

## ÖZET

### PATATESTE PATATES Y VİRÜSÜ İRKLARININ TANILANMASI VE VİRÜS MİKTARININ KANTİTATİF REAL TIME RT-PCR İLE BELİRLENMESİ

BOLAT, Vildan

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı

Danışman

: Prof. Dr. Çiğdem ULUBAŞ SERÇE

Ekim 2017, 81 sayfa

Patates bitkisi yumrularıyla vejetatif olarak üretildiği için virüsler gibi yumru ile taşınan hastalıklardan önemli ölçüde etkilenmektedir. Tohumluk yumru üretiminde en önemli virüs etmeni Potato virus Y (PVY)'dir. PVY ırklarına bağlı olarak, tohumlukların özelliklerini yitirmesine ve % 50–80 arasında verim kaybına neden olmaktadır. Virüs ile mücadelede virüsün ırklarının bilinmesi, özellikle tohumluk yumru üretiminde damızlıklıkların doğru, hassas ve hızlı teşhis yöntemleri ile test edilmesi oldukça önem taşımaktadır. Bu amaçla, PVY'nin ırklarını belirlemede Immunocapture- revers transcription- multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (IC-RT-multipleks PCR) sistemi Niğde ilinden temin edilen toplam 54 PVY izolatına uygulanmıştır. Analiz sonucunda 17 adet PVY<sup>NW</sup> (B), 7 adet PVY<sup>NW</sup> (B), 1 adet PVY<sup>NTN</sup> (B) ırkları tespit edilmiştir. Ayrıca, 2 adet PVY<sup>NTN</sup>+PVY<sup>NW</sup> karışık ırk enfeksiyonu belirlenmiştir. İzolatların büyük bir çoğunluğunda (30 adet) 278 bp seviyesinde atipik ampikonlar elde edilmiştir. PVY'nin farklı ırklarında başarı ile uygulanabilen real-time PCR sistemi geliştirmek amacıyla IC-RT- SyberGreen (SYBR) real time PCR sistemi PVY F/R primerleri kullanılarak uygulanmıştır. IC-RT-SYBR real time PCR Niğde ilinden temin edilen farklı PVY ırklarına uygulandığında, tüm örneklerde PVY teşhisinde başarılı olmuştur. Ayrıca IC-RT-SYBR kantitatif real time PCR sistemi kurulmuştur. En düşük ve en yüksek ölçüm sonuçları alınmıştır. Desire ve Nectar çeşidi tohumluk yumrularında PVY taraması ve virüs miktarı tayini çalışmalarında kantitatif real time PCR başarılı bir şekilde kullanılabilmiştir.

*Anahtar Sözcükler:* Immunocapture, real time PCR, kantitatif PCR, patates yumrusu

## SUMMARY

### IDENTIFICATION OF POTATO Y VIRUS STRAINS AND MEASUREMENT OF VIRUS QUANTITY BY REAL TIME RT-PCR

BOLAT, Vildan

Niğde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Plant Production and Technologies

Supervisor : Prof. Dr. Çiğdem ULUBAŞ SERÇE

October 2017, 81 pages

Since the potato plant is vegetatively produced by the tubers, it is significantly affected by tuber-borne diseases such as viruses. The most important virus in the production of seed tubers is Potato virus Y (PVY). According to PVY strains, it causes loss of seed characteristics and yield loss of 50-80%. In management of virus diseases, detection of virus strains and availability of accurate, sensitive and rapid diagnostic methods, has an important role in producing virus free seed tuber. For this purpose, Immunocapture-reverse transcription-multiplex polymerase chain reaction (IC-RT-multiplex PCR) system for determining strains of PVY has been applied to a total of 54 PVY isolates from Niğde. As a result, 17 PVY<sup>NW</sup> (B), 7 PVY<sup>NW</sup> (B) and 1 PVY<sup>NTN</sup> (B) strains were detected. In addition, two PVY<sup>NTN</sup> + PVY<sup>NW</sup> mixed race infections were identified. In a large majority of isolates (30), 278 bp atypical amplicons were obtained. In order to develop a real-time PCR system that can be successfully applied in different strains of PVY, the IC-RT-SyberGreen (SYBR) real time PCR system was applied using PVY F / R primers. When IC-RT-SYBR real time PCR was applied to different PVY strains from Niğde province, PVY was successfully diagnosed in all cases. In addition, the IC-RT-SYBR quantitative real-time PCR system was established and the minimum and maximum titer quantities were measured. Quantitative real time PCR was successfully used in the detection of PVY screening and virus quantitation in seeds of Desire and Nectar species.

*Keywords:* Immunocapture, real time PCR, quantitative PCR, potato tuber