PAPER DETAILS

TITLE: Ege Bölgesi Bag Alanlarinda Fitoplazma Hastaliklarinin ve Olasi Vektör Böcek Türlerinin Belirlenmesi

AUTHORS: Serpil ERILMEZ,Aydan KAYA,Nursen ÜSTÜN,Neziha GÜVEN,Ferhunde Özlem ALTINDISLI,Fatma ÖZSEMERCI

PAGES: 264-276

ORIGINAL PDF URL: https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/2857986

ANADOLU, J. of AARI
ISSN: 1300-0225 (Print)
E-ISSN: 2667-6087 (Online)
2022, 32 (2): 264-276
DOI: 10.18615/anadolu.1225552

Ege Bölgesi Bağ Alanlarında Fitoplazma Hastalıklarının ve Olası Vektör Böcek Türlerinin Belirlenmesi

Serpil ERİLMEZ[1*] ***Aydan KAYA[2]*** ***Nursen ÜSTÜN[3]***
Neziha GÜVEN[4] ***F. Özlem ALTINDİŞLİ[5]*** ***Fatma ÖZSEMERCİ[6]***

[1,2,3,4,5,6] Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bornova-İzmir/TÜRKİYE

[1]https://orcid.org/0000-0001-7954-2416 [2]https://orcid.org/0000-0003-4599-374X [3]https://orcid.org/0000-0002-6255-3861
[4]https://orcid.org/0000-0002-6433-5171 [5]https://orcid.org/0000-0001-9385-3886
[6]https://orcid.org/0000-0003-2234-1810

[*]Corresponding author (Sorumlu yazar): serpil.erilmez@tarimorman.gov.tr

Received (Geliş tarihi):12.04.2022 Accepted (Kabul tarihi): 08.11.2022

ÖZ: *Bu çalışma 2013-2015 yıllarında, Ege Bölgesi'nde Çanakkale, Denizli, İzmir ve Manisa illerinde bağlarda fitoplazma hastalık etmenleri* ***Candidatus Phytoplasma vitis (Flavescence doree (FD))*** *ve* ***Candidatus Phytoplasma solani (Bois noir (BN))*** *moleküler yöntemlerle belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma alanını kapsayan 4 ilin, 13 ilçesindeki 119 bağda Eylül-Kasım aylarında tesadüfi örnekleme yöntemine göre sürveyler gerçekleştirilmiştir. Survey alanında gelişme geriliği, yapraklarda renk değişikliği, kızarma, sararma, içe ve aşağı doğru yaprak kıvrılması, düzensiz olgunlaşma belirtileri gösteren toplam 194 asmanın yıllık sürgünlerinden yaprak ve sürgün örnekleri alınmıştır. Hastalık etmenlerinin tanılanması moleküler yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Multiplex nested PCR yöntemiyle yapılan tanılamada 22 adet örnek FD'nin yer aldığı 16 Sr V grubu, 14 örnek ise BN'nin bulunduğu 16 Sr XII grubu için pozitif reaksiyon vermiştir. Yapılan çift yönlü DNA sekans analizinden elde edilen verilerin NCBI-BLAST analizine göre 16 Sr V grubuna ait olduğu belirlenen 22 adet izolat gen bankasında kayıtlı* ***Candidatus Phytoplasma vitis*** *izolatları ile % 97'nin altında benzerlik gösterdiğinden tür düzeyinde bu etmenin varlığı doğrulanmamıştır. Öte yandan, 16 Sr XII grubunda yer alan 14 adet izolatın 2 adedi gen bankasında kayıtlı* ***Candidatus Phytoplasma solani*** *(BN) izolatları (Acc. No. JQ977744.1) ile % 99 benzerlikte saptanmış ve bu izolatlar* ***Candidatus Phytoplasma solani*** *olarak tanımlanmıştır. Söz konusu 2 izolat Denizli ili Bekilli ilçesinden alınan örneklerdir. Vektör böceklerin saptanabilmesi amacıyla, hastalık etmenlerinin tespit edildiği bitkilerde görülen Hemiptera takımına ait böcekler toplanmıştır. Teşhis sonucunda çalışmada elde edilen türlerin fitoplazma hastalığının vektörü olduğu bilinen türlerden farklı olduğu belirlenmiştir. Ege Bölgesi bağ alanlarında BN saptanmasına rağmen yayılmasında etkili olan vektör böceklerin bu alanlarda bulunmadığı ortaya koyulmuştur.*

Anahtar kelimeler: *Fitoplazma hastalıkları, asma, sürvey, moleküler metotlar, Hemiptera.*

Determination of Grapevine Phytoplasma Diseases and Possible Vectors in the Aegean Region

ABSTRACT: *This study was conducted to use molecular methods to determine the phytoplasmas* ***Candidatus Phytoplasma vitis (Flavescence doree (FD))*** *and* ***Candidatus Phytoplasma solani (Bois noir (BN))*** *in vineyards of Çanakkale, Denizli, İzmir and Manisa provinces in the Aegean Region between 2013-2015. In these locations, surveys with random sampling were carried out between September and November. In the areas surveyed, vine stocks exhibiting typical symptoms such as: irregularly or stunted developing vines, colour change and downward curling of leaves, turning red, turning pale, etc. were sampled and leaf and sucker samples were taken from yearly suckers. Totally 119 vineyards were surveyed in 13 districts of Denizli, Manisa, İzmir and Çanakkale and samples were collected from 194 vines. Molecular techniques were used to identify phytoplasma and its presence. In the multiplex nested PCR tests 22 samples gave positive reactions for 16 Sr V group including FD, however 14 samples gave positive reactions for 16 Sr XII group in which BN is involved. The presence of the FD was not confirmed because NCBI-BLAST analysis of the double-stranded DNA sequencing data of 22 strains belonging to 16 Sr V*

*group showed 97% similarity with **Candidatus Phytoplasma vitis** strains found in GenBank. On the other hand, 2 out of 14 strains from 16 Sr XII group indicated 99% similarity with **Candidatus Phytoplasma solani** (BN) strain (Acc. No. JQ977744.1) in GenBank and these strains were identified as **Candidatus Phytoplasma solani**. These two isolate samples were taken from Bekilli District, Denizli Province. Insects belonging to Hemiptera Order were collected from infected grapevines in order to detect the presence of vector species. As a result of morphological identification, it was revealed that collected specimen are different from species known as vectors of BN. Despite the presence of BN in the Aegean Region, vector insects that spread the disease have not been found.*

Keywords: *Phytoplasma diseases, grapevine, survey, molecular methods, Hemiptera.*

GİRİŞ

Bağcılık, Türkiye ekonomisinde ayrı öneme sahip bir tarımsal faaliyettir. Dünyada bağcılık için en elverişli iklim kuşağında yer alan ülkemiz, çok eski bir bağcılık kültürüne de sahiptir. Arkeolojik bulgulara göre, asma türünün ilk olarak Kafkasya ve Anadolu'da kültüre alındığı ve zamanla buradan dünyanın hemen her yerine dağıldığı kabul edilmektedir.

Dünya ülkeleri arasında, bağ alanı yönünden Türkiye; İspanya, Fransa, İtalya ve Çin'den sonra 5.sırada (467 bin ha), yaş üzüm üretimi yönünden ise Çin, İtalya, A.B.D., Fransa ve İspanya'nın ardından 6. (yaklaşık 3,9 milyon ton) sıradadır. Toplam üzüm üretimimiz içerisinde sofralık üzümün payı %52,70 (2.218.056 ton) iken, kurutmalık üzüm %36,46 (1.534.499 ton), şaraplık üzüm ise %10,84'lük (456.353 ton) bir paya sahiptir (Anonymous, 2020). Bölgeler itibarı ile üretimimiz incelendiğinde Ege Bölgesi'nde çekirdeksiz kuru üzüm, Akdeniz Bölgesi'nde ilk turfanda sofralık üzüm, Marmara Bölgesi'nde sofralık ve şaraplık üzüm, İç Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde ise şaraplık, şıralık, sofralık, çekirdekli kurutmalık üzüm yetiştiriciliğinin gelişme gösterdiği görülmektedir. Türkiye üzüm üretimi TÜİK 2019 verilerine göre üretimin %38'i Manisa, %11'i Denizli, %8'i Mersin, %4'ü İzmir, %3'erlik kısmı Gaziantep ve Mardin illerinden ve %34'lük kısmı da diğer illerden sağlanmıştır. Sofralık üzüm üretiminin; %22'si Manisa, %15'i Mersin, %12'si Denizli ve %4'erlik kısmı da Gaziantep ve Diyarbakır'dan elde edilmektedir. Kurutmalık üzüm üretiminin %68'i Manisa, %6'sı Denizli, %4'ü İzmir ve %3'erlik kısmı da Mardin ve Konya'dan, kurutmalık çekirdeksiz üzüm üretiminin ise %89'u Manisa, %6'sı İzmir ve %5'i de Denizli'den sağlanmaktadır. Şaraplık üzümün %20'si Denizli, %12'si Kilis, %10'u Nevşehir, %9'u Tokat ve %8'i Elazığ'da üretilmektedir. Türkiye üzüm ihracatı ile ülke ekonomisi için önemli bir gelir kaynağını oluşturmaktadır. 2019 yılı dünya kuru üzüm ihracat miktarı 814 bin ton, ihracat değeri ise 1,8 milyar dolar olup ihracat miktarı bir önceki yıla göre %10, ihracat değeri ise %1 düşüş göstermiştir (Anonim, 2020).

Fitoplazmalar floemde yaşayan, tek hücreli ve hücre duvarı olmayan prokaryotik organizmalardır (Anonymous, 2011a). Çok sayıda bitki türünü hastalandıran fitoplazmalar 16 S rDNA genindeki farklılıklara göre sınıflandırılmış ve 40'ın üzerinde fitoplazma grubu belirlenmiştir (Zhao ve Davis, 2016).

Asmalarda hastalığa neden olan en önemli fitoplazmalar; *Candidatus Phytoplasma vitis* (*Flavescence dorée* (FD) Elm yellows grubu, 16 S rDNA V ve *Candidatus Phytoplasma solani* (*Bois noir* (BN), Stolbur phytoplasma grubu, 16 S rDNA XII'dir. İki farklı grupta yer alan bu fitoplazmalar asmalarda renk değişimi, gelişme geriliği, yapraklarda aşağı doğru kıvrılma, meyve kalitesinde azalma şeklinde birbiri ile benzer belirtiler oluştururlar (Anonymous 2011a, 2011 b).

Fitoplazmalar aşı yoluyla ve Hemiptera takımından vektör böcekler ile taşınmaktadır. Hemiptera türleri bitkilerin vejetatif aksamından özellikle yaprak ve genç sürgünlerinden sokucu-emici ağız yapılarıyla bitki özsuyunu emerler. Ovipozitörleriyle de yaprak doku ve damarlarının içine yumurta bırakırlar. Böylece bitkide emgi yapılan yerlerde klorofil azalması, salgılanan toksik madde nedeniyle iletim demetlerinde tıkanma ve bitkinin fizyolojik düzeninde farklılaşmaya meydana gelir.

Böcekler, bitkilerde hastalık etmeni olan virüs, riketsia, bakteri ve fitoplazmaları sağlam bitkiye taşıyıp bulaştırarak hastalık etmeninin kısa sürede yayılmasına neden olurlar (Lodos, 1986; Sforza ve ark., 1998; Kramer 1981, Kalkandelen, 1987). Hemiptera takımından özellikle Cicadellidae ve Cixiidae familyalarına ait türler fitoplazmaların taşınmasında önemlidir (Ertunç, 2013).

Asma fitoplazmalarından FD'nin vektörünün *Scaphoideus titanus* Ball. (Hemiptera: Cicadellidae) olduğu bilinse de (Boudon-Padieu, 2003) *Dictyophara europaea* (L.)-(Hemiptera Cicadellidae) (Lessio ve ark., 2007; Lessio and Alberto, 2008), *Oncopsis alni* (Schrank) (Boudon-Padieu, 2003; Mehle ve ark., 2011a,b) ve *Orientus ishidae* (Matsumura) (Mehle ve ark., 2010, 2011a,b) türleri de potansiyel vektörleri arasında gösterilmektedir. BN fitoplazmasının ise ana vektörü *Hyalesthes obsoletus* Signoret (Hemiptera, Fulgoromorpha: Cixiidae) (Boudon-Padieu 2003; Maixner, 2010 a, b) olarak bilinmektedir. Ancak bazı ülkelerde bağ alanlarında *Reptalus panzeri* (Low) (Hemiptera: Cixiidae) (Palermo ve ark., 2004), *Goniagnathus guttulinervis* (Kirschbaum) (Garau ve ark., 2005), *Neoaliturus fenestratus* (Herrich-Schäffer), *Circulifer haematoceps* (Mulsant and Rey), *Macrosteles quadripunctulatus* (Kirschbaum), *Orosius orientalis* (Matsumura) (Hemiptera: Cicadellidae) ve yeni bazı Auchenorrhyncha (Olivier ve ark., 2014) türlerinin bünyesinde BN etmeni tespit edilerek potansiyel vektör oldukları belirlenmiştir.

Dünyanın farklı ülkelerinde rapor edilen asma fitoplazmaları ile ilgili Türkiye'de çok sınırlı çalışma bulunmaktadır (Ertunç ve ark., 2011, Ertunç ve ark., 2015, Ertunç ve ark., 2016; Canik ve ark., 2011a, 2011b; Karabıçak ve ark., 2020). Ertunç ve ark. (2011) tarafından Ege Bölgesi'nde, Manisa ve Çanakkale illerinde BN' nin ve *16 SrDNA V*'nin varlığı bildirilmiştir. *Candidatus Phytoplasma solani* Türkiye'de Solanaceae, nar gibi bitki türlerinde tespit edilmiştir (Sertkaya ve ark., 2007; Özdemir ve ark., 2009; Çağlar ve ark., 2010)

Bu çalışma ile 2013-2015 yıllarında Ege Bölgesi'nde Çanakkale, Denizli, İzmir ve Manisa illerinde bağlarda fitoplazma şüpheli belirti gösteren asma örnekleri moleküler tekniklerle incelenmiş ve bu hastalıklar açısından bölgenin durumu ortaya konmuştur. Bu etmenlerin karantina organizması olması nedeniyle, standart test protokolü hazırlanarak, bu konuda karantina analizi ve numune analizleri yapan kuruluşlarda metot birlikteliği sağlanmıştır.

Ayrıca, bağ alanlarında tespit edilen fitoplazmaların yayılmasında etkili olan vektör böcek türleri saptanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Sürvey çalışmaları

Sürvey çalışmaları 2013–2015 yıllarında Çanakkale, Denizli, İzmir ve Manisa illeri bağ alanlarında Eylül-Kasım aylarında yürütülmüştür. Tesadüfi örnekleme yöntemine (Bora ve Karaca, 1970) göre yapılan sürveylerde, Tarım ve Orman İl Müdürlüklerinden alınan ekiliş alanları, ekolojik faktörler, işgücü ve zaman faktörleri de göz önüne alınarak mevcut alanların %1'i incelenerek kontroller yapılmıştır (Çizelge 1).

Bağcılığın yoğun olarak yapıldığı il ve ilçelerde güzergâhlar belirlendikten sonra özellikle ithal fidanlarla kurulan sofralık/şaraplık üzüm yetiştiriciliği yapılan bağlarda, fitoplazma şüpheli belirti gösteren asmalardan örnek alınmıştır.

Çizelge 1. Manisa, Denizli, İzmir ve Çanakkale illerindeki mevcut ve incelenen bağ alanları.
Table 1. Existing and examined vineyard areas in Manisa, Denizli, İzmir and Çanakkale provinces.

İl/ Province	Mevcut alan (da) Existing area	İncelenen alan (da) Area examined
Manisa	715.895	7158
Denizli	445.775	4457
İzmir	123.260	1232
Çanakkale	51.766	517

Örneklemeler; gelişme geriliği, yapraklarda renk değişikliği-kızarma, sararma, içe ve aşağı doğru yaprak kıvrılması, düzensiz olgunlaşma gösteren asmalarda yapılmış, yaprak ve sürgün örnekleri alınmıştır. Örneklemelerde yıllık sürgünler, üzerlerinde yapraklarla birlikte alınmış olup örnekleme yapılan bağlar ve asmalara ait bilgiler (mevki, bağ sahibi, çeşit, alan, sıra sayıları vs.) etiketlere yazılmış ve örnek alınan asmalar işaretlenmiştir. Ayrıca örnek alınan her bir asmanın GPS yardımıyla koordinatları da belirlenmiştir.

Alınan örnekler polietilen torbalar/kese kâğıdı içinde etiketlenerek buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Analiz için hazırlanıncaya kadar örnekler 1-5 gün süreyle + 4°C' de buzdolabında saklanmıştır.

Vektör böceklerin toplanması

Hemiptera takımına ait vektör böceklerin elde edilmesinde japon şemsiyesi ve atrap kullanılmıştır.

Darbe yöntemi

Bağ alanlarından vektör böceklerin toplanmasında japon şemsiyesi kullanılmıştır. Bu amaçla söz konusu bağ alanını temsil edecek şekilde her bağda tesadüfen seçilen 100'er asmanın birer sürgünü altına japon şemsiyesi tutulup sürgün üzerine, ucuna plastik boru geçirilmiş bir sopa ile 3 kez vurularak japon şemsiyesi üzerine düşen Hemiptera takımına ait bireyler kaydedilmiş, erginler ağız aspiratörü ile toplanmış ergin olmayanlar laboratuvarda kültüre alınarak ergin elde edilmiştir (Kaplan ve ark., 2016; Anonim, 2017).

Atrap

Bağın içindeki yabancı otlarda bulunan Hemiptera takımına ait bireylerin saptanmasında kullanılmıştır. Bağı temsil edecek şekilde köşegenler boyunca belirli aralıklarla her bağda toplam 100 atrap sallanarak yabancı otlarda bulunan Hemiptera takımına ait bireyler kaydedilmiş, erginler ağız aspiratörü ile toplanmış, ergin olmayanlar laboratuvarda kültüre alınarak ergin elde edilmiştir (Karabacak ve ark., 2020).

Darbe yöntemi ve atrap ile toplanan erginler buz kutusu içinde laboratuvara getirilerek teşhise hazır hale getirilmiş ve teşhis için uzmanına gönderilmiştir.

Moleküler çalışmalar

Total DNA izolasyonu

Bu amaçla ilk aşama olarak örneklerden DNA izolasyonu için, asma yapraklarının orta damarları çıkarılmış ve 1 g tartılarak örnek ezme poşetine yerleştirilmiştir. (Prince ve ark., 1993, Lee ve ark., 1994). Invitrogen firmasına ait Total DNA Purification Kit (K183001) kullanılarak, firmanın önerdiği prosedüre göre Total DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA'lar -80°C' de derin dondurucuda saklanmıştır.

Total DNA'lara Multiplex nested PCR işlemi uygulanmıştır.

<u>Birinci PCR aşamasında;</u>

FD9f1 (5'-GAATTAGAACTGTTTGAAGACG-3')

Fd9r1 (5'-TTTGCTTTCATATCTTGTATCG-3')

Stol 11f2 (5'TATTTTCCTAAAATTGATTGGC-3')

Stol 11r1 (5'-TGTTTTTGCACCGTTAAAGC-3') (Daire et al., 1997),

<u>İkinci (nested) PCR aşamasında ise,</u>

FD9f3b (5'-TAATAAGGTAGTTTTATATGACAAG-3')

Fd9r2 (5'-GACTAGTCCCGCCAAAAG-3')

Stol 11f3 (5'-ACGAGTTTTGATTATGTTCAC-3')

Stol 11r2 (5'-GATGAATGATAACTTCAACTG-3') (Angelini ve ark., 2001, Clair ve ark., 2003) primerlerinin kullanılmasına dayanan yöntemleri içeren protokol uygulanmıştır.

1. aşama

Önce PCR karışımı (22 µl hacimlik reaksiyon için 10x PCR buffer -1x; $MgCl_2$-1,93 mM; BSA-273µg/mL; dNTP-136µM; primer FD9f-0,34 µM; primer FD9r1-0,34 µM; primer Stol 11f2-

0,068µM; primer Stol 11r1- 0,068 µM; Taq polymerase-0,6 U; DNA-2µl) hazırlanmıştır.

Bu karışım thermal cycler cihazına (Eppendorf Mastercycler Gradient)yerleştirilmiş ve hedef DNA'yı çoğaltmak için aşağıda belirtilen parametreler uygulanmıştır:

92 ^{0}C	3 dak.	1 döngü
92^{0}C	1 dak.	35 döngü
55 ^{0}C	1dak.	
72 ^{0}C	1 dak.30 san	
72 ^{0}C	10 dak.	1 döngü

2. aşama

Birinci aşamada elde edilen PCR ürünlerinin 1:32 oranında seyreltmesinden sonra PCR karışımı (25µl hacimlik reaksiyon için 10x PCR karışımı -1x; $MgCl_2$-1,93 mM; BSA-273µg/mL; dNTP-136µM; primer FD9f3b-0,3 µM; primer FD9r2-0,3µM; primer Stol 11f3-0,3µM; primer Stol 11r2-0,3 µM; Taq polymerase-0,6 U; 1 aşama PCR ürünü (1:32 seyreltme)-5 µM) hazırlanmıştır.

Bu karışım thermal cycler (Eppendorf Mastercycler Gradient) cihazına yerleştirilmiş ve hedef DNA 'yı çoğaltmak için aşağıda belirtilen parametreler uygulanmıştır:

92 ^{0}C	3 dak.	1 döngü
92^{0}C	1 dak.	35 döngü
56 ^{0}C	1dak.	
72 ^{0}C	1 dak.30 san	
72 ^{0}C	10 dak.	1 döngü

PCR ürünü % 1.5'lik agaroz jelde 50-60 dakika süreyle 100 V elektrik akımı verilerek yürütülmüştür. Daha sonra jel ethidium bromide solusyonu ile ((Tris-acetate-EDTA) tampon çözeltinin içine ml'de 0.5 µg EtBr) 30 dakika süreyle boyanmış ve UV ışık altında oluşan bantlar görüntülenmiştir. FD için1150 bp' de, BN için ise 720 bp'de oluşan bantlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

DNA sekans analizi

Nested PCR sonucu elde edilen PCR ürününün DNA dizileme analizi hizmet alımı ile yaptırılmıştır. Elde edilen sekanslar, evrensel bir veri tabanında (http://www.ebi.ac.uk/ http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) Blast analizi yardımıyla kontrol edilmiş ve tür tayini yapılmıştır.

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Sürvey çalışmalarına ilişkin sonuçlar

Fitoplazma hastalıklarının tespitine yönelik 2013-2015 yılları arasında yapılan sürvey çalışmalarında Çanakkale, Denizli, İzmir ve Manisa illerinde toplam 13 ilçe ve 119 bağda kontroller yapılmış ve 194 asmadan örnek alınmıştır (Çizelge 2). Sürvey çalışmalarında, ithal fidanlarla kurulan sofralık/ şaraplık üzüm yetiştiriciliği yapılan bağlardan örnekleme yapılmış olup, başlıca üzüm çeşitleri Boğazkere, Öküzgözü, Syrah, Cabernet Sauvignon, Merlot, Alphonse Lavallee ve Sultani Çekirdeksiz'dir.

Sürvey alanında, asmalarda gelişme geriliği, yapraklarda renk değişikliği-kızarma, sararma, içe ve aşağı doğru yaprak kıvrılması, düzensiz olgunlaşma belirtileri gözlenmiştir (Şekil 1-6). Nitekim alınan çoğu örnek fitoplazma benzeri belirti göstermesine rağmen etmenler tespit edilmemiştir. Bu durumda fitoplazma benzeri belirtilerin, virüs hastalıkları, bitki besin elementi eksiklik/fazlalıkları, genetik açılmalar, demir klorozu, fitotoksite belirtileri ile benzerlik göstermesinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca özellikle kırmızı üzüm çeşitlerinde asmanın fizyolojik olarak yaşlanması sonucu görülen kızarma belirtileri ile de kolaylıkla karışabilmektedir. Bağ sarılığı olarak adlandırılan bu fitoplazmalar bitkilerde yapraklarda kızarma, içe doğru kıvrılma şeklinde belirtiler oluşturmakta ve semptomlarına bakılarak patojenleri ayırmak mümkün olamamaktadır (Seemuller ve ark., 1998; Torres ve ark., 2004; Kuzmanović ve ark., 2008; Ertunç ve ark., 2011; Ertunç ve ark., 2015, 2016; Canik ve ark., 2011a,b).

Moleküler çalışmalara ilişkin bulgular

Sürvey alanında 2013-2015 yıllarında Çanakkale, Denizli, İzmir ve Manisa illerinden toplanan 194 adet asma bitki örneklerinde Multiplex (16 Sr V ve 16 Sr XII grupları) nested PCR analizlerinin sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Son yıllarda fitoplazmalar daha çok DNA esaslı moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilmektedir. Yapılan çalışmalarda önce universal primerler kullanılarak fitoplazma varlığı tespit edilmekte, daha sonra spesifik primerler kullanılarak nested-PCR ile sınıflandırılması yapılmaktadır. Sekans analizi yada RFLP ile de analiz tamamlanmaktadır (Gori ve ark., 2007; Terlizzi ve ark., 2009; Pelletier ve ark., 2009; Margaria ve ark., 2009; Fabre ve ark., 2011; Ertunç ve ark., 2011) *Flavescence doree* (FD)' nin içinde yer aldığı 16 SrV grubuna ait 1150 bp'de ve *Bois noir* (BN)'ın içinde yer aldığı 16 Sr XII grubuna ait 720 bp'de bant görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 7, 8, 9).

Çizelge 2. 2013-2015 yıllarında Çanakkale, Denizli, İzmir ve Manisa il ve ilçelerinde bağlardan alınan örnek sayıları ve tespit edilen fitoplazmalar.
Table 2. Sampling locations and number of samples taken in the vineyards of Çanakkale, Denizli, İzmir and Manisa provinces and districts in 2013-2015.

İl/Province	İlçe/District	İncelenen Bağ sayısı Number of vineyards examinated	Alınan örnek sayısı Number of samples	Multiplex nested PCR' göre Enfekteli örnek sayısı Number of infected samples based on multiplex nested PCR		Sekans Sonuçlarına göre BN/FD olarak tanılanan örnek sayısı Number of infected samples confirmed by sequencing analyses
				16 SrV*	16 Sr XII**	
ÇANAKKALE	Bozcaada	7	13	-	-	
	Eceabat	3	7	-	-	
Toplam/Total		10	20	-	-	
DENİZLİ	Bekilli	17	27	4	6	2 (BN)
	Çal	15	19	4	-	Doğurulanamamış Non - confirmed
	Güney	10	25	1	-	Doğurulanamamış Non - confirmed
Toplam/Total		42	71	9	6	
İZMİR	Buca	3	6	-	-	
	Çeşme	6	12	4	4	-
	Kemalpaşa	4	6	-	1	
	Menderes	17	26	4	-	
	Urla	7	10	-	-	
Toplam/Total		37	60	8	5	
MANİSA	Akhhisar	15	19	1	1	
	Kula	9	13	1	2	
	Salihli	6	11	3	-	
Toplam/Total		30	43	5	3	
GENEL TOPLAM General Total		119	194	22	14	

*16SRV: FD'nin yer aldığı grup/ Group of FD
**16 SR XII: BN'nin yer aldığı grup/ Group of BN

Şekil 1. Asma yapraklarında kızarmalar.
Figure 1. Reddening of phytoplasma infected grape leaves.

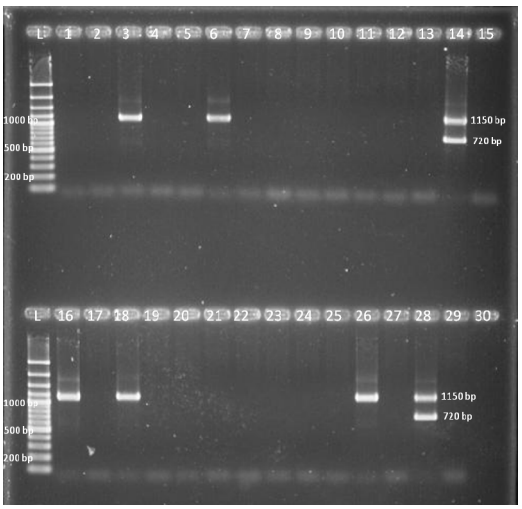
Şekil 4. Bois Noir fitoplazması ile enfekteli asmada gelişme geriliği.
Figure 4. Stunting of BN-infected plants.

Şekil 2. Yaprak kenarlarından başlayan kızarmalar.
Figure 2. Reddening of the edges of the infected leaves.

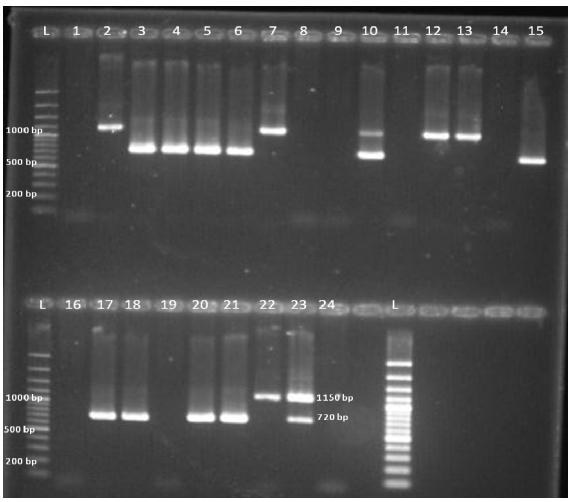
Şekil 5. BN fitoplazmasında enfeksiyonun yaprak uçlarından itibaren ilerleyişi.
Figure 5. Progression of symptoms starting from leaf tips in vine B N – infected plant.

Şekil 3. BN fitoplazması ile enfekteli omcada hastalığın ilerlemiş dönemleri.
Figure 3. Progressive sympotms in BN infected vine.

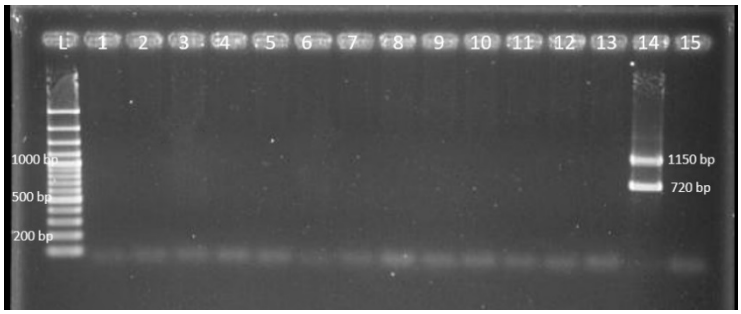
Şekil 6. Yapraklarda kızarma-sararma şeklinde renk değişikliği.
Figure 6. Red –yellow discoloration of leaves of BN-infected.



Şekil 7. FD ve BN etmenleri için uygulanmış olan PCR testi sonucunun jel görüntüleri.
L: 100 bp DNA ladder. 3, 6, 16, 18, 26: FD pozitif örnekler (1150 bp). 14, 28: FD ve BN pozitif kontrol 15,30: Su kontrol.
Figure 7. The image of the gel showing PCR test result for the FD and BN L: 100 bp DNA ladder, 3, 6, 16, 18, 26: FD positive samples (1150 bp) 14, 28: FD ve BN positive control 15,30: water control.



Şekil 8. FD ve BN etmenleri için uygulanmış olan PCR testi sonucunun jel görüntüsü.
L: 100 bp DNA ladder. 2, 7, 10, 12, 13, 22: FD pozitif örnekler (1150 bp) 3, 4, 5, 6, 10, 15, 17, 18, 20, 21: BN pozitif örnekler (720 bp) 24: Su kontrol.
Figure 8. The image of the gel showing PCR test result for the FD and BN L: 100 bp DNA ladder. L: 100 bp DNA ladder, 2, 7, 10, 12,13,22: FD positive samples (1150 bp) 3, 4, 5, 6, 10, 15, 17, 18, 20, 21: BN positive samples (720 bp) 24: water control.



Şekil 9. FD ve BN etmenleri için uygulanmış olan PCR testi sonucunun jel görüntüsü. L: 100 bp DNA ladder, 1-13: 16 SrV ve 16 Sr XII grubu negatif örnekler, 14: 16 SrV ve 16 Sr XII grubu pozitif kontrol, 15: Su kontrol.
Figure 9 The image of the gel showing PCR test result for the FD and BN L: 100 bp DNA ladder, 1-13: 16 SrV and 16 Sr XII group negative samples, 14: 16 SrV ve 16 Sr XII group positive control, 15: water control.

Manisa ilinde, fitoplazma şüpheli asma bitkilerinden alınan 43 örneğin % 11.62'sinde FD'nin içinde yer aldığı 16 Sr V, % 6.97'sinde BN'nin içinde yer aldığı 16 Sr XII grupları tespit edilmiştir. İzmir ilinde ise 60 örneğin % 13.33'ünde FD'nin içinde yer aldığı 16 Sr V, % 8.33'ünde BN'nin içinde yer aldığı 16 Sr XII grupları belirlenmiştir. Denizli ilinde 71 örneğin % 12.67'sinde FD'nin içinde yer aldığı 16 Sr V, % 8.45'inde BN'nin içinde yer aldığı 16 Sr XII grupları saptanmıştır. Çanakkale ilinde ise alınan örneklerde FD'nin içinde yer aldığı 16 Sr V ve BN'nin içinde yer aldığı 16 Sr XII grupları tespit edilmemiştir.

Multiplex nested PCR sonuçlarına göre toplam 36 örnek fitoplazma ile enfekteli bulunmuştur. Bu örneklerden 22'sinde FD'nin içinde yer aldığı 16 Sr V grubu, 14'ünde ise BN'nin içinde yer aldığı 16 Sr XII grubuna ait fitoplazmalar tespit edilmiştir. Örneklerin PCR ürünlerinin sekanslama

sonuçlarına uygulanan NCBI-Blast analizine göre grup düzeyinde pozitif reaksiyon veren bazı örneklerin NCBI'da depolanan FD/BN fitoplazma türleri ile yeterli genetik benzerlik (aynı tür olması için en az %98 benzerlik) göstermediği ortaya çıkmıştır. Örneğin Multiplex nested PCR testinde 16 Sr V grubu için pozitif reaksiyon veren 22 adet izolatın gen bankasında kayıtlı *Candidatus Phytoplasma vitis* izolatları ile benzerlik oranı % 97'nin altında kalmış ve bu sonuçlara göre söz konusu izolatların *Ca P. vitis* (FD) olmadığı ortaya çıkmıştır (Çizelge 2).

Ayrıca multiplex nested PCR sonuçlarına göre 16 Sr XII grubuna ait 14–adet izolattan sadece 2 adetinin gen bankasında kayıtlı *Candidatus phytoplasma solani* (BN) izolatları (Acc. No. JQ977744.1) ile %99 benzerlikte olduğu belirlenmiştir. Söz konusu 2 izolatın Denizli ili Bekilli ilçesinden alınan örneklere ait olduğu tespit edilmiştir. Diğer izolatların benzerlik oranı BN'nin varlığını doğrulamamıştır.

Ülkemizde fitoplazma hastalıkları konusunda yapılmış çalışma yok denecek kadar azdır. Ertunç ve ark. (2011, 2016) tarafından 2009-2010 yıllarında 5 bölgede, önemli bağ alanlarında yapılan çalışmada ülkemizde tespit edilen etmenin BN fitoplazması olduğu belirlenmiştir. Etmen Kırklareli, Ankara, İzmir, Manisa, Elaziğ, Diyarbakır, Malatya, Nevşehir, Çanakkale ve Tekirdağ illerinde saptanmış olup, BN'nin vektörü olan *Hyalestes* türlerinin ülkemizde mevcut olmakla birlikte bağı tercih etmediği görülmüş ve FD fitoplazması ise sadece 2 örnekte (Kırklareli ve Çanakkale) belirlenmekle birlikte, doğrulanmamıştır. Bu çalışmada, Ertunç ve ark. (2011)'nın sonuçlarına ilave olarak Denizli ilinde BN'nin varlığı belirlenmiş olup, FD tespit edilmemiştir. Karabıçak ve ark. (2020), Erzincan ili; Merkez ve Üzümlü ilçeleri ile bu ilçelere bağlı belde ve köylerdeki bağ alanlarında fitoplazma hastalıkları ve olası vektör böcek türlerini tespit etmek amacıyla yürüttükleri çalışma sonucunda fitoplazma etmenlerinden *Bois noir* saptamışlardır.

Literatürü incelediğimizde, bölgemizde asma fitoplazma hastalıklarının belirlenmesine yönelik Ertunç ve ark. (2011)'nın yaptıkları çalışmadan sonra herhangi bir detaylı çalışma yapılmadığı görülmektedir. Bu çalışma ile 2013-2015 yıllarında Ege Bölgesi'nde Manisa, İzmir, Denizli ve Çanakkale illerinde bağlarda fitoplazma şüpheli belirti gösteren asma örnekleri moleküler tekniklerle incelenerek bu hastalıklar açısından durumu ortaya konulmuştur. Ege Bölgesi'nde FD fitoplazması saptanmamış, Denizli ili Bekilli ilçesinde sadece 2 örnekte BN fitoplazması saptanmıştır. FD, asma için en tehlikeli ve tahripkâr fitoplazma hastalığı olarak kabul edilmekte ve epidemi oluşturduğunda büyük ekonomik kayıplar ortaya çıkabilmektedir. Bölgemizde tespit edilmemiş olması bağcılık açısından büyük önem taşımaktadır.

Vektör böcek çalışmalarına ilişkin bulgular

Denizli ili Bekilli ilçesinde BN hastalığının saptandığı iki farklı bağ alanında vektör böceklerin saptanması amacıyla 21 Eylül 2017 tarihinde arazi çalışmaları yapılmıştır. Çalışmaların yürütüldüğü bağ alanlarına ait bilgiler Çizelge 3'te verilmektedir. Çizelge 3'te görüldüğü gibi goble terbiye sistemine sahip 1 no'lu bağ Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidinden oluşmakta ve üzümler kurutmalık amaçlı değerlendirilmektedir. Duvar terbiye sistemine sahip 2 no'lu bağda ise sofralık amaçlı değerlendirilen Öküzgözü üzüm çeşidi yetiştirilmektedir. Söz konusu bağda japon şemsiyesi ve atrap yardımıyla saptanan türlere ait bilgiler Çizelge 3'te belirtilmektedir.

Çalışma sonucunda BN ve FD'nin vektörü olduğu bilinen herhangi bir tür tespit edilmemiştir. Dünyada BN'nin vektörü olduğu saptanan *Hyalesthes obsoletus* Signoret, *Reptalus panzeri* Low ve *Dictyophara europaea* Linneaus Türkiye'de varlığı çeşitli araştırıcılar tarafından dile getirilmiştir (Lodos ve Kalkandelen, 1980a,b; Lodos ve Kalkandelen, 1988; Demir, 2006; 2008; 2017; 2019, Demir ve Demirsoy, 2009; Tanyeri ve Zeybekoğlu, 2021).

Çizelge 3. FD hastalığının saptandığı Denizli ili Bekilli ilçesi bağ alanlarında 2017 yılında saptanan türlere ait bilgiler.
Table 3. Information on the species detected in 2017 in the vineyard areas of Bekilli district of Denizli province where FD disease was detected.

Bağ No/Vineyard No	Üzüm Çeşidi-Terbiye Sistemi Grape cultivar-Trellis system	Elde edilme Yöntemi Sampling method	Birey Sayısı (Adet) Number of specimens collected	Tür Adı Species	GPS Koordinatları GPS Coordinates
1. Bağ/Vineyard	Sultani Çekirdeksiz/Goble Sultani Çekirdeksiz/Goblet	Atrap Sweep net	1	*Austroagallia* sinuata (Mulsant & Rey)	Enlem/Latitude:38.22 90 64 Boylam/Longitude: 29.42.02 90
			2	*Empoasca decipiens* Paoli	Enlem:38.22 90 64 Boylam: 29.42.02 90
		Japon şemsiyesi Beating sheet	4	*Platymetopius* sp. (Nimf)	Enlem:38.22 90 64 Boylam: 29.42.02 90
		Japon şemsiyesi Beating sheet	4	*Empoasca decipiens* Paoli	Enlem:38.22 90 64 Boylam: 29.42.02 90
2. Bağ/Vineyard	Öküzgözü/Duvar Öküzgözü/Wall	Atrap Sweep net	1	*Thsurtshurnella* sp. Nimfi	Enlem:38.23 06 57 Boylam: 29.44.06 04
		Japon şemsiyesi Beating sheet	2	*Platymetopius* sp. (Nimf)	Enlem:38.23 06 57 Boylam: 29.44.06 04
		Japon şemsiyesi Beating sheet	2	*Arboridia adanae* Dlabola	Enlem:38.23 06 57 Boylam: 29.44.06 04
		Japon şemsiyesi Beating sheet	4	*Empoasca decipiens* Paoli	Enlem:38.23 06 57 Boylam: 29.44.06 04
		Japon şemsiyesi Beating sheet	1	*Arboridia adanae* Dlabola	Enlem:38.23 06 57 Boylam: 29.44.06 04
			3	*Empoasca decipiens* Paoli	Enlem:38.23 06 57 Boylam: 29.44.06 04

Bayram ve ark. (2014), Marmara, Ege, İç Anadolu, Doğu ve Güneydoğu Anadolu'daki bağ alanlarından ve kenarındaki yabancı otlardan Hemiptera takımına ait 8 familyadan 28 türün tespit edildiğini, BN vektörlerinden *Euscelis lineolatus* Brullé, *H. obsoletus* (Hemiptera: Cicadellidae) ve *D. europaea* (Hemiptera: Dictyopharidae)'nın saptandığını, ancak FD vektörü *Scaphoides titanus* Ball. (Hemiptera: Cicadellidae)'un saptanamadığını ve fitoplazma varlığı için örneklenen tüm böceklerin PCR sonuçlarının negatif olduğunu bildirmektedir. Karabıçak ve ark., (2020) tarafından Erzincan ili bağ alanlarında fitoplazma etmenlerinden BN ve bu etmenin potansiyel vektörleri olan *Laodelphax striatellus* (Fallen, 1826) (Hemiptera: Delphacidae), *Empoasca* sp., *Euscelis incisus* (Kirschbaum, 1868) ve *Psammotettix* sp. (Hemiptera: Cicadellidae) türlerinin tespit edildiği bildirilmektedir.

Bağ alanlarında görülen FD hastalığının vektörü *S. titanus,* BN hastalığının vektörü ise *H. obsoletus'*tur (Weintraub ve Beanland, 2006; Kölber, 2011. Farklı konukçularda ise *Circulifer tenellus* (Baker), *Fieberiella florii* Stål, *Macrosteles* sp., *Neoaliturus fenestratus* (Herrich-Schäffer), *Orosius cellulosus* Lindberg, *Orosius lotophagorum* (Kirkaldy), *Orosius orientalis* (Matsumura), *Reptalus panzeri* (Low) (Hemiptera: Cixiidae)'nin fitoplazma hastalığının vektörleri olduğu bildirilmektedir. (Weber and Maixner, 1998; Weintraub, 2007). Bağ alanlarında yabancı otların varlığıyla *H. obsoletus*'un hastalığın yayılmasında %30-60 etkili olduğu bildirilmektedir. (Weintraub ve Beanland, 2006).

Erzurum ve Diyarbakır'da *Hyalesthes obsoletus'*un, Ankara ve Denizli'de *Dictyophara europaea*'nın saptandığı ancak PCR and PCR-RFLP analizlerinde etmenin varlığı açısından

negatif sonuç verdiği, Trakya ve Çanakkale bağ alanlarında FD'nin saptandığı ancak vektörü olan *Scaphoides titanus*'un Bulgaristan'da saptanmasına rağmen, Türkiye'de henüz saptanmadığı bildirilmektedir (Ertunç, 2013). Ayrıca Kalkandelen (2000), Türkiye'de *Hyalesthes* cinsinde tespit edilen 13 türün varlığını bildirmiştir. Ancak Çizelge 3'de görüldüğü gibi; bizim çalışmamızda elde edilen türler fitoplazma hastalığının vektörü olduğu bilinen türlerden farklıdır.

Bağ fitoplazmaları karantina zararlıları olup, halen Bitki Karantinası Yönetmeliğinin EK 2-A "Türkiye'de varlığı bilinmeyen organizmalar" bölümünde yer almaktadır. Sürvey sırasında yerli çeşitlerden alınan örneklerde etmenler saptanmamıştır. Bu üreticiler kendi asmalarından üretim materyali almakta ve yeni asmaları bu materyallerden yetiştirmektedir. İthal çubuklar kullanarak bağ tesis eden üreticilerde söz konusu etmenin tespit edilmesi, bu hastalıkların Türkiye'ye vejetatif olarak, aşı materyali veya aşılı asma şeklinde girdiğini göstermektedir. Bu açıdan durum ele alınırsa, Türkiye'ye asma fidanı girişi sırasında karantina müdürlüklerinde bu hastalıkların varlığı açısından analizlerin yapılması ve kayıt dışı girişlerin önlenebilmesi için toplum bilincinin oluşturulması çok büyük önem taşımaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından TAGEM-BS-12/08-05/02-28 (2) numarası ile desteklenmiştir. Bağ alanlarından toplanan Hemiptera takımına ait böcekler Prof. Dr. Emine DEMİR ÖZDEN (Düzce Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü) tarafından teşhis edilmiştir. Projeye maddi destek sağlayan Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne ve çalışmadan elde edilen Hemiptera takımına ait böceklerin teşhisini yapan Prof. Dr. Emine DEMİR ÖZDEN (Düzce Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü)'e teşekkür ederiz.

LİTERATÜR LİSTESİ

Angelini, E., D. Clair, M. Borgo, A. Bertaccini, and E. Boudon-Padieu. 2001. Flavescence dorée in France and Italy occurrence of closely relatedphytoplasma isolates and their near relationships to Palatinate grapevineyellows and an alder yellows phytoplasma. Vitis 40: 79–86.

Anonim. 2017. Bağ Entegre Mücadele Teknik Talimatı. Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü.

Anonim. 2020. Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK) http://www.tuik.gov.tr/Start.do (Erişim tarihi: 27/10/2022).

Anonymous. 2011a. http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/grapeipm/phytoplasma.htm (Erişim tarihi: 04.01.2012)

Anonymous. 2011b. http://nc.eppo.org/QUARANTINE/bacteria/ Flavescence_doree /PHYP64 _ds.pdf (Erişim tarihi: 04.01.2019).

Anonymous. 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT) Crops and livestock products.https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize (Erişim tarihi: 27.10.2022).

Bayram, S., U. Zeybekoglu, G. Soylemezoglu, D. Canik, M. Karavin, A. Cakir, and F. Ertunc. 2014. Presence of putative insect vectors of grapevine yellows phytoplasmas in Turkey. Phytopathogenic Mollicutes Vol. 4 (1): 22-26.

Bora T. ve İ. Karaca.1970. Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Yardımcı Ders Kitabı. No: 167.

Boudon-Padieu, E. 2003. The situation of grapevine yellows and current research directions: distribution, diversity, vectors, diffusion and control. pp. 47-53. In:14th ICVG Conference. 12-17 September 2003. Locorotondo, Italy.

Canik, D., F. Ertunc, S. Paltrinieri, N. Contaldo, and A. Bertaccini. 2011b. Identification of different phytoplasmas infecting grapevine in Turkey. Bulletin of Insectology, 64: 225 - 226.

Canik, D., S., Topkaya, S., G. Soylemezoglu, and F. Ertunc. 2011a. Occurrence and distribution of bois noir phytoplasma in Turkey. pp. 43-44. *In*: 2nd European Bois Noir Workshop.

Clair, D. J. Larrue, G. Aubert, J. Gillet, G. Cloquemin, and E. Boudon-Padieu. 2003. A multiplex nested-PCR assay for sensitive and simultaneous detection and direct identification of phytoplasma in the Elm yellows group and Stolbur group and it's use in survey of grapevine yellows in France. Vitis 42 (3): 151-157.

Çağlar, B. K., T. Elbeaino, M. Küsek, D. Pehlivan, H, Fidan, and M. Portakaldalı. 2010. Stolbur Phytoplasma infections in potato and tomato plants from different locations in Turkey J. Turk. Phytopath. 39: 1-3.

Daire, X., D. Clair, W. Reinert and E. Boudon-Padieu. 1997. Detection and differentiation of grapevine yellows phytoplasmas belonging to the elm yellows group and to the stolbur subgroup by PCR amplification of nonribosomal DNA. European Journal of Plant Pathology, 103: 507–514.

Demir, E. 2006. Contributions to the knowledge of Turkish Auchenorrhyncha (Homoptera) with a new Record, *Pentastiridius nanus* (Ivanoff, 1885). Mun. Ent. Zool. 1: 97-122.

Demir, E. 2008. The Fulgoromorpha and Cicadomorpha of Turkey. Part I: Medıterranean Region (Hemiptera). Mun. Ent. Zool. 3: 447-522.

Demir, E. ve A. Demirsoy, 2009. Preliminary report on the Fulgoromorpha (Hemiptera) fauna of Kemaliye (Erzincan) with a new record for Turkey. Mun. Ent. Zool. 4: 280-286.

Demir, E., 2017. Fulgoromorpha (Hemiptera) records from Southwestern Turkey. Entomologia Hellenica 26 (2017): 17-28.

Demir, E., 2019. Auchenorrhyncha (Hemiptera: Fulgoromorpha and Cicadomorpha) species that feed on walnut trees and their economic importance as potential vectors. Mun. Ent. Zool. 14: 305-314.

Ertunc, F., 2013. A new threat for Turkish horticulture: phytoplasma diseases and their vectors. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 60: 221-224.

Ertunç F., D. Canik, Ş. Topkaya, G. Söylemezoğlu ve Ş. Bayram. 2011. Türkiye bağlarında bağ sarılığı fitoplazmalarının varlığı ve saptanması. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. 28-30 Haziran 2011. Kahramanmaraş. s.90.

Ertunç, F., D. Canik Orel, Ş. Bayram, S. Paltrınıerı, A. Bertaccını, Ş. Topkaya, and G. Söylemezoğlu. 2015. Occurence and molecular characterization of grapevine phytoplasmas in main viticultural regions of Turkey. Phytoparasitica 43 (3): 303-310.

Ertunç, F., D. Canik-Orel, S. Bayram ve G. Söylemezoğlu. 2016. Türkiye bağlarında fitoplazma enfeksiyonlarının dağılımı, vektörleri ve moleküler karakterizasyonu. Uluslararası Katılımlı Türkiye 6. Bitki Koruma Kongresi. 5-8 Eylül, 2016. Konya. s. 539.

Fabre, A.,.L. J. Danet, and X. Foissac. 2011. The Stolbur Phytoplasma antigenic membrane protein gene Stamp is submitted to diversifying positive selection. Gene 1-2: 37-41.

Garau, R., V.A. Prota, A. Sechi, A Lentini, Tolu, G. Botti, and A. Bertaccini. 2005. Indagine epidemiologica in un vigneto affetto da "Legno nero" nel nord-Sardegna". Petria 15(1/2):177-179.

Gori M., R. Monnannı, M. Buıattı, E. Gotı, S. Carnavale, L. Da Prato, A. Bertaccını, and S. Bricolti. 2007. Estabilishing a real-time PCR detection precedure of "flavescence doree" and "bois noir" phytoplasmas for mass screening. Bulletin of Insectology 60 (2): 255-256.

Kalkandelen, A. 2000. Türkiye Cixiidae (Homoptera) türleri üzerindeki taksonomik çalışmalar-VIII. Bitki Koruma Bülteni 40 (3-4): 91-123.

Kalkandelen, A., 1987. Türkiye Cixiidae (Homoptera) türleri üzerinde taksonomik çalışmalar. I –familyanın morfolojik özellikleri ve cins teşhis anahtarı. Bitki Koruma Bülteni 27: 3-4.

Kaplan, M., Özgen, İ. ve Ayaz, T. 2016. Mardin İli Zeytin Bahçelerinde Zeytin Pamuklubiti [Euphyllura straminea Loginova (Hemiptera: Psyllidae)]'nin Doğal Düşmanları ve ÖnemliTürlerin Popülasyon Değişimi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 20 (3): 175-182.

Karabıçak, Y., İ. Alaserhat, Ş. Altundağ, I. Özdemir ve E. Demir Özden. 2020. Erzincan ili bağ alanlarında fitoplazma hastalıklarının ve olası vektör böcek türlerinin tespiti, Bitki Koruma Bülteni 60 (1): 31-39.

Kölber, M. 2011. Phytoplasma diseases of grapevine and the possible measures to control them. International Journal of Horticultural Science 2011, 17 (3): 37–43. ISSN 1585-0404

Kuzmanović S., M. Martini, P. Ermacora, M. Ferrinif, Starovic, M. Tosic, L. Carraro and R. Osler 2008. Incidence and molecular characterization of flavescence dorée and stolbur phytoplasmas in grapevine cultivars from different viticultural areas of Serbia Vitis, 47 (2), 105–111.

Lee, I. M., D. E. Gundersen, R. W. Hammond, and R. E. Davis. 1994. Use of mycoplasmalike organism (MLO) group-specific oligonucleotide primers for nested-PCR assays to detect mixed- MLO infections in a single host plant. Phytopathology 84: 559– 566.

Lessıo, F., and A. Alberto. 2008. Host plant andseasonal presence of *Dictyophara europaera* in the vineyard agroecosystem. Bulletin of Insectology 61(1): 199-200.

Lessıo, F., R. Tedeschı, and A. Alma. 2007. Population Dynamics, host plants and infection rate with Stolbur Phytoplasma of Hyalesthes obsoletus Sıgnoret in North-Western Italy. Journal of Plant Pathology 89 (1): 97-102.

Lodos, N. 1986. Türkiye Entomolojisi II, Genel, Uygulamalı ve Faunistik. Ege Üniversitesi Yayınları Bornova, İzmir.

Lodos, N. ve A. Kalkandelen. 1980b. Preliminary list of *Auchenorrhyncha* with notes on distribution andimportance of species in Turkey III.Family Meenoplidae, Derbidae,Achilidae, Dictyopharidae andTettigometridae. Türk. Bit. Kor. Derg. 4 (3) :161-176.

Lodos, N. ve A. Kalkandelen. 1988. Preliminary list of Auchenorrhyncha with notes on distribution and importance of Turkey XXVII. (Addenda and Corrigenda). Türkiye Entomoloji Dergisi 12 (1): 11-22.

Lodos, N. ve A. Kalkandelen.1980a. Preliminary list of Auchenorrhynciha with notes on distribution and importance of species in Turkey. I. Family Cixiidae Spinola. Türk. Bit. Kor. Derg. 4 (1) : 15-27.

Maixner, M., 2010 a. Determination of the parameters for a day-degree method to predict the flight of host populations of *Hyalesthes obsoletus*. COST Action FA0807 February 1st and 2nd 2010 Sitges. Spain Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems.

Maixner, M., Y. Gerhard, and D. Kröhner, 2010b. Field trials to study the efficiency of weed control in reducing the density of adult *Hyalesthes obsoletus*. COST Action FA0807 February 1st and 2nd 2010 Sitges. Spain Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems.

Margaria, P., M. Turina, and S. Palmano,. 2009. Detection of *Flavescence doree* and Bois noir phytoplasmas Grapevine leaf roll associated virus -1 and -3 and Grapevine virus A from same crude extracts by reverse transcription –Real time Taqman Assays. Plant Pathology 58(5): 838-845.

Mehle N., G. Seljak, M. Rupar, M. Ravnikar, and M. Dermastia. 2010. The first detection of a phytoplasma from the 16SrV (Elm yellows) group in the mosaic leafhopper *Orientus ishidae*. New Disease Reports 22: 11.

Mehle N., M. Rupar, G. Seljak, M. Ravnikar, and M. Dermastia. 2011b. Molecular diversity of 'flavescence dorée' phytoplasma strains in Slovenia. Bulletin of Insectology, 64: 29–30.

Mehle N., Ravnikar M., Seljak G., Knapiè V., and M. Dermastia. 2011a. The most widespread phytoplasmas, vectors and measures for disease control in Slovenia. Phytopathogenic Mollicutes 1: 65–76.

Olivier C., Saguez J., Stobbs L., Lowery T., Galka B., Whybourne K., Bittner L., Chen X., Vincent C. 2014. Occurrence of phytoplasmas in leafhoppers and cultivated grapevines in Canada. Agriculture, Ecosystems and Environment, 195, 91–97

Özdemir N., H. Saygili, F. Sahin, Y. Karsavuran, O. F. Bayrak, and B. Oral. 2009. Host range and genetic characterization of a phytoplasma causing tomato stolbur disease in Turkey. Proc. In: IInd Intl. Symposium on tomato diseases. Acta Hort. 808: 255-261.

Palermo, S., M. Elekes, S. Botti, I. Ember, A. Alma, A. Orosz, A. Bertaccini, and M. Kölber. 2004. Presence of stolbur phytoplasma in Cixiidae in Hungarian vineyards. Vitis 43: 201-204.

Pelletier, C., P. Salar, J Gillet., G. Cloquemin, P. Very, X. Foissac, S. Malembic-Maher. 2009. Triplex realtime PCR assay for sensitive and simultaneous detection of Grapevine Phytoplasmas of the 16Sr V and 16SrXII-A with an endogenous analytical control. Vitis, 48(2), 87-95.

Prince, J.P., R. E. Davis, T. K. Wolf, I. M. Lee, B. D. Mogen, E. L. Dally, A. Bertaccini, R. Credi, and M. Barba. 1993. Molecular detection of diverse mycoplasmalike organisms (MLOs) associated with grapevine yellows and their classification with aster yellows, X-disease, and elm yellows MLOs. Phytopathology 83 (10): 1130-1137.

Seemuller, E., C. Marcone, U. Lauer, A. Ragozzino, M. Goschi. 1998. Current Status of Molecular Classification of thr Phytoplasmas. J. Plant Pathol., 80, 3-26.

Sertkaya G., M. Martini, R. Musetti, and O. Ruggero. 2007. Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting sesame and solanaceous crops in Turkey. Bulletin of Insectology 60 (2): 141-142.

Sforza, R., D. Clair, X. Daire, J. Larrue and E. E. Boudon-Padieu, 1998. The Role of *Hyalesthes obsoletus* (Hemiptera: Cixiidae) in the Occurrence of Bois noir of Grapevines in France Journal of Phytopathology Vol:146, No: 11-12, pp: 549-556. DOİ: 10.1111/j. 1439-0434.1998.tb04753.

Tanyeri, R., and U. Zeybekoğlu. 2021. Species of *Cixiidae* and *Issidae* (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Fulgoromorpha) distributed in Sinop and Kastamonu (North Turkey). Sakarya University Journal of Science 25(2): 594-600.

Terlizzi, F., C. Ratti, C. Poggi Pollini, A. Pisi, and R. Credi. 2009. Detection of Grapevine *Flavescence doree* and Bois Noir Phytoplasmas by Multiplex real-time PCR. ICVG-2009, 161-162.

Torres E., M.P. Martín, S. Paltrınıerı, A. Vıla, R. Masalles, and A. Bertaccını. 2004. Spreading of esfy Phytoplasmas in stone fruit in Catalonia (Spain). Journal Of Phytopathology 152: 432–437.

Weber, A., and M. Maixner. 1998. Survey of populations of the planthopper *Hyalesthes obsoletus* Sign. (Auchenorrhyncha, Cixiidae) for infection with the phytoplasma causing grapevine yellows in Germany. Journal of Applied Entomology 122 (1-5):375-381.

Weintraub P. G. 2007. Insect vectors of phytoplasmas and their control-an update, Bulletin of Insectology 60(2):169-173. ·

Weintraub, P. G., and L.A. Beanland. 2006. Insect vectors of Phytoplasmas. Annu. Rev. Entomol. 2006: 51:91.

Zhao, Y., and R.E. Davis. 2016. Criteria for phytoplasma 16Sr group/subgroup delineation and the need of a platform for proper registration of new groups and subgroups. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 66: 2121–2123.