



### Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 30 (2015) 227-235

ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)

doi: 10.7161/anajas.2015.30.3.227-235



## Samsun ilinde sert çekirdekli meyve türlerinde Şarka hastalığı etmeninin (*Plum pox virus*) belirlenmesi

İlyas Deligöz<sup>a\*</sup>, Kemal Değirmenci<sup>b</sup>, Miray Arlı Sökmen<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Bitki Sağlığı Bölümü, Samsun, <sup>b</sup>Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, Bitki Hastalıkları Bölümü, Ankara

<sup>c</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun

\*Sorumlu yazar/corresponding author: [ilyas.deligoz@gthb.gov.tr](mailto:ilyas.deligoz@gthb.gov.tr)

Geliş/Received 23/02/2015

Kabul/Accepted 24/11/2015

### ÖZET

*Plum pox virus* (PPV), erik, şeftali, nektarin, kayısı, badem, kiraz ve vişne gibi sert çekirdekli meyve ağaçlarının en önemli viral etmenlerinden birisidir. PPV ırkları günümüzde en az 8 alt grupta toplanmıştır. Türkiye’de bugüne kadar yapılan çalışmalarda Marmara, İç Anadolu, Ege ve Akdeniz Bölgelerinde PPV’nin bulaşık olduğu bahçeler tespit edilmiş, virüsün ırk düzeyinde tanısı yapılmış ve dağılımı belirlenmiştir. Karadeniz Bölgesi’nde ise şu ana kadar sert çekirdekli meyve üretimi yapılan alanlarda Şarka hastalığının varlığına dair bir kayda rastlanmamıştır. Bu çalışmada, Samsun ili Canik ilçesinde 2013 yılı Temmuz ayında PPV-benzeri yaprak ve meyve belirtileri gösteren 4 bahçe belirlenmiş ve 9 kayısı, 6 nektarin, 4 erik ve 3 şeftali ağacından toplam 22 örnek test edilmek üzere alınmıştır. PPV’ye spesifik antiserum kullanılarak DAS-ELISA ve PPV’ye spesifik primerler kullanılarak RT-PCR yöntemleri ile örneklerin test edilmesi sonucunda, iki kayısı ağacı ve bir erik ağacının PPV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Kayısı ve erik izolatlarının kısmi kılıf protein (CP) bölgesi nükleotid dizileri elde edilmiş ve nükleotid BLAST analizine göre en yüksek benzerliği (% 99) Ankara’da kayısı ağacından izole edilen AbTk izolatu (PPV-T strain) ve yine Türkiye’den elde edilen Abricotier Turque izolatu ile gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma, Karadeniz Bölgesi’nde Samsun ilinin yanısıra diğer illerde de sert çekirdekli meyve bahçelerinin PPV ile bulaşıklık durumunun detaylı incelenmesinin gerekliliğini ortaya koymuştur.

Anahtar Sözcükler:

CP  
Erik  
Kayısı  
PPV  
T ırkı

### Determination of *Plum pox virus*, the causal agent of Sharka Disease, in Samsun Province

#### ABSTRACT

*Plum pox virus* (PPV) is one of the most destructive and serious viral agent of stone fruits such as plum, peach, nectarine, apricot, almond, sweet and sour cherries. PPV strains have been classified into at least eight sub-groups. PPV has been detected in some orchards in different geographical regions of Turkey including Marmara, Central Anatolia, Aegean and Mediterranean, and the strains of PPV and their distributions have been determined. To date, there is no report on the presence of PPV in the Black Sea Region. PPV-like fruit and leaf symptoms were noticed in four stone fruit orchards in Canik district of Samsun province in July 2013, and a total of 22 samples were taken from nine apricot, six nectarine, four plum and three peach trees. Only one plum and two apricot trees were found to be infected by DAS-ELISA using virus-specific polyclonal antiserum and RT-PCR method using PPV-specific primers. The partial nucleotide sequences of coat protein (CP) region of plum and apricot isolates were obtained. Nucleotide BLAST analysis showed that plum and apricot isolates had the highest (99%) sequence similarity at nucleotide level with PPV-AbTk isolate (PPV-T strain) found on apricot trees in Ankara province and the PPV Abricotier Turque isolate. This study revealed that the occurrence and distribution of PPV infection in stone fruit orchards needs to be investigated in the Black Sea Region in detail.

Keywords:

CP  
Plum  
Apricot  
PPV  
T strain

## 1. Giriş

*Plum pox virus* (PPV), erik, şeftali, nektarin, kayısı, badem, kiraz ve vişne gibi sert çekirdekli meyve ağaçlarının en önemli virüs hastalığıdır. *Potyviriidae* familyası *Potyvirus* cinsine dahil olan PPV, 760 x 20 nm boyutlarında iplikli partikül yapısına sahiptir. Tek sarmallı RNA içeren partiküllerinin % 7'si nükleik asit ve % 93'ü protein içermektedir. Virüs yaprak bitleri tarafından non-persistent olarak ve üretim materyalleri ile yayılmakta olup, tohum ve polenle taşınmamaktadır (Brunt ve ark., 1996).

Şarka hastalığı ülkemizde ilk kez 1961 yılında Edirne'de eriklerde tespit edilmiştir (Şahtiyancı, 1969). Daha sonra hastalık Ankara, Antalya, Aydın, Edirne, Balıkesir, Bilecik, Bursa, Çanakkale, Kayseri, Aksaray, Konya, İstanbul, İzmir, İzmit, Manisa, Mersin, Sakarya, Tekirdağ, Adana ve Yalova'da farklı araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Kurçman, 1973, Yürektürk, 1984; Dunez, 1986; Erdiller, 1988; Elibüyük ve Erdiller, 1991; Azeri, 1994; Elibüyük, 2003, Elibüyük, 2004, Koç ve Baloğlu, 2006; Candresse ve ark., 2007; Gümüş ve ark., 2007; Çıtır ve İlbağı, 2008; İlbağı ve ark., 2008; Akbaş ve ark., 2011; Çelik ve Topkaya Kütük, 2013).

PPV'nin en önemli konukçuları kayısı, erik, şeftali, badem, kiraz, ceviz ve vişnedir (Brunt ve ark., 1996; Ogawa ve ark., 1995; Baumgartnerova, 1996). PPV'nin belirtileri bitkinin çeşidi, virüsün ırkı ve bitkinin yaşına göre farklılık gösterebilmektedir. PPV, sert çekirdekli meyvelerin değişik tür ve çeşitlerinde birbirine benzer belirtilere neden olmaktadır. Çoğu zaman bitkilerin yapraklarında klorotik bantlar, damar açılması, halka şeklinde klorotik lekeler, meyvede şekil bozukluğu ve çekirdekte halka şeklinde beneklenmeler, gövdede çatlamalar, çiçeklerde renk kırılması gibi karakteristik PPV belirtileri birçok araştırmacı tarafından da rapor edilmiştir (Kalashyan ve ark., 1994; Ogawa ve ark., 1995; Crescenzi ve ark., 1997; Akbaş ve ark., 2011; Çelik ve Topkaya Kütük, 2013). Ayrıca, hassas erik ve kayısı ağaçları meyvelerini hasattan 2-3 hafta önce dökülebilmektedir. Virüsün kiraz ve vişnelerde klorotik meşe yaprağı desenine ve bazı yapraklarda şekil bozukluğuna sebep olduğu ifade edilmektedir (Kalashyan ve ark., 1994; Ogawa ve ark., 1995; Crescenzi ve ark., 1997; Lopez-Moya ve ark., 2000).

PPV ırkları, önceleri M (Marcus), D (Dideron), C (Cherry), EA (El Amar), T (Turkey), W (Winona) ve Rec (rekombinant) olmak üzere 7 alt grupta toplanmıştır (Palkovics ve ark., 1993; Glasa ve ark., 2004; James ve ark., 2005; Myrta ve ar., 2006; Nemchinov ve ark., 1996; Ulubaş Serçe ve ark., 2009). Ancak, son yıllarda Rusya'da vişnede enfeksiyon oluşturan CR (Cherry Russia) ırkı (Chirkov ve ark., 2013; Glasa ve ark., 2013) ile birlikte, PPV ırkları en az sekiz grupta toplanmıştır (Garcia ve ark., 2014). PPV-M ve PPV-D ırklarının diğer ırklara oranla daha yaygın olarak görüldüğü rapor edilmiş (Candresse ve ark., 1998), son yıllarda ise PPV-Rec ırkının, M ve D ırkından sonra üçüncü majör öneme sahip ırk olduğu bildirilmiştir (Garcia ve ark., 2014). PPV-M ırkının, PPV-D ırkına oranla yaprak bitleri ile daha etkili taşındığı, yayılımının daha hızlı ve eradikasyonunun daha zor olduğu bilinmektedir. PPV-Rec ırkı daha çok Orta Avrupa'da görülmekte olup (Glasa ve ark., 2004; Wijkamp ve Gaag, 2011), bu ırkın Balkanlar'dan diğer bölgelere yayıldığı

tahmin edilmektedir (Glasa ve ark., 2005). PPV-Rec ırkı da afitler ile etkili bir şekilde taşınabilmektedir (Glasa ve ark., 2004). PPV-C, PPV-EA ve PPV-W ırkları ise diğer ırklar kadar yaygın değildir (Candresse ve Cambra, 2006). PPV-C ırkı sadece kiraz ve vişnede enfeksiyon oluşturmakta olup, Macaristan, İtalya ve Romanya gibi ülkelerde tespit edilmiştir. PPV-EA yalnızca Mısır'da kayısı ağacında, PPV-W ırkı ise Kanada'da belirlenmiş ve enfekteli ağaçlar eradike edilmiştir (Wijkamp ve Gaag, 2011). PPV-T ırkı ilk defa Türkiye'de Ankara ve yöresindeki bahçelerde belirlenmiştir (Ulubaş Serçe ve ark., 2009), ancak daha sonra yayınlanmamış bir proje raporuna (the European SharCo FP7 project) göre PPV-T'nin Arnavutluk'da da tespit edildiği bildirilmiştir (Garcia ve ark., 2014). Türkiye'de bugüne kadar yapılan çalışmalarda, PPV'nin M (Sertkaya ve ark., 2003; Elibüyük, 2004; Koç ve Baloğlu, 2006; İlbağı ve ark., 2008; Çelik ve Topkaya Kütük, 2013), D (Elibüyük, 2004), Rec (Candresse ve ark., 2007) ve T (Ulubaş Serçe ve ark., 2009) ırkları belirlenmiş olup, en yaygın ırkın PPV-M olduğu belirtilmiştir (Çağlayan, 2006). Ancak, daha önceki yıllarda ırka spesifik antiserum kullanılarak gerçekleştirilen serolojik testlemelerde PPV- M veya PPV-M+PPV-D ırkı olarak tanımlanan bazı izolatların, daha sonradan sekans çalışmaları ile aslında T ırkı olduğu belirlenmiştir (Ulubaş Serçe ve ark., 2009; Ceylan ve ark., 2014).

Orta Karadeniz Bölgesi'nde başta Amasya olmak üzere Samsun ve Tokat illerinde, sert çekirdekli meyve üretimi yapılan kapama bahçelerin sayısı son yıllarda artış göstermektedir. Türkiye'de 2007-2010 yılları arasında gerçekleştirilen survey çalışmaları kapsamında, Karadeniz Bölgesi'nde 87 farklı lokalizasyondan sert çekirdekli meyve ağaçlarına ait 733 örnek incelenmiş ve Şarka hastalığının varlığına rastlanılmamıştır (Akbaş ve ark., 2011). Bu tarihten sonra da şu ana kadar bu bölgede Şarka hastalığının varlığına dair bir rapor bulunmamaktadır. Ancak 2013 yılında, Samsun ili Canik ilçesinde PPV-benzeri yaprak ve meyve belirtileri sergileyen 4 bahçe tespit edilmiştir. Bu çalışmada, söz konusu belirtileri gösteren ağaçlarda PPV'nin araştırılmasına ve moleküler olarak karakterize edilmesine çalışılmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Örneklerin toplanması

Çalışmada, Samsun iline bağlı Canik ilçesi Dereler Köyü'nde PPV-benzeri yaprak ve meyve belirtileri gösteren 4 bahçeden 9 kayısı, 6 nektarin, 4 erik, 3 şeftali ve 1 kiraz ağacından toplam 23 yaprak ve meyve örneği alınmıştır. Örnekler polietilen torbalara konularak etiketlenmiş ve serolojik olarak test edilinceye kadar -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

### 2.2. Serolojik çalışmalar

PPV-benzeri semptom sergileyen yaprak ve meyve örnekleri, PPV'ye spesifik polyclonal antiserum (Bioreba, İsviçre) kullanılarak Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) yöntemi ile test edilmiştir. Yöntem Clark ve Adams (1977)'a ve antiserumun temin edildiği firmanın önerilerine göre

uygulanmıştır. ELISA mikropleyti (Nunc, Danimarka), 1/1000 oranında karbonat tampon çözeltisi (1.59 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2.93 g NaHCO<sub>3</sub>, pH 9.6) ile sulandırılmış IgG ile kaplanmıştır ve 30°C'de 4 saat inkube edilmiştir. Örnekler, % 2 oranında polivinyl pyrrolidone (PVP)-15 ve % 0.05 Tween 20 içeren ekstraksiyon tampon çözeltisinde (0.20 g KCl, 1.15 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 8 g NaCl (PBS; pH 7.4), 1:10 (g/ml) oranında sulandırılarak homojenize edilmiş ve +4 °C'de 1 gece inkube edilmiştir. Konjugat tampon çözeltisinde (ekstraksiyon tampon çözeltisi) 1/1000 oranında sulandırılan konjugatın (alkaline phosphatase-conjugated IgG) 5 saat 30 °C'de inkubasyonundan sonra substrat (1 mg p-nitrophenyl phosphate/ 1 ml diethanolamin substrate buffer, pH 9.8) ilave edilerek oda sıcaklığında reaksiyon oluşuncaya kadar inkubasyona bırakılmıştır. Yukarıdaki işlemlerin her aşamasından sonra mikropleyt çukurları 3 kez PBST (PBS-Tween 20) çözeltisi ile yıkanmıştır. Absorbans değerleri 405 nm'de ELISA Mikropleyt okuyucusu (Tecan Sunrise A5082) ile substrat inkubasyonundan 30-60 dk. sonra ölçülmüş ve test sonucunda negatif kontrolün iki katından fazla absorbans değeri veren örnekler pozitif kabul edilmiştir.

### 2.3 Reverse-Transkripsiyon-Polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR)

Serolojik olarak PPV ile enfekteli olduğu belirlenen yaprak örneklerinden toplam RNA'lar, İnvitrogen Ambion RNA İzolasyon Kiti kullanılarak firmanın önerilerine göre elde edilmiştir. Çalışmada PPV'nin moleküler olarak tanısı için PPV universal primerleri (Forward P1, 5'-ACCGAGACCACTACTACTCCC-3'; ve Reverse P2, 5'-CAGACTACAGCCTCGCCAGA-3') (Wetzel ve ark., 1991) kullanılarak tek aşamalı (one step) RT-PCR yöntemi uygulanmıştır. PPV ırklarının ayırımı için ırka-spesifik primerler PD (5'-CTT CAA CGA CAC CCG TAC GG-3') ve PM (5'-CTT CAA CAA CGC CTG TGC GT -3') (Olmos ve ark., 1997) ve universal 5' P1 (5'-ACCGAGACCACT ACTACTCCC-3'), primeri birlikte kullanılmıştır. Reaksiyon 5 µl 12.5 mM MgCl<sub>2</sub> içeren 5X Qiagen One step RT-PCR Buffer, 1 µl 10 mM dNTPs, her bir primerden 0.15 µl, (son konsantrasyon: 0.6 µM), 1µl Qiagen RT-PCR Enzim Mix (Omniscript Reverse Transcriptase, Sensiscript Reverse Transcriptase ve HotStarTaq DNA Polimeraz), 0.125 µl Rnasin inhibitör ve 1 µl RNA'dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır. Amplifikasyonlar Bio-Rad MJ Mini PCR Thermocycler'de, 50 °C'de 30 dk, 95 °C'de 15 dk, 40 döngü olacak şekilde 94 °C'de 1 dk, 60 °C'de 30 sn ve 1 döngü 72 °C'de 10 dakika ile tamamlanmıştır. PCR ürünleri TBE tampon çözeltisinde hazırlanan % 2'lik agaroz jelde (0,5 µg/ml etidium bromür içeren) 80 mA sürekli akımda elektroforeze yöntemi ile analiz edilmiştir. Jeldeki PCR fragmentlerinin görüntülenmesi GelDoc 2000 (Biorad) sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve jelde oluşan PCR ürünlerinin fotoğrafları çekilmiştir.

### 2.4. Nükleotid dizi analizi ve Plum pox virus izolatlarının filogenetik ilişkilerinin araştırılması

PPV izolatlarına ait PCR ürünlerinin sekans analizleri 200 ng saflaştırılmış PCR ürünü (DNA) ve her bir universal

primerlerden 1 µl (4 µM) kullanılarak Sanger Metodu ile Genoks (Ankara) firması tarafından yapılmıştır. Sekans analizi sonrasında Clustal W (Thompson ve ark., 1994) programı kullanılarak PPV izolatlarına ait her iki yönde (forward ve reverse) elde edilen ham sekans verileri hizalanmış, düzgün okunan kısımlar alınarak konsensus diziler elde edilmiştir. Daha sonra PPV izolatlarına ait konsensus diziler, GenBankası (NCBI; National Center for Biotechnology Information) internet kaynağından (www.ncbi.nlm.nih.gov) indirilen diğer PPV izolatlarına ait sekans verileri ile BLAST analizine tabi tutularak kıyaslanmıştır. Ayrıca, bu çalışmaya ait PPV izolatlarının ve NCBI'dan indirilen referans PPV izolatlarının nükleotid dizilerinin Clustal W programı kullanılarak çoklu dizi hizalaması yapılmıştır. Daha sonra MEGA 6 (Tamura ve ark., 2013) yazılımında yer alan Kimura-2 parametre yöntemi (transisyon/transversiyon oranı: 2.0) (Kimura, 1980) ile genetik uzaklıklar belirlenmiş ve neighbor-joining algoritmasına göre (Seitou ve Nei, 1987) filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenetik analizlerde 42 farklı PPV izolatına ait sekans verileri kullanılmıştır. Dizilerdeki nükleotid veri kayıpları analize dahil edilmemiş ve 229 nükleotid pozisyonu analizde kullanılmıştır. Bootstrap değeri olarak 1000 alınmıştır. Daha sonra farklı yöntemlere göre elde edilen dendrogramların, dolayısıyla sonuçların tutarlılığını kontrol etmek amacıyla aynı nükleotid dizileri MEGA 6 yazılımında Maximum likelihood (ML) yöntemi (Felsenstein, 1981) kullanılarak analiz edilmiş ve bu yöntemle göre elde edilen dendrogram, NJ yöntemi ile elde edilen dendrogram ile kıyaslanmıştır.

## 3. Bulgular ve Tartışma

Samsun ili Canik ilçesinde PPV-benzeri belirtiler gösteren (Şekil 1 ve Şekil 2) 4 bahçeye ait 9 kayısı, 6 nektarin, 4 erik, 3 şeftali ve 1 kiraz ağacından alınan toplam 23 örneğin DAS-ELISA ile test edilmesi sonucunda 2 kayısı ve 1 erik ağacının PPV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Plum pox virus-benzeri semptom sergileyen sert çekirdekli meyve türlerine ait test edilen örnek sayıları, DAS-ELISA ve RT-PCR sonuçları

Örnek Alınan Bitki Türü	Test Edilen Örnek Sayısı	ELISA	RT-PCR
Kayısı	9	2	2
Erik	4	1	1
Nektarin	6	0	-
Şeftali	3	0	-
Kiraz	1	0	-
Toplam	23	3	3

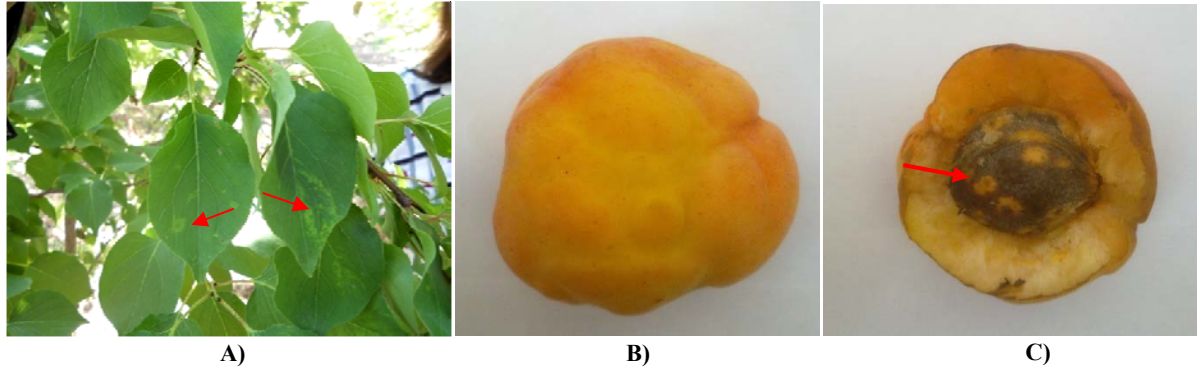
ELISA ile enfekteli olduğu belirlenen kayısı ve erik örnekleri ve sonucu şüpheli olarak bulunan kiraz örneklerinin RT-PCR ile test edilmesi neticesinde iki kayısı ve bir erik örneğinde beklenen büyüklükte (244 bp) bantlar elde edilmiş (Şekil 3) ve örneklerin PPV ile bulaşık olduğu RT-PCR ile de doğrulanmıştır. Kiraz ağacının ise enfekteli olmadığı ortaya konulmuştur (Çizelge 1). Kullanılan PPV universal primerleri ile konukçu bitkiye ait bazı RNA'ların

spesifik olmayan bağlanmaları sebebiyle, hem pozitif hem de negatif (kiraz örneği) örneklerde 244 bp'den büyük ve küçük bantlar elde edilmiştir (Şekil 3). Ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda PPV kayısı, erik, şeftali ve nektarin ağaçlarında belirlenmiştir (Şahtiyancı, 1969; Kurçman, 1973; Sertkaya ve ark., 2003; Elibüyük, 2004;

Ulubaş Serçe ve ark., 2009; Akbaş ve ark., 2011; Çelik ve Topkaya Kütük, 2013). Farklı araştırmacılar tarafından kiraz ağaçlarında yapılan çalışmalarda ise PPV enfeksiyonu tespit edilmemiştir (Sertkaya ve ark., 2003; Akbaş ve ark., 2011).

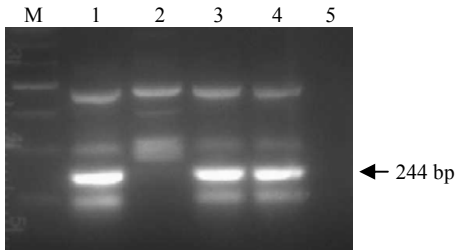


Şekil 1. PPV'nin erik ağacında yapraklarda (A) ve meyvelerde (B) oluşturduğu halkalı lekeler



Şekil 2. PPV'nin kayısı ağacında yapraklarda oluşturduğu halkalı lekeler (A), meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu (B) ve meyve çekirdeğinde oluşturduğu halkalı lekeler (C)

PPV'nin M ve D ırklarına spesifik primerler kullanılarak kayısı ve erik izolatlarının ırklarını belirlemek amacıyla uygulanan RT-PCR sonucunda, PPV'nin M ırkına spesifik primerler ile agaroz jelde 198 bp'lik ürün elde edilmiştir (Şekil 4).

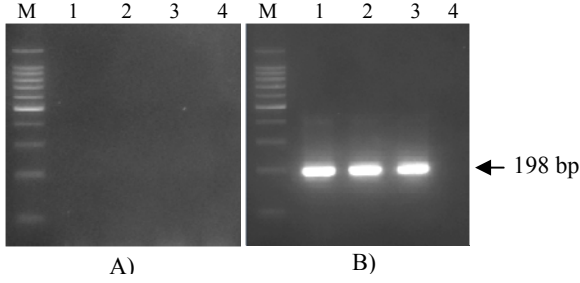


Şekil 3. PPV-spesifik universal primerler kullanılarak elde edilen RT-PCR ürünleri. M: 100 bp markör (Promega), 1: Erik örneği, 2: Kiraz örneği, 3: Kayısı örneği (No: 1), 4: Kayısı örneği (No: 2), 5: Negatif kontrol (RNA içermeyen örnek)

Daha sonra bir kayısı ve bir erik örneğine ait 2 izolatın kılıf protein (CP) bölgesinin 3' terminal kısmını içeren PCR ürünlerinin nükleotid dizileri elde edilmiş ve NCBI (National Center for Biotechnology Information)'den indirilen diğer PPV izolatlarına ait sekans verileri ile BLAST yapılarak analiz edilmiştir. Dizi analizleri sonucunda, bu çalışmada elde edilen kayısı ve erik izolatlarının hemen hemen aynı olduğu ve sadece iki noktada nükleotid varyasyonu içerdiği belirlenmiştir. PPV Samsun izolatlarının en yüksek benzerliği (% 99), Ulubaş Serçe ve ark. (2009) tarafından Ankara'da kayısı ağacından izole edilen ve T ırkı olarak isimlendirilen AbTk izolatı (GenBank Kayıt No., EU734794) ve yine Türkiye'den elde edilen Abricotier Turquie izolatı (GenBank Kayıt No., AY677115) ile gösterdiği belirlenmiştir. PPV-T ırkı, M ve D ırklarının HC-Pro bölgesindeki mutasyon sonucu oluşan bir ırk olup, ülkemizde ilk önce Ankara ilinde belirlenmiştir. Ulubaş Serçe ve ark. (2009), bu çalışmada kullanılan P1/PM-PD primerleri ile gerçekleştirdikleri RT-PCR sonucunda, 8 erik ve 7 kayısı izolatını M ırkı olarak, 1 kayısı izolatını ise her iki ırkla karışık olarak enfekteli



olduğunu belirlemişler, ancak ayrıntılı nükleotid dizi analizleri sonucuna göre ise tüm izolatları rekombinant T ırkı olarak isimlendirmişlerdir. Bu çalışmada da benzer bir şekilde RT-PCR yöntemi ile M ırkı olarak belirlenen her iki izolat, nükleotid blast analizi sonucuna göre en yüksek benzerliği T ırkı ile göstermiştir.



Şekil 4. PPV-D (A) ve PPV-M (B) ırklarına spesifik primerler kullanılarak uygulanan RT-PCR yönteminin sonucu. M: 100 bp markör (Promega), 1: Erik örneği, 2: Kayısı Örneği (No. 1), 3: Kayısı örneği (No. 2), 4: Negatif kontrol (RNA içermeyen örnek)

Potyvirus'lerde kılıf protein (CP) bölgesi ve 3'translasyon dışı bölge (NTR)'ye ait nükleotid dizileri taksonomik analizler sırasında oldukça kullanışlı genomik bölgelerdir ve bu nedenle daha önceki filogenetik analizlerde sıklıkla kullanılmışlardır (Berger ve ark., 2000). Bu çalışmada, filogenetik analiz öncesi kayısı ve erik orjinli PPV izolatlarının CP bölgesinin 3' terminal kısmına ait nükleotid dizileri (244 bp), NCBI veri tabanındaki diğer PPV izolatlarının dizileri ile Clustal W yöntemi kullanılarak hizalanmıştır. Clustal W analizi ve filogenetik analizlerde kullanılan PPV izolatlarına ait bilgiler, Çizelge 2'de verilmiştir.

Hizalanan tüm nükleotid dizileri NJ (Neighbor Joining) ve Maximum Likelihood (ML) yöntemleri kullanılarak Mega 6 yazılımı ile analiz edilmiştir. Sonuçta her iki analiz yöntemi ile 2 ayrı dendrogram elde edilmiş ve elde edilen dendrogramların birbiri ile oldukça uyumlu olduğu görülmüştür. Bu nedenle sadece NJ yöntemi ile elde edilen dendrogram bu çalışmada verilmiştir (Şekil 5). PPV izolatlarına ait NJ dendrogramı incelendiğinde, PPV izolatlarının 9 ayrı alt dala (alt klad) ayrıldığı gözlenmiştir. Şekil 5 ve Çizelge 2 birlikte değerlendirildiğinde, PPV'nin Rec ırkına ait izolatların 2 ayrı alt dala (Grup I ve Grup III) ayrıldığı görülmektedir. Samsun'da erik ve kayısıdan elde edilen izolatların, Türkiye ve Arnavutluk'da belirlenen PPV-T ırkı ile ilişkili izolatlar ile aynı alt dalda (Grup IV) yer aldığı ve bu T ırkı ile ilişkili izolatların PPV-M ve PPV-Rec izolatları ile birlikte, %71 bootstrap (seç-bağla testi) değeriyle desteklenen aynı soy hattından kaynaklandığı belirlenmiştir. Dendrogramda Grup II olarak işaretlenen alt dal, PPV'nin M ırkı ile ilişkili izolatlarından oluşmuştur. Dendrograma göre, PPV-M, PPV-T (Grup IV) ve PPV-Rec (Grup I ve III) ırkları ile ilişkili izolatlar, PPV-EA (Grup V) izolatlarından % 60'lık bir bootstrap değeriyle desteklenen aynı soydan köken alarak ayrılmaktadır (Şekil 5). NJ ağacı incelendiğinde PPV-D ırkı ile ilişkili izolatlar, PPV-Rec, PPV-M, PPV-T ve PPV-EA ırkları ile aynı hattan köken almaktadırlar ve bu durum % 87'lik bootstrap değeriyle

desteklenmektedir. PPV-C, PPV-CR ve PPV-W ırklarına ait izolatlar ise dendrogramda sırasıyla Grup VII, VIII ve IX olarak gösterilen ayrı alt dallara ayrılmışlardır. Bu grupların soy hatlarının bootstrap değerleri % 50'nin altında olduğu için dendrogramda gösterilmemiştir.

Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalarda PPV'nin M (Sertkaya ve ark., 2003; Elibüyük, 2004; Koç ve Baloğlu, 2006; Çelik ve Topkaya Kütük, 2013), D (Elibüyük, 2004), Rec (Candresse ve ark., 2007) ve T (Ulubaş Serçe ve ark., 2009) ırkları belirlenmiştir. Avrupa Birliği ülkelerinde en yaygın olarak D ırkı hemen hemen tüm ülkelerde rapor edilmiş olmasına rağmen, M ırkı ve Rec ırkı Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Almanya, Macaristan, İtalya, Slovakya ve Slovenya gibi bazı ülkelerde tespit edilmiştir. PPV-C ırkı, Macaristan, İtalya, Romanya gibi daha az sayıda ülkede rapor edilmiştir (Wijkamp ve Gaag, 2011). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise Rusya'da vişnelerde enfeksiyon oluşturan CR (Cherry Russia) ırkı belirlenmiştir (Chirkov ve ark., 2013; Glasa ve ark., 2013). T ırkı, PPV-M ve PPV-D ırkları arasında HC-Pro geni üzerinde tek bir homolog rekombinasyon sonucu oluşmuştur (Glas ve Candresse, 2005). Bu ırk genellikle PPV-D ve -M monoklonal antiserumlarının her ikisine de reaksiyon vermekte, ırk tayini için kısmî dizileme ile kümeleme analizi yapmak gerekmektedir. Ulubaş Serçe ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada, PPV enfeksiyonlarının tespit edildiği bölgelerden temin edilen PPV izolatlarının hangi ırk olduğunu belirlemek amacıyla, P3 ve kılıf protein geni bölgelerinin nükleik asit dizilerini analiz ettiklerinde, PPV ırklarının dağılımının coğrafik alanlarla sınırlı kaldığını, Marmara (Çanakkale) Bölgesi, Akdeniz Bölgesi (Mersin ve Hatay)'inden temin edilen PPV izolatlarının PPV-M olduğunu, PPV-T ırkının, Orta Anadolu (Ankara) ve Ege Bölgesi (İzmir) gibi PPV'nin endemik olarak yıllardır bulunduğu, yeni PPV enfeksiyonlarının tespit edilemediği bölgelerde yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Bazı bitkilerde PPV-D ırkının PPV-M ile birlikte bulunduğu belirlenmiştir (Elibüyük, 2004). PPV-Rec ırkı ise Isparta'da tespit edilmiştir (Candresse ve ark., 2007).

Samsun'da PPV ile enfekteli erik ağacında yapraklarda ve meyvelerde halkalı leke şeklinde belirtiler gözlenmiştir (Şekil 1). Kayısı ağaçları ise yapraklarda halkalı ve çizgili lekeler şeklinde, meyvelerde ise deformasyon ve çekirdek üzerinde halkalı lekeler şeklinde belirtiler göstermiştir (Şekil 2). Enfekteli ağaçların meyve döktüğü görülmüştür. PPV'nin, erik ve kayısı ağaçlarında bu çalışmada gözlenen belirtilere benzer belirtilere neden olduğu bildirilmiştir (Ogawa ve ark., 1995).

PPV, tüm dünyada ve ülkemizde karantinaya tabi en önemli hastalık etmenlerinden birisi durumundadır. Ülkemizde sert çekirdekli meyve ağaçlarında şimdiki kadar birçok bölgede tespit edilmiş olan PPV (Şahdiyancı, 1969; Kurçman, 1973; Yürektürk, 1984; Elibüyük, 2004; Koç ve Baloğlu, 2006; Candresse ve ark., 2007; Gümüş ve ark., 2007; Ulubaş Serçe ve ark., 2009; Akbaş ve ark., 2011; Çelik ve Topkaya Kütük, 2013; Ceylan ve ark., 2014), bu çalışma ile Karadeniz Bölgesi'nde ilk defa belirlenmiştir. PPV'nin kılıf proteini 3' terminal bölgesinin nükleotid dizisi esas alınarak gerçekleştirilen analizler sonucunda, Samsun'da belirlenen erik ve kayısı izolatlarının PPV-T ırkına benzediği ortaya konulmuştur.

PPV'nin kontrolü amacıyla en etkili olabilecek yöntem

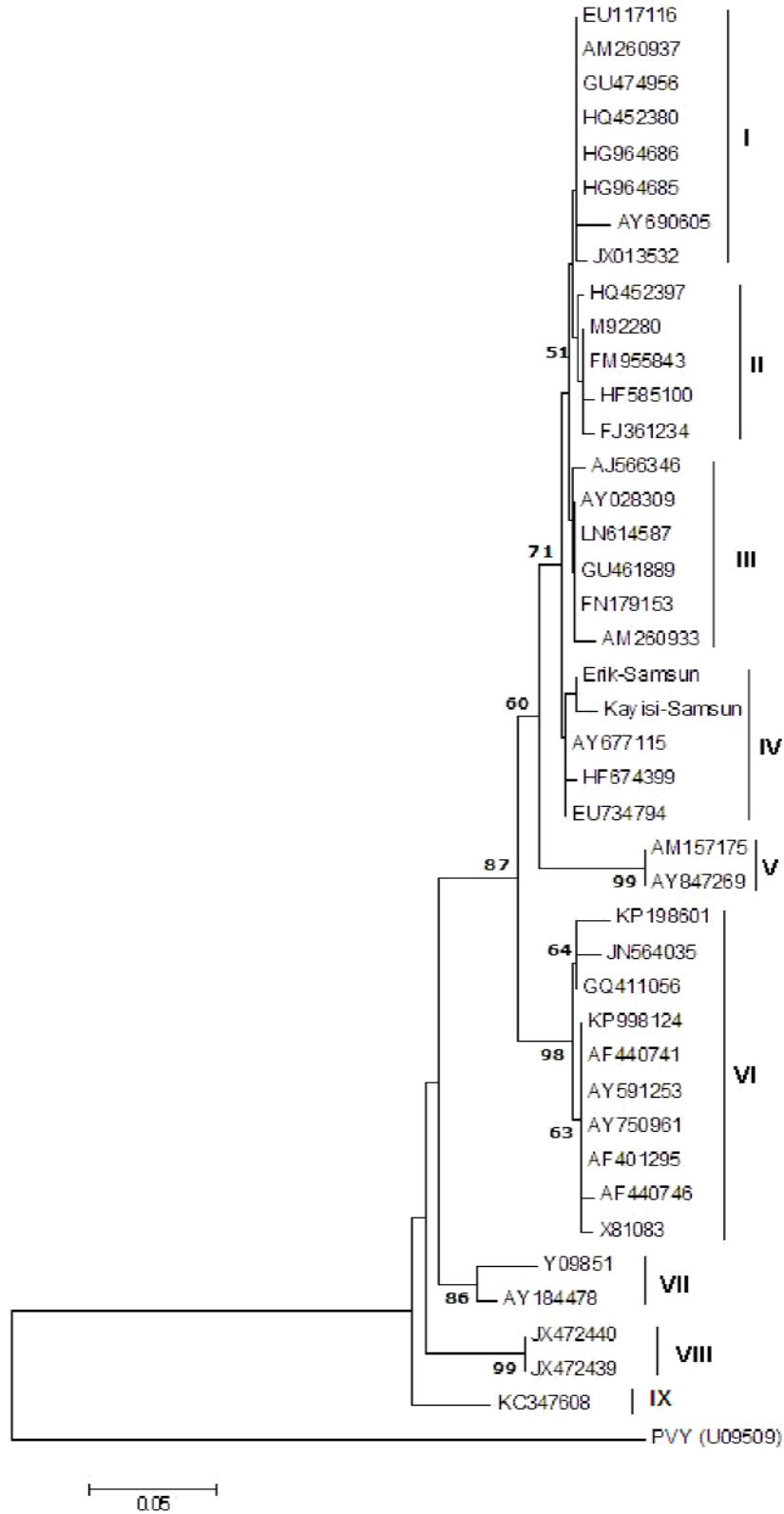
dayanıklı çeşit kullanımıdır (Ilandi ve Tavazza, 2015). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, Kuzey Amerika orjini bazı kayısı genotiplerinde PPV' ye dayanıklılık özelliğine rastlanılmış ve ıslah çalışmalarında bu genotipler, dayanıklılık kaynağı olarak kullanılmıştır (Garcia ve ark., 2014). PPV'ye dayanıklılığın kompleks özellikte olduğu ve en az iki gen tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir (Garcia ve ark., 2014). Türkiye'de sert çekirdekli meyve türlerinde PPV'ye dayanıklılıkla ilgili genlerin araştırılması konusunda oldukça sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Dayanıklılık genleri ile ilişkili SSR (basit tekrarlı diziler;

simple sequeunce repeats) markörler ile Türkiye'deki bazı kayısı genotipleri taranmış ve dayanıklılık ile ilişkili 3 SSR markörünün kayısı genotiplerinde %1.7 oranında bulunduğu belirlenmiştir (Gürcan ve ark., 2015). PPV'ye doğal dayanıklılık kaynaklarının kullanılmasının yanı sıra transgenik dayanıklılık konusunda da dünyada çalışmalar devam etmektedir. Gen transformasyonu yoluyla PPV'ye dayanıklı olarak elde edilen ilk transgenik bitki, "HoneySweet" olarak adlandırılan erik bitkisidir ve bu bitkinin ABD'de kültüre alınmasına onay verilmiştir (Scorza ve ark., 2013).

Çizelge 2. Filogenetik Analizde kullanılan *Plum pox virus* izolatları ve dış grup olarak yer alan *Potato virus Y* izolatu

GenBank Kayıt No	İzolat Adı	Irk (Strain)	Konukçu	Ülke	FilogenetikAğaç Grup No
EU117116	J4c	Rec	<i>Prunus domestica</i>	Polonya	I
AM260937	Troy-b	? <sup>x</sup>	<i>P. domestica</i>	Bulgaristan	
GU474956	06	Rec	<i>P. persica</i>	Sırbistan	
HQ452380	Bijelo Polje 5	Rec	<i>P. domestica</i>	Karadağ	
HG964686	Rec_Cdn10	Rec	<i>Prunus</i> sp. (Erik Anaç)	Kanada	
HG964685	Rec_Cdn8	Rec	<i>Prunus</i> sp. (Erik Anaç)	Kanada	
AY690605	M-1	?	<i>P. domestica</i>	Sırbistan&Karadağ	
JX013532	Valjevka	Rec	<i>P. domestica</i>	Hırvatistan	
HQ452397	Plantaze-1	M	<i>P. persica</i>	Karadağ	
M92280	SK-68	M	?	?	
FM955843	GR-0019	M	?	Yunanistan	II
HF585100	Var-2/531	M	<i>P. persica</i>	Slovakya	
FJ361234	N1	M	<i>P.persica</i>	Yunanistan	
AJ566346	Bt-H2-blackthorn	M1	<i>P. spinosa</i>	Macaristan	
AY028309	Bor-3	Rec	<i>P. armeniaca</i>	Slovakya	III
LN614587	SK-514	Rec	<i>P. armeniaca</i>	Slovakya	
GU461889	BULG	Rec	<i>P. domestica</i>	Bulgaristan	
FN179153	Godolloz	Rec	<i>P. armenica</i>	Macaristan	
AM260933	Troy-1	?	<i>P. domestica</i>	Bulgaristan	
AY677115	Abricotier Turquie	?	<i>P. armeniaca</i>	Türkiye	
HF674399	AL11pl	PPV-An <sup>y</sup>	<i>P. domestica</i>	Arnavutluk	IV
EU734794	AbTk	T	<i>P. armenica</i>	Türkiye	
AM157175	El-Amar	EA	?	Mısır	
AY847269	?	EA	<i>P. armeniaca</i>	Mısır	V
KP198601	RD-5	D	<i>P. tomentosa</i>	Rusya	
JN564035	DE14	?	<i>P. armeniaca</i>	Mısır	VI
GQ411056	Blr001	D	<i>P. domestica</i>	Belarus	
KP998124	VPH	D	<i>P. persica</i>	Kanada	
AF440741	Chilie112	D	?	Şili	
AY591253	Plum	D	<i>P. domestica</i>	Kazakistan	
AY750961	HongMei	?	<i>P. armeniaca</i>	Çin	
AF401295	Penn1	D	<i>P. persica</i>	ABD	
AF440746	Chilie31	D	?	Şili	
X81083	PPV-SC	SC	<i>P. cerasus</i>	?	
Y09851	PPV-SwC 3	C	<i>Prunus avium</i>	İtalya	
AY184478	SoC	C	<i>P. cerasus</i>	?	
JX472440	Fl-2	CR	<i>P. cerasus</i>	Rusya	VIII
JX472439	Fl-1	CR	<i>P. cerasus</i>	Rusya	
KC347608	Pk	W	<i>P. domestica</i>	Rusya	IX
U09509	P07	PVY <sup>z</sup>	<i>Solanum tuberosum</i>	Kanada	

<sup>x</sup>: İlgili kaynaklardan veriye ulaşılamadı, <sup>y</sup>: Marcus ancestor strain, <sup>z</sup>: Common strain



Şekil 5. Samsun'da erik ve kayısı ağaçlarından elde edilen *Plum pox virus* (PPV) izolatlarının ve GenBank (NCBI) veri tabanında kayıtlı bazı PPV izolatlarının 3'terminal kılıf protein (CP) bölgesine ait nükleotid dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, MEGA 6 yazılımında yer alan Neighbor-joining (NJ) yöntemi kullanılmıştır. Dendrogramda bootstrap (seç-bağla tahmin testi) değerleri, dallarda yüzde olarak gösterilmiş ve % 50' nin altındaki değerler ağaçta yer almamıştır. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını (0.05) göstermektedir. Potyvirus cinsi üyesi *Potato virus Y*, filogenetik ağacın oluşturulmasında dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlara ait bilgiler Çizelge 2'de yer almaktadır.

#### 4. Sonuç

PPV'nin uzak mesafelere yayılması enfekteli fidan, kalem, göz gibi üretim materyalleri, kısa mesafelere bulaşması ise afit türleri ile olmaktadır. PPV simptomlarının görülebilir hale gelmesi, konukçuya bağlı olarak bazen birkaç yılı alabildiği için başlangıçta virüs içermeyen üretim materyallerinin kullanılması önemlidir. Biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemlerle virüsün erken teşhisi, yeni bulaşmaları ve yayılmayı önleme bakımından gereklidir. Samsun'da PPV ile enfekteli olarak bulunan ağaçlar, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı yetkilileri tarafından imha edilmiştir. Bölgede daha geniş çaplı surveylerin yapılması ve sonrasında enfekteli ağaçların imha edilmesi hastalığın yayılmasının önlenmesi bakımından önem taşımaktadır.

#### Kaynaklar

- Akbaş, B., Değirmenci, K., Çiftçi, O., Kaya, A., Yurtmen, M., Uzunoğulları, N., Çelik, N., Türkölmez, Ş. 2011. Update on Plum pox virus distribution in Turkey, *Phytopathol. Mediterr.*, 50: 75-83.
- Azeri, T. 1994. Detection of virus diseases of stone fruits in aegian region of Türkiye. 9th Congress of Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası, Aydın, Türkiye. 511-513 p.
- Baumgartnerova, H. 1996. First findings of *Plum pox virus* in walnut trees (*Juglans regia* L.). *Acta Virologica*, 40: 59-60.
- Berger, P., Barnett, O.W., Brunt, A.A., Colinet, D., Edwardson, I.R., Hammond, I., Hill, I.H., Jordan, R.L., Kashwazaki, S., Makkouk, K., Morales, F.I., Rybicki, E., Spence, N., Ohki, S.T., Uyeda, I., van Zaayen, A., Vetten, R.I. 2000. Family Potyviridae. In: *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Springer-Verlag, NY. pp 703-724.
- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L. 1996. *Viruses of plants*. CAB International, 1484 pp.
- Çağlayan, K. 2006. *Plum pox virus* (PPV) in Turkey. *Bulletin OEPP/EPPD Bulletin*, 36: 216.
- 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: 198-204.
- Candresse T., Cambra, M. 2006. *Plum pox virus strains* or types: historical perspective and current status. *EPPD Bulletin* 36: 239-246.
- Candresse, T., Svanella-Dumas, L., Gentit, P., Çağlayan, K., Çevik, B. 2007. First report of the presence of *Plum pox virus* Rec strain in Turkey. *Plant Disease*, 91: 331.
- Ceylan, A., Gürcan, K., Akbulut, M., Ghaderi, M. 2014. Kayseri'de yüksek şarka enfeksiyonu. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 30(2): 80-85.
- Chirkov, S., Ivanov, P., Sheveleva, A. 2013. Detection and partial molecular characterization of atypical *Plum pox virus* isolates from naturally infected sour cherry. *Archives of Virology*, 158(6): 1383-1387.
- Crescenzi, A., D'aquino, L., Comes, S., Nuzzaci, M., Piazzolla, P. 1997. Characterisation of the sweet cherry isolate of *Plum pox potyvirus*. *Plant Disease*, 81: 711-714.
- Clark, M.R., Adams, A.M. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. General Virology*, 34: 475-483.
- Çelik, N., Topkaya Küçük, B. 2013. Antalya ilinde şarka virüs hastalığının belirlenmesi. *Derim*, 30(2):1-10.
- Çıtır, A., İlbağı, H. 2008. Serological identification of some important viruses on fruit trees and bushes in Tekirdağ province of Turkey. *Proceedings of the Twentieth International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops, Fruit Tree Diseases*, Antalya, Turkey. *Acta Horticulturae*, 781: 103-106.
- Dunez, J. 1986. Preliminary observations on virus and virus like diseases of stone fruit trees in Mediterranean and near east countries. *FAO Plant Protection Bulletin*. 34: 43-48.
- Elibüyük, İ.Ö., Erdiller, G. 1991. Ankara ilinde kayısı, erik ve şeftali ağaçlarında görülen şarka hastalığının yayılış alanlarının tespiti ve tanısı üzerinde araştırmalar. 6. Türkiye Fitopatoloji Kongresi. 7-11 Ekim 1991, İzmir. s. 411-414.
- Elibüyük, İ.Ö. 2003. Natural spread of Plum pox virus in Ankara, Turkey. *J. Phytopathology*, 151: 617-619.
- Elibüyük İ.Ö. 2004. Current situation of sharka disease in Ankara, Turkey. *Phytoparasitica*, 32(4): 417-420.
- Erdiller, G. 1988. Investigation on the causes of fruit dropping of apricot and plum trees in Ankara province. *Journal of Turkish Phytopathology*, 17(3): 98.
- Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17(6): 368-376.
- Garcia, 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.
- Glasa, M., Candresse, T. 2005. Partial sequence analysis of an atypical Turkish isolate provides further information on the evolutionary history of Plum pox virus (PPV). *Virus Research*, 108: 199-206.
- Glasa, M., Paunovic, S., Jevremovic, D., Myrta, A., Pittnerová, S., Candresse, T. 2005. Analysis of recombinant Plum pox virus (PPV) isolates from Serbia confirms genetic homogeneity and supports a regional origin for the PPV-Rec subgroup. *Arch. Virol.*, 150: 2051-2060.
- 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. *J. Genet. Virol.*, 85: 2671-2681.
- Glasa, M., Prikhodko, Y., Predajna, L., Nagyova, 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.
- 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.
- Gürcan, K., Öcal, N., Yılmaz, K.U., Ullah, S., Erdoğan, A., Zengin, Y. 2015. Evaluation of Turkish apricot germplasm using SSR markers: Genetic diversity assessment and search for *Plum pox virus* resistance alleles. *Scientia Horticulturae*, 193: 155-164.
- Ilardi, V., Tavazza, M. 2015. Biotechnological strategies and tools for Plum pox virus resistance: trans-, intra-, cis-genesis, and beyond. *Frontiers in Plant Science*, 6: 379.
- İlbağı, H., Çıtır, A., Bostan, H. 2008. *Prunus spinosa* L. A natural wild host of some important fruit viruses in Tekirdağ, Turkey, *Proceedings of the Twentieth International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops, Fruit Tree Diseases*, Antalya, Turkey. *Acta Horticulturae*, 781: 33-36.
- James, D., Varga, A. 2005. Nucleotide sequence analysis of Plum pox virus isolate W3174: Evidence of a new strain. *Virus Research*, 110: 143-150.



- Kalashayan, A., Bilkey, N.D., Verderevskaya, T.D., Rubina, E.V. 1994. Plum Pox Potyvirus on sour Cherry in Moldova. EPPO Bulletin 24: 645-649.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution, 16 (2): 111-120.
- Kurçman, S. 1973. Nachweis des sharka-virus an aprikosen und pflaumenbaumen aumenbaumen in Ankara. Journal of Turkish Phytopathology, 2: 124-129.
- Koç, G., Baloğlu, S. 2006. First report of sharka in the Çukurova region of Turkey, Journal of Plant Pathology, 88(3 suppl.), 68.
- Lopez-Moya, J.J., Fernandez-Fernandez, M.R., Cambra, M., Garcia, J.A. 2000. Biotechnological Aspects of Plum pox virus. J. Biotech., 76: 121-136.
- 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.
- 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.
- Ogawa M. J., Zehr, I. E., Bird, W. G., Ritchie, F. D., Uriu, K., Uyemoto, K.J. 1995. Compendium of stone fruit diseases, Page: 69, The American Phytopathological Society Press.
- Olmos, A., Cambra, M., Dasi, M.A., Candresse, T., Esteban, O., Gorris, M.T., Asensio, M. 1997. Simultaneous detection and typing of plum pox potyvirus (PPV) isolates by heminested-PCR and PCR-ELISA. Journal of Virological Methods, 68: 127-137.
- 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.
- Scorza, R., Callahan, A., Dardick, C., Ravelonandro, M., Polak, J., Malinowski, T., Zagrai, I., Cambra, M., Kamenova, I. 2013. Genetic engineering of Plum pox virus resistance: 'HoneySweet' plum—from concept to product. Plant Cell Tiss. Organ. Cult., 115: 1-12.
- Saitou, N., Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution, 4: 406-425.
- Sertkaya, G., Ulubaş, Ç., Çağlayan, K. 2003. Detection and characterization of Plum pox potyvirus (PPV) by DAS-ELISA and RTPCR/ RFLP analysis in Turkey, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 27: 213-220.
- Şahtiyancı, S. 1969. Virus de la sharka chez le prunier. Bulletin Phytosanitaire FAO 17, 69.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. 2013. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30: 2725-2729.
- Thompson, J.D, Higgins, D.G., Gibson, T.J. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research, 22: 4673-80.
- Ulubaş Serçe, Ç., Candresse, T., Svanella-Dumas, L., Krizbai, L., Gazel, M., Çağlayan, K. 2009. Further characterization of a new recombinant group of Plum pox virus isolates, PPV-T, found in the Ankara province of Turkey. Virus Research, 142: 121-126.
- Ulubaş Serçe, Ç., Gazel, M., Çağlayan, K. 2011. Plum pox virus streynlerinin Türkiye'deki dağılımı (Distribution of Plum pox virus strains in Turkey), Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, Kahramanmaraş s. 72.
- Wetzel, T., Candresse, T., Ravelonandro, M., Dunez, J. 1991. A polymerase chain reaction assay adapted to plum pox potyvirus detection. Journal of Virological Methods, 33: 355-365.
- Wijkamp, I., Jan Van Der Gaag, D. 2011. Pest risk analyses for Plum pox virus (PPV). Plant Protect. Serv. pp. 57, Wageningen.
- Yürektürk, M. 1984. Marmara Bölgesinde Sert Çekirdekli Meyvelerde Görülen Sharka Hastalığı Üzerinde Araştırmalar. Atatürk Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Yayınları, 37 s.