



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HATAY İLİ BUĞDAY ÜRETİM ALANLARINDA BARLEY YELLOW
DWARF VİRUS (BYDV) –PAV ve –MAV TÜRLEİ İLE CEREAL
YELLOW DWARF VİRUS (CYDV) -RPV'NİN SEROLOJİK ve
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI ve
KARAKTERİZASYONU**

CANER SAİTOĞLU

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
OCAK - 2023



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HATAY İLİ BUĞDAY ÜRETİM ALANLARINDA BARLEY YELLOW
DWARF VİRUS (BYDV) –PAV ve –MAV TÜRLERİ ile CEREAL
YELLOW DWARF VİRUS (CYDV) -RPV’NİN SEROLOJİK ve
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI ve
KARAKTERİZASYONU**

CANER SAİTOĞLU
ORCID: 0000-0002-2725-3425

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Prof. Dr. MONA GAZEL
ORCID: 0000-0001-7162-0336

HATAY
OCAK - 2023

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HATAY İLİ BUĞDAY ÜRETİM ALANLARINDA BARLEY YELLOW
DWARF VİRUS (BYDV) –PAV ve –MAV TÜRLEİ ile CEREAL YELLOW
DWARF VİRUS (CYDV) -RPV’NİN SEROLOJİK ve MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE SAPTANMASI ve KARAKTERİZASYONU**

CANER SAİTOĞLU
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Mona GAZEL danışmanlığında hazırlanan bu tez 27/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mona GAZEL
Başkan

Prof. Dr. Kadriye ÇAĞLAYAN
Üye

Doç. Dr. Eminur ELÇİ
Üye

Kod No:

Doç. Dr. Cengiz KARACA
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 22.YL.006

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

27/01/2023

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

CANER SAİTOĞLU

ÖZET

HATAY İLİ BUĞDAY ÜRETİM ALANLARINDA BARLEY YELLOW DWARF VİRUS (BYDV) –PAV ve –MAV TÜRLERİ ile CEREAL YELLOW DWARF VİRUS (CYDV) -RPV’NİN SEROLOJİK ve MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI ve KARAKTERİZASYONU

Buğday bitkisinde (*Triticum aestivum* L.) yaklaşık olarak 55 virüs etmeninin enfeksiyona neden olduğu bildirilmiştir. Dünyada buğday üretim alanlarında en yaygın olarak görülen ve sarı cücelik hastalığına neden olan virüsler (yellow dwarf viruses, YDVs) ülkemizde de tahıl üretimi yapılan birçok alanda tespit edilmiştir. Tahıllarda verim ve kalite kayıplarına neden olarak yıkıcı zararlar oluşturan YDVs başta buğday olmak üzere diğer birçok tahıl türünde, çayır mera ve çim bitkisinde enfeksiyona neden olabilmektedir. Tahıl üretim alanlarında epidemi oluşturma potansiyeline sahip olan sarı cücelik virüslerinin buğdayda %80’e varan verim kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma kapsamında Hatay ilinde yetiştirilen buğday bitkilerinde ve bu alanlardan toplanan *Rhopalosiphum padi* L. bireylerinde bu hastalık kompleksine neden olan virüslerden barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV), barley yellow dwarf virus-MAV (BYDV-MAV) ve cereal yellow dwarf virus-RPV (CYDV-RPV)’nin varlığı Double Antibody Sandwich–Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (DAS-ELISA) ve Ters Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemleri ile araştırılmış, belirlenen bazı izolatların moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. DAS-ELISA testleri sonucunda testlenen 124 buğday örneğinden sadece 1 tanesi BYDV-PAV ile enfekteli bulunmuş ancak BYDV-MAV ve CYDV-RPV tespit edilememiştir. RT-PCR analizleri ile testlenen 124 buğday örneğinden sadece bir örnekte BYDV-PAV’a ait beklenen uzunlukta (531 bp) DNA fragmenti çoğaltılırken, testlenen örneklerde diğer iki virüs saptanamamıştır. Testlenen buğday örneklerinin BYDV-PAV ile enfeksiyon oranı %0.80 olarak saptanmıştır. Buğday tarlalarından toplanan toplam 96 adet *Rhopalosiphum padi* bireyi tek tek RT-PCR yöntemi ile analiz edildiğinde testlenen bireylerin hiçbirisinde BYDV-PAV ve BYDV-MAV saptanamamış ancak 8 adet *R. padi* bireyinde CYDV-RPV saptanmıştır. RT-PCR yöntemiyle çoğaltılan BYDV-PAV buğday izolatu ile 3 adet CYDV-RPV *R. padi* izolatu doğrudan dizilenerek nükleotid analizleri yapılmıştır. Bu izolatlar Gen Bankasına kayıtlı diğer ülke izolatlarıyla karşılaştırılmış ve benzerlik oranları ile filogenetik ilişkileri ortaya konulmuştur. Yapılan bu çalışma ile buğday bitkilerinde BYDV-PAV Hatay ilinde ilk kez saptanmıştır. Ayrıca buğday üretim alanlarından toplanan *R. padi* bireylerinde ise CYDV-RPV ilk kez belirlenmiştir.

2023, 48 sayfa

Anahtar Kelimeler: Buğday, sarı cücelik hastalığı, DAS-ELISA, RT-PCR, filogenetik analiz

ABSTRACT

DETECTION and CHARACTERIZATION of BARLEY YELLOW DWARF VIRUS (BYDV) -PAV and -MAV SPECIES and CEREAL YELLOW DWARF VIRUS (CYDV) -RPV by SEROLOGICAL and MOLECULAR METHODS in WHEAT PRODUCTION AREAS of HATAY PROVINCE

It has been reported that approximately 55 viral agents infect the wheat plant (*Triticum aestivum* L.). Yellow dwarf viruses (YDVs), one of the most common viruses in wheat production areas in the world, have been reported in many cereal production areas in our country. YDVs cause devastating damage to cereals by causing yield and quality losses and they have been reported in many other cereal species, especially wheat, meadow, pasture and grass plants. It has been reported that yellow dwarf viruses, which have the potential to cause epidemics in cereal production areas, cause yield losses of up to 80% in wheat. Within the scope of this study, the presence of barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV), barley yellow dwarf virus-MAV (BYDV-MAV), cereal yellow dwarf virus-RPV (CYDV-RPV) in wheat plants growing in Hatay province and also in *Rhopalosiphum padi* L. individuals collected from that areas were analysed by Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (DAS-ELISA), Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) and their molecular characterizations were investigated. As a result of DAS-ELISA tests, among 124 wheat samples, only 1 sample was found to be infected with BYDV-PAV, but BYDV-MAV and CYDV-RPV could not be detected. In 124 wheat samples tested by RT-PCR analysis, only the expected length (531 bp) DNA fragment of BYDV-PAV was amplified in the same sample, while the other two viruses could not be detected. The infection rate of the tested wheat samples with BYDV-PAV was 0.80%. When 96 *R. Rhopalosiphum padi* individuals collected from wheat fields were tested by RT-PCR analysis, only CYDV-RPV was detected in eight *R. padi* individuals but BYDV-PAV and BYDV-MAV were not detected in any of the tested samples. BYDV-PAV wheat isolate and 3 CYDV-PRV *R. padi* isolates amplified by RT-PCR were directly sequenced. The nucleotide sequences were analyzed, compared with the isolates of other countries deposited in the GenBank, and their similarity and phylogenetic relationships were revealed. In frame of this study, BYDV-PAV was first time detected in the wheat plants in Hatay province. Additionally, CYDV-RPV was also reported for the first time in *R. padi* individuals collected from the wheat fields in Hatay.

2023, 48 pages

Key Words: Wheat, yellow dwarf disease, DAS-ELISA, RT-PCR, phylogenetic analysis

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konusunun belirlenmesinde, araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesiyle bana çok şey katan, cesaretlendiren, teşvik eden saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Mona GAZEL'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez konusunun belirlenmesi ve çalışmaların takip edilmesinde her türlü yardımı esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Kadriye ÇAĞLAYAN'a, laboratuvar çalışmalarında yapmış olduğu katkı ve yardımları nedeniyle Ziraat Yüksek Mühendisi Kıvılcım ÖRDEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak bu süreçte ve hayatımın her alanında bana yardımcı olan, tez sürecinde zorlandığım zamanlarda daima yanımda olup manevi anlamda güç veren, başarılarımın gizli kahramanı olan annem Dilek SAİTOĞLU, babam Recep SAİTOĞLU ve ağabeyim Furkan SAİTOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
2.1. Ülkemizde Yapılan Çalışmalar.....	6
2.2. Yurt Dışında Yapılan Çalışmalar	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal.....	19
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Bitki Örnekleri ve Yaprak Bitlerinin Toplanması	19
3.2.2. DAS-ELISA Testleri	19
3.2.2.1. Virülfifer Yaprak Bitlerinin Belirlenmesi	20
3.2.3. Moleküler Çalışmalar	20
3.2.3.1. Nükleik Asit Ekstraksiyonu	20
3.2.3.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	22
3.2.3.3. RT-PCR Analizleri.....	23
3.2.3.4. Dizi Analizleri.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	25
4.1. Arazi Çalışmaları.....	25
4.2. DAS-ELISA Testlerinin Sonuçları.....	28
4.3. Moleküler Çalışmalar	28
4.3.1.1. Buğday Örneklerinden Toplam RNA İzolasyonu.....	28
4.3.2. Reverse Transkripsiyon (RT; Reverse Transcription) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Analizleri Sonuçları	30
4.3.3. DNA Dizileme, Blast ve Filogenetik Analiz Sonuçları.....	32
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	37
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	45
EKLER.....	46

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Virüslerin teşhisinde kullanılan primerler ve ürün büyüklüğü	22
Çizelge 3.2. Sarı cücelik virüslerinin RT-PCR yöntemiyle tespit edilmesinde kullanılan primer dizileri ve beklenen fragment uzunlukları ile PCR koşulları	23



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Survey çalışmalarının yürütüldüğü buğday tarlalarının genel görünümü.....	25
Şekil 4.2. Bazı buğday tarlalarında görülen bayrak yaprağının uçlarında kızarma simptomları.....	26
Şekil 4.3. Bazı buğday tarlalarında görülen bayrak yaprağının uçlarında kızarma simptomlarının yakın görüntüsü	26
Şekil 4.4. Bazı buğday bitkilerinin bayrak yaprağında gözlenen damarlara paralel sarı çizgi simptomları ve yaprak ucunda kızarma simptomları	27
Şekil 4.5. Buğday yaprağında beslenen yaprak bitleri	27
Şekil 4.6. Norgen kit kullanılarak 36 numaralı buğday örneğinden izole edilen RNA'nın spektrofotometre ölçümü (Nanodrop 2000c, Thermo Sci, ABD)	29
Şekil 4.7. Norgen kit kullanılarak 7 numaralı buğday örneğinden izole edilen RNA'nın spektrofotometre ölçümü (Nanodrop 2000c, Thermo Sci, ABD)	29
Şekil 4.8. Norgen kit kullanılarak 6 numaralı buğday örneğinden izole edilen RNA'nın spektrofotometre ölçümü (Nanodrop 2000c, Thermo Sci, ABD)	30
Şekil 4.9. Hatay ilinden toplanan buğday örneklerinin BYDV-PAV'a spesifik primerler kullanılarak yapılan RT-PCR analizinin agaroz jel görüntüsü. M: Marker (SMO#321 MBI, Thermo Sci, ABD), 32-42: Buğday örnekleri, +K: Pozitif kontrol, -K: Negatif kontrol Su: Su kontrol	31
Şekil 4.10. Hatay ilinden toplanan yaprak bitlerinin örneklerinin CYDV-RPV'e spesifik primerler kullanılarak yapılan RT-PCR analizinin agaroz jel görüntüsü. M: Marker (SMO#321 MBI, Thermo Sci, ABD), 10, 30, 36, 79 ve 86: Yaprak bitleri, +C: Pozitif kontrol, -C: Negatif kontrol, W: Su kontrol.....	32
Şekil 4.11. 36 nolu BYDV-PAV buğday izolatının NCBI'da yapılan BLAST analizi sonucu.....	33
Şekil 4.12. Hatay ilinde buğday bitkisinden elde edilen Barley yellow dwarf virüs–PAV (BYDV-PAV) izolatı ile GenBank (NCBI) veri tabanında kayıtlı bazı BYDV-PAV izolatlarının nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, MEGA 11 yazılımında yer alan Neighbor-joining (NJ) yöntemi kullanılmıştır. Dendrogramda bootstrap (seç-bağla tahmin testi) değerleri, dallarda yüzde olarak gösterilmiştir. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını (0.10) göstermektedir. Potato leafroll virus (PLRV) filogenetik ağaçta dış grup olarak kullanılmıştır.	34
Şekil 4.13. 3 nolu CYDV-PAV <i>Rhopalosiphum. padi</i> izolatının NCBI'da yapılan BLAST analizi sonucu	35
Şekil 4.14. Hatay ilinde <i>R. padi</i> bireylerinden Cereal yellow dwarf virüs–RPV (CYDV- RPV) izolatı ile GenBank (NCBI) veri tabanında kayıtlı bazı CYDV-RPV izolatlarının nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, MEGA 11 yazılımında yer alan Maximum Likelihood yöntemi kullanılmıştır. Dendrogramda bootstrap (seç-bağla tahmin testi) değerleri, dallarda yüzde olarak gösterilmiştir. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını (2.00) göstermektedir. Cucumber mosaic virus (CMV) filogenetik ağaçta dış grup olarak kullanılmıştır.	36

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

bp	: base pair
dk	: Dakika
°C	: Derece Celsius
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
rpm	: Rotation per minute (dakikadaki dönme sayısı)
nm	: Nanometre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
pmol	: Pikomol
%	: Yüzde

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BrMV	: Brome mosaic virus
BWYV	: Beet western yellows virus
BSMV	: Barley stripe mosaic virus
BYDV	: Barley yellow dwarf virus
BYDV-MAV	: Barley yellow dwarf virus-MAV
BYDV-PAV	: Barley yellow dwarf virus-PAV
BYDV-PAS	: Barley yellow dwarf virus-PAS
BYDV-RMV	: Barley yellow dwarf virus-RMV
BYDV-SGVP	: Barley yellow dwarf virus-SGV
CDNA	: Komplementer Deoksiribo Nükleik asit
CYDV	: Cereal yellow dwarf virus
CYDV-RPV	: Cereal yellow dwarf virus-RPV
CYDV-RPS	: Cereal yellow dwarf virus-RPS
CoMV	: Cocksfoot Mottle Virus
CP	: Coat protein (Kılıf protein)
d ₂ H ₂ O	: Su
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
DAS-ELISA	: Double antibody sandwich-ELISA
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
HCl	: Hidroklorik asit
HTS	: High throughout sequencing
IgG	: Immunoglobulin Globulin
MDMV	: Maize dwarf mosaic virus
MYDV	: Maize yellow dwarf virüs

MYDV-RMV	: Maize yellow dwarf virus-RMV
MP	: Hareket Proteini (Movement protein)
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
NJ	: Neighbor-joining
ONMV	: Oat necrotic mottle virus
PCR	: Polymerase chain reaction
PLRV	: Potato leafroll virus
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RT	: Reverse Transkriptase
RT-PCR	: Reverse Transkriptase-Polymerase Chain Reaction
SBWMV	: Soil-borne wheat mosaic virus
SCMV	: Sugarcane mosaic virus
TAS-ELISA	: Triple antibody sandwich-ELISA
TNA	: Total nükleik asit
WDV	: Wheat dwarf virüs
WSMV	: Wheat streak mosaic virus
WYDV	: Wheat yellow dwarf virus
WYDV-GPV	: Wheat yellow dwarf virus-GPV
YDV	: Yellow dwarf virüs

1. GİRİŞ

Serin iklim tahılları içinde yer alan buğday, dünya nüfusunun en önemli besin kaynaklarından birisidir (Anonim, 2016). Buğday danesi karbonhidrat, protein mineral maddeler, iz elementleri, vitaminler, yağ asitleri ile sekonder bitki metabolitleri olarak adlandırılan renk maddeleri ve fenoller bakımından oldukça zengindir (Gooding ve Davies, 1997). Bununla birlikte buğdayın içerdiği fitokimyasal maddeler (fenolik bileşikler, karotenoidler ve E vitamini) nedeniyle doğal besinsel antioksidan kaynağıdır. Bu aktif bileşikler güçlü antioksidan aktiviteleri ile insan ve hayvanlarda birçok kronik rahatsızlığı önlemekte veya ilerlemesini geciktirebilmektedir (Menteş Yılmaz, 2011). Buğdayın sahip olduğu bu zengin besin değerleri ile dünya nüfusunda, beslenme diyetine göre insanların enerji ihtiyaçlarının yaklaşık %20'sini karşılamaktadır (Cummins ve Robert-Thomson, 2009).

Tahıl cinslerinin hepsi Poaceae syn. Gramineae familyasına ait bitkilerdir. Buğday, arpa, yulaf, çavdar, çeltik, mısır, darı ve kuşyemi gibi önemli kültür bitkileri bu familya içinde yer almaktadır (Kün, 1994). Buğdayın taksonomisi ise aşağıdaki gibidir;

- Alem: Plantae
- Şube: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
- Sınıf: Liliopsida (Tek çenekliler)
- Takım: Poales
- Familya: Poaceae
- Cins: Triticum

Bugün dünyadaki tarım alanlarının büyük çoğunluğu tahıl grubu bitkilerden oluşmaktadır. Türkiye’de işlenen alanın yaklaşık %80’inde tahıl üretimi yapılmakta olup, ekolojik koşullar ve nadas haricinde tahıl tarımına ayrılan alanın %95’inde serin iklim tahılları yetiştirilmektedir (Güven, 2007). Dünyada buğday üretimi 774 milyon ton olup bunun yaklaşık %95’ini ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) geri kalan %5’lik kısmını ise makarnalık buğday (*Triticum durum* Desf.) oluşturmaktadır (Anonim, 2020).

Dünyada tahıllar içinde mısır ve çeltikten sonra en fazla üretilen ürün olan buğday ülkemizde 28 yabani buğday çeşidine ev sahipliği yapmaktadır. Türkiye’de yüzlerce yerel çeşit buğday bulunmaktadır. Buğday günümüzde tropik ülkelere Amerika’nın

güneyine, ılıman iklimlerden Avrupa'nın kuzeyine kadar çok geniş coğrafyalarda ve çeşitli iklimlerde yetiştirilmektedir (Özberk ve ark., 2016). 2021 yılı dünya buğday üretim miktarına bakıldığında 134.3 milyon ton ile Çin ilk sırada yer almaktadır. Ülkemiz ise 20.5 milyon ton buğday üretimi ile 10. sırada yer almaktadır (Anonymous, 2021).

Çevre koşullarının olumsuz etkileri, uygulamadaki yetersizlikler, hastalıklar, zararlılar ve diğer stres faktörlerinin etkisi ile tahıl verimi önemli ölçüde azalmaktadır (Cook ve Veseth, 1991). Tahıl verimini düşüren ve ürün kalitesini olumsuz yönde etkileyen çok sayıda abiyotik stres faktörleri yanında 77 patojenin bulunduğu rapor edilmiştir (Wiese, 1987).

Oldukça geniş alanlarda tarımı yapılan tahıllarda üretimi sınırlayan ve verim azalmasına neden olan faktörlerin arasında hastalıklar ilk sırada yer almaktadır (Yorgancı, 1989). Kültür bitkilerinin üretiminde ürün kayıplarına neden olan nicel ve nitel faktörler arasında ise viral kaynaklı etmenlerin ayrı bir önemi bulunmakta ve üründe verim ve kaliteyi önemli ölçüde etkilemektedir. Bu etkilerin derecesi bazen çok hafif olabilirken bazen de aşırı düzeyde olabilmektedir (Yorgancı, 1989). Diğer patojen gruplarının önlenmesi için sıklıkla uygulanan kimyasal savaş yönteminin bu etmenlere karşı uygulanamıyor oluşu ve diğer kontrol yöntemlerinin de üretici tarafından yeterli düzeyde bilinmemesi, virüs kaynaklı kayıpların artmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda pazar değeri düşmekte ve önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Virüs etmenlerinin yayılımı ve sağlıklı bitkilere bulaşmasını önlemek amacı ile virüslerden ari üretim materyallerinin kullanılması gibi klasik uygulamalar ise her zaman virüs hastalıkları ile mücadelede yeterli olamamaktadır. Virüsler ile en etkili mücadele yöntemi dayanıklı bitki türleri veya varyetelerinin geliştirilmesi ve kullanılmasıdır (Sökmen, 2005). Dayanıklı bitki türlerinin ve varyetelerinin geliştirilmesi, buğday virüslerinin güvenilir şekilde tanılanması, hastalık mekanizmalarının bilinmesi ve moleküler genom özelliklerinin en iyi bir şekilde ortaya konmasını gerektirmektedir. Viral etmenlerle mücadelede dayanıklı çeşitlerin, virüs vektörlerine karşıda etkili olması için virüs ve vektörlerinin de epidemiyolojileri ortaya konulmalıdır (Erkan, 2008).

Tahıllar içerisinde virüslere en duyarlı olarak saptanmış olan buğday bitkisinde 55 tane virüs etmeninin saptandığı rapor edilmiş olmakla beraber (Brunt ve ark., 1996)

doğal olarak buğdayı enfekte eden virüslerin 30 tane olduğu bildirilmiştir (Wiese, 1987). Dünyada buğday üretim alanlarında görülen en önemli tahıl hastalıklarından birisi arpa sarı cücelik hastalığıdır (ASCH) (D'arcy, 1995; Svanella-Dumas ve ark., 2013). Tahıllarda bu hastalığa neden olan etmen ilk kez 1953 yılında Oswald ve Houston tarafından "barley yellow dwarf virus (BYDV)" olarak adlandırılmış olup izleyen yıllarda Bill Rochow adlı araştırmacı virüslerin taşınmasında rol oynayan afid türlerine göre bunları 5 farklı serotipe ayırmış ve farklı türler olarak gruplandırılmıştır. Her bir türün etkin vektörü parantez içinde yazılmış olup bunlar; Cereal yellow dwarf virus (CYDV)-RPV (*Rhopalosiphum padi*), BYDV-MAV (*Macrosiphum avenae*, bu tür daha sonra *Sitobion avenae* olarak adlandırılmıştır), BYDV-PAV (*R. padi* ve *S. avenae*), BYDV-SGV (*Schizaphis graminum*) ve maize yellow dwarf virus (MYDV)-RMV (*Rhopalosiphum maidis*) (Rochow, 1969, 1970; Rochow ve Muller, 1971). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise bu türlerin sayısı artmıştır. Yeni belirlenen türler ise; BYDV-GAV (*S. graminum* ve *S. avenae*) (Jin ve ark., 2004), wheat yellow dwarf virus (WYDV)-GPV (*S. graminum* ve *R. padi*)'dir (Zhang ve ark., 2009). Ayrıca CYDV-RPS (*R. padi*, şiddetli) olarak adlandırılan CYDV-RPV'nin daha şiddetli bir varyantının yaprak kıvrıcılığına neden olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde Kuzey Amerika'da BYDV-PAS (*R. padi*, *S. avenae*, şiddetli) (eskiden PAV-129 olarak adlandırılmıştır) olarak adlandırılan BYDV-PAV ile ilişkili virüsün özellikle yulaf bitkilerinde BYDV-PAV'a nazaran daha şiddetli semptomlara neden olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber BYDV-PAS'ın Avrupa'da buğday bitkilerinde daha hafif semptomlara neden olduğu rapor edilmiştir (Jarosova ve ark., 2013). Bu çalışmaların ışığı altında BYDV taksonomisinde önemli değişiklikler önerilmiştir (Miller ve Lozier, 2022). Rochow BYDV'nin ilk beş serotipini adlandırılmış, ancak viral genomların dizilenmesi yapıldığında bu sınıflandırma bozulmuştur (Miller ve ark., 1988; Vincent ve ark., 1991). BYDV-MAV ve BYDV-PAV'nin yakından ilişkili olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen (Ueng ve ark., 1992), CYDV-RPV ve MYDV-RMV olarak adlandırılan virüslerin Patates yaprak kıvrıcılığı virüsüne (PLRV) ve Pancar batı sarısı virüsüne (BWYV) BYDV-PAV'a nazaran daha benzer oldukları ortaya koyulmuştur (Krueger ve ark., 2013; Vincent ve ark., 1991). Böylece, bu virüsler yeniden adlandırılmış ve PLRV, BWYV ve diğer virüslerle birlikte Polerovirus cinsine (D'Arcy ve Mayo, 1997; Delfosse ve ark., 2021), BYDV-PAV, BYDV-MAV ve diğer konukçularla ilişkili

virüsler ise Luteovirus cinsine yerleştirilmiştir (Ali ve ark., 2014; D’Arcy ve ark., 2000). Yüksek kapasiteli dizilemenin (High throughput sequencing-HTS) son yıllarda bitki virolojisinde yaygın kullanılması sonucu BYDV grubuna yeni üyeler de dâhil edilerek taksonomide bazı değişikliklere neden olmuştur. ICTV 2021 yılında Polerovirus and Luteovirus cinsini yeniden düzenlemiş ve Luteoviridae familyası iptal edilmiştir (ICTV, 2021). Son düzenlemeye göre Luteovirus cinsi Tombusviridae familyasına, Polerovirus ve Enamovirus cinsi ise Solemoviridae familyasına dâhil edilmiştir. BYDV-PAV, BYDV-MAV, BYDV-PAS, BYDV-kerII, BYDV-kerIII, BYDV-GAV ve BYDV-SGV Luteovirus cinsine dahil edilirken, CYDV-RPV, CYDV-RPS, BVG ve WYDV-GPV Polerovirus cinsine dahil edilmiştir (Miller ve Lozier, 2022).

Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada buğday üretimini ekonomik olarak sınırlayan virüslerden Arpa sarı cücelik virüslerinin dünyada tahıl üretimini ekonomik anlamda etkilediği tespit edilmiştir. Geniş konukçu dizisine sahip Arpa sarı cücelik virüslerinin tahıl verimini önemli derecede azalttığı bildirilmiştir (Beuve ve ark., 1999). Bu virüsler başta buğday olmak üzere arpa, yulaf, çavdar, darı, tritikale, mısır, çeltik ve Sorghumda (yem bitkisi) hastalığa neden olmakta ve dane verimini önemli ölçüde düşürmektedir. Bunun dışında konukçusu olan 150 türden fazla çayır mera ve çim bitkilerinde de verimi düşürdüğü rapor edilmiştir (Gould ve Shaw 1983; Koev ve ark., 1998; Chain ve ark., 2006).

Bu virüs hastalıklarının 28’den fazla yaprak biti türü ile taşındığı, mekanik olarak bitkilerin birbiri ile temasıyla, tohumla veya polenle taşınmadığı bildirilmiştir. BYDV’leri taşındığı yaprak biti türlerine göre isimlendirildiği rapor edilmiştir (Fauquet ve Mayo, 1999).

Türkiye’de 26,3 milyon hektar tarım arazisi ekilmekte ve bu alanların en fazla kısmını tahıl grubu ürünleri oluşturmaktadır. Tahıl üretimi yapılan alanlar arasında en fazla oranda buğday yetiştirilmektedir. Hatay ilinde buğday üretimi çiftçiler için önemli geçim kaynaklarından birisi olup, uzun yıllardan beri tarımla uğraşan üreticiler gerek arazi bakımlarını gerekse kullandıkları alet ve ekipman ile modern tarım yapmaktadırlar. Bilinçli tarım faaliyetleri yapan üreticiler sertifikalı buğday tohumu ekmektedirler. Hatay’da 2022 yılı verilerine göre 50.000 ha alanda buğday üretimi

yapılmakta olup, dekardan alınan verim ise ortalama 450-475 kg aralığında gerçekleşmiştir.

Tahıl üretim alanlarında etkin bir epidemi oluşturma potansiyeline sahip olan arpa sarı cücelik virüslerinin buğdayda %80'e varan verim kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir. Arpa sarı cücelik virüslerinin oluşturduğu zarar ve verim kayıpları, enfeksiyon zamanına, çevre koşullarına ve vektör böceklerinin popülasyonuna göre değişiklik gösterdiği ortaya konulmuştur. Virüs bodurluk, yapraklarda renk değişikliği (sararma), kök büyümesinde ve kardeşlenmede azalma belirtilerinin yanı sıra semptomsuz olarak bulunduğu durumlarda bile verimi düşürebildiği rapor edilmiştir (Pike, 1990, Banks ve ark., 1995).

BYDV virüsleri elektron mikroskobu ile incelendiğinde genellikle hücre çekirdeğinde, sitoplazma ve parankima hücrelerinde görülmektedir (Hogenhout ve ark., 2008; Domier, 2008; Usta, 2013).

Bu çalışmada, Hatay ili buğday üretim alanlarında barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV), barley yellow dwarf virus-MAV (BYDV-MAV), cereal yellow dwarf virus-RPV (CYDV-RPV)'lerinin serolojik ve moleküler yöntemlerle saptanması ve izolatların filogenetik analizlerinin yapılması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Brunt ve ark. (1996) yaptıkları çalışmada buğday bitkisini (*Triticum aestivum* L.) yaklaşık 55 virüs etmeninin enfekte ettiği bildirilmiştir.

Gould ve Shaw, (1983) yaptıkları bir çalışmada Dünya’da buğday üretim alanlarında en yaygın olarak görülen virüs etmenlerinden sarı cücelik virüs hastalıkları (yellow dwarf viruses, YDVs) ülkemizde tahıl üretimi yapılan birçok alanda rapor edilmiştir. Tahıllarda verim ve kalite kayıplarına neden olarak yıkıcı zararlar oluşturan YDVs başta buğday olmak üzere arpa, yulaf, çavdar, darı, tritikale, mısır, çeltik ve Sorghumda hastalığa neden olduğu ve dane verimini önemli ölçüde düşürdüğü belirlenmiştir. Bunun dışında 150’den fazla çayır mera ve çim bitkisinin de etmenin konukçusu olduğu ve ot verimini düşürdüğü bildirilmiştir.

Pike, (1990) Banks ve ark. (1995) tahıl üretim alanlarında epidemi oluşturma potansiyeline sahip olan arpa sarı cücelik virüslerinin buğdayda %80’e varan verim kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir. Arpa sarı cücelik virüslerinin oluşturduğu zarar ve verim kayıpları, enfeksiyon zamanına, çevre koşullarına ve vektör böceklerinin popülasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Virüs bodurluk, yapraklarda renk değişikliği (sararma), kök büyümesinde ve kardeşlenmede azalma belirtileri yanında simptomsuz olarak bulunduğu durumlarda bile verimi düşürebildiği rapor edilmiştir.

2.1. Ülkemizde Yapılan Çalışmalar

İlbağı, (2003) Trakya Bölgesi’ndeki tahıl üretim alanlarındaki virüslerin saptanması amacıyla yaptığı bir çalışmada, yaygın olarak BYDV-PAV virüsünün olduğunu WSMV ve Oat necrotic mottle virus (ONMV) virüslerinin de hastalıklara sebep olduğunu belirlemiştir. BYDV-PAV ve WSMV Trakya Bölgesi için ilk kayıt olarak rapor edilirken, ONMV Türkiye için ilk kayıt olmuştur.

Köklü, (2004) Tekirdağ ilinin 7 ilçesinde 26 buğday tarlasından 260 buğday örneği BYDV-PAV, BYDV-MAV, CYDV-RPV, BSMV, WDV ve BrMV virüslerini araştırmak için toplanmış ve ELISA ile testlenmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda testlenen virüsler arasında en yaygın olarak BYDV-MAV (260 buğday örneğinin %25’inde)’ünün bulunduğu bunu sırasıyla BYDV-PAV (%22,3), WDV (%16,5),

CYDV-RPV (%8,5), BrMV (%3,1) ve BSMV (%1,5) izlediği saptanmıştır. Sonuç olarak bu çalışma ile Türkiye’de ilk kez BSMV ve BrMV bildirilmiştir.

İlbağı ve ark. (2006) Trakya Bölgesi’nde mısır virüs hastalıklarının belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada testlenen örneklerde BYDV-PAV (Barley yellow dwarf virus), SCMV (Sugarcane mosaic virus), JGMV (Johnson grass mosaic virus) ve MDMV (Maize dwarf mosaic virus)’leri saptanmıştır.

İlbağı ve ark. (2008) Tekirdağ ilindeki kanarya (*Phalaris canariensis* L.) tohumlarının yapraklarında sararma ve bitkide cüceleşmeye sebep olan virüs hastalıklarının belirlenmesi amacıyla toplanan örnekler Cereal yellow dwarf virus-RPV (CYDV-RPV) ve Barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV)’a karşı serolojik olarak test edilmiştir. Test sonucunda örneklerin % 2’sinin CYDV-RPV ve % 48’inin BYDV-PAV ile enfekteli olduğu ve bu örneklerin %14’ünün de karışık enfekteli olduğu, toplanan örneklerin %36’sının virüs ile enfekte olmadığı saptanmıştır.

Deligöz ve ark. (2011) Samsun ve Amasya illerinde BYDV-PAV ve BYDV-MAV virüslerinin buğday bitkilerinde yaygınlığını belirlemek amacıyla 2006-2007 yıllarında yapılan bir çalışmada Samsun’dan 116, Amasya’dan ise 100 adet buğday örneği toplanmış ve BYDV-MAV ve BYDV-PAV virüslerine karşı DAS-ELISA yöntemiyle testlenmiştir. Yapılan bu çalışmada her iki ilden testlenen örneklerde BYDV-PAV’ın en yaygın olduğu belirlenmiş olup bu oran Samsun ilinde %8.6, Amasya ilinde ise %4 olarak belirlenmiştir. BYDV-MAV ise Samsun’da %5.1, Amasya’da %1 bulunmuş, BYDV-PAV ve -MAV karışık enfeksiyonu Samsun’da 2 örnekte, Amasyada ise 4 örnekte saptanmıştır.

Hamamcı, (2012) Tekirdağ ili’nde 8 farklı kışlık ekmeklik buğday çeşidinin sarı cücelik virüs hastalıklarına karşı sergiledikleri tepkileri saptamak amacıyla 2010- 2011 üretim döneminde bir çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada tarla denemeleri 3 lokasyonda, 2 ekim tarihi, 3 tekerrür ve 8 kışlık ekmeklik buğday çeşidi ile tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre kurulmuştur. Deneme parsellerinden alınan 336 buğday yaprağı DAS-ELISA yöntemiyle testlenmiştir. Testlenen örneklerin % 80,17 oranında BYDV-PAV, % 6,61 oranında CYDV-RPV ve % 4,83 oranında WDV ile tekli enfekteli oldukları, % 8,39 oranında ise karışık enfekteli oldukları belirlenmiştir. Testlenen örneklerde BYDV-MAV ve diğer türler bulunamamıştır. Her bir deneme parselinde sapa kalkma döneminden sonra 100

bitkiden hastalıklı olanlar sayılarak YDVs hastalığının bulunma oranı belirlenmiştir. Yapılan varyans analizlerine göre deneme alanlarından bir tanesinde buğday ekim tarihleri arasında farklılık %95 olasılıkla önemli bulunurken çeşitler arasındaki varyasyonun istatistiki açıdan önemsiz olduğu görülmüştür. Diğer iki deneme alanında ise, çeşitler arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli bulunurken, ekim tarihleri arasında farklılık % 95 olasılıkla önemsiz bulunmuştur.

Dayan, (2013) Tekirdağ ilinde 8 farklı kışlık ekmeklik buğday çeşidinde tahıl virüs hastalıklarının kalite üzerine etkilerinin belirlenmesi üzerine yaptığı bir çalışmada üç farklı bölgeden topladığı 200 adet buğday yaprak örneğini DAS-ELISA yöntemi ile testlemiştir. Testlenen buğday yaprak örneklerinin hiçbirinde Sugarcane mosaic virus (SCMV) ve Maize dwarf mosaic virus (MDMV)'leri tespit edilememiş olup, 200 adet yaprak örneğinin 60 adedinde Barley yellow dwarf virus-MAV (BYDV-MAV), Barley yellow dwarf virus PAV (BYDV-PAV), Cereal yellow dwarf virus RPV (CYDV-RPV), Wheat dwarf virus (WDV), Brome mosaic virus (BrMV) ve Wheat streak mosaic virus (WSMV)'lerinin varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada 8 farklı kışlık ekmeklik buğday çeşidinde tahıl virüs hastalıklarının kalite üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan kalite analiz testleri sonucunda özellikle dane yapısının tahıl virüs hastalıklarından doğrudan etkilediği bildirilmiştir.

Usta, (2013) Doğu Anadolu'da Van, Bitlis, Iğdır, Kars, Ağrı, Muş, Erzincan, Elazığ ve Malatya illerinde buğday alanlarındaki bazı virüslerin tespiti amacıyla yapılan bir çalışmada ise 900 yeşil aksam ve 78 toprak örneği alınmıştır. Bu örneklerden 50 tanesinde BYDV-PAV (%5.5) 44 örnekte BYDV-SGV (%4.8) 4 örnekte CYDV-RPV (%0.4), ve 8 örnekte ise WSMV(%0.8) virüsleri tespit edilmiştir. Testlenen örneklerin hiçbirinde BYDV-MAV, BYDV-RMV, SBWMV ve incelenen toprak örneklerinin hiç birinde *P. graminis* vektörü tespit edilmemiştir. Bu çalışmada Arpa sarı cücelik virüsleri Türkiye'de ilk defa multipleks RT-PCR yöntemiyle araştırılmıştır.

İlbağı ve Geyik, (2014) Bursa ilinde mısır üretiminde kaliteyi ve verimi olumsuz yönde etkileyen bazı viral hastalıkların varlığını belirlemek amacıyla semptomlu 150 bitkiden yaprak örneği toplanmış ve bu örnekler BYDV-PAV, MDMV, SCMV ve CYDV-RPV virüslerinin varlığı açısından DAS-ELISA yöntemiyle testlenmiştir. Testlenen örneklerin 15 tanesinde (%30 oranında) MDMV, 10 tanesinde (%20 oranında) MDMV+SCMV karışık enfeksiyonları tespit edilmiş ve sonuç olarak mısır

tarlalarındaki semptomlu bitkilerin 25 tanesinde %50 oranında virüs enfeksiyonu saptanmıştır. Ancak testlenen örneklerin hiçbirisinde BYDV-PAV ve CYDV-RPV virüslerine rastlanmamıştır.

Çapkan, (2015) Ege Bölgesi'nde Afyon, Kütahya, Manisa, Denizli, Uşak, Aydın, Muğla ve İzmir illerinde buğday alanlarında yapraklarda uçtan başlayan klorotik çizgi ve lekeler, sert yapraklar, tırtıklı yaprak kenarları, daha az ve küçük dane oluşumu gözlenmiştir. Bu çalışmada toplanan 214 buğday örneği DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri ile testlenerek BYDV-PAV'ünün varlığı belirlenmiştir. En yüksek BYDV-PAV enfeksiyon oranı İzmir ilinde %17.64 olarak belirlenirken, en düşük oran Manisa ilinde %6.25 olarak belirlenmiştir. Uşak ilinden toplanan 21 buğday örneğinde BYDV-PAV saptanamamıştır. Ege Bölgesi'ndeki illerden toplanan buğday örneklerinde BYDV-PAV 'ünün %9.8 oranında bulunduğu ortaya koyulmuştur. Aydın ve İzmir'den seçilen birer izolatin gen dizilimi yapılarak Türkiye ve Dünya izolatları ile kıyaslanmıştır. Aydın BYDV-PAV izolatının Türkiye izolatları ile %100 (KJ816648.1) ve %99 (KJ816646.1, KJ816649.1, KJ816645.1 ve KJ816643.1) diğer Genbank izolatları ile %96-99 oranında benzerlik gösterdiği ortaya koyulmuştur. İzmir BYDV-PAV izolatının ise Türkiye izolatları (KJ816660.1, KJ816655.1) ile %99 benzerlik gösterdiği diğer Genbank izolatları ile %95-99 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

İlbağı, (2017) Edirne, Tekirdağ ve Kırklareli illerinde sarılık, cücelik ve kızarıklık belirtilerinin görüldüğü arpa, yulaf ve kışlık buğday bitkilerinin yapraklarından toplam 187 adet (10 adet yulaf, 138 adet buğday, 19 adet arpa ve YDVs'nin konukçusu olan kamış bitkisinden 20 adet) örnek toplamıştır. Toplanan bu örnekler DAS-ELISA yöntemi ile testlenerek BYDV-PAV, BYDV-MAV ve CYDV-RPV'lerinin varlığı araştırılmıştır. Virüs ile enfekteli olduğundan şüphe duyulan örneklerde virüsün varlığı RT-PCR analizleri ile doğrulanmıştır. Yapılan testler sonucunda testlenen örneklerin 89 (% 47.59)'unda BYDV-PAV, 30 (% 16.04)'unda CYDV-RPV ve 4 (% 2.14)'ünde ise BYDV-MAV bulunmuştur. Örneklerin %7.48'inin her üç virüs ile karışık enfekteli olduğu belirlenmiştir. En yüksek YDVs enfeksiyonu %36.89 oranı ile Edirne ilinde saptanırken bunu %21.93 ile Kırklareli ve %14.44 oranı ile Tekirdağ izlemiştir.

Aydın, (2017) çeltik (*Oryza sativa* L.) bitkilerinde arpa sarı cücelik virüsünün varlığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ

illeri'ndeki çeltik tarlalarından 120 adet simptomlu çeltik yaprak örneği ve çeltik tarlalarının kenarlarında bulunan ve belirgin virüs belirtileri gösteren yabancı ot türlerinden 6 adet kamış, 10 adet kanyaş, 2 adet darıcan, 1 adet sirken ve 2 adet yabancı hardal yapraklarından da örnekler toplanmıştır. Toplam 141 adet yabancı ot ve çeltik yaprak örneği DAS-ELISA yöntemi ile testlenmiştir. DAS-ELISA testi sonuçlarına göre 2 adet kanyaş, 1 adet darıcan ve 24 adet çeltik bitkisinde cereal yellow dwarf virus-RPV (CYDV-RPV) saptanmıştır. Yine aynı çalışmada 1 adet kamış ve 4 adet çeltik örneğinde barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV) saptanmıştır. Ayrıca 1 adet kamış ve 8 adet çeltik örneğinden ise CYDV-RPV ve BYDV-PAV virüs hastalıklarının karışık enfeksiyonları tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada Trakya Bölgesi çeltik üretim alanlarında %3.54 oranında BYDV-PAV, %17,73 oranında CYDV-RPV ve %6.38 oranında ise karışık (BYDV-PAV+CYDV-RPV) enfeksiyonlar bulunmuştur. Test edilen örneklerin hiçbirinde BYDV-MAV virüsüne rastlanılmamıştır. Bu çalışma sonucunda çeltik tarlalarında CYDV-RPV ve BYDV-PAV ülkemizde ilk kez rapor edilmiştir.

Hassan, (2018) Diyarbakır ilinde buğday alanlarında 2016 yılında yapılan survey çalışmalarında toplanan buğday örneklerinde Arpa sarı cücelik virüslerinin (BYDV-PAV, MAV, SGV, RMV ve CYDV-RPV) RT-PCR ve multiplex RT-PCR yöntemleriyle belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplanan 365 buğday örneğinden 13'ünün BYDV-PAV (%3.5), 9'unun BYDV-SGV (%2.4), 5'inin CYDV-RPV (%1.3) ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ile BYDV-PAV, BYDV-SGV, CYDV-RPV virüsleri Diyarbakır ilindeki buğday alanlarında ilk defa rapor edilmiştir.

Kılıç ve ark. (2019) Afyonkarahisar ve Isparta illerindeki buğday üretim alanlarında Barley yellow dwarf virus- PAV (BYDV-PAV) ve Barley yellow dwarf virus- MAV (BYDV-MAV)'ın tanınması amacıyla yaptıkları çalışmada virüs belirtisi gösteren 94 adet bitki örneği toplanmış ve toplanan örnekler DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Test sonuçlarına göre 94 örneğin 2 tanesinde (%2.1 oranında) BYDV-MAV ve 68 adedinde ise (%72.3 oranında) BYDV-PAV enfeksiyonları belirlenmiştir. Bu çalışmada sadece 4 adet örnekte % 4.2 oranında karışık enfeksiyon tespit edilmiştir.

Karaozan, (2019) Mardin ili ve ilçelerinde 2017 yılında buğday üretim alanlarında arpa sarı cücelik virüslerinden 5 tanesini (BYDV-PAV, BYDV-MAV, BYDV-SGV, BYDV-RMV ve CYDV-RPV) belirlemek amacı ile yapılan bir survey çalışmasında

toplanan 400 örnek multipleks RT-PCR yöntemi (m-RT-PCR) ile testlenmiştir. Testlenen 400 örneğin 10'unda BYDV-PAV (%2.5), 7'sinde BYDV-SGV (%1.75), 2'sinde CYDV-RPV (%0.5) ve 1'inde BYDV-RMV (%0.25) tespit edilmiştir. Pozitif izolatların 7'sinde BYDV-PAV+BYDV-SGV (%1.75) ve 1'inde BYDV-PAV+CYDV-RPV (%0.25) karışık enfeksiyon belirlenmiş olup genel enfeksiyon oranı %3.0 olarak bulunmuştur. Testlenen 400 buğday yaprağı örneğinin hiçbirinde BYDV-MAV tespit edilememiştir. Yürütülen bu çalışmada Mardin ilinde BYDV-PAV, BYDV-SGV, BYDV-RMV ve CYDV-RPV virüsleri ilk defa tespit edilmiştir. Tespit edilen BYDV-PAV izolatlarından bir tanesinin kılıf protein gen bölgesinin cDNA'sı klonlanmış, iki yönlü sekans edilerek Genbankası izolatlarıyla filogenetik ilişkisi belirlenmiştir. BYDV-PAV Mardin izolatının en yüksek genetik benzerliği Almanya izolatı (KY634926) ile %95.52 oranında gösterdiği, endüyük benzerliği ise %89.22 oranı ile Almanya ve Pakistan izolatlarıyla (KY634886 ve JQ811489).göstermiştir.

İlbağı ve ark. (2021) ülkemizde Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerinde tahıl üretimi yapılan alanlardan ve kenarlarından bunun yanında mera alanlarından tek ve çok yıllık yabancı ot örneklerinden 52 farklı türden olmak üzere toplam 808 tane örnek toplanmıştır. Sararma, kızarıklık ve çizgi mozaik simptomları gözlenen ve bunun yanında symptom gözlenmeyen yabancı ot örnekleri de toplanarak serolojik ve moleküler yöntemlerle CYDV-RPV, BYDV-SGV, BYDV-RMV, BYDV-PAV, BYDV-MAV'lerinin varlığı belirlenmeye çalışılmıştır. Testlenen 808 tane yabancı ot örneğinden 535 tanesinin (% 66.21 enfeksiyon) YDVs ile enfekteli olduğu ve örneklerin %23.3'ünün birden fazla virüs ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Testlenen örneklerde en yaygın saptanan virüs %23.8 enfeksiyon oranıyla BYDV-PAV olup bunu sırasıyla BYDV-MAV (%10.4), CYDV-RPV (%6.8), BYDV-SGV (%1.1) ve BYDV-RMV (%0.7) takip etmiştir. Testlenen 52 farklı yabancı ot türünden 40 türün sarı cücelik virüsleri ile enfekteli olduğu ortaya konulmuş ve YDVs ile enfekteli bulunan *Bromus sterilis*, *Lolium rigidum*, *Hordeum murinum*, *Phragmites australis* *Avena fatua*, *A sterilis* türlerinin virüslerin epidemiyolojisinde oldukça önemli oldukları belirlenmiştir.

Kapan, (2022) Şırnak ilinde buğday üretim alanlarında 2020 yılında arpa sarı cücelik virüslerinin (BYDV-PAV, BYDV-MAV, BYDV-SGV, BYDV-RMV ve CYDV-RPV) varlığını belirlemek amacı ile yapılan survey çalışmalarında toplanan 411 buğday örneği multipleks RT-PCR ve RT-PCR yöntemi ile testlenmiştir. Testlenen

örneklerin 55 tanesi pozitif (%13.38) bulunmuştur. Bu örneklerin 40 tanesinde BYDV-PAV (%9.73), 3 tanesinde CYDV-RPV (%0.73) virüsleri tespit edilirken 12'sinde BYDV-PAV+CYDV-RPV (%2.91) karışık enfeksiyonları tespit edilmiştir. Testlenen örneklerin hiçbirisinde BYDV-MAV, BYDV-SGV ve BYDV-RMV saptanamamıştır. Yapılan bu çalışmada, BYDV-PAV ve CYDV-RPV virüsleri Şırnak ilinde ilk defa tespit edilmiştir.

İlbağı ve ark. (2022) ülkemizde buğdaydan elde edilen bir adet BYDV-PAV izolatının (TR19) tüm genomu elde edilmiş ve Genbankasına MW916321 erişim numarası ile kaydedilmiştir. Bu buğday izolatı 5.672 nükleotidden oluşan RNA'nın kodladığı 7 tane bilinen açık okuma bölgesi ve olası bir 8. bölgeden oluşmuş olup Pakistan, Brezilya ve Avustralya izolatları ile yakın ilişkili bulunmuştur.

2.2. Yurt Dışında Yapılan Çalışmalar

Arpa bitkilerinde ilk kez 1950'li yıllarda Arpa sarı cücelik hastalığı fizyolojik bozukluk olarak değerlendirilmiş olup hastalık arpa, yulaf ve ekmeklik buğdaylarda rapor edilmiştir (Oswald ve Houston 1951, 1953a; 1953b) rapor edilmiştir.

Osler ve ark. (1984) İtalya'da tahıl üretim alanlarında görülen BYDV'nin çeltikte bulunduğunu rapor etmişlerdir. BYDV'nün bazen %100'e varan oranda verim kaybına neden olabildiği ve virüsün *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* ve *Metopolophium dirhodum* yaprak biti türleri ile taşındığını bildirmişlerdir.

Wiese, (1987) virüsün buğdayda % 5-25 arasında değişen oranlarda kayıplara yol açtığını bildirmiştir. Yapılan çalışmalarda BYDV enfeksiyonları nedeniyle buğdayda % 46, arpada % 25 ve yulafta % 15 kadar verim kayıpları ortaya çıkabileceğini bildirilmiştir (Kaddachi ve ark., 2014). ABD'nin Idaho Eyaleti'nde BYDV epidemisi sonucunda, sonbaharda ekilmiş buğdaylarda % 70-100 oranında verim kayıpları olduğu belirlenmiştir (Marshall ve Rashed, 2014). Ancak, tarla koşullarında doğal BYDV enfeksiyonunda ortalama verim kayıplarının %11-33 arasında olduğu bildirilmiştir (Kaddachi ve ark., 2014). BYDV'nün tohumla ve mekanik olarak taşınmadığı, yaprak bitleri ile persistent yolla taşındığı belirlenmiştir (Thackraya ve ark., 2009). BYDV'lerinin, 15 farklı cinse ait 25'ten fazla afit türüyle taşındığı rapor edilmiştir (Halbert ve Voegtlin, 1995).

Guy ve ark. (1986) Avustralya'nın Tasmanya adasında farklı alanda yetiştirilen beş farklı çim bitkisinden (*Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, *Lolium perenne*, *Phalaris aquatica* ve *Phleum pratense*) toplam 1048 adet bitki örneği toplamışlar ve bu örneklerde BYDV'lerin varlığını serolojik testlerle belirlemişler ve vektör yaprak biti türleriyle taşınma denemeleri yapmışlardır. Yapılan bu çalışmada testlenen 1048 bitkiden 140 tanesinin PAV ile enfekteli olduğu saptanırken sadece bir bitkinin RPV ile enfekteli olduğu bir bitkinin ise PAV ve RPV ile karışık enfekteli olduğu belirlenmiştir. Testlenen çim bitkilerinden *F. arundinacea* ve *L. perenne* bitkileri vektöre özgü iki BYDV türü ile enfekteli bulunmuş ancak diğer bitki türlerinde virüs saptanamamıştır.

Conti ve ark. (1990) arpa sarı cücelik virüs (BYDV) hastalığının dünyada oldukça yaygın bir virüs olduğunu, birçok tahıl ve çayır bitkilerini enfekte ettiğini ve bitkilerde; sarılık, kızarıklık, yapraklarda kıvrılma, cücelik ve başak ile danelerde azalmaya neden olduğunu, etmenin floemde bulunduğunu ve serolojik bulgulara dayanarak BYDV izolatlarının diğer Luteovirüs'lerle ilişkili olduğunu belirlemişlerdir.

D'Arcy ve ark. (1992) ABD'nin Illinois eyaletinde iki farklı serolojik test yöntemi (TAS-ELISA ve DAS-ELISA) kullanarak toplam 1950 buğday ve yulaf örneğinde BYDV-PVV, -MAV ve -RPV'nin varlığının belirlenmesine çalışılmıştır. Testlenen buğday ve yulaf örneklerinde BYDV-PAV virüsü BYDV-RPV virüsünden daha yüksek oranda saptanmış olup, BYDV-MAV tespit edilememiştir. Ayrıca DAS-ELISA ve TAS-ELISA yöntemlerinin birbiri ile % 99 oranında benzerlik gösterdiği ortaya konulmuştur.

Kendall ve ark. (1996) İngiltere'nin güneybatısında çayır ve meralardan toplanan 14 bitki örneğinde BYDV-RPV, BYDV-PAV ve BYDV-MAV'nin varlığını belirlemek amacıyla örnekler ELISA yöntemiyle testlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BYDV izolatlarının geniş alanda yaygın olduğu, RPV'nin daha çok güney bölgelerde MAV'ın ise daha çok kuzey bölgelerde görüldüğü ve PAV'ın ise yalnızca en güney bölgelerde yaygın olduğu tespit edilmiştir.

Mastari ve ark. (1998) Fransa'da farklı konukçu bitki türlerinin BYDV-PAV serotipinin genetik değişkenliği üzerine geniş bir epidemiyolojik çalışma yapılmıştır. Arpa ve çavdardan izole edilen BYDV-PAV Fransa izolatları, kılıf protein gen dizisine spesifik primerler kullanılarak karakterize edilmiş, sınırlandırılmış nükleik asit parça boyunun poliformizmi (RFLP), tek sarmal belirleme polimorfizm ve dizi analizi

yöntemleri kullanılmıştır. Elde edilen bulgulara göre beş farklı kıtadan alınan BYDV-PAV izolatlarını, coğrafik bölgeye bağlı kalmaksızın cpA ve cpB isimli iki ayrı gruba ayırmışlardır. Kılıf proteini oluşturan amino asit benzerliği cpA grubundaki izolatlarda % 93.0-99.5 oranında ve cpB grubundaki izolatlarda ise % 95.0-99.5 oranlarında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Moon ve ark. (2000) ABD'nin Illinois eyaletinde yapılan surveyler sonucunda buğday ve yulaf tarlalarından 27 adet BYDV-PAV izolatu elde edilmiştir. PCR yöntemi ile 27 izolata ait kılıf protein bölgesi sınırlandırılmış fragment uzunluğunda polimorfizm (RFLP) yöntemi ile analiz edilerek izolatların farklılıkları belirlenmiştir. İki izolatin PCR ürünü, HaeIII enzimi ile kesildikten sonra farklı kesim profilleri gösterilmiş ve diğer izolatlardan ayrıldığı tespit edilmiştir. BYDV-PAV-DK1 ve BYDV-PAV-IL izolatlarının oluşturdukları semptomlarda önemli bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Vektör yaprak biti *Rhopalosiphum padi*'nin üç biyotipinin ikisinin taşınma oranlarında önemli derecede farklılıklar olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Barley yellow dwarf virus (BYDV)'ünün Poaceae familyasına ait birçok bitki türlerinde (Chain et al., 2006), yabancı otlarda, mera ve çim alanlarında saptandığı ve arpa, yulaf, buğday, mısır ve çeltiğin en önemli konukçuları arasında olduğu bildirilmiştir (Koev ve ark., 1998; D'Arcy and Domier, 2000). Etmenin bazı konukçularda gözle görülür belirti oluşturmadığı ancak birçok konukçusunda boğum aralarında kısılma, gelişme geriliği, yapraklarda yeşil rengin kaybolması, dik ve sert yapraklar, tırtıklı yaprak kenarları, çiçeklenme ve kardeşlenmede azalma, daha az ve küçük dane oluşması, şeklinde semptom oluşturduğu gözlenmiştir (D'Arcy ve Domier, 2000). Semptom oluşmasına etki eden faktörler arasında çevre koşulları, virüsün ırkları, konukçu bitkinin yaşı, genotipi ve fizyolojik durumu da rol oynamaktadır (D'Arcy and Domier, 2000).

Perry ve ark. (2000) BYDV ile enfekte olan bitkilerde kök gelişiminin zayıfladığı, sürgün sayısının azaldığı ve bitkilerin şiddetle bodurlaştığı, yapraklarda ise sararma ve kızarma şeklinde renk değişimleri gözlemlendiği rapor edilmiştir. Virüsün buğday bitkilerindeki en tipik belirtisi ise yaprak ucundan tabana ve kenardan merkeze doğru sarı ve bazen kırmızı tonlarındaki renk değişikliğidir. Şiddetli hastalıkta büyüme geriliği, kısırılık ve boş dane oluşumu ortaya çıkabilmektedir.

El-Muadhidi ve ark. (2001) Irak'ın Bağdat, Al-Anbar, Diyala, At-Tamim ve Ninava illerinden, 2000 yılında toplam 7663 baklagil ve 3455 tahıl örneği toplanmış ve örnekler serolojik bir yöntem olan TBIA yöntemiyle 12 tane baklagil ve 5 tane tahıl virüsünün varlığının belirlenmesi amacıyla test edilmiştir. Testlenen tahıl örneklerinin yaklaşık %1'inde BYDV-PAV saptanırken CYDV-RPV ve BYDV-MAV nadiren saptanmıştır. Tahıl alanlarında virüslerin yaklaşık %5 oranında zarar oluşturduğu tespit edilmiştir.

Liu ve ark. (2001) Çin'de yapmış oldukları araştırmada ise BYDV virüslerinin doğal popülasyonlarının spesifik tanımlanmasının yapılması için üç adet digoxigenin ile işaretli cDNA probları geliştirilmiştir. Barley yellow dwarf (BYDV-GAV, GPV ve PAV) virüslerinin kılıf protein ve read-through genlerine tamamlayıcı 3 adet digoxigen'le işaretli cDNA probları sentez edilmiştir. BYDV-GAV, GPV ve PAV proplarının duyarlılık sınırları sırasıyla 25µg, 31.25µg ve 62.5µg doku/leke olduğu belirtilmiştir. 2004–2006 yıllarında Çin'de tarımsal ekolojik alanlardan toplanan 269 buğday örneğinde en çok yaygın olan virüsün BYDV-GAV virüsü olduğu saptanmıştır. BYDV'yi belirlemesinde, moleküler hibridizasyon tekniklerinin yüksek güvenilirliği ve duyarlılığı nedeni ile serolojik metotlara göre çok önemli bir alternatif metot olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir.

Polonya'da, BYDV ilk kez yulaf bitkisinde saptanmış olup (Hoppe ve ark., 1983), kışlık buğday ve arpa bitkilerde ilk kez 2001-2002 yetiştirme sezonunda saptanmıştır (Jezewska, 2003).

Rastgou ve ark. (2005) İran'da BYDV-PAV ve CYDV-RPV virüslerine ait izolatların kısmi dizileri ortaya koyulmuş ve Luteoviridae familyasındaki diğer izolatlar ile ilişkileri belirlemiştir. Buğdaydan (PAV-IR) BYDV-PAV'in bir izolatını ve arpadan (RPV-IR) CYDV-RPV'nin bir izolatını karakterize etmişlerdir. Bu amaçla, her izolatın genom segmenti PCR ile çoğaltılmıştır. PAV-IR virüsünün 1264 bp'lik fragmenti kılıf protein, read through protein ve hareket proteinlerinin kısmi genlerini içermektedir. PAV-IR virüsünün İran izolatları USA, Fransa ve Japonya'daki PAV izolatları ile % 96-97 oranında yüksek nükleotid dizilim benzerliği gösterdiği saptanmıştır. Filogenetik analiz, arpa ve yulaflardan PAV izolatları ile birlikte PAV grup 1 içersine yerleştirilmiştir. PAV-IR virüsünün 719 bp'lik fragmenti ise CP, RTP ve MP için kısmi genleri içermektedir. Yapılan dizi analizi sonuçlarına göre virüsün dizi bilgileri, CYDV

virüsü ile yakınlık gösterdiği, RPV ve Cereal yellow dwarf virus-RPS (CYDV-RPS) virüslerinin her ikisine % 90-91 oranında benzerlik gösterdiği alınan bulgular arasındadır.

Nagy ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada buğday ve yaprak bitlerinden Barley yellow dwarf virus (BYDV)'nin kılıf protein geninin moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda BYDV'nin beş serotipi (PAV, RMV, RPV, MAV ve SGV) olduğunu rapor etmişlerdir. Mısır bitkisinde BYDV-PAV serotipinin daha yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada öncelikle enfekteli buğday bitkileri ve yaprak bitlerinden total RNA elde edilmiştir. Buğdayda BYDV-PAV ve BYDV-RMV virüslerine ait kılıf protein genini çoğaltmak için spesifik primerler dizayn edilerek RT-PCR tekniği kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri, DNA dizi analizine 39 gönderilerek gen bankasındaki ilgili dizilerle karşılaştırılmış ve % 93 gibi yüksek oranda benzerlik gösterdiğini ortaya çıkartmışlardır. Her iki serotip için de yaprak bitlerindeki virüs konsantrasyon oranının, buğdayın virüs konsantrasyon oranından daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, virüs enfeksiyonlarının belirlenmesinde Real time PCR testinin hassasiyetinin klasik PCR'a göre 5 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Áy ve ark. (2008) tarafından 2006-2007 yılları arasında yapılan bir çalışmada, 12 adet kışlık buğday çeşidi iki farklı tarihte (11 Ekim ve 3 Kasım 2006) ekilmiştir. Buğday bitkilerindeki virüslerin teşhis edilmesinde RT-PCR ve ELISA yöntemleri kullanılmıştır. Test sonucunda, yaprak biti ile taşınan BYDV-PAV sıklıkla bulunurken, diğer virüslerin bulunmadığı bildirilmiştir. ELISA ile test edilen buğday bitkilerinin %46'sı BYDV-PAV ile enfekteli bulunurken RT-PCR yöntemiyle testlenen buğday örneklerini %58'inin pozitif olduğu belirlenmiştir.

BYDV'nin persistent (sirkülatif) taşındığı, virüsün vektör bünyesinde 2-3 hafta kalabildiği ve sonraki nesile aktarılmadığı belirlenmiştir. Vektörün virüsü alma ve iletme süresi 1-2 dakika olup (Watson ve Mulligan, 1960), yaprak biti türü, virüs izolatu, sıcaklık, test bitkisi türü, bitki kaynağının yaşı gibi faktörler, virüsün taşınmasında oldukça önemlidir (Rochow, 1969b). Hastalığın hızla yayılması, vektör aktivitesine ve yoğunluğa bağlı olduğu belirlenmiştir (Makkouk ve ark., 2009).

Delmiglio ve ark. (2010) Yeni Zelanda'nın 29o-6o güney enlemler arasındaki bölgede gerçekleştirdikleri çalışmada, 15 doğal ve 3 egzotik çim türünden topladıkları

bitkileri ELISA yöntemi ile testleyerek sarı cücelik virüsleri ve cocksfoot mottle virus (CoMV)'nin varlığını araştırmışlardır. CoMV'nin doğal konukçuları olarak *Dactylis* ve *Triticum* türleri ile *Poa anceps*, *Poa cita*, *Festuca novae-zelandiae* ve *Chinochloa rubra* yabancı ot türleri tespit edilmiştir. BYDV-PAV'ın yeni konukçuları olarak *Microlaena stipoides* ve *Dichelachne crinita*, BYDV-MAV'ın konukçularının *Poa cita*, *Festuca novae-zelandiae*, *Hierochloe redolens* olduğu CYDV-RPV'nin konukçularının ise *Poa cita* ve *Microlaena stipoides* olduğu bildirilmiştir.

Siddiqui ve ark. (2012) Pakistan'ın farklı bölgelerinden izole edilen BYDV'nin kılıf protein geninin klonlama ve filogenetik analizi üzerine yaptıkları çalışmada, farklı buğday üretim alanlarında sarı cücelik virüsü belirtisi gösteren buğday örneklerinde BYDV-PAV, BYDV-SGV, BYDV-MAV, CYDV-RPV, BYDV-GPV ve BYDV-RPV'nin varlığının belirlenmesi amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Testlenen 37 örneğin 13 tanesinin BYDV virüslerinden en az birisi ile enfekteli olduğu ve onların da 10 tanesinin BYDV-PAV, 3 tanesinin ise BYDV-MAV ile enfekte olduğunu saptamışlardır. Virüslerin dizi analizlerine göre 3 izolatın (Nowshera, Fatehjang ve Attock) BYDV-PAS ile maksimum benzerlik oranı %92.8-94.6 olarak bulunurken 6 izolatın (Peshawar, Faisalabad ve Islamabad Swabi) BYDV-PAV ile %99.3- 99.7 oranında benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, Pakistan'ın kuzeyinde buğday yetiştirilen alanlarda BYDV-PAV türlerinin daha yoğun olduğunu tespit etmişlerdir.

Parizoto ve ark. (2013) Brezilya'da BYDV-PAV'nin mevsimsel yayılımı ve biyolojik özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada, BYDV-MAV, CYDV-RPV ve BYDV-PAV'ın mevsimsel yayılımlarının kış aylarında buğday ve yulaf, yaz aylarında ise mısır üretim alanlarında tespit edildiğini rapor etmişlerdir. Virüs yoğunluğunun bitkilerde ve yaprak bitlerinde benzer oranlarda olduğunu, kış üretim sezonunda ise bu oranın zirveye ulaştığı bildirilmiştir.

Nancarrow ve ark. (2014) BYDV'nin normal sıcaklığa göre yüksek sıcaklıkta yetiştirilen buğdaylarda daha yoğun olduğunu ve semptomların daha erken görüldüğünü saptamışlardır.

Fidan ve ark. (2014) KKTC'de bodurluk, sararma, mozaik ve yaprak deformasyonu semptomu gözlenen 256 tane buğday, arpa ve tritikale bitkisinde BYDV-PAV ve BYDV-MAV ve CYDV-RPV'lerinin varlığının belirlenmesi amacıyla tüm bitkiler DAS-ELISA yöntemiyle testlenmiştir. Survey yapılan alanlardan toplanan R.

padi ve *S. avenae* bireylerinin bünyelerinde BYDV-PAV ve BYDV-MAV'lerinin varlığı ise RT-PCR analizleriyle belirlenmiştir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada Hatay ilinde buğday üretimi yapılan alanlar gezilerek toplanan bitki ve yaprak biti örnekleri çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Hatay ilinde en yaygın yetiştirilen Adana 99, Akça, Beyazhan, Ceyhan 99, Cumhuriyet 75, Masaccio, Ovidio, Tekfen 1016, Toros 1003 ve Troubadour buğday çeşitlerinden örnek alınmıştır. Toplanan buğday örnekleri steril polietilen torbalara konarak numaralandırılmış ve testleri yapılana kadar -20°C’ de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Yaprak biti örnekleri ise buğday yaprakları ile beraber steril polietilen torbalarla laboratuvara getirilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Örnekleri ve Yaprak Bitlerinin Toplanması

Hatay ilinde buğday üretimi yapılan alanlarda arpa sarı cücelik hastalığının belirtilerinden olan gelişme geriliği ve sarı-kırmızı renk değişikliği belirtilerini gösteren buğday bitkilerinin Antakya bölgesinden 106 ve Reyhanlı bölgesinden 18 adet yaprak örnekleri alınmıştır. Belirti göstermeyen bitkilerde de latent virüs enfeksiyonları olabileceği dikkate alınarak bunlardan da örnek alınmıştır. Buğday alanlarında ayrıca virüs vektörü olma olasılığı olan yaprak bitleri de buğday yaprakları ile beraber naylon torbalara alınarak laboratuvara getirilmiştir.

3.2.2. DAS-ELISA Testleri

Toplanan 124 adet buğday örneklerine BYDV-PAV, BYDV-MAV ve CYDV-RPV için Bioreba firmasından temin edilen DAS-ELISA (Bioreba, İsviçre) kiti kullanılarak aşağıda belirtilen aşamalar izlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).

- ELISA plakalarının her bir çukuruna kaplama tamponundan 1:1000 oranında seyreltilmiş olan IgG’den 100 µl eklenerek 37°C’de 3 saat inkube edilmiştir.

- ELISA plakaları yıkama tamponu ile yıkanarak 3 dakika beklenmiş ve bu işlem 3 kez tekrar edilmiştir.

- Ekstraksiyon tamponu ile hazırlanan bitki örnekleri, pozitif ve negatif kontroller her bir çukura 100 µl olacak şekilde eklenmiş ve ELISA plakaları 4°C’de bir gece inkübe edilmiştir.

- ELISA plakaları ikinci aşamada açıklandığı şekilde yıkanmıştır.

- Konjuge edilmiş IgG, konjugat tamponu içerisinde 1:1000 oranında seyreltilip her bir çukura 100 µl eklenmiş ve 37°C’de 3 saat inkübe edilmiştir.

- ELISA plakaları ikinci aşamada açıklandığı şekilde yıkanmıştır.

- Substrat çözeltisine 1 mg/ml olacak şekilde paranitrofenilfosfat eklenmiş ve plakadaki her bir çukura 100 µl konularak oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.

Substrat eklendikten sonra 30, 60 ve 120 dk sonra plakalar ELISA okuyucusunda (Seac Sirio S) 405 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunarak değerlendirilmiştir. Testlenen örneklerin absorbans değerlerine bakılarak sağlıklı örneklerin (negatif kontrollerin) en az iki katı ya da daha fazla değerlere sahip olanlar enfekteli olarak kabul edilmiştir (Clark, 1981).

3.2.2.1. Virülfifer Yaprak Bitlerinin Belirlenmesi

Hatay ili buğday alanlarından toplanan yaprak bitleri %70’lik etil alkol içine alınmıştır. Toplanan yaprak bitleri morfolojik olarak Kocaeli Üniversitesi öğretim üyesi Doç. Dr. Işıl Özdemir tarafından teşhis edilmiştir. Mikroskop altında yaprak bitleri seçilerek tek tek membranlara bastırılmıştır. Membranlara alınan yaprak bitlerinden %0.5’lik Triton X-100 kullanılarak total nükleik asit (TNA) izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TNA’lar RT-PCR analizlerinde kullanılmıştır.

3.2.3. Moleküler Çalışmalar

3.2.3.1. Nükleik Asit Ekstraksiyonu

Araziden toplanan bitki, örneklerinden nükleik asit ekstraksiyonu NORGEN bitki/fungus RNA izolasyon mini kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

- NORGEN bitki/fungus RNA izolasyon mini kitinin içerisinde bulunan Wash solution A'ya %96-100 etanolden 90 ml eklenmiştir. Ayrıca 1 ml Lyzis buffer C için 10 µl BME (β-mercaptoethanol) eklenerek solusyonlar hazırlanmıştır.

- Her bir bitkiden 50 mg doku ezilerek 2 ml'lik ependorf tüplere alınarak üzerlerine 600 µl Lyzis buffer C eklenmiş ve kuvvetlice vortex yapılmıştır. Tüpler 55°C'de 5 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca tüpler 2-3 kez ters düz edilmiştir.

- Koleksiyon tüpüne filter column (şeffaf O- ring) yerleştirilmiş ve sıvı kısmın tamamı pipetle kolona boşaltılarak 14.000 rpm'de 2 dk süreyle santrifüj edildikten sonra ve sıvı kısım yeni bir tüpe alınmıştır.

- Yeni tüpe alınan sıvı kısım üzerine eşit hacimde %96-100 ethanol eklenerek tüpler vortexlenmiştir. Koleksiyon tüpüne spin coloum (grey O-ring) yerleştirilmiş ve ethanol-lizat karışımından 600 µl alınarak kolona aktarılmıştır. Tüpler 6.000 rpm'de 1 dk süreyle santrifüj edilmiş ve sıvı kısım atılmıştır.

- Spin kolon yeniden koleksiyon tüpüne yerleştirilmiştir. Lizat hacmine bağlı olarak bir önceki adım tekrar edilmiştir. Bu aşamada eğer gerekli görülürse DNase uygulaması yapılmıştır.

- Yeniden aynı koleksiyon tüpüne yerleştirilen spin kolonun üzerine 400 µl wash solüsyon A eklenip, 14.000 rpm'de 1 dk. süreyle santrifüj edilmiştir.

- Koleksiyon tüpü içerisindeki sıvı kısım atılmış ve bu işlem tekrar edilmiştir. 3 kez 400 µl Wash solution A eklenip, 14.000 rpm' de 1 dk santrifüj edilerek sıvı kısım atılmıştır.

- Spin kolon yeniden koleksiyon tüpüne yerleştirilip, kolonu kurutmak için 14.000 rpm'de 2 dk. santrifüj edildikten sonra koleksiyon tüp atılmıştır.

- Spin kolon 1.7 ml'lik elution tüpün içine yerleştirilerek üzerine 50 µl elution solüsyon A eklenmiştir. Tüpler 2 dk süreyle 2.000 rpm'de santrifüj edilmesinin ardından 14.000 rpm'de 1 dk daha santrifüj edilmiştir. Eğer sıvı geçmezse tekrar santrifüj yapılmıştır.

Ekstrakte edilen RNA -20°C'de birkaç gün veya -80°C'de daha uzun süre saklanmış ve bu RNA'lar RT-PCR analizlerinde kullanılmıştır. İzole edilen RNA'ların kalite ve miktarları NanoDrop spektrofotometre aracılığı ile ölçülmüş ve kalıp olarak kullanılarak komplementer DNA (cDNA) sentezlenmiştir.

3.2.3.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Buğday ve yaprak bitlerinden ekstrakte edilen RNA'lardan cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla her bir PCR tüpüne 1 µl Random hexamer primer, 6,5 µl d₂H₂O ve 5 µl RNA karıştırılarak konulmuştur. Tüpler PCR cihazında 94 °C'de 5 dakika ve ardından buz üzerinde 5 dakika bekletildikten sonra her bir tüp içine 5xRT tamponundan (Thermo Fisher Scientific) 4 µl, d₂H₂O 2 µl, dNTP (10 mM) 0,5 µl ve RT enziminden 1 µl eklenmiştir. Tüpler PCR cihazında 42 °C'de 1 saat 72 °C'de 10 dakika tutularak cDNA aşaması tamamlanmıştır. Elde edilen cDNA'lardan PCR yapılmıştır.

BYDV-PAV ve BYDV- MAV virüsü için hazırlanan PCR karışımı; 16,8 µl d₂H₂O, 2,5 µl 10XB, 2µl dNTP (2,5 mM), 1,5 µl MgCl₂ (25 mM), 0.5 µl primer çifti (her biri 10 pmol/µl), 0,2 µl Taq-DNA polymerase olacak şekilde hazırlanmıştır. CYDV-RPV için Grisp High-Fidelity PCR Master Mix kullanılarak PCR yapılmıştır. PCR karışımı firma önerisine göre hazırlanmış olup, 12.5 µl Grisp High-Fidelity PCR Master Mix, 1 µl primer çifti (her biri 10 pmol/µl), 8,5 µl d₂H₂O ve 2 µl cDNA kullanarak yapılmıştır (Çizelge 1). PCR ürünleri TAE buffer içeren %1.5luk agaroz jel elektroforezinden sonra EtBr ile boyandıktan sonra jel UV ışıktaki görüntülenmiş ve bantların büyüklüğüne göre sonuçlar değerlendirilmiştir. Pozitif kontrollerin seviyesinde bant oluşturan örnekler pozitif, bant oluşturmayanlar ise negatif kabul edilmiş ve jel görüntüleme cihazında fotoğraflanmıştır. Pozitif olarak kabul edilen örnekler çoğaltılarak sekans analizine gönderilmiştir.

Çizelge 3.1. Virüslerin teşhisinde kullanılan primerler ve ürün büyüklüğü

Virüs	Primer Adı	Primer dizilimi 5'-3'	Ürün büyüklüğü (bp)	Annealing sıcaklığı (°C)	Referans
BYDV-PAV	PAV-F2 PAV-R2	CCAGTGGTTTGTGGTC GTCTACCTATTTGG	531	42	Robertson ve ark., 1991
BYDV-MAV	MAVL1 MAVR1	CAACGCTTACGCAGATGAA AGGACTCTGCAGCACCATTCT	175	55	Deb ve Anderson, 2007
CYDV-RPV	RPV-F RPV-R SGV R	ATGTTGTACCGCTTGATCCAC GCGAACCATTGCCATTG CTGGACGTCGACCATTCTT	400	53	Deb ve Anderson, 2007

3.2.3.3. RT-PCR Analizleri

BYDV-PAV ve BYDV-MAV virüsü için hazırlanan PCR karışımı; 16,8 µl d₂H₂O, 2,5 µl 10XB, 2 µl dNTP (2,5 mM), 1,5 µl MgCl₂ (25 mM), 0,5 µl primer çifti (her biri 10 pmol/µl), 0,2 µl Taq-DNA polymerase olacak şekilde hazırlanmıştır. CYDV-RPV için ise RT-PCR analiz çalışmalarında Grisp High-Fidelity PCR Master Mix kullanılmıştır. PCR karışımı firma önerisine göre hazırlanmış olup, 12,5 µl Grisp High-Fidelity PCR Master Mix, 1 µl primer çifti (her biri 10 pmol/µl) , 8,5 µl d₂H₂O ve 2 µl cDNA kullanarak yapılmıştır. (Çizelge 2).

Çizelge 3.2. Sarı cücelik virüslerinin RT-PCR yöntemiyle tespit edilmesinde kullanılan primer dizileri ve beklenen fragment uzunlukları ile PCR koşulları

Virüs Adı	Primer adı ve dizilimi (5'-3')	Uygulanan sıcaklık aralıkları			Baz büyüklüğü (bp) ve Referans
BYDV-PAV	CCAGTGGTTRTGGTC (forward) Lu1	<u>1 döngü</u>	<u>40 döngü</u>	<u>1 döngü</u>	531 bp Robertson ve ark. 1991
	GTCTACCTATTTGG (reverse) Lu4	94 °C 2 dk	94 °C 1 dk 43 °C 1 dk 72 °C 1 dk	72 °C 10 dk	
BYDV-MAV	CAACGCTTACGCAGATGAA (forward) MAVL1	<u>1 döngü</u>	<u>40 döngü</u>	<u>1 döngü</u>	175 bp Deb ve Anderson, 2007
	AGGACTCTGCAGCACCATTCT (reverse) MAVR1	94 °C 5 dk	94 °C 1 dk 55 °C 1 dk 72 °C 1 dk	72 °C 10 dk	
CYDV-RPV	ATGTTGTACCGCTTGATCCAC (forward) RPV L	<u>1 döngü</u>	<u>40 döngü</u>	<u>1 döngü</u>	400 bp Deb ve Anderson, 2007
	GCGAACCATTGCCATTG (reverse) RPV R	94 °C 2 dk	94 °C 30 sn 60 °C 45 sn 72 °C 1 dk	72 °C 10 dk	

3.2.3.4. Dizi Analizleri

RT-PCR çalışmaları tamamlanan ve elektroforez sonrası beklenen büyüklükte fragmentler gözlenen her bir virüs izolatına ait PCR ürünleri baz dizileri tayin edilmek üzere baz dizisi tayin eden firmaya (Medsantek, İstanbul) gönderilmiş ve sonuçlar online olarak alınmıştır. Kaba baz dizisi kromotogramları birleştirilmiş ve GAP4 programı kullanılarak düzenlenmiştir (Bonfield ve ark., 1995). Çoklu baz dizisi karşılaştırmaları Bioedit bilgisayar yazılımının (Hall, 1999) ClustalW 2.0.11 seçeneğiyle yapılmıştır.

Filogenetik analizler MEGA X programı (Kumar ve ark., 2018) kullanılarak Neighbour-Joining metodu (Saitou ve Nei, 1987) ile yapılmıştır.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Arazi Çalışmaları

Hatay ili buğday üretim alanlarında barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV), barley yellow dwarf virus-MAV (BYDV-MAV), cereal yellow dwarf virus-RPV (CYDV-RPV)'lerinin varlığı ve bulunma oranlarını belirlemek amacı ile 2021-2022 yılları arasında yürütülen survey çalışmalarında, tarlayı temsil edecek biçimde simptom gösteren ve göstermeyen bitkilerden toplam 124 tane buğday örneği toplanmıştır. Survey çalışmaları esnasında tarlalarda nadir de olsa bayrak yaprakların kırmızılaşması ve yapraklarda klorotik çizgili desenler gibi viral enfeksiyon belirtileri gözlemlenmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4). Hatay ili buğday alanlarından toplanan yaprak bitleri *Rhopalosiphum padi* L. olarak teşhis edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.1. Survey çalışmalarının yürütüldüğü buğday tarlalarının genel görünümü



Şekil 4.2. Bazı buğday tarlalarında görülen bayrak yaprağının uçlarında kızarma belirtileri



Şekil 4.3. Bazı buğday tarlalarında görülen bayrak yaprağının uçlarında kızarma belirtilerinin yakın görüntüsü



Şekil 4.4. Bazı buğday bitkilerinin bayrak yaprağında gözlenen damarlara paralel sarı çizgi belirtileri ve yaprak ucunda kızarma belirtileri



Şekil 4.5. Buğday yaprağında beslenen yaprak bitleri

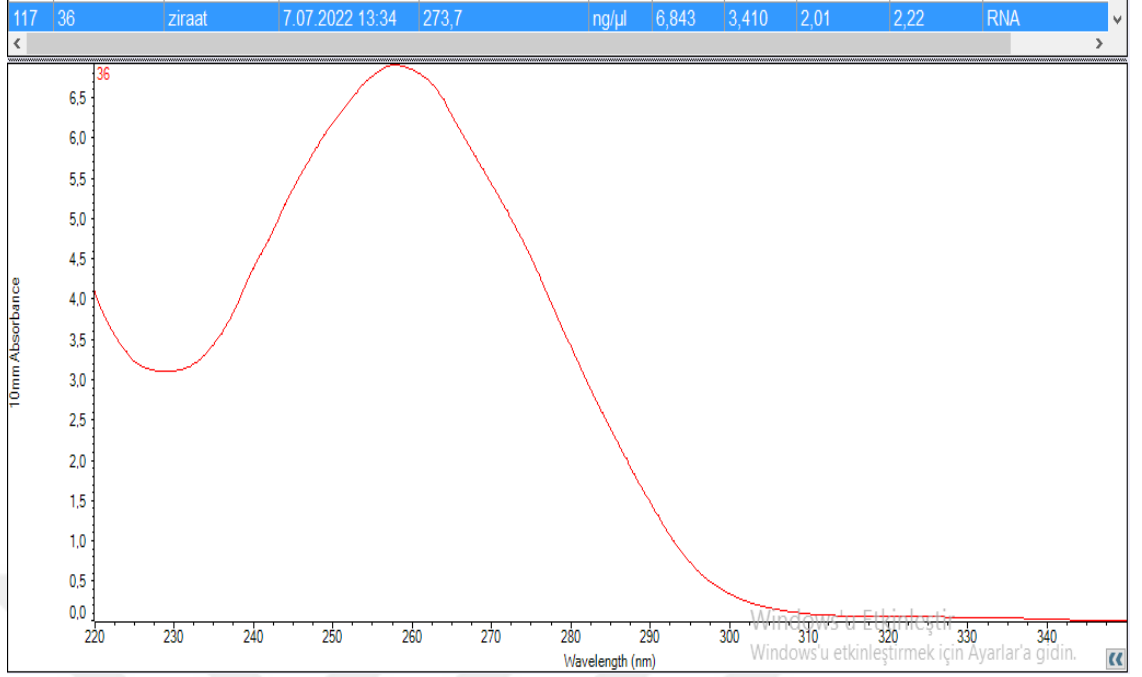
4.2. DAS-ELISA Testlerinin Sonuçları

Hatay ilinde buğday bitkilerindeki virüslerin saptanması amacıyla yapılan surveyler kapsamında toplanan örnekler antiserumların temin edildiği firmanın prosedürüne göre DAS-ELISA testlerine tabi tutulmuştur. Yapılan DAS-ELISA testlemeleri sonucunda toplanan 124 adet buğday örneğinden Masaccio çeşidine ait sadece 1 tanesinde BYDV–PAV virüsü saptanmış olup, testlenen örneklerde BYDV–MAV ve cereal yellow dwarf virus CYDV-RPV tespit edilememiştir. Hatay ilinde testlenen buğday örneklerinin BYDV–PAV ile enfeksiyon oranı %0.80 olarak saptanmıştır. Toplanan örnekler arasından BYDV–PAV pozitif bulunan buğday örneğinin yaprağında damarlara paralel sarı çizgi belirtileri ve yaprak ucunda kızarma belirtileri gözlenmiştir. ELISA testinde beklendiği gibi pozitif kontrol olarak kullanılan örneğin absorbans değeri oldukça yüksek bulunurken negatif kontrollerde düşük absorbans değerleri elde edilmiştir.

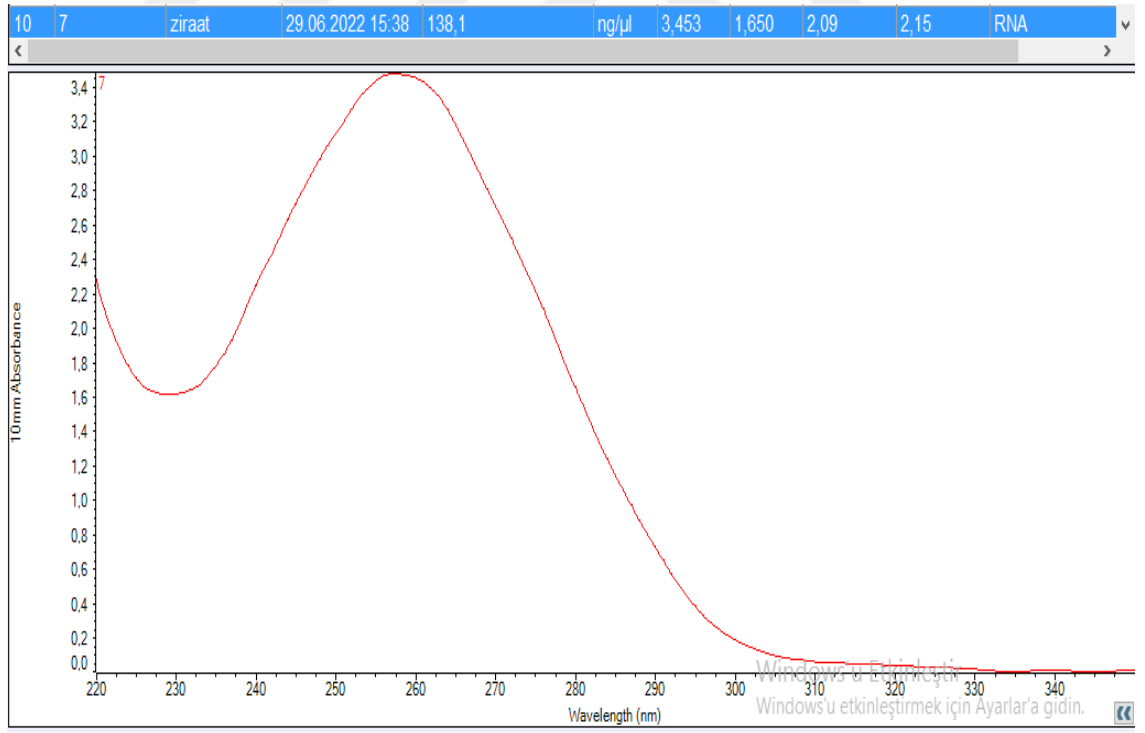
4.3. Moleküler Çalışmalar

4.3.1.1. Buğday Örneklerinden Toplam RNA İzolasyonu

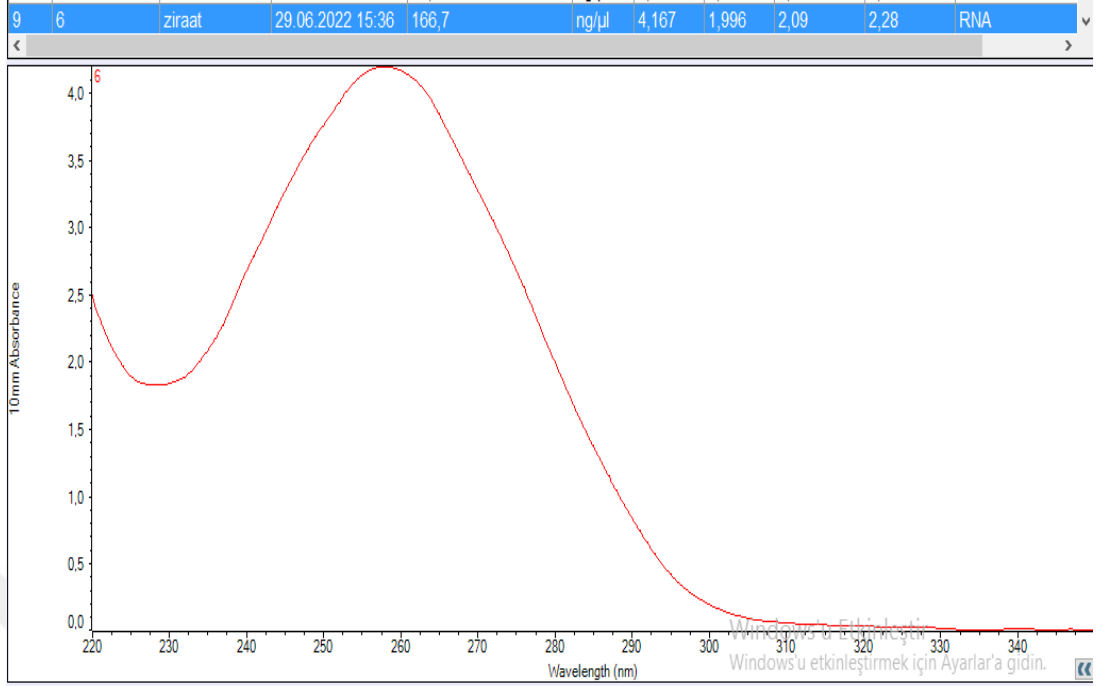
Buğday örneklerinden yapılan RNA kalitesini belirlemek amacıyla nanodrop spektrofotometre ölçümleri yapılmış ve RNA'ların yeterli kalitede ve miktarda olduğu saptanmıştır. Testlemelerde kullanılan bu örneklerin bazılarının nanodrop değerleri Şekil 4.6, 4.7 ve 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.6. Norgen kit kullanılarak 36 numaralı buğday örneğinden izole edilen RNA'nın spektrofotometre ölçümü (Nanodrop 2000c, Thermo Sci, ABD)



Şekil 4.7. Norgen kit kullanılarak 7 numaralı buğday örneğinden izole edilen RNA'nın spektrofotometre ölçümü (Nanodrop 2000c, Thermo Sci, ABD)

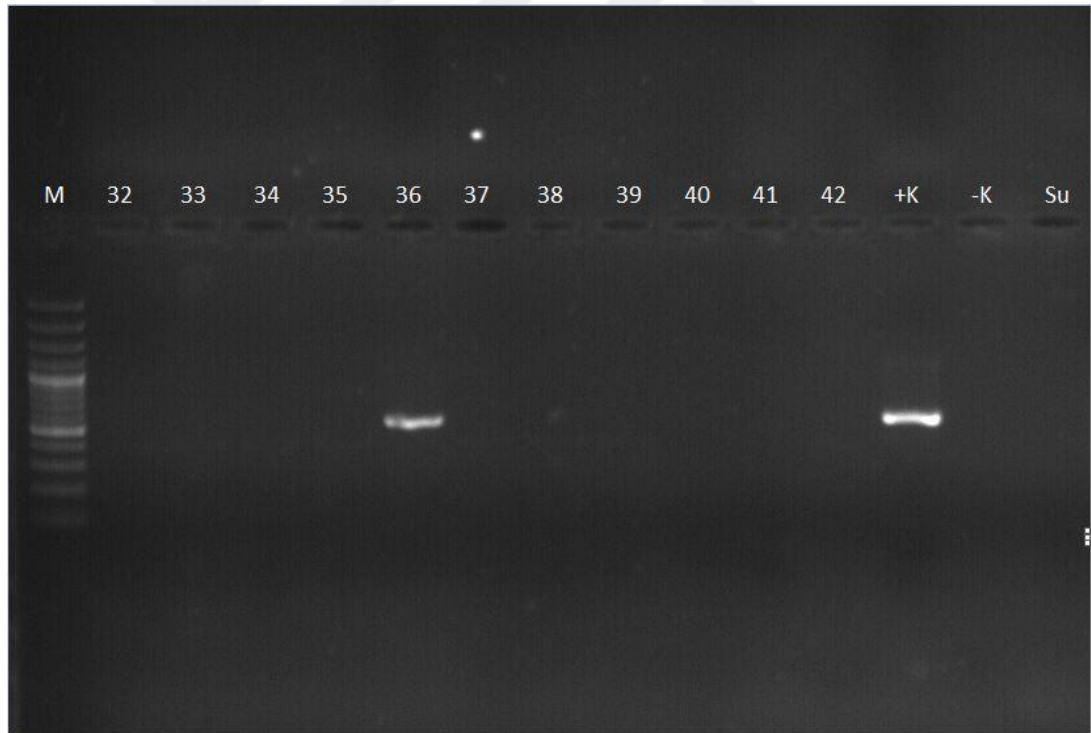


Şekil 4.8. Norgen kit kullanılarak 6 numaralı buğday örneğinden izole edilen RNA'nın spektrofotometre ölçümü (Nanodrop 2000c, Thermo Sci, ABD)

4.3.2. Reverse Transkripsiyon (RT; Reverse Transcription) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Analizleri Sonuçları

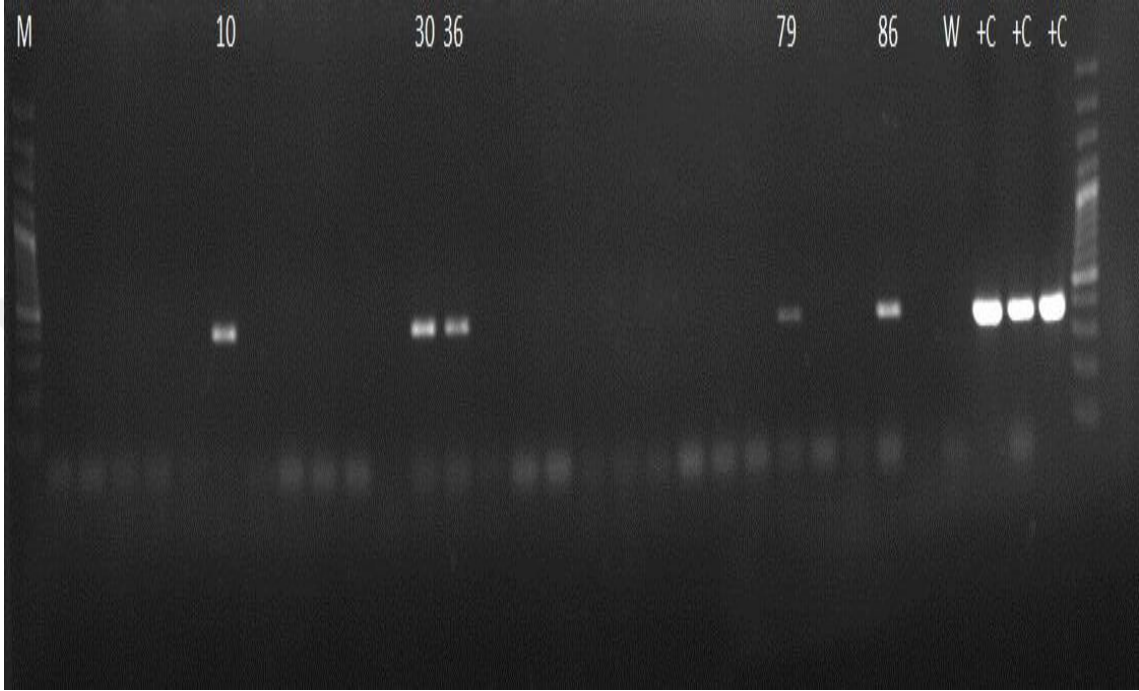
Bu çalışma kapsamında Hatay ili buğday alanlarından toplanan örneklerden izole edilen RNA'lar BYDV-PAV, BYDV-MAV ve CYDV-RPV'nin tanısı için geliştirilen primer çiftleri kullanılarak uygun PCR koşullarında RT-PCR yöntemiyle testlenmiştir. RT-PCR analizlerinde testlenen örneklerinin hiçbirinde BYDV-MAV ve CYDV-RPV saptanamamış olup BYDV-MAV ve CYDV-RPV'lerinin pozitif kontrolleri sırası ile 175 bp ve 400 bp büyüklüğünde DNA bandı oluştururken su kontrolde herhangi bir bant elde edilmemiştir. BYDV-PAV'ünün örtü proteini (CP) bölgesinin bir kısmını çoğaltan PAV-F2/PAV-R2 primerleriyle yapılan RT-PCR analizlerinde Hatay'dan toplanan 124 buğday bitkisinden sadece bir tanesinde beklenen uzunlukta (531 bp) ve pozitif kontrolle aynı seviyede DNA fragmenti elde edilmiştir (Şekil 4.9). Hatay ilinden toplanan buğday bitkilerinde BYDV-PAV bulunma oranı %0.80 olarak belirlenmiştir. Ülkemizde farklı buğday üretim alanlarında bu 3 türün yaygınlığını belirleme çalışmalarında bu türlerin farklı oranlarda bulunduğu belirlenmiştir. Trakya Bölgesi'nden toplanan 187 adet tahıl örneğinin %47.59'unun BYDV-PAV, %16.04'ünün CYDV-RPV ve %2.14'ünün BYDV-MAV tespit edilmiştir (İlbağı,

2017). Diyarbakır ili buğday alanlarından toplanan örnekler BYDV-PAV, MAV, SGV, RMV ve CYDV-RPV'e karşı multipleks RT-PCR ve RT-PCR yöntemleriyle testlenmiş ve testlenen 365 buğday örneğinden 13 tanesi BYDV-PAV (%3.5), 9 tanesi BYDV-SGV (%2.4), 5 tanesi CYDV-RPV (%1.3) ile enfekteli bulunmuştur (Hassan, 2018). Tekirdağ ili'nde kışlık ekmeklik buğday bitkilerinden toplanan 336 örnek DAS-ELISA yöntemiyle testlenmiş ve örneklerin %80,17 oranında BYDV-PAV, %4,83 oranında Wheat dwarf virus (WDV) ve %6,61 oranında CYDV-RPV ile enfekteli olduğu ancak örneklerin BYDV-MAV'dan ari olduğu belirlenmiştir (Hamamcı, 2012). Doğu Anadolu Bölgesinde 9 farklı ilden toplanan 900 adet buğday örneğinin 50 tanesinde BYDV-PAV (%5.5), 44 tanesinde BYDV-SGV (%4.8), 4 tanesinde CYDV-RPV (%0.4) ve 8 tanesinde ise WSMV(%0.8) virüsleri tespit edilmiştir (Usta, 2013). Bu çalışmalardan da görüleceği gibi farklı illerde yürütülen survey çalışmalarında bu virüs türlerinin buğday bitkilerinde farklı oranda bulunduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.9. Hatay ilinden toplanan buğday örneklerinin BYDV-PAV'a spesifik primerler kullanılarak yapılan RT-PCR analizinin agaroz jel görüntüsü. M: Marker (SMO#321 MBI, Thermo Sci, ABD), 32-42: Buğday örnekleri, +K: Pozitif kontrol, -K: Negatif kontrol Su: Su kontrol

Buğday tarlalarından toplanan toplam 96 tane *Rhopalosiphum padi* L. bireyi tek tek RT-PCR analizi ile testlenmiştir. Testlenen bireylerin hiçbirinde BYDV-PAV ve BYDV-MAV saptanamamış ancak 8 tane *R. padi* bireyinde CYDV-RPV saptanmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Hatay ilinden toplanan yaprak bitlerinin örneklerinin CYDV-RPV'e spesifik primerler kullanılarak yapılan RT-PCR analizinin agaroz jel görüntüsü. M: Marker (SMO#321 MBI, Thermo Sci, ABD), 10, 30, 36, 79 ve 86: Yaprak bitleri, +C: Pozitif kontrol, -C: Negatif kontrol, W: Su kontrol

4.3.3. DNA Dizileme, Blast ve Filogenetik Analiz Sonuçları

RT-PCR analizleri sonucunda BYDV-PAV pozitif olduğu saptanan 1 tane buğday örneği sekans analizine gönderilmiştir. Sekans analizleri sonuçlarına göre BYDV-PAV açısından anlamlı DNA dizisi elde edilmiş ve bu izolatın sekansının BLAST analizi sonucu Şekil 4.11'de gösterilmektedir. Yapılan analizlerde 531 baz uzunluğunda nükleotid dizisi kullanılmıştır. BYDV-PAV izolatımız gen bankasında kayıtlı izolatlarla nükleotid seviyesinde %99.20 oranıyla KJ816662 Acc numaralı *Vulpia ciliata* (kirpikli çim, Türkiye) Genbank izolatı ile en yüksek benzerlik gösterdiği, %91.70 oranıyla JX402456 izolatı (arpa, Tunus) ile en düşük benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Genbankasına kaydedilmiş gerek buğday gerekse diğer bitkilerden elde edilen BYDV-

PAV Türkiye izolatlarının BYDV-PAV buğday izolatımız arasındaki benzerlik incelenmiştir. BYDV-PAV izolatımız %99.20 oranıyla KJ816662 Acc numaralı *Vulpia ciliata* (kirpikli çim, Türkiye) izolatu ile en yüksek, %90.52 oranıyla KF176939 Acc numaralı *Geranium dissectum* (dilimli ıtır, Türkiye) izolatu ile en düşük nükleotid benzerliği göstermiştir. BYDV-PAV izolatımız ile Genbankasına kaydedilen diğer BYDV-PAV izolatlarına ait NJ (Neighbor Joining) dendogramı incelendiğinde yine benzer sonuçlar bulunmuştur (Şekil 4.12).

Query Length 531

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) ?

[Filter](#) [Reset](#)

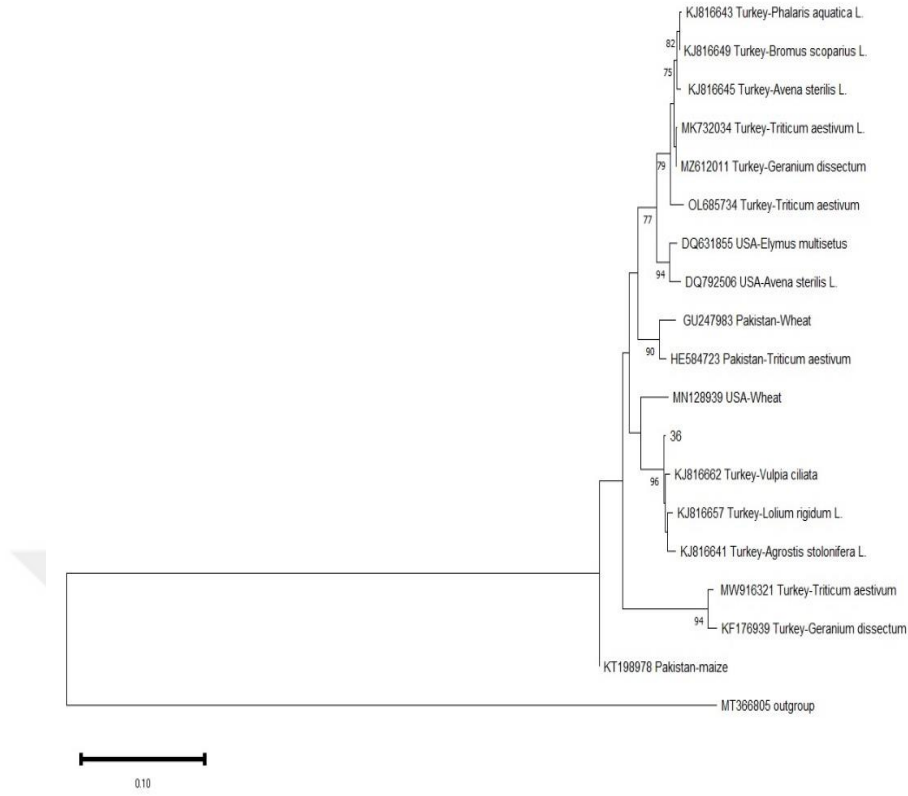
Descriptions [Graphic Summary](#) [Alignments](#) [Taxonomy](#)

Sequences producing significant alignments [Download](#) [Select columns](#) [Show](#) 100 ?

☒ select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ Barley yellow dwarf virus-PAV isolate TR-VULC coat protein gene, partial cds	Barley yellow dw...	890	890	94%	0.0	99.20%	503	KJ816662.1
☒ Barley yellow dwarf virus-PAV isolate TR-LRIG2 coat protein gene, partial cds	Barley yellow dw...	890	890	94%	0.0	99.20%	503	KJ816657.1
☒ Barley yellow dwarf virus-PAV isolate TR-AGR coat protein gene, partial cds	Barley yellow dw...	881	881	94%	0.0	98.81%	503	KJ816641.1
☒ Barley yellow dwarf virus-PAS isolate BYDV-PAS-OH2, complete genome	Barley yellow dw...	847	847	99%	0.0	95.28%	5684	MN128939.1
☒ Barley yellow dwarf virus-Pav isolate FTJ coat protein (CP) RNA, complete cds	Barley yellow dw...	825	825	98%	0.0	95.01%	558	GU247983.1
☒ Barley yellow dwarf virus-Pav isolate NSH coat protein (CP) RNA, complete cds	Barley yellow dw...	825	825	98%	0.0	95.01%	576	GU247979.1
☒ Barley yellow dwarf virus-Pav isolate ATK coat protein (CP) RNA, complete cds	Barley yellow dw...	820	820	98%	0.0	94.82%	576	GU247978.1
☒ Barley yellow dwarf virus-PAV partial ORF3 gene for coat protein, genomic RNA, isolate M14, clone 25AG	Barley yellow dw...	819	819	98%	0.0	94.48%	525	HE584723.1
☒ Barley yellow dwarf virus PAV isolate PAS 143-1 coat protein and movement protein genes, complete cds	Barley yellow dw...	810	810	98%	0.0	94.10%	603	KY634922.1

Şekil 4.11. 36 nolu BYDV-PAV buğday izolatının NCBI’da yapılan BLAST analizi sonucu



Şekil 4.12. Hatay ilinde buğday bitkisinden elde edilen Barley yellow dwarf virüs–PAV (BYDV-PAV) izolatu ile GenBank (NCBI) veri tabanında kayıtlı bazı BYDV-PAV izolatlarının nükleotid dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, MEGA 11 yazılımında yer alan Neighbor-joining (NJ) yöntemi kullanılmıştır. Dendrogramda bootstrap (seç-bağla tahmin testi) değerleri, dallarda yüzde olarak gösterilmiştir. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını (0.10) göstermektedir. Potato leafroll virus (PLRV) filogenetik ağaçta dış grup olarak kullanılmıştır.

Buğday arazilerinden toplanan ve CYDV-RPV ile pozitif bulunan 8 adet *R. padi*'ye ait PCR ürünleri sekans analizine gönderilmiştir. Sekans analizleri sonuçlarına göre CYDV-RPV açısından anlamlı DNA dizisi elde edilmiş ve bu izolatlardan 3 numaralı yaprak bitine ait sekansın BLAST analizi sonucu Şekil 4.13'te gösterilmektedir. Yapılan analizlerde 396 baz uzunluğunda nükleotid dizisi kullanılmıştır.

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

BLAST® » blastn suite » results for RID-VE9DY9CA013

Home Recent Results Saved Strategies Help

< Edit Search Save Search Search Summary ▾

How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Job Title Nucleotide Sequence

RID VE9DY9CA013 Search expires on 01-07 02:32 am Download All ▾

Program BLASTN Citation ▾

Database nt See details ▾

Query ID Id|Query_41049

Description None

Molecule type dna

Query Length 396

Other reports Distance tree of results MSA viewer ⓘ

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity E value Query Coverage

to to to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ⓘ

☒ select all 58 sequences selected

GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ Cereal yellow dwarf virus - RPV isolate 010, complete genome	Cereal yellow dw...	582	582	100%	1e-161	93.20%	5723	EF521830.1
☒ Cereal yellow dwarf virus RPV isolate CYDV-RPV-OH1, complete genome	Cereal yellow dw...	586	586	100%	1e-156	92.44%	5759	MN241034.1
☒ Cereal yellow dwarf virus RPV isolate CYDV-RPV-MI, complete genome	Cereal yellow dw...	586	586	100%	1e-156	92.44%	5768	KY553235.1
☒ Cereal yellow dwarf virus isolate EL19, complete genome	Cereal yellow dw...	586	586	100%	1e-156	92.42%	5770	MZ501226.1

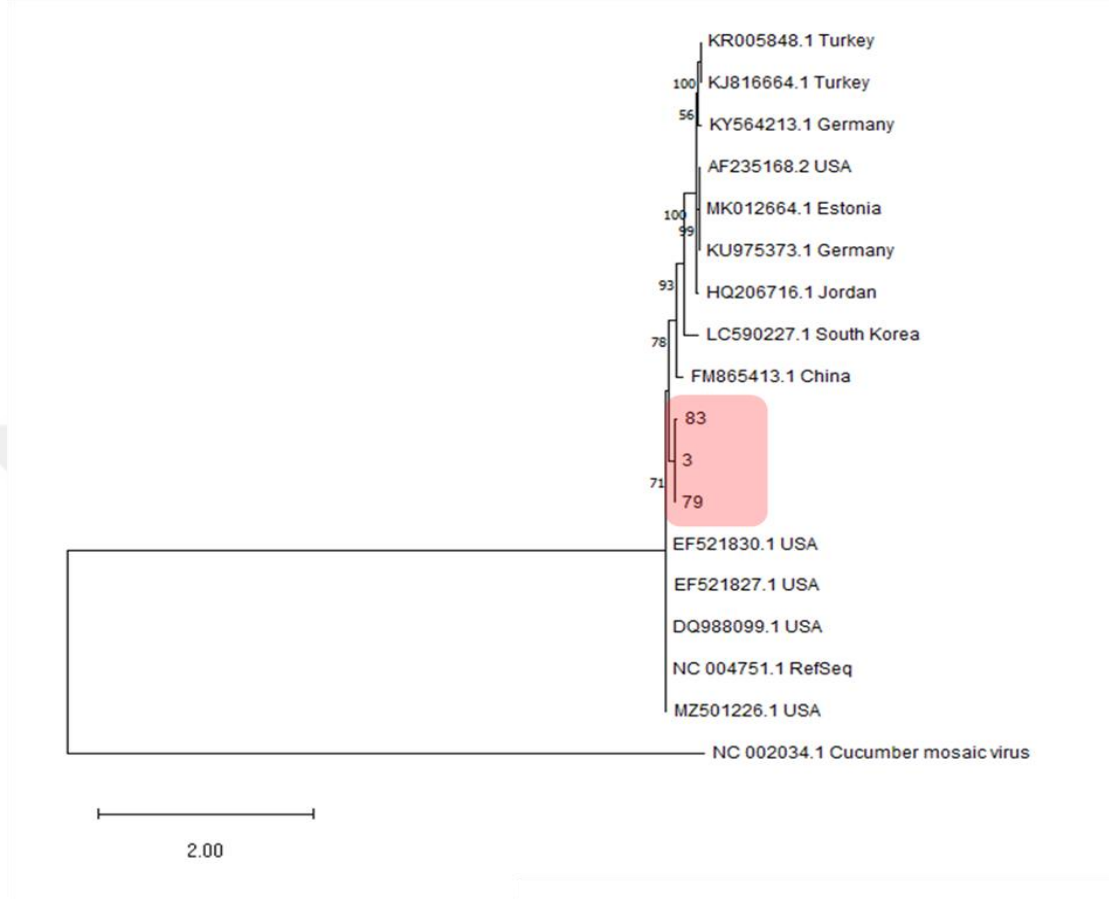
Şekil 4.13. 3 nolu CYDV-PAV *Rhopalosiphum. padi* izolatının NCBI’da yapılan BLAST analizi sonucu

CYDV-RPV *R. padi* izolatlarımız Genbankasında kayıtlı buğdaydan elde edilen CYDV-RPV izolatlarıyla kıyaslanmıştır. 3 numaralı CYDV-RPV *R. padi* izolatımız Türkiye izolatlarından KC900902.1, KC900903.1, MK732035.1, OL685735.1 ve OL685737.1 izolatlarıyla %97.5 oranında yüksek benzerlik göstermesine rağmen query cover (örtüşme) oranı %10 olmuştur. Bu izolatlarla yaklaşık 40 bazlık bir örtüşme görüldüğünden filogenetik ağaçta kullanılmamıştır.

3 numaralı CYDV-RPV *R. padi* izolatımız Türkiye izolatlarından KT923457.1 ve KP959348.1 izolatları ile %93 oranında örtüştüğü ve benzerlik oranının sırasıyla %80.32 ve %79.8 olduğu belirlenmiştir. Buğdaydan elde edilen (EF521830 ve MN241034) ve arpadan elde edilen (DQ988091) CYDV-RPV izolatlarıyla *R. padi* CYDV-RPV izolatlarımız %100 örtüşmüş ve %92.93-%92.17 oranında benzerlik saptanmıştır.

Genbankasına kaydedilmiş *R. padi*’den elde edilen CYDV-RPV izolatı bulunmamakta olup buğday, arpa ve diğer tahıl izolatlarıyla kıyaslanmıştır. CYDV-RPV izolatlarımız ile Genbankasına kaydedilen diğer CYDV-RPV izolatlarına ait

Maximum Likelihood dendogramı incelendiğinde elde edilen sonuçlar Şekil 4.14'te verilmiştir.



Şekil 4.14. Hatay ilinde *R. padi* bireylerinden Cereal yellow dwarf virüs–RPV (CYDV-RPV) izolatu ile GenBank (NCBI) veri tabanında kayıtlı bazı CYDV-RPV izolatlarının nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, MEGA 11 yazılımında yer alan Maximum Likelihood yöntemi kullanılmıştır. Dendrogramda bootstrap (seç-bağla tahmin testi) değerleri, dallarda yüzde olarak gösterilmiştir. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını (2.00) göstermektedir. Cucurbit mosaic virus (CMV) filogenetik ağaçta dış grup olarak kullanılmıştır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Hatay ili buğday üretim alanlarında barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV), barley yellow dwarf virus-MAV (BYDV-MAV), cereal yellow dwarf virus-RPV (CYDV-RPV)'leri serolojik ve moleküler yöntemlerle saptanmış ve elde edilen izolatların filogenetik analizleri yapılmıştır. Yapılan DAS-ELISA ve RT-PCR analizleri sonucunda testlenen 124 adet buğday örneği arasında sadece bir tanesi BYDV-PAV ile enfekteli bulunmuştur. Testlenen örneklerde BYDV-MAV ve CYDV-RPV bulunamamıştır. Ayrıca, bu çalışmada elde edilen BYDV-PAV izolatının filogenetik analizi de yapılmıştır. Hatay ilinden toplanan buğday örneklerinde BYDV-PAV'ın enfeksiyon oranının düşük olması ilimiz buğday tarımı açısından önemlidir. Virüs enfeksiyonunun düşük oranda olması veya hiç olmaması tohum transferinin az olması ya da üreticilerin sağlıklı tohumluk kullanmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sarı cücelik virüslerinin bir konukçudan başka bir konukçuya taşınması yaprak bitleri tarafından gerçekleşmektedir. Virüslerin yayılmasında ana etken olan vektör böceklerin populasyon miktarı ve türleri farklı olabilmektedir. Buğday tarımında sarı cücelik virüslerine karşı dayanıklı genotiplerin kullanılması ile bu hastalığın vektörleriyle mücadele sırasında daha az oranda ve daha az kimyasalın kullanılması mümkün olacaktır.

Dolayısıyla da kimyasalların az kullanılması hem çevre ve insan sağlığına dost bir yaklaşım olup hem de daha ekonomik olarak buğday üretiminin gerçekleştirilmesi mümkün hale gelecektir.

Ayrıca hastalığın ve vektörünün ilimizde saptanması üzerinde dikkat edilmesi gereken bir konudur. Hastalık, gerekli önlemler alınmaz ise uygun koşullar olduğu durumlarda salgınlar oluşturabilir ve enfeksiyon oranı artabilir.

Gerek dünyada gerekse ülkemizde buğday üretim alanlarında yaygın olan ve ciddi verim kayıplarına neden olan arpa sarı cücelik hastalık etmeninin önlenmesi amacıyla dikkate alınması gereken bazı öneriler:

- Hastalığın kontrolü için üreticilerin virüsten ari ve sertifikalı buğday tohumluklarını kullanmaları hastalığın epidemi yapmasının önlenmesi açısından önemlidir. Hastalığın görüldüğü illerde üreticilerin kendi ürettikleri tohumlukları kullanmamaları, hastalığın başka alanlara yayılmaması açısından önemlidir.

- Dayanıklı ya da tolerant buğday çeşitlerin üretimde kullanılması bu virüse karşı alınabilecek en iyi önlem olacaktır.
- Virüsler ve bu virüslerin vektörlerine konukçuluk eden yabancı otlarla mücadele etmek hastalığın yayılmasını önemli ölçüde azaltabilir.
- Ekim sıklığı, virüsün yayılmasında oldukça önemli olduğundan sık ekimden kaçınılmalıdır.
- Buğdaylarda ekim nöbetinin uygulanması virüs hastalıklarının yoğunluk artışının engellenmesi açısından önemli olduğundan üreticiler bu konuda bilgilendirilmelidir.



KAYNAKLAR

- Ali M, Hameed S, Tahir M., 2014. Luteovirus: insights into pathogenicity. **Arch. Virol.** 159:2853–2860.
- Anonim, 2020. TMO. **Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü 2020 yılı hububat sektör raporu**, Ankara, [http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/sektorraporlari/hububat 2020.pdf](http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/sektorraporlari/hububat%2020.pdf). (Erişim Tarihi:01.12.2022).
- Anonim, 2016. Buğday tarımı. [http://arastirma.tarim.gov.tr/ktae/Belgeler/brosurler/Buğday Tarımı](http://arastirma.tarim.gov.tr/ktae/Belgeler/brosurler/Buğday%20Tarımı). (Erişim Tarihi:01.12.2022).
- Anonymous, 2021. <https://www.igc.int/en/default.aspx> (Erişim Tarihi:01.12.2022).
- Ay, Z., Kerényi, Z., Takács, A., Papp, M., Petróczi, I. M., Gáborjányi, R., Silhavy, D., Pauk J., Kertész, Z., 2008. Detection of cereal viruses in wheat (*Triticum aestivum* L.) by serological and molecular methods. **Cereal Research Communications**, 36(2): 215–224.
- Aydın, Ö., 2017. Trakya Bölgesi Çeltik Üretim Alanlarında Arpa Sarı Cücelik Virüs Hastalıkları (Barley Yellow Dwarf Viruses-Bydvs)’nın Saptanması. **Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi.
- Banks, P. M., Davidson, J. L., Bariana, H. S., and Larkin, P. J., 1995. Effects of barley yellow dwarf virus on the yields of winter wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 46:935-946.
- Beuve, M., Naïbo, B., Foulgocq, L. and Lapierre, H., 1999, **Irrigated hybrid maize crop yield losses due to Barley yellow dwarf virus-PAV luteovirus**, *Crop Science*, 39(6): 1830-1834pp.
- Bonfield, J.K., Smith, K., and Staden, R., 1995. **A new DNA sequence assembly program**. *Nucleic Acids Res.* 23: 4992-4999.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L., 1996. **Viruses of plants descriptions and lists from the VIDE database**. Wallingford, UK, CAB International. p:1484.
- Chain, F., Riault of, G., Jacquot, E. and Trottet, M., 2006, Field trial of serially passaged isolates BYDV-PAV overcoming resistance derived from *Thinopyrum intermedium* in wheat, **Plant Breeding**, 125(3): 211–216pp.
- Clark, M. F and Adams, A.N., 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. **Journal of General Virology** 34:475-483.
- Clark, M. F., 1981. Immunosorbent assay plant pathology. *Ann. Rev. Phytopathology*, 19: 83-106.
- Cook, R.J. and Veseth, R.J., 1991, **Wheat healthy management**, A.P.S. Presss. St Paul Minnesota, U.S.A., 152 p
- Conti M, D’Arcy CJ, Jedlinski H, Burnett PA., 1990. **The yellow plague of cereals, barley yellow dwarf virus** (No. 91-013855. CIMMYT.).
- Cummins A. G. and Roberts-Thomson I.C, 2009. Prevalence of Celiac Disease in the Asia Pacific Region. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, 24(8):1347-1351.
- Çapkan, D., 2015. Ege Bölgesi Buğday Üretim Alanlarında BYDV (Barley yellow dwarf virus)’nin Bulunma Durumunun ve Moleküler Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. **Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi. 50 s.

- D'Arcy, C. J., Hewings, A. D., Eastman, C. E., 1992. Reliable detection of Barley yellow dwarf viruses in field samples by monoclonal antibodies. **Plant Dis.**76:273-276.
- D'Arcy, C.J., 1995. **Symptomatology and host range of barley yellow dwarf**. In: D'Arcy C.J, Burnett P.A, eds. Barley Yellow Dwarf - 40 Years of Progress. St. Paul, USA: APS Press, 9-28.
- D'Arcy, C.J, Mayo M., 1997. Proposals for changes in luteovirus taxonomy and nomenclature. **Arch. Virol.** 142:1285-87
- D'Arcy, C.J, Domier L.L, Mayo M.A., 2000. Family Luteoviridae. In Virus Taxonomy: Seventh Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses, ed. M.H.V. van Regenmortel, C.M. Fauquet, D.H.L., Bishop, E.B., Carstens, M.K., Estes, et al., pp. 775-84. San Diego: Academic
- Dayan, S. S., 2013. Tekirdağ İli Buğday Ekim Alanlarında Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşitlerinde Görülen Tahıl Virüs Hastalıklarının Buğday Kalitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması. **Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi.
- Deb, M., Anderson J. M., 2007. Development of a multiplexed PCR detection method for Barley and Cereal yellow dwarf viruses, Wheat spindle streak virus, Wheat streak mosaic virus and Soil-borne wheat mosaic virus. **Journal of Virological Methods** 148: 17-24.
- Delfosse V.C, Barrios Barón M.P, Distéfano A.J., 2021. What we know about poleroviruses: advances in understanding the functions of polerovirus proteins. **Plant Pathol.** 70:1047-61
- Deligöz, İ., Kahveci Caner, Y. ve Akyol, H., 2011, Samsun ve Amasya illerinde buğday üretim alanlarında enfeksiyona neden olan Barley yellow dwarf virus-PAV ve Barley yellow dwarf virus-MAV virüslerinin araştırılması, **Bitki Koruma Bülteni** 2011, 51(2): 187-193.
- Delmiglio, C., Pearson, M. N., Lister, R. A., & Guy, P. L., 2010. Incidence of cereal and pasture viruses in New Zealand's native grasses. **Annals of Applied Biology**, 157(1), 25-36.
- Domier, L.L., 2008. Barley yellow dwarf viruses. **Encyclopedia of Virology**, 3: 279-286.
- El-Muadhidi, M.A., Makkouk, K.M., Kumari, S.G., Jerjess, M., Murad, S.S., Mustafa, R.R. and Tarik, F., 2001. **Survey for legume and cereal viruses in Iraq, Phytopathologia Mediterranea**, 40(3): 224-233.
- Erkan, E., 2008. Samsun ili buğday üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan virüslerin saptanması. **Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi.
- Fauquet, C. M., Mayo, M. A., 1999. **Abbrevitions for plant virus names**. **Arch. Virol.**:144 (6): 1249-1273.
- Fidan, H., Güllü, M., Hekimhan, H., Gözüaçık, C., Konuksal, A., Akerzurumlu, E., 2014. Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti tahıl üretim alanlarında Arpa sarı cücelik virüsü (Barley yellow dwarf virus, BYDV)'nın tespiti ve virüs-vektör ilişkilerinin belirlenmesi. **Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi**, 3- 5 Şubat, Antalya, 209 s.
- Gooding M.J. and Davies W.P., 1997. **Wheat Production and Utilization: Systems, Quality And The Environment**, CAB International, Wallingford, UK.
- Gould, F. W., Shaw, R. B. 1983. Grass systematics. **Brittonia**, 35(3), 301-301.

- Guy, P.L, Johnstone, G.R, Duffus, J.E., 1986. Occurrence and identity of barley yellow dwarf viruses in Tasmanian pasture grasses. **Crop and Pasture Science**, 37(1), 43-53.
- Güven, E., 2007, Buğdayda Çıkış Sonrası Kullanılan Bazı Herbisitlerin Tek Başına ve Kombine Olarak Kullanılmasının Tarla Koşullarında Etkinliğinin Araştırılması, **Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı**, Yüksek Lisans Tezi.
- Halbert, S. and Voegtlin, D., 1995. Biology and taxonomy of vectors of barley yellow dwarf viruses. In: Barley Yellow Dwarf: 40 Years of Progress. C.J. D'Arcy and P.A. Burnett (eds.). **APS Press**. Pp. 217-258.
- Hall, T.A., 1999: BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucl. Acids. Symp.** Ser. 41: 95-98.
- Hamamcı, G., 2012. Tekirdağ İli'nde Ekmeklik Buğday (*Triticum Aestivum* L.) Alanlarında Yaygın Olarak Görülen Virüs Hastalıklarına Karşı Bazı Çeşitlerin Reaksiyonlarının Saptanması Üzerine Araştırmalar. **Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisan Tezi.
- Hassan, N.Ö., 2018. Diyarbakır ili buğday (*Triticum aestivum* L.) tarlalarında arpa sarı cücelik virüsleri'nin multipleks Rt-Pcr İle araştırılması ve moleküler karakterizasyonu **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı**, Yüksek Lisans Tezi, 71 s.
- Hogenhout, S.A., Ammar, D., Whitfield, A.E. Redinbaugh, M.G., 2008. Insect vectorinteractions with persistently transmitted viruses. *Annu. Rev. Phytopathol*, 46:327-359.
- Hoppe, W., Ruszkiewicz, M., Zielińska, L., 1983. Occurrence of barley yellow dwarf virus on oat cultures in Poland. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolni ICTV.*, 2021. Virus taxonomy: 2020 release. International Committee on Taxonomy of Viruses. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
- İlbağı, H., 2003, Trakya Bölgesinde Üretimi Yapılan Bazı Tahıl Türlerinde Verim Kayıplarına Neden Olan Viral Kökenli enfeksiyonların Etmenlerinin Tanılanması, **Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı**, Doktora Tezi,
- İlbağı, H., Rabenstein, F., Habekuss, A., Ordon, F. and Çitir, A., 2006, Incidence of virus diseases in maize fields in the Trakya region of Turkey, *Phytoprotection* 87(3): 115-122pp.
- İlbağı, H., Rabenstein, F., Habekuss, A., Ordon, F., Çitir, A., Cebeci, O., Budak, H., 2008. **Molecular, serological and aphid transmission studies of Barley yellow dwarf virus-PAV and Cereal yellow dwarf virus-RPV in Canary Seed (Phalaris canariensis L.)**. *Cereal Research Communications*, 36: 225-234.
- İlbağı, H., ve Geyik, S., 2014. Türkiye'de Bursa ili mısır (*zea mays* L.) tarlalarında görülen virüs hastalıklarının saptanması. **Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 11(1):122-125.
- İlbağı, H., 2017. Tahıl üretim alanlarında sarı cücelik virüs hastalıkları (Yellow dwarf virus diseases) epidemisi ve mücadelesi. **Bitki Koruma Bülteni**, 57(3) : 317-335.
- İlbağı, H., Adnan, K. A. R. A., Çitir, A., & Uysal, M., 2021. Trakya bölgesi tahıl üretim alanlarındaki sarı cücelik virüs hastalıklarının doğal konukçusu yabancı ot türleri. **Turkish Journal of Weed Science**, 24(1), 1-12.
- İlbağı, H, Masonbrink, RE, Miller, WA., 2022. The Complete Nucleotide Sequence of Barley Yellow Dwarf Virus-PAV from Wheat in Turkey. **Microbiol Resour**

- Announc.** 2022 Oct 20;11(10):e0074522. doi: 10.1128/mra.00745-22. Epub 2022 Sep 26. PMID: 36154189; PMCID: PMC9583801.
- Jarosova, J., Chrpova, J., Sip, V., Kundu, K., 2013. A comparative study of the barley yellow dwarf virus species PAV and PAS: distribution, accumulation and host resistance. **Plant Pathol.** 62:436–643.
- Jezewska, Z.M., 2003, Evaluation of the press as a source of nutritional information in the women's opinions. Volume 10/21, page 87
- Jin, Z., Wang, X., Chang, S., Zhou, G., 2004. **The complete nucleotide sequence and its organization of the genome of Barley yellow dwarf virus-GAV.** *Sci. China Life Sci.* 47:175–182.
- Kaddachi, I., Souidan, Y., Achouri, D., Cheour, F., 2014. **Barley yellow dwarf virus (BYDV): characteristics, hosts, vectors, disease symptoms and diagnosis.** *International Journal of Phytopathology*, 3: 155–163.
- Kapan, O., 2022. Şırnak ili buğday üretim alanlarındaki arpa sarı cücelik virüs (Barley yellow dwarf viruses; Bydvs)'lerinin multipleks Rt-Pcr yöntemiyle araştırılması ve bazı virüs izolatlarının moleküler karakterizasyonu, **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi**, 77 s.
- Karaozan, S., 2019. Mardin ili buğday üretim alanlarındaki arpa sarı cücelik virüs (Barley yellow dwarf viruses; BYDVs)'lerinin Multipleks RT-PCR yöntemi ile araştırılması ve bazı virüs izolatlarının moleküler karakterizasyonları, **Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi**, Van.
- Kendall, D.A., George, S. ve Smith, B.D., 1996. Occurrence of Barley yellow dwarf viruses in some common grasses (Gramineae) in South West England. **Plant Pathology**, 45(1): 29-37.90 s.
- Kılıç, H.Ç., Yardımcı, N., Toman, D., 2019. Afyonkarahisar ve Isparta illerindeki buğday üretim alanlarında Barley yellow dwarf virus-PAV ve Barley yellow dwarf virus-MAV' ın belirlenmesi. **Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi./Anadolu J Agr Sci**, 34, 129-134.
- Koev, G., Mohan, B. R., Dinesh-Kumar, S. P., Torbert, K. A., Somers, D. A. and Miller, A. W., 1998, Extreme reduction of disease in oats transformed with the 5'half of the Barley yellow dwarf virus-PAV genome, **Phytopathology**, 88(10): 1013-1019.
- Köklü, G., 2004. Occurrence of cereal viruses on wheat in Tekirdag, Turkey. **Phytoprotection**, 85:19-25.
- Krueger, EN, Beckett, RJ, Gray, SM, Miller, WA., 2013. The complete nucleotide sequence of the genome of Barley yellow dwarf virus-RMV reveals it to be a new Ploverovirus distantly related to other yellow dwarf viruses. **Front. Microbiol.** 4:205
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz C. and Tamura K., 2018. MEGAX: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. **Molecular Biology and Evolution**, 35:1547-1549.
- Kün, E., 1994, **Tahıllar II. Sıcak İklim Tahılları.** Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:1360, Ders Kitabı: 394, 317 s. Ankara.
- Liu, H.Y., Wisler, G.C., Wintermantel, W.M. Sears, J.L., 2001. Differentiation of poleroviruses in sugarbeet. **J. Sugar Beet Res.** 38(1):84.

- Makkouk, K.M., Kumari, S.G., 2009, Epidemiology and integrated management of persistently transmitted aphid-borne viruses of legume and cereal crops in West Asia and North Africa. **Virus Res.** May;141(2):209-18.
- Marshall, J. M., and A. Rashed. 2014. Barley yellow dwarf virus in Idaho cereal crops. **University of Idaho Extension**, CIS 1210.
- Mastari, J., Lapierre, H. and Dessens, J.T. (1998) Assymetrical distribution of barley yellow dwarf virus PAV variants between host plant species. **Phytopathology**, 88, 818– 821.
- Menteş Yılmaz, Ö., 2011. Türkiye’de Yetiştirilen Başlıca Buğday Çeşitlerinin Antioksidan Aktivitelerinin ve Fenolik Asit Dağılımlarının Belirlenmesi Ve Ekmekğin Nar Kabuğu Ekstraktı ile Zenginleştirilmesi, **Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Doktora Tezi, 89 s.
- Miller, WA, Waterhouse, PM, Gerlach, WL., 1988. Sequence and organisation of barley yellow dwarf virus genomic RNA. **Nucleic Acids Res.** 16:6097–111
- Miller, W. A., Lozier, Z., 2022. Yellow dwarf viruses of cereals: Taxonomy and molecular mechanisms. *Annu. Rev. Phytopathol.* 60:6.1-6.21
- Moon, J. S., Allen, R. G., Domier, L. L., Hewings, A. D., 2000. Molecular and biological characterization of a trackable Illinois isolate of Barley yellow dwarf virus -PAV. **Plant Dis.** 84: 483–486.
- Nancarrow, S.A., Wade, and Wade R., 2014. Connecting practice: a practitioner centred model of supervision. **Clinical Governance: An International Journal** Vol. 19 No. 3, pp. 235-252
- Nagy, E., Moldovan, V., 2007, The Effect Of Fungicide Treatments On Wheat Common Bunt (*Tilletia* spp.) In Transylvania", **Agricultural Research and Development Station Turda**, 33-38 .
- Osler, R., Burnett, P.A. and Cuellar, E., 1984. Rice giallume, a disease related to barley yellow dwarf in Italy. In barley yellow dwarf, a proceedings of the workshop, December 6-8, 1983. pp. 125-131
- Oswald, J.W. and Houston, B.R., 1951. A new virus disease of cereals, transmissible by aphids. *Plant Disease Reports*, 35: 471-475.
- Oswald, J.W. and Houston, B.R., 1953. The yellow dwarf disease of cereal crops. **Phytopathology**, 43: 128-136.
- Özberk, F., Karagöz, A., Özberk, İ., Atılı, A., 2016. Buğday Genetik Kaynaklarından Yerel ve Kültür Çeşitlerine; Türkiye’de Buğday ve Ekmek. **Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi**, 2016, 25 (2):218-233.
- Parizoto, G, Rebonatto A, Schons J, Lau D., 2013. Barley yellow dwarf virus -PAV in Brazil: Seasonal fluctuation and biological characteristics. **Tropical Plant Pathology**, 38:11–19. ([https:// doi.org/10.1590/S1982-56762013000100002](https://doi.org/10.1590/S1982-56762013000100002)).
- Perry, K.L., Kolb, F.L., Sammons, B., Lawson, C., Cisar, G., Ohm, H., 2000. **Yield effects of Barley yellow dwarf virus in soft red winter wheat.** *Phytopathology* 90, 1043–1048.
- Pike, K. S., 1990. **A review of Barley yellow dwarf virus grain yield loses.** In P.A. Burnett, ed. *World perspectives on Barley yellow dwarf*, Mexico, DF, CIMMYT.p: 356- 361.
- Rastgou, M., Khatabi, B., Kvarnheden, A., Izadpanah, K., 2005. **Relationships of Barley yellow dwarf virus-PAV and cereal yellow dwarf virus-RPV from Iran with viruses of the family Luteoviridae.** *European Journal of Plant Pathology* 113(3):321-326. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-1231-y>

- Robertson, N. L., French, R., Gray, S. M., 1991. **Use of group-specific primers and the polymerase chain reaction for the detection and identification of luteoviruses.** J. Gen. Virol. 72: 1473-1477.
- Rochow, WF., 1969. **Biological properties of four isolates of barley yellow dwarf virus.** Phytopathology 59:1580–1589.
- Rochow, WF., 1970. **Barley yellow dwarf virus: phenotype mixing and vector specificity.** Science 167:875–878.
- Rochow, WF, Muller, I., 1971. **Fifth variant of barley yellow dwarf virus in New York.** Plant Dis. Rep.55:874–877.
- Saitou, N, Nei, M., 1987. **The Neighbor-Joining Method-a new method for reconstructing phylogenetic trees.** Mol Biol Evol. 4:406-425.
- Siddiqui, N. N., Ilyas, M., Mansoor, S., Azhar, A. and Saeed, M., 2012. **Cloning and phylogenetic analysis of coat protein of barley yellow dwarf virus isolates from different regions of Pakistan,** Journal of Phytopathology, 160(1): 13–18.
- Sökmen, M., 2005. **Genetik yapısı değiştirilmiş bitkiler ve bitki koruma amaçlı kullanımı.** Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 20(3), 105-109.
- Svanella-Dumas, L., Candresse, T., Hullé, M., & Marais, A., 2013. **Distribution of barley yellow dwarf virus-pav in the sub-antarctic Kerguelen Islands and characterization of two new luteovirus species.** Plos one, 8(6), e67231.
- Thackraya, D.J., Diggleab, A.J., Blackwell, R.A.C.J., 2009. **A simulation model to predict aphid arrival, epidemics of Barley yellow dwarf virus and yield losses in wheat crops in a Mediterranean-type environment.** Plant Pathology, 58: 186–202.
- Ueng, PP, Vincent, JR, Kawata, EE, Lei, C-H, Lister, RM, Larkins, BA., 1992. **Nucleotide sequence analysis of the genomes of the MAV-PS1 and P-PAV isolates of barley yellow dwarf virus.** J. Gen. Virol. 73:487–92
- Usta, M., 2013. **Doğu Anadolu Bölgesindeki Buğday Üretim Alanlarında BuğdayVirüslerinin Multipleks RT-PCR Yöntemi ile araştırılması ve Virüs İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van.**
- Vincent, JR, Lister, RM, Larkins, BA., 1991. **Nucleotide sequence analysis and genomic organization of the NY-RPV isolate of barley yellow dwarf virus.** J. Gen. Virol. 72:2347–55
- Watson, M. A. and Mulligan, T. E., 1960. **Comparison Of Two Barley Yellow-Dwarf Viruses In Glasshouse And Field Experiments.** Volume 48, Issue 3, Pages 559-574
- Wiese, M.V., 1987. **Compendium of Wheat Diseases A.P.S Press. St. Paul Minnesota, U.S.A., 106p.**
- Yorgancı, Ü., 1989. **Bitki Virüs Hastalıkları Ders Notları, Derleme, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bornova, İzmir, 56s.**
- Zhang, W, Cheng, Z, Xu, L, Wu, M, Waterhouse, P, et al., 2009. **The complete nucleotide sequence of the barley yellow dwarf GPV isolate from China shows that it is a new member of the genus Polerovirus.** Arch. Virol. 154:1125–1128.

EKLER

EK 1. DAS-ELISA testinde kullanılan tampon çözeltiler ve içerikleri (1000 ml)

Kaplama Tamponu (Coating Buffer) pH: 9.6

Na ₂ CO ₃	1.59 g
NaN ₃	0.20 g
NaHCO ₃	2.93 g

Fosfat-Tuz Tamponu (PBS Buffer) pH: 7.4

NaCl	8.00 g
Na ₂ HPO ₄ X 12H ₂ O	0.20 g
NaN ₃	0.20 g
KCl	0.20 g
KH ₂ PO ₄	2.90 g

Yıkama Tamponu (PBST Buffer)

pH:7.4

PBS Buffer	999.50 ml
Tween 20	0.50 ml

Örnek Ezme Tamponu (Extraction Buffer) pH: 7.4

PBST	1000.0 ml
Polyvinylpyrrolidone	20.00 g
(MV= 40000 K=40)	

Konjugat Tamponu (Conjugate Buffer) pH: 7.4

PBST	1000.0 ml
Polyvinylpyrrolidone	20.00 g
(MV= 40000 K=40)	
Ovalbumin	2.00 g
NaN ₃	0.20 g

Substrat Tamponu (Substrat buffer) pH: 9,8

Diethanolamin 97.00 ml

NaN₃ 0.20 g

Karışım d₂H₂O ile 1 litreye tamamlanır.



EK 2. AGAROS JEL ELEKTROFOREZ (Maniatis ve ark., 1992)

TAEX50 (100 ml)

0.5 M EDTA pH:8	10 ml
0.6 Glacial acetic acide	5.71 ml
Trizma base	24.2 g

Çözelti 100 ml d₂H₂O' ya tamamlanıp otoklav edilmiş ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

PCR ürününün yükleme ortamı (15 ml 6X stok için)

Bromophenol blue	15 ml
Glycerol	18 g
TAEX50	6 ml

Hazırlanan ortam -20 °C'de saklanmıştır.

Ethidium Bromide çözeltisi (1 mg/ml 200 ml stok için)

0.5XTAE	200 ml
Ethidium bromide	200 µl

Koyu renkli bir kap içinde karanlık ortamda oda sıcaklığında saklanmıştır. 5-10 kullanımdan sonra çözelti tazelenmiştir.

%1.5 Agarose Jel Elektroforezi

1.5 gr agaroz, 100 ml 0.5XTAE içinde mikrodalga fırında eritilmiştir. Yaklaşık 40°C sıcaklığa geldikten sonra, elektroforez ünitesinin jel tepsisine dökülüp taraklar yerleştirildikten sonra agarozun 15-20 dakika süreyle donması beklenmiştir. 0.5XTAE ortamı içeren elektroforez tankına yerleştirilmiştir.