonlar araştırılmıştır. Yapılan çalışmada 222 örnek DAS-ELISA yöntemi ile olası virüslerin varlığı açısından testlenmiştir. Testlenen örnekler arasında PDV enfeksiyonuna rastlanmamıştır (Öztekin 2006).

Türkiye’den 10 PDV izolatının kılıf protein bölgesinden 657 nükleotid uzunluğunda diziler elde etmek suretiyle filogenetik analiz gerçekleştirilmiştir. Dünya referans izolatları ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda izolatların 4 grup altında dağılım gösterdikleri görülmüştür. Konukçularına göre izolatlar cherry I, cherry II, mixed and almond olarak sınıflandırılmıştır (Ulubaş Serçe vd. 2009a).

Bademde sert çekirdekli virüslerin tespitine yönelik yapılan bir çalışmada Trakya Bölgesi’nden toplanan 418 bitki örneğinde yapılan serolojik testler sonucunda %4,3 oranında PDV enfeksiyonu tespit edilmiştir (Karabacak 2012).

Türkiye’de Isparta ilinde yürütülen bir çalışmada 142 farklı bahçeden 521 kiraz örneği toplanmıştır. DAS-ELISA ve RT-PCR çalışmaları sonucunda 37 örneğin PDV ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Seçilen 21 izolattan elde edilen amplikonlar dizilenmiş ve sekanslar referans izolatlar ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Isparta PDV izolatlarının, referans izolatlar ile nükleotid ve aminoasit düzeyinde sırasıyla %84- 99 ve %81-100 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Farklı konukçulardan ve coğrafi bölgelerden elde edilen izolatlarla oluşturulan filogenetik analizler sonucunda izolatların konukçu ve coğrafi konum açısından herhangi bir anlamlı gruplanma oluşturmadığı görülmüştür (Öztürk ve Çevik 2015).

Niğde ilinde yürütülen bir çalışmada kiraz üretim alanları PDV varlığı açısından taranmıştır. Yapılan moleküler düzeyindeki çalışmalar sonucunda toplanan 90 örnekten hiçbirinde PDV enfeksiyonuna rastlanmamıştır (Sajd 2018).

Bademde bazı sert çekirdekli virüslerin varlığının mevsimsel takibi üzerine yürütülen bir çalışmada belirli periyotlar arasında toplanan örnekler serolojik yöntemler ile testlenmiştir. Çalışma sonucunda PDV için en uygun örnek toplam zamanının erken ilkbahar olduğu bildirilmiştir. Ayrıca araştırma sonucu güz aylarında da serolojik testlerde yüksek absorban değerinin alındığına işaret etmiştir (Yegül ve Baloğlu 2019).

Bursa ili şeftali üretim alanlarında görülen sert çekirdekli virüslerin tespiti amacıyla yürütülen bu tez çalışmasında Bursa ilinden 460 adet şeftali yaprağı toplanmış ve PDV enfeksiyon oranının yaklaşık %4 olduğu tespit edilmiştir. Yapılan moleküler karakterizasyon ve dizileme çalışmaları ile Türkiye şeftali PDV izolatlarına ait ilk kısmi nükleotid dizileri elde edilmiştir. GenBank'ta kayıtlı referans izolatlar ile yapılan filogenetik analiz çalışmaları konukçu ve coğrafik orijin farklılıkları açısından izolatlar arasında herhangi bir filogenetik ilişkinin olmadığını göstermiştir (Çelik ve Ertunç 2020).

2.2 Sert Çekirdekli Bitkilerde PNRSV ile İlgili Yapılan Çalışmalar

2.2.1 PNRSV'nin tanımı, ekonomik önemi ve simptomatoloji

PNRSV ilk olarak 1941 yılında şeftalide rapor edilmiştir (Cochran vd. 1941). Badem, kayısı, şeftali, erik, vişne ve kiraz gibi sert çekirdekli bitkilerin yanı sıra güller de bu virüsün konukçusu arasına yer almaktadır (Nemeth 1986).

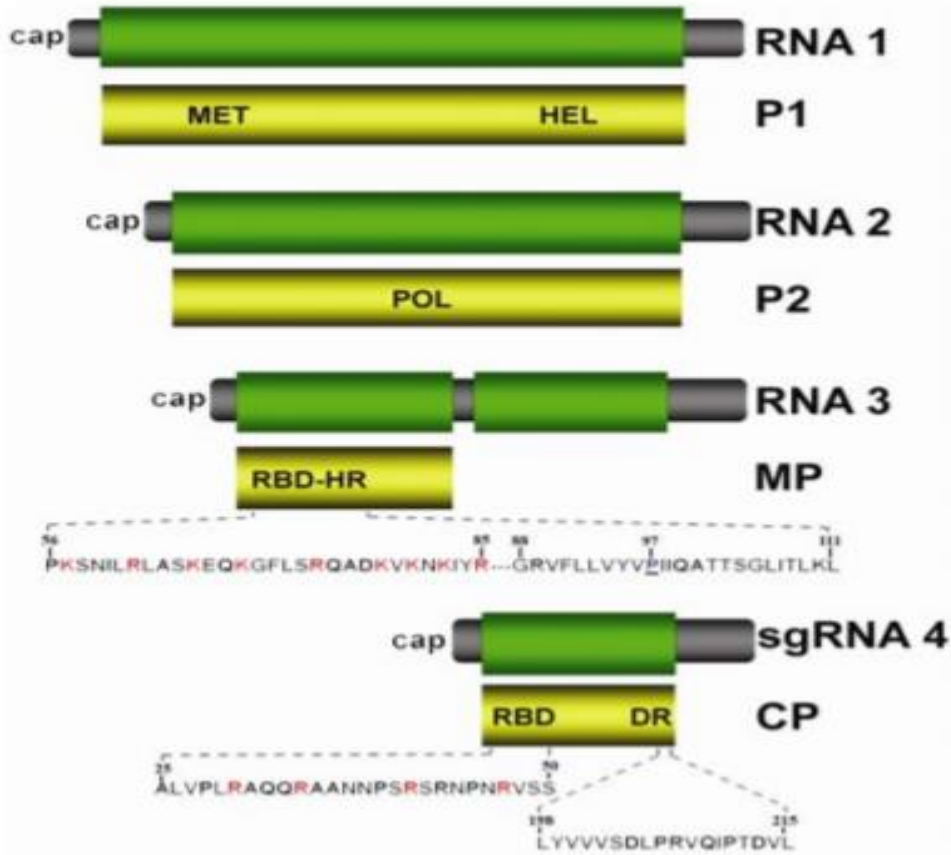
PNRSV, Bromoviridae familyası içerisinde bulunan *Ilarvirus* genusunda yer alan 3 parçalı, pozitif duyarlılıkta tek sarmal RNA'ya sahip sert çekirdekli meyvelerde %20-56 düzeyinde zarar meydana getiren viral bir patojendir. PNRSV konukçuya bağlı olarak %15-100 arasında verim kayıplarına yol açabilmektedir (Uyemoto ve Scott 1992).

Virüsün genom yapısı üzerindeki çeşitliliğin konukçu türü, simptomlar, iklim koşulları ve virüsün serolojik özelliklerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir (Glasa vd. 2002, Spiegel vd. 2004b).

RNA-1 ve RNA-2 sırasıyla P1 ve P2 replikaz proteinlerini kodlarken, bicistronik özellikte olan RNA-3 ve alt genomik yapı olarak değerlendirilen RNA-4 bölgeleri ise sırasıyla hareket proteininden ve kılıf proteininden sorumlu bölgelerdir (Bol 2005) (Şekil 2.2).

PNRSV'nin yeni konukçulara polenle, üretim materyali ile ve kültürel faaliyetler esnasında yayıldığı bilinmektedir (Fiore vd. 2008).

PNRSV, başta kayısı, şeftali, erik ve nektarin olmak üzere birçok sert çekirdekli meyve türünde hastalık meydana getiren bir viral patojendir. PNRSV'den kaynaklı verim ve kalite kayıplarının ürün türüne bağlı olmak şartıyla değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Bazı konukçularda enfeksiyon latent seyredebilir. Latent seyretmeyen durumlarda ise meydana gelen belirtiler kirazda mozaik renk değişimi, saçma deliği şeklinde nekrotik alanların varlığı olarak gözlenmektedir (Oliver vd. 2009).



Şekil 2.2 PNRSV'e ait şematik genom yapısı (Pallas vd. 2012)

2.2.2 Dünyada PNRSV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları

PNRSV, patojenik, biyofiziksel ve serolojik özelliklerinde çok çeşitli suşlar veya izolatlar olarak ortaya çıkmaktadır. Fiziksel özelliklere dayalı patotipleri ayırt etmek için yapılan önceki girişimler başarılı olmamıştır. Bu çalışmada izolatları ayırt edebilecek moleküler özellikleri incelenmiştir. Kirazda serolojik olarak farklılık gösteren yedi ayrı PNRSV izolatının RNA-3'ten türetilmiş 1,65 kbp büyüklüğünde sekans dizileri elde edilmiştir. ORF 3a (hareket proteini) ve ORF 3b'nin (kılıf proteini) dizi karşılaştırmaları, seroloji ve semptom tipleri (patotipler) ile güçlü korelasyon gösteren tek nükleotid ve amino asit farklılıklarını ortaya koymuştur. Serotipler ve patotipler arasındaki dizi farklılıkları, izolatlar arasındaki genel filogenetik ilişkilere de yansımıştır (Hammond ve Crosslin 1998).

PNRSV tanısındaki hassasiyetin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada DAS-ELISA, dot-blot hibridizasyonu ve RT-PCR metotları karşılaştırılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda RT-PCR tekniğinin diğer yöntemlere göre daha üstün olduğu tespit edilirken, dokulardaki virüs yoğunluğu bakımından meyvelerin yapraklara göre 125 kat daha fazla virüs bulundurduğu belirlenmiştir (Sánchez-Navarro vd. 1998).

Altı farklı *Prunus* türünde neden oldukları simptomatolojide değişkenlik gösteren 25 PNRSV izolatından elde edilen sekanlar RFLP yöntemi ile analiz edilmiştir. İzolatların çoğu 3 farklı restriksiyon enziminin farklı kombinasyonu kullanılarak ayrılmıştır. Bu çalışma ile 15 izolatın RNA-4 segmentinin dizileri belirlenmiştir. RNA-4 segmenti üzerinden elde edilen diziler ile ortaya çıkan filogenetik gruplaşmanın daha önce PNRSV için tanımlanan PV32, PE5 ve PV96 grupları ile örtüğü görülmüştür. PE5 tip filogenetik grubun 5' translasyona uğramayan bölgesinin farklı olması sebebiyle diğer gruplardan net bir şekilde ayrılmaktadır. PV32 tip filogenetik grupta fazladan 6'lı nükleotidlerin arka arkaya tekrarlanması söz konusudur. En çok genetik farklılık CP bölgesinin ilk üçte birlik kısmında (replikasyondan sorumlu bölge) görülmesine rağmen, oldukça korunaklı bir bölge olarak ortaya çıkmıştır. Semptom tipi ve konukçu açısından belirgin bir fark

görülmemiştir. Bu grup değerlendirmesi daha önceki yapılan çalışmalarda gruplandırılan izolatlar ile de doğrulanmıştır (Aparicio vd. 1999).

Saade vd. (2000) tarafından PNRSV, PDV ve ApMV virüslerinin tanısı için bir multiplex RT-PCR yöntemi geliştirilmiştir. Çalışmada tek bir tüpte 3 virüsün varlığı başarılı bir şekilde tespit edilmiştir.

Ürdün'de yetişen virüs benzeri semptomlar gösteren sert çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen PNRSV-J, DAS-ELISA yöntemi ile tespit edilmiştir. PNRSV-J, mekanik inokulasyondan 6-8 gün sonra toplanan salatalık yapraklarından saflaştırılarak antikor üretimi için kullanılmıştır. Bir tavşanın immünize edilmesiyle üretilen antiserum, PNRSV'ye özgüllüğü yüksek olan, 1.024 dolaylı antijen kaplama titresine sahip olduğu belirlenmiştir. PNRSV'nin tespit edilmesinde bir immünokapture-ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (IC-RT-PCR) protokolü kullanılmış ve PNRSV-J izolatının RNA-3 segmentinden üretilen RT-PCR ürünlerinin nükleotit sekansı ve filogenetik analizi sonucu PNRSV-J'nin ve Grup I (PV32) izolatlarının bir üyesi olduğunu ortaya koymuştur (Salem vd. 2004).

2008 yılında yapılan bir çalışmada Şili, Brezilya ve Uruguay'dan ve farklı *Prunus* türlerinden 23 PNRSV izolatının hareket (MP) ve kılıf (CP) proteinlerine karşılık gelen nükleotit sekansları elde edilmiştir. Tüm PNRSV izolatlarından elde MP ve CP dizileri ile gerçekleştirilen filogenetik analiz, izolatların daha önce bildirilen PV32-I, PV96-II ve PE5-III filogenetik gruplarına kümelendiğini doğrulamıştır. Belirlenen sekans verileri ile konukçu, coğrafi orijin ve semptomatoloji bakımından anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (Fiore vd. 2008).

PNRSV yaygınlığını belirlemek için yapılan bir çalışmada New York'da sert çekirdekli meyve ağaçlarından ELISA ve RT-PCR sonucu virüs enfeksiyonları belirlenmiştir. Toplanan örneklerin %87'sinde enfeksiyonlar asimptomatik olarak görülmüştür. Yapılan dizileme çalışmaları sonucu elde edilen 675 bp uzunluğundaki kılıf proteini sekansları referans datalarla %88-100 oranında benzerlik göstermiştir. Filogenetik analizler New York'da PV96 grubunun yaygın olduğunu göstermiştir (Oliver vd. 2009).

Sert çekirdekli meyve tarlalarında yapılan surveylerde badem, kiraz ve erikte viral simptomlar gözlenmiştir. Virüs varlığını kontrol etmek için tespit için laboratuvara getirilen numuneler, PNRSV enfeksiyonu açısından serolojik ve moleküler teknikler kullanılarak erik, badem ve kirazda tespit edilmiştir. PNRSV'nin kılıf proteini geni, badem, kiraz ve erik bitkilerinden izole edilerek RT-PCR ile çoğaltılmıştır. Bademden izole edilen PNRSV, diğer PNRSV ile bulaşık badem izolatları ile karşılaştırılmış ve nükleotid seviyesindeki diğer izolatlarla %91-98 oranında benzer olduğu görülmüştür. Kiraz izolatu için benzer hizalamalar yapılmış ve diğer PNRSV izolatlarına benzer şekilde %92-98 oranında benzerlik olduğu bulunmuştur. Üç izolatu hepsi de nükleotid seviyesinde birbirleriyle karşılaştırılmış ve birbirlerine %88-89 oranında nükleotid düzeyinde benzerlik gösterdikleri tespit edilmiştir (Chandel vd. 2011).

Paduch-Cichal ve Rejczak (2011b) tarafından PNRSV'nin RNA-3 segmenti üzerinde 1.630 nükleotidden oluşan bir dizi elde edilmiş ve bu izolatu *Cucumis sativus* cv. Wisconsin, *Cucurbita maxima* cv. Buttercup and *Cucurbita pepo* cv. Melonowa Żółta indikatör bitkileri üzerindeki tepkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu PNRSV simptomları indikatör bitkilerde gözlenmiştir.

Kanada'da yapılan bir çalışmada farklı sert çekirdekli meyvelerden toplanan 69 örneğin %44,9'unda PNRSV enfeksiyonu belirlenmiştir. RNA-3 segmentinin tamamına yakının dizilenmesi sonucu yapılan filogenetik analizler izolatların PV96 ve PV32 olmak üzere iki ana grup altında topladığını göstermiştir. 2011 sezonunda enfekteli ağaçlar ile sağlıklı ağaçlarda simptom gözlenebilirliği bakımından göze çarpan bir farklılık görülmemiştir (Cui vd. 2012a).

Kanada'daki bir meyve bahçesinden elde edilen iki (PNRSV) izolatu, tüm RNA-1, 2 ve 3 sekanslarını belirlenmiştir. İki izolatu RNA-1, RNA-2 ve RNA-3'ü sırasıyla %98,6 %98,4 ve %94,5 nükleotid benzerliğine sahip segmentleri dizilenmiştir. Yapılan filogenetik analizler izolatlardan bir tanesinin PV96 grubuna ve diğerinin ise PV32 grubuna ait olduğunu göstermiştir (Cui vd. 2012b).

Sala-Rejczak ve Paduch-Cichal (2013)'e göre PNRSV'nin genetik çeşitliliğinin belirlenebilmesi için 700 bp uzunluğunda sekans verileri elde edilmiş ve filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda PNRSV iç gruba (PV32-I, PV96-II ve PE5-III) ayrılmış, izolatlar arasında konukçu ve coğrafik orijin bakımından herhangi bir fark gözlenmemiştir.

Şeftalide enfeksiyon meydana getiren 4 farklı virüsün Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV), Cherry green ring mottle virus (CGRMV), Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV) ve Apricot pseudo-chlorotic leaf spot virus (APCLSV) tanısında bir multiplex RT-PCR yöntemi geliştirilmiştir. Çalışmada her bir virüse özgü farklı primer dizileri tasarlanmış ve PCR sonucu elde edilen ampliconlar agaroz jel elektroforezi yöntemiyle değerlendirilmiştir. Sonuçlar ELISA ve dizileme tekniği ile de doğrulanmış olup, geliştirilen metodun şeftalide 4 farklı virüsün tek bir PRC reaksiyonu ile tespitinde oldukça başarılı ve etkin olduğu bildirilmiştir (Yu vd. 2013b).

Çin'de farklı *Prunus* türlerinden toplanan 166 örnekten 35'inin PNRSV ile enfekteli olduğu RT-PCR ile belirlenmiştir. Virüsün hareket proteini bölgesi ve kılıf proteini bölgesi hedef alınarak yapılan moleküler karakterizasyon çalışmaları sonucu sırasıyla %82,9-99,9 ve %87,1-100 oranında nükleotid benzerlikleri belirlenmiştir. Yapılan filogenetik analiz çalışmaları sonucunda PV96, PV32 ve PE5 adı altında üç farklı alt grupta izolatların dağılımı gerçekleşmiştir (Cui vd. 2015).

Brezilya'da PNRSV'nin güldeki enfeksiyonu üzerine yapılan bir çalışmada hareket proteini ve kılıf proteinin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen diziler referans izolatlar ile karşılaştırıldığında %96,7-98,6 oranında benzerlik göstermiştir. Brezilya'da gül enfeksiyonu oluşturan PNRSV izolatları PV32 alt grubunda yer almıştır (Fajardo vd. 2015).

Tunus sert çekirdekli meyve alanlarında PNRSV PCR ile tespit edilmiş ve enfeksiyon oranları sırasıyla şeftalide %50, kayısıda %46,8, bademde %35,5 ve erikte %9,5 olarak tespit edilmiştir. Bu konuçulardan elde edilen 10 PNRSV izolatının kılıf proteini geninin genetik varyansı, PCR ürünlerinin SSCP yöntemi ve dizilerinin analizi ile

değerlendirilmiştir. Filogenetik ağaçlarda, Tunus PNRSV izolatları PV96, PV32 ve PE5 olmak üzere üç ana grupta toplanmıştır. Bununla birlikte, bir badem izolatı (ALTun8) bir dış grup olarak ayrılmıştır. Bu izolat, filogenetik olarak dünyanın farklı bölgelerinden gelen diğer PNRSV izolatlarından ayrılmış olup, PV96, PE5 ve PV32 ile sırasıyla %83-86 ve %65-74 nükleotid ve amino asit düzeyinde benzerlik göstermiştir. Bu çalışma Tunus'taki farklı *Prunus* konukçularında PNRSV'nin moleküler değişkenliği ile ilgili ilk rapordur (Mahfoudhi vd. 2015).

Çin'de yürütülen bir çalışmada PNRSV-ChrYL (GenBank erişim numaraları KT444701-KT444703) olarak kaydedilen bir PNRSV kiraz izolatının tam genomik dizisini belirlenmiştir. PNRSV-ChrYL'nin RNA-1, RNA-2 ve RNA-3'lerinin sırasıyla 3.321, 2.592 ve 1.954 nükleotitten oluştuğu bildirilmiştir. RNA-1 ve RNA-2, sırasıyla replikaz proteini olan protein P1 ve P2'yi kodlarken, hareket proteini ve kılıf proteini, RNA-3 tarafından kodlanmaktadır. MP ve CP genlerine dayanan filogenetik analizler, PNRSV-ChrYL'nin PV32 grubu ile kümelendiğini ortaya koymuştur (Song vd. 2016).

İspanyol badem çeşitlerinde PNRSV ve PDV moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda PNRSV enfeksiyonu %90, PDV enfeksiyonu %68 olarak belirlenmiş, karışık enfeksiyon oranı ise %62 olarak tespit edilmiştir. İspanyol badem PNRSV ve PDV izolatlarının RNA-3 segmenti üzerinde yapılan moleküler karakterizasyon çalışmaları nükleotid düzeyinde PNRSV'de %93,7-99,9, PDV'de %87,3-100 oranında benzerlik göstermiştir. Hareket proteini ve kılıf proteini bölgelerinin aminoasit dizilimleri üzerine yapılan benzerlik çalışmalarında PNRSV'nin %92,2-100, PDV'nin %88,1-100 oranında aminoasit düzeyinde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. RNA-3 ve kılıf proteinleri dizi bilgisine göre yapılan filogenetik analizler sonucunda tüm PNRSV izolatları PV-32 (22 adet) ve PV-96 (15 adet) grupları içerisinde yer almıştır (Rubio vd. 2017).

Çin'in, kiraz yetiştiriciliği ile ön plana çıkmakta olan Shandong Bölgesi'nde PNRSV'nin 2011-2016 yılları arasındaki enfeksiyon oranı %38'den %66,67'e yükselmiştir. Virüsün genetik yapısını anlayabilmek için bölgeden 33 adet PNRSV izolatının kılıf protein bölgesinin tüm sekansları ortaya çıkarılmıştır. GenBank'ta kayıtlı diğer referans izolatlar

ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda %96,67-100 arasında benzerlik göstermiştir. Filogenetik analizler sonucunda izolatların 2 filogenetik gruba (PV-32, PV-96) ayrıldığı görülmüştür. PV-96 tip PNRSV'nin %66,28, PV-32 tip PNRSV'nin ise %33,72 oranında olduğu tespit edilmiştir (Zhu vd. 2017).

2.2.3 Türkiye’de PNRSV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları

Türkiye’den toplamda 486 sert çekirdekli meyvenin PNRSV varlığı açısından testlendiği bir çalışmada 31 örnek DAS-ELISA testi ile 51 örnek ise RT-PCR ile enfekteli olarak belirlenmiştir. PCR-RFLP analiz sonuçlarına göre bir filogenetik ağaç oluşturulmuş izolatların büyük çoğunluğu PV-96 filogenetik grubu içerisinde yer alırken, hiçbir izolat PE5 filogenetik grubu içerisinde yer almamıştır. Sadece Bursa ilinden elde edilen bir izolat PV-32 filogenetik grubu içerisinde değerlendirilmiştir. Coğrafi farklılıkların PNRSV'nin filogenetik gruplaşması üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Ulubaş ve Ertunç 2004).

PNRSV'nin tanısında RT-PCR yönteminin DAS-ELISA testine göre duyarlılığı ve karşılaştırmalı analizi yapılmıştır. Buna göre farklı bitki dokularından elde edilen RNA, farklı primer setleri ile amplifike edilmiş 616 bp ve 785 bp uzunluğunda ampliconlar elde edilmiştir. Yapılan karşılaştırmalı analizler RT-PCR yönteminin ELISA'ya göre daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Farklı bitki dokularında PNRSV tespitinin kıyaslandığı çalışmada yaprak dokularının tespit için en iyi bitkisel doku olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda PNRSV için optimal RT-PCR koşulları tespit edilmiştir (Usta 2004).

Farklı *Prunus* türlerinde PNRSV ve ACLSV varlığının bitki dokularındaki farklı lokasyonlardaki konsantrasyonları incelenmiştir. Yapılan çalışmada her iki virüsün yaprakların aya ve sap kısmında daha yoğun oldukları belirlenmiştir. Aynı yaprak bölgelerinin RNA izolasyonunda kullanıldığı çalışmada virüsün konsantrasyonunun değişimi açısından önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Sipahioğlu vd. 2005).

Trakya Bölgesi'nde gül üretim alanlarında PNRSV'nin varlığı araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda toplanan 287 yaprak örneğinin 17'sinde PNRSV serolojik olarak tespit edilmiştir. Fakat mekanik inokulasyon çalışmaları ile virüs indikatör bitkilere nakledilememiştir. Buna neden olarak 2008 yılının aşırı sıcak olması ve semptomların maskelendiği konusu olduğu değerlendirilmiştir (Akpınar 2009).

2006-2007 üretim periyodunda Türkiye göller bölgesinde güllerde yapılan surveylerde 10 farklı gül yetiştiriciliği yapılan bölgeden virüs benzeri semptom gösteren 218 örnek toplanmıştır. DAS-ELISA testi sonucunda PNRSV enfeksiyonu %35,7 olarak belirlenmiştir (Yardımcı ve Çulal 2009).

2010 yılında Trakya Bölgesi'nden 158 çiçek ve 260 yaprak örneği toplanmıştır. Toplanan örnekler PDV, PNRSV ve PPV enfeksiyonu açısından ELISA testleri ile değerlendirilmiştir. Tespit çalışmaları sonucunda örneklerden %31,15 PNRSV, %4,23 PDV, %1,92 PPV, %1,54 PNRSV + PDV ve PNRSV + PPV enfeksiyonu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Trakya'da bademde toplam virüs enfeksiyonunun %38,85 olduğunu göstermiştir (Karabacak ve İlbağı 2011).

Türkiye'nin önemli sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinin yapıldığı Batı Akdeniz bölgesi'nden 175 adet virüs benzeri semptom gözlenen bitki kısımları toplanmıştır. Toplanan bitkilerde yapılan ELISA testleme çalışmaları sonucunda 46 örneğin PDV, 24 örneğin ACLSV ve 16 örneğin PDV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. ELISA sonuçları semptom gösteren ağaçların %45'inin en az bir virüs tarafından enfekteli olduğunu göstermiştir. Ayrıca virüsler için geliştirilen multiplex RT-PCR (mRT-PCR) yönteminde virüsler başarılı bir şekilde tespit edilmiştir. mRT-PCR tekniğinin ELISA'dan daha duyarlı bir yöntem olduğu tespit edilmiştir (Çevik vd. 2011).

Trakya Bölgesi badem üretim alanlarında PNRSV varlığının tespiti amacıyla yürütülen bir çalışmada toplanan 418 bitki örneğinin %31,15'inin PNRSV ile bulaşık olduğu DAS-ELISA ile belirlenmiştir (Karabacak 2012).

Öztürk (2012), toplamış olduğu 521 kiraz örneğinde 7 adet PNRSV enfeksiyonu tespit etmiştir. Ayrıca yapılan moleküler karakterizasyon çalışmaları sonucunda 616 bp uzunluğunda PCR ürünleri elde edilmiş olup, dizileme işlemi gerçekleştirilmiştir. Nükleotid düzeyinde yürütülen karşılaştırmalı çalışmalarda elde edilen izolatların, GenBank'ta yer alan referans izolatlar ile %86-99 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan filogenetik analizler coğrafik orijin ve farklı konukçu parametrelerinin gruplaşmada önemli olmadığını göstermiştir (Öztürk 2012).

Türkiye'nin önemli kiraz üretim bölgelerinden bir tanesi olan Isparta'da kiraz üretim alanlarında sorun oluşturan viral problemler incelenmiştir. Bu maksatla Isparta'dan farklı lokasyonlarda 107 farklı bitkiden örnekler toplanmıştır. Yapılan serolojik çalışmalar sonucunda 5 örnekte PNRSV enfeksiyonu tespiti edilmiştir (Küçükçakır 2015).

Bir çalışmada, 2012 yılında Burdur ilindeki yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.) üretim alanlarında virüs benzeri belirtiler gösteren toplam 102 adet gül yaprağı örneği 8 farklı noktadan toplanmıştır. Tüm yağ gül yaprağı numuneleri, DAS-ELISA kiti kullanılarak PNRSV varlığı açısından test edilmiştir. 102 örnekten 16'sının PNRSV ile enfekte olduğu bulunmuştur. DAS-ELISA pozitif numunelerinin ekstrakte edilen bitki öz suları daha sonra *Cucumis sativus* L. cv. Cemre F1, *Chenopodium quinoa* ve *Catharanthus roseus* bitkilerine mekanik olarak inokule edilmiştir. Yapılan mekanik inokulasyon sonucunda indikatör bitkilerde lokal klorotik lezyonlar gözlenmiştir. DAS-ELISA'da pozitif olan yağ gülü örneklerinden ve indikatör bitkilerden elde edilen total RNA, PNRSV'ye spesifik primerler kullanılarak PCR'a tabi tutulmuş ve beklenen büyüklükte bant görüntüleri elde edilmiştir (Kılıç vd. 2017).

Mayıs 2017'de, Bursa ilinde şeftali yetiştiriciliği yapılan bir alanda PDV, PPV ve PNRSV tespiti amacıyla yürütülen bu doktora çalışmasında şeftali bahçelerinin yakınından virüs belirtileri gösteren bir elma bahçesinden de örnekler toplanmıştır. Şeftali yapraklarına ek olarak, 20 farklı elma ağacından alınan 20 örnek PNRSV için ELISA ve RT-PCR ile test edilmiş ve 8 örnek, hem RT-PCR hem de ELISA ile PNRSV ile enfekteli bulunmuştur. İki elma numunesinden elde edilen ampikon sekanslanmış ve BLAST analizi yapılmıştır. GenBank'ta bu dizilerin (MH444792-MH472637) BLAST analizi, Ekvator'dan (*Rosa sp.*;

KX646549), Polonya'dan (*Prunus avium*; DQ983498) ve Çin'den (Kiraz; MF145081) PNRSV izolatları arasında yüksek bir benzerlik göstermiştir (%98-99). Ayrıca, *Cucumis sativus* bitkisi PNRSV ile enfekte olmuş örneklerin üçünden (Elm-1, Elm-2 ve Elm-3) ve bir kontrolden (PNRSV içermeyen) bitki özsuyu ile mekanik olarak bulaştırılmış ve enfeksiyon RT-PCR ile doğrulanmıştır. PNRSV enfeksiyonu yaygın olarak dünya çapında sert çekirdekli meyvelerde ve güllerde bulunduğu rapor edilmiştir. Fakat bu virüs daha önce Hindistan'da (Chandel vd. 2008) ve Çin'de (Hu vd. 2016) elmada bildirilmiştir. Bu çalışma PNRSV'nin Türkiye'de elmadaki ilk raporu özelliğindedir (Çelik ve Ertunç 2019).

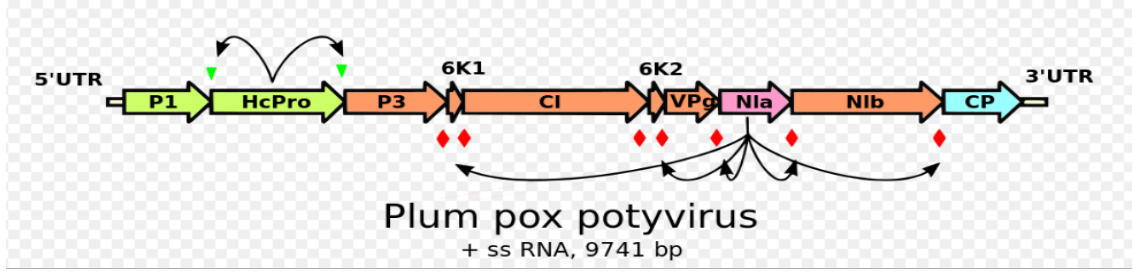
2.3 Sert Çekirdekli Bitkilerde PPV ile İlgili Yapılan Çalışmalar

2.3.1 PPV'nin tanımı, ekonomik önemi ve simptomatoloji

Şarka olarak bilinen PPV ilk olarak 1917-1918 yıllarında viral bir hastalık etmeni olduğu düşüncesiyle Bulgaristan'da eriklerde rapor edilmiştir (Atanasoff 1932).

Günümüzde M (Marcus), D (Dideron), C (Cherry), EA (El Amar), T (Turkey), W (Winona), CR (Cherry Russian), AM (Ancestor Marcus), CV ve Rec (Recombinant olmak üzere PPV'nin farklı ırkları tanımlanmıştır (Palkovics vd. 1993, Nemchinov vd. 1996, Glasa vd. 2004, James ve Varga 2005, Myrta vd. 2006, Ulubaş Serçe vd. 2009b, Palmisano vd. 2012, Glasa vd. 2013, Chirkov vd. 2017).

PPV tek sarmal RNA yapısında bir virüs olup genom büyüklüğü 750 nm x 15 mm 'dir. Genom uzunluğu 9786 baz olup tek okuma çerçevesi içermektedir. Sahip olduğu bu bir adet okuma çerçevesi 350 kDA ağırlığında olup PPV tarafından oluşturulan 3 farklı enzim tarafından 10 farklı proteine çevrilmektedir. Oluşan bu proteinler P1, HCPro, P3, 6K1, CI, 6K2, NIa-VPg, NIaPro, NIb ve CP'dir (Anonymous 2020) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 PPV genom yapısı (Anonymous 2020)

Yakın tarihli raporlarda virüsün ABD (Levy vd. 2000), Kanada (Thompson vd. 2001), Kazakistan (Spiegel vd. 2004a), Çin (Navratil vd. 2005) ve Arjantin (Dal Zotto vd. 2006) gibi dünyanın çeşitli bölgelerinde görülmesi, ilk tespitinden 100 yıl sonra bile, PPV'nin yayılımı ve dağılımında bir artış olduğu anlamına gelmektedir.

Avrupa ülkelerinde hastalıkla mücadele için birçok sert çekirdekli meyve ağacının eradike edildiği bildirilmiştir (Cambra vd. 2006).

Ulubaş Serçe vd. (2009b), Türkiye'nin Ankara ilinden diziledikleri bir izolatin rekombinant özellik gösterdiğini belirlemiş ve bu yeni grubu PPV-T ırkı olarak isimlendirmişlerdir.

İlk ortaya çıkışından beri, virüsün, Akdeniz havzasına, Orta Doğu ve çevresine, Avrupa'ya, Güney ve Kuzey Amerika'ya ve Asya'ya hızla yayıldığı yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (Barba vd. 2011).

Şarka hastalığının Akdeniz ülkelerinde sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinde yüksek oranda zarara yol açan hastalıklardan bir tanesi olduğu bildirilmiştir. Şarka hastalığının Slavca'sı olup, İngilizce'de Plum pox olarak geçmektedir. Etmenin uzak bölgelere yayılımı bulaşık üretim materyali ile gerçekleştiği bilinmektedir. Virüsün yakın mesafede enfeksiyonu ise afitler vasıtasıyla olmaktadır. Afet enfekteli bitki ile beslendiğinde bitki özsuyu böcek bünyesine girmekte ve sağlıklı bitkide böceğin yeniden beslenmesi ile yayılmaktadır. PPV-M afitlerle daha etkin bir şekilde taşınmakta olup eradikasyonu oldukça zordur. PPV-Rec Orta Avrupa'da yaygın olmakla birlikte PPV-C, PPV-EA, PPV-W günümüzde yayılmamış vaziyettedir. Günümüzde kiraz ve vişnede enfeksiyon

meydana getirebilen ırk grubu olarak PPV-C tanımlanmıştır. PPV-EA kayısıda ve sadece Mısır'da rapor edilmiştir. (Gürcan ve Yılmaz 2012).

PPV'nin neden olduğu Şarka özellikle sert çekirdekli meyve çeşitlerinde ciddi zararlara neden olan ve yaprak bitleri ile etkili bir şekilde yayıldığı tespit edilmiştir (García vd. 2014).

2.3.2 Dünyada PPV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları

Farklı sert çekirdekli konukçulardan elde edilen PPV'nin moleküler karakterizasyon çalışmalarında elde edilen sekans verileri etmeninin ırkının PPV-D olduğunu göstermiştir. Referans izolatlar ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda nükleotid benzerliği %92,6 ile 99,2 arasında değişiklik göstermiştir (Rosales vd. 1997).

Virüsün D ve M ırklarının Macaristan izolatlarından elde edilen kılıf protein genleri RT-PCR ile karşılaştırılmıştır. Amplikonlar virüs ırk spesifik enzimlerle kesilerek profiller ortaya çıkarılmıştır. Yapılan analizler sonucunda izolatların D ırkı olduğunu göstermiş ve yapılan dizileme çalışmaları sonucunda izolatların D ırkı olduğu belirlenmiştir (Pribek vd. 2000).

Kanada'da virüsün moleküler özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan serolojik çalışmalarda elde edilen izolatların D ırkı olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sekans verileri PPV-D izolatları ile de örtüşmektedir. Virüs genomunun kılıf protein bölgesinin N terminal bölgesinde yüksek derecede genetik farklılık görülmüştür. Bu çalışmada Kanada izolatları 2 alt gruba ayrılmıştır (Rochon vd. 2003).

Moldova ve Romanya bölgesinde PPV varlığı için yapılan surveylerde çok sayıda PPV izolatı elde edilmiştir. Yapılan serolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda en yaygın ırkın PPV-D olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca az sayıda PPV-Rec izolatı da belirlenmiştir (Zagrai vd. 2008).

Japonya’da moleküler temelli bir epidemiyoloji modeli ortaya çıkarmak için 37 adet PPV izolatının tüm genom dizileri elde edilmiştir. Hizalama analizleri 37 adet izolatın PPV-D olduğunu ortaya koymuştur. PPV-D filogenetik analizlerinde Amerikan, Kanada ve Japonya izolatları kendi içerisinde ve aynı klad üzerinde yer almıştır. (Maejima vd. 2011).

Mısır’dan toplanmış olan 16 adet PPV izolatı ve serolojik ve moleküler yöntemler ile karakterize edilmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde tüm izolatlar PPV-EA olarak tanımlanmıştır (Matic vd. 2011).

Bu çalışmada PPV-C’e ait 3 adet full genom ve birçok kısmi genom dizisi belirlenmiştir. Yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda nükleotid benzerlik çalışmaları %77,5 ile %83,5 arasında değişkenlik göstermiştir. Filogenetik analizler net bir şekilde 3 izolatın diğerlerinden ayrıldığını ve PPV-W ile PPV-C arasında bir grupta yer aldığını ortaya koymuştur. Nükleotid temelli yapılan bu analizlerde konukçuların pozisyonu ve genomik yapının özellikleri dikkate alındığında yeni bir ırk olan PPV-CR (Cherry Russia) olarak isimlendirilmesi önerilmiştir. PPV-C ve PPV-CR üzerindeki aminoasit düzeyinde bulunan bir korunmuş bölge bu izolatları Cherry spesifik yapmakta ve bu konukçuya olan adaptasyonlarını artırmaktadır. Ayrıca bu çalışmada PPV-CR’nin RT-PCR ile tanısını mümkün kılan için yeni bir primer çifti dizayn edilmiştir (Glasa vd. 2013).

PPV, sahip olduğu RNA polimeraz enziminin mutasyon kontrol özelliğinin bulunmaması sebebiyle genetik farklılık göstermeye yatkın bir organizmadır. Irkların ayrımı tüm genom, kılıf proteini, polymerase bölgesi ve P3N-PIPO (hücreler arası hareket proteini) gen bölgesininin filogenetik özelliklerine göre yapılabilmektedir. Her bir virüsün kendine özgü nükleotid yapısı ve aminoasit özellikleri ırk ayrımına olanak tanımaktadır (James vd. 2013).

PPV-Rec ırkının Rusya’da ilk kez belirlendiği bir çalışmada virüse ait tüm genom dizileri elde edilmiştir. Recombination Detection Programme (RDP) kullanılarak yapılan analizler 5’ terminal bölgesinde yeni bir rekombinasyonun varlığına işaret etmiştir (Chirkov vd. 2018).

2.3.3 Türkiye’de PPV ile ilgili yapılan serolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları

Elibüyük (2003)’e göre ev bahçelerinde virüsün neden olduğu belirtilen semptomlar gözlenmiş, virüsün ırkları DAS-ELISA ve immunocapture reverse transcription-polymerase chain reaction (IC-RT-PCR) ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda bütün PPV izolatları PPV-M olarak belirlenmiş ve Ankara ilindeki hakim vektör *Hyalopterus pruni* olarak teşhis edilmiştir.

Türkiye’nin farklı bölgelerinde Şarka hastalığının varlığının belirlenebilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada çeşitli sert çekirdekli meyvelerden hastalıklı olduğu düşünülen bitki kısımları toplanmıştır. Yapılan çalışmaları sonucunda daha önceki çalışmaları doğrular nitelikte Ankara ilinin PPV-M ile bulaşık olduğu bildirilmiştir (Sertkaya vd. 2003).

PPV-Rec ırkı sahip olduğu rekombinant özellikleri ile ayrı bir grup olarak PPV sınıflandırmasında karşımıza çıkmaktadır. 2006 yılında yürütülen bir çalışmada Isparta bölgesinde PPV benzeri semptomlar sergileyen bir şeftali bitkisine rastlanmıştır. Yapılan serolojik ve moleküler çalışmalar neticesinde izolatın PPV-Rec olduğu tespit edilmiştir (Candresse vd. 2007).

Ankara ilinden toplanan 16 izolat serolojik ve moleküler olarak tanımlanmıştır. Çalışma esnasında şaşırtıcı bir şekilde karışık enfeksiyon halinde bulunan bir izolatın diğerlerinden farklı bir şekilde hem D hem de M spesifik monoklonal antikorları ile reaksiyona girdiği görülmüştür. Yapılan kısmi dizileme çalışmaları sonrasında farklı bir rekombinant ırkın varlığı tespit edilmiştir. Ab-Tk izolatının tüm genom dizisi ortaya çıkarıldığında yeni bir grubun varlığı ortaya konulmuştur. Bu yeni ırk PPV-T olarak isimlendirilmiştir (Ulubaş Serçe vd. 2009b).

2007-2010 yılları arasında Türkiye’de Şarka yaygınlığını belirlemek için kapsamlı anketler yapılmıştır. Toplamda 5.762 örnek çeşitli sert çekirdekli konukçulardan toplanmış ve PPV’e karşı testlenmiştir. Çalışma sonucunda 222 örneğin PPV ile enfekteli

olduğu bildirilmiş, Aksaray, Çanakkale, İzmir, Kayseri ve Konya’da PPV ilk kez rapor edilmiştir (Akbaş vd. 2011).

şarka Türkiye’de 44 yıl önce rapor edilmesine rağmen hastalık etmeni yeni alanlara yayılmaya devam etmektedir. Yapılan bu çalışmada hastalığın yayılmasında etkin rol oynayan potansiyel vektör ve vektör adaylarının tespiti amaçlanmıştır. Düzenli olarak ELISA ve RT-PCR testleri ile virüsün durumu kontrol edilmiştir. En yüksek afit populasyonu Mayıs ayının sonunda tespit edilmiş olup her iki yıl da *Aphis gossypii* ve *A. spiraecola* en yaygın iki vektör olarak belirlenmiştir. Ayrıca *Myzus persicae*, *A. fabae*, *A. gossypii*, *A. spiraecola*, *Hyalopterus pruni*, *Macrosiphon euphorbia* ve *A. craccivora* ‘nın da PPV’yi taşıdığı tespit edilmiştir. Yapılan moleküler karakterizasyon çalışmaları sonucunda PPV-M’nin hem kaynak bitkide hem de nakledilen bitkilerde bulunduğu bildirilmiştir (Kaya vd. 2014).

PPV’nin neden olduğu şarka Türkiye’nin Edirne bölgesinde 1968 yılında ilk kez rapor edilmiştir. Sonrasında 1972 yılında Ankara’da, 1984 yılında Bilecik, Bursa, İzmir, İstanbul ve Tekirdağ bölgelerinde virüsün varlığı bildirilmiştir. Son yıllarda ülkemizde şarka eradikasyon çalışmaları yapılmaya başlanmıştır. Ülkede önemli sert çekirdekli yetiştiriciliği yapılan alanlarda surveyler yapılmış, serolojik ve moleküler çalışmalar sonrasında hastalıkla enfekte olduğu belirlenen izolatların PPV-M ve PPV-D olduğu görülmüştür. PPV-M’in yeni enfekte olan alanlarda daha fazla görüldüğü tespit edilirken, PPV-D’nin karışık enfeksiyon (PPV-M ile) halinde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca İç Anadolu Bölgesi’nde PPV-D’nin tek başına bulunduğu bazı bölgeler de tespit edilmiştir. Türkiye’de PPV vektörü olarak *Myzus persicae*’nin en etkin vektör olduğu, bunun yanı sıra *Hyalopterus pruni*, *Aphis gossypii* ve *Aphis spiraecola*’nın da virüsü naklettiği bildirilmiştir (ağlayan ve Yurdakul 2016).

PPV’nin Türkiye’de ırk dağılımı ve genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada daha önce virüs ile bulaşık olduğu bilinen bölgelerden 612 adet hastalıklı bitki materyali toplanmıştır. 314 pozitif örnekten yapılan serolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda oldukça fazla varyasyon gösteren bir bölge olan P3-6K1 gen bölgesinden 664 nükleotid uzunluğunda sekans verileri elde edilmiştir. PV-D ve PPV-T

genellikle küçük ve şehir merkezinde yer alan bölgelerde rastlanırken, PPV-M daha çok ticari bahçelerde tespit edilmiştir. Bu çalışmada 1 adet Bursa izolatu PPV-Rec olarak tespit edilmiştir. PPV-T ırkı Türkiye şarka havuzunda en yaygın ırk olarak belirlenmiştir (Gürcan ve Ceylan 2016).

Günümüze kadar İstanbul Avrupa yakasında PPV-M ırkı içerisinde çeşitli farklı grupların varlığı belirlenmiştir. Bu çalışmada Avrupa yakasından PPV ile enfekteli sert çekirdekli meyve örnekleri toplanmış ve dizileri elde edilerek farklı olduğu değerlendirilen PPV-M izolatlarının genetik farklılıkları incelenmiştir. 230 sert çekirdekli örneğinin 97'si enfekteli olarak belirlenmiştir. 97 izolatu 88'inin PPV-M içerisinde farklı bir grup oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu farklı grup filogenetik olarak farklı bir grup üzerinde yer almış ve PPV-MIs olarak isimlendirilmiştir. Ayrıca yapılan rekombinasyon analizler sonucunda PPV-MIs izolatlarının PPV-Rec için verici tip olabileceği değerlendirilmiştir (Gürcan vd. 2019a).

Şarka hastalığının mücadelesinde bazı dayanıklılık genlerini taşıdığı belirlenen çeşitler ıslah programlarında kullanılmıştır. Hastalıkla mücadele yeni dayanıklılık kaynaklarının varlığına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada 227 kayısı genotipi PPV-T e dayanıklılığı açısından taranmış ve skorlanmıştır. 4 çeşidin (Cebir, Lifos, Karum ve Zard) hastalığa dayanıklı genleri taşıdığı bildirilmiştir. Kaniş ve Fracasso'nun da hastalığa dayanıklı olduğu belirlenmiş ancak bu iki çeşidin dayanıklılık genlerine sahip olmadıkları görülmüştür. Bu yeni genetik kaynaklarının yeni ıslah programlarında faydalı olacağı düşünülmektedir. ZP002, güvenilir ve kullanımı kolay bir markör olarak karşımıza çıkmaktadır. Kayısısındaki PPV dayanıklılığı ırk spesifik değildir (Gürcan vd. 2019b)

PPV-T'nin orijini, genetik çeşitliliği ve evrimi ile ilgili yapılan bir çalışmada filogenetik analiz yapmak amacıyla 421 izolatu kısmi 57 izolatu ise tüm genom dizileri belirlenmiştir. PPV-T'nin genetik çeşitliliği PPV-D ve PPV-Rec'den yüksek, PPV-M ve yeni bir filogenetik grüp olarak kabul edilen PPV-MIs gruplarından düşük bulunmuştur. Türkiye'nin balkanlarda yer alan ve PPV'nin ülkemizdeki ilk rapor edildiği yer olan bölge PPV-T'nin orijini olarak ortaya çıkmaktadır (Teber vd. 2019).

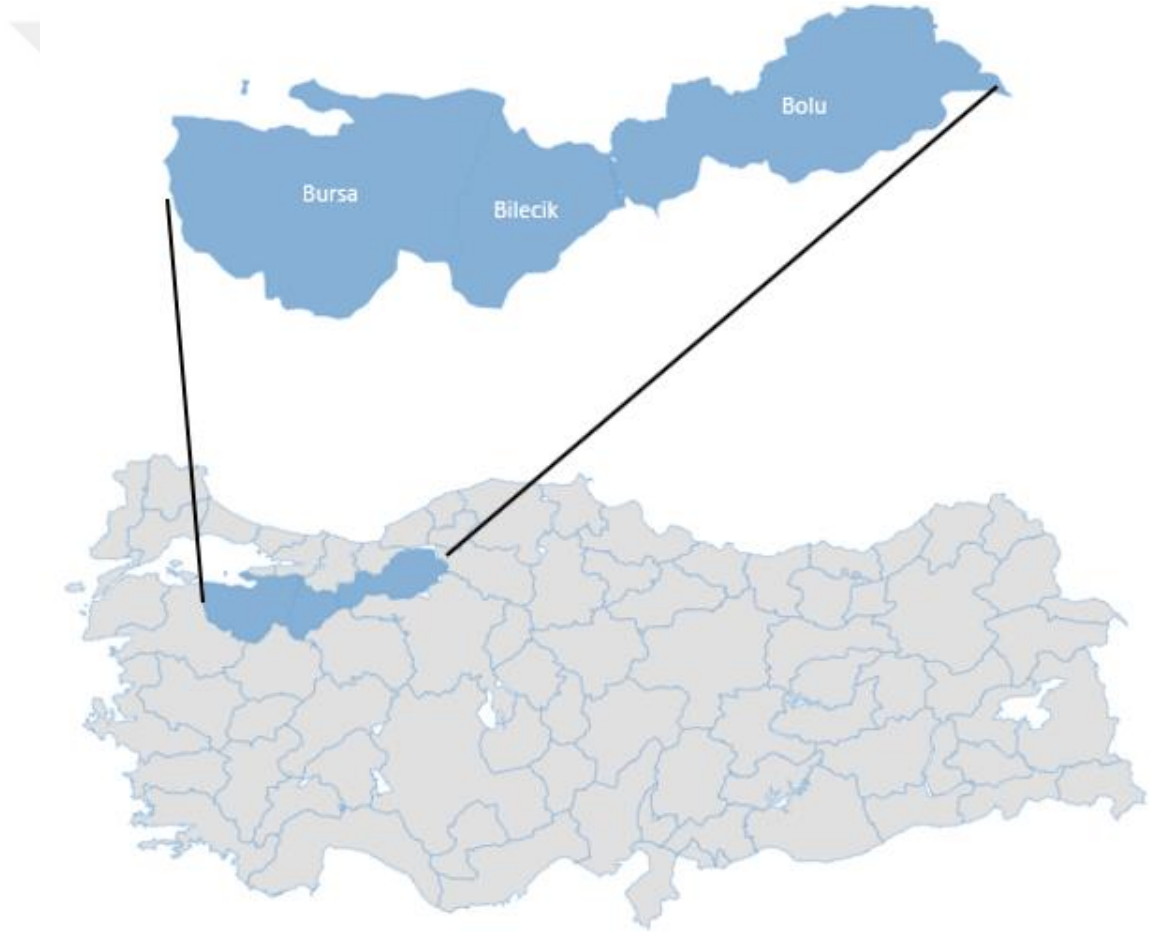
Türkiye’den 44 PPV-D izolatının tüm genom dizilimleri elde edilmiştir. Sonuçlar Türkiye-PPV-D izolatlarının diğer dünya PPV-D izolatları ile yüksek derecede benzerlik gösterdiği bilinmektedir. Ancak bu çalışmada Türkiye PPV-D izolatlarının büyük bir bölümünün farklı bir gruplaşma sergilediği görülmüştür. Bu izolatlardan iki tanesinin PPV-T ile rekombinant ırk oluşturduğu görülmüştür. İzolatların genetik çeşitliliği diğer ülkelerdeki sonuçlara benzer şekilde yüksek olarak tespit edilmiştir. Bütün veriler birlikte değerlendirildiğinde PPV-D’nin geniş evrimsel geçmişi de dikkate alındığında PPV-D ırkının aslında Türkiye orjinli olabileceği hipotezini ortaya koymuştur (Gürcan vd. 2020).



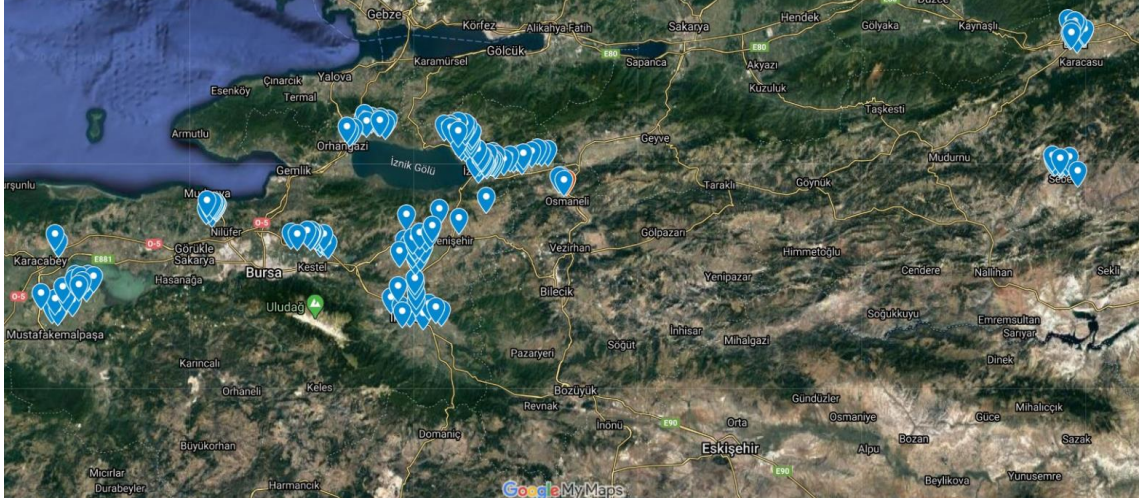
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Virüs İzolatlarının Temini

Bu çalışmada kullanılan araştırma materyali Bursa, Bilecik ve Bolu illerinden toplanan, hastalıkla bulaşık olduğu düşünülen ve viral semptomlar sergileyen şeftali yapraklarından oluşmaktadır. 2016, 2017 ve 2018 yılı Nisan-Temmuz ayları arasında şekil 3.1.'de belirtilen illerde yer alan ve şeftali tarımı yapılan bölgelere surveyler düzenlenmiştir. Örneklerin toplandığı bölgeler Google Maps üzerindeki ilgili koordinatlar dikkate alınarak işaretlenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.1 Survey kapsamındaki illerin haritası



Şekil 3.2 Survey kapsamında örnek toplanan lokasyonların Google Maps üzerinde işaretlenen konumları

3.2 Survey Çalışmaları

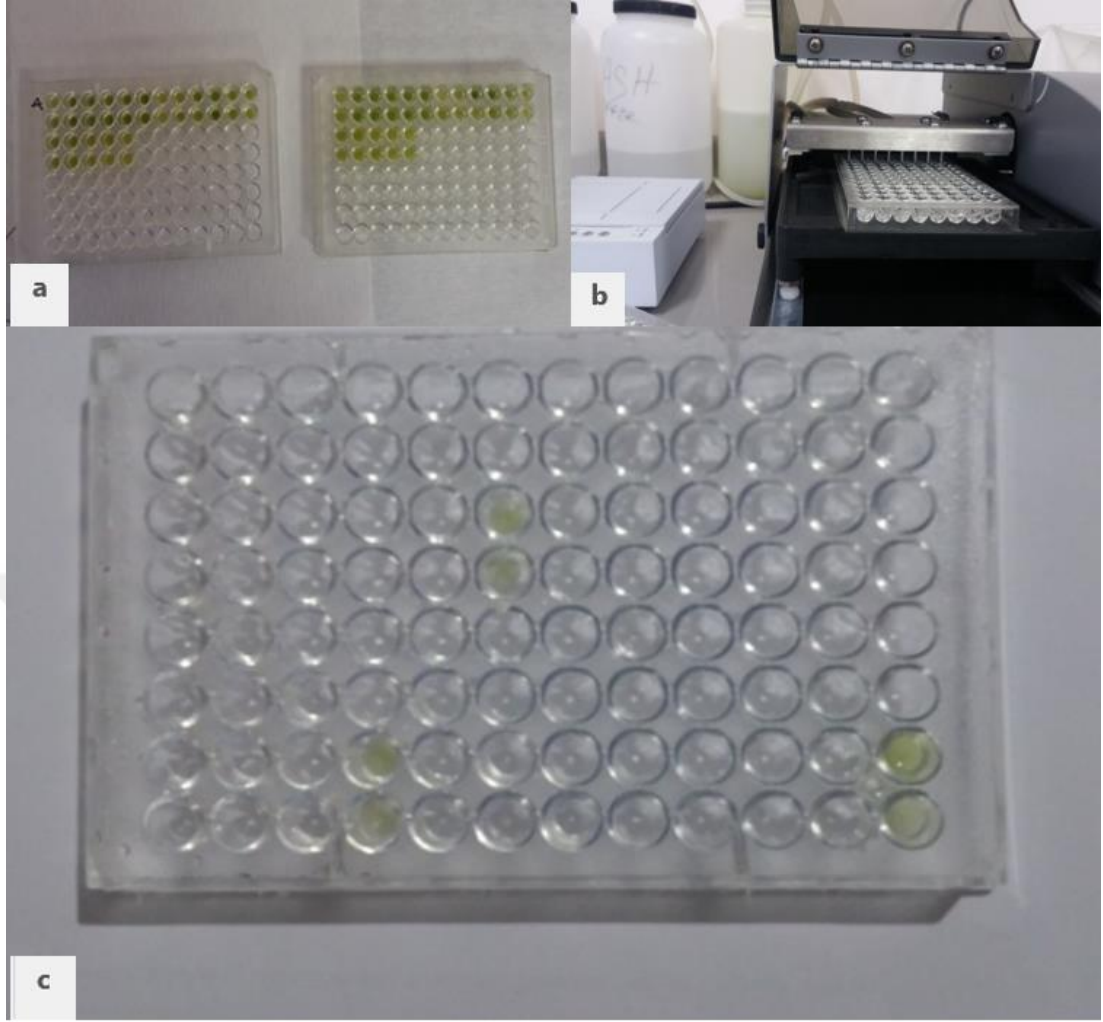
Çalışma bölgesinde yer alan 3 ilin 13 ilçesinde yapılan arazi çıkışlarında toplamda 900.000 ağacın yer aldığı 128 bahçe ve 3 adet fidanlık gezilmiştir. Her bir örnek sergilediği belirtilen semptomlar gözlemlenerek enfeksiyon varlığı açısından değerlendirilmiştir. Her bir semptomla ilişkilendirilen rakamsal kodlar İl-İlçe bilgisi de etiketlerde yer alacak şekilde etiketlenmiş, kağıt havlulara sarılarak kilitli torbalara yerleştirilmiştir. Ayrıca survey esnasında sağlıklı olduğu değerlendirilen bitkilerden pozitif kontrol amaçlı sağlıklı bitki örnekleri de toplanmıştır. Örneklerin alındığı üretim alanlarında üreticinin bilgisi dahilinde ağaçlara plastik kelepçe takılmış ve kelepçenin bir yedeği izolat torbalarına konulmuştur. Tüm örnekler buz kutularında muhafaza edilmiştir. Ayrıca GPS yardımıyla arazinin koordinatları alınmış, Google Maps üzerinden uydu görüntüleri alınan bahçe ve fidanlıklar laboratuvara gelindiğinde bir excel dosyasına işlenmiştir.

3.3 Serolojik Çalışmalar

Çalışma kapsamında virüsle bulaşık olduğu düşünülen 486 adet bitki örneği DAS-ELISA testine tabi tutulmuştur. Clark ve Adams (1977)'de anlatılan yöntemle göre DAS-ELISA çalışmalarında kullanılmak üzere LOEWE (Almanya) firmasından tedarik edilen PPV, PDV ve PNRSV virüsleri için ELISA kitleri, enfekteli bitki öz sularının çıkarılmasında

porselen havan ve havan eli kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan konstrasyonlar ilgili firmanın tavsiye ettiği talimatlar doğrultusunda hazırlanmıştır. Test sonucu absorbans değerleri ELISA plate reader cihazında 405 nm dalga boyunda okutulmuştur. Serolojik çalışmalar Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalında yürütülmüştür.

DAS-ELISA metodunda öncelikle test edilecek virüslere karşı spesifik olan IgG'ler 1/200 oranında coating buffer ile çözülmüş ve ELISA plakasında her bir kuyucuğa 100 µl olacak şekilde yüklenmiştir (Şekil 3.3.a). Yüklenen plakalar 37 °C'de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrasında ELISA plakaları 3'er defa yıkama tampon çözeltisi ile yıkanmıştır (Şekil 3.3.b). Ekstraksiyon çözeltisinde ezilen örnekler her örnekten 3 tekrarlı olacak şekilde kuyucuklara 100 µl yüklenmiştir. Yüklenen plakalar bir gece + 4 °C'de inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda yıkama işlemleri tekrarlanmıştır. Alkalin fosfataz ile işaretli konjugate, konjugat buffer içerisinde 1/200 oranında çözülerek her bir kuyucuğa 10 ul olarak eklenmiştir. Sonrasında plakalar 37 °C'de 4 saat inkübasyona bırakılmış, süre sonunda yıkama işlemleri tekrarlanmıştır. Yıkama işleminin tamamlanmasından sonra diethalonamin tampon çözeltisi içerisinde 1 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan 4-para-nitrophenyl phosphate çözeltisinden 100 µl eklenerek karanlık ortamda 1,5 saat bekletilmiştir. Tüm işlemler sonrası plakalarda meydana gelen renk değişimleri (Şekil 3.3.c) gözlenmiş ve ELISA plate reader (Thermo Scientific Multiscan FC Microplate Photometer, Amerika) cihazında okuma yapılmıştır. İlgili firmalardan temin edilen negatif ve pozitif kontrollerin kullanıldığı testte negatif kontrolün absorbans değerinin 2 katı ve üzeri değerlerde absorbans değeri görülen örnekler virüsle bulaşık olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3 Örneklerin kuyucuklara yüklenmesi (a), yıkama solusyonu ile plakaların yıkanması (b), test sonucu plakalarda meydana gelen renk değişimi (c)

3.4 Moleküler Çalışmalar

Serolojik çalışmalar sonucunda virüsle enfekteli olarak tespit edilen örnekler alındıkları bölgelere göre seçilerek dizileme ve filogenetik ağaç çalışmalarında kullanılmıştır.

3.4.1 Total RNA izolasyonu

Enfekteli olduğu DAS-ELISA sonucu belirlenen örneklerden toplam RNA izolasyonu çalışmalarında, Hettich Universal 320 R Masaüstü Soğutmalı Santrifüj (28 x 1,5 ml/15000 rpm), 8-16 mikro santrifüjler, Biosan TDB-120 Kuru Blok ısıtıcı, Brand ve

Nichiryo marka pipet setleri kullanılmıştır. İzolasyon aşamasında, NucleoZOL (Katalog No:740404.200; Macherey-Nagel, Almanya) marka RNA izolasyon solusyonu kullanılmıştır. Elde edilen toplam RNA miktarı ve kalitesini ölçmek amacıyla bir DS-11 FX+ nano-spectrofotometre (Denovix, Amerika) faydalanılmıştır.

İlk olarak CTAB temelli bir yöntemden (Anonymous 2019c) faydalanılmış ve aşağıdaki işlemler sırasıyla total RNA eldesi için kullanılmıştır:

1. 10 ml son hacim olacak şekilde hazırlanacak olan taze hazırlanmış buffer için Tris HCl (pH: 8,0) 1,25 ml, EDTA (pH:8.0) 0,46 ml, NaCl 1,67 gr, Sorbitol 0,27 gr, CTAB 0,08 gr, Sarcosyl-g 0,08 gr, PVP-40 0,20 gr, Sodiumdisulfite 0,05 gr olacak şekilde son hacim 10 ml olacak şekilde ayarlanmıştır.
2. Örnekler steril havan ve havaneli yardımıyla sıvı azot yardımıyla ezilmiştir (Şekil 3.4).
3. Hazırlanan solusyon 65 °C'de ısıtılarak sıvı azotla ezilen doku üzerine 650 µl eklenerek 60 °C'de 90 dk inkübasyona bırakılmıştır.
4. İnkübasyonun akabinde oda sıcaklığında soğumaya bırakılan numunelerin üzerine klorofom izoamil alkol (24/1) ilave edilerek ters düz edilmiştir.
5. 15.000 g'de 20 dk santrifüj edilerek elde edilen üst sıvı üzerine soğuk isopropanol eklenmiş, tüpler kısa bir süre ters-düz edildikten sonra -20 °C'de 2 saat bekletilmiştir.
6. 20 dk 15.000 g'de santifrüj ardından üst faz dökülmüş ve pellet kurumaya bırakılmıştır.
7. Yaklaşık 300 µl etanol (%70) ile pellet yıkanmış, kurutulduktan sonra nükleaz ari su içinde çözülmüş ve konsatrasyon ölçümü yapılmıştır.
8. Elde edilen total RNA -80 °C'lik derin dondurucuya kaldırılmıştır.



Şekil 3.4 Örneklerin sıvı azot yardımıyla ezilmesi

Ayrıca ilgili firmalardan deneme numunesi şeklinde temin edilen izolasyon kitleri ve solusyonları da çalışma kapsamında kullanılmıştır. Bu bağlamda NucleoZOL RNA izolasyon solusyonu da denenmiştir. Örneklerin bir kısmından NucleoZOL kullanılarak total RNA izolasyonu yapılmıştır. Bu yöntemde:

1. Sıvı azot yardımıyla ezilen örneklerin üzerine 500 µl NucleoZOL ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 15 dk süre ile bekletilmiştir.
2. Karışıma 200 µl nükleaz ari su eklenerek, ters düz edilerek kuvvetlice elle 15 sn çalkalanarak oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiştir.
3. İnkübasyonun ardından örnekler 12.000 g'de 15 dk santifrüj edilmiştir. Elde edilen üst sıvı (500 µl) yeni bir tüpe alınmış ve üzerine aynı hacimde soğuk isopropanol eklenmiş ve tüpler oda sıcaklığında nazikçe ters düz edilerek çökeleğin görünür hale gelmesi sağlanmıştır.
4. 10 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılan örnekler, 12.000 g'de 10 dk santrifüj edilerek üst faz dökülmüştür.
5. Pellet %70 etanol ilavesi ile 3 dk süre 8.000 g'de santifrüj edilerek yıkanmıştır.
6. Nükleaz ari su içerisinde çözülen total RNA'lar konsantrasyonu ölçüldükten sonra -80 °C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

3.4.2 Komplementer DNA (cDNA) sentezi

Total nükleik asit izolasyonundan sonra RNA konsatrasyonları 100 ng/uL olacak şekilde ayarlanarak 3 tekerrürlü muhafaza edilmiştir. Muhafaza edilen tekerrürlerden 1 tanesi total cDNA eldesinde, diğer tekerrür one-step RT-PCR denemelerinde, 3. tekerrür ise stok olarak saklanmıştır. One-step PCR çalışmalarının yanı sıra karışık enfeksiyonların belirlenebilmesi amacıyla total cDNA eldesi gerçekleştirilmiştir. cDNA sentezinde 200 uL hacminde PCR tüpleri kullanılmıştır. 5 µl Total RNA, 1 µl oligoDT, 1 µl random hexamer primer, 3 µl steril su ile 10 µl hacime tamamlanmış bu karışım 65 °C'de 5 dk inkübe edildikten sonra üzerine 2 µl dNTP (10mM), 1 µl RevertAid M-MuLV RT (200 U/µl), 1 µl RiboLock RNase Inhibitor (20 U/µl) ve 6 µl 5X reaksiyon buffer ilave edilerek son hacim 20 µl'e tamamlanmıştır. Tüpler 25 °C'de 5 dk, 42 °C'de 60 dk ve 72 °C'de 5 dk olacak şekilde programlanan bir T 100 model thermalcycler (Bio-Rad, Amerika) cihazına yerleştirilmiştir. Reaksiyon sonrası elde edilen total cDNA -20 °C derin dondurucuda kullanılıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

3.4.3 PCR çalışmaları

Elde edilen total cDNA kullanılarak two-step PCR çalışmaları başlatılmıştır. Bu amaçla 2 µl cDNA, 1.5 mM MgCl₂ içeren Taq DNA Polymerase 2x Master Mix (Katalog No: A180301 Ampliqon, Danimarka), 1,5 µl her bir primer (10 pmol) saf su ile 25 µl hacme tamamlanıp PCR cihazına yerleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan virüs spesifik primerler çizelge 3.1'de verilmiştir. Primerler ilgili firmadan (Oligomer, Ankara) tuz saflaştırma metodu ile sentezlettilererek temin edilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan primer bilgileri ve PCR koşulları

Virüs	Primer	Ürün	PCR koşulları	Kaynak
PNRSV	F: TCACTCTAGATCTCAAGCAG R: GAGCTCTGGTCCCCTCAGG	616 bp	95 °C'de 3 dk, 92 °C'de 30 sn, 54 °C'de 30 sn, 72 °C'de 1 dk ve 72 °C'de 5 dk (35 döngü)	Spiegel vd. (1999)

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan primer bilgileri ve PCR koşulları (devam)

PDV	F: GTGTAGAAAGAAGAGAAGT CCGACAAG R: ATCTAGAAGCAGCATTTC CAACTACGA	862 bp	94 °C'de 2 dk, 94 °C'de 30 sn, 50 °C'de 30 sn, 72 °C'de 1 dk ve 72 °C'de 5 dk (40 döngü)	Vašková vd. (2000)
PPV	F: ACCGAGACCACTACTCCC R: CAGACTACAGCCTCGCCAGA	244 bp	92 C'de 2 dk, 92 C'de 30 sn, 60 C'de 30 sn, 72 C'de 1 dk., 72 C'de 10 dk.(40 döngü)	Akbaş vd. (2011)
PCI/PP3 (PPV)	F: TTGAGTCAAATGGRACAGTT GG R: TTATCTCCAGGARTTGGAGC	836 bp	94 °C'de 5 dak, 94 °C'de 1 dk,50 °C'de 1 dk,72 °C'de 1 dk., 72 °C'de 10 dk. (35 döngü)	Glasa vd. (2002)

3.4.4 Agaroz jel elektroforez çalışmaları

Elektroforez ve jel görüntüleme çalışmalarında CBS Scientific marka yatay mini elektroforez sistemi ve güç kaynağı, Biomax (Prona, İspanya) marka agaroz, ethidium bromide muhafaza kapları, G:Box F3 (Syngene, İngiltere) marka jel görüntüleme sistemi kullanılmıştır. Virüs spesifik primerler ile yapılan PCR sonucu elde edilen ampliconlar %1,5 oranında hazırlanan agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla Gallitelli ve Minafra (1994)'e göre yapılan çalışmalarda 100 ml TAE içerisinde 1,5 gr agaroz çözülmüş, karışım homojen bir erime sağlanıncaya kadar mikrodalga fırın içerisine bırakılmıştır. Homojen bir karışım özelliği sergileyen karışım 55-60 °C'lik sıcaklığa soğutulup, tarak yerleşik tank içerisine dökülmüştür. Jelin donmasının akabinde tarak dikkatli bir şekilde çıkarılarak, jelin üzerini 3 mm kapatacak şekilde 1 X TAE ilavesi yapılmıştır. 2 µl loading dye (NEB Blue 6x, İngiltere) eklenen 8 µl hacmindeki PCR ürünleri kuyucuklara yüklenmiştir. Ayrıca 100 bp DNA marker (Hibrigen, Türkiye), amplicon boyutlarının agaroz jel üzerinde belirlenebilmesi için ilk kuyucuğa yüklenmiştir. 60 dk süre ile 90 V'da yapılan elektroforez işlemi sonucunda jeller ethidium bromide çözeltisinde 10 dk bekletilerek saf su içerisinde yıkanmıştır. Sonuçlar jel görüntüleme sistemi yardımıyla fotoğraflanmıştır.

3.4.5 Filogenetik ilişkinin belirlenmesi

PCR sonucunda beklenen bant büyüklüğünde ürün veren örnekler farklı il ve ilçeleri temsil edecek şekilde DNA dizi analizine gönderilmiştir. Dizileme çalışmaları ilgili firmadan (Macrogen, Güney Kore) hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Dizileme sonucunda gelen datalar BlastN analizine tabi tutulmuş olup, benzerlik oranları tespit edilmiştir. MEGA X programı kullanılarak referans izolatlar ile consensus serileri oluşturulmuş “Neighbours joining tree” modeli ile 1000 bootstrap replicate parametreleri kullanılarak filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Türkiye ve dünyanın farklı bölgelerinden Genbank veritabanında yer alan referans izolatlar ile nükleotid ve amino asit düzeyindeki benzerlik oranı Sequence Demarcation Tool (SDT) v.1.2 programı kullanılarak hesaplanmış renklendirilmiş matrisler oluşturulmuştur (Muhire vd. 2014).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Survey ve Simptomatoloji

Çalışma kapsamında Bursa, Bilecik ve Bolu illerinde şeftali yetiştiriciliği yapılan alanlardan 2016, 2017 ve 2018 yıllarında toplanan örneklerde gözlenen belirtiler Çizelge 4.1’de yer almaktadır.

Çizelge 4.1 Toplanan örnekler ve gözlenen belirtiler

Toplanan yer: Bursa-Osmangazi			
İzolant	Semptom	İzolant	Semptom
Og-17-1	Afit zararı, yapraklarda kıvrılma	Og-17-23	Yapraklarda testere diş oluşumu
Og-17-2	Yapraklarda kıvrılma, klorotik leke	Og-17-24	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Og-17-3	Klorotik lekeler, sararma	Og-17-25	Renk açılması
Og-17-4	Yapraklarda testere diş, sararma	Og-17-26	Saçma deliği alanlar, sararma
Og-17-5	Klorotik lekeler, çalılışma	Og-17-27	Renk açılması, damar sararması
Og-17-6	Boğum daralması, gelişme geriliği	Og-17-28	Klorotik lekeler
Og-17-7	Renk açılması, kızarma	Og-17-29	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Og-17-8	Yapraklarda kıvrılma	Og-17-30	Klorotik lekeler, çalılışma
Og-17-9	Afit zararı, kızarma	Og-17-31	Renk açılması, klorotik lekeler
Og-17-10	Renk açılması, kızarma	Og-17-32	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Og-17-11	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Og-17-33	Renk açılması, sararma
Og-17-12	Boğum daralması	Og-17-34	Klorotik lekeler
Og-17-13	Klorotik lekeler, kızarma	Og-17-35	Yapraklarda kıvrılma
Og-17-14	Yapraklarda kıvrılma	Og-17-36	Yapraklarda testere diş oluşumu
Og-17-15	Klorotik lekeler	Og-17-37	Afit zararı, damar sararması
Og-17-16	Yapraklarda kıvrılma	Og-17-38	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Og-17-17	Boğum daralması	Og-17-39	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Og-17-18	Saçma deliği alanlar	Og-17-40	Klorotik lekeler, kızarma
Og-17-19	Renk açılması	Og-17-41	Saçma deliği alanlar, sararma
Og-17-20	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Og-17-42	Yapraklarda kıvrılma
Og-17-21	Afit zararı, sararma	Og-17-43	Yapraklarda testere diş oluşumu
Og-17-22	Boğum daralması, sararma	Og-17-44	Renk açılması, çalılışma
Toplanan yer: Bursa-İznik			
İzolant	Semptom	İzolant	Semptom
İz-17-1	Klorotik lekeler	İz-17-21	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
İz-17-2	Afit zararı, damar sararması	İz-17-22	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
İz-17-3	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	İz-17-23	Klorotik lekeler, damar sararması
İz-17-4	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	İz-17-24	Damar daralması, sararma
İz-17-5	Klorotik lekeler, damar sararması	İz-17-25	Renk açılması, damar sararması
İz-17-6	Renk açılması, çalılışma	İz-17-26	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
İz-17-7	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	İz-17-27	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme

Çizelge 4.1 Toplanan örnekler ve gözlenen semptomlar (devam)

İz-17-8	Renk açılması	İz-17-28	Afit zararı
İz-17-9	Renk açılması	İz-17-29	Afit zararı, klorotik lekeler
İz-17-10	Yapraklarda kıvrılma	İz-17-30	Renk açılması, damar sararması
İz-17-11	Yapraklarda kıvrılma	İz-17-31	Renk açılması, damar sararması
İz-17-12	Afit zararı, klorotik lekeler	İz-17-32	Yapraklarda kıvrılma, kızarma
İz-17-13	Afit zararı, klorotik lekeler	İz-17-33	Renk açılması
İz-17-14	Yapraklarda kıvrılma	İz-17-34	Klorotik lekeler, çalılışma
İz-17-15	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	İz-17-35	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
İz-17-16	Yapraklarda kıvrılma, sararma	İz-17-36	Renk açılması, kızarma
İz-17-17	Klorotik lekeler	İz-17-37	Renk açılması, kızarma
İz-17-18	Klorotik lekeler	İz-17-38	Yapraklarda testere diş oluşumu
İz-17-19	Afit zararı	İz-17-39	Renk açılması, damar sararması
İz-17-20	Yapraklarda kıvrılma	İz-17-40	Renk açılması
Toplanan yer: Bursa-Gürsu			
İzolat	Simptom	İzolat	Simptom
Gr-17-01	Yapraklarda kıvrılma	Gr-17-11	Klorotik lekeler, damar sararması
Gr-17-02	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Gr-17-12	Yapraklarda kıvrılma, sararma
Gr-17-03	Renk açılması	Gr-17-13	Renk açılması
Gr-17-04	Afit zararı	Gr-17-14	Afit zararı, sararma
Gr-17-05	Afit zararı, çalılışma	Gr-17-15	Afit zararı, sararma
Gr-17-06	Yapraklarda kıvrılma	Gr-17-16	Renk açılması
Gr-17-07	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Gr-17-17	Afit zararı, çalılışma
Gr-17-08	Yapraklarda kıvrılma	Gr-17-18	Renk açılması, geriye ölüm
Gr-17-09	Renk açılması, sararma	Gr-17-19	Renk açılması
Gr-17-10	Renk açılması	Gr-17-20	Afit zararı, sararma
Toplanan yer: Bursa-Nilüfer			
İzolat	Simptom	İzolat	Simptom
Nİ-17-01	Yapraklarda kıvrılma	Nİ-17-05	Afit zararı, sararma
Nİ-17-02	Renk açılması, klorotik lekeler	Nİ-17-06	Afit zararı, sararma, kızarma
Nİ-17-03	Yapraklarda testere diş oluşumu	Nİ-17-07	Afit zararı, sararma, kızarma
Nİ-17-04	Renk açılması, çalılışma	Nİ-17-08	Afit zararı, sararma
Toplanan yer: Bursa-İnegöl			
İzolat	Simptom	İzolat	Simptom
İN-17-01	Klorotik lekeler, damar sararması	İN-17-24	Yapraklarda kıvrılma
İN-17-02	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	İN-17-25	Saçma deliği alanlar
İN-17-03	Boğum daralması	İN-17-26	Renk açılması, klorotik lekeler
İN-17-04	Renk açılması, klorotik lekeler	İN-17-27	Saçma deliği alanlar
İN-17-05	Renk açılması, klorotik lekeler	İN-17-28	Renk açılması
İN-17-06	Boğum daralması	İN-17-29	Saçma deliği alanlar, sararma
İN-17-07	Saçma deliği alanlar, sararma	İN-17-30	Renk açılması, klorotik lekeler
İN-17-08	Saçma deliği alanlar, sararma	İN-17-31	Saçma deliği alanlar
İN-17-09	Boğum daralması, sararma	İN-17-32	Klorotik lekeler, çalılışma
İN-17-10	Klorotik lekeler, damar sararması	İN-17-33	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
İN-17-11	Klorotik lekeler	İN-17-34	Saçma deliği alanlar, sararma
İN-17-12	Genel gelişme geriliği	İN-17-35	Renk açılması, klorotik lekeler
İN-17-13	Klorotik lekeler	İN-17-36	Klorotik lekeler
İN-17-14	Yapraklarda kıvrılma, sararma	İN-17-37	Yapraklarda kıvrılma

Çizelge 4.1 Toplanan örnekler ve gözlenen semptomlar (devam)

İn-17-15	Klorotik lekeler, çalılışma	İn-17-38	Klorotik lekeler, damar sararması
İn-17-16	Yapraklarda testere diş oluşumu	İn-17-39	Saçma deliği şeklinde alanlar
İn-17-17	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	İn-17-40	Genel gelişme geriliği
İn-17-18	Klorotik lekeler	İn-17-41	Saçma deliği alanlar, sararma
İn-17-19	Yapraklarda kıvrılma, sararma	İn-17-42	Saçma deliği alanlar, sararma
İn-17-20	Yapraklarda testere diş oluşumu	İn-17-43	Afit zararı
İn-17-21	Yapraklarda kıvrılma, sararma	İn-17-44	Afit zararı, damar sararması
İn-17-22	Yapraklarda testere diş oluşumu	İn-17-45	Afit zararı, sararma
İn-17-23	Klorotik lekeler	İn-17-46	Yapraklarda kıvrılma
Toplanan yer: Bursa-Yıldırım			
İzolot	Simptom	İzolot	Simptom
Y1-17-01	Yapraklarda kıvrılma	Y1-17-09	Afit zararı
Y1-17-02	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Y1-17-10	Afit zararı, içe bükülme
Y1-17-03	Klorotik lekeler, kızarma	Y1-17-11	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Y1-17-04	Saçma deliği alanlar, çalılışma	Y1-17-12	Klorotik lekeler, geriye ölüm
Y1-17-05	Klorotik lekeler, damar sararması	Y1-17-13	Saçma deliği alanlar
Y1-17-06	Klorotik lekeler, damar sararması	Y1-17-14	Renk açılması, kızarma
Y1-17-07	Renk açılması, klorotik lekeler	Y1-17-15	Renk açılması, çalılışma
Y1-17-08	Renk açılması, klorotik lekeler	Y1-17-16	Klorotik lekeler
Toplanan yer: Bursa-Mudanya			
İzolot	Simptom	İzolot	Simptom
Md-17-01	Afit zararı	Md-17-11	Klorotik lekeler
Md-17-02	Afit zararı, damar sararması	Md-17-12	Afit zararı, içe bükülme
Md-17-03	Saçma deliği alanlar, çalılışma	Md-17-13	Klorotik lekeler
Md-17-04	Klorotik lekeler, geriye ölüm	Md-17-14	Renk açılması, klorotik lekeler
Md-17-05	Yapraklarda kıvrılma	Md-17-15	Yapraklarda kıvrılma, kızarma
Md-17-06	Klorotik lekeler, damar sararması	Md-17-16	Yapraklarda kıvrılma
Md-17-07	Yapraklarda kıvrılma	Md-17-17	Yapraklarda testere diş oluşumu
Md-17-08	Yapraklarda testere diş oluşumu	Md-17-18	Yapraklarda kıvrılma
Md-17-09	Yapraklarda kızarma	Md-17-19	Klorotik lekeler, damar sararması
Md-17-10	Saçma deliği alanlar	Md-17-20	Saçma deliği alanlar
Toplanan yer: Bursa-Mustafakemalpaşa			
İzolot	Simptom	İzolot	Simptom
Km-17-01	Yapraklarda kıvrılma	Km-17-15	Afit zararı
Km-17-02	Yapraklarda kıvrılma, geriye ölüm	Km-17-16	Yapraklarda kıvrılma
Km-17-03	Yapraklarda kıvrılma	Km-17-17	Klorotik lekeler
Km-17-04	Klorotik lekeler, çalılışma	Km-17-18	Yapraklarda testere diş oluşumu
Km-17-05	Genel gelişme geriliği	Km-17-19	Yapraklarda kıvrılma
Km-17-06	Renk açılması, geriye ölüm	Km-17-20	Klorotik lekeler
Km-17-07	Yapraklarda testere diş oluşumu	Km-17-21	Yapraklarda kızarma
Km-17-08	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Km-17-22	Yapraklarda kıvrılma
Km-17-09	Klorotik lekeler	Km-17-23	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Km-17-10	Genel gelişme geriliği	Km-17-24	Yapraklarda testere diş oluşumu
Km-17-11	Renk açılması, klorotik lekeler	Km-17-25	Saçma deliği alanlar
Km-17-12	Afit zararı, kızarma	Km-17-26	Renk açılması
Km-17-13	Afit zararı, damar sararması	Km-17-27	Renk açılması, çalılışma
Km-17-14	Klorotik lekeler	Km-17-28	Klorotik lekeler

Çizelge 4.1 Toplanan örnekler ve gözlenen semptomlar (devam)

Toplanan yer: Bursa-Orhangazi			
İzolot	Simptom	İzolot	Simptom
Or-17-01	Yapraklarda kıvrılma, geriye ölüm	Or-17-14	Yapraklarda kıvrılma
Or-17-02	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Or-17-15	Yapraklarda kızarma
Or-17-03	Yapraklarda kıvrılma	Or-17-16	Geriye doğru ölüm, çalılışma
Or-17-04	Damar daralması	Or-17-17	Genel gelişme geriliği
Or-17-05	Damar daralması, geriye ölüm	Or-17-18	Damar daralması
Or-17-06	Saçma deliği alanlar	Or-17-19	Renk açılması, çalılışma
Or-17-07	Damar daralması	Or-17-20	Genel gelişme geriliği
Or-17-08	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Or-17-21	Yapraklarda kıvrılma
Or-17-09	Damar daralması	Or-17-22	Afit zararı, damar sararması
Or-17-10	Damar daralması	Or-17-23	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Or-17-11	Yapraklarda kıvrılma	Or-17-24	Damar daralması
Or-17-12	Klorotik lekeler, kızarma	Or-17-25	Saçma deliği alanlar
Or-17-13	Renk açılması	Or-17-26	Damar daralması, çalılışma
Toplanan yer: Bursa-Yenişehir			
İzolot	Simptom	İzolot	Simptom
Y-17-01	Yapraklarda kıvrılma	Y-17-16	Yapraklarda kıvrılma
Y-17-02	Renk açılması	Y-17-17	Renk açılması, geriye ölüm
Y-17-03	Genel gelişme geriliği	Y-17-18	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Y-17-04	Yapraklarda testere diş oluşumu	Y-17-19	Genel gelişme geriliği
Y-17-05	Renk açılması, klorotik lekeler	Y-17-20	Genel gelişme geriliği
Y-17-06	Afit zararı, çalılışma	Y-17-21	Yapraklarda kıvrılma
Y-17-07	Renk açılması, kızarma	Y-17-22	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Y-17-08	Saçma deliği alanlar	Y-17-23	Yapraklarda kızarma
Y-17-09	Renk açılması, damar sararması	Y-17-24	Genel gelişme geriliği
Y-17-10	Renk açılması, kızarma	Y-17-25	Renk açılması, damar sararması
Y-17-11	Yapraklarda kıvrılma	Y-17-26	Saçma deliği alanlar
Y-17-12	Genel gelişme geriliği	Y-17-27	Renk açılması
Y-17-13	Yapraklarda testere diş oluşumu	Y-17-28	Genel gelişme geriliği
Y-17-14	Genel gelişme geriliği	Y-17-29	Genel gelişme geriliği
Y-17-15	Afit zararı	Y-17-30	Afit zararı
Toplanan yer: Bursa-Kestel			
İzolot	Simptom	İzolot	Simptom
K-17-01	Klorotik lekeler, damar sararması	K-17-30	Genel gelişme geriliği
K-17-02	Genel gelişme geriliği	K-17-31	Yapraklarda kızarma
K-17-03	Yapraklarda kıvrılma, çalılışma	K-17-32	Yapraklarda testere diş oluşumu
K-17-04	Yapraklarda kıvrılma, geriye ölüm	K-17-33	Saçma deliği alanlar, sararma
K-17-05	Yapraklarda kıvrılma	K-17-34	Afit zararı, çalılışma
K-17-06	Klorotik lekeler	K-17-35	Yapraklarda kıvrılma
K-17-07	Afit zararı, geriye ölüm	K-17-36	Yapraklarda kıvrılma
K-17-08	Renk açılması	K-17-37	Klorotik lekeler
K-17-09	Klorotik lekeler	K-17-38	Afit zararı, kızarma
K-17-10	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	K-17-39	Renk açılması, klorotik lekeler
K-17-11	Renk açılması, klorotik lekeler	K-17-40	Klorotik lekeler
K-17-12	Klorotik lekeler	K-17-41	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
K-17-13	Klorotik lekeler, damar sararması	K-17-42	Klorotik lekeler

Çizelge 4.1 Toplanan örnekler ve gözlenen semptomlar (devam)

K-17-14	Yapraklarda kıvrılma	K-17-43	Genel gelişme geriliği
K-17-15	Klorotik lekeler, çalılışma	K-17-44	Klorotik lekeler
K-17-16	Yapraklarda kıvrılma	K-17-45	Klorotik lekeler, geriye ölüm
K-17-17	Renk açılması, damar sararması	K-17-46	Yapraklarda kıvrılma
K-17-18	Klorotik lekeler	K-17-47	Yapraklarda kıvrılma
K-17-19	Saçma deliği alanlar	K-17-48	Afit zararı, damar sararması
K-17-20	Klorotik lekeler, kızarma	K-17-49	Afit zararı, çalılışma
K-17-21	Klorotik lekeler	K-17-50	Klorotik lekeler
K-17-22	Afit zararı, geriye ölüm	K-17-51	Genel gelişme geriliği
K-17-23	Yapraklarda kıvrılma	K-17-52	Klorotik lekeler
K-17-24	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	K-17-53	Yapraklarda kıvrılma
K-17-25	Klorotik lekeler, çalılışma	K-17-54	Yapraklarda kızarma
K-17-26	Afit zararı, damar sararması	K-17-55	Yapraklarda testere diş oluşumu
K-17-27	Klorotik lekeler	K-17-56	Klorotik lekeler
K-17-28	Renk açılması, klorotik lekeler	K-17-57	Yapraklarda kıvrılma
K-17-29	Yapraklarda kıvrılma	K-17-58	Yapraklarda kıvrılma
Toplanan yer: Bilecik-Osmaneli			
İzolat	Simptom	İzolat	Simptom
Bi-17-01	Afit zararı	Bi-17-63	Klorotik lekeler
Bi-17-02	Afit zararı, kızarma	Bi-17-64	Afit zararı, damar sararması
Bi-17-03	Yapraklarda testere diş oluşumu	Bi-17-65	Renk açılması
Bi-17-04	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-66	Klorotik lekeler
Bi-17-05	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Bi-17-67	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Bi-17-06	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-68	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-07	Klorotik lekeler	Bi-17-69	Klorotik lekeler, geriye ölüm
Bi-17-08	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-70	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-09	Yapraklarda kızarma	Bi-17-71	Klorotik lekeler
Bi-17-10	Afit zararı, kızarma	Bi-17-72	Yapraklarda kıvrılma, bükülme
Bi-17-11	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-73	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-12	Klorotik lekeler	Bi-17-74	Afit zararı
Bi-17-13	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-75	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-14	Saçma deliği alanlar	Bi-17-76	Klorotik lekeler
Bi-17-15	Afit zararı, geriye ölüm	Bi-17-77	Saçma deliği alanlar
Bi-17-16	Afit zararı, damar sararması	Bi-17-78	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Bi-17-17	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-79	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-18	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-80	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-19	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-81	Klorotik lekeler
Bi-17-20	Renk açılması, geriye ölüm	Bi-17-82	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-21	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-83	Klorotik lekeler
Bi-17-22	Klorotik lekeler	Bi-17-84	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-23	Geriye doğru ölüm	Bi-17-85	Geriye doğru ölüm
Bi-17-24	Afit zararı, damar sararması	Bi-17-86	Saçma deliği alanlar
Bi-17-25	Afit zararı, çalılışma	Bi-17-87	Saçma deliği alanlar
Bi-17-26	Klorotik lekeler	Bi-17-88	Renk açılması, klorotik lekeler
Bi-17-27	Genel gelişme geriliği	Bi-17-89	Renk açılması, klorotik lekeler
Bi-17-28	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-90	Saçma deliği alanlar
Bi-17-29	Klorotik lekeler	Bi-17-91	Afit zararı, kızarma

Çizelge 4.1 Toplanan örnekler ve gözlenen semptomlar (devam)

Bi-17-30	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Bi-17-92	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-31	Saçma deliği alanlar	Bi-17-93	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Bi-17-32	Afit zararı, geriye ölüm	Bi-17-94	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-33	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-95	Klorotik lekeler, damar sararması
Bi-17-34	Renk açılması	Bi-17-96	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-35	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Bi-17-97	Klorotik lekeler
Bi-17-36	Klorotik lekeler	Bi-17-98	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-37	Renk açılması	Bi-17-99	Saçma deliği alanlar
Bi-17-38	Yapraklarda kızarma	Bi-17-100	Yapraklarda kızarma
Bi-17-39	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-101	Renk açılması
Bi-17-40	Renk açılması, klorotik lekeler	Bi-17-102	Klorotik lekeler, geriye ölüm
Bi-17-41	Afit zararı	Bi-17-103	Genel gelişme geriliği
Bi-17-42	Yapraklarda kızarma	Bi-17-104	Geriye doğru ölüm
Bi-17-43	Saçma deliği alanlar	Bi-17-105	Afit zararı, damar sararması
Bi-17-44	Saçma deliği alanlar	Bi-17-106	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-45	Afit zararı	Bi-17-107	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Bi-17-46	Genel gelişme geriliği	Bi-17-108	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Bi-17-47	Geriye doğru ölüm	Bi-17-109	Renk açılması, damar sararması
Bi-17-48	Renk açılması, klorotik lekeler	Bi-17-110	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-49	Genel gelişme geriliği	Bi-17-111	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-50	Klorotik lekeler	Bi-17-112	Klorotik lekeler
Bi-17-51	Klorotik lekeler, kızarma	Bi-17-113	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-52	Geriye doğru ölüm	Bi-17-114	Klorotik lekeler
Bi-17-53	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Bi-17-115	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-54	Renk açılması, geriye ölüm	Bi-17-116	Genel gelişme geriliği
Bi-17-55	Renk açılması, çalılama	Bi-17-117	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Bi-17-56	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-118	Yapraklarda kıvrılma
Bi-17-57	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Bi-17-119	Afit zararı
Bi-17-58	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-120	Afit zararı, damar sararması
Bi-17-59	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-121	Saçma deliği alanlar
Bi-17-60	Renk açılması	Bi-17-122	Saçma deliği alanlar
Bi-17-61	Yapraklarda kıvrılma	Bi-17-123	Renk açılması
Bi-17-62	Saçma deliği alanlar	Bi-17-124	Saçma deliği alanlar
Toplanan yer: Bolu-Seben			
İzolat	Simptom	İzolat	Simptom
Sb-17-01	Afit zararı	Sb-17-06	Genel gelişme geriliği
Sb-17-02	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Sb-17-07	Renk açılması, kızarma
Sb-17-03	Klorotik lekeler, geriye ölüm	Sb-17-08	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Sb-17-04	Genel gelişme geriliği	Sb-17-09	Yapraklarda kıvrılma
Sb-17-05	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Sb-17-10	Afit zararı
Toplanan yer: Bolu-Merkez			
İzolat	Simptom	İzolat	Simptom
Bm-17-01	Yapraklarda kıvrılma	Bm-17-09	Afit zararı
Bm-17-02	Afit zararı, geriye ölüm	Bm-17-10	Afit zararı
Bm-17-03	Genel gelişme geriliği	Bm-17-11	Yapraklarda kıvrılma
Bm-17-04	Yapraklarda kıvrılma	Bm-17-12	Renk açılması, damar sararması
Bm-17-05	Renk açılması	Bm-17-13	Renk açılması, kızarma

Çizelge 4.1 Toplanan örnekler ve gözlenen semptomlar (devam)

Bm-17-06	Klorotik lekeler	Bm-17-14	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme
Bm-17-07	Klorotik lekeler	Bm-17-15	Saçma deliği alanlar
Bm-17-08	Yapraklarda kıvrılma, içe bükülme	Bm-17-16	Genel gelişme geriliği

4.1.1 Semptomlar

Survey bölgesinde gözlenen ağaçlarda görülen başlıca semptomlar genellikle yapraklarda renk açılması ve kıvrılma, bitkilerde çalılışma, yaprak üzerinde saçma şeklinde nekrotik alanlar ve klorotik lekeler, bitkilerde genel gelişim geriliği olarak tespit edilmiştir.

Yapılan survey çalışmaları sonucunda PDV ile bulaşık bitkilerde gelişme geriliği, internodların kısalması, yaprakların kıvrılması (Şekil 4.1), yapraklar üzerinde klorotik lekeler ve bodurlaşma şeklinde semptomlar (Şekil 4.2a,b) görülmüştür. PDV bulaşık olduğu her bitkide semptom meydana getirmemiş, karışık enfeksiyon durumunda ise semptom oluşumunun arttığı görülmüştür.



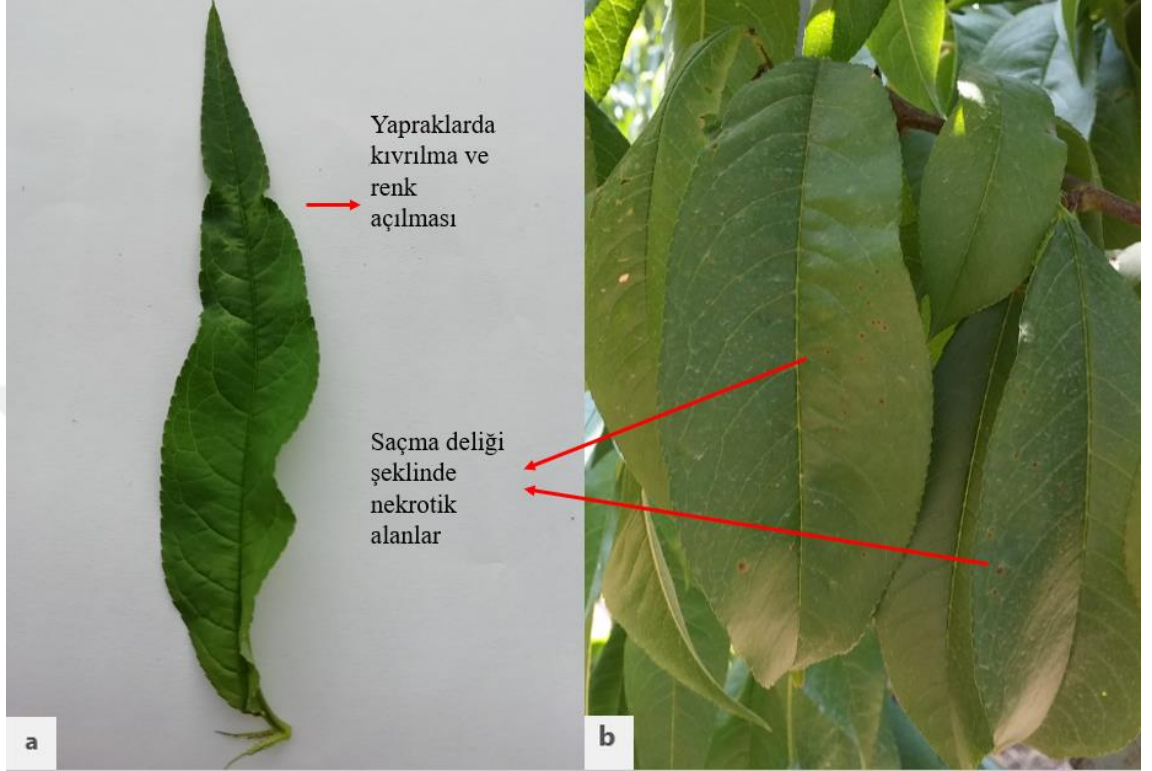
Şekil 4.1 Test sonucu PDV ile enfekteli belirlenen örnekte yaprak kıvrılması ve klorotik renk değişimi (Bilecik-Osmaneli)



Şekil 4.2 Bursa Kestel’de PDV enfeksiyonu belirlenen şeftali yaprağındaki klorotik lekeler (a) ve bulaşık bitkide meydana gelen bodurlaşma (b)

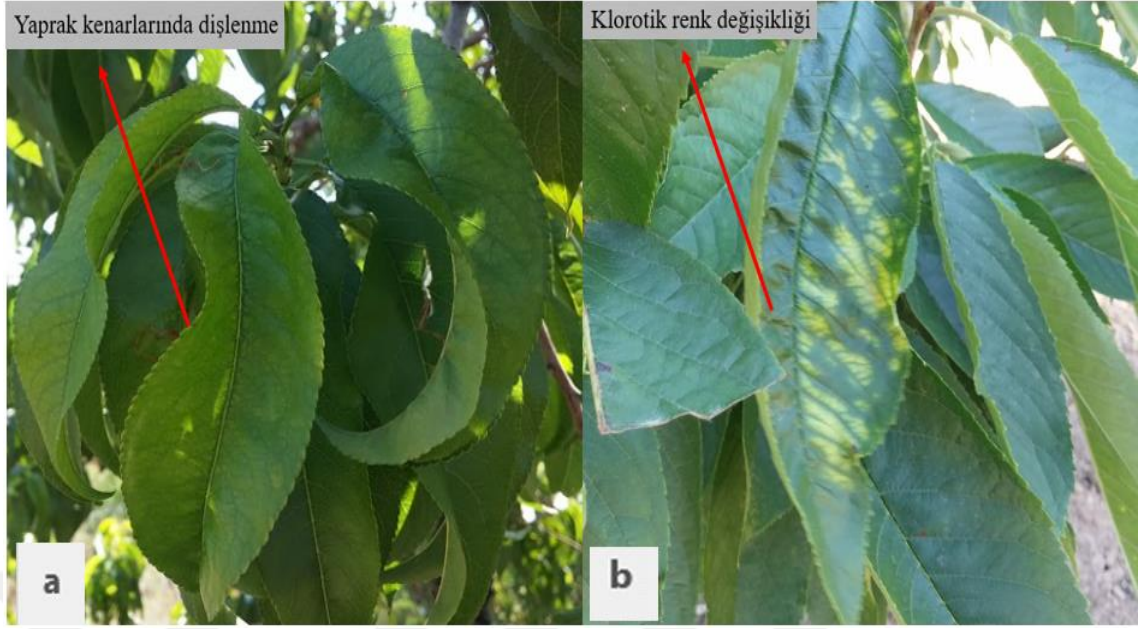
Survey bölgesinde toplanan ve PNRSV ile bulaşık olduğu tespit edilen şeftali yapraklı üzerinde görülen belirtiler yaprak kenarlarında dişlenme, yaprak üzerinde klorotik renk açılması, kıvrılma ve PNRSV’nin karakteristik belirtisi olan saçma deliği şeklindeki nekrotik alanlar olarak tespit edilmiştir. Nekrotik saçma deliği şeklinde rastlanmış olan bütün belirtilmeli bitkilerden örnek alınmış fakat sadece bir kısmı PNRSV ile bulaşık olarak saptanmıştır. PNRSV’den kaynaklı olan yaprak kıvrılması ile meydana gelen

klorotik renk değişimi içe nekrotik saçma deliği şeklinde alanlar şekil 4.3'te görülmektedir.



şekil 4.3 Osmangazi'den toplanan ve PNRSV tespit edilen bir örnekten yaprak kıvrılması ve klorotik renk değişimi (a), nekrotik saçma deliği şeklinde alanlar (b)

Arazi koşullarında PNRSV'nin sergilediği belirtiler arasında yaprak kenarlarında dişlenme, yaprak boyunca meydana gelen çeşitli formlarda klorotik renk açılması da tespit edilmiştir (şekil 4.4, 4.5).

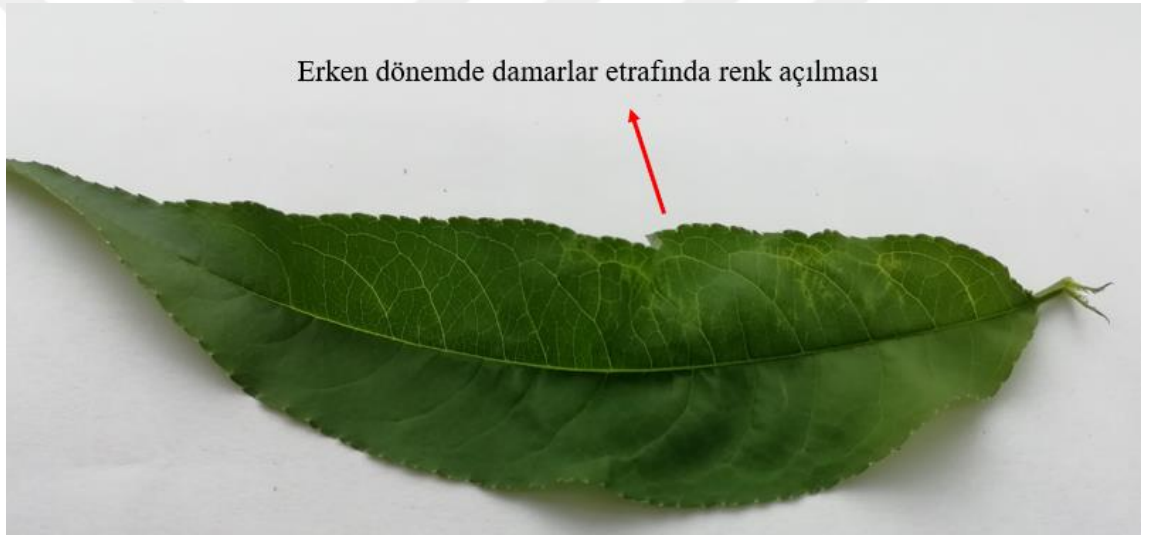


Şekil 4.4 İnegöl'den toplanan ve PNRSV tespit edilen örneklerde yaprak kıvrılması ve kenarlarda dişlenme (a), yaprak üzerinde renk açılması (b)

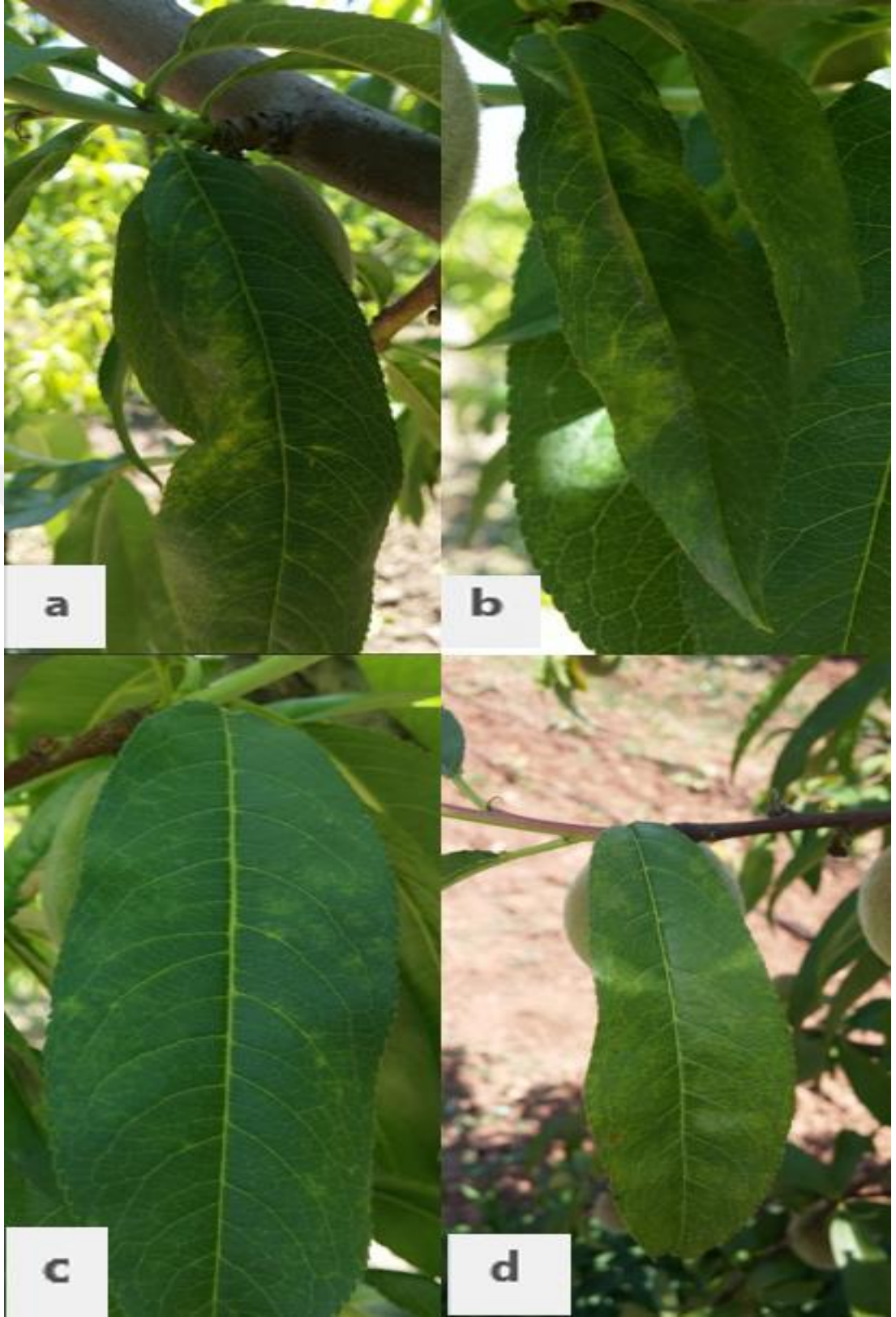


Şekil 4.5 Kestel ilçesinden toplanan ve PNRSV tespit edilen bir örnekte gözlenen klorotik renk değişikliği

Bursa, Bilecik ve Bolu illerinden toplanan ve PPV ile enfekteli tespit edilen bitkilerde genel olarak yapraklarda renk açılması, damarlar arasında daralma, iletim demetleri etrafında renk açılması ve bitkilerde genel gelişim geriliği görülmüştür. Yapraklarda meydana gelen renk değişimlerinin özellikle erken dönemde yaprak damarlarının etrafında ve yaprak ana damarına yakın yerlerde görüldüğü tespit edilmiştir (Şekil 4.6). Özellikle ileri enfeksiyonlarda ise yapraklarda kıvrılma ve içe bükülme sap kısımlarında incelme ve bitkide genel bodurlaşma gözlenmiştir (Şekil 4.7). Bakımsız ve tümüyle PPV ile enfekteli bahçelerde ise erken yaprak dökümü, taze fidanlarda kuruma eğiliminin bulunduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.6 Erken dönemde PPV tespit edilen örnekte yaprak damarları etrafındaki belirtiler (Bilecik-Osmaneli)



Şekil 4.7 İznik'te bir şeftali bahçesinde gözlenen ilerlemiş PPV enfeksiyonu şeftali yapraklarının genel görünümü (a,b), kloroz başlangıcı (c), kurumaya eğilim (d)

4.2 Serolojik Test (DAS-ELISA) Sonuçları

Geniş alanlarda yapılan ve çok sayıda örnek toplanmanın gerekli olduğu çalışmalarda genellikle toplanan örneklerin hemen testlenmeleri mümkün olmamaktadır. Bu nedenle örnekler aralıklı olarak toplanmış ve hemen DAS-ELISA testinin yapılması sağlanmıştır.

Bu bağlamda Bursa, Bilecik ve Bolu illerinden viral semptomlar sergileyen 486 şeftali örneği DAS-ELISA yöntemi ile PPV, PDV ve PNRSV virüslerinin varlığı açısından testlenmiş ve tabakalar ELISA reader cihazı ile 405 nm dalga boyunda okutulmuştur. Serolojik çalışmalar sonucunda izolatlarda tespit edilen virüslerin dağılımı çizelge 4.2 'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Serolojik testlere göre izolatlarda tespit edilen virüslerin dağılımı

Toplanan Yer: Bursa-Osmangazi							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
Og-17-01	+	-	-	Og-17-23	-	-	-
Og-17-02	-	-	-	Og-17-24	-	-	-
Og-17-03	+	-	-	Og-17-25	-	-	-
Og-17-04	-	-	-	Og-17-26	-	-	-
Og-17-05	-	-	-	Og-17-27	+	+	-
Og-17-06	+	-	-	Og-17-28	+	-	-
Og-17-07	-	-	-	Og-17-29	-	-	-
Og-17-08	+	-	-	Og-17-30	-	-	-
Og-17-09	-	-	-	Og-17-31	+	-	-
Og-17-10	-	-	-	Og-17-32	-	-	-
Og-17-11	-	-	-	Og-17-33	-	-	-
Og-17-12	+	-	-	Og-17-34	-	-	-
Og-17-13	+	-	-	Og-17-35	+	-	-
Og-17-14	-	-	-	Og-17-36	-	-	-
Og-17-15	-	-	-	Og-17-37	+	-	+
Og-17-16	+	-	-	Og-17-38	-	-	-
Og-17-17	-	-	-	Og-17-39	-	-	-
Og-17-18	-	-	-	Og-17-40	+	-	-
Og-17-19	+	-	-	Og-17-41	+	-	-
Og-17-20	-	-	-	Og-17-42	-	-	-
Og-17-21	+	-	-	Og-17-43	-	-	-
Og-17-22	+	-	-	Og-17-44	+	-	-
Toplanan Yer: Bursa-İznik							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV

Çizelge 4.2 Serolojik testlere göre izolatlarda tespit edilen virüslerin dağılımı(devam)

	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
İz-17-01	-	-	-	İz-17-21	-	+	-
İz-17-02	+	-	-	İz-17-22	+	-	-
İz-17-03	+	-	-	İz-17-23	+	-	-
İz-17-04	-	-	-	İz-17-24	+	-	-
İz-17-05	-	-	-	İz-17-25	+	-	-
İz-17-06	-	-	-	İz-17-26	-	-	-
İz-17-07	+	-	-	İz-17-27	+	-	-
İz-17-08	-	-	-	İz-17-28	+	-	-
İz-17-09	-	-	-	İz-17-29	-	-	-
İz-17-10	+	-	-	İz-17-30	-	-	-
İz-17-11	+	-	-	İz-17-31	-	-	-
İz-17-12	+	-	-	İz-17-32	+	-	-
İz-17-13	+	-	-	İz-17-33	+	-	-
İz-17-14	+	-	-	İz-17-34	+	-	-
İz-17-15	-	-	-	İz-17-35	-	-	-
İz-17-16	+	-	-	İz-17-36	+	-	-
İz-17-17	+	-	-	İz-17-37	-	-	-
İz-17-18	-	-	-	İz-17-38	+	-	-
İz-17-19	-	-	-	İz-17-39	-	-	+
İz-17-20	-	+	+	İz-17-40	+	-	-
Toplanan Yer: Bursa-Gürsu							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
Gr-17-01	-	-	-	Gr-17-11	-	-	-
Gr-17-02	-	-	-	Gr-17-12	+	-	-
Gr-17-03	+	-	-	Gr-17-13	+	-	-
Gr-17-04	+	-	-	Gr-17-14	-	-	-
Gr-17-05	-	-	-	Gr-17-15	-	-	-
Gr-17-06	-	-	-	Gr-17-16	-	-	-
Gr-17-07	-	-	-	Gr-17-17	-	-	-
Gr-17-08	+	-	-	Gr-17-18	-	-	-
Gr-17-09	-	-	-	Gr-17-19	-	-	-
Gr-17-10	+	-	-	Gr-17-20	-	-	-
Toplanan Yer: Bursa-İnegöl							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
İn-17-01	+	-	-	İn-17-24	+	-	-
İn-17-02	+	-	-	İn-17-25	-	-	-
İn-17-03	+	-	-	İn-17-26	-	-	-
İn-17-04	-	-	-	İn-17-27	+	-	-
İn-17-05	+	-	-	İn-17-28	-	-	-

Çizelge 4.2 Serolojik testlere göre izolatlarda tespit edilen virüslerin dağılımı(devam)

İn-17-06	+	-	-	İn-17-29	+	-	-
İn-17-07	-	-	-	İn-17-30	+	-	-
İn-17-08	+	+	-	İn-17-31	-	-	-
İn-17-09	-	-	-	İn-17-32	+	-	-
İn-17-10	-	-	-	İn-17-33	+	-	-
İn-17-11	+	-	-	İn-17-34	+	-	-
İn-17-12	+	-	-	İn-17-35	-	+	+
İn-17-13	-	-	-	İn-17-36	+	-	-
İn-17-14	+	-	+	İn-17-37	+	-	-
İn-17-15	+	-	-	İn-17-38	-	-	-
İn-17-16	-	-	-	İn-17-39	+	-	-
İn-17-17	+	-	-	İn-17-40	+	-	-
İn-17-18	+	-	-	İn-17-41	+	-	-
İn-17-19	+	-	-	İn-17-42	-	-	-
İn-17-20	+	-	-	İn-17-43	+	-	-
İn-17-21	+	-	-	İn-17-44	+	-	-
İn-17-22	-	-	-	İn-17-45	+	-	-
İn-17-23	+	-	+	İn-17-46	+	-	-
Toplanan Yer: Bursa-Yıldırım							
	PPV	PDV	PNRSV		PPV	PDV	PNRSV
İzolot	Sonuç	Sonuç	Sonuç	İzolot	Sonuç	Sonuç	Sonuç
YI-17-01	+	-	-	YI-17-09	+	-	-
YI-17-02	-	-	-	YI-17-10	+	-	-
YI-17-03	+	-	-	YI-17-11	+	-	-
YI-17-04	-	-	-	YI-17-12	+	-	-
YI-17-05	-	-	-	YI-17-13	-	-	-
YI-17-06	+	-	-	YI-17-14	+	-	-
YI-17-07	-	-	-	YI-17-15	+	-	-
YI-17-08	-	+	-	YI-17-16	-	-	-
Toplanan Yer: Bursa-Mudanya							
	PPV	PDV	PNRSV		PPV	PDV	PNRSV
İzolot	Sonuç	Sonuç	Sonuç	İzolot	Sonuç	Sonuç	Sonuç
Md-17-01	-	-	-	Md-17-11	+	-	-
Md-17-02	+	-	-	Md-17-12	+	-	-
Md-17-03	-	-	-	Md-17-13	+	-	-
Md-17-04	-	-	-	Md-17-14	-	-	-
Md-17-05	+	-	-	Md-17-15	+	-	-
Md-17-06	+	-	-	Md-17-16	-	-	-
Md-17-07	+	-	-	Md-17-17	+	-	-
Md-17-08	+	-	-	Md-17-18	-	-	-
Md-17-09	-	-	-	Md-17-19	+	-	-
Md-17-10	-	-	-	Md-17-20	-	-	-

Çizelge 4.2 Serolojik testlere göre izolatlarda tespit edilen virüslerin dağılımı(devam)

Toplanan Yer: Bursa-Mustafakemalpaşa							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
Km-17-01	+	-	-	Km-17-15	+	-	-
Km-17-02	-	-	-	Km-17-16	-	-	-
Km-17-03	+	-	-	Km-17-17	+	-	-
Km-17-04	+	-	-	Km-17-18	-	-	-
Km-17-05	-	-	-	Km-17-19	+	-	+
Km-17-06	+	-	-	Km-17-20	+	-	-
Km-17-07	+	-	-	Km-17-21	-	+	-
Km-17-08	-	-	-	Km-17-22	-	-	-
Km-17-09	+	+	-	Km-17-23	+	-	-
Km-17-10	-	-	-	Km-17-24	+	-	-
Km-17-11	+	-	-	Km-17-25	-	-	-
Km-17-12	-	-	-	Km-17-26	-	-	-
Km-17-13	+	-	-	Km-17-27	+	-	-
Km-17-14	+	-	+	Km-17-28	-	-	-
Toplanan Yer: Bursa-Orhangazi							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
Or-17-01	-	-	-	Or-17-14	+	-	-
Or-17-02	+	-	-	Or-17-15	-	-	-
Or-17-03	-	-	-	Or-17-16	+	-	-
Or-17-04	+	-	-	Or-17-17	+	-	-
Or-17-05	+	-	-	Or-17-18	+	-	-
Or-17-06	-	-	-	Or-17-19	-	-	-
Or-17-07	+	-	-	Or-17-20	-	-	-
Or-17-08	+	-	-	Or-17-21	-	-	-
Or-17-09	+	-	-	Or-17-22	+	-	-
Or-17-10	-	-	-	Or-17-23	+	-	-
Or-17-11	+	-	-	Or-17-24	+	-	-
Or-17-12	+	+	-	Or-17-25	+	-	-
Or-17-13	-	-	-	Or-17-26	+	-	-
Toplanan Yer: Bursa-Yenişehir							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
Y-17-01	-	-	-	Y-17-16	+	-	-
Y-17-02	-	-	-	Y-17-17	+	-	-
Y-17-03	-	-	-	Y-17-18	+	-	-
Y-17-04	+	-	-	Y-17-19	-	-	-
Y-17-05	+	-	-	Y-17-20	+	-	-
Y-17-06	-	-	-	Y-17-21	-	-	-
Y-17-07	+	-	-	Y-17-22	+	+	-

Çizelge 4.2 Serolojik testlere göre izolatlarda tespit edilen virüslerin dağılımı(devam)

Y-17-08	-	-	-	Y-17-23	-	-	-
Y-17-09	+	-	-	Y-17-24	+	-	-
Y-17-10	+	-	-	Y-17-25	-	-	-
Y-17-11	+	-	-	Y-17-26	+	-	-
Y-17-12	-	-	-	Y-17-27	+	-	-
Y-17-13	-	-	-	Y-17-28	-	-	-
Y-17-14	-	-	-	Y-17-29	-	-	-
Y-17-15	-	-	-	Y-17-30	-	-	-
Toplanan Yer: Bursa-Kestel							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
K-17-01	+	-	-	K-17-30	-	-	-
K-17-02	-	-	-	K-17-31	+	-	-
K-17-03	-	-	-	K-17-32	+	-	-
K-17-04	+	-	-	K-17-33	+	-	-
K-17-05	+	-	-	K-17-34	-	-	-
K-17-06	-	-	-	K-17-35	-	-	-
K-17-07	+	-	-	K-17-36	+	-	-
K-17-08	+	-	-	K-17-37	+	-	-
K-17-09	+	-	-	K-17-38	-	-	-
K-17-10	-	+	-	K-17-39	+	-	-
K-17-11	+	-	+	K-17-40	-	-	-
K-17-12	-	-	-	K-17-41	+	-	-
K-17-13	+	-	-	K-17-42	+	-	-
K-17-14	-	-	-	K-17-43	+	-	-
K-17-15	+	-	-	K-17-44	+	-	-
K-17-16	+	-	-	K-17-45	-	-	-
K-17-17	+	-	-	K-17-46	+	-	-
K-17-18	+	-	-	K-17-47	-	-	-
K-17-19	+	-	-	K-17-48	-	-	-
K-17-20	-	-	-	K-17-49	+	-	-
K-17-21	+	-	-	K-17-50	+	-	-
K-17-22	+	-	-	K-17-51	+	-	-
K-17-23	-	-	-	K-17-52	+	-	-
K-17-24	-	-	-	K-17-53	-	-	-
K-17-25	+	-	-	K-17-54	+	-	-
K-17-26	+	-	-	K-17-55	-	-	-
K-17-27	-	-	-	K-17-56	+	-	-
K-17-28	+	+	-	K-17-57	-	-	-
K-17-29	+	-	+	K-17-58	-	-	-

Çizelge 4.2 Serolojik testlere göre izolatlarda tespit edilen virüslerin dağılımı(devam)

Toplanan Yer: Bilecik-Osmaneli							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
Bi-17-01	+	-	-	Bi-17-63	+	-	-
Bi-17-02	+	-	-	Bi-17-64	+	-	-
Bi-17-03	+	-	-	Bi-17-65	+	-	-
Bi-17-04	+	-	-	Bi-17-66	+	-	-
Bi-17-05	+	-	-	Bi-17-67	+	-	-
Bi-17-06	-	-	-	Bi-17-68	+	-	-
Bi-17-07	-	-	-	Bi-17-69	-	-	-
Bi-17-08	+	-	-	Bi-17-70	+	-	-
Bi-17-09	-	-	-	Bi-17-71	-	-	-
Bi-17-10	-	-	-	Bi-17-72	-	-	-
Bi-17-11	-	-	-	Bi-17-73	+	-	-
Bi-17-12	+	-	-	Bi-17-74	-	-	-
Bi-17-13	+	-	-	Bi-17-75	-	-	-
Bi-17-14	+	-	-	Bi-17-76	+	-	-
Bi-17-15	-	-	-	Bi-17-77	+	-	-
Bi-17-16	+	-	-	Bi-17-78	+	-	-
Bi-17-17	-	-	-	Bi-17-79	+	-	-
Bi-17-18	+	-	-	Bi-17-80	+	-	-
Bi-17-19	-	-	-	Bi-17-81	+	-	-
Bi-17-20	-	-	-	Bi-17-82	-	-	-
Bi-17-21	+	-	-	Bi-17-83	-	-	-
Bi-17-22	+	-	-	Bi-17-84	+	-	-
Bi-17-23	+	+	-	Bi-17-85	-	-	-
Bi-17-24	+	-	+	Bi-17-86	+	-	-
Bi-17-25	-	-	-	Bi-17-87	+	-	-
Bi-17-26	-	-	-	Bi-17-88	+	-	-
Bi-17-27	-	-	-	Bi-17-89	+	-	-
Bi-17-28	+	-	-	Bi-17-90	+	-	-
Bi-17-29	+	-	-	Bi-17-91	+	-	-
Bi-17-30	-	-	-	Bi-17-92	-	+	-
Bi-17-31	-	-	-	Bi-17-93	+	-	-
Bi-17-32	-	-	-	Bi-17-94	+	-	-
Bi-17-33	+	+	+	Bi-17-95	-	-	-
Bi-17-34	+	-	-	Bi-17-96	-	-	-
Bi-17-35	+	-	-	Bi-17-97	+	-	-
Bi-17-36	+	-	-	Bi-17-98	+	-	-
Bi-17-37	+	-	-	Bi-17-99	+	-	-
Bi-17-38	+	-	-	Bi-17-100	+	-	-
Bi-17-39	+	-	-	Bi-17-101	-	-	-
Bi-17-40	+	-	-	Bi-17-102	-	-	-
Bi-17-41	+	-	-	Bi-17-103	-	-	-
Bi-17-42	-	-	-	Bi-17-104	+	-	-
Bi-17-43	-	-	-	Bi-17-105	+	-	-

Çizelge 4.2 Serolojik testlere göre izolatlarda tespit edilen virüslerin dağılımı(devam)

Bi-17-44	-	-	-	Bi-17-106	+	-	-
Bi-17-45	+	-	-	Bi-17-107	+	-	-
Bi-17-46	+	+	-	Bi-17-108	+	-	-
Bi-17-47	-	-	-	Bi-17-109	+	-	-
Bi-17-48	+	-	-	Bi-17-110	+	+	-
Bi-17-49	-	-	-	Bi-17-111	-	-	-
Bi-17-50	-	-	-	Bi-17-112	-	-	-
Bi-17-51	+	+	-	Bi-17-113	-	-	-
Bi-17-52	+	-	-	Bi-17-114	+	-	-
Bi-17-53	+	-	+	Bi-17-115	-	-	-
Bi-17-54	-	-	-	Bi-17-116	-	-	-
Bi-17-55	-	-	-	Bi-17-117	-	-	-
Bi-17-56	-	-	-	Bi-17-118	+	-	-
Bi-17-57	+	-	-	Bi-17-119	-	-	-
Bi-17-58	+	+	-	Bi-17-120	+	-	-
Bi-17-59	-	-	-	Bi-17-121	+	-	-
Bi-17-60	+	-	-	Bi-17-122	+	-	-
Bi-17-61	+	-	-	Bi-17-123	-	-	-
Bi-17-62	-	-	-	Bi-17-124	+	-	-
Toplanan Yer: Bolu-Seben							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
Sb-17-01	-	-	-	Sb-17-06	+	-	-
Sb-17-02	-	-	-	Sb-17-07	-	-	-
Sb-17-03	-	-	-	Sb-17-08	-	-	-
Sb-17-04	+	-	-	Sb-17-09	-	-	-
Sb-17-05	+	-	-	Sb-17-10	-	-	-
Toplanan Yer: Bolu-Merkez							
İzolat	PPV	PDV	PNRSV	İzolat	PPV	PDV	PNRSV
	Sonuç	Sonuç	Sonuç		Sonuç	Sonuç	Sonuç
Bm-17-01	-	-	-	Bm-17-09	-	-	-
Bm-17-02	-	-	-	Bm-17-10	-	-	-
Bm-17-03	-	-	-	Bm-17-11	+	-	-
Bm-17-04	-	-	-	Bm-17-12	+	-	-
Bm-17-05	-	-	-	Bm-17-13	-	-	-
Bm-17-06	-	-	-	Bm-17-14	-	-	-
Bm-17-07	-	-	+	Bm-17-15	-	-	-
Bm-17-08	-	-	-	Bm-17-16	-	-	-

Bursa, Bilecik ve Bolu illerinde yer alan toplam 14 bölgenin survey kapsamında ELISA sonuçları ilçelere göre oransal dağılım halinde Çizelge 4.3’de yer almaktadır.

Çizelge 4.3 Serolojik çalışmalar sonucunda virüslerin ilçelere göre dağılımı

Toplanan Yer	PDV		PNRSV		PPV		Toplam	
	Oran	%	Oran	%	Oran	%	Oran	%
Bilecik-Osmaneli	7/124	5,64	3/124	%2,41	77/124	%62,09	87/124	%70,16
Bursa-Nilüfer	-	-	/8	-	6/8	%75,00	6/8	%75,00
Bursa-Osmangazi	1/44	2,72	1/44	%2,72	18/44	%40,90	20/44	%45,45
Bursa-Yıldırım	1/16	6,25	/16	-	8/16	%50,00	9/16	%56,25
Bursa-Gürsu	/20	-	/20	-	6/20	%30,00	6/20	%30,00
Bursa-Yenişehir	1/30	3,33	/30	-	13/30	%43,33	14/30	%46,66
Bursa-İnegöl	2/46	4,34	3/46	%6,52	27/46	%58,69	32/46	%69,56
Bursa-İznik	2/40	5,00	2/40	%5,00	22/40	%55,00	26/40	%65,00
Bursa-Mudanya	/20	-	/20	-	11/20	%55,00	11/20	%55,00
Bursa-Kestel	2/58	3,44	2/58	%3,44	32/58	%55,17	36/58	%62,06
Bursa-Mkpaşa	2/28	7,14	2/28	%7,14	12/28	%42,85	16/28	%57,14
Bursa-Orhangazi	1/26	3,84	/26	-	16/26	%61,53	17/26	%65,38
Bolu-Seben	/10	-	/10	-	3/10	%33,33	3/10	%33,33
Bolu-Merkez	/16	-	1/16	%6,25	2/16	%12,50	3/16	%18,75
Toplam	19/486		14/486		253/486		286/486	%58,84

Virüs belirtisi gösteren örneklerin DAS-ELISA sonuçları incelendiğinde survey bölgesinden toplanan 486 örneğin 286'sında (%58,84) ilgili virüslerin en az bir tanesi tespit edilmiştir. Toplanan bitki materyallerinden 253 örneğin PPV, 19 örneğin PDV ve 14 örneğin de PNRSV ile enfekteli olduğu görülmüştür. Survey bölgesinde virüslerin oransal dağılımı PPV'de %52,05, PDV'de %3,90 ve PNRSV'de %2,88 olarak belirlenmiştir. Sağlıklı bitkilerden alınan örneklerde ise DAS-ELISA testinde herhangi bir reaksiyon oluşmamıştır.

DAS-ELISA sonuçlarına göre Bursa ilinin tamamını PPV ile bulaşık olduğu görülmüştür. En yüksek enfeksiyon oranı %75 ile Nilüfer ilçesinde görülürken, bu ilçeyi sırasıyla %61,59 ile Orhangazi ve %58,69 ile İnegöl ilçeleri takip etmektedir. Bursa ilinde en düşük enfeksiyon oranı %30 ile Gürsu ilçesinde tespit edilmiştir. Ayrıca Bilecik ilinin neredeyse tüm şeftali tarımının yapıldığı Osmaneli ilçesinde PPV bulaşıklık oranı %62,09 olarak belirlenmiştir. Bolu il genelinde yapılan surveyler sonucunda ise Seben ilçesinin %33 oranında, Merkez ilçenin ise %12,5 oranında PPV ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Bolu ilinde PPV'nin bulaşıklığı bu çalışma ile bildirilmiştir.

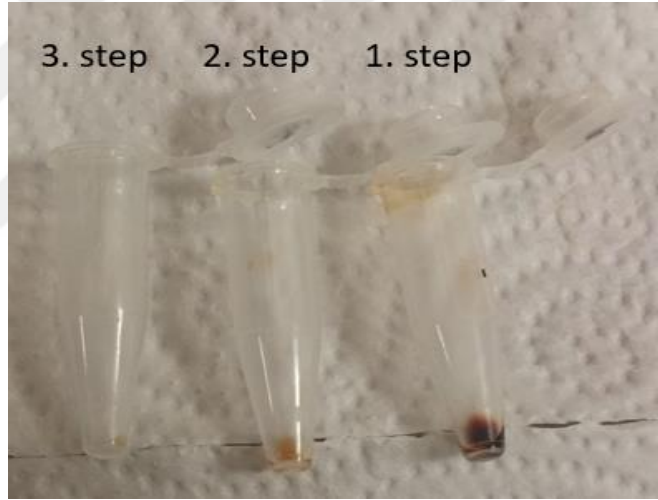
Yapılan serolojik testler sonucunda survey bölgesinden toplanan 486 örneğin 19'unda PDV enfeksiyonu görülmüştür. En yüksek PDV bulaşıklık oranı %7,14 ile Bursa ilinin Mustafa Kemal Paşa ilçesinde tespit edilmiştir. Bu ilçeyi sırasıyla %6,25 ile Yıldırım, %5,64 ile Bilecik ilinin Osmaneli ilçesi izlemiştir. Nilüfer, Gürsu, Mudanya ve Bolu'dan toplanan örneklerin hiçbirinde PDV enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Survey bölgesinde PDV'nin, PPV'den sonra en yaygın görülen virus olduğu tespit edilmiştir.

PNRSV, survey bölgesinde en az tespit edilen virüs olmuştur. Tüm survey alanında 486 örneğin sadece 14'ünde PNRSV görülmüştür. En yüksek PNRSV enfeksiyonu %7,14 ile Mustafakemalpaşa ilçesinde bulunurken, bu ilçeyi sırasıyla %6,52 ile İnegöl, %6,25 ile Bolu Merkez ilçeleri izlemiştir. Nilüfer, Gürsu, Yıldırım, Yenişehir, Mudanya, Orhangazi ve Seben ilçelerinden toplanan örneklerde hiç PNRSV enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Ayrıca bu çalışma ile Bolu'da PNRSV varlığı ilk kez tespit edilmiştir.

Osmaneli, Osmangazi, İnegöl, İznik ve Mustafakemalpaşa ilçelerinde yapılan surveyler, bu bölgelerin her 3 virüsle bulaşık olduğunu göstermiştir. Ayrıca tüm ilçelerden alınan örneklerin en az bir virüsle bulaşık olduğu tespit edilmiştir. En yaygın enfeksiyon oranı %75 ile Nilüfer ilçesinde PPV olarak görülmüştür. Bilecik ilinin neredeyse tüm şeftali tarımının yapıldığı Osmaneli ilçesinde 3 virüsün meydana getirdiği toplam enfeksiyon oranı %70,16 olarak tespit edilmiştir. En az enfeksiyon oranı (%18,75) ile Bolu Merkez'de tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda her 3 virüsün bölgede yaygın olduğu ve özellikle Bursa ilinin yüksek oranda PPV ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir.

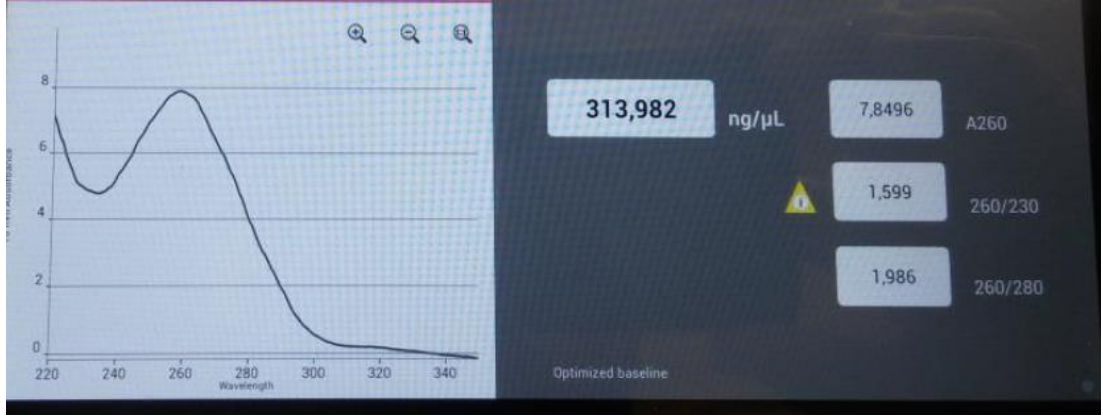
4.3 RNA İzolasyonu ve RT-PCR Sonuçları

Survey bölgesinden toplanan ve DAS-ELISA sonucu pozitif olarak tespit edilen örneklerden ve sağlıklı bitkilerden toplanan yapraklardan total RNA izolasyonu yapılmıştır. RNA izolasyonunda farklı yöntemler kullanılmış, maliyet, süre, temiz nükleik asit eldesi vb. kriterleri dikkate alınarak iki farklı metottan faydalanılmıştır. CTAB temelli yöntemin ilk denemesinde şeftali bitkisinin sahip olduğu yüksek fenolik ve polisakkarit içeriği sebebiyle istenen temizlik ve kalitede RNA elde edilememiştir. Bu nedenle metotta minör modifikasyonlar (yıkama işlemlerinin tekrarlanması) uygulanmış ve kloroform izoamil alkol aşaması 3 kez tekrarlanmıştır. Sonuç olarak 3 tekrar sonucunda fenolik bileşik ve polisakkaritlerin uzaklaştırılması mümkün olmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 Tekrarlanan kloroform izoamil alkol uygulama aşamasından sonra tüp tabanından fenolik bileşik ve polisakkaritlerin uzaklaştırılması

Total RNA izolasyon çalışmalarında kullanılan ikinci yöntemde ise NucleoZOL RNA izolasyon solüsyonundan faydalanılmıştır. Şeftali bitkisinin yapraklarından gerçekleştirilen izolasyon çalışmalarında her iki yöntemle de istenen kalitede total RNA elde edilmiştir (Şekil 4.9).

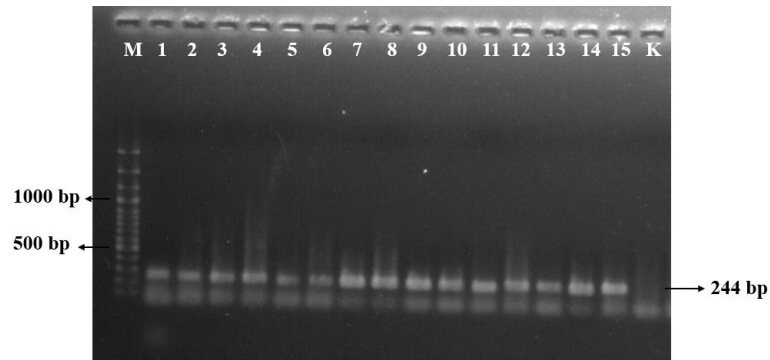


Şekil 4.9 RNA izolasyonu sonucu ölçülen konsantrasyon değeri

Elde edilen Total RNA 100 ng/μl konsantrasyonuna ayarlanarak cDNA sentezi için kullanılmıştır. Sonrasında virüslere spesifik primer çiftleri ile PCR işlemlerine devam edilmiş virüslerin ilgili gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmıştır.

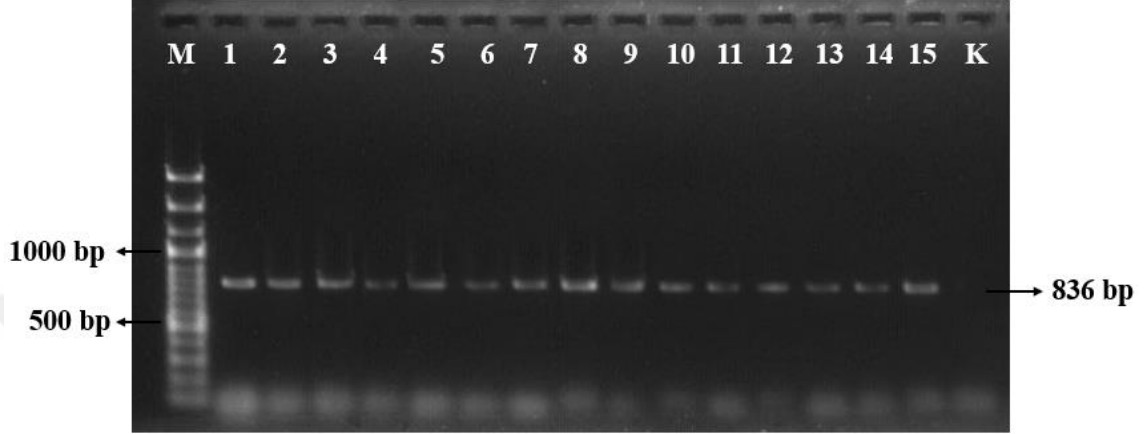
4.3.1 PPV PCR çalışmaları

Survey bölgesinden toplanan örneklerden filogenetik analiz için seçilen izolatların dizi bilgisinin ortaya çıkarılması amacıyla PCR çalışmaları yürütülmüş ve ilk olarak PPV kılıf proteininde kısmı bir bölgeyi çoğaltan genel primer çifti ile yapılan PCR sonucunda yaklaşık 244 bp uzunluğunda bant görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 PPV pozitif örneklerden elde edilen 244 büyüklüğündeki bant görüntüsü (M: 100 bp DNA ladder, 1: Bi-17-01, 2: Bi-17-03, 3:Bi-17-08, 4: NI-17-02, 5: NI-17-07, 6: Og-17-40, 7: Og-17-27, 8: İz-17-01, 9: İz-17-10, 10: Gr-17-03, 11: İn-17-12, 12: İn-17-30, 13: YI-17-10 14: Md-17-06, 15: Km-17-11, K: sağlıklı bitki)

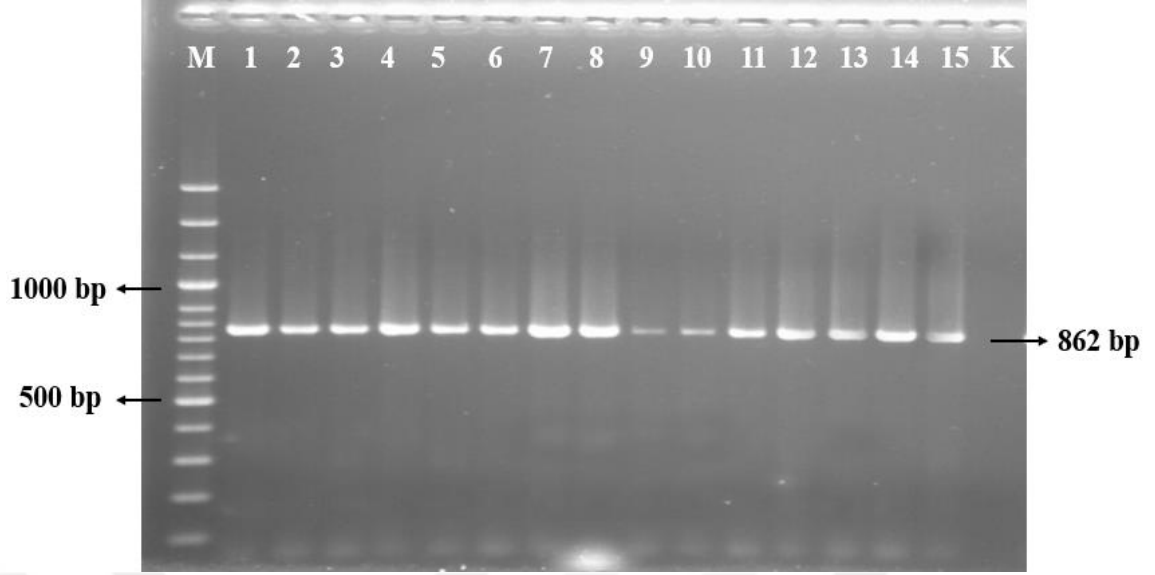
PPV ırk ayrımı için P3 gen bölgesinin bir kısmını, 6K1 gen bölgesinin tamamını ve CI gen bölgesinin bir kısmını çoğaltabilen PP3/PCI primer çifti ile PCR çalışmalarına devam edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda 836 bp uzunluğunda bant görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 4.11).



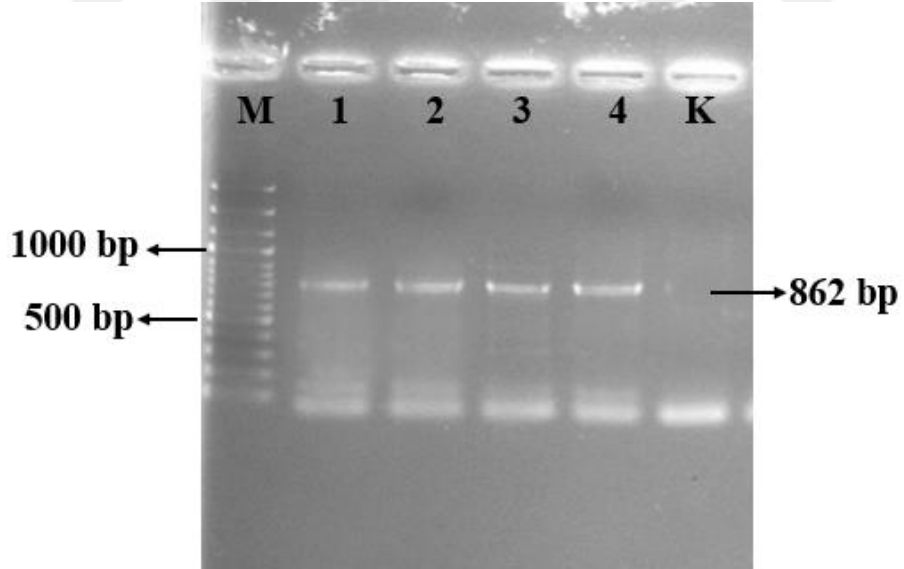
Şekil 4.11 PPV PP3/PCI primer çifti ile yapılan PCR sonucu elde edilen 836 bp uzunluğunda bant görüntüsü (M: 100 bp DNA ladder, 1: Bi-17-01, 2: Bi-17-03, 3:Bi-17-08, 4: NI-17-02, 5: NI-17-07, 6: Og-17-40, 7: Og-17-27, 8: İz-17-01, 9: İz-17-10, 10: Gr-17-03, 11: İn-17-12, 12: İn-17-30, 13: YI-17-10 14: Md-17-06, 15: Km-17-11, K: sağlıklı bitki)

4.3.2 PDV PCR çalışmaları

Bursa, Bilecik ve Bolu illerinde şeftali tarımı yapılan alanlardan toplanan ve DAS-ELISA çalışmaları ile PDV ile bulaşık olduğu belirlenen örneklerden filogenetik analizler için PCR çalışmaları yapılmıştır. Filogenetik analizde survey alanını temsil edecek sayıda örnek seçilerek dizilemek amacıyla PCR reaksiyonuna alınmıştır. PDV spesifik primerlerle yapılan PCR çalışmaları sonucunda virüsün kılıf proteini ile ilgili gen bölgesi çoğaltılmış ve yaklaşık 862 bp uzunluğunda bant görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 4.12, 4.13).



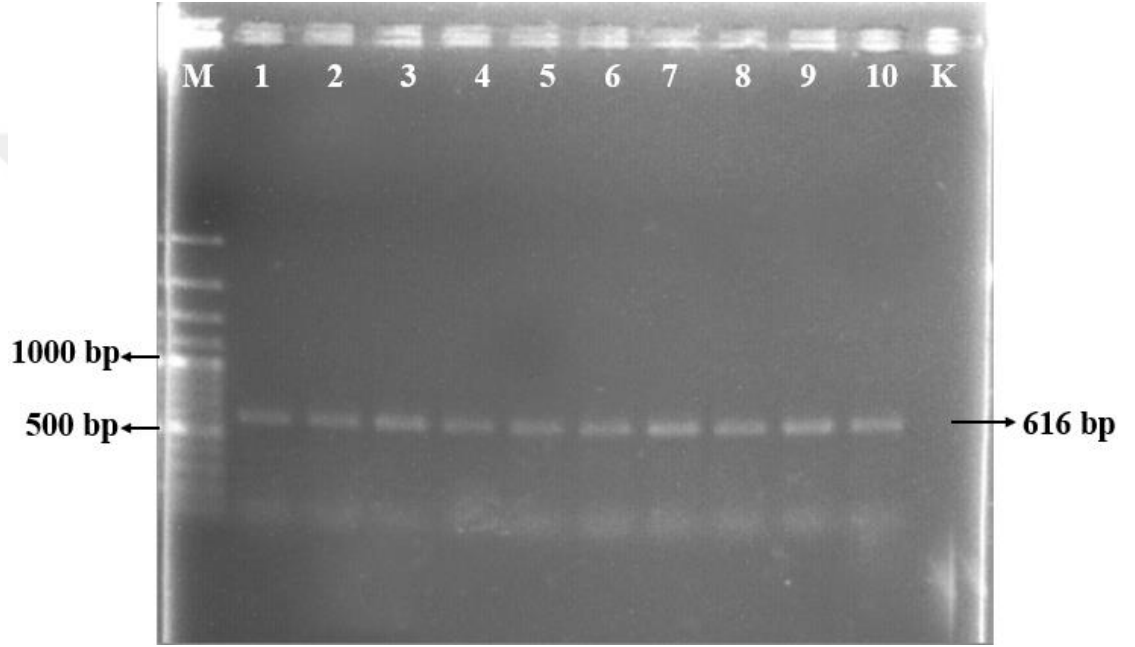
Şekil 4.12 PDV spesifik primer çifti ile yapılan PCR sonucu elde edilen 862 bp büyüklüğündeki bant görüntüsü (M: 100 bp DNA ladder, 1: İn-17-08, 2: İn-17-35, 3: İz-17-20, 4: İz-17-21, 5: Bi-17-23, 6: Bi-17-33, 7: Bi-17-46, 8: Bi-17-58, 9: Bi-17-92, 10: Bi-17-110, 11: Og-17-27, 12: Y1-17-08, 13: Km-17-09, 14: Km-17-21, 15: Or-17-12, K: sağlıklı bitki)



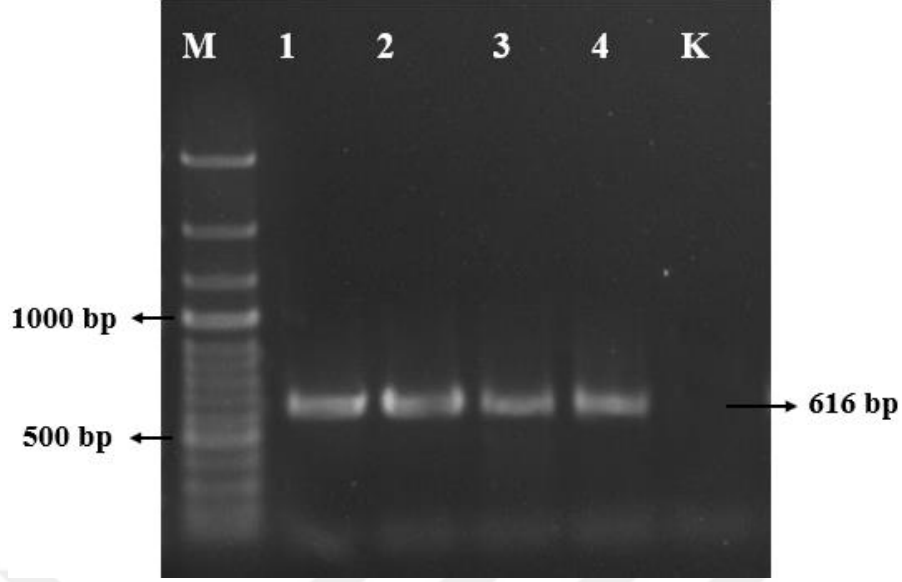
Şekil 4.13 PDV spesifik primer çifti ile yapılan PCR sonucu elde edilen 862 bp büyüklüğündeki bant görüntüsü (M: 100 bp DNA ladder, 1: Y-17-22, 2: K-17-10, 3: K-17-28, 4: Bi-17-51, K: sağlıklı bitki)

4.3.3 PNRSV PCR çalışmaları

Tez çalışması kapsamında yapılan surveyler sonucunda DAS ELISA yöntemi ile PNRSV ile enfekteli örnekler belirlenmiştir. PNRSV izolatlarının filogenetik analizi amacıyla bölgeleri temsil edecek özellikte izolat PCR için seçilmiştir. PNRSV'nin kılıf proteinine spesifik primerlerle yapılan PCR çalışmalarında 616 bp büyüklüğünde bant görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 4.14, 4.15).



Şekil 4.14 PNRSV spesifik primerlerle yapılan PCR sonucu elde edilen 616 bp büyüklüğündeki bant görüntüsü (M: 100 bp DNA ladder, 1: Bi-17-24, 2: Bi-17-33, 3: Bi-17-53, 4: Og-17-37, 5: İz-17-20, 6: İz-17-39, 7: İn-17-14, 8: İn-17-35, 9: Km-17-14, 10: Km-17-19, K: sağlıklı bitki)



Şekil 4.15 PNRSV spesifik primerlerle yapılan PCR sonucu elde edilen 616 bp büyüklüğündeki bant görüntüsü (M: 100 bp DNA ladder, 1: K-17-11, 2: K-17-29, 3: Bm-17-07, 4: İn-17-23, K: sağlıklı bitki)

4.4 Filogenetik İlişkinin Belirlenmesi

Şeftali üretiminin yoğun olarak yapıldığı bölgelerden PPV, PNRSV ve PDV izolatlarının kendi içinde ve dünya izolatları ile olan genetik ilişkisini belirlemek amacıyla 16 PPV, 9 PDV ve 8 PNRSV olmak üzere toplam 33 izolatın örtü protein gen bölgelerine ait nükleotid dizileri ile filogenetik ilişkiler ortaya konulmuştur.

Survey bölgesini temsil edecek özellikte ve sayıda izolat PCR reaksiyonuna alınmış ve elde edilen amplikonlar sekans analizine (Macrogen, Güney Kore) gönderilmiştir. Referans diziler ile birlikte dizi analizinden gelen sonuçlar kullanılarak elde edilen consensus blokları filogenetik analizlerde kullanılmıştır. Hizmet alımı sonucu elde edilen ham sekans datalarının kontrolü, hizalanması ve düzenlenmesinde MEGA X programı kullanılmış, filogenetik ilişkiler Neighbor Joining metodu ve 1000 tekrarlı bootstrap yöntemi ile ağaç oluşturulması suretiyle ortaya konulmuştur. Programda yer alan Clustal W parametresi dikkate alınarak yapılan hizalama ve düzenleme çalışmaları her bir izolat için ayrı ayrı uygulanmıştır.

4.4.1 PDV izolatlarının filogenetik ilişkisi

Survey bölgesini temsil edecek özellikte 11 adet PDV pozitif izolat seçilerek elde edilen ampikonlar dizilenmiş ve GenBank'a kaydedilerek erişim numaraları alınmıştır (EK 1). Yapılan BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) analizleri sonucunda elde edilen sekans verileri referans datalar ile nükleotid düzeyinde yaklaşık olarak %87-97 arasında benzerlik göstermiştir. Filogenetik analiz için GenBank'ta yer alan Türkiye'den ve dünyadan farklı konukçu ve coğrafi orijinden 44 PDV izolatı seçilmiştir (Çizelge 4.4). Çalışma kapsamında elde edilen 11 PDV izolatına ait sekans bilgisine ilave olarak, 5 farklı *Prunus* türünden ve 13 farklı ülkeden elde edilen toplam 44 PDV izolatı ile hem nükleotid hem de aminoasit düzeyinde filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir.

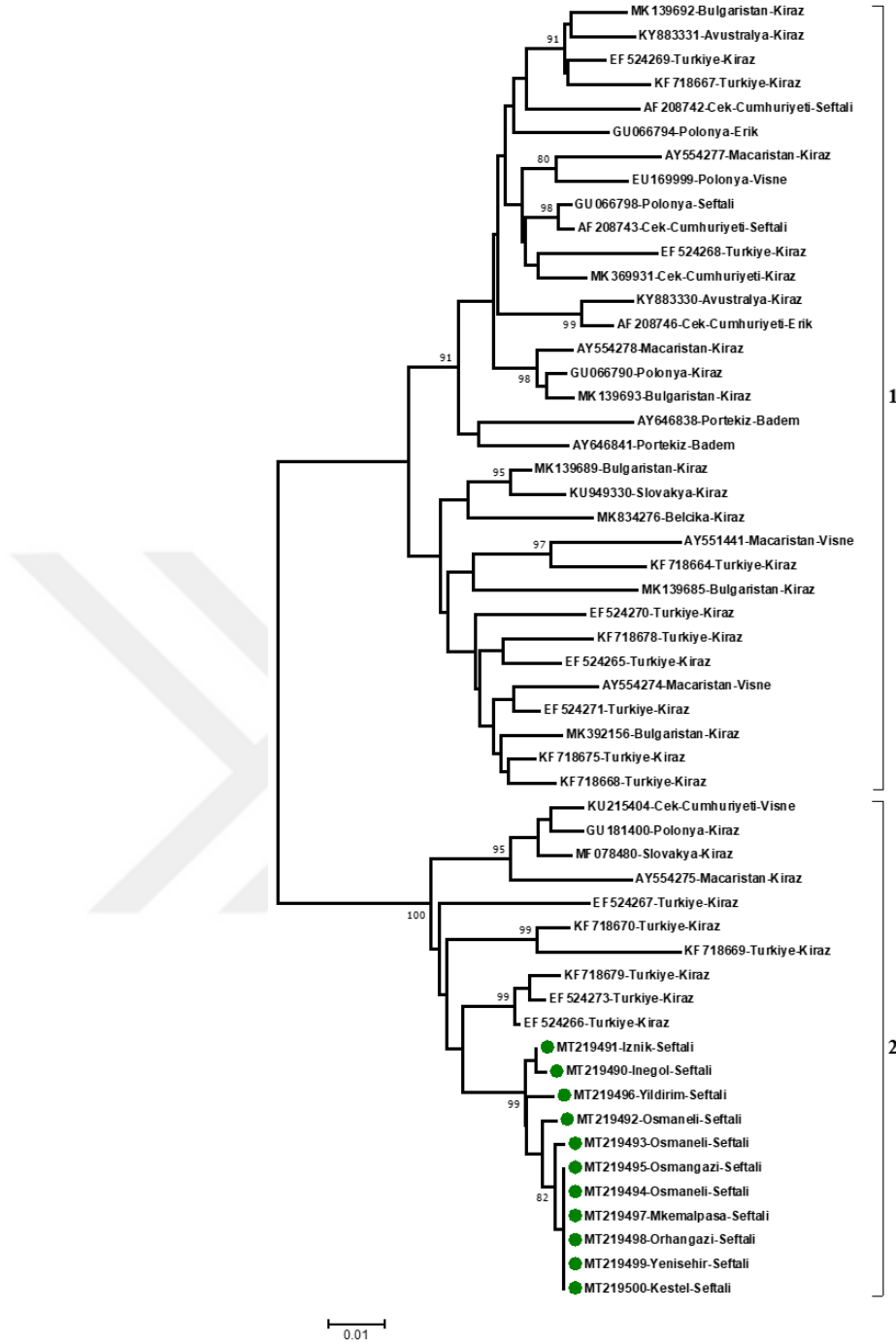
Çizelge 4.4 Filogenetik analizlerde kullanılan PDV izolatlarına ait bilgiler

Erişim No	Orjin	Konukçu	Erişim No	Orjin	Konukçu
EF524266	Türkiye	Kiraz	KU949330	Slovakya	Kiraz
KF718679	Türkiye	Kiraz	AY554275	Macaristan	Kiraz
EF524273	Türkiye	Vişne	AY551441	Macaristan	Vişne
KF718670	Türkiye	Kiraz	AY554278	Macaristan	Kiraz
EF524267	Türkiye	Kiraz	AY554274	Macaristan	Vişne
KF718669	Türkiye	Kiraz	AY554277	Macaristan	Kiraz
KF718668	Türkiye	Kiraz	AF208742	Çek Cum.	Şeftali
EF524271	Türkiye	Vişne	KU215404	Çek Cum.	Vişne
EF524269	Türkiye	Vişne	AF208746	Çek Cum.	Erik
EF524265	Türkiye	Vişne	AF208743	Çek Cum.	Şeftali
KF718667	Türkiye	Kiraz	MK369931	Çek Cum.	Kiraz
EF524270	Türkiye	Vişne	MK392156	Bulgaristan	Kiraz
KF718678	Türkiye	Kiraz	MK139693	Bulgaristan	Kiraz
KF718675	Türkiye	Kiraz	MK139685	Bulgaristan	Kiraz
KF718664	Türkiye	Kiraz	MK139692	Bulgaristan	Kiraz
EF524268	Türkiye	Vişne	MK139689	Bulgaristan	Kiraz
GU181400	Polonya	Kiraz	AY646838	Portekiz	Badem
GU066794	Polonya	Erik	AY646841	Portekiz	Badem
EU169999	Polonya	Vişne	KY883331	Avustralya	Kiraz

Çizelge 4.4 Filogenetik analizlerde kullanılan PDV izolatlarına ait bilgiler (devam)

GU066790	Polonya	Kiraz	KY883330	Avustralya	Kiraz
GU066798	Polonya	Şeftali	MK834276	Belçika	Kiraz
MF078480	Slovakya	Kiraz			

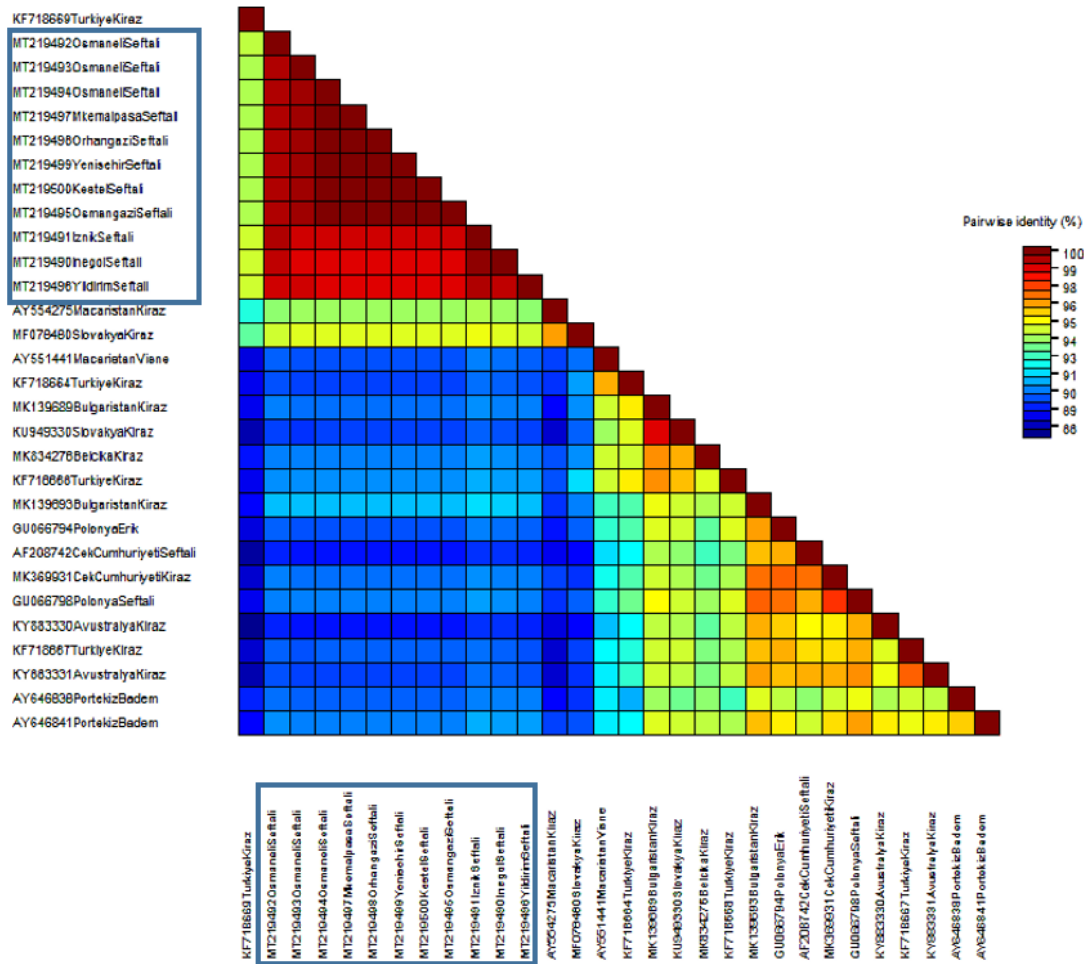
Dünya izolatları ile yapılan filogenetik analizler sonucunda PDV izolatlarının 2 ana gruba ayrıldığı ve ana gruplar içerisinde alt grupların varlığı görülmüştür (Şekil 4.16). Toplamda 33 izolattan oluşan ana grup 1 içerisinde Türkiye'den 10 izolat, Bulgaristan'dan 4, Macaristan'dan 3, Slovakya'dan 1, Polonya'dan 4, Çek Cumhuriyeti'nden 4, Portekiz'den 2, Avustralya'dan 2 ve Belçika'dan 1 izolat yer almıştır. Buna ilaveten ana grup 2'de yer alan 22 izolatın 18 tanesi Türkiye izolatlarından oluşmuştur. Çalışma kapsamında dizilenen şeftali PDV izolatları ana grup 2 içerisinde yer alırken Macaristan, Polonya, Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'dan da izolatlar bu ana grup içerisinde yer almıştır. Farklı *Prunus* konukçularından ve farklı coğrafik orijinlerden seçilen PDV izolatlarının filogenetik ayrımında, filogenetik ağaç üzerinde meydana gelen ayrımlarda lokasyon ve konukçu düzeyinde bir fark tespit edilmemiştir.



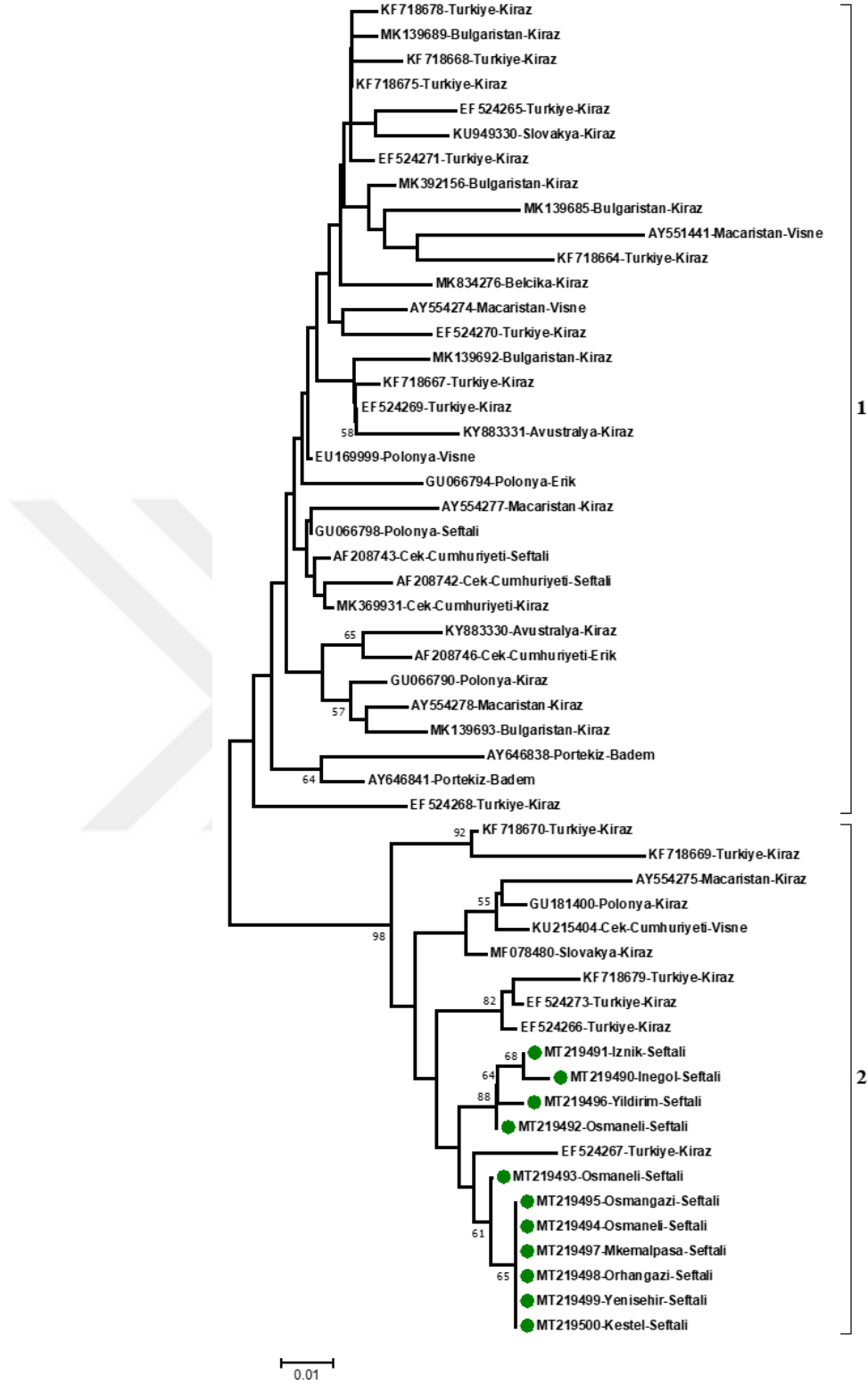
Şekil 4.16 PDV (şeftali) izolatlarının dünya izolatları ile nükleotid düzeyinde filogenetik ilişkisi

Dünya izolatları ile nükleotid ve aminoasit düzeyinde gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda ortaya çıkan filogenetik ağaçlar arasında önemli bir fark oluşmamıştır. SDT programı kullanılarak oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi

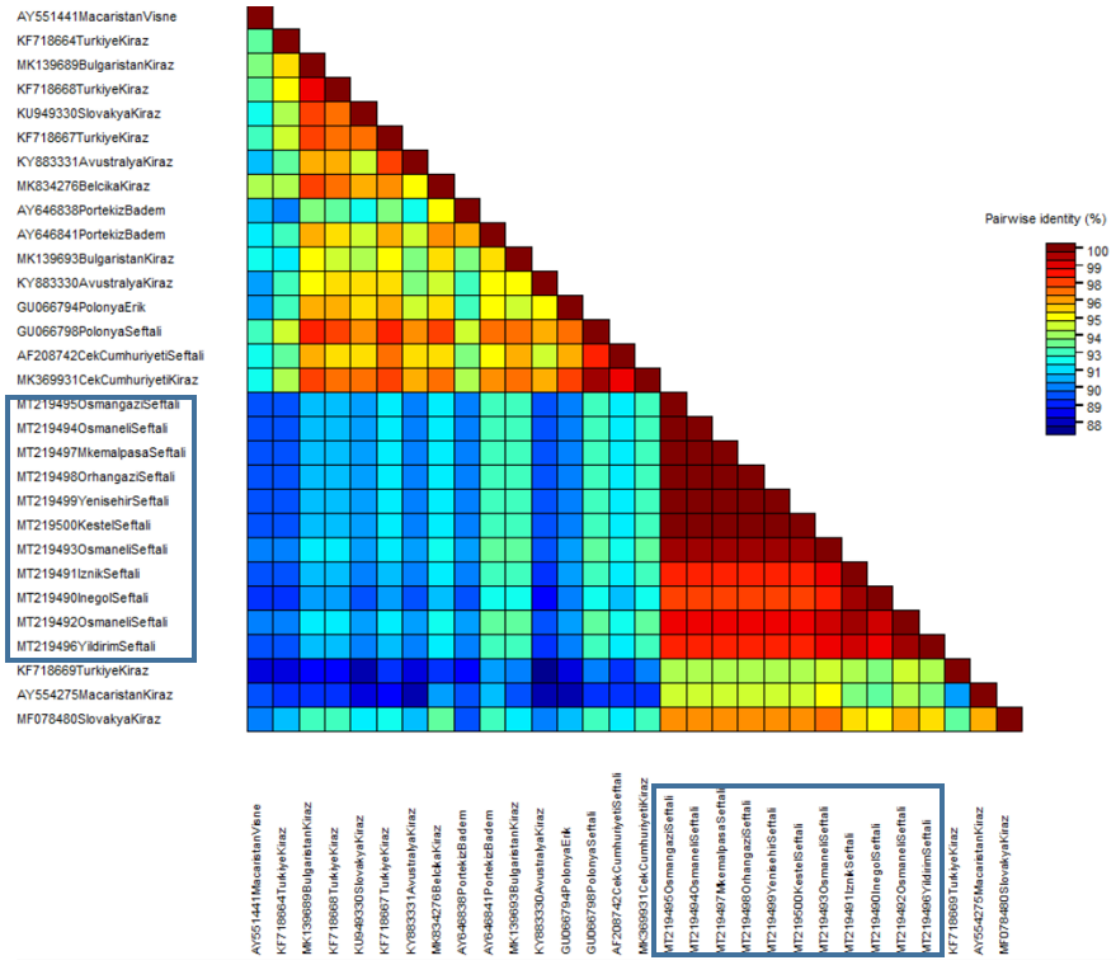
üzerinde dizilenen izolatlar mavi çerçeve içerisinde şekil 4.17’de görülmektedir. Matris incelendiğinde dizilenen ve seçilen izolatlar arasındaki benzerlik oranının %88-100 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu çalışma kapsamında kısmi nükleotid dizileri elde edilen izolatların yüksek oranda Türkiye, Macaristan ve Slovakya izolatları ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu verilerin filogenetik ağaçta oluşan dağılım ile örtüştüğü görülmektedir. Ayrıca aminoasit düzeyinde gerçekleştirilen filogenetik ağaç şekil 4.18’de yer almaktadır.



Şekil 4.17 PDV şeftali izolatlarının Genbank veritabanından seçilen izolatlar ile nükleotid düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi



Şekil 4.18 PDV (şeftali) izolatlarının dünya izolatları ile aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi

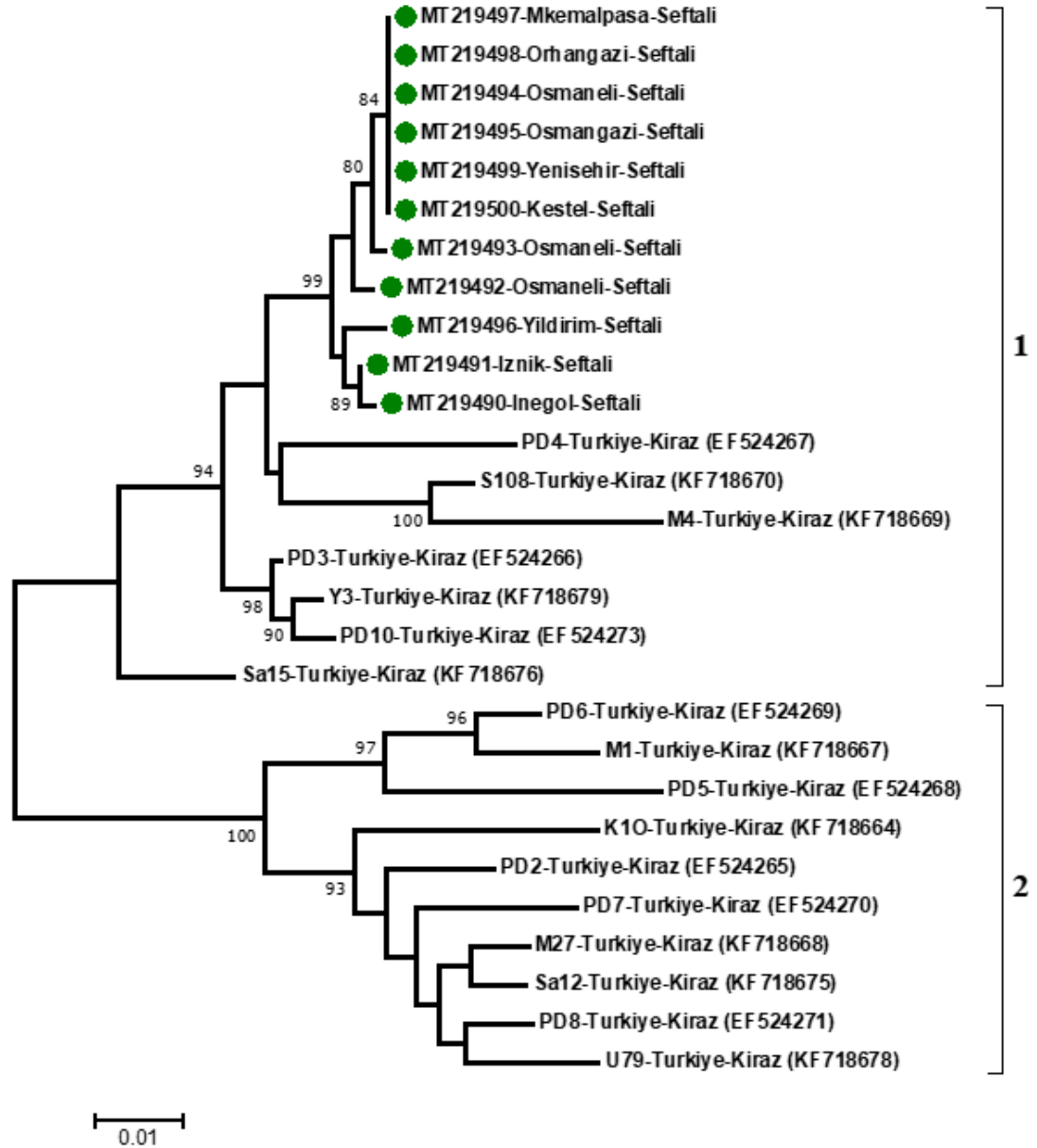


Şekil 4.19 PDV şeftali izolatlarının Genbank veritabanından seçilen izolatlar ile aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi

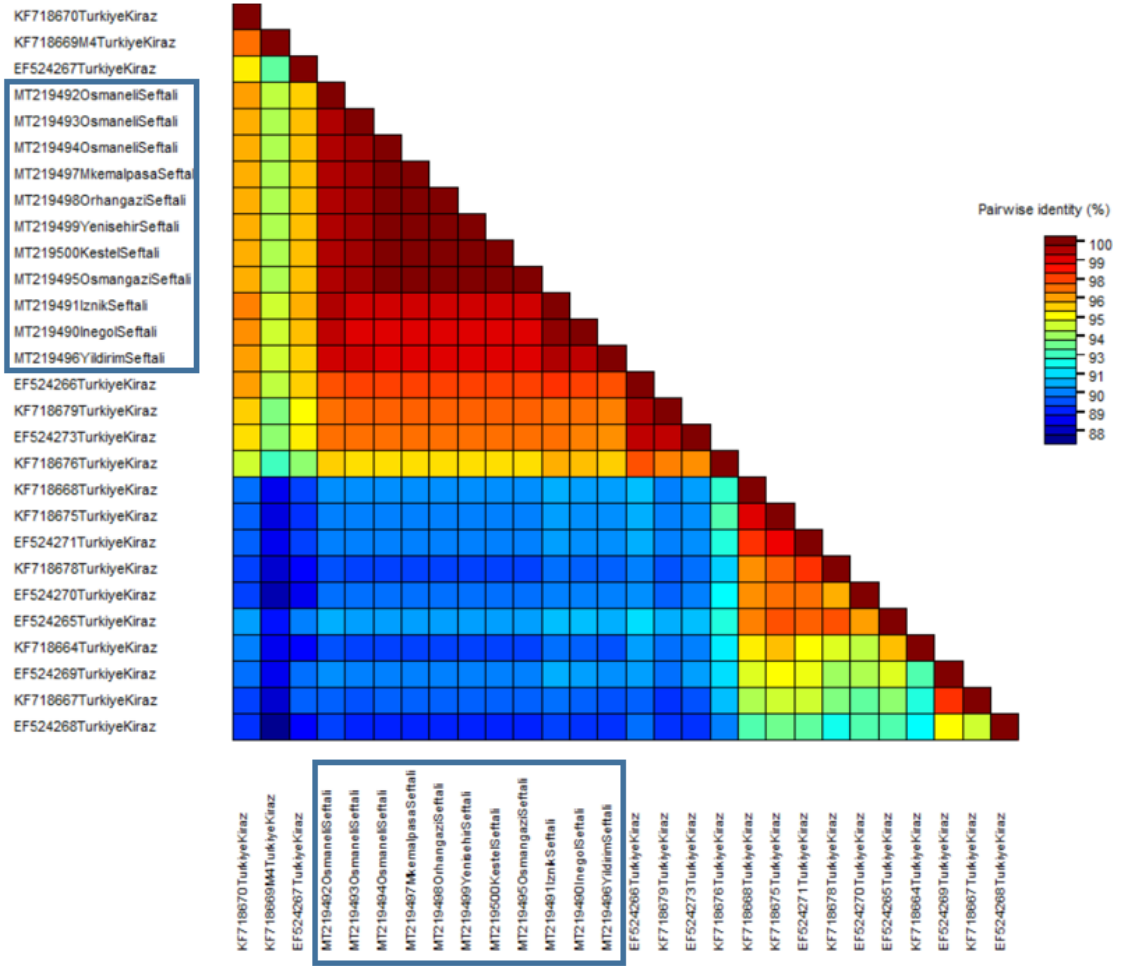
SDT programı kullanılarak oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi üzerinde dizilenen izolatlar mavi çerçeve içerisinde şekil 4.19’da görülmektedir. Aminoasit düzeyinde oluşturulan benzerlik matrisi incelendiğinde çalışma kapsamında dizilenen izolatların Genbank veri tabanından seçilen izolatlar ile %88-100 arasında değişen aminoasit benzerliği gösterdiği görülmektedir. Matriste Macaristan, Polonya ve Slovakya izolatlarının, dizilenen izolatlar ile yüksek oranda benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Türkiye’de daha önce varlığı bildirilen ve kirazdan izole edilmiş PDV izolatları ile yapılan başka bir filogenetik analiz sonucunda Türkiye PDV izolatlarının 2 ana gruba ayrıldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.20). GenBank’ta yer alan Türkiye PDV izolatları ile oluşturulan filogenetik ağaç incelendiğinde bu çalışma sonucunda survey bölgesinden izole edilip dizilenen şeftali PDV izolatlarının ana grup 1 içerisinde yer alarak kendi

arasında kümelandikleri görülmüştür. Ana grup 2'nin ise tamamen PDV kiraz izolatlarından oluştuğu gözlenmiştir.



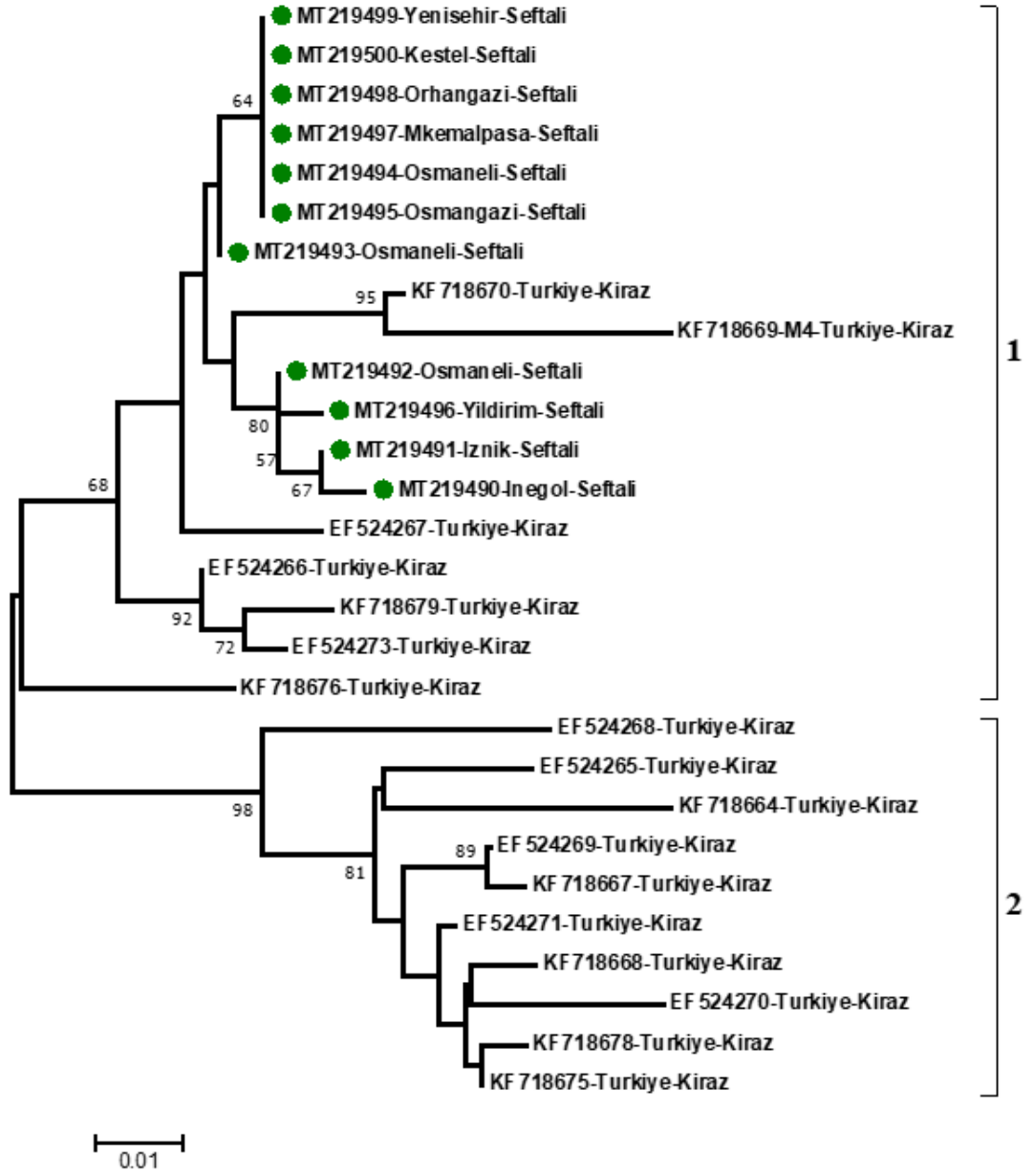
Şekil 4.20 PDV (şeftali) izolatlarının diğer Türkiye izolatları ile nükleotid düzeyinde filogenetik ilişkisi



Şekil 4.21 PDV Türkiye izolatları ile nükleotid düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi

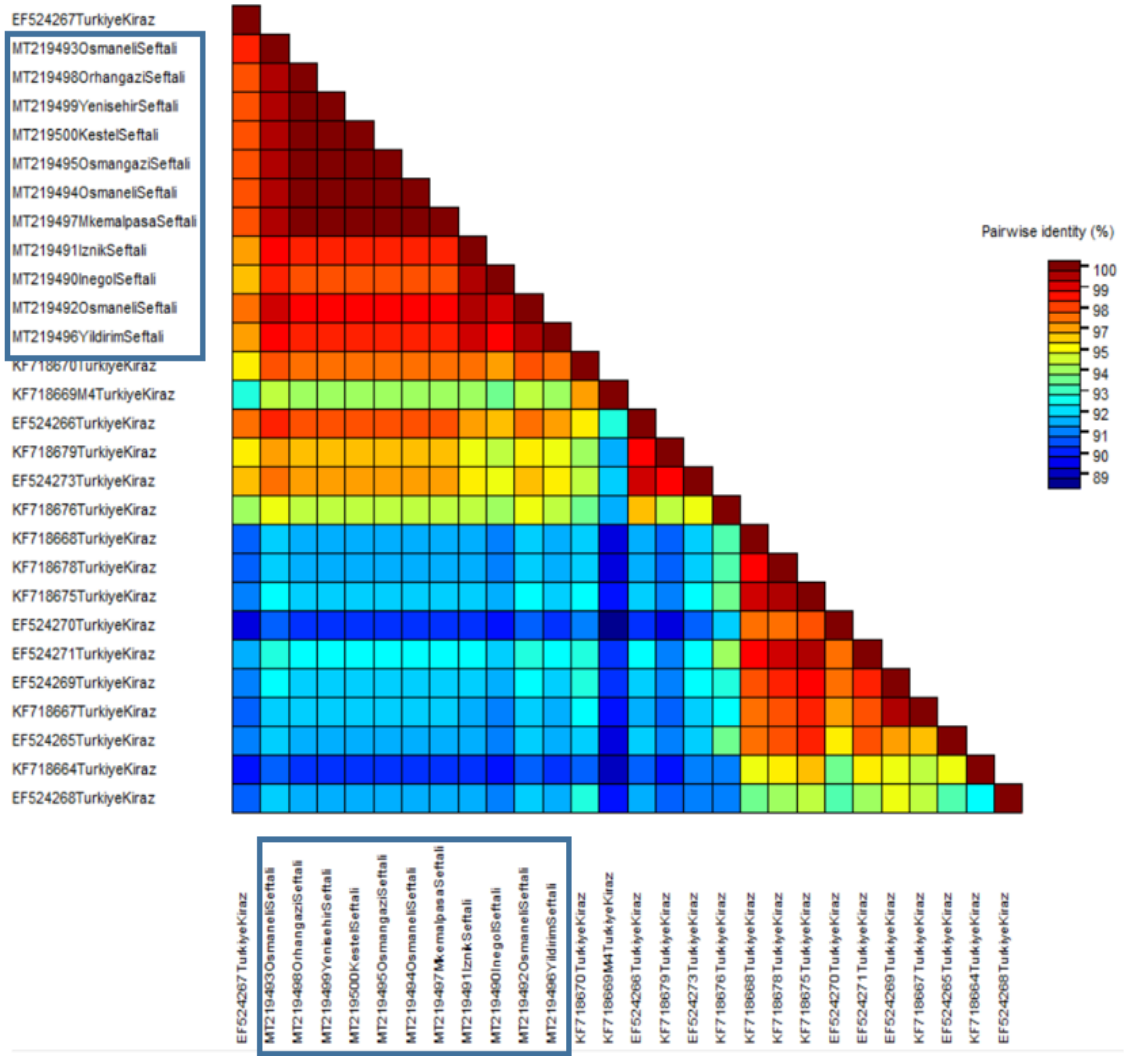
SDT programı kullanılarak Türkiye PDV izolatları ile nükleotid düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi şekil 4.21’de görülmektedir. Çalışma kapsamında dizilenen ve mavi çerçeve içerisinde yer alan PDV izolatlarının Türkiye PDV izolatları ile nükleotid düzeyinde %88-100 arasında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında dizilenen izolatlar hem nükleotid hem de aminoasit düzeyinde yapılan karşılaştırmalı analizler sonucunda belirgin bir fark tespit edilmemiş, izolatlar beklenildiği şekilde kümelenmiştir. Aminoasit düzeyinde gerçekleştirilen filogenetik ağaç şekil 4.22’da görülmektedir.



Şekil 4.22 PDV (şeftali) izolatlarının diğer Türkiye izolatları ile aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi

SDT programı kullanılarak Türkiye PDV izolatları ile aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi şekil 4.23'te görülmektedir. Mavi çerçeve ile matris üzerinde işaretlenen ve çalışma kapsamında dizilenen izolatların Türkiye PDV izolatları ile aminoasit düzeyinde %89-100 arasında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.23 PDV Türkiye izolatları ile aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi

4.4.2 PNRSV izolatlarının filogenetik ilişkisinin belirlenmesi

Survey bölgesini temsil edecek özellikte ve sayıda olmak üzere toplamda 8 adet PNRSV izolatı dizilerek GenBank'a kaydedilmiş ve erişim numaraları alınmıştır (EK 2). Virüsün kılıf protein bölgesi ile ilgili nükleotid dizileri ile yapılan BLASTn analizi sonucunda PNRSV şeftali Türkiye izolatları, referans PNRSV sekans verileri ile nükleotid düzeyinde %96-100 arasında benzerlik göstermiştir. Çalışma kapsamında elde edilen 8 PNRSV izolatına ait sekans bilgisine ilave olarak, çizelge 4.5'de yer alan 9 farklı konukçuda enfeksiyon meydana getirmiş ve 11 farklı ülkeden elde edilen 52 PNRSV izolatı ile filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir.

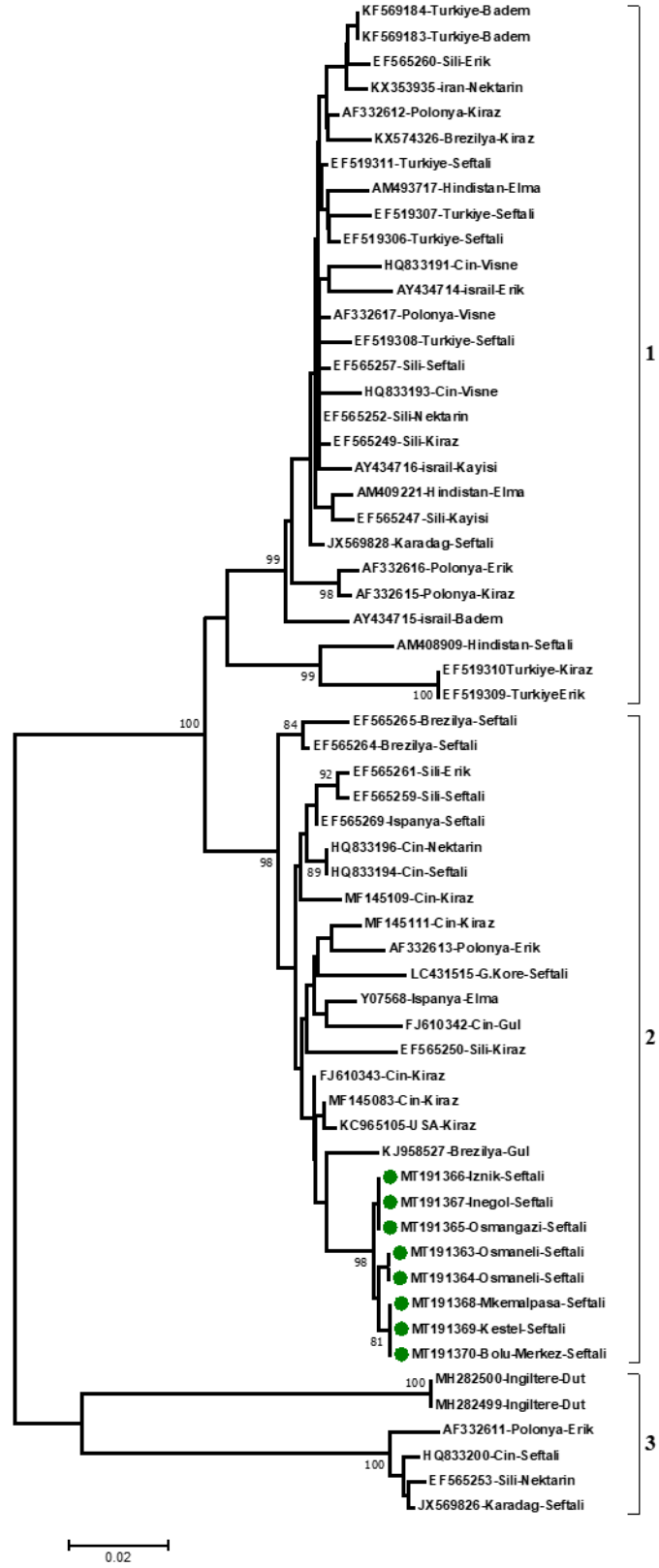
Çizelge 4.5 Filogenetik analizlerde kullanılan PNRSV izolatlarına ait bilgiler

Erişim No	Ülke	Konukçu	Erişim No	Ülke	Konukçu
AM493717	Hindistan	Vişne	KX353935	İran	Nektarin
AM409221	Hindistan	Elma	MH282500	İngiltere	Dut
AM408909	Hindistan	Şeftali	MH282499	İngiltere	Dut
Y07568(PV32)	İspanya	Elma	AY434716	İsrail	Kayısı
EF565269	İspanya	Şeftali	AY434715	İsrail	Badem
MF145111	Çin	Kiraz	AY434714	İsrail	Erik
MF145109	Çin	Kiraz	JX569828	Karadağ	Şeftali
MF145083	Çin	Kiraz	JX569826	Karadağ	Şeftali
KC965105	USA	Kiraz	KY488188	Mısır	Gül
HQ833200	Çin	Şeftali	EF519311	Türkiye	Şeftali
KP981390	Çin	Elma	EF519310	Türkiye	Kiraz
HQ833196	Çin	Nektarin	EF519309	Türkiye	Erik
HQ833194	Çin	Şeftali	EF519308	Türkiye	Şeftali
HQ833193	Çin	Vişne	EF519307	Türkiye	Şeftali
HQ833191	Çin	Vişne	EF519306	Türkiye	Şeftali
FJ610343	Çin	Kiraz	KF569184	Türkiye	Badem
FJ610342	Çin	Gül	KF569183	Türkiye	Badem
EF565261	Şili	Erik	AF332616	Polonya	Erik
EF565260	Şili	Erik	AF332615	Polonya	Kiraz
EF565259	Şili	Şeftali	AF332613	Polonya	Erik
EF565257	Şili	Şeftali	AF332617	Polonya	Vişne
EF565253	Şili	Nektarin	AF332612	Polonya	Kiraz
EF565252	Şili	Nektarin	AF332611	Polonya	Erik
EF565250	Şili	Kiraz	KJ958527	Brezilya	Gül
EF565249	Şili	Kiraz	EF565265	Brezilya	Şeftali
EF565247	Şili	Kayısı	EF565264	Brezilya	Şeftali
LC431515	G.Kore	Şeftali	KX574326	Brezilya	Kiraz

İlk olarak konukçu düzeyinde yapılan incelemelerde dünya izolatları ile yapılan filogenetik analizler sonucunda PNRSV izolatları 3 ana gruba ayrılmıştır. İlk ana grupta badem, erik, nektarin, kiraz, şeftali, vişne, kayısı ve elma konukçularından elde edilen

izolatlar yer almıştır. Ayrıca 1.ana grup içerisinde 6 farklı alt grubun varlığı tespit edilmiştir. Alt grup 1 içerisinde Türkiye’den badem ve şeftali, Şili’den erik ve kiraz, İran’dan nektarin, Polonya’dan kiraz ve vişne, İsrail’den erik ve kayısı izolatları yer almıştır. Dünyanın farklı lokasyon ve konukçuları ile oluşturulan filogenetik ağaç incelendiğinde ana grup 1 içerisinde yer alan Hindistan’dan bir elma ve Şili’den bir kayısı izolatu birlikte farklı bir alt grupta bir araya geldikleri görülürken, Ana grup 1 içerisinde yer alan diğer alt farklı ülke ve konukçulardan elde edilmiş farklı PNRSV izolatlarının dağıldığı görülmektedir (Şekil 4.24).

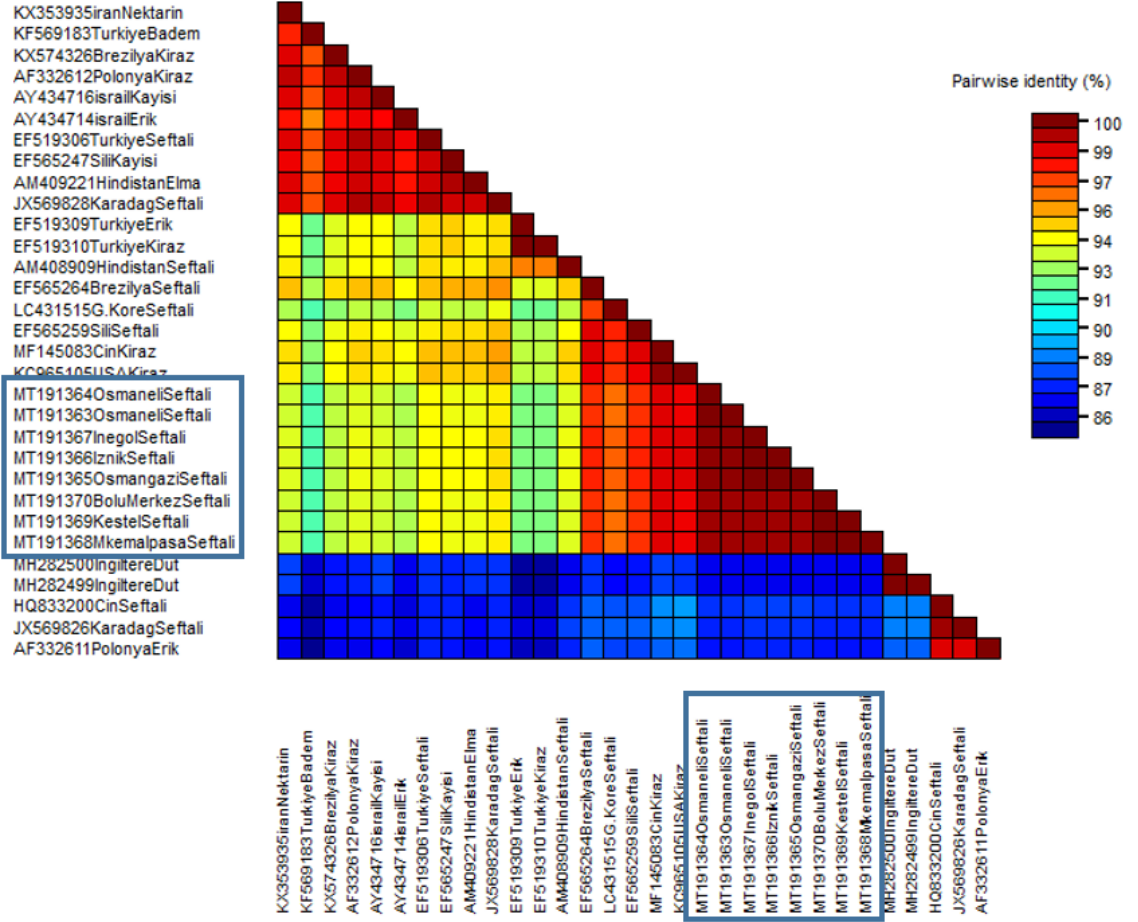




Şekil 4.24 PNRSV izolatlarının dünya izolatları ile nükleotid düzeyinde filogenetik ilişkisi

Çalışmamız kapsamında dizilenen 8 PNRSV izolatının yer aldığı ve toplamda 26 PNRSV izolatının bulunduğu ana grup 2 içerisinde ise Brezilya, Şili, İspanya, Çin, Polonya, Güney Kore ve Amerika'dan izolatlarının dağılım gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca bu izolatların şeftali, erik, nektarin, kiraz, elma, gül konukçu dizisinden elde edildikleri filogenetik ağaçta görülmektedir. Filogenetik ağaç üzerinde gözlenen ana grup 3'ün ise İngiltere'den 2 dut, Polonya'dan erik, Çin'den şeftali, Şili'den nektarin, Sırbistan'dan 1 şeftali izolatının yer aldığı görülmüştür.

SDT programı kullanılarak çalışma kapsamında dizilenen PNRSV izolatlarının Genbank veri tabanından seçilen izolatlar ile oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi şekil 4.25'te yer almaktadır. Mavi çerçeve içerisinde gösterilen ve bu çalışma kapsamında dizilenen PNRSV izolatları referans izolatlar ile %86-100 arasında benzerlik göstermiştir. Kısmi dizi bilgisi elde edilmiş PNRSV izolatları yüksek oaranda Çin, Şili ve Amerika izolatları ile benzerlik göstermiştir. Bu benzerlik filogenetik ağaçta yer alan dağılımı destekler niteliktedir.



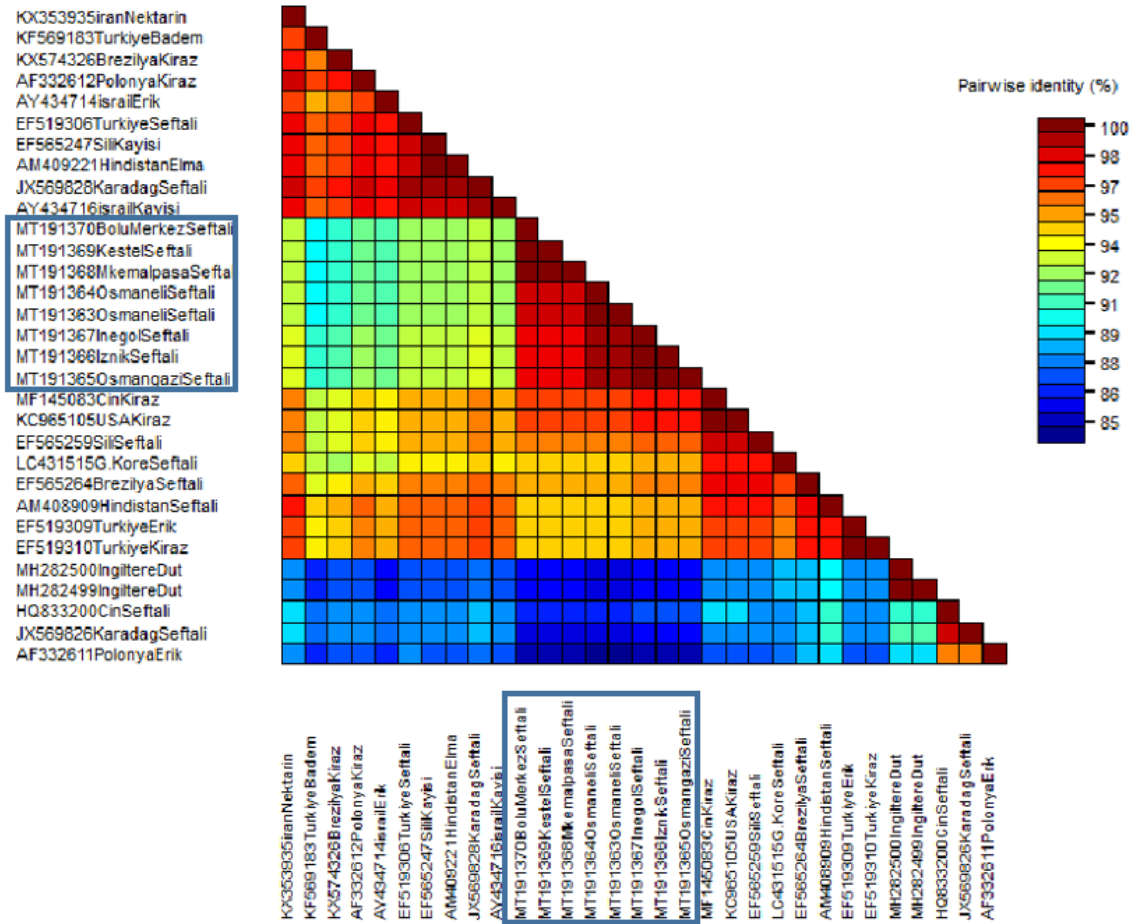
Şekil 4.25 PNRSV şeftali izolatları ve GenBank veri tabanından seçilen izolatlar kullanılarak oluşturulan renklendirilmiş nükleotid düzeyinde benzerlik matrisi

Çalışma kapsamında dizilenen izolatlar hem nükleotid hem de aminoasit düzeyinde yapılan karşılaştırmalı analizler sonucunda belirgin bir fark tespit edilmemiş, izolatlar beklenildiği şekilde kümelenmiştir. Aminoasit düzeyinde gerçekleştirilen filogenetik ağaç Şekil 4.26’de görülmektedir.



Şekil 4.26 PNRSV izolatlarının dünya izolatları ile aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi

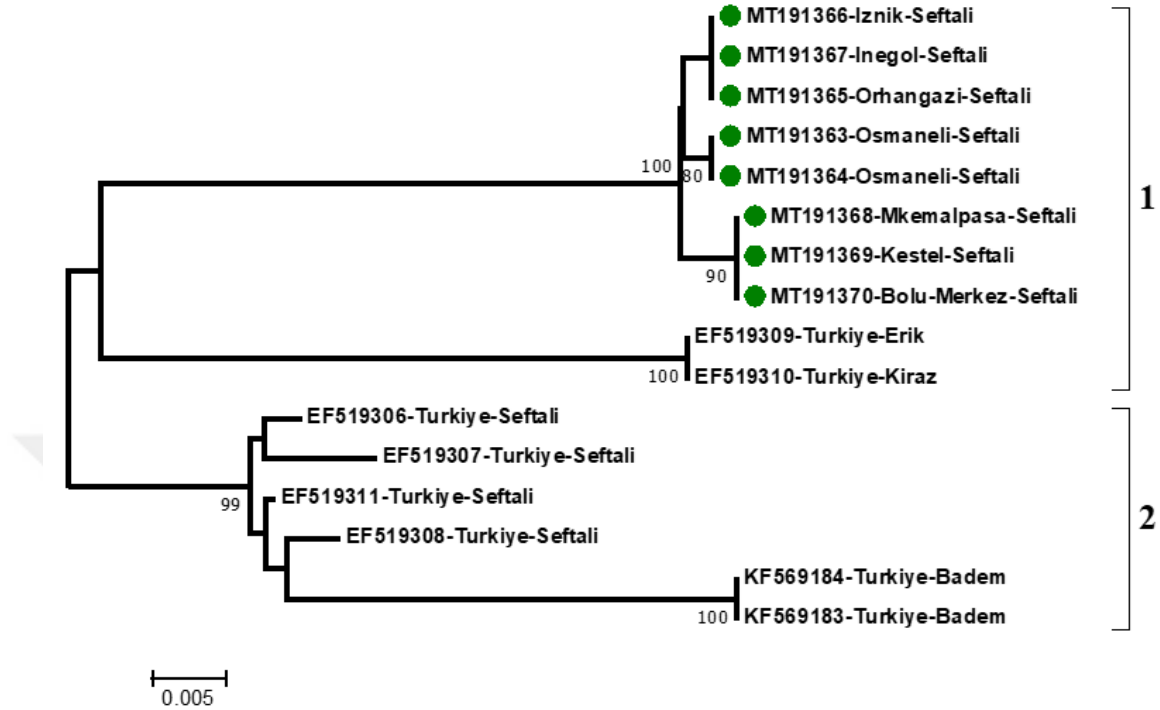
SDT programı kullanılarak çalışma kapsamında dizilenen PNRSV izolatlarının GenBank veri tabanından seçilen izolatlar ile oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi şekil 4.27’de görülmektedir. Benzerlik matrisi incelendiğinde PNRSV şeftali izolatlarının seçilen GenBank izolatları ile %85-100 arasında aminoasit benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.27 PNRSV şeftali izolatları ve GenBank veri tabanından seçilen izolatlar kullanılarak oluşturulan renklendirilmiş aminoasit düzeyinde benzerlik matrisi.

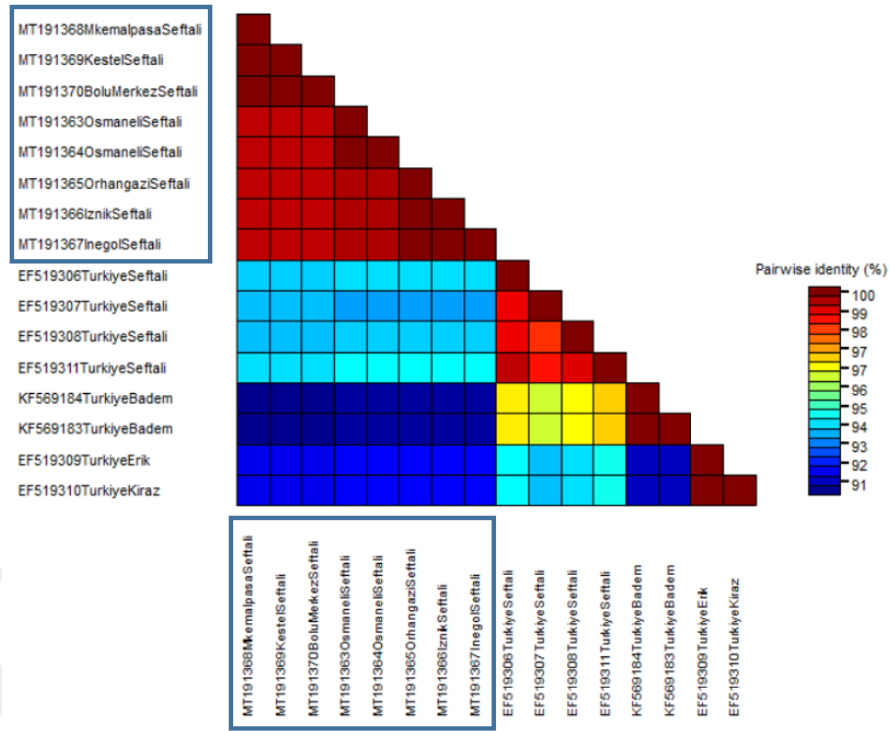
GenBank’a daha önce kaydedilmiş ve Türkiye’den farklı konukçuları enfekte ettiği bildirilmiş izolatlar ile yapılan ikinci bir filogenetik ağaçta PNRSV Türkiye izolatlarının iki ana gruba ayrıldığı görülmektedir (Şekil 4.28). Türkiye PNRSV izolatları ile oluşturulan filogenetik ağaçta çalışmamız kapsamında dizilenen 8 adet PNRSV izolatı ana grup 1 içerisinde yer almıştır. Ayrıca ana grup 1 içerisinde daha önce erik ve kirazdan izole edilen iki adet PNRSV izolatı da gözlenmiştir. Toplamda 6 adet PNRSV izolatının

yer aldığı Ana grup 2 içerisinde ise iki adet badem izolatu 4 adet şeftali izolatinın yer aldığı tespit edilmiştir.



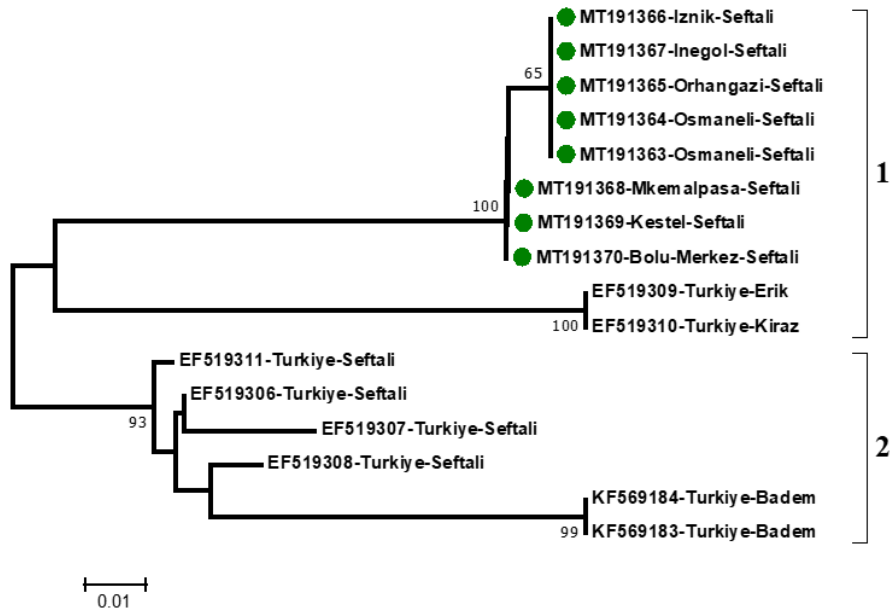
Şekil 4.28 Türkiye (şeftali) PNRSV izolatlarının diğer Türkiye izolatları ile nükleotid düzeyinde filogenetik ilişkisi

SDT programı kullanılarak PNRSV Türkiye izolatlarının, çalışma kapsamında dizilenen PNRSV şeftali izolatları ile renklendirilmiş benzerlik matrisi oluşturulmuştur (Şekil 4.29). Benzerlik matrisi incelendiğinde Türkiye PNRSV izolatları ile çalışma kapsamında dizilenen PNRSV izolatları arasındaki benzerliğin %91-100 arasında değiştiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.29 Dizilene PNRSV şeftali izolatlarının GenBank veri tabanında kayıtlı Türkiye PNRSV izolatları ile nükleotid düzeyinde oluşturduğu renklendirilmiş benzerlik matrisi

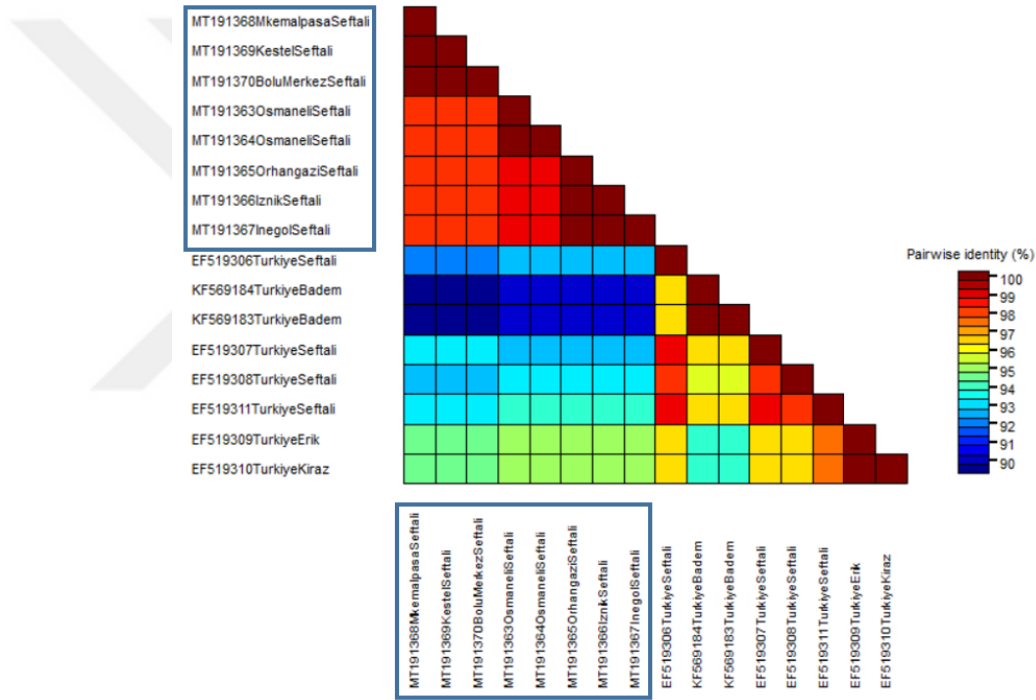
PNRSV Türkiye izolatları ile aminoasit düzeyinde gerçekleştirilen filogenetik ağaç şekil 4.30'de görülmektedir.



Şekil 4.30 Türkiye (şeftali) PNRSV izolatlarının diğer Türkiye izolatları ile aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi

Nükleotid ve aminoasit düzeyinde oluşan filogenetik ağaçlar arasında izolatların dağılımı açısından belirgin bir fark görülmemiştir. İzolatlar beklenildiği şekilde gruplaşma sergilemiştir.

SDT programı kullanılarak GenBank veri tabanında kayıtlı PNRSV Türkiye izolatları ile çalışma kapsamında dizilenen PNRSV şeftali izolatlarının aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi şekil 4.31’de yer almaktadır. Matris incelendiğinde PNRSV şeftali izolatlar ile Türkiye PNRSV izolatlarının aminoasit düzeyinde gösterdikleri benzerlik oranının %90-100 arasında değiştiği belirlenmiştir.



Şekil 4.31 PNRSV şeftali izolatlar ve Genbank veri tabanında kayıtlı Türkiye PNRSV izolatları ile aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi

4.4.3 PPV izolatlarının filogenetik ilişkisinin belirlenmesi

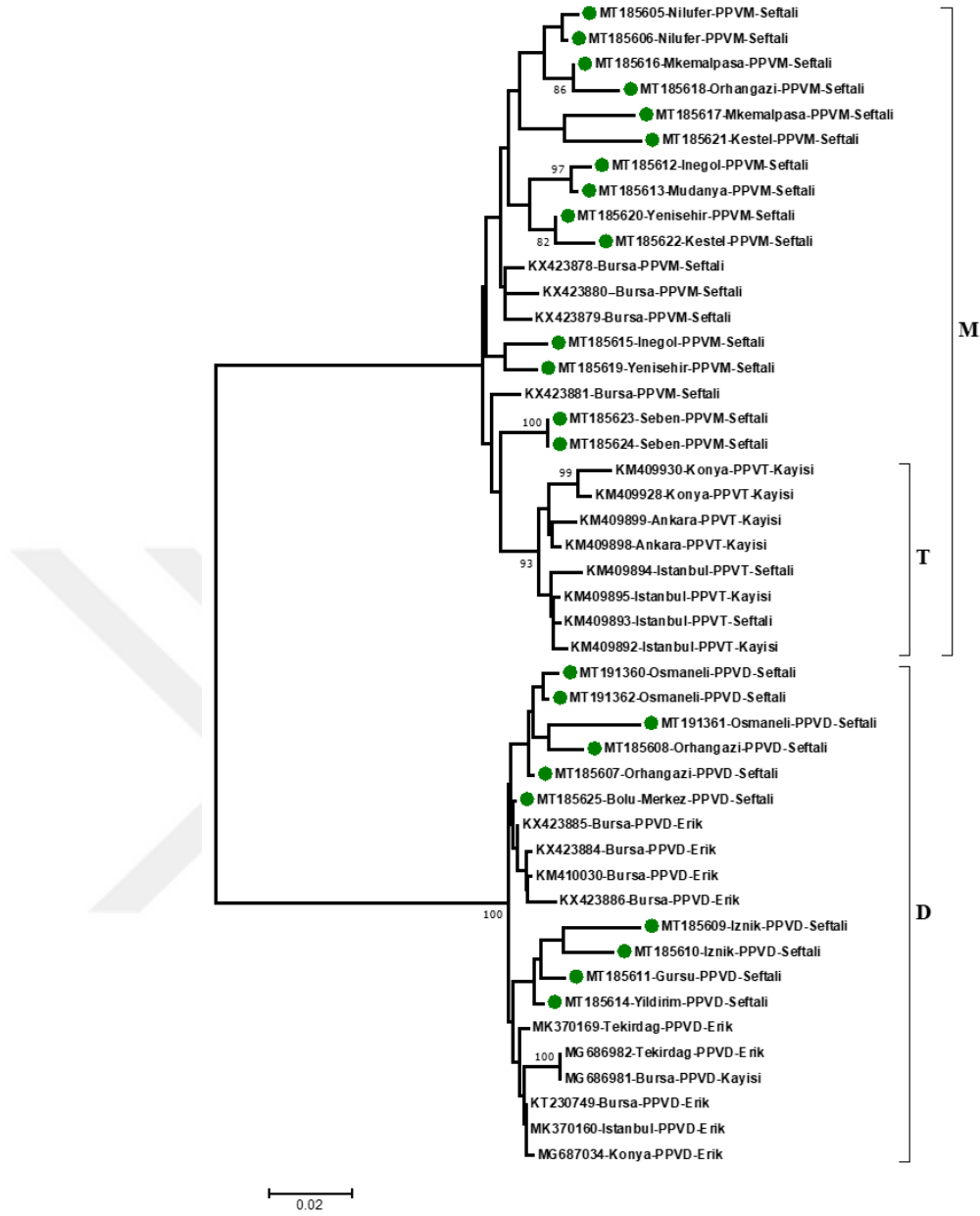
Çalışma sonucunda survey bölgesini temsil edecek özellikte ve sayıda 24 adet PPV pozitif örnek dizilenmiş, elde edilen nükleotid ve aminoasit dizileri GenBank’a kaydedilerek erişim numaraları alınmıştır (EK 1).

Pozitif olarak belirlenen ve survey bölgesini temsil edecek şekilde seçilmiş 24 adet PPV'nin nükleotid dizisi ile yapılan BLASTn analizi sonucunda PPV şeftali Türkiye izolatları, referans PPV sekans verileri ile nükleotid düzeyinde %97-99 arasında benzerlik göstermiştir. Çalışma sonucunda dizilenen 24 PPV izolatına ilaveten Türkiye'den daha önce GenBank'a kaydedilmiş D, M ve T ırklarından seçilen 22 PPV izolatı (Çizelge 4.6) ile nükleotid düzeyinde filogenetik analiz gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.6 Filogenetik analiz için seçilen PPV Türkiye izolatları ve erişim numaraları

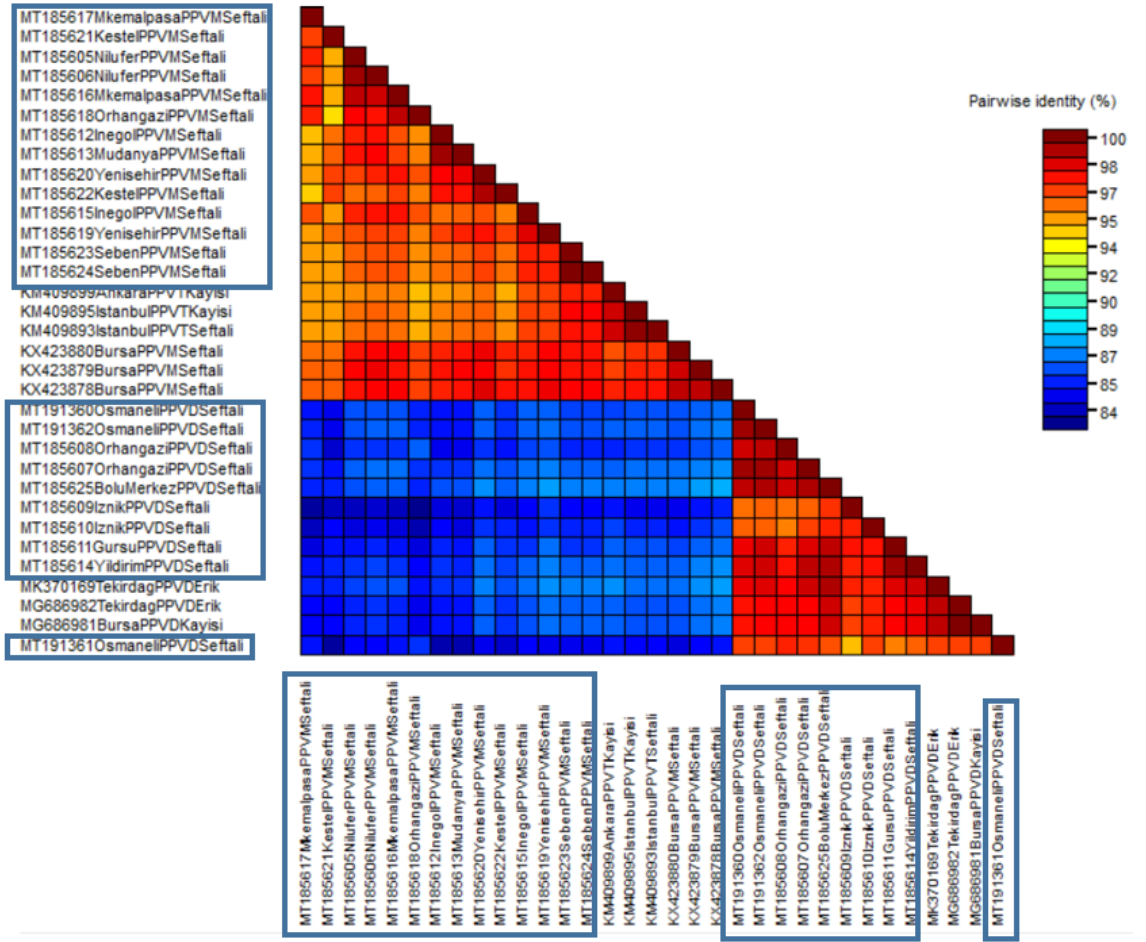
Erişim No	Konukçu	İrk	Erişim No	Konukçu	İrk
KX423885	Erik	D	KM409930	Kayısı	T
KX423884	Erik	D	KM409928	Kayısı	T
KM410030	Erik	D	KM409899	Erik	T
KT230749	Erik	D	KM409898	Kayısı	T
KX423886	Erik	D	KM409895	Kayısı	T
MK370160	Erik	D	KM409894	Şeftali	T
MG687034	Erik	D	KM409893	Kayısı	T
MK370169	Erik	D	KM409892	Kayısı	T
MG686982	Erik	D	KX423881	Şeftali	M
MG686981	Kayısı	D	KX423880	Şeftali	M
EU734801	Erik	T	KX423879	Şeftali	M
EU734800	Erik	T	KX423878	Şeftali	M

Analiz sonucunda ırkların filogenetik ağaç üzerinde kendi aralarında beklenildiği şekilde kümelenmeleri gözlenmiştir (Şekil 4.32).



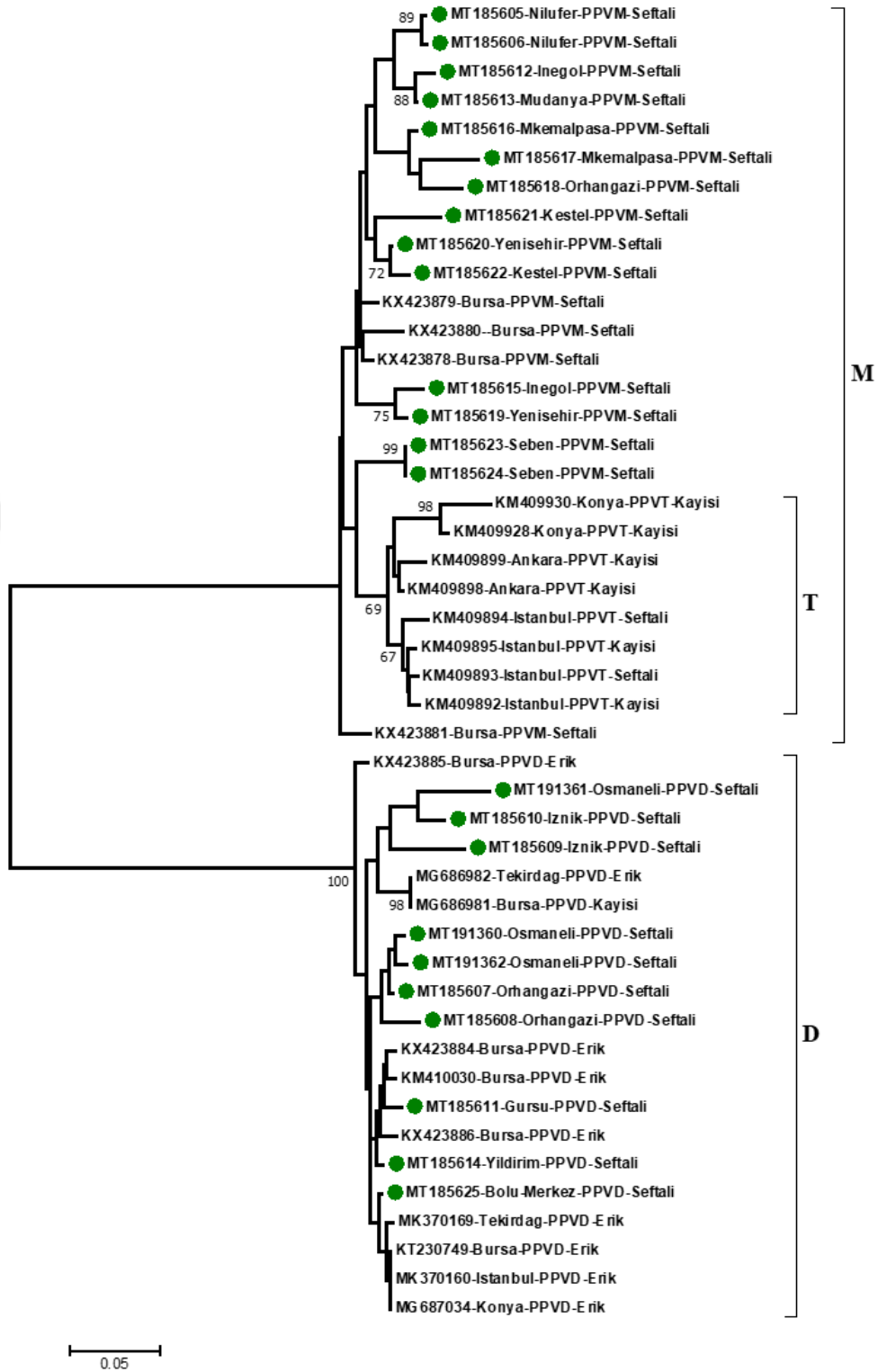
Şekil 4.32 Türkiye PPV izolatlarının nükleotid düzeyinde filogenetik ilişkisi

SDT programı yardımı ile ülkemiz sert çekirdekli konukçularından izole edilen ve GenBank veri tabanında yer alan izolatlar ile renklendirilmiş benzerlik matrisi oluşturulmuştur (Şekil 4.33). Yapılan analiz sonucunda dizilenen izolatlar ile referans izolatların %84-100 arasında değişen oranlarda benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Matris incelendiğinde PPV ırklarının kendi aralarında yüksek derecede nükleotid benzerliği gösterdiği görülmektedir. Bu sonucun şekil 4.32’de yer alan filogenetik gruplaşma ile örtüştüğü görülmektedir.



Şekil 4.33 Ülkemiz PPV izolatları ile çalışma kapsamında dizilenen şeftali PPV izolatlarının nükleotid düzeyinde elde edilen renklendirilmiş benzerlik matrisi

Ayrıca seçilen GenBank izolatları ile aminoasit düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaç şekil 4.34’de görülmektedir.

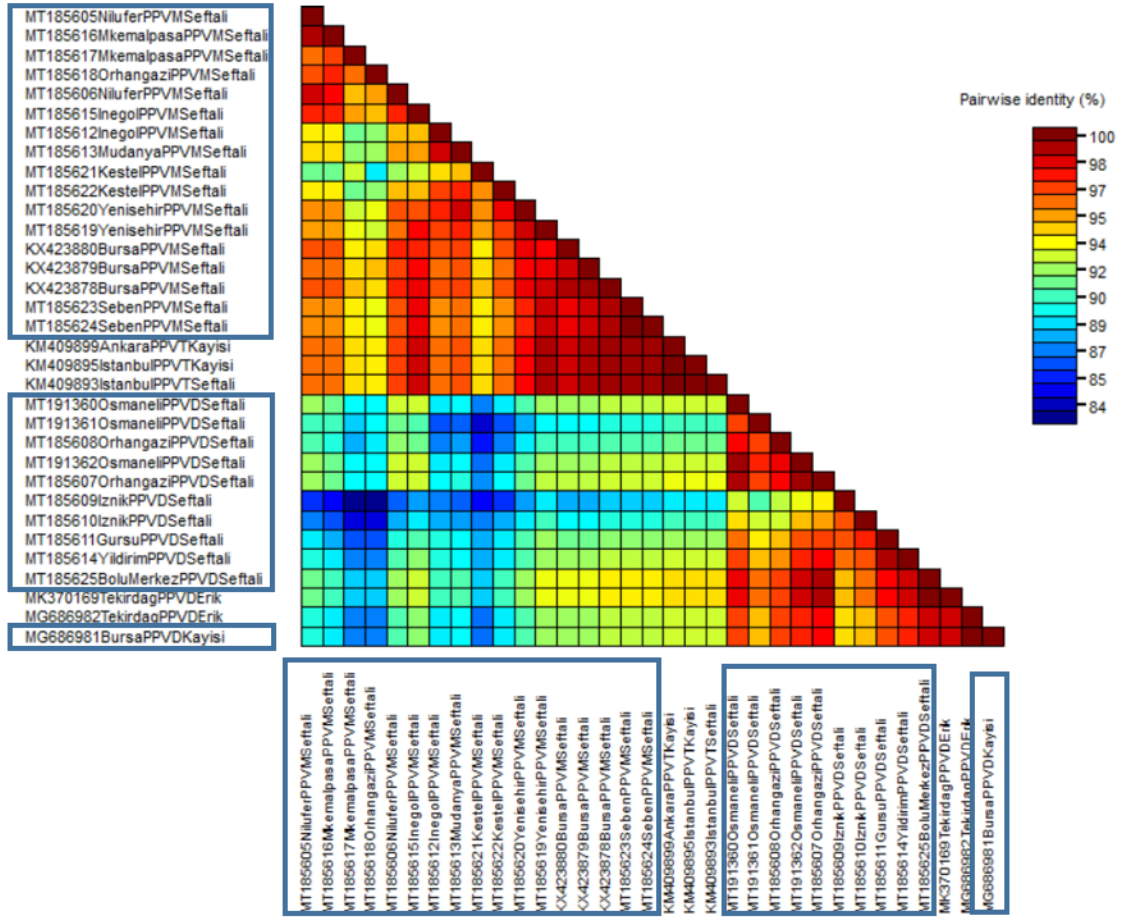


Şekil 4.34 Türkiye PPV izolatlarının aminoasit düzeyinde filogenetik ilişkisi

Filogenetik ağaçlar incelendiğinde 14 adet izolatın M ırkı izolatları ile birlikte gruplandırıldığı tespit edilmiştir. Dizilenen izolatlardan M ırkı olarak tespit edilenlerin tamamının kapama

bahçelerden toplanan örneklerden oluştuğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışma kapsamında dizilenen 10 adet D izolatının 3'ünün yine ticari özelliği yüksek olarak tabir edilebilecek özellikteki bahçelerden toplanan izolatlardan oluştuğu gözlenmiştir. Survey kapsamında örnek toplanan fidanlıklardan alınan ve pozitif olarak belirlenen örneklerin tamamının M ırkı olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında Bolu bölgesinin PPV ile bulaşıklık durumu incelenmiş pozitif olarak tespit edilen ve dizilenen 3 izolatın 2'sinin PPV-M olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak PPV-D ırkı olarak belirlenen 10 adet PPV izolatın toplandıkları yerlere dair özellikler incelendiğinde 3 tanesinin ticari bahçelerden temin edilen virüsle bulaşık örneklerden oluştuğu geri kalan 7 izolatın ise tamamının eski ve yaşlı bahçelerden elde edilen ve dizilenen izolatlardan oluştuğu görülmüştür. Söz konusu tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde ticari bahçelerde M ırkının daha yaygın olduğu ancak D ırkının da görülebileceği, eski ve bakımsız ev tipi bahçelerde ise D ırkının yaygın olduğunu söylemek mümkün olmaktadır. Bilecik ilinin en önemli şeftali üreticisi konumunda olan Osmaneli ilçesinden dizilenen 3 izolatın D ırkı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Osmaneli ilçesinde şeftali yetiştiriciliği amacıyla kurulan bahçelerin daha eski tarihli olduğu ve Bursa iline göre daha geleneksel yetiştiriciliğin yapıldığı gözlenmiştir. İznik, Gürsu ve Osmangazi ilçelerinden toplanan örneklerin de PPV-D oldukları görülmüştür. Türkiye PPV izolatları ile aminoasit ve nükleotid düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaçlar arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir. İzolatlar beklenildiği gibi kendi ırkları ile aynı grup içerisinde kümelenmiştir.

SDT programı kullanılarak oluşturulan aminoasit düzeyindeki renklendirilmiş benzerlik matrisi de, aminoasit düzeyinde oluşturulan filogenetik ağacı destekler nitelikte bir görünüm sergilemiştir (Şekil 4.35). Matris incelendiğinde izolatlar arası aminoasit benzerlik oranının %84-100 arasında değiştiği görülmüştür.



Şekil 4.35 PPV Türkiye izolatları ile çalışma kapsamında dizilenen izolatların aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi

Çalışma kapsamında dizilenen 24 PPV izolatına ek olarak, ülkemiz ve dünyanın farklı bölgelerinden GenBank'a kaydedilen PPV'nin 7 farklı ırkından izolatlar seçilmiştir. (Çizelge 4.7).

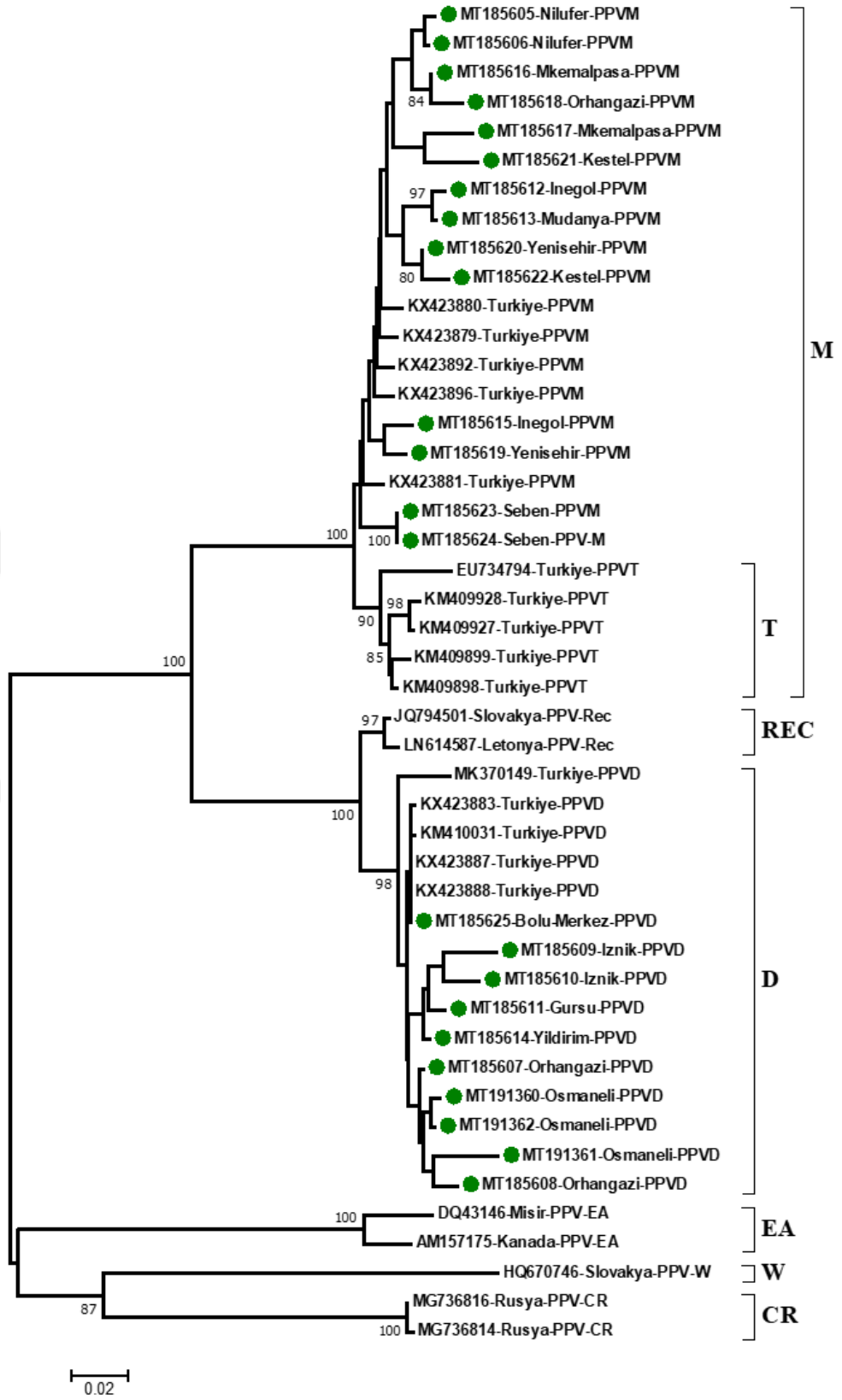
Çizelge 4.7 Türkiye ve dünyadan seçilen farklı PPV ırkları ve erişim numaraları

Erişim No	Bölge	Konukçu	İrk
KX423888	Bursa	Şeftali	D
KX423887	Bursa	Erik	D
KX423883	Bursa	Erik	D
KM410031	Bursa	Erik	D

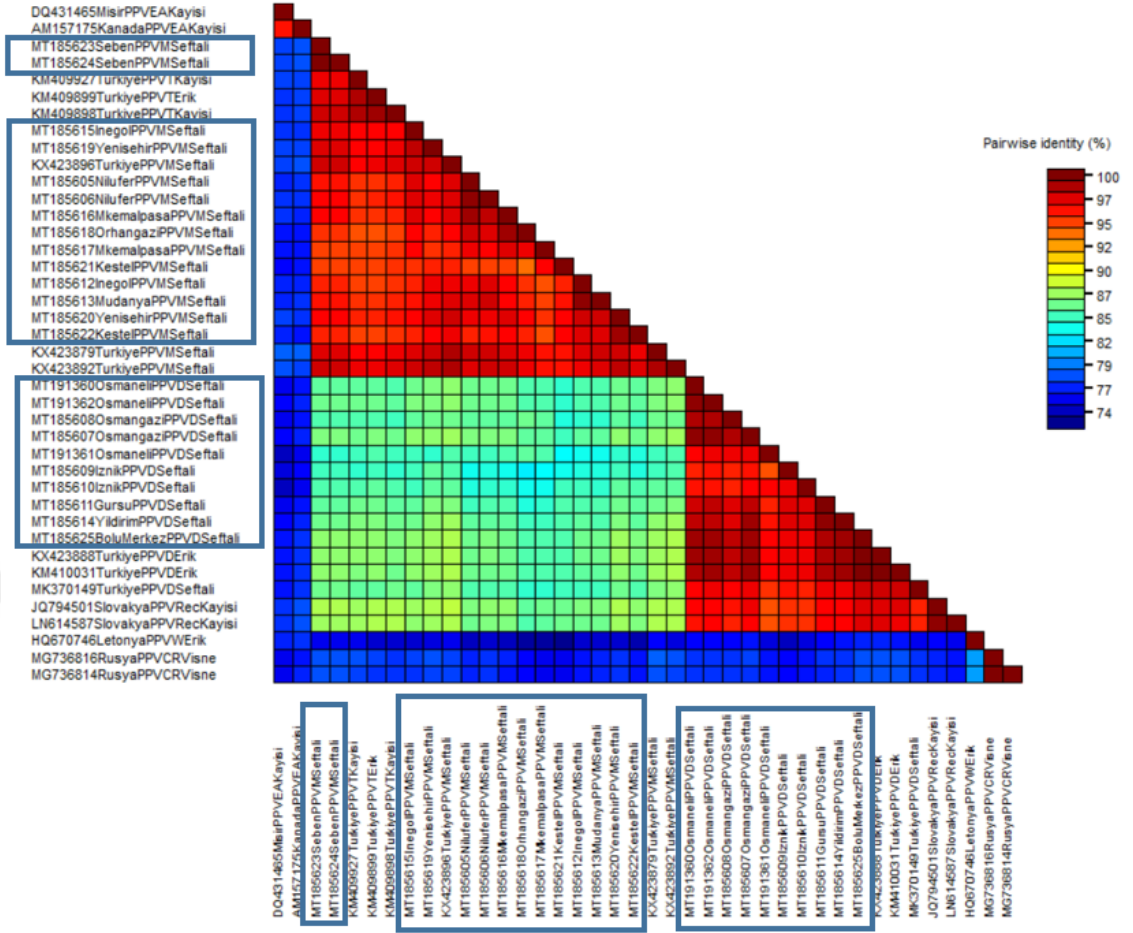
Çizelge 4.10 Türkiye ve dünyadan seçilen farklı PPV ırkları ve erişim numaraları (devam)

MK370149	Eskişehir	Kayısı	D
EU734794	Ankara	Kayısı	T (AbTk)
KM409928	Kayseri	Kayısı	T
KM409900	Ankara	Kayısı	T
KM409899	Kayseri	Erik	T
KM409898	Ankara	Kayısı	T
KX423881	Bursa	Şeftali	M
KX423880	Bursa	Şeftali	M
KX423879	Bursa	Şeftali	M
KX423896	Bursa	Şeftali	M
KX423892	Bursa	Şeftali	M
EF504279	Çek Cumhuriyeti	Erik	Rec
JQ794501	Slovakya	Erik	Rec
LN614587	Slovakya	Kayısı	Rec
HQ670746	Slovakya	Erik	W
AM157175	Kanada	Erik	El-Amar
DQ431465	Slovakya	Kayısı	El-Amar
MG736816	Rusya	Vişne	CR
MG736814	Rusya	Vişne	CR

PPV'nin tüm ırkları ile nükleotid düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaçlar şekil 4.36'da görülmektedir.



Şekil 4.36 PPV'nin tüm ırkları ile oluşturulan nükleotid düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaç

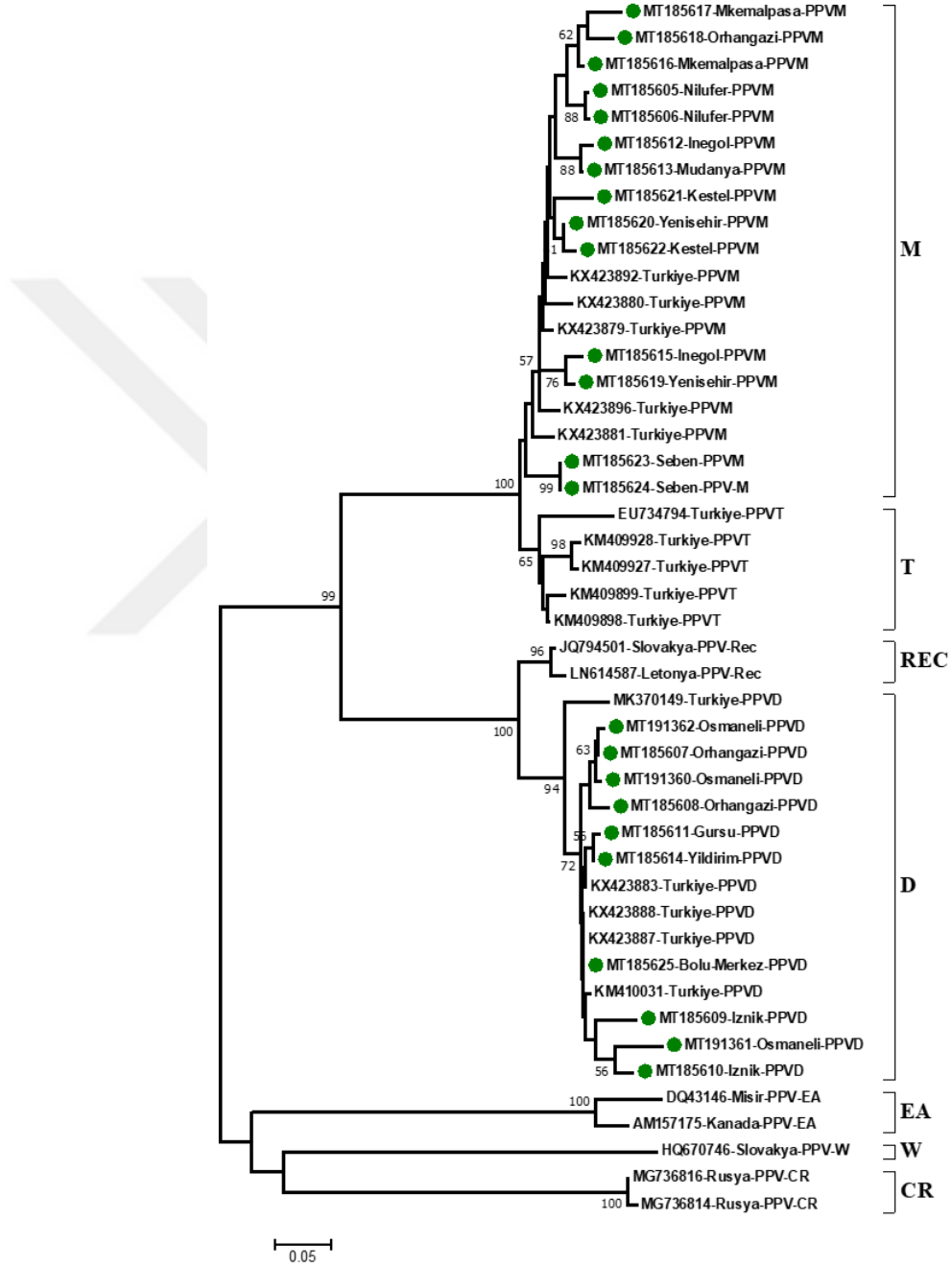


Şekil 4.37 PPV'nin dünyadan farklı ırkları ile nükleotid düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi

SDT programı yardımıyla oluşturulan dünyanın farklı bölgeleri ve farklı ırklarının yer aldığı renklendirilmiş benzerlik matrisi şekil 4.37'de yer almaktadır. Mavi çerçeve içerisinde yer alan ve bu çalışma kapsamında dizilenen izolatlar ile oluşturulan matris incelendiğinde benzerlik oranının %74-100 arasında değiştiği görülmüştür. Ayrıca nükleotid düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaçta net bir şekilde ayrılan ırkların, renklendirilmiş benzerlik matrisinde de keskin çizgiler ile ayrıldığı görülmektedir.

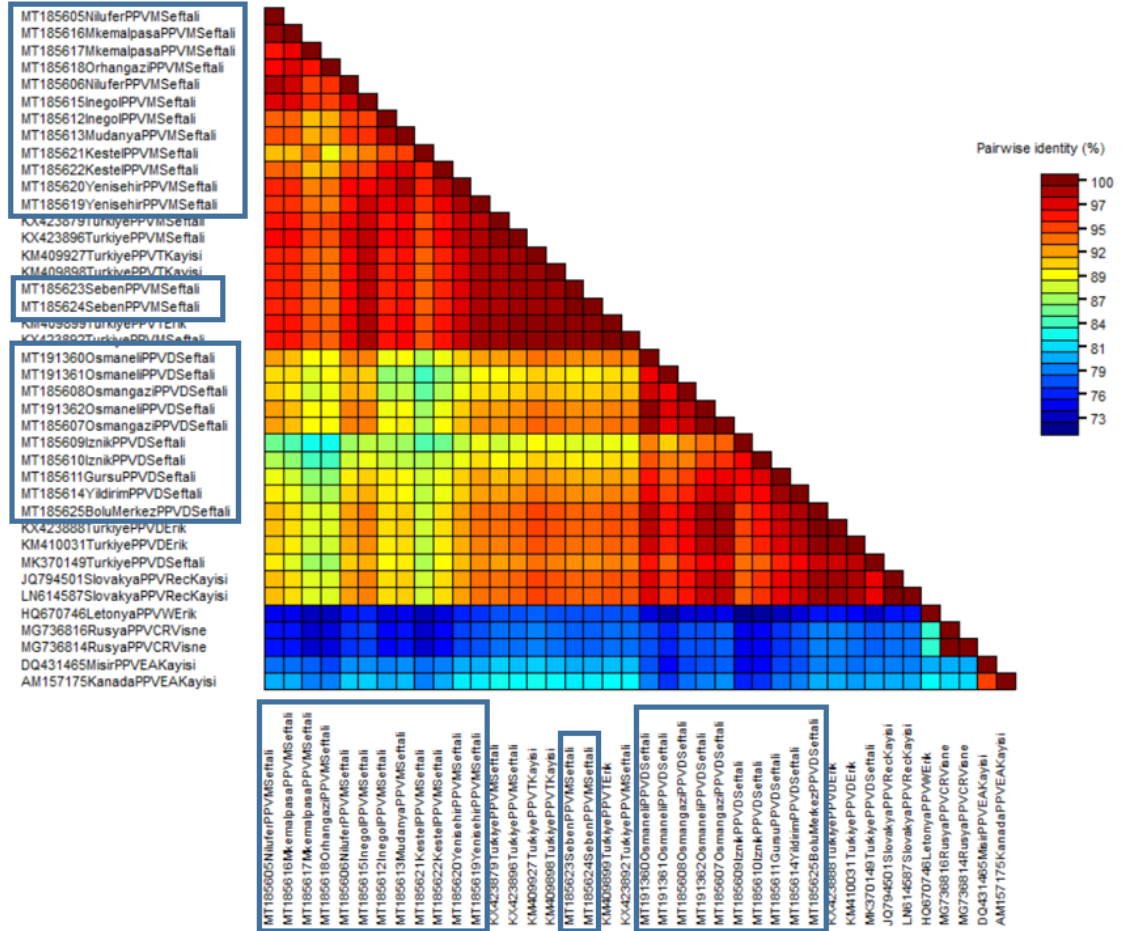
Ayrıca, seçilen izolatlar ile aminoasit düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaç şekil 4.38'de yer almaktadır. Filogenetik ağaçlar incelendiğinde çalışma kapsamında dizilenen izolatların D ve M ırkları içerisinde dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Şekil 4.36 incelendiğinde filogenetik ağacın 4 ana gruba ayrıldığı görülmektedir. PPV-T izolatları PPV-M ana grubu altında farklı bir alt grupta kümelenirken, PPV-Rec'in ise büyük

çoğunluğunu PPV-D'nin oluşturduğu ana grup altında bir alt grup oluşturduğu görülmüştür. Hem nükleotid hem de aminoasit düzeyinde yapılan filogenetik ağaçlar incelendiğinde izolatların beklenildiği şekilde kümelendikleri görülmüştür. Seçilen izolatlar ile gerçekleştirilen aminoasit ve nükleotid düzeyindeki filogenetik ağaçlar arasında bir fark oluşmamıştır.



Şekil 4.38 PPV'nin tüm ırkları ile oluşturulan aminoasit düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaç

SDT programı kullanılarak aminoasit düzeyinde oluşturulan filogenetik ağaç şekil 4.39'da görülmektedir. Matris inceleniğinde izolatlar arasındaki benzerlik oranının %74-100 arasında değiştiği görülmektedir. Benzerlik matrisi ile elde edilen dağılımın, filogenetik ağaç üzerinde meydana gelen gruplaşmalar ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür.



Şekil 4.39 PPV'nin dünyadan farklı ırkları ile aminoasit düzeyinde oluşturulan renklendirilmiş benzerlik matrisi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışma kapsamında elde edilen bulgular 2016-2019 yılları arasında yaklaşık olarak 3 yıllık bir zaman dilimi içerisinde toplanan verilerden oluşmaktadır. Bu tez sonucu elde edilen sonuçlar survey bölgesi (Bursa, Bilecik ve Bolu) içerisinde yer alan şeftali üretim alanlarında yapılan incelemeleri içermektedir. Çalışma sonucu elde edilen bulgular, surveyler, semptomatolojik tespitler, serolojik ve moleküler çalışmalar neticesinde belirlenmiştir. Survey kapsamında PDV, PNRSV ve PPV virüslerinin varlığı bölgede araştırılmış, toplanan 486 örneğin 286'sında (58,84) ilgili virüslerin en az bir tanesi tespit edilmiştir. Toplanan bitki materyallerinden 253 örneğin PPV, 19 örneğin PDV ve 14 örneğin de PNRSV ile enfekteli olduğu görülmüştür. Survey bölgesinde virüslerin oransal dağılımı PPV'de %52,05, PDV'de %3,90 ve PNRSV'de %2,88 olarak belirlenmiştir. Yapılan RT-PCR çalışmalarında survey alanının farklı lokasyonlarını temsil edecek bazı izolatlara ait kısmi nükleotid dizileri elde edilmiştir. Belirlenen nükleotid dizileri GenBank'a kayıtlı ülkemiz ve dünyanın farklı ülkelerinden elde edilmiş izolatların gen dizileri ile mukayese edilerek izolatların yakınlık dereceleri ve filogenetik ilişkisi ortaya konulmuştur. Türkiye'de sert çekirdekli meyvelerde enfeksiyon oluşturan virüslerin varlığı ile ilgili daha önce gerçekleştirilmiş bazı çalışmalar bulunmaktadır (Azeri, 1994, Yıldızgördü and Çalı, 1994, Elibüyük ve Erdiler 1998, Gazel ve Çağlayan 1998, Ulubaş ve Ertunç, 2004, Sertkaya vd. 2003, Sipahioğlu vd. 2005, Ulubaş ve Ertunç 2005, Gümüş vd. 2007, Ulubaş Serçe vd. 2009a, Öztürk ve Çevik 2015). Yapılan çalışmalar incelendiğinde kiraz üretiminde sorun olan viral hastalık etmenlerinin tespiti özelliğinde olan Öztürk ve Çevik (2015) dışındaki diğer tüm çalışmaların patojenin tespiti ve teşhisi düzeyinde kaldığı görülmektedir. Bu çalışma şeftali üretiminin yoğun olarak yapıldığı bir bölgede virüslerin tespiti ve kısmi nükleotid dizilerinin belirlendiği kapsamlı bir çalışma özelliğindedir. Çalışma sonucunda PNRSV, PPV ve PDV izolatlarının ise survey bölgesini oluşturan ülkemizin önemli şeftali üretim alanındaki dağılımları ortaya konulmuş ve ayrıca ülkemiz şeftali PDV izolatlarına ait ilk kısmi nükleotid dizileri belirlenmiştir.

5.1 Survey ve Simptomatoloji

Bursa, Bilecik ve Bolu illerinde şeftali yetiştiriciliği yapılan alanlarda 2016-2019 yıllarını kapsamak suretiyle Nisan ve Temmuz ayları içerisinde surveyler düzenlenmiş ve viral simptom sergileyen bitki kısımları toplanmıştır. Genel anlamda tüm simptomatolojik tablo değerlendirilmiş 12 farklı simptomun varlığı açısından şeftali ağaçları incelenmiştir.

Şeftali ağaçlarında rastlanılan PDV simptomları değerlendirildiğinde, yapraklarda klorotik lekeler, damar aralarında daralma, enfekteli bitkide genel bir gelişme geriliği tespit edilmiştir (Şekil 4.1, 4.2). Öztürk ve Çevik (2015), 316 kiraz ağacında görülen simptomların, yapraklarda klorotik lekeler, bitkide genel cücelik ve yapraklarda küçülme şeklinde olduğunu bildirmiştir. Soltani vd. (2013)'te PDV ile enfekteli olduğu değerlendirilen 251 bitki örneği toplanmış ve PDV ile enfekteli numunelerde klorotik lekeler, damar aralarında daralma ve bodurlaşmanın yaygın olduğu görülmüştür. Montenegro bölgesinde şeftali ağaçlarının PNRSV ve PDV enfeksiyonunu konu alan başka bir araştırmada PDV enfekteli örneklerin klorotik lekeleri damarlarda renk açılması ve bodurluk simptomlarını sergiledikleri tespit edilmiştir (Zindović vd. 2013). Çalışma sonucunda PDV ile pozitif sonuç veren şeftali bitkilerinin sergilemiş oldukları simptomlar, yukarıda bahsedilen söz konusu çalışmalar sonucu elde edilen veriler ile yüksek derecede benzerlik göstermektedir. Bu bilgilere ek olarak Bursa, Bilecik ve Bolu illeri şeftali yetiştiriciliği yapılan alanlarda tespit edilen PDV ile enfekteli tüm pozitif örnekler spesifik bir simptom tablosu göstermemiştir. Pozitif tespit edilen 19 örneğin 11'inde PDV enfeksiyonu asimptomatik olarak gözlenmiştir. Kamenova vd. (2019)'te Bulgaristan'da PDV enfeksiyonu açısından 2090 bitki kısmı toplamış, yapılan serolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda, toplanan örneklerin yaklaşık %43.8'inin PDV'e özgü herhangi bir simptom göstermediği bildirilmiştir. Çalışmamız sonucunda pozitif tespit edilen 11 örnekte herhangi bir simptom gözlenmemiştir. Bu veriler ışığında elde ettiğimiz bulguların Kamenova vd. (2019) ile bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Dünyada PNRSV'nin simptomatolojisi üzerine bazı çalışmalar yapılmıştır (Moury vd. 2001, Khalid ve Adel 2011, Skelton vd. 2018). Çelik ve Ertunç (2019) Türkiye'de ilk defa elma bitkisi üzerinde PNRSV enfeksiyonunu tespit etmiş ve konukçu üzerinde

görülen simptomların mozaik belirtileri, yuvarlak klorotik lekeler ve yapraklarda kıvrılma şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Meksika' da sert çekirdekli bitkilerin virüslerinin araştırıldığı başka bir çalışmada PNRSV'den kaynaklı belirtilerin yapraklarda sararma, yuvarlak klorotik lekeler, yapraklarda çizgili sarı desenler ve mozaik şeklinde olduğu bildirilmiştir (De La Torre-Almaraz vd. 2008). Glasa vd. (2002), sera koşullarında yürüttükleri bir çalışmada PNRSV kaynaklı görülen simptomların yapraklarda renk açılması, mozaik halkalı lekeler ve sarı çizgi şeklinde lekeler olarak bildirmiştir. Çalışmamız kapsamında PNRSV pozitif olarak tespit edilen bitkilerin sergiledikleri simptom tablosu incelendiğinde yapraklarda klorotik lekeler, saçma deliği şeklinde alanların varlığı, yaprak kenarlarında dişlenme gibi simptomların varlığı görülmüştür. Bu bağlamda gözlenen simptomların önceki çalışmalarda bildirilen belirti tablosu ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Ayrıca PNSRV enfeksiyonunun asimptomatik olabileceği de bildirilmiştir (Glasa vd. 2002, Fajardo vd. 2015). Çalışmamız kapsamında tespit edilen 14 PNRSV izolatının 5'i PNRSV'ye özgü belirtilerin varlığı açısından asimptomatik tespit edilmiştir. Survey bölgesinde görülen ve PNRSV benzer simptom sergileyen bu bitkilerin şeftalide yaprak delen hastalığı (*Thyrostroma carpophilum*) ile kaynaklı olduğu değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çalışma kapsamında 3 adet PNRSV enfeksiyonunda yaprak kenarlarında dişlilik belirtisi 1 adet pozitif PNRSV enfeksiyonunda ise yapraklarda saçma deliği şeklinde alanların varlığı tespit edilirken simptomların büyük çoğunluğunun yapraklarda renk açılması ve sararma şeklinde olduğu görülmüştür. Sert çekirdekli bitkilerde yaprak delen hastalığı (*Thyrostroma carpophilum*) yapraklarında saçma deliği şeklinde klorotik ve nekrotik alanların oluşumuna sebep olan bir etmen olduğu bildirilmiştir (Nabi vd. 2018). Çalışmamız kapsamında saçma deliği şeklinde klorotik ve nekrotik alanlar şeklinde gözlenen simptomların bir kısmının yaprak delen hastalığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sert çekirdekli ağaçların en tahripkar viral hastalık etmeni olan PPV'nin konukçu bitki üzerinde meydana getirdiği simptomlar üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Sert çekirdekli bitkilerde PPV simptomlarının genellikle erken ilkbaharda ortaya çıktığı yaz ortalarına doğru görülmeye devam ettiği, sıcak seyreden yaz mevsimlerinde sezonun sonuna doğru kaybolduğu bildirilmiştir (Wang vd. 2006). Çalışmamız kapsamında yapılan bütün surveyler, literatürde verilen bilgiler ışığında Nisan ve Temmuz ayları

arasında yürütülmüştür. Simptomların seyrinin *Prunus* türüne, PPV irkına, mevsimsel koşullara, ağacın yaşına ve kültürel bakım işlemlerine bağlı olarak değişiklik gösterebileceği belirtilmiştir (Gruntzig vd. 1986). PPV simptomları genellikle enfekteli bitkilerde, yaprak damarlarına yakın alanlarda sararma, yaprak üzerinde parlak klorotik lekeler, meyvede yuvarlak sarımsı halkalar şeklinde görülmektedir (Wang vd. 2006). Stobbs vd. (2005)' e göre bazı şeftali türlerinde çiçeklerde renk kırılmasının görülebileceği bildirilmiştir. Ayrıca PPV-D enfeksiyonunun PPV-M'e göre biraz daha hafif seyredebileceği, hatta bazı çeşitlerde simptom görülemeyeceği belirtilmiştir. Çalışma kapsamında Bursa, Bilecik ve Bolu illerinde şeftali alanlarında görülen PPV enfeksiyonlarında saptanan simptomlar, yaprak damar aralarında sararma, yaprağın küçülmesi, açık sarı renkte klorotik lekeler şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.6, 4.7). Bu veriler ışığında survey bölgesinde gözlenen simptomların literatürde PPV simptomları ile ilgili verilen bilgiler ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Survey bölgesinde şeftali ağaçlarında, PPV-D ve PPV-M'den kaynaklı enfeksiyonlarda belirtiler arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Nisan-Temmuz ayları arasında yapılan survey çalışmalarında survey bölgesi içerisinde PPV simptomları sergileyen herhangi bir meyve gözlenmemiştir. Meyvede simptom görülmesi için meyve olgunlaşmasından 4-6 hafta sonrasının daha uygun bir zaman dilimi olduğu, ayrıca çeşit olarak hassas şeftali çeşitlerinin gerekliliği bildirilmiştir (Wang vd. 2006). Sonuç olarak bölgede meyve hasadı, olgunlaşmanın hemen akabinde gerçekleştiği için, ticari özelliği yüksek bahçelerde arazi koşullarında meyve simptomlarının görülmesi pek mümkün olmamaktadır.

5.2 Serolojik Test (DAS-ELISA)

DAS-ELISA sonuçlarına göre survey bölgesinden toplanan 486 örneğin 286'sında (%58,84) ilgili virüslerin en az bir tanesi tespit edilmiştir. Toplanan bitki materyallerinden 253 örneğin PPV, 19 örneğin PDV ve 14 örneğin de PNRSV ile enfekteli olduğu görülmüştür. Survey bölgesinde virüslerin oransal dağılımı PPV'de %52,05, PDV'de %3,90 ve PNRSV'de %2,88 olarak belirlenmiştir.

Bitki virüs hastalıklarının tespitinde kullanılan çeşitli yöntemler vardır. Düşük inokulum yoğunluğu, yaprak yaşı farklılıkları ve mevsimsel dalgalanma gibi bazı faktörlerin serolojik testlerin sonucunu etkileyeceği bildirilse de DAS-ELISA, PDV tespitinde başarılı bir şekilde rutin olarak kullanılan bir yöntemdir (Soltani vd. 2013). Öyle ki yapılan bir çalışmada PDV'nin farklı serolojik özellikler göstererek 13 farklı serogruba ayrıldığı bildirilmiş ve bu serogrular tanımlanmıştır (Paduch-Cichał vd. 2011).

Ülkemizde PDV'nin serolojik yöntemlerle tespiti genellikle kiraz konukçusu üzerinden yürütülen çalışmalar ile ortaya konmuştur (Gümüş vd. 2007, Ulubaş Serçe vd. 2009a, Çevik ve Öztürk 2015). PDV 'nin DAS-ELISA ile tespitinde örnekleme zamanı olarak ilkbahar aylarının uygun olduğunu bildirilmiştir (Yegül ve Baloğlu 2019). Çalışmamız kapsamında yapılan PDV surveyi Nisan-Temmuz aylarında yürütülmüş ve virüs bitki dokularında serolojik olarak başarılı bir şekilde tespit edilmiştir. Gümüş vd. (2007)'de elde edilen bulgular çalışmamız kapsamında yer alan survey bölgesinde PDV'nin bulunduğunu göstermektedir. Çalışmamız sonucunda DAS-ELISA sonuçları ile PDV'nin varlığı survey bölgesinde başarılı bir şekilde tespit edilmiştir.

PSNRV'nin serolojik yöntemlerle ülkemizdeki tespitine yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ulubaş ve Ertunç (2004)'te farklı sert çekirdekli konukçularından toplanan 486 izolatın 31'inde PNRSV, DAS-ELISA tekniği ile başarılı bir şekilde tespit edilmiştir. Ayrıca Göller Bölgesi'nde gül bitkisi üzerinde PNRSV'nin yaygınlığı üzerine yapılan başka bir çalışmada toplanan 218 örnekte %35,7 oranındaki enfeksiyon DAS-ELISA ile belirlenmiştir (Yardımcı ve Çulal 2009). Sipahioğlu ve Baloğlu (2001) Doğu Anadolu'da PNRSV enfeksiyonunun varlığını kayısı, kiraz, şeftali, erik ve vişnede DAS-ELISA yöntemi ile tespit etmişlerdir. Virüsün bitki dokularındaki tespitinde RT-PCR tekniğinin daha duyarlı olduğuna dair bazı çalışmalar da bulunmakla birlikte (Ulubaş ve Ertunç 2004, Usta vd. 2005) DAS-ELISA hala virüslerin tespitinde başarılı ile uygulanan bir yöntem olarak kullanılmaya devam etmektedir. Çalışmamız kapsamında şeftalide enfeksiyon oluşturan PNRSV, DAS-ELISA ile başarılı bir şekilde tespit edilmiştir.

Türkiye'de 1968 yılından itibaren görülmeye başlandığı bilinen ve sert çekirdekli meyve ağaçlarının en önemli soruları arasında görülen PPV hastalığının serolojik tanısına

yönelik ülkemizde birçok çalışma yapılmıştır (Sertkaya vd. 2003, Elibuyuk 2004, Ulubaş Serçe vd. 2009b, Akbaş vd. 2011, Çağlayan vd. 2013, Deligöz vd. 2015, Gürcan ve Ceylan 2016, Çağlayan ve Yurdakul 2016). Türkiye'nin 81 ilinde Şarka hastalığının tespit ve tanısına yönelik yapılan çalışmalarda 5762 viral simptom sergileyen bitki kısmı toplanmış ve yapılan serolojik ve moleküler çalışmalarda survey bölgemizin de içinde yer aldığı bölge Şarka ile bulaşık olarak belirlenmiştir (Akbaş vd. 2011). Farklı ırkların tanısında kullanılan ve ırklara özel olan DAS-ELISA test kitlerinin (monoklonal antibody) varlığı bilinmektedir (Ulubaş Serçe vd. 2009b, Gürcan ve Ceylan 2016). Gürcan ve Ceylan (2016)'da bazı örneklerin hem D hem de M spesifik antibody ile reaksiyon verdiği bildirilmiş, PPV-T nin pozitif örneklerinin ise PPV-D spesifik antibody ile pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Ayrıca günümüzde PPV-T için geliştirilmiş bir antibody bulunmamaktadır. Bu amaçla çalışmamız kapsamında belirlenecek PPV pozitif izolatlarının dizileme çalışmaları sonucu ırk tayinlerinin belirleneceği göz önüne alındığında ırk spesifik antibody kullanılmamıştır. Çalışmamız kapsamında toplanan 486 bitki örneği PPV universal antibody (5B-IVIA) kullanılarak testlenmiş ve 253 örneğin PPV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir.

5.3 RNA İzolasyon Çalışmaları

Bursa, Bilecik ve Bolu illeri şeftali yetiştiriciliği yapılan alanlardan toplanan ve serolojik çalışmalar sonucunda virüslerle bulaşık olduğu tespit edilen örneklerden toplam RNA izolasyon çalışmalarında farklı yöntemlerden faydalanılmıştır.

Kuşkusuz başarılı bir RNA izolasyonu kesin sonuçlar vermesi istenen bir RT-PCR reaksiyonunda ilk adım olarak karşımıza çıkmaktadır. Şeftali bitkisinin sahip olduğu yüksek oranda polisakkarit ve polifenol özelliklerinden dolayı, tek adımda kaliteli RNA eldesinin zor olduğu bildirilmiştir (Meisel vd. 2005, Tong vd. 2012). Polifenol ve polisakkarit bakımından zengin olan bitkilerden toplam RNA eldesi için literatürde verilen çeşitli yöntemler bulunmaktadır (Gambino vd. 2008, Gudenschwager vd. 2012).

Çalışmamız kapsamında ilk olarak CTAB temelli (Anonymous 2019c) bir yöntem denenmiş fakat istenen kalite ve temizlikte RNA elde edilememiştir. Bu deneme

sonucunda tüplerin dibinde oluşan pelletin etrafında yoğun fenolik bileşiklerin olduğu görülmüştür. Bu bulgular Meisel vd. (2005) ve Tong vd. (2012) 'da verilen bilgiler ile uyum içerisinde olup, tek adımda kaliteli RNA elde edilemeyeceğini göstermiştir. Bunun üzerine metotta minör modifikasyonlar yapılarak klorofom izoamil alkol aşaması 3 kez tekrarlanmış ve temiz RNA eldesi mümkün olmuştur (Şekil 4.8). RNA izolasyonunda Rnase enziminin aktivitesini en aza indirgeyecek şekilde çalışmak gerekmektedir. İzolasyon esnasında kullanılan kimyasalların çeşitliliği ve aşamaların fazlalığı istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle NucleoZOL solüsyonu kullanılarak elde edilen total RNA izolasyon yöntemi kısa sürede sonuç vermesi ve izolasyonda kullanılan kimyasalların azlığı bakımından oldukça pratik bulunmuştur.

5.4 Dizileme ve Filogenetik Analiz Çalışmaları

Bursa, Bilecik ve Bolu illeri şeftali yetiştiriciliği yapılan alanlardan toplanan ve PDV, PNRSV, PPV virüslerinin varlığı açısından DAS-ELISA ile taranan örneklerden 253 PPV, 19 PDV ve 14 PNRSV örneği pozitif olarak tespit edilmiştir. Pozitif olarak belirlenen örneklerden dizilenmek amacıyla survey alanını temsil edecek sayıda ve özellikle örnek seçilerek RT-PCR ile çoğaltılmıştır. Elde edilen ampliconların dizilenmesi ile elde edilen veriler işlenmiş ve filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir.

5.4.1 PDV dizileme ve filogenetik analiz çalışmaları

PDV'nin dizileme ve filogenetik analiz çalışmalarında virüs genomundaki hedef bir bölgesinin çoğaltılması üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Rubio vd. (2017), PDV'nin moleküler karakterizasyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada 23 PDV izolatından elde edilen nükleotid dizilerinin referans izolatlar ile %88,1-100 arasında değişen oranlarda benzerlik gösterdiğini bildirmiştir. Yapılan başka bir çalışmada 14 PDV izolatından elde edilen dizilerin nükleotid ve aminoasit düzeyinde sırasıyla %87-100 ve %93-100 düzeyinde benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (Kamenova vd. 2019). Farklı *Prunus* türlerinden elde edilen PDV izolatlarının kılıf protein bölgesine ait kısmi gen bölgesinin dizilenmesi sonucunda %86-100 düzeyindeki nükleotid benzerliği ve %79-100 seviyesinde belirlenen aminoasit düzeyindeki benzerlik virüsün genom yapısının çok fazla genetik çeşitliliği

hakkında bilgi vermektedir (Kalinowska vd. 2014). Öztürk ve Çevik (2015)'te Türkiye'den elde ettikleri 21 PDV izolatından elde edilen sekans bilgilerinin GenBank'a kayıtlı referans izolatlar ile olan benzerliklerinin nükleotid ve aminoasit düzeyinde sırasıyla %84-99 ve %81-100 olduğu bildirilmiştir. Çalışmamız kapsamında elde edilen 11 PDV izolatının kılıf protein bölgesinden elde edilen nükleotid dizilerinin GenBank'ta kayıtlı referans izolatlar ile %87-97 düzeyinde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Referans izolatlar ile nükleotid düzeyinde yapılan karşılaştırmalar sonucunda elde edilen bu bulguların yukarıda bahsedilen çalışmalar ile bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

PDV'nin moleküler karakterizasyonu ve filogenetik analizi ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında genomda farklı bölgeleri hedef alan çalışmalar (Kozieł vd. 2015, Predajna vd. 2017) olsa da genellikle virüsün kılıf protein bölgesinin tanımlandığı görülmektedir. (Ulubaş Serçe vd. 2009a, Kalinowska vd. 2014, Öztürk ve Çevik 2015, Rubio vd. 2017, Kamenova vd. 2019). Bursa, Bilecik ve Bolu illerinden toplanan ve PDV ile bulaşık olduğu tespit edilen örneklerin dizileme ve filogenetik çalışmaları, literatür ile uyumlu bir şekilde virüsün kılıf protein bölgesi hedef alınarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışma kapsamında dizilenen 11 PDV izolatının kılıf protein bölgesinin dizilenmesi ile nükleotid dataları elde edilmiştir. Bu nükleotid dizi bilgilerine ilaveten Türkiye ve dünyanın farklı ülkelerinden GenBank'ta kayıtlı 44 PDV izolatı seçilerek konsensus blokları oluşturulmuştur. Filogenetik ağaçta yer verilecek izolatlar seçilirken, mümkün mertebe farklı lokasyon ve konukçu çeşitliliğinin olmasına dikkat edilmiştir. 44 referans PDV izolatı ve 11 bu çalışma kapsamında dizilenen izolatlar ile yapılan filogenetik analiz çalışmaları sonucunda oluşan filogenetik ağacın 2 ana gruba ayrıldığı görülmüştür (Şekil 4.16). Ayrıca 2 ana grup altında çeşitli alt grupların varlığı da görülmektedir. Filogenetik ağaç incelendiğinde ana gruplar içerisinde yer alan alt gruplarda farklı ülke ve konukçularda tespit edilmiş izolatların dağılım gösterdiği görülmektedir. Çalışmamız kapsamında dizilenen PDV izolatlarının ağırlıklı olarak Balkan ülkelerinden izolatların yer aldığı ana grup 2 içerisinde ve kendi aralarında kümелendiği görülmektedir. Protein düzeyinde yapılan filogenetik analiz ise bu durumu destekler niteliktedir (Şekil 4.17). Ancak yine de coğrafik farklılığın ve kümelenmenin anlamlı olduğunu söylemek

mümkün değildir. Predajna vd. (2017) PDV izolatlarının moleküler karakterizasyonuna yönelik yaptıkları filogenetik çalışmalarda coğrafik orijindeki farklılıkların kesin bir çizgiyle ayrıldığını söylemenin mümkün olmadığını ifade etmişlerdir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada kirazdan elde edilmiş 21 PDV izolatının dünyanın farklı orijin ve konukçuları ile filogenetik analizinin coğrafik orijin ve konukçu farklılığı yaklaşımları açısından önemli farklar ifade etmediği bildirilmiş, ancak bazı küçük ve anlamlı sayılabilecek düzeyde bazı kümelenmelerin görüldüğü ifade edilmiştir (Öztürk ve Çevik 2015). Kamenova vd. (2019)'da 14 PDV izolatı ile yapılan filogenetik analiz çalışmalarında 2 farklı filogenetik grubun varlığı belirlenmiş, filogenetik gruplaşmanın konukçu farklılığı ve coğrafik orijin düzeyinde anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Türkiye'den GenBank'a kayıtlı PDV izolatları ile yapılan ikinci bir filogenetik analiz Türkiye PDV izolatlarının iki ana gruba ayrıldığını göstermiştir (Şekil 4.18). Filogenetik ağaç incelendiğinde çalışma kapsamında dizilenen şeftali PDV izolatları ile daha önce bildirilen kiraz PDV izolatlarının birbirinden ayrıldığı tespit edilmiştir. Bu bulguların Ulubaş Serçe vd. (2009a) ve Öztürk ve Çevik (2015)'de elde edilen bulgular ile yüksek derecede örtüştüğü görülmüştür. Çalışmamız kapsamında elde edilen filogenetik ağaçlar incelendiğinde elde edilen bulguların yukarıda bahsedilen çalışmalar ile yüksek derecede benzerlik gösterdiği ve bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Ayrıca benzer sonuçların alındığı Kalinowska vd. (2014), Koziel vd. (2015) ve Rubio vd. (2017) sonucunda elde edilen bulguların da çalışmamız sonuçları ile yüksek oranda örtüştüğü görülmüştür.

5.4.2 PNRSV dizileme ve filogenetik analiz çalışmaları

PNRSV'nin moleküler karakterizasyonu ve filogenetik analizi ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Sokhandan-Bashir vd. (2017), 16 PNRSV kılıf protein bölgesine ait nükleotid dizisinin referans izolatlar ile %83-99 arasında benzerlik gösterdiğini bildirmiştir. Yapılan başka bir çalışmada virüsün kılıf protein bölgesine ait sekans bilgisinin referans izolatlar ile %96,7- 98,6 düzeyinde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Fajardo vd. 2015). Ülkemizde PNRSV'nin konukçu dizisi arasında sert çekirdeklielerin dışında gül ve elmanın da bulunduğu bildirilmiştir (Yardımcı ve Çulal 2009, Çelik ve Ertunç 2019). Türkiye'de elmada ilk kez rapor edilen PNRSV'nin referans izolatlar ile nükleotid

düzeyindeki benzerliğinin %98-99 düzeyinde olduğu belirlenmiştir (Çelik ve Ertunç 2019). Çalışmamız kapsamında dizilenen 8 PNRSV izolatı referans izolatlar ile %96-100 arasında benzerlik göstermiştir. Yukarıda bahsedilen veriler ışığında çalışma kapsamında elde edilen bulguların literatür ile bir uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Bursa, Bilecik ve Bolu illeri şeftali yetiştiriciliği yapılan alanlarda görülen ve PNRSV ile bulaşık olduğu tespit edilen 8 PNRSV izolatının kılıf protein bölgesine ait nükleotid dizileri belirlenmiştir. Elde edilen 8 izolata ilaveten Türkiye ve farklı ülkelerden GenBank'a kayıtlı farklı konukçu ve coğrafik orijin özelliğinde 52 PNRSV izolatı seçilerek filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç incelendiğinde farklı coğrafik orijin ve konukçudan elde edilmiş 60 PNRSV izolatının 3 ana grup altında dağılım gösterdikleri görülmektedir. Çalışmamız kapsamında dizilenen PNRSV izolatların ana grup 2 içerisinde farklı bir grup üzerinde kümelenedikleri tespit edilmiştir. Farklı konukçuları enfekte etmiş PNRSV izolatlarının filogenetik ağaç üzerindeki dağılımları incelendiğinde 3 ana grupta da farklı konukçuları enfekte etmiş PNRSV izolatlarının rastgele dağıldığı görülmüştür. Konukçu ve coğrafik orijin bakımından önemli bir gruplaşma görülmemiştir. Glasa vd. (2002)'de PNRSV'nin kılıf protein bölgelerinin esas alındığı bir filogenetik çalışmada izolatların 4 ana grup içerisinde incelendiği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada ise 68 PNRSV izolatlarının kılıf protein bölgelerinin dizilenmesi sonucu elde edilen filogenetik ağacın 3 ana grup içerisinde dağılım gösterdiği görülmüştür (Hammond 2003). Çalışmamız kapsamında elde edilen bulguların literatür ile yüksek oradan örtüştüğü görülmektedir. Ayrıca Ulubaş ve Ertunç (2004), Oliver vd. (2009)'de yer alan bilgiler çalışmamız sonucunda ortaya çıkan filogenetik dağılımı destekler niteliktedir.

5.4.3 PPV dizileme ve filogenetik analiz çalışmaları

Çalışmamız kapsamında survey bölgesini temsil edecek sayıda, bahçelerde farklı kültüvasyon tipleri de dikkate alınarak 24 adet PPV izolatının P3 ve 6K1 bölgesine ait nükleotid dizileri elde edilmiştir. Nükleotid düzeyinde yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda elde edilen dizilerin GenBank'ta kayıtlı referans izolatlar ile %97-99 arasında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. İlk olarak çalışma kapsamında dizilenen

24 PPV izolatına ilaveten GenBank'a daha önce ülkemizden kaydedilen ve T, M ve D ırklarından oluşan 22 adet PPV izolatı seçilerek filogenetik analiz gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç incelendiğinde D, M ve T ırklarının filogenetik ağaç üzerinde net bir şekilde beklendiği üzere ayrıldıkları görülmektedir (Şekil 4.15). Filogenetik ağaç incelendiğinde dizilenen 14 izolatın M, 10 izolatın ise D ırkına ait olduğu görülmektedir. M olarak belirlenen izolatların arazi karakteristikleri ve kültüvasyon tipleri incelendiğinde M izolatlarının tamamının profesyonel üretim yapılan ticari özellikleri daha yüksek bahçelerden tespit edilen örneklerden oluştuğu görülmüştür. Filogenetik ağaçta D ırkı olarak belirlenen 10 adet izolatın ise 3 tanesinin ticari değeri yüksek bahçelerden toplanan örnekler olduğu belirlenirken, geri kalan 7 izolatın daha çok geleneksel dediğimiz eski ve ev tipi bahçelerden toplanan örneklerden olduğu tespit edilmiştir. Gürcan (2017) Bursa il genelinde kapama bahçelerin M ırkı ile yaygın olduğunu bildirmiştir. Çalışmamız ticari bahçelerde M ırkının baskın oluşu yönü ile Gürcan (2017) ile yüksek derecede benzerlik göstermektedir. Türkiye'de Şarka ırk dağılımının incelendiği bir çalışmada Bursa bölgesinden elde edilen izolatların D ve M olduğu bildirilmiştir (Gürcan ve Ceylan 2016). Survey sonucu elde edilen bulguların literatürle bir uyum içerisinde olduğu göze çarpmaktadır. Ayrıca çalışmamız kapsamında profesyonel fidanlıklardan alınan örneklerin tamamının M olduğu tespit edilmiştir. Gürcan (2017) Aydın, Çanakkale, Denizli, Isparta ve Kayseri illerinde görülen M ırkının yüksek derecede Bursa M ırkı ile benzerlik gösterdiğini ve bu yayılımın Bursa ilinden Anadolu'ya fidan temininde önemli rol oynayan bir bölge olduğunu bildirmiştir. Fidanlıkların M ırkı ile bulaşık olduğu değerlendirildiğinde bu ırkın fidan transferi ile ülkenin farklı bölgelerine yayılma ihtimali yüksek görülmektedir. Daha önceki çalışmalarda Türkiye'de İstanbul ve Avrupa M olmak üzere iki farklı M grubundan bahsedilmiştir (Gürcan 2017, Gürcan vd. 2019a). Çalışmamız kapsamında Mudanya ilçesinden dizilenen bir izolata ait dizi bilgisinin GenBank referans izolatları ile karşılaştırılması sonucunda İstanbul-M grubu ile yüksek derecede benzediği görülmüştür. Coğrafik konum olarak Mudanya ilçesinin lokasyonu düşünüldüğünde İstanbul-M grubu PPV izolatlarının Bursa'ya Mudanya ilçesinden giriş yaptığı değerlendirilmektedir. Günümüze kadar virüsün 10 ırkı tanımlanmış olup, *Potyvirus* genusunun en fazla ırk oluşumu gösteren üyesi olma özelliğindedir (Garcia vd. 2014). 10 farklı ırk arasında en yaygın olan ırkların PPV-D ve PPV-M olduğu bildirilmiştir (Candresse vd. 1998). Survey alanından

pozitif olarak belirlenen ve dizilene izolatların tamamının D ve M ırkı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamız sonucu elde edilen bulguların Candresse vd. (1998) ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Türkiye’de PPV geçmişı 1968 yılına dayanmakta ve bu tarihten sonra ülkenin çeşitli alanlarına yayılım ile ilgili raporlar bulunmaktadır (Gürcan ve Ceylan 2016). Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda virüsün ülkemizin İç Anadolu, Marmara, Akdeniz, Ege ve Karadeniz bölgelerine yayılım gösterdiği bildirilmiştir. (Kurçman 1973, Elibüyük 2003, 2004, Gümüş vd. 2007, İlbağı vd. 2008, Ulubaş Serçe vd. 2009b, Akbaş vd. 2011, Gürcan ve Ceylan 2016). Survey bölgesi içerisinde yer alan Batı Karadeniz ve Marmara bölgesinde PPV enfeksiyonunun tespitinin önceki çalışmalarda elde edilen bulguları doğrular nitelikte olduğu görülmüştür. Ayrıca yapılan dizileme çalışmaları sonucunda elde edilen 24 adet PPV nükleotid dizi bilgisi ile Türkiye ve dünyanın farklı yerlerinde daha önce rapor edilen ve farklı ırklardan oluşan 23 adet izolat seçilerek ikinci bir filogenetik analiz yapılmıştır. Ortaya çıkan filogenetik ağaç incelendiğinde çalışmamız kapsamında dizilene izolatlar D ve M olarak ilgili grup üzerinde yer almıştır. Ayrıca oluşan filogenetik ağaçta PPV-Rec izolatlarının PPV-D ile aynı bölge üzerinde yer aldıkları görülmüştür. Ülkemizde daha önce Ulubaş Serçe vd. (2009b) ve Gürcan ve Ceylan (2016) tarafından bildirilen PPV-T ırkı survey kapsamında örnek toplanan illerde tespit edilmemiştir.

5.5 Öneriler

Bursa, Bilecik ve Bolu illerinde şeftali yetiştiriciliği yapılan alanlarda görülen bazı viral hastalıkların serolojik ve moleküler karakterizasyonu isimli tez çalışması 2016-2019 yılları arasında elde edilen verilerden oluşan sonuçlar barındırmaktadır. Ülkemiz sert çekirdekli meyvelerinden ve meyve suyu endüstrisinin önemli bir unsuru olan şeftalide görülen viral hastalıkları şüphesiz verimde ve kalitede kayıplara yol açmaya devam etmektedir. Tez çalışması kapsamında belirlenen bölge ülkemiz şeftali üretiminin yoğun olarak yapılması ile ön plana çıkmasının yanı sıra, sahip olduğu fidan üretimi potansiyeli ile ayrıca ülkemizin şeftali fidanlığı durumunda olan bir bölgedir. Bu bağlamda çalışmamız sonucu elde edilen veriler ışığında yapılacak bazı öneriler, bölgede şeftali üretiminin gelişmesine şüphesiz katkı sunacaktır.

Survey bölgesi, sahip olduğu yüksek oranda Şeftali üretim potansiyeli ve ülkemiz Şeftali fidancılığı faaliyetlerinde ön planda olan bir lokasyonda yer almaktadır. Yapılan bu çalışma ile bölgede PPV, PDV ve PNRSV virüslerinin varlığı belirlenmiştir. Özellikle bölgede tespit edilen yüksek Şarka enfeksiyonu dikkat çekmektedir. Ülkemizin Şarka ile mücadele politikaları arasında yer alan eradikasyon çalışmaları bölgede yapılmaya devam etmektedir. Fakat yapılan tüm eradikasyon çalışmalarına rağmen bölgede hastalığın hızla ilerlediği görülmektedir. Ayrıca bu tablonun en korkutucu ögesi, ülkemizde Şeftali fidanı istenen bölgelere fidan temin eden işletmelerin Şarka ile bulaşık oluşudur. Bu durumun ülkemizde hastalığın süratle yayılmasına yol açabileceği ihtimali göz ardı edilmemelidir. Elde edilen veriler, Şarka'nın yayılmasında daha etkili önlemlerin alınması gerekliliğini göstermiştir. Bu noktada eradikasyon çalışmalarına önem verilmesi, belirli aralıklarla fidanlıkların düzenli olarak hastalığa karşı testlenmeleri önerilmektedir. Bu testlemelerin yasal düzenlemeler ile zorunlu hale getirilmesini önermek mümkündür. Ayrıca yapılan eradikasyon çalışmalarında enfekteli örneklerin potansiyel bulaştırma alanları da hesaplanarak bu veriler ışığında daha geniş alanlarda eradikasyona gidilmesi gerekmektedir. Şarka ile mücadele şüphesiz en önemli etkenlerden birisi de başarılı bir vektör mücadelesidir. Bölgede vektörlerle yoğun bir şekilde ilaçlama yapıldığı görülmektedir. Ancak yapılan gözlemler üretim materyali ile olan yayılımın neredeyse vektör ile olan yayılım kadar etkin olduğunu göstermiştir. Bu önerilere ilaveten Şarka'ya dayanıklı olduğu bilinen çeşitlerin kullanılması ile bölgede hastalığa karşı yeni bir mücadele tarzını gündeme getirmek mümkündür. Bu bağlamda ise ülkesel çapta çeşit deneme reaksiyonlarının kurulması, bölgeye ve ülkemize hitap edecek özellikle Şarka'ya dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Akbaş, B., Değirmenci, K., Ciftci, O., Kaya, A., Yurtmen, M., Uzunogullari, N., Çelik, N., Türkölmez, ř. 2011. Update on Plum pox virus distribution in Turkey. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(1), 75-83.
- Akpınar, G. 2009. Türkiye'de Trakya bölgesinde güllerde görölen virüslerin biyolojik ve serolojik yöntemlerle saptanması üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 41, Tekirdağ.
- Anonim 2020. Web sitesi: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. Erişim tarihi: 08.07.2020.
- Anonymous 2019a. Web sitesi: <https://hgic.clemson.edu/factsheet/peach-diseases/>. Erişim tarihi: 24.10.2019.
- Anonymous 2019b. Web sitesi: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna-viruses/251/bromoviridae. Erişim tarihi: 06. 11. 2019.
- Anonymous 2019c. Web sitesi: <https://www.diversityarrays.com/orderinstructions/plant-dna-extraction-protocol-for-dart/>. Erişim tarihi: 12.11.2019.
- Anonymous 2020. Web sitesi: https://en.wikipedia.org/wiki/File:PPV_genome.svg. Erişim Tarihi: 02.04.2020.
- Aparicio, F., Myrta, A., Di Terlizzi, B., Pallás, V. 1999. Molecular variability among isolates of Prunus necrotic ringspot virus from different Prunus spp. *Phytopathology*, 89(11), 991-999.
- Atanasoff, D. 1932. Plum pox. A new virus disease. *Annals of the University of Sofia, Faculty of Agriculture and Silviculture* 11, 49-69.
- Azeri, T. 1994. Detection of virus diseases of stone fruits in Aegean region of Turkey. *Proceedings of 9th Congress of Mediterranean Phytopathological Union*, 18-24 September, Book of Abstracts 511-513. Kuşadası, Aydın.
- Bachman, E. J., Scott, S. W., Xin, G. E., Vance, V. B. 1994. The complete nucleotide sequence of prune dwarf ilarvirus RNA 3: implications for coat protein activation of genome replication in ilarviruses. *Virology*, 201(1), 127-131.
- Barba, M., Hadidi, A., Candresse, T. and Cambra, M. 2011. Plum pox virus. In: *Virus and Virus-like Disease of Pome and Stone Fruits* (Hadidi, A., Barba, M., Candresse, T. and Jelkmann, W., eds) APS Press ,185-197. St. Paul, Minnesota.

- Bassi, D., Prazzoli, C. 1998. The stone fruit industry in the Mediterranean region: Agronomic and commercial overview. *Option Mediterraneennes, CIHEAM*, 3-38.
- Bol, JF. 2005. Replication of alfamo- and ilarviruses: role of the coat protein. *Annual Reviews of Phytopathology*, 43,39 –62.
- Boulila, M. 2009. Molecular characterization of an almond isolate of Prune dwarf virus in Tunisia: putative recombination breakpoints in the partial sequences of the coat protein-encoding gene in isolates from different geographic origin. *Phytopathologia mediterranea*, 48(3), 411-421.
- Brunt, H. A., Crabtree, K., Dallawitz, M. J., Gibbs, A. J. and Watson, L. 1996. *Viruses of plants*. CAB International, Cambridge, UK.
- Cambra, M., Capote, N., Myrta, A., Llácer, G. 2006. Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease. *EPPO Bulletin*, 36(2), 202-204.
- Candresse, T., Cambra, M., Dallot, S., Lanneau, M., Asensio, M., Gorris, M. T., Revers, F., Macquaire, G., Olmos, A., Boscia, D., Quiot, J. B., Dunez, J. 1998. Comparison of monoclonal antibodies and polymerase chain reaction assays for the typing of isolates belonging to the D and M serotypes of plum pox potyvirus. *Phytopathology*, 88(3), 198-204.
- Candresse, T., Svanella-Dumas, L., Gentit, P., Caglayan, K., Çevik, B. 2007. First report of the presence of Plum pox virus Rec strain in Turkey. *Plant Disease*, 91(3), 331-331.
- Carter, M., Rom, C. R., Striegler, R. K. 2006. Early performance of peach cultivars in Southwest Arkansas. *Arkansas Agricultural Experiment Station Research Series*, 520 (2), 14-17.
- Chandel, V., Rana, T., Handa, A., Thakur, P. D., Hallan, V., Zaidi, A. A. 2008. Incidence of *Prunus necrotic ring spot virus* on *Malus domestica* in India. *Journal of phytopathology*, 156(6), 382-384.
- Chandel, V., Rana, T., Hallan, V., Zaidi, A. A. 2011. Detection of *Prunus necrotic ring spot virus* in plum, cherry and almond by serological and molecular techniques from India. *Archives of phytopathology and plant protection*, 44(18), 1779-1784.
- Chirkov, S., Ivanov, P., Sheveleva, A., Zakubanskiy, A., Osipov, G. 2017. New highly divergent Plum pox virus isolates infecting sour cherry in Russia. *Virology*, 502, 56–62.
- Chirkov, S., Ivanov, P., Sheveleva, A., Kudryavtseva, A., Mitrofanova, I. 2018. Molecular characterization of Plum pox virus Rec isolates from Russia suggests a new insight into evolution of the strain. *Virus genes*, 54(2), 328-332.

- Clark, M. F., Adams, A. N. 1977. Characteristics of microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34, 475-483.
- Cline, J. A., Norton, D. 2012. Performance of 17 peach and nectarine cultivars in a southern-Ontario, non-traditional growing region. *Journal of the American Pomological Society*, 66(3), 133-144.
- Cochran, L. C., and Hutchins, L. M. 1941. A severe ringspot virus on peach. *Phytopathology*, 31, 860.
- Cui, H., Hong, N., Wang, G., Wang, A. 2012a. Detection and genetic diversity of *Prunus necrotic ringspot virus* in the Niagara Fruit Belt, Canada. *Canadian journal of plant pathology*, 34(1), 104-113.
- Cui, H., Hong, N., Wang, G., Wang, A. 2012b. Molecular characterization of two *Prunus necrotic ringspot virus* isolates from Canada. *Archives of virology*, 157(5), 999-1001.
- Cui, H. G., Liu, H. Z., Chen, J., Zhou, J. F., Qu, L. N., Su, J. M., Wang, G.P., Hong, N. 2015. Genetic diversity of *Prunus necrotic ringspot virus* infecting stone fruit trees grown at seven regions in China and differentiation of three phylogroups by multiplex RT-PCR. *Crop Protection*, 74, 30-36.
- Çağlayan, K., Serce, C. U., Gazel, M., Kaya, K., Cengiz, F. C., Vidal, E., Cambra, M. 2013. Evaluation of the susceptibility of different *Prunus* rootstocks to natural infection of Plum pox virus-T. *Journal of plant pathology*, 95(3), 579-586.
- Çağlayan, K., Yurdakul, S. 2016. Sharka disease (Plum pox virus) in Turkey: the past, present and future. In III International Symposium on Plum Pox Virus 1163, 9-13 May, Book of Abstracts, 69-74, Antalya, Turkey.
- Çelik, A., Ertunç, F. 2019. First report of *Prunus necrotic ringspot virus* infecting apple in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 101, 1227.
- Çelik, A., Ertunç, F. 2020. Bursa ve Bilecik İlleri Şeftali Yetiştiriciliği Yapılan Alanlarda Prune dwarf virus (PDV) Yaygınlığı ve Genetik Çeşitliliği. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 6(1), 66-74.
- Çevik, B., Yardimci, N., Culal-Kılıç, H. 2011. Detection of viruses infecting stone fruits in Western Mediterranean region of Turkey. *The Plant Pathology Journal*, 27(1), 44-52.
- Dal Zotto, A., Ortego, J.M., Raigon, J.M., Caloggero, S., Rossini, M., Ducasse, D.A. 2006. First report in Argentina of Plum pox virus causing sharka disease in *Prunus*. *Plant Disease*. 90, 523.

- De La Torre-Almaraz, R., Montoya-Piña, J. V., Alcacio-Rangel, S., Camarena-Gutiérrez, G., Salazar-Segura, M. 2008. First Report of Prunus necrotic ringspot virus in Peach in Mexico. *Plant disease*, 92(3), 482-482.
- Deligöz, İ., Değirmenci, K., Sökmen, M. 2015. Samsun ilinde sert çekirdekli meyve türlerinde Şarka hastalığı etmeninin (Plum pox virus) belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(3), 227-235.
- Demirören, S., 1992. Şeftali Yetiştiriciliği. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, 16, Yalova.
- Diekmann, M. and Putter, C. A. J. 1996. FAO/IPGRI technical guidelines for the safe movement of germplasm, In: Stone fruits, by M. Diekmann (eds), C. A. J. FAO Publication Division, 109-111, Rome, Italy.
- Dumitru, L. M., Gavăt, C., Stănică, F., Cepoiu, N. 2002. Clingstone peach trials in Romania. In XXVI International Horticultural Congress: Genetics and Breeding of Tree Fruits and Nuts 622, 11 August, Book of Abstracts, 461-464, Toronto, Canada.
- Dunez, J., Sutic, D. 1988. Plum pox virus (PPV). In: Smith I. M., Dunez J., Lelliot R. A., Phillips D. H., Archer S. A. (eds.), Blackwell Scientific, 44-46, Oxford, UK.
- Elibüyük, İ. Ö. Erdiller, G. 1998. Malatya İlinde Sert Çekirdeklielerde Görülen Virus Hastalıklarının Tanısı Üzerinde Yapılan Çalışmalar. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Bildiriler, 89-94, Ankara, Türkiye.
- Elibüyük, İ. Ö. 2003. Natural spread of Plum pox virus in Ankara, Turkey. *Journal of Phytopathology*, 151(11), 617-619.
- Elibuyuk, I. O. 2004. Current situation of sharka disease in Ankara, Turkey. *Phytoparasitica*, 32(4), 417-420.
- Ercan, N., Özkaraş, İ. 2003. Ege Bölgesi'ne uygun bazı şeftali ve nektarin çeşitleri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 13(2), 17-31.
- Evliyaoğlu, N., Ferhatoğlu, Hİ. 2003. Harran Ovası koşullarında yetişebilecek şeftali çeşitleri. K.H.G.M. APK Dairesi Başkanlığı Genel Yayın No: 102, Araştırma Sonuç Raporları Kısa Özetleri. 33, Şanlıurfa.
- Fajardo, T. V. M., Nascimento, M. B., Eiras, M., Nickel, O., Pio-Ribeiro, G. 2015. Molecular characterization of Prunus necrotic ringspot virus isolated from rose in Brazil. *Ciência Rural*, 45(12), 2197-2200.
- Fiore N., Fajardo T.V., Prodan S., Herranz M.C., Aparicio F., Montealegre J., Elena S.F., Pallas V., Sanchez-Navarro J. 2008. Genetic diversity of the movement and coat protein genes of South American isolates of Prunus necrotic ringspot virus. *Archives of Virology*, 153, 909-919.

- Fonseca, F., Neto, J. D., Martins, V., Nolasco, G. 2005. Genomic variability of Prune dwarf virus as affected by agricultural practice. *Archives of virology*, 150(8), 1607-1619.
- Gallitelli, D., and Minafra, A. 1994. Electrophoresis, Course on Plant Virus Diagnosis, 15-30 October 1994. Adana-Turkey. Page: 89-99.
- Gambino, G., Perrone, I., Gribaudo, I. 2008. A rapid and effective method for RNA extraction from different tissues of grapevine and other woody plants. *Phytochemical Analysis*, 19(6), 520-525.
- García, J. A., Glasa, M., Cambra, M., Candresse, T. 2014. Plum pox virus and sharka: a model potyvirus and a major disease. *Molecular plant pathology*, 15(3), 226-241.
- Gazel, M. H., Çağlayan, K., 1998. Hatay yöresi Prunus türlerindeki virus hastalıklarının ELISA ve biyolojik yöntemlerle tanılanması. Türkiye 8. Fitopatoloji Kongresi, Bildiriler, 322-325, Ankara, Türkiye.
- Gerçekçioglu, R., Atasever, O., Altunok, S. 2014. Investigation of yield and quality performance of some peach and nectarine cultivars in Tokat ecological conditions. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi* 7(2), 41-45.
- Glasa, M., Betinova, M., Kúdela, O., Šubr, Z. 2002. Biological and molecular characterisation of prunus necrotic ringspot virus isolates and possible approaches to their phylogenetic typing. *Annual Applied Biology*, 140, 279-283.
- Glasa, M., Palkovics, L., Komínek, P., Labonne, G., Pittnerová, S., Kúdela, O., Candresse, T., Šubr, Z. 2004. Geographically and temporally distant natural recombinant isolates of plum pox virus (PPV) are genetically very similar and form a unique PPV subgroup. *Journal of Genetic Virology*, 85, 2671-2681.
- Glasa, M., Prikhodko, Y., Predajňa, L., Nagyová, A., Shneyder, Y., Zhivaeva, T., Šubr, Z., Cambra, M., Candresse, T. 2013. Characterization of sour cherry isolates of Plum pox virus from the Volga basin in Russia reveals a new cherry strain of the virus. *Phytopathology*, 103(9), 972-979.
- Gruntzig, M., Fuchs, E., Kegler, H. 1986. Studies on the identification of Plum pox virus in plum trees. *Archives of Phytopathology*, 22, 441-449.
- Gudenschwager, O., González-Agüero, M., Defilippi, B. G. 2012. A general method for high-quality RNA isolation from metabolite-rich fruits. *South African Journal of Botany*, 83, 186-192.
- Gümüş, M., Paylan, I. C., Matic, S., Myrta, A., Sipahioglu, H. M., 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, 265-268.

- Gür, E., Ekinci, N., Delice, A., Özduven, F. 2011. Çanakkale ekolojik koşullarında yetiştirilen bazı şeftali çeşitlerinin fenolojik ve pomolojik özelliklerinin saptanması üzerine bir araştırma. Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Harran Üniversitesi, 04-08 Ekim 2011, Cilt 1, 299- 309, Şanlıurfa, Türkiye.
- Gürcan, K. 2017. Bursa'da plum pox virus (Şarka)'ün yaygınlığının ve genetik çeşitliliğinin belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 32(1), 1-15.
- Gürcan, K., Ceylan, A. 2016. Strain identification and sequence variability of plum pox virus in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40(5), 746-760.
- Gürcan, K., Teber, S., Çağlayan, K. 2019a. Further investigation of a genetically divergent group of plum pox virus-M strain in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 101(2), 385-391.
- Gürcan, K., Çetinsay, N., Pınar, H., Macit, T. 2019b. Molecular and biological assessment reveals sources of resistance to Plum pox virus-Turkey strain in Turkish apricot (*Prunus armeniaca*) germplasm. *Scientia Horticulturae*, 252, 348-353.
- Gürcan, K., Teber, S. and Candresse, T. 2020. Genetic analysis suggests a long and largely isolated evolutionary history of plum pox virus strain D in Turkey. *Plant Pathology*, 69, 370-378.
- Gürcan, K., Yılmaz, K. U. 2012. Şarka (Plum Pox Virus) hastalığı: kayisida hastalığa dayanıklılığın genetiği ve moleküler çalışmalar. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 28(5), 402-412.
- Güven, K., Gür, İ., Akgül, H., Atasay, A., Sarısu, HC. 2007. Selection of peach varieties for cross climate and Isparta (Turkey). Türkiye V. Bahçe Bitkileri Kongresi, Atatürk Üniversitesi, Bildiriler, Cilt I, 374-379, Erzurum, Türkiye.
- Hadidi, A., Barba, M., Candresse, T., Jelkmann, W. 2011. *Virus and Virus-Like Diseases of Pome and Stone Fruits*. APS Press, 429, St. Paul, MN, USA.
- Hammond, R. W., Crosslin, J. M. 1998. Virulence and molecular polymorphism of *Prunus necrotic ringspot virus* isolates. *Journal of General Virology*, 79(7), 1815-1823.
- Hammond, R. W. 2003. Phylogeny of isolates of *Prunus necrotic ringspot virus* from the Harvirus Ringtest and identification of group-specific features. *Archives of virology*, 148(6), 1195-1210.
- Hu, G. J., Dong, Y. F., Zhang, Z. P., Fan, X. D., Ren, F., Li, Z. N., Zhou, J. 2016. First report of *Prunus necrotic ringspot virus* infection of apple in China. *Plant Disease*, 100(9), 1955.

- Huang, H., Cheng, Z., Wang, Y. 2008. History of Cultivation and Trends in China, In: Botany, Production and Uses, DR Layne and D. CAB International, 615, Wallingford, UK.
- İlgin, M., Yüce, M. 2019. Bazı Şeftali ve Nektarin Çeşitlerinin Kahramanmaraş İli Ekolojik Koşullarında Performanslarının Belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 8(2), 11-24.
- İkinci, A., İ., Polat. 2018. Yield and Quality Performance of Some Peach Varieties Grown Under Sanliurfa Ecological Conditions. African Journal of Agricultural Research, 13(2), 47-53.
- İlbağı, H., Çıtır, A., Bostan, H. 2008. Prunus spinosa L. A natural wild host of some important fruit viruses in Tekirdağ, Turkey. Acta Horticulture, 781, 33-36.
- James, D., Varga, A. 2005. Nucleotide sequence analysis of Plum pox virüs isolate W3174: Evidence of a new strain. Virus Research, 110, 143-150.
- James, D., Varga, A., Sanderson, D. 2013. Genetic diversity of Plum pox virus: strains, disease and related challenges for control. Canadian Journal of Plant Pathology, 35(4), 431-441.
- Jarošová, J., Kundu, J. K. 2010. Detection of Prune dwarf virus by one-step RT-PCR and its quantitation by real-time PCR. Journal of virological methods, 164(1), 139-144.
- Kalinowska, E., Mroczkowska, K., Paduch-Cichal, E., Chodorska, M. 2014. Genetic variability among coat protein of Prune dwarf virus variants from different countries and different Prunus species. European journal of plant pathology, 140(4), 863-868.
- Kamenova, I., Borisova, A., Popov, A. 2019. Incidence and genetic diversity of Prune dwarf virus in sweet and sour cherry in Bulgaria. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 33(1), 980-987.
- Karabacak, M. 2012. Trakya bölgesinde badem (Prunus dulcis) ağaçlarında görülen virüs hastalıklarının saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 55, Tekirdağ.
- Karabacak, M. İlbağı, H. 2011. Türkiye'nin Trakya Bölgesi'nde Badem Virüs Hastalıklarının Saptanması ve Virüslerin Tanılanması." The Journal of Turkish Phytopathology, 40(1), 33-40.
- Kaşka, N., Küden, A. 1988. Çukurova Bölgesi'ne verim, kalite ve erkencilik bakımından uyabilecek şeftali ve nektarin çeşitlerinin saptanması. Doğa-Bilim Dergisi, 12(2), 99-119.

- Kaşka, N., Sağlamer, M., Ayanoğlu, H., Güngör, KM. 1992. Akdeniz Bölgesi şeftali çeşit adaptasyonu. Türkiye 1. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ege Üniversitesi, Bildiriler, Cilt 1, 483-486, İzmir, Türkiye.
- Kaya, K., Gazel, M., Serçe, Ç. U., Elçi, E., Cengiz, F. C., Cambra, M., Caglayan, K. 2014. Potential vectors of Plum pox virus in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Entomologia Generalis*, 35(2), 137-150.
- Khalid, A., Adel, R. 2011. Prunus necrotic ringspot virus in apricot (*Prunus armeniaca*) and peach (*P. persica*) newly reported in Saudi Arabia. *New Disease Reports*, 23, 26.
- Kilic, H. C., Yardimci, N., Gubur, S. 2017. Serological, biological and molecular detection of Prunus necrotic ringspot virus on *Rosa damascena* Mill. in Turkey. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 16(1), 145-150.
- Kinoti, W., Constable, F., Nancarrow, N., Plummer, K., Rodoni, B. 2018. The incidence and genetic diversity of Apple mosaic virus (ApMV) and Prune dwarf virus (PDV) in Prunus species in Australia. *Viruses*, 10(3), 136.
- Kozieł, E., Otulak, K., Garbaczewska, G. 2015. Phylogenetic analysis of PDV movement protein compared to Bromoviridae members as justification of possible intercellular movement. *Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica*, 57(2), 106-114.
- Kozieł, E., Bujarski, J. J., Otulak, K. 2017. Molecular biology of Prune Dwarf Virus—A lesser known member of the Bromoviridae but a vital component in the dynamic virus–host cell interaction network. *International journal of molecular sciences*, 18(12), 2733.
- Kunze, L. 1988. Prune dwarf virus (PDV). In: *European handbook of plant diseases*, I.M. Smith, J. Dunez, R.A. Lelliott, D.H. Phillips and S.A. Archer (eds), Blackwell Scientific Publications, 15-17, Oxford, UK.
- Kurçman, S. 1973. Detection of sharka virus on apricot and plum trees in Ankara. *Journal of Turk Pythopathology*, 2, 124-129.
- Küçükçakır, N. 2015. Isparta ili kiraz (*Prunus avium* L.) bahçelerinde görülen fizyolojik sorunlar ile virüs hastalıklarının saptanması ve mücadele önerileri, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 50, Tekirdağ.
- Küden, AB., Özmetli, F., Kaska, N., Küden, A. 1995. Bazı yeni nektarin ve şeftali çeşitlerinin verim ve kalite özelliklerinin saptanması. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Bildiriler, Cilt 1, 111-115, Ankara, Türkiye.
- Küden, A., Küden, AB., Kaşka, N., Açar, İT. 1997. GAP Bölgesi'ne adapte edilebilecek şeftali, kayısı, badem, nektarin ve erik çeşitlerinin saptanması. *Ç.Ü.Z.F.*

Güneydoğu Anadolu Projesi Tarımsal Araştırma İnceleme ve Geliştirme Proje Paketi Kesin Sonuç Raporu. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınevi, 67, Adana.

- Levy, L., Damsteegt, V., Mavrodieva, V., Goley, E., Welliver, R., Luster, D. 2000. Partial characterization of the Pennsylvania strain of plum pox virus (PPV-PA). *Phytopathology*, 90, 46.
- Maejima, K., Himeno, M., Komatsu, K., Takinami, Y., Hashimoto, M., Takahashi, S., Yamaji, Y., Oshima, K., Namba, S. 2011. Molecular epidemiology of Plum pox virus in Japan. *Phytopathology*, 101(5), 567-574.
- Mahfoudhi, N., Selmi, I., Lehad, A., Elair, M., Hamda, H. B., Allagui, M. B. 2015. Molecular variability of Prunus necrotic ringspot virus isolates from different Prunus hosts in Tunisia. *Journal of plant pathology*, 97 (1), 129-133.
- Manzoor, M., F. Anwar, N. Saari, M. Ashraf, 2012. Variations of Antioxidant Characteristics and Mineral Contents in Pulp and Peel of Different Apple (*Malus domestica* Borkh.) Cultivars From Pakistan. *Molecules*, 17 (1): 390– 407.
- Massart, S., Brostaux, Y., Barbarossa, L., César, V., Cieslinska, M., Dutrecq, O., Fonseca, F., Gulliem, R., Lavina, A., Olmos, A., Syeter, S., Wetzel, T., Kummert, J., Jijakli, M. 2008. Inter-laboratory evaluation of a duplex RT-PCR method using crude extracts for the simultaneous detection of Prune dwarf virus and Prunus necrotic ringspot virus. *European Journal of Plant Pathology*, 122(4), 539-547.
- Matic, S., Elmaghraby, I., Law, V., Varga, A., Reed, C., Myrta, A., James, D. 2011. Serological and molecular characterization of isolates of plum pox virus strain el amar to better understand its diversity, evolution, and unique geographical distribution. *Journal of Plant Pathology*, 93(2), 303-310.
- Meisel, L., Fonseca, B., González, S., Baeza-Yates, R., Cambiazo, V., Campos, R., Gonzales, M., Orellana, A., Retamalaes, J., Silva, H. 2005. A rapid and efficient method for purifying high quality total RNA from peaches (*Prunus persica*) for functional genomics analyses. *Biological research*, 38(1), 83-88.
- Mekuria, G., Ramesh, S. A., Alberts, E., Bertozzi, T., Wirthensohn, M., Collins, G., Sedgley, M. 2003. Comparison of ELISA and RT-PCR for the detection of Prunus necrotic ring spot virus and prune dwarf virus in almond (*Prunus dulcis*). *Journal of virological methods*, 114(1), 65-69.
- Moury, B., Cardin, L., Onesto, J. P., Candresse, T., Poupet, A. 2001. Survey of Prunus necrotic ringspot virus in Rose and Its Variability in Rose and Prunus spp. *Phytopathology*, 91(1), 84-91.
- Muhire, B. M., Varsani, A. ve Martin, D. P. 2014. SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PLoS ONE*, 9(9), e108277.

- Myrta, A., Savino, V. 2005. Virus and virus-like diseases of cherry in the Mediterranean region. V International Cherry Symposium, 6 June, Book of Abstracts, Vol 2, 891-896, Bursa, Turkey.
- Myrta, A., Varga, A., James, D. 2006. The complete genome sequence of an El Amar isolate of plum pox virus (PPV) and its phylogenetic relationship to other PPV strains. *Archives of Virology*, 151, 1189–1198.
- Nabi, A., Padder, B. A., Dar, M. S., Ahmad, M. 2018. Morpho-cultural, pathological and molecular variability in *Thyrostroma carpophilum* causing shot hole of stone fruits in India. *European Journal of Plant Pathology*, 151(3), 613-627.
- Navratil, M., Safarova, D., Karesova, R., Petrzik, K., 2005. First incidence of Plum pox virus on apricot trees in China. *Plant Disease*, 89, 338.
- Nemchinov, L., Hadidi, A., Maiss, E., Cambra, M. Candresse, T., Damsteegt, V. 1996. Sour cherry strain of plum pox potyvirus (PPV): molecular and serological evidence for a new subgroup of PPV strains. *Phytopathology*, 86, 1215–1221.
- Nemeth, M. 1986. *Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees*. Martinus Nijhoff Publishers, 840, Dordrecht, The Netherlands.
- Nyland, G., Gilmer, R. M., and Moore, J. D. 1976. “Prunus” ringspot group. in: *Virus Diseases and Non-Infectious Disorders of Stone Fruits in North America*. R. M. Gilmer, J. D. Moore, G. Nyland, M. F. Welsh, and T. S. Pine, (eds). Agriculture Handbook, 04-132, USDA, Washington, DC.
- Oliver, J. E., Freer, J., Andersen, R. L., Cox, K. D., Robinson, T. L., Fuchs, M. 2009. Genetic diversity of *Prunus* necrotic ringspot virus isolates within a cherry orchard in New York. *Plant disease*, 93(6), 599-606.
- Önal, K., Ercan, N. 1992. Ege Bölgesi’ne uygun şeftali çeşitlerinin saptanması. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ege Üniversitesi, Bildiriler, Cilt 1, 479-482, İzmir.
- Öztekin, V. 2006. K.S.Ü. sekamer koleksiyon parselindeki badem ağaçlarında virüs hastalıklarının serolojik teşhisleri ve kontrol. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 41, Kahramanmaraş.
- Öztürk, Y. 2012. Isparta kiraz üretim alanlarında görülen önemli virüslerin serolojik ve moleküler yöntemlerle teşhisi ve kılıf protein gen dizilimlerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 143, Isparta.
- Öztürk, Y., Çevik, B. 2015. Genetic diversity in the coat protein genes of prune dwarf virus isolates from sweet cherry growing in turkey. *The plant pathology journal*, 31(1), 41-49.

- Paduch-Cichał, E., Sala-Rejczak, K., Mroczkowska, K., Boscia, D., Potere, O. 2011a. Serological characterization of Prune dwarf virus isolates. *Journal of plant protection research*, 51(4), 389-392.
- Paduch-Cichal, E., Sala-Rejczak, K. 2011b. Biological and molecular characterization of *Prunus* necrotic ringspot virus isolates from three rose cultivars. *Acta physiologiae plantarum*, 33(6), 2349-2354.
- Palkovics, L., Burgyán, J., Balázs, E. 1993. Comparative sequence analysis of four complete primary structures of plum pox virus strains. *Virus Genes*, 7, 339–347.
- Pallas V., Aparicio F., Herranz M., Amari K., Sanchez-Pina M., Myrta A., Sanchez-Navarro J. 2012. Ilarviruses of *Prunus* spp.: a continued concern for fruit trees. *Phytopathology*, 102(12), 1108-1120.
- Palmisano, F., Boscia, D., Minafra, A., Myrta, A., Candresse, T. 2012. An atypical Albanian isolate of Plum pox virus could be the progenitor of the Marcus strain. 22nd International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops, 3-8 June, Book of Abstracts, 33, Rome, Italy
- Papanikolaou, X., Tsipouridis, C., Thomidis, T., Stylianidis, D. C. 2005. Adaptation of twenty peach and nectarine varieties in Kos and their susceptibility to Plum pox virus and *Phytophthora citrophthora*. *Horticultural Science*, 32(3), 112-117.
- Polat, AA., Caliskan, O., Kamiloglu, O. 2010. Performance of some peach and nectarine cultivars under East Mediterranean (Hatay/Turkey) conditions. *Acta Horticulture*, 940, 407-414.
- Polat, AA., Çalışkan, O. 2011. Bazı şeftali ve nektarin çeşitlerinin Dörtüol koşullarındaki çiçeklenme ve meyve tutum oranlarının belirlenmesi. Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Harran Üniversitesi, 4-8 Ekim, Bildiriler, Cilt 1, 742-750.
- Polatçı, H., Taşova, M., Saraçoğlu, O., Taşkın, O. 2018. Şeftali (*Prunus persica* L.) Posasının Farklı Sıcaklıklarda Kuruma Parametrelerin Belirlenmesi. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 14(3), 149-156.
- Predajňa, L., Sihelská, N., Benediková, D., Šoltys, K., Candresse, T., Glasa, M. 2017. Molecular characterization of Prune dwarf virus cherry isolates from Slovakia shows their substantial variability and reveals recombination events in PDV RNA3. *European journal of plant pathology*, 147(4), 877-885.
- Pribek, D., Palkovics, L., Gaborjanyi, R. 2000. Molecular characterization of Plum pox virus almond isolate. XVIII International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops-Top Fruit Diseases, 9 July, Book of Abstracts, Vol 2, 91-96, Canterbury and HRI East Malling, UK.

- Proebsting, E. L., Ophardt, D., Howell, W. E., Mink, G. I., Patten, K. D. 1995. Variation in Horticultural Traits of Bing'Sweet Cherry Associated with Iilarvirus Infection. *HortScience*, 30(2), 333-335.
- Rakonjac, V., Živanović, T. 2008. Stability of yield and fruit quality in promising peach cultivars. *Journal of Central European Agriculture*, 9(1), 177-184.
- Rampitsch, C., Eastwell, K. C. 1997. The complete nucleotide sequence of prune dwarf ilarvirus RNA-1. *Archives of virology*, 142(9), 1911-1918.
- Rochon, D., Theilmann, J., James, D., Reade, R., Yang, L., Upton, C. 2003. Partial molecular characterization of plum pox virus isolates occurring in Canada. *Canadian journal of plant pathology*, 25(2), 198-208.
- Rosales, M., Hinrichsen, P., Herrera, G. 1997. Molecular characterization of plum pox virus isolated from apricots, plums and peaches in Chile. XVII International Symposium Virus and Virus-Like Diseases of Temperate Fruit Crops, 23-27 June, Book of Abstracts, Vol 2, 401-406, Bethesda, MD, USA.
- Rubio, M., Martínez-Gómez, P., Pallás, V., Dicenta, F., Sánchez-Navarro, J. A. 2017. Molecular characterization of ilarvirus Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV) and Prune dwarf virus (PDV) in Spanish autochthonous almond cultivars. VII International Symposium on Almonds and Pistachios, 5-9 November, Book of Abstracts, 353-356, Adelaide, Australia.
- Saade, M., Aparicio, F., Sanchez-Navarro, J. A., Herranz, M. C., Myrta, A., Di Terlizzi, B., Pallas, V. 2000. Simultaneous detection of the three ilarviruses affecting stone fruit trees by nonisotopic molecular hybridization and multiplex reverse-transcription polymerase chain reaction. *Phytopathology*, 90(12), 1330-1336.
- Sahtiyancı, S. 1969. Virus de la Sharka chez la prunier. *Bullet. Phytosan FAO*, 69.
- Saidani, F., R. Gimenez, C. Aubert, G. Chalot, J.A. Betran, Y. Gogorcena, 2017. Phenolic, Sugar and Acid Profiles and The Antioxidant Composition in The Peel and Pulp of Peach Fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 126-133.
- Sajd, Q. U. A. 2018. Niğde ilinde kiraz virüs hastalıklarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı, 88, Niğde.
- Sala-Rejczak, K., Paduch-Cichal, E. 2013. Molecular variability of the coat protein gene of Prunus necrotic ringspot virus isolates. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 12(2), 35-42.
- Salem, N., Mansour, A., Al-Musa, A., Al-Nsour, A., Hammond, R. 2004. Identification and partial characterization of Prunus necrotic ringspot virus on stone fruits in Jordan. *Journal of Plant Pathology*, 86(1), 85-90.

- Salvador, B., Delgadillo, M.O., Saénz, P., García, J.A., Simón-Mateo, C. 2008. Identification of Plum pox virus pathogenicity determinants in herbaceous and woody hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(1), 20-29.
- Sánchez-Navarro, J. A., Aparicio, F., Rowhani, A., Pallás, V. 1998. Comparative analysis of ELISA, nonradioactive molecular hybridization and PCR for the detection of prunus necrotic ringspot virus in herbaceous and Prunus hosts. *Plant Pathology*, 47(6), 780-786.
- Scott, S. W., Zimmerman, M. T., Ge, X., MacKenzie, D. J. 1998. The coat proteins and putative movement proteins of isolates of Prunus necrotic ringspot virus from different host species and geographic origins are extensively conserved. *European Journal of Plant Pathology*, 104(2), 155-161.
- Seçmen, S., Aydın, E., Macit, İ., Soysal, D., Demirsoy, H. 2018. Şeftalilerde merkezi lider terbiye sisteminin büyüme, verim ve kalite üzerine etkileri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 33(1), 1-5.
- Sertkaya, G., Serçe, Ç. U., Çağlayan, K. 2003. Detection and characterization of Plum pox potyvirus (PPV) by DAS-ELISA and RT-PCR/RFLP analysis in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 27(4), 213-220.
- Sipahioğlu, H. M., Baloglu, S. 2001. The incidence of Prunus necrotic ringspot (PNRSV) and Apple chlorotic leafspot (ACLSV) viruses on stone fruits grown in East Anatolia region of Turkey. XII International Symposium on Apricot Culture and Decline, 10 September, Book of Abstracts, Vol 2, 469-472, Avignon, France.
- Sipahioğlu, H. M., Usta, M., Polat, B., Ocak, M., Şavur, O. B. 2005. Prunus Yapraklarında Prunus Necrotic Ring Spot (PNRSV) ve Apple Chlorotic Leaf Spot (ACLSV) Virüslerinin Dağılımı. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 11(1), 86-90.
- Skelton, A., Fowkes, A., Adams, I., Buxton-Kirk, A., Harju, V., Forde, S., Ward, R., Kelly, M., Barber, P., Fox, A. 2018. First report of Prunus necrotic ringspot virus and Mulberry cryptic virus 1 in mulberry (*Morus alba*) in the United Kingdom. *New Disease Reports*, 37, 23.
- Sokhandan-Bashir, N., Kashiha, Z., Koolivand, D., Eini, O. 2017. Detection and phylogenetic analysis of Prunus necrotic ringspot virus isolates from stone fruits in Iran. *Journal of plant pathology*, 99(3), 723-729.
- Soltani, N., Hayati, J., Babaei, G., Qomi, M. E. 2013. Serological and molecular detection of Prune dwarf virus infecting stone fruits of Charmahal-va-Bakhtiari province, a central region of Iran. *International Journal of Plant Biology*, 4(1), 14-17.
- Song, S., Li, Z., Song, W., Chen, W., Wu, Y. 2016. Complete genomic sequence of a sweet cherry isolate of prunus necrotic ringspot virus from China. *Journal of Plant Pathology*, 98(1), 163-166.

- Spiegel, S., Tam, Y., Maslenin, L., Kolber, M., Nemeth, M., Rosner, A. 1999. Typing *Prunus necrotic ringspot virus* isolates by serology and restriction endonuclease analysis of PCR products. *Annals of applied biology*, 135(1), 395-400.
- Spiegel, S., Kovalenko, E.M., Varga, A., James, D. 2004a. Detection and partial molecular characterization of two Plum pox virus isolates from plum and wild apricot in Southeast Kazakhstan. *Plant Disease*, 88(9), 973–979.
- Spiegel, S., Holland, D., Tam, Y., Bar-Yaakov, I., Maslein, L., Rosner, A. 2004b. *Prunus necrotic ringspot virus* isolates in stone fruit germplasm accessions and cultivars in Israel. *Annals of Applied Biology*, 144, 229–236.
- Stobbs, L., Van Driel, L., Whybourne, K., and Carlson, C. 2005. Distribution of Plum pox virus in residential sites, commercial nurseries, and native plant species in the Niagara Region, Ontario, Canada. *Plant Disease*, 89, 822–827.
- Suchá, J., Svobodová, L. 2010. Incidence of Prune dwarf virus and *Prunus necrotic ring spot virus* in orchards of sweet and sour cherry in the Czech Republic. *Horticultural Science*, 37(3), 118-120.
- Sun, J., Y.-F. Chu, X. Wu, R.H. Liu, 2002. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. *J. Agric. Food Chemistry*, 50(25), 7449–7454.
- Sutic, D. D., Ford, R. E. and Tomic, M. T. 1999. Virus diseases of fruit trees, In: *Handbook of plant virus diseases*, CRC Press, 584, Boca Raton, FL, USA.
- Teber, S., Ceylan, A., Gürcan, K., Candresse, T., Ulubaş Serçe, Ç., Akbulut, M., Kaymak, S., Akbaş, B. 2019. Genetic diversity and molecular epidemiology of the T strain of Plum pox virus. *Plant Pathology*, 68(4), 755-763.
- Thompson, D., McCann, M., MacLeod, M., Lye, D., Green, M., James, D., 2001. First report of plum pox potyvirus in Canada. *Plant Disease*, 85, 97.
- Tong, Z., Qu, S., Zhang, J., Wang, F., Tao, J., Gao, Z., Zhang, Z. 2012. A modified protocol for RNA extraction from different peach tissues suitable for gene isolation and real-time PCR analysis. *Molecular Biotechnology*, 50(3), 229-236.
- Tosun, İ., Ak, BE., Acar, İ. 2001. GAP Bölgesi’nde bazı şeftali çeşitlerinin fenolojik ve pomolojik özelliklerinin belirlenmesi. 1. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, 25-28 Eylül, Bildiriler Kitabı, 423-434, Yalova.
- Tsipouridis, C. G., Papanikolaou, X., Stylianidis, D. C. 2002. Adaptation of peach-nectarine varieties to different soil and climatic conditions of Greece. *Horticultural Science*, 29, 26-34.

- Ulubas, C., Ertunc, F. 2004. RT-PCR Detection and Molecular Characterization of Prunus necrotic ringspot virus Isolates Occurring in Turkey. *Journal of phytopathology*, 152(9), 498-502.
- Ulubaş, Ç., Ertunç, F., 2005. Apple Chlorotic Leaf Spot Virus (ACLSV) Status in Turkey and Sensitive Detection Using Advanced Techniques. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29, 251-257.
- Ulubaş Serçe, Ç., Ertunç, F., Oztürk, A. 2009a. Identification and genomic variability of Prune dwarf virus variants infecting stone fruit trees in Turkey. *Journal of phytopathology*, 157(5), 298-305.
- Ulubaş Serçe, Ç., Candresse, T., Svanella-Dumas, L., Krizbai, L., Gazel, M., Çağlayan, K. 2009b. Further characterization of a new recombinant group of Plum pox virus isolates, PPV-T, found in orchards in the Ankara province of Turkey. *Virus Research*, 142(1-2), 121-126.
- Usta, M. 2004. Reverz transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu tekniği ile prunus necrotic ringspot virus (PNRSV) izolatının duyarlı tanısının yapılması ve duyarlılığının ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) testi ile karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 74, Van.
- Usta, M., Sipahioğlu, H. M., Polat, B. 2005. Comparison of DAS-ELISA and RT-PCR methods for the detection of Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV). *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(2), 153-158.
- Uyemoto, J. K., Scott, S. W. 1992. Important diseases of Prunus caused by viruses and other graft-transmissible pathogens in California and South Carolina. *Plant Disease*, 76(1), 5-11.
- Ünek, C. 2015. Şeftali, Nektarin ve Kayıslarda Şarka Hastalığına Dayanıklılık Islahı Üzerine Araştırmalar. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 190, Adana.
- Vašková, D., Petrzik, K., Špak, J. 2000. Molecular variability of the capsid protein of the prune dwarf virus. *European Journal of Plant Pathology*, 106(6), 573-580.
- Vinholes, J., D.P. Gelain, M. Vizzotto, 2016. Stone Fruits as a Source of Bioactive Compounds. Silva, L.R., Silva, B. (Eds.), *Natural Bioactive Compounds From Fruits and Vegetables*. Bentham Science Publishers, 110–142, Sharjah, UAE.
- Wang, A., Sanfaçon, H., Stobbs, L. W., James, D., Thompson, D., Svircev, A. M., Brown, D. C. W. 2006. Plum pox virus in Canada: progress in research and future prospects for disease control. *Canadian journal of plant pathology*, 28(2), 182-196.

- Wells, J. M., Kirkpatrick, H. C. 1986. Symptomatology and incidence of Prunus necrotic ringspot virus in peach orchards in Georgia. *Plant Disease*, 70, 444-447.
- Westwood, M. N. 1978. *Temperate Zone Pomology*, WU Freeman and Company, 427, San Francisco, USA.
- Yardimci, N., Cular, H. 2009. Occurrence and incidence of Prunus necrotic ringspot virus, Arabis mosaic virus, and Apple mosaic virus on oil rose (*Rosa damascena*) in the Lakes region of Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 37(2), 95-98.
- Yegül, M., Baloğlu, S. 2019. Ceviz ve Bademde Prune dwarf virus, Prunus necrotic ringspot virus ve Cherry leaf roll virus Yoğunluklarının Mevsimsel Değişimi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 34(1), 37-50.
- Yıldızgördü, K.Ç., Çalı, S., 1994. Occurrence and detection of virus and virus-like diseases of plum and apricot trees in the eastern Mediterranean area. *Proceedings of 9th Congress of Mediterranean Phytopathological Union*, 18-24 September, Book of Abstracts, 551-553, Kuşadası, Aydın.
- Yu, Y., Zhao, Z., Qin, L., Zhou, Y., Fan, H., Zhang, Z., Wu, S., Li, S. 2013a. Incidence of major peach viruses and viroids in China. *Journal of plant pathology*, 603-607.
- Yu, Y., Zhao, Z., Jiang, D., Wu, Z., Li, S. 2013b. A one-step multiplex RT-PCR assay for simultaneous detection of four viruses that infect peach. *Letters in applied microbiology*, 57(4), 350-355.
- Zagrai, L., Zagrai, I., Ferencz, B., Gaboreanu, I., Kovacs, K., Petricele, I., Popescu, D., Pamfil, N., Capote, N. 2008. Serological and molecular typing of Plum pox virus isolates in the North of Romania. *Journal of Plant Pathology*, 90(1), 41-46.
- Zhao, X., Zhang, W., Yin, X., Su, M., Sun, C., Li, X., Chen, K. 2015. Phenolic composition and antioxidant properties of different peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] cultivars in China. *International journal of molecular sciences*, 16(3), 5762-5778.
- Zhu, D. Z., Zong, X., Xu, L., Wang, J., Wei, H. R., Chen, X., Tan Y., Liu, Q. Z. 2017. Molecular characterization of the coat protein gene of Prunus necrotic ringspot virus infecting sweet cherry in China Shandong. VIII International Cherry Symposium 5-9 June, Book of Abstracts, 475-482, Yamagata, Japan.
- Zindović, J., Lanzoni, C., Autonell, C. R., Ratti, C. 2013. First Report of Prune dwarf virus and Prunus necrotic ringspot virus on Peach in Montenegro. *Plant disease*, 97(9), 1259.
- Zong, X. J., Liu, Q. Z., Wang, W. W., Wei, H. R., Wang, J. W. 2013. Detection of Prunus necrotic ringspot virus and Prune dwarf virus in sweet cherry (*Prunus avium*)

and Chinese cherry (*Prunus pseudocerasus*) in Shandong Province, China. VII International Cherry Symposium, 23-27 June, Book of Abstracts, 469-474, Plasencia, Spain.



EKLER

EK 1 Dizilenen PDV izolatlarn dizi bilgisi ve erişim numaraları

EK 2 Dizilenen PNRSV izolatlarnın dizi bilgisi ve erişim numaraları

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarnın dizi bilgisi ve erişim numaraları



EK 1 Dizilenen PDV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları

İzolat: İn-17-08	GenBank Erişim Numarası: MT219490
Nükleotid dizi bilgisi	
ATGTCTGGGAAAGCTGCTAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAAGGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAAATCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATCTTTTTAAAGATTTTGCGGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGTTTCGA TGTGAGTGTCTCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCGGGGAGGTACCAAATGATCT CTGGTTTGTCAAAAATATGACAATACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACT CAGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATTAGTATTATATGCT GAACGGGATACCGCTCTCATAGATGCGATGGACAGAATAGTCAGTGGATGA	
Protein dizi bilgisi	
MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPVKVPVKSFS GMISRTENLVKSTASGVYYTMKLRDLFKDFAVDTKVYGIVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPNDLWVVIKYDNTFQPGVPVWFCTQYQLQ HSMPKRVEVPDSVLYAERDTALIDAMDRIVSG*	
İzolat: İz-17-20	GenBank Erişim Numarası: MT219491
Nükleotid dizi bilgisi	
ATGTCTGGGAAAGCTGCTAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAAATCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATCTTTTTAAAGATTTTGCGGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGTTTCGA TGTGAGTGTCTCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCGGGGAGGTACCAAATGATCT CTGGTTTGTCAAAAATATGACAATACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACT CAGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATTAGTATTATATGCT GAACGGGATACCGCTCTCATAGATGCGATGGACAGAATAGTCAGTGGATGA	
Protein dizi bilgisi	
MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPVNPVKSFS GMISRTENLVKSTASGVYYTMKLRDLFKDFAVDTKVYGIVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPNDLWVVIKYDNTFQPGVPVWFCTQYQLQ HSMPKRVEVPDSVLYAERDTALIDAMDRIVSG*	
İzolat: Bi-17-23	GenBank Erişim Numarası: MT219492
Nükleotid dizi bilgisi	
ATGTCTGGGAAAGCTGCCAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAAATCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATCTTTTTAAAGATTTTGCGGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGTTTCGA TGTGAGTGTCTCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCGGGGAGGTGCCAGATGATCT CTGGTTTGTCAAAAATATGACAATACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACT CAGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATTAGTATTATATGCT GAACGGGATACCGCTCTCATAGATGCGATGGACAGAATAGTTCTTGGATGA	
Protein dizi bilgisi	
MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPVNPVKSFS GMISRTENLVKSTASGVYYTMKLRDLFKDFAVDTKVYGIVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPDDLWVVIKYDNTFQPGVPVWFCTQYQLQ HSMPKRVEVPDSVLYAERDTALIDAMDRIVLG*	

EK 1 Dizilenen PDV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

İzolat: Bi-17-46	GenBank Erişim Numarası: MT219493
Nükleotid dizi bilgisi	
<p>ATGTCTGGGAAAGCTGCCAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAACTCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATCTTTTTAAAGATTTTGCGGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGTTTCGA TGTGAGTGCTCCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCCGGGAGGTGCCAGATGATCTT TGGTTTGTCAAAAATATGACAGTACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACTC AGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATTACAGTATTATATGCTG AACGGGATACCGCTTTCATAGATGCGATGGACAAAATAGTTCTTGGATGA</p>	
Protein dizi bilgisi	
<p>MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPNVPVKSFS GMISRTENLTVNSTASGVYYTMKLRDLFKDFAVDTKVYGIVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPPDLWVVIKYDSTFQPGVPVWFCTQYLQ HSMPKRVEVPDSVLYAERDTAFIDAMDKIVLG*</p>	
İzolat: Bi-17-92	GenBank Erişim Numarası: MT219494
Nükleotid dizi bilgisi	
<p>ATGTCTGGGAAAGCTGCCAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAACTCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATTTTTTTAAAGATTTTGCGGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGTTTCGA TGTGAGTGCTCCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCCGGGAGGTGCCAGATGATCT CTGGTTTGTCAAAAATATGACAGTACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACT CAGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATTACAGTATTATATGCT GAACGGGATACCGCTCTCATAGATGCGATGGACAAAATAGTTCTTGGATGA</p>	
Protein dizi bilgisi	
<p>MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPNVPVKSFS GMISRTENLTVNSTASGVYYTMKLRDFKDFAVDTKVYGIVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPPDLWVVIKYDSTFQPGVPVWFCTQYLQ HSMPKRVEVPDSVLYAERDTALIDAMDKIVLG*</p>	
İzolat: Og-17-27	GenBank Erişim Numarası: MT219495
Nükleotid dizi bilgisi	
<p>ATGTCTGGGAAAGCTGCCAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAACTCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATTTTTTTAAAGATTTTGCGGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGTTTCGA TGTGAGTGCTCCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCCGGGAGGTGCCAGATGATCT CTGGTTTGTCAAAAATATGACAGTACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACT CAGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATTACAGTATTATATGCT GAACGGGATACCGCTCTCATAGATGCGATGGACAAAATATCCAGCAGATGA</p>	
Protein dizi bilgisi	
<p>MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPNVPVKSFS GMISRTENLTVNSTASGVYYTMKLRDFKDFAVDTKVYGIVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPPDLWVVIKYDSTFQPGVPVWFCTQYLQ HSMPKRVEVPDSVLYAERDTALIDAMDKISSR*</p>	

EK 1 Dizilenen PDV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

İzolat: Y1-17-08	GenBank Erişim Numarası: MT219496
Nükleotid dizi bilgisi	
<p>ATGTCTGGGAAAGCTGCTAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAAACTCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATCTTTTTAAAGATTTTGC GGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGTTTCGA TGTGAGTGCTCCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCGGGGAGGTACCAGATGATCTT TGGTTTGT CATAAAAATATGACAATACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACTC AGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGAATCAGTACTATATGCTG AACGGGATACCGCTTTCATAGATGCGATGGACAAAATATCCAGCAGATGA</p>	
Protein dizi bilgisi	
<p>MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPVNPVKSFS GMISRTENLTVKSTASGVYYTMKLRDLFKDFAVDTKVYGIVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPPDLWVVIKYDNTFQPGVPVWFCTQYLO HSMPKRVEVPESVLYAERDTAFIDAMDKISSR*</p>	
İzolat: Km-17-09	GenBank Erişim Numarası: MT219497
Nükleotid dizi bilgisi	
<p>ATGTCTGGGAAAGCTGCCAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAACTCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATTTTTTTAAAGATTTTGC GGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGTTTCGA TGTGAGTGCTCCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCGGGGAGGTGCCAGATGATCT CTGGTTTGT CATAAAAATATGACAGTACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACT CAGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATT CAGTATTATATGCT GAACGGGATACCGCTCTCATAGATGCGATGGACAAAATAGTCAGTGGATGA</p>	
Protein dizi bilgisi	
<p>MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPVNPVKSFS GMISRTENLTVNSTASGVYYTMKLRDFKDFAVDTKVY GIVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPPDLWVVIKYDSTFQPGVPVWFCTQYLO HSMPKRVEVPDSVLYAERDTALIDAMDKIVSG*</p>	
İzolat: Or-17-12	GenBank Erişim Numarası: MT219498
Nükleotid dizi bilgisi	
<p>ATGTCTGGGAAAGCTGCCAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAACTCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATTTTTTTAAAGATTTTGC GGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGTTTCGA TGTGAGTGCTCCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCGGGGAGGTGCCAGATGATCT CTGGTTTGT CATAAAAATATGACAGTACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACT CAGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATT CAGTATTATATGCT GAACGGGATACCGCTCTCATAGATGCGATGGACAAAATAGTCAGTGGATGA</p>	
Protein dizi bilgisi	
<p>MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPVNPVKSFS GMISRTENLTVNSTASGVYYTMKLRDFKDFAVDTKVY GIVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPPDLWVVIKYDSTFQPGVPVWFCTQYLO HSMPKRVEVPDSVLYAERDTALIDAMDKIVSG*</p>	
İzolat: Y-17-22	GenBank Erişim Numarası: MT219499

EK 1 Dizilenen PDV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Nükleotid dizi bilgisi	
ATGTCTGGGAAAGCTGCCAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAACTCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATTTTTTTAAAGATTTTGCGGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGGTTTCGA TGTGAGTGCTCCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCGGGGAGGTGCCAGATGATCT CTGGTTTGTCAAAAATATGACAGTACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACT CAGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATTTCAGTATTATATGCT GAACGGGATACCGCTCTCATAGATGCGATGGAGAAAATAGTTCTTGGATGA	
Protein dizi bilgisi	
MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPVNPVKSFS GMISRTENLTVNSTASGVYYTMKLRDFFKDFAVDTKVYGVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPDDLWFVIKYDSTFQPGVPVWFCTQYLQ HSMPCRVEVPDSVLYAERDTALIDAMEKIVLG*	
İzolat: K-17-10	GenBank Erişim Numarası: MT219500
Nükleotid dizi bilgisi	
ATGTCTGGGAAAGCTGCCAAGTCTGGAAAACCTACTGCCCGATCGCAAAGCTTTGCTTTA GCTCGGAAGGTTAATAATGTTACCCCCCTGCTGGTTTTGTTAAGAAACAATTCCCGGGTG GAAGCTCGAAGTCTACTTCCGAGTGGATGCTTCACGGACCGAATGTGCCCGTGAAAAGTT TTTCCGGTATGATATCTCGTACCGAGAATTTGACAGTCAACTCGACTGCTTCCGGTGTGTA TTACACTATGAAACTCCGCGATTTTTTTAAAGATTTTGCGGTTGATACCAAGGTGTACGGA ATTGCTTCCGTTACTGCCTTGACGTTTCTAATGGTGTCTACGGACTCATTAAAGGTTTCGA TGTGAGTGCTCCTGTTGCACCTAATCCCCTACAACGTAGGAAGTTCACGGCGAAACAAGC CAGTGGGGTGCAAATCTTGCTCCTACTGGTATGACTGTCGGGGAGGTGCCAGATGATCT CTGGTTTGTCAAAAATATGACAGTACCTTTCAACCCGGTGTACCGGTGTGGTTCTGTACT CAGTACCTACAACACTCGATGCCTAAGAGAGTTCGAGGTGCCTGATTTCAGTATTATATGCT GAACGGGATACCGCTCTCATAGATGCGATGGACCAAATAGTTCTTGGATGA	
Protein dizi bilgisi	
MSGKAAKSGKPTARSQSFALARKVNNVTPPAGFVKKQFPGGSSKSTSEWMLHGPVNPVKSFS GMISRTENLTVNSTASGVYYTMKLRDFFKDFAVDTKVYGVFRYCLDVSNGVYGLIKGFDVS APVAPNPLQRRKFTAKQASGVQILAPTGMTVGEVPDDLWFVIKYDSTFQPGVPVWFCTQYLQ HSMPCRVEVPDSVLYAERDTALIDAMDQIVLG*	

EK 2 Dizilenen PNRSV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları

İzolat: Bi-17-24	GenBank Erişim Numarası: MT191363
Nükleotid dizi bilgisi	
CCGAATATAGCTCTGGTCCCACTCAGGGCTCAACAAAGGGCTGTGAATAACCCGAATAGG AACCCGAATAGGGTTTCGAGCGGTATAGGACTTGCGGTCCGACCGCAACCGGTCATGAAG ACCACTTGGACCGTGAGGGGTCCGAATGTGCCTCCCCGAATTCTAAGGGTTATGTAGCA CATAATCACCGAGAGGTGTTGACGACAGAGGCAGTGAAGTACTTGAGTATTGACTTCACG ACCACTCTCCCTCAGTTGATGGGTGAGAATTTGACCTTATTAAGTGTATAGTCCGAATGA ACTCTACGAGTTCGAATGGTTGGATTGGGATGGTGGAGGACTATAAGGTGGATCAACCTG ATGGTCCGAATGCCCTGTCTAGGAAGGGTTCTTGAAGGACCAACCGAGAGGTTGGCAGT TCGAACCACCTCCGATTTAGATTTGACTCTTTTGCGCGTACGCATCGTGTCTCATCGA ATTCAAGACCGAAGTGCCCGCTGGGGCCAAGGTCT	
Protein dizi bilgisi	
PNIALVPLRAQQRAVNNPNRNPNRVSSIGLAVRPQPMKTTWTVRGPNVPPRIPKGYVAHN HREVLTTTEAVKYLSIDFTTLPQLMGQNLTLTVIVRMNSTSSNGWIGMVEDYKVDQPDGPN ALSRKGFLKDQPRGWQFEPPSDLDFDSFARTHVRVIEFKTEVPAGAKV	
İzolat: Bi-17-53	GenBank Erişim Numarası: MT191364
Nükleotid dizi bilgisi	
CCGAATATAGCTCTGGTCCCACTCAGGGCTCAACAAAGGGCTGTGAATAACCCGAATAGG AACCCGAATAGGGTTTCGAGCGGTATAGGACTTGCGGTCCGACCGCAACCGGTCATGAAG ACCACTTGGACCGTGAGGGGTCCGAATGTGCCTCCCCGAATTCTAAGGGTTATGTAGCA CATAATCACCGAGAGGTGTTGACGACAGAGGCAGTGAAGTACTTGAGTATTGACTTCACG ACCACTCTCCCTCAGTTGATGGGTGAGAATTTGACCTTATTAAGTGTATAGTCCGAATGA ACTCTACGAGTTCGAATGGTTGGATTGGGATGGTGGAGGACTATAAGGTGGATCAACCTG ATGGTCCGAATGCCCTGTCTAGGAAGGGTTCTTGAAGGACCAACCGAGAGGTTGGCAGT TCGAACCACCTCCGATTTAGATTTGACTCTTTTGCGCGTACGCATCGTGTCTCATCGA ATTCAAGACCGAAGTGCCCGCTGGGGCCAAGGTCT	
Protein dizi bilgisi	
PNIALVPLRAQQRAVNNPNRNPNRVSSIGLAVRPQPMKTTWTVRGPNVPPRIPKGYVAHN HREVLTTTEAVKYLSIDFTTLPQLMGQNLTLTVIVRMNSTSSNGWIGMVEDYKVDQPDGPN ALSRKGFLKDQPRGWQFEPPSDLDFDSFARTHVRVIEFKTEVPAGAKV	
İzolat: Og-17-87	GenBank Erişim Numarası: MT191365
Nükleotid dizi bilgisi	
CCGAATATAGCTCTGGTCCCACTCAGGGCTCAACAAAGGGCTGTGAATAACCCGAATAGG AACCCGAATAGGGTTTCGAGCGGTATAGGACTTGCGGTCCGACCGCAACCGGTCATGAAG ACCACTTGGACCGTGAGGGGTCCGAATGTGCCTCCCCGAATTCTAAGGGTTATGTAGCA CATAATCACCGAGAGGTGTTGACGACAGAGGCAGTGAAGTACTTGAGTATTGACTTCACG ACCACTCTCCCTCAGTTGATGGGTGAGAATTTGACCTTATTAAGTGTATAGTCCGAATGA ACTCTACGAGTTCGAATGGTTGGATTGGGATGGTGGAGGACTATAAGGTGGATCAACCTG ATGGTCCGAATGCCCTGTCTAGGAAGGGTTCTTGAAGGACCAACCGAGAGGTTGGCAGT TCGAACCACCTCCGATTTAGATTTGACTCTTTTGCGCGTACGCATCGTGTCTCATCGA ATTCAAGACCGAAGTGCCCGCTGGGGCCAAGGTCT	
Protein dizi bilgisi	
PNIALVPLRAQQRAVNNPNRNPNRVSSIGLAVRPQPMKTTWTVRGPNVPPRIPKGYVAHN HREVLTTTEAVKYLSIDFTTLPQLMGQNLTLTVIVRMNSTSSNGWIGMVEDYKVDQPDGPN ALSRKGFLKDQPRGWQFEPPSDLDFDSFARTHVRVIEFKTEVPAGAKV	

EK 2 Dizilenen PNRSV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

İzolat: İz-17-39 GenBank Erişim Numarası: MT191366
Nükleotid dizi bilgisi
CCGAATATAGCTCTGGTCCCACTCAGGGCTCAACAAAGGGCTGTGAATAACCCGAATAGG AACCCGAATAGGGTTTCGAGCGGTATAGGACCTGCGGTCCGACCGCAACCGGTCATGAAG ACCACTTGGACCGTGAGGGGTCCGAATGTGCCTCCCCGAATTCCTAAGGGTTATGTAGCA CATAATCACCGAGAGGTGTTGACGACAGAGGCAGTGAAGTACTTGAGTATTGACTTCACG ACCACTCTCCCTCAGTTGATGGGTGAGAATTTGACCTTATTAAGTGTATAGTCCGAATGA ACTCTACGAGTTCGAATGGTTGGATTGGGATGGTGGAGGACTATAAGGTGGATCAACCTG ATGGTCCGAATGCCCTGTCTAGGAAGGGTTCTTGAAGGACCAACCGAGAGGTTGGCAGT TCGAACCACCTCCGATTTAGATTTGACACTTTTTCGCGGTACGCATCGTGTCTCATCGA ATTCAAGACCGAAGTGCCCGGTGGGGCCAAGGTCT
Protein dizi bilgisi
PNIALVPLRAQQRAVNNPNRNPNRVSSGIGPAVRPQPVMKTTWTVRGPVPPRIPKGYVAHN HREVLTTAEVKYLSIDFTTLPQLMGQNLTLTVIVRMNSTSSNGWIGMVEDYKVDQPDGPN ALSIRKGFLLKQPRGWQFEPPSDDLDFDTFARTHRRVIEFKTEVPGGAKV
İzolat: İn-17-35 GenBank Erişim Numarası: MT191367
Nükleotid dizi bilgisi
CCGAATATAGCTCTGGTCCCACTCAGGGCTCAACAAAGGGCTGTGAATAACCCGAATAGG AACCCGAATAGGGTTTCGAGCGGTATAGGACCTGCGGTCCGACCGCAACCGGTCATGAAG ACCACTTGGACCGTGAGGGGTCCGAATGTGCCTCCCCGAATTCCTAAGGGTTATGTAGCA CATAATCACCGAGAGGTGTTGACGACAGAGGCAGTGAAGTACTTGAGTATTGACTTCACG ACCACTCTCCCTCAGTTGATGGGTGAGAATTTGACCTTATTAAGTGTATAGTCCGAATGA ACTCTACGAGTTCGAATGGTTGGATTGGGATGGTGGAGGACTATAAGGTGGATCAACCTG ATGGTCCGAATGCCCTGTCTAGGAAGGGTTCTTGAAGGACCAACCGAGAGGTTGGCAGT TCGAACCACCTCCGATTTAGATTTGACACTTTTTCGCGGTACGCATCGTGTCTCATCGA ATTCAAGACCGAAGTGCCCGGTGGGGCCAAGGTCT
Protein dizi bilgisi
PNIALVPLRAQQRAVNNPNRNPNRVSSGIGPAVRPQPVMKTTWTVRGPVPPRIPKGYVAHN HREVLTTAEVKYLSIDFTTLPQLMGQNLTLTVIVRMNSTSSNGWIGMVEDYKVDQPDGPN ALSIRKGFLLKQPRGWQFEPPSDDLDFDTFARTHRRVIEFKTEVPGGAKV
İzolat: Km-17-14 GenBank Erişim Numarası: MT191368
Nükleotid dizi bilgisi
CCGAATATAGCTCTGGTCCCACTCAGGGCTCAACAAAGGGCTGTGAATAACCCGAATAGG AACCCGAATAGGGTTTCGAGCGGTATAGGACCTGCGGTCCGACCGCAACCGGTCATGAAG ACCACTTGGACCGTGAGGGGTCCGAATGTGCCTCCCCGAATTCCTAAGGGTTATGTAGCA CATAATCACCGAGAGGTGTTGACGACAGAGGCAGTGAAGTACTTGAGTATTGACTTCACG ACCACTCTCCCTCAGTTGATGGGTGAGAATTTGACCTTATTAAGTGTATAGTCCGAATGA ACTCTACGAGTTCGAATGGTTGGATTGGGATGGTGGAGGACTATAAGGTGGATCAACCTG ATGGTCCGAATGCCCTGTCTAGGAAGGGTTCTTGAAGGACCAACCGAGAGGTTGGCAGT TCGAACCACCTCCGATTTAGATTTGACACTTTTTCGCGGTACGCATCGTGTCTCATCGA ATTCAAGACCGAAGTGCCCGGTGGGGCCAAGGTCT

EK 2 Dizilenen PNRSV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Protein dizi bilgisi
PNIALVPLRAQQRAVNNPNRNPNRVSSGIGPAVRPQPVMKTTWTVRGPNVPPRIPKGYVAHN HREVLTTTEAVKYLSIDFTTTLPLQLMGQNLTLTVIVRMNSTSSNGWIGMVEDYKVDQPDGPN ALSRKGFLKDQPRGWQFEPPSDLDFDTFARTHVRVIEFKTEVPGGAKV
İzolat: K-17-11 GenBank Erişim Numarası: MT191369
Nükleotid dizi bilgisi
CCGAATAGAGCTCTGGTCCCACTCAGGGCTCAACAAAGGGCTGTGAATAACCCGAATAGG AACCCGAATAGGGTTTCGAGCGGTATAGGACCTGCGGTCCGACCGCAACCGGTCATGAAG ACCACTTGGACCGTGAGGGGTCCGAATGTGCCTCCCCGAATTCCTAAGGGTTATGTAGCA CATAATCACCGAGAGGTGTTGACGACAGAGGCAGTGAAGTACTTGAGTATTGACTTCACG ACCACTCTCCCTCAGTTGATGGGTGAGAATTTGACCTTATTAAGTGTATAGTCCGAATGA ACTCTACGAGTTCGAATGGTTGGATTGGGATGGTGGAGGACTATAAGGTGGATCAACCTG ATGGTCCGAATGCCCTGTCTAGGAAGGGTTCTTGAAGGACCAACCGAGAGGTTGGCAGT TCGAACCACCTCCGATTTAGATTTGACTCTTTTGCGCGTACGCATCGTGTCTCGTCATCGA ATTCAAGACCGAAGTGCCCGGTGGGGCCAAGGTCT
Protein dizi bilgisi
PNRALVPLRAQQRAVNNPNRNPNRVSSGIGPAVRPQPVMKTTWTVRGPNVPPRIPKGYVAHN HREVLTTTEAVKYLSIDFTTTLPLQLMGQNLTLTVIVRMNSTSSNGWIGMVEDYKVDQPDGPN ALSRKGFLKDQPRGWQFEPPSDLDFDSFARTHVRVIEFKTEVPGGAKV
İzolat: Bm-17-07 GenBank Erişim Numarası: MT191370
Nükleotid dizi bilgisi
CCGAATAGAGCTCTGGTCCCACTCAGGGCTCAACAAAGGGCTGTGAATAACCCGAATAGG AACCCGAATAGGGTTTCGAGCGGTATAGGACCTGCGGTCCGACCGCAACCGGTCATGAAG ACCACTTGGACCGTGAGGGGTCCGAATGTGCCTCCCCGAATTCCTAAGGGTTATGTAGCA CATAATCACCGAGAGGTGTTGACGACAGAGGCAGTGAAGTACTTGAGTATTGACTTCACG ACCACTCTCCCTCAGTTGATGGGTGAGAATTTGACCTTATTAAGTGTATAGTCCGAATGA ACTCTACGAGTTCGAATGGTTGGATTGGGATGGTGGAGGACTATAAGGTGGATCAACCTG ATGGTCCGAATGCCCTGTCTAGGAAGGGTTCTTGAAGGACCAACCGAGAGGTTGGCAGT TCGAACCACCTCCGATTTAGATTTGACTCTTTTGCGCGTACGCATCGTGTCTCGTCATCGA ATTCAAGACCGAAGTGCCCGGTGGGGCCAAGGTCT
Protein dizi bilgisi
PNRALVPLRAQQRAVNNPNRNPNRVSSGIGPAVRPQPVMKTTWTVRGPNVPPRIPKGYVAHN HREVLTTTEAVKYLSIDFTTTLPLQLMGQNLTLTVIVRMNSTSSNGWIGMVEDYKVDQPDGPN ALSRKGFLKDQPRGWQFEPPSDLDFDSFARTHVRVIEFKTEVPGGAKV

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları

İzolat: Bi-17-01 (PPV-D)	
GenBank Erişim Numarası: MT191360	
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCGAAAGGACGGCGGATATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAACCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGCTATACACACCAGTCGATGGGGAA GCTATTTTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTT GACATGCTCATCGTGTTCGGTCTCTTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAAAA AGATTGCAAGTCTTGTACACGAGGTTATCAGAGAAAAGTTGGTTGCACACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAACCCTGATTTACTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTCACAAGCAAATTTGGAA CGGGTTGTAGCATTGTAGCTCTTGTTATGATGCTGTTTGACTCGGAGCGGAGTGACGGCG TGTACAAGATTCTGAATAAACTCAAAGGTATCATGGGGAGTGTTGACCAGGATGTTTCATC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIRKDGYYLGGRYDISVRSLLGNQYKRLRDVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMMLDMLIVFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKVGCTPTADEFLEYVRGENPDLLKHAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKMGIMGSVDQDVHH	
İzolat: Bi-17-03 (PPV-D)	GenBank Erişim Numarası: MT191361
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTATCATCCGACGGACGGCGGATATTTT GGAGGCAGGCACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGTAACCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGCTATACACACCAGTCAATGGGGAA GCTATTCTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTT GACATGCTCATCGTGTGGTCTCTTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAAAA CGATTGCAAGTTTTATACACGAGGTTATCAGAGAAGGTTGGTTGCACACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAACCCTAATTTACTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTCACAGGCAAATTTGGAA CGGGTTGTAGCATTGTAGCTCTTGTTATGATGCTGTTTGACTCGGAGCGGAGTGACGGCG TGTACAAGATTCTTAATAAACTCAAAGGCATCATGGGGAGTGTCGACCAGGCTGTTTCATC AC	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPIIRRHGGYFGRHDISVRSLLGNQYKRLRDVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMMLDMLIVFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKVGCTPTADEFLEYVRGENPNLLKHAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKMGIMGSVDQAVHH	
İzolat: Bi-17-08 (PPV-D)	GenBank Erişim Numarası: MT191362
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCGAAAGGACGGCGGATATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAATCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGCTATACACACCAGTCGATGGGGAA GCTATTTTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTT GACATGCTCATCGTGTTCGGTCTCTTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAAAA AGATTGCAAGTCTTGTACACGAGGTTATCAGAGAAAAGTTGGTTGCACACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAACCCTGATTTACTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTCACAAGCAAATTTGGAA CGGGTTGTAGCATTGTAGCTCTTGTTATGATGCTGTTTGACTCGGAGCGGAGTGACGGCG TGTACAAGATTCTGAATAAACTCAAAGGCATCATGGGGAGTGTTGACCAGGCTGTTTCATC AT	

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIRKDDGGYLGGRYDISVRSLLGNQYKRLRDVRRKRDDVVCYTHQSMGKL FCKAIGISTSFLPSTLKMLDMLIVFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFKRLQVL YTRLSEKVGCTPTADEFLEYVRGENPDLLKHAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVA LVMMFLDSERSDGVYKILNKLKGIMGSVDQAVHH	
İzolat: NI-17-02 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185605
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTGATCGAGAGCGACGGAGGATATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCGATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTACTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAGCACAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAGAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTATACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATCGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGCGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCAAGCTAATCTGGAA CGAGTCGTAGCATTTGTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGTG TTTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAAGGCGTCATGGGAAGTATTGATCAGACTGTTACC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPLIESDGGYLGGRYDISVRSLLGSRYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLLEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDL SKYAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGVMGSIDQTVHH	
İzolat: NI-17-07 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185606
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTTTATCGAGAGAGACGGAGGATATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTACTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAGCACAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAGAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTATACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATCGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGCGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCAAGCTAATCTGGAA CGAGTCGTAGCATTTGTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGTG TTTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAAGGCGTCATGGGAAGTATTGATCAGACTGTTACC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIERDGGYLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLLEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDL SKYAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGVMGSIDQTVHH	

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

İzolat: Og-17-40 (PPV-D)	GenBank Erişim Numarası: MT185607
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCAAAGGACGGCGGATATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAACCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGCTATACACACCAGTCGATGGGGAA GCTATTTTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTT GACATGCTCATCGTGTTTGGTCTCTTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAAA AGATTGCAAAGTCTTGTACACGAGGTTATCAGAGAAAGTTGGTTGCACACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAACCCTGATTTACTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTCACAAGCAAATTTGGAA CGGGTTGTAGCATTGTAGCTCTTGTTATGATGCTGTTTACTCGGAGCGGAGTGACGGCG TGTACAAGATTCTGAATAAACTCAAAGGCATCATGGGGAGTGTTGACCAGGCTGTTTCATC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDGYYLGGRYDISVRSLLGNQYKRLRDVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMLDMLIVFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKVGCTPTADEFLEYVRGENPDLLKHAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKIMGSVDQAVHH	
İzolat: Og-17-27 (PPV-D)	GenBank Erişim Numarası: MT185608
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCGACAGGACGGCGGATATTTT GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGTAACCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGCTATACACACCAGTCGATGGGGAA GCTATTTTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTT GACATGCTCATCGTGTTTCAAGTCTCTTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAAA AGATTGCAAACCTTGTACACGAGGTTATCAGAGAAGGTTGGTTGCACACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAACCCTGATTTACTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTCACAAGCAAATTTGGAA CGGGTTGTAGCATTGTAGCTCTTGTTATGATGCTGTTTACTCGGAGCGGAGTGACGGCG TGTACAAGATTCTGAATAAACTCAAAGGCATCATGGGGAGTGTTGACCAGGCTGTTTCATC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIRQDGGYFGGRYDISVRSLLGNQYKRLRDVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMLDMLIVFSLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFKRLQTLY TRLSEKVGCTPTADEFLEYVRGENPDLLKHAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKIMGSVDQAVHH	
İzolat: İz-17-01 (PPV-D)	GenBank Erişim Numarası: MT185609
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCAAAGACGGCGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAACCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGCTATACACACCAGTCGATGGGGAA GCTATTTTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTC GACATGCTCATCGTGTTTCAAGTCTCTTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAAA AGATTGCAAAGTCTTATACACGAGGTTATCGGAGAAGGTTGGTTGCGCACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAATCCTGATTTATTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTTCAAGCAAATTTGGAA CGGGTTGTAGCAATTGTAGTTCGTGTTATGCTGCGGTTTACTCGGAGCGGAGGGACCGC GCGTACAAGATTCTTAATAAACTCAAAGGCATCACGGGGAGTGTCGACCAGGCTGTTTCAT CAT	

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDGADLGGRYDISVRSLLGNQYKRLRDVVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMLDMLIVFSLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKVGCAPTADEFLEYVRGENPDLLKHAEDLIGDGQVVVHQSKRDFQANLERVVAIVVR VMLRFDSEERRDRAYKILNKLKGITGSVDQAVHH	
İzolat: İz-17-10 (PPV-D)	GenBank Erişim Numarası: MT185610
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCAAAGACGGCGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAACCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGCTATACACACCAGTCAATGGGGAA GCTATTCTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTT GACATGCTCATCGTGTGGTCTCTTGGTTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAAAA CGATTGCAAGTTTTATACACGAGGTTATCAGAGAAGGTTGGTTGCACACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAACCCTAATTTACTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTTACAGGCCAATTTGGAA CGGGTTGTAGCAATTGTAGTTCTTGTATGCTGCTGTTTACTCGGAGCGGAGTGACCGCG CGTACAAGATTCTTAATAAACTCAAAGGCATCACGGCGAGTGTCGACCAGGCTGTTTCATC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDGADLGGRYDISVRSLLGNQYKRLRDVVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMLDMLIVFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKVGCTPTADEFLEYVRGENPNLLKHAEDLIGDGQVVVHQSKRDLQANLERVVAIVVL VMLLFDSEERSDRAYKILNKLKGITASVDQAVHH	
İzolat: Gr-17-03 (PPV-D)	GenBank Erişim Numarası: MT185611
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCAAAGACGGCGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAATCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGCTATACACACCAGTCAATGGGGAA GCTATTTTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTT GACATGCTCATCGTGTTCGGTCTCTTGGTTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAAAA AGATTGCAAGTCTTGTACACGAGGTTATCAGAGAAAAGTTGGTTGCACACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAACCCTGATTTACTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTTACAAGCAAATTTGGAA CGGGTTGTAGCATTGTAGCTCTTGTATGCTGCTGTTTACTCGGAGCGGAGGGACCGCG CGTACAAGATTCTGAATAAACTCAAAGGCATCACGGGGAGTGTCGACCAGGCTGTTTCATC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDGADLGGRYDISVRSLLGNQYKRLRDVVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMLDMLIVFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKVGCTPTADEFLEYVRGENPDLLKHAEDLIGDGQVVVHQSKRDLQANLERVVAIVAL VMLLFDSEERRDGAYKILNKLKGITGSVDQAVHH	
İzolat: İn-17-12 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185612

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTTATCCCGAAAGACGCAGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTACTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAGCACAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAGAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTATACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATCGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGCGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCAAGCTAATATGGA ACGAGTCGTAGCATTTTAGCCCCTGTTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGC GCTTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAAGGGTACGGGAAGTATTGATCAGACTGTTCCC CCA	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDAADLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLLEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDLISKY AEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANMERVVAFVAP VMMLFDSERSDGAYKILNKLKGVTSIDQTVPP	
İzolat: Md-17-06 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185613
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTTATCCCGAAAGACGCAGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTACTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAGCACAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAGAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTATACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATCGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGCGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCAAGCTAATATGGA ACGAGTCGTAGCATTTGTAGCCCCTGTTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGT GTTTACAAAATCCTCAATCAGCTTAAAGGGTACGGGAAGTATTGATCAGACTGTTCCC CCA	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDAADLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLLEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDLISKY AEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANMERVVAFVAP VMMLFDSERSDGVYKILNQLKGVTSIDQTVPP	
İzolat: Y1-17-10 (PPV-D)	GenBank Erişim Numarası: MT185614
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTTATCCCAAAGACGGCGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAACCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGTCTATACACACCAGTCGATGGGGAA GCTATTTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTT GACATGCTCATCGTGTGTTGCTCTCTTCTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAAA AGATTGCAAGTCTTGTACACGAGGTTATCAGAGAAAGTTGGTTGCACACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAACCCTGATTTACTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTCACAAGCAAATTTGGAA CGGGTTGTAGCATTTGTAGCTCTTGTATGCTGCTGTTTGACTCGGAGCGGAGGGACGGCG CGTACAAGATTCTGAATAAACTCAAAGGCATCATGGGGAGTGTCGACCAGGCTGTTTCATC AT	

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDGADLGGRYDISVRSLLGNQYKRLRDVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMMLDMLIVFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKVGCTPTADEFLEYVRGENPDLLKHAEDLIGDQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERRDGAYKILNKLKGIMGSVDQAVHH	
İzolat: İn-17-30 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185615
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTGATCGAGAAAGACGCAGCATATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCCGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GACGCGGTTCCGGCGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGGATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAGCACAAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTACACGAGACTATCAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTCGAATATGTGCAAGGTGAAAATCCTGATCTATTGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGAGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAGAGATTACAAGCTAATCTGGA ACGAGTCGTAGCATTGTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGT GTCTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAAGGCGTCATGGGAAGTATTGATCAGACTGTCCAC CAT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPLIEKDAAYLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDLLKYAEDLIGDQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGVMGSIDQTVHH	
İzolat: Km-17-11 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185616
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTGATCGAGAGCGACGCAGGATATTTA GGAGGCAGGCACGACATCTCCGTTCCGTCATTACTTGGCAGCCGATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAACACAAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTACACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATCGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGCGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAGAGATTACAAGCTAATCTGGAA CGAGTCGTAGCATTGTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGTG TTTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAAGGCGTCATGGGAAGTATTGATCAGACTGTTCACC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPLIESDAGYLGGRHDISVRSLLGSRYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLLEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDLISKYAEDLIGDQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGVMGSIDQTVHH	
İzolat: Km-17-24 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185617

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTGATCGACAGCGACGCAGGATATTTA GGACGCAGGCACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCGATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAAATTTTCTTCCAAGTACTCTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGTAATTCAATGATTA ATGAGCACAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTACACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTGGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTCGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATTGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGTGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAGGCAAAAAGAGATTCACAACTAATCTGGAA CGAGTCGTAGCATTTGTAGCTCTTGTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGTG TTTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAGGGCGTCATGGGAAGTATCGATCAGACTGTTACC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPLIDSDAGYLRRRHDISVRSLLGSRKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTNFLPSTLKMFDMLIIFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKRRFKRLQVLY TRLLEKIGGTPADEFLEYVQGENPDLLKYAEDLIGDGQVVVHQKRDSQTNLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGVMSIDQTVHH	
İzolat: Or-17-07 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185618
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTGATCGACAGCGACGCAGGATATTTT GGACGCAGGCACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGTGGCCGATACAAACGCCTGAAA GACGCAATTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAAGTTTCTTCCAAGCACTCTTAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAACACAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTACACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATCGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGCGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCACAAGCTAATCTGGAA CGAGTCGTAGCATTTGTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGTG TTTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAGGGCGTCATGGGAAGTATTGATCAGACTGTTACC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPLIDSDAGYFRRRHDISVRSLLVCRYKRLKDAIRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKRRFKRLQVLY TRLLEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDLISKYAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGVMSIDQTVHH	
İzolat: Y-17-22 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185619
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTTCATCCCGAAAGACGCAGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GATGCGGTTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTTTGCAAAGCTATCGGGATTTCCACAAGTTTCTTCCAAGCACTCTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAGCACAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTACACGAGACTATCAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATATGTGCAAGGTGAAAATCCTGATCTATTGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGCGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCACAAGCTAATCTGGAA CGAGTCGTAGCATTTGTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGTG TTTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAGGGCGTCACGGGAAGTATTGATCAGACTGTCCACC CT	

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDAADLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDLLKYAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGVTSIDQTVHP	
İzolat: Y-17-11 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185620
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCGAAAGACGCAGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAACACAAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTACACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATCGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGCGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCACAAGCCAATCTGGA ACGAGTCGTAGCATTTGTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGC GTTTACAAAATCCTCAATCAGCTAAAAGGGGTCACGGGAAGTATTGATCAGACTGTTTAC CCT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDAADLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLLEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDLKSKYAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNQLKGVTSIDQTVHP	
İzolat: K-17-13 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185621
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCGAAAGACGCAGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAATTTTCTTCCAAGTACTCTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGTAATTCAATGATTA ATGAGCACAAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTACACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTGGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTCGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATTGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGTGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCACAACTAATCTGGAA CGAGTCGTAGCATTTGTAGCTCTTGTATGATGCTCTTTGATTTCGGAACGGAGTGATGGTG CTTACAAAATCCTCAATCAGCTAAAAGGGGTCACGGCAAGTATCGTTCGGACTGTTCCGC CT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDAADLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTNFLPSTLKMFDMLIIFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLLEKIGGTPTADEFLEYVQGENPDLLKYAEDLIGDGQVVVHQGKRDSQTNLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGAAYKILNQLKGVTSASIVRTVRP	
İzolat: K-17-33 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185622

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCGAAAGACGCAGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTTGTTTGTACACACACCAGTCGATGGGAAA GCTATTCTGCAAAGCTATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTCCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAACACAAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTGTACACGAGACTATTAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATATGTGCAAGGTGAGAACCCTGATCTATCGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGCGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCAAGCCAATCTGGA ACGAGTCGTAGCATTGTTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTCCGGAACGGAGTGATGGC GTTTACAAAATCCTCAATCAGCAAAAAGGGGTCACGGCAAGTATTGATCAGACTGTTCCG CCA	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDAADLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLLEKIGCTPTADEFLEYVQGENPDLISKY AEDLIGDQV VVHQSKRDSQANLERVVAFLAL VMMLFDSERSDGVYKILNQKGVASIDQTVRP	
İzolat: Sb-17-04 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185623
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCGAAAGACGCAGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTCGTCTGTTACACACACCAGTCGATGGGGAA GCTATTCTGCAAAGCTATTGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTTTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTTCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAGCACAAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTATACACGAGACTATCAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATACGTGCAAGATGAGAACCCTGATCTATTGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGAGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCAAGCTAATCTGGA ACGAGTCGTAGCATTGTTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTCCGGAACGGAGTGATGGT GTTTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAAGGCGTCATGGGAAGTATTGATCAGACTGTTTAC CAT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDAADLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFKRLQVLY TRLSEKIGCTPTADEFLEYVQDENPDLLKYAEDLIGDQV VVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGVMSIDQTVHH	
İzolat: Sb-17-06 (PPV-M)	GenBank Erişim Numarası: MT185624
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCGAAAGACGCAGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCATTACTTGGCAGCCAATACAAACGCCTGAAA GACGCAGTTCGGCGGAAAAGAGACGACGTCGTCTGTTACACACACCAGTCGATGGGGAA GCTATTCTGCAAAGCTATTGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTTTGAAGATGTTT GACATGCTCATCATATTTGGTCTTCTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAATTCAATGATTA ATGAGCACAAACATTTAAAGCAAGTTGCTGCCGATCGTGAAGATAAGAAAAGATTCAAG AGATTGCAGGTCTTATACACGAGACTATCAGAAAAGATTGGTTGCACACCAACAGCGGAT GAATTTCTTGAATACGTGCAAGATGAGAACCCTGATCTATTGAAATATGCAGAGGACTTG ATCGGAGATGGGCAAGTTGTTGTGCATCAAAGCAAAAAGAGATTCAAGCTAATCTGGA ACGAGTCGTAGCATTGTTAGCCCTTGTATGATGCTTTTTGATTCCGGAACGGAGTGATGGT GTTTACAAAATCCTCAATAAGCTTAAAGGCGTCATGGGAAGTATTGATCAGACTGTTTAC CAT	

EK 3 Dizilenen PPV izolatlarının dizi bilgisi ve erişim numaraları (devam)

Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDAADLGGRYDISVRSLLGSQYKRLKDAVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMFDMLIIFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQVAADREDKKRFRKRLQVLY TRLSEKIGCTPTADEFLEYVQDENPDLLKYAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGVMGSIDQTVHH	
İzolat: Bm-17-12 (PPV-D)	GenBank Erişim Numarası: MT185625
Nükleotid dizi bilgisi	
TCGCAGCGGTGGCGAAAACATATACCAAACCTTTCATCCCAAAGACGGCGCAGATTTA GGAGGCAGGTACGACATCTCCGTTCGGTCACTTACTTGGCAACCAGTACAAACGCCTGAGA GATGTAGTCCGACGGAAAAGAGACGATGTGGTTTGCTATACACCAGTCGATGGGGAA GCTATTTTGCAAAGCCATCGGAATTTCCACAAGTTTTCTTCCAAGCACTCTTAAAATGCTT GACATGCTCATCGTGTTCGGTCTCTTGCTTTCAATAGGAGCCACATGCAACTCAATGATCA ATGAGCATAAACATCTTAAGCAACTTGCCGCCGATCGGGAAGATAAGAAAAGGTTCAA AGATTGCAAGTCTTGTACACGAGGTTATCAGAGAAGGTTGGTTGCACACCAACAGCAGAT GAATTCCTGGAGTATGTGAGAGGTGAAAACCCTGATTTACTGAAACACGCAGAGGATCTA ATTGGGGATGGTCAAGTTGTTGTCCATCAAAGCAAGAGAGACTCACAAGCAAATTTGGAA CGGTTGTAGCATTTGTAGCTCTTGTTATGATGCTGTTTGACTCGGAGCGGAGTGACGGCG TGTACAAGATTCTGAATAAACTCAAAGGCATCATGGGGAGTGTTGACCAGGCTGTTTCATC AT	
Protein dizi bilgisi	
SQRWRKHIPKPFIPKDGADLGGRYDISVRSLLGNQYKRLRDVRRKRDDVVCYTHQSMGKLF CKAIGISTSFLPSTLKMMLDMLIVFGLLLSIGATCNSMINEHKHLKQLAADREDKKRFRKRLQVLY TRLSEKVGCTPTADEFLEYVRGENPDLLKHAEDLIGDGQVVVHQSKRDSQANLERVVAFVAL VMMLFDSERSDGVYKILNKLKGIMGSVDQAVHH	

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ali ÇELİK
Doğum Yeri : Senirkent /Isparta
Doğum Tarihi : 01.01.1990
Medeni hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Isparta ŞAİK Lisesi
Lisans : Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2012)
Yüksek Lisans : Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı (09.10.2012-14-09-2015).
Doktora: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı (Şubat 2016-Aralık 2020).

Çalıştığı Kurumlar ve yıl

Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2012-2015)
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2015-...)

Yayınlar (SCI)

Çelik, A., Ertunç, F. 2019. First report of prunus necrotic ringspot virus infecting apple in Turkey. Journal of Plant Pathology, 101(4), 1227-1227.
Çelik, A., Kavak, H. 2019. Investigation of Genetic Diversity in Apple Scab (*Venturia inaequalis*) Isolated from Two Different Geographical Areas of Turkey. Erwerbs-Obstbau, 61, 263-266.
Erdoğan, O., Çelik, A., Zeybek, A. 2016. In Vitro Antifungal Activity of Mint Thyme Lavender Extracts and Essential Oils on *Verticillium dahliae* Kleb. Fresenius Environmental Bulletin (25), 4856-4862.

Hakemli Dergiler

Koç, İ., Çelik, A., Durak, E. D., Demir, İ., Bayman, S., Mirtağoğlu, H., Demir, S. 2020. Bitlis İli Ceviz Yetiştiriciliği Yapılan Tarım Alanlarında Görülen Ceviz Antraknozu (*Ophiognomonina leptostyla*) Hastalığının Morfolojik ve Moleküler

Karakterizasyonu. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10(1), 28-38.

Yeken, M. Z., Özer, G., **Çelik, A.**, Çiftçi, V. 2019. Tescilli Fasulye Çeşitlerinin Pas (*Uromyces appendiculatus*) Etmenine Karşı Dayanıklılık Durumlarının SCAR Markörleri ile Belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 6(3), 410-416.

Koç, İ., Yardım, E. N., **Çelik, A.**, Mendeş, M., Mirtağoğlu, H., Namlı, A. 2018. Fındık Kabuklarından Elde Edilmiş Odun Sirkesi' nin In-Vitro Şartlarında Antifungal Etkisinin Belirlenmesi. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 7(2), 296-300.

Yeken, M. Z., Özer, G., **Çelik, A.**, Çiftçi, V. 2018. Türkiye' de Ticari Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşitlerinde Bean common mosaic virus ve Bean common mosaic necrosis virus Etmenlerine Dayanıklılıkla İlişkili Genlerin Karakterizasyonu. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 5(4), 613-619.

Çelik A., Karakaya, E. 2017. Bingöl İli Adaklı İlçesi Elma Üreticilerinin Tarımsal İlaç Kullanımında Bilgi Tutum ve Davranışlarının Değerlendirilmesi ve Ekonomik Analizi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi-Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences, 4(2), 119-129.

Erdoğan, O., **Çelik, A.**, Yıldız, Ş., Kökten, K. 2014. Pamukta Fide Kök Çürüklüğü Etmenlerine Karşı Bazı Bitki Ekstrakt ve Uçucu Yağlarının Antifungal Etkisi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 1(3), 398-404.

Uluslararası ve Ulusal toplantılarda sunulan bildiriler

Çelik, A. Kavak, H. 2017. Investigation of Genetic Diversity of Apple Scab Disease (*Venturia inaequalis*) Isolated from Two Different Geographies in Turkey. International Congress of Agriculture and Environment (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

Kavak, H., **Çelik, A.** 2017. Comparison of Some Morphological Characters of Apple Scab in Two Different Agricultural Ecologies of Turkey. VIII International Agriculture Symposium (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

Koç, İ., Yardım, E. N., **Çelik, A.**, Mendeş, M., Mirtağoğlu, H., Namlı, A. 2017. Determination of Antifungal Effect of Wood Vinegar Obtained from Hazelnut Shells Against Mold Factors in In Vitro Conditions.. IMESET'17 International Conference on Multidisciplinary, Science, Engineering and Technology (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

Tekin, F., **Çelik, A.**, Özer, G. 2017. Bolu İli Fasulye Ekim Alanlarından İzole Edilen *Pseudomonas* spp. ve *Xanthomonas* spp.'nin Multiplex PCR ile Tanısı. International Congress of Agriculture and Environment (Özet Bildiri/Poster).

Özer, G., **Çelik, A.**, Tekin, F., Bayraktar, H., Göre, M. E. 2017. Determination of genetic diversity of *Colletotrichum coccodes* isolates by using IPBS retrotransposon markers. 2nd International Balkan Agriculture Congress (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

Özer, G., Tekin, F., **Çelik, A.**, Bayraktar, H., Göre, M. E., Tsrör, L. 2017. Vegetative compatibility groups of Turkish isolates of *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of black dot on potato. 2nd International Balkan Agriculture Congress (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

Erdoğan, O., Göre, M. E., **Çelik, A.** 2014. Bazı Pamuk Çeşit Adaylarının *Verticillium Solgunluk Hastalığı* Etmeni *Verticillium dahliae* Kleb ne Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi. 5. Bitki Koruma Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).

