



Elma Yetiştiriciliğinde Zararlı Olan Virüs ve Virüs Benzeri (Aşıyla Taşınan) Hastalıklar ve Mücadelesi

Nevzat BİRİŞİK*

M. Asil YILMAZ²

Saadettin BALOĞLU²

¹ Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Adana, TÜRKİYE

² Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Adana, TÜRKİYE

*Sorumlu Yazar
e-posta: nevzatbir@yahoo.com

Geliş Tarihi : 31.10.2009
Kabul Tarihi : 9.12.2009

Özet

Tüm bitkilerde olduğu gibi elma yetiştiriciliğinde de çok sayıda virüs ve virüs benzeri hastalık tespit edilmiş olup, bunlardan dolayı farklı düzeylerde kalite ve kantite kayıpları meydana geldiği bilinmektedir. Bu güne kadar yapılan çalışmalar sonucunda elma yetiştiriciliğinde çoğu latent olmak üzere toplam 43 adet virüs ve virüs benzeri hastalık rapor edilmiştir. Bu hastalıklara neden olan etmenlerin sayısı çok olmasa da elma yetiştiriciliğinde çeşit, anaç ve ekolojiye bağlı olarak farklı hastalık belirtilerine neden olmaktadır. Bu hastalık etmenlerin bitkilerde tek veya karışık enfeksiyon halinde bulunması durumunda %50'ye varan verim ve kalite kayıpları meydana gelmektedir. Ülkemizde bu hastalık etmenlerinin varlığı, yaygınlığı ve belirtileri konusunda çok sayıda araştırma çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda bu hastalıkların bir kısmının varlığı, yaygınlığı ve belirtileri ülkemizin değişik bölgelerinde farklı zamanlarda rapor edilmiştir. Virüs ve virüs benzeri hastalık etmenleriyle mücadelenin esasını sağlıklı üretim materyali kullanmak ve bulaşık ağaçların uygun ve güvenilir metotlarla teşhis edilerek imhası oluşturmaktadır. Bu bildiride ülkemizin önemli bir meyvecilik kolu olan elma yetiştiriciliğinde adı geçen hastalıklarla ilgili mevcut durum, hastalık belirtileri, ekonomik önemi ve mücadele konusunda yapılması gerekenler özetlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Elma, virüs, viroid, fitoplazma, mücadele.

Virus and Virus-like (Graft-transmissible) Diseases Affecting Apple Production and Their Control

Abstract

Virus and virus like diseases may cause different level of quality and yield loss in apple production such as all other fruit trees. For time being, the research activities showed that about 43 virus and virus-like diseases are present in apple production even most of them seems to be latent. The causal agent of these disease are not very as number but they affect apple in different level depend the type of variety, rootstock and ecological conditions in growing area. Those diseases can cause about %50 of yield or quality damage either being present single or by mix infection with some other agents. There are many researches that reports about the existence, distribution and symptomatology of that disease in different region of Turkey from different period of time. The best method for controlling of virus and virus like diseases are; using virus free production material and eradication of infected plant by using appropriate and dependable detection methods. This paper is a review about the current situation of virus and virus like diseases, which are problem in apple production, and moreover about their symptomatology, economical importance and control.

Key words: apple, virus, viroid, phytolasma, control

GİRİŞ

Diğer bitkilerde olduğu gibi yumuşak çekirdekli meyvelerde de üretim miktar ve kalitesini sınırlayan, ürün kayıplarına neden olan birçok önemli hastalık vardır. Bu hastalıklar içerisinde, ortak özellikleri aşı materyali ile taşınmak olan ve henüz kimyasal mücadelesi mümkün olmayan virüs ve virüs benzeri hastalıklar ayrı bir önem sahiptir. Dünyada yumuşak çekirdekli meyve yetiştiriciliğinin yapıldığı bütün bölgelerde aşıyla taşınan bu hastalıklarından dolayı ciddi verim ve kalite kayıpları meydana gelebilmektedir. Bugüne kadar yumuşak çekirdekli meyvelerde az veya çok önemli olan 43 adet virüs ve virüs benzeri hastalık etmeni rapor edilmiş olup bunların 35 adedi virüs, 4 adedi fitoplazma ve 4 adedi ise viroidtir [28]. Bu virüs hastalıklarından önemli olanları aşağıda 1. Bölümde verilmiştir. Elma yetiştiriciliğinde virüs hastalıklarının zarar düzeyi genel olarak anaç-kalem kombinasyonundan etkilenmektedir. Bu hastalıkların başlıca

zararları ise; verim kayıpları, meyvelerde şekil bozukluğu, ağaçlarda ve meyvelerde küçük kalma, aşı noktasında anormallikler ve ileri safhada ağaç ölümleri olarak sıralanabilmektedir.

Elma yetiştiriciliğinde virüslerin dışında bilinen en küçük enfeksiyon etmeni olarak bilinen viroidler de hastalık yapabilmektedir. Viroidleri virüslerden ayıran en önemli özellikleri protein kılıflarının bulunmamasıdır. Genel olarak viroidler ssRNA yapısında olup yuvarlak ve yaklaşık olarak 246–375 nükleotid içerirler [9]. Protein kılıfları olmadığından viroidler serolojik olarak teşhis edilemezler. Viroidler genel olarak yalnızca aşıyla taşınırlar, zarar şekli ve belirtileri de genel olarak virüslere benzemekle birlikte, viroidler virüslerden farklı olarak sıcak iklimlerde daha zararlı olurlar [17].

Virüs ve Viroidlerin dışında bitkilerde hastalık etmeni olan diğer bir mikroorganizma grubu ise fitoplazmalardır. Fitoplazmalar daha çok bitkinin floemine yerleşen, aşı, küsküt ve böceklerle taşınan hücre duvarı olmayan

tek hücreli prokaryotik mikroorganizmalardır. Organizmanın DNA'sı hücre stoplazması içinde dağılmış halde bulunur. Genel olarak Fitoplazmalar 1 µm daha küçük, Pleomorfik (hayatları boyunca iki veya daha çok şekle sahip), oldukça küçük bir genoma sahip ve suni besitamlarında kültüre alınamayan hastalık etmeni olarak tanımlanırlar. Fitoplazmalar daha çok yaprak pireleri ve psillidler ile taşınmaktadır. Bitkilerdeki en belirgin hastalık simptomları ise; sararma (yellowing), cadısüpürgesi (witchesbroom), geriye ölüm (decline) ve fillodi oluşumudur [19].

ELMALARDA HASTALIK YAPAN ÖNEMLİ VİRÜSLER

Apple Mosaic Virus (ApMV): Elma Mozaik Virüsü

Etmenin Özellikleri, Konukçuları ve Yayılışı

ApMV *Bromoviridae* familyasına ait *Iilarvirus* cinsinden olup, 25–29 nm çapında izometrik (+) ssRNA partiküllere sahip bir virüstür [23]. Elma mozaik virüsü bilinen en eski virüslerden biri olup, yumuşak çekirdekli meyvelerden elmada hastalık yapmaktadır ve varlığı elma üreten birçok ülkede bilinmektedir. Posnette (1989)'un bildirdiğine göre yumuşak çekirdekli meyvelerde virüs hastalıklarının varlığı ilk kez 1825 yılında ApMV'nin aşısıyla taşınmasıyla rapor edilmiştir [34]. Tulare apple mosaic virüsü olarak bilinen hastalık ise ApMV'nin şiddetli bir ırkıdır. ApMV'nin başlıca konukçuları elma, armut ve ayvadır. Birçok ticari çeşit bu virüsten etkilenir, fakat hastalık şiddeti farklı olabilir. 'Golden Delicious' 'Gala' ve 'Jonathan' çeşitleri şiddetli olarak hastalıktan etkilenir, oysa 'Winesap' ve 'McIntosh' çeşitleri sadece orta derecede etkilenme göstermektedir 'Granny Smith' ise dayanıklı olarak bilinmektedir. ApMV ayrıca kayısı, badem, kiraz, şeftali, erik, fındık, gül gibi bazı diğer kültür bitkilerinde de hastalık yapmaktadır. Hastalık etmeni böcekleri ile taşınmaz, ama mekanik inokulasyon, aşı ve muhtemelen polen ile taşınmaktadır. Ülkemizde elma alanlarında bulunan bu virüs tohum ile taşınmamaktadır.

Hastalığın Belirtileri ve Ekonomik Önemi

Elma mozaik virüsü ile bulaşık elma ağaçlarının yapraklarında ilkbaharda solgun sarı veya açık krem renginde lekeler meydana gelir. Mozaik şeklindeki lekeler ana damara doğru ilerler ve ileri dönemlerde bütün yaprağı kaplar. Bu lekelerin bir kısmı güneş ışınlarına ve ısıya maruz kalınca nekrotik olmaktadır. Havaların ısınmasıyla birlikte yaz aylarında yapraklardaki belirtiler ortadan kaybolur [8]. Şiddetli etkilenme durumları dışında bitkilerden verim alınabilir, fakat verimin %50 kadar düştüğü bildirilmektedir. Hastalığın bazı şiddetli ırkları özellikle soğuk geçen bahar aylarını takip eden yıllarda %20–40 arasında verim kaybına neden olabilir. Bu hastalık etmeni bazı çeşitlerde göz oluşumunu da azaltmaktadır [8].

Hastalığın Teşhisi ve Mücadelesi

Hastalık etmeni biyolojik indeksleme ELISA ve RT-PCR yöntemi ile güvenilir bir şekilde teşhis edilmektedir. Hastalıkla mücadelede virüsten arı sertifikalı fidan kullanımı ve kültürel işlemlerde hijyene dikkat edilmesi önerilmektedir. Bulaşık bölgelerde hastalığa duyarlı olduğu bilinen çeşitler dikilmemelidir. Bulaşık olduğu belirlenen bitkiler yakılarak imha edilmelidir.

Apple Chlorotic Leaf Spot Virus (ACLSV): Elma Klorotik Yaprak Lekesi Virüsü

Etmenin Özellikleri, Konukçuları ve Yayılışı

Etmen *Flexiviridae* familyasından *Trichovirus* cinsine ait olup 600–700 nm boyunda ve 12 nm genişliğinde iplikli formda bir (+) ssRNA'dır [23]. ACLSV viral hastalık etmeni ilk olarak adi leylak (*Syringa vulgaris*) bitkisinde bildirilmiştir. Hastalık etmeni yaprak bitleri ve tohum ile taşınmaz, ama mekanik inokulasyon ve aşı ile taşınmakta olup herhangi bir vektörü bilinmemektedir. ACLSV'nin klon anaçlardaki varlığı geç tespit edildiğinden 1970 öncesi M veya MM klonları üzerine dikilen elma bahçelerinin büyük bir kısmı bu hastalık ile bulaşmıştır. Yumuşak çekirdekli meyvelerin her üç türünde de (Elma, armut ve ayvada) hastalık yapar. Ayrıca kayısı, kiraz vb çok sayıda sert çekirdekli meyve türünde de hastalık yapmaktadır. Bu etmen birçok süs bitkisi ve bazı orman ağaçlarında da hastalık yapabilmektedir. Bodur anaçların üretilmesindeki stool-bed yönteminde bulaşık materyal ile üretim yapıldığında elde edilen bütün anaçlar etmenle bulaşmaktadır [34,8]. Ülkemizde yumuşak çekirdekli ve sert çekirdekli meyve üretim alanlarında bu hastalık etmeninin varlığı bilinmektedir.

Hastalığın Belirtileri ve Ekonomik Önemi

Çoğunlukla latent olmasına rağmen yaprak üzerinde halkalı lekeler ve meyve üzerinde renk bozulmalarına neden olur. Ayrıca Golden gibi bazı elma çeşitlerinde pas görüntüsüne neden olur. Elmalarda hassas çeşitler bu hastalıktan dolayı ilkbaharda yapraklarda sarımsı halkalı lekeler görülebilir. Idared elma çeşidinde ise şiddetli enfeksiyonlarda meyve kabuğu üzerinde sarı mozaik görüntüsü oluşturur. Golden Delicious ve Jonathan çeşitleri bu hastalığa oldukça duyarlıdır. Bu çeşitlerde yapraklarda sarımsı ve hat şeklinde belirtiler ortaya çıkar. Hastalığın neden olduğu pas görüntüsünden dolayı meyvelerin pazar değeri düşer. Duyarlı konukçu ve şiddetli ırkın varlığında %10-20 ekonomik kayıp oluşturabilmektedir [8].

Hastalığın Teşhisi ve Mücadelesi

Hastalık etmeni biyolojik indeksleme ELISA ve RT-PCR yöntemi ile güvenilir bir şekilde teşhis edilmektedir. Hastalıkla mücadelede virüsten arı sertifikalı fidan kullanımı ve kültürel işlemlerde hijyene dikkat edilmesi önerilmektedir. Bulaşık bölgelerde ve konukçusu olan sert çekirdekli meyve ağaçlarının bulunduğu bölgeye di-

kim yapılıırken dikkatli olunmalıdır. Ayrıca hastalığa duyarlı olduğu bilinen çeşitlerin seçilmemesine özen gösterilmelidir.

Apple Stem Pitting Virus (ASPV): Elma Gövde Çukurlaşma Virüsü

Etmenin Özellikleri, Konukçuları ve Yayılışı

ASPV *Flexiviridae* familyasından *Foveavirus* cinsine ait, ipliksi, 800 nm uzunluğunda ve 12–15 nm genişliğinde (+) ssRNA genomik yapıya sahip bir virüstür [24]. Bu hastalık ilk olarak ABD’de 1940’lı yıllarda belirlenmiştir. Daha sonraki yıllarda elmaların duyarlı olan Virginia Crab anacı üzerine aşılması ve birçok ağacın kısa sürede ölmesiyle hastalık önem kazanmıştır. [13]. Daha sonra yapılan çalışmalarla ASPV, Spy 227 geriye ölümü ve armut damar sararması (Pear Vein Yellowing: PVY) hastalıklarının tek bir etmen olan ASPV tarafından meydana geldiği tespit edilmiştir [22]. Bu hastalık etmeni vektör, tohum veya polenle taşınmadığı halde aşı ve mekanik inokulasyon ile taşınmaktadır. Elma türlerinden *Malus pumila*, *M. sieboldii*, *M. sylvestris*, armut (*Pyrus communis*), ayva ve alıç (*Crataegus mongyna*) bu hastalığın doğal konukçularıdır. Fakat bu konukçulardan çoğu hastalığı latent (gizli) olarak taşımaktadır. Bunun yanında ASPV’nin 9 ayrı familyadan değişik bitkilere deneysel olarak taşındığı bildirilmiştir. Dünyada elma yetiştiriciliğinin yapıldığı birçok bölgeden bu hastalık etmeninin varlığı rapor edilmiştir olup, genel olarak yumuşak çekirdekli meyvelerin yetiştirildiği bölgelerde yaygın olduğu kabul edilmektedir [28]. Ülkemizde Akdeniz bölgesi elma alanlarında yapılan bir sürvey çalışmasında alınan şüpheli örneklerden yapılan biyolojik indeksleme çalışmaları sonucu örneklerin %55’nin ASPV ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir [2].

Hastalığın Belirtileri ve Ekonomik Önemi

Bu hastalık etmeni konukçusunda gözle görülebilir herhangi bir belirti oluşturmadan bitki bünyesinde yıllarca kalabilir. ASPV elma ağaçlarında geriye ölüm, gövde odun dokusunda çukurlaşma, damar sararması ve aşı noktasında nekroz, sürgünlerde ve gövdenin diğer yerlerinde içeriye doğru çukurlar (pit) oluşmasına neden olmaktadır. Duyarlı konukçuların yaprak orta damarında nekroz gelişir ve küçük kalan yaparak uç kısmından yaprak altına doğru kıvrılır ve bu belirtiyeye epinasty denilir. Fakat bu belirtiler havaların ısınmasıyla beraber ortadan kalkar. Bu hastalık etmeni; semptomların görünme süresi ve şiddeti açısından hafif ve şiddetli olmak üzere iki ırka ayrılmaktadır. [39,7]. ASPV genel olarak aşılama ve bulaşık aşı kalemiyle taşınmakta, ayrıca bulaşık ağaçlardan komşu ağaçlara kök kaynaşması yoluyla geçebilmektedir. Hastalık belirtilerinin kök yoluyla bulaşmış ağaçlarda görülebilmesi için bir yıllık inkübasyon süresi gerektiği rapor edilmiştir [28]. Bazı elma çeşitlerinde genel bir bodurluk oluşturur. Yapılan çalışma-

larda ASPV ile bulaşık bitkilerin sağlıklı bitkilerine göre % 13,4 ile % 69,7 arasında değişen büyüme geriliği gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca ASPV ile bulaşık armut fidanlarının kış soğuklarına karşı daha duyarlı oldukları belirlenmiştir. [26].

Elmalarda ASPV ancak Virginia Crab üzerine aşılansın bitkilerde hastalık belirtileri oluşturmakta ve o zaman zararı görülebilmektedir. Bulaşık Virginia Crab bitkisinde anacın geriye doğru ölmesinden dolayı elma ağaçlarında ölümler meydana gelmektedir. Diğer ticari anaç-kalem kombinasyonlarında hastalık latent olarak bulunmaktadır. Ülkemizde son yıllarda tesis edilen elma ve armut bahçelerin büyük çoğunluğu bodur anaçları üzerine aşılandığından yeni anaç-kalem kombinasyonları bu hastalık açısından risk taşımaktadır.

Hastalığın Teşhisi ve Mücadelesi

Yapılan araştırmalara sonucunda ASPV için antiserum üretilmiş olmasına rağmen ELISA ile teşhis virüsün bitki bünyesindeki partikül sayısının az olmasından dolayı çok sağlıklı sonuç vermemektedir. Moleküler yöntemlerden RT-PCR ve IC/RT-PCR yöntemleri ile virüsün teşhis imkânları geliştirilmiş ve yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır [36]. Ayrıca Spy 227 ve Virginia crab üzerine biyolojik indeksleme ile de etmenin teşhisi mümkündür. Bu hastalıkla mücadelenin esası diğer virüs hastalıklarında olduğu gibi virüsten arı sağlıklı üretim materyali kullanmaktır. Söz konusu sağlıklı materyalin üretilmesi amacıyla ilk kullanılan teknik termoterapidir. Bulaşık elma kalemleri 38 °C’de çeşide bağlı olmak üzere 21–77 gün tutulduğunda virüsün bitki bünyesinden elemine edildiği tespit edilmiştir [6]. Günümüzde virüsten arı bitki elde etmek için, meristem kültürü, shoot-tip grafting, protoplast kültürü gibi in-vitro yöntemlerle termoterapi birlikte kullanıldığında çok daha güvenilir sonuçlar almak mümkün olmaktadır.

Apple Stem Grooving Virus (ASGV): Elma Gövde Yivleşme Virüsü

Etmenin Özellikleri, Konukçuları ve Yayılışı

ASGV’de *Flexiviridae* familyasından *Capillovirus* cinsine ait 600-700 nm uzunluğunda, 12 nm genişliğinde, toplam genom büyüklüğü 6.5 kb, (+) ssRNA nükleotid yapısına sahip olan ipliksi bir virüstür [27]. Bu hastalık ilk olarak 1965 yılında ABD’de rapor edilmiştir. Fakat hastalığın kaynağının uzakdoğu ülkeleri olduğu, özellikle Japonya olduğu düşünülmektedir. İlk zamanlar hastalık etmeninin ASPV ile aynı olduğu düşünülmüş, fakat sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda bu hastalığın biyolojik olarak ASPV’den farklı olduğu tespit edilmiştir. ASGV’nin polen veya herhangi bir vektör böceklerle taşınabildiği rapor edilmemiştir. Hastalık etmeni mekanik inokulasyon ve aşı ile taşınmaktadır [28]. Geniş bir konukçu dizisine sahip olan ASGV’nin deneysel olarak 17 familyadan 40 bitki türüne taşındığı belirlenmiştir. Bu

hastalık elma ve armut yetiştiriciliği yapılan bölgelerde yaygın olarak bulunan bir virüs hastalığıdır. Nashi grubu armutlar bu hastalığa en duyarlı konukçulardır. ASGV yumuşak çekirdekli meyveler dışında çok kayısı, kiraz, kivi, turuncgil ve zambak gibi farklı bitki türlerinde de hastalık etmeni olarak rapor edilmiştir [29,30]. Ülkemiz elma alanlarında yapılan çalışmalarda ise % 61 oranında ASGV virüs hastalığına rastlanmıştır [2].

Hastalığın Belirtileri ve Ekonomik Önemi

ASGV elma ağaçlarında geriye ölüm, gövde odun dokusunda yivleşme, yapraklarda damar sararması ve aşı noktasında şişmelere neden olmaktadır [7]. Sürgünlerde ve dallarda şişme ve yivler oluşur. Aşı noktasında oluşan nekrozlardan dolayı bitkide çabuk kırılma ve genel bir sarılık oluşur. Aşı noktasında nekroz oluşmasını takiben bitkide genel bir bodurluk meydana gelir, yapraklarda küçük kalır ve renkleri solgun yeşile döner. Bu yapraklar erken dönemde dökülürler. Özellikle fidanlıkarda mekanik zararlanmadan dolayı aşılana fidanlar aşı noktasından kolayca kırılır ve önemli ekonomik kayıplar oluşur. Çek Cumhuriyetinde bazı bahçelerde %50 den fazla ASGV bulaşıklılık oranı tespit edilmiştir [33]. ASGV'nin elma ağaçlarındaki ekonomik zararı ile ilgili yapılan çalışmalarda da, ASGV'den dolayı elma ağaçlarının boylarında ortalama % 23,4 oranında bir kısalma ve % 13,7 oranında gövde çapında daralma tespit edilmiştir. ASGV'den dolayı en büyük kayıp % 64,4 boy kısalması ve 42,9 çap daralmasıyla Golden Delicious çeşidinde görülmüştür [25]. Golden Delicious çeşidinin ülkemiz elma yetiştiriciliğinde en yaygın çeşitlerden biri olması ASGV'nin ülkemiz için ne kadar büyük bir tehlike olabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca bu hastalığın bazı elma çeşitlerinde ülkemiz koşullarında %18 oranında gövde çapında daralma ve %41 oranında dal açısında genişleme olduğu tespit edilmiştir [3].

Hastalığın Teşhisi ve Mücadelesi

Bu hastalığın teşhisinde biyolojik indeksleme, serolojik testler ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. ELISA, RT-PCR, immunocapture IC/RT-PCR ve Single-Strand Confirmation Polymorphism (Tek Kollu Konformasyonel Polimorfizm: SSCP) bu virüs teşhisinde rutin olarak kullanılmaktadır. Fakat virüs bitki bünyesinde düşük yoğunlukta bulunduğu ELISA testi hatalı olarak negatif sonuçlar verebilmektedir [15]. Bu hastalıkla mücadelenin esası diğer birçok meyve virüs hastalığında olduğu gibi virüsten arı üretim materyali kullanılmasıdır. Temiz üretim materyali elde etmek amacıyla termoterapi ile meristem kültürü gibi in-vitro üretim teknikleri kullanılmaktadır. ASGV termoterapi ile elemine edilmesi en zor olan latent virüslere dendir. Bununla birlikte bulaşık veya şüpheli bitkiler 37 °C'de 7-8 hafta tutulduğunda virüsten arı bitkiler elde edilebilmektedir. Sertifikalı turuncgil üretim materyalinin ASGV'nin bir ırkı olan CTLV den arı olması önemlidir. Yapılan çalışmalar-

da CTLV turuncgillerden yalnızca sürgün ucu aşılmasıyla (Shoot-tip grafting: STG) elemine edilemediği için ayrıca termoterapi ile kombine edilmesi gerektiği belirlenmiştir. [14].

Tomato Ringspot Virus (ToRSV): Domates Halkalı Leke Virüsü

Etmenin Özellikleri, Konukçuları ve Yayılışı

Hastalık etmeni *Comoviridae* familyasının *Nepovirus* cinsine ait olup, 25 nm çapında (+) ssRNA izometrik partiküllere sahiptir [1]. Bu hastalık ilk kez 1936 yılında ABD'de tespit edilmiştir [32]. Avrupa'da birkaç ülkede varlığı bildirilmiş olmasına rağmen ülkemiz elma alanlarında varlığı bilinmemektedir. Bu hastalık çok geniş bir konukçu dizisine sahiptir. Başta tütün ve domates bazı sebzeler olmak üzere sert çekirdekli meyveler ve yumuşak çekirdekli meyvelerden elmaya saldırmaktadır. Soya fasulyesinde ve çilekte de bu hastalık etmeni tespit edilmiştir. Hastalık etmeni nematod (*Xiphinema americanum*), aşı, mekanik inokulasyon, polen ve tohumla ile taşınmaktadır. Elma yetiştiriciliğinde Red delicious/M106 üzerine en hassas kombinasyondur.

Hastalığın Belirtileri ve Ekonomik Önemi

Hastalığın belirtileri çoğunlukla görülmez, anaç ve kalem birlikte duyarlı ise belirti ortaya çıkmaz, kalemin dayanıklı anacın duyarlı olması durumunda da belirti oluşmaz, fakat dayanıklı anaç ve duyarlı çeşit kombinasyonunda ağaçlarda aşı noktası nekrozu görülmektedir. Başlıca duyarlı anaçlar M106, MAC 39 ve M7'dir. Aşı noktasının üst kısmı şişmeye başlar ve süngerimsi bir doku oluşur. Bu durumda ağaç aşı noktasından kolayca kırılabilir veya geriye doğru ölüm sendromu meydana gelir. Ayrıca aşı noktasının hemen yukarisından sağlıklı bitkilere oranla daha çok sayıda sürgün gelişir. Aşı noktasının nekroze olması sonucunda sürgün internodları kısılır, bitki çok sayıda çiçek açar ve koyu renkli, küçük çok sayıda meyve tutar. Hastalığın ithal bitki materyali ile gelmesi en büyük sorundur. Çünkü ToRSV çok geniş bir konukçu dizisine sahiptir. Hastalık etmeninin bulunduğu bahçelerde vektör nematodun varlığı hastalığın bahçede çok kısa bir sürede yayılmasına yardımcı olur [8].

Hastalığın Teşhisi ve Mücadelesi

Bu hastalığın teşhisinde biyolojik indeksleme, serolojik testler ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Mücadelesinde en önemli husus karantina kurlarına uymak ve virüsten arı fidan dikmektir. Bahçelerde tepe vurularak aşılama suretiyle (Topworking) çeşit değiştirmeye karar verildiğinde bulaşık olma ihtimali olan ABD menşeli çeşitlerin kullanılmaması gereklidir. Ayrıca Virginia crab, Hysloub veya Calombia anaçları kullanıldıysa bu anaçlarda yeniden aşılama suretiyle çeşit değiştirme yapılmamalıdır.

Chery Rasp Leaf Virus (CRLV): Kiraz Törpü Yaprak Virüsü

Etmenin Özellikleri, Konukçuları ve Yayılışı

Bu hastalık etmeni de ToRSV gibi *Comoviridae* familyasının *Nepovirus* cinsine aittir. Etmen 30 nm. çapında izometrik (+) ssRNA partiküllere sahiptir. Hastalık ilk kez ABD’de kiraz (*Prunus avium*) üzerinde rapor edilmiştir [4]. Bu hastalık ABD de sert çekirdekli meyvelerde ve elmalarda bulunmaktadır. Ülkemizde bu hastalık etmeninin yumuşak çekirdeklielerde bulunduğu dair bir kayıt yoktur. Bu hastalık etmeni kiraz, vişne, mahlep gibi sert çekirdekli meyvelerin yanında elmada hastalık yapmaktadır. Hastalık etmeni nematod (*Xiphinema americanum*), aşı, mekanik inokulasyon, ve tohumla ile taşınmaktadır. Red Delicious grubu elmalar bu hastalığa daha duyarlıdır [12].

Hastalığın Belirtileri ve Ekonomik Önemi

Bu hastalık etmeni elma meyvelerinde yassılaşıma ve düz meyve oluşumu belirtisi gözlenmektedir. Hastalık “Flat Fruit” yani yassı elma hastalığı olarak bilinmektedir. Elma meyveleri kaliks kısmından bastırılmış gibi yassılaşırlar. Genel olarak bulaşık ağaçlardaki meyveler küçük kalır yassılaşıp ve bulaşık ağaçların yaprakları kenardan orta damara yukarıya doğru kıvrılırlar. Gala ve Jonagold çeşitlerinde % 30 oranında meyve büyüklüğünde küçülme meydana gelebilir. Meyvelerde boy-en oranı en çok Red Delicious’ta % 22 oranında normalden sapa gösterir.

Hastalığın Teşhisi ve Mücadelesi

Bu hastalığın teşhisinde daha çok ELISA, RT-PCR ve otsu indikatörlere mekanik inokulasyonla taşıma yöntemi kullanılmaktadır. Bu hastalık etmeni AB ve Türkiye için bir karantina etmenddir. Mücadelesinde en önemli hususlar karantina kurallarına uymak ve virüsten arı sertifikalı fidan dikmektir.

ELMALARDA HASTALIK YAPAN VİROİDLER

Viroidlerin virüslerden ayrı hastalık etmenleri olduğunun kabul edilmesinden sonra bu hastalık etmemelerinin sınıflandırılması çalışmaları başlamıştır. Sınıflandırmanın esası virüslerin sınıflandırmasına benzemekle birlikte, virüslerde sınıflandırma amaçlı kullanılan partikül morfolojisi ve protein karakteristiği viroid sınıflandırmasında söz konusu değildir. Yapılan araştırma çalışmalarında sonucunda günümüzde 28 viroid türü tanımlanmış ve bu türler iki ayrı familya ve yedi cins altında sınıflandırılmıştır [17]. Elma yetiştiriciliğinde hastalık yaptığı bilinen iki viroid etmen vardır.

Apple Scar Skin Viroid (ASSVd): Elma Kabuk Yararı Hastalığı

Etmenin Özellikleri, Konukçuları ve Yayılışı

Bu hastalık etmeni B grubu viroidlerin *Pospiviroidae* familyasına ait *Apscaviroid* cinsine dahildir. Elma kabuk yararı hastalığı etmeni ilk kez 1938 yılında Çin de rapor edilmiştir. 1956 yılında ABD’de ve 1976 yılında İtalya da tespit edilmiştir. Sonraki yıllarda Japonya, Kanada ve İngiltere’den de rapor edilmiştir. Genel olarak hastalık uzak doğu Asya da yaygın olmak üzere Kuzey Amerika ve birçok Avrupa ülkesinde bulunmaktadır. ASSVd’inin 329-331 arasında nükleotide sahip 4 ayrı varyantı bulunmaktadır. Bu hastalık ülkemiz elma alanlarında tespit edilmiştir [38]. Hastalık etmeni daha çok Elma da görülür. Armutlarda belirti oluşturmaya da hastalık etmeni olarak kabul edilmektedir. Yapılan denemelerde hastalığın Ayva bitkisine taşındığı tespit edilmiştir. Hastalık deneysel olarak aşıyla bazı sert çekirdekli meyvelere de taşınmıştır. Hastalık etmeni aşıyla taşınmakta olup herhangi bir otsu konukçusu bilinmemektedir.

Hastalığın Belirtileri ve Ekonomik Önemi

Hastalık yalnızca meyvede görülür, Daha çok kırmızı renkli elmalar belirti gösterir. Red Delicious, Fuji, Elstar, Braeburn, Stark’s earliest belirti gösteren çeşitlerdir. Genel belirtileri; meyvede bölgesel paslı bir görünüm, meyve kabuğunda renk kaybı, lekeler ve kabukta derin çatlaklar oluşmasıdır. Bu çatlaklar daha çok meyvenin uç kısmına doğru oluşur. Bu belirtiler en duyarlı çeşit olan ‘Indo’da tam çiçeklenmeden yaklaşık 5 hafta sonra ortaya çıkmaktadır. Çatlakların oranı artarak devam eder ve hasat zamanına kadar meyve yüzeyinin yaklaşık olarak %50’sini kaplar Golden Delicious, Granny Smith ve Pink Lady bu hastalığa dayanıklı olarak bilinen çeşitlerdir. Gala ve Starking çeşidi elmalarda ise belirtiler gözlenmektedir. Hastalık etmeni armut meyvelerinde paslı bir görünüme neden olur. Armutların elma bahçelerine yakın dikilmesi veya iç içe dikilmesi hastalanma oranını arttırır. Genelde hastalık ağaçlar meyveye yatana kadar fark edilmez. ASSVd en yaygın şekilde Çin de ve Japonya da görülmektedir. 1950’lerde Çin’de yapılan bir süreyde 360.000 bitkinin hastalıkla bulaşık olduğu ve ülkenin elma yetiştiriciliği yapılan birçok bölgesinde hastalıkla bulaşma oranının genel olarak %50 olduğu bildirilmiştir. Japonya’da hastalığın varlığı 1970’li yıllarda fark edilmiş ve önemli elma yetiştiricisi bölgelerin tamamında hastalığın bulunduğu bildirilmiştir. Bulaşık meyvelerin herhangi bir pazar değeri yoktur [17].

Hastalığın Teşhisi ve Mücadelesi

Hastalık etmeni bulaşık bitkiden yalnızca thremoterapi ile elemine edilemez. Ancak dormant dönemi takiben termoterapi (38 °C 70 gün) ve shoot-tip grafting yöntemi

kombine edilirse hastalık bulaşık bitkiden elemine edilebilir. Hastalık etmeninin sPAGE, RT-PCR ve Moleküler Hibridzasyon ile teşhisi mümkündür. ASSVd 'Red Delicious' veya 'Sugar Crab' üzerine aşılansarak biyolojik indeksleme yöntemi ile de teşhis edilebilir.

Apple Dimple Fruit Viroid (ADFVd): Elma Gamzeleşme Hastalığı

Etmenin Özellikleri, Konukçuları ve Yayılışı

Bu hastalık etmeni de B grubu viroidlerin *Pospiviroidae* familyasına ait *Apscaviroid* cinsine dahildir. İlk kez 1976 yılında İtalya'da tespit edilmiştir [10]. Bu hastalık etmeninin nükleotid büyüklüğü 257 olup, bir çok açıdan ASSVd'ine benzese de nükleotid büyüklüğü açısından daha küçüktür. Hastalık etmeninin belirtileri de genel olarak ASSVd benzemesine rağmen hastalık şiddeti daha azdır. Yalnızca elmada rapor edilmiştir. Biline en duyarlı çeşit Starking Delicious'tır. Hastalık aşısıyla ve mekanik olarak bulaşmaktadır. En yaygın yayılma şekli ise bulaşık üretim materyalinin dolaşımıdır. Vektörle taşındığına dair bir bilgi yoktur. Hastalık etmenin şuan kadar yalnızca İtalya da var olduğu bilinmektedir. Fakat ülkemizde bazı elma çeşitlerinde benzer hastalık belirtileri gözlenmiştir. Ülkemizde bu hastalığın varlığı laboratuvar analizleri sonucu ortaya konmamış olmakla birlikte varlığı bildirilmiştir [31].

Hastalığın Belirtileri ve Ekonomik Önemi

Meyve üzerinde renksizleşme, küçük leke ve benekler oluşturur. Daha çok kırmızı kabuklu çeşitlerde görülür. Renk bozukluğu görülen meyvelerde bu alanın altında nekroze olmuş meyve dokusu görmek mümkündür. Hastalık etmeni özellikle kırmızı kabuklu meyvelerde renk bozulmalarına ve meyvenin küçük kalmasına neden olur. Yapılan gözlemlerde Amasya elmasının hastalığa oldukça duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Özellikle starking çeşidinin meyve kabuğu üzerinde görülen renk açılmaları, Amasya elmasında çok daha belirgindir. ASSVd çok benzemesine rağmen ASSVd hassas çeşitlerde çatlak oluşturmaz. Hastalığın şuan için çok büyük bir ekonomik önemi yoktur. ASSVd ile birlikte aynı bitkide bulduklarında hastalık şiddetinde ayrıca bir artış gözlenmemiştir [8].

Hastalığın Teşhisi ve Mücadelesi

Hastalık etmeni thetmpherpi ve shoot-tip grafting yöntemi kombine edilmesi ile bulaşık bitkiden elemine edilebilir. Hastalık etmenin armutlarda belirti göstermeden kalabilmesi kontrolü için göz önünde bulundurulmalıdır. Hastalık etmeninin SPAGE, RT-PCR ve Moleküler Hibridzasyon ile teşhisi mümkündür. ADFVd 'Starkrimson' veya 'Breaburn' üzerine aşılansarak biyolojik indeksleme ile teşhisi mümkündür [10].

ELMADA HASTALIK YAPAN FİTOPLAZMALAR

Fitoplazma hastalık etmenlerinin günümüzdeki sınıflandırması 16S rRNA gen bölgesinde **Restriction Fragment Length Polymorphism** (RFLP) yöntemi ile tespit edilen farklılıklara dayanır. Fitoplazma DNA'sının RFLP analizi sonucunda elde edilen fragmentlerin boyutları sınıflandırmanın esasını oluştur [18]. Bu çalışmalar neticesinde kaç grup fitoplazma olduğu konusunda bazı tartışmalar olsa da yapılan en son bilgisayar destekli simülasyon çalışmalarına göre fitoplazmalar 28 ayrı grupta değerlendirilmektedir. Yumuşak çekirdekli meyvelerde zararlı fitoplazmaların tamamı grup **16SrX** grubunda yer almaktadır [40]. Elmalarda hastalık etmeni olan fitoplazma hastalığı Apple Proliferation'dır.

Apple Proliferation Phytoplasma (AP): Elma Cadı Süpürgesi Fitoplazması

Etmenin Özellikleri, Konukçuları ve Yayılışı

Bu hastalığın etmeni "*Candidatus phytoplasma mali*" olarak isimlendirilmiştir. Mollicutes sınıfına ait olan hastalık etmeni *Acholeplasmataceae* familyasının *Candidatus phytoplasma* cinsinin 16SrX alt grubuna girmektedir. Hastalık etmeninin boyutları 140-700 nm arasında değişmektedir. Bu hastalık ilk kez 1950 yılında İtalya'da tespit edilmiştir [35]. Hastalık etmeni elma yetiştiriciliği yapılan birçok Avrupa ülkesinde bulunmaktadır. Ayrıca Güney Afrika ve Hindistan'da da bulunduğu sanılmaktadır. [37]. Ülkemizde yapılan bilimsel çalışmalarda bu hastalığın varlığı ortaya konmuştur [5]. Hastalık yalnızca elmalarda görülmektedir. Bu hastalığa benzer belirtiler armut bitkilerinde gözlenmekle beraber armutlardaki belirtilerin bu hastalıktan kaynaklandığı ispat edilememiştir. Hastalık etmeni yaprak pireleri, aşı ve kök kaynaşması ile taşınmaktadır. Hastalığın vektörü olan yaprak pireleri arasında en önemlileri *Cacopsylla castalis* ve *C. Melanourum*'dur

Hastalığın Belirtileri ve Ekonomik Önemi

AP en tipik belirtisi ağaçta apikal dominansın kırılması sonucu çok sayıda uç sürgünün oluşmasıdır. Fakat "cadısüpürgesi" olarak bilinen lider dala dar bir açıyla gelişmiş çok sayıdaki tepe sürgünü oluşumu daha çok sonbaharda yaprak dökümünden sonra veya kışın fark edilebilir. Baharda hafif kloroz ve yaz sonuna doğru erken yaprak kızarması önemli belirtilerdendir. Yaprak boyutunun küçülmesi bunun tersine sitipulun büyümesi, Phllody oluşumu; yani çiçek taç yapraklarının bir kısmının yaprak şeklinde gelişmesi de tipik belirtilerdendir. Ayrıca meyve tutumundan hemen sonra meyve dökümü, ağaç üzerinde kalan meyvelerin gelişmesinde ve olgunlaşmasında gerilik-yavaşlama ve geç olgunlaşan meyvelerin ağacın üzerinde kalması diğer belirtileridir. Bulaşık ağaçların meyveleri sağlık ağaçların meyvelerine oranla

daha küçük, az gelişmiş, zayıf renkli ve tatsızdır. Bulaşık ağaçta çok sayıda fakat zayıf kökler meydana gelir. AP ile bulaşık ağaçlarda herhangi bir bodurluk veya kanser benzeri yaralar oluşmaz. Bu hastalık bitkilerde geç veya erken tomurcuk patlamasına neden olmaz. Hastalık belirtileri daha çok bakımlı bahçelerde ve iyi gelişen genç bitkilerde görülür, fakat uzun yıllar belirti göstermeden yaşayabilir. Şiddetli budama sonrası veya gençleştirme budamaları sonucunda hastalık belirtileri daha çabuk ortaya çıkar [8]. Bu hastalığa karşı en hassas elma çeşitleri; *Golden Delicious*, *Red Delicious* ve *Granny Smith* 'tir [21].

Hastalık daha çok kıta iklimin hakim olduğu Almanya, İsviçre gibi bölgelerde yaygındır. Bahçelerde yoğun enfeksiyon durumunda meyve verimi % 50–100 oranında azalabilir. Hastalıklı ağaçlardan elde edilen meyveler küçük kaldığından, tat ve renk açısından zayıf olduğundan bu meyvelerin pazar en az %80 oranında düşer [16]. İklim değişikliklerine bağlı olarak hastalıklı ağaçlarda *RECOVERY* (İyileşme) olarak adlandırılan yani belirtilerin ortadan kaybolması durumu oluşur. Bu durumda bir süre için hastalık şiddeti azalır veya latent kalır. Fakat recovery durumda bile meyve veriminde önemli sayılabilecek azalmalar görülür [8]. Hastalık EPPO bölgesi ülkeleri için karantina etmenidir ve A2 listesinde yer almaktadır.

Hastalığın Teşhisi ve Mücadelesi

Hastalık etmeni rutin olarak ELISA ve PCR ile teşhis edilebilir. Ayrıca Charden, Golden Delicious veya Lorda lamborne üzerine aşılansarak biyolojik indeksleme yoluyla hastalığı teşhis etmek mümkündür [37]. Teşhis amacıyla yapılacak örneklemeler için en uygun zaman yaz sonu veya yaprakların dökülmesinden hemen sonradır. Fitoplazma teşhislerinde kullanılan oldukça eski fakat başarılı bir yöntem olan DAPI boyama yöntemi ile Sonbahardan ilkbahara kadar alınan kök örneklerinden de hastalık başarılı bir şekilde teşhis edilebilir [20]. ELISA için en iyi örneklem zamanı ise Temmuz-Kasım arсында alınan yaprak örnekleridir. ELISA çalışmalarında kullanılan MAbs (Monoclonal antibidier), IF (Immunoflorosan) testlerinde de kullanılabilir.

Bu hastalıkla mücadelenin esasını hastalıktan korunma metotları oluşturur. Dolayısıyla sağlık üretim materyali kullanmak ve vektörle mücadele oldukça önemlidir. Hastalığın bulaşması durumunda; hastalıklı ağaçların ve bahçe kenarındaki yabancı elma bitkilerinin kök dahil sökülerek yakılması suretiyle mücadele edilebilir [8].

SONUÇLAR

Elma yetiştiriciliğinde sorun olan ve aşıyla taşınan virüs ve virüs benzeri hastalıklarla mücadele verim ve kalite açısından önemlidir. Sürdürülebilir bir elma tarımı için bu hastalıklarla mücadelede alınabilecek en önemli tedbir genetik üretim materyalinin elde edildiği koleksiyonların bu hastalıklardan arı olması ve karantina uygulamalarının aksatılmadan sürdürülmesidir. Aşıyla taşınan bu hastalıkların büyük çoğunluğu latent olup bahçe tesisinden uzun yıllar sonra hastalık belirtileri gösterirler. Dolayısıyla hastalıklı üretim materyali fidan üretim aşamasında fidanlık işletmelerinde ve dikim esansında üretici tarafından fark edilmemektedir. Böylelikle hastalıklı üretim materyali (Fidan/kalem/anaç) ile tesis edilmiş olan bahçelerde uzun yıllara yayılan çok büyük ekonomik kayıplar oluşmaktadır. Bu nedenle aşıyla taşınan hastalık etmenlerinin hızlı ve güvenilir olarak teşhis edilmesi mücadeledeki en önemli aşamalardan biridir. Bu hastalık etmenlerinin teşhisinde genel olarak biyolojik indeksleme, RT-PCR ve Moleküler Hibridizasyon metotları kullanılmaktadır. Biyolojik indeksleme bu hastalıkların teşhisinde ve ırk tespitinde en başarılı yöntem olsa da, bu testlerin sonuçlanması 6 ay ila 2 yılı bulduğundan pratik kullanıma uygun değildir. Fakat Moleküler Hibridizasyon, RT-PCR ve Microarray teknikleri ile bu etmenlerin hızlı ve güvenilir olarak teşhis edilmesini mümkün kılmaktadır. Ülkemiz elma yetiştiriciliği açısından büyük sorun olabilecek bu hastalık etmenlerinden korunmanın en geçerli yolu ise EPPO standartlarında sertifikalı üretim materyali yetiştirerek üreticilere bu materyali ulaştırmaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Anonymous (2005). Catalog of virus taxonomy and nomenclature approved by the International Committee on Taxonomy of Viruses. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm>. 13.04.2009.
- [2] Birisik N, Myrta A, Hassan M, & Baloglu S (2008). A Preliminary Account on Apple Viruses in Mediterranean Region of Turkey. XX International Symposium on Virus and Virus-Like Diseases of Temperate Fruit Crops - Fruit Tree Diseases. Acta Horticulturae, **781**: 125-130.
- [3] Birisik N & Baloglu S 2009. Determination of the Effects of *Apple Stem Grooving Virus* on Some Commercial Apple Cultivars. 21st

- “International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops” in Germany 2009, 5 - 10. July (yayında).
- [4] Bodine E W & Newton N (1942). *Phytopathology* **31**: 333.
- [5] Canik N & Ertunç F (2007). Distribution and molecular characterization of apple proliferation phytoplasma in Turkey. *Bulletin of Insectology* **60** (2): 335-336
- [6] Cropley R (1968). Comparison of same apple latent virus. *Ann. Appl. Biol.* **61**: 361-372.
- [7] Desvignes C J, Bové R, Cornaggia D & Grasseau N. (1990). *Maladies a virus des arbres fruitiers*. Citfl. Paris.
- [8] Desvignes C J, Boyé R, Cornaggia D, Grasseau N, Hurt S & Wtarworth, H (1999). *Virus Diseases of Fruit Trees*. Citfl. Paris. 202p.
- [9] Diener T (1991). Subviral pathogens of plants: Viroids. And viroid-like satellite RNAs. *FASEB j.* **5**: 2808-2813.
- [10] Di Serio F, Aparico F, Alioto D, Ragazzion A & Flores R (1996). Identification and molecular properties of a 306 nucleotide viroid associated with apple dimple fruit diseases. *J.Gen. Virology.* **77**: 2833-2837.
- [11] Di Serio F, Malfitano M, Alioto D, Ragazzion A, Desvignes J C & Flores R (2001). Apple Dimple Fruit Viroid: Fulfillment of Koch Postulates and symptoms characteristics. *Plant. Dis.* **85**. 179-182.
- [12] EPPO (2009). Date sheet on Quarantine pest. Cherry Rasp Leaf Nepovirus. http://www.eppo.org/QUARANTINE/virus/Cherry_rasp_leaf/CRLV00_ds.pdf. 12.09.2009.
- [13] Guengerich H W & Millikan D F (1956). Transmission of stem pitting in apple. *Plant. Dis.Reprt.* **40**: 934-938.
- [14] Frison EA & Taher M M (1991). FAO/IBPGR Technical Guidelines for the Safe Movement of Citrus Germplasm. Food and Agricultural Organization of the United Nations & International Board for Plant Genetic Resources. Rome. (I). p50.
- [15] Jelkmann W & Keim-Konrad R (1997). Immuno-capture polymerase chain reaction and plate-trapped ELISA for detection of *apple stem pitting virus*. *J. Phytopathology.* **145**: 499-503.
- [16] Jones A L & Aldwinckle H S (1990). *Compendium of Apple and Pear Diseases*. APS press. 67.
- [17] Hadidi A, Flores R, Randles J W & Semancik J S (2003). *Viroids*. Beltsville, Maryland. USA. p. 9.
- [18] Hodgetts J, Ball T, Boonham N, Mumford R & Dickinson M (2007) Taxonomic groupings based on the analysis on the 16s/23s spacer regions which shows greater variation than the normally used 16srRNA gene results in classification similar to that derived from 16s rRNA data but with more detailed subdivisions. *Plant Pathology* **56**: 357-365
- [19] Lee Marry M E (1999). Commonly asked questions about phytoplasmas. Department of plant pathology, university of Wisconsin. Madison, USA.
- [20] Loi N, Ermacora P, Carraro L, Ozler R & Tsen A C (2001). Production of monoclonal antibodies against apple proliferation phytoplasma and their use in serological detection. *European Journal of Plant Pathology.* **108**:81-86
- [21] Kartte S & Seemüller E (1991). Susceptibility of grafted *Malus* taxa and hybrids to apple proliferation disease. *Phytopathology.* **131**: 137-148.
- [22] Kegler H, Kleinhampel H & Verderevskaia T (1976). Investigation on pear stony pit virus. *Acta. Horticult.* **67**:209 218.
- [23] Khan J A & Dijkstra J (2006). *Handbook of Plant Virology*. Food Products Press. New York, London, Oxford 452p.
- [24] Koganezawa H & Yanase H (1990). A new type of elongated virus isolated from apple trees containing the stem pitting agent *Plant Dis.* **74**:610-614.
- [25] Maxim A, Zagrai L, Zagrai I & Isac M (2004). Studies on the Influence of Apple Stem Grooving Virus on Tree Growth of Various Apple Cultivars in the Nursery. XIX International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops - Fruit Tree Diseases. *Acta Horticulture.* **657**: 41-44.
- [26] Minou N, Vladianu D, Pattantus K, Cracium C, Cracium V, Parnia, P & Stirban M (1986). Investigations on Pear Vein Yellows In Nursery. XIII International Symposium on Fruit Tree Virus Diseases. *Acta Horticulturae* **193**: 77-82.
- [27] Murphy F A, Fauquet C M, Bishop D H L, Ghabrial S A, Jarsiv AW, Martelli G P, Mayo M A & Summers M D (1995). *Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses*. The six Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Springer. Vienna.
- [28] Németh M (1986). *Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees*. Budapest, Hungary. 838p.
- [29] Nickel O, Fajardo T V M & Jelkmann W (2001). Sequence analysis of the capsid protein gene of an isolate of *Apple stem grooving virus*, and its survey in Southern Brazil. *Fitopatol. bras.*, Sept, **26**(3): 655-659.
- [30] Osvaldo L, Gian P A, Vera M & Addolarato C (2002). An Isolate of *Apple stem grooving virus* Associated with Cleopatra Mandarin Fruit Intumescence. *Fitopatol. bras.* **28** (1). 54-58.
- [31] Özkan M & Kurçman S (1976). Orta Anadolu Elma Bahçelerinde Görülen Virüs Hastalıkları. *Bitki Koruma Bülteni.* **16** (2): 106-115
- [32] Price W C (1936). *Phytopathology* **26**: 665.
- [33] Polak J & Zieglerova J (2001). Distribution of *apple stem grooving virus* in apple trees in the Czech Republic. *Plant Protect. Sci.*, **37**: 1-4.

- [34] Posnette F A (1989). Virus and Viruslike Diseases of Pome Fruit and Simulating noninfectious Disorders. Cooperative Extension. College of Agriculture and Home Economics. Washington State University. Pullman, Washington. p 330.
- [35] Rui D (1950). Una malattia inedita : la virosi a scoppazi del melo. *Humus* **6**:7-10.
- [36] Schwarz K & Jelkmann W (1998). Detection and characterization of European *apple stem pitting virus* sources from apple and pear by PCR and partial sequence analysis. *Acta Horticulture*, **472**: 75-85.
- [37] Smith I M, McNamara D G & Scott PR (1996). Apple proliferation Phytoplasma Pests in Europe 2nd edition. p.962-972. CAB International. Wallingford, UK.
- [38] Sipahioglu M H, Usta M & Ocak M (2006). Use of dried high-phenolic laden host leaves for virus and viroid preservation and detection by PCR methods. *Journal of Virological Methods* **137**: 120-124
- [39] Welsh M F & Uyemoto J K (1980). Differentiation of syndromes caused in apple by graft-transmissible, Xylem affected agents. *Phytopathology*, **70**: 349-352.
- [40] Wei W, Robert E D, Ing-Ming L & Yan Z (2007). Computer-simulated RFLP analysis of 16S rRNA genes: identification of ten new phytoplasma groups. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* **57**:1855-1867