

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

EDREMİT KÖRFEZ BÖLGESİ'NDEKİ SATSUMA MANDARINLARINDE
YAYGIN OLAN VİRÜS VE VİRÜS BENZERİ HASTALIKLARIN
BİYOLOJİK VE SEROLOJİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serkan ÖNDER

ÇANAKKALE – 2007

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

EDREMİT KÖRFEZ BÖLGESİ'NDEKİ SATSUMA MANDARINLARINDE
YAYGIN OLAN VİRÜS VE VİRÜS BENZERİ HASTALIKLARIN
BİYOLOJİK VE SEROLOJİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan : Serkan ÖNDER
Danışman : Doç. Dr. Savaş KORKMAZ

ÇANAKKALE – 2007

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (BAP) Tarafından Desteklenmiştir.

**Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Müdürlüğü'ne**

Bu araştırma, jürimiz tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Savaş KORKMAZ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Figen TÜRK

Üye : Yrd. Doç. Dr. İsmet YILDIRIM

Kod No:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

**Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Mehmet Emin ÖZEL**

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
ÇİZELGELER.....	III
ŞEKİLLER.....	IV
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.1.1. Sörvey Çalışmalarında Kullanılan Materyal.....	20
3.1.2. İndeksleme Çalışmalarında Kullanılan Materyal.....	20
3.1.2.1. İndikatör Bitkiler.....	21
3.1.3. Serolojik Çalışmalarda Kullanılan Materyal.....	21
3.1.3.1. Tristeza ve Psorosis Virüs Hastalığının ELISA Testinde Kullanılan Materyal.....	21
3.2. Yöntem.....	22
3.2.1. Sörvey Çalışması.....	22
3.2.2. ELISA Testi.....	25
3.2.2.1. Seçilen Ağaçlardan Materyal Alımı	25
3.2.2.2. Test İçin Kullanılan Tampon Çözeltiler ve Testin Uygulanması.....	25
3.2.3. İndeksleme Çalışmaları.....	28
3.2.3.1. İndikatör Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	28
3.2.3.2. Seçilen Ağaçlardan Materyal Alımı.....	30
3.2.3.3. Exocortis Viroidinin Biyolojik İndekslenmesi.....	31
3.2.3.4. Tristeza Virüsünün Biyolojik İndekslenmesi.....	31
3.2.3.5. Satsuma Dwarf Virüsünün İndekslenmesi.....	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	34
4.1. Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular.....	34
4.1.1. Exocortis Viroidinin Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular.....	35

4.1.2. Tristeza Virüs Hastalığının Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular...	37
4.1.3. Psorosis Virüs Hastalığının Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular...	40
4.1.4. Satsuma Dwarf Virüs Hastalığının Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular.....	42
4.2. Serolojik Yöntemlere Ait Bulgular.....	43
4.2.1. Tristeza Virüs Hastalığının ELISA Testine Ait Bulgular.....	43
4.2.2. Psorosis Virüs Hastalığının ELISA Testine Ait Bulgular.....	45
4.3. İndeksleme Çalışmalarına Ait Bulgular.....	46
4.3.1. Exocortis Viroidinin İndeksleme Çalışmasına Ait Bulgular.....	46
4.3.2. Tristeza Virüs Hastalığının İndeksleme Çalışmasına Ait Bulgular.....	49
4.3.3. Satsuma Dwarf Virüs Hastalığının İndeksleme Çalışmasına Ait Bulgular.....	52
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	53
ÖZET.....	61
SUMMARY.....	63
KAYNAKLAR.....	64
TEŞEKKÜR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	74

1. GİRİŞ

Meyveler, içerdikleri vitamin ve minerallerle beslenmemizde önemli bir yer tutmaktadır. Dünyada üretimi en çok yapılan meyveler arasında ilk sırada yer alan turunçgiller, besin değeri, içerdığı vitamin ve mineraller yönünden zengin ve sevilen meyveler arasında bulunmakta olup önemli bir askorbid asit kaynağı olarak metabolizma açısından önemli görevler üstlenmektedir.

Dünyada üretimi en çok yapılan meyveler arasında 105.432.578 tonla birinci sırada yer alan turunçgiller, ülkemiz yaş meyve üretiminde üzüm ve elmadan sonra 3. sırada yer almaktadır (FAO, 2005).

Turunçgil üretimi gerek dünyada, gerekse ülkemizde hızlı bir gelişme sürecinde bulunmaktadır. Son 20 yılın dünya turunçgil üretim değerleri incelendiğinde 1985 yılında yaklaşık 64,2 milyon ton olan üretimin 1995 yılında 93,8 milyon tona, 2005 yılında ise 105,4 milyon tona çıktığı görülmektedir. Belirtilen yıllarda ülkemizin turunçgil üretim değerleri ise sırasıyla 982,5 bin ton, 1,78 milyon ton ve 2,59 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (FAO, 2005).

Ülkemizde turunçgil üretim alanlarının en fazla yayılış gösterdiği bölge Akdeniz Bölgesi'dir. Akdeniz Bölgesi içinde Mersin, Adana ve Hatay ili (Dört Yol, Erzin, Yakacık) limon ve Satsuma cinsi mandarin üretimi ile önem taşırken Antalya ili portakal, Mersin ili ise limon üretimi bakımından önem taşımaktadır. Akdeniz Bölgesi'ndeki bu üretim merkezleri, ülkemiz turunçgil üretiminin %80'lik kısmını karşılamaktadır.

Üretim alanları açısından ikinci sırada yer alan Ege Bölgesi'nde ise Muğla, Aydın, İzmir ve Balıkesir iline bağlı olan Edremit Körfez Bölgesi'nde (Edremit, Havran, Burhaniye) turunçgil üretimi yapılmaktadır. Bu iller içinde İzmir ve Balıkesir'de Satsuma cinsi mandarin üretimi, Aydın'da portakal üretimi dikkat çekmektedir. Ege Bölgesi'nde Muğla ili en fazla turunçgil ağacının bulunduğu il konumundadır. Ege Bölgesi'ndeki bu üretim merkezleri, ülkemiz turunçgil üretiminin %20'lik kısmını karşılamaktadır.

Edremit Körfezi (Edremit, Havran, Burhaniye), Balıkesir ilinin batısında Ege sahili boyunca uzanan, ekonomisi tarıma ve özellikle de zeytincilik ve turunçgil yetiştiriciliğine dayanan bir yöremizdir. Edremit Körfezi'nin sahip olduğu ekolojik

koşullar başta zeytin olmak üzere çeşitli meyve ve sebze türlerinin yüksek kalitede yetişmesine olanak sağlamaktadır. Edremit Körfezi (Edremit, Havran, Burhaniye), turunçgil yetiştiriciliği açısından sınırlı alanlara sahip olmasına rağmen turunçgil üretimi bu yörede giderek artan bir öneme sahiptir. Üreticiler tarımsal alanların değerlendirilmesinde önceliği turunçgil yetiştiriciliğine vermekte ve Satsuma mandarinini kolaylıkla ve yüksek fiyatlarla pazarlayabildiklerini belirtmektedirler (Özdemir, 2006).

Yörede yapılan turunçgil yetiştiriciliği kontrolsüz koşullarda yapıldığı ve sertifikalı turunçgil fidanı kullanılmadığı için yörede yetiştirilen turunçgiller, birçok virüs ve virüs benzeri hastalıkların tehdidi altında kalmaktadır. Edremit Körfez Bölgesi'nin (Edremit, Havran, Burhaniye) zeytinden sonraki en önemli tarım ürünü olan Satsuma mandarinlerinde sorun olan virüs ve virüs benzeri hastalıkların belirlenmesi, şu an ve gelecekte karşılaşılabilecek sorunların önlenmesi açısından büyük bir önem taşımaktadır.

Virüs ve virüs benzeri hastalık etmenleri turunçgil ağaçlarında küçülmeye, kusurlu dal oluşumuna, ana gövde ve dallarda kabuk kavlamalarına, çeşitli tiplerde gövde çökmelerine, iletim demetlerinde zank oluşumuna, yaprak deformasyonlarına, çeşitli renklerde yaprak klorozlarına, damarlarda renk açılmalarına, halkalı lekeler ve beneklenmelere, meyve anormalliklerine neden olmaktadır. Böylece turunçgil ağaçlarında ağacın gücü sınırlanmakta, meyve büyüklüğü, kalite ve verim azalmakta, beslenme problemleri ortaya çıkmakta, ağaçların dona duyarlılıkları artmakta, aşı yeri problemleri oluşmakta, istenen özellikte anaç kullanımı sınırlanmakta, hatta bazı durumlarda tristezada olduğu gibi ağaç ölümlerine neden olmaktadır (Güllü, 1990).

Dünyada turunçgil üretim alanlarında sorun oluşturan 75'den fazla virüs ve virüs benzeri hastalık tespit edilmiştir. Ancak bu hastalıklar arasında ülkemizdeki turunçgillerde sorun oluşturan 15 virüs ve virüs benzeri hastalık (psorosis, infectious variegation, chlorotic dwarf, tristeza, satsuma dwarf, cristocortis, concave gum, impietratura, gummy bark, woody gal, cachexia-xyloporosis, exocortis ve stubborn) rapor edilmiştir (Salibe, 1986b).

Ülkemizdeki turunçgillerde sorun oluşturan virüs ve virüs benzeri hastalıklar arasında Tristeza, Exocortis, Satsuma dwarf ve Psorosis grubu hastalıkları, diğer

virüs ve virüs benzeri hastalıklara oranla daha yaygın olarak görülmekte ve önemli kayıplara neden olmaktadır.

Edremit Körfez Bölgesi'nde (Edremit, Havran, Burhaniye) turunçgil anacı olarak üç yapraklı (*Poncirus trifolata* [L.] Raf.) kullanılmakta olup bu anacın kullanımını sınırlayan en büyük faktör exocortis viroididir. Exocortis, düşük moleküler ağırlığa sahip RNA formunda bir viroiddir (Semancik ve Weathers, 1972). Exocortis, üç yapraklı anacının önemli bir hastalığı olup bulaşık ağaçlar nadiren ölmekte ancak hiçbir zaman ekonomik bir üretim sergileyememektedirler. Ağaçlar, normalden zayıf bir şekilde gelişim gösterirler; bu yüzden hastalık halk arasında cüceleşme olarak da bilinmektedir. Hastalığın en belirgin özelliği, infeksiyondan 4 - 8 yıl sonra ortaya çıkan anaç kısmındaki kabukta meydana gelen çatlama şeklindeki soyulmadır (Rosetti, 1961). Kabuk soyulmalarının oranı ve genişliği ağacı infekte eden viroidin ırkına bağlı olarak değişmektedir. Exocortis, aşı bıçağı ve budama makası ile mekanik olarak taşınabilmektedir (Garnsey ve Jones, 1967; Garnsey 1968). Exocortis viroidinin teşhisinde biyolojik indeksleme yöntemi kullanılmakta olup exocortis hastalığı en hızlı ve en duyarlı şekilde kaba limona aşılı Etrog citron (*C. medica* L. var. etrog Engl.)'un belli fidan klonlarına indekslenmektedir (Calavan, 1968). Exocortis infeksiyonlarının karakteristik simptomsu yaprak epinastisi ve yaprağın alt yüzünde orta damarın çatlayarak nekrozlaşmasıdır (Calavan ve ark., 1964; Calavan, 1968). Roistacher (1976)'e göre gündüz maksimum 28-40 °C, gece minimum 26-27 °C'yi geçmeyen sera sıcaklıkları indikatör bitkide exocortis simptomslarının hızlı gelişmesi için uygun koşulları oluşturmaktadır.

Turunçgillerde sorun oluşturan virüs ve virüs benzeri hastalıklar içerisinde son 60 yılın en önemli hastalığı ise tristezadır (Bar-Joseph ve ark., 1989). Turunçgil tristeza virüsü günümüze kadar tüm dünyada 60 milyondan fazla ağacın ölmesine neden olmuştur. Etmen, üretim materyali ve vektörlerle taşındığı için dünyada turunçgil yetiştiriciliği yapılan alanların tümünde sorun oluşturan bir hastalık olma özelliğine sahiptir. Tristeza virüsünün ülkemizde de bulunduğu ilk kez Norman (1963) tarafından bildirilmiştir. Turunçgil tristeza virüsü, 2000 nm uzunluğunda ve 10-11 nm çapında kıvrımlı-ipliksi bir yapıya sahip tek kollu bir RNA içermektedir (Bar-Joseph ve Lee,1990). Moleküler ağırlığı ortalama $6,3-6,9 \times 10^6$ dalton olup

virüsün çoğalıcı formu olan replikatif formunun moleküler ağırlığı $13,3 \times 10^6$ dalton'dur (Bar-Joseph ve ark., 1979; Bar-Joseph ve Lee., 1990). Tristeza hastalığının duyarlı anaç kalem birleşimleri üzerindeki semptomları bodurluk, yaprak dökümü, büyümede duraklama, geriye doğru yavaş yavaş ölüm, ani solgunluk ve şiddetli ırkların neden olduğu infeksiyonlarda infeksiyonu takiben 2-3 ay içinde ağaç ölümü şeklinde ortaya çıkmaktadır. Geriye doğru ölüm gösteren ağaçlarda, aşı yerinin hemen üzerinde bulunan kalem kısmının aşırı büyümesinden dolayı ağacın anaç kısmında nişasta açığı başlar. Nişasta açığının başlaması sonucunda aşı yerinin hemen altındaki turunç anacının kabuk ve odun dokusu üzerinde bal peteği ve iğne ucu şeklindeki çıkıntı ve çukurluk semptomları tipik olarak ortaya çıkmaktadır (Salibe, 1986b). Tristeza virüsünün biyolojik indeksleme yoluyla teşhisinde Meksika laymı indikatör bitki olarak kullanılmaktadır (Usda, 1968). İnokulasyonda aday ağaçlardan alınan aşı gözleri Meksika laymına göz, kabuk veya yaprak olarak inokule edilmektedir. İnokulasyondan 4-5 hafta sonra indikatör bitkide yaprak damarı açılmaları ve daha sonra ise stem pitting (gövde çukurlaşması) semptomları ortaya çıkmaktadır (Wallace 1968c). İnokulasyondan sonra indikatör bitkide en iyi semptom gelişimi gündüz maksimum $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, gece ise minimum $18-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'yi geçmeyen sıcaklıklarda gözükmektedir (Roistacher ve ark., 1974). Tristeza virüsü ayrıca serolojik bir yöntem olan ELISA testi ile de teşhis edilebilmektedir. Serolojik çalışmalarda enzimle işaretlenmiş antibadilerin kullanımı düşük maliyet, güvenilirlik, yüksek oranda duyarlılık gibi birçok avantajlar sağlamaktadır (Clark ve Bar-Joseph, 1984). Ticari olarak üretilen spesifik monoklonal antibadiler, birçok ülkede fazla sayıda örneklerin test edilmesinde rutin olarak kullanılmaktadır. Ayrıca son yıllarda PCR ve nükleik asit hibridizasyon yöntemleri de başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

Turunçgillerde sıklıkla görülen bir diğer virüs hastalığı ise psorosis kompleksidir. Psorosis kompleksi içinde değerlendirilen hastalıklar dünyada turunçgil yetiştirilen tüm ülkelerde bildirilmiştir. Psorosis grubu virüs hastalıkları özellikle Akdeniz ülkelerinde birçok turunçgil bahçesinde bulunmaktadır (Salibe, 1986a). Psorosis kompleksi hastalıklarının ağaçlarda oluşturduğu semptomlar kabuk ve odun semptomları, genç yaprak semptomları, olgun yaprak ve meyve semptomları olarak ortaya çıkmaktadır (Wallace, 1978). Psorosis grubu hastalıkları ağacın kalem kısmında, gövde ve ana dallarda kabuğun pul pul veya tabakalar halinde kalkmasına

(Psorosis A); ana gövde üzerinde konkav şekilli (concaev gum) veya ince, uzun, dar ve derin çöküntüler (blind pocket) ve ilkbahar büyüme mevsiminde oluşan henüz sertleşmemiş genç yapraklarda damar bantlaşması (vein banding) veya meşe yaprağı deseni (oak-leaf) şeklinde simptomlara neden olmaktadır. Yaprak simptomları, genellikle ilkbahar sürgün gelişme döneminde aktif şekilde büyümekte olan yumuşak genç yaprakların ya tüm yüzeyinde ya da yaprağın sadece bir yüzeyinde ortaya çıkmaktadır (Güllü, 1990). Ekonomik açıdan Psorosis A virüs hastalığı bu gruptaki hastalıkların en önemli olanıdır. Psorosis A, yavaş gelişen bir hastalık olmasına rağmen binlerce ağacın verimliliğini düşürmektedir (Güllü, 1990). Psorosis A, aşılama, mekanik yolla ve küsküt (*Cuscuta spp.*) aracılığıyla turunçgilden turunçgile taşınabilmektedir (Wallace, 1959, 1968a; Weathers ve Harjung, 1964; Timmer ve Benetena, 1977). Psorosis virüsünün biyolojik indeksleme yoluyla teşhisinde indikatör bitki olarak pineapple, madam vinous, parson brown, gibi portakal çeşitlerinin çöğürleri kullanılmakta olup kabuk veya göz aşuları ile indeksleme yapılmaktadır. İndeksleme sonucunda belirleyici simptom olarak genç yapraklarda damar bantlaşması ve meşe yaprağı deseni esas alınmaktadır (Wallace, 1968b). Psorosis virüsü ayrıca serolojik bir yöntem olan ELISA testi ile de teşhis edilebilmektedir.

Satsuma mandarinlerinde sorun oluşturan bir diğer virüs hastalığı ise Satsuma dwarf virüsüdür. Hastalık ilk olarak Japonya'da Yamada ve Tanaka (1968) tarafından rapor edilmiştir. Ülkemizde ise Satsuma dwarf virüsü ve farklı ırkları ilk defa Azeri (1973, 1986) tarafından bildirilmiştir. Satsuma dwarf virüsü infekte ettiği mandarin ağaçlarında kayık ve kaşık şekilli yaprak oluşumuna, yaprak buruşukluğuna, boğum aralarının kısılmasına, ayrıca ince dal ve sürgünlerin çalı süpürgesi şeklini alıp yaprakların aşağıya doğru kıvrılmasına neden olmaktadır (Tanaka, 1968; Azeri 1986). Hastalık aşı gözüyle turunçgilden turunçgile taşınmaktadır. Satsuma dwarf virüsü, mekanik olarak turunçgilden otsu indikatör bitkilere taşınabilen bir hastalıktır (Tanaka, 1968). Hastalığın indekslenmesinde otsu bitki olarak en çok beyaz susam (*Sesamum indicum L.*) kullanılmaktadır (Tanaka, 1968; Tanaka ve Yamada, 1972). Hastalık, indikatör bitki üzerinde özsu inokulasyonu yapılan yapraklarda nekrotik lokal lezyonlara; sonradan gelişen yapraklarda ise yaprak epinastisine neden olmaktadır (Tanaka, 1968; Tanaka ve

Yamada, 1972). Serolojik bir tanı yöntemi olan ELISA testiyle spesifik antitadiler kullanarak hastalık teşhis edilebilmekte ve sonuçlar 2 günde alınabilmektedir.

Bu çalışmada, Edremit Körfez Bölgesi (Edremit, Havran, Burhaniye)'nde yetiştirilen Satsuma cinsi mandarinlerde yaygın olan virüs ve virüs benzeri hastalıklardan Tristeza, Exocortis, Psorosis ve Satsuma dwarf virüs hastalıklarının varlık durumunun belirlenmesi için bir sörvey çalışması yürütülmüştür. Sörvey çalışması sonucunda, belirtilen hastalıkların simptomlarına benzer simptom gösteren ağaçlardan örnekler alınıp hastalık etmenlerinin özelliklerine göre biyolojik indeksleme ve serolojik bir tanı yöntemi olan ELISA testi uygulanarak hastalıkların bölgedeki yoğunluğu belirlenmeye çalışılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Webber (1925), Yaptığı çalışmayla Turunçgil tristeza virüs hastalığını ilk olarak tanımlamıştır.

Zeman (1931), Tristeza virüsünün muhtemel orijininin Çin olduğunu tohumların CTV'yi taşıyamadığını, fakat ulaşım araçları ile canlı bitki materyalinin veya fidanların nakliyle bu hastalığın yayıldığını ve tüm dünyada özellikle turunç üzerine aşılı 50 milyondan fazla turunçgil ağacını öldürdüğünü bildirmiştir.

Clark ve Adams (1977), Bitki virüslerinin tanısı için uygun olarak belirlenen ELISA testinin double antibody sandwich tekniğinin kullanımı ve özelliklerini araştırdıkları çalışmada, ELISA testinin, diğer enzim işaretli tekniklere göre avantajlı olduğunu bildirmişlerdir. Yöntemin oldukça ekonomik ve son derece duyarlı olduğunu, izometrik ve uzun partiküllere sahip virüslerin, otsu konukçularda veya kültür bitkilerinin ekstraktları veya arıtılmış preparasyonlarında saptanması için büyük oranda kullanılır olduğunu bildirmişlerdir. Sörvey ve epidemiyolojik çalışmalar gibi geniş alanlarda yapılan araştırmalarda çok sayıda örneğin, daha az miktarda dokuları kullanılarak testlenebileceği gibi, virüs infeksiyonunun düşük olduğu örneklerde, infeksiyonu belirlemede de kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Boccardo ve ark. (1984), Yaptıkları çalışmada serada bulunan Etrog citron ve mandarinden aldıkları yaprak örneklerinden ve yine serada bulunan Volkamer limondan aldıkları kök örnekleriyle araziden aldıkları tatlı portakalın yaprak örneklerinde PAGE yöntemini kullanarak CEV'i tespit etmişlerdir. Sonuç olarak CEV'in teşhisinde PAGE tekniğinin arazi örnekleri üzerinde de güvenilir olarak uygulanabileceğini bildirmişlerdir.

Davino ve ark. (1984), İtalya'nın Calabria yöresinde gerçekleştirdikleri sörvey çalışması ve uyguladıkları ELISA testi sonucunda 15 Tatlı portakal, 6 Satsuma, 1 Greyfurt ve 1 limon ağacının CTV ile infekteli bulduklarını ve infekteli buldukları bu 23 ağacın tümünün yurtdışından bölgeye girdiğini bildirmişlerdir.

Flores (1988), Araziden kışın topladığı limon, klemantin mandarin ve tatlı portakalın olgun yapraklardan Turunçgil exocortis viroidini PAGE ve gümüş boyama

yöntemiyle tespit etmiştir. Ayrıca CEV'i Etrog citron'dan aldığı nükleik asit ekstraktlarından dot-blot yöntemiyle de tespit etmiştir.

Gillings ve ark. (1988), CEV'i arazi koşullarında ve indikatör bitkilerden PAGE, RNA hibridizasyonu, dot blot ve Northern yöntemleriyle tespit etmişlerdir. Ayrıca bu biyokimyasal testleri biyolojik indeksleme yöntemiyle karşılaştırıp CEV ve indikatör bitkilerde simptom oluşumuna neden olabilecek etmenlerin yarattığı farklılıkları belirlemişlerdir. Sonuçta CEV'in Etrog citron üzerinde şiddetli simptomlara neden olduğunu diğer viroid benzeri etmenlerin ise ılımlı simptom oluşturduğunu; bu RNA'ların CEV'inkilerden küçük olduğunu ve CEV problemlerine benzemediklerini bildirmişlerdir.

Lee ve ark. (1988), Yaptıkları çalışmada, Florida ve Güney Afrika'daki Turunçgil ağaçlarından örnekler toplayıp ELISA testi ile CTV'nin yaygınlığını belirlemeye çalışmışlardır. Araştırmacılar, CTV'nin Florida'daki tatlı portakallarda ağacın her kısmında eşit olarak bulunduğunu fakat zaman zaman çok genç dokuları CTV'den arı olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Güney Afrika'da ise CTV'nin greyfurt ve tatlı portakal ağaçlarının her tarafında homojen olarak bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Güney Afrika izolatlarının indikatör bitkilerde oldukça istilacı bir yapı sergilediklerini ve ağaçlarda CTV'nin her tarafta eşit olarak bulunmasının, ılımlı CTV ırklarıyla etkin bir karşı korunma uygulamasında önemli olabileceğini bildirmişlerdir.

Moreno ve ark. (1988), İspanya'nın Güney Valensiya bölgesinde 2 bitişik parselde toplam 400 ağaç seçmişler ve indeksleme çalışmaları yapıp bu ağaçları her yıl ELISA ile test etmişler, sonuç olarak greyfurtun CTV açısından Washington navel'e göre daha dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir.

Sarachu ve ark. (1988), Psorosis virüs kompleksinin pürifikasyonu ve karakterizasyonu üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Etmeni mekanik olarak turunçgilden *Chenopodium quinoa*'ya taşımışlar ve indikatör bitki üzerinde lokal nekrotik halka şeklinde oluşan sptomları gözlemişlerdir. Ayrıca pineapple portakalından ve kaba limondan aşılı etmeni değişik turunçgil çeşitlerine taşıyıp, PEG ve yüksek hızda santrifüj yöntemleriyle pelletleri elde etmiş, fakat uygulama sürecinde etmenin infekte yeteneğini kaybettiğini bildirmişlerdir.

Baloğlu ve Yılmaz (1990), Yaptıkları alışmada Tristeza virüs hastalığının etmeni olan virüsü meyve ve kabuk dokularından en iyi şekilde CsCI density gradient santrifüjyonu ile 0.75 mg/ml konsantrasyonda arıtmışlar ve 1/64 literli antiserum elde etmişlerdir. ELISA testi ile şüpheli buldukları 112 ağacın 71'inden pozitif sonuç almışlar ve hastalığın kesin varlığını saptamışlardır. -20  C'de 6 ay sakladıkları örneklere ve sağlıklı görünüme sahip ağaçlardan bahar, özellikle de mayıs ayı  rneklelerinden yaptıkları testlerde daha iyi sonuçlar almışlar ve test dokusu olarak kabuk dokusunun yaprağa göre daha uygun olduğunu bildirmişlerdir.

Fidan ve Azeri (1990), İzmir ili mandarinlerinde yaptıkları s rveyler sonucunda, İzmir Merkez ilçe ve Seferihisar'da Satsuma Dwarf Virüsünün (SDV) bulunuş oranını ortalama %13.77 olarak saptamışlardır. Ayrıca Gümüldür'de bir bahçede yaptıkları ELISA testi sonucunda SDV'n n %20.6 oranında bulunduğunu belirlemişlerdir. Sörvey çalışmalarında toplanan örneklere yaptıkları ELISA testinde pozitif sonuç veren örneklere yaptıkları mekanik inokulasyon testlerine göre SDV'n n nekrotik ırkının bulunduğunu saptamışlardır. Çalışma sonucunda, İzmir ilinin 9 ilçesinden toplanan Satsuma mandarinlerinde, eşme ve Karaburun'dan aldıkları limon, portakal, yerli mandarin ve altıntop  rneklelerinde SDV'n  saptamışlardır.

 zaslan ve ınar (1990), Simptomolojik olarak exocortis ile bulaşık olduğu belirlenen   yapraklı bitkisinden (*Poncirus trifoliata*), viroidi arıtıp, selüloz kolon kromotografisinden geçirerek yoğunlaştırmışlar ve son olarak %5 PAGE gel (I. Boyut) ile  re+%5 PAGE gel (II.Boyut)  zerine vererek viroid bantlarını elde etmişlerdir. Viroidin PAGE tekniği ile arıtılmasından sonra  l len UV-absorbans değerlerine göre 1.83 olarak saptanan 260/280 oranı selüloz kolon kromotografisinden sonra 1.98 olarak saptamışlar ve nükleik asit yoğunluğunun, toplanan 12 fraksiyondan 2,3,4 ve 5. fraksiyonlarda diğerlerine oranla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmanın sonucunda simptomolojik olarak seçilen  rneklelerin Turunçgil Exocortis viroidi ile bulaşık olduğunu belirlemişlerdir.

Açıkgöz ve Lee (1991), Yaptıkları alışmayla CTV RNA'sına hazırlanmış 10 klonun hibridizasyon analizleri ile CTV izolatlarının tanılanmasında kullanılıp kullanılmayacağını incelemişlerdir. Bu amaçla bitki  rneklelerinden virüs nükleik asidini %30 polietilen glikol 8.000 PEG kullanılarak Lee ve ark. tarafından

geliştirilen yöntemle göre ekstrakte etmişlerdir. Yurt dışından sağladıkları klonları BPB ile karıştırıp %1'lik agar jele yüklemişlerdir. 100 V'de 3 saat Agar jele elektroforez uygulamışlardır. Elektroforezden sonra agar jeli tampon içinde ethidium bromide ile 45 dakika boyayıp UV ışık altında polaroid 55 tip film ile fotoğrafını çekmişlerdir. Bu uygulamada Lamda DNA-Hind III fragmenti ve pUC 19'u moleküler ağırlık standardı olarak kullanmışlardır. Çalışmalarının sonucunda CTV gen çalışmalarında ve CTV izolatlarının tanımlanmasında bir alternatif olarak CTV nükleik asit ekstraktları ile hibridize olan iki kolon (P6C4 ve P6C7)'un kullanılabilir olduğunu fakat bu iki klonun CTV genini ne ölçüde temsil ettiğini ve dizilişleri hakkındaki bilgilerin daha sonra yapılacak çalışmalarla ortaya çıkarılabileceğini bildirmişlerdir.

Açıkgöz ve F. Lee (1992), Nitroselüloz membran üzerine emdirilmiş saflaştırılmış Turunçgil Tristeza Virüs (CTV) nükleik asiti, 5' etiketli dsRNA sondalar (probe) kullanarak hibridizasyon ile teşhis etmişlerdir. Spesifik sonda (probe), CTV infekteli bitkilerden ekstrakte edilen dsRNA'lardan hazırlayıp polinükleotid kinase kullanarak radyoaktif nükleotid ile etiketlemişlerdir. CTV'nin T-36 ve T-30 izolatlarından elde edilen dsRNA sondalarının pürifiye CTV RNA'larını etkili olarak hibridize ettiğini belirtmişlerdir.

Azeri (1993), Üç yapraklı anacı üzerine aşılı Satsuma mandarini (*Citrus unshiu* March) üzerinde Turunçgil Tristeza Virüsünün (CTV) var olan şiddetli ırklarının oluşturduğu semptomları biyolojik indeksleme ve ELISA testi ile tespit etmiştir. Meksika laymı (*Citrus aurantifolia* (L.) Swingle) üzerine hastalıklı bitkilerden alınan yaprak parçalarını aşılama ve bu indikatör bitkide CTV'nin karakteristik semptomları olan damar bantlaşması, küçük ve dik sararmış yapraklar, damar tıkanması ve stem pitting (gövde çukurlaşması) semptomlarını inokulasyondan 6-8 hafta sonra belirlemiştir. Gerileme belirtisi gösteren Satsuma mandarin ağaçlarından elde ettiği yaprak örnekleriyle yaptığı ELISA testinden pozitif sonuç aldığını belirtmiştir. Sonuç olarak İzmir bölgesinde Üç yapraklı anacı üzerine aşılı Satsuma mandarinlerindeki gerilemenin sebebinin şiddetli CTV izolatları tarafından meydana getirildiğini belirtmiştir.

Köklü ve Çınar (1994), Yaptıkları çalışmada Turunçgil Seleksiyon ve Sertifikasyon Projesi dahilinde selekte edilmiş turunçgil tür ve çeşitlerini, in vitro

SUA ve Termoterapi yöntemlerinin kombinasyonlarını uygulayarak Ç.Ü. Subtropik Meyveler Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde turunçgilleri hastalık etmenlerinden arındırma çalışmaları yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada seleksiyon materyaline ait 55 hattı re-indekslemeye, 38 hattı ise indekslemeye almışlardır. Aday bitkileri, psorosis grubu, Tristeza, exocortis, cachexia-xyloporosis ve stubborn virüs ve virüs benzeri hastalık etmenleri açısından indekslemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda indekslemeye aldıkları 55 hattın 52'sini psorosis grubu, 54'ünü exocortis, tamamını ise Tristeza, cachexia-xyloporosis ve stubborn hastalık etmenlerinden arı bulmuşlardır. İlk defa indeksledikleri 38 hattan 16'sının psorosis grubu, 32'sinin exocortis, 36'sının cachexia-xyloporosis, tamamının ise Tristeza ve stubborn hastalık etmenlerinden arındırılmış olduğunu belirlemişlerdir.

Önelge ve ark. (1994), Yaptıkları çalışma ile sekiz turunçgil viroidini (CEV, CV-Ia, CV-Ib, CV-IIa, CV-IIb, CV-III-group) biyolojik indeksleme ve PAGE yöntemiyle seçilmiş 8 mandarin ağacında tanımlamışlardır. Biyolojik indeksleme yönteminin özellikle CV-Ia, CV-Ib, CV-III group ve CV-IV viroidlerinin teşhisinde; indikatör bitkilerde birbirlerine benzer semptomlar geliştirdikleri için uygun bir yöntem olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca PAGE yönteminin özellikle sertifikasyon açısından son derece güvenilir bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Demirer ve ark. (1995), Farklı 7 altıntop çeşidinde (Marsh Seedless, Duncan, Star Ruby, Ruby Red, Rio Red, Rey Ruby ve Henderson) bulunan virüs ve virüs benzeri hastalık etmenlerinin termoterapi ve in vitro sürgün ucu aşılama (SUA) yöntemlerini kombine ederek uygulanması ve arındırma oranlarını saptamışlardır. Biyolojik indeksleme ve serolojik tanı metodu (ELISA) ile stubborn, psorosis, exocortis ve cachexia etmenlerini tespit etmişlerdir. Patojenlerin arındırılmasına yönelik olarak yapılan çalışmada termoterapi ve sıcak kabin + in vitro SUA yöntemlerini uygulamışlardır. Elde ettikleri bitkilerde arındırma oranlarını saptamak amacıyla tekrar biyolojik indeksleme ve ELISA yapmışlardır. Exocortis ve stubborn'u termoterapi veya 32 °C sıcaklık uygulaması ile in vitro SUA'nın kombine edilmesi sonucu %100 oranında arındırırken psorosis; termoterapi + in vitro SUA ile %62 oranında, 32 °C'lik sıcaklık uygulaması + in vitro SUA ile %48 oranında arındırmışlardır.

Güllü ve Çalı (1995), Yaptıkları çalışmayla ülkemiz turunçgil bahçelerinin tesisinde aşı gözü kaynağı olarak kullanılmak üzere Doğu Akdeniz bölgesinden seçilen toplam 16 aday turunçgil ağacını virüs ve virüs benzeri hastalıklar yönünden indekslemişler; daha sonra Termoterapi + Sürgün ucu aşılama yöntemleriyle bu hastalık etmenlerinden arındırılmış bitkiler elde etmişlerdir. İndekslemeler sonucunda bir Navel, bir Satsuma mandarin, dört Enterdonat limon, üç Lamas limon ve bir Kıbrıs limonunda psorosis benzeri patojenler, exocortis, xyloporosis-cachexia ve stubborn hastalıklarından temiz bitkiler elde etmişler ve bunlardan yaklaşık 12000 aşı gözü ve 7000 fidan üretmişlerdir.

Jagiello ve ark. (1995), Yaptıkları çalışmayla Yeni Zelanda'da ticari olarak turunçgil üretimi yapılan 45 turunçgil çeşidindeki viral hastalıkların durumunu incelemişlerdir. Turunçgil Psorosis virüsü, turunçgil vein enation (CVEV) virüsü ve turunçgil cristacortis virüs hastalıklarını arazide simptomolojik olarak ve indikatör bitkilere biyolojik indeksleme yoluyla vererek tespit etmişlerdir. Psorosis A'yı mandarin ve tangelina çeşitlerinde, CVEV'i mandarin, limon, tatlı portakal ve süs bitkisi olarak kullanılan çeşitlerde, turunçgil cristacortis virüsünün stem pitting simptomlarını indikatör bitki olan turunç üzerine aşılı Yeni Zelanda greylort çeşitleri üzerinde ve turunçgil exocortis viroidini ise Villafraca ve Genoa limonları üzerinde tespit etmişlerdir.

Kamberoğlu ve ark. (1995), Yaptıkları çalışmayla Meyer limon çeşidini yetiştiren kapama 2 bahçedeki aşı gözü kaynağı olan ağaçlardan taze sürgünleri yapraklarıyla birlikte alarak CTV için DAS-ELISA yöntemi ile test etmişlerdir, ancak test edilen Meyer çeşidi limon ağaçlarında tristeza virüs hastalığını saptayamamışlardır. Araştırmacılar Meyer limonunun CTLV ile bulaşık olup olmadığını belirlemek için biyolojik indeksleme çalışmaları yapmışlardır. Bu amaç için Troyer citrange, Carrizo citrange, Mexican lime, Etrog citron fidanlarına indekslemeler ile börülce, *Chenopodium quinoa* Willd. Ve Red Kidney fasulyesi bitkilerine yaptıkları mekanik inokulasyonlar sonucunda Meyer çeşidi limon ağaçlarının tatter leaf virüs hastalığıyla da bulaşık olmadığını bildirmişlerdir.

Önelge ve Çınar (1995), Yaptıkları çalışmada 5 grup turunçgil viroidini içeren ve Çukurova Bölgesinde bulunan bir Washington navel portakal ağacını kaynak olarak kullanmışlardır. Viroid RNA'larını %5'lik doğal poliakrilamid jelden standart

yöntemlerle ekstrakte edip ethidium bromür ile boyamışlardır. Jel üzerindeki RNA bantlarını UV ışığı altında keserek çıkarmışlar ve jelden elektroelution yöntemiyle TAE ortamında 30 dakika 125 sabit volt uygulanarak sodium asetat ortamı içine toplamışlardır. Fenol çöktürmesinden sonra elde ettikleri ürünü doğal ve denatüre olmuş jel üzerinde ayırtmışlardır. Turunçgil exocortis viroidi (CEV), CVd-Ib ve 7S RNA grubu içinde yer alan CVd-II Grup, CVd-III grup ve CVd-IV viroidlerinin diğer viroidlerden ayırımını gerçekleştirmişlerdir. Saf olarak elde ettikleri viroidleri Etrog citron (*Citrus medica* L.), Arizona 861-S-1 üzerine inokule etmişler ve 5 hafta sonra simptom gelişimini gözlemlemişlerdir.. CEV ve 7S RNA içinde bir arada bulunan viroidlerin orta şiddette yaprak epinastisi ve buruşukluğu geliştirdiğini, CVd-Ib 'nın ise bu grup için karakteristik olan yaprak bükülmesi simptomu oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Şen ve ark. (1995), Yaptıkları çalışmayla yurt dışından introduksiyon materyali olarak ülkemize girmiş ve test edilmeden aşı gözü ile çoğaltılarak bölgeye dağıtılmış Robinson mandarinlerindeki virüs, viroid ve mikoplazma hastalık etmenlerini biyolojik ve serolojik yöntemlerle test etmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları sörvey çalışmaları sonucunda 11 Robinson mandarin ağacının bu hastalık etmenlerinden birkaçı ile bulaşık olduğunu saptamışlardır. Yaptıkları indekslemeler sonucunda, Robinson mandarin ağaçlarının stubborn ve cachexia etmenleriyle bulaşık olduğunu; exocortis, psorosis, concave gum, cristocortis, crinkly leaf, tristeza, vein enation ve satsuma dwarf etmenleriyle bulaşık olmadığını bildirmişlerdir.

Şen ve Yılmaz (1995), Yaptıkları çalışmayla Minneola tanjelo'larda zararlı virüs, viroid ve Stubborn hastalık etmenlerini biyolojik ve serolojik yöntemlerle test etmişlerdir. Turunçgil yetiştiriciliği yapılan 9 bölgede, 19 Minneola tanjelo ağacını virüs hastalıkları yönünden şüpheli bulmuşlardır. Şüpheli buldukları ağaçları biyolojik ve serolojik testlere tabi tutarak, hangi virüs ve virüs benzeri hastalık etmenlerle bulaşık olduklarını saptamışlardır. Çalışmalarının sonucunda; Mineola tanjelo ağaçlarının psorosis, concave gum, cristacortis ve crinkly leaf virüsleri ile, stubborn mikoplazma hastalığı ve cachexia, exocortis viroid hastalıklarıyla bulaşık olduğunu, tristeza, vein enation ve satsuma dwarf virüs hastalıklarıyla ise bulaşık olmadığını saptamışlardır.

Yurtmen ve Çınar (1995), Yaptıkları çalışmayla Ç.Ü. Subtropik Meyveler Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışma programına girmiş olanlar ile seleksiyon dışı yeni bazı mandarin çeşitlerinin, aşı ile taşınabilir patojenlerden ari olup olmadığını ve T + SUA uygulanmış hatların sanitasyon başarısını belirlemek amacıyla indekslemeler yapmışlardır. Yaptıkları indekslemeleri aday bitkilerin psorosis grubu, concave gum, cristacortis, impietratura, CTV, CEVd, CCaVd ve CSD etmenleri açısından, biyolojik ve serolojik (CTV ve CSD) olarak gerçekleştirmişlerdir. Aday bitkilerin re-indekslemelerini; CTV, CEVd, CCaVd, CSD, psorosis grubu, concave gum, cristacortis, impietratura etmenlerinden ari olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar Kaliforniya introduksiyonlarının ana bitkilerinin psorosis hastalığıyla bulaşık olduğunu bildirmişlerdir.

Miao ve ark. (1996), Güney Teksas'ın farklı bölgelerinden topladıkları ticari olarak üretimi yapılan başlıca 5 turunçgil çeşidinden 4'ünde turunçgil exocortis viroidini ve diğer viroidleri tespit etmişlerdir. Etrog citron'a yaptıkları indeksleme sonucunda CEVd, CVdII, CVdIII ve CVdIV'in sptomlarına benzeyen sptomlar gözlemlediklerini bildirmişlerdir. 2 çeşitte infeksiyon düzeyinin çok düşük hatta sifıra yakın olduğunu, infeksiyon oranlarının ise Henderson greyfurdunda %100, Mars portakalında %80, Navel portakalında %75, Rio Red greyfurdunda %27, Ruby red greyfurdunda ise %0 olduğunu bildirmişlerdir.

Önelge (1996), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilen turunç anacına aşılı normal ve bodur Meyer limon ağaçlarını içerdikleri viroidler bakımından incelemiştir. Aşı ile taşınabilen bu bodurluğa Turunçgil viroidlerinden CVd-Ib, CVd-II, -III Group ve CVd-IV' den oluşan bir kompleksin neden olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, normal Meyer limon ağacında ise hiçbir viroide rastlamamıştır.

Peng Wei ve ark. (1996), Turunçgil üretiminin yoğun olarak yapıldığı Sichuan bölgesinde üretimde önemli sorunlara yol açan exocortis ve diğer viroidler için yürüttükleri sörvey çalışması sonucunda 58 ilçeden 44'ünde viroid sptomlarını tespit etmişlerdir. Bunun üzerine 911,500 üç yapraklı üzerine aşılı tatlı portakal ve limonlar üzerine 36 ilçede yaptıkları gözlemler sonucunda ağaçların %8,8'inin viroid sptomları gösterdiklerini bildirmişler, ayrıca etmenin viroid olduğunu 6 ilçeden topladıkları 21 örneğin 7'sini indikatör bitkilere indeksleyerek doğrulamışlardır. Ayrıca exocortis ve diğer viroidlerle infekteli ağaçlardan, sağlıklı olanlara göre

%73,6 oranında daha az ürün alındığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak viroidlerin kontrolünün virüsten ari aşı gözü ile üretimle mümkün olacağını belirtmişlerdir.

Garnsey (1997), Florida'da Turunçgil Tristeza Virüsü'nün durumunu araştırmış ve 100 yıl önce Japonya'dan Florida'ya getirilen Satsuma mandarin çeşitlerinin tristeza ile infekteli olduğunu bildirmiştir. 1950 yılından sonra Florida'nın birçok bölgesinde turunç üzerine aşılı çeşitlerdeki birçok bahçede tristeza (quick decline) nedeniyle çok sayıda ağacın öldüğünü saptamıştır. Ayrıca ticari turunçgil bahçelerinde bulunan etmenin daha çok ılımlı streynler olduğunu bildirmiştir. Florida koşullarındaki en yaygın tristeza izolatlarının stem pitting ya da decline oluşturmeyen bir izolatla, turunç üzerinde decline oluşturan ancak stem pitting oluşturmeyen diğer bir izolat olduğunu ve bu izolatların *Aphis gossypii* ve tolerant anaçlar üzerindeki infekteli aşı gözleri yoluyla geniş bir alana yayıldığını bildirmiştir. Ayrıca şu anda turunç üzerinde bulunan 15–20 milyon ağacın decline oluşturan streynin hızlı bir şekilde yayılması ve kahverengi turunçgil afidinin önemli turunçgil alanlarında yaygınlaşması nedeniyle tehlike altında olduğunu bildirmiştir.

Bar-Joseph (1997), CTV'nin şiddetli bir ırkının doğal yayılmasının ilk kez kıyı bölgelerde 1970'li yıllarda olduğunu; bunun üzerine ülkede bir "Turunçgil Tristeza Virüsü Eradikasyon Programı" uygulandığını ve yılda yaklaşık 80.000 ağacın gözlemlendiğini bildirmiştir. Programın başlamasından 10 yıl sonra sonuç olarak hastalık gelişiminin dikkate değer biçimde, program başlangıcındaki 150 infekteli bitki düzeyinden 10 infekteli ağaç/yıl düzeyine indiğini bildirmiştir. Ayrıca eski bir introduksiyon parselinde 1978 yılında yapılan ELISA testi çalışmaları sonucunda yüzlerce ağacın simptomsuz taşıyıcı durumunda olduğunu, lokal turunçgil ağaçlarının da hem şiddetli hem de çok hafif CTV ırklarına kaynaklık ettiğini bildirmiştir. Bazı şirketlerin ortak çabalarıyla 1,25 milyon turunçgil ağacını test etmişler ve ağaçların %0,127'sinin CTV ile bulaşık olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 1982 yılından sonra hastalıklı ağaçların sayısında bir artış olduğunu, 1985 yılında yaklaşık 18.600 ağaçtan 623'ünün infekteli olduğunu bildirmiştir.

Bozan ve ark. (1998), Yaptıkları çalışmayla turunçgil tristeza virüsünün ELISA yöntemi ile saptanmasında kullanılan genç kabuk dokularına alternatif değişik bitki dokularının kullanılma olanaklarını araştırmışlardır. Çalışmada Doğu Akdeniz bölgesinde değişik il ve ilçelerde bulunan bahçelerde, daha önce yaptıkları

çalışmalarda tristeza ile bulaşık olduğu saptanan izolatları seğmişlerdir. Ayrıca iki adet yurt dışı izolatları da çalışmalarına dahil etmişlerdir. Doğu Akdeniz bölgesi izolatlarını bilgisayar kontrollü seralarda Meksika laymına (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing) inokule etmişler ve çalışmalarında hem araziden aldıkları örnekleri, hem de serada Meksika laymına inokule edilen örnekleri kullanmışlardır. Bu izolatların ELISA yöntemi ile saptanmasında bitki dokularından yaprak sapı, yaprak orta damarı ve genç kabuk dokularını kullanmışlardır. Sonuç olarak izolatların ELISA testi uygulanarak saptanmasında kullanılan dokular arasında çok büyük farklılıklar gözlemlenemediklerini bildirmişlerdir.

Korkmaz ve ark. (1998), Yaptıkları çalışmayla turunil tristeza virüsünün 10 izolatını monoklonal ve poliklonal antibody'ler kullanarak direkt tissue blot immunoassay (DTBIA) yöntemiyle test etmişlerdir. Tristeza ile infekteli olanları 10X büyütme bir binoküler altında kolaylıkla belirlemişlerdir. Sağlıklı olan örneklerde ise herhangi bir renk değişimi tespit etmemişlerdir. Tristeza izolatlarının tamamının poliklonal antibody'lere pozitif reaksiyon gösterdiğini; monoklonal antibody'lerden MCA-13'ün ise sadece İğdir ve Kıbrıs izolatlarına karşı pozitif reaksiyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca DTBIA testinde pozitif reaksiyon gösteren izolatların ELISA testinde de pozitif reaksiyon gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Korkmaz ve ınar (1998), Yaptıkları çalışmada turunil tristeza virüsü, tütün mozaik virüsü, hıyar mozaik virüsü ve turunil klorotik cüceleşme hastalığını dsRNA analizi yöntemiyle test etmişlerdir. Tristeza virüsü için Meksika laymı bitkisinin kabuklarını, tütün mozaik ve hıyar mozaik virüsü için tütün bitkisinin yapraklarını, klorotik cüceleşme hastalığı içinse kaba limon bitkisinin yaprak ve kabuklarını kullanmışlardır. Sonuçta tristeza, tütün mozaik ve hıyar mozaik virüslerine ait oğalıcı form (replicative form=RF) dsRNA'lar elde edilirken klorotik cüceleşme hastalığına ait bir bulgu elde edemediklerini bildirmişlerdir.

Baloğlu ve Yılmaz (2001), Yaptıkları alışmada CTV'nin ELISA testleri için uygun dokunun sürgün kabukları olduğunu, ve en yüksek absorpsiyon değerinin mayıs ayı örneklerinden elde ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca topladıkları örneklerin -20 °C'de altı aya kadar saklanması sonuçları etkilemediğini, serada hastalıklı

ağaçlardan alınan gözlerle aşılınmış bitkilerde 1 ve 2 yıl sonra da pozitif sonuçların alınabileceğini saptamışlardır.

Kamberlioğlu ve Yılmaz (2001), CTV'yi kolon kromatografi ve sukroz density gradient santrifügasyon yöntemlerini kullanarak saflaştırmışlardır. UV absorpsiyon spektrumu oranını (260/280) 1.20 olarak saptamışlardır. SDS-PAGE sonucunda CTV kılıf proteinlerinin moleküler ağırlıklarını yaklaşık olarak 26 ve 27.000 kDa bulmuşlardır. Ayrıca CTV izolatlarını ELISA, ISEM ve slot-blotting yöntemleri kullanarak saptamışlardır. Füzyon sonucunda, CTV spesifik monoklonal antikor üreten bir hibrit hücre hattı (1G8) elde etmişlerdir. 1G8'in PTA-1 ELISA testinde Iğdır, Serdengeçti ve Kıbrıs, izolatları ile reaksiyon verdiğini bildirmiş, DAS-ELISA testinde ise Serdengeçti izolatının reaksiyon vermediğini bildirmişlerdir.

Korkmaz (2001), Yaptığı çalışmada turunçgil tristeza virüsünün dört farklı ırkının (Iğdır, Serdengeçti, Ege ve Kıbrıs) biyolojik özelliklerini ve bu ırkların Madam Vinous bitkisi üzerindeki dsRNA profillerini incelemiş, ayrıca tek bir streynin yedi farklı turunçgil bitkisinde oluşturmuş olduğu dsRNA yapılarını araştırmıştır. Biyolojik özelliklerini belirlediği dört farklı streynin Kıbrıs greyfurt, portakal ve Meksika laymında simptom oluştururken, Serdengeçti, Ege ve Iğdır streynlerinin sadece Meksika laymında simptom oluşturduğunu bildirmiştir. Her dört streyninde Madam Vinous bitkisi üzerinde virüse özgü genomik major dsRNA oluştururken, ayrıca moleküler ağırlığı 2, 0.8 ve 0.5 x 10⁶ Da olan üç major ya da minör dsRNA oluşturduğunu bildirmiştir. Iğdır ırkı inokule edilen yedi farklı turunçgil bitkisinin tamamında genomik dsRNA oluşumunu gözlemlerken özellikle Madam Vinous, kabalimon ve *Citrus excelsa*'da oluşan bantların diğerlerinden daha belirgin olarak meydana geldiğini bildirmiştir.

Sertkaya (2001), Yaptığı çalışmada Doğu Akdeniz Bölgesi'nde, turunçgil tristeza colesterovirüs (CTV) ile infekteli ağaçların belirlenmesi amacı ile bölgede turunçgil yetiştirilen yerlerde (Adana, Hatay, İçel ve Osmaniye illerinde) bir sörvey programı oluşturmuştur. Turunçgil tristeza virüs hastalığına özgü belirtiler sergileyen ağaçlardan aldığı örnekleri serolojik (DAS-ELISA) ve biyolojik metotlar ile araştırmıştır. Değerlendirdiği sörvey sonuçlarına göre toplam 52 adet Tristeza belirtisi gösteren ağaç belirlemiştir. Biyolojik indekslemeler sonucunda bu

ağaçlardan 12 adedinin Meksika laymında damar açılması simptomu oluşturduğunu fakat bu ağaçlardan, 9 tanesinin ELISA yöntemiyle CTV için pozitif sonuç verdiğini, stubborn içinse hiçbir örneğin ELISA ile pozitif sonuç vermediğini bildirmiştir. Simptomlu indikatör bitkilerin yapraklarının genellikle daha küçük ve klorotik olarak geliştiğini fakat ‘vein corking’ (damar mantarlaşması) ve ‘leaf cupping’ (yaprak kaşıklaşması) belirtilerinin indikatör bitkilerin hiçbirinde gözlemlenmediğini bildirmiştir. Ayrıca Doğu Akdeniz Bölgesi’nde Tristeza ile infekteli ağaçların sırası ile portakal ve mandarin çeşitlerinde saptanmış olduğunu, altıntop ve limon çeşitlerinde hastalıkla infekteli ağacın bulunamadığını bildirmiştir.

Bozan (2002), Yaptığı çalışmada Doğu Akdeniz Bölgesi’nde turunçgil tarımının yoğun olarak yapıldığı Aşağı Seyhan Ovası’nda turunçgil tristeza virüs hastalığının yoğunluğunu belirlemek amacıyla yürüttüğü sörvey çalışması sonucunda Washington ve Valencia portakalları, Satsuma, klemantin, fremont ve minneola mandarinleri, meyer, enterdonat ve kütdiken limonları, star ruby, henderson, rio red, red blush ve marsh seedless altıntop çeşitlerinde toplam 906.029 adet turunçgil ağacında gözlemler yapmıştır. Sörvey çalışması gerçekleştirdiği ağaçlardan aldığı 44.800 adet örneğe ELISA testi yapmış ve ELISA testi sonucu pozitif olarak tespit ettiği örneklere DTBIA testi uygulamıştır. Sonuçta bir Washington – Satsuma bahçesinden aldığı örneklerde ELISA ve DTBIA testinin pozitif sonuç verdiğini bildirmiştir. Araştırmacı bu bahçede 19 adet infekteli ağaç belirlemiş ve Bölgedeki CTV oranını %0,04 olarak saptamıştır. Bunun yanında Tristeza benzeri simptom gösteren 12 ağaçta *Spiroplasma citri*’nin varlığını araştırmış ve 5 Washington navel ile 3 Valencia portakal ağacının belirtilen etmen ile infekteli olduğunu bildirmiştir.

Korkmaz (2002), Yaptığı çalışmada Türkiye’deki turunçgil tristeza virüsünün 10 izolatını farklı poliklonal ve monoklonal antibodyler kullanarak direk doku bastırma (DTBIA) yöntemiyle test etmiştir. Ayrıca bir satsuma bahçesindeki 258 ağacı hem ELISA hem de DTBIA yöntemi kullanarak test etmiştir. Tüm poliklonal (1212-1, 981-1 ve 908-7) ve MCA-13 dışında tüm monoklonal (ECTV-175, ECTV-176, 1181-3 ve 3E10-6) antibodylerin CTV izolatlarına karşı pozitif reaksiyon gösterirken, MCA-13’ün yalnızca Iğdır ve Kıbrıs izolatlarına pozitif reaksiyon gösterdiğini; iki farklı monoklonal antibody kullanılarak CTV izolatlarından DTBIA testinde pozitif reaksiyon gösterenlerin ELISA testinde de pozitif reaksiyon

gösterdiklerini bildirmiştir. Ayrıca ELISA ve DTBIA yöntemleriyle test edilen 258 Satsuma ağacının, uygulanan her iki yöntemde de benzer sonuçlar verdiğini; her iki test sonucunda da toplam 7 ağacın infekteli; 251 ağacın ise sağlıklı bulunduğunu bildirmiştir. Sonuç olarak DTBIA yönteminin turunçgil tristeza virüsünün tanısı için hızlı, duyarlı ve güvenilir bir yöntem olduğunu belirtmiştir.

Göçmen ve ark. (2003), Yaptıkları çalışma ile moleküler tekniklerden olan ve RNA düzeyinde tanılamaya imkan sağlayan RT-PCR ve enzim işaretlemesiyle Dot-Blot Hibridizasyon tekniklerini CEV'in tanılmasında kullanmışlardır. Sonuç olarak biyolojik indeksleme süresi uzun olan CEV'in kısa sürede, güvenilir ve hızlı şekilde tanılamının yapılabileceğini bildirmişlerdir.

Barbarossa ve Savino (2006), Radyoaktif olmayan dot-blot hibridizasyon testi ile toplam nükleik asit içerisinde Citrus tristeza virusüyle infekteli olanları başarılı bir şekilde belirlemişlerdir. Ayrıca çeşitli turunçgil dokularından virüsün güvenilir bir şekilde tespit edilebilmesi için optimal yaprak petiol miktarını belirlemişlerdir. Hibridizasyon testi sonucunda 0.2 mg taze infekteli dokunun test için yeterli olduğunu bildirmişlerdir. Riboproların farklı coğrafi alanlarda, sera yada açık alanlarda bulunan CTV izolatlarının tespitinde benzer hibridizasyon örnekleri gösterdiklerini bildirmişlerdir. Sonuç olarak infekteli ağaçlara uyguladıkları dot-blot hibridizasyon testleri sonucunda Haziran ve Ağustos aylarında alınan örneklerin diğer aylarda alınanlara göre oldukça zayıf hibridizasyon sinyalleri verdiklerini ve CTV'nin serolojik yöntemlerle tespitine; moleküler hibridizasyon yönteminin yüksek duyarlılıkta ve güvenilir bir alternatif olabileceğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Sörvey Çalışmalarında Kullanılan Materyal

Edremit Körfez Bölgesi (Edremit, Havran, Burhaniye)'nde ticari olarak yaygın bir şekilde Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.)'i ve Satsuma mandarin bahçelerinin içerisinde çok az bir miktarda da Washington navel (*Citrus sinensis* L. Osbeck) yetiştiriciliği yapıldığı için sörvey çalışması kapsamına belirtilen çeşitler alınmıştır.

Sörvey çalışmaları sırasında simptomolojik bulgulara rastlanılan ağaçların işaretlenmesinde boya kullanılmış olup, ağaçların kordinatlarının belirlenmesinde Magellan Sportrek Marine model GPS aleti kullanılmıştır. Simptomolojik bulgulara rastlanılan ağaçlardan örneklerin alınmasında, budama makası, dezenfeksiyon için %2'lik sodyum hipoklorid; alınan örneklerin muhafazasında ise polietilen torba, etiket ve örneklerin laboratuara ulaştırılincaya kadar saklanmasında ise buz kabı kullanılmıştır.

3.1.2. İndeksleme Çalışmalarında Kullanılan Materyal

Exocortis viroidinin indeksleme çalışmaları Edremit Zeytincilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü seralarında, tristeza virüs hastalığının indeksleme çalışmaları Çukurova Üniversitesi Subtropik Meyveler Araştırma ve Uygulama Merkezi seralarında, Satsuma dwarf virüsünün indeksleme çalışmaları ise Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim odasında yürütülmüştür.

Exocortis viroidi ve tristeza virüs hastalığının indekslenmesinde aşı bıçağı, bisturi, aşı bandı, budama makası, dezenfeksiyon için %2'lik sodyum hipoklorid; Satsuma dwarf virüsünün indekslenmesinde ise havan ve havan eli, pamuklu çubuk ve carborandum tozu kullanılmıştır.

3.1.2.1. İndikatör Bitkiler

Yapılan sörvey çalışmaları sonucunda simptomolojik bulgulara göre belirlenen virüs ve virüs benzeri hastalık etmenlerinin indekslenmesinde kullanılan indikatör bitkiler ve referansları Çizelge 1’de yer almaktadır.

Çizelge 1. İndeksleme çalışmalarında kullanılan indikatör bitkiler

Etmenler	İndikatör bitkiler	Referanslar
Exocortis	Kaba limon (<i>Citrus jambhiri</i> Lush) üzerine aşılı Etrog citron (<i>Citrus medica</i> (L.) var. <i>ethrog</i> Engl.)	(Calavan, 1968)
Tristeza	Meksika laymı (<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm) Swingle) Madam vinous (<i>Citrus cinensis</i> (L.) Osbeck) Altıntop (<i>Citrus paradisi</i> Macf.) Turunç (<i>Citrus aurantium</i> L.)	(Wallace, 1968c) (Blue ve ark., 1976)
Satsuma dwarf	Beyaz susam (<i>Sesamum indicum</i> L.)	(Tanaka, 1968)

Çizelge 1’de yer alan indikatör bitkilerin yetiştirilmesinde ise siyah fidan tüpleri, kasalar, plastik saksı ve küvetler, 1:1:1 oranında tarla toprağı, kum ve ticari torf karışımından oluşan yetiştirme ortamı kullanılmıştır. Ayrıca indikatör bitkilerin yetiştirilmesi süresince ortaya çıkabilecek zararlılar için insektisit ve akarisitler, hastalıklara karşı ise fungusitler kullanılmıştır.

3.1.3. Serolojik Çalışmalarda Kullanılan Materyal

3.1.3.1. Tristeza ve Psorosis Virüs Hastalığının ELISA Testinde Kullanılan Materyal

Tristeza ve Psorosis virüs hastalığının serolojik bir yöntem olan ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) testi ile tanılanmasında tristeza için,

Bioreba (İsviçre) ve Psorosis için, Agrigest (İtalya) firmasından sağlanan ve 96 çukur içeren Microtiter plate'ler kullanılmıştır. ELISA testi için gerekli olan komple kit ve kimyasallar da yine aynı firmadan sağlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sörvey Çalışması

Sörvey çalışması 2005 - 2006 yıllarında Edremit Körfez Bölgesi (Edremit, Havran, Burhaniye)'nde bulunan Satsuma mandarin bahçelerinde yürütülmüştür.

Balıkesir ili Edremit Körfez Bölgesi'nde sörvey çalışmasının yürütüldüğü yöreler Şekil 1'de yer almaktadır.



Şekil 1. Edremit Körfez Bölgesi'nde sörvey yapılan alanlar.

Sörvey çalışmasında bahçe büyüklüğü en az 10 dekar ve üzeri olan bahçeler seçilmiştir. Ayrıca turunçgil virüs ve virüs benzeri etmenlerinin oluşturduğu belirtiler genellikle turunçgil ağaçları 8 - 10 yaşına ulaştıktan sonra ortaya

çıkıldığından dolayı sörvey çalışmalarında kullanılmak üzere büyüklükleri en az 10 dekar olan bahçelere ilaveten en az 10 yaş ve üzeri yaşında bahçeler seçilmiştir.

Sörvey çalışmalarının yürütülmesi sırasında bahçe sahibinin adı, bahçenin bulunduğu mevki, bahçe büyüklüğü, bahçenin yaşı, kullanılan anaç çeşidi, ağaçların orijini, ağaçların genel durumu ve uygulanan kültürel işlemler gibi bilgiler kaydedilmiştir. Sörvey çalışmasında kolaylık sağlaması amacıyla bahçelere 1'den başlayarak numara verilmiştir. Sörvey çalışmasına dahil edilen virüs ve virüs benzeri hastalık etmenlerini karakterize eden simptomlar ve bu simptomların gözlenebileceği yıl içindeki en uygun dönemler Çizelge 2'de yer almaktadır.

Sörvey çalışmasında ağaçlar, Çizelge 2'de belirtilen hastalıkların karakteristik simptomları dikkate alınarak görsel olarak incelenmiş ve belirtilen hastalıklara benzer simptomlar gösteren ağaçlar örnek alınmak üzere işaretlenmiştir.

Çizelge 2. Sörvey çalışması yapılan virüs ve virüs benzeri hastalık etmenlerinin karakteristik simptomları ve bu simptomların görülebileceği dönemler.

Hastalık Adı	Karakteristik Simptomlar	En Uygun Dönem
Exocortis	Anaç olarak üç yapraklının kullanıldığı çeşitlerde anaçta kabuk kavlaması, şişe boynu belirtisi, basık gelişme, turunc anacı üzerine aşılı çeşitlerde ise bodurluk.	Yıl boyu
Psorosis	Ağacın kalem kısmında gövde ve ana dallarda kabuğun pul pul veya tabakalar halinde kavlaması (psorosis A), ana gövde üzerinde konkav şekilli (concave gum) veya ince uzun dar ve derin çöküntüler (blind pocket), ilkbahar büyüme mevsiminde oluşan henüz sertleşmemiş genç yapraklarda damar bantlaşması (vein banding) veya meşe yaprağı (oak-leaf) simptomu.	Mart - Nisan
Satsuma dwarf	İlkbahar sürgünü yapraklarda ve ağacın gölge kısımlarında bulunan yapraklarda gondol veya cüce kaşık biçiminde şekil bozukluğu, ağaçta gelişme durgunluğu, saçak dalların uç yapraklarında şekil bozukluğu ve boğum aralarında kısılma, rozetleşme.	Mayıs – Haziran
Tristeza	Anaç olarak üç yapraklının kullanıldığı çeşitlerde bodurluk, gelişme geriliği, sürgün ve yapraklarda durgunluk ve sararma, geriye doğru ölüm. Anaç olarak turuncun kullanıldığı çeşitlerde ise aşı yerinde şişme, aşı yerinden kaldırılan kabuk üzerinde turunca ait kısmında bal peteği şeklinde çukurcuklar (honey-combing), odun kısım üzerinde ise iğne ucu şeklinde çıkıntılar, gelişme geriliği, sürgünlerde durgunluk ve sararma, geriye doğru ölüm.	Yıl boyu

3.2.2. ELISA Testi

3.2.2.1. Seçilen Ağaçlardan Materyal Alımı

Tristeza virüs hastalığı için anaç olarak üç yapraklının kullanıldığı çeşitlerde bodurluk, gelişme geriliği, sürgün ve yapraklarda durgunluk ve sararma, geriye doğru kuruma gösteren ağaçlardan Aralık 2005, Şubat 2006, Haziran 2006 ve Temmuz 2006 tarihlerinde toplam 156 örnek alınmıştır. ELISA testi için ağaçlardan alınan örnekler ağacın dört yönünden 1 yıllık genç sürgünlerden alınmıştır.

Psorosis virüs hastalığı için, ağacın kalem kısmında gövde ve ana dallarda kabuğun pul pul veya tabakalar halinde kavlaması (psorosis A), ana gövde üzerinde konkav şekilli (concave gum) veya ince uzun dar ve derin çöküntüler (blind pocket), ilkbahar büyüme mevsiminde oluşan henüz sertleşmemiş genç yapraklarda damar bantlaşması (vein banding) veya meşe yaprağı (oak-leaf) simptomu gösteren ağaçlardan Mayıs 2006 tarihinde toplam 10 örnek alınmıştır. ELISA testi için ağaçlardan alınan örnekler, ağacın dört yönünden turuncgil çiçeklerini içeren sürgünlerden alınmış ve alınan tüm örnekler polietilen torbalara konularak etiketlenip buz kabına konulmuş ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji laboratuvarına getirilmiştir. Alınan örnekler ELISA testi uygulanıncaya kadar (en çok 1 hafta boyunca) buzdolabında + 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2. Test İçin Kullanılan Tampon Çözeltiler ve Testin Uygulanması

Tristeza ve Psorosis virüs hastalığının ELISA testi için kullanılan tampon çözeltiler ve oranları Çizelge 3'de yer almaktadır.

Çizelge 3. Tristeza ve Psorosis virüs hastalığının ELISA testi için kullanılan tampon çözeltiler.

Tampon Çözeltiler	Kimyasallar	Miktarları
Kaplama Tamponu pH=9,6 1000 ml saf su içinde	Na ₂ CO ₃ NaHCO ₃ NaN ₃	1,59 g 2,93 g 0,20 g
Yıkama Tamponu pH=7,4 1000 ml saf su içinde	NaCl KH ₂ PO ₄ Na ₂ HPO ₄ KCL Tween 20	8,00 g 0,20 g 1,15 g 0,20 g 0,50 g
Conjugate (Enzim-IgG) Tamponu pH=7,4 1000 ml saf su içinde	Tris NaCl PVP K25 (MW 24000) Tween 20 BSA MgCl ₂ × 6H ₂ O KCl NaN ₃	2,40 g 8,00 g 20,00 g 0,50 g 2,00 g 0,20 g 0,20 g 0,20 g
Örnek Tamponu pH=7,4 1000 ml saf su içinde	Tris NaCl PVP K25 (MW 24000) Tween 20 KCl NaN ₃	2,40 g 8,00 g 20,00 g 0,50 g 0,20 g 0,20 g
Substrat Tamponu pH=9,8 1000 ml saf su içinde	Diethanolamine NaN ₃	97,00 ml 0,20 g
Substrat solüsyonu	4- nitrophenyl phosphate, substrat tamponu içinde çözümlenerek hazırlanmıştır (1 mg / ml).	

ELISA testi Clark ve Adams (1977)'in bildirdiği "Double Antibody Sandwich" yöntemine göre yapılmış olup antibody ve conjugate üretici firma olan Tristeza için Bioreba ve Psorosis için Agrigest'in önerileri doğrultusunda kullanılmıştır.

1) İlk olarak 96 çukur içeren Microtiter ELISA platelerinin her bir çukuruna, hazırlanan kaplama tamponu ile 1/1000 oranında seyreltilmiş IgG çözeltisinden 200 µl eklenmiş; plate nemli ve ağzı kapalı bir kutuya yerleştirilmiş ve 30 °C'de 4 saat inkübe edilmiştir.

2) Platelerin her bir çukuru hazırlanan yıkama tamponu ile en az 3 defa 3'er dakika bekletilerek yıkanmıştır.

3) İnfekteli olduğundan şüphelenilen örneklerden Tristeza için 0,3 g genç sürgün kabuk dokusu, Psorosis için 0,3 g çiçek dokusu tartılarak üzerine 5 ml örnek tamponu ilave edilmiş, ve örnekler porselen havan içinde iyice ezilerek örneklerin öz suları elde edilmiştir. Öz suları elde edilen örneklerden her bir örnek için iki plate çukuruna 200 µl eklenmiştir. Ayrıca yöntemin doğru çalışıp çalışmadığını anlayabilmek için kit içerisinden çıkan pozitif, negatif kontrol ve örnekleri ezdiğimiz örnek tamponundan da yine her biri için ikişer boş plate çukuruna 200 µl eklenmiştir. Örneklerin eklenmesi bittikten sonra plate nemli ve ağzı kapalı bir kutuya yerleştirilip buzdolabında + 4 °C'de tüm gece inkübe edilmiştir.

4) Platelerin her bir çukuru hazırlanan yıkama tamponu ile en az 3 defa 3'er dakika bekletilerek yıkanmıştır.

5) 1/1000 oranında conjugate, hazırlanan conjugat tamponu içerisinde seyreltilerek, her bir çukura 200µl eklenmiş ve 30 °C'de 5 saat inkübe edilmiştir.

6) Platelerin her bir çukuru hazırlanan yıkama tamponu ile en az 3 defa 3'er dakika bekletilerek yıkanmıştır.

7) Platelerin her bir çukuruna, substrat tamponu içerisinde 1 mg / ml olacak şekilde 4- nitrophenyl phosphate eklenip eritildikten sonra, her bir plate çukuruna 200 µl eklenip 30-120 dakika arasında oda sıcaklığında karanlık bir ortamda inkübe edilmiştir.

8) 120 dakikanın sonunda her bir çukura 50 µl 3 M NaOH eklenerek reaksiyon durdurulup sonuçlar çıplak gözle ve 405 nm dalga boyunda absorbands değerleri ölçülerek değerlendirilmiştir.

Çıplak gözle her bir çukurdaki renk değişimi belirlenerek sarı renk oluşumu görülen çukurlardaki örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Absorbans değerinin ölçülmesinde ise Medispec ESR 200 ELISA plate okuyucu kullanılmış olup 405 nm dalga boyunda negatif kontrol absorbans değerinin 2 katı ve üzerine ulaşan değerler pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.2.3. İndeksleme Çalışmaları

3.2.3.1. İndikatör Bitkilerin Yetiştirilmesi

İndeksleme çalışmalarında kullanılan indikatör bitkilerin bir kısmı tohumdan yetiştirilmiş olup bir kısmı ise uygun anaçlar üzerine göz aşısı ile aşılansarak elde edilmiştir. İndeksleme çalışmalarında Meksika laymı ve Madam vinous portakalı doğrudan kullanılırken; kaba limon, aşılama çalışmalarında anaç olarak kullanılmış olup turunç ise hem indeksleme çalışmalarında doğrudan hem de aşılama çalışmalarında anaç olarak kullanılmıştır. Belirtilen indikatör bitkilerin yetiştirilmesi için gerekli olan tohumlar, Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü koleksiyon bahçesinde yer alan turunçgil parselindeki ağaçlardan, olgunlaşma dönemine ulaşmış turunçgil meyveleri toplanarak elde edilmiştir. Toplanmış olan meyveler ikiye kesilerek tohumlar bir süzgecin içine çıkartılmış ve tohumlar çeşme suyuyla yıkanarak üzerlerindeki yapışkan kısım uzaklaştırılmıştır. Temizlenen tohumlar açık havada, gölge bir yerde kurutulmuştur. Kurutulan tohumlar oluşabilecek fungal hastalıklara karşı PCNB'li bir tohum ilacıyla ilaçlanmıştır. İlaçlanan tohumlar gölge bir yerde yaklaşık 2 saat kurutulduktan sonra bez torbalara konulup etiketlenmiş ve ekim yapılıncaya kadar buzdolabında +4 °C'de saklanmıştır.

Buzdolabında +4 °C'de saklanan tohumlar ilkbaharda 1:1 oranında torf ve kum karışımı bulunan 50 × 100 × 25 cm boyutlarındaki tahta kasalara sıra arası 10 cm, sıra üzeri 5 cm olacak şekilde ekilmiştir. Ekimden önce muhtemel hastalık ve zararlıların tohumların çimlenmesindeki olumsuz etkilerini önlemek amacıyla tahta kasalar %2'lik formalin ile kullanılan toprak karışımı ise 100 °C'de 4 saat boyunca sıcak su buharı ile steril edilmiştir. Tahta kasalara ekimi yapılan indikatör bitkiler 25 – 30 °C'ye ayarlı sera koşullarında tutulmuştur. Ekimi yapılan indikatör bitkilerin tohumları yaklaşık olarak 20 gün sonra çimlenmeye başlamış ve bitkiler 15 cm boya

ulaşıncaya kadar bu kasalarda tutulmuştur. Tahta kasalarda 15 cm boya ulaşan çöğürler sonbaharda 1 L hacimli siyah fidan tüplerine, her tüpe 1 bitki olacak şekilde şaşırtılmıştır. Aşılama ve indeksleme çalışmalarında kullanılmak üzere yetiştirilen indikatör bitkilerin besin elementi noksanlıklarının giderilmesi için fidan tüplerindeki torf + kum karışımına ve indikatör bitkilerin sulama sularına 15 gün aralıklarla Roistacher (1988) tarafından önerilen ve Çizelge 4’de yer alan besin elementi çözeltisi verilmiştir.

Çizelge 4. Anaç ve indikatör bitkilerin gübrenmesinde kullanılan bitki besin maddeleri.

Torf + Kum Karışımına Eklenen Besin maddeleri	Adı	Kimyasal Formülü
Makro Elementler	Triplesüperfosfat	P_2O_5
	Dolomit	$MgCO_3$
	Kalsiyum karbonat	$CaCO_3$
Mikro Elementler	Bakır sülfat	$CuSO_4 \times 5H_2O$
	Çinko sülfat	$ZnSO_4$ (%36 Zn)
	Mangan sülfat	$MnSO_4$ (%28 Mn)
	Demir sülfat	$FeSO_4 \times 7H_2O$
	Amonyum molibdad	$(NH_4)_6 Mo_7O_{24} \times H_2O$
	Borik asit	H_3BO_3
Sulama Suyuna Eklenen Besin Maddeleri	Kalsiyum amonyum nitrat	$Ca (NH_4)_2 NO_3$
	Amonyum nitrat	$(NH_4)_2 NO_3$
	Potasyum sülfat	K_2SO_4

Aşılı fidan şeklinde kullanılan indikatör bitkilerden Etrog citron, kaba limona; Rio-Red altıntopu ise turunç anacına göz aşılması yapılarak elde edilmiştir. Etrog citron ve Rio-Red altıntopuna ait aşı gözleri, Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü nüseller turunçgil bahçesindeki aşı gözü kaynağı olarak seçilmiş ağaçlardan Mart – Nisan aylarında alınmış ve alınan aşı çubuklarından çıkarılan aşı gözleri bir yaşındaki belirtilen anaçlar üzerine aşılanmıştır. Aşılama bitki gövdesinin toprak yüzeyinden 10-15 cm yükseklikten T-göz aşısı şeklinde yapılmış ve aşı bandı ile

sarılmıştır. Aşılar kallus dokusu oluşuncaya kadar yaklaşık 3 hafta boyunca aşı bandı ile sarılı olarak bırakılmıştır. Aşı bantları 3 haftanın sonunda çözüldükten sonra anaçlara aşılana aşı gözlerinin hızlı bir şekilde sürmeleri için bitkiler aşı yerlerinin yaklaşık olarak 10 cm üzerlerinden kesilmiştir. Aşılana gözler sürmeye başladıktan sonra tek bir sürgün olarak büyütülmüştür.

Tohumdan üretilen indikatör bitkilere uygulanan kültürel işlemlerin tümü aşılamayla elde edilen indikatör bitkilere de uygulanmıştır. İndikatör bitkiler gerek duyuldukça hastalıklara karşı fungusitlerle ve zararlılara karşı insektisit ve akarisitlerle ilaçlanmıştır. Aşılama ve indeksleme çalışmalarında kullanılan indikatör bitkilerin tümü gelişme süreleri boyunca kontrollü sera koşulları altında tutulmuştur.

İndeksleme çalışmasında kullanılmak üzere yetiştirilen indikatör bitkilerin tümü kullanılmadan önce gelişme hızları, uzunluk ve gövde kalınlıkları bakımından incelenip tip dışı gelişme gösterenler ayrılmıştır. İndeksleme çalışması sırasında kullanılan aşı bıçakları ve budama makasları her defasında %2'lik sodyum hipoklorid çözeltisine batırılıp çeşme suyunda durulandıktan sonra kullanılmıştır.

Satsuma dwarf virüs hastalığının indikatör bitkisi olan beyaz susamın yetiştirilmesinde ise üretim materyali olarak tohum kullanılmıştır. İndikatör bitki olarak kullanılacak olan beyaz susam bitkisinin tohumları piyasadan temin edilmiş ve 1:1 oranında torf ve kum içeren yetiştirme ortamı kullanılarak 250 g'lık plastik saksılara Haziran ayı başında ekilmiştir. Ekim yapılan saksılar 25 °C'ye ayarlı iklim odasına konulmuş ve üç gün içinde ekilen tohumlar çimlenmiştir. Bitkiler iki buçuk hafta içinde indekslemeye hazır (2-4 yapraklı) hale gelmiştir.

3.2.3.2. Seçilen Ağaçlardan Materyal Alımı

Sörvey çalışması sırasında simptomolojik bulgulara göre seçilen Satsuma mandarin ve Washington navel portakal ağaçlarından Exocortis, Satsuma dwarf ve tristeza hastalıkları açısından indeksleme yapmak amacıyla Exocortis için Temmuz 2005 ve Ağustos 2005 tarihlerinde, Satsuma dwarf için Haziran 2006 tarihinde materyal alımı yapılmıştır. Tristeza virüs hastalığı için ise serolojik bir tanı yöntemi olan ELISA testi sonuçlarına göre pozitif çıkan örneklerin bulunduğu ağaçlardan

yöreyi temsil edecek şekilde Aralık 2005, tarihlerinde indekslemede kullanılmak amacıyla materyal alınmıştır.

Seçilen ağaçlardan materyal alınırken exocortis ve trizezanın indekslenmesi için aşığızözü kaynağı olarak kullanılabilir nitelikte, Satsuma dwarfın indekslenmesi için ise hastalığa özgü simptomların gösteren sürgün ve yaprakları içerecek şekilde materyal alımı yapılmıştır. Alınan materyaller seçilen ağaçların 4 tarafından alınmış ve etiketlenerek polietilen torbaların içine konularak laboratuara getirilene kadar buz kabı içinde tutulmuştur. Laboratuara getirilen materyaller en çok bir hafta içinde kullanılmak üzere buzdolabında +4 °C’de saklanmıştır.

3.2.3.3. Exocortis Viroidinin Biyolojik İndekslenmesi

Exocortis viroidinin biyolojik indekslenmesi, Edremit Zeytincilik Üretim İstasyonu Müdürlüğü’nde yapılmış olup indekslemede kaba limon üzerine aşılanmış Etrog citron bitkileri kullanılmıştır. İndeksleme büyüklüğüne ulaşan bitkilere aday ağaçlardan alınan göz ve kabuk dokuları, bitkinin anaç kısmına T-göz aşısı şeklinde verilmiş olup alınan yaprak dokusu ise bitkinin kalem kısmına yaprak yaması şeklinde verilmiş ve aşı bandı ile sarılmıştır. Böylece her bir örnekten, ikisi anaç kısmına göz ve kabuk olarak; biri ise kalem kısmına yaprak olmak üzere üç inokulum kullanılmış olup her bir örnek için ikişer indikatör bitki kullanılmıştır. Ayrıca bir indikatör bitki ise negatif kontrol olarak bırakılmıştır.

İnokulasyonu tamamlanan ve kontrol olarak bırakılan bitkiler 28 °C’ye ayarlı serada tutulmuştur. İnokulasyondan 3-4 hafta sonra aşı bantları çözülüp verilen inokulumların canlılıkları kontrol edilmiştir. Exocortis viroidinin varlığı inokulasyondan yaklaşık olarak 6-10 hafta sonra kaba limona aşılı Etrog citron sürgünündeki genç yaprak epinastisi, yaprak altı ana damarındaki kahverengileşmeler ve yaprak sapında oluşan nekrozlara göre belirlenmiştir.

3.2.3.4. Tristeza Virüsünün Biyolojik İndekslenmesi

Tristeza virüs hastalığının biyolojik indekslenmesi Çukurova Üniversitesi Subtropik Meyveler Araştırma ve Uygulama Merkezinde yapılmış olup indikatör

bitki olarak Meksika laymı, Madam vinous portakalı, turunç ve turunç üzerine aşılı Rio-Red altintopu kullanılmıştır. İndeksleme büyüklüğüne ulaşan bitkilere ELISA testi sonuçlarına göre pozitif çıkan örneklerden seçilen ağaçlara ait gözler T-göz aşısı şeklinde, kabuk ve yaprak dokusu ise yama şeklinde verilmiş ve aşı bandı ile sarılmıştır. İndeksleme çalışmasında her bir örnek için belirtilen indikatör bitkilerden dörder adet kullanılmış olup birer adet bitki ise negatif kontrol olarak bırakılmıştır.

İnokulasyon işlemi tamamlanan ve kontrol olarak bırakılan bitkiler 21 °C'ye ayarlı serada tutulmuştur. İndekslemesi yapılan bitkilerin aşı bantları yaklaşık olarak 21 gün sonra çıkartılmış ve verilen inokulumların canlılık durumları kontrol edilmiştir. İndekslemesi yapılan bitkilerde, indekslemeden 4-8 hafta sonra bitkilerin yapraklarında tristeza virüs hastalığına özgü damar açılması (vein-clearing), yaprak küçülmesi (leaf cupping) ve sararma (chlorosis) simptomları ve inokulasyondan 20-24 hafta sonra ise Meksika laymı ve turunç bitkilerinde gövde kabukları soyularak gövde çukurlaşması (stem pitting) simptomlarının varlığı kontrol edilerek hastalığın belirlenmesi için serolojik bir yöntem olan ELISA testi yanında biyolojik indeksleme yöntemi de kullanılmıştır.

3.2.3.5. Satsuma Dwarf Virüsünün İndekslenmesi

Satsuma dwarf virüsünün indeksleme çalışmaları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim odasında yapılmış olup hastalığın indekslenmesinde indikatör bitki olarak beyaz susam fideleri kullanılmıştır. İnokulasyon için 2-3 yapraklı hale ulaşmış beyaz susam fideleri Tanaka (1968) yöntemine göre inokule edilmiştir. Bu amaçla Haziran 2006 tarihinde sörvey çalışması sonucu seçilen Satsuma mandarin ağaçlarının hastalığa özgü simptom gösteren kısımlarından sürgünler alınmış ve alınan sürgünlerden yaprak ve kabuk dokusunu içerecek şekilde 0,5 g olarak tartılmıştır. Tartımı yapılan örnekler porselen havan içine konulmuş ve 0,01 M ve pH 7 olan fosfat buffer ($\text{Na}_2\text{HPO}_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ve KHPO_4) tampon çözeltisinden havan içine 4,5 ml eklenerek bitkinin özsuyu elde edilene kadar iyice ezilmiştir. Ezme işlemi bittikten sonra bitki sıvısı, bitki parçacıklarının ortamdan uzaklaştırılması için, bir tülbentten geçirilerek bitki özsuyu elde edilmiştir. İndikatör bitki olarak kullanılacak olan beyaz susam

bitkilerinin yapraklarına yara oluşumunu sağlamak amacıyla carborandum tozu serpilmiş ve bir pamuklu çubuk yardımıyla elde edilen bitki öz sularından her bir örnek için üç bitkiye inokulasyon yapılmıştır. Bir bitki ise negatif kontrol olarak bırakılmış olup sadece örneklerin ezilmesinde kullanılan fosfat buffer ile inokule edilmiştir.

İnokulasyonu yapılan bitkiler 25 °C ve %80 nispi neme ayarlı iklim odası koşullarında tutulmuştur. İnokulasyondan 2-3 gün sonra periyodik aralıklarla bitkilerin gözlemlenmesine başlanılmış olup yapraklarda damar açılmaları, şekil bozuklukları; inokulasyon yapılan yapraklarda nekrotik lekeler ve yaprak bükülmesi belirtilerinin oluşup oluşmadığı kontrol edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırma bulguları; sörvey çalışmasına ait bulgular, serolojik yöntemlere ait bulgular ve indeksleme çalışmalarına ait bulgular olmak üzere üç kısımda ele alınmıştır.

4.1. Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular

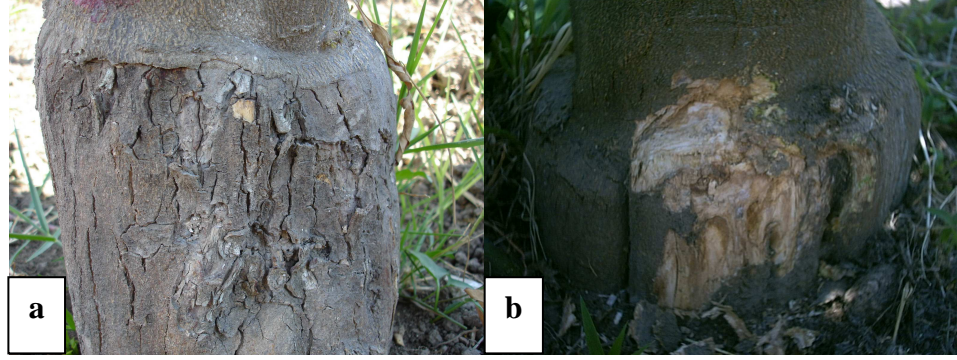
Sörvey çalışması 2005 - 2006 yıllarında Edremit Körfez Bölgesi (Edremit, Havran, Burhaniye)'nde bulunan Satsuma mandarin bahçelerinde yürütülmüştür. Edremit Körfez Bölgesi turuncgil üretim alanlarında sörvey çalışması için seçilen bahçe sayıları Çizelge 5'de yer almaktadır. Çizelgede de görüldüğü gibi Edremit ilçesinde Merkez, Çıkrıkçı, Kumluklar, Kuruçay ve Soğuk Tulumba mevkilerinde 48, Havran ilçesinde Merkez ve Kumbağlar mevkilerinde 11 ve Burhaniye ilçesinde ise merkezde 1 bahçede olmak üzere toplamda 60 bahçede yaklaşık olarak 1650 dekarlık bir alan üzerinde sörvey çalışması yürütülmüştür.

Çizelge 5. Sörvey çalışması yapılan Satsuma mandarin bahçe sayıları.

İlçe	Mevki	Bahçe Sayısı	Alan (da.)	İncelenen Ağaç Sayısı
Edremit	Merkez	12	302	480
	Çıkrıkçı	14	400	560
	Kumluklar	12	353	480
	Kuruçay	6	180	240
	Soğuk Tulumba	4	105	160
Havran	Merkez	6	150	240
	Kumbağlar	5	140	200
Burhaniye	Merkez	1	20	40
Toplam		60	1650	2400

4.1.1. Exocortis Viroidinin Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular

Edremit Körfez Bölgesi (Edremit, Havran, Burhaniye)'nde Satsuma mandarin yetiştiriciliğinde anaç olarak üç yapraklı kullanıldığı için Exocortis viroidinin sörvey çalışması sırasında Satsuma mandarin ağaçlarının anaç kısımlarında oluşan kabuk kavlaması, basık gelişme ve şişe boynu belirtisi gibi belirtiler dikkate alınarak gözlemler gerçekleştirilmiştir. Exocortis viroidi ile bulaşık olduğu düşünülen ağaçlarda yapılan gözlemler sonucunda anacın toprak üstünde kalan kısmında kabukta kavlama ve soyulmalara rastlanılmıştır. Sörvey çalışması sırasında gözlem yapılan bahçelerde Exocortis viroidinin oluşturduğu belirtilere benzer belirtiler gösteren ağaçlar Şekil 2 ve 3'de yer almaktadır.



Şekil 2. Üç yapraklı anaç üzerinde oluşan kabuk kavlaması belirtileri (a, b).



Şekil 3. Sağlıklı ağaç (solda), bodur ve basık gelişme gösteren ağaç (sağda).

Yapılan sörvey çalışması sonucunda 12 bahçede Exocortis viroidinin oluşturduğu simptomlara benzer simptomlar oluşturan toplam 20 ağaç indekseleme çalışmalarında kullanılmak üzere işaretlenmiştir. Exocortis viroidinin sörvey çalışması kapsamında mevkilere göre simptom görülen bahçe sayıları ve işaretlenen ağaç sayılarına ait bilgiler Çizelge 6’da yer almaktadır.

Çizelge 6’da görüldüğü üzere Edremit’te merkezdeki 2 bahçedeki 5 ağaç, Çıkrıkçı’da 3 bahçedeki 3 ağaç, Kuruçay’da 2 bahçedeki 3 ağaçta Exocortis viroidinin simptomlarına rastlanılmıştır. Havran’da ise merkezdeki 3 bahçedeki 4 ağaçta, Kumbağlar’da 3 bahçedeki 5 ağaçta Exocortis viroidinin simptomlarına rastlanılmıştır.

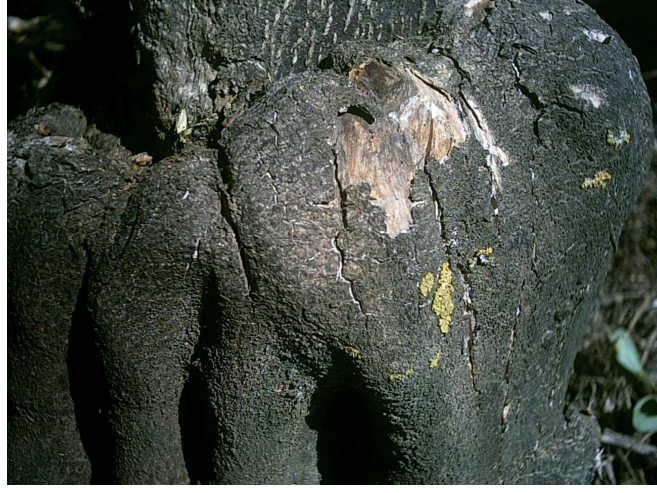
Sörvey çalışması sırasında sadece Havran merkezdeki bir bahçede bulunan Washington navel portakalında Exocortis viroidi simptomlarına rastlanılmış olup; diğer bahçelerin tümünde Exocortis viroidinin simptomlarına Satsuma mandarinlerinde rastlanılmıştır. Toplamda ise 60 turunçgil bahçesinin 12’sinde yer alan 20 ağaçta Exocortis viroidinin simptomlarına rastlanılmış ve ağaçlar indekseleme materyali alınmak üzere işaretlenmiştir.

Yapılan sörvey çalışmasında bazı bahçelerde yapılan derin dikimden dolayı anaçların toprak altında kalmış olması nedeniyle Exocortis için gözlem yapılamamıştır.

Çizelge 6. Exocortis viroidinin sörvey çalışması sonucu simptom görülen bahçeler ve işaretlenen ağaç sayıları.

İlçe	Mevki	Simptom Görülen Bahçe Sayısı	İşaretlenen Ağaç Sayısı
Edremit	Merkez	2	5
	Çıkrıkçı	3	3
	Kuruçay	2	3
Havran	Merkez	3	4
	Kumbağlar	2	5
Toplam		12	20

Ayrıca Edremit Körfez Bölgesi'nde Exocortis için yapılan sörvey çalışması sırasında, Exocortis tarafından oluşturulan kabuk kavlamasına benzer; fakat 2003 – 2004 kışında yaşanan düşük sıcaklıklar sonucu meydana gelen don olayları nedeniyle oluşan çatlaklara rastlanılmıştır. Şekil 4'de düşük sıcaklıklar sonucu oluşan don zararının ağacın anaç kısmında meydana getirdiği çatlaklar yer almaktadır.



Şekil 4. Üç yapraklı anacı üzerinde oluşan don çatlakları.

4.1.2. Tristeza Virüs Hastalığının Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular

Tristeza virüs hastalığı turunçgillerin en önemli hastalıklarından olup anaç olarak turuncun kullanıldığı ağaçlarda aşı yerinde şişme, aşı yerinden kaldırılan kabuk üzerinde turunca ait kısmında çukurcuklar, odun kısım üzerinde ise iğne ucu şeklinde çıkıntılar şeklinde tipik belirtilere yol açmaktadır. Edremit Körfez Bölgesi (Edremit, Havran, Burhaniye)'nde anaç olarak üç yapraklı kullanılmakta olup; kullanılmakta olan bu anaç, turunca kıyasla tristeza virüs hastalığına daha dayanıklıdır ve üç yapraklı anacı tristezanın turunç anacı üzerinde gösterdiği tipik belirtileri göstermemektedir. Hastalık sörveyinin yapıldığı alanlarda diğer ağaçlara göre gelişmesi zayıf olan, genel bir solgunluk, sararma ve güçsüzlük gösterip geriye doğru kuruma eğiliminde bulunan ağaçlar yapılan sörvey çalışması kapsamında işaretlenmiştir. Edremit Körfez Bölgesi'ndeki 60 turunçgil bahçesinde yapılan sörvey

alışması sonucunda 43 bahçede Tristeza virüs hastalığına benzer belirtiler gösteren toplam 156 ağaç işaretlenmiştir. Sörvey alışması sonucu işaretlenen ağaçlarda diğer ağaçlara göre gelişme geriliği, sürgünlerde durgunluk, yapraklarda küçülme ve sararmalara rastlanılmıştır. şekil 5 ve 6'da belirtilen belirtilerin görüldüğü ağaçlar yer almaktadır.



şekil 5. Yaprakları sararmış ve zayıf gelişim gösteren Tristeza ile infekteli Satsuma mandarin ağacı.



şekil 6. Tristeza ile infekteli Satsuma mandarin ağacı (sağda) ve sağlıklı ağaç (solda).

Tristeza virüs hastalığı açısından yapılan sörvey çalışması sonucu mevkilere göre simptom görülen bahçe sayıları ve işaretlenen ağaç sayıları ait bilgiler Çizelge 7’de yer almaktadır.

Çizelge 7. Tristeza virüs hastalığının sörvey çalışması sonucu simptom görülen bahçeler ve işaretlenen ağaç sayıları.

İlçe	Mevki	Simptom Görülen Bahçe Sayısı	İşaretlenen Ağaç Sayısı
Edremit	Merkez	10	28
	Çıkırıkçı	8	22
	Kumluklar	11	34
	Kuruçay	4	32
	Soğuk Tulumba	2	8
Havran	Merkez	4	18
	Kumbağlar	4	14
Toplam		43	156

Çizelge 7’de görüldüğü üzere Edremit’te merkezdeki 10 bahçedeki 28 ağaçta, Çıkırıkçı’da 8 bahçedeki 22 ağaçta, Kumluklar’da 11 bahçedeki 34 ağaçta, Kuruçay’da 4 bahçedeki 32 ağaçta ve Soğuk Tulumba’da 2 bahçedeki 8 ağaçta Tristeza virüs hastalığının simptomlarına rastlanılmıştır. Havran’da ise merkezde 4 bahçedeki 18 ağaçta ve Kumbağlar’da 4 bahçedeki 14 ağaçta belirtilen simptomlar görülmüştür. Toplamda ise 43 turunçgil bahçesindeki 156 ağaçta tristeza virüs hastalığına ait simptomlara rastlanılmıştır.

Yapılan sörvey çalışması sırasında sadece Havran merkezde bulunan 1 Washington navel portakal ağacında hastalık simptomlarına rastlanılmış olup diğer işaretlenen ağaçların tümü Satsuma mandarinlerini kapsamaktadır.

4.1.3. Psorosis Virüs Hastalığının Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular

Psorosis virüs hastalığının tipik belirtileri arasında ağaçların kalem kısımlarında gövde ve ana dallar üzerinde kabuk dokusunun pul şeklinde veya tabaka halinde kavrılması, ağacın ana gövdesi üzerinde konkav şekilli veya ince uzun çöküntüler ile ilkbaharda yeni sürgünlerin oluştuğu büyüme mevsiminde oluşan genç yapraklarda damar bantlaşması ve meşe yaprağı simptomsu oluşumları yer almaktadır.

Sörvey çalışması kapsamında yapılan gözlemler sonucunda, gövde ve ana dallarda bütün halinde kabuk kavrılması görülen ve ilkbahar büyüme mevsiminde genç yapraklarda damar bantlaşması ve meşe yaprağı simptomsu görülen ağaçlar ELISA testi için örnek alınmak üzere işaretlenmiştir. Şekil 7 ve 8'de belirtilen belirtilere ait resimler yer almaktadır.



Şekil 7. Psorosis tarafından oluşturulduğu düşünülen damar bantlaşması simptomsu.



Şekil 8. Ağacın ana dallarında Psorosis tarafından oluşturulduğu düşünülen kabuk kavrılması simptomsu.

Hastalığa özgü belirtilen belirtiler içinde gövde ve ana dallarda oluşan kavrılmalar mevsime bağlı değilken; ilkbaharda sürgünlerin büyüme mevsiminde ortaya çıkan yaprak belirtilerinin (meşe yaprağı deseni ve damar bantlaşması) gözleminde sörvey çalışmasının yapıldığı zamanın rolü büyük olmuş, belirtilen yaprak belirtileri yalnızca Mayıs ayı içerisinde gözlemlenebilmiştir. Yapılan

sörvey çalışması sırasında ağacın ana gövdesi üzerinde konkav şekilli veya ince uzun çöküntüler ile finger mark olarak ifade edilen hatalı dal oluşumlarına rastlanılmamıştır.

Edremit Körfez Bölgesi'ndeki 60 turunçgil bahçesinde yapılan sörvey çalışmaları sonucunda 5 bahçede Psorosis virüs hastalığına benzeri simptom gösteren toplam 10 ağaç işaretlenmiştir. Psorosis sörvey çalışması kapsamında mevkilere göre simptom görülen bahçeler ve işaretlenen ağaç sayılarına ait bilgiler Çizelge 8'de yer almaktadır.

Çizelge 8. Psorosis virüs hastalığının sörvey çalışması sonucu simptom görülen bahçeler ve işaretlenen ağaç sayıları.

İlçe	Mevki	Simptom Görülen Bahçe Sayısı	İşaretlenen Ağaç Sayısı
Edremit	Merkez	1	1
	Kuruçay	2	5
Havran	Merkez	2	4
Toplam		5	10

Çizelge 8'de görüldüğü üzere Edremit'te merkezdeki 1 bahçedeki 1 ağaçta ve Kuruçay'da 2 bahçedeki 5 ağaçta Psorosis virüs hastalığının simptomlarına rastlanılmıştır. Havran'da ise merkezdeki 2 bahçedeki 4 ağaçta hastalığın belirtilen simptomlarına rastlanılmıştır.

Yapılan sörvey çalışması sırasında Havran ve Edremit merkezde bulunan 4 Washington navel portakal ağacında hastalık simptomlarına rastlanılmış olup diğer işaretlenen 6 ağaç Satsuma mandarinidir. Edremit Körfez Bölgesi'nde turunçgil yetiştiriciliği yapılan alanlarda toplamda 5 bahçedeki 10 ağaçta hastalık simptomları görülmüş ve ağaçlar yapılacak olan ELISA testinde örnek alınmak amacıyla işaretlenmiştir.

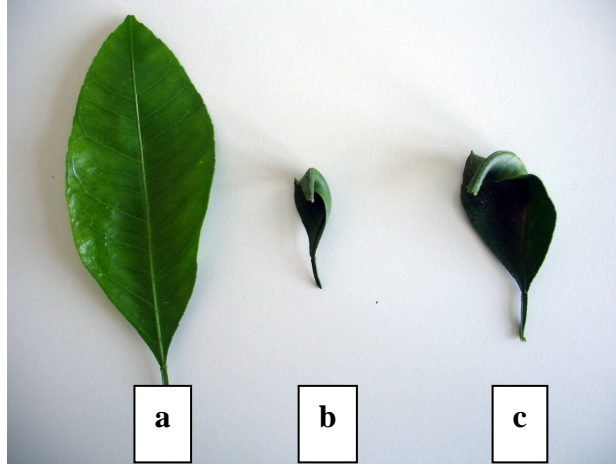
4.1.4. Satsuma Dwarf Virüs Hastalığının Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular

Satsuma dwarf virüs hastalığı Satsuma mandarinlerinin önemli hastalıklarından biri olup ağaçların yapraklarında kaşık veya gondol biçiminde şekil bozukluğu, boğum aralarında kısıalma ve rozetleşme, ağaçta gelişme durgunluğu ve dalların uç yapraklarında şekil bozukluğu şeklinde simptomlara neden olmaktadır.

Hastalığın sörvey çalışması kapsamında gözlem yapılan ağaçların yapraklarında kaşık veya gondol biçiminde şekil bozukluğu simptomları görülmüş olup simptom görülen ağaçlar indeksleme materyali alınmak üzere işaretlenmiştir. Ancak yapılan gözlemler sırasında ağaçlarda herhangi bir gelişme durgunluğuna ve boğum aralarında kısıalma ve rozetleşme şeklinde simptomlara rastlanılmamıştır. Hastalığın sörvey çalışması sırasında gözlemlenen simptomlar Şekil 9 ve 10'da yer almaktadır.



Şekil 9. Satsuma dwarf virüsü tarafından oluşturulduğu düşünülen gondol şeklindeki yapraklar (sağda) ve sağlıklı sürgün (solda).



Şekil 10. Satsuma dwarf tarafından oluşturulduğu düşünülen gondol şeklinde yapraklar (b,c) ve sağlıklı yaprak (a).

Yapılan sörvey çalışması sonucu Edremit Kumluklar’da bulunan 1 bahçedeki 15 Satsuma mandarin ağacında belirtilen hastalık belirtilerine rastlanılmış ve ağaçlar indeksleme materyali alınmak amacıyla işaretlenmiştir.

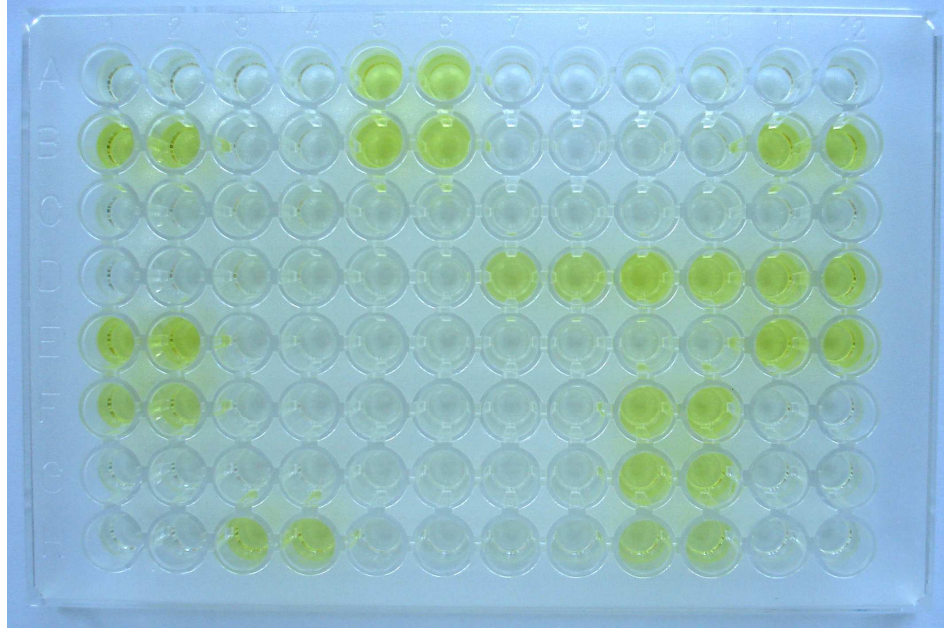
4.2. Serolojik Yöntemlere Ait Bulgular

4.2.1. Tristeza Virüs Hastalığının ELISA Testine Ait Bulgular

Tristeza virüs hastalığı açısından yürütülen sörvey çalışması sonucunda Edremit Körfez Bölgesi’nde turunçgil yetiştiriciliği yapılan alanlarda belirlenen 43 bahçeden 1’i Washington navel portakalı ve 155’i de Satsuma mandarini olmak üzere toplam 156 örnek alınmış ve alınan örnekler serolojik bir tanı yöntemi olan ELISA yöntemi ile test edilmiştir.

Uygulanan ELISA yöntemi ile testi yapılan 156 örnekten 38 Satsuma mandarin ağacında tristeza virüsünün varlığına rastlanılırken 118 örnek tristeza açısından negatif olarak bulunmuştur. Uygulanan ELISA testinde pozitif bulunan örneklerle ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda yapılan okuma sonucunda elde edilen değerler kullanılan negatif kontrol ve tampon çözelti değerlerinin iki katı ve üzerinde bir değer oluşturmuştur. Ayrıca ELISA plate’inde çıplak gözle yapılan değerlendirme sonucunda plate’de pozitif örneklerin bulunduğu çukurlarda belirgin

bir sarı renk oluşumu gözlenmiştir (Şekil 11). Tristeza virüs hastalığı için ELISA testinin yapıldığı tarihler ve sonuçlarına ait bilgiler Çizelge 10’da yer almaktadır.



Şekil 11. ELISA plateindeki pozitif örneklerin meydana getirdiği sarı renk oluşumu.

Çizelge 9. Tristeza virüs hastalığı için ELISA testinin yapıldığı tarihler ve sonuçları.

Testin Yapıldığı Dönem	Test Yapılan Örnek Sayısı	Pozitif Çıkan Örnek Sayısı	Negatif Çıkan Örnek Sayısı
Aralık 2005	35	6	29
Şubat 2006	31	9	22
Haziran 2006	45	10	35
Temmuz 2006	45	13	32
Toplam	156	38	118

Çizelge 9’da görüldüğü üzere sorvey çalışması sonucunda işaretlenen ağaçlardan Aralık 2005, Şubat 2006, Haziran 2006 ve Temmuz 2006 tarihlerinde sırasıyla 35, 31, 45 ve 45 olmak üzere toplam 156 adet örnek alınmıştır. Aralık 2005 tarihinde alınan 35 örnekten 6’sı, Şubat 2006 tarihinde alınan 31 örnekten 9’u,

Haziran 2006 tarihinde alınan 45 örnekten 10'u ve Temmuz 2006 tarihinde alınan 45 örnekten 13'ü yapılan ELISA testi sonucunda pozitif olarak bulunmuştur.

Yapılan ELISA testi sonucu pozitif olarak bulunan örneklerin alındığı mevki ve pozitif çıkan örneklerin bulunduğu bahçe sayılarına ait bilgiler Çizelge 10'da yer almaktadır.

Çizelge 10. Tristeza virüs hastalığı için pozitif çıkan örneklerin bulunduğu mevkiler ve bahçe sayıları.

İlçe	Mevki	Pozitif Bulunan Bahçe Sayısı	Pozitif Bulunan Örnek Sayıları
Edremit	Merkez	2	5
	Çıkrıkçı	4	8
	Kumluklar	5	8
	Kuruçay	4	8
	Soğuk Tulumba	1	1
Havran	Merkez	4	7
	Kumbağlar	1	1
Toplam		21	38

Çizelge 10'da görüldüğü üzere Edremit'te merkezdeki 2 bahçedeki 5 ağaç, Çıkrıkçı'da 4 bahçedeki 8 ağaç, Kumluklar'da 5 bahçedeki 8 ağaç, Kuruçay'da 4 bahçedeki 8 ağaç ve Soğuk Tulumba'da 1 bahçedeki 1 ağaç ELISA testi sonucu pozitif bulunmuştur. Havran'da ise merkezde 4 bahçedeki 7 ağaç ve Kumbağlar'da 1 bahçedeki 1 ağaç ELISA testi sonucu pozitif olarak bulunmuştur. Yapılan ELISA testi sonucu Edremit Körfez Bölgesi'nde sörvey çalışmaları sonucu belirlenen 43 bahçeden 21'i tristeza virüs hastalığı bakımından bulaşık olarak tespit edilmiştir.

4.2.2. Psorosis Virüs Hastalığının ELISA Testine Ait Bulgular

Edremit Körfez Bölgesi (Edremit, Havran, Burhaniye)'nde Psorosis virüs hastalığı için yürütülen sörvey çalışması sonucunda belirlenen 5 turunçgil

bahçesinden 4 Washington navel portakalı ve 6 Satsuma mandarini olmak üzere toplam 10 ağaçtan alınan örnekler serolojik bir tanı yöntemi olan ELISA yöntemi ile test edilmiştir.

Yapılan ELISA testi sonucunda sörvey çalışması sonucu belirlenen örneklerin hiçbirisi kullanılan ELISA platelerinde bir renk oluşturmamış ve 405 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda yapılan okumalarda örneklerin hiçbirisi kullanılan platede negatif kontrol ve tampon çözelti olarak bulunan değerlerinin iki katı ve üzerinde sayısal bir değer oluşturmamıştır. Test yapılan örneklerin sayıları ve mevkilerine ait bilgiler Çizelge 11’de yer almaktadır.

Çizelge 11. Psorosis virüs hastalığı için ELISA testi yapılan örnek sayıları ve mevkileri.

İlçe	Mevki	Testi Yapılan Örnek Sayısı	Pozitif Çıkan Örnek Sayısı
Edremit	Merkez	1	-
	Kuruçay	5	-
Havran	Merkez	4	-
Toplam		10	0

Çizelge 11’de de görüldüğü üzere sörvey çalışması sonucu Edremit merkezden 1, Kuruçay’dan 5 ve Havran merkezden alınan 4 örnekten hiçbirinde, uygulanan ELISA testi sonucunda Psorosis virüs hastalığının varlığına rastlanılmamıştır.

4.3. İndeksleme Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1. Exocortis Viroidinin İndeksleme Çalışmasına Ait Bulgular

Exocortis viroidi için Edremit Körfez Bölgesi’nde yapılan sörvey çalışması sonucunda belirlenen 12 turuncgil bahçesinden 1’i Washington navel portakalı, 19’u ise Satsuma mandarini olmak üzere 20 ağaçtan örnek alınmış olup alınan örneklerden elde edilen kabuk, göz ve yaprak dokuları hastalığın indikatör bitkisi olan kaba limon üzerine aşılı Etrog citron bitkisine göz, kabuk ve yaprak dokusu olarak ilk ikisi anaç

kısmına T-göz aşısı şeklinde, sonuncusu ise kalem kısmına yama şeklinde olmak üzere Temmuz 2005 tarihinde indekslenmiştir. Exocortis viroidi açısından biyolojik indekslemesi yapılan ve indikatör bitkide simptom geliştiren örneklere ait bilgiler Çizelge 12’de yer almaktadır.

Çizelge 12. Exocortis viroidi açısından indekslemesi yapılan örneklere ait bilgiler.

İlçe	Mevki	İndekslenen Örnek Sayısı	İndeksleme Sonucu Simptom Gözlenen Örnek Sayısı
Edremit	Merkez	5	-
	Çıkırıkçı	3	-
	Kuruçay	3	-
Havran	Merkez	4	1
	Kumbağlar	5	-
Toplam		20	1

Çizelge 12’de görüldüğü üzere Exocortis viroidi için yapılan indeksleme çalışması sonucunda aday ağaçlardan indikatör bitkilere indekslemesi yapılan 20 örnekten 1’i indekslenen indikatör bitki üzerinde simptom oluşturmuştur. İndikatör bitkilerde yapılan gözlemler sonucunda Temmuz 2005 tarihinde Havran merkezden alınan Washington navel portakalının kaba limon üzerine aşılı Etrog citron bitkilerinin yapraklarında Eylül 2005 tarihinde çok şiddetli yaprak epinastisi ve bu yaprakların alt yüzeylerinde şiddetli damar nekrozları tespit edilmiştir (Şekil 12, 13 ve 14).



Şekil 12. Exocortis viroidinin Etrog citron test bitkisinde oluşturduğu yaprak epinastisi.



Şekil 13. *Exocortis viroidinin* Etrog citron test bitkisinin yaprağında oluşturduğu yaprak epinastisi (solda) ve sağlıklı yaprak (sağda).



Şekil 14. *Exocortis viroidinin* Etrog citron test bitkisinin yaprak damarında oluşturduğu nekrozlar (solda) ve sağlıklı yaprak (sağda).

Edremit Merkez, Çıkırıkçı, Kuruçay ve Havran Kumbağlar’da bulunan Satsuma mandarin ağaçlarından alınıp indekslemesi yapılan diğer 19 örnekte ise indikatör bitkiler üzerinde herhangi bir semptom oluşumuna rastlanılmamış olup belirtilen bölgelerdeki ağaçlar Exocortis viroidi açısından sağlıklı olarak bulunmuştur.

4.3.2. Tristeza Virüs Hastalığının İndeksleme Çalışmasına Ait Bulgular

Edremit Körfez Bölgesi turuncğil üretim alanlarında yapılan sorvey çalışması sonucu işaretlenen 156 ağaca uygulanan ELISA testi sonucunda pozitif olarak tespit edilen 38 örnek arasından mevkilere göre seçilen 6 örnek biyolojik indeksleme çalışmalarında kullanılmıştır. Biyolojik indeksleme çalışmalarında kullanılmak üzere seçilen örneklerin mevkilerine ait bilgiler Çizelge 13’de yer almaktadır.

Çizelge 13. Tristeza virüs hastalığının biyolojik indeksleme çalışmalarında kullanılmak üzere seçilen örneklere ilişkin bilgiler.

İlçe	Mevki	ELISA Testi Sonucu Pozitif Bulunan Örnek Sayıları	İndekslenen Örnek Sayısı ve İzolat numarası
Edremit	Merkez	5	1 (EK-1)
	Çıkırıkçı	8	1 (EK-2)
	Kumluklar	8	1 (EK-3)
	Kuruçay	8	-
	Soğuk Tulumba	1	1 (EK-4)
Havran	Merkez	7	1 (EK-5)
	Kumbağlar	1	1 (EK-6)
Toplam		38	6

Çizelge 13’de görüldüğü üzere Edremit Merkez, Çıkırıkçı, Kumluklar, Soğuk Tulumba ve Havran Merkez ile Kumbağlar’dan 1’er olmak üzere Satsuma mandarin ağacından alınan toplam 6 örnek indeksleme çalışmalarında kullanılmıştır.

Yapılan indeksleme çalışmalarında her bir örnek Meksika laymı, Madam vinous portakalı, turunç ve Rio-Red altıntopuna indekslenmiştir. Yapılan biyolojik indekslemede her bir örnek için belirtilen bitkilerin her birinden dörder adet kullanılmış ve indekslenmek üzere alınan örneklerin göz, kabuk ve yaprak dokuları her bir indikatör bitkiye, alınan göz ve kabuk T-göz aşısı şeklinde; yaprak ise yama yoluyla Aralık 2005 tarihinde inokule edilmiştir.

İndeksleme çalışmaları tamamlandıktan sonra Aralık 2006 tarihinde, indekslenen bitkilerde yaprak damarlarında açılma, yapraklarda dairesel ve açık yeşil renkte leke oluşumlarıyla yapraklarda küçülme ile turunç ve Meksika laymı bitkilerinde gövde kabukları soyulup gövde çukurlaşması belirtilen semptomlarının oluşup oluşmadığı kontrol edilmiştir. Biyolojik indeksleme çalışmaları sonucunda indikatör bitkilerde gözlemlenen semptomlar Çizelge 14’de yer almaktadır.

Çizelge 14. Tristeza virüs hastalığının biyolojik indeksleme sonuçları.

İzolat	İndikatör bitkilere göre oluşan semptomlar			
	Meksika laymı	Madam Vinous	Rio-Red	Turunç
EK-1	vc, lc, ch	-	-	-
EK-2	vc, lc	-	-	-
EK-3	vc, lc	-	-	-
EK-4	vc	-	-	-
EK-5	vc, lc	-	-	-
EK-6	vc, lc	-	-	-

vc: vein clearing, lc: leaf cupping, ch: chlorosis

Çizelge 14’de görüldüğü üzere, biyolojik indekslenmesi yapılan 6 izolatın tümü Meksika laymı üzerinde semptom oluşumuna neden olurken Madam Vinous, Rio-Red ve Turunç üzerinde herhangi bir semptom oluşumu gözlemlenememiştir.

EK- 1 izolatı Meksika laymı üzerinde damar açılması, yaprak küçülmesi ve sararma semptomlarının tümünü bir arada gösterirken, EK-2, EK-3, EK-5 ve EK-6 izolatları damar açılması ve yaprak küçülmesi semptomlarını göstermiş olup EK-4 izolatı ise sadece damar açılması semptomu oluşturmuştur (Şekil 15, 16 ve 17).



Şekil 15. Meksika laymı üzerinde görülen damar açılması (vein clearing) simptomsu.



Şekil 16. Meksika laymı üzerinde oluşan sararma (chlorosis) simptomsu.



Şekil 17. Meksika laymı üzerinde oluşan yaprak küçülmesi (leaf cupping) simptomsu. Sağda sağlıklı, solda infekteli yaprak.

4.3.3. Satsuma Dwarf Virüs Hastalığının İndeksleme Çalışmasına Ait Bulgular

Edremit Körfez Bölgesi turunçgil üretim alanlarında yapılan sörvey çalışması sonucu işaretlenen 15 Satsuma mandarin ağacından alınan örnekler hastalığın belirlenebilmesi için indeksleme çalışmalarında kullanılmıştır.

Alınan 15 örneğin her biri indeksleme büyüklüğüne ulaşan 3 adet beyaz susam fidesine Haziran 2006 tarihinde inokule edilmiş ve inokulasyondan 2 gün sonra indikatör bitkilerde gözlemlere başlanmıştır.

Yapılan gözlemlerde indikatör bitkilerde yapraklarda klorotik ve nekrotik lekelerle damar açılmalarına bakılmış ancak inokulasyon yapılan beyaz susam bitkilerinin hiçbirinde belirtilen simptomlara rastlanmamış olup indekslemesi yapılan 15 örnek Satsuma dwarf virüs hastalığı açısından negatif olarak bulunmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Edremit Körfez Bölgesi (Edremit, Havran, Burhaniye) turunçgil üretim alanlarında 2005 – 2006 yılları arasında yürütülen sörvey çalışması kapsamında toplam 60 Satsuma mandarin bahçesindeki yaklaşık 2400 ağaçta Exocortis, Tristeza, Satsuma dwarf ve Psorosis virüs ve virüs benzeri hastalıklar açısından simptomolojik olarak gözlem yapılmıştır. Yapılan simptomolojik gözlemler sonucunda belirtilen hastalıklara benzer simptom oluşturan ağaçlar belirlenerek, Exocortis ve Satsuma dwarf için Biyolojik indeksleme yöntemiyle, Tristeza ve Psorosis için ise serolojik bir yöntem olan ELISA ile test edilmiştir. Ayrıca Tristeza virüs hastalığı için yapılan ELISA testi sonucu pozitif olarak bulunan örneklerden bir kısmı biyolojik indeksleme yöntemiyle indikatör bitkilere verilmiş ve indikatör bitkilerden Meksika laymı üzerinde hastalığa özgü; damar açılması (vein clearing), yaprak küçülmesi (leaf cupping) ve sararma (chlorosis) simptomları gözlenmiştir.

Edremit Körfez Bölgesi'nde turunçgil yetiştiriciliğinde anaç olarak üç yapraklı (*Poncirus trifolata* [L.] Raf.) kullanılmaktadır. Üç yapraklı anacı, üzerine aşılardan limonlar dışındaki turunçgil çeşitlerinin meyve verim ve kalitesini genellikle olumlu etkilemekte, başta kök boğazı çürüklüğü (*Phytophthora citrophthora* L.) olmak üzere bazı biyotik ve abiyotik koşullara yüksek dayanıklılık sağlamaktadır. Ancak exocortis viroidi ile yüksek pH'lı yetiştirme koşulları üç yapraklının kullanımını sınırlamaktadır (Şeker ve ark., 2003).

Exocortis viroidi için Edremit Körfez Bölgesi'nde yürütülen sörvey çalışması sonucunda 12 bahçedeki 20 ağaçta Exocortis simptomlarına benzer simptom gösteren ağaçlardan örnekler alınmış ve hastalığın indikatör bitkisi olan kaba limon üzerine aşılı Etrog citronda verilmiştir. İndikatör bitkiler üzerinde yapılan gözlemler sonucunda sadece 1 Washington navel portakal ağacında hastalığın tipik simptomlarına rastlanılmış olup diğer Satsuma mandarin ağaçlarından alınan örnekler yapılan indeksleme çalışması sonucuna göre Exocortis viroidi açısından arı olarak bulunmuştur.

Şeker ve ark. (2003), Edremit ve Burhaniye'de yaptıkları bir çalışmada belirtilen bölgelerde anaç olarak üç yapraklı kullanılmasına rağmen gerçekleştirdikleri arazi çalışmaları sırasında üç yapraklı anacı üzerinde Exocortis

viroidinin neden olduğu kabukta kavlama belirtilerine rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Özalp ve Azeri (1967), Ege bölgesinde 1964-1965 yıllarında yapılan turunçgil virüs ve virüs benzeri hastalıklar sorveyi sonucunda, yaklaşık 2,5 milyon turunçgil ağacının bulunduğu bu bölgede ağaçların %35'inin psorosis, %23'ünün xyloporosis-cachexia, %3'ünün stubborn, %10'unun exocortis, %1'inin impietratura ve %18'inin de limon sieve tube necrosis hastalığı ile bulaşık olduğunu bildirmişlerdir.

Azeri (1975), 1966-1969 yılları arasında İzmir'de üretilen satsuma mandarinlerinde exocortis hastalığının belirtilerini, yayılışı, aşısı ve anaç gelişmesine etkisi ve bulaşma yollarını araştırmış ve satsuma mandarinlerinin ortalama olarak %15,6'sının bu hastalık ile bulaşık olduğunu, hastalık şiddetinin anaç yaşına göre değiştiğini, hastalığın etkisiyle ağaçların anaç ve kalem kısmında gelişmenin ortalama %20 kadar geri kaldığını tespit etmiştir.

Güllü (1990), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde sorvey çalışması gerçekleştirdiği navel grubu portakal ve satsuma mandarin bahçelerinde Exocortis viroidinin simptomlarına rastlamadığını, ancak indeksleme çalışmasına aldığı 16 Washington navel portakal ağacının %75'inin ve 12 Satsuma mandarin ağacının ise %83,33'ünü Exocortis ile bulaşık olarak bulduğunu bildirmiştir.

Edremit Körfez Bölgesi'nde anaç olarak sadece üç yapraklı kullanılmasına rağmen Exocortis viroidinin indeksleme çalışmaları sonucunda sadece 1 Washington navel portakal ağacında tespit edilmesi ve diğer 19 Satsuma mandarin ağacının negatif olarak bulunması yöre açısından sevindirici bir durum olup; Edremit Körfez Bölgesi'nde Exocortis viroidinin indeksleme çalışmalarına dahil edilen örnekler arasında infeksiyon oranının çok düşük seviyelerde (% 5) olduğunu göstermektedir. Ayrıca indeksleme çalışmaları sonucu negatif olarak bulunan 19 Satsuma mandarin ağacında sorvey çalışmaları sonucu gözlemlenen Exocortis viroidi benzeri simptomların abiyotik faktörler tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir.

Tristeza virüs hastalığı için Edremit Körfez Bölgesi'nde gerçekleştirilen sorvey çalışması sonucunda 43 bahçeden toplam 156 ağaçta hastalığın simptomlarına rastlanılmış ve uygulanan ELISA testi sonucunda 156 örnekten 38 Satsuma mandarin ağacının Tristeza virüsü ile infekteli olduğu belirlenmiştir. ELISA testi yapılan örnekler bakımından infeksiyon oranı % 24,36 olarak tespit edilmiştir. ELISA testi

sonucu pozitif olduğu belirlenen ağaçların, sörvey çalışmasına dahil edilen 60 bahçeden 21'inden alındığı ve sörvey çalışmasına dahil edilen bahçelerin % 35'inin Tristeza virüsü ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ELISA testi sonucu pozitif olarak bulunan örneklerden yöreyi temsil edecek şekilde seçilen 6'sına biyolojik indeksleme yöntemi uygulanmış ve hastalığın indikatör bitkilerdeki simptomları gözlenmiştir.

Azeri ve Heper (1973), Ege bölgesinde yetiştirilen Satsuma mandarin ağaçlarında yaptıkları sörvey, indeksleme ve doku boyama testleri sonuçlarında Satsuma mandarin ağaçlarının %16,02'sinin tristeza, %4,26'sının exocortis, %2,28'inin satsuma dwarf, %55'inin psorosis, %0,28'inin finger mark, %1,18'inin stubborn ve %1,58'inin de xyloporosis-cachexia ile bulaşık olduğunu bildirmişlerdir.

Hızal ve Göral (1987), Antalya Turunçgiller Araştırma Enstitüsü'nde 1964-1977 yılları arasında indikatör bitkiler kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda çalışmaya dahil edilen ağaçların %0,4'ünün tristeza, %11,3'ünün psorosis, %30'unun xyloporosis ve %72,2'sinin exocortis virüs ve virüs benzeri hastalıklarla bulaşık olduğunu bildirmişlerdir.

Güllü (1990), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yürüttüğü sörvey çalışmaları sonucunda navel grubu portakal ağaçlarında, satsuma mandarin ağaçlarına göre daha yüksek oranda Tristeza virüs hastalığı simptomlarına rastladığını bildirmiştir. Araştırmacı, tristeza hastalığı simptomlarını taşıyan navel portakal ağacı oranının alt bölgelere göre değişmekle birlikte %0,06 ile %2,1 oranında olduğunu; satsuma mandarin ağaçlarında ise bu oranın %0,08 olarak bulunduğunu bildirmiştir.

Azeri (1993), üç yapraklı anacı üzerine aşılı Satsuma mandarini (*Citrus unshiu* March) üzerinde Turunçgil Tristeza Virüsünün (CTV) var olan şiddetli ırklarının oluşturduğu simptomları biyolojik indeksleme ve ELISA testi ile belirlemiştir. Meksika laymı (*Citrus aurantifolia* (L.) Swingle) üzerine hastalıklı bitkilerden alınan yaprak parçalarını aşılama ve bu indikatör bitkide CTV'nin karakteristik simptomları olan damar bantlaşması, küçük ve dik sararmış yapraklar, damar tıkanması ve stem pitting (gövde çukurlaşması) simptomlarını inokulasyondan 6-8 hafta sonra belirlemiştir. Gerileme belirtisi gösteren Satsuma mandarin ağaçlarından elde ettiği yaprak örnekleriyle yaptığı ELISA testinden pozitif sonuç aldığını belirtmiştir. Sonuç olarak İzmir bölgesinde üç yapraklı anacı üzerine aşılı Satsuma

mandarinlerindeki gerilemenin sebebinin şiddetli CTV izolatları tarafından meydana getirildiğini belirtmiştir.

Bozan (2002), Yaptığı çalışmada Doğu Akdeniz Bölgesi'nde turunçgil tarımının yoğun olarak yapıldığı Aşağı Seyhan Ovası'nda turunçgil tristeza virüs hastalığının yoğunluğunu belirlemek amacıyla bir sörvey çalışması yürütmüş ve aldığı örnekleri ELISA ve DTBIA yöntemleriyle test etmiştir. Araştırmacı 906.029 turunçgil ağacı üzerinde gözlemlerde bulunup bu ağaçlardan aldığı 44.800 adet örneğe ELISA testi uygulamış olup ELISA testi sonucu pozitif olarak tespit ettiği örneklere DTBIA testi uygulamıştır. Araştırmacı bir Washington - Satsuma bahçesinde 19 adet infekteli ağaç belirlemiş ve Bölgedeki CTV oranını %0,04 olarak saptamıştır. Bunun yanında Tristeza benzeri simptom gösteren 12 ağaçta *Spiroplasma citri*'nin varlığını araştırmış ve 5 Washington navel ile 3 Valencia portakal ağacının belirtilen etmen ile infekteli olduğunu bildirmiştir.

Edremit Körfez Bölgesi'nde yürütülen bu çalışmada; bölgede anaç olarak üç yapraklı kullanılması ve kullanılan üç yapraklı anacının tristezaya karşı dayanıklı olmasına rağmen ELISA testi yapılan örnekler içinde tristeza için infeksiyon oranının % 24,36 çıkması ve sörvey çalışması için seçilen 60 bahçeden 21'inde (% 35) hastalığın tespit edilmesi hastalığın yörede önemli boyutlara ulaştığının bir göstergesidir. Tristezanın bölgedeki Satsuma mandarin ağaçlarında bu derece yoğun görülmesinin en büyük nedeni olarak kullanılan aşığızözü kaynağının Tristeza virüsü ile infekteli olabileceği düşünülmektedir. Bilindiği gibi Satsuma mandarinleri 1970'li yılların başında Batum yolu ile ilk defa Rize ilimizden ülkemize giriş yapmış ve bu bölgeden yetiştiricilik yapılan diğer bölgelere yayılmıştır. Edremit Körfezinde ise Satsuma mandarin yetiştiriciliği ilk kez 1970 yılında Tarım Bakanlığı'nın dağıttığı fidanlar ile başlamıştır. Nitekim Tristeza virüsünün bölgede yoğun olarak görülmesi bahçelerin tesis edildiği tarihten itibaren Tristeza virüsü ile bulaşık olabileceğini göstermektedir.

Psorosis virüsü için yapılan sörvey çalışmasında ise 5 bahçede hastalığa özgü simptomlara rastlanılmış ve alınan 10 örneğe ELISA testi uygulanmış ancak yapılan ELISA testi sonucunda örneklerin hiçbirisinde Psorosis virüsü tespit edilememiştir.

Wallace ve Drake (1968), Timmer (1974), Timmer ve Benatena (1977), Calavan ve ark. (1978) ve Wallace (1978), Ringspot virüsünün portakal bitkilerinde

psorosis A virüsünün oluşturduğu simptome çok benzeyen damar bantlaşması simptome oluşturduğunu, daha sonra bu lekelerin düzenli ya da düzensiz ortası yeşil adacık halinde sarı halka desenleri geliştirdiğini bildirmişlerdir.

Knorr ve Childs (1968) ve Wallace (1978), Kaliforniya’da “Çeşit Geliştirme Programları”nın başlatıldığı 1937 yılından itibaren, mevcut bahçelerde psorosis A virüs hastalığının çok yaygın olarak bulunduğunu belirtmişlerdir. 1950’li yıllarda ise Kaliforniya’daki 6000 ağaçta yapılan sörvey sonucunda ağaçların %14’ünün psorosis A ile bulaşık olduğu, hastalığın üründe meydana getirdiği azalma sonucunda %6,5 oranında bir gelir kaybı oluştuğunun tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Vogel ve Bove (1974), Concave gum ile bulaşık olmayan cristacortis kaynaklarının da psorosis genç yaprak belirtileri geliştirdiğini ancak bu belirtilerin teşhiste kullanılamayacağını bildirmişlerdir.

Timmer ve Benatena (1977), Crinkly leaf, infectious variegation, Citrus leaf rugose, satsuma dwarf ve ilişkili bazı virüslerin (Citrus mosaic, navel infectious mottling) belirtilerinin açılması, taşınma yolları, partikül büyüklükleri ve morfolojileri açısından birbirine benzer olduğunu ancak bariz bir şekilde psorosis A ile ilişkili olmadığını, oysa impietratura, cristacortis ve concave gum hastalıklarının genç yaprak simptome oluşturduklarını fakat belirtiler benzerliği dışında birbirleri ile veya psorosis A ile ilişkili olduğuna dair çok az kanıt bulunduğunu bildirmişlerdir.

Güllü (1990), Doğu Akdeniz Bölgesi’nde yürüttüğü sörvey çalışmaları sonucunda, psorosis kompleksi hastalıklarının navel grubu portakal ve satsuma mandarin ağaçlarında önemli ölçüde yaygın olduğunu belirlemiştir. Ayrıca araştırmacı navel portakal ağaçlarının %80,5 ve %72,7’sinde, satsuma mandarinlerinin ise %31 ve %15,8’inde psorosis hastalık belirtilerini gözlemlediğini bildirmiştir.

Önelge ve Çınar (1991), Yaptıkları bir çalışmayla; Doğu Akdeniz Bölgesi’nde (Hatay Erzincan İlçeleri) Washington navel ağaçlarında görülen Psorosis A virüsüne benzer kabuk kavlamaları oluşturup yapraklarda bu virüsün karakteristik belirtilerini göstermeyen bir hastalığı araştırmışlardır. Sonuçta arazi simptome gösteren ağaçlardan aldıkları örnekleri diğer virüs ve virüs benzeri hastalıklar yönünden de (Psorosis A, Tristeza, Exocortis, Xyloporosis cachexia) indekslemeye tabi tutmuşlar ve indeksleme sonucunda belirtiler gözleyemediklerini bildirmişlerdir. Yaptıkları incelemeler sonucunda ağaçların bir bölümünde aşılama yerinden

başlayarak yukarı doğru gövde ve dallarda pul pul kabuk kavlamaları geliştiğini fakat ağaçların genç yapraklarında Psorosis A virüsünün karakteristik simptomsu olan damar bantlaşmasının gelişmediğini bildirmişlerdir.

Psorosis virüs hastalığının sörvey çalışması sırasında işaretlenen ağaçlarda yapraklarda damar bantlaşması ve gövdede tabaka halinde kabuk kavlamalarına rastlanıldığı halde; ELISA testi sonuçlarında örnekler negatif olarak bulunmuştur. Karşılaşılan bu sonucun iki sebepten dolayı kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bunlardan birincisi, belirlenen ağaçların yapraklarında damar bantlaşması simptomsu oluşturan başka bir virüs ve virüs benzeri hastalık (impietratura, cristacortis) ile infekteli olma olasılığıdır. Diğeri ise ELISA kitinde kullanılan antibodynin monoklonal olması ve Psorosis kompleksi altında birden çok hastalık (psorosis A, concave gum, blind pocket, crinkly leaf ve infectious variegation) yer aldığı için belirtilen simptomların diğeri hastalık etmenleri tarafından oluşturulduğu, dolayısıyla ELISA yönteminde kullanılan monoklonal antibodynin simptomsu oluşturan etmeni tanınamamasından dolayı sonuçların negatif olarak çıktığı düşünülmektedir.

Edremit Körfez Bölgesi'nde Satsuma dwarf virüsü için yapılan sörvey çalışmasında ise yalnızca 1 bahçede hastalığa özgü simptomlara rastlanılmış; ancak Satsuma mandarin ağaçlarından alınan 15 örneğe yapılan indeksleme çalışmaları sonucunda indikatör bitkilerde hastalığa özgü simptomlara rastlanılmamıştır.

Kishi ve Tanaka (1964), Satsuma dwarf virüsünü ilk kez beyaz susam bitkisine taşımışlardır. Ayrıca araştırmacılar Satsuma mandarin ağaçlarının yapraklarında kayık şeklinde simptomlara neden olan Infectious variegation virüsünün mekanik olarak susama taşınmadığını ve bu durumun bu iki virüsü birbirinden ayırt etmede önemli bir fark olduğunu bildirmişlerdir.

Fidan ve Azeri (1990), İzmir ili mandarinlerinde yaptıkları sörveyler sonucunda, İzmir Merkez ilçe ve Seferihisar'da Satsuma Dwarf Virüsünün (SDV) bulunuş oranını ortalama %13.77 olarak saptamışlardır. Ayrıca Gümüşdere'de bir bahçede yaptıkları ELISA testi sonucunda SDV'nün %20.6 oranında bulunduğunu belirlemişlerdir.

Şen ve ark. (1995), Yaptıkları çalışmayla yurt dışından introduksiyon materyali olarak ülkemize girmiş ve test edilmeden aşılı gözü ile çoğaltılarak bölgeye dağıtılmış Robinson mandarinlerindeki virüs, viroid ve mikoplazma hastalık etmenlerini

biyolojik ve serolojik yöntemlerle test etmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları sörvey çalışmaları sonucunda 11 Robinson mandarin ağacının bu hastalık etmenlerinden birkaçı ile bulaşık olduğunu saptamışlardır. Yaptıkları indekslemeler sonucunda, Robinson mandarin ağaçlarının stubborn ve cachexia etmenleriyle bulaşık olduğunu; exocortis, psorosis, concave gum, cristocortis, crinkly leaf, tristeza, vein enation ve satsuma dwarf etmenleriyle bulaşık olmadığını bildirmişlerdir.

Zhou ve ark. (1996), Tüm kaşık veya kayık şekilli yaprak oluşumlarının Satsuma dwarf virüsü tarafından oluşturulmadığını, soğuk koşullar altında şiddetli tristeza virüs infeksiyonları ile infectious variegation, natsudaidai dwarf virüs, navel infectious mottling virüslerinin de satsuma mandarin ağaçlarında kayık şekilli yaprak oluşumuna neden olabileceğini vurgulamıştır. Ayrıca araştırmacılar belirtilen simptomların Citrus variegation ve Citrus tatterleaf virüsleri tarafından da oluşturulabileceğini C.N. Roistacher ve T. Miyagawa ile yaptıkları görüşme sonucunda bildirmişlerdir.

Satsuma dwarf virüsünün simptomlarına benzer simptomlar görülen 15 ağacın yapılan indeksleme çalışması sonucunda negatif olarak belirlenmesi ve bazı araştırmacılarında benzer sonuçları elde etmesi olasılıkla simptomların başka bir virüs (Citrus variegation, Citrus tatterleaf, infectious variegation) tarafından oluşturulabileceğini göstermektedir.

Serolojik bir tanı yöntemi olan ELISA ve biyolojik indeksleme yöntemlerinin kullanılmasıyla Exocortis, Tristeza, Psorosis ve Satsuma dwarf virüs ve virüs benzeri hastalıklarının yaygınlık durumunun belirlendiği bu çalışmada, Edremit Körfez Bölgesi turuncgil üretim alanlarında belirlenen virüs ve virüs benzeri hastalıkların kontrolü için şu önerileri sıralayabiliriz:

- Virüs ve virüs benzeri hastalıklarla bulaşık olduğu bilinen ya da şüphelenilen ağaçlar virüs ve virüs benzeri hastalıkların uzmanı olan kişilerin desteğiyle bahçeden uzaklaştırılmalıdır.
- Yörede yeni tesis edilen bahçelerde devlet desteğiyle virüs ve virüs benzeri hastalıklardan arı, ismine doğru sertifikalı fidan kullanımı özendirilmelidir.
- Yurtdışından ülkemize yeni bir turuncgil çeşidi getirilecekse resmî izin alındıktan sonra olası virüs ve virüs benzeri hastalıklar açısından sürgün ucu ve meristem kültürüyle virüslerden arındırıldıktan sonra kullanılmalıdır.

- Yörede bulunan fidanlıklar virüs ve virüs benzeri hastalıklar açısından kontrol edilmeli gerekli biyokimyasal ve biyolojik testler yapılmalıdır.
- Virüs ve virüs benzeri hastalıklar, ağaçların köklerinin toprak altında birbirlerine teması sonucu bulaşıklık yarattığından dolayı yeni tesis edilecek bahçelerde ağaçların dikim mesafelerinde bu durum göz önünde bulundurularak sık dikimden kaçınılmalıdır.
- Turunçgil Exocortis viroidi mekanik olarak budama alet ve ekipmanlarıyla taşınabildiği için budama sırasında mutlaka ağaçtan ağaca geçerken %5'lik sodyum hipoklorid içeren çamaşır suyu ile kullanılan aletler dezenfekte edilmelidir.
- En önemlisi ise virüs ve virüs benzeri hastalık etmenleriyle bu etmenlerin turunçgil ağaçlarında oluşturduğu sorunlar ve alınması gereken önlemlerle ilgili üreticilere yayım çalışması ve eğitim seminerleri verilmelidir. Verilecek olan eğitim seminerleriyle üreticilerin kaynağı bilinmeyen yerlerden üretim materyali temin etmelerinin önüne geçilmelidir. Ayrıca yurtdışından ve yurtiçinde bölgeler arasında kontrolsüz biçimde gerçekleşen üretim materyali transferi engellenmelidir.

ÖZET

EDREMİT KÖRFEZ BÖLGESİ'NDEKİ SATSUMA MANDARİNLERİNDE YAYGIN OLAN VİRÜS VE VİRÜS BENZERİ HASTALIKLARIN BİYOLOJİK VE SEROLOJİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

Bu çalışma 2005 - 2006 yılları arasında Edremit Körfez Bölgesi (Edremit, Havran, Burhaniye)'ndeki turunçgil yetiştiriciliği yapılan bahçelerde Satsuma mandarinlerinde görülen virüs ve virüs benzeri hastalıkların belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

Yapılan sorvey çalışması kapsamına Satsuma mandarinlerinde sorun oluşturan virüs ve virüs benzeri hastalık etmenlerinden Exocortis, Tristeza, Psorosis ve Satsuma dwarf dahil edilmiş olup belirtilen hastalık etmenlerinin teşhisinde serolojik bir yöntem olan ELISA ve biyolojik indeksleme yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmanın yapıldığı 2005 – 2006 yılları içinde 60 turunçgil bahçesindeki 2400 ağaçta belirtilen hastalıklar bakımından sorvey çalışması yapılmış ve yapılan sorvey çalışması sonucu hastalık etmenleri ile bulaşık olduğu düşünülen ağaçlar test edilmek üzere işaretlenmiştir.

Exocortis viroidi için 12 bahçeden alınan toplam 20 örnek ve Satsuma dwarf virüsü için 1 bahçeden alınan 15 örnek biyolojik indeksleme yöntemiyle, Tristeza için 43 bahçeden alınan toplam 156 örnek ile Psorosis için 5 bahçeden alınan toplam 10 örnek serolojik bir yöntem olan ELISA yöntemiyle test edilmiştir.

Uygulanan testler sonucunda Exocortis viroidi için alınan 20 örnekten 1'i ve Tristeza için alınan 156 örnekten 38'i belirtilen hastalıklar bakımından pozitif bulunurken, Psorosis ve Satsuma dwarf hastalıkları için pozitif bir sonuç elde edilememiştir. Ayrıca tristeza virüs hastalığı için uygulanan ELISA testi sonucunda pozitif olarak bulunan 38 örnekten 6'sına biyolojik indeksleme yöntemi uygulanmış ve hastalığın indikatör bitkilerdeki simptomu gözlenmiştir.

Yapılan çalışma sonucunda Edremit Körfez Bölgesi turunçgil üretim alanlarında ilk defa Exocortis viroidi ve Tristeza virüs hastalığının varlığı tespit

edilmiş olup belirtilen alanlarda yapılan testler sonucunda Psorosis ve Satsuma dwarf hastalıklarının varlığına rastlanılmamıştır.

SUMMARY

DETERMINATION OF VIRUS AND VIRUS LIKE DISEASES ON SATSUMA MANDARINS BY BIOLOGICAL AND SEROLOGICAL METHODS IN EDREMIT GULF REGION

This study was carried out to determine presence of virus and virus like diseases on Satsuma mandarins during 2005 – 2006 in citrus orchards in Edremit Gulf Region (Edremit, Havran and Burhaniye).

Exocortis, Tristeza, Psorosis and Satsuma dwarf which cause virus and virus like diseases on Satsuma mandarins were included extension of survey methods and we used ELISA which is a serological method and biological indexing methods to diagnosis agents of mentioned diseases.

During 2005 – 2006 study season 2400 trees in 60 citrus orchards were surveyed for mentioned diseases and at the end of the survey the trees which considered contaminated by diseases were marked (determinate).

Totally 20 samples from 12 citrus orchards for Exocortis viroid and 15 samples from 1 orchards for Satsuma dwarf virus were tested by biological indexing method; totally 156 samples from 43 citrus orchards for Tristeza and 10 samples from 5 citrus orchards for psorosis were tested by ELISA which is a serological method.

As a result of tests while 1 from 20 samples which was taken for exocortis viroid, 38 from 156 samples for tristeza virus diseases are positive, for Psorosis and Satsuma dwarf virus diseases positive results weren't obtained. In addition to 6 samples choosing from positive 38 samples which determined by ELISA method for tristeza virus were applied by biological indexing method and the symptom of disease were observed in indicator plants.

As a result of this study, while presence of exocortis viroid and tristeza virus diseases was determined for the first time in citrus production areas in Edremif Gulf Region, presence of Psorosis and Satsuma dwarf virus diseases weren't determined in mentioned areas by tests.

KAYNAKLAR

- Açıkgöz, S. ve Lee, R. F., 1991. Turunçgil Tristeza Virus (CTV)'undan Hazırlanmış Olan Bazı Klonlar ile Hibridizasyon Analizleri. Türkiye Fitopatoloji Derneği. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, İzmir. 421-423.
- Açıkgöz, S. ve Lee R. F., 1992. Use of 5' – Labeled ds RNAs as Probe to Detect Citrus Tristeza Virus (CTV). *J. Turk Phytopath.*, Vol. 21, No:1, 1-6.
- Azeri, T., 1973. First Report of Satsuma dwarf Virus Disease on Satsuma mandarins in Turkey. *Plant. Dis. Report.* 57 : 149-152.
- Azeri, T., 1975. İzmir İlinde Üretilen Satsuma Mandarinlerinde Cüceleşme (Exocortis) Hastalığının Sürveyi ve Bulaşma Yolları Üzerine Araştırmalar. *Teknik Bülten No. 27*, İzmir, 715.
- Azeri, T., 1986. Necrotic Strain of Satsuma dwarf Virus and Stubborn Disease on Satsuma mandarin Trees in İzmir Province of Turkey. *J. Turk. Phytopathology.* Vol. 15 No: 3, 89-99.
- Azeri, T., 1993. Occurrence and Detection of Citrus Tristeza Virus (CTV) Decline on Satsuma Mandarins Buded on Trifoliata Orange In Izmir Province. *J. Turk Phytopath.*, Vol. 22, No:2-3, 65-74.
- Azeri, T., ve Heper, E., 1973. Ege Bölgesi Satsuma Mandarinlerindeki Virüs Hastalıklarının Tanımı, Yayılışı ve Ekonomik Önemi Üzerine Araştırmalar. TÜBİTAK IV. Bilim Kongresi, 5-8 Kasım, 1973. Ankara, 6 s.
- Baloğlu, S. ve Yılmaz, M. A., 1990. Turunçgil Tristeza Virüs Hastalığının Elisa Testiyle Saptanması ve Virüsün Değişik Gradient Santrifüjyon Yöntemleri ile Arıtılması. *Çukurova Üniversitesi Dergisi*, 5(3):69-80.
- Baloğlu, S. ve Yılmaz, M. A., 2001. Turunçgillerde Zararlı Tristeza Virüs Hastalığının (CTV) Saptanmasında Elisa Testi İçin Örnekleme Çalışmaları. IX. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Tekirdağ. 127-134.
- Barbarossa, L., Savino, V., 2006. Sensitive and Specific Digoxigenin-labelled RNA Probes for Routine Detection of Citrus tristeza virus by Dot-blot Hybridization. *Journal of Phytopathology*, Vol. 154., Issue 6 P. 329.
- Bar-Joseph, M., 1997. Turunçgil Virüs ve Virüs Benzeri Hastalıklar: Pratik Problemlerden Temel Araştırmalara. Ç.Ü. Subtropik Meyveler Araştırma ve

- Uygulama Merkezi Turunçgil Bülteni, II. Turunçgil Kongresi Özel Sayısı, 7(22):27-29.
- Bar-Joseph, M., Garnsey, S.M., Gonsalves, D., Moscovits, M., Purcifull, D.E., Clark, M.F., and Loebenstein, G. 1979. The use of enzyme-linked immunosorbent assay for detection citrus tristeza virus. *Phytopathology* 69:190-194.
- Bar-Joseph, M., and Lee, R.F. 1990. Citrus tristeza virus, revised description. CMI/AAB Description of Plant Viruses, No. 353. 7 pages.
- Bar-Joseph, M., Marcus, R and Lee, R.F. 1989. The continuous challenge of citrus tristeza virus control. *Ann. Rev. Phytopathol.* 27:291-316.
- Blue, R.L., Roistacher, C.N., Cartia, G., Calavan, E.C., 1976. Leaf-Disc Grafting-A Rapid Indexing Method for Detection of Some Citrus Viruses. In. "Proc. 7th. Conf. IOCV" (E.C. Calavan, ed.), 207-212 pp. Univ. Calif. Riverside.
- Boccardo, G., La Rosa, R. and Catara, A., 1984. Detection of Citrus Exocortis Viroid by Polyacramide Gel Electrophoresis of Nucleic Acid Extracts from Glasshouse Citrus. Proc. 9th Conf. IOCV, Riverside. 357-361.
- Bozan, O., 2002. Aşağı Seyhan Ovasında Turunçgil Tristeza Virus (CTV) Hastalığının Sörveyi ve Tanısı Üzerine Araştırmalar (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Bozan, O., Korkmaz, S. ve Çınar, A., 1998. Turunçgil Tristeza Virüsünün Değişik Doku Parçaları Kullanılarak Elisa Yöntemi ile Saptanması Üzerine Araştırmalar. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Ankara. 371-374.
- Calavan, E.C., 1968. Exocortis. In Indexing Procedures for 15 Virus Diseases of Citrus Trees. (J.F.L. Childs et al, eds), Agr. Res. Serv. U.S. Dep. Agr. Handbook No. 333., Washington D.C.
- Calavan, E.C., Frolich E.F., Carpenter J.B., , Roistacher C.N., and Christiansen D.W., 1964. Rapid Detection of Exocortis in Citrus. Calif. Agr. 19, 8-9.
- Calavan, E.C., Mather, S.M., and Meachern, E.H., 1978. Registration, Certification and Indexing of Citrus Trees. In "The Citrus Industry" (W. Reuther, E.C. Calavan, G.G. Carman, eds.), Vol. IV., 185-219 pp. Univ. Calif. Div. Agr. Sci. Riverside.

- Clark, M.F. and Adams, A.N., 1977. Characteristics of the Microplate Methods of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. I. Gen. Virol. 34: 475-438.
- Clark, M.F. and Bar-Joseph, M., 1984. Enzyme Immunosorbent Assays. In Plant Virology. In. (K. Maromorosch and H. Koprowski eds.) 51-85 pp. Methods in Virology Vol. VIII. Academic Press. Inc., Orlando, FL. 332 pp.
- Davino, M., Catara, A., Russo, F., Terranova, G. and Carbone, G., 1984. A Survey for Citrus Tristeza Virus in Italy by the Use of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Proc. 9th Conf. IOCV, Riverside.66-69.
- Demirer, E., Çınar, A., ve Korkmaz, S., 1995. Recovering of Virus Free Grapefruits by Shoot-Tip Grafting and Thermoherapy at Two Temperature Regimes. *J. Turk Phytopath.*, Vol. 24, No:1, 1-5.
- FAO, 2005. FAO Agricultural Primary Crops Production Databases. <http://apps.fao.org> internet web sayfaları.
- Fidan, Ü. ve Azeri, T., 1990. Testing Satsuma Mandarins For Satsuma Dwarf Virus by Enzymelinked Immunosorbent Assay (Elisa). *J. Turk Phytopath.*, Vol. 19, No:3, 111-118.
- Flores, R., 1988. Detection of Citrus Exocortis Viroid in Natural and Experimental Citrus Hosts by Biochemical Methods. Proc. 9th Conf. IOCV, Riverside. 192-196.
- Garnsey, S.M., 1968. Exocortis Virus of Citrus can be Spread by Contaminated Tools. Citrus Industry 49:13 p.
- Garnsey, S.M., 1997. Florida'da Turunçgil Tristeza Virüsünün Durumu. Ç.Ü. Subtropik Meyveler Araştırma ve Uygulama Merkezi Turunçgil Bülteni, II. Turunçgil Kongresi Özel Sayısı, 7(22):41-45.
- Garnsey, S.M., and Jones J.W., 1967. Mechanical Transmission of Exocortis Virus With Contaminated Budding Tools. Plant Dis. Rep., 51:410 p.
- Gillings, M. R., Broadbent, P. and Gollnow, B. I., 1988. Biochemical Indexing for Citrus Exocortis Viroid. Proc. 10th Conf. IOCV, Riverside. 178-187.
- Göçmen, M., Taşdemir, T., Kelten, M., Güneş, S. ve Polat, İ., 2003. Turunçgil Exocortis Viroidinin RT-PCR ve Dot Blot Hibridizasyon Yöntemiyle Tanısı. Akdeniz Üniversitesi Dergisi, 16(2), 221-228.

- Güllü, M., 1990. Doğu Akdeniz Bölgesi Navel Grubu Portakal ve Satsuma Mandarin Ağaçlarında Yaygın Virüs ev Virüs Benzeri Hastalıkların Sürveyi ve İndekslenmesi Üzerine Çalışmalar. (Doktora Tezi). Araştırma Yayınları Serisi, Yayın No:70, Ankara.
- Güllü, M. ve Çalı, S., 1995. Doğu Akdeniz Bölgesi Turunçgillerinde Bulunan Virüs ve Virüs Benzeri Hastalıklardan Temiz Aşı Gözü Üretimi. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana. 294-298.
- Hızal, A.Y., ve Göral, T., 1987. Türkiye Turunçgil Üretimi – İhracatı ve Virüs Hastalıkları Yönünden Durumu. *Derim*, 4 (1):32-42
- Jagiello, C., Dawson, T. E. and Money, P. A., 1995. Citrus Virus and Virus-Like Diseases in New Zealand. XIII. Conference of the International Organization of Citrus Virologists, Fuzhou, China. 129.
- Kameroğlu, M. A., Baloğlu, S., ve Yılmaz, M. A., 1995. Meyer Limon Çeşitlerinde Turunçgil Tristeza (CTV) ve Turunçgil Tatter Leaf Virüs (CTLV) Hastalıklarının Saptanması. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana. 313-316.
- Kameroğlu, M. A. ve Yılmaz, M. A., 2001. Production of Specific Monoclonal Antibodies of Citrus Tristeza Virus (CTV) and Usage in CTV Strains Diagnosis. *J. Turk Phytopath.*, Vol. 30, No:1, 1-10.
- Kishi, K., and Tanaka, S., 1964. Studies on the Indicator Plants for Citrus Viruses. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, 19: 142-148.
- Knorr, L.C., and Childs, J.F.L., 1968. Production of Virus-Free Budwood in Citrus-Past, Present and Future. In "Proc. 4rd. Conf. IOCV" (J.F.L. Childs, ed.), 351-357 pp. Univ. Fla. Press, Gainesville.
- Korkmaz, S., 2001. Turunçgil Tristeza Virüsünün Dört Farklı Irkının Biyolojik Özelliklerinin ve dsRNA Yapılarının Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar. IX. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Tekirdağ. 135-144.
- Korkmaz, S., 2002. Application of Direct Tissue Blot Immunoassay in Comparison with DAS-ELISA for Detection of Turkish Isolates of Citrus Tristeza Closterovirus(CTV). *Turk J. Agric For* 26,203-209.

- Korkmaz, S., Bozan, O., ve Çınar, A., 1998. Direct Tissue Blot Yöntemiyle Turunçgil Tristeza Virüsünün Tanısının Yapılması. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Ankara. 351-355.
- Korkmaz, S. ve Çınar, A., 1998. Bitki Virüs Hastalıklarının Double-Stranded RNA Analizi Yöntemiyle Tanısının Konulması. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Ankara. 250-254.
- Köklü, G. ve Çınar, A., 1994. İn Vitro Sua ve Termoterapi Çalışmaları ile Virüs ve Virüs Benzeri Hastalıklardan Arındırma Çalışması Yapılan Selekte Edilmiş Turunçgil Tür ve Çeşitlerinin Re-İndekslenmesi. Ç.Ü.Ziraat Fakültesi 25. Kuruluş Yılı Özel Sayısı, 51-66.
- Lee, R. F., Garnsey, S. M., Marais, L. J., Moll, J. N. and Youtsey C. O., 1988. Distribution of Citrus Tristeza Virus in Grapefruit and Sweet Orange in Florida and South Africa. Proc. 10th Conf. IOCV, Riverside. 33-38.
- Miao, H. O., Skaria, M. and Solis-Garcia, N., 1996. Detection of Viroids in Five Commercial Citrus Cultivars in Texas. Proc. 13th Conf. IOCV, Riverside. 360-362.
- Moreno, P., Piquer, J., Pina, J. A., Juárez, J. and Cambra, M., 1988. Spread of Citrus Tristeza Virus in a Heavily Infested Citrus Area in Spain. Proc. 10th Conf. IOCV, Riverside. 71-76.
- Norman, P.A., 1963. Report to Government of Turkey on Citrus Virus Diseases. FAO Report Rome No:1641. 16 pp.
- Önelge, N., 1996. Citrus Viroids Inducing Dwarfing on Meyer Lemon Grafted on Sour Orange in the East Mediterranean Region in Turkey. *J. Turk Phytopath.*, Vol. 25, No:1-2, 51-54.
- Önelge, N. ve Çınar, A., 1991. Doğu Akdeniz Navel Portakallarında Yeni Bir Virüs Hastalığı Olasılığı. Türkiye Fitopatoloji Derneği. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, İzmir. 417-419.
- Önelge, N. ve Çınar, A., 1995. Bazı Turunçgil Viroidlerinin Elektro Elution Yöntemi Uygulanarak Ayrımı ve Saflaştırılması. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana. 333-336.
- Önelge, N., Çınar, A. ve Kersting, U., 1994. Comparative Studies on the Detection of Citrus Viroids by Biological Indexing and Page Technology in Two Mandarin

- Varieties. 9th Congress of the Mediterranean Phytophataological Union-Kuşadası-Aydın-Türkiye, 25-27.
- Özalp, O., ve Azeri, T., 1967. Ege Bölgesi Turunçgil Virüs Hastalıkları Sürveyi Bitki Koruma Bülteni, 7(4):167-187
- Özaslan, M. ve Çınar, A., 1990. The Detection of Citrus Exocortis Viroid by Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *J. Turk Phytopath.*, Vol. 19, No:2, 41-52.
- Özdemir, Z., 2006. Edremit Körfez Bölgesi Turunçgil Yetiştiriciliğinin Yapısı ve Sorunlarının Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale
- Peng Wei, Zhang Yu-an, Zhao Xue-qian and Li Gang, 1996. Proc. 13th Conf. IOCV, Riverside. 357-359.
- Roistacher, C.N., 1976. Detection of Citrus Viruses by Graft Transmission: A Review. In "Proc. 7 th Conf. IOCV. "(E.C. Calavan, ed.), 175-184 pp. Univ. Calif. Riverside.
- Roistacher, C.N., 1988. Mediterranean Fruit Crop Improvement Council (MECIC), News. No: 9 Rome.
- Roistacher, C.N., Blue R.L., Nauer E.M., Calavan E.C., 1974. Supression of Tristeza Virus Symptoms in Mexican Lime Seedling Grown at Warm Temperatures. *Plant Dis. Rep.* 58: 757-760.
- Rosetti, V., 1961. Testing for Exocortis. In "Proc. 2nd. Conf. IOCV" (W.C. Price, ed), 43-49 pp. Univ. Fla. Pres, Gainesville.
- Salibe, A.A., 1986a. Major Virus and Virus-like Diseases of Citrus in the Mediterranean. *FAO Plant Protec. Bull.* V. 34, No:1, 49-64 pp.
- Salibe, A.A., 1986b. A. Programme for Citrus Improvement and Protection in Turkey. Report to the Government of Turkey. FAO. Rome, 1986.
- Sarachu, A. N., Arrese, E. L., Casafús, C., Costa, N. B., García, M. L., Grau, O., Marcó, G. M. and Robles, A., 1988. Biological Assay and Preliminary Isolation of Citrus Psorosis Disease Agent from Argentina. Proc. 10th Conf. IOCV, Riverside. 343-347.
- Semancik, J.S., and Weathers L.G., 1972. Exocortis virus: An Infectious Free-nucleic Asid Plant Virus with Unusal Properties. *Virology* 47:456-466.

- Sertkaya, G., 2001. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Turunçgil Tristeza (Göçüren) Closterovirüs (CTV) Hastalığının Durumu. IX. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Tekirdağ. 525-535.
- Şeker, M., Korkmaz, S., Yücel, Z., ve Turhan, P., 2003. Edremit ve Burhaniye İlçelerinde Turunçgil Yetiştiriciliğinin Özellikleri ve Sorunlarının Belirlenmesine Yönelik Bir Araştırma. IV. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 8-12 Eylül 2003, Antalya – Türkiye, s. 211-213.
- Şen, B. ve Yılmaz, M. A., 1995. Doğu Akdeniz Bölgesinde Yetiştirilen Minneola Tanjelo Ağaçlarındaki Virus ve Virus Benzeri Hastalık Etmenlerinin Biyolojik ve Serolojik Yöntemlerle Saptanması. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana. 265-268.
- Şen, B., Yılmaz, M. A. ve Baloğlu, S., 1995. Doğu Akdeniz Bölgesinde Yetiştirilen Robinson Mandarin Ağaçlarındaki Virus, Viroid ve Stubborn Hastalık Etmenlerinin Biyolojik ve Serolojik Yöntemlerle Saptanması. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana. 270-272.
- Tanaka, S., 1968. Satsuma dwarf. In "J.F.L. Childs et al (eds.), Indexing Procedures for 15 Virus Diseases of Citrus Trees. 56-59 pp. U.S. Dep. Agr. Res. Serv. Agr. Handbook No: 333, Washington D.C.
- Tanaka, S., and Yamada, S., 1972. Evidence for Relationship Among the Viruses of Satsuma Dwarf, Citrus Mosaic, Navel Infectious Mottling, Natsudaidai Dwarf, Citrus Variegation and Citrus Crinkly Leaf. In Proc. 5th. Conf. IOCV. (W.C. Price, ed.) 71-76.
- Timmer, L.W., 1974. A Necrotic Strain of Citrus Ringspot Virus and its Relationship to Citrus Psorosis Virus. *Phytopath.* 64:389-394.
- Timmer, L.W., and Benatena, H.N., 1977. Comparison of Psorosis and Other Viruses Causing Leaf Flecking in Citrus. *Proc. Intern. Soc. Citriculture*, 3:930-935.
- Usda, 1968. Indexing Procedures for 15 Virus Diseases of Citrus Trees. Agriculture Handbook No. 333. ARS-USDA, Washington, USA.

- Vogel, R., Bove, J.M., 1974. Studies on the Cause of Leaf Symptoms Associated with Cristacortis Disease of Citrus. "Proc. 6th Conf. IOCV" (L.G. Weathers, M. Cohen, eds.), 131-134 pp. Univ. Calif. Div. Agr. Sci. Berkeley.
- Wallace, J.M., 1959. A Half Century of Research on Psorosis. In "Citrus Virus Diseases" (J.M. Wallace, ed.), 5-21 pp. Univ. Calif. Div. Agr. Sci. Riverside.
- Wallace, J.M., 1968a. Recent Developments in the Citrus Psorosis Diseases. In "Proc. 4th Conf. IOCV" (J.F.L. Childs, ed), 1-9 p. Univ. Fla. Press, Gainesville.
- Wallace, J.M., 1968b. Psorosis a, Blind Pocket, Concave Gum, Crinkly Leaf and Infectious Variegation. In "Indexing Procedures for 15 Virus Diseases of Citrus Trees." (J.F.L. Childs et al, eds.), Agr. Res. Serv. U.S. Dep. Agr. Handbook No: 333 Washington D.C.
- Wallace, J.M., 1968c. Tristeza and Seedling Yellows. In "Indexing Procedures for 15 Virus Diseases of Citrus Trees." (J.F.L. Childs et al, eds.), Agr. Res. Serv. U.S. Dep. Agr. Agr. Handbook No:333. Washington D.C.
- Wallace, J.M., 1978. Virus and Virus Like Diseases. In "The Citrus Industry" (W.Reuther, E.C. Calavan, G.E. Carman, eds.), 67-184 p. Univ. Calif. Agr. Sci.
- Wallace, J.M., and Drake R.J., 1968. Citrange Stunt and Ringspot, Two Previously Undescribed Virus Diseases of Citrus. In "Proc. 4th Conf. IOCV" (J.F.L. Childs, ed.), 177-183 pp. Univ. Fla. Press, Gainesville.
- Weathers, L.G., and Harjung, M.K., 1964. Transmission of Citrus Viruses by Dodder *Cuscuta subinclusa*. Plant Dis. Rep. 48:102-103.
- Webber, H.J., 1925. A Comparative Study of the Citrus Industry of South Africa. So. Africa Dept. Agr. Bul 6. 106 pp.
- Yamada, S., and Tanaka, H., 1968. Virus disease of citrus and research conducted on them in Japon, Japon Agr. Research Quar. 3 (I):10-14.
- Yurtmen, M. ve Çınar, A., 1995. Seleksiyon Dışı Yeni Bazı Mandarin Çeşitlerinin Belirli Virüs ve Virüs Benzeri Hastalıklar Yönünden İncelenmesi. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana. 299-302.
- Zeman, V., 1931. Una Enfermedad Nueva en los Naranjales de Corrientes. Physis 19:410-411.

Zhou, C., Zhao, X., and Jiang, Y., 1996. Boat-Shaped Leaf Symptoms of Satsuma Mandarin Associated with Citrus Tristeza Virus (CTV). Proc. 13th Conf. IOCV, Riverside. p. 154 - 157.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın baőlangıç aőamasından itibaren yürütölmesi ve hazırlanmasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren ve her konuda destekleyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Savaş KORKMAZ'a, eserlerinden yararlandığım yazarlara, arazi ve laboratuvar çalışmaları sırasında bana yardımcı olan arkadaőım Uzman Burak POLAT, Arő. Gör. Çiğdem GÜNEŞ ve Bitki Koruma Bölümü son sınıf öğrencisi İsmail ÖZTÜRK'e; ayrıca çalıőmam sırasında desteklerini gördüğüm Bitki Koruma Bölümündeki diğer hocalarıma teşekkür ederim.

Ayrıca hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve her an yanımda olarak sevgisiyle bana destek olan eőime teőekkürlerimi bir borç bilirim.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında İstanbul'da doğdu. İlkokulu Arifiye'de, ortaokul ve lise öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 1999 yılında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim Bölümü'nü kazandı, 3. sınıfın sonunda Bitki Koruma Bölümü'nü tercih etti ve 2003 yılında Bitki Koruma Bölümü'nden fakülte birincisi olarak mezun oldu. Aynı yıl Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başlayan Serkan ÖNDER, 2004 - 2007 yılları arasında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görev yaptı.