



## Çukurova Bölgesi Turunçgil Üretim Alanlarında Citrus Yellow Vein Clearing Virus (CYVCV; *Potexvirus citriflavivenae*)'ünün Araştırılması ve İzolatlar Arası Benzerlik Oranlarının Belirlenmesi

Nüket ÖNELGE<sup>1</sup>, Büşra FIDANCI AVCI<sup>2</sup>, Merve KAZAK<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-5018-0850>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-2403-956X>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-3647-8669>

✉: [mkazak@cu.edu.tr](mailto:mkazak@cu.edu.tr)

### ÖZET

Citrus yellow vein clearing virus (CYVCV; *Potexvirus citriflavivenae*) dünyada ilk kez Pakistan'da ardından Hindistan'da tespit edilmiştir. Türkiye'de ise 2000'li yıllarda bu hastalığın varlığı yeni bir turunçgil viral etmeni olarak bildirilmiştir. Bu dönemde virüsün ilk belirlendiği il olan Adana ilinde eradikasyon işlemi gerçekleştirilerek enfekteli ağaçlar kesilmiştir. CYVCV'nin tek sarmal pozitif RNA yapısında olduğu 2012 yılında ortaya konmuştur. CYVCV'nin Çukurova Bölgesi'ndeki durumunu araştırmak, etmenin enfeksiyon durumunu belirlemek ve izolatlar arasındaki farklılığı moleküler olarak saptamak amacıyla bu çalışma yürütülmüştür. Sörvey çalışmaları 2016-2022 yılları arasında Hatay, Adana ve Mersin illerini kapsayacak şekilde güdümlü sörvey çalışması olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma başta limon olmak üzere portakal, greyfurt ve turunç çeşitlerini kapsamıştır. Toplamda 150 turunçgil bahçesi ve 10 farklı fidan üretim alanında CYVCV'nin varlığına bakılmış ve 100 örnek RT-PCR yöntemiyle testlenmiştir. Örneklerin toplanması etmenin karakteristik yaprak belirtileri göz önüne alınarak yapılmıştır. Alınan örneklerden TNA ekstraksiyonu CTAB tampon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. RT-PCR çalışmaları sonucunda elde edilen amplifikonlar sekans analizine gönderilmiş, elde edilen baz dizimleri NCBI veri tabanında BLAST metoduyla seçilen kayıtlı CYVCV izolatları ile karşılaştırılmıştır. Toplamda 35 örneğin CYVCV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Enfekteli olarak belirlenen bu örnekler eradikasyon işlemi uygulanmıştır. Çalışma sonucunda izolatların benzerlik oranlarının yüksek olduğu (%97-99.8) tespit edilmiştir.

### Fitopatoloji

### Araştırma Makalesi

### Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 12.08.2024

Kabul Tarihi : 19.11.2024

### Anahtar Kelimeler

CYVCV  
Türkiye  
Turunçgil  
RT-PCR

## Investigating the Citrus Yellow Vein Clearing Virus (CYVCV; *Potexvirus citriflavivenae*) in the Çukurova Region's Citrus Production Areas and Analyzing the Identity Rates Between Isolates

### ABSTRACT

Citrus yellow vein clearing virus (CYVCV; *Potexvirus citriflavivenae*) was first detected in Pakistan and then in India. In Türkiye, this disease was reported as a new citrus viral disease in the 2000s. In Adana province, where the virus was first detected, eradication was carried out and infected trees were cut down. In 2012, the single-stranded positive RNA structure of CYVCV was identified. The purpose of this investigation was to assess the current state of CYVCV in the Çukurova Region, ascertain the agent's current infection status, and identify molecular differences between the isolates. The survey studies were conducted between 2016 and 2022, including the provinces of Hatay, Adana, and Mersin. The study focused on lemon and included grapefruit, orange, and sour orange species. CYVCV was investigated using the RT-PCR method in 150 citrus parcels and 10 different seedling production locations, as well as 100 different samples. Samples were collected by taking into account the characteristic leaf symptoms of the agent. CTAB buffer was used to extract total nucleic acids from the samples. The sequence analysis of the amplicons obtained from RT-PCR analyses was conducted and the resulting base sequences were compared with the

### Phytopathology

### Research Article

### Article History

Received : 12.08.2024

Accepted : 19.11.2024

### Keywords

CYVCV  
Türkiye  
Citrus  
RT-PCR

registered CYVCVs chosen using the BLAST method in the NCBI database. A total of 35 samples were revealed infected with CYVCV. These samples that were found to be contaminated underwent an eradication procedure. As a result of the study, it was determined that there was a high similarity between the isolates (97-99.8%).

**Atıf Şekli:** Önelge, N., Fidancı Avcı, B & Kazak, M., (2024). Çukurova Bölgesi Turunçgil Üretim Alanlarında Citrus Yellow Vein Clearing Virus (CYVCV; *Potexvirus citriflavivenae*)'ünün Araştırılması ve İzolatlar Arası Benzerlik Oranlarının Belirlenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg 27*(Ek Sayı 2), 444-452. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1531830>.

**To Cite :** Önelge, N., Fidancı Avcı, B & Kazak, M., (2024). Investigating the Citrus Yellow Vein Clearing Virus (CYVCV; *Potexvirus citriflavivenae*) in the Çukurova Region's Citrus Production Areas and Analyzing the Identity Rates Between Isolates. *KSU J. Agric Nat 27*(Suppl 2), 444-452. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1531830>.

## GİRİŞ

Turunçgil sarı damar açılması hastalığı, virüs tarafından oluşturulan ve ilk olarak 1988 yılında Pakistan'da bildirilen bir hastalıktır (Catara ve ark., 1993). Daha sonra hastalığın varlığı Hindistan, Türkiye ve Çin'de turunçgil yetiştiricilik alanlarında belirlenmiştir (Önelge 2002; Alshami ve ark., 2003; Chen ve ark., 2014). Virüsün varlığı en son İran'da ve Amerika'nın Kaliforniya eyaletinde bildirilmiştir (Hashmian & Aghajanzadeh, 2017; EPPO, 2022). Loconsole ve ark., (2012) yapmış oldukları çalışmada hastalık etmeninin Alphaflexiviridae familyası içinde yer alan Mandarivirüs cinsine ait citrus yellow vein clearing virus (CYVCV; *Potexvirus citriflavivenae*) olduğunu belirlemişlerdir. Etmen pozitif yapıda tek sarmal RNA (+ssRNA) virüsü olup 7.5 kb büyüklüğünde ve 6 adet açık okuma bölgesine (ORFs) sahiptir (Loconsole ve ark., 2012). Etmen tüm turunçgil çeşitlerini enfekte edebilmekte ancak bunların pek çoğu etmeni semptomsuz taşımaktadır. Özellikle limon (*Citrus limon*) ve anaç olarak kullanılan turunç (*C. aurantium*) çeşitleri etmenin en belirgin semptomları olan; bitki yaprak damarlarının sarı renkte açılması, yaprak deformasyonları, yaprak arka yüzeyinde damarlarda su emgisi lekelerinin oluşumunu göstermektedir. Genç yapraklarda oldukça belirgin olan hastalık semptomları olgun yapraklar üzerinde de kalıcı olmakta, yapraklar ışığa tutulduğunda semptomlar belirgin şekilde gözlenmektedir (Önelge, 2002). CYVCV, enfekteli üretim materyali, mekanik olarak ve vektör böceklerle taşınabilmektedir. CYVCV, otsu indikatör bitkilerden fasulye (*Phaseolus vulgaris*), börülce (*Vigna unguiculata*), kazayağı (*Chenopodium quinoa*) bitkilerine mekanik olarak (Catara ve ark., 1993; Önelge ve ark., 2011; Zhou ve ark., 2016), enfekteli limondan fasulye bitkilerine *Aphis craccivora* ve *A. spiraecola* (Önelge, 2002) ile ayrıca enfekteli limondan limona *A. spiraecola* ve *Dialeurodes citri* (Zhang ve ark., 2018) ile taşınabilmektedir. Zhou ve ark., (2016) Çin'de yapmış oldukları çalışmada Türkiye'deki izolatlara benzer olarak etmenin farklı RNA izolatlarını RT-PCR yöntemi ile incelemişler ve Türkiye izolatı ile %97.2 oranında benzer olduğu

bildirmişlerdir. Çukurova Bölgesi'nde CYVCV tespit edildikten ve etmen 2012 yılında karakterize edildikten sonra bölgede eradikasyon çalışması başlatılmış ve enfekteli bahçelerin kontrollü olarak sökülmesine 2022 yılına kadar gidilmiştir. Ancak 2020-2022 yıllarında özellikle Zagara Bianca limon çeşidi ve farklı mandarin çeşitlerinden gelen örneklerde CYVCV'nin makroskobik semptomları gözlenmiştir. Bu nedenle etmenin bölgedeki durumunu güncellemek amacıyla turunçgil bahçelerinde ve fidanlıklarda sorvey çalışmaları gerçekleştirilerek; hastalığın durumunun belirlenmesi ve etmenin örtü proteini baz alınarak genetik çeşitliliğin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOD

### Sorvey Çalışması ve Arazi Gözlemleri

Sorvey çalışması Çukurova Bölgesi'nde önemli fidanlık ve turunçgil yetiştiricilik alanlarını kapsayan Hatay, Adana ve Mersin illerinde 2016-2022 yılları arasında yürütülmüştür. Toplamda 150 turunçgil bahçesi ve 10 farklı fidanlıkta bulunan portakal (*C. sinensis*), greyfurt (*C. paradisi*) turunç (*C. aurantium*), limon (*C. limon*) türlerini kapsayacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 1). Sorvey çalışması güdümlü örnek alımı şeklinde yürütülmüştür (Hewitt & Gifford, 1956; Bovey 1965). Örneklerin toplanmasında CYVCV etmeninin yapraklarda oluşturduğu sarı renkli damar açılması ve yaprak deformasyonları, yaprak arka yüzeyinde damarlarda su emgisi lekelerinin oluşumu esas alınmıştır.

Çizelge 1. Sorvey çalışması yapılan iller ve toplanan örnek sayıları

Table 1. The field survey and number of samples collected.

	Bahçe			Fidanlık		
	Adana	Mersin	Hatay	Adana	Mersin	Hatay
Mandarin	10	-	-	-	-	-
Portakal	10	-	-	-	-	-
Turunç	10	10	10	-	-	-
Greyfurt	10	-	-	-	-	-
Limon	15	5	10	-	5	5
Toplam	55	15	20	-	5	5

## Total Nükleik Asit Ekstraksiyonu (TNA) ve RT-PCR Çalışmaları

CTAB temelli total nükleik asit ekstraksiyonu Murray ve Thompson (1980)'a göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TNA'lar Çizelge 2'de yer alan CYVCV'nin

spesifik örtü protein primerleri kullanılarak Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile taranmıştır (Loconsole ve ark., 2012). Adana ilinden 55, Mersin ilinden 20 ve Hatay ilinden 25 örnek etmen açısından incelenmiştir.

Çizelge 2. RT-PCR çalışmasında kullanılan primerler  
Table 2. Primers used in the RT-PCR study

Primer	Primer dizilimi (5'-3')	Ürün büyüklüğü (bp)
7081 forward 7560 reverse (Loconsole ve ark., 2012)	5'- ACCTCACGATGGACCACGTT-3' 5'- CAGAAAATGGAAACTGAAAGCCTG -3'	479 bp
1 forward 921 reverse (Loconsole ve ark., 2012)	5'- GAAAAGCAAACAGTAACAAACACACCC -3' 5'- GGGCAAGAGCATTGGGTATCT -3'	921 bp

## Elektroforez Çalışmaları ve Örneklerin Görüntülenmesi

RT-PCR çalışmaları sonucunda elde edilen DNA örnekleri elektroforez cihazında, %1.5'lik agaroz jelde, 110 miliamperde yürütülmüş ve UV ışık altında amplikonların var olup olmadığına bakılmıştır.

## Sekans Analizleri

Agaroz jel görüntüleme sonrası pozitif bulunan izolatlar sekans analizi için hizmet alımına gönderilmiştir. Sekans analizi sonucu elde edilen baz dizilimleri, NCBI veri tabanında BLASTn metoduyla seçilen kayıtlı CYVCV izolatları ile karşılaştırılmıştır. Soy ağacı Mega X programı ve Neighbour Joining yöntemi ile 1000 bootstrap tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Sequence Demarcation Tool Version 1.2 (SDTv1.2) yöntemi kullanılarak örtü proteinine ait nükleotid benzerlik oranları belirlenmiştir.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### Sörvey Çalışmaları ve Fidanlık Gözlemleri

CYVCV etmeninin Adana ilinde ilk bildiriminden sonra eradikasyon işlemi gerçekleştirilerek ticari bahçelerin sökümüne gidilmiş ve Tarım ve Orman Bakanlığı bu etmeni karantinaya tabi etmen olarak bildirmiştir (EPPO, 2022). Bu çalışmada Mersin ve Hatay illerinde yer alan turuncgil fidanlıklarında sörvey çalışması gerçekleştirilerek fidanlıkta bulunan bitkiler CYVCV hastalığının makroskobik belirtilerini açısından değerlendirilmiştir. Hastalığın başlıca karakteristik belirtisi olan yaprak damarlarında sarı renkli açılmaları ve klorotik lekeler gösteren bitkilerin enfekteli olabileceği düşünülerek örnek alınmaya gidilmiştir. CYVCV etmeninin moleküler tanısı yapıldıktan sonra fidanlık sahiplerine durum bildirilmiş ve bu fidanların imha edilmesi gerektiği belirtilmiştir ve enfekteli bitkilerin imhası

gerçekleştirilmiştir. Fidanlıklarda en fazla semptom gözlenen türler limon ve turunc çeşitleri olmuştur. Özellikle Hatay ve Mersin ili fidanlıklarında Kütdiken ve Zagara Bianca limon çeşidinde hastalık etmeninin makroskobik belirtilerini belirgin şekilde gözlenmiştir (Şekil 1). Fidanlıklarda gözlenen başlıca belirtiler daha önce Bozdoğan ve Önelge (2016)'nin bildirdiği belirtilerle benzerdir. Limon yapraklarının kenarlarında defomasyonlar, yaprak damarlarında sarı renkli çizgi formunda renk açılmaları, yaprak yüzeyinde ceplenmeler ve yaprağın arka yüzeyinde damarlarda su emmiş gibi lekelerin oluşumu gözlenen belirtilerdir. Bu belirtiler hastalığın bildirildiği Hindistan ve Pakistan'da belirtilen belirtilerle de benzerdir (Catara ark., 1993; Alshami ve ark., 2003). Ayrıca Çin'de Zhou ve ark., (2017) CYVCV etmeni için benzer belirtiler bildirmişlerdir.

### Turuncgil Bahçesi Gözlemleri

Bu çalışmada Adana, Mersin ve Hatay illerinde toplam 150 turuncgil bahçesi görsel olarak incelenmiştir. CYVCV etmeni ile enfekteli olabilecek 90 örnek toplanmıştır. Limon bahçelerinde de fidanlıklarda gözlenen belirtilere benzer şekilde yapraklarda sarı renkli açılmalar, yaprak defomasyonları, gondol yaprak oluşumları, yaprağın normalden daha küçük gelişmesi ve yaprak arka yüzeyinde su emgisi lekelerin bulunması belirlenen belirtiler olmuştur (Şekil 2).

Sörvey yapılan bu bahçelerin bitişiğinde ve yakınında bulunan bahçeler gözlenerek benzer belirtilerin varlığına bakılmıştır. Bazılarında CYVCV'nin makroskobik belirtilerini gözlenirken bazı bahçelerde yine turuncgil virüs hastalığı olan citrus chlorotic dwarf virus (CCDaV; *Citlodavirus citri*)'ünün makroskobik belirtilerini gözlenmiştir. Bu iki virüs farklı genetik yapıya sahiptir. Ancak bu virüsün oluşturduğu belirtilerin pek çoğu birbirine oldukça benzerdir (Önelge ve ark., 2011).



Şekil 1. a) Sörvey yapılan ve RT-PCR çalışması sonucu CYVCV etmeni ile enfekteli bulunan turunçgil fidanlığı, b) fidanlıkta bulunan limon yapraklarında deformasyonlar, yaprak arka yüzeyinde damarlarda su emgisi lekelerinin oluşumu, c) yaprak yüzeyinde sarı renk açılmaları.

*Figure 1. a) Citrus nursery that was surveyed and found to be infected with CYVCV as a result of RT-PCR study, b) deformations on lemon leaves in the nursery, formation of water soaked spots on the veins on the back surface of the leaf, c) yellow discoloration on the leaf surface.*



Şekil 2. Sörvey yapılan ve RT-PCR çalışması sonucu CYVCV etmeni ile enfekteli bulunan limon ağacı yapraklarında gözlenen simptomlar, a) yapraklarda sarı renk açılmaları, b) yaprak arka yüzeyinde su emgisi leke oluşumu, c) yaprak deformasyonları, gondol yaprak oluşumu, yaprağın normalden daha küçük gelişmesi.

*Figure 2. RT-PCR investigations revealed symptoms on lemon tree leaves that were checked and confirmed to be CYVCV-infected, a) yellow discoloration on leaves, b) water-soaked spot formation on the back surface of the leaf, c) leaf malformations, smaller-than-normal leaf development, and gondola growth of leaves.*

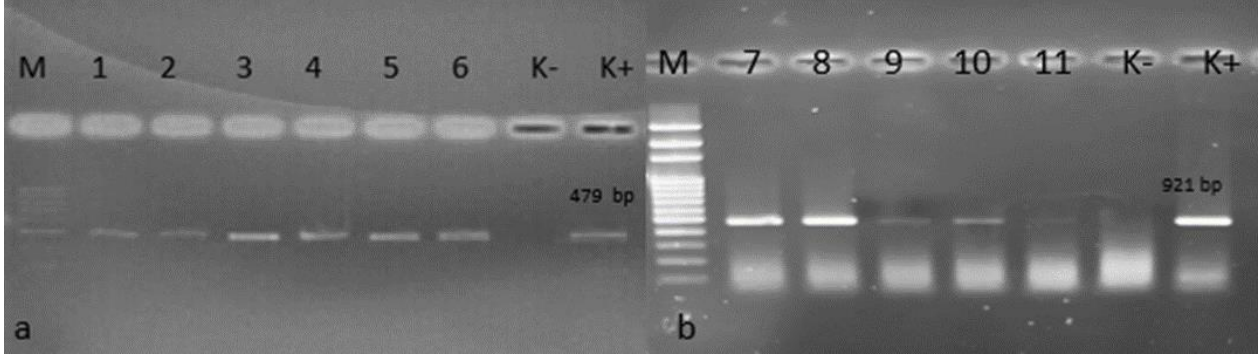
CYVCV etmeni ile enfekteli limon ağaçlarının yakınında yer alan mandarin ve greylort ağaçlarından da örneklemeler yapılmıştır. CYVCV etmeni ülkemizde mandarin ve greylortlarda simptom oluşturmamakta ancak latent olarak bulunabilmektedir (Önelge, 2002). Çin'de yürütölen bir çalışmada da etmenin portakallarda latent olarak

kaldığı belirtilirken (Zhang ve ark., 2019), Pakistan'da bazı portakal çeşitlerinde etmenin hafif yaprak beneklenmesi simptomu oluşturduğu bildirilmiştir (Catara ve ark., 1993). Ancak bu çalışma kapsamında RT-PCR çalışmalarıyla enfekteli olarak belirlenen portakal ve greylort bahçelerinde herhangi bir makroskobik simptoma rastlanmamıştır.

### RT-PCR Çalışmaları

Arazi gözlemleri sonucunda Adana, Mersin ve Hatay illerinden toplanan 100 bitki örneğinden TNA'lar bitkisel dokulardan ayrıştırılmıştır. Elde edilen TNA'lar RT-PCR çalışmalarında kullanılmıştır. Örtü protein bölgesine ait iki farklı primer çiftinin kullanıldığı çalışmada araştırılan 100 örnekten 35

tanenin CYVCV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Enfekteli bulunan izolatlardan 8 tanesi fidanlık, 27 tanesi ise bahçeden alınan izolatlardır. Adana ilinden toplanan 55 örneğin 20 tanesi 479 nükleotid seviyesinde bant oluşturmuştur. Mersin ilinde 10 örnek, Hatay ilinde ise 5 örnek hastalıkla enfekteli olarak belirlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Test edilen örneklerin %1.5 agaroz jel görüntüleri, a) M; 100 bp DNA markör, RT-PCR çalışması sonucu pozitif bulunan ve sekans analizi için seçilen CYVCV izolatları (1-2: Mersin, 3-4: Adana, 5-6: Hatay), K-: Negatif kontrol, K+: Pozitif kontrol, b) M: 1 kb DNA markör, 7-8: Hatay ili Zagara Bianca limon izolatları, 9-10: Mersin ili Kütdiken limonu fidanlık izolatları, 11: Mersin ili Zagara Bianca limonu fidanlık izolatu, K-: Negatif kontrol, K+: Pozitif kontrol.

Figure 3. 1.5% agarose gel pictures of the examined samples. a) M; 100 bp DNA ladder, CYVCV isolates found positive as a result of RT-PCR study and selected for sequence analysis (1-2: Mersin, 3-4: Adana, 5-6: Hatay), K-: Negative control, K+: Positive control, b) M: 1 kb DNA ladder, 7-8: Hatay province Zagara Bianca lemon isolates, 9-10: Mersin province Kütdiken lemon nursery isolates, 11: Mersin province Zagara Bianca lemon nursery isolate, K-: Negative control, K+: Positive control.

RT-PCR çalışmaları sonucunda makroskobik simptom göstermeyen portakal ve greyfurt ağaçlarında da virüs etmeninin latent olarak kalabildiği görülmüştür. Bu durum enfekteli ağaçların inokulum kaynağı olabileceğini ve özellikle vektör böceklerle taşınan bir etmen olan CYVCV etmeninin yayılmasında etkili olabileceği sonucunu ortaya koymaktadır. Nitekim Çukurova Bölgesi'nde 1980'li yıllarda ortaya çıkan CCDaV etmenin vektörü olan *Parabemisia myricae* on yıl gibi kısa bir sürede tüm Mersin ve Adana ili yetiştiricilik alanlarına yayılmıştır (Korkmaz ve ark., 1994; Bozan & Önelge 2018). CYVCV etmeninin taşıyıcı vektörlerinden olan *A. gossypii* ve *A. craccivora* bölgemizde oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Bu durum etmenin yayılmasında önemli bir rol oynamakta ve eradikasyon işlemlerine rağmen etmenin varlığının tehlikesini göstermektedir. Her üç ilde de enfekteli bulunan limon çeşidi Zagara Bianca limonu olmuştur. Bu çeşit hem arazide hem de fidanlıkta enfekteli olarak belirlenmiş ve hemen imhası gerçekleştirilmiştir. Enfekteli olarak belirlenen 35 izolattan 6 tanesi 479 bp'da amplifikon oluşturan primer çifti kullanılarak RT-PCR yöntemiyle çoğaltılarak sekans analizine gönderilmiştir.

### Sekans Analizleri

Sekans sonuçları elde edilip baz dizilimleri BLAST analizi ile National Center for Biotechnology

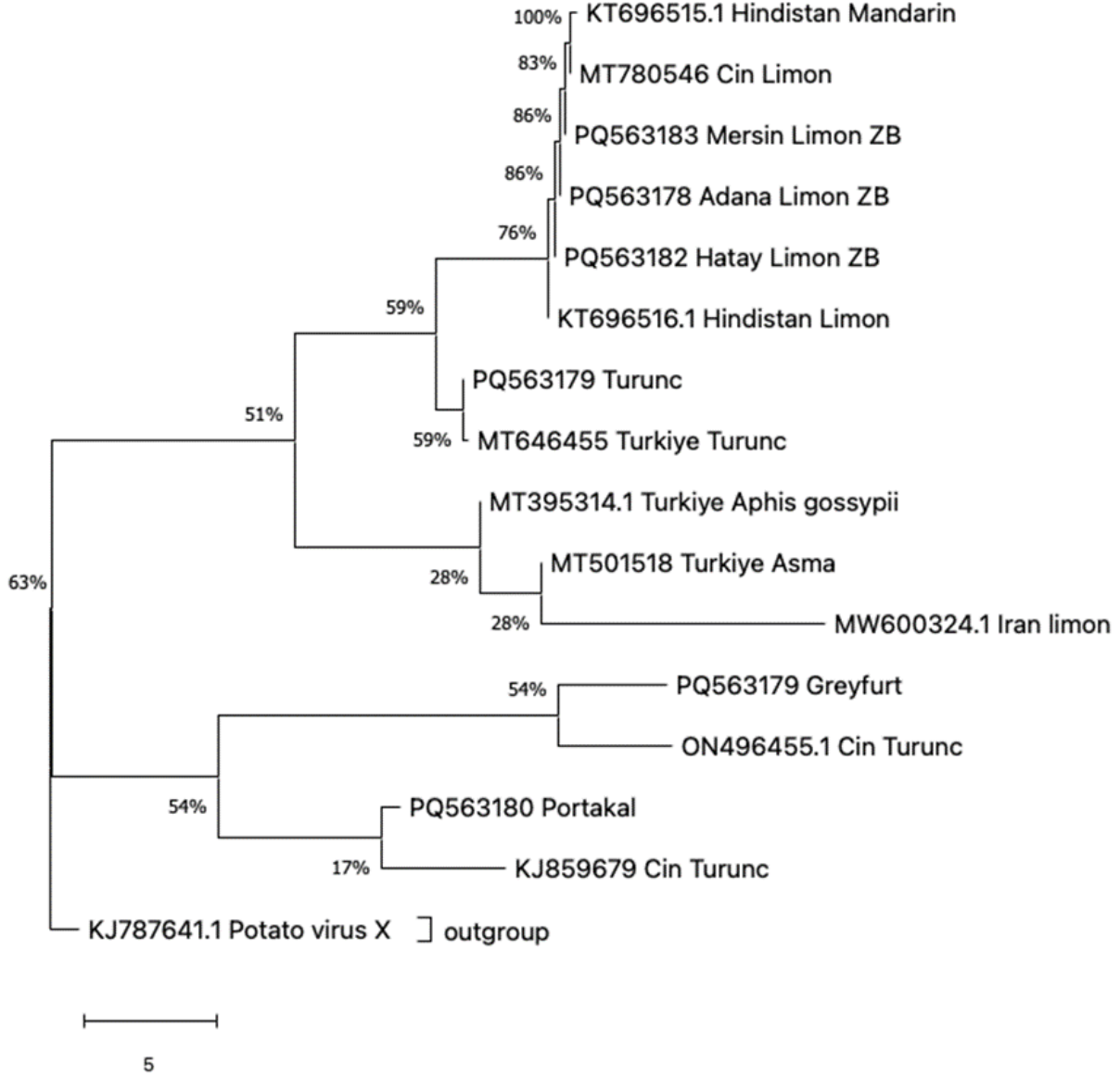
Information (NCBI) veri tabanında kayıtlı izolatlarla karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen örtü proteinine ait nükleotid dizilimleri Çizelge 3'de belirtilen farklı CYVCV etmenleri ile karşılaştırıldığında %97'nin üzerinde bir oranla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Neighbor-joining metodu ile 1000 tekrarlı bootstrap değeri uygulanarak oluşturulan soy ağacında Adana, Mersin ve Hatay illerinden elde edilen Zagara Bianca limon çeşidine ait örneklerin oldukça birbirine benzer olduğu, aynı kümede Hindistan'dan izole edilen CYVCV etmenine ait limon ve mandarin izolatlarıyla bir arada bulunduğu ortaya çıkmıştır. Adana ilinden alınan turunc izolatı NCBI verilerinde kayıtlı olan turunc izolatı (MT646455) ile aynı kümede yer almıştır. Bu çalışmada greyfurt ve portakaldan elde edilen CYVCV izolatları soy ağacında Çin'in iki farklı turunc izolatıyla aynı küme içinde gruplanmıştır (Şekil 4).

Sequence Demarcation Tool Version 1.2 (SDTv1.2) yöntemi kullanılarak, bu çalışmada elde edilen izolatlar ile NCBI'dan seçilen CYVCV izolatları arasındaki örtü proteinine ait nükleotid benzerliği yaklaşık %97 üzerinde olduğu belirlenmiştir (Şekil 5). Genel olarak değerlendirdiğimizde Hindistan, Pakistan ve sonrasında ülkemizde belirlenen CYVCV etmeni enfekteli aşı gözü yanında vektör olarak afidlerle (*A. craccivora* ve *A. Spiraecola*) ve beyaz

sinikle (*D. citri*) taşınabilen turunçgil ve yabancı otları enfekte edebilen bir hastalık etmenidir (Zhou ve ark.,

2017; Önelge ve ark., 2016).



Şekil 4. CYVCV izolatlarının genom nükleotid dizilerinin MEGAX programında Neighbor-joining metodu ile 1000 tekrarlı bootstrap değeri uygulanarak oluşturulan filogenetik ağaç.

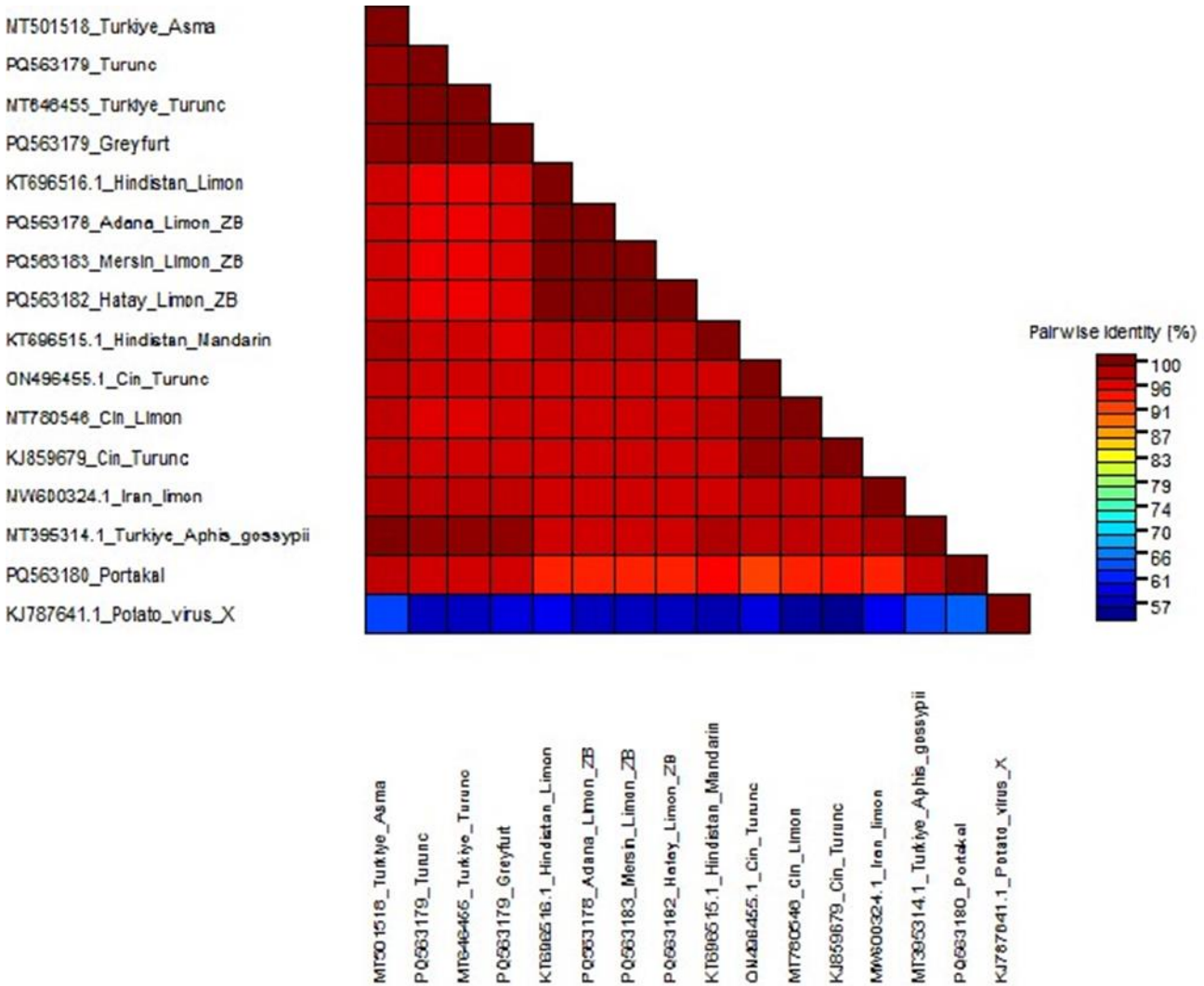
Figure 4. Phylogenetic tree constructed from genome nucleotide sequences of CYVCV isolates using the Neighbor-joining method using MEGAX. Bootstrap values for 1,000 replicates are indicated at the main branches.

Bu çalışmada ele alınan izolatlar farklı turunçgil türlerine ait olup dört farklı ülkeyi kapsamaktadır. Türkiye’de CYVCV vektörü olarak afidlerden elde edilen ve NCBI’ya kaydedilen MT395314 no’lu izolat İran limon izolatıyla aynı kümede yer alıp %97 benzerlik göstermiştir (Hashmian ve ark., 2017). Tüm izolatların birbiri ile olan benzerlikleri yaklaşık %97’nin üzerindedir. Elde edilen bu sonuç etmenin araştırılan kısmi gen bölgesi bakımından çok büyük bir farklılık göstermediğini ortaya koymaktadır. Benzer şekilde Zhou ve ark., (2017)’ları CYVCV

etmeninin sekans analizlerini değerlendirdikleri bir çalışmada kendi izolatları ve Adana ilinden elde edilen izolatın (JX040635.1) aynı kümede yer aldığı belirtilmiştir ve %97 oranında birbiri ile benzer olduğunu bildirmişlerdir (Zou ve ark., 2017). Bu çalışmada da Çin izolatı (ON496455) Adana ilinden elde edilen ve nükleotid dizilimi belirlenen greyfurt izolatıyla %98 benzerlik göstermiştir. Bu sonuçlarda CYVCV etmeninin örtü protein açısından çalışılan bölgede büyük farklılıklar göstermediğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan NCBI'da kayıtlı farklı CYVCV ve dış grup olarak seçilen izolatlar ve erişim numaraları.  
Table 3. Different CYVCV isolates and outgroup isolate accession numbers registered in NCBI in this study.

NCBI Erişim Numarası	İzolat
KT696516.1	Hindistan (limon)
MW600324.1	İran (limon)
MT780546.1	Çin (limon)
MT646455.1	Türkiye (turunç)
ON496455.1	Çin (turunç)
KJ859679.1	Çin (turunç)
KT696515.1	Hindistan (mandarin)
MT501518.1	Türkiye (asma)
MT395314.1	Türkiye ( <i>Aphis gossypii</i> )
KJ787641.1	Potato virus X (dış grup)
PQ563183	Mersin limon ZB (bu çalışma)
PQ563182	Hatay limon ZB (bu çalışma)
PQ563178	Adana limon ZB (bu çalışma)
PQ563179	Adana turunç (bu çalışma)
PQ563179	Adana greyfurt (bu çalışma)
PQ563180	Adana portakal (bu çalışma)



Şekil 5. Sequence Demarcation Tool Version 1.2 (SDTv1.2) yöntemi kullanılarak, bu çalışmada elde edilen izolatlar ile NCBI'dan seçilen CYVCV izolatları arasındaki örtü protein gen bölgesine ait nükleotid dizilim benzerlikleri.  
Figure 5. Nucleotide sequence similarities of the coat protein gene region between the isolates obtained in this study and CYVCV isolates selected from NCBI using the Sequence Demarcation Tool Version 1.2 (SDTv1.2) method.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

CYVCV ülkemizde yaklaşık 20 yıl önce bildirilmiş ve hastalıkla enfekteli ağaçlara eradikasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ancak günümüzde çok yoğun olmasa da bazı turuncgil yetiştiricilik alanlarında ve fidanlıklarda hastalığın varlığı gözlenmektedir. Yürütülen bu çalışma sonucunda etmenin limon, turunc ve latent olarak portakal ve greylort çeşitlerinde varlığı belirlenmiştir. CYVCV'nin örtü proteinine ait nükleotid dizilimleri ve NCBI kayıtlarında yer alan diğer ülkelere ait örtü protein dizilimleri doğrultusunda yürütülen SDT 1.2 analiz sonucunda etmenin kendi arasında ve diğer ülkelere bildirilen izolatlarla nükleotid benzerliğinin %97 ve üzerinde olduğu ve yüksek bir benzerlik oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Virüs hastalıklarında erken tanılama oldukça önemlidir. Özellikle eradikasyon programına alınmış etmenlerin rutin sörveylerinin gerçekleştirilmesi, RT-PCR gibi hızlı tanılama yöntemlerinin kullanılması ve saptanan enfekteli örneklerin hızla eradike edilmesi etmenlerin yayılmasını önlemede başarı sağlamaktadır. Ayrıca CYVCV gibi turuncgillerde vektör ile taşınan virüsler açısından vektör mücadelesi yanında mekanik de taşınabilen bu gibi etmenlerde alet ve ekipmanların sterilizasyonu da oldukça önemlidir. Bu çalışma 2016-2022 yılları arasında toplanan izolatlarla gerçekleştirilmiştir. Örnek alınan ticari bahçe ve fidanlıklarda RT-PCR sonucunda enfekteli bulunan ağaçlar ve fidanlar eradike edilmiştir. Belirli aralıklarla fidanlık ve bahçe gözlemleri sonucunda enfekteli olabilecek bitki materyalleri incelenmekte Tarım ve Orman Bakanlığı'nda konu ile ilgili birimler bilgilendirilerek, eradikasyon işlemleri rutin olarak sağlanmaktadır. Sağlıklı ve sertifikalı üretim materyali ile yeni turuncgil bahçelerinin tesis edilmesi ve karantina önlemlerinin yeterince alınması vektör ile taşınan bu etmenin epidemisi açısından oldukça önemlidir.

### Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## KAYNAKLAR

- Alshami, A. A. A., Ahlawat, Y. S., & Pant, R. P. (2003). A hitherto unreported yellow vein clearing disease of citrus in India and its viral etiology. *Indian Phytopathology*, 56(4), 422-427.
- Anonim, (2017). *Tarım ve Orman Bakanlığı Turuncgil sarı damar açılması virüsü survey talimatı* <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/D>

- B\_Bitki\_Sagligi/Survey/10Turuncgil\_sari\_damar\_a\_cilmasi\_virusu\_Survey\_Talimati\_2017.pdf. (Alınma Tarihi: 06.05.2024).
- Bovey, R. (1965). Identification of viruses in clonally propagated plants having one or more viruses. *Proceedings Conference on Virus And Vector on Perennial Hosts With Special Reference to Vitis*, Davis, California, 1965, pp. 223-227.
- Bozan, O., & Önelge, N. (2018). Adana, Mersin ve Hatay illerinde Citrus chlorotic dwarf associated virus hastalığının yaygınlığı. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(1), 57-62.
- Bozdoğan, A. ve Önelge N., (2016). *Turuncgil sarı damar açılması (TSDAV) hastalığının Farklı turuncgil türlerinde moleküler olarak tanınması (Tez no 621561)*. [Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Catara, A., Azzaro, A., Davino, M., & Polizzi, G. (1993). Yellow vein clearing of lemon in Pakistan. *Proceedings 12th Conference of the International Organization of Citrus Virologist*, New Delhi, India, 1993, pp. 364-367.
- Chen, H. M., Li, Z. A., Wang, X. F., Zhou, Y., Tang, K. Z., Zhou, C. Y., Zhao, X. Y., and Yue, J. Q. (2014). First report of Citrus yellow vein clearing virus on Lemon in Yunnan, China. *Plant Disease*, 98(12), 1747-1747. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-14-0343-PDN>.
- EPPO, (2022). *European and Mediterranean Plant Protection Organization*. [https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant\\_quarantine/alert\\_list\\_viruses/citrus\\_yellow\\_vein\\_clearing\\_virus](https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/alert_list_viruses/citrus_yellow_vein_clearing_virus). (Alınma Tarihi: 20.06.2024).
- Hashmian, B. S. M., & Aghajanzadeh, S. (2017). Occurrence of Citrus yellow vein clearing virus in citrus species in Iran. *Journal of Plant Pathology*, 99(1), 290.
- Hewitt W.B. and Gifford E.M. (1956). Symptoms for identifying Fanleaf in dormant grapevines. *The Bulletin Department of Agriculture State of California*, 45 (3), 249-252.
- Korkmaz, S., Çınar, A., Bozan, O., Kersting, U. (1994) Distribution and natural transmission of a new whitefly-borne virus disease of citrus in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. In *Proceedings of the 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, Aydın, 1994, pp 437-439.
- Loconsole, G., Önelge, N., Potere, O., Giampetruzzi, A., Bozan, O., Satar, S., De Stradis, A., Savino, V., Yokomi, R. K., and Saponari, M. (2012). Identification and characterization of Citrus yellow vein clearing virus, a putative new member of the genus Mandarivirus. *Phytopathology*, 102(12), 1168-1175. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-12->



- 0140-R.
- Murray, M. G., & Thompson, W. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic acids research*, *8*(19), 4321-4326. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>.
- Önelge, N. (2002). First report of yellow vein clearing of lemons in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology* *32*, 53-55.
- Önelge, N., Satar, S., Elibuyuk, O., Bozan, O., & Kamberoolu, M. (2011). Transmission studies on Citrus yellow vein clearing virus. In 18th Conference of the International Organization of Citrus Virus, Brazil, 2011, pp. 11-14.
- Önelge, N., Bozan, O. and Gök Güler, P. (2016). First report of Citrus yellow vein clearing virus infecting new natural host plants in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, *98*(2), 369-377.
- Zhang, Y. H., Liu, C. H., Wang, Q., Wang, Y. L., Zhou, C. Y., & Zhou, Y. (2019). Identification of *Dialeurodes citri* as a vector of Citrus yellow vein clearing virus in China. *Plant Disease*, *103*(1), 65-68. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0911-RE>.
- Zhang, Y., Wang, Y., Wang, Q., Cao, M., Zhou, C., & Zhou, Y. (2018). Identification of *Aphis spiraeicola* as a vector of Citrus yellow vein clearing virus. *European Journal of Plant Pathology*, *152*, 841-844.
- Zhou, Y., Chen, H. M., Cao, M. J., Wang, X. F., Jin, X., Liu, K. H., & Zhou, C. Y. (2017). Occurrence, distribution, and molecular characterization of Citrus yellow vein clearing virus in China. *Plant Disease*, *101*(1), 137-143. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-16-0679-RE>.
- Zhou, Y., Ma, D.D., Chen, H.M., Wang, X.F., He, S.G., and Zhou, C.Y. (2016). A rapid and efficient purification of Citrus yellow vein clearing virus by sucrose cushion ultracentrifugation. *Journal of Plant Pathology* *98*(1), 159-161. <http://www.jstor.org/stable/24892638>.