

T.C  
MALATYA TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MALATYA BÖLGESİ ÖNEMLİ BİBER EKİLİŞ ALANLARINDA GÖRÜLEN  
VİRÜS HASTALIKLARININ BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER OLARAK  
TANILANMASI

TAHİR UĞUR

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

MAYIS 2019

T.C  
MALATYA TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MALATYA BÖLGESİ ÖNEMLİ BİBER EKİLİŞ ALANLARINDA GÖRÜLEN  
VİRÜS HASTALIKLARININ BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER OLARAK  
TANILANMASI

TAHİR UĞUR

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

MAYIS 2019

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Tez Başığı: Malatya Bölgesi Önemli Biber Ekiliş Alanlarında Görülen Virüs Hastalıklarının Belirlenmesi ve Moleküler Olarak Tanılanması

Tezi Hazırlayan: TAHİR UĞUR

Sınav Tarihi: 20.05.2019

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değeriendirilerek Bitki Koruma Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Sınav Jüri Üyeleri

**Tez Danışmanı:** Dr. Öğr. Üyesi H. Diğdem OKSAL  
( Malatya Turgut Özal Üniversitesi)

Prof. Dr. H. Murat SİPAHİOĞLU  
(Malatya Turgut Özal Üniversitesi)

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa USTA  
(Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi)

**Enstitü Müdürü**

Prof . Dr. Elif APOHAN

## ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum ‘Malatya Bölgesi Önemli Biber Ekiliş Alanlarında Görülen Virüs Hastalıklarının Belirlenmesi ve Moleküler Olarak Tanılanması’ başlıklı bu çalışmanın bilimsen ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Tahir UĞUR

İmza

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

#### MALATYA BÖLGESİ ÖNEMLİ BİBER EKİLİŞ ALANLARINDA GÖRÜLEN VİRÜS HASTALIKLARININ BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER OLARAK TANILANMASI

Tahir UĞUR

Malatya Turgut Özal Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı

42 + ix sayfa

2019

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hatice Diğdem OKSAL

Malatya ili Battalgazi ve Arapgir ilçelerinde yetiştirilen biber alanlarındaki Patates X virüsü (*Potato virus X*, PVX), Patates Y virüsü (*Potato virus Y*, PVY) ve Biber ılımlı benek virüsü (*Pepper mild mottle virus*, PMMV)'lerinin saptanması ve moleküler teşhislerinin yapılması amacıyla 2016 ve 2017 yıllarında survey çalışmaları yürütülmüştür. Arazi çalışmalarında biberlerde virüs belirtilerine benzer kloroz, yaprak deformasyonu ve beneklenme gibi belirtiler gösteren ve göstermeyen toplam 140 biber örneğine internal kontrol primerleri kullanılarak RT-PCR testi uygulanmıştır. Yürütülen moleküler test çalışmaları sonucunda toplanan biber örneklerinde herhangi bir virüse rastlanılmamıştır. Çalışma kapsamında virüslerin moleküler yöntemler ile araştırılmasında pozitif kontrol olarak kullanılan iki PVY izolatının (PVY-1 ve 2) moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu izolatların genomunda sırası ile PVY-1 için 359 bp, PVY-2 için ise 398 bp uzunluğundaki nükleotid dizileri tespit edilmiştir. DNA baz dizileri ile amino asit dizileri belirlenen PVY izolatlarının MK833915 ve MK833916 erişim numaraları ile Gen Bankasına kayıtları yapılmıştır. Gen Bankasında yürütülen nükleotid dizisi karşılaştırma çalışmalarında PVY-1 ve PVY-2 izolatlarının en çok PVY<sup>NTN</sup> ırkı ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bilgisayar programı yardımı ile gerçekleştirilen filogenetik analiz çalışmaları sonucunda PVY-1 ve PVY-2 izolatlarının dünyadaki diğer izolatlar ile sırası ile %94 ve %95 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Malatya, Biber, Virüs, Moleküler tanılama, PCR

## ABSTRACT

### M. Sc. Thesis

#### MOLECULAR DETECTION OF VIRUS DISEASES IN THE IMPORTANT PEPPER CULTIVATION AREAS IN MALATYA REGION

Tahir UĞUR  
Malatya Turgut Ozal University  
Institute of Graduate Studies  
Department of Plant Protection

42 + ix pages

2019

**Supervisor:** Assist. Prof. Hatice Diğdem OKSAL

Surveys were carried out in 2016 and 2017 in order to determine and molecularly characterize *Potato virus X* (PVX), *Potato virus Y* (PVY) and *Pepper mild mottle virus* (PMMV) in pepper fields of Battalgazi and Arapgir districts of Malatya. RT-PCR test was performed to 140 pepper samples showing virus-like symptoms such as chlorosis, leaf deformation and speckling. As a result of the molecular tests, no viruses have been found in collected pepper samples. In the study, molecular characterization of two PVY isolates (PVY-1 and 2), which were used as positive control in the investigation of viruses by molecular methods, was performed. In the genome of these isolates, the sequence of 359 bp for PVY-1 and 398 bp for PVY-2 were determined. Nucleotide and amino acid sequences of PVY isolates were recorded to Gene Bank with the accession numbers: MK833915 and MK833916. In comparison studies of the nucleotide sequences carried out in gene bank, it was determined that PVY-1 and PVY-2 isolates are the most identical with PVY-<sup>NTN</sup> strain. As a result of the phylogenetic analysis, carried out with the help of computer program, PVY-1 and PVY-2 isolates were exhibited a similarity of 94% and 95% with world isolates, respectively.

**Keywords:** Malatya, Pepper, Virus, Molecular identification, PCR

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca bana emeği geçen bütün hocalarıma, tez konusunu seçmemde bana rehberlik eden ve tez çalışmam boyunca bana yardımcı ve destek olan hocam; tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi H. Diğdem OKSAL' a, çalışmalarımı yaparken bana her konuda destek veren Bitki Koruma Bölüm Başkanı Prof. Dr. H. Murat SİPAHİOĞLU' na; olumlu ve yapıcı eleştirileriyle bana destek olan jüri üyesi Dr. Öğr. Üyesi Mustafa USTA' ya ve tüm hayatım boyunca her konuda olduğu gibi Yüksek Lisans öğrenimim boyunca sonsuz desteklerini esirgemeyen anneme ve babama, çalışmamda yardımlarını esirgemeyen fakültemiz bünyesinde öğrenci olan değerli Ziraat Mühendisi adayları stajyer arkadaşlarım, Suat ZENGİN ve Elif Leyla YILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma İnönü üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Başkanlığı (BAP) tarafından 2016/128 nolu proje ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	5
2.1. Patates X Virüsü (PVX) .....	5
2.2. Patates Y Virüsü (PVY).....	7
2.3. Biber ılımlı Benek Virüsü (PMMV).....	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal .....	16
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Survey çalışmaları.....	18
3.2.2. Moleküler test çalışmaları.....	19
3.2.2.1. RNA ekstraksiyonu .....	19
3.2.2.2. RT-PCR testleri.....	20
3.2.2.2.1. Patates Y virüsü ( <i>Potato virus Y</i> , PVY) .....	20
3.2.2.2.2. Patates X virüsü ( <i>Potato virus X</i> , PVX) .....	21
3.2.2.2.3. Biber ılımlı benek virüsü ( <i>Pepper mild mottle virus</i> , PMMV) ....	22
3.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroferezde Koşturulması .....	23
3.4. PVY Pozitif Kontrol İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu .....	24
3.4.1. PCR ürünlerinin DNA dizilemesi .....	25
3.4.2. Biyoinformatik yöntemler kullanılarak DNA dizisi ve filogenetik analiz	25
3.4.3. DNA dizilerinin gen bankasına girilmesi .....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	26
4.1. Survey Çalışmaları.....	26
4.2. Moleküler Test Çalışmaları.....	27
4.3. PVY Pozitif Kontrol İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu .....	28
4.3.1. Nükleotid dizilerinin analizi.....	28



4.3.2. Mutasyon analizi .....	30
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	33
6. KAYNAKLAR .....	37
ÖZGEÇMİŞ .....	44



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. IPC biber üretim ve ihracat oranlarının yıllara göre dağılımı .....	2
Şekil 1.2. Dünya biber üretim ve ihracat oranlarının yıllara göre dağılımı .....	3
Şekil 1.3. Dünya biber üretim ve tüketim oranları .....	3
Şekil 3.1. Malatya ili survey gerçekleştirilen alanlar (Battalgazi ve Arapgir) .....	17
Şekil 3.2. Şüpheli simptom gözlenen ve örnekleme yapılan bitki .....	18
Şekil 3.3. Battalgazi ilçesinde survey çalışmalarının yürütüldüğü biber tarlalarından bir görünüm.....	19
Şekil 3.4. Programlanmış PCR döngüsü.....	21
Şekil 3.5. Jelin elektroforezde koşmaya hazır hali.....	24
Şekil 4.1. Survey çalışmalarında biber bitkilerinde gözlenen kloroz ve yapraklarda şekil bozukluğu .....	26
Şekil 4.2. PVY (a (M:Marker,1: 1, 2: P2, 3: 2, 4: 3, 5: 4, 6: 5, 7: 6, 8: 49, 9: 50, 10: 51 nolu örnek)), PMMV (b (M:Marker, 1: 1, 2: 2, 3: 3, 4: 4, 5:5, 6: 6, 7: 48, 8: 49, 9: 50 ve 10: 51 no lu örnek)) ve PVX (c (M:Marker, 1: 1, 2: 2, 3: 3, 4: 51 ve 5: 52 no lu örnek)) elektroforez görüntüleri.....	27
Şekil 4.3. PVY-1 ve PVY-2 izolatları ile PVY dünya izolatlarının ile oluşturulan filogenetik ağaç .....	31
Şekil 4.4. PVY-1 ve PVY-2 izolatlarına ait mutasyon analiz sonuçları .....	32

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Türkiye ve Malatya biber ekim ve üretim miktarları.....	4
Çizelge 2. Battalgazi ve Arapgir ilçelerinde biber ekim alanı ve üretim miktarı .....	4
Çizelge 3. Battalgazi ve Arapgir ilçelerinden alınan örnekler .....	16
Çizelge 3.1. PVY için kullanılan PCR sıcaklık döngüsü .....	21
Çizelge 3.2. PVX için kullanılan PCR sıcaklık döngüsü .....	22
Çizelge 3.3. PMMV için kullanılan PCR sıcaklık döngüsü.....	23
Çizelge 3.4. PVY izolatlarının PCR yöntemi ile çoğaltılmasında kullanılan miktarlar .....	24
Çizelge 4.1. PVY-1 izolatına ait kısmi kılıf protein geni dizisi ile ona karşılık gelen amino asit dizisi.....	28
Çizelge 4.2. PVY-2 izolatına ait kısmi kılıf protein geni dizisi ile ona karşılık gelen amino asit dizisi.....	29
Çizelge 4.3. PVY pozitif kontrol izolatlarının dünyadaki diğer PVY izolatları ile benzerlik oranları .....	30

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Adenin
bp	: Baz çifti (base pair)
C	: Sitozin
cDNA	: Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit
d <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	: Saf su
g	: Gram
M	: Molar
mA	: Miliamper
mg	: Miligram
mM	: Milimolar
Mmol	: Milimol
MW	: Molekül ağırlığı
NaI	: Sodyum iyot
U	: Urasil
V	: Volt
µl	: Mikrolitre
<b>Kısaltmalar</b>	
AMV	: <i>Alfaalfa mosaic virus</i> , Yonca mozaik virüs
CMV	: Kabak mozaik virüsü
CP	: Kılıf protein(Coat protein)
da	: Dekar
DAS-ELISA	: Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DNA <sub>s</sub>	: Deoksiribonüklez
dNTP	: Deoksinüklotidtrifosfat
EDTA	: Ethylenediaminetetraaceticacid
EtOH	: Ethanol
F	: Forward
G.d	: Guanidin thiocynate
IPC	: International Pepper Commite, (Uluslar arası Biber Komitesi)
KCl	: Potasyum klorür
KOAc	: Potasyum asetat
ME	: Mercaptoethanol
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum klorür
mton	: Milyon ton
n.a	: Nükleik asit
NaOAc	: Sodyum asetat
PCR	: Polymerase Zincir Reaksiyonu
PMMV	: <i>Potato mild mottle virus</i> , (Biber ılımlı benek virüsü)
pmol	: Pikamol
PVX	: <i>Potato virus X</i> , Patates X virüsü
PVY	: <i>Potato virus Y</i> , Patates Y virüsü
R	: Reverse
rDNA	: Ribozomal DNA
RNA	: Ribonükleik Asit

RNAse	: Ribonükleaz enzim
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
RT	: Reverse transkriptaz
RT-PCR	: Reverse Transkriptase-Polymerase Chain Reaction
SDS	: Sodium diethyldithiocarbamate
spp.	: Alt Tür
TAE	: Tris Asetat EDTA
Taq DNA	: DNA polimeraz enzimi
TEV	: <i>Tobacco etch virus</i> , Tütün yanıklık virüsü
TMV	: <i>Tomato mosaic virus</i> , Domates mozaik virüsü
PMV	: <i>Pepper vein mottle virus</i> , Biber damar benek virüsü
PVMV	: <i>Pepper mosaic virus</i> , Biber mozaik virüsü
RdRp	: RNA dependent RNA polymerase, RNA bağımlı RNA polimerazı



## 1. GİRİŞ

Biber (*Capsicum*) türlerinin kaynağı Peru ve Venezuela'nın içerisinde yer aldığı Orta Amerika'dır. Biberin merkezinin Orta Amerika olduğu bilinmesine ilişkin olarak yapılan taksonomik çalışmalarla biber orjinlerinin türlere göre değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Geniş çeşitlilik yelpazesine sahip olan *Capsicum* cinsi içerisinde 20-25 kadar biber türü bulunmasına karşın bunlardan ancak 5 adedinin (*C. annum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. pubescens*) kültürünün yapıldığı belirtilmiştir (Anonim, 2017a).

<b>Alem</b>	: <i>Plantae</i>
<b>Şube</b>	: <i>Magnoliophyta</i>
<b>Sınıf</b>	: <i>Magnoliopsida</i>
<b>Takım</b>	: <i>Solanales</i>
<b>Familya</b>	: <i>Sonaceae</i>
<b>Cins</b>	: <i>Capsicum L</i>
<b>Tür</b>	: <i>Capsicum annum.</i>

Biber meyveleri sebze olarak değerlendirilmesine rağmen botaniksel açıdan üzüksü bir meyvedir. Genellikle meyve özelliğine göre sınıflandırılmaktadır. Örnek olarak; meyvenin rengi, acılığı, kullanılma şekli gibi. Meyve yapısı açısından türleri arasında farklılıklar bulunan biber bitkisinde baskın olarak ancho, pasilla, jalepeno, dolma, new mexican, yellow wax gibi meyve çeşitleri taze ve gıda sektöründe işlem görerek değerlendirilmektedir. Uzun yıllardan beri üreticiliği yapılan biber, ülkemizin toplam sebze üretim miktarları içerisinde geniş bir pay edinmiş durumdadır. Biber üretiminde sırasıyla Ege, Marmara, Güney ve Güneydoğu Anadolu ve Karadeniz bölgeleri gelmektedir. Ege ve Marmara Bölgelerinde taze-sofralık veya gıda endüstrisinde farklı amaçlarla işlem görmek amacıyla yetiştiricilik yapılırken, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde özellikle toz ve pul biber üretimi amacıyla işlem görmektedir. Akdeniz Bölgesi öncelikli olarak Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgelerinde toplam üretimin %85'i gerçekleştirilmektedir. Üretimin büyük kısmını yurtiçinde tüketilmesine karşın (%2) lik bir kısmı yurtdışına gönderilmektedir. Biber yetiştiriciliği her yıl %4-10 arasında değişen oranlarda

artarken toplam biber üretiminin %90'nı taze halde tüketilerek diğer kısmı farklı şekillerde işlenerek değerlendirilmektedir. İşlem gören ürünlerden salça, toz biber, dondurulmuş ve turşu yapılmaktadır (Anonim, 2017a).

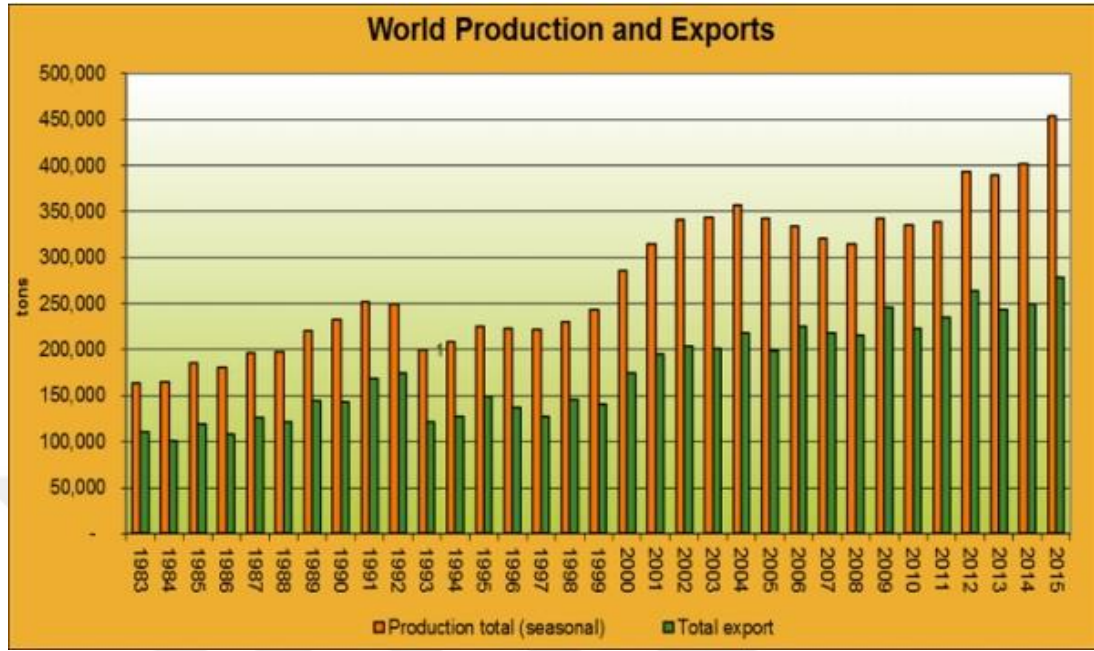
Meyvenin özelliklerinden kaynaklı çeşitli varyasyonlara sahip olan biber meyvesine göre farklı şekillerde tüketilmiştir. Meyvesi farklı şekillerde olan acı biber bölgesel ve tüketim alışkanlıklarına bağlı olarak işlem görmeden veya işlenerek değerlendirilmiştir. Ekonomik olarak dikkat çeken biber bitkisi, biyolojik olarak da önemli özelliklere sahiptir. Birçok biber türü çok miktarda B, C, E ve A vitaminlerini barındırır. C vitamini açısından oldukça faydalı olan bu bitki çeşitlerine göre farklılık göstermesine karşın içerisinde 340 mg/100 g a kadar C vitaminini içerisinde barındırabilir (Anonim, 2017a).

*Capsicum* bitkisinin çoğu ülkede yetiştiriciliği yapılmaktadır. Malezya, Brezilya, Hindistan, Endonezya, Sri Lanka ve Vietnam (bu ülkeler Uluslararası Biber Komitesi, IPC), Çin, Ekvator, Madagaskar, Tayland ve Kamboçya ülkeleri önemli biber üretimi yapan ülkelerin başlıcaları arasında yer almaktadır (Şekil 1.1). Meksika, Fiji, Samoa, Endonezya, Tanzanya, Kenya, Etiyopya' da az miktarda da olsa biber kültürü yapılmaktadır (Anonim, 2017b).



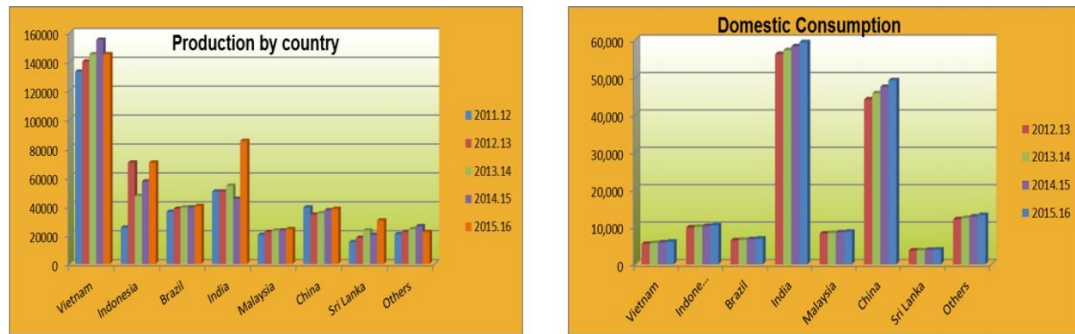
Şekil 1.1. IPC biber üretim ve ihracat oranlarının yıllara göre dağılımı

Dünya üretim miktarı her geçen yıl artmakta birlikte ihracat miktarları da artmaktadır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Dünya biber üretim ve ihracat oranının yıllara göre dağılımı (Anonim, 2015)

Dünya’da biber üretim miktarı 2008 yılında 28 mtondur. Üretimde ilk sırada 14 mton ile Çin, 20 mton ile Meksika ve 1.8 mton ile Türkiye sıralarını almışlardır. Türkiye’den sonra Endonezya ve İspanya gelmektedir (Özalp, 2010). 2011 yılından sonra üretimde birinciliği Vietnam almış ve tüketiminin Hindistan ve Çin’ e oranla daha az olduğu belirlenmiştir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Dünya biber üretim ve tüketim oranı(Anonim, 2015)

Türkiye ve Malatya’da son yıllarda biber üretim ve verimleri önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir (Çizelge 1). Malatya’daki biber üretimi Türkiye



üretiminde %2 lik kısmını karşılamaktadır (Anonim, 2018a). Malatya ilinde biber üretimi en fazla yapılan ilçeler arasında Battalgazi ve Arapgir ilçeleri yer almaktadır (Çizelge 2) (Anonim 2019b).

Çizelge 1. Türkiye ve Malatya biber ekim ve üretim miktarları

Yıl	Türkiye		Malatya	
	Alan (da)	Üretim (ton)	Alan (da)	Üretim (ton)
2015	792 617	2 307 456	6 894	13 778
2016	815 632	2 457 822	10 000	18 949
2017	805 166	2 608 172	6 963	13 758
Toplam	1 608 249	4 765 278	16 894	32 727

Çizelge 2. Battalgazi ve Arapgir ilçelerinde biber ekim alanı ve üretim miktarı

Yıl	Battalgazi		Arapgir	
	Alan (da)	Üretim (ton)	Alan (da)	Üretim (ton)
2015	1 962	5 368	531	1 052
2016	2 002	5 469	540	1 066
2017	1 950	5 073	532	1 036
Toplam	5 914	15 910	1 603	3 154

Biber, açık alanda ve seralarda fide yetiştirilerek veya doğrudan yerine ekim yapılarak üretilir ama verimli bir kültür için dikim veya ekimden önce toprak hazırlıklarının iyi yapılması gerekmektedir. Fide yetiştirme işlemleri genellikle; sıcak, ılık yastıklarda veya serada yapılır. Yastıklara sıra mesafesi 10 cm, sıra üzeri mesafesi 1-2 cm, derinliği 1-3cm olması durumunda ekim yapılmalıdır (Tüzün, 2015).

Malatya ilinde biber bitkisinde daha önce bu konuda herhangi bir çalışma olmadığından dolayı bu tez çalışması ile PVX, PVX ve PMMV virüslerinin varlıklarının belirlenmesi, yaygınlık oranlarının araştırılması ve moleküler teşhisi ile bu açığın kapatılması ve bu virüsler ile ilgili Malatya' daki son durumun belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2.KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Patates X Virüsü (PVX)

Patates X virüsü *Alphaflexiviridae* familyasına, *Potexvirus* cinsine ait bir virüs türüdür. 515 x 13 nm uzunluğunda pozitif duyarlı tek sarmal RNA genom yapısındadır (Brandes vd., 1964). *Solanaceae* familyası haricinde 15 familya konukçuları arasındadır. 16 familyada 240' tan fazla türde zarar yapmaktadır. Bitki özsuyu ile ve mekanik olarak kolayca taşınabilmektedir (Purcifil ve Edwardson, 1981). Başlıca konukçularını *Solanaceae* familyasındaki bitkiler oluşturmaktadır. Yapraklarda mozaik lekeler ve solgunluk meydana getirmektedir. Kültür bitkisi yetiştirilen alanlarda %10-20 arasında verim kayıplarına sebep olabilmektedir (Smith, 1931).

1925 yılında Johnson patates bitkilerini izlerken belirtiler meydana geldiğini gözlemlemiştir. Yaprakların üzerinde benek belirtisine benzer değişimler olduğu, bu değişikliklerin zamanla tütün ve diğer bitkilere de yayıldığını gözlemlemiştir. Bu sayede patates X virüsü ile ilgili bu çalışmanın tarihte ilk kez kayıtlara geçtiği düşünülmektedir (Plank, 1949).

Patates X virüsü ve patates Y virüsü biber ekiliş alanlarında yoğun olarak görülmektedir, ama araştırmalar patates X virüsünün yaygınlığı patates Y virüsüne göre daha az olduğunu bildirmişlerdir. Bunun başlıca sebeplerinden biri PVY' nin yaprak bitleri tarafından taşınmasından kaynaklı olmasıdır. Virüsün biberdeki yoğunluğuna veya gücüne bağlı olarak PVX biberde 3 ana semptom ile karakterize edilebilir. Bunlar; nekrotik, klorotik veya bunların ikisinin bir arada olması şeklindedir. Nekrotik belirtiler primer ve sekonder nekrotik lekeler olarak yaprak ve gövdede ve de sonucunda yaprakların dökülmesine sebep olur. Sistemik enfeksiyon görülmez. Klorotik semptom, klorotik lekelerin yanında sistemik enfeksiyon ve genel mozaik şeklindedir. Klorotik ve nekrotik karışımı olan diğer ana semptom ise; yapraklarda önce klorotik lekeler görülmeye başlanır, daha sonra bu lekeler nekrotik hal alır ve en sonunda bitkide yaprakların dökülmesi durumu yaşanır ve yapraklar dökülmeye başlar (Dragoljub vd., 1999).

Nijerya'nın Güney Batısında Oyo, Ondo, Osun, Ogun, Ekiti ve Lagos olmak üzere 6 eyaletinde 2010 ve 2011 yıllarında enfekteli biber (*Capsicum* spp.) ekilen arazilerde virüslerin varlığı ve durumunu tespit etmek amacıyla survey çalışmaları yapılmıştır. Arazilerden belirtili ve belirtisiz yaprak örnekleri toplanmıştır. Enfekteli bitkilerde belirtilen semptomlar mozaik, benek, buruşukluk, yaprak yüzeğinde küçülme, damar sararması, yaprak ve meyve şekil bozukluğu ve cüceleşme şeklindedir. Yayılma oranları sırasıyla 2010 yılında %79 ve 2011 yılında %76 şeklinde belirtilmiştir. Bu çalışmada yaprak örneklerinde 7 farklı virüs çeşidi görülmüştür. Bu virüsler; patates Y virüsü, patates X virüsü, biber damar benek virüsü (PVMV), biber ılımlı benek virüsü (PMMV), tütün mozaik virüsü (TMV), kabak mozaik virüsü (CMV), tütün yanıklık virüsü (TEV) ve domates mozaik virüsü (ToMV) çeşitleridir. Oranları sırasıyla en yüksek görülen PVY (%79), TEV (%67), CMV (%61) ve PVMV (%58); en düşük olan ise ToMV (%23) tür (Olawale vd., 2015).

Çukurova bölgesinde 2004 yılında virüsler ile ilgili yapılan bu çalışmada biber ekili arazilerden 171 biber örneği toplanmıştır. Çukurova' da yaprak bitleri ile taşınan altı farklı virüs hastalığının varlığı araştırılmıştır. Toplanan biber bitkisi örnekleri DAS-ELISA metodu ile kabak mozaik virüsü (CMV), yonca mozaik virüsü (AMV), patates X virüsü (PVX), patates Y virüsü (PVY), biber hafif benek virüsü (PMMV) ve tütün yanıklık virüsü (TEV) ne karşı test edilmiştir. Test edilen örneklerin %56'sının en az bir virüs ile bulaşık olduğu sonucuna varılmıştır. En yoğun bulaşıklılık oranı AMV (%35.7) de görülmüştür, bunu TEV (%21.6), PVY (%21.1), PVX (%17.5), PMMV (%8.2) ve CMV (%4.6) izlemiştir (Özaydın, 2010).

PVX ve PVY virüslerinin aynı bitkide veya alanda birlikte bulunmaları PVX'in hızlı bir şekilde çoğalmasını ve dolayısı ile etkisini fazlalaştırmıştır. Bu çalışma, bu iki virüsün birlikte bulunması durumunda etkinlikleri ve epidemik oranlarının ciddi derecede arttığını göstermiştir. Ayrıca diğer PVMV, TEV ve PMV virüslerinin de PVX virüsüyle bir arada bulunması durumunda PVX virüsünün etkisini arttığını belirtmişlerdir (Vance, 1991).

İki farklı patates türünde (Granoi Pasinler 92 ve Casper) patates X virüsü ve patates Y virüslerinin ayrı ayrı ve bir arada bulunmaları durumunda meydana

getirecekleri belirtiler gözlemlenmiştir. Aynı zamanda bu virüsler için DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ile tanılanması yapılmıştır (Bostan vd., 2001).

Patates virüsü X (PVX) ve salatalık mozaik virüsü (CMV) birlikte enfeksiyon yaptıkları gözlemlenmiştir. 1976 yılında Macaristan'da çarpıcı şekilde mozaik belirtisi gösteren biber üzerinde belirlenmiştir. PVX, sağlıklı bitkiye geçen virüsle enfekte edilmiş tütünün ham ekstraktının ısı ile işlemle CMV' den ayrılmıştır. Patatesten izole edilmiş PVX-M3 ve PVX-NyH saflaştırılmış viron saklanmıştır. 2009 sonbaharında hem enfekte hem de bulaşıcı olduğu kanıtlanmıştır (Palkovics vd., 2011).

## 2.2.Patates Y Virüsü (PVY)

Patates Y virüsü *Potyviriidae* familyasına, *Potyvirus* cinsine ait bir virüs türüdür. İlk olarak 1931 yılında patates bitkisinde teşhis edilmiştir (Smith, 1931). En çok çalışması yapılan bitki virüsleri arasında yer almaktadır. En aktif ve etkili vektörü *Myzus persicae*' dir. Genellikle yaprak bitleri tarafından non-persistent olarak taşınmaktadır. Tek sarmal liner RNA molekül yapısındadır. Patates, tütün, biber ve domates gibi geniş konukçu yelpazesine sahiptir (Milne, 1988).

Florida'da biber benek virüsü (*Pepper mottle virus*, PeMV) bulaşık bitkilerden alınan örneklerde testlenme sonucunda yaklaşık olarak 737 nm'de baskın olarak görülmüştür. PeMV *Solanaceae* familyasının 6 çeşidinde belirti olarak görülmüştür. Buna karşın diğer *Solanaceae* biber çeşitlerinde; biberde damar bozukluğu, Patates Y ve tütün yanıklık virüsüne rastlanılmıştır. PeMV biberde serolojik olarak öncelikle Nehlon Wheeler Arizona'daki çalışma raporunda kanıt olarak gösterilmiştir. Ancak bu raporda PeMV nin morfolojik ve serolojik olarak çalışmaları PVY grubu virüslerin (biberde damar bozukluğu, Patates Y ve tütün yanıklık virüsü) varlığı için daha fazla kanıt niteliği taşımamıştır (Purcifull vd., 1974).

PVY önemli bir bitki patojenidir. PVY'nin etkisinin ekonomik açıdan önem arzeden başlıca bitkiler patates, tütün, domates ve biberdir. PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup> ve PVY<sup>C</sup>

olmak üzere üç formdadır. Belirtiler, yapraklarda mozaik şeklinde beneklenmeler ve buna ek olarak yaprak yapısının bozulması kıvrılma gibi şekil bozulmalarıyla ortaya çıkar. Nekrotik çizgiler yaprağın damar, yaprak sapı ve bitkinin gövdesinde de görülebilir. Bulaşık meyvelerden çimlenmesi sonucu çıkan yeni meyveler genellikle bodur ve benekli ve kıvrık yapraklara sahiptir. Bulaşık bitkilerden alınan yumruların kabuğunda hafif kahverengi halka şeklinde lekeler görülebilir (Cuevas vd., 2012).

1981, 1982 ve 1983 yıllarının bahar aylarında, İsrail'de biber arazilerinde birçok yaprak biti yakalanmıştır. Ondokuz tür, *Cucumber mosaic virus*, (CMV), yedi tür *Potato virus Y* (PVY) ile birden fazla olmak üzere bulaştırma yapmıştır. Yaprak bitlerine maruz kalan deneme örnekleri arasında CMV'nin etkinliğinin PVY'den fazla olduğu görülmüştür. Emgi tuzakları sayesinde yaprak bitlerinin emme hızları belirlenmiş ve etkinlik durumları gözlemlenmiştir, uçuş hızları gibi faktörlere de dikkat edilmiştir. Elde edilen bulguların biberde CMV ve PVY ile birincil enfeksiyonunda önemi tartışılmaktadır (Raccah vd., 1985).

Bitkilere büyüme aşamasında yaprak bitleri tarafından birçok virüs bulaştırılabilmektedir. Patates Y virüsünde damarlarda renk açılması, yapraklarda mozaik lekeler ya da benekler ve koyu yeşil bantlaşma oluşur. Bu olaylar bitkinin ölümüne kadar ilerleyebilir. Enfekteli meyveler daha küçük, deforme olmuş ve mozaik lekeli şekilde olurlar. Patates Y virüsü, diğer virüslerin belirtileri ile kendilerini maskeleyebilirler. Birçok yaprak biti türleri ile taşınırlar ve etkileri taşımayı yapan yaprak bitlerine göre de değişebilmektedir. Dayanıklı çeşit yetiştirme, bulaşık bitkileri uzaklaştırma, ortamda bulunan yabancı otları yok etme gibi dolaylı yoldan mücadeleleri yapılabilir ama direk kimyasal mücadelesi yoktur (Cekauskas, 2004).

2001 yılının Temmuz ve Ağustos aylarında Kemaliye (Erzincan) ve Yusufeli (Artvin) ilçelerinde biber üretimi yapılan arazilerdeki virüs varlıklarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sırasında, biber yapraklarında mozaik, kıvrılma, deformasyon ve sarılık gibi virüslere özgü belirtiler gösteren biber bitkilerinden alınan yaprak örnekleri patates X virüsü (PVX), patates Y virüsü (PVY), hıyar mozaik virüsü (CMV) ve tütün mozaik virüsüne (TMV) spesifik

ELISA kitleri ile test edilmiştir. Çalışmada, Kemaliye ilçesindeki biber ekili arazilerden 30, Yusufeli ilçesinde bulunan biber ekili arazilerden ise 15 yaprak örneği olmak üzere toplam 45 örnek test edilmiştir. Bu virüslerden Patates Y virüsünün (PYV) biber ekilen alanlarda büyük ölçüde yaygınlık gösterdiği belirtilmiştir (Bostan vd. 2002).

Hastalığın etkisi virüsün türüne, gücüne inokulum çeşidine, konukçu bitki karakteristiğine vektör yoğunluğuna, iklim koşullarına, üretim alanına ve bitki yoğunluğuna göre farklılık göstermektedir. Virüs bitkide; pigmentasyon, bitkinin farklı kısımlarında nekroz ve renk değişikliği olarak farklı belirtiler göstermektedir. Çoğu durumda verim ve kalitede azalmaya sebebiyet vermiştir. Patates bitkisini etkileyen çok sayıda virüs vardır; bunların arasında, PVY yeryüzündeki yayılımı ve ekonomik etkisinden dolayı 10 en önemli bitki virüslerinden biri olarak bilinmektedir. Bazı PVY izolatları patatesteki nekrotik leke ve yumru da şekil bozukluğuna neden olarak bu ürünlerin pazarlanmasına ciddi oranda engel olmaktadır. PVY; konukçusuna, yaprak biti vektörüne ve diğer çevre koşullarına bağlı olarak epidemiy yapabilmektedir (Lacomme, 2017).

Beş PVY ırkına ait 4 çeşit izolatın; PVY<sup>O</sup>, Tütün damar nekrozu (PVY<sup>N</sup>), N:O grubu (PVY<sup>N:O</sup>) ve rekombinant olmayan patates yumru nekrozu (PVY<sup>NTN</sup>), 14 kültürü yapılmış patates bitkisinde primer ve sekonder enfeksiyon olarak çalışılmıştır. Primer enfeksiyon denemelerinde, mekanik olarak bulaştırma yapıldıktan sonra yaprak belirtileri hasada kadar gözlemlenmiştir. Sekonder enfeksiyon denemelerinde, yaprak belirtileri düzenli olarak bitkinin çıkışın zamanından hasat zamanına kadar gözlemlenmiştir. Yumru belirtileri (yumru nekrotik halkalı leke olarak bilinen), 1 aydan 4 aya kadar olan hasat süresince gözlemlenmiştir. Her iki enfeksiyonda da; belirtiler patates ekimine, virüs ırkına ve izolata bağlı olarak belirli değişiklikler göstermiştir (Nie vd.,2012).

Kanada'da Patates Y virüsü (PVY) türünün ırk bakımından çeşitlilik ve populasyon durumu 2009'da araştırılmıştır. Patates bitkileri gözlemlendikten sonra immüno-sorbent assay (ELISA) ile incelenmiştir. PVY oranı %3 ün üzerinde olan

patates bitkileri hasat sonrası ELISA testi ardından RT-PCR yöntemi ile testlenmiş ve PVY izolatlarının varlığı ortaya konmuştur (Nanayakkara vd.,2012).

Polonya'da tohumları; Patates Y virüsü (PVY), Patates M virüsü (PVM) ve patates yaprak kıvrıcıklığı virüsü (PLRV) ne karşı test etmek zorunlu bir durumdur. Bu nedenle virüs bulaşıklığı olan tohumların yapılan testler ile belirlenerek çoğalması engellenmektedir. Hasattan sonra tohumlar reverse trascription polymerase chain reaction (RT-PCR) yöntemi ile test edilmesi faydalı olmaktadır. Kitler ekonomik olarak pahalı olduğundan dolayı bu testler zaman zaman ertelenmiş veya farklı yöntemler kullanılmıştır. RNA silika capture PCR koşulları ile optimize edilmiş, PVY' nin tespitinde hızlı ve duyarlı yanısıra ticari kitler güvenilir alternatif ve etkili maliyet sunmuştur (Zacharzewska vd., 2014).

Örtü altı çalışmalarında patates Y virüsünün iki izolatu virüs ile bulaşık patates bitkisinden bulaşık olmayan patates bitkilerine kontak etkili olarak doğrudan bulaştırma işlemi yapılmıştır. Fakat bu bulaştırma işlemi başarısız olmuştur. İki izolat yapraklara bulaştırıldıktan sonra farklı zamanlarda (6, 7 ve 28 saat) oda sıcaklığında tutulmuştur. Bu bekletmeler; pamuk, çuval bezi, metal, kauçuk, ve tahta gibi farklı yüzeylerde gerçekleştirilmiştir. PVY<sup>O</sup> 24 saatlik lastik ve metal üzerinde, 6 saat pamuk ve çuval bezinde, 3 saat tahta da aktif enfekteli olarak kalabilmiştir (Coutts vd., 2015).

Patates Y virüsü (PVY), patatesin verimine ve kalitesine, özellikle de tipik olarak PVY' nin rekombinant izolatları ile ilişkili olan patates yumru nekrotik leke (PTNRD) hastalığının indüksiyonuna bağlı olarak patates üretimine yönelik ciddi bir tehdit durumundadır. Bu izolatlar, son yıllarda ABD' de yayılmakta, ancak yayılmanın nedeni bilinmemesiyle beraber devam etmektedir. 2011 ve 2015 yılları arasında bu yayılımı belgelemek ve değerlendirmek için, Kolombiya'da patates üretilen alanlarda dolaşan PVY izolatlarının bileşimi, yüzlerce çeşitli tohumlardan elde edilebilmiştir. 2011 de ki tüm PVY pozitif bitkilerin %63' ünden 2015'te %7 ye düşmüştür (Robertson vd., 2017).

Bu çalışmada Mersin ve Adana'dan alınan bazı biber çeşitlerinde PVYve PLRV etkinliği araştırılmış ve sonuçlar yüzdesel olarak belirtilmiştir. Mersin

bölgesinde alınmış olan Latona çeşidinde PVY' nin varlığı %95.23 olarak belirlenmiş, Adana ve Mersin'de yetiştiriciliği yapılan Sante biber çeşidinde bu oran %88.40 tır. PLRV ise her iki il birden dikkate alındığında Bamba çeşidinde % 37.50 yaygın iken Sante, Safran ve Latona çeşitlerinde virüs varlığı görülememiş, Hermes çeşidinde % 25.58, Bamba çeşidinde % 16.66 ve Marfona çeşidinde % 7.01 oranında rastlanmıştır (Demir vd.,2005).

50 farklı kültürü yapılmayan ve kültür domates çeşitleri üzerinde PVY'ye karşı dayanıklılık kaynaklarını araştırmıştır. Yabani ve kültür türleri ve bu hatların çaprazlarından elde edilen F1 ve F2 hatları PVY ile mekanik olarak bulaştırılmıştır. İnokule edilen bitkiler, iki haftalık ve dört haftalık zamanlarda DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ile test edilmiştir. Kültürü yapılmayan domates türlerinde farklı şekillerde dayanıklılık tespit edilmiştir. *Lycopersicon chilense* ve *L. pennellii* ve *L. hirsutum* bitkisinde PVY'ye karşı dayanıklı olduğu gözlenmiştir (Barutcu, 2006).

Türkiye'de ilk kez 1931 yılında patates bitkisinde görülmüş ve şekilsel bakımdan alfabe'deki y harfine benzediği için Patates Y virüsü olarak adlandırılmıştır. PVY, tek sarmal RNA içerikli bir virüstürüdür. Patates Y virüsünün alındığı konukçu bitkiye ve biber varyetelerinin hastalık etmenine gösterdiği simptome bağlı olarak pek çok ırkları bulunmaktadır. Antalya ilinde ve ilçelerinde sera biber alanlarında PVY1,2 ırkının mevcut olduğu tespit edilmiştir. PVY' nin pek çok dayanıklılık kaynağı mevcuttur. Yolo Y ve Florida gibi biber çeşitlerinin hastalıklara test edilmiş ve dayanıklı oldukları gözlemlenmiştir (Çelik vd., 2010).

Patates Y virüsü (PVY) biber yetiştirilen alanlarda verim ve kalite düşüklüğünün yaşanmasına neden olmaktadır. Bu virüs hastalığının mücadelesinde en kolay ve ekonomik yol olarak dayanıklı biber türlerinin kullanılması olarak bilinmektedir. Dünya'da PVY'nin, PVY0, PVY1 ve PVY1-2 olmak üzere üç farklı ırkı mevcuttur. Bu ırkların hepsine dayanıklılık, yabani SCM 334 biber geninde bulunan baskın Pvr4 geni tarafından sağlanmaktadır. Bu çalışma boyunca dayanıklı SCM 334 biber geni kullanılarak sivri biber çeşidine geri melezleme ile Pvr4 geninin aktarılması amaçlanmıştır (Çelik vd., 2013).



### 2.3. Biber Iımlı Benek Virüsü (PMMV)

Biber ılımlı benek virüsü *Virgiviridae* familyasına ve *Tobamavirus* cinsine ait bit virüs türüdür. 318 x 18 nm partikül uzunluğundadır (McKinney, 1952). Mekanik yollarla ve tohumla kolayca taşınabilmektedir. Özellikle örtü altı ve seralarda kültürü yapılan konukçu bitkiler için önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Meyvelerde şekil bozukluğu, yapraklarda kloroz ve leke gibi belirtilere yol açmaktadır (Marte ve Wetter, 1986).

Yeşil biberlerden alınan örnekler için ELISA ve PCR yöntemlerinin uygulanması uygun bulunmuştur. Alınan yeşilbiber örneklerinin çoğunda DAS-ELISA testlerinden pozitif sonuçlar alınmıştır. Toplanmış olan 22 bulaşık olan ve bulaşık olmayan örneklerden PMMV, RT-PCR yöntemiyle başarıyla testlenmiştir (Ikegashira vd., 2004).

PMMV ırklarının biyolojik ve moleküler özellikleri kıyaslanmıştır. PMMV-Kr nin RNA geni 6356 nükleotid içermektedir. Dört farklı viral proteinin aminoasit ve nükleotid sekansları sırasıyla; PMMV-Kr, PMMV-S ve PMMV-J arasında %96.9 dan %100 ve %97.5 ten %98.8 e kadar tanımlanabilmiştir. PMMV-Kr nin cDNA tam uzunluğu primerlerin RT-PCR ile çoğaltılması ile bulunmuştur (Yoon vd., 2005).

PMMV'nin insanlarda bulunmasına çevrede oluşan kirliliğin bir faktör olduğunu belirtmiştir. 2008 ve 2011 yıllarında 30'u içme suyu ve 184'ü kaynak su olmak üzere örnekler toplamıştır. PMMV alınan örneklerin %74 ünde teşhis edilmiştir. Bu çalışmanın atık sularda virüs tespitine dair yapılan çalışma niteliğini taşıdığını belirtmiştir (Haramoto, 2013).

PMMV yıl yıl farklılık göstermekle beraber farklı alanlarda atık sularda görülmüş ve bu sayede kolayca yayılabilmektedir. İnsan dışkısında rastlanılan PMMV, farklı tavuk gibi diğer canlılarda tespit edilememiştir (Petrov, 2014).

Kahramanmaraş'ta yetiştiriciliği yapılan biberlerde, tohum ile taşınan AMV, CMV, TMV, ToMV, TSWV ve PMMV virüslerinin RT-PCR yöntemi ile tanıları yapılmıştır. Materyal olarak 2006 ve 2007 yıllarında aktif olarak çalışan biber kurutma tesislerinde farklı bölgelerdeki (Kılılı, Narlı, Beyoğlu, Pazarcık, Şekeroba

vs) çiftçilerden alınan biber örnekleri ile Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi (KSÜ), Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü çalışanlarının önceden yapmış oldukları biber çalışmalarından kalan tohumlar kullanılmıştır. Nükleik asit izolasyonu yapıldıktan sonra teşhis için PCR analizleri yapılmıştır (Yüzer, 2009).

Burdur ili biber üretim alanlarında *Cucumber mosaic virus* (CMV) ve *Pepper mild mottle virus* (PMMoV)'unun varlığının belirlenmesine yönelik bir çalışma yapmışlardır. 2012 ve 2013 yıllarında biber yetiştirilen alanlardan virüs simptomsu görülen 124 biber bitkisinden örnekler alınmıştır. Virüsler serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak teşhisler yapılmıştır. DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) testleri sonucunda; 124 örnekten 20'si virüs ile bulaşık olduğu ortaya çıkmıştır. Test edilmiş 8 adet örnek CMV, 8 adedi PMMV ile bulaşık olduğu ortaya çıkmışken, 4 adedi her iki virüs ile bulaşık olduğu ortaya çıkmıştır. RT-PCR (*Reverse transcription polimerase chain reaction*) çalışmalarında CMV için özel primer çiftleri kullanılarak kılıf protein geninin yaklaşık 678 bp'lik bir kısmı çoğaltılmış ve virüse özgü spesifik bantlar elde edilmiştir (Kılıç vd., 2015).

PMMV ilk olarak Avrupa' da 1984 yılında belirti olarak teşhis edilmiştir. Biberde Arjantin de gözlemlendiği belirtilmiştir (Anonim, 2018b).

Yürütülmüş PCR çalışmasında, test yapılması istenen kısımdan farklı bir bölgenin daha çoğaltılması internal kontroldür. Bu sayede bir reaksiyon tüpünde farklı iki PCR yapılması sağlanmış olur. İç kontrol kullanılması yapılan test çalışmasında herhangi bir problem olmasını ve yanlış negatif sonuçların verilmesi engellenmiş olur. İnternal kontrol hangi adımda kullanıldıysa eğer, o adıma bağlı nükleik asit izolasyonunu ve ya PCR aşamasını kontrol altında tutar. İnternal kontrol artmış ama testlenen problarda artış yoksa testlenen örnekler negatiftir sonucuna varılabilir. İnternal kontrol artmamış fakat testlenen prob ile artmış ise test işleminin tekrarlanmasına gerek kalmaz, çünkü duyarlılığını olumsuz yönde etkilemeyecek ve hafif biçimde artma gösterecek şekilde tasarlanmıştır. Hedef ve internal kontrol PCR' ı aynı alanda koşturulduğundan dolayı, hedef PCR' da yüksek pozitif olan örneklerin

internal kontrolü baskı altına alması normal bir durum olarak görülmektedir (Anonim, 2019a).

Muz bitkisinde bunchy hastalığı muz üretimi yapılan alanlarda, verimde önemli bir kayıp unsuru olmuştur. Hastalığı oluşturan etmen *banana bunchy top virus* (BBTV) etmenidir. BBTV' nin kılıf proteini PCR testleri ile tasarlanmıştır. Buna dahil olarak muz DNA dizisine PCR' da yaşanabilecek belirsizlikler ve yanlış negatifleri elemek ve görmek amacı ile internal kontrol kullanılmıştır (Mansoor vd., 2005).

RT-PCR yöntemi, aynı zamanda patates sarı damar virüsü, domates kloroz virüsü ve tütün çingirak virüslerini test etmek üzere düzenlenmiştir. Tasarlanan primerlerin bu üç virüs için kullanılabilir olup olmadığını görmek amacı ile internal kontrol kullanılmıştır. PCR uzatma süresi ve uzatma sıcaklığında değişiklikler yapılmıştır. Yapılan değişikliklerin hepsi multiplex RT-PCR' ye uygun maliyetli bir yöntem olduğu görülmüştür (Wei vd., 2009).

Çilek bitkilerinde, yaprak bitlerinden bulaşan çilek kırışıklık virüsü (SCV), çilek sarı solgunluk virüsü (SMYEV), çilen benek virüsü (SMoV) ve çilek damar bantlaşma virüsü (SVBV) çilek üretim alanlarında ciddi verim kayıplarına neden olmuştur. Bu çalışmada çilek bitliklerinden alınan ekstraksiyonlar ve RT-PCR' nin doğru çalışabilirliğini görmek için mRNA' ya özel internal kontrol ile bu virüslerin aynı anda tanısı için multiplex RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Test edilen çilek bitkilerinden 25 tanesinde istenilen büyüklükte PCR ürünü oluşturulmuştur. mRNA' ya özel internal kontrolün testlenen tüm çilek bitkilerinde çalışabilir olduğu görülmüştür (Thompson vd., 2003).

2005 yılına kadar tüm potyvirus dizileri kullanılarak tamamlandıktan sonra potyvirus türlerinin teşhisi amacı ile primer dizayn edilmiştir. Bu primeler NIB2F ve NIB3R primer çiftidir. Test edilen 40 potyvirus izolatından 23 tanesi tanımlanmış ve 3 tanesinin yeni bulunmuştur. Bu 40 virüs izolatından 350 bp uzunluğunda nükleik asitler amplifiye edilmiştir. İnternal kontrol kullanımı sonucunda bilinmeyen 12 potyvirus ırkı da tanımlanmıştır. RT-PCR'de internal kontrol ile tüm büyük

virüslerin tespit edilebileceği ve bu tespitlerin rutinleşmesi amaçlanmıştır (Zheng vd., 2010).

2008'de yapılan bu çalışmada PCR testlerinin hassasiyetini arttırmak için internal kontrolün kullanılmıştır. İnternal kontrolün kullanılmasındaki amaç, aynı primerlerin kullanılarak çoğaltılmasına izin vermektir. Çalışmada önemli görülen adımlardan birinin PCR' de bağlanma süresi olduğu yine bu çalışmada görülmüştür (Oikonomou vd., 2008).

Tüm nükleik asitlerden internal kontrol olarak bitkinin mRNA' sına özel iki multiplex RT-PCR testi yapılmıştır. Bu testlerde elma krolotik yaprak virüsünün, elma kök çukurlaşma virüsünün, elmaz mozaik virüsünün ve elma kök kanal virüsünün aynı anda testlenmesi amaçlanmıştır. Bu virüsler elma ve armut için ticari ve ekonomik önem taşımaktadır. Bu virüslerin özel primer çiftleri ve çoğaltılması istenen mitokondrial *nad5* geni tanımlanmış ve multiplex RT-PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. İnternal kontroller sayesinde birçok farklı virüs izolatu multiplex RT-PCR yöntemi ile testlenmesi mümkün olmuştur. İnternal kontrol ile virüs teşhisinde PCR kullanımının doğruluğu, güvenilirliği hassasiyeti ve hızlı oluşu anlaşıldıktan sonra kullanım yaygınlığı artmıştır (Menzel vd., 2002)

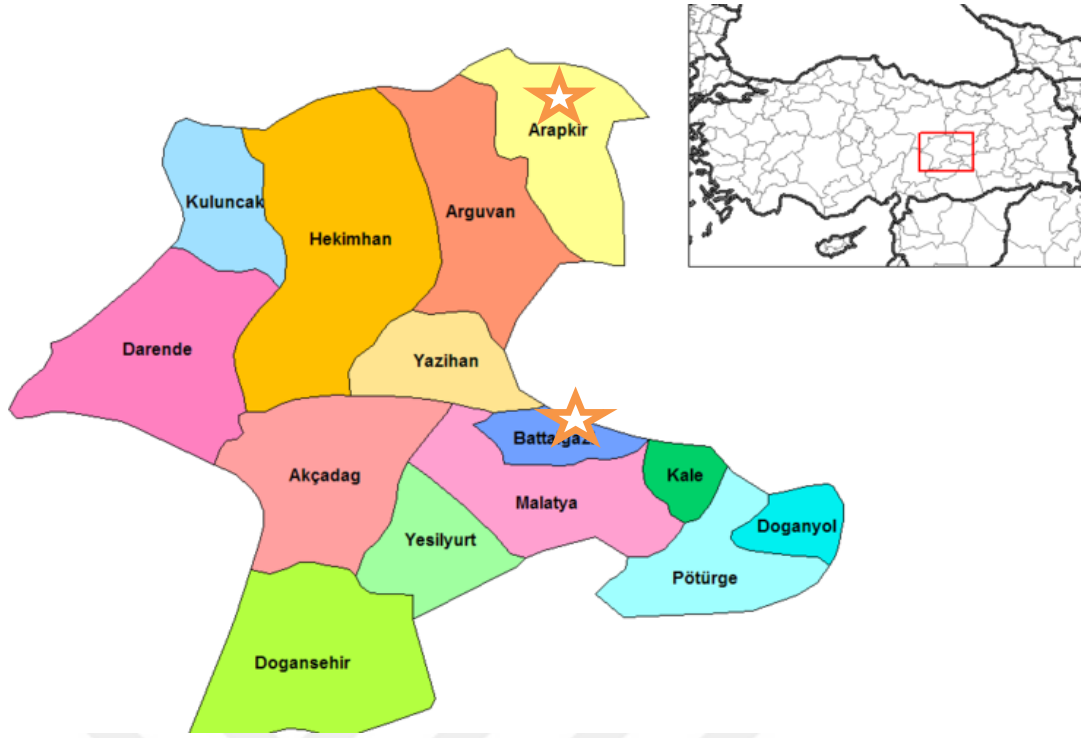
### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Çalışmanın ana materyalini Malatya'nın Arapgir ve Battalgazi ilçelerindeki tarlalardan alınan biber örnekleri oluşturmuştur. Çalışma kapsamında seçilen ilçeler olan (Şekil 3.1) Arapgir ve Battalgazi'de biber yetiştiriciliği yapılan tarlalar incelenmiş, Arapgir ilçesinden 71 ve Battalgazi ilçesinden 69 olmak üzere toplam 140 bitki örneği toplanmış (Çizelge 3) ve tarlayı homojen biçimde temsil edecek şekilde tesadüfi örnek alma yöntemi kullanılmıştır (Bora ve Karaca, 1970).

Çizelge 3. Battalgazi ve Arapgir ilçelerinde alınan örnekler

İlçe	Örnek Alınan Mevki/Bahçeler	Örnek Sayısı
<b>Battalgazi</b>	Musa Bey ve komşu bahçeler	16
	Nur Fidancılık Bahçeleri	10
	Büyük Alan	14
	İskele İlçe Çıkışı	10
	İskele Yolu Boyunca	21
	Mustafa Fahrettin	2
	Mehmet Doğan	2
<b>Arapgir</b>	Aşağı Bahçe	8
	Cömertli Köyü	13
	Aşağı Ulupınar Köyü	15
	Hezenek Mahallesi	15
	Alaaddin Bahçe	5
	Yukarı Ulupınar	9
<b>Toplam</b>		140



Şekil 3.1. Malatya ilinde survey gerçekleştirilen alanlar (Arapgir ve Battalgazi ilçeleri)

Simptom gösteren ve göstermeyen biber bitkilerinin yapraklarından test edilmek üzere örnekler alınmıştır (Şekil 3.2). Ayrıca çalışmada thermal cycler, santrifüj, elektroforez aleti ve güç kaynağı, jel görüntüleme sistemi, çeşitli tampon çözeltiler, primerler, buzdolabı, saf su cihazı, *Taq* DNA polimeraz enzimi, otoklav, pH metre, reverse transkriptaz enzimi (RT), mikropipet seti ve çeşitli kimyasal maddeler kullanılmıştır.



Şekil 3.2.Şüpheli simptom gözlenen ve örnekleme yapılan biber bitkisi

Arazi çalışmaları 2016 yılının Ağustos ve Eylül ayları ile 2017 yılının Mart ve Nisan aylarında yürütülmüş ve örnekler alınmıştır. Alınan örnek miktarı araziye çıkış yapılan tarihlerde ekili olan arazi durumlarına göre belirlenmiştir. Alınan örnekler etiketlenip, polietilen torbalar içinde buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir.

### **3.2. Yöntem**

#### **3.2.1. Survey çalışmaları**

Malatya ili Arapgir ve Battalgazi ilçelerinde biber üretimi yapılan arazilerde çeşitli dönemlerde biber bitkilerinin taze yapraklarından örnekler toplanmıştır. Örnekleme tarlayı homojen temsil edecek şekilde farklı yerlerden yapılmış ve simptom gösteren ve göstermeyen bitkilerden rastgele örnekler alınmıştır (Şekil 3.3).





Şekil 3.3. Battalgazi ilçesinde survey çalışmalarının yürütüldüğü biber tarlalarından bir görünüm

Toplanan biber örnekleri polietilen poşetlerde buz kaplarında soğuk zincirde muhafaza edilerek Malatya Turgut Özal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvara getirilen örnekler PCR testlerinde kullanılmak üzere +4°C de en fazla iki hafta süre ile muhafaza edilmiştir.

### **3.2.2. Moleküler test çalışmaları**

#### **3.2.2.1. RNA ekstraksiyonu**

RNA ekstraksiyonunda Foissac vd. (2001) yöntemi kullanılmıştır. 100 mg yaprak örneği 1 ml % 1 beta-mercapto ethanol içeren ekstraksiyon tampon çözeltisi üzerine konularak ekstraksiyon torbalarında ezilmiştir. 300 µl öz suyu alınmış ve üzerine % 10'luk sarcosine (Laury) tuzundan 100 µl koyulup vortekslenmiştir. Daha sonra tüpler kuru blok ısıtıcıda 70°C'de 10 dakika inkübasyondan sonra 5 dakika kutu içerisinde bulunan buzda bekletilmiştir. 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüjden sonra üst sıvının 300 µl'si alınarak yeni ependorf tüplere aktarılmıştır. Tüplere 150 µl ethanol, 300 µl 6 M NaI, 50 µl silika süspansiyonu eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. 6000 rpm'de 1 dakika santrifüjden sonra üst sıvı atılarak silika partiküllerini yıkamak için 500 µl yıkama tampon solüsyonu eklenmiştir. 6000 rpm'de santrifüjden sonra, yıkama işlemi iki kere tekrarlanmıştır.



Daha sonra tüplere 150 µl RNase free su eklenip 70 °C'de 4 dakika inkübasyondan sonra 13000 rpm'de 3 dk santrifüj edilmiştir. Üst sıvının 100 µl'lik kısmı alınacak ve yeni tüplere aktarılarak elde edilen RNA'lar cDNA sentezi yapılmaya kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklanmıştır.

### 3.2.2.2. RT-PCR testleri

PCR testlerinde araştırılan kimi virüslerin pozitif kontrolleri bulunmadığından internal kontrol amaçlı *nad-5* sense (GATGCTTCTTGGGGCTTCTTGTT) ve *nad-5* antisense (CTCCAGTCACCAACATTGGCATAA) primerleri kullanılmıştır. Bu primerler bitkiye ait Nad geninin spesifik olarak çoğalmasını sağlamakta ve bu sayede RT-PCR testlerine kontrol olarak kullanılmaktadır. Bu primerlerin kullanımı ile infekteli yada sağlıklı tüm biber örneklerinden 180 bp büyüklüğünde DNA bantlarının elde edilmesi amaçlanmıştır (Menzel vd., 2002).

#### 3.2.2.2.1. Patates Y virüsü (*Potato virus Y, PVY*)

Patates Y virüsünün RT-PCR yöntemi ile teşhisinde kullanılan primer çifti PVY-P1: 7861-CAACTCCAGATGGACAATTG-7882 ve PVY-P2: 8858-CCATTCATCACAGTTGGC-8875'dir. Bu primerler ile virüs genomunda yer alan kılıf protein geninin 1000 bp'lik kısmı çoğaltılmaktadır (Fateme vd., 2012). RT reaksiyonu için, steril bir PCR tüpü içerisine 3 µl total RNA bırakıldıktan sonra 2 dk 72 °C' de denatüre edilerek hemen buzda bekletilmiştir. Örnekler 17 µl reaksiyon karışımı (4 µl 5x RT reaction, 1 µl 0.1 M dithiothreitol [DDT], 0.5 µl RNasin [40 u µl<sup>-1</sup>], 1 µl dNTPs [10mM herbiri], 1 µl reverse primer [100 pmols µl<sup>-1</sup>], 5 µl MMLV reverse transcriptase [200 u µl<sup>-1</sup>], ve 9 µl H<sub>2</sub>O eklenmiş ve 1 saat 42 °C' de inkübe edilmiştir. Elde edilen cDNA örneğinin 5 µl'si 45 µl PCR karışımına (5 µl 10x PCR buffer, 2 µl MgCl<sub>2</sub> [50mM], 1 µl dNTPs [ her birine 10'ar mM], 1 µl forward primer [100 pmols µl<sup>-1</sup>], 1 µl reverse primer [100 pmols µl<sup>-1</sup>], 0.5 µl Taq DNA polimeraz [5 u µl<sup>-1</sup>], ve 34.5 µl H<sub>2</sub>O) eklenmiştir. PCR döngüsü programlanmış (Şekil 3. 4.), son uzama 72 °C' de 5 dk yapılmıştır (Çizelge 3.1.)



Şekil 3.4. Programlanmış PCR döngüsü

Çizelge 3.1. PVY için kullanılan PCR sıcaklık döngüsü

Hastalık	Sıcaklık döngüleri	Çoğaltılan uzunluk
<b>Patates Y virüsü</b> ( <i>Potato virus y</i> )	95 °C5 dk 95°C1 dk 55 °C1 dk 72 °C1 dk 72 °C5 dk	⇒ 1000 bp
		35 döngü

### 3.2.2.2.2 Patates X virüs (*Potato virus X*, PVX)

Patates X virüs (PVX)' ü için kullanılacak olan primer çifti ile tanısı Xianzhou ve Rudra (2000)'e göre yapılmıştır. Kullanılan primer çifti PVX-F 5' TAGCACAACACAGGCCACAG 3' ve PVX R-5'GGCAGCATTTCATTTCAGCTTC 3' dir. Örnekler RT reaksiyonu için 42 °C' de 90 dk inkübe edilmiş ve daha sonra reaksiyonu durdurmak için 95 °C' de 3 dk inkübe edilmiştir. Steril bir PCR tüpü içerisine 80 µl su, 4 µl cDNA ve 21 µl PCR karışımı eklenerek son hacim 100 µl' ye tamamlanmıştır. PCR karışımı 10 mM Tris-HCl, pH

8.3, 50mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM her bir dNTP, 50 mg herbir primer ve 0.625 U Taq DNA polimerazdan oluşmuştur. Örnekler döngüleri ayarlanan PCR içerisine yerleştirilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. PVX için kullanılan PCR sıcaklık döngüsü

Hastalık	Sıcaklık döngüleri	Çoğaltılan uzunluk
Patates Xvirüsü ( <i>Potato x virus</i> )	94 °C 1 dk 60°C 1 dk 72 °C 2 dk 72 °C 10dk	30 döngü 633 bp

### 3.2.2.2.3 Biber ılımlı benek virüsü (*Pepper mild mottle virus, PMMV*)

Biber ılımlı benek virüs (PMMV)' ünün RT-PCR testi Rialch vd., (2015)' e göre yapılmıştır. Kullanılmış olan primer çifti kılıf proteinine ait olup, dizisi PMMV F-5'CCAATGGCTGACAGATTACG-3' ve PMMV-R5'CAACGACACCCTTCGATTT-3' şeklindedir. RT-PCR amplifikasyonu 25 µl toplam hacim olmak üzere 2.5 µl 10x Taq DNA buffer, 1 µl 25 MgCl<sub>2</sub>, 2.5 µl 2 mM dNTPs karışımı, 1 µl ve 10 mM her biri spesifik primer, 0.2 µl 5U/ µl Taq DNA polimeraz enziminden oluşmuştur. Döngü programının ayarlanması yapılmış, son uzama 72 °C' de 7 dk olarak PCR işlemi sonlandırılmıştır(Çizelge3.3).

Çizelge 3.3. PMMV için kullanılan PCR sıcaklık döngüsü

Hastalık	Sıcaklık döngüleri	Çoğaltılan uzunluk
<b>Biber ılımlı benek virüsü</b> <i>(Pepper mild mottle virus)</i>	94 °C 4 dk 94°C 15 sn 48 °C 40 sn 72 °C 1 dk 72 °C 7 dk	35 döngü ⇒ 630 bp

### 3.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezde Koşturulması

RT-PCR sonucu elde edilen PCR ürünleri %1'lik agaroz jel kullanılarak elektroforez yapılmıştır. Bir gram agaroz, 100 ml 1XTAE (Tris-Asetik asit, EDTA) tamponu içinde mikrodalga fırında homojen olarak çözdürülüp, 1 µl floresan DNA boyası eklenmiş ve jel tepsisine tarak takılarak tepsiye dökülmüştür. Jelin katılaşması için ortalama 20-25 dk beklenmiştir. Jel katılaşmasından sonra tarak jele zarar vermeden dikkatli bir şekilde çıkarılarak elektroforez tankına yerleştirilmiş ve üzerini kapatacak şekilde 1XTAE tamponu dökülmüştür (Şekil 3.5). Jel çukurlarına DNA marker ve PCR ürünleri yüklenmiştir. Yükleme tamamlandıktan sonra elektroforez aparatına 100 voltluk elektrik akımı 30 dk süreyle uygulanmıştır.



Şekil 3.5. Jelin elektroforezde koşturulmaya hazır hali

### 3.4. PVY Pozitif Kontrol İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden (Dr. Öğr. Üyesi Mustafa USTA) temin edilmiş olan patates PVY izolatları (PVY-1 ve PVY-2) pozitif kontrol olarak kullanılmış ve moleküler karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. PVY-1 ve PVY-2 izolatlarının PCR yöntemi ile çoğaltılması Çizelge 3.4.de verilen miktarlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. PVY izolatlarının PCR yöntemi ile çoğaltılmasında kullanılan miktarlar

---

#### PCR karışımı bir örnek için

10x PCR buffer	5 µl
50mM MgCl <sub>2</sub>	2µl
10 mM dNTPs	1 µl
100 µl Forward Primer	1 µl
100 µl Reverse Primer	1 µl
0.5 µl Taq DNA polimeraz enzimi	0.5 µl
RNase free su	34.5 µl

---

#### **3.4.1.PCR ürünlerinin DNA dizilemesi**

Elde edilen PCR ürünleri DNA dizilemesi yapılması amacı ile ticari firmaya (Sentegen)gönderilmiştir.

#### **3.4.2. Biyoinformatik yöntemler kullanılarak DNA dizi analizi ve filogenetik analiz**

DNA dizilemesi yapılan PVY izolatlarının nükleotid dizileri CLC Main Workbench ve Vector NTI programları ile analizleri yapılmıştır. BLAST programı ile Gen Bankası'nda mevcut olan ırk ve izolatlar ile karşılaştırılması yapılmış ve yüzde benzerlik oranları tespit edilmiştir. Filogenetik ağacın belirlenmesinde Neighbour Joining yöntemi kullanılmıştır. Biyoinformatik programlar yardımı ile PVY izolatlarının filogenetik ağacı oluşturulmuş, dünya izolatları ile farklılıkları ve benzerlikleri belirlenebilmiştir.

#### **3.4.3. DNA dizilerinin gen bankasına girilmesi**

PVY izolatlarının nükleotid dizilerinin National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gen Bankası' na kaydı yapılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Survey Çalışması

Malatya ili, Arapgir ve Battalgazi ilçelerinde Patates X virüsü, Patates Y virüsü ve Biber ılımlı benek virüslerinin varlığını tespit etmek için önceden de belirtildiği üzere tarlaları mümkün olduğunca temsil edilecek şekilde rastgele 140 bitki örneği toplanmıştır. Toplanan örneklerde mozaik, deforme olmuş yapraklar ve klorozu anımsatan renk bozuklukları, cüceleşme gibi belirtiler göze çarpmıŐtır (Şekil 4.1).

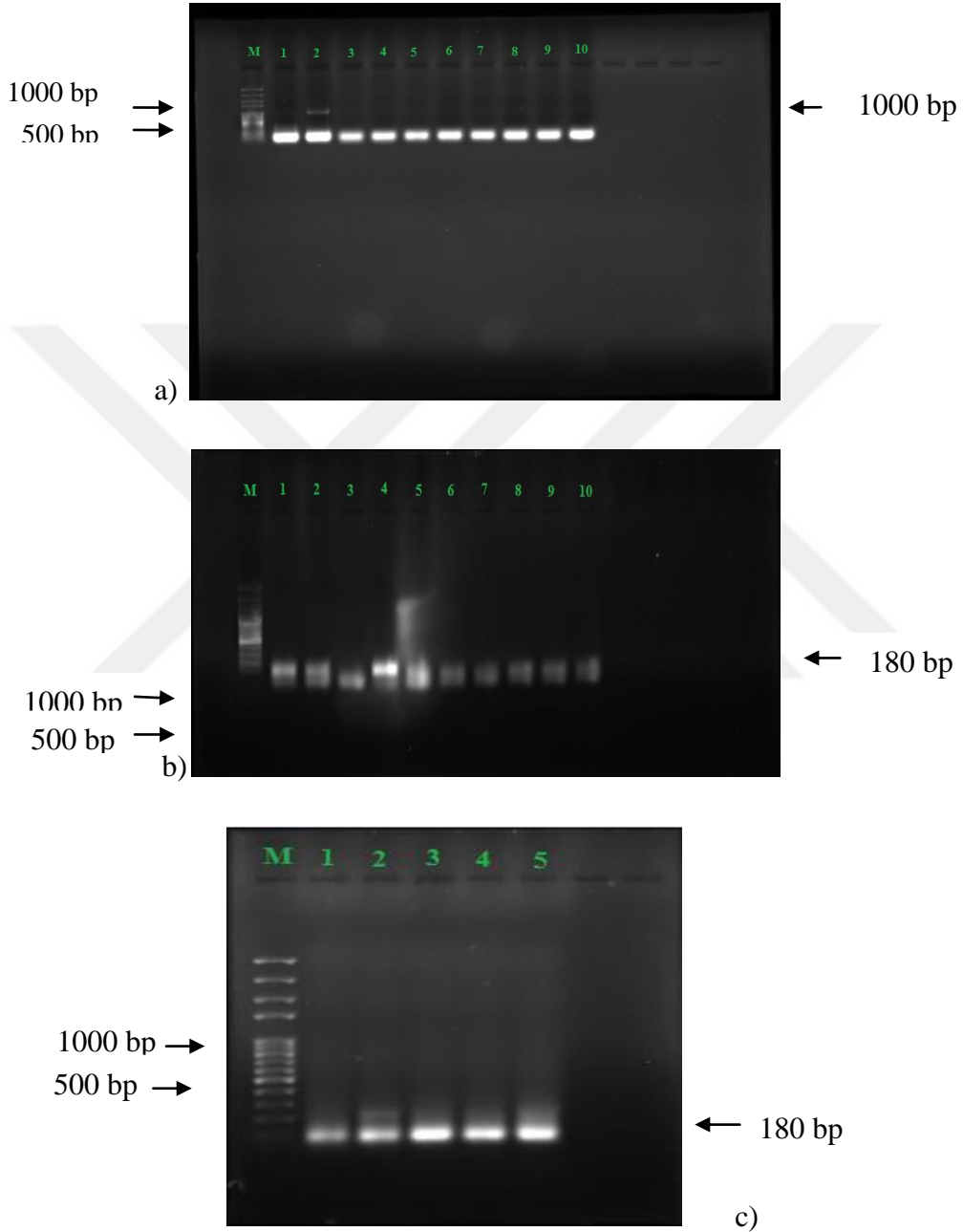


Şekil 4.1. Survey çalışmalarında biber bitkilerinde gözlenen kloroz ve yapraklarda şekil bozukluğu



## 4.2. Moleküler Test Çalışmaları

Malatya İli Battalgazi ve Arapgir ilçelerinde Çizelge 4.'de belirtilen bölgelerden toplanan örneklerin tamamı Patates X virüsü, Patates Y virüsü ve Biber ılımlı benek virüsleri için RNA ekstraksiyonu yapılmıştır.



Şekil 4.2. PVY (a (M:Marker,1: 1, 2: P2, 3: 2, 4: 3, 5: 4, 6: 5, 7: 6, 8: 49, 9: 50, 10: 51 nolu örnek)), PMMV (b (M:Marker, 1: 1, 2: 2, 3: 3, 4: 4, 5: 5, 6: 6, 7: 48, 8: 49, 9: 50 ve 10: 51 no lu örnek)) ve PVX (c (M:Marker, 1: 1, 2: 2, 3: 3, 4: 51 ve 5: 52 no lu örnek)) elektroforez görüntüleri



Teşhisler için RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. PVY için Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Viroloji laboratuvarından Dr. Öğr. Üyesi Mustafa USTA' dan iki adet pozitif kontrol (PVY-1ve PVY-2) temin edilip kullanılmış ve 1000 bp'lik bant elde edilmiştir. PVX ve PMMV virüsleri için de internal kontrol kullanılmıştır. Testlenen örnekler şekil üzerinde gösterilen numaralar ile yüklenmiştir. Genesta DNA ladder (1000 bp) marker olarak kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda herhangi bir virüs varlığına rastlanılmamıştır (Şekil 4.2).

### 4.3. PVY Pozitif Kontrol İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu

#### 4.3.1. Nükleotid dizilerinin analizi

Karakterizasyonu gerçekleştirilen PVY izolatlarının DNA dizilemesi Sentegen firması tarafından yapılmıştır. PVY-1 izolatına ait kılıf protein geninin 359 bp uzunluğundaki dizisi ile PVY-2 izolatına ait kılıf protein geninin 398 bp uzunluğundaki DNA dizisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. PVY-1 izolatına ait kısmi kılıf protein geni dizisi ile ona karşılık gelen amino asit dizisi

Baz uzunluğu(bp)	Nükleik asit baz dizisi
359	GACTCCAAAGTTCGTATGCAGTTGTACCGCTTCTACCA CGTATCAAACGTGATTGAGTTGCTCGAGTATTCAAGA TGTCTCTTGCTGGGGAGCATACTCTAGTAAGTGTTCC AAATTTAGTACAGTTGCACCTTTACTCTTGGGCATTCTC ATTTTGGACGTGATAGCTTTAATTCGTGGCACAGTATG AGTCCAGATGTTCCAACATTCACGTCCTTTTCCTTTTC CTTGTTGAGATTTGGTTGAATGCTACCTTGCTCTTGTTT TGCATCCTTCTTAGTGCTTCCTCCCGCATCTATTGTGTC ATTCCTTGATGGGCACTTCATAAATATCGCACTCAATT ACATAATTCAA
	<b>Amino asit dizisi</b>
	FELCN*VRYL*SAHQGNDTIDAGGSTKKDAKQEQGSIQPN LNKEKEKDVNVGTSHTVPRIKAITSKMRMPKSKGATV LNLEHLLYAPQQEDILNTRATQSQFDTW*KRYNCIRTLE

Çizelge 4.2. PVY-2izolatına ait kısmi kılıf protein geni dizisi ile ona karşılık gelen amino asit dizisi

Baz uzunluğu(bp)	Nükleik asit baz dizisi
398	GGAATCAAATTCGAATGCATCCGCACTGCCTCATACCA CGTATCAAACACTGTGATTGAGTTGCCCGAGTATTTAAAA TGCTCTTTGATGTGGAGCATACTCAAACAAGTGTTCTA AATTTAGTACGGTTGCTCCCTTGCTTGTGGGCATTCTCA TTTTGGACGTGATAGCCTTGATTCTCGGCACAGTATGA GTCCCAGATGTACCAACATTACATCCTTATCTTTTCT TTGTTCAAGTTTGAATGAATGCTGCCTTGCTCTGGTCTT GCATCTTTCTTGCTGCTTCCTCCTGCATCGATTGTGTC TTTGCTTGATGGTATACTTCATAAGAATCAAATTCAAA CTCATCATCTAATGCAACCATCATTTTCAGTGAAAGCTC TCATCTTCTCCTCA
	<b>Amino asit dizisi</b>
	*GRDESFH*NDGCIR**V*I*FL*SIPSSK*HNRCRRKQQERC KTRARQHSFKPEQRKR*GCECWYIWDSYCAENQGYHVQ NENAHKQGSNRTKFRTLV*VCSTSKSILNTRATQSQFDTW YEA VRMHSNLI

Nükleotid düzeyinde Gen Bankasında yapılan karşılaştırmalarda PVY-1ve PVY-2 izolatlarının dünyadaki diğer PVY izolatları ile %94 ile 95 arasında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Aminoasit dizisi temel alındığında PVY-1 izolatının Gen Bankasındaki izolatlar ile en yüksek %98, PVY-2 izolatı ise % 95 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

CLC Main Workbench 6.2 programı ile PVY-1 ve 2 izolatları karşılaştırılarak filogenetik ağacı oluşturulmuştur. Yapılan filogenetik ağaçta PVY-1 ve PVY-2 izolatlarının KM974182 erişim numaralı PVY<sup>NTN</sup> İran'da bulunan patates ırkı ile benzerliğinden dolayı filogenetik ağaçta aynı grupta yer almıştır. İran patates ırkından sonra en fazla yakınlık gösteren ırk Gen Bankası AB702953 erişim numaralı Japonya patates PVY<sup>NTN</sup> ırkı olmuştur (Şekil 4.2).

#### 4.3.2. Mutasyon analizi

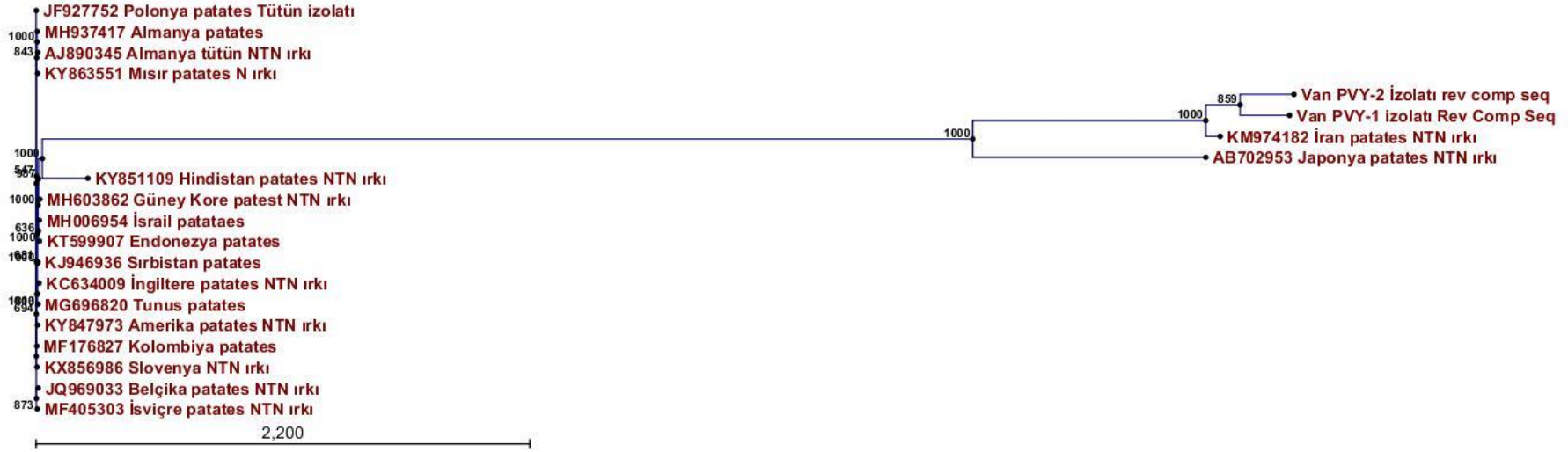
CLC Main Workbench 6.2 programı ile PVY-1 ve 2 izolatlarının çoklu nükleik asit karşılaştırmaları yapılmış ve nükleotid dizileri üzerindeki mutasyonlar (yer değiştirme, silinme ve eklenme) belirlenmiştir.

PVY-1 izolatında üzere 6 adet nükleotid yer değiştirme ile 3 adet nükleotid silinme mutasyonu tespit edilmiştir. Nükleotid eklenme mutasyonunun ise olmadığı görülmüştür. PVY-2 izolatında ise 48 adet nükleotid yer değiştirme mutasyonu olduğu görülmüş ve 1 adet nükleotid silinme mutasyonu tespit edilmiştir. PVY-2 izolatında da nükleotid eklenme mutasyonu tespit edilmemiştir (Şekil 4.3).

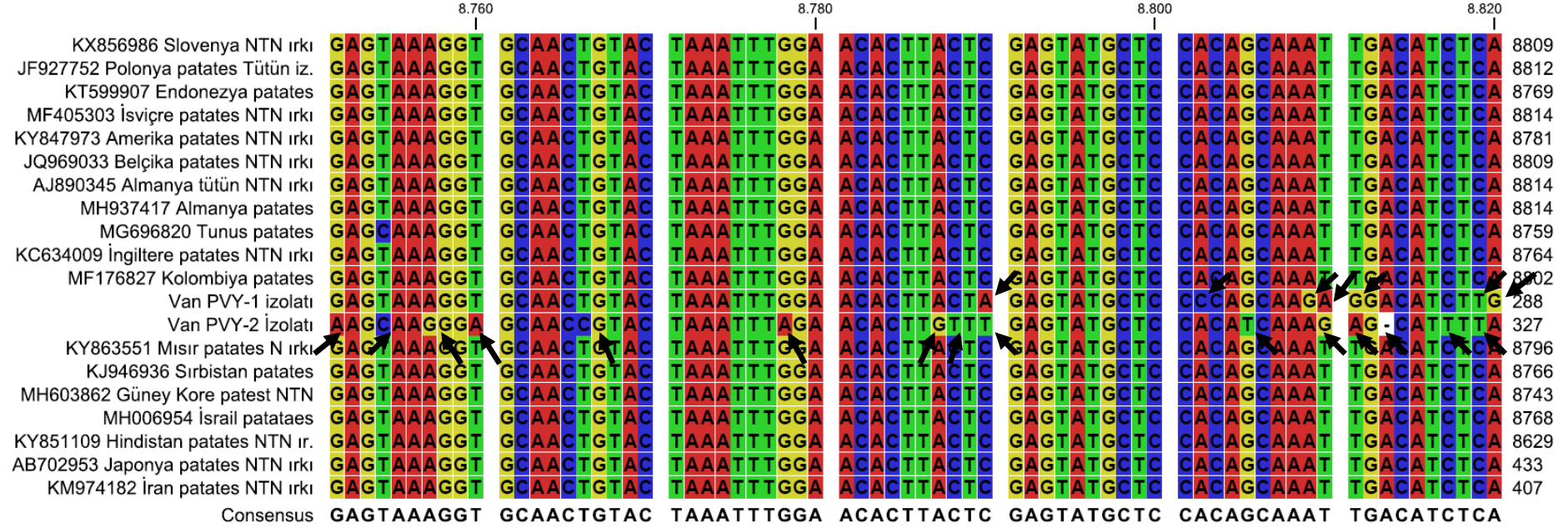
Çizelge 4.3. PVY pozitif kontrol izolatlarının dünyadaki diğer PVY izolatları ile benzerlik oranları

Ülke	Ulaşım numarası	Benzerlik oranları	Konukçuları
Slovenya	KX856986.1	% 95.14	Patates
Polonya	JF927752.1	% 95.14	Tütün
Endonezya	KT599907.1	% 94.86	Patates
İsviçre	MF405303.1	% 95.14	Patates
Amerika	KY847973.1	% 95.14	Patates
Belçika	JQ969033.1	% 95.14	Patates
Almanya	AJ890345.1	% 95.14	Tütün
Almanya	MH937417.1	% 95.14	Patates
Tunus	MG696820.1	% 94.86	Patates
İngiltere	KC634009.1	% 95.14	Patates
Kolombiya	MF176827.1	% 95.14	Patates
Mısır	KY863551.1	% 95.14	Patates
Sırbistan	KJ946936.1	% 95.14	Patates
Güney Kore	MH603862.1	% 94.86	Patates
İsrail	MH006954.1	% 95.14	Patates
Hindistan	KY851109.1	% 95.14	Patates
Japonya	AB702953	% 95.14	Patates
İran	KM974182	% 94.41	Patates

Şekil 4.3. PVY-1 ve PVY-2 izolatları ile PVY dünya izolatlarının ile oluşturulan filogenetik ağaç



Şekil 4.4. PVY-1 ve PVY-2 izolatlarına ait mutasyon analiz sonuçları



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Malatya ili Battalgazi ve Arapgir ilçelerinde 2016 ve 2017 yıllarında toplam 140 adet biber bitkisinden örnekler toplanmıştır. Toplanan bu örnekler Patates Y virüsü (*Potato virus Y*), Patates X virüsü (*Potato virus X*) ve Biber ılımlı benek virüsü (*Pepper mild mottle virus*)' ne karşı RT-PCR ile test edilmiştir. Test edilen örneklerin hiç birisinde araştırılan viral enfeksiyonlara rastlanmamıştır. Malatya ilinde biber yetiştirilen alanlarda bu virüslere rastlanılmaması üreticilerimiz için sebze yetiştiriciliği bakımından büyük önem arz etmektedir. Bu virüslerin görülmemesi sebepleri arasında çalışma sırasında yapılan gözlemlere dayanılarak; yerli çeşitlerin kullanılıyor olması, dışarıdan bölgeye fide gibi vejetatif üretim materyallerin sınırlı olması ve vektörler iyi mücadele edilmesinden kaynaklı olduğu söylenebilir. Malatya ili Battalgazi ve Arapgir ilçelerinde biber yetiştirilen alanlarda bu virüslere rastlanılmaması ileride bu veya diğer virüslere rastlanılmayacağı anlamına gelmemektedir.

Çalışmanın gerçekleştiği biber tarlalarında bitkilerde virüs benzeri belirtiler görülse de çoğu zaman bu belirtilere besin element eksikliği, yaprak bitleri gibi sokucu emici ağız yapısına sahip zararlıların beslenmesi veya bu tez çalışmasının konusunu oluşturmayan ve *Solanacea* familyası bitkilerinde enfeksiyon yapabilen diğer etmenlerden kaynaklanabileceği göz önüne alınmalıdır. Nitekim, Hatay ilinde biber yetiştirilen seralarda ve açık alanlarda patates Y virüsü (PVY), kabak mozaik virüsü (CMV), pancar kıvrıcıklık virüsü (BCTV) patates yaprak kıvrıcıklık virüsü (PLRV), patates x virüsü (PVX), domates mozaik virüsü (ToMV) ve domates lekeli solgunluk virüsleri (TSWV) DAS-ELISA yöntemi ile testlenmiştir. TSWV nin alınan örneklerin %25 inde görülmesine karşın BCTV ile ilgili varlığına dair pozitif bir sonuç alınamamıştır (Özdağ ve Sertkaya, 2017).

Biber üretimi yapılan Kuzeydoğu Yunanistan tarlalarında 1983-1984 yıllarında yaklaşık tüm biber bitkilerinin hastalık ile bulaşık olduğunu belirtmiştir. Farklı arazilerden toplanan biber yaprak örnekleri serolojik olarak test edilmiştir. Tütün yanıklık virüsünün (*Tobacco etch virus*, TEV) bulaşıklık oranı % 94 olduğu tespit edilmiştir. Alınan 914 örnekten 9 yaprak örneğinde PVY görülmüştür. Buna karşın Biber benek ve Tütün mozaik virüsleri testlerinden sonuç alınmamıştır (Benner vd., 1985).

Avustralya’ da yabancı otların şeker kamışı için tehdit oluşturabileceği düşünülmüş ve yabancı ot çeşitlerinden 20 yaprak örneği toplanmıştır. Belirti gösteren çeşitlerde belirtilerden SCWL ye benzerlik fark edilmiştir. Yedi yabancı ot çeşidinde dört farklı fitoplazma teşhis edilmiş fakat herhangi bir virüsün varlığına rastlanmamıştır (Blanchet vd., 2003).

Havai’de su teresinde yaprak deformasyonu, cüceleşme ve cadı süpürgesi şeklinde virüs benzeri belirtiler görülmüştür. Bu belirtiler Oahu’ daki bütün çifliklerde yaygın olmasına Havai’ nin başka gölgelerinde görülmemektedir. Belirti gösteren su teresi bitkilerinde yapılan testler sonucunda hastalığın virüs olmadığı ve Japonya’ da soğan bitkilerinde görülen sarılık hastalığı olduğu görülmüştür (Borth vd., 2006).

ABD’de 14 patates sertifikasyon şirketi, patates yetiştiriciliği yapılan arazilerde Patates iğ yumru viroidinin varlığı belirlemek amacıyla çalışmalar yapmıştır. Çalışmada 1990–2000 yılları arasında resmi olan tüm patates türlerinde testler yapılmıştır. Çalışma sonucunda sertifikalı patateslerde Patates iğ yumru viroidinin olmadığı sonucuna varılmış ve bu bölgeye patates yumru viroidinin olmadığı bölge olarak karar verilmiştir (Sun vd., 2004).

Kuzey Saskatchewan arazilerinde kanola bitkisinde 2001–2006 yılları arasında bazı istisna araziler dışında aster sarılığı hastalığı varlığı gözlemlenmesine karşın tahıl, bezelye ve keten bitkilerinde aster sarılığı hastalığı 6 yıl boyunca gözlemlenmemiştir. 2002 – 2006 yılları arasında hasat edilen tahıl ve kanola bitkilerinde PCR testi yapılmıştır. Tesler sonucunda testlenen semptomsuz bitkilerin büyük bir kısmında fitoplazma varlığına rastlanmıştır. 2004 ve 2005 yıllarında bezelye ve keten bitkilerinde fitoplazma varlığı görülmemiş. 2006 yılında 260 keten bitkisinden 6’ sında fitoplazma varlığı belirlenmiştir (Oliver vd., 2006).

Moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilen PVY-1 ve PVY-2 izolatlarının dünyada tespit edilmiş ve Gen Bankası’na kaydedilmiş olan diğer PVY izolat ve ırkları ile hem nükleotid düzeyinde hem de amino asit düzeyinde karşılaştırılmaları yapıldığında yüksek düzeyde benzerlikler tespit edilmiştir. Nükleotid düzeyinde benzerlik oranının her iki izolat için de % 94-95 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Her iki izolatın dünya izolatları ile amino asit düzeyinde yapılan karşılaştırmalarda

benzerlik düzeyinin % 95 olması nükleik asit benzer düzeyini desteklemiştir. Nitekim, Pakistan'da patates yetiştirilen alanlarda önemli bir viral hastalık etmeni olan PVY'nin serolojik ve moleküler yöntemlerle tanısını yapmışlardır. Kılıf protein genini çoğalttıkları PCR testinde 795 nükleotid uzunluğuna sahip olan izolatın diğer Pakistan izolatları ile % 99.98'lik benzerlik gösterdiğini tespit etmişlerdir (Abbas vd., 2015).

Kuzey Çin'de yapmış oldukları bir çalışmada 110 patates örneğini testlemiş ve yeni bir PVY izolatı bulmuşlardır (HLJ-C-44). Bu izolatın tam genomunu analiz etmişler ve filogenetik analizde PVY rekombinantlarından N-Wi strainine dahil olduğunu bulmuşlardır. Fakat, rekombinasyon analiz sonucuna göre HLJ-C-44 izolatının biyolojik özellikleri bakımından diğer N-Wi izolatlarından farklı olduğunu bulmuşlardır (Han vd., 2017).

15 patates örneğinin yaprak ve yumrularından IC-RT-PCR yapmışlar ve Potato virus Y (PVY) izolatlarının yeni nesil sekanslama yöntemi ile yaptıkları dizi analizine tabi tutmuşlardır. Filogenetik analiz sonucunda yaprak örneklerinin recombinant PVY NTN izolatı ile % 99, yumru örneklerinin ise %95 benzerlik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Viral kılıf proteininin Sanger sekans analizine göre, PVY O ile ilişkili tüm dünya için yeni bir recombinant straini olduğunu bulmuşlardır (Munoz vd., 2016),.

Biberde görülen PVY 0,1 ve 2 patotiplerine ELISA testi yapmışlar ve tipik olarak bibere ait olmayan PVY grubu strainlerinin monoklonal antibadilerine reaksiyon vermeyen izolatların PVY kılıf protein genine yaptıkları sekans analizi sonucunda 3 farklı PVY patotipi belirlemişlerdir. En yüksek benzerlik patotip 0 ve 1 arasında bulunurken (% 99.2) en düşük benzerlik ise patotip 1 ve 2 arasında bulunmuştur (% 98.1). Filogenetik analiz sonucunda ise biber PVY izolatlarının diğer PVY strainlerinden farklı olduğunu bulmuşlardır (Llave vd., 1999).

Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgulara göre, Battalgazi ve Arapgir ilçeleri için ekonomik öneme sahip olan biber bitkisinde bu tez kapsamında araştırılan virüslere rastlanılmaması bu bölgedeki biber yetiştiriciliği açısından önemli bir avantajdır. Ancak, viral haritanın tam olarak ortaya çıkarılabilmesi için Malatya ilinin biber yetiştirilen diğer ilçelerinde de survey çalışmalarının



yürütülmesi gerekmektedir. Ayrıca, daha geniş kapsamlı çalışmalar ile *Solanaceae* familyasına ait diğer bitki türlerinde de benzer survey çalışmalarının yapılarak viral haritanın daha sağlıklı bir şekilde ortaya konulması gerekmektedir. Biber virüslerinin survey gerçekleştirilen bölgelerde viral hastalıkların problem oluşturmaması bakımından virüsten ari, dayanıklı ve/veya toleran çeşitlerin yetiştirilmesi ve kullanılması, sertifikalı temiz tohum ve fide kullanmak, fide ve fide yataklarını temiz tutmak ve vektörler ile iyi bir şekilde mücadele etmek önerilmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Abbas, M. F., Rauf, C. A., Irshad, G., (2015). Nucleotide evidence of capsid protein gene of potato virus Y from a Pakistani isolate. *Pak. J. Agri. Sci*, **52**(4), 881-886.
- Anonim, (2019a)  
<http://www.anatoliagenetworks.com/tr/destek.asp?id=3&baslik=S%C4%B1k%20Sorulan%20Sorular&bas=S%C4%B1k%20Sorulan%20Sorular> (Erişim tarihi 20/04/2019)
- Anonim, (2019b). TÜİK. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim tarihi 22/05/2019).
- Anonim, (2018a). TÜİK. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim tarihi 18/09/2018)
- Anonim, (2018b). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/43826> (Erişim tarihi 05/07/2018)
- Anonim, (2017a). <http://www.dunyagida.com.tr/haber/biberin-anavatani-ve-yayilisi/2045> (Erişim tarihi 24/11/2017).
- Anonim, (2017b). <http://www.ipcnet.org/n/map/?path=map&page=cmp> (Erişim tarihi 24/11/2017).
- Anonim, (2015).  
[http://www.nedspice.com/upload/docs/Nedspice\\_Pepper\\_Crop\\_report\\_2015.pdf](http://www.nedspice.com/upload/docs/Nedspice_Pepper_Crop_report_2015.pdf) (Erişim tarihi 24/11/2017).
- Barutçu, (2006). Domateste Patates Y Virüsü (PVY) Dayanıklılığının Genetiği. Pamukkale Üniv. Fen Bil Enst. Yüksek Lisans Tezi. **43**, 86.
- Benner, C. P., Kuhn, C. W., Demski, J. W., Dobson, J. W., Colditz, P., and Nutter, F. W., Jr (1985). Identification and incidence of pepper viruses in northeastern Georgia. *P. Disease* **69**, 999-1001.
- Blanchet, K. R., Tran-Nguyen, L. T. T., Gibb, K. S., (2003). Detection, identification and significance of phytoplasmas in grasses in northern Australia. *Plant Pathology* **52**, 505-512.
- Bora, T. ve Karaca, İ. (1970). Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Ege Üniv. Yard. Ders Kitabı, Y. No: 167, E.Ü. Mat., Bornova-İzmir, **8s**.
- Borth, W. B., Fukuda, S. K., Hamasaki, R. T., Hu, J. S., Almeida, R. P. P. (2006). Detection, characterisation and transmission by Macrosteles leafhopper of watercress yellow phytoplasma in Hawaii. *Annals of Applied Biology ISSN* 0003-4746.
- Bostan, H ve Demirci, E., (2001). Patates X ve Y virüslerinin Bazı Patates Çeşitlerinde Neden Olduğu Simptomlar. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.* **32** (1), 1-4

- Bostan, H ve Dursun, A., (2002).Kemaliye ve Yusufeli İlçelerindeki Biber Üretim Alanlarındaki Bazı Virüs Hastalıklarının Belirlenmesi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*, **34**(4), 391-392.
- Brandes, J. (1964) Brandes, J., 1964. Identifizierung von gestreckten pflanzenpathogenen Viren auf morphologischer Grundlage. *Mitt. Biol. BundAnst. Ld- u. Forstw.* 110: 1–130.
- Coutts, B. A., and Joes, R. A. C. (2015). Potato virus Y: Contact transmission, stability, inactivation, and infection sources. *Plant Dis.* 99.387 – **394**.
- Cuevas, J. M., Delaunay, A., Visser, J. C., Bellstedt, D. U., Jacquot, E., Elena, S. F., (2012). Phylogeography and Molecular Evolution of Potato virus Y. *PLoS ONE*, **7**(5):e37853
- Cerkauskas, (2004). AVRDC- The World Wegetable Center Fact Sheet Publication **04-587**.
- Çelik, İ., Özalp, R., Çelik, N., İ, Polat., Sülü, G., Ünlü, A., (2013). Patates Y virüsüne karşı dayanıklı sivri biber hatlarının geliştirilmesi. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü. *Derim*, **30**(2):42-53
- Çelik, N., Özalp, R., Göçmen, M., (2010). Antalya ilinde örtüaltı biber yetiştiriciliğinde PVY patotiplerinin belirlenmesi ve bazı biber çeşitlerinin PVY' ye karşı reaksiyonları. B. K. Bülteni 2012, **52**(3):235-246
- Demir, (2005). K. Maraş'ta Yetiştirilen Kırmızı Biberde Yaprak Biti ile Taşınan Virüslerin Saptanması. K. M. Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Dragoljub, D., Sutic, R. E., Ford, M., Totic, T. (1999). Handbook of Plant Virus Diseases. CRC Press, Boca, Raton, London, New York, Washington DC, **535** p.
- Fateme,Z.F., Asadollah, A. and Saeed, N. (2012). Ident. and det. of PVY strains by molecular methods in tobacco fields on North Iran. *Int. Res. Journ of Applied and Basic Sciences.* 3(7), 1422-1428
- Foissac X, Svanella- Duas L, Dulucq MJ, Candresse T, Gentit P, (2001). Polyvalent detection of fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by Nested RT-PCR using (PDO RT-PCR). *Acta Horticulture* 551(550):37-43
- Han, S., Gao, Y., Fan, G., Zhang, W., Qiu, C., Zhang, S., Bai, Y., Zhang, J., Spetz, C., (2017). A Novel Recombined *Potato virus Y* isolate in China. *Plant pathology J.***33**(4)382-392.
- Haramoto, E., Kitajima, M., Kishida, N., Konno, Y., Katayama, H., Asami, M., Akiba, M., (2013). Occurance of PMMV in Drinking Water Source in Japan. *Appl Env. Mic.***79**(23) 7413-7418
- Ikegashira and Narayanasamy. P., (2004). Molecular Biology in Plant Pathogenesis and Disease Management. *S*, **22**(1): 256-262.

- Kılıç, H. Ç., Leventi I., Nejla, Y., Kader D., (2015). Burdur Biber yetiştirilen Alanlarda Biber Lekeli Solgunluk Virüsü (PMMOV) Tespiti. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* **6**, 258-259.
- Lacomme, C., Glais, L., Bellested, D., Dupuis, B., Karasev, A., Jacquot, E. (2017). General Characteristics of potato virus Y (PVY) and Its Impact on Potato Production: An Overview .PVY: biodiv., path., epid. and management pp 1-19
- Llave, C., Marinez, B., Diaz-Ruiz, J. R., Abella, L., (1999). Serological analysis and coat protein sequence determination of potato virus Y (PVY) pepper Pathotypes and differentiation from other PVY strains. *European Journal of Plant Pathology* **105**: 847-857.
- Mansoor, S., Qazi, J., Amin, I., Khatri, A., Khan, I. A., Raza, S., Zafar, Y., Briddon, R. W., (2005). A PCR-based method, with internal control, for the detection of Banana bunchy top virus in banana. *30*(2), 167-169.
- Marte and Wetter, (1986). *Z. PflKrankh. PflPath. Pflschutz* **93**: 37
- McKinney, H. H. (1952). Two strains of tobacco mosaic virus, one of which is seed-borne in an etch-immune pungent pepper. *Pl. Dis. Reprtr* **36**: 184-187
- Menzel, W., Jelkmann, W., Maiss, E., (2002). Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays with coamplification of plant mRNA as internal control. **99**(2002) 81-92.
- Milne, R. G. (1988). *The filamentous plant viruses*. Plenum Press 333 p.
- Munoz, D., Gutierrez, P., Marin, M., (2016). Detection and genome characterization of Potato virus Y isolates infecting potato (*Solanum tuberosum*) in La Union (Antioquia, Colombia). *Agronomia Colombiana* **34**(3), 317-328.
- Nanayakkara, B. M., Singh, M., Pelletier, Y. Xianzhou, N., (2012). Investigation of PVY Strain Status and Variant Population in Potatoes in New Brunswick, Canada. *American Journal of Potato Research*. **89**: 232 - 239.
- Nie, B., Singh, M., Murphy, A., Sullivan, A., Xie, C., and Nie, X., (2012). Response of potato cultivars to five isolates belonging to four strains of Potato Virus Y. *Plant Dis.* **96**:1422-1429.
- Oikonomou, I., Halatsi, K., Kyriacou., (2008). Selective PCR: a novel internal amplification control strategy for enhanced sensitivity in *Salmonella* diagnosis. *Applied Microbiology*, **266**-8254.
- Olawale, A., Lava, K., Olusegun, S. B., (2015). Surveys of virus disease on pepper (*Capsicum* spp.) in South-west Nigeria *African Journal of Biotechnology* **14**(48): 3198-3205.
- Oliver, C., Galka, B., Murza, G., Hegedus, D., Peng, X., Swartz, G. S., Padieu, E. B., Barasubiye, T., (2006), Aster yellow disease survey in Saskatchewan, Canada 2001-2006.

- Özalp, R.,(2010). Ülkemizde Biber Üretimi ve Örtü altı Biber Yetiştiriciliği. Tarım Türk Dergisi, **24**(5) 29-32.
- Özaydın, (2010). Çukurova Bölgesindeki Yetiştirilen Patateslerdeki Virolojik Sorunlar. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi **65**, 89.
- Özdağ, Y ve Sertkaya, G., (2017). Investigation on Viruses Causing Yellow Disease in Pepper in Hatay-Turkey. *Journ. of Agr. Fac. of M. K. University* **22**(1):13-22
- Palkovics, L., I, Wolf., E, Pajtli., P, Salamon., (2011). PVX-M3 – A deviant pepper isolate of potato virus X. APS- IPPC Joint Meeting August 6-10. 2011. *Phytopathology* 101: **S136**
- Petrov, M. N., (2014). Effect of Pepper Mild Mottle Virus on Pepper and Tomato Plants. *Published by researchgate. Since & Technologies Journal*, S 61- 64.
- Plank, J. E. Van Der: Some Suggestions on the historyof potato Virüs X. By J. E. Van Der Plank Division of Botany and Plant Pathology, Pretoria. (Communicated by Dr. J. Ramsnottom, O.B.E., F.L.S.) 1949.
- Purciful and Edwardson,(1981). in *Handbook of Plant Virus Infection and Comperative Diagnosis*, **628** p.
- Purcifull, T. A. Zitter, and Ernest Hiebert (1974). Morphology, host range, and Serological Relationships of Pepper Mottle Virus. *Phytopathology* **65**:559-562. Accepted for publication 5 December 1974.
- Raccah, A. Gal-On, V. F. Eastop (1985). The role of flying aphid vectors in the transmission of cucumber mosaic virus and potato virus Y to peppers in Israel. *Annals of Applied Biology* **106**(3):451-460.
- Rialch, N., Vivek, S., Anuradha, S.and Prem N. S. (2015). Characterization and complete nucleotide sequencing of PMMV infecting Bell Pepper in India. *Phytoparasitica* **43**:327-337.
- Robertson, A. E., Cassandra, N. F., Olga, V. N., Kelsie, J. G., Lisa, T. T., James, M. C., Nora. O., (2017). Strain Resistance to *Potato virus Y* (PVY) in Potato and Its Effect on the Relative Abundance of PVY Strains in Commercial Potato Fields. *The American Phytopathological Society*. 101(1): **20-28**.
- Smith, K. M., (1931). *Proc. Roy. Soc. Ser. B*. **109**, 251.
- Sun, M., Siemsen, S., Campbell, W., Guzman, P., Davison, R., Whitworth, L. J., Bourgoin, T., Axford, J., Schrage, W., Leever, G., Westra, A., Marquardt, S., El-Nashaar, H., McMorrان, J., Gutbord, O., Wessels, T., Coltman, R., (2005). Survey of Potato Spindle Tuber Viroid in Seed Potato Growing Areas of the United States. *Amer J of Potato Res***81**:227-231.
- Thompson, J. R., Wetzal, S., Klerks, M. M., Vaskova, D., Schoen, C. D., Spak, J., Jelkmann, W., (2003). Multiplex RT-PCR detection of four aphid-borne

strawberry viruses in *Fragaria* spp. in combination with plant mRNA specific internal control. *Journal of Virological Methods*. **111**, 85-93.

Tüzün, (2015). Gap Biber Yetiştiriciliği(*Capsicum annum* L). Tarımsal Eğitim ve Yayım Projesi. **41**, 23 – 26.

Vance VB, (1991). Replication of *potato virus X* RNA is altered in coinfections with potato virus Y. *Virology*. 1991 Jun; **180**(2):486-94

Wei, T., Lu, G., Clover, G. R. G., (2009). A multiplex RT-PCR for the detection of *Potato yellow vein virus*, *Tobacco rattle virus* and *Tomato infectious chlorosis virus* in potato with a plant internal amplification control. *Plant pathology* **58**(2), 203-209.

Xianzhou, N., Rudra, P. S., (2000). Detection of multiple potato viruses using oligo(dT) as a common cDNA primer in multiplex RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, **86**, (2), 179-185.

Yoon, J. Y., Hong, J. S., Kim, M. J., Ha, J. H., Choi, G. S., Choi, J. K., Ryu, K. H., (2005). Mol Charac. and Infec. cDNA Clone of a Korean Isolate of PMMV from Pepper. *The Plant Pathology Journal*, **21**(4), 361-368.

Yüzer, (2009) Kahramanmaraş Kırmızı Biberde Tohumla Taşınan Virüslerin Tanısı. *Alatırım Dergisi*, Cilt 8, Sayı 1.

Zacharzewska, Przewodowska. A., Krzysztof T., (2014). The Adaptation of Silica Capture RT-PCR for the Detection of Potato Virus Y. *American Journal of Potato Research* **91**(5): 525-531.

Zheng, L., Rodoni, B. C., Gibbs, M. J., Gibbs, A. J., (2010). A novel pair of universal primers for detection of potyviruses. *Plant pathology* **59**(2): 211-220.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad Soyad:** Tahir UĞUR

**Doğum Yeri:** Diyarbakır

**Doğum Tarihi:** 27.08.1992

**Adres:** Adnan Menderes Mh. Şehr-i Nebi sitesi E blok No: 26 Ergani

**E-posta:** thr\_gr@hotmail.com

**Lisans:** Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

**Yüksek Lisans:** Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü,  
Bitki Koruma Anabilim Dalı, 2019