

# Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

## Detection of some important viruses in tomato production areas of Diyarbakır province by molecular methods and their molecular characterization

Diyarbakır ili domates üretim alanlarındaki bazı önemli virüslerin moleküler yöntemler ile teşhisi ve moleküler karakterizasyonu

Feyzullah YILMAZ<sup>a</sup>, Hikmet Murat SİPAHİOĞLU<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Diyarbakır Plant Protection Research Institute, 21110 Sur, Diyarbakır, Turkey

<sup>b</sup>Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Malatya Turgut Özal University, Battalgazi, Malatya, Turkey

### ARTICLE INFO

Article history:

DOI:10.16955/bitkorb.682860

Received : 03-02-2020

Accepted: 09-12-2020

Keywords:

tomato, virus, multiplex-RT-PCR, ToMV, PVY, movement protein gene, coat protein gene

\* Corresponding author: Feyzullah YILMAZ

✉ [feyzullah.yilmaz@tarimorman.gov.tr](mailto:feyzullah.yilmaz@tarimorman.gov.tr)

### ABSTRACT

Surveys were conducted to investigate the presence of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Potato virus Y* (PVY), *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) and *Tomato ringspot virus* (ToRSV) in tomato production areas of Diyarbakır province by molecular methods in 2018. The following methods were implemented to detect the presence of the viruses: PCR method for TYLCV, multiplex-RT-PCR method for PVY and ToMV, and RT-PCR method for TSWV and ToRSV. A total of 278 symptomatic and asymptomatic leaf samples were randomly collected from tomato plants. Fifty-six (20.1%) samples tested by molecular methods were found to be infected with at least one virus. Of the samples tested, 41 were infected with ToMV (14.7%), 21 were infected with PVY (7.6%), and 6 contained mixed infections of ToMV + PVY (2.2%). TYLCV, TSWV, and ToRSV were not detected in the tomato samples tested. Four PVY and four ToMV isolates were randomly selected to characterize the partial movement protein (MP) and coat protein (CP) genes of ToMV, and the partial coat protein (CP) gene of PVY. The nucleotide sequences were deposited in the GenBank database. Diyarbakır isolates of ToMV showed 99-100% similarity while Diyarbakır isolates of PVY showed 88-99% similarity to the other isolates reported around the world. With this study, ToMV and PVY were reported for the first time in tomato production areas in Diyarbakır province.

## GİRİŞ

Dünyada ve ülkemizde beslenmede önemli bir yere sahip olan domates, yoğun bir şekilde yetiştiriciliği yapılan bir sebzedir. Dünya Tarım Örgütü'nün 2018 yılı verilerine göre dünyada domates üretiminin en fazla yapıldığı ülke Çin olurken, ülkemiz Çin ve Hindistan'dan sonra 3. sırada yer almıştır (FAO 2018).

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde sulama imkanının artmasıyla birlikte domates ekim alanlarında ve verimde önemli bir artış olduğu görülmüştür. Bölgede 2017 yılı itibarı ile 149.711 dekar alanda 659 bin ton domates üretimi gerçekleştirilmiştir. Diyarbakır ili, domates ekim alanları bakımından Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde

Şanlıurfa'dan sonra ikinci sırada yer almakta ve yaklaşık 29 bin dekar alanda 85 bin ton üretim yapılmaktadır (TÜİK 2018).

Domates üretiminin yapıldığı alanlarda bitkinin hemen hemen tüm dönemlerinde çok sayıda fungal, bakteriyel ve viral hastalıklar ciddi ürün kayıplarına neden olmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de domates üretimini etkileyen en önemli hastalık etmenlerinden biri de virüslerdir. Günümüzde virüs hastalıklarına karşı etkili herhangi bir kimyasal ilacın bulunmaması nedeni ile virüslerle mücadele daha çok, bitkileri virüslerden korumaya yönelik alınan tedbirlere ve vektörleri ile mücadeleye dayanmaktadır. Virüs ve vektörlerine karşı etkili ve ekonomik bir mücadele yapılabilmesi için virüslerin ve vektörlerinin hassas moleküler tekniklerle teşhislerinin yapılması ve bunların epidemiyolojilerinin bilinmesi gerekmektedir (Erkan 2008).

Dünyada yetiştiriciliği yapılan domates bitkisi birçok virüs hastalığına maruz kalabilmektedir. Domates üretim alanlarında görülen en önemli viral hastalıklardan bazıları; Domates sarı yaprak kıvrıcılık virüsü (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV), Patates Y virüsü (*Potato virus Y*, PVY), Domates mozaik virüsü (*Tomato mosaic virus*, ToMV), Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) ve Domates halkalı leke virüsü (*Tomato ringspot virus*, ToRSV)'dür. Virüsler doğada çok yaygın olarak bulunurlar ve ekonomik olarak bitkilerde ciddi hastalıklara ve ürün kayıplarına neden olmaktadır (Wani et al. 2010). Yapılan çalışmalarda hastalık etmeni virüslerin bitkinin enfekte olduğu döneme göre %42 ile %96 oranında zarara yol açtığı ortaya konmuştur (Şevik 2007). Domates üretimini sınırlandıran önemli virüslerden TYLCV'nin, domates bitkisini yaz ve sonbahar süresince enfekte edebildiği ve %100'e varan oranlarda ürün kaybına neden olduğu (Lapidot et al. 2001); TSWV'den ileri gelen enfeksiyonlarda bitkisel ürünlerde %42-100 arasında kayıpların olduğu (Roselló et al. 1996); PVY'nin dünya çapında ürün kalite ve verimini %80'e kadar azalttığı (Hämäläinen 1997); ToRSV'nin %95'e kadar ürün kaybına neden olduğu (Dias 1976); ToMV'nin ise verimi %20'ye kadar düşürdüğü (Broadbent 1976) bildirilmiştir.

Domates, Diyarbakır ilinde yaygın biçimde üretilmesine rağmen, üretim alanlarındaki domates virüs hastalıkları ile ilgili olarak yeterli veri mevcut değildir. Bu çalışma ile Diyarbakır ili domates alanlarındaki önemli bazı virüs hastalıkları moleküler yöntemler ile araştırılmış ve elde edilen bazı virüs izolatlarının moleküler karakterizasyonları yapılmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### *Sürvey çalışmaları*

Sürvey çalışmaları, 2018 yılı haziran-ağustos aylarında domates yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Diyarbakır ili ve ilçelerinde yürütülmüştür. Bitki numuneleri sistematik örnek alma yöntemine göre toplanmıştır (Bora ve Karaca 1970). Tesadüfi olarak seçilen domates tarlalarından en az bir, en çok üç adet olmak üzere, virüs simptomu gösteren ve göstermeyen domates bitkilerinden örnekler alınmıştır. Toplanan domates yaprak örnekleri polietilen torbalara konularak soğuk zincirde laboratuvara getirilmiş ve PCR testlerinde kullanılmak üzere 4 °C'de en fazla bir hafta süre ile muhafaza edilmiştir.

### *DNA ve RNA izolasyonu*

Sürvey çalışmalarında toplanan domates örneklerinde ToMV, TSWV, PVY ve ToRSV enfeksiyonlarının araştırılması için toplam RNA izolasyon kiti (Qiagen RNeasy Plant Mini Kit; Kat. No: 74904, Almanya) kullanılmıştır. Örneklerdeki muhtemel TYLCV enfeksiyonunun araştırılması için toplam DNA izolasyon çalışmalarında ise Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Kat. No: 69106, Almanya) kullanılmıştır. Nükleik asit izolasyonları firmanın önerdiği protokol adımları ile gerçekleştirilmiştir.

### *Komplementer DNA (cDNA) sentezi*

RNA genomuna sahip ToMV, PVY, TSWV ve ToRSV'nin RT-PCR yöntemi ile teşhisinde komplementer DNA sentezi Applied Biosystems™ High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kiti (Kat. No: 4368814, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre steril bir PCR tüpü içerisine 10X RT buffer'dan 2 µl, dNTP mix (100 nM)'ten 0.8 µl, 10X RT Random Primer'den 2 µl, Multiscribe™ Reverse Transcriptase enziminden 1 µl, steril saf sudan 4.2 µl ve RNA örneğinden ise 10 µl konarak toplam hacim 20 µl olacak biçimde hazırlanmıştır. cDNA sentezi için karışım 25 °C'de 10 dk, ve daha sonra 37 °C'de 120 dk inkübe edilmiş ve takiben enzimin inaktivasyonu için ise karışım 85 °C'de 5 dk bekletilmiştir.

### *Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)*

RNA genomuna sahip ToRSV ve TSWV'nin tanısında genom spesifik primerlerin kullanıldığı RT-PCR yöntemi, ToMV ve PVY'nin tanısında ise multipleks RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. DNA genomuna sahip TYLCV'nin tanısı ise genom spesifik primerlerin kullanıldığı PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

### *RT-PCR*

ToRSV ve TSWV'nin RT-PCR yöntemi ile araştırılmasında, steril bir PCR tüpüne toplam 50 µl hacimde olacak biçimde

**Çizelge 1.** Çalışma kapsamında araştırılan virüsleri tespit etmede kullanılan primer dizileri, baz uzunlukları ve referanslar

Hedef virüs	Primer dizilimi	Çoğaltılan DNA uzunluğu	Referans
TYLCV	F - 5'-atgtcgaagcgwcca-3' R - 5'-ttaatttkrtaytgaatcatagaa-3'	777 bp	Kim et al. 2011
PVY	F - 5'-acgtcctcaaatgagaatgcc-3' R - 5'-tggtgttcgtgatgtgacct-3'	480 bp	Singh and Singh 1997
ToMV	F - 5'-agatgaagccgagacgtcggtc-3' R - 5'-acccttcgatttaagtggaggga-3'	621 bp	Alavi et al. 2014
TSWV	F - 5'-atgtctaaggttaagctcac-3' R - 5'-tcaagcaagttctgagatt-3'	777 bp	Choi 2014
ToRSV	F - 5'-gaatggttccagccactt-3' R - 5'-agtctcaacttaacataccac-3'	182 bp	Tang et al. 2014

5 µl 10X PCR buffer, 3 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 µl dNTP (10 mM) (Vivantis, Malezya), 1 µl primer forward (10 pmol), 1 µl primer reverse (10 pmol), 0.4 µl Taq DNA polimeraz enzimi (Thermo), 2 µl cDNA ve 36.6 µl RNase free su konularak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Her iki virüs için RT-PCR reaksiyonunda uygulanan sıcaklık döngüsü 35 defa uygulanmış, primer bağlanma sıcaklığı ToRSV için 51 °C, TSWV için ise 49 °C uygulanmıştır. RT-PCR çalışmalarında kullanılan primerlere ait bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

#### Multipleks-RT-PCR

ToMV ve PVY'nin multipleks RT-PCR yöntemi ile araştırılmasında steril bir PCR tüpüne toplam hacim 50 µl olacak biçimde 7 µl 10X PCR buffer, 4 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 µl dNTP (10 mM), 0.5 µl ToMV primer forward (10 pmol), 0.5 µl ToMV reverse primer (10 pmol), 0.5 µl PVY forward primer (10 pmol), 0.5 µl PVY reverse primer (10 pmol), 0.6 µl Taq DNA polimeraz enzimi, 2 µl cDNA ve 32.4 µl RNase free su eklenerek reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Multipleks RT-PCR reaksiyonunda sıcaklık rejimi 35 döngü olarak uygulanmış ve primer bağlanma sıcaklığı 52 °C kullanılmıştır. Multipleks RT-PCR çalışmalarında kullanılan primerlere ait bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

#### PCR

TYLCV'nin PCR yöntemi ile araştırılmasında steril bir PCR tüpüne toplam hacim 50 µl olacak biçimde 5 µl 10X PCR buffer, 3 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 µl dNTP (10 mM), 5 µl primer forward (10 pmol), 5 µl primer reverse (10 pmol), 0.5 µl Taq DNA polimeraz enzimi, 10 µl DNA (1/50 oranında sulandırılmış) ve 20.5 µl RNAase free su konularak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonunda uygulanan sıcaklık rejimi 35 döngü olarak uygulanmış ve primer bağlanma sıcaklığı 52 °C kullanılmıştır. PCR çalışmalarında kullanılan primerlere ait bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

#### Agaroz jel elektroforez

PCR sonucu elde edilen ürünler %1.5'lük agaroz jel hazırlanarak elektroforez (Thermo Scientific, ABD) yöntemi

ile analiz edilmiştir. Jel çukurlarına GeneRuler 100 bp DNA marker (Kat. No: SM241, Thermo Scientific, ABD), araştırılan virüslere ait pozitif örnekler (Kat. No: C2374, C2688, C9528, C2543, C2525, Agdia, ABD), negatif örnek (su) ve 15 µl PCR ürünü ile 3 µl yükleme tamponu (6X DNA loading dye, Thermo Scientific, ABD) karıştırılarak jele yüklenmiştir. Güç kaynağı 80 V'a ayarlanıp 80 dk elektrik akımı uygulanmıştır. Elektroforez işleminden sonra jel 15 dk süreyle 100 ml steril saf suda 10 µl ethidium bromide içeren çözeltide boyanmış ve görüntülenmiştir (DNR Bio-Imaging Systems). Pozitif bulunan örnekler steril bistüri ile kesilerek 1.5 ml'lik Eppendorf tüplerine aktarılmış ve dizilemeye gönderilmek üzere -20 °C'de saklanmıştır.

#### DNA dizilemesi ve filogenetik analiz

PCR çalışmaları sonucu elde edilen virüslere ait DNA'ların çift yönlü DNA dizilemesi hizmet alımı kapsamında ticari olarak yaptırılmıştır. DNA dizilemesi sonucu elde edilen bilgilerin ChromosPro 1.5 (Technelysium Pty Ltd, Avustralya) ve CLC Main Workbench 20.0.3 (Qiagen Bioinformatics, Almanya) bioinformatik programları kullanılarak analizleri yapılmıştır. Dizileme sonrası tespit edilen virüslerden, PVY izolatlarının kısmi kılıf protein genleri, ToMV izolatlarının ise kısmi hareket protein ve kılıf protein gen bölgelerinin araştırılması web temelli BLASTn programı (National Center for Biotechnology Information, NCBI) ile gerçekleştirilmiştir. Tespit edilen virüslere ait elde edilen nükleotid dizileri NCBI'da bulunan farklı ülkelere ait izolatlar ile karşılaştırılarak benzerlik yüzdeleri belirlenmiştir. Tespit edilen virüs izolatlarının dünyadaki diğer virüs izolatlarıyla olan genetik benzerlikleri ve farklılıklarının belirlenmesi amacıyla filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

#### DNA dizilerinin gen bankasına girilmesi

Domates bitkisinde tespit edilen ve PCR yöntemi ile çoğaltılan ToMV (DT1, DT2, DT3, DT4 izolatları)'ye ait kısmi hareket protein ve kılıf protein gen dizileri ile PVY (DP1, DP2, DP3, DP4 izolatları)'ye ait kısmi kılıf protein genlerine ait dizilerin, NCBI'a kaydı gerçekleştirilmiştir.

## SONUÇLAR

### Sürvey çalışmaları

Diyarbakır ili Çermik, Çüngüş, Eğil, Ergani, Çınar, Sur, Kayapınar, Yenişehir, Hazro, Kulp, Lice, Bismil, Dicle ve Hani ilçelerindeki domates alanlarında ToMV, TYLCV, TSWV, ToRSV ve PVY'nin varlığı ve yaygınlıklarının tespit edilmesi amacıyla 2018 yılı haziran-ağustos ayları arasında geniş çaplı sürvey çalışması yürütülmüştür. Sürvey çalışmaları süresince ilde yetiştiriciliği yapılan domates bitkilerinin viral etmenlere karşı yüksek düzeyde duyarlı olduğu görülmüş ve sürvey gerçekleştirilen alanlarda domates bitkilerinde sararma, yaprak kıvrılması, yapraklarda şekil bozukluğu, budurlaşma ve şiddetli mozaik belirtileri gözlenmiştir. Yürütülen moleküler testler ile sürvey çalışmalarında bazı bitkilerde gözlemlenen mozaik, yaprakta kabarcık ve deformasyon gibi belirtilerin hangi virüs enfeksiyonundan kaynaklandığı tespit edilmiştir (Şekil 1).



**Şekil 1.** Enfekteli domates bitkilerinde gözlenen belirtiler; a1, a2: *Tomato mosaic virus* ile enfekteli bitki. b1, b2: *Potato virus Y* ile enfekteli bitki. c1, c2: *Tomato mosaic virus* ve *Potato virus Y* ile karışık enfekteli bitki

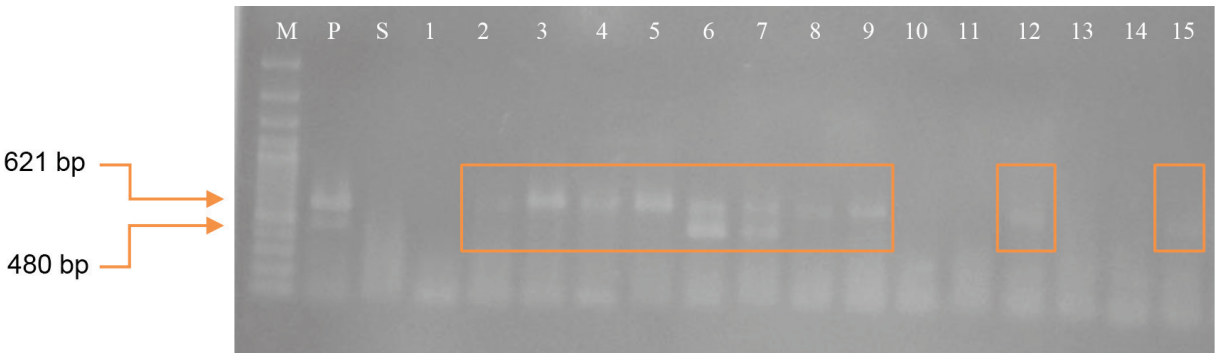
### Moleküler çalışmalar

Diyarbakır ili domates alanlarından toplanan örneklerde ToMV ve PVY'nin varlığını tespit etmek amacı ile yürütülen multipleks RT-PCR testlerinde enfekteli bitki numunelerinden sırası ile 621 bp ve 480 bp büyüklüğünde DNA bantları elde edilmiştir. Testlerde pozitif kaynak (Kat. No: C2374, C2543, Agdia) olarak kullanılan ToMV ve PVY'ye ait kontrol numuneleri de sırası ile 621 bp ve 480 bp büyüklüğünde DNA bandı oluştururken, su kontrolde herhangi bir bant elde edilmemiştir (Şekil 2). Testlenen 278 domates yaprağı örneğinden 41'inin ToMV (%14.7), 21'nin PVY (%7.6) ile bulaşık oldukları tespit edilmiştir. Toplam 6 örnekte ise ToMV+PVY (%2.2) karışık enfeksiyonu tespit edilmiştir (Çizelge 2). Moleküler yöntemler ile testlenen örneklerde, ToMV'nin %53.8 bulaşıklık oranıyla en yüksek bulunduğu ilçe Çüngüş olurken, PVY'nin %18.8 bulaşıklık oranıyla en yüksek bulunduğu ilçe Bismil olmuştur. Sürvey çalışmalarının yürütüldüğü Yenişehir, Lice, Hazro ve Hani ilçelerinden alınan domates örneklerinde araştırılan virüslerin hiçbiri tespit edilmemiştir. Sur, Kayapınar, Eğil ve Dicle ilçelerinden alınan domates örneklerinde ToMV tespit edilirken, PVY tespit edilmemiştir. Bismil, Çermik, Çüngüş, Ergani, Kulp, Çınar ilçelerinde ise hem ToMV hem de PVY tespit edilmiştir.

PCR yöntemi ile testlenen domates örneklerinin hiçbirinde TYLCV enfeksiyonuna, RT-PCR yöntemi ile testlenen örneklerin hiçbirinde TSWV ve ToRSV enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Testlerde pozitif kaynak (Agdia) olarak kullanılan TYLCV, TSWV ve ToRSV'ye ait kontrol numuneleri de sırası ile 777 bp, 777 bp ve 182 bp büyüklüğünde DNA bandı oluştururken su kontrolde herhangi bir bant elde edilmemiştir.

### ToMV ve PVY izolatlarının moleküler karakterizasyonu

Diyarbakır ili domates bitkilerinde tespit edilen ToMV enfeksiyonlarından rastgele seçilen dört izolatın kısmi hareket protein ve kılıf protein genlerine ait nükleotid

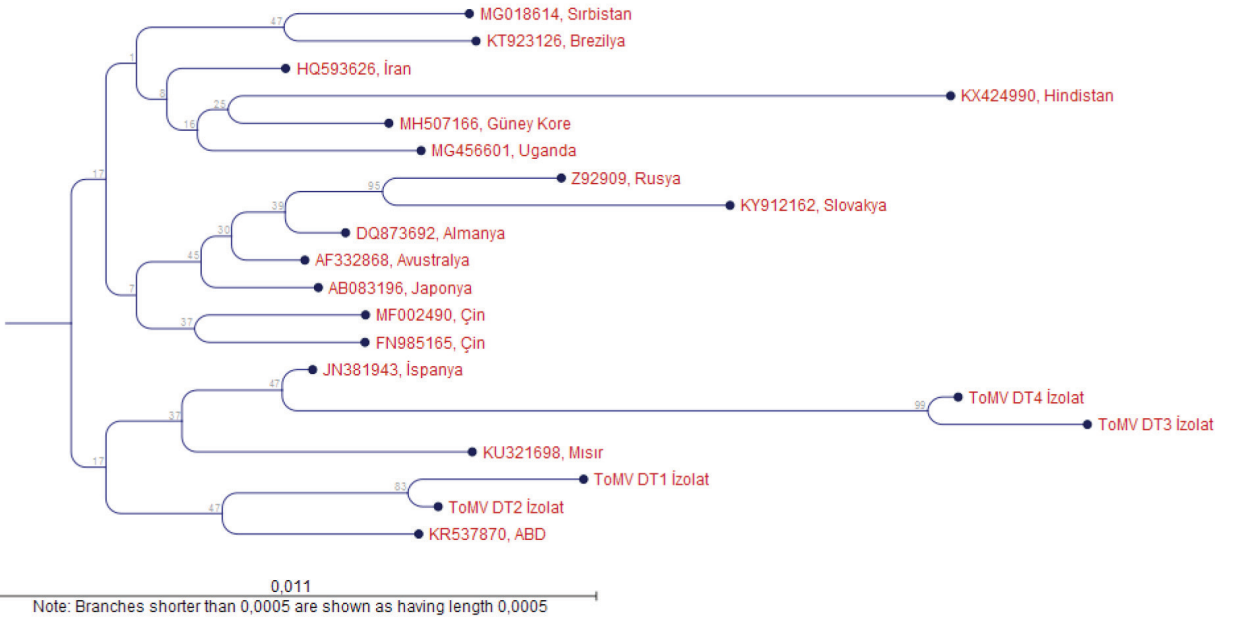


**Şekil 2.** Diyarbakır ilinden alınan domates örneklerinde *Tomato mosaic virus* ve *Potato virus Y*'nin varlığını tespit etmek için uygulanan multipleks RT-PCR testinin agaroz jel görüntüsü, M: Marker (100-1000 bp), P: Pozitif Kontrol, S: Su Kontrol, 1-15 no'lu test edilen örnekler



**Çizelge 2.** Diyarbakır ili ve ilçelerinde yürütülen sürveyler sonucu domates örneklerinde tespit edilen virüsler, enfekteli bitki sayısı (EBS), toplam bitki sayısı (TBS) ve toplanan örneklerde enfeksiyon oranları (EO)

Sürvey Alanları	Virüsler <sup>1,2</sup>					
	ToMV		PVY		ToMV+PVY	
	EBS/TBS	EO (%)	EBS/TBS	EO (%)	EBS/TBS	EO (%)
Kayapınar	1/11	9	0/11	0.0	0/11	0.0
Yenişehir	0/15	0.0	0/15	0.0	0/15	0.0
Hazro	0/5	0.0	0/5	0.0	0/5	0.0
Ergani	20/91	22.0	12/91	13.2	2/91	2.2
Çüngüş	7/13	53.8	2/13	15.4	2/13	15.4
Çınar	1/17	5.9	1/17	5.9	0/17	0.0
Kulp	1/23	4.3	1/23	4.3	0/23	0.0
Lice	0/25	0.0	0/25	0.0	0/25	0.0
Bismil	2/16	12.5	3/16	18.8	2/16	12.5
Çermik	5/21	23.8	2/21	9.5	0/21	0.0
Eğil	1/10	10	0/10	0.0	0/10	0.0
Dicle	2/21	9.5	0/21	0.0	0/21	0.0
Hani	0/1	0.0	0/1	0.0	0/1	0.0
Sur	1/9	11.1	0/9	0.0	0/9	0.0
<b>Toplam</b>	<b>41/278</b>	<b>14.7</b>	<b>21/278</b>	<b>7.6</b>	<b>6/278</b>	<b>2.2</b>

<sup>1</sup>ToMV: Tomato mosaic virus, PVY: Potato virus Y<sup>2</sup>Tomato spotted wilt virus (TSWV), Tomato ringspot virus (ToRSV) ve Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) ile enfekteli bitki bulunamadığı için çizelgeye dahil edilmemiştir**Şekil 3.** ToMV (DT1, DT2, DT3, DT4) izolatlarının dünyada tespit edilmiş diğer ToMV izolatları ile CLC Main Workbench 20.0.3 programı ile oluşturulan soy ağacı 1000 tekerrürlü olarak oluşturulmuştur

dizileri tespit edilmiş ve bu izolatlar DT1, DT2, DT3, DT4 şeklinde isimlendirilmiştir. İzolatlara ait nükleotid dizileri NCBI gen bankasına MK992250, MK992251, MK992252 ve MK992253 erişim numaraları ile kaydedilmiştir. Oluşturulan soy ağacında izolatlar arasındaki nükleotid benzerlikleri ve farklılıkları dallanmalara neden olmuştur. ToMV izolatlarının nükleotid dizisi bugüne kadar gen bankasında yayımlanmış diğer ToMV izolatları ile karşılaştırıldığında %99.2-99.8 arasında benzerlikler

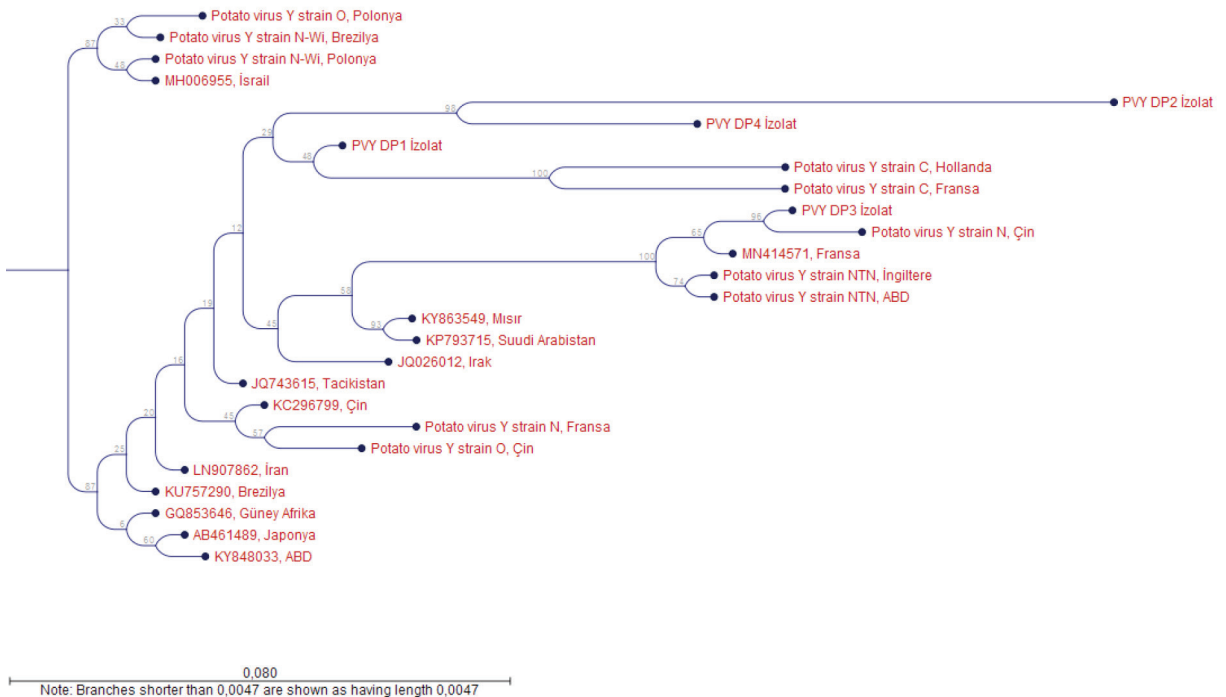
gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 3). DT1 ve DT2 izolatları %99.8 benzerlik oranı ile KR537870 erişim numaralı ABD izolatı ile gruplanmıştır. DT3 ve DT4 izolatları ise %99.2 benzerlik oranı ile JN381943.1 erişim numaralı İspanya izolatı ile gruplanmıştır. Nükleotid karşılaştırmasında kullanılan izolatlar Çizelge 3'de verilmiştir. DT1 ve DT2 izolatlarının 1'er nükleotidinde değişim olduğu gözlenirken, DT3 ve DT4 izolatlarında ise 5'er nükleotidde değişim gözlenmiştir.

**Çizelge 3.** Diyarbakır ilinde tespit edilen *Tomato mosaic virus* ve *Potato virus Y* izolatlarının nükleotid dizilerinin karşılaştırılmasında ve soy ağacının oluşturulmasında kullanılan NCBI gen bankasına kayıtlı izolatlara ait erişim numarası, ülke, genom yapısı ve gen uzunluğu bilgileri

Sayı	Erişim Numarası	Ülke	ToMV Gen Bölgesi	Sayı	Erişim Numarası	Ülke	PVY Gen Bölgesi
1	AF332868	Avustralya	Tüm genom	4	MH006955	İsrail	Tüm genom
2	KR537870	ABD	Tüm genom	5	FJ204164	ABD	Tüm genom
3	DQ873692	Almanya	Tüm genom	6	AJ890349	Polonya	Tüm genom
4	MG456601	Uganda	Tüm genom	7	KY848033	ABD	Tüm genom
5	AB083196	Japonya	Tüm genom	8	KY863549	Mısır	Tüm genom
6	FN985165	Çin	Tüm genom	9	KP793715	Suudi Arabistan	Tüm genom
7	Z92909	Rusya	Tüm genom	10	EU563512	Hollanda	Tüm genom
8	KY912162	Slovakya	Tüm genom	11	HM590407	Çin	Tüm genom
9	MH507166	Güney Kore	Tüm genom	12	AJ890348	Fransa	Tüm genom
10	MF002490	Çin	Tüm genom	13	JQ924288	Brezilya	Tüm genom
11	KU321698	Mısır	Tüm genom	14	KX356070	Polonya	Tüm genom
12	KT923126	Brezilya	Kılıf Protein	15	AB461489	Japonya	Polyprotein ve Kılıf Protein
13	KX424990	Hindistan	Kılıf Protein	16	JQ026012	Irak	Kısmi Polyprotein ve Kılıf Protein
14	HQ593626	İran	Kılıf Protein	17	KU757290	Brezilya	Kısmi Kılıf Protein
15	MG018614	Sırbistan	Kılıf Protein	18	GQ853646	Güney Afrika	Kısmi Kılıf Protein
16	JN381943	İspanya	Kılıf Protein	19	KC296799	Çin	Kısmi Kılıf Protein
Sayı	Erişim Numarası	Ülke	PVY Gen Bölgesi	20	LN907862	İran	Kısmi Kılıf Protein
1	EU182576	Çin	Tüm genom	21	JQ743615	Tacikistan	Kısmi Kılıf Protein
2	X12456	Fransa	Tüm genom	22	MN414571	Fransa	Kısmi Kılıf Protein
3	KC634005	İngiltere	Tüm genom				

Diyarbakır ili domates bitkilerinde tespit edilen PVY enfeksiyonlarından rastgele seçilen dört izolatın kısmi kılıf protein genlerine ait nükleotid dizileri tespit edilmiş ve bu izolatlar DP1, DP2, DP3, DP4 şeklinde isimlendirilmiştir.

İzolatlara ait nükleotid dizileri NCBI gen bankasına MK945664, MK945665, MK945666 ve MK945667 erişim numaraları ile kaydedilmiştir. PVY izolatlarının kısmi kılıf protein genine ait nükleotid dizisi bugüne



**Şekil 4.** PVY (DP1, DP2, DP3, DP4) izolatlarının dünyada tespit edilmiş diğer PVY izolatları ile CLC Main Workbench 20.0.3 programı ile oluşturulan soy ağacı 1000 tekerrürlü olarak oluşturulmuştur

kadar gen bankasında yayımlanmış diğer PVY izolatları ile karşılaştırıldığında %88-99.8 arasında benzerlikler gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4). DP1 izolatı %98.8 benzerlik oranı ile KY848033 erişim numaralı ABD izolatı ile gruplanmıştır. DP2 izolatı ise %88 benzerlik oranı ile KY863549 erişim numaralı Mısır izolatı ile gruplanmıştır. DP3 izolatı %99.8 benzerlik oranı ile MN414571 erişim numaralı Fransa izolatı ile DP4 izolatı ise %94.5 benzerlik oranı ile KU757290 erişim numaralı Brezilya izolatı ile gruplanmıştır. Nükleotid karşılaştırmasında kullanılan izolatlar Çizelge 3'de verilmiştir. DP1 izolatına ait kısmi kılıf protein geni üzerindeki 2 nükleotidde değişim olduğu gözlenmiştir. DP2 izolatında ise 14 nükleotidin eklendiği, 34 nükleotidde değişim olduğu gözlenmiştir. DP3 izolatında 26 nükleotidde değişim olduğu gözlenmiştir. DP4 izolatında ise 7 nükleotidin eklendiği, 1 nükleotidin silindiği ve 16 nükleotidde değişim olduğu gözlenmiştir.

#### TARTIŞMA VE KANI

Diyarbakır ili domates alanlarındaki önemli virüs hastalık etmenlerinin belirlenmesini ve moleküler özelliklerinin saptanmasını hedefleyen bu çalışma ile TYLCV, PVY, ToMV, TSWV ve ToRSV etmenleri Diyarbakır iline bağlı 17 ilçenin 14'ünde 2018 yılında yürütülen sürey çalışmaları ile araştırılmış, bu amaçla toplanan 278 yaprak örneği moleküler testlere tabi tutulmuştur.

Yürütülen moleküler testler domates örneklerinin %20'sinin en az bir virüs etmeni ile enfekteli olduğunu göstermiştir. Testlenen örneklerin %14.7'sinin ToMV, %7.6'sının ise PVY ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin %2.2'sinde ise her iki virüsün karışık enfeksiyonu tespit edilmiştir. Yılmaz et al. (1995) Diyarbakır ve Şanlıurfa illerinde sürey çalışmaları sonucu topladıkları örnekleri, ELISA yöntemi ile testlemiş ve sonuçta ToMV ve PVY varlığına rastlamamışlardır. Değirmenci (2005) Aydın ilinde ToMV tespit ederken, Geyik (2017) Bursa ve Yalova illerinde gerçekleştirdiği sürey çalışmasında ToMV'yi tespit etmiştir. Sertkaya ve Yılmaz (2017) Hatay ili domates ekiliş alanlarında

yürüttükleri sürey çalışmasında PVY enfeksiyonu tespit ederken ToMV'nin varlığına rastlamamışlardır.

Diyarbakır ili domates ekiliş alanlarında TYLCV, TSWV ve ToRSV enfeksiyonları tespit edilmemiştir. TYLCV'nin Diyarbakır ilindeki varlığı ile ilgili daha önce yürütülen bir çalışmada ELISA yöntemi ile virüsün belirlendiği rapor edilmiştir (Yılmaz et al. 1995). Aynı çalışmada virüsün Mardin ilinde bulunmadığı bildirilmiştir. TYCLV ülkemizde yürütülen sürey çalışmalarında Hatay (Sertkaya ve Sertkaya 2004), Mersin, Muğla (Köklü 2006) ve Antalya (Gul-Seker et al. 2015) illerinde de rapor edilmiştir. TSWV'nin ülkemizdeki varlığı ile ilgili daha önce yürütülmüş çalışmalarda İzmir, Manisa, Samsun, Balıkesir ve Uşak illerinde (Azeri 1981, Azeri 1994, Sevik and Arli-Sokmen 2016) bulunduğu, Akdeniz Bölgesinde ise oldukça yaygın olduğu bildirilmiştir (Guldur et al. 1995). TSWV'nin ülkemizdeki domates ekiliş alanlarındaki varlığı Şanlıurfa (Guldur 1997), Çanakkale (Turhan ve Korkmaz 2006), Hatay (Sertkaya ve Yılmaz 2017) ve Isparta ve Burdur (Çulal Kılıç et al. 2017) illerinde bildirilmiştir. ToRSV ise ülkemizde ilk olarak İzmir ve Muğla'da tespit edilmiştir (Fidan 1995). Yeşilçöllü et al. (2011) ToRSV'yi Ege Bölgesi'ndeki çilek alanlarında yürüttükleri sürey çalışmasında tespit etmişlerdir.

Diyarbakır ili ve ilçelerindeki domates ekiliş alanlarında ToMV'nin %53.8 bulaşıklık oranı ile en yüksek Çüngüş ilçesinde olduğu tespit edilirken, PVY %18.8'lik bulaşıklık oranıyla en yüksek Bismil ilçesinde belirlenmiştir. Lice, Hazro, Hani ilçelerinden alınan domates örneklerinde ise araştırılan virüsler tespit edilmemiştir. Sur, Kayapınar, Eğil ve Dicle ilçelerinden alınan örneklerde ise sadece ToMV saptanmıştır.

Diyarbakır ilinde tespit edilen ToMV'nin DT1, DT2, DT3 ve DT4 izolatlarının dünyadaki diğer izolatlar ile nükleik asit düzeyinde %99.2-99.8 arasında benzerlik gösterdiği; PVY'ye ait DP1, DP2, DP3 ve DP4 izolatlarının ise dünyadaki diğer izolatlar ile %88-99.8 arasında bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4). Pozhylov et al. (2019) Ukrayna'da domates alanlarında tespit ettikleri iki ToMV

**Çizelge 4.** Diyarbakır ilinde tespit edilen *Tomato mosaic virus* ve *Potato virus Y* izolatlarına ait bilgiler

Sıra no	Virüs ismi	İzolat ismi	Tespit edildiği lokasyon	Fragment uzunluğu (bp)	Dünya izolatları ile benzerlik oranı (%)	Gen Bankası erişim no
1	ToMV	DT1	Ergani	589	99.82-96.50	MK992250
2	ToMV	DT2	Çermik	582	99.85-96.61	MK992251
3	ToMV	DT3	Çüngüş	584	99.17-94.58	MK992252
4	ToMV	DT4	Ergani	582	99.17-94.71	MK992253
5	PVY	DP1	Ergani	431	98.83-98.38	MK945664
6	PVY	DP2	Çüngüş	491	88.07-87.63	MK945665
7	PVY	DP3	Ergani	457	98.73-98.22	MK945666
8	PVY	DP4	Bismil	477	94.64-94.09	MK945667

izolatı ile dünyadaki diğer ToMV izolatları arasındaki sekans benzerliklerinin %96.7-96.1 oranında olduklarını belirtmişlerdir. Muñoz-Baena et al. (2016) Kolombiyadaki domates alanlarında tespit ettiği PVY izolatlarının dünyadaki diğer izolatlar arasındaki benzerlik yüzdesinin %97.5 olduğunu bildirmişlerdir.

Dünyada ve ülkemizde domates üretim alanlarında verim ve kalite kayıplarına neden olan virüs hastalıkları ile mücadelenin zamanında ve uygun biçimde yürütülmesi gerekmektedir. ToMV'nin domateste verimi %20'ye kadar düşürdüğü bildirilmiştir (Broadbent 1976). ToMV'nin enfekte olmuş domateslerin yapraklarında açık ve koyu yeşil beneklenme, genç yaprak ve meyvede deformasyon, bitkilerde ciddi bodurlaşma ve verimde azalmalara yol açtığı bildirilmiştir. ToMV'nin yaygın olması, kültürel işlemlerle kolayca yayılıyor olması, tohumla taşınıyor olması ve toprağa bulaşabilir olmasından kaynaklanmaktadır. Virüs tohumla taşındığı için temiz tohum kullanılması ve toprağa bulaşabilme özelliğinden dolayı virüsün bulunduğu alanda konukçusu olmayan kültür bitkilerine yönelmek gerekmektedir. ToMV'yi çekirge deneysel olarak taşınmasına rağmen bilinen doğal bir vektörü yoktur (Broadbent 1965a, 1965b, Broadbent and Fletcher 1966). Domates mozaik virüsü nadiren de olsa küsküt türleri ile taşınabilmektedir (Schmelzer 1956). Bu virüsü taşıyan vektörlerin belirlenmesi ve bunun kapsamlı bir çalışma ile ortaya konulması hastalık ile mücadelede önem arz etmektedir. PVY'nin tohumla taşınmadığı dikkate alındığında virüsün yoğun biçimde taşınmasında en büyük faktör yaprak bitleridir (Ferreles and Moreno 2009). Bu nedenle hastalık etmeni ile mücadelede yaprak bitleri ile mücadele büyük öneme sahiptir. Vektör ve virüsün konukçusu olabilecek yabancı otlar ile mücadelenin yapılması ve dayanıklı çeşitlerin tercih edilmesi PVY'den kaynaklı verim ve kalite kayıplarını azaltacaktır. Moleküler yöntemler kullanılarak Diyarbakır ili domates ekiliş alanlarında yürütülen bu çalışma ile ToMV ve PVY'nin varlığı ilk defa rapor edilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma verilerinin tamamı Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'na sorumlu yazar tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur. Bu çalışmayı destekleyen Diyarbakır Ziraat Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne ve Malatya Turgut Özal Üniversitesi BAP Birimine (Proje No: BAP-YL4) teşekkür ederiz.

## ÖZET

Diyarbakır ili domates üretim alanlarında Domates sarı yaprak kıvrıcılık virüsü (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV), Patates Y virüsü (Potato virus Y, PVY), Domates mozaik virüsü (*Tomato mosaic virus*, ToMV), Domates

lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) ve Domates halkalı leke virüsü (Tomato ringspot virus, ToRSV)'nün varlığının moleküler yöntemler ile ortaya konulması amacıyla 2018 yılında survey çalışmaları yürütülmüştür. TYLCV'nin varlığını araştırmak için PCR yöntemi, PVY ve ToMV'nin varlığını araştırmak için multipleks RT-PCR yöntemi, TSWV ve ToRSV'nin varlığını araştırmak için ise RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Domates üretim alanlarında virüs belirtisi gösteren ve göstermeyen toplam 278 adet bitkiden rastgele yaprak örnekleri toplanmıştır. Moleküler yöntemler ile testlenen örneklerin 56 (%20.1)'sının en az bir virüs türü ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Testlenen örneklerin 41'inin (%14.7) ToMV, 21'nin (%7.6) PVY ve 6'sının (%2.2) ise ToMV+PVY ile karışık enfekteli olduğu saptanmıştır. Çalışma kapsamında yürütülen moleküler testler sonucunda, domates örneklerinde TYLCV, TSWV ve ToRSV enfeksiyonları saptanmamıştır. Tespit edilen PVY ve ToMV izolatlarından rastgele 4'er adet seçilerek PVY izolatlarının kısmi kılıf protein genleri, ToMV izolatlarının kısmi hareket protein ve kılıf protein genleri karakterize edilerek, Gen Bankasına kayıtları yapılmıştır. ToMV izolatları dünyadaki diğer izolatlar ile nükleotid düzeyinde %99-100 arasında benzerlik gösterirken, PVY izolatları %88-99 arasında değişen oranda benzerlik göstermiştir. Yürütülen bu çalışma ile ToMV ve PVY Diyarbakır ili domates üretim alanlarında ilk defa rapor edilmiştir.

Anahtar kelimeler: domates, virüs, multipleks-RT-PCR, ToMV, PVY, hareket protein geni, kılıf protein geni

## KAYNAKLAR

- Alavi S., Massumi H., 2014. Distribution, biological properties and genetic diversity of *Iranian tomato mosaic virus* isolates. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 50 (1), 37-52.
- Azeri T., 1981. Preliminary report of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) and its epidemy on tobacco in the Canakkale region of Turkey. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 10, 2-3.
- Azeri T., 1994. Detection of *Tomato spotted wilt virus* in tobacco and tomato cultivars by enzyme linked immunosorbent assay. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 23 (1), 37-46.
- Bora T., Karaca G., 1970. Bitki hastalıkları surveyi, kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, 43 s.
- Broadbent L., 1965. The epidemiology of tomato mosaic: XI. seed-transmission of TMV. *Annals of Applied Biology*, 56 (2), 177-205.



- Broadbent L., Read W.H., Last F.T., 1965. The epidemiology of tomato mosaic X. persistence of TMV infected debris in soil, and the effects of soil partial sterilization. *Annals of Applied Biology*, 55 (3), 471-483.
- Broadbent L., Fletcher J.T., 1966. The epidemiology of tomato mosaic: sources of TMV in commercial tomato crops under glass. *Annals of Applied Biology*, 57 (1), 113-120.
- Broadbent L., 1976. Epidemiology and control of tomato mosaic virus. *Annual Review of Phytopathology*, 14 (1), 75-96.
- Choi S.K., Cho I.S., Choi G.S., Yoon J.Y., 2014. First report of Tomato spotted wilt virus in *Brugmansia suaveolens* in Korea. *Plant Disease*, 98 (9), 1283-1283.
- Çulal Kılıç H., Isparta L., Yardımcı N., Doğan K., 2017. Diagnosis of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in tomatoes grown areas in Isparta and Burdur provinces, Turkey. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 8 (1), 34-39.
- Değirmenci N.F., Açıkgöz S., 2005. Aydın ilinde yaygın olarak kullanılan sertifikalı domates tohumlarındaki bazı viral etmenlerin saptanmasında biyolojik ve serolojik yöntemlerin kullanılması. Türkiye II. Tohumculuk Kongresi, 9-11 Kasım 2005, Adana, 379-380.
- Dias H.F., Cation D., 1976. The characterization of a virus responsible for peach rosette mosaic and grape decline in Michigan. *Canadian Journal of Botany*, 54 (11), 1228-1239.
- Erkan E., 2008. Samsun ili buğday üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan virüslerin saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 102 s, Samsun.
- FAO, 2018. [www.fao.org](http://www.fao.org) (erişim tarihi: 24.11.2018).
- Fereres A., Moreno A., 2009. Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Research*, 141 (2), 158-168.
- Fidan Ü., 1995. Virus diseases of vegetables in greenhouses in İzmir and Muğla. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 24 (1), 7-14.
- Geyik S., 2017. Marmara bölgesindeki domates üretim alanlarında virüs hastalıklarının saptanması üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, 52 s, Tekirdağ.
- Guldur M.E., Marchoux G., Yılmaz M.A., 1995. A new virus destructive on tomatoes growing in Mersin and its provinces: *Tomato spotted wilt virus* (TSWV). VII. Congress of Phytopathology in Turkey, Cukurova University, Faculty of Agriculture, 26-29 September 1995, Adana, 303-305.
- Gul-Seker M., Ekinci H., Ozturk C., Elibuyuk I.O., 2015. Current situation of *Tomato yellow leaf curl* disease (TYLCD) in Antalya, Turkey. *Plant Protection Science*, 51 (4), 208-213.
- Güldür M.E., 1997. Şanlıurfa ili için yeni bir virüs: Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*). Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 1 (3), 71-76.
- Hämäläinen J.H., Watanabe K.N., Valkonen J.P.T., Arihara A., Plaisted R.L., Pehu E., Slack S.A., 1997. Mapping and marker-assisted selection for a gene for extreme resistance to *Potato virus Y*. *Theoretical and Applied Genetics*, 94 (2), 192-197.
- Kim S.H., Oh S., Oh T.K., Park J.S., Kim S.C., Kim S.H., Lee H.G., 2011. Genetic diversity of tomato-infecting *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) isolates in Korea. *Virus genes*, 42 (1), 117-127.
- Köklü G., Rojas A., Kvarnheden A., 2006. Molecular identification and the complete nucleotide sequence of a *Tomato yellow leaf curl virus* isolate from Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 52 (1), 61-66.
- Lapidot M., Friedmann M., Pilowsky M., Ben-Joseph R., Cohen S., 2001. Effect of host plant resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) on virus acquisition and transmission by its whitefly vector. *Phytopathology*, 91 (12), 1209-1213.
- Muñoz-Baena L., Gutiérrez-Sánchez P.A., Marín-Montoya M., 2016. Detection and genome sequencing of *Potato virus Y* (PVY) infecting tomato in Antioquia, Colombia. *Bioagro*, 28 (2), 69-80.
- Pozhylov I., Rudnieva T., Shevchenko T., Shevchenko O., Tsvigun V., 2019. Phylogenetic analysis of coat protein gene of *Tomato mosaic virus* isolates circulating in Ukraine. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv-Biology*, 77 (1), 44-50.
- Roselló S., Díez M.J., Nuez F., 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop: The tomato spotted wilt virus a review. *Scientia Horticulturae*. 67 (3-4), 117-150.
- Schmelzer K., 1956. Contributions to the knowledge of virus inhibitors in *Cuscuta* species. *Zygopichia Nitrophila Serrano*, 2 (109), 20-22.
- Sertkaya G., Sertkaya E., 2004. Incidence and insect transmission of *Tomato yellow leaf curl* virus in Hatay province of Turkey. I International Symposium on Tomato Diseases, 20-24 June, Florida, USA, 423-428.
- Sertkaya G., Yılmaz M., 2017. Hatay ili örtüaltı organik domates yetiştiriciliğinde bazı begomovirüslerin enfeksiyon oranları ile doğal taşınması ve diğer konukçularının araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (1), 1-15.

Sevik M.A., Arli-Sokmen M., 2016. Current status of tospoviruses infecting vegetables in Samsun, Turkey. Fresenius Environmental Bulletin, 25 (12), 5739-5743.

Singh M., Singh R.P., 1997. *Potato virus Y* detection: sensitivity of RT-PCR depends on the size of fragment amplified. Canadian Journal of Plant Pathology, 19 (2), 149-155.

Şevik M.A., 2007. Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'nin Samsun ilinde domates üretim alanlarındaki yayılış durumunun ve bazı karakteristik özelliklerinin belirlenmesi. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 117 s. Samsun.

Tang J., Khan S., Delmiglio C., Ward L.I., 2014. Sensitive detection of *Tomato ringspot virus* by real-time TaqMan RT-PCR targeting the highly conserved 3'-UTR region. Journal of Virological Methods, 201, 38-43.

Turhan P., Korkmaz S., 2006. Çanakkale ilinde Domates lekeli solgunluk virüsünün serolojik ve biyolojik yöntemlerle saptanması. Tarım Bilimleri Dergisi, 12 (2), 130-136.

TÜİK, 2018. Türkiye bitkisel üretim istatistikleri <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (erişim tarihi: 30/01/2018).

Yeşilçöllü S., Gümüş M., Paylan İ.C., 2011. Ege bölgesi çilek üretim alanlarındaki viral etmenlerin tanınması üzerinde çalışmalar. The Journal of Turkish Phytopathology, 40 (1-2-3), 13-20.

Yılmaz M.A., Baloğlu S., Özasan M., Güldür M.E., 1995. GAP bölgesinde kültür bitkilerinde belirlenen virüsler. GAP Bölgesi Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri Sempozyumu, 27-29 Nisan, Şanlıurfa, 241-250.

Wani S.H., Sanghera G.S., Singh N.B., 2010. Biotechnology and plant disease control-role of RNA interference. American Journal of Plant Sciences. 1 (02), 55-68.

Cite this article: Yılmaz, F, Sipahioğlu, M. (2020). Detection of some important viruses in tomato production areas of Diyarbakır province by molecular methods and their molecular characterization. Plant Protection Bulletin, 60-4. DOI: 10.16955/bitkorb.682860

Atıf için: Yılmaz, F, Sipahioğlu, M. (2020). Diyarbakır ili domates üretim alanlarındaki bazı önemli virüslerin moleküler yöntemler ile teşhisi ve moleküler karakterizasyonu. Bitki Koruma Bülteni, 60-4. DOI: 10.16955/bitkorb.682860