



Determination of apple proliferation phytoplasma disease (*Candidatus Phytoplasma mali*) in apple orchards in Adana and İçel provinces

Adana ve İçel illerinde elma bahçelerinde elma çoklu sürgün fitoplazma hastalığı (*Candidatus Phytoplasma mali*)'nın varlığının belirlenmesi

Şefika YAVUZ¹ , Mona GAZEL² , Kadriye ÇAĞLAYAN² 

¹Biological Control Research Institut, Adana, Turkey.

²Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Antakya-Hatay, Turkey.

MAKALE BİLGİSİ / ARTICLE INFO

Makale tarihçesi / Article history:

Geliş tarihi /Received:25.03.2019

Kabul tarihi/Accepted:15.05.2019

Keywords:

Phytoplasma, apple proliferation phytoplasma, *Candidatus Phytoplasma mali*, apple, Turkey.

✉ Corresponding author: Şefika YAVUZ

✉: sefika.yavuz@tarimorman.gov.tr

ÖZET / ABSTRACT

Aims: In this study, the presence of Apple Proliferation (*Candidatus Phytoplasma mali*) was investigated in Adana and İçel provinces.

Methods and Results: Surveys were conducted in apple growing areas of Adana and İçel provinces between 2013-2016 and 234 trees in 39 different orchards were investigated for phytoplasma diseases. DNA isolations of samples, PCR and RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) analysis were performed. Amplicated fragments of 14 out of 234 samples tested by PCR/RFLP analysis observed as same as "*Candidatus Phytoplasma mali*" positive control.

Conclusions: Apple (*Malus domestica* Borkh.) is among the temperate pome fruits that has been important production areas, and grown for many years in our country. AP is listed in quarantine in our country and economically limits apple production in the world. So that, the condition of the disease is important in the apple growing areas.

Significance and Impact of the Study: This study was conducted to determine the presence of AP in Adana and İçel provinces, and especially was to reveal the presence of phytoplasma infection in İçel.

Atif / Citation: Yavuz Ş, Gazel M, Çağlayan K (2019) Determination of apple proliferation phytoplasma disease (*Candidatus Phytoplasma mali*) in apple orchards in Adana and İçel provinces. *MKU. Tar. Bil. Derg.* 24(1) : 15-20

GİRİŞ

Ülkemiz pek çok meyve türünün üretimine olanak sağlayan iklim koşulları sayesinde uzun yıllardır yumuşak ve sert çekirdekli birçok meyvenin yetiştiriciliğinde önemli konumdadır. Ilıman iklim meyvelerinden biri olan elma, *Rosales* takımı, *Rosaceae* familyası, *Pomoideae* alt familyasına ait olan, Türkiye'de hemen hemen her bölgede yetiştirilmesinin yanı sıra yıllar içerisinde üretiminde artışlar olduğu gözlenen önemli bir meyve türüdür. Yurdumuzda tüketilen başlıca meyvelerden biri olan elma organik asit ve mineral madde içermesinin yanı sıra vitamince zengin bir besindir.

Dünya üretimine bakıldığında yaklaşık 5 milyon hektar alanda yapılan elma yetiştiriciliğinin ülkemizde bir önceki

yıla oranla %3.6 artarak 171 bin hektar alanda yapıldığı görülmektedir (Anonim, 2017a)Türkiye'de ise bölge bazı elma yetiştiriciliği yapılan alanlara bakıldığında Akdeniz Bölgesi üretimi ton olarak %18.4'ünü karşılamaktadır (Anonim, 2017a).

Elma yetiştiriciliği yapılan alanlarda ekonomik açıdan ciddi kayıplara neden olan hastalık ve zararlıların birçoğu kimyasal mücadele yöntemleri ile önlenilmekte ancak herhangi bir kimyasal mücadelesi olmayan virüs, viroid ve fitoplazma gibi hastalıklar için önleyici veya yayılmayı engelleyici önlemler öne çıkmaktadır.

Fitoplazmalar birçok bitki ve ağaç türünde enfeksiyonlara neden olan, bitkilerin floem dokularında kolonize olan, floem dokusunun yanı sıra böceklerin vücut sıvılarında çoğalabilen ve *in vitro* ortamlarda

kültüre alınamayan obligat parazitlerdir (Seemüller ve ark., 2002).

Elma Çoklu Sürgün Fitoplazma (EÇSF) hastalığı olarak isimlendirilen Avrupa ve Akdeniz Bitki Sağlığını Koruma Örgütü (EPPO)'nün karantina listesinde bulunan ve etmeni '*Candidatus* Pythoplasma mali' olan hastalık elma ağaçlarının önemli hastalıklarından biridir. Ülkemizde ise sınırlı bölgelerde varlığı tespit edilen hastalık potansiyel tehlike olarak kabul edilmektedir (Anonim, 2011). Hastalığın ilk olarak İtalya'da ortaya çıkışından bu yana Avrupa'da birçok ülkede elma yetiştiriciliği yapılan alanlarda önemli enfeksiyonlar oluşturduğu bildirilmiştir (Rui ve ark., 1950; Seemüller ve Schneider, 2004). Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında özellikle 2000'li yıllarda Akdeniz Bölgesi, Ankara, Yalova ve Niğde'de etmenin varlığı tespit edilmiştir (Canik ve Ertunç, 2007; Sertkaya ve ark., 2008; Dağtekin, 2009).

Bu çalışma kapsamında Adana ve İçel illeri elma bahçelerinde EÇSF'nin yaygınlığının PCR/RFLP analizleriyle belirlenmesi hedeflenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmanın patojen materyali olan EÇSF için Adana ve İçel illerinde fitoplazma semptomlarının gözlemlendiği elma ağaçlarından örnekler toplanmıştır. Fitoplazma gruplarını temsil eden izolatlarla ait pozitif kontrol DNA örnekleri Dr. X. Foissac (INRA, Fransa) ve Dr. A. Bertaccini (İtalya)'dan temin edilmiş, sağlıklı GF-305 yaprakları negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Yöntem

Enfekteli Bitki Materyallerinin Temini

Örnekleme alanları elma yetiştirilen alanların %1'ini temsil edecek şekilde gerçekleştirilmiş, bununla birlikte ev bahçelerinden de örnekler alınmıştır (Bora ve Karaca, 1970). Her iki ilde ağaçlarda yaprak stipüllerinde aşırı büyüme, dallarda çıplaklaşma ve verimde azalma semptomlarının gözlemlendiği ağaçların her birinden, ağacı temsil edecek şekilde dört yanından sürgün ve yaprak örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler ayrı ayrı polietilen poşetlere konularak etiketlenmiş, buzluklar içerisinde DNA izolasyonu yapılmak üzere laboratuvara getirilmiştir.

Bitki Materyallerinden DNA İzolasyonu

Araziden toplanan bitki materyallerinin DNA izolasyonu Martini ve ark., (2009) tarafından modifiye edilen Doyle ve Doyle (1990) yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

Bu yöntemde 1 gr bitki dokusu havanlar içerisinde sıvı azotla ezilmiş, üzerine 5 ml %2.5 CTAB solüsyonu eklenmiştir (100 mmol l⁻¹ Tris pH 8.0; 1.4 mol l⁻¹ NaCl; 50 mmol l⁻¹ EDTA pH 8.0; % 2.5 CTAB; % 1PVP-40; ekstraksiyondan hemen önce %0.2 2-mercaptoethanol eklenmiştir). Oluşan homojenattan 1 ml'si 2 ml'lik tüpe alınmış ve 65°C'de 30 dakika inkube edilmiştir. İnkübasyonun ardından tüpler üzerine 1 ml chloroform-isoamyl alkol (24:1) ilave edilerek hafifçe karıştırılmıştır. Tüpler 17.950 g'de 4°C'de 15 dakika santrifüjlendikten sonra oluşan supernatantın üzerine 2/3 hacim isopropanol eklenmiştir. Tüpler pellet oluşumu için 17.950 g'de 4°C'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Oluşan pellet %70'lik soğuk etanol ile yıkanmıştır. Vakumda kurutulan tüplere 100 µl TE solüsyonu eklenerek -20°C'de muhafaza edilmiştir.

PCR Analizi

Ekstraksiyon sonrası elde edilen DNA'lardan fitoplazma teşhisi Nested PCR yöntemiyle yapılmıştır. İki aşamalı PCR işleminde ilk PCR'da 1800 bp ürün veren P1 (Deng ve Hiruki, 1991) / P7 (Smart ve ark., 1996) primer çiftleri (P1:AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGA, P7:CGTCTTCATCGGCTCTT); ikinci PCR'da AP grubuna spesifik 1050 bp ürün veren F01 / R01 (Lorenz ve ark., 1995) primer çiftleri (F01: CGGAACTTTTAGTTTCAGT, R01: AAGTGCCCAACTAAATGAT) kullanılmıştır. Direkt-PCR aşamasında nükleik asitler 1/49 oranında sulandırılarak hazırlanan karışımdan 1µl alınıp 24 µl'lik reaksiyon karışımına eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 10XPCR solüsyonu (100mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, % 0.01 gelatin), 1.5 mM MgCl₂, 250 µM dNTP'ler, 20 pmol primerler, 2 ünite *Taq* polimeraz'dan oluşmuştur. Direkt-PCR döngüsü; 94°C'de 2 dakika denatürasyondan sonra, 94°C'de 1 dakika, 57°C'de 2 dakika ve 72°C'de 3 dakikadan oluşan 35 döngüyü takiben 72°C'de 10 dakikadan oluşturulmuştur. Direkt-PCR'dan sonra uygulanan Nested-PCR aşamasında F01/R01 primerleri kullanılmıştır. Direkt-PCR ürünleri 1/49 oranında sulandırıldıktan sonra, karışımdan 1 µl alınarak yeni hazırlanan reaksiyon karışımına eklenmiştir. Nested-PCR'da ise tüpler 94°C'de 2 dakika denatürasyondan sonra, 94°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye, 72°C'de 1 dakikadan oluşan 35 döngüyü takiben 72°C'de 5 dakika olacak şekilde yapılmıştır (Lee ve ark., 1998).

Jel Elektroforez

PCR ürünlerinin görsel hale getirilmesi amacıyla ürünler %1.2'lik agaroz jel elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Elektroforez 1XTAE ortamında gerçekleştirilmiş ve jelin hazırlanmasında da yine aynı ortam kullanılmıştır. Jele 3 µl yükleme tamponu ile

birlikte 12 µl Nested-PCR ürünü karıştırılarak yüklenmiş ve 120 Voltta 35 dakika süreyle elektroforeze tabi tutulmuştur. Jelde ürünlerin yürütülme işlemi bittikten sonra jel 1 mg/µl Etidyum bromid içeren 1XTAE ortamında 3-5 dakika süreyle boyanmıştır. Boyama işleminden sonra jeller UV transilluminatörde gözlenerek fotoğraflanmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir (Lee ve ark., 1992).

RFLP analizi

PCR ürünlerinin RFLP analizinde Nested-PCR sonucu referans izolatlarla aynı seviyede bant oluşturan fitoplazma pozitif örneklerin PCR ürünlerinin 5-15 µl'si restriksiyon endonükleaz enzimleri *RsaI* ve *SspI* ile 37°C'de 1-16 saat kesime tabi tutulmuştur. Kontrol amacı ile farklı fitoplazma gruplarına ait izolatlar da enzim kesimine dahil edilmiştir. Oluşan bant profillerine

göre (Lee ve ark., 1998) '*Candidatus Phytoplasma mali*' ile enfekteli bulunan örnekler belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Adana ve İçel illerinde elma bahçelerinde elma çoklu sürgün fitoplazmasının varlığının belirlenmesi amacıyla yapılan survey çalışmalarında elma ağaçlarında dallarda çıplaklaşma, stipullerde anormal büyümeler, meyve veriminde azalmalar görülen ağaçlardan örnekler alınmıştır (Şekil 1). EPPO'da hastalığın genel semptomları arasında en tipik olanının cadı süpürgesi oluşumu olduğu, yapraklarda ve meyvelerde küçülmelerin meydana gelebildiği ve yaprakların yan kulakçıklarında anormal büyümelerin gözlemlenebildiği bildirilmiştir (Anonim, 2017b).



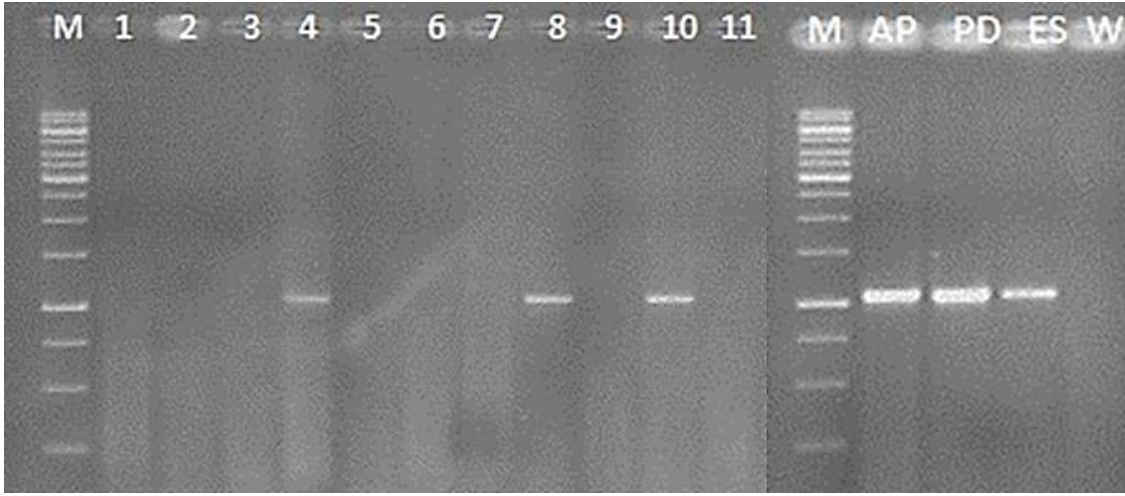
Şekil 1. İçel ilinde PCR / RFLP analizleri sonucu EÇSF ile enfekteli bulunan elma ağaçlarında gözlenen dallarda çıplaklaşma semptomları (a,b)

Yapılan çalışmada Adana ilinde 12 farklı bahçe gezilerek 76 örnek alınmış, İçel ilinde ise 27 farklı bahçe gezilerek 158 örnek alınmış, böylece toplamda 39 bahçeden 234 adet bitki örneği toplanmıştır. Yapılan Nested-PCR analizleri sonucunda 234 örneğin 14 tanesinin fitoplazma ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Şekil 2). Fitoplazma ile enfekteli olan örneklerdeki fitoplazma

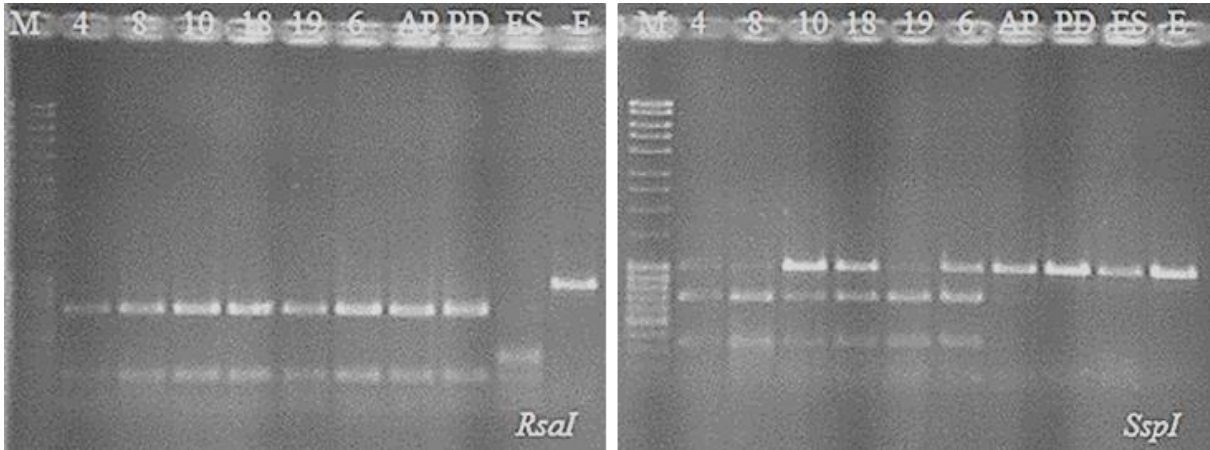
türünü belirlemek amacıyla RFLP analizleri yapılmıştır. Genel ve gruba spesifik primerlerle yapılan PCR analizleri sonucunda pozitif bulunan tüm örneklerdeki fitoplazmaların RFLP analizlerinde pozitif kontrol olarak kullanılan DNA örneği ile aynı jel profili elde edilerek, fitoplazmanın "*Candidatus Phytoplasma mali*" olduğu saptanmıştır (Şekil 3). Altan ve ark. (2016) yaptıkları

çalışmada 16 Sr-X grubuna giren fitoplazma hastalıkları için P1/P7 – F01/R01 primerleri ile 9 farklı karışım kombinasyonu ve 2 farklı PCR döngüsü kullanılarak

analizler gerçekleştirilmiştir. Bu sayede sonuçları karşılaştırarak en stabil yöntemi belirlemişlerdir.



Şekil 2. İçel ilinden toplanan elma örneklerinin DNA'larının F01/R01 primerleri ile yapılan Nested-PCR analizleri sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü. M: Moleküler marker, 1-11: Testlenen elma örnekleri, AP: Elma Çoklu Sürgün Fitoplazması, PD: Armut Yıkım Fitoplazması, ES: Avrupa Sert Çekirdekli Sarılık Fitoplazması: Pozitif kontroller, W: Su kontrol



Şekil 3. İçel ilinden toplanan elma örneklerinden elde edilen DNA'ların F01/R01 primerleri kullanılarak yapılan Nested-PCR ürünlerinin *SspI* ve *RsaI* restriksiyon enzimleri ile elde edilen RFLP ürünlerinin agaroz jelde oluşan bant profilleri. M: Moleküler marker, 4, 8, 10, 18, 19, 6: Testlenen elma örnekleri, AP: Elma Çoklu Sürgün Fitoplazması, PD: Armut Yıkım Fitoplazması, ES: Avrupa Sert Çekirdekli Sarılık Fitoplazması, Pozitif kontroller, -E: Enzim kullanılmayan kontrol.

EÇSF pozitif olarak saptanan ağaçlardan yeniden örnek almak için 6 ay sonra aynı bahçeye gidildiğinde, bu ağaçların tamamen kurduğu ve sökümlerinin yapıldığı gözlenmiştir.

Adana ve Niğde illerinde 2004 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada 17 farklı bahçe gezilerek toplanan 31 örnekten 6 adetinde '*Candidatus Phytoplasma mali*' varlığının tespit edildiği rapor edilmiştir (Sertkaya ve ark., 2008).

Benzer şekilde 2008 yılında Eğirdir Bahçe Kültürleri Araştırma Merkezi, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Isparta ile Osmaniye'deki bazı bahçelerden toplanan örnekler üzerinde yapılan analizler sonucunda toplanan 150 adet örneğin 4 tanesinin EÇSF ile enfekteli olduğu belirlenmiş, DNA dizilemesi sonucunda 3 adet örneğin referans izolatla benzer olduğu ortaya konulmuştur (Dağtekin, 2009). Yapılan bu çalışmada ise

gerçekleştirilen analizler sonucunda EÇSF ile enfekteli bulunan örneklerin tümünün İçel iline ait örnekler olduğu Adana ilinden toplanan örneklerde herhangi bir enfeksiyon olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Öztürk ve ark. (2016) elma ve armut yetiştirilen Türkiye'nin batı bölgelerinde AP grubu fitoplazmaların varlığını araştırmışlardır. Isparta, Denizli, Antalya, Karaman, Niğde, Kayseri, Bursa, Sakarya, Samsun ve Ankara illerini kapsayan çalışmada 924 elma ile 850 armut ağacını incelemiş, ancak sadece Isparta ve Ankara illerinde armut yıkım fitoplazması hastalığını saptamışlardır. Sonuç olarak bu çalışma, Adana ve İçel illerinde EÇSF'nin yaygınlığının tespitine yönelik yapılan bir araştırma ve özellikle İçel ilinde enfeksiyon varlığının ortaya konduğu bir çalışma olmuştur. Çağlayan ve ark. (2014) yürüttükleri çalışmada fitoplazma semptomu gözlenen armut, nar, hurma, zeytin, kaysı, erik, badem ile şeftali ağaçlarındaki fitoplazma hastalıkları ve olası vektörleri araştırmışlardır. 16 Sr-X grubuna ait olan *Ca. P. mali*'nin bu gruptaki diğer fitoplazma hastalıklarına kıyasla bulunma oranının çok daha düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Önceki yıllarda Kaya ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışma doğrultusunda bu fitoplazmanın taşınmasından sorumlu olabilecek aday psyllid türlerinin varlığının belirlenmiş olması karantina patojeni olan bu etmenle ilgili kontrol önlemlerinin alınmasının zorunlu olduğu kanaatini ortaya koymuştur.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada Adana ve İçel illerinde Elma çoklu sürgün fitoplazması (*Candidatus Phytoplasma mali*) nin varlığı araştırılmıştır.

Yöntem ve Bulgular: Adana ve İçel illerinde elma yetiştirilen alanlarda 2013-2016 yılları arasında yapılan arazi çalışmaları sırasında fitoplazma hastalıkları açısından 39 bahçe ve 234 ağaç incelenmiştir. Örneklerin DNA izolasyonları, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ve RFLP (Restriksiyon Fragment Uzunluklu Polimorfizm) analizleri yapılmıştır. Sonuçlara göre PCR/RFLP analizleriyle testlenen 234 örnekten 14 tanesi "*Candidatus Phytoplasma mali*" pozitif kontrolü ile aynı büyüklükte amplifikasyon oluşturmuştur.

Genel Yorum: Elma (*Malus domestica* Borkh.), ülkemizde uzun yıllardır yetiştirilen, yumuşak çekirdekli arasında yer alan, önemli üretim alanına sahip ılıman iklim

meyvelerindedir. EÇSF ülkemiz karantina listesinde yer alan ve dünyada elma üretimini ekonomik ölçüde sınırlandıran bir hastalıktır. Bu nedenle hastalığın elma yetiştiriciliği yapılan alanlardaki durumu önem arz etmektedir.

Çalışmanın Önemi ve Etkisi: Bu çalışma Adana ve İçel illerinde EÇSF'nin varlığının tespitine yönelik yapılan bir araştırma olup özellikle İçel ilinde enfeksiyon varlığının ortaya konduğu bir çalışma olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Fitoplazma, elma çoklu sürgün fitoplazması, *Candidatus Phytoplasma mali*, elma, Türkiye.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı destekleyen Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne (TAGEM-BS-13/08-03/02-15) ve MKU-BAP (11.300 nolu proje)'ne teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMA BEYANI

Yazar(lar) çalışma konusunda çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Altan B, Öztürk Y, Ünlü M, Gür H, Faruk S, Serçe ÇU (2016) 16Sr-X Grubuna giren Bazı Fitoplazma Etmenlerinin Moleküler Analizlerinde En Uygun Koşullarının Belirlenmesi. *Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi*, 5-8 Eylül, Konya. s 538.
- Anonim (2011) European and Mediterranean Plant Protection Organization, <https://www.eppo.int/>
- Anonim (2017a) Türkiye İstatistik Kurumu, www.tuik.gov.tr (Erişim tarihi: Nisan 2019)
- Anonim (2017b) European and Mediterranean Plant Protection Organization, <https://www.eppo.int/>
- Bora T, Karaca İ (1970) Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi, Ege Üni. Zir. Fak., Yardımcı Ders Kitabı No:167, Bornova.
- Canik D, Ertunc F (2007) Distribution and molecular characterization of apple proliferation phytoplasma in Turkey. *Bull. Insect.* 60 (2): 335-336.
- Çağlayan K, Gazel M, Serçe ÇU, Kaya K (2014) Türkiye'de Bazı Meyve Ağaçlarında Saptanan Fitoplazmalar ve Olası Vektörleri. *Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi*, 3-5 Şubat, Antalya. s 190.

- Dağtekin Ş (2009) Akdeniz Bölgesindeki iki elma koleksiyon parselinde Elma Çoklu Sürgün Fitoplazması hastalığının (*Candidatus Phytoplasma mali*) moleküler yöntemlerle tanınması. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bil. Ens., Hatay, 25 s.
- Deng S, Huriki C (1991) Amplification of 16S rRNA genes from culturable nad nonculturable Mollicutes. J. Micro. Meth. 14 (1): 53-61.
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12: 13-15.
- Kaya K, Serce CU, Gazel M, Caglayan K, Sauvion N, 2016. Potential psyllid vectors of *Candidatus Phytoplasma mali* and *Candidatus Phytoplasma pyri* in Turkey. Pakistan J. Agric. Sci. 53 (2): 383-392.
- Lee IM, Davis RE, Chen TA, Chiykowski LN, Fletcher J, Hiruki C, Schaff DA (1992) A genotype-based system for identification and classification of mycoplasma-like organisms (MLOs) in the aster yellows MLO strain cluster. Phytopathol. 82: 977-986.
- Lee IM, Gundersen DE, Davis RE, Bartoszyk IM (1998) Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. Plant Pathol. 56: 721.
- Lorenz KH, Schneider B, Ahrens U, Seemüller E (1995) Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. Phytopathol. 85: 771-776.
- Martini M, Musetti R, Grisan S, Polizzotto R, Borselli S, Pavan F and Osler R (2009) DNA-dependent detection of the grapevine fungal endophytes *Aureobasidium pullulans* and *Epicoccum nigrum*. Plant Dis. 93: 993-998.
- Öztürk Y, Altan B, İşçi M, Kaymak S, Serçe ÇU, Erdoğan ŞR, Şenyurt H, Aydın M (2016) Elma ve Armut Yetiştirilen Bazı Bölgelerde Apple Proliferation Grubu (16SrX) Fitoplazmaların Araştırılması. *Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi*, 5-8 Eylül, Konya. s 670.
- Rui D, Ciferri R, Refatti E (1950) La virosi degli "scopazzi del melo" nel Veronese. Notiziario delle Malattie delle Piante, 13: 7-11.
- Seemuller E, Schneider B (2004) '*Candidatus Phytoplasma mali*', '*Candidatus Phytoplasma pyri*' and '*Candidatus Phytoplasma prunorum*', the casual agents of Apple Proliferation, Pear Decline and European Stone Fruit Yellows, respectively. Int. J. Syst. Bact. Evol. Microbiol. 54: 1217-1226.
- Seemüller E, Garnier M, Schneider B (2002) Mycoplasmas of plants and insects. In: Molecular Biology and Pathology of Mycoplasmas (Razin S, Herrmann R, Eds). Kluwer Academic / Plenum Publishers, London, UK, 91-116 pp.
- Sertkaya G, Martini M, Osler R (2008) First report of *Candidatus Phtoplasma mali* in Turkey. J. Plant Pathol. 90(1):143-149.
- Smart CD, Schneider B, Blomquist CL, Guerra LJ, Harrison NA, Ahrens U, Lorenz KH, Seemüller E, Kirkpatrick BC (1996) Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region. App. Environ. Microbiol. 62: 2988-2993.