



Ceviz ve Bademde *Prune dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* ve *Cherry leaf roll virus* Yoğunluklarının Mevsimsel Değişimi¹

Mahmut YEGÜL*²Saadettin BALOĞLU³

Özet

Bademde *Prune dwarf virüs* (PDV) ve *Prunus necrotic ringspot virüs* (PNRSV), cevizde ise *Cherry leaf roll virüs* (CLRV) ile doğal enfekteli olduğu belirlenmiş ağaçlardan en uygun örnek alma dönemini belirlemek üzere bölgemizde ilk defa böyle bir çalışma yürütülmüştür. 2014 yılı vejetasyon dönemi boyunca yaklaşık olarak iki haftada bir 2 badem ve 2 ceviz olmak üzere toplam 4 ağaçtan yaprak örnekleri DAS-ELISA ile testlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre her üç virüsün konsantrasyonu ilkbaharda en yüksek absorbansa (PNRSV için 1,891, PDV için 0,507 ve CLRV için 2,22) ulaşırken sıcaklıkların yükselmesi ile Temmuz ayından itibaren konsantrasyonun negatif absorbans değerleri verdiği görülmüştür. Sonbaharda Ekim ayından itibaren PNRSV, PDV ve CLRV-1 izolatlarının tekrar pozitif absorbans değerlerine ulaştığı saptanmıştır. CLRV-2 izolatu ise sadece Temmuz sonuna kadar pozitif sonuç vermiş sonraki aylarda vejetasyon sonuna kadar negatif değerlerde seyretmiştir. Bütün ceviz ve badem izolatlarında; PNRSV, PDV ve CLRV için en uygun örnekleme zamanının ilkbahar ayları olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Enfeksiyon oranı, PNRSV, PDV, CLRV, ELISA

Seasonal Variation in *Prune dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* and *Cherry leaf roll virus* Titters in Almond and Walnut Trees

Abstract

This study was conducted in order to determine the optimal sampling period of the naturally infected trees of almond with *Prune dwarf virus* (PDV) and *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) and walnut with *Cherry leaf roll virus* (CLRV). Two almond and two walnut trees were sampled in 2 weeks intervals by the double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) during the vegetation period of 2014. The highest absorbance levels were obtained early in the spring time (1,891 for PNRSV, 0,507 for PDV and 2,22 for CLRV) while the virus titer was decline in the leaves. As a result, absorbance levels were dropped down to the undetectable levels from July to October for all the viruses. The ELISA values derived from the leaves of almonds and walnuts were increased in the late vegetation period. Virus concentration of CLRV-2 isolate showed undetectable levels from July to the end of autumn. According to the results, spring is the optimal time of the year for the serological detection of PNRSV, PDV and CLRV from the leaf tissues.

Keywords: Infection level, PNRSV, PDV, CLRV, ELISA

Giriş

Türkiye değişik iklim özelliklerine sahip bölgeleri nedeniyle farklı ekolojilere sahip olup çok sayıda bitki tür ve çeşidin yetiştiriciliğinin yapıldığı ve bazı türlerin de anavatanı olan bir coğrafyada bulunmaktadır. Son yıllarda ülkemizde sert kabuklu meyve yetiştiriciliği ve üretim miktarı sürekli artış göstermektedir (Anonymous, 2011).

Sert kabuklu meyvelerden badem ve ceviz üretimi ülkemiz ekonomisi ve insanımızın beslenmesindeki yeri açısından da oldukça önemlidir. Diğer meyvelerde olduğu gibi ceviz ve bademde de verimi ve üretimi etkileyen birçok biyotik ve abiyotik faktör söz konusudur. Biyotik faktörler içinde yer alan hastalık etmenleri arasında virüsler, diğer ürünlerde olduğu gibi ceviz ve bademde de ürün kalite ve

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 11.03.2019

Kabul Tarihi: 28.06.2019

¹Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi, Konya'da özet olarak sunulmuştur.

²Biyolojik Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yüreğir, Adana

³Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 01330, Sarıçam, Adana

*yegulmahmut@gmail.com

Ceviz ve Bademde *Prune dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* ve *Cherry leaf roll virus* Yoğunluklarının Mevsimsel Değişimi

miktarına önemli oranda etki etmektedir. Ceviz ve badem alanlarında önemli virüs hastalıklarının zamanında ve doğru şekilde tespit edilmesi gerekli bitki koruma tedbirlerinin alınması açısından çok önemlidir. DAS-ELISA testi, virüslerin teşhisinde uygulanan en yaygın serolojik analizlerden biridir. Yapılacak serolojik incelemelerde ise, bitki dokusunda bulunan virüs konsantrasyonu büyük önem arz etmektedir. Bitki-virüs ilişkisi özellikle sıcaklık olmak üzere çevre şartlarından önemli derecede etkilenmektedir. Yüksek sıcaklık, bitkilerde oluşacak semptomları azaltmakta, belirtileri maskeleyerek ve enfekteli bitkilerde virüs konsantrasyonunu düşürebilmektedir (Johnson, 1922; Hull, 2002). Buna karşılık düşük sıcaklıklarda viral hastalıklar daha hızlı yayılmakta ve daha şiddetli semptomlar meydana getirmektedir (Hine ve ark., 1970; Gerik ve ark., 1990). Harrison (1956), yüksek sıcaklıklarda virüs replikasyonunun azaldığını, degrade sistemin ise sıcaklıkla beraber arttığını bildirmiştir.

2013-2016 yılları arasında, DAS-ELISA testi ile en uygun tanılama süresinin belirlenmesini amacıyla bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışmada; CLRV için 2012 yılında saptanan Adana-Balcalı ceviz izolatu, PDV için Hatay-Yayladağı ve PNRSV için Adana-Balcalı izolatından alınan yaprak örnekleri kullanılmıştır. Her ayın farklı tarihlerinde ayda 2 kez olacak şekilde örnekler taze olarak toplanmış ve DAS-ELISA testine tabi tutulmuş, sonuçlar ayrı ayrı kaydedilmiştir.

Materyal ve Yöntem

DAS-ELISA çalışmalarında virüsle bulaşık olduğu tespit edilen bitkilere ait yaprak örnekleri kullanılmıştır. Toplanan yaprak örneklerinin analizi; Clark ve Adams (1977) ile Clark ve Bar-Joseph (1984) tarafından önerilen yöntem baz alınarak kitlerin temin edildiği firmaların protokollerine göre uygulanmıştır. Negatif kontrolün absorbans değerinin iki katı ve üzeri okuma değeri veren örnekler, bulaşık kabul edilmiştir (Barba ve Riccioni, 1993; Helguera ve ark, 2002).

DAS-ELISA testi uygulamasında izlenen basamaklar sırasıyla:

Antibadi (γ -globulinden :IgG), kaplama (IgG Kaplama tamponu) çözeltisi ile kullanılacak optimum konsantrasyona (temin edildiği firmanın önerdiği oran) göre sulandırılmış IgG, DAS-ELISA pleytinin her bir çukuruna 100 μ l konularak pleytin üzeri kapatılıp 37 $^{\circ}$ C de 2-4 saat inkübe edilmiştir. Sonra yıkama tamponu ile 3-4 kez plastik piset veya yıkama makinesi yardımı ile yıkanmıştır. Yıkama tamponu 3 dakika süreyle çukurlarda bekletilmiş ve pleyt ters çevrilerek çukurlarındaki yıkama tamponu boşaltılarak kurulanmıştır. Örnek çözeltisi ile 1/10 oranda ezilen örneklerden çukurlara 100 μ l eklenmiş ve pleytin üzeri kapatılarak +4 $^{\circ}$ C de bir gece (overnight-16 saat) inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra pleytlerin yıkama işlemi yapılmıştır. Konjugat çözeltisi içerisinde enzimle işaretli IgG önerildiği şekilde sulandırılarak her çukura 100 μ l eklenmiş ve pleyt 37 $^{\circ}$ C de 2-4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra yıkama işlemi tekrarlanmış ve kurutulmuştur. En son aşamada, substrat çözeltisi içerisinde 1 mg/ml konsantrasyonunda sulandırılan substrat tablettten (p-nitrophenyl phosphatate) her çukura 100 μ l olacak şekilde pleyte ilave edilmiş 30-60 dk ve gerekli görüldüğünde daha uzun süre oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilerek enzimatik reaksiyon için bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, ihtiyaç duyulduğu durumlarda reaksiyonu durdurmak için her bir çukura 20-50 μ l 3 M NaOH ilave edilmiştir. Pleytin çukurlarındaki renk değişimine dayalı ölçümler Anthos 2010 ELISA okuyucusu ile 405 nm dalga boyunda yapılmıştır.

Sonuçlar ve Tartışma

CLRV'nin DAS-ELISA ile Teşhisi İçin En Uygun Örnekleme Zamanının Belirlenmesi

Ceviz ağaçlarında CLRV'nin DAS-ELISA ile teşhisi için en uygun örnekleme döneminin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar, 2014 yılında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; 2013 ve 2016 yılı survey çalışmaları esnasında, CLRV ile enfekteli bulunan Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü Uygulama ve Araştırma arazisinde bulunan iki ceviz ağacından (Ad-B1c-1 ve Ad-B1c-2 izolatları) yıl boyu ortalama 15 günlük periyotlarla yaprak

Ceviz ve Bademde *Prune dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* ve *Cherry leaf roll virus* Yoğunluklarının Mevsimsel Değişimi

örnekleri alınmıştır. Örnekler alındıktan sonra aynı gün DAS-ELISA testine tabi tutulmuştur.

Yapılan DAS-ELISA çalışmalarının sonuçlarının verildiği Çizelge 1'den de anlaşılacağı üzere Nisan başından Temmuz sonlarına kadar her iki ceviz ağacından alınan örnekler pozitif sonuç vermiştir. 2 no'lu ağaç yıl boyunca sürekli pozitif sonuç vermiştir. Temmuz sonundan itibaren vejetasyon döneminin sonuna kadar yapılan test çalışmalarında, 1 nolu ağaç sadece ekim ayının sonlarında negatif değer 2 katı civarında sonuç vererek pozitif sonuç vermiş, geriye kalan dönemde negatif absorbans değerlerinde seyretmiştir. 1 no'lu ağaç açık alanda tek ağaç şeklinde, 2 no'lu ağaç ise hemen yanındaki kendinden daha çok gelişmiş sağlıklı bir başka ceviz ağacının kuzey yönünde ve sürekli olarak gölgesinde bulunmaktadır. 2 no'lu ağacın farklı bir çeşit veya daha serin yerde ve sürekli gölgede kalmasından dolayı her dönem yüksek absorbans değeri verdiği düşünülmektedir. Her iki izolatta elde edilen absorbans değerleri, ağaçların ilk uyanma döneminde düşük, vejetatif gelişmeyle beraber yükseldiği, daha sonra dokuların yaşlanmaya başlamasından dolayı virüs konsantrasyonunun düşmesiyle absorbans değerlerinin de düşmeye devam ettiği görülmüştür (Şekil 1). Elde edilen sonuçlara göre Adana'da CLRV'nin en uygun örnekleme zamanının ilkbahar ayları olduğu belirlenmiştir. Birçok virüs hastalığında sıcaklığın yükselmesi ile beraber belirtilerin kaybolduğu veya azaldığı, hatta virüsün inaktif olduğu da bilinmektedir. CLRV için cevizde yapılan bu çalışma ile virüs konsantrasyonu ile sıcaklık ilişkisi ile birlikte bölgemizde DAS-ELISA analizi için en uygun örnekleme zamanı ortaya konulmuştur.

CLRv için örnek alma zamanının kritik ve test sonuçlarını büyük oranda etkilediği, optimum örnekleme zamanının bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer olarak ilkbahar ayları ve yaz mevsiminin erken dönemleri olduğu, bununda iklim şartlarına göre

değişkenlik gösterebildiği bildirilmiştir (Anonim, 2016). Benzer şekilde Karesova ve Paprstein (2001), sıcak bölgelerde ACLSV'nin tespiti için en uygun zamanın Mayıs ayının başından Haziran ayının sonuna kadar olan dönem olduğunu bildirmiş, Hull (2002), ise yüksek sıcaklığın simptomları maskeleydiğini ve bitki bünyesinde virüs konsantrasyonunun azaldığını belirtmiştir. Hine ve ark (1970) ile Gerik ve ark (1990), düşük sıcaklıkların virüs hastalıkların hızlı yayılmasında ve şiddetli viral hastalık simptomlarının oluşmasında etkili olduğunu, buna karşılık Harrison (1956), yüksek sıcaklıkların virüslerin yapılarının bozulmasıyla ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, bu çalışmalarla uyumlu niteliktedir.

PDV'nin DAS-ELISA ile Teşhisi İçin En Uygun Örnekleme Zamanının Belirlenmesi

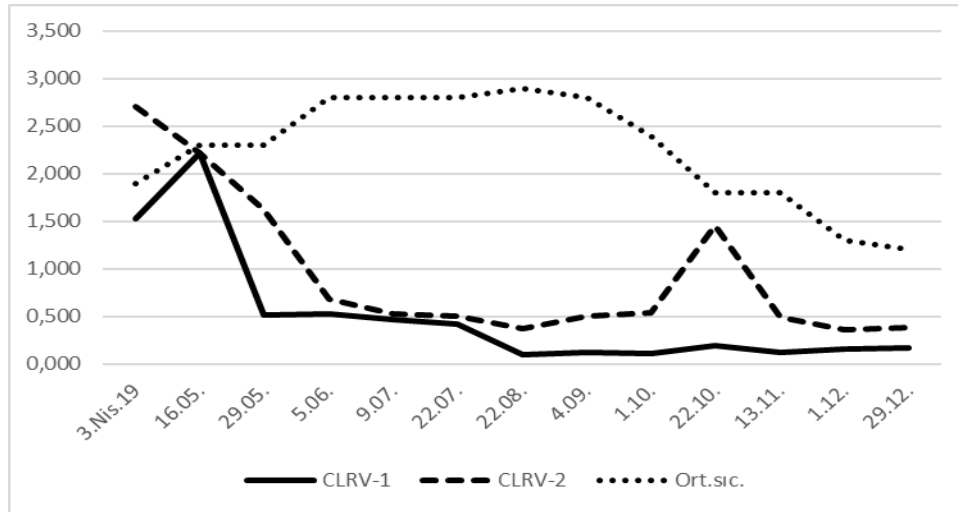
Cevizde olduğu gibi bademde de PDV'nin en uygun örnekleme döneminin DAS-ELISA ile tespiti belirlenmesi amacıyla, 2013 ve 2016 yılı survey çalışmaları esnasında PDV ile enfekteli bulunan Hatay ili Yayladağı İlçesinde bulunan badem ağacı (Hty-Yayladağı-Badem1), 2014 yılında belirli aralıklarla örnek alınarak testlenmiştir. Örnekler alındıktan sonra buz kutusuna konularak soğuk zincirde laboratuvara getirilmiş ve DAS-ELISA testine tabi tutulmuştur.

Çizelge 2'ye göre, ilkbaharda ağaçların uyanmasıyla beraber DAS-ELISA'da okunan absorbans değerleri yükselerek devam etmiş, Mayıs ayında en yüksek okuma değerine ulaşarak Haziran ve Temmuz aylarında düşük değerler elde edilmiş, ancak bu tarihe kadar pozitif olarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Temmuz ayında sıcaklığın yükselmesi ile virüs konsantrasyonu düşmüş, Ağustos ve Eylül aylarında yapılan testlerde ise, negatif absorbans değerlerine düşmüştür. Sonbaharda; Ekim- Kasım ve Aralık aylarında alınan örnekler, tekrar pozitif absorbans değerlerine

Ceviz ve Bademde *Prune dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* ve *Cherry leaf roll virus* Yoğunluklarının Mevsimsel Değişimi

Çizelge 1. Enfekteli ceviz ağaçlarında yıl boyunca CLRV'nin teşhisi amacıyla örnek alma tarihleri ve DAS-ELISA sonuçları

Örneğin alındığı tarih	Okuma değeri CLRV		Pozitif OD ₄₀₅ .	Negatif OD ₄₀₅ .
	1. Ağaç	2. ağaç		
3 Nisan	1.525	2.700	0.439	0.103
16 Mayıs	2.22	2.220	0.453	0.133
29 Mayıs	0.511	1.620	0.476	0.177
05 Haziran	0.527	0.677	2.980	0.102
09 Temmuz	0.470	0.522	2.581	0.112
22 Temmuz	0.421	0.504	0.426	0.197
22 Ağustos	0.098	0.371	9.999	0.103
04 Eylül	0.118	0.500	2.835	0.119
01 Ekim	0.113	0.535	9.999	0.112
22 Ekim	0.189	1.450	9.999	0.094
13 Kasım	0.121	0.489	9.999	0.121
01 Aralık	0,156	0,365	2,348	0,103
29 Aralık	0,169	0,389	2,041	0,099



Şekil 1. DAS-ELISA testinde CLRV için okunan absorbans değerleri ile sıcaklık ilişkisi (Not: Sıcaklık değerlerinin 1/10'u alınarak grafik oluşturulmuştur.)

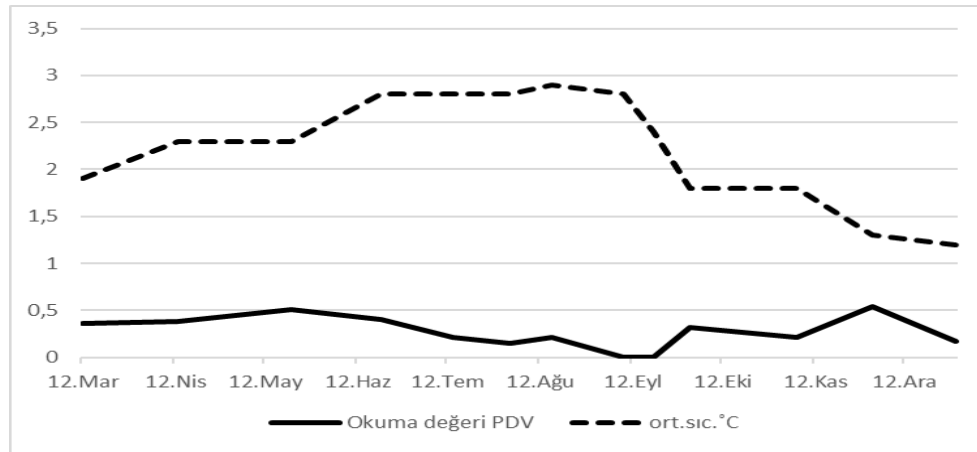
ulaşmıştır. Aralık ayında yaprakların iyice sararıp döküldüğü dönemde alınan yaprak örnekleri, tekrar negatif okuma değerinde seyretmiştir (Şekil 2). Bu sonuçlara göre

genelleme yapıldığında; PDV'nin en uygun örnekleme zamanının ilkbahar ayları ile Sonbaharın geç dönemi olduğu söylenebilir.

Ceviz ve Bademde *Prune dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* ve *Cherry leaf roll virus* Yoğunluklarının Mevsimsel Değişimi

Çizelge 2. Farklı örnekleme zamanlarında PDV'nin teşhisi amacıyla örnek alma tarihleri ve DAS-ELISA sonuçları

Örneğin alındığı tarih	Örneğin okuma değeri OD ₄₀₅	Pozitif OD ₄₀₅ .	Negatif OD ₄₀₅ .	Sonuç
12 Mart	0,356	9,999	0,101	+
13 Nisan	0,386	9,999	0,107	+
21 Mayıs	0,507	9,999	0,104	+
20 Haziran	0,406	9,999	0,146	+
14 Temmuz	0,208	0,435	0,101	+
02 Ağustos	0,153	9,999	0,105	-
16 Ağustos	0,212	9,999	0,115	-
09 Eylül	0,193	1,469	0,117	-
19 Eylül	0,181	0,447	0,102	-
01 Ekim	0,314	0,548	0,109	+
06 Kasım	0,213	0,356	0,099	+
01 Aralık	0,541	1,358	0,101	+
29 Aralık	0,169	0,414	0,099	-



Şekil 2. DAS-ELISA testinde PDV için okunan absorbands değerleri ile sıcaklık ilişkisi (Not: Sıcaklık değerlerinin 1/10'u alınarak grafik oluşturulmuştur.)

PNRSV'nin DAS-ELISA ile Teşhisi İçin En Uygun Örnekleme Zamanının Belirlenmesi

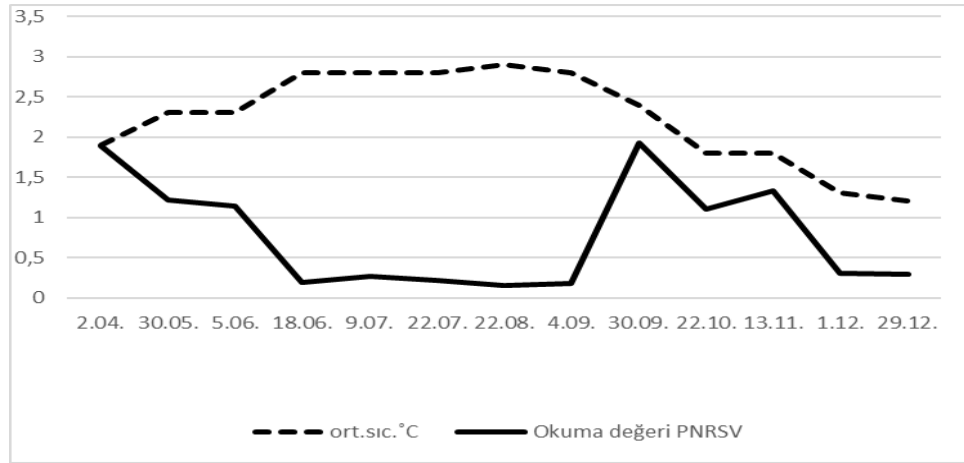
Benzer şekilde PNRSV için de, bademde en uygun örnekleme döneminin belirlenmesi amacıyla DAS-ELISA ile çalışmalar yürütülmüştür. En uygun örnekleme döneminin belirlenmesi amacıyla 2013 ve 2016 yılı survey çalışmaları

esnasında PNRSV ile enfekteli bulunan Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Uygulama ve Araştırma arazisinde bulunan bir badem ağacı (Ad-Bal-B1) 2014 yılında belirli aralıklarla örnek alınarak test edilmiştir. Örnekler alındıktan sonra aynı gün DAS-ELISA testine tabi tutulmuştur.

Ceviz ve Bademde *Prune dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* ve *Cherry leaf roll virus* Yoğunluklarının Mevsimsel Değişimi

Çizelge 3. Farklı örnekleme zamanlarında PNRSV'nin teşhisi amacıyla örnek alma tarihleri ve DAS-ELISA sonuçları

Örneğin alındığı tarih	Örneğin okuma değeri OD ₄₀₅	Pozitif OD ₄₀₅ .	Negatif OD ₄₀₅ .	Sonuç
02.04.2013	1.891	0.635	0.102	+
30.05.2013	1.212	0.426	0.167	+
05.06.2013	1.139	0.804	0.089	+
18.06.2013	0.191	0.646	0.095	+
09.07.2013	0.274	0.527	0.232	-
22.07.2013	0.217	3.005	0.188	-
22.08.2013	0.157	0.3	0.104	-
04.09.2013	0.178	2.835	0.119	-
30.09.2013	1,920	9,999	0,101	+
22.10.2013	1,099	9,999	0,094	+
13.11.2013	2,33	9,999	0,121	+
01.12, 2013	0,305	0,348	0,101	+
29.12,2013	0,289	2,131	0,097	+



Şekil 3. DAS-ELISA testinde PNRSV için okunan absorban değerleri ile sıcaklık ilişkisi (Not: Sıcaklık değerlerinin 1/10'u alınarak grafik oluşturulmuştur.)

Çizelge 3'e göre ilkbaharda ağaçların uyanmasıyla beraber DAS-ELISA'da okunan absorban değerlerinin yükseldiği, Mayıs ve Haziran aylarında düşük çıktığı, ancak bu tarihe kadar pozitif sonuç verdiği görülmektedir. Temmuz ayında sıcaklığın yükselmesi ile beraber virüs konsantrasyonu düşerken, Temmuz, Ağustos ve Eylül ayının başlarında yapılan DAS-ELISA testlerinde ise, negatif

sonuçlar verdiği kaydedilmiştir. Sonbaharda Eylül sonu, Ekim, Kasım ve Aralık aylarında alınan örnekler tekrar yüksek absorban vererek pozitif sonuç vermiştir (Şekil 3). Elde edilen sonuçlara göre PNRSV'nin en uygun örnekleme zamanının ilkbahar ayları olduğu ancak Sonbaharda havaların serin olduğu dönemde de pozitif sonuçların elde edilebileceği saptanmıştır. Bütün bu sonuçlar

Ceviz ve Bademde *Prune dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* ve *Cherry leaf roll virus* Yoğunluklarının Mevsimsel Değişimi

dikkate alındığında bitkilerdeki virüslerin tespiti için ilkbahar aylarında serolojik araştırmaların, diğer dönemlerde de moleküler yöntemlerin kullanılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

Zotto ve ark (1999), Arjantin’de şeftali bahçelerinde PNRSV’nin değişimini farklı fenolojik devrelerde incelemişlerdir. Uyur gözlerde 405 nm’de Mayıs ayında 0,61, Temmuz ayında 0,86, çiçeklerde Eylül ayında 1,22 ve yeni sürgünlerde kasım ayında 1,53 değerlerinde bulunmuştur. Ocak ayında enfekteli olmayan bitkiler ile enfekteli bitkilerin konsantrasyon değerlerinin aynı olduğu saptanmış ve bu çalışmaya benzer olarak virüs teşhisinin bitkilerin çiçeklenme ile yeni filizlenme döneminde yapılmasının daha iyi sonuç verdiği saptanmıştır. Salem ve ark (2003), PNRSV’nin badem, şeftali ve erik çeşitlerinde PNRSV’nin tespiti için en uygun zamanın bizim bulgulara paralel olarak ilkbahar sezonu çiçeklenme, büyüme uçları ve genç yaprakların olduğunu bildirmişlerdir.

Virüs konsantrasyonlarındaki mevsimsel dalgalanmaların çeşitlere göre farklılık gösterdiğinden, hastalıklı ve sağlıklı bitkileri ayırt edebilmek bütün çeşitler için aynı zamanda mümkün olmamaktadır. Varveri ve ark (1997), bademde PNRSV’nin, kayısıda ACLSV ve PPV’nin, DAS-ELISA ile güvenilir teşhisleri için yaptıkları örnekleme çalışmalarında, burada bulunan sonuçlara benzer olarak Mayıs, Haziran, Temmuz, Ekim ve Kasım aylarında en yüksek okuma değerlerine ulaşmış, sıcaklığın yüksek olduğu ağustos ayında etmenleri belirlemek mümkün olmamıştır. Moury ve ark (2001), sıcaklıkların artması ile virüs konsantrasyonunun azaldığını rapor etmişler, Kobylko ve Nowak (2006) ise, Polonyo’da sıcaklık artışıyla fındıkta ApMV belirtilerinin maskelendiğini ve fındıkta örnek almak için en uygun dönemin Mayıs ayı olduğunu bildirmişlerdir. Literatürlerde verilen sonuçların bu çalışmada elde edilen verilerle büyük bir uyumluluk gösterdiği görülmüştür.

Bütün bu sonuçlar dikkate alındığında Doğu Akdeniz Bölgesi’nde özellikle rakımın düşük olduğu alanlarda ceviz ve badem ağaçlarında virüslerin tespiti için aktif büyümenin ve buna bağlı olarak virüs replikasyonunun hızlı olduğu

ilkbahar aylarında serolojik testlemenin, bitki büyümesinin durduğu, sıcaklıkların yüksek olduğu ve bitki bünyesinde virüs konsantrasyonunun azaldığı diğer dönemlerde de, moleküler yöntemlerin kullanılmasının uygun olacağı önerilmektedir.

Özellikle yaz aylarında (haziran ortasından ekim ayının ortasına kadar olan dönemde) yurtdışından gelen bitki örneklerinin ve sertifikasyon amaçlı (ilkbahar-yaz ve sonbahar) alınan örneklerin serolojik yöntemlerin yanında moleküler olarak test edilmesi, sertifikasyon ve karantina tedbirleri açısından sonuçların güvenilirliği bakımından önerilmektedir. Bu dönemde yapılacak analizlerin mutlaka moleküler yöntemlerle yapılması için yasal düzenlemeler yapılmalıdır.

Teşekkür

Çalışmayı destekleyen T.C. Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) ve Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (ÇÜ-BAP- ZF2012D12)’ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Anonymous, 2016. National Diagnostic Protocol for CLRV(Cherry and Walnut Strains). Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry.<http://plantbiosecuritydiagnostics.net.au/wordpress/wp-content/uploads/2015/03/NDP-10-Cherry-Leaf-Roll-Virus-V1.2.pdf>
- Anonymous,2011.http://www.uyurgezer.net/meyvecilik_kulturu_ve_turkiye_meyve_uretimi-t97324.html
- Barba, M. ve Riccioni, L., 1993. Improvement of Diagnostic Methods to Detect Plum Pox Virus in Apricot Plants. Agriculture, 139- 141.
- Clark, M. F. ve Adams, A. N., 1977. Characteristics Of The Micro-Plate Method Of Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay For The Detection Of Plant Viruses. Journal Of General Virology. 34, 475-483.

Ceviz ve Bademde *Prune dwarf virus*, *Prunus necrotic ringspot virus* ve *Cherry leaf roll virus* Yoğunluklarının Mevsimsel Değişimi

- Clark, M.F. & Bar-Joseph, M. 1984. Enzyme immunosorbent assays in plant virology. *Methods Virol.*, 7: 51-85.
- Gerik J.S., Duffus, J.E., Perry, R., Stenger, D.C. ve Van Maren, A.F. 1990. Etiology of tomato plant decline in the California desert. *Phytopathology*, 80, 1352-1356.
- Harrison, B. D., 1956. Relationship between Beet ringspot, Potato Bouquet and Tomato black ring viruses. *J. Gen. Microbiology* 18, 450-460.
- Helguera, P.R., Docampo, D.M., Nome, S.F. ve Ducasse, D.A., 2002. Enhanced Detection of Prune Dwarf Virus in Peach Leaves by Immunocapture- Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction with Nested Polymerase Chain Reaction (IC-RT-PCR Nested PCR). *J. Phytopathology* 150, 94-96. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin.
- Hine R.B., Osborne, W.E. ve Dennis, R.E. 1970. Elevation and temperature effects on severity of maize dwarf mosaic virus in sorghum in Arizona. *Plant Dis. Rep.*, 54, 1064-1068.
- Hull R. 2002. *Matthews' Plant Virology*. p. 1001. Fourth ed. Academic Press; London, UK:
- Johnson, J. 1922. Experimental evidence relating to the nature of the mosaic virus. *Phytopathology* 12:52 (Abstr.)
- Karesova, R. ve Paprstein, F. 2001. Apple chlorotic leaf spot virus in germplasm collection of fruit species. *Acta Hort.* 550:259-264.
- Kobylko, T., Nowak, B., 2006. Detection and occurrence of Apple mosaic virus in hazelnut in south-east Poland. *Journal of Plant Pathology* 88(1): 122
- Moury, B., Cardin, L., Onesto, J-P, Candresse, T. ve Poupet, A. 2001. Survey of *Prunus necrotic ringspot virus* in rose and its variability in rose and *Prunus* spp. *Phytopathology*. 91: 84-91.
- Salem, N., Mansour, A., Al-Musa, A., ve Al-Nsour, A., 2003. Seasonal variation of *Prunus necrotic ringspot virus* concentration in almond, peach and plum cultivars. *Phytopathologia Mediterranea* 42, 155-160.
- Varveri, C., Holeva, R., Bem, F.P., 1997. Effect of sampling time and plant part on the detection of two viruses in Apricot and Almond by ELISA. *Annales de l'Institut Phytopathologique, Benaki*. 18(1):25-33.
- Zotto, A.D., Nome, S.F., Rienzo, J.A. di, Docampo, D.M., 1999. Fluctuations of PNRSV at various phenological stages in peach cultivars. *Plant diseases*, 83(11):1055-1057.