

**ISPARTA İLİ KIRAZ (*Prunus avium* L.) BAHÇELERİNDE
GÖRÜLEN FİZYOLOJİK SORUNLAR İLE VİRÜS
HASTALIKLARININ SAPTANMASI VE MÜCADELE
ÖNERİLERİ**

Nurten KÜÇÜKÇAKIR

Yüksek Lisans Tezi

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ÇITIR

2015

T.C
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ISPARTA İLİ KİRAZ (*Prunus avium* L.) BAHÇELERİNDE GÖRÜLEN FİZYOLOJİK
SORUNLAR İLE VİRÜS HASTALIKLARININ SAPTANMASI VE MÜCADELE
ÖNERİLERİ**

Nurten KÜÇÜKÇAKIR

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Ahmet ÇITIR

TEKİRDAĞ-2015

Her hakkı saklıdır.

Prof. Dr. Ahmet ÇITIR danışmanlığında, Nurten KÜÇÜKÇAKIR tarafından hazırlanan “Isparta İli Kiraz (*Prunus avium* L.) Bahçelerinde Görülen Fizyolojik Sorunlar İle Virüs Hastalıklarının Saptanması ve Mücadele Önerileri” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Ahmet ÇITIR

İmza:

Üye: Prof. Dr. Havva İLBAğI

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Zafer MAKARACI

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ISPARTA İLİ KİRAZ (*Prunus avium* L.) BAHÇELERİNDE GÖRÜLEN FİZYOLOJİK SORUNLAR İLE VİRÜS HASTALIKLARININ SAPTANMASI VE MÜCADELE ÖNERİLERİ

Nurten KÜÇÜKÇAKIR

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ÇITIR

Türkiye, Dünya’da kiraz (*Prunus avium* L.) üretimi ve kiraz ihracatı bakımında yıllara göre en önemli ülkelerden biri konumundadır. Isparta ise Türkiye’de gerek üretim ve gerekse ihraç edilen kiraz miktarları bakımından en başta gelen illerden birisidir. Isparta İli’ne bağlı Merkez ve Senirkent ilçelerinde kiraz üretiminin yoğun olarak yapıldığı kapama bahçelerde 2013 yılı üretim döneminde gözlemler ve sürvey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kirazın meyve veriminde ve kalitesinde kayıplara neden olan fizyolojik etmenler ile virüs hastalıklarını saptamak amacıyla farklı bahçelerdeki sistemik belirtiler sergileyen 107 adet ağaçtan yaprak örnekleri toplanmıştır. Özellikle yapraklarında, sarılık, kloroz, klorotik ve nekrotik lekeler, mozayik, şekil bozuklukları, solgunluk, sürgünlerde geriye doğru ölüm ve gövdede sakız salgısı belirtileri gösteren ağaçlardan örnekler alınmıştır. Alınan yaprak örneklerinde; *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Cherry leafroll virus* (CLRV) virüslerini saptamak üzere Double Antibody Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) testi uygulanmıştır. Yapılan testler sonucunda Isparta İli’nde sistemik belirtiler sergileyen kiraz ağaçlarından 107 adedinin 27 tanesinde % 25,24 oranında *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), 5 adedinde % 4,67 oranında *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) ve 3 adedinin de % 2,80 oranında *Cherry leafroll virus* (CLRV) ile enfekteli oldukları saptanmıştır. Isparta İli’nde yapılan bu

Çalışma sonucu sistemik olarak hastalanmış kiraz ağaçlarının 107 ağaçtan 35 adedinin % 32,71 oranında virüslerle enfekteli oldukları, geri kalanların ise bazı fizyolojik faktörlerden etkilendikleri tespit edilmiştir. Böylece semptomatik gözlemlere ek olarak serolojik testlerle virüslerin varlığı saptanmış olup gerek kiraz virüsleri ve gerekse stres faktörlerine karşı mücadele için önerilerde bulunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kiraz, *Prunus avium*, PNRSV, CLRV, ACLSV, ELISA

ABSTRACT

Master's Thesis

INVESTIGATION of PHYSIOLOGICAL DISORDERS and VIRUS DISEASES of SWEET CHERRY (*Prunus avium* L.) in ORCHARDS and SUGGESTIONS to CONTROL MEANS in ISPARTA PROVINCE of TURKEY

Nurten KÜÇÜKÇAKIR

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ÇITIR

Turkey has been the top producer and the most important exporter of sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit in the World. Isparta has been one of the important sweet cherry producer province in Turkey with exportable high quality fruit yield. Survey studies were conducted in sweet cherry orchards located in central and Senirkent Districts of Isparta Province during the production season of 2013. In order to determine and identify physiological disorders and virus diseases, 107 leaf samples were collected from symptomatic sweet cherry trees. Especially those trees revealing yellowing, chlorosis, chlorotic and necrotic leaf spots, mosaic, leaf distortions, wilt and die back symptoms of shoots and branches as well as gammosis on stem and trunks in different orchards. Leaf samples were obtained from infected trees were subjected to Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) tests by using antisera prepared against *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) and *Cherry leaf roll virus* (CLRV). As a result of DAS-ELISA tests 27 out of 107 (25,24 %) trees were found infected with ACLSV, 5 of them (4,67 %) had PNRSV and 3 out of 107 trees (2,80 %) revealed the presence of CLRV. So, totally 35 out of 107 sweet cherry trees with the rate of 32,71 % were found infected with virus diseases as rest of them exhibited the characteristic symptoms of

physiological disorders. So in order to get rid of sweet cherry virus diseases and physiological stress factors in orchards some control means were suggested.

Key words: Sweet cherry, *Prunus avium*, PNRSV, CLRV, ACLSV

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DAS-ELISA	Double Antibody Sandwich-ELISA
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
RNA	Ribonükleik asit
SBN	Sugar Beet Nematode
PBST	Fosfat Tuz Tampon Çözeltisi
HCl	Hidroklorik asit
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen sülfat
NaI	Sodyum iyodür
NaOAc	Sodyum asetat
EtOH	Ethanol
g	Gram
Mg	Miligram
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
nm	Nanometre
l	Litre
ha	Hektar
µl:	Mikrolitre
nm:	Nanometre
Mg:	Miligram
M :	Molar
ml:	Mililitre
PD	<i>Prune dwarf virus</i>
PNRSV :	<i>Prunus necrotic ringspot virus</i>
ACLSV :	<i>Apple chlorotic leaf spot virus</i>
CLRV :	<i>Cherry leaf roll virus</i>

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
3. MATERYAL ve METOT	13
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. Sürvey Çalışmaları.....	13
3.1.2. Kiraz Yaprak Örneklerinin Toplanması.....	14
3.1.3.DAS-ELISA Testinde Kullanılan Materyaller.....	14
3.2. Yöntem.....	15
3.2.1. Arazi Gözlemleri ve Enfekteli Bitki Materyallerinin Elde Edilmesi.....	15
3.2.2. Serolojik Test Yöntemi (DAS-ELISA Testi).....	15
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	19
4.1. Arazi Çalışmalarına İlişkin Bulgular.....	19
4.2. DAS-ELISA Test Sonuçları.....	27
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	30
6. KAYNAKLAR	32
7. TEŞEKKÜR	36
EK1	37
ÖZGEÇMİŞ	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1: Isparta İli'nde 2013 yılı kiraz bahçelerinde sürvey yapılan ve yaprak örnekleri alınan yerleşim birimleri.....	13
Şekil 3.2: Enfekteli bitki materyallerinin porselen havanlar içerisinde ezilerek bitki özularının elde edilmesi.....	17
Şekil 4.1: Yakaören Köyü Yayla Mevkii'de yer alan kiraz bahçesinde yapraklarda mozayik ve yapraklarda kıvrılma semptomlarının görünümü.....	19
Şekil 4.2: Isparta İli kiraz bahçelerinde yer yer sarılık (a), ağaçlarda şekil bozuklukları ile gerileme ve zayıflama, dallarda kuruma (b)	20
Şekil 4.3: Isparta İli kiraz bahçelerinde en karakteristik virüs semptomu olarak mozayik semptomunun tek yapraktaki görünümü.....	20
Şekil 4.4: Isparta İli kiraz bahçelerinde yapraklarda kıvrılma, şiddetli mozayik ve renk mozayik ve renk değişiminin görünümü.....	21
Şekil 4.5: Isparta İli Yakaören Köyü'nde <i>Prunus necrotic ringspot virus</i> (PNRSV) saptanan kiraz ağacında virüsün yapraklarda gösterdiği semptomlar.....	22
Şekil 4.6: Isparta Senirkent ilçesi Yassıören Köyü <i>Cherry leaf roll virus</i> (CLRV) saptanan kiraz ağaçlarında yaprakta görülen semptomlar.....	23
Şekil 4.7: Isparta İli Yakaören Köyü'nde <i>Cherry leaf roll virus</i> (CLRV) saptanan saptanan kiraz ağaçlarında yaprakta görülen semptomlar.....	23
Şekil 4.8: Isparta İli merkez köylerinde <i>Apple chlorotic ringspot virus</i> (ACLSV) saptanan kiraz ağaçlarında yaprakta görülen semptomlar.....	24
Şekil 4.9: Isparta İli merkez köylerinde <i>Apple chlorotic ringspot virus</i> (ACLSV) saptanan kiraz ağaçlarında yapraklarda görülen semptomlar.....	25
Şekil 4.10: Isparta İli merkez köylerinde <i>Apple chlorotic ringspot virus</i> (ACLSV) saptanan kiraz ağaçlarında yapraklarda görülen semptomlar.....	25
Şekil 4.11: Isparta İli merkez köylerinde <i>Apple chlorotic ringspot virus</i> (ACLSV) saptanan kiraz ağaçlarında yapraklarda görülen semptomlar.....	26
Şekil 4.12: ACLSV ile enfekteli pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü.....	29
Şekil 4.13: PNRSV ile enfekteli pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü.....	29

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1: 2012 yılında Dünya’da en çok kiraz üreten ilk 10 ülke sıralaması.....	2
Çizelge 1.2: Türkiye’de 2013 yılında en çok kiraz üretiminde bulunan ilk 10 il sıralaması.....	2
Çizelge 3.2: Isparta İli’nde kiraz üretim alanlarından toplanan yaprak örnek sayıları.....	15
Çizelge 4.1: ELISA reader’da okunan ACLSV, PNRSV, CLRV virüslerine ait absorbans değerler.....	27
Çizelge 4.2: Isparta İli kiraz üretim alanlarından toplanan yaprak örneklerinde DAS-ELISA testi sonuçlarına göre tanılanan virüslerin ilçelere göre dağılımı.....	28

1. GİRİŞ

Botanik taksonomide Rosaceae Familyası'nın *Prunus* cinsi içerisinde *Prunus avium* L. adı altında yer alan kiraz, ilk defa M.Ö. 300 yılında Eski Yunan Uygarlığı devrinde yaşamış Botanik ve Fitopatoloji Bilimi'nin babası sayılan Theophrastus tarafından tanımlanmıştır. Rener ve Southwick (1995) kirazın Gen Merkezi olarak Hazar Denizi ve Karadeniz çevresinde, Türkiye'yi de içine alan Ön Asya Bölgesi olduğunu bildirilmiş olup bu meyve türünün 16. Yüzyıldan itibaren Avrupa'ya daha sonra da Amerika ve diğer kıtalara yayıldığını ileri sürmüşlerdir. Kiraz diploid $2n=16$ kromozom çiftine sahip normalde 10-12 yıl bazı örnekleri ise 100 yıldan uzun yaşayan bir meyve ağaç türüdür. Tüm Dünya'da 200'den fazla çeşidi üretilen kiraz $7.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ altında 700-1400 saat arasında değişen bir soğuklama periyoduna ihtiyaç duyar. Kiraz ağaçlarının $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ kadar düşen don olaylarına karşı dayanıklı oldukları bildirilmiş ancak bundan daha düşük derecelerde ağaçların donarak kurudukları görülmüştür (Rener ve Southwick 1995). Dünya'da 2012 yılında 2 256 519 ton kiraz üretilmiş olup, bunun 480.748 tonu Türkiye'de üretilmiştir (FAO 2013).

Yıllara göre değişmekle birlikte Türkiye, Dünya kiraz üretiminde % 21,3 oranında bir paya sahip olup, bu miktar her yıl artış göstermektedir. Çizelge 1.1. incelendiğinde görüleceği gibi 2012 yılında Türkiye 480 748 ton kiraz üretimi ile birinci sıraya yükselmiştir (FAO 2013). Türkiye'de kiraz üretiminin yapıldığı en önemli illerden birisi Isparta olup, Çizelge 1,2'de görüldüğü gibi bu il Türkiye yıllık kiraz üretiminde % 8 oranında bir paya sahip olmuştur. 1998 yılında, Isparta İli'nde, toplam 1 968 ha kiraz bahçe sahasında yer alan 296 855 ağaçtan ancak 7 401 ton ürün elde edilmiştir. Yıllar içerisinde ilin kiraz üretimi artmış ve 2013 yılı verilerine göre toplam 5 143 ha genişliğe ulaşan kiraz bahçelerinden 31 732 ton ürün hasat edilerek Isparta Türkiye'nin en fazla kiraz üreten illerinden birisi olmuştur. Isparta İli kiraz üretiminin ilçelere göre dağılımına bakıldığında Isparta'nın Uluborlu, Senirkent ve Merkez ilçeleri en fazla kiraz üreten ilçeler olarak ön plana çıkmışlardır. Her kültür bitkisi gibi kirazda fizyolojik ve patojenik bitki hastalıklarına duyarlıdır. Olumsuz toprak ve iklim koşulları en önemli fizyolojik hastalık nedenleri yanında üreticilerin hatalı tarımsal uygulamaları da fizyolojik stres faktörleridir.

Çizelge 1. 1. 2012 yılında Dünya’da en çok kiraz üreten ilk 10 ülke sıralaması (FAO 2013)

Ülke Adı	Üretim Alanı (ha)	Birim Alanda Verim (kg/ha)	Üretim (Ton)
Türkiye	48 331	99 470	480 748
ABD	35 123	109 514	384 646
İran	29 000	68 966	200 000
İtalya	29 736	35 232	104 766
İspanya	24 000	41 000	98 400
Şili	15 500	58 065	90 000
Özbekistan	8 750	96 000	84 000
Suriye	29 674	27 749	82 341
Ukrayna	12 500	58 080	72 600
Rusya	16 000	45 000	72 000

Çizelge 1. 2. Türkiye’de 2013 yılında en çok kiraz üretiminde bulunan ilk 10 il sıralaması (TUIK 2013)

İl Adı	Toplu meyveliklerin alanı (ha)	Üretim (Ton)
Konya	6 534	49 893
İzmir	10 426	41 793
Manisa	9 734	34 993
Isparta	5 143	31 732
Bursa	5 102	31 453
Amasya	2 181	28 880
Kütahya	2 580	19 587
Çanakkale	1 671	17 837
Afyon	3 351	17 547
Kahramanmaraş	1 834	16 208

Türkiye’de üreticilerin hatalı tarımsal uygulamalarının başında fidanların aşu noktasına kadar derin dikilerek gövdenin de toprağa gömülmesidir. Bahçe, koru ve peyzaj alanları tesisinde fidanların derin dikilmesi nedeniyle çok fazla fidan kayıplarının oluşuna ilk defa Kuntay (1942) tanık olmuş ve fidan dikiminde kök boğazının gömülmesinin sakıncalarını açıklamıştır. Agrios (2005), fizyolojik bitki hastalık etmenleri olan stres faktörlerini ‘‘Bitki gelişimini destekleyen unsurların yokluğu ve fazlalığı’’ olarak tanımlamıştır. Diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi kirazın abiyotik hastalıklarında patojen bulunmamaktadır. Ancak abiyotik bitki hastalık nedenleri, sağlıklı kiraz fidanlarına taşınmaz ve böyle fizyolojik ve abiyotik hastalıklar kirazın fidan gelişimini sınırladığı gibi verime yatmış ağaçlarda verimi ve kaliteyi de olumsuz şekilde etkiledikleri görülmüştür. Olumsuz toprak koşullarından toprağın olumsuz fiziksel koşulları, Türkiye’deki meyve bahçelerinde en sık rastlanan olaylardır. Bunlar pulluk tabanı oluşumu, bazal kayanın ortaya çıkması ve taban suyu yüksekliğidir. Sulama suyuna kavuşan ve tarla arazisinde, kiraz bahçeleri tesis etmek isteyen her üretici ancak toprağın profilini alt üst edecek şekilde derin toprak işleme yapmak veya pulluk tabanını dip kazan yardımı ile patlatmak zorundadır. Ayrıca bazal kayanın sökülerek uzaklaştırılması, gerekirse sahaya toprak taşınarak fidan kök bölgesi hazırlanması gerekir. Yüksek taban suyunun araziden uzaklaştırılması için de drenaj sisteminin kurulması gereklidir. Meyve bahçelerinde toprağın olumsuz kimyasal koşulları, bitki besin elementi noksanlıkları veya fazlalıkları şeklinde ortaya çıkar. Aktaş ve Ateş (2005) kiraz ağaçlarında en sık rastlanan bitki besin elementi noksanlıklarının potasyum, magnezyum, demir, mangan ve çinko noksanlıkları olduğunu, bunların virüs hastalık belirtileri ile karıştırılabileceğini ileri sürmüşlerdir. Türkiye’de meyvecilik potansiyeli yüksek geçit bölgelerindeki illerde toprakta kireç fazlalığı sert çekirdekli meyvelerde demir, çinko, magnezyum ve mangan noksanlıklarına neden olduğu önemli bir gübreleme sorunudur. Öte yandan Ryugo (1995) olumsuz çevre koşullarından sık dikim ve aşırı gölgelenme yanında stabilize veya ham toprak yol kenarındaki bahçelere yol tozlarının, kireç ve çimento fabrikalarının bacalarından çıkan partiküllerin kiraz bahçelerine önemli derecede zarar verdiklerini dile getirmiştir. Ayrıca bazı herbisitlerin kiraz ağaçlarında demir magnezyum ve mangan noksanlıklarına benzer zararlar oluşturduğunu bildirmişlerdir. Ireland (2009) Küresel iklim değişikliğinin etkisi ile son yıllarda sert çekirdekli meyvelerde geç don zararlarına daha sık rastlandığını bildirmiş don ve dolu zararına karşı üreticilerin sigorta sistemine dahil olmaları önerilmiştir. Nitekim 29, 30 ve 31 Mart 2014 tarihlerinde Türkiye’de ülke çapında hüküm süren soğuklar sert çekirdekli meyvelerin çoğunda çağla dökümüne neden olmuştur. Söz konusu soğuklardan kirazlar ağaçları da etkilenmiş ve bu yılın verimi önemli ölçüde düşmüştür.

Etiolojik açıdan bitkilerde sistemik hastalıklara neden olan abiyotik stres faktörleri ve moleküler patojenlerden virüsleri Agrios (2005) Nükleoprotein, viroidleri ise Ribonükleik asit (RNA) molekülleri olarak tanımlamakta ve bitkisel üretim için en büyük tehdit olarak bu moleküler patojenleri göstermektedir. Çünkü virüsler gerek tek yıllık ve gerekse çok yıllık bitkilerde çok önemli epidemik hastalıklara neden olmaktadır. Bitki virüs hastalıklarının oluşturduğu belirtiler, olumsuz toprak ve iklim koşullarından kaynaklanan abiyotik stres faktörlerinin, bitki besin maddesi noksanlıkları ve fazlalıklarından kaynaklanan bozukluklarından sergiledikleri simptomlar, herbisitlerin, diğer pestisitlerin zararları, genetik bozukluklardan kaynaklanan belirtiler ile karıştırılabilir. Ayrıca fungal ve prokaryotik patojenlerin neden oldukları bazı hastalık belirtileri ile bu patojenlerin bitkilere salgıladıkları toksik biyokimyasal moleküller de bitkilerde virüs benzeri hastalık belirtileri oluşturmaktadırlar. Ancak virüslerin böyle toksik biyokimyasal moleküller salgılamaları söz konusu değildir. Virüslerin hastalıklara neden oluşları, hastalandırdıkları bitkilere toksik maddeler salgılaması şeklinde olmayıp bitki içerisinde kendi moleküllerini sentezleyerek çoğalmalarını sağlamalarındandır. Çünkü virüsler bitki hücrelerindeki aminoasitleri, nükleotidleri ve diğer azot içeren bileşikleri kullanarak ve hücre metabolizmasını kendi sentezleri için uyarlayarak ve çoğalarak hücrenin içini tamamen doldurmaları sonucu hücrenin yaşamsal faaliyetlerini olumsuz şekilde etkilemelerindedir. Aynı patolojik olaylar kirazlarda görülen virüs hastalıkları için de geçerlidir. Nitekim kiraz ağaçları maruz kaldıkları stres faktörleri nedenleri ile sakız salgılamakta ve Gammosis kiraz ağaçlarının en tipik hastalık belirtileri olarak dikkati çekmektedir.

Brunt ve ark. (1995)'nin yaptıkları derlemede, kiraz başta olmak üzere sert çekirdekli meyvelerde hastalıklara neden olan, *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Cherry leaf roll virus* (CLRV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) ve *Prune dwarf virus* (PDV) virüslerinin, bulunuşları, bahçe koşullarında taşınma şekilleri, oluşturdukları karakteristik simptomlarını, virüslerin fiziksel ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı bir şekilde açıklamışlardır.

Ogawa ve ark. (1995) bahçe koşullarında kiraz ağaçlarında görülen 16 virüsün hastalığını taşınma şekillerine göre sıralamak suretiyle bulunuşlarını, belirtilerini, patojen virüsün özelliklerini, hastalık seyri ve mücadelesi sırasına göre tanımlamışlardır. Ayrıca etmenlerinin virüs olduğundan şüphe ettikleri ancak sadece aşı gözü ve aşı kalemi yolu ile taşınan sekiz farklı kiraz hastalığının da adını listelemişlerdir. Bu hastalıklardan birisi de Amasya Kiraz Hastalığı'dır. Blodgett ve ark. (1970), Çıtır (1987), Açık göz ve ark.(1994)

tarafından tanımlanan ve bir virüs hastalığı olduğu ileri sürülen bu kiraz hastalığının virüsü, Covelli ve ark. (2000) tarafından tanımlanmıştır. Amasya Cherry disease associated chrysovirus (ACDACV) olarak virüs taksonomisinde yer almıştır (King ve ark. 2012).

Miller (1966) sert çekirdekli meyve türleri arasında kirazın deneysel olarak en az 43 farklı virüs türüne duyarlı olduğunu listelemiştir. Nitekim Anonim (2001) kiraz bahçelerinde entegre mücadele teknik talimatı hazırlandığında kirazda 16 farklı türde zararlı, 9 önemli hastalık ve 21 yabancı ot türünün mücadelesi önerilmiştir. Bu hastalıklardan 3 adedi ise virüs hastalıkları olarak değerlendirilmiştir. Öte yandan halen yürürlükteki Zirai Mücadele Teknik Talimatları Anonim (2008)'e göre ise bu hastalık ve zararlıların ötesinde virüs hastalık sayısının 4'e çıktığı ve mücadele programlarının genişletildiği görülmüştür. Türkiye'de ve Dünya'da varlığı sadece Amasya'da Blodgett ve ark. (1970) tarafından saptanan Amasya Kiraz Hastalığı iç karantina önlemleri sayesinde Amasya dışında başka illere yayılmamış olup, Amasya Kiraz Hastalığı etmeni de bir virüs olarak tanımlanmış ve üzerinde durulması gereken bir fitopatolojik sorun haline gelmiştir.

Türkiye'nin Dünya çapında marka konumuna gelmiş olan 0900 Ziraat kiraz çeşidinin, yeni çeşitlerinin ıslahı ile desteklenmesi yerinde olacaktır. Kiraz üretimi ve ihracatı bakımından Türkiye'nin en ön sırada olması bu meyve türünün üzerinde bilimsel araştırmalar yapılmasını, verim ve kaliteyi olumsuz yönde etkileyecek her türlü hastalık ve zararlı olayına da mücadele programları hazırlamak ve yürütmek gerekir. Nitekim Türkiye'de şimdiye kadar yapılan kiraz virüs hastalık araştırmaları Blodgett ve ark. (1970) tarafından Amasya Kiraz Hastalığı üzerinde başlatılmış Kurçman (1977) tarafından Afyonkarahisar İli'ndeki kiraz ve vişne bahçelerinde devam ettirilmiştir. Simptomatolojik gözlemlere, indikatör test bitkilerine yapılan mekaniksel inokulasyon testlerine dayalı biyolojik özelliklerine göre Afyon İli'nde kiraz ve vişne ağaçlarında *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Prune dwarf virus* (PDV) ve *Cherry rasp leaf virus* (CRLV) virüslerinin bulunduğunu bildirmiştir. Ayrıca *Raspberry ringspot virus* (RRSV) ve *Prune dwarf virus* (PDV)'in ortak enfeksiyonu veya Arabis mosaic virus (ArMV) ve *Prune dwarf virus* (PDV)'in ortak enfeksiyonu olarak yorumladığı *Preffinger* virüs hastalığının bulunduğuna işaret etmiştir. Öztürk ve ark. (2011) Isparta'nın kiraz üretiminde ön plana çıkan ilçelerinden Keçiborlu ve Uluborlu kiraz bahçelerinde serolojik DAS-ELISA ve moleküler RT-PCR testleri uygulanarak *Prune dwarf virus* (PDV)'nin varlığını saptadıktan sonra Öztürk ve Çevik (2012) yine aynı ilçelerde kiraz ağaçlarında *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV)'nin varlığını saptamışlardır. En son

Öztürk ve Çevik (2014) tarafından PDV ve ACLSV ek olarak Isparta'da *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) tanılanmıştır. Böylece Isparta'nın Keçiborlu ve Uluborlu kiraz bahçelerinde adı geçen üç virüsün bulunduğu saptanmıştır. Isparta'nın Merkez, Gönen ve Senirkent ilçelerindeki kiraz bahçelerinde bu çalışma başlatılarak kirazda meyve verimini ve kalitesini olumsuz yönde etkileyen fizyolojik stres faktörlerine ek olarak virüsleri de araştırılmıştır.

Türkiye'nin kiraz üretiminde, önemli bir yere sahip olan Isparta İli'nde ihraç edilecek kalitede ürün elde edilmesine engel olan fizyolojik kiraz hastalıkları ile sistemik virüs hastalıklarını araştırmak bu çalışmanın öncelikli amacını oluşturmuştur. Gerek fizyolojik gerekse virüs hastalıkları ile mücadele için uygulanabilir yöntemlerin önerilmesi bu çalışmanın bir başka amacını oluşturmuştur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

George ve Davidson (1963) kiraz dahil olmak üzere sert çekirdekli meyvelerde sistemik hastalıklara neden olan *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV)'nin tohum ve polen ile taşındığını, bu taşınma şeklinin adı geçen virüsün meyve bahçelerinde çok hızlı bir şekilde yayılmasına neden olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Swenson ve Milbroth (1964) *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV)'nin taşınmasında bilinen bir vektör böceğinin olmadığını bildirmişlerdir.

Miller (1966) sert çekirdekli meyve türleri arasında kirazın deneysel olarak en az 43 farklı virüs türüne duyarlı olduğunu listelemiştir. Bunlardan arasında *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) ve *Cherry leaf roll virus* (CLRV) virüsleri de yer almıştır.

Megahed ve Moore, (1967) *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV)'nin *Prunus* türlerinde tohumla taşınma oranının, türe bağlı olarak % 70'e kadar ulaşabildiğini bildirmişlerdir.

Neyland ve ark. (1976) PNRSV'ün bahçe koşullarında, sert çekirdekli meyve ağaçlarında, ekonomik açıdan en önemli virüslerden birisi olduğunu ve sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinin yapıldığı Dünya'daki her yerde görülmekte olduğunu bildirmişlerdir. Yetiştiriciliği yapılan tüm *Prunus* meyve tür ve çeşitlerinin bu hastalık etmeni PNRSV'nün en az bir veya daha fazla ırkına duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Virüsün genel belirtileri; yapraklarda klorozlar, nekroz, yaprak deformasyonu ve gelişme geriliği olarak sıralanmıştır. Klorozların çizgi, halka, bant, leke ya da mozaik görünümünde olabilecekleri rapor edilmiştir. Gözler, yapraklar ve dallar üzerinde nekrotik alanlar oluşabileceğini bildirmişlerdir.

Kurçman (1977) Simptomatolojik gözlemlere, indikatör test bitkilerine yapılan mekaniksel inokülasyon testlerine dayalı biyolojik özelliklerine göre Afyon İli'ndeki kiraz ve vişne ağaçlarında *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Prune dwarf virus* (PDV) ve *Cherry rasp leaf virus* (CRLV) virüslerinin bulunduğunu bildirmiştir. Ayrıca *Raspberry ringspot virus* (RRSV) ve *Prune dwarf virus* (PDV)'in ortak enfeksiyonu veya *Arabis mosaic*

virus (ArMV) ve *Prune dwarf virus* (PDV)'in ortak enfeksiyonları sonucu oluştuğunu ileri sürdüğü *Preffinger* virüs hastalığının bulunduğuna işaret etmiştir.

Nemeth (1986) *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) ve *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV)'nin sert çekirdeklielerde ekonomik açıdan en önemli virüsler arasında yer aldığını bildirerek neden oldukları zararın boyutu meyvenin türü ve çeşidine, virüs ırkının saldırganlığına, karışık enfeksiyon durumlarında ise virüs kombinasyonlarına göre değişmekte olduğunu bildirmiştir. ACLSV konukçuları arasında Rosaceae familyasına ait tüm meyve ağaçlarından elma, armut şeftali, erik, kiraz, kayısı ve diğer türleri enfekte edebileceğini ileri sürmüştür.

Cole ve ark. (1982) yazarlar bu makalede *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV)'nin kirazlarda ve badem ağaçlarında polen ile taşındığını saptamışlardır.

Ong (1987) *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) Bromoviridae familyasına bağlı Ilarvirus cinsine mensup bir tür olduğunu PNRSV'nin izometrik partikülleri yaklaşık olarak 23-27 nm arasında değişen çapta tek sarmal ssRNA molekülü içeren bir virüs olduğunu bildirmiştir.

Dunez (1988) Türkiye'nin de yer aldığı Akdeniz ve yakın doğu ülkelerinin sert çekirdekli meyvelerin üretiminde son derece önemli bir potansiyel taşıdığı ancak başta virüsler olmak üzere sistemik hastalıklar bakımından da en duyarlı konukçuların *Prunus* meyve tür ve çeşitleri olduğunu dile getirmiştir. Sert çekirdekli meyve virüs hastalıklarının bahçe sahipleri için yıkıcı olduğunu, bu hastalıklara karşı tesis aşamasında sertifikalı, virüslerden arı fidan üretiminin ve kullanımının önemine değinmiştir. Ayrıca virüsten arı bitkilerin kültürü ve üretiminin veya sanitasyonunun başarısı mevcut virüs kaynaklarının varlığına, vektörlerin bulunuşuna ve etkisine, ülkede enfeksiyonun genel seviyesine ve çevre faktörlerine bağlı olduğunu, sert çekirdekli meyve ağaçlarında bulunan birçok virüsün doğal olarak çiçek tozu, yaprak bitleri ve nematodlarla taşındığını bildirmiştir.

Dunez (1990) Kültür bitkilerinin çoğunda olduğu gibi sert çekirdekli meyve ağaçlarında da virüs hastalıklarından dolayı zararlar meydana geldiği ve ürün kaybı olduğunu bildirmiştir. Bugüne kadar sert çekirdekli meyve ağaçlarını etkileyen 150'den fazla virüs, viroid, Pyhtoplasma, göz ve kalem aşısı ile taşınabilen virüs ve virüs benzeri etmenin rapor

edilmiş olduğunu da açıklamıştır. Ağaçların sürgünlerinde epinasti, yapraklarda kırışıklık ve enasyonların da sistemik kiraz hastalık belirtileri arasında yer aldığı bildirilmiştir. Ayrıca, nekrozların genellikle şiddetli bir enfeksiyonu takiben gelişmenin ilk evrelerinde gözlemlendiği ve yapraklar dahil olmak üzere dal ve sürgünleri etkilediğini gözlemlemiştir.

Uyemoto ve Scott (1992) Kimyasal mücadelede yanlış ilaç kullanımı veya virüs haricindeki patojenlerin de virüs benzeri belirtiler oluşturabildiğini, bu nedenle belirtilmolojik tanıya ek olarak serolojik ve biyolojik testlerin yapılmasının gerekli olduğunu bildirmişlerdir.

Martelli ve ark. (1994) Her ne kadar yumuşak çekirdekli meyvelerde yaygın olduğu bilinen *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV)'nin kiraz başta olmak üzere sert çekirdekli meyvelerde de enfeksiyonlara neden olduğunu ve bu virüsün *Flexiviridae* familyasının *Trichovirus* cinsinin bağlı bir virüs türü olduğunu bildirmişlerdir.

Knapp ve ark. (1995) Halen sert çekirdekli meyve türlerinde yaygın biçimde virüs teşhisinde kullanılan ELISA yönteminin, belirtilmatik olmayan ve karakteristik sistemik belirtiler göstermeyen ağaç yapraklarında kullanıldığında bazen yanıltıcı negatif sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Brunt ve ark. (1996) yaptıkları derlemede, yumuşak çekirdekli meyvelerde olduğu gibi sert çekirdekli bir meyve türü olan kirazlarda da hastalıklara neden olan, *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV)'un bulunuşu, bahçe koşullarında taşınma şekilleri, oluşturdukları karakteristik belirtilmelerini, bu virüsün fiziksel ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı bir şekilde açıklamışlardır. Ayrıca kiraz ağaçlarında hastalıklara neden olan *Cherry leaf roll virus* (CLRV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) ve *Prune dwarf virus* (PDV) virüslerinin de bulunuşları, bahçe koşullarında taşınma şekilleri, oluşturdukları karakteristik belirtilmelerini, virüslerin fiziksel ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı bir şekilde açıklamışlardır. *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV) virionlarının esnek çubuk formunda olduklarını ve partikül boyutlarının 720 x 12 nm boyutlarında olduklarını saptamışlardır.

Scott ve ark. (1997) *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) 'nin RNA 3' nün tamamlayıcı sekansının primerlerini farklı konukçu türleri ve coğrafi bölgelerden çıkarılan PNRSV'nin 3 farklı izolatlarının hareketli ve kılıf proteinlerinin her ikisinin amplifikasyonu

için kullanılmıştır. PNRSV'nin bildirilen diğer sekansları yakın akraba olan *Arabis mosaic virus* (ApMV) ile karşılaştırıldığında, PNRSV izolatlarında kılıf ve hareketli proteinler için ana konukçu veya coğrafi bölgenin önemli olmadığını göstermişlerdir.

Elibüyük (1998) Malatya ili kayısı bahçelerinde yaptığı çalışmada *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV) virüsünün bulunduğunu kanıtlamıştır.

Aparicio ve ark. (1999) Farklı sert çekirdekli meyvelerdeki *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV)'nin izolatları arasındaki moleküler farklılığın araştırıldığı çalışmada, izolatların çoğu üç farklı restriksiyon enzim kombinasyonu kullanılarak ayırt edilmiştir. Bu izolatların 15'inin RNA 4'ünün nükleotid sekansı belirlenmiş ve yapılan analizler sonucu hepsinin 3 farklı grupta toplandığı bildirilmiştir.

Sipahioğulları ve ark. (1999) Doğu Anadolu Bölgesi'nin Iğdır, Elazığ, Malatya ve Erzincan illerinde yaptıkları çalışmalarında *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV) virüsünün yaygın olduğunu belirlemişleridir.

Ulubaş ve Ertunç (2004a) Türkiye'nin sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinin yapıldığı farklı bölgelerindeki fidanlıklar ile meyve bahçelerinde bulunan erik, kayısı, nektarin, şeftali, kiraz ve vişne ağaçlarından yaptıkları örneklemelerde 486 bitkisel materyalde *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV)'nin varlığını araştırmak üzere serolojik ve moleküler test yöntemlerini mukayese etmişlerdir. Örneklerdeki PNRSV enfeksiyonunu belirlemek için tüm örnekler RT-PCR testleri sonucunda, 51 örneğinin PNRSV ile enfekteli olduğu belirlenirken DAS-ELISA ile sadece 31 örneğin enfekteli olduğunu saptamışlardır. Çalışmada uygulanan moleküler testler ve analizleri sonucunda farklı coğrafik lokasyonlardan temin edilen PNRSV izolatları arasında herhangi bir ilişki olmadığını da tespit etmişlerdir.

Ulubaş ve Ertunç (2004 b) Araştırmacılar bu çalışmada Türkiye'nin değişik illerindeki semptomatik kiraz, şeftali, nektarin, kayısı, erik ağaçlarından topladıkları 369 yaprak örneğinde *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) virüsünü araştırmışlardır. Adı geçen virüsün Isparta İli'ndeki sert çekirdekli diğer meyvelerde ve kirazda % 6,25 oranında yaygın olduğunu saptamışlardır.

Sipahioğlu ve ark. (2004) Van ve civarındaki sert çekirdekli meyve bahçelerinde görölen viral ve fungal hastalıkları araştırmışlar ve bölgede *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) ve *Prune dwarf virus* (PDV) enfeksiyonları tespit etmişlerdir.. ELISA testleri ile ortaya konan virüslerden biri olan PDV'nin neden olduğu enfeksiyon oranı kayısıda %0,6, kirazda %7,1 ve vişnede ise %31,2 olarak belirlenmiştir. ACLSV enfeksiyonuna sadece şeftalilerde %39,1 oranında saptanmış olup, kirazlarda bu virüs hastalığı görölmemiştir.

Ulubaş ve ark. (2008) Afyon, Ankara, Amasya, Burdur, Çanakkale, Isparta, İzmir, Tokat ve Yalova illerini kapsayan çalışmalarında kiraz, şeftali, nektarin, kayısı ve erik örneklelerini DAS-ELISA ve “reverse transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tekniği ile toplam 240 ağaçtan alınan yaprak örnekleleri test edilmiştir. Sonuçta ağaçların % 31,7 oranında *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Plum pox virus* (PPV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Prune dwarf virus* (PDV) ile tekli veya çoklu olarak enfekteli olduklarını tespit etmişlerdir.

Yavaş Gören (2009) Türkiye’de Tekirdağ İli’nde yeni tesis edilen kiraz ve ceviz bahçelerinde fidanların ortalama 22 cm derin dikildiği ve kök boğazının ağır killi tarım topraklarında kısa sürede patojenlerin saldırısına uğradığı, böylece yıllar içerisinde dikim hatası nedeni ile fidanların kuruduğu, kurulan bahçe tesislerinin başarısız olduğunu kanıtlamıştır.

Öztürk ve Çevik (2012) Isparta’nın kiraz üretiminde ön plana çıkan ilçelerinden Keçiörlü ve Ulubörlü kiraz bahçelerinde serolojik DAS-ELISA ve moleküler RT-PCR testleri uygulanarak *Prune dwarf virus* (PDV)’nin varlığını saptadıktan sonra yine aynı ilçelerde kiraz ağaçlarında *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) ‘nin varlığını saptamışlardır.

King ve ark. (2012) Uluslararası Virüs İsimlendirme ve Taksonomi Komitesi (I.C.T.V.) adına hazırladıkları dokuzuncu raporda *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV)’nin Bromoviridae familyasının Ilarvirus cinsi içerisinde yer vermişlerdir. *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) ‘ne Betaflexiviridae familyasının Trichovirus cinsi içerisinde ve *Cherry leaf roll virus* (CLRV)’nin ise Secoviridae familyasının Nepovirus cinsi içerisinde sınıflandırmışlardır.

Öztürk ve Çevik (2014) daha önceki çalışmalarının devamı olarak araştırıcılar sundukları bildiride Isparta İli kiraz bahçelerinde *Apple mosaic virus* (ApMV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Prune dwarf virus* (PDV), *Plum pox virüs* (PPV) ve *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV)virüslerinin varlığını araştırmışlardır. Serolojik ve moleküler testler ile yaptıkları bu çalışma sonucunda PDV, PNRSV ve ACLSV virüslerini değişik oranlarda saptamışlardır. PPV ve ApMV virüslerine ise rastlamamışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Sürvey Çalışmaları

Isparta İli'nde Şekil 3.1.'de kiraz üretimi yapılan bahçelerde abiyotik ve fizyolojik kiraz hastalıklarını saptamak için gözlemler yapılmıştır. Karakteristik sistemik hastalık belirtileri sergileyen kiraz ağaçlarından yaprak örnekleri toplanmıştır. *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Cherry leafroll virus* (CLRV) hastalıklarını saptamak amacıyla 2013 yılı Temmuz ve Ağustos aylarında sürveyler yapılmıştır. Sürvey çalışmaları Isparta ili merkeze bağlı köylerinden Senirce, Küçükgökçeli, Yakaören, İslamköy ve Isparta ilçesi olan Senirkent merkez ve Yassıören köyünde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Isparta İli'nde 2013 yılı kiraz bahçelerinde sürvey yapılan ve yaprak örnekleri alınan yerleşim birimleri

3.1.2. Kiraz Yaprak Örneklerinin Toplanması

Çalışma alanını kapsayan Senirkent ilçesi merkez ve Yassıören köyü ile Isparta'nın İslamköy, Senirce, Küçükgökçeli ve Yakaören olmak üzere 4 merkez köyünde kiraz üretimi yapılan bahçelerde; sarılık, nekroz, mozayik ve şekil bozukluğu semptomları sergileyen 107 adet kiraz yaprak örnekleri toplanmıştır. Toplanan enfekteli yaprak örnekleri etiketli polietilen torbalara konularak buz kutusu içerisine yerleştirilmiş ve yapılan sürveyler sonrasında laboratuvara getirilmiştir. Toplanan yaprak materyalleri serolojik testler uygulanıncaya kadar -20 °C'de çalışan derin dondurucuda muhafaza edilmişlerdir. Sürveyler esnasında toplanılan yaprak örnekleri serolojik testlerde materyal olarak kullanılmıştır.

3.1.3. DAS-ELISA Testinde Kullanılan Materyaller

Sürvey alanından toplanan 107 adet kiraz yaprak örnekleri DAS-ELISA testinde materyal olarak kullanılmıştır. DAS-ELISA testinde *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Cherry leafroll virus* (CLRV) hastalıklarına karşı hazırlanmış poliklonal antiserumlar, pozitif ve negatif kontroller SEDIAG (Longvic – FRANCE) firmasından temin edilmiştir.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Arazi Gözlemleri ve Enfekteli Bitki Materyalinin Elde Edilmesi

Isparta ili kiraz üretim alanlarında üretimin yoğun olarak gerçekleştirildiği ilçe ve köylerde yapılan arazi çalışmalarında, bahçe içerisine köşegenler doğrultusunda girilerek simptom gösteren kiraz ağaçlarından yaprak örnekleri toplanmıştır. Arazi çalışmalarında Isparta'nın Senirkent ilçesi merkez ve Yassıören köyü ile Isparta'nın merkez köylerinden İslamköy, Senirce, Küçükgökçeli ve Yakaören kiraz üretim alanlarında gözlenen belirtiler yer yer sarılık, mozayik, nekrotik lekeler ve şekil bozuklukları şeklinde tanımlanabilecek hastalıktan dolayı verim kayıpları görülmüştür. Bu doğrultuda arazi çalışmalarında çalışma kapsamı içerisinde yer alan kiraz üretim alanlarından toplanan yaprak örneklerinin dağılımı Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Isparta İli'nde kiraz üretim alanlarından toplanan yaprak örnek sayıları

İlçe Adı	Köy Adı	Toplanan Örnek Sayısı
Merkez	Yakaören	70
Merkez	Küçükgökçeli	2
Merkez	İslamköy	6
Senirkent	Merkez	12
Senirkent	Yassıören	13
Gönen	Senirce	4
3 ilçe	6 yerleşim birimi	107 örnek

3.2.2. Serolojik Test Yöntemi (DAS-ELISA Testi)

Sürvey alanından toplanan simptom gösteren 107 adet kiraz yaprak örnekleri DAS-ELISA testine tabi tutulmuştur. Toplanan yaprak örneklerinde; *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple chlorotic leaf spot virüs* (ACLSV), *Cherry leafroll virüs* (CLR) hastalıklarının varlığını saptamak üzere Clark ve Adams (1977)'in temel alındığı yöntemde

gerçekleştirilen Double-antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) testi, antiserumların temin edildiği SEDIAG firmasının önerdiği prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre;

- Kaplama tampon çözeltisi içerisinde 1/100 oranında seyreltilen antibadiler ELISA platelerinin her bir çukuruna 100 µl konulmuş ve nemli bir kutu içerisine yerleştirilen plateler 37 °C’de çalışan inkübatörde 2 saat süre ile inkübe edilmiştir.

- Inkübasyondan sonra plateler içerisindeki sıvı boşaltılmış ve yıkama tampon çözeltisi (1x PBST) ile 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Çalışma materyali olarak toplanan kiraz yaprak örnekleri steril porselen havan içerisinde 1/10 oranında ekstraksiyon tampon çözeltisi eklemek suretiyle ezilmiş ve bitki özuları elde edilmiştir.

- Cam tüpler içerisine konulan ekstraktlar karıştırılmak suretiyle ELISA platelerinin her bir çukuruna 100 µl’lik miktarlarda ve iki tekerrürlü olacak şekilde konulmuştur. Her bir virüse ait pozitif ve negatif kontroller de 100 µl’lik miktarlarda ELISA platelerinin sol çukuruna iki tekerrürlü olacak şekilde yerleştirilmiş ve ELISA plateler nemli bir kutu içerisine konularak +4 °C’de bir gece inkübe edilmişlerdir.

- Inkübasyondan sonra bitki ekstraktları boşaltılmış ve 5 kez yıkama tampon çözeltisi (1x PBST) ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Enfekteli bitki materyallerinin porselen havanlar içerisinde ezilerek bitki özsularının elde edilmesi

- Enzim konjugat, 1/100 oranında konjugat tamponu ile seyreltilmiş ve 100 µl'lik miktarlarda platelerin her bir çukuruna konulmuştur. Nemli kutu içerisine yerleştirilen plateler

37 °C'de çalışan inkübatörde 2 saat süre ile inkube edilmişlerdir. Inkubasyon süresi sonunda plateler yıkama tampon çözeltisi (1x PBST) ile 5 kez yıkanmıştır.

- Substrat tamponu ile 1 mg/ml p-nitrophenyl phosphate 100 µl'lik miktarlarda platelerin çukurlarına konulmuş ve 37 °C'de inkübatöre edilmişlerdir.

- Sonuçlar 60-120 dakika sonunda ilk olarak görsel daha sonra da ELISA okuyucusu (Thermo-Multiskan FC)'nda 405 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri okunarak değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Arazi çalışmalarına İlişkin Bulgular

Şekil 3.1.'de gösterilen ve Çizelge 3.2.'de isimleri listelenen Isparta İli kiraz üretimi yapılan ilçelerde gerçekleştirilen sürvey çalışmalarında 107 adet kiraz ağacında gözlemler yapılarak sistemik hastalıklar saptanmıştır. Bunlardan Şekil 4.1.'de görüldüğü gibi genç yapraklarda mozaik ve gelişmiş yapraklarda kıvrılmalar belirlenmiştir. Bu bulgular Agrios (2005), Aktaş ve Ateş (2005) tanımladıkları abiyotik hastalık belirtileri ile de örtüşmektedir.



Şekil 4.1. Yakaören Köyü Yayla mevkiinde yer alan kiraz bahçesinde yapraklarda mozaik ve yapraklarda kıvrılma belirtilerinin görünümü



(a)



(b)

Şekil 4.2. Isparta ili kiraz bahçelerinde yer yer sarılık (a), ağaçlarda şekil bozuklukları ile gerileme ve zayıflama, dallarda kuruma (b)



Şekil 4.3. Isparta İli kiraz bahçelerinde en karakteristik virüs belirtisi olarak mozayik belirtinin tek yapraktaki görünümü

Şekil 4.2.'de görüldüğü gibi Isparta İli kiraz bahçelerinde yer yer sarılık (a), ağaçlarda şekil bozuklukları ile geriye doğru ölüm ve dallarda kuruma (b) belirtileri de gözlenmiştir. Kiraz ağaç ve fidan kurumaları bazı bahçelerde fidan dikim hatalarının olduğuna işaret etmiş olup, Kuntay (1942) ve Yavaş Gören (2009)'un saptamış olduğu ağır killi topraklarda derin dikim hatalarını göstermektedir. Ancak Isparta ili kiraz bahçelerindeki toprak yapısının tınlı-kumlu tekstürde olması fidan kurumalarından ziyade ağaç kurumaları şeklinde gecikmeler ortaya çıkarmıştır. Şekil 4.3.'de görüleceği gibi açık ve koyu yeşil renklerin iç içe geçtiği kiraz yapraklarında sistemik mozayik belirtileri en sık rastlanan belirtiler olarak dikkati çekmiştir.



Şekil 4.4. Isparta İli kiraz bahçelerinde yapraklarda kıvrılma, şiddetli mozayik ve renk değişiminin görünümü



Şekil 4.5. Isparta ili Yakaören köyünde *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) saptanan kiraz ağacında virüsün yapraklarda gösterdiği belirtiler

Şekil 4.4.'de görüleceği gibi belirtiler yaşlı yapraklardan ziyade genç ve körpe yapraklarda ortaya çıkmaktadır. Öte yandan saptanan virüslere özgü karakteristik belirtiler enfekteli ağaçlarda daha çarpıcı belirtilerin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Nitekim Şekil 4.5.'de görüleceği gibi PNRSV virüsünün karakteristik belirtileri Yakaören köyündeki bir ağaçta gözlenmiştir. Böylece Kurçman (1977)'nin Afyon kiraz bahçelerinde, Sipahioğlu ve ark. (2004) Van ve çevresinde, Ulubaş ve Ertuç (2004)'un Türkiye'nin kiraz üreten illerinde, Öztürk ve Çevik (2014)'in daha önce Isparta kiraz bahçelerinde saptamış oldukları PNRSV virüs enfeksiyonunun varlığını doğrulamıştır.



Şekil 4.6. Isparta Senirkent ilçesi Yassıören köyü *Cherry leaf roll virus* (CLRV) saptanan kiraz ağaçlarında yaprakta görülen belirtiler



Şekil 4.7. Isparta İli Yakaören köyünde *Cherry leaf roll virus* (CLRV) saptanan kiraz ağaçlarında yaprakta görülen belirtiler

Şekil 4.6’da görüldüğü gibi yaprakların kıvrılmasına neden olan *Cherry leaf roll virus* (CLRV) virüsünün genç yapraklarda başladığı Şekil 4.7’de görüleceği gibi de olgun yapraklarda kıvrılmanın ortaya çıktığı dikkati çekmiştir. Bu gözlem sonuçları Brunt ve ark. (1996), Anonim (2001) ve Anonim (2008)’de tanımlanan CLRV enfeksiyonunun Isparta kirazlarında da bulunduğunu kanıtlamıştır.



Şekil 4.8. Isparta ili merkez köylerinde *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV) saptanan kiraz ağaçlarında yapraklarda görülen belirtiler



Şekil 4.9. Isparta ili merkez köylerinde *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV) saptanan kiraz ağaçlarında yaprakta görülen belirtiler



Şekil 4.10. Isparta ili merkez köylerinde *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV) saptanan kiraz ağaçlarında yapraklarda görülen belirtiler



Şekil 4.11. Isparta ili merkez köylerinde *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV) saptanan kiraz ağaçlarında yapraklarda görülen simptomlar

Şekil 4.8 ve Şekil 4.9.'da görüldüğü gibi *Apple chlorotic ringspot virus* (ACLSV) saptanan yaprak örneklerinde sarı klorotik renk değişiklikleri içeren geniş lekeler dikkati çekmektedir. Şekil 4.10'da ise ACLSV'nin saptandığı kiraz ağacında yapraklarda kıvrılmalar, kıvrıcıklaşmalar, yaprak kenarlarında deformasyonlar ve beyazlıklar belirgin şekilde ortaya çıkmış ve gözlemlenmiştir. Şekil 4.11'de ise yine ACLS saptanan bir başka kiraz ağacında söz konusu belirtilere ek olarak yapraklarda damar aralarında renk açılmaları gözlenmiştir. Saptanan bu gözlem sonuçları Brunt ve ark. (1996), Anonim 2001, Sipahioğulları ve ark. (2004), Ulubaş ve Ertunç (2004), Anonim 2008, Öztürk ve Çevik (2012), Öztürk ve Çevik (2014) tarafından bildirilmiş olan bulguları da teyit etmiştir.

4.2. DAS-ELISA Testi Sonuçları

Isparta'nın 3 ilçesinin 6 köyünden kiraz üretim alanlarından toplanan 107 adet yaprak örneği DAS-ELISA testine tabi tutulmuş ve test edilen yaprak örneklerinde bireysel ve karışık olarak üç virüsün de varlığı saptanmıştır. ELISA plate okuyucusunda kaydedilen absorbans değerlerine ait değerler Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. ELISA reader'da okunan ACLSV, PNRSV ve CLRV virüslerine ait absorbans değerleri

Virüs Adı	En yüksek pozitif absorbans değerleri	En yüksek negatif absorbans değerleri	Ticari pozitif absorbans değeri	Ticari negatif absorbans değeri
ACLSV	0.887	0.465	1.489	0.267
PNRSV	0.240	0.194	0.255	0.095
CLRV	0.509	0.222	0.642	0.134

Çizelge 4.2.'de ve Şekil 4.12. ve Şekil 4.13.'de görüldüğü gibi 107 adet kiraz yaprak örneğinden 27 tanesinde % 25,24 oranında *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) tanılanmıştır. 5 örnekte ise % 4,68 oranında bireysel olarak *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) virüsü saptanmış olup, 3 örneğin ise % 2,80 oranında *Cherry leafroll virus* (CLRV) içerdiği görülmüştür. Böylece toplam olarak yapılan bu çalışma ile 107 yaprak örneğinden 35 adedinin ve % 32,71 oranında bu üç virüs ile enfekteli oldukları bulunmuştur. Elde edilen bu serolojik DAS-ELISA test bulguları bu üç virüs hakkında Dunez (1990), Ogawa ve ark. (1995), Brunt ve ark. (1996), Elibüyük (1998), Sipahioğlu ve ark. (1999), Anonim (2001), Anonim (2008), Öztürk ve Çevik (2014) tarafından daha önce rapor edilmiş bulgularla örtüşmektedir.

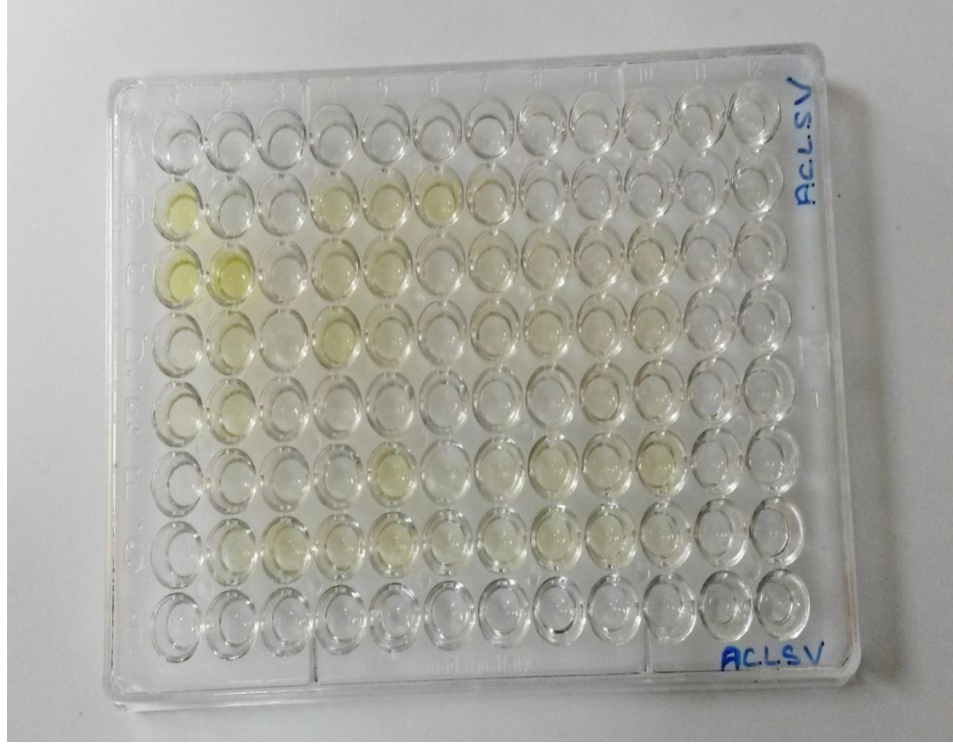
Yine Çizelge 4.2.'de görüleceği üzere DAS-ELISA test sonuçları değerlendirildiğinde Isparta ili Yakaören köyünden alınan 70 yaprak örneğinden 8 adedi ACLSV, 4 adedi PNRSV, 1 adedi CLRV ile enfekteli olarak saptanmıştır. 2 örneğin ACLSV+PNRSV ile karışık enfeksiyonlara sahip olduğu belirlenmiştir. Buna göre; Yakaören köyünden alınan 70 yaprak örneğinden 13 adedi tekli enfeksiyona sahip iken, 2 adet örneğin karışık enfeksiyona sahip olduğu belirlenmiştir. Isparta ili Küçükgökçeli, İslamköy ve Senirce köylerinden alınan toplam 12 adet yaprak örneğinde ACLSV, PNRSV ve CLRV virüslerinin

hiç bir enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Senirkent ilçesinden alınan 12 adet yaprak örneğinden 6 adedi ACLSV ile enfekteli olarak saptanırken, alınan örneklerde karışık enfeksiyona rastlanmamıştır. Senirkent ilçesi Yassıören köyünden alınan 13 yaprak örneğinden 13 adedi ACLSV, 1 adedi PNRSV, 2 adedi CLRV ile enfekteli bulunmuş olup ayrıca 2 örneğin ACLSV+CLRV ile karışık enfeksiyonlara sahip olduğu belirlenmiştir. Buna göre; Yassıören köyünden alınan 13 yaprak örneğinin 16 adedi tekli enfeksiyona, 2 adet yaprak örneğinde karışık enfeksiyona rastlanmıştır. Sonuç olarak; toplanan 107 adet yaprak örneğinden 27 adedi ACLSV, 5 adedi PNRSV, 3 adedi CLRV ile enfekteli olarak saptanmış olup, toplam 35 adet yaprak örneğinde tekli enfeksiyon saptanmıştır. Toplam 107 adet yaprak örneğinden; 2 adedi ACLSV+PNRSV ve 2 adedi ACLSV+CLRV ile enfekteli olup 4 adet yaprak örneğinde karışık enfeksiyon saptanmıştır. Böylece toplam 107 adet örnekten 39 adetinin virüsle bulaşık oldukları belirlenmiş olup bunun %36,45 oranında olduğu görülmüştür.

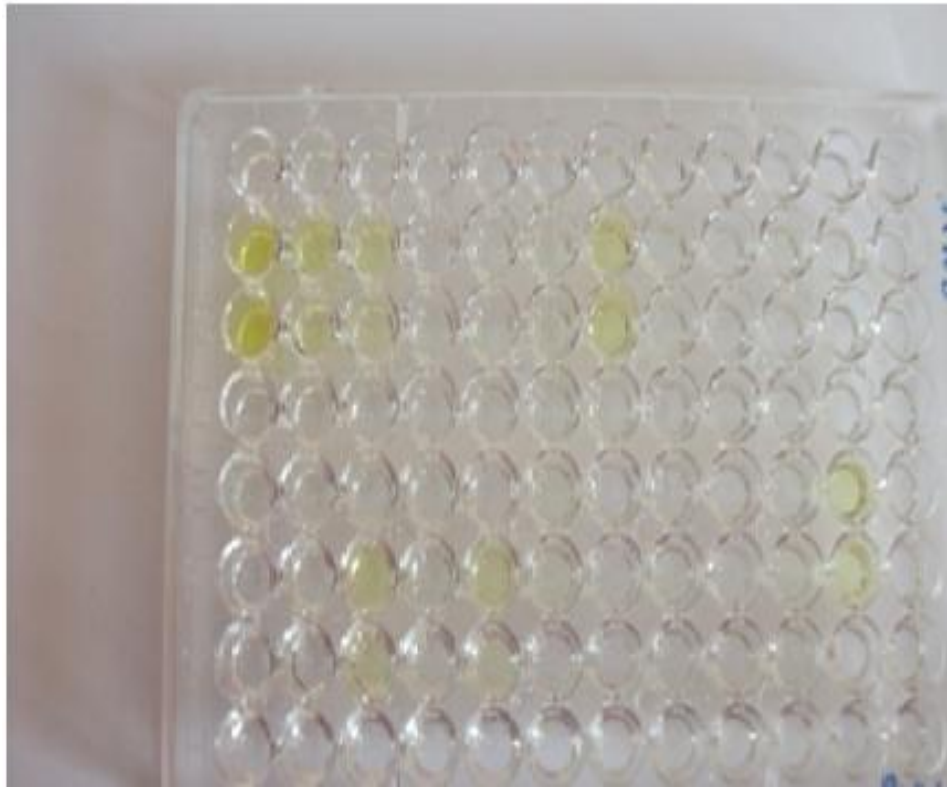
Çizelge 4. 2. Isparta İli kiraz üretim alanlarından toplanan yaprak örneklerinde DAS-ELISA testi sonuçlarına göre tanılanan virüslerin ilçelere göre dağılımı

İlçe Adı	Köy Adı	Toplanan Örnek Sayısı	Virüs Adı					Saptanan Virüs sayısı
			ACLSV	PNRSV	CLRV	ACLSV+ PNRSV	ACLSV+ CLRV	
Merkez	Yakaören	70	8	4	1	2	-	15
Merkez	K.gökçeli	2	-	-	-	-	-	-
Merkez	İslamköy	6	-	-	-	-	-	-
Senirkent	Merkez	12	6	-	-	-	-	6
Senirkent	Yassıören	13	13	1	2	-	2	18
Gönen	Senirce	4	-	-	-	-	-	-
3	6	107	27	5	3	2	2	39
Saptanan Virüs Oranları %		-	25,23	4,68	2,80	1,87	1,87	36,45

ACLSV, PNRSV ve CLRV hastalıklarının DAS-ELISA testi ile testlenmesi sonucu ELISA platelerinde virüsle enfekteli kuyucuklarda oluşan pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü Şekil 4.12. ve Şekil 4.13.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. ACLSV ile enfekteli pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü



Şekil 4.13. PNRSV ile enfekteli pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Anonim (2013) FAO İstatistiklerine göre Türkiye Dünya'nın en önemli kiraz üreticisi ve uluslararası piyasaya kiraz tedarikçisi olduğu görülmüştür. Ayrıca Anonim (2013) TÜİK istatistiklerine göre de Isparta, Türkiye'nin dış satıma uygun önemli bir kiraz üretici ilidir. Bu nedenle kiraz hastalıklarının saptanmasına, kiraz hastalıkları ile mücadele yapılmasına dönük her türlü araştırma desteklenmelidir.

Türkiye sert çekirdekli meyvelerden kirazın çok önemli virüs hastalıklarının duyarlı konukçusudur. Nitekim Çıtır (1987) Açıkgöz ve ark. (1994), Covelli ve ark. (2004)'de bildirdikleri gibi sadece kiraza özgü Amasya kiraz hastalığı ve etmeni *Amasya cherry disease associated virus* (ACDaV)'nin yayılma riskini barındırmaktadır. Bu nedenle Türkiye'de iç karantina önemlerinin ve kiraz fidan üretiminin titizlik ile denetim altında tutulması gereği ortaya çıkmaktadır.

Fidan üretiminde en son virüs indeksleme yöntemleri olan serolojik ELISA ve moleküler PCR testlerinin yaygın olarak uygulanabileceği ve fidanlıklardaki damızlık kiraz ağaçlarının virüsler açısından temiz aşı gözü, aşı kalemi kaynağı olarak muhafazasının gereği de yadsınamaz.

Bazı sert çekirdekli meyve ve kiraz virüslerinin tohumla ve polen ile taşınma özelliği yanında bazılarının nematod ile veya diğer böcek vektörleri ile taşınabilme riski her zaman hatırdan tutularak fidan üretiminin güvence altında ve izole ortamlarda gerçekleştirilmesi yerinde olacaktır.

Ulusal ve uluslararası alanda kiraz fidan ticaretinin ve taşınmasının titiz karantina işlemleri ile denetlenmesi yerinde olacaktır.

Kiraz üretimi açısından potansiyel taşıyan bölgelerde kiraz bahçelerinin kurulması detaylı toprak yapısının, toprağın içerdiği zararlılar ve patojenlerin belirlenmesi, derin dikimden kaçınılacak şekilde tekniğine uygun fidan dikimleri ile kiraz bahçelerinin kurulması pahalı olan fidan kayıplarını da önleyecektir.

Budama ve ağaç bakımı işlemlerinde kullanılan her türlü makas, testere, aşı bıçağı gibi alet ve ekipmanlarının her ağaç değişiminden önce %5'lik sodyumhipoklorit solüsyonu ile dezenfekte edilmesi virüs ve patojenlerin yayılmasını engellemek amacıyla titizlikle kullanılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Acikgoz S, Döken M.T, Citir A, Bostan H. (1994). The analysis of double stranded (dsRNA) for the diagnosis of the causal agent of Amasya cherry disease in Turkey. EMBO-INRA Workshop ‘Plant and viruses: Partners in pathogenicity’. Grignon, abst. No. 36.
- Agrios G (2005). Plant pathology. Fifth edition. Elsevier Academic Press. New York, USA. 922 p.
- Aktaş M, Ateş M. (2005). Bitkilerde Beslenme Bozuklukları. Nurol Matbaacılık, A. Ş. Ostim, Ankara. 247 s.
- Anonim (2001). Kiraz Bahçelerinde Entegre Mücadele Teknik Talimatı. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı (TKB), Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, TKB Yayın Dairesi Başkanlığı, Ankara. 147 s.
- Anonim (2008). Ziraî Mücadele Teknik Talimatları, Cilt 4. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Başak Matbaacılık ve Tan. Hiz.Ltd.Şti. Ankara. 388 s.
- Anonim (2013). Bitkisel Üretim İstatistikleri., Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.
- Anonim (2013). FAO Statistical Yearbook. UN. Food and Agriculture Organisation, Rome-Italy.
- Aparicio F, Myrta A, Di Terlizzi B, Pallas V. (1999). Molecular variability among isolates of PNRSV from different Prunus spp. Phytopathology, 89(11): 991-999.
- Blodgett E.C, Ismen F.H, Gomec B, Kalay K, Altinyay N, Wagno H.K. (1970). La maladie d’Amasya du cerisier en Turquie. Fao Plant Prot. Bull. 18:49-52.
- Brunt H.A, Crabtree K, Dallawitz M.J, Gibbs A.J, Watson L. (1996). Viruses of plants. CAB International, Cambridge, UK. 1484 p.
- Citir A (1987). Preliminary investigations about identity of the causal agent of Amasya cherry disease in Turkey. J. Turk. Phytopathol. 16: 23.34.
- Clark MF, Adams AN (1977). Characteristics of micro plate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. J. Gen. Virol., 34:475-483.
- Cole A, Mink G.I, Regev S (1982). Location of Prunus necrotic ringspot virus on pollen grains from infected almond and cherry trees. Phytopathology 72: 1542-1545.

- Covelli L, Coutts R.H.A, Di Serio F, Citir A, Acikgoz S, Hernandez C, Ragozzino A, Flores R. (2004). Chlorotic rusty spot and Amasya cherry diseases associated with a complex pattern of mycoviral-like double-stranded RNAs. I. Characterization of a new species in the genus *Chrysovirus*. J. Gen. Virol., 85, 3389-3397.
- Dunez J (1988). Fruit crop sanitation in the Mediterranean and Near east Region. Status and Requirements. FAO. United Nations Development Programme, 251-259.
- Dunez J (1990). Virus and MLO Diseases in Stone Fruit Trees. IAM Bari Italy.
- Elibüyük İÖ. (1998). Malatya ilinde yetiştirilen sert çekirdekli meyve ağaçlarındaki virüslerin tanılanması üzerinde araştırmalar. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, pp 120, Ankara.
- George J.A, Davidson T.R. (1963). Pollen Transmission of Necrotic Ringspot Virus and Sour Cherry Yellows Viruses from Tree to Tree. Can. J. Plant Sci. 43: 276-288.
- George J.A, Davidson T.R. (1964). Further Evidence of Pollen Transmission of Necrotic Ringspot Virus and Sour Cherry Yellows Viruses from Tree to Tree. Can. J.
- Ireland W. 2009. Don afeti ve bitkisel ürünlere etkisi. TARSİM adına, Çeviren Banu Akdeniz. Bilnet Matbaacılık ve Reklamcılık A. Ş., İstanbul. 183 s.
- King A.M.Q, Adams M.J, Cartens A.E.B, Lefkowitz E.J. (2012). Virus taxonomy, classification and nomenclature of viruses. Ninth report of the I.C.T.V. Elsevier Academic Press, New York, USA. 1272 p.
- Knapp E, Camara-Machado A, Puhlinger H, Wang Q, Hanzer V, Weiss B, Katinger H, Lamier Camara Machado M. (1995). Localization of fruit tree viruses by immunotissue printing in infected shoots of *Malus* sp. and *Prunus* sp. J. of Virological Methods, 55: 157-173.
- Kurçman S. (1977). Afyon ili'nde vişne ve kiraz ağaçlarında görülen virüs hastalıklarının üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni 17:(2-4): 113-149.
- Kuntay S (1942). Fitopatoloji Dersleri. T.C. Ziraat Vekaleti Neşriyatı, Sayı:530. Sümer Matbaası, Ankara. 160 s.
- Martelli G.P, Candresse T, Namba S. (1994). Trichovirus, a new genus of plant viruses. Arch. Virology 134: 451-455.
- Megahed E.S, Moore J.D. (1967). Differential Mechanical Transmission of Prunus Viruses from Seed of Various Prunus spp. and from Different Parts of the Same Seed (Abst.). Phytopathology 57:821.
- Nemeth M (1986). Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

- Neyland G, Gilmer R.M, Moore J.D. (1976). Fruit Diseases and Non Infectious Disorders of Stone Fruits in North America. U.S.D.A. Agric. Handbk. 437: 104-132. Government Printing Office, Washington, DC. U.S.A.
- Miller P.R. (1996). Index of plant virus diseases. Agriculture handbook No:307. U.S. Government printing Office Washington D.C., USA. 446 p.
- Ogawa J.M, Zehr E.I, Ritchie G.W, Urio K, Uyemeto J.K. (1995). Compendium of Stone Fruit Disease. APS Press. St Paul, MN. USA. 98 p.
- Ong C.A. (1987). Separation and Characterization of Nucleoprotein Components of Prunus Necrotic Ringspot Virus Isolates. PhD Thesis. Washington State University, Pullman, U.S.A.
- Öztürk Y, Çevik B, Kaymak S (2011). Isparta ili Kiraz Üretim Alanlarında Erik cücelik virüsü (*Prune dwarf virus*, PDV) Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Teşhisi ve Kılıf Protein Gen Dizilimlerinin Belirlenmesi, Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş.s; 339
- Öztürk Y, Çevik B. (2012). Isparta Kiraz Üretim Alanlarında Elma klorotik yaprak virüsünün (*Apple chlorotic leaf spot virus*, ACLSV) Teşhisi, Moleküler karakterizasyonu, Türkiye 2. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi
- Öztürk Y, Çevik B. (2014). Isparta Kiraz bahçelerinde Görülen Önemli Virüslerin Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Teşhisi ve Kılıf Protein Gen Dizilimlerinin Belirlenmesi. V. Türkiye Bitki Koruma Kongresi Bildiri Özetleri, 3-5 Şubat 2014, Antalya. S: 201.
- Rener P.R, Southwich S.M. (1995). Sweet cherry. In J.M. Ogawa, E. I. Zehr, G.W. Bird, D.F. Ritchie K. Uriu & J.K. Uyemoto (Eds.), Compendium of Stone Fruit Diseases (pp. 4-5). St. Paul, MN:APS Press.
- Ryugo K (1995). Minor physiological, genetik and environmental disorders of Stone fruits. (In Compendium of Stone Fruit Disease, Edited by Ogawa et al. APS Press. St Paul, MN. USA. P: 85-88.
- Scott S.W, Zimmerman M.T, Ge X, Mackenzie D.J. (1997). The coat proteins and putative movement proteins of isolates of PNRSV from different host species and geographic origins are extensively conserved. Journal of Plant Pathology, 90(12):1330-1336).
- Sipahioğlu H.M, Myrta A, Abou-Ghanem N, DiTerlizi B, Savino V. (1999). Sanitary Status Of Stone Fruit Trees In East Anatolia (Turkey) With Particular Reference to Apricot. OEP/EPO. Buletin, 439-42
- Sipahioğlu M.N, Demir S, Polat B, Akköprü A, Usta M. (2004). Van ve civarında yetiştiriciliği yapılan sert çekirdekli meyve ağaçlarında tespit edilen viral ve fungal

- hastalık etmenleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi., Ziraat fakültesi, Tarım Bilimler Dergisi (J. Agric. Sci.), 14(2): 133-139.
- Swenson K.G, Milbrath J.A. (1964). Insect and Mite transmission Test with the Prunus Ringspot Virus. *Phytopathology* 54: 399-404.
- Ulubaş Ç, Ertunç F. (2004). *Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)* status in Turkey and sensitive detection using advanced techniques. *Turk J Agric For* 29 (2005) 251-257.
- Ulubaş Ç, Ertunç F. (2004). RT-PCR detection and molecular characterization of *Prunus necrotic ringspot virus* isolates occurring in Turkey. *J. Phytopathology* 152: 498-502.
- Ulubaş Ç, Ertunç F. (2008). Virus infections in stone fruit trees from different provinces of Turkey. Proc. of XX th International Symposium on virus and virus-like diseases of temperate fruit crops and XI th International Symposium on small fruit virus diseases. Antalya, Turkey 2006. *Acta Horticulturae* 781: 89-92.
- Uyemoto J.K, Scott SW. (1992). Important Diseases of Prunus Caused by Viruses and Other Graft- Transmissible Pathogens in California and South Carolina. *Plant Diseases* 76: 5-11
- Uyemoto J.K, Asai W.K, Luhn F. (1992). Ilarviruses: Evidence for Rapid Spread and Effects on Vegetative Growth and Fruit Yields of Peach trees. *Plant Diseases* 76: 71-74.
- Yavaş Gören Ş (2009). Tekirdağ İli'nde Yeni Tesis Meyve Bahçelerinde Görülen Abiyotik Hastalıklar ve Mücadele Önlemleri Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. 52s.

7. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın hazırlanması ve yürütülmesinde değerli bilgileri ve önerileri ile beni yönlendirerek destek olan, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇITIR'a teşekkür ederim. Deneysel çalışmalarımında bana büyük destek sağlayan, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Havva İLBAĞI'na teşekkür ederim. Sürvey çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen Isparta Tarım Kredi Kooperatifi Ziraat Mühendisi Şevket KARAKAYA'ya ve değerli babam Ahmet KÜÇÜKÇAKIR'a teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana destek ve yardımcı olan yüksek lisans arkadaşlarım, Hacer KİBAR, Harun ÖZDEMİR, Esen YILMAZ ve Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü 3'üncü sınıf öğrencilerine teşekkür ederim. Koşulsuz sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olarak bana güç veren aileme teşekkür ederim.

EK 1

DAS-ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

1. Fosfat tamponlu Tuz Çözeltisi (Phosphate Buffered Saline) (PBS) pH:7.2-7.4

NaCl.....	8,0 gr
KH ₂ PO ₄	0,2 gr
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O.....	2,9 gr
KCl.....	0,2 gr
NaN ₃	0,2 gr
Tween-20.....	0,5 ml

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH, 0.1 M NaOH veya 0.1 M HCl ile ayarlanmış ve +4 °C’de saklanmıştır.

2. Kaplama Tampon Çözeltisi (Coating Buffer) pH: 9.6

Na ₂ CO ₃	1,59 gr
NaHCO ₃	2,93 gr
NaN ₃	0,2 gr
Bromocresol purple.....	5 mg

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre suda eritilip pH ayarlanmış ve +4 °C’de saklanmıştır.

3. Yıkama Tampon Çözeltisi (Washing Buffer) (PBST) pH: 7.4

Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS).....	1 litre
Tween-20.....	0,5 ml

1 litre PBS tampon çözeltisi içerisine 0,5 ml Tween-20 ilave edilerek hazırlanmıştır. Kullanım süresince +4 °C’de saklanmıştır.

4. Ekstraksiyon Tampon Çözeltisi (Sample Extration Buffer) pH:7.2-7.4

1 litre yıkama tampon çözeltisi içerisine 10 gr Polyvinylpyrrolidone (PVP-40) ilave edilerek hazırlanmıştır.

5. Konjugat Tampon Çözeltisi (Enzyme Conjugate Buffer) pH: 7.4

PBST..... 1 litre
BSA..... 2 gr
Congo Red..... 40 mg

1 litre PBST içerisine 2 gr BSA ve 40 mg Congo Red ilave edilerek pH ayarlanıp +4 °C'de saklanmıştır.

6. Substrat Tampon Çözeltisi (Substrat Buffer) pH:9.8

Diethanolamine..... 97 ml
NaN₃.....0,2 gr

97 ml Diethanolamine 1 litre saf su içerisine ilave edildikten sonra 0,2 gr NaN₃ eklenmiş ve pH: 9.8'e ayarlanmıştır. Çözelti +4 °C'de saklanmış ve kullanılmadan önce pH kontrol edilmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

Nurten KÜÇÜKÇAKIR 08 Ağustos 1990 yılında Isparta'da doğdu. İlköğretimini İstanbul Nimetullah Mahruki İlköğretim Okulu'nda 2004 yılında tamamladı. 2004 yılında girmiş olduğu Sarıyer Vehbi Koç Vakfı Lisesi'nden 2008 yılında mezun olarak, aynı yıl ÖSYM sınav sonuçlarına göre Namık Kemal Üniversitesi Ziraat fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde lisans öğrenimine hak kazandı. Mesleki stajını İzmir Bornova ECOCERT firmasında gerçekleştirdi ve 2011 yılının güz yarısında ERASMUS Programı ile Macaristan Gödöllő Szent Istvan Üniversitesi'nde öğrenim gördü ve 2012 yılında mezun olarak Ziraat Mühendisi ünvanına hak kazandı. Aynı yıl girdiği ALES ve mülakat sınavı sonucu Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine hak kazandı. 2014-2015 güz yarıyılı sonunda mezun olması beklenmektedir.

Ziraat Mühendisi
Nurten KÜÇÜKÇAKIR