



Araştırma Makalesi

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivenae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

Nida YALÇIN^{1*}, Nüket ÖNELGE¹

ÖZ

Bu çalışmada, turunçgil yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara yol açan önemli iki viral patojen olan *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivenae* (CYVCV)'nin, nitroselüloz ve kaba filtre kağıtları üzerindeki canlılık ve tespit edilebilirlik süreleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Çalışmada virüsler, üç farklı yöntemle (CTAB protokolü ile ekstrakte edilmiş total nükleik asit/TNA, enfekteli bitki dokusunun direkt baskısı ve bitki öz suyunun damlatılması) membranlara aktarılmıştır. Beş hafta boyunca 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerde RT-PCR/PCR ile yapılan analizlerde, CCDaV'nin TNA formunda her iki kağıt türünde de 35 gün boyunca stabil kaldığı tespit edilmiştir. CYVCV ise yalnızca TNA formunda benzer dayanıklılık göstermiş, diğer yöntemlerde özellikle kaba filtre kağıdında tespit süresi kısalmış veya hiç sonuç alınamamıştır. Mekanik inokulasyon testlerinde, CCDaV 21. güne kadar enfektivitesini korurken CYVCV hiçbir örnekte enfeksiyon oluşturamamıştır. Sonuçlar, özellikle nitroselüloz filtre kağıtlarının her iki virüsün de nükleik asit düzeyinde uzun süre saklanması için güvenilir bir ortam sağladığını göstermektedir. Bu bulgular filtre kağıtlarının, uzak mesafelere viral materyal gönderimi ve moleküler tanı laboratuvarları için sürekli kontrol materyali temininde pratik, ekonomik ve etkili bir araç olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: CCDaV, CYVCV, PCR, Nitroselüloz filtre kağıdı, Kaba filtre kağıdı

Investigation of the Persistence Periods of *Citlodavirus citri* (CCDaV) and *Potexvirus citriflavivenae* (CYVCV) Agents Present in Citrus Plants on Nitrocellulose and Coarse Filter Papers

ABSTRACT

This study comparatively investigated the stability and detection periods of two significant viral pathogens in citrus cultivation, *Citlodavirus citri* (CCDaV) and *Potexvirus citriflavivenae* (CYVCV), on nitrocellulose and coarse filter papers. The viruses were transferred to the membranes using three different methods: total nucleic acid (TNA) extracted via the CTAB protocol, direct tissue imprinting from infected plant material, and application of crude plant sap. Analysis via RT-PCR/PCR at 7, 14, 21, 28, and 35 days post-application revealed that CCDaV remained stable for 35 days on both paper types when applied as TNA. CYVCV showed similar durability only in TNA form, while its detection period shortened or yielded no results with other methods, particularly on coarse filter paper. In mechanical inoculation tests, CCDaV retained its infectivity up to 21 days, whereas CYVCV failed to induce infection in any sample. The results demonstrate that nitrocellulose filter papers provide a reliable medium for long-term preservation of both viruses at the nucleic acid level. These findings suggest that filter papers can serve as a practical, cost-effective, and efficient tool for shipping viral material over long distances and supplying consistent control materials for molecular diagnostics laboratories.

Keywords: CCDaV, CYVCV, PCR, Nitrocellulose filter paper, Coarse filter paper

ORCID ID (Yazar sırasına göre)

0009-0005-0414-0654, 0000-0002-5018-0850

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 02.07.2025

Kabul Tarihi: 16.12.2025

¹Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana

*E-posta: nidayalcin@outlook.com.tr

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivenae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

Giriş

Turunçgiller (*Citrus* spp.); portakal (*C. sinensis*), mandarin (*C. reticulata*), limon (*C. limon*) ve greyfurt (*C. paradisi*) gibi türleri kapsayan, yaprağını dökmeyen ağaç formuna sahip, dünya genelinde yaygın olarak yetiştirilen önemli meyve türleridir (TEPGE, 2024). Ancak bu türlerde görülen viral hastalıklar, verimlilik ve kalite üzerinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu hastalıkların yayılımını önlemek ve tanı çalışmalarını kolaylaştırmak için virüslerin farklı ortamlarda ne kadar süreyle canlı ve kalıcı kalabildiklerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Çukurova Bölgesi'nde turunçgil üretimini tehdit eden başlıca viral etmenlerden *Citlodavirus citri* [Citrus chlorotic dwarf-associated virus (CCDaV)] ve *Potexvirus citriflavivenae* [Citrus yellow vein clearing virus (CYVCV)] farklı biyolojik özelliklere sahip olup, bulaşma yolları ve yayılım mekanizmaları açısından dikkat çekicidir. CCDaV; 3640 nükleotid uzunluğunda, tek sarmallı DNA yapısında bir virüs olup, *Geminiviridae* familyasına ve *Citlodavirus* cinsine aittir (Locansole ve ark., 2012a). Türkiye'de ilk olarak 1980 yılında Mersin'de tespit edilen (Çınar ve ark., 1993), son zamanlarda ise Çin (Guo ve ark., 2015) ve Tayland'da (Yang ve ark., 2020) bildirilen virüs; bitkisel aşı materyalleri, budama aletleri ve *Parabemisia myricae* (Defne beyazsineği) ile persistent/semi-persistent olarak taşınabilmektedir (Korkmaz ve ark., 1994; Kersting ve ark., 1996). Etmen, genç yapraklarda V şeklinde girinti, damar aralarında renk açılması, yaprak kıvrılması ve kloroz gibi belirgin semptomlara yol açmaktadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2017).

CYVCV ise 7529 nükleotid uzunluğunda, tek sarmallı pozitif polariteli RNA virüsü olup, *Alphaflexiviridae* familyasına ait, *Potexvirus* cinsine bağlı ve *Mandarivirus* alt cinsinde sınıflandırılmaktadır (Loconsole ve ark., 2012b). İlk olarak 1988 yılında Pakistan'da turunç ve

limon ağaçlarında tanımlanan virüs (Catara ve ark., 1993), daha sonra Hindistan (Ahlawat, 1997), Çin (Chen ve ark., 2016) ve Türkiye'de (Önelge, 2003) tespit edilmiştir. CYVCV; yaprak bitleri (*Aphis craccivora*, *Aphis spiraeicola*) ve budama aletleriyle yayılmakta ve yaprak deformasyonları, damar klorozu ve meyve kalitesinde düşüşe neden olmaktadır (Önelge ve ark., 2011; Afloukou ve Önelge, 2020).

Viral etmenlerin uzun süreli stabilitesini koruyarak moleküler yöntemlerle saptanabilirliğinin devamı, özellikle uzak mesafelere örneklerin taşınması ve kontrol materyali ihtiyacı açısından önemlidir. Bu bağlamda filtre kağıtları, virüslerin doku örnekleri üzerinden izole edilmesi ve korunmasında pratik bir materyal olarak kullanılmaktadır. Selüloz veya cam elyaf gibi maddelerden üretilen bu kağıtlar; gözenek boyutu, ıslaklık mukavemeti ve emilim kapasitesi gibi yapısal özellikleriyle patojenlerin saklanması önemli rol oynamaktadır (Blab Market, 2023; Interlab, 2023).

Filtre kağıdı üzerinde patojen saklama yöntemleri ilk olarak 1986 yılında *Fusarium oxysporum* izolatları üzerinde kullanılmıştır (Correll ve ark., 1986). Bitki virüsleri açısından filtre kağıdı veya FTA (Flinders Technology Associates) kartları kullanılarak yapılan çalışmalarda; Cymbidium mosaic virus (Tanaka ve ark., 1997), Pepino mosaic virus ve Grapevine rupestris stem pitting-associated virus (Roy ve ark., 2005), Plum pox virus (Ádám ve ark., 2015) gibi etmenlerin aylarca stabil kaldığı ve başarılı şekilde tespit edildiği gösterilmiştir. Bu çalışmalar filtre kağıdı ve benzeri materyallerin, bitki virüslerinin muhafazası ve taşınmasında etkili araçlar olduğunu ortaya koymuştur.

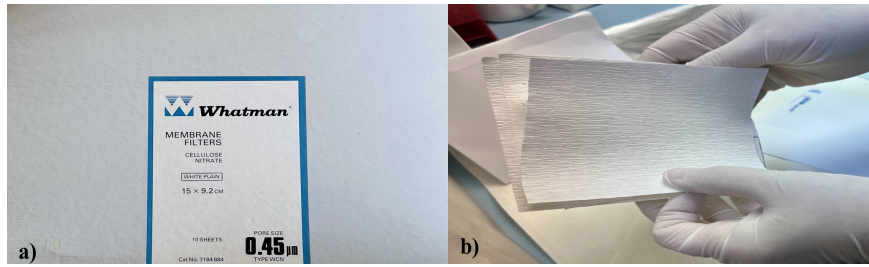
Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivirae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

Bu çalışmada, turunçgil yetiştiriciliğinde önemli zararlara yol açan CCDaV ve CYVCV'nin nitroselüloz ve kaba filtre kağıtları üzerindeki kalıcılık süreleri değerlendirilmiş ve bu materyallerin moleküler analizlerde kontrol materyali olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışma, Adana ili Çukurova Üniversitesi araştırma arazisinde turunçgil bahçelerinden toplanan, enfekteli olduğu manto protein analizi ile belirlenmiş ve sekansları elde edilmiş bitki izolatları ile gerçekleştirilmiştir. Kullanılan CCDaV ve CYVCV etmenleri, kaba filtre kağıtları ile Whatman Membrane Filters markaya ait 15 x 9.2 cm boyutunda ve 0.45 µm gözenek büyüklüğündeki nitroselüloz filtre kağıtlarına farklı aktarım yöntemleriyle bulaştırılmıştır. Çalışmada; CTAB protokolü uygulanarak TNA ekstraksiyonu ile oluşturulan izolatlar kullanılmıştır (Murray ve Thompson,

1980). Ayrıca bitki materyalinin kağıtlar üzerine direkt temas ettirilmesi ve bitki öz suyunun kağıtlar üzerine damlatılması şeklinde farklı uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Virüslerin varlığı çalışmanın 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerinde RT-PCR/PCR teknikleri ile analiz edilmiştir. Filtre kağıtları üzerinden elde edilen örneklerin pozitif çıkan izolatları; tohumdan yetiştirilen turunç (*C. aurantium*) bitkilerine, belirlenen periyodik zamanlarda gövde çizme (stem slash) yöntemi ile inokule edilmiş (Roistacher, 1995) ve filtre kağıtları üzerinde kalıcılığını sürdürdüğü tespit edilen izolatların, indikatör bitkilerinde replike olup olmadığı araştırılmıştır. Elde edilen örneklerin, nitroselüloz ve kaba filtre kağıdı olmak üzere iki farklı membran üzerinde ne kadar süre canlı kalabildiği ve bu membranlar üzerinden izole edilen viral etmenlerin kontrol materyali olarak kullanılabilirliği belirlenmeye çalışılmıştır.



Şekil 1. Çalışmada kullanılan nitroselüloz (a) ve kaba filtre kağıdı (b)

Örneklerin Toplaması

Turunçgil bahçelerinde simptom gösteren limon ağaçlarından yaprak ve sürgün örnekleri toplanmış ve örnekler laboratuvara getirilmiştir. Filtre kağıtlarına aktarılmadan önce CCDaV ve CYVCV etmenlerinin bitki dokularında varlığını belirlemek amacıyla RT-PCR/PCR işlemleri gerçekleştirilmiştir. Pozitif bulunan örnekler filtre kağıtlarına aktarılmıştır.

Biyolojik İndeksleme Çalışmalarında Kullanılan Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi

Turunçgil virüsleri laboratuvarından temin edilen turunç bitkilerinin tohumları; torf, perlit

ve temiz toprak karışımı ile hazırlanan saksılara, her bir saksıya 3-5 adet tohum gelecek şekilde ekilmiş ve yeterli miktarda sulamadan sonra iklim odasına yerleştirilerek çimlendirilmiştir. Bitkiler yaklaşık 20 cm boyuna geldiğinde daha güçlü gelişim göstermesi amacıyla şaşırtma işlemi uygulanmış ve daha büyük saksılara alınmıştır.

TNA Ekstraksiyonu Uygulamaları

CCDaV ve CYVCV etmenlerinin moleküler olarak tanımlanması için CTAB protokolü uygulanmış ve viral etmenler TNA

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivenae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

ekstraksiyonu ile elde edilmiştir (Murray ve Thompson, 1980).

Virüslerin Filtre Kağıtlarına Aktarımı

Enfekteli bitki özütleri, nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarının her birine pipet yardımı ile 75 µl olacak şekilde aktarılmıştır. Filtre kağıtlarına aktarım işlemi gerçekleştirilirken kağıtların altına alüminyum folyo konularak olası bir bulaşmanın önüne geçilmeye çalışılmıştır. Viral etmenlerin aktarıldığı kağıtlar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmış, kuruduktan sonra steril zarf içerisine yerleştirilerek RT-PCR/PCR aşamasına kadar oda sıcaklığında bırakılmıştır.

CTAB Protokolü Uygulanarak TNA Ekstraksiyonu ile Elde Edilen Örneklerin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtlarına Aktarılması

Tek bir viral etmen için; nitroselüloz filtre kağıtları yaklaşık 3x3 cm boyutlarında 12 adet, kaba filtre kağıtları yaklaşık 3x3 cm boyutlarında 12 adet olmak üzere toplam 24 adet kesilmiş ve steril ortamda eşit parçalara bölünmüştür. Her bir filtre kağıdına CTAB protokolü ile oluşturulan 75 µl TNA pipet ile aktarılmış ve bu aşamada toplam 1800 µl TNA kullanılmıştır. Nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarının yarısı belirlenen beş haftalık zaman içerisindeki 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerde yapılacak RT-PCR/PCR çalışmalarında, diğer yarısı ise indikatör bitkilerine uygulanacak mekanik inokulasyon yöntemi sırasında CCDaV ve CYVCV etmenleri için kullanılmıştır.

Virüsler ile Bulaşık Olduğu Bilinen Bitki Materyallerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtlarına Direkt Temas Ettirilmesi

Tek bir viral etmen için; nitroselüloz filtre kağıtları yaklaşık 3x3 cm boyutlarında 6 adet, kaba filtre kağıtları yaklaşık 3x3 cm boyutlarında 6 adet olmak üzere toplam 12 adet kesilmiş ve steril ortamda eşit parçalara

bölünmüştür. Viral etmenler ile bulaşık olduğu bilinen bitkilerin sürgün kısımları kesilmiş ve kesilen yer henüz nemini korurken direkt olarak filtre kağıtlarına temas ettirilmiştir. Her bir kağıdının üzerine kesilen sürgünlerin nemli kısmı yaklaşık 10 kez olacak şekilde bastırılarak bitki sıvısının kağıtlara aktarılması her iki virüs için de sağlanmıştır.

Virüsler ile Bulaşık Bitki Öz Suyunun Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtlarına Aktarılması

Tek bir viral etmen için; nitroselüloz filtre kağıtları yaklaşık 3x3 cm boyutlarında 6 adet, kaba filtre kağıtları yaklaşık 3x3 cm boyutlarında 6 adet olmak üzere toplam 12 adet kesilmiş ve steril ortamda eşit parçalara bölünmüştür. Viral etmenler ile bulaşık olduğu bilinen bitkilerin yaprak kısımları kesilmiş, kesilen yapraklar havanda dövücüler yardımı ile TE (Tris-EDTA) tampon çözeltisi kullanılarak ezilmiş ve sonuç olarak bitki öz suyu elde edilmiştir. Elde edilen bitki öz suyu, her bir filtre kağıdına 75 µl olacak şekilde damlatılmış ve toplam 900 µl TE tampon çözeltisi kullanılmıştır. Bu işlem CCDaV ve CYVCV için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.

Moleküler Analizler

CCDaV ve CYVCV etmenlerinin aktarıldığı nitroselüloz ve kaba filtre kağıtları; beş haftalık zaman içerisindeki 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerde RT-PCR/PCR işlemlerinde örnek olarak kullanılmıştır. Bu uygulamalar için kullanılacak her bir filtre kağıdı 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne konulmuş, her bir tüpe 150 µl TE tampon çözeltisi eklenerek filtre kağıtlarının üzerindeki viral etmenlerin çözelti ile karışması sağlanmış ve böylelikle RT-PCR/PCR çalışmalarında kullanılacak örnekler elde edilmiştir. CCDaV ve CYVCV etmenleri için PCR işlemi sırasında kullanılan primerler çizelge 1'de belirtilmiş ve RT-PCR/PCR

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivenae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

işlemleri araştırmacıların belirttiği koşullara göre yapılmıştır (Locansole ve ark., 2012a; Locansole ve ark., 2012b). Örneklerin

membranlardaki varlığı %1.5 agar jelde görüntülenerek belirlenmiştir (Önelge, 1997).

Çizelge 1. CCDaV ve CYVCV etmenleri için PCR aşamasında kullanılan primerler

Viral Etmen	Genom Sıralama	Primer	Genom Uzunluğu (bp-base pair)
CCDaV	3202fw 6rev	GTTCTGTGTTTCGACCCGTT GGGATTTCGCATGGATAGCTCATCCAA	444 Manto protein (MP)
CYVCV	7081fw 7560rev	ACCTCACGATGGACCACGTT CAGAAAATGGAACTGAAAGCCT	479 Manto protein (MP)

CCDaV ve CYVCV Etmenlerinin Turunç Bitkilerine Mekanik İnokulasyon ile Aktarılması

Filtre kağıtlarına 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerde aktarılmış ve CTAB protokolü uygulanarak TNA ekstraksiyonu ile oluşturulmuş örneklerin mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılması sağlanmıştır. Bu aşamada nitroselüloz ve kaba filtre kağıtları üzerine 150 µl TE tampon çözeltisi eklenerek vortex yardımı ile karıştırılmış ve elde edilen sıvı, tohumdan yetiştirilen indikatör turunç bitkilerine belirlenen periyodik zamanlarda gövde çizme (stem slash) yöntemi ile inokule edilmiştir (Roistacher, 1995).

Bulgular ve Tartışma

Araştırma sonuçlarında, CCDaV etmenine ait CTAB ile oluşturulan 75 µl'lik TNA örneklerinin nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarında 35 gün süresince PCR ile varlığı belirlenmiştir. Bitki materyalinin kağıtlar üzerine direkt temas ettirilmesi ile oluşturulan örneklerin her iki tip filtre kağıdında 21 gün süresince, bitki öz suyunun aktarılmasında ise örneklerin nitroselüloz filtre kağıdında 35 gün, kaba filtre kağıdında ise 21 gün süresince PCR ile varlığı tespit edilmiştir. CCDaV etmeninin mekanik inokulasyon ile turunç bitkilerini enfekte edip etmediğinin araştırılması sonucu her iki tip filtre kağıdının 7., 14. ve 21. güne ait örneklerinin bitkide enfeksiyon sağladığı ancak 28. ve 35. günlere ait örneklerinin bitkide

enfeksiyon sağlamadığı belirlenmiştir. Yapılan RT-PCR çalışmaları sonucu CYVCV etmenine ait CTAB ile oluşturulan 75 µl'lik TNA örneklerinin, nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarında 35 gün süresince pozitif sonuç verdiği ve membranlar üzerinde kalıcı olduğu belirlenmiştir. Bitki materyalinin kağıtlar üzerine direkt temas ettirilmesi ile oluşturulan örnekler, nitroselüloz filtre kağıdında 35 gün süresince pozitif sonuç vermiş ancak kaba filtre kağıdında 35 gün süresince negatif sonuç vererek kalıcı olmadığı belirlenmiştir. Bitki öz suyunun kağıtlara aktarılması ile oluşturulan örneklerin her iki tip filtre kağıdında 35 gün süresince negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Mekanik inokulasyon sonucu CYVCV etmeninin her iki tip filtre kağıdına ait örneklerin bitkide enfeksiyon sağlamadığı belirlenmiştir.

Ndunguru ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada; mısır, manyok, domates ve tütün bitkilerinde bazı DNA virüsleri olarak Doğu Afrika manyok mozaik virüsü (EACMV), Afrika manyok mozaik virüsü (ACMV), Mısır çizgi virüsü (MSV) ve Domates sarı yaprak kıvrıcıklığı virüsü (TYLCV) hastalıklarının tespiti için selüloz yapısındaki FTA kartları kullanılmıştır. Çalışmada bitkilerden elde edilen yaprak örnekleri FTA kartlara preslenmiş ve FTA kartlarından ayrıştırılan viral nükleik asitlerin PCR tabanlı teknikler ile tanısal moleküler analiz için uygun olduğu bildirilmiştir. Ayrıca FTA kartlarının kontrollü koşullar altında ve sahada çalışırken viral

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivirae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

patojenlerin ve bitki genomik dizilerinin örneklenmesi, saklanması ve alınması için pratik, ekonomik ve hassas bir yöntem olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada ise CCDaV etmeni, CTAB protokolü uygulanarak TNA ekstraksiyonu ile oluşturulan 75 µl'lik örnekler şeklinde hazırlanmış ve örneklerin nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarına aktarılması sonucu her iki membranda da 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerde kalıcılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir (Şekil 2.a). Çalışmada standart bir laboratuvar ortamında uygulanan ve CTAB protokolüne göre oluşturulmuş TNA örneklerinin avantaj sağladığı ve DNA virüsünün her iki filtre kağıdı üzerinde de kalıcı olabileceği ortaya konmuştur. Ayrıca çalışmada nitroselüloz filtre kağıdı yerine kaba filtre kağıdının da rahatlıkla kullanılabileceği görülmektedir.

Mahrous ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, turunçgillerde görülen *Spiroplasma citri*'nin izolasyonu ve tanımlanmasında dot blot hibridizasyon yönteminde nitroselüloz filtre kağıdı kullanıldığı ve etmenin başarıyla tespit edildiği bildirilmiştir. Chandrashekara ve ark. (2012) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, bitkilerde görülen Bakteriyel solgunluk hastalığının (*Ralstonia solanacearum*) moleküler karakterizasyonu için FTA kartlarının kullanıldığı bildirilmiş ve yapılan çalışma sonucu *R. solanacearum*'un hızlı ve güvenilir tanısı için FTA kart tekniğinin uygun bir yöntem olduğu belirtilmiştir. Smit ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada ise insanlarda görülen sıtma, cüzzam, verem vb. pek çok hastalığın tanımlanmasında Whatman filtre kağıtlarının, hastalıkların teşhisinde pek çok avantaj sağladığı belirtilmiştir. Ayrıca tanısız veya epidemiyolojik araştırmalar yapılırken uzak bölgelerde ve kaynakların yetersiz olduğu ortamlarda kan ve donmuş örnekleri muhafaza eden tesislerin çoğunlukla mevcut olmadığı, bu sebeple filtre kağıdı üzerinde örnek saklamanın yararlı ve ucuz bir yöntem olduğu ve örneklerin

posta yolu ile gönderilebileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarına CCDaV etmeni ile bulaşık bitki materyali direkt temas ettirilmiş ve viral etmenin her iki tip membranda da 7., 14. ve 21. günlerde kalıcılığını sürdürdüğü fakat 28. ve 35. günlerde kağıtlar üzerindeki varlığını yitirdiği belirlenmiştir (Şekil 2.b). Çalışmada nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarına CCDaV ile bulaşık bitki öz suyunun aktarıldığı örneklerde ise viral etmenin nitroselüloz filtre kağıdında 35 gün süresince, kaba filtre kağıdında ise 21 gün süresince kalıcılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. Genel olarak filtre kağıtlarının çeşitli fonksiyonel özelliklere sahip olması ve pek çok tip ve yapıda üretilmesi, farklı alanlardaki bilimsel çalışmalarda kullanılmasına olanak sağlamış ve yapılan bu çalışmada da farklı bulgular elde edilmesine sebep olmuştur. Bitki materyalinin direkt temas ettirildiği her iki tip filtre kağıdına ait örnekler için elde edilen bulgularda herhangi bir farklılık gözlenmezken, bitki öz suyunun aktarıldığı nitroselüloz membranda, etmenin daha uzun süre kaldığı ve 5 hafta boyunca belirlenen günlerde gerçekleştirilen PCR çalışmalarında pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir. (Çizelge 2). Bu durumda, virüsün kalıcılığında nitroselüloz filtre kağıdının daha başarılı olduğunu belirlenmiştir.

Tanaka ve ark. (1997) tarafından yapılan bir çalışmada Tayland'da bulunan 24 farklı cinse ait 442 orkide bitkisi, etmeni RNA olan Cymbidium mosaic virus (CymMV) ve Odontoglossum ringspot virus (ORSV) açısından hızlı immün filtre kağıdı metodu ile incelenmiş ve çalışmada Whatman GA/A modeli filtre kağıdı kullanıldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ise CYVCV etmeni, CTAB protokolü uygulanarak TNA ekstraksiyonu ile oluşturulan 75 µl'lik örnekler şeklinde hazırlanmıştır. Örneklerin filtre kağıtlarına aktarılması sonucunda viral etmenin, her iki tip filtre kağıdında da tüm deneme süresi boyunca kalıcılığını sürdürdüğü ve ardışık 5

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivirae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

hafta boyunca yapılan RT-PCR çalışmalarında jel üzerinde bant oluşumu göstererek pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir (Şekil 3.a).

Korkmaz (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, Turunçgil tristeza virüsüne (CTV) ait izolatların, doku blotlama tekniği kullanılarak saptandığı bildirilmiş ve çalışmada blotlanmış membranlar 4°C ve 25°C'de %65 bağıl nemde saklanmıştır. Analizler, ilk blotlar yapıldıktan 1, 2, 3 ve 4 hafta sonra gerçekleştirilmiş ve çalışmanın sonunda direk doku bastırmanın, virüsün tanısı için hızlı, duyarlı ve güvenilir bir yöntem olduğu ve yöntem için küçük miktardaki örneklerin yeterli olduğu belirtilmiştir. Ayrıca örnek bastırılan membranların 25°C'de en az 4

hafta süreyle bozulmadan saklanabildiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarına CYVCV ile bulaşık olduğu bilinen bitki materyali direkt temas ettirilmiş ve yapılan analiz sonucuna göre viral etmenin nitroselüloz filtre kağıdında 35 gün süresince kalıcılığını sürdürdüğü, kaba filtre kağıdında ise 35 gün süresince varlık göstermediği belirlenmiştir. (Çizelge 2). Viral etmenin 35 gün süresi içerisinde nitroselüloz filtre kağıdında var olup kaba filtre kağıdında var olmaması; virüsün nitroselüloz membranda daha kalıcı olduğunu, bu membranın kullanılması ile etmenin daha uzun süre saklanabileceğini ve yurt dışına örnek gönderiminde daha başarılı olacağını ortaya koymuştur.

Çizelge 2. Filtre kağıtlarına CCDaV ve CYVCV patojenlerinin aktarılması ile elde edilen RT-PCR/PCR sonuçları

Filtre Kağıtlarına Aktarılan Örnekler	Viral Etmen	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	35. Gün
Kaba filtre kağıdına aktarılan CTAB ile oluşturulmuş 75 µl'lik TNA	CCDaV	+	+	+	+	+
	CYVCV	+	+	+	+	+
Nitroselüloz filtre kağıdına aktarılan CTAB ile oluşturulmuş 75 µl'lik TNA	CCDaV	+	+	+	+	+
	CYVCV	+	+	+	+	+
Kaba filtre kağıdına bitki materyalinin direkt teması	CCDaV	+	+	+	-	-
	CYVCV	-	-	-	-	-
Nitroselüloz filtre kağıdına bitki materyalinin direkt teması	CCDaV	+	+	+	-	-
	CYVCV	+	+	+	+	+
Kaba filtre kağıdına bitki öz suyunun aktarılması	CCDaV	+	+	+	-	-
	CYVCV	-	-	-	-	-
Nitroselüloz filtre kağıdına bitki öz suyunun aktarılması	CCDaV	+	+	+	+	+
	CYVCV	-	-	-	-	-

(+ : pozitif, - : negatif)

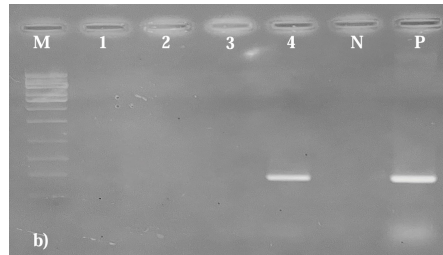
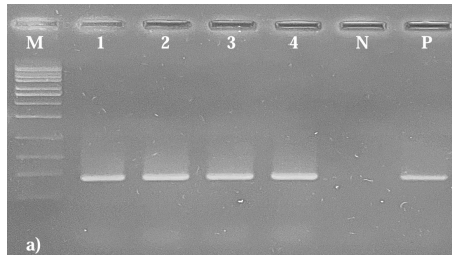
Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivirae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

Ádám ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, Bulgaristan ve Macaristan'da sert çekirdekli meyve ağaçlarında büyük kayıplara yol açan Erik şarka virüsünün (*Potyvirus plumipoxi*, PPV) tespiti ve saklama koşulları FTA kartları kullanılarak test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Erik şarka virüs etmeninin FTA kartları üzerinde 7 ay boyunca saklandığı, bu örneklerin incelenmesi sırasında herhangi bir RNA bozulması yaşanmadığı ancak güvenilir bir protokol oluşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada ise nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarına CYVCV ile bulaşık bitki öz suyu aktarılmış ve çalışmanın sonunda viral etmenin her iki tip membranda da 35 gün süresi içerisinde var olmadığı belirlenmiştir (Şekil 3.b).

Yapılan bu araştırmada kullanılan filtre kağıdı türleri, mevcut koşullar, viral etmenlerin konsantrasyonu ve virüslerin farklı yöntemler kullanılarak filtre kağıtlarına aktarılması gibi birbirinden farklı pek çok değişkenin mevcut olduğu görülmektedir. Değişkenlerin varlığı çalışmanın çok yönlü olmasına ve birbirinden farklı pek çok veri elde edilmesine olanak sağlamıştır.

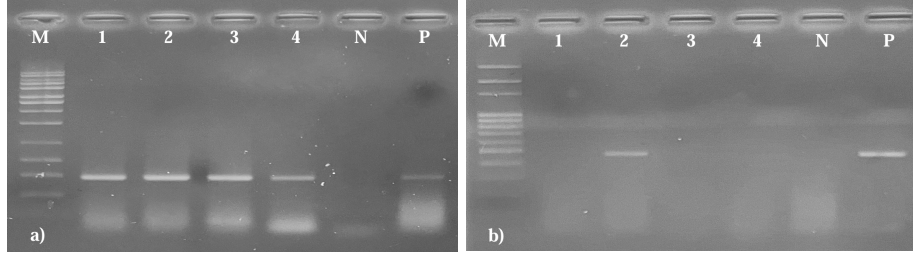
Viral etmenler bazen bitkilerde gözle görülebilecek makroskobik belirtiler göstermese de bitki içerisinde varlığını sürdürebilmekte ve replikasyonu sağlayabilmektedir. Bitkilerde hastalık belirtilerinin gözle görülmemesi böyle durumlarda yanıltıcı olabilir. Ancak hastalığın var olduğu konukçuların latent enfeksiyonları

üzerine yapılan bir araştırma, bazı bitkilerin herhangi bir belirgin semptom olmaksızın virüslerle enfekte olabileceğini ortaya koymuştur (Roossinck, 2005, 2010; Richert-Pöggeler ve Minarovits, 2014). Michaud ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, kullanılacak örnekleri hızlıca toplamak için filtre kağıdı kullanımını ve hastalık oluşturan virüslerin yüksek sıcaklık koşullarında uzun süre saklandığında moleküler tespitini ve genotiplenmesini açıklamak amacıyla bir araştırma yapılmıştır. Çalışmada biri DNA virüsü olan Afrika domuz vebası (ASFV) ve diğeri RNA virüsü olan Koyun-keçi vebası (PPRV) olmak üzere iki hayvan virüsü kullanılmış ve viral patojenler ile enfekteli kan örnekleri filtre kağıdına inokule edilmiştir. Ardından kağıtlar kurutulmuş ve farklı sıcaklıklarda ve çeşitli süreler boyunca saklanmıştır. Çalışmanın sonunda her iki virüsten gelen nükleik asidin 32°C sıcaklık koşullarında 3 ay sonra tespit edilebildiği bildirilmiş ayrıca DNA virüsünün varlığının 37°C'de muhafaza edildikten 9 ay sonra bile tespit edilebildiği ve filtre membranlar üzerinde RNA'ya göre daha uzun süre saklanabildiği belirtilmiştir. Bu çalışma ise CCDaV etmeninin 7., 14. ve 21. güne ait örneklerinin turunç bitkilerinde enfeksiyon sağladığını göstermektedir (Çizelge 3). RT-PCR çalışmalarından elde edilen bulgular ise CYVCV etmeninin kağıtlar üzerinden izolasyonu sağlanarak turunç bitkilerine aktarıldığında enfeksiyon sağlayamadığı ortaya koymaktadır (Çizelge 3).



Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivenae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

Şekil 2. CCDaV'nin çalışmanın belirli günlerine ait %1.5 agar jeldeki 444 nt baz seviyesi görüntüsü. M: 1000 bp markör, N: negatif kontrol, P: pozitif kontrol **a)** CCDaV'nin filtre kağıtları üzerinde 35. güne ait görüntüsü. Örnekler sırasıyla: 1-2) Kaba filtre kağıdına aktarılmış CTAB ile oluşturulan 75 µl TNA 3-4) Nitroselüloz filtre kağıdına aktarılmış CTAB ile oluşturulan 75 µl TNA. **b)** CCDaV'nin filtre kağıtları üzerinde 28. güne ait görüntüsü. Örnekler sırasıyla: 1) Kaba filtre kağıdına hastalık etmeni ile bulaşık olduğu bilinen bitki materyalinin direkt teması 2) Nitroselüloz filtre kağıdına hastalık etmeni ile bulaşık olduğu bilinen bitki materyalinin direkt teması 3) Kaba filtre kağıdına aktarılmış hastalık etmeni ile bulaşık bitki öz suyu 4) Nitroselüloz filtre kağıdına aktarılmış hastalık etmeni ile bulaşık bitki öz suyu



Şekil 3. CYVCV'nin çalışmanın belirli günlerine ait %1.5 agar jeldeki 479 nt baz seviyesi görüntüsü. M: 1000-100 bp markör, N: negatif kontrol, P: pozitif kontrol **a)** CYVCV'nin filtre kağıtları üzerinde 35. güne ait görüntüsü. Örnekler sırasıyla: 1-2) Kaba filtre kağıdına aktarılmış CTAB ile oluşturulan 75 µl TNA 3-4) Nitroselüloz filtre kağıdına aktarılmış CTAB ile oluşturulan 75 µl TNA. **b)** CYVCV'nin filtre kağıtları üzerinde 14. güne ait görüntüsü. Örnekler sırasıyla: 1) Kaba filtre kağıdına hastalık etmeni ile bulaşık olduğu bilinen bitki materyalinin direkt teması 2) Nitroselüloz filtre kağıdına hastalık etmeni ile bulaşık olduğu bilinen bitki materyalinin direkt teması 3) Kaba filtre kağıdına aktarılmış hastalık etmeni ile bulaşık bitki öz suyu 4) Nitroselüloz filtre kağıdına aktarılmış hastalık etmeni ile bulaşık bitki öz suyu

Çizelge 3. Mekanik inokulasyon ile indikatör bitkilerine aktarılan örneklerin RT-PCR/PCR analizleri sonucu elde edilen canlılık reaksiyonları

Mekanik İnokulasyonda Kullanılan Örnekler	7. Gün	14. Gün	21. Gün	28. Gün	35. Gün
Kaba filtre kağıdına aktarılmış CCDaV ile enfekteli 75 µl'lik TNA	+	+	+	-	-
Nitroselüloz filtre kağıdına aktarılmış CCDaV ile enfekteli 75 µl'lik TNA	+	+	+	-	-
Kaba filtre kağıdına aktarılmış CYVCV ile enfekteli 75 µl'lik TNA	-	-	-	-	-
Nitroselüloz filtre kağıdına aktarılmış CYVCV ile enfekteli 75 µl'lik TNA	-	-	-	-	-

(+ : pozitif, - : negatif)

Sonuç

Bu çalışmada turunçgil bitkilerinde görülen ve bir DNA virüsü olan *Citlodavirus citri* ile bir RNA virüsü olan *Potexvirus citriflavivenae* etmenlerinin, beş haftalık zaman içerisindeki 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerde nitroselüloz ve kaba filtre kağıtları üzerindeki varlığı araştırılmıştır. Hastalık etmenleri filtre kağıtlarına farklı yöntemler kullanılarak aktarılmış ve viral

etmenlerin; hangi yöntem kullanılarak daha uzun süre kontrol materyali olarak kullanılabileceği, bitki öz suyu konsantrasyonunun bu duruma etkisi ve filtre kağıtları üzerinde ne kadar süre canlı kalabildiği araştırılmıştır. Her iki viral etmen CTAB protokolü ile izole edilip nitroselüloz ve kaba filtre kağıtlarına aktarıldığında, membranlar üzerinde 35 gün

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivenae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

süresince pozitif kalarak varlığını sürdürmüştür. Kaba filtre kağıtlarına bitki materyalinin direkt teması ile oluşturulan örneklerde CCDaV'nin 21 gün süresince membranlar üzerindeki varlığını sürdürdüğü belirlenmiş fakat CYVCV'nin 35 gün süresince hiçbir izolatinin pozitif sonuç vermediği görülmüştür. Nitroselüloz filtre kağıtlarına bitki materyalinin direkt teması ile oluşturulan örneklerde CCDaV'nin 21 gün süresince, CYVCV'nin ise 35 gün süresince membranlar üzerindeki varlığını sürdürdüğü görülmüştür. Kaba filtre kağıtlarına bitki öz suyunun aktarılması ile oluşturulan örneklerde CCDaV'nin 21 gün süresince pozitif sonuç verdiği, CYVCV'nin ise 35 gün süresince hiçbir izolatinin pozitif sonuç vermediği görülmüş ve elde edilen bu sonuç, kaba filtre kağıdına bitki materyalinin direkt teması ile oluşturulan örnekler ile benzerlik göstermiştir. Nitroselüloz filtre kağıtlarına bitki öz suyunun aktarılması ile oluşturulan örneklerde CCDaV'nin 35 gün süresince membranlar üzerinde pozitif sonuç verdiği, CYVCV'nin ise negatif sonuç verdiği görülmüştür. Mekanik inokulasyon işlemlerinin üzerinden yaklaşık 3 ay geçtikten sonra filtre kağıtlarından elde edilen CCDaV etmeninin bitkiyi enfekte edip etmediği araştırılmış ve yapılan PCR çalışmaları sonucunda her iki tip filtre kağıdının 7., 14. ve 21. güne ait örneklerinin bitki içerisinde enfeksiyon sağladığı ve pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Ancak kağıtların 28. ve 35. günlere ait örneklerinin bitkide enfeksiyon sağlamadığı ve negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir. CYVCV etmeninin bitkiyi enfekte edip etmediğinin araştırılması amacıyla yapılan RT-PCR çalışmaları negatif sonuç vermiş ve viral patojen bitkide enfeksiyon sağlamamıştır.

Bitki viral hastalıklarının tarımsal üretim için büyük kısıtlamalar oluşturduğu önemli bir gerçektir. Virüslerin enfekte ettiği bitkilerden doğru bir şekilde örnek alınması, viral patojenlerin moleküler çalışmalarını kolaylaştırmak ve bitki koruma programlarının

geliştirilmesi için oldukça gereklidir. Özellikle örnek boyutları büyük olduğunda ve laboratuvar tesislerinden uzak olan bölgelerde çalışma gerçekleştirildiğinde, örneklenen bitki dokuları içerisindeki virüslerin bütünlüğünün korunması zor olabilmektedir. Her viral patojende ya da başka bir hastalık etmeninde aynı sonuçları almak mümkün değildir. Fakat önceki çalışmalarda belirtilen araştırmalar ve yapılan bu çalışma, herhangi bir hastalık etmenin filtre kağıtlarında belirli sürelerde varlığını koruduğunu göstermiştir. Ayrıca patojenlerin ileriki zamanlarda yapılacak bilimsel çalışmalarda kullanılmak amacıyla steril zarflarda saklanabiliyor olması araştırmacılara kolaylık sunmaktadır. Bu durum, çalışmalarda kullanılacak materyale rahatlıkla ulaşılabilmesini ve araştırmaların çok daha kısa zamanda sonuç vermesini sağlayacaktır. Özellikle bitki materyallerinin ülkeler arası geçişine sınırlamalar getirilmesi, bir ülkeden diğer bir ülkeye gönderim sırasında bitki materyalinin çürümesi ve canlılığını kaybetmesi gibi sorunların da en aza indirilmesi sağlanacaktır. Bütün bunlar, farklı pek çok patojende ve çalışmanın yapıldığı koşullar altında değişkenlik gösterecek olsa da yapılan bu çalışma, farklı ülkelerdeki araştırmacılar tarafından hastalıkların incelenmesi ve genetik farklılıkların ortaya konması açısından önem taşımaktadır. Bu araştırmanın olumlu kazanımlarının yanında, doğurabileceği olumsuz durumlara da değinmek gerekmektedir. Günümüzde hastalık etmenlerinin bir ortama bulaşması için direkt olarak bitki materyaline ihtiyaç kalmamıştır. Filtre kağıtları üzerinde var olabilen viral patojenlerin posta yoluyla gönderilebiliyor olması oldukça büyük bir risk taşıyabilmektedir. Bu sebeplerden ülkelerin karantina uygulamalarını daha dikkatli ve sıkı olarak yönetmesi tavsiye edilebilir.

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflaviveneae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

Teşekkür

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine FYL-2023-15726 nolu projeye verdiği destekten dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Ádám J., Stefanova B., Dragoyski K., Tóbiás I., Palkovics L., 2015. Use of FTA® (Whatman) membrane for collection and detection of Bulgarian PPV isolates. *Journal of Mountain Agriculture on the Balkans*, 18(2): 334-343.

Afloukou F.B., Önelge N., 2020. Alternative hosts, vectors transmission, and molecular characterization of Citrus yellow vein clearing virus (CYVCV) isolates. PhD thesis, Çukurova University, Adana, 91 s.

Ahlawat, Y.S., 1997. Virus, greening bacterium and viroids associated with citrus (Citrus species) decline in India. *Indian J. Agric. Sci.* 67: 51 – 57.

Blab Market, 2023. Süzgeç kağıdı (filtre kağıdı) nedir? [online] Erişim adresi: <https://www.blabmarket.com/blog/icerik/suzgec-kagidi-nedir-ve-nasil-kullanilir> [Erişim tarihi: 14.10.2023]

Catara A., Azzaro A., Davino M., Polizzi G., 1993. Yellow vein clearing of lemon in Pakistan. In: *Proceedings of the 12th International Conference on IOCV*, Riverside, CA, 364–367.

Chandrashekara K.N., Prasannakumar M.K., Deepa M., Vani A., 2012. A rapid, sensitive and reliable method for detecting *Ralstonia solanacearum* using FTA (Whatman) card. *Journal of Plant Pathology*, 94(1): 219-221.

Chen H., Zhou Y., Wang X., Zhou C., Yang X., Li Z., 2016. Detection of Citrus yellow vein clearing virus by real-time RT-PCR. *Horticultural Plant Journal*, 2(4): 188-192.

<https://doi.org/10.1016/j.hpj.2016.07.001>

[Erişim tarihi: 27.05.2024]

Correll J.C., Puhalla J.E., Schneider R.W., 1986. Vegetative compatibility groups among nonpathogenic root-colonizing strains of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Botany*, 64: 2358-2361.

Çınar A., Kersting U., Önelge N., Korkmaz S., Şaş G., 1993. Citrus virus and virus-like disease in the eastern Mediterranean region of Turkey. In: Moreno P., da Graça J.V., Timmer L.W. (Eds.), *Proceedings of the 12th Conference of International Organization of Citrus Virologists (IOCV)*, Riverside, 397-400.

Guo J., Lai X.P., Li J.X., Yue J.Q., Zhang S.Y., Li Y.Y., Gao J.Y., Wang Z.R., Duan H.F., Yang J.D., 2015. First report on Citrus chlorotic dwarf associated virus on lemon in Dehong Prefecture, Yunnan, China. *Plant Disease*, 99(9). <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-15-0011-PDN> [Erişim tarihi: 11.07.2023]

Interlab Laboratuvar Ürünleri., 2023. ISOLAB TR Catalog 2023-2025. [online] Erişim adresi: <https://katalog.interlab.com.tr/#114> [Erişim tarihi: 01.10.2023]

Korkmaz S., Çınar A., Bozan O., Kersting U., 1994. Distribution and natural transmission of a new whitefly-borne virus disease of citrus in the eastern Mediterranean region of Turkey. In: *Proceedings of the 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, 437-439.

Korkmaz S., 2002. Application of direct tissue blot immunoassay in comparison with DAS-ELISA for detection of Turkish isolates of Citrus tristeza closterovirus (CTV). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 26(4): 209-216. <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol26/iss4/5> [Erişim tarihi: 14.12.2023]

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflavivirae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

- Loconsole G., Saldarelli P., Doddapaneni H., Savino V., Martelli G.P., Saponari M., 2012a. Identification of a single-stranded DNA virus associated with citrus chlorotic dwarf disease, a new member in the family Geminiviridae. *Virology*, 432(1): 162-172. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.06.005> [Erişim tarihi: 28.01.2023]
- Loconsole G., Önelge N., Potere O., Giampetruzzi A., Bozan O., Satar S., Stradis A. DE, Savino V., Yokomi R.K., Saponari M., 2012b. Identification and characterization of Citrus yellow vein clearing virus, a putative new member of the genus Mandarivirus. *Phytopathology*, 102(12): 1168-1175. <https://doi.org/10.1094/PHTO-06-12-0140-R> [Erişim tarihi: 28.01.2023]
- Mahrous R.M., Moustafa T.A., Farag A.Z., Sadik A.S., El-Afifi S.I., Gamal El-Din A.S., 2005. Isolation and identification of Spiroplasma citri using some sensitive methods. *Arab University Journal of Agricultural Sciences*, 13(3): 625-639. <https://doi.org/10.21608/ajs.2005.15263> [Erişim tarihi: 03.03.2024]
- Michaud V., Gil P., Kwiatek O., Prome S., Dixon L., Romero L., Le Potier M.F., Arias M., Couacy-Hymann E., Roger F., Libeau G., Albina E., 2007. Long-term storage at tropical temperature of dried-blood filter papers for detection and genotyping of RNA and DNA viruses by direct PCR. *Journal of Virological Methods*, 146(1-2): 257-265. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.07.006> [Erişim tarihi: 02.02.2024]
- Murray M.G., Thompson W.F., 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 8: 4321-4325.
- Ndunguru J., Taylor N.J., Yadav J., Aly H., Legg J.P., Aveling T., Thompson G., Fauquet C.M., 2005. Application of FTA technology for sampling, recovery and molecular characterization of viral pathogens and virus-derived transgenes from plant tissues. *Virology Journal*, 2: 45. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-45> [Erişim tarihi: 02.02.2024]
- Önelge N., 1997. Direct nucleotide sequencing of Citrus exocortis viroid (CEV). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 21: 419-422.
- Önelge N., 2003. Türkiye’de limonlarda sarı damar açılması ile ilgili ilk rapor. *Journal of Turkish Phytopathology*, 32(1): 53-55.
- Önelge N., Satar S., Elibüyük O., Bozan O., Kamberoğlu M., 2011. Transmission studies on Citrus yellow vein clearing virus. In: *18th Conference of the International Organization of Citrus Virologists*, Brazil, 11-14.
- Richert-Pöggeler K.R., Minarovits J., 2014. Diversity of latent plant-virus interactions and their impact on the virosphere. *Plant Virus Host Interactions*, 14: 263-275. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411584-2.00014-7> [Erişim tarihi: 19.01.2024]
- Roistacher C.N., 1995. A historical review of the major graft-transmissible diseases of citrus. FAO, Rome, 89 p.
- Roossinck M.J., 2005. Symbiosis versus competition in plant virus evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 3: 917-924. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1285> [Erişim tarihi: 19.01.2024]
- Roossinck M.J., 2010. Lifestyles of plant viruses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365: 1899-1905. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0057> [Erişim tarihi: 22.05.2024]

Turunçgil Bitkilerinde Görülen *Citlodavirus citri* (CCDaV) ve *Potexvirus citriflaviveneae* (CYVCV) Etmenlerinin Nitroselüloz ve Kaba Filtre Kağıtları Üzerindeki Kalıcılık Sürelerinin Araştırılması

- Roy Y., Nassuth A., 2005. Detection of plant genes, gene expression and viral RNA from tissue prints on FTA cards. *Plant Molecular Biology Reporter*, 23(4) 383. <https://doi.org/10.1007/BF02788886> [Erişim Tarihi: 14.11.2024]
- Smit P.W., Elliott I., Peeling R.W., Mabey D., Newton P.N., 2014. An overview of the clinical use of filter paper in the diagnosis of tropical diseases. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(2): 195-210. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0463> [Erişim tarihi: 22.12.2023]
- Tanaka S., Nishii H., Ito S., Kameya-Iwaki M., Sommartya V.E.P., 1997. Detection of Cymbidium mosaic potexvirus and Odontoglossum ringspot tobamovirus from Thai orchids by rapid immunofilter paper assay. *Plant Disease*, 81(2): 167-170. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.2.167> [Erişim tarihi: 30.03.2024]
- Tarım ve Orman Bakanlığı TAGEM., 2017. Turunçgil entegre mücadele teknik talimatı, Ankara. [online] Erişim adresi: <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Turun%C3%A7gil%20Entegre-29.08.2017.pdf> [Erişim tarihi: 21.06.2023]
- Tarım ve Orman Bakanlığı TEPGE., 2024. Turunçgiller ürün raporu, Ankara. [online] Erişim adresi: <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporlar%C4%B1/2024%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporlar%C4%B1/Turun%C3%A7giller%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporu%202024-408%20TEPGE.pdf> [Erişim tarihi: 28.01.2025]
- Yang Z., Zhang L., Zhao J., Li T., Liu Q., Cao M., Zhou V., 2020. First report of Citrus chlorotic dwarf-associated virus on pomelo in Nakhon, Thailand. *Plant Disease*, 104(4). <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2093-PDN> [Erişim tarihi: 14.12.2023]