



## Turunçgil Sarı Damar Açılması Virüs (TSDAV) Hastalığının Farklı Turunçgil Türlerinde Moleküler Olarak Tanılanması\*

Abdulkadir BOZDOĞAN<sup>(1)</sup>

Nüket ÖNELGE<sup>(2)</sup>

### Özet

Bu çalışmada Turunçgil sarı damar açılması virüs (TSDAV) hastalığı; hastalık belirtilerinin gözlenebildiği limon ve turunç türleri ile belirtilerin görülmediği portakal, mandarin ve altıntop türlerinden alınan bitki dokularının, moleküler yöntemle (RT-PCR) varlığı araştırılmış; TSDAV hastalığı belirtilerini göstermeyen portakal, mandarin ve altıntop türlerinden alınan bitki dokuları ile, turunç bitkisine biyolojik indeksleme yapılarak hastalığın bu türlerdeki belirtileri ortaya konmaya çalışılmış ayrıca etmenin limon ve turunç meyve kabukları ile çiçeklerinde varlığı araştırılmış; elde edilen PCR ürününün nükleotid dizilimi belirlenerek etmenin filogenetik olarak diğer virüslerle akrabalığı belirlenmeye çalışılmıştır. RT-PCR işlemi sonucunda limon, turunç, portakal, mandarin ve altıntop türlerine ait yaprak ve sürgün örneklerinin tümünde ve meyve kabuğu ile çiçek örneklerinin tümünde pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Tohum örneklerinin tümünde negatif sonuçlar elde edilmiştir. Nükleotid dizilim analizleri ve yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda farklı turunçgil türlerinden alınan örneklerin Pakistan, Çin Halk Cumhuriyeti ve ülkemizde daha önce limon örneklerinden yapılan etmen analizleri ile %97'nin üzerinde bir benzerlik gösterdiği belirlenmiş ayrıca farklı turunçgil türlerinin birbirileri ile olan benzerliğinin %98'in üzerinde olduğu ortaya konmuş ve etmenin *Mandarivirus* cinsi içinde yer aldığı belirlenmiştir. Biyolojik indeksleme çalışmaları sonucunda aşılama çalışmalarının yapıldığı tüm turunç indikatör bitkilerinde TSDAV hastalığının karakteristik belirtileri gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Turunçgil, TSDAV hastalığı, CYYCV, RT-PCR, indikatör bitki, *Mandarivirus*.

## Identification of *Citrus Yellow Clearing Virus Disease Virus* (CYVCV) by Molecularly on Different Citrus Species

### Abstract

In this study, the *Citrus yellow vein clearing virus* (CYVCV) disease, first observed in Pakistan and India and then in our country is researched among the species of *Citrus* such as orange, mandarin and grapefruit which don't show the characteristic symptoms of the disease. Also, the CYVCV found in the fruit and flower of lemon and sour orange is researched in this study. In the researched of the CYVCV, molecular RT-PCR method and biological indexing method to justify the obtained findings are used. As a result of the study, in all of the examples of leaves and exile belonging to the species of lemon, sour orange, orange, mandarin and grapefruit, the existence of the virus on these species are identified by obtaining a band in the length of 479 bp and 921 bp. The existence of the disease on the species of orange, mandarin and grapefruit is first determined in this study. In the studies done by rind of fruit and flower tissue the existence of the virus on these tissues is determined. In all examples of seed it is identified as molecular that the disease factor of negative result doesn't exist in seed. As a result of the nucleotide analyses and phylogenetic studies it is identified that the examples taken from different *Citrus* species and analyses done previously on lemon examples showed up 97% similarly in Pakistan, China and in our country. During biological index studies, leaf deformations, pocket image of inward and outward on leaf tissues, recess in the shape of V in the edge of leaf, banding and yellow color fading on the main and edge veins of the leaf, gondol leaf, shape of wet water on the back side of the leaves are identified.

**Keywords:** *Citrus*, TSDAV disease, CYYCV, RT-PCR, indicator plant, *Mandarivirus*.

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 21.11.2016

\*Yüksek Lisans Tezi

(1) T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, İmamoğlu Tarım İlçe Müdürlüğü, İmamoğlu/ADANA

(2) Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sarıçam/ADANA

## **Giriş**

Dünyada turunçgil üretimi yapılan bölgelerin tümünde, virüs, viroid ve virüs benzeri hastalıklar yaygın olarak bulunmaktadır. Virüs hastalıkları; ağaçlarda büyümenin yavaşlamasına, verim ve meyve kalitesinde büyük ölçüde düşüşe, ağaçlarda ekonomik ömrün azalmasına yol açmakta ve şiddetli hastalık durumlarında da ağaçların ölmesine neden olmaktadır. Dünyada şu ana kadar turunçgiller ile ilgili yaklaşık 70 farklı virüs, viroid ve virüs benzeri hastalık etmeni tespit edilmiştir. Çınar ve arkadaşlarının (1993) yapmış oldukları çalışmaya göre ülkemiz turunçgil yetiştiriciliğinde önemli ürün kayıplarına neden olan toplam 16 adet virüs, viroid ve virüs benzeri hastalık etmeni bulunmaktadır.

TSDAV hastalığı dünyada ilk kez Pakistan'da tespit edildikten (Catara ve ark., 1988) sonra, Hindistan'da (Ahlawat, 1997), Türkiye'de (Önelge, 2003) ve son olarak da Çin'de (Zhao ve ark., 2014) turunçgil yetiştiriciliği yapılan alanlarda limon ve Etrog citron'da rapor edilmiştir.

TSDAV etmeni Tymovirales takımı, *Alphaflexiviridae* familyası, *Mandarinivirus* cinsine dahil olan bir virüstür. Etmen 7.529 nükleotid uzunluğunda, esnek-ipliksi yapıda, tek sarmal +RNA genomuna sahiptir (Loconsole ve ark., 2013).

TSDAV hastalığı genel olarak limon (*C. limon*) ağaçlarında gözlenmektedir. Bitkide belirtiler; yapraklarda buruşukluk, sarı renklenmeler, ana ve yan damarlarda uzunlamasına renk açılmaları, yaprakta ve kenarlarında değişen şiddette kıvrılmalar, yaprağın alt kısmında damarlar boyunca hafif kahverengileşme ve yaprak boyutunda küçülme, meyve büyüklüğünde %50 oranında küçülme şeklindedir (Önelge, 2003). Bu duruma benzer belirtiler turunç (*C. aurantium*) bitkilerinde de gözlenmektedir (Önelge ve ark., 2007).

TSDAV hastalığının varlığı elektron mikroskopu, dsRNA analizi, RT-PCR analizi, Western blot analizi ve biyolojik indeksleme yöntemleri ile ortaya konulmuştur. RT-PCR yöntemi ise hastalığın rutin tanısında

kullanılan bir yöntem haline gelmiştir (Loconsole ve ark., 2013).

Bu çalışmada, dünyada ilk kez Pakistan ve Hindistan'da, ardından ülkemizde Çukurova Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği turunçgil parselinde, limon ve turunçlarda gözlenen TSDAV hastalığı etmeninin, hastalık belirtilerinin gözlenebildiği limon ve turunç türleri ile belirtilerin görülmediği portakal, mandarin ve altıntop türlerindeki varlığı, RT-PCR yöntemi ile araştırılmıştır. TSDAV hastalığı belirtilerini göstermeyen portakal, mandarin ve altıntop türlerinden alınan bitki dokuları ile turunç bitkisine biyolojik indeksleme yapılarak hastalığın bu türlerdeki belirtileri ortaya konulmaya çalışılmış; ayrıca etmenin limon ve turunç meyve kabukları ile çiçeklerinde varlığı araştırılmıştır. Belirtilen ve göstermeyen turunçgil türlerinden RT-PCR yöntemi sonucunda elde edilen cDNA'lardan nükleotid dizilim analizleri gerçekleştirilerek etmen moleküler olarak da araştırılmıştır. Nükleotid dizimleri NCBI veri tabanından elde edilen verilerle karşılaştırılarak etmenin farklı turunçgil türlerindeki soy ağacı belirlenmeye çalışılmıştır.

## **Materyal ve Yöntem**

### **Materyal**

#### **Bitkisel Materyaller**

Araştırma, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği turunçgil koleksiyonu parsellerinde, Bitki Koruma Bölümü Turunçgil Virüsleri Laboratuvarı, bölüme ait araştırma seraları ve iklimlendirme odasında yürütülmüştür.

Araştırmalar için kullanılan bitkiler Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği turunçgil parsellerinden toplanan portakal, mandarin, altıntop, limon ve turunç bitkilerine ait örnekler olmuştur. TSDAV hastalığı limon ve turunç bitkilerinde belirtiler göstermekte, portakal, altıntop ve mandarin bitkilerinde ise bir belirtiler oluşumu göstermemektedir. Araştırma parselinde bulunan, belirtiler gösteren 10'ar adet limon ve turunç ağaçları ile belirtiler göstermeyen ancak hastalığın varlığından şüphelenilen 10'ar adet portakal, altıntop ve mandarin ağaçlarından toplanan

## Turunçgil Sarı Damar Açılması Virüs (TSDAV) Hastalığının Farklı Turunçgil Türlerinde Moleküler Olarak Tanınması

yaprak, genç sürgün, çiçek ve meyve örnekleri toplandıktan sonra numaralandırılarak buz kutusu içinde bölüm laboratuvarına getirilmiştir.

### Biyolojik Tanı Çalışmalarında Kullanılan Materyaller

Araziden limon, turunç, portakal, altıntop ve mandarin türlerinden 3'er adet ağaçtan bitki örnekleri alınmış, her bir ağacın örneği tohumdan yetiştirilmiş olan 3'er adet turunç indikatör bitkisine aşılanarak aktarılmıştır. Aşılama işleminde bitki dokularının çıkarılması için sterilize edilmiş bisturi ve aşı bıçağı kullanılmıştır.

### Total RNA Ekstraksiyonunda Kullanılan Materyaller

TSDAV hastalığının moleküler düzeyde araştırılması amacıyla Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği turunçgil parsellerinden alınan limon, turunç, portakal, altıntop ve mandarin bitkilerine ait yaprak, genç sürgün, çiçek ve meyve örnekleri RNA ekstraksiyonunun materyalini oluşturmuştur.

### Yöntem

#### Biyolojik Tanı Çalışmaları

Biyolojik indekseleme çalışmalarında göz ve kabuk dokularından yararlanılmıştır. Belirlenen her turunçgil türünden 3'er örneğin aşılandığı, her tür için toplam 9 turunç fidanı aşılama işleminden sonra tekrar sera koşullarına alınarak semptom gelişimleri takip edilmiştir. 3 adet turunç fidanı ise bir işlem yapılmaksızın negatif kontrol olarak bırakılmıştır.

Biyolojik indekseleme çalışmalarında etmenin bulaşık ağaçlarda oluşturduğu damar bantlaşması semptomu, yaprak deformasyonları, yaprağın alt yüzeylerinde su emgisi şeklinde beliren lekeler, hastalık etmeni belirtisi olarak değerlendirilmiştir.

### Total Nükleik Asit Ekstraksiyonu Çalışmaları

CTAB temelli total nükleik asit ekstraksiyonu için Murray ve Thompson'un (1980) tanımladığı yöntem kullanılmıştır. Çalışmalar Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Turunçgil Virüsleri Laboratuvarında yürütülmüştür.

### RT-PCR Çalışmaları

RT-PCR; total RNA çalışması sonucunda elde edilen virüs nükleik asidi üzerindeki belirli bölgelerin, spesifik primerler kullanarak uygun koşullarda çoğaltılması, böylelikle TSDAV'nin moleküler tanısı amacı ile yapılmıştır.

Bu çalışmada Loconsole ve ark. (2013) tarafından belirlenen primerler kullanılmıştır. Kullanılan primer dizileri ve tanılama bölgeleri ise Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. TSDAV için RT-PCR çalışmalarında

	Primer	PCR Ürün Boyu (bp)
Genom Sıralama		
7081fw 7560rev	ACCTCACGATGGACCACGTT CAGAAAATGGAAACTGAAAGCCTG	479
Algılama		
1fw 921rev	GAAAAGCAAACAGTAACAAACACACCC GGGCAAGAGCATTGGGTATCT	921
391fw 449rev	CGAATCCGCTGCGAGCTA GGGAGTGCTTGGACAGGAGAT	59

kullanılan primerler.

### Sekans Analizleri ve Verilerin Karşılaştırılması

RT-PCR ve agaroz jel elektroforezi sonucunda bulaşık bulunan örnekler, saflaştırma ve nükleotid dizilimlerinin belirlenmesi amacı ile Adana ilindeki "Molgentek" firmasına gönderilmiştir.

Sekanslama işlemleri tamamlanan bulaşık örneklerin baz dizilimleri "Finch TV" programı aracılığıyla görüntülenip, NCBI gen bankasında yer alan bazı verilerle "BLAST" yönteminde karşılaştırılmıştır.

Yapılan filogenetik analiz çalışmalarında bulaşık örneklere ait DNA dizileri, "Mega 6" programı ile "Neighbour Joining" yönteminde sınıflandırılmıştır.

**Bulgular ve Tartışma**  
**TSDAV Hastalığının Biyolojik**  
**İndeksleme Yöntemi ile Tanınmasına Ait**  
**Bulgular**

Göz dokusu ve kabuk dokusu olarak gerçekleştirilen aşılama çalışmalarının yapıldığı bütün turunç indikatör bitkilerinde, TSDAV hastalığının karakteristik belirtileri olan yaprak kenarlarında kıvrılmalar şeklinde gelişen düzensiz deformasyonlar (Şekil 1) ile yaprak ana ve yan damarlarında, hastalığın ismini aldığı çizgi halindeki sarı renk açılmaları gözlemlenmiştir.

Bu renk açılmalarının tüm damar boyunca uzunlamasına ilerlediği (Şekil 2) ve bazen de yapraklarda kesik kesik bantlaşma geliştiği gözlemlenmiştir. Yapraklarda dışa ve içe doğru cep oluşumu, gondol şeklinde yaprak oluşumu gibi yaprak deformasyonlarını tüm turunçgil çeşitlerinden alınan örnekler geliştirmiştir. Yaprak kenarlarında "V" şeklinde girinti oluşumu ve yaprak arka damarlarında su emgisi şeklinde ıslak görünüm, indeksleme sonucunda gözlenen bazı belirtilerden olmuştur. Kontrol bitkileri olan tohumdan yetişmiş sağlıklı turunç fidanlarında ise herhangi bir TSDAV hastalık belirtimine rastlanılmamıştır.



**Şekil 1.** TSDAV hastalığı etmeninin, biyolojik indeksleme sonucunda turunç yaprak kenarlarında oluşturduğu kıvrılmalar şeklinde gelişen düzensiz deformasyonlar.



**Şekil 2.** TSDAV hastalığı etmeninin, biyolojik indeksleme sonucunda turunç bitkisinin yapraklarında ana ve yan damarlarda oluşturduğu çizgi halinde sarı renk açılmaları.

TSDAV hastalığı etmeninin turunç çöğürlerinde geliştirdiği bazı belirtiler, bölgemizde yaygın olarak bulunan Turunçgil klorotik cüceleşme virüsü (TKCV) ile benzerdir. Her iki hastalık da turunç yapraklarında yaprak deformasyonlarına neden olmakta ancak TSDAV hastalığı damarlar üzerinde sarı renkli bantlaşma geliştirirken TKCV hastalığı turunç yapraklarında özellikle orta damar çevresinde, düzensiz klorotik lekeler ve beneklemeler geliştirmektedir. Her iki hastalıkta turunç yapraklarında "V" şeklinde girintiler ve yaprak arka damarında su emgisi şeklinde gelişen lekelenmeler geliştirmektedir. Gondol yaprak oluşumu her iki hastalık içinde karakteristiktir. Hastalık belirtileri arazi şartlarında zaman zaman karışmakla birlikte, yapılan çalışmalarda (Korkmaz, 1997) TKCV hastalığının portakal, altıntop ve mandarin ağaçlarında da belirtiyi oluşturduğu bu çalışmada ortaya konduğu gibi, TSDAV hastalığının bu çeşitlerde latent kaldığı ancak turunç gibi duyarlı bir indikatör bitkiye aktarıldığında belirtilerini geliştirebildiği belirlenmiştir.

## Turunçgil Sarı Damar Açılması Virüs (TSDAV) Hastalığının Farklı Turunçgil Türlerinde Moleküler Olarak Tanınması

### RT-PCR Çalışmaları ile İlgili Bulgular

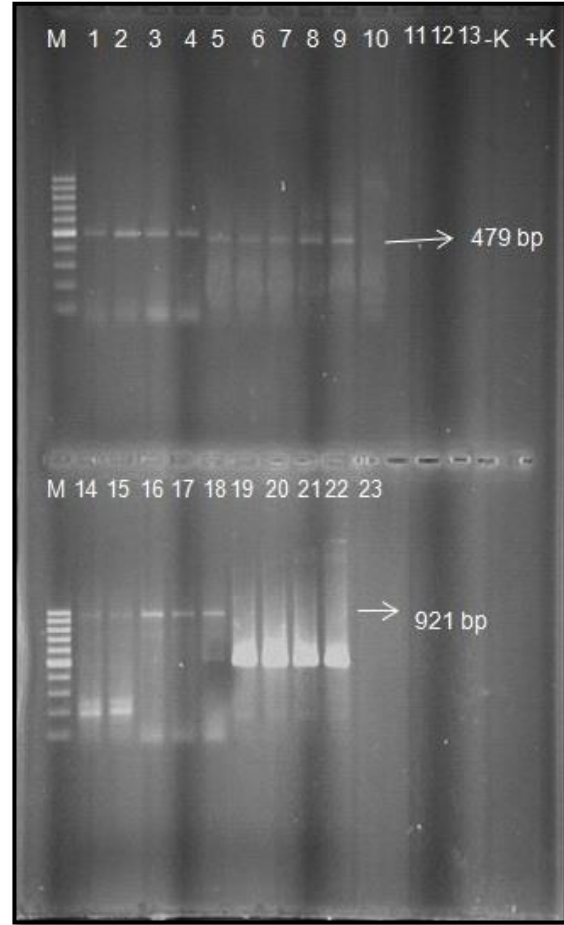
RT-PCR çalışmalarında 7081fw/7560rev primer çifti ile çoğaltılan tüm örneklerde 479 bp'lik bant oluşumu gözlemlenmiştir. 391fw/449rev primer çifti ile çoğaltılan tüm örneklerde 59 bp'lik bant oluşumu gözlenirken 1fw/921rev primer çifti ile 921 bp büyüklüğünde bantlar elde edilmiştir. Her üç primer çiftiyle çoğaltılan tüm örneklerde bant oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiş ve örnekler TSDAV ile bulaşık olarak kabul edilmiştir (Çizelge 2).

İzolat ve Sayı	Primer Çifti		
	7081fw/ 7560rev (479 bp)	391fw/ 449rev (59 bp)	1fw/ 921rev (921 bp)
Limon (10)	+	+	+
Turunç (10)	+	+	+
Portakal (10)	+	+	+
Mandarin (10)	+	+	+
Altıntop (10)	+	+	+
Çiçek (5)	+	+	+
Meyve Kabuğu (5)	+	+	+
Tohum (5)	-	-	-
Negatif Kontrol (5)	-	-	-

**Çizelge 2.** RT-PCR çalışmaları ile elde edilen cDNA'ların, agaroz jel elektroforez işlemi sonucu oluşan görüntülerdeki bant oluşumu.

RT-PCR çalışmaları sonucunda TSDAV hastalığının farklı turunçgil türlerinden elde edilen jel görüntüleri Şekil 3'te yer almaktadır.

Bu çalışmada, Ç.Ü. turunçgil parseline yapraklarında simptom bulunan limon ve turunç ağaçlarından alınan bitki örnekleri ile yapılan RT-PCR çalışmalarında, örnek alınan ağaçların tamamının TSDAV etmeni ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Herhangi bir yaprak simptomu gözlemlenmeyen portakal, mandarin ve altıntop ağaçlarından alınan örneklerle gerçekleştirilen RT-PCR çalışmaları sonucunda da, örnek alınan ağaçların TSDAV etmeni ile bulaşık olduğu ve 479 bp'da virüs bantlarının mevcut olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 3.** Altıntop ve limon örneklerine ait jel görüntüsü. %1,5'lük agar jelde 479 bp ve 921 bp primerleri ile altıntop ve limon örneklerinde TSDAV'ne ait bant oluşumları. 1-10 portakal örnekleri, 14-22 altıntop örnekleri, M: Markör.

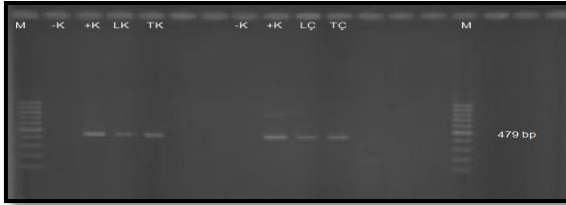
Çalışma sonucunda TSDAV'nün limon ve turunç ağaçlarında simptom oluşturduğu, ancak portakal, mandarin ve altıntop ağaçlarında latent olarak bulunduğu ortaya konulmuştur.

Loconsole ve ark. (2013) yapmış oldukları çalışmada, etmenin moleküler yapısını tamamen ortaya koymuş ve RT-PCR ile farklı primerler kullanarak etmenin tanısını gerçekleştirmiştir. Primer çiftleri ile yürütülen

## Turunçgil Sarı Damar Açılması Virüs (TSDAV) Hastalığının Farklı Turunçgil Türlerinde Moleküler Olarak Tanınması

bu çalışma da Loconsole ve ark.'nın sonuçları ile uyumludur. Her iki çalışmada kullanılan primer çiftleri ile, virüsün manto protein yapısı moleküler olarak tanımlanmıştır. Çin'de Zhao ve ark. (2014) tarafından yürütülen çalışmada da bu çalışmaya benzer sonuçlar elde edilmiş ve TSDAV hastalığı RT-PCR çalışmaları ile aynı primer çiftleri kullanılıp moleküler olarak tanımlanmıştır.

Bu çalışmada TSDAV ile enfekteli limon ve turunç ağaçlarından alınan meyve kabuğu ve çiçek örnekleri de RT-PCR yöntemi ile virüs açısından araştırılmıştır. Çalışma sonucunda (Şekil 4) enfekteli limon ve turunç ağaçlarından alınan meyve kabuğu ve çiçek örneklerinin, virüs etmeni tanısı bakımından kullanılabilirliği ve bu dokuların TSDAV ile enfekteli olduğu elirlenmiştir. Bu dokulardaki virüs varlığı ilk olarak bu çalışma ile ortaya konulmuştur. RT-PCR çalışmalarında kullanılan üç primer çifti de pozitif sonuç vermiştir. Ancak bu primer çiftlerinden 59 bp olan çift, jel üzerinde primer kalıntısı gibi görüntü oluşturmuştur. Bu nedenle 479 bp ve 921 bp primer çiftlerinin daha ayırıcı özellikte olduğu belirlenmiştir.

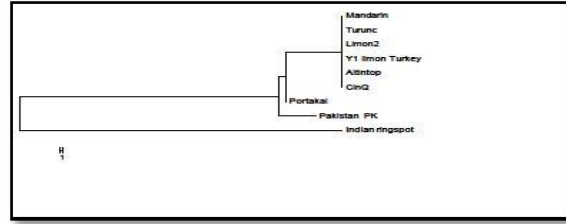


**Şekil 4.** Limon ve turunç bitkisine ait meyve kabuğu ve çiçek doku örnekleri ile yapılan RT-PCR sonucu elde edilmiş 479 bp DNA'ların jel görüntüsü. M: Markör, LK: Limon meyvesi kabuğu, TK: Turunç meyvesi kabuğu, LÇ: Limon çiçeği, TÇ: Turunç çiçeği, -K: Negatif kontrol, +K: Pozitif kontrol.

Yürütülen bu çalışmada tohum ve negatif kontrol örnekleri, her üç primer çiftinde de bant oluşumu göstermemiştir. Daha önce Gök (2010) tarafından yapılan çalışmada, TSDAV'ünün tohum ile taşınmadığı belirlenmiştir. Tohum örneklerinin bir bant oluşumu göstermemesi, TSDAV etmeninin tohuma geçmemesinden kaynaklanmaktadır.

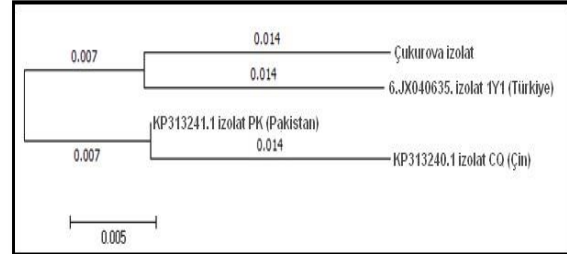
## Nükleotid Dizilimi ve Filogenetik Analiz ile İlgili Bulgular

Nükleotid dizilim analizleri ve yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda farklı turunçgil türlerinden alınan örneklerin Pakistan, Çin Halk Cumhuriyeti ve ülkemizde daha önce limon örneklerinden yapılan etmen analizleri ile %97'inin üzerinde bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 5).



**Şekil 5.** Nükleotid dizilim analizleri ve yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda farklı turunçgil türlerinden alınan örneklerin Pakistan, Çin Halk Cumhuriyeti ve ülkemizde daha önce limon örneklerinden yapılan etmen analizleri ile kıyaslanması.

Çalışmada farklı turunçgil türlerinin birbirleriyle olan benzerliğinin %98'in üzerinde olduğu da ortaya konulmuştur (Şekil 6).



**Şekil 6.** Nükleotid dizilim analizleri ve yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda farklı turunçgil türlerinden alınan örneklerin birbirleriyle karşılaştırılması.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Loconsole ve ark. (2013) tarafından bildirilen sonuçlar ile uyum içerisindedir. Araştırmacılar saflaştırılmış viral RNA'ları ve 7081fw/7560rev primer çifti ile 391fw/449rev primer çiftini kullanarak yaptıkları RT-PCR çalışmasında, TSDAV etmeninin varlığını saptamışlar ve sırasıyla 479 bp'lik ve

## Turunçgil Sarı Damar Açılması Virüs (TSDAV) Hastalığının Farklı Turunçgil Türlerinde Moleküler Olarak Tanınması

59 bp'lik bantları gözlemlenmişlerdir. Yine bu çalışmada yapılan nükleotid dizilimi ve filogenetik analizler ile ilgili sonuçlar, aynı araştırmacıların sonuçları ile paralellik göstermiş ve TSDAV etmeninin, ICRSV (*Indian citrus ring spot mandarivirus*) ile filogenetik olarak aynı şubede yer aldığını belirlemiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ayrıca Zhen ve ark. (2015) tarafından bildirilen araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Araştırmacılar saflaştırılmış olan viral RNA'ları ve spesifik CY27SF/CY25TR primer çiftini kullanarak yapmış oldukları RT-PCR işlemi sonucunda TSDAV'ün varlığını saptamışlar ve yapılan filogenetik analiz çalışması sonucunda da örneklerinin, Türkiye kaynaklı bir ırk olan CYVCV-Y1 ırkı ile %97.1 oranında benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

### Sonuçlar

Farklı turunçgil türlerinden göz dokusu ve kabuk dokusu olarak gerçekleştirilen aşılama çalışmalarının yapıldığı tüm turunç indikatör bitkilerinde, TSDAV hastalığının karakteristik semptomları belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışma arazi koşullarında herhangi bir hastalık belirtisi göstermeyen, limon ve turunç ağaçlarında görülen yaprak damarlarının bantlaşması, yaprak yapısının deformasyonu gibi semptomlar oluşturmeyen portakal, mandarin ve altıntop ağaçlarından turunç çöğürlerinde geliştirdiği hastalık etmeni belirtileri, bu ağaçların hastalığın semptomsuz (latent) taşıyıcısı olduğunu bir kez daha ortaya koymuştur.

TSDAV hastalık etmenini moleküler olarak tanımlama çalışmalarında mevcut etmen limon, turunç, mandarin, portakal, altıntop ağaçlarından izole edilmiş ve RT-PCR yöntemi ile bu ağaçların bulaşık olduğu ortaya konulmuştur.

Limon ve turunç meyve kabuklarından ve çiçeklerinden yapılan tanılamalarda pozitif sonuçlar elde edilmiş, etmenin bu kısımlardaki varlığı da ortaya konmuştur.

Nükleotid dizilim analizleri ve yapılan filogenetik çalışmalar sonucunda farklı turunçgil türlerinden alınan örneklerin, Pakistan, Çin Halk Cumhuriyeti ve ülkemizde daha önce limon örneklerinden yapılan etmen analizleri ile %97'inin üzerinde bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca farklı turunçgil türlerinin birbirileri ile olan benzerliklerinin %98'in üzerinde olduğu da ortaya konulmuştur.

### Kaynaklar

- Ahlawat, Y. S. (1997) Virus, greening bacterium and viroids associated with citrus (Citrus species) decline in India. *Indian J. Agric. Sci.* 67:51-57.
- Catara, A., Azzaro, A., Moghal, S. M. and Khan, D. A. (1988) Virus, viroid and prokaryotic diseases of *Citrus* in Pakistan. Proc. 6th. Int. Citrus Congr. 3:957-963.
- Çınar, A., Kersting, U., Önelge, N., Korkmaz, S. and Şaş, G. (1993) Citrus virus and virus-like diseases in the East Mediterranean region of Turkey. In: P. Moreno, J. V. da Graça, L. W. Timer and J. A. Doods (eds.), Proc. 12th. Conf. Intern. Organization Citrus Virol. Univ. Calif. Pres, Riverside, USA.
- Korkmaz, S. (1997) Doğu Akdeniz Bölgesi turunçgillerinde vektör ile taşınan virüs benzeri bir hastalığın yayılması, taşınması, duyarlı tür ve çeşitlerin belirlenmesi ve tanınması üzerine araştırmalar. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana.

## Turunçgil Sarı Damar Açılması Virüs (TSDAV) Hastalığının Farklı Turunçgil Türlerinde Moleküler Olarak Tanınması

- Loconsole, G., Önelge, N., Potere, O., Giampetruzzi, A., Bozan, O., Satar, S., De Stradis, A., Savino, V., Yokomi, R. K. and Saponari, M. (2013) Identification and characterization of *Citrus yellow vein clearing virus*, A Putative New Member of the Genus *Mandarivirus*. *Phytopathology*, 102:1168-1175.
- Murray, M. G. and Thompson, W. F. (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 8:19.
- Önelge, N. (2003) Türkiye’de Limonlarda Sarı Damar Açılması İle İlgili İlk Rapor. *J. Turk. Phytopath.* 32:1, 53–55.
- Önelge, N., Bozan, O., Gök, M. and Satar, S. (2007) Yellow vein clearing of lemons in Turkey. 17th Conf. IOCV, p. 176.
- Zhao, X. Y., Chen, H. M., Li, Z. A., Wang, X. F., Zhou, Y. K., Tang, Z. C. and Zhou, Y. (2014) First report of *Citrus yellow vein clearing virus* on Lemon in Yunnan, China. *Plant Disease*, 98:12-747.
- Zhen, S., Kurth, E. G., Peremyslov, V. V., Changyong, Z., Dolja, V. V (2015) Molecular characterization of a *Citrus yellow vein clearing virus* strain from China. *Archives of Virology*, 160(7):1811-1813.