



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KONYA İLİ MARUL EKİM ALANLARINDA
GÖRÜLEN VİRÜS HASTALIKLARININ
BELİRLENMESİ

Halime İRGİN AĞCA

YÜKSEK LİSANS

Bitki Koruma Anabilim Dalını

Temmuz-2021
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Halime İRGİN AĞCA

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

Konya İli Marul Ekim Alanlarında görülen virüs hastalıkları

Halime İRGİN AĞCA

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Serkan YEŞİL

2021,51 Sayfa

Jüri

Danışmanın Dr. Öğr. Üyesi Serkan YEŞİL

Marul (*Lactuca sativa* L.) *Compositae* (*Asteraceae*) familyası içerisinde yer almaktadır. Yaprakları için yetiştirilen bu bitki, Dünya’da ve ülkemizin hemen hemen her yerinde açıkta ve örtü altında yetiştirilmektedir. Gerçekleştirilen bu tez çalışması ile; Konya ili marul ekim alanlarında sorun olan virüsler ve bunların sebep oldukları hastalıkların marul ekim alanlarındaki yaygınlıkları da ilk defa ortaya konulmuştur. Bu çalışma kapsamında; 2020 yılı Mayıs ile Ağustos ayları arasında Konya ili marul ekim alanlarında gerçekleştirilen sürveyler ile virüs belirtisi gösteren marul bitkilerinden yaprak örnekleri alınmıştır. Daha sonra toplanan marul örnekleri laboratuvar koşullarında double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) yöntemi ile *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Mirafiori lettuce big vein virus* (MiLBVV), *Lettuce mosaic virus* (LMV) ve *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) enfeksiyonlarını ortaya koymak amacıyla testlenmiştir. Çalışma sonuçlarından elde edilen bilgilere göre 97 adet marul bitki örneğinin 40 (%41,23) tanesinin, 6 adet yabancı ot örneğinin ise 6 (%100) tanesinin farklı virüslerle bulaşık oldukları tespit edilmiştir. Marul yaprak örneklerinde; TSWV (%38,14), LMV (%19,58), CMV (%18,55), MiLBVV (%7,2) enfeksiyonları saptanırken, yabancı ot örneklerinde ise; LMV (%66,66), CMV (%66,66), ve TSWV (%50) enfeksiyonlarının varlıkları ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: DAS-ELISA, Konya, Marul, TSWV, Virüs

ABSTRACT

MS THESIS

Virus Diseases on Lettuce Plants in Konya Province

Halime İRGİN AĞCA

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE
OF SELÇUK UNIVERSITY THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN
PLANT PROTECTION

Advisor: Asst. Prof. Dr. Serkan YEŞİL

2021,51 Pages

Jury

Advisor Asst. Prof. Dr. Serkan YEŞİL

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is a member of the family *Compositae* (*Asteraceae*). This plant, which is grown for its leaves, is grown in the open area and under cover area almost everywhere in the world and in our country. With the present study virus diseases of lettuce and their prevalence in Konya province was revealed for the first time. For this purpose, leaf samples were taken from lettuce plants showing virus diseases symptoms with surveys carried out in Konya province lettuce planting areas between May and August 2020. Then the collected lettuce leaf samples were tested in laboratory conditions by double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent (DAS-ELISA) method to reveal infections of *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Mirafiori Lettuce big vein virus* (MILBVV), *Lettuce mosaic virus* (LMV), and *Tomato spotted wilt virus* (TSWV). According to the information obtained from the results of the study, it was determined that 40 of 97 (41.23 %) lettuce plant samples and 6 of 6 (100 %) weed samples were infected with different viruses. In lettuce leaf samples; TSWV (38.14 %), LMV (19.58 %), CMV (18.55 %) and MILBVV (7.2 %) infections have been detected. In weed samples; infections of LMV (66.66 %), CMV (66.66 %), and TSWV (50 %) have been revealed.

Keywords: DAS-ELISA, Konya, Lettuce, TSWV, Virus

ÖNSÖZ

Lisans eğitimimde olduğu gibi Yüksek Lisans eğitim sürecinde de engin tecrübe ve bilgileriyle her zaman yanımda olan, tez konumun seçiminden başlayarak son aşamasına kadar her türlü desteği gösteren Danışman Hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Serkan YEŞİL' e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her alanında benden desteğini esirgemeyen, her zaman arkamda olan aileme ve eşim Hasan AĞCA' ya, özellikle tez süresi aşamasında benimle birlikte laboratuvar çalışmalarına katılan, beni bu süreçte yalnız bırakmayan sevgili annem Fatma İRGİN' e sevgi ve saygılarımı sunarım.

Halime İRGİN AĞCA
KONYA-2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Dünya ‘da Marulda Görülen Virüsler Üzerine Yapılan Çalışmalar	5
2.2. Türkiye’de Marulda Görülen Virüsler Üzerine Yapılan Çalışmalar	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1. Materyal	14
3.1.1. Bitki Materyali	14
3.1.2. Serolojik Testler İçin Gerekli Materyaller	14
3.1.3. Diğer Materyaller	15
3.2. Yöntem.....	15
3.2.1. Örnek Toplama ve Arazi Çıkışı	15
3.2.2. Serolojik Test Yöntemi	16
3.2.3.Hastalık ve Yaygınlık Oranlarının Hesaplanması	20
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	21
4.1. Arazi Çıkışlarında Toplanan Bitki Örnekleri	21
4.2. Üretim Alanlarındaki Enfekteli Bitkilerde Görülen Viral Simptomlar	24
4.3. Virüs Hastalıklarının Yaygınlık Oranları	26
4.4. DAS-ELISA Çalışmaları.....	27
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	32
5.1. Sonuçlar.....	32
5.1.1. DAS-ELISA test sonuçları	32
5.2. Öneriler	33
KAYNAKLAR	35
EKLER	40
ÖZGEÇMİŞ	41

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
Σ	: Toplam
da	: Dekar
dk	: Dakika
g	: Gram
Kg	: Kilogram
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
nm	: Nanometre
pH	: Hidrojen İyon Konsantrasyonunun Negatif Logaritması

Kısaltmalar

ArLV	: <i>Artichoke latent potyvirus</i>
BiMV	: <i>Bidens mosaic virus</i>
CMV	: <i>Cucumber mosaic virus</i>
DAS-ELISA	: Double- antibody sandwich enzyme linked immuno sorbent assay
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GRSV	: <i>Groundnut ringspot virus</i>
LBVaV	: <i>Lettuce big vein associated virus</i>
LBVV	: <i>Lettuce big vein virus</i>
LeMoV	: <i>Lettuce mottle virus</i>
LMV	: <i>Lettuce mosaic virus</i>
LYSV	: <i>Leek yellow stripe potyvirus</i>
MiLBVV	: <i>Mirafiori lettuce big vein virus</i>
RaMV	: <i>Radish mosaic comovirus</i>
RNA	: Reoksiribonükleik asit
TCSV	: <i>Tomato chlorotic spot virus</i>
TMV	: <i>Tobacco mosaic tobamovirus</i>
TuMV	: <i>Turnip mosaic potyvirus</i>
TSCV	: <i>Tomato chlorotic spot virus</i>
TSWV	: <i>Tomato spotted wilt virus</i>

Şekil Dizini

Şekil 3.1. Örneklemenin yapıldığı Konya İl ve İlçeleri	16
Şekil 3.2. ELISA tabaklarında kaplama tamponu.....	17
Şekil 3.3 ELISA tabaklarında yıkama tampon çözeltisi	18
Şekil 3.4. ELISA tabaklarında bitki ekstraktı	18
Şekil 3.5. ELISA tabaklarında Konjugat Tamponu	19
Şekil 3.6. ELISA tabağında pozitif örnek ve substrate tampon çözeltisi	19
Şekil 3.7. DAS-ELISA çalışmalarının aşamaları.....	20
Şekil 4.1. Yapraklarda nekrotik lekeler	24
Şekil 4.2. Büyüme de durgunluk	24
Şekil 4.3. Yapraklarda damar açılması	25

Çizelge Dizini

Çizelge 1.1. Türkiye’de 2020 yılı marul üretim miktarları (Anonim, 2020a)	1
Çizelge 1.2. Marul bitkisinde hastalık yapan viral etmenler (Alan, 2012).....	2
Çizelge 3.1. Örnek alınan ilçeler ve bitki bazlı örnek sayıları.....	14
Çizelge 4.1. 2020 yılında arazide yapılan örnekleme çalışmalarında toplanan bitki örnekleri ve gözlemlenen belirtiler	21
Çizelge 4.2. 2020 yılında arazide yapılan örnekleme çalışmalarında toplanan bitki örnekleri ve gözlemlenen belirtiler	22
Çizelge 4.3. 2020 yılında arazide yapılan örnekleme çalışmalarında toplanan bitki örnekleri ve gözlemlenen belirtiler	23
Çizelge 4.4. 2020 yılında toplanan marul ve yabancı ot örneklerinde DAS-ELISA testleri sonucunda belirlenen virüsler	28
Çizelge 4.5. Araştırmanın yapıldığı Konya iline bağlı ilçelerden toplanan örneklerde DAS-ELISA testleri sonucu belirlenen tekli enfeksiyonlara ait maksimum-minimum absorbans değerleri ve bulaşık örnek sayıları	28
Çizelge 4.6. Konya ilinden toplanan bitki örneklerindeki ikili ve çoklu enfeksiyonların bitki türlerine göre sayıları.....	29

1. GİRİŞ

Ülkemiz ekonomisinde marul yetiştiriciliği önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde yapılan sebze üretimi hem dış pazarda hem de iç pazarda önemli ölçüde ihtiyaç karşılamaktadır. *Cucurbitaceae* ve *Solanaceae* familyaları ülkemizde ve dünyada genelinde en çok yetiştirilen familyalar olup *Compositae (Asteraceae)* familyasında bulunan salata ve marul yetiştiriciliği ön plandadır. Marul ülkemizde gıda sektöründe hızlı tüketilen bir besin unsuru olurken, doğrudan sanayi ürünü olarak kullanılmamaktadır. Ayrıca diyet besini olarak da ülkemizde tüketilmektedir.

Türkiye, Dünya’da en fazla sebze üreten ülkelerden bir tanesi konumundadır. FAO 2020 yılı üretim verilerine göre Dünya’da üretimi yapılan marul bitkileri arasında ülkemiz, marul üretiminde 499.766 tondur.

Ülkemizde farklı çeşitlerde marul üretimi yapılmaktadır. Çizelge 1.1.’de bu ürünlerin 10 yıllık üretim miktarları görülmektedir (Anonim, 2020). 2020 yılı marul üretim miktarları 2019 yılına göre, kıvırcık marul %4,4, göbekli marul %4,6, aysberg marul ise %2,0 oranında arttı.

Çizelge 1.1. Türkiye’de 2020 yılı marul üretim miktarları (Anonim, 2020a)

Bitki Türü	Üretim Miktarları (Ton)										
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Kıvırcık	131,95	138,466	145,019	159,971	172,207	157,981	179,712	185,07	187,658	198,491	207,234
Göbekli	226,14	217,378	205,463	212,189	230,755	225,021	233,662	223,449	215,725	215,728	225,639
Aysberg	61,202	68,408	68,584	64,625	65,551	64,49	65,068	81,904	84,16	85,547	87,278
Toplam	419,3	424,252	419,066	436,785	468,513	447,492	478,442	490,423	487,543	499,766	520,151

Çalışma alanımız olan Konya ili ve ilçelerinde marul bitkisinde en fazla ekim alanı ve üretim miktarına sahip çeşitler sırasıyla; göbekli marul (1 187 da, 2705 ton), kıvırcık marul (150 da, 240 ton) ve aysberg marul (160 da, 325 ton) ‘dur.

Dünya’da ve ülkemizde marul yetiştiriciliği olan alanlarda yapılan çalışmalar sonucunda 18 farklı virüs tespit edilmiştir. (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Dünya’da marul üretim alanlarında tespit edilen virüsler (Alan, 2012)

Virüsün Türkçe ismi	Virüsün bilimsel ismi
Marul nokta beneklenme virüsü	<i>Lettuce speckles mottle virus</i> (LSMV)
Mirafiori marul iri damarlılık virüsü	<i>Mirafiori lettuce big vein virus</i> (MiLBVV)
Hıyar mozaik virüsü	<i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV)
Marul nekrotik bodurluk virüsü	<i>Lettuce necrotic stunt virus</i> (LNSV)
Marul iri damarlılık virüsü	<i>Lettuce big vein virus</i> (LBVV)
Domates lekeli solgunluk virüsü	<i>Tomato spotted wilt virus</i> (TSWV)
Şalgam mozaik virüsü	<i>Turnip mosaic virus</i> (TuMV)
Tütün rattle virüsü	<i>Tobacco rattle virus</i> (ToRV)
Marul nekrotik sarılık virüsü	<i>Lettuce necrotic yellows virus</i> (LNYV)
Marul mozaik virüsü	<i>Lettuce mosaic virus</i> (LMV)
Sowthistle sarı damar virüsü	<i>Sowthistle yellows vein virus</i> (SYVV)
Şekerpancarı sarı bodurluk virüsü	<i>Beet yellow stunt virus</i> (BYSV)
Şekerpancarı batı sarılık virüsü	<i>Beet western yellows virus</i> (BWYV)
Yonca mozaik virüsü	<i>Alfalfa mosaic virus</i> (AMV)
Marul bulaşıcı sarılık virüsü	<i>Lettuce infectious yellows virus</i> (LIYV)
Bidens mozaik virüsü	<i>Bidens mosaic virus</i> (BMV)
Bakla solgunluk virüsü	<i>Broad bean wilt virus</i> (BBWV)
Tütün halkalı leke virüsü	<i>Tobacco ringspot virus</i> (ToRV)

Amerika’da 1934 yılında CMV (hıyar mozaik virüsü; *Cucumber mosaic virus*), ilk olarak salatalık (*Cucumis sativus* L.) bitkilerinde tespit edilmiştir. CMV *Bromoviridae* familyasının *Cucumovirus* cinsinin özellikle ekonomik olarak en önemli türünden bir tanesi olarak kabul edilmektedir. CMV, TMV’nin ardından en fazla konukçuya sahip viral etmen olarak bilinmektedir. Bu virüs özellikle geniş bir konukçu dizisine sahip olduğundan diğer virüs hastalıklarına göre üretim alanlarında daha sık ve yaygın olarak karşımıza çıkmaktadır. CMV’nin, konukçu dizisi içerisindeki, 100 familyada bulunan 1200’ün üzerindeki sayıda bitkiyi hastalandırabildiği bilinmektedir. Virüsün genomu üç parçalı (+) ssRNA (RNA1 (~3350 nt), RNA2 (~3050 nt) ve RNA3 (~2200)) olup, partikülleri izometrik morfolojik yapıya sahip, 29-30 nm çapında ve zarf içermeyen yapıya sahiptir. RNA3 arada dördüncü bir RNA (~1030 nt) içerebildiği de belirtilmiştir. RNA3, kılıf proteini ve 3a proteini kodlamaktadır. Kodlanan 3a proteinin etmeni hareket proteini (hücreden hücreye) olduğu bildirilmiştir. 2a ve 2b adı verilen iki

farklı proteinin ise RNA2 tarafından kodlandığı bildirilmektedir. Bunlardan 2a proteini, genom replikasyonunda rol alırken, diğerinin, yani 2b proteinin ise enfeksiyon sırasında konukçunun kendini savunmak amacı ile ürettiği gen susturucu sinyallerini engellediği bildirilmektedir. RNA1'in kodladığı bir adet protein bulunmaktadır ve genom replikasyonu aşamalarında kilit bir role sahip olduğu bildirilen bu protein 1a olarak isimlendirilmiştir (Zitter and Murphy, 2009).

TMV (*Tobacco mosaic virüs*; Tütün mozaik virüsü) *Tobamovirus* cinsi içerisinde yer alan, 300×18 nm boyutlarında çubuk şeklinde partikülle ve tek sarmal RNA genomu sahip bir hastalık etmenidir. TMV, dünya da ve ülkemiz de 30 familyadan 199 çeşit bitki türünü enfekte etme yeneğine sahiptir. TMV en fazla Solanaceae familyasında bulunan bitki türlerinde enfeksiyon yaparak kayıplara sebep olabilmektedir (Bagley, 2001).

1921 yılında Amerika'nın Florida eyaletinde marul mozaik virüsü, ilk olarak marul bitkisinde (*Lactuca sativa*) tespit edilmiştir. LMV virüsü zarfsız, virionları ipliksi, genom büyüklüğü 9-12 kb ve tek parçalı olup tek iplikli bir RNA virüsüdür. Marul mozaik virüsü Potyviridae familyasına bağlı *Potyvirus* cinsindedir. %14.9-28 C, %21-26 G, %23-44 A, %15.6-30.9 U'dan oluşan baz içeriğine sahiptir (Anonim, 2015b). Marul yetiştiriciliği yapılan her yerde LMV virüsüne rastlanmaktadır. LMV en çok *Compositae* familyasını enfekte etmektedir. Ayrıca bu virüs türünün, doğal olarak 21 farklı bitki türünü ve yapay inokulasyonlarla, başka bir ifadeyle mekanik olarak taşınarak 121 farklı bitki türünü enfekte edebildiği bildirilmektedir (Horvath, 1980).

TSWV, *Bunyaviridae* familyasında bulunan, *Tospovirus* cinsi içerisinde yer almaktadır (Uhring, 1999, Tsompana, 2005). Bu virüs, küresel simetriye sahip ve 80-110 nm çapında olabilen ve lipit membran tabakası içeren partiküllere sahiptir. Bir TSWV partikülü %70 protein, %20 lipit, %5 nükleik asit (RNA) ve %5 karbonhidrat içermektedir (Adkins, 2000).

TSWV, hem konukçusunun fazla olması (Parrella, 2003) hem de trips türleri ile kolayca taşınabilmesiyle (Şevik, 2008) epidemi yaparak oluşan kayıplarda önemli rol oynamaktadır (Arli-Sokmen and Sevik, 2013).

Jagger ve Chandler (1934) yılında Amerika'da marul bitkisinde ilk marul iri damar virüsü (*Lettuce big vein virus* LBVV, *Mirafiori lettuce big vein virus* MiLBVV) tespit edilmiştir. Virionları zarfsız ve yuvarlaktır. Avustralya, İtalya, İngiltere, Çekoslovakya, Yeni Zelanda, Amerika, Japonya ve Hollanda'da yayılım göstermektedir (Anonim, 2015b). Marul bitkisi yapraklarında damarlar çevresinde klorotik renk

açılması ve sararmalar, damarların irileşmesi veya damarların ağ görünümü, bazı yapraklarda damar bandlaşması gibi bir duruma gelmesine neden olan virüs etmeni iki farklı virüs cinsi ve iki farklı serolojik yapıda incelenmektedir. *Miraifori lettuce big vein virus* (MiLBVV) *Ophiovirus* cinsine, *Lettuce big vein virus* (LBVV) ise *Varicosavirus* cinsine dahil olup farklı serolojik özellikler göstermektedir. Marul iri damar virüsleri tohum veya polen ya da bitkilerin birbirine teması ile taşınmamaktadır. Virüsler az miktarda mekaniksel inokulasyon ve aşı ile taşınırken, asıl vektörü *Olpidium brassicae* obligat toprak patojenidir. Yapılan çalışmalar sonucunda virüs *O. brassicae* dışında başka *Olpidium* türleri ile de taşındığı rapor edilmiştir

Yapılan arazi çalışmalarında üreticilerden alınan şüpheli bitki örnekleri ilgili tarım il ve ilçe müdürlüklerinden verilen enfeksiyon uyarısı ve ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda tespit edilen virüsler dikkate alınarak; Hıyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic virus*, CMV), Marul mozaik virüsü (*Lettuce mosaic virus*, LMV), Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) ve Miraifori marul iri damar virüsü (*Miraifori lettuce big vein virus*, MiLBVV) enfeksiyonlarından şüphelenilmiş ve bu virüslerin araştırılması uygun görülerek bu tez çalışmasının temel araştırma konusunu oluşturmuştur.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Dünya 'da Marulda Görülen Virüsler Üzerine Yapılan Çalışmalar

CMV'nin tespiti için New York eyaletinin Oswego bölgesi'nde marul üretimi yapılan alanlarında yabancı otlar üzerinde mekanik inokulasyon, immunodifüzyon testler ve elektron mikroskopu kullanarak çalışmalar yapmışlardır. CMV'nin bu bölgedeki büyük verim kayıplarına neden olmasıyla yabancı ot konukçularına yoğunlaşmıştır. CMV 'nin marul tohumuyla taşınıp taşınmadığı tespit edilememiştir. 1972-1973 yıllarında CMV ile enfekteli olduğu düşünülen 66 örnekten 12'sinde virüs tespit edilmiştir. Amerika'da yapılan çalışmalar sonucunda ise CMV'nin 8 yabancı ot türü doğal konukçusu olarak ilk defa rapor edilmiştir (Bruckart and Lorbeer, 1975).

Thomson ve Procter (1965), tarafından yapılan bir çalışmada Yeni Zelanda'nın farklı bölgelerinden CMV semptomlarına benzeyen semptomlara sahip marul bitkilerden yaprak örnekleri toplamışlardır. Araştırmacılar genellikle yapraklarında; klorozlar, nekrozlar, bitkide bodurluk ve genel sararmalar gibi belirtilere sahip bitkilerden yaprak örneklerini almışlardır. CMV virüsünün varlığını saptamak için Amerika'da spesifik antiserumu hazırlatıp, jel difüzyon testiyle teşhis yapmışlardır. Bu yöntemle pozitif sonuç çıkanlardan bitki öz suyu izole edilerek indikatör bitkilere inokule etmişler ve inokulasyonlar sonunda *Nicotiana glutinosa* L., *N. tabacum* ve *Cucumis sativus* L.'da sistemik semptomlar gözlemlenmişlerdir. Etmenin farklı ırkları *N. glutinosa*'da şiddetli semptomlar gösterdiği gözlemlenmiştir. Fakat virüsün genel olarak *N. glutinosa*'da klorotik lokal lezyonlara sebep olurken, *Chenopodium amaranticolor* üzerinde küçük nekrotik lezyonlar oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Cho ve ark. (1987), yılında Hawaii eyaletinde sebze üretimi yapılan alanlardaki çalışmalarda TSWV etmeninin şiddetli verim kaybına neden olduğunu rapor etmişlerdir. Marul bitkisinin yapraklarında öncelikle nekrotik kahverengi beneklenmelerle başlayarak ve sonradan sistemik olarak yayılmaya başlayan semptomlar gözlemlenmişlerdir. Bazı yıllar özellikle sıcak aylarda domates ve marul ekim alanlarında %50-90 arasında şiddetli verim kayıplarının olduğunu rapor etmişlerdir.

Hawaii'de birçok araştırmacı bir araya gelerek TSWV'nin mücadelesinde belirli yöntemler belirlemişlerdir. Bölgede TSWV'nin şiddetli verim kayıplarına neden olmasıyla çok sayıda sebze üretimi yapan yetiştiricinin üretimi bırakmasıyla birçok

araştırmacı bir araya gelerek çalışma yapmak istemiştir. Sebze üretimi yapılan alanlarda kullanılan pestisit artışıyla oluşacak olan dayanıklılık sebebi ile aralarında virolog, moleküler bitki viroloğu, entomolog ve tohum bilimci gibi birçok bilim insanı bir araya gelerek dayanıklılığın oluşması için araştırma konularını ortaya koymuşlardır. Bunlar TSWV için; konukçu-virüs, vektör-virüs, konukçu-vektör, hızlı teşhis metodları, çapraz koruma (cross-protection) ile ürün kayıplarının azaltılması ve kısa sürede hastalığın kontrolü için programlar geliştirme ve değerlendirme gibi konulara dikkat çekmişlerdir. Araştırmacılar, belirledikleri bu çalışma başlıklarına göre yürüttükleri çalışmalar ile ümitvar sonuçlar elde etmişlerdir (Cho, 1989).

Zambia'da 1997 yılının Mayıs-Ağustos vejetasyon döneminde CMV ile enfekteli olduğu düşünülen havuç, marul, kereviz, turp, maydanoz, kişniş ve lahana bitkilerinden örnekler alınarak DAS-ELISA testi ve elektron mikroskobu ile tespit etmeye çalışmışlardır. Bu yöntemle kereviz, havuç, turp ve marul da CMV patojeni tespit edilirken, kişniş, lahana ve maydanoz da tespit edememişlerdir. Kişniş, lahana ve maydanoz da farklı patojen virüsten şüphelenmişlerdir. Marul bitkisinin CMV ile enfekteli yapraklarında kahverengileşme, mozaikleşme, damar bandlaşması ve damarlar arası klorozlar gibi belirtiler gözlemlenmişlerdir (Ndunguru and Kapooria, 1997)

Marul bitkilerindeki direnç genleri LMV'nin ırklarının geniş bir biyolojik değişkenlik gösterdiği için bu etmenin zararlarına karşı gelmede yetersiz oldukları bildirilmiştir. Marul ve virüs arasındaki etkileşimi anlamak için virülenslik ve saldırganlığın şiddeti bakımından farklılık gösteren 10 farklı LMV ırkının biyolojik ve moleküler karakterizasyonunu yapmışlardır. 10 izolatin marul direnç genlerinin üstesinden gelme yeteneklerine karşılık tekrar değerlendirmede bulunmuşlardır. Etmenin moleküler bakımdan ortaya koyduğu varyasyonları belirlemek amacıyla izolatlara immunocapture-RT-PCR yöntemini uygulamışlar ve sekans dizilerini belirlemişler ve ayrıca bunların biyolojik özellikleri karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, bu izolatları moleküler verilere dayanarak 3 gruba ayırmışlar ve bu grupların virülensliklerinden coğrafi kökenleriyle ilişkilerinin daha belirleyici olduğunu belirtmişlerdir (Revers, 1997).

Brezilya eyaletinin São Paulo kentinde yapılan çalışmada marul mozaik virüsünün 2 farklı patotipinin dizi analizi yapılmış ve klonlamışlardır. Brezilya, Avrupa ve Orta Doğu-Kuzey Amerika ırklarıyla yapılan karşılaştırma da homologun %95'den fazla olması sebebiyle ırklar arasında farklılık bulamamışlardır. Şili'de izole edilen ırklarla aralarında benzerlik olduğunu belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda direnç

genlerinin kırabilen farklı LMV ırklarının oluşmasında mutasyonların olabileceği fikrini öne sürmüşlerdir (Krause-Sakate, 2001).

MiLBVV ve LBVV etmenlerinin elektron miroskopunda görüntülemişler ve bu etmenin virülenslik özelliğini kısa sürede kaybeden (labil) virüs olduğunu göstermişlerdir. LBVV ve MiLBVV 'nin birlikte ve tek başlarına simptom meydana getirme yeteneğini ölçmek için spesifik antiserumlar kullanılarak ELISA yöntemiyle ayırt etmişler ve mekanik inokulasyonda kullanmışlardır. Mekanik inokulasyon sonucunda LBVV tek başına simptom meydana getirmediği, MiLBVV ile birlikte şiddetli simptomlar oluşturduğunu belirlemişleridir. İri damar virüslerinin varlığı ve taşınmasıyla ilgili serolojik teşhis bir çalışma yürütmüşlerdir. Buna göre MiLBVV için ise LBVV'nin varlığına bakılmaksızın özellikle serin dönemlerde marullarda şiddetli simptomlar oluşturduğunu tespit etmişlerdir (Lot, 2001).

LMV non-persistent olarak afitlerle taşınmaktadır. Gerçekleştirilen bir çalışmada, bu virüsün virüliferöz bir afidle yayılma potansiyeli matematiksel hesaplamalar ve moleküler yöntemler kullanarak belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırmacı, RT-nested-PCR ve PCR yöntemlerini kullanarak taşıyıcı vektör afitlerde etmeni tespit etmiştir. Ayrıca yürütülen bu çalışma ile virüsün yayılmasına karşı stratejik mücadele yöntemleri ortaya konulmaya çalışılmıştır (Moreno, 2007).

Brezilya'da marul yetiştirilen alanlarda marul virüs enfeksiyonlarının varlığını tespit etmeye yönelik RT-PCR moleküler teşhis ve DAS-ELISA serolojik yöntemleriyle birçok etmen rapor etmişlerdir. Yapılan çalışma ile *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV), *Mirafiori lettuce big-vein virus* (MLBVV), *Groundnut ringspot virus* (GRSV), *Lettuce big vein virus* (LBVV), *Lettuce mottle virus* (LeMoV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), ve *Bidens mosaic virus* (BiMV) viral etmenlerini teşhis etmekle birlikte; LMV'nin birkaç farklı ırkını da belirlemişlerdir. Fakat söz konusu viral etmenler arasında en fazla zarar yapan ve en yaygın olarak LMV'yi belirlemişlerdir (Pavan, 2008).

Soleimani (2011) adlı bir araştırmacı, Tahran'da *Lettuce mosaic virus* (LMV) etmeninin karakterizasyonu ve mozaikleşmeye neden olan virüsleri belirlemek için; beneklenme, mozaik, yapraklarda bozulma, kıvrılma, anormal ve küçük baş oluşturan marul bitkilerden 452 adet yaprak örnekleri toplamıştır. TSWV, CMV ve LMV virüslerin oranlarını sırasıyla %10, %16 ve %21 bulmuştur. Bunun yanında, CMV + LMV %16, LMV + TSWV %8, CMV + TSWV %8 ve LMV + CMV + TSWV ile

bulaşık %5 oranında bitki örneği belirlemiştir. Tahran'da CMV ve LMV ilk kez tespit edilirken, TSWV İran'da marul bitkisinde ilk defa rapor edilmiştir.

Lian (2013) adlı araştırmacı, Kore'den ve farklı ülkeden topladığı 13 bitki örneğinde TSWV etmeninin rekombinasyon ve diğer izolatlara akrabalık durumlarını belirlemek için bir çalışma yürütmüştür. Krizantem, domates, biber, marul, gibi bitkilerden elde edilen bu 13 örnekten elde edilen ırklar üzerinde yapılan bu çalışmada virüsün genomunun tamamı üzerinde durulmuştur. Buna göre, bu virüsün genomunun 3 parçayı bölünmüş olduğu ve farklı büyüklüklerde olan bu segmentlerin nükleotit sayıları ortaya konulmuştur. Bu dizilere göre gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda ise RNA (S) segmentinin Çin ve Japonya kökenli olduğu, Kore izolatlarının ise hem RNA (L) hem de RNA (M) segmentlerinin Kuzey Amerika ve Batı Avrupa kökenli olduğunu belirlemiştir. Çalışma sonucunda yapılan filogenetik ve rekombinasyon analizleriyle TSWV'nin moleküler düzeyde çeşitlilik gösterdiğini belirlenmiştir.

Marul bitkilerinde iri damar belirtilerine sebep olan virüsleri belirlemek amacıyla yürütülen bir çalışmada, Japonya'nın farklı bölgelerinde marul yetiştirilen 126 tarladan toplam 2951 örnek toplanmıştır. Toplanan bu marul yaprak örneklerindeki virüsler western-blot yöntemi ile ve monoklonal ve polyklonal antiserumlar kullanarak teşhis edilmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda teşhis edilen MiLBVV *Ophiovirus* cinsi bir türken, LBVV *Varicosavirus* cinsine bağlı bir türdür. Buna göre MiLBVV tek başına semptom oluştururken, LBVV tek başına marulda bulunsa bile semptom oluşturmadığını belirlenmiştir (Sasaya, 2008).

LBVV ve MiLBVV etmenlerinin marul yapraklarında iri damar belirtisi gösteren örneklerinde semptomların şiddetinin, protein akümüasyonu ve viral RNA'nın beraber semptom oluşturma yeteneği üzerine bir çalışma yapmışlardır. Açık alanda ve seralarda enfekte olmuş olan marul bitkilerini belirtilere göre; hafif, orta, şiddetli ve semptomsuz olarak sınıflandırmışlardır. RNA düzeyleri için ise RT-PCR ve real-time PCR çalışması yapılırken Kılıf Protein (CP) akümüasyonu DAS-ELISA ile değerlendirmişlerdir. Yapılan bu çalışma da marul yapraklarında görülen şiddetli belirti LBVV ve MiLBVV arasında farkı anlamada ayırıcı olmadığını belirlemişlerdir. Benzer şekilde MiLBVV-RNA-3 miktarının, LBVV-RNA-2 miktarı ile belirtilerinin şiddet ölçümlerine göre farklılık göstermediğini belirlemişlerdir (Araya, 2010).

TSWV'nin marul üretimi yapılan alanlarında fide dönemlerinde erken tahmin ve ekonomik kayıpları düşünülerek bir modelleme yapmışlardır. Linear doğrusal ve

koşullara bağlı olasılık modellemeler ile üretim alanlarındaki hastalık bilgileri kullanarak; yoğun thrips populasyonları görüldüğünde mücadeleye düşünmek yerine, daha erken teşhisle hastalığın kontrol altına alınmasının daha etkili olduğunu ortaya koymuşlardır (Yudin, 1900).

CMV, Amerika'da Price (1934) tarafından ilk hıyar bitkisi üzerinde (*Cucumis sativus*) tespit edilmiştir. Dünya'da ve ülkemizde en fazla görülen virüstür. Termal inaktivasyon noktası 55-70 °C, *in vitro*' da yaşam süresi 1-10 gündür. CMV virüsü *Bromoviridae* familyası, *Cucumovirus* grubundandır. Virüs doğrusal tek iplikli RNA'ya sahip, virionlar izometrik ve zarfsızdır (Francki and Habili, 1987).

1915 yılında Avustralya'da domates bitkisinde TSWV tespit edilmiştir. Dünyada yaygın bir virüstür. TSWV, *Tospoviridae* familyasından olup, tek iplikçikli üç ayrı RNA'dan oluşmaktadır. Virionlar izometrik ve etrafı membran yapısında bir protein zarfla çevrili 85 nm dir. Termal inaktivasyon noktası 45 °C ve *in vitro*' da yaşam süresi 5 saattir (Gibbs, 1983).

Colariccio (2005) tarafından Brezilya'nın Sao Paulo State, Sumare ve Campinas eyaletlerinde, marul üretim alanlarında sorun olan virüs hastalıklarının tespit edilmesi amacıyla bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen arazi çalışmaları sırasında, veronica çeşidinde virüse benzer semptomlar gözlemlenmiş ve virüslerle enfekteli olduğu düşünülen marul örnekleri elektron mikroskopi çalışmaları, biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak enfeksiyon sebepleri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Marul ve konukçu bitkilere uygulanan mekanik inokulasyon sonucunda bitkilerde benzer belirtilere oluşmuştur. *Gomphrena globosa* bitkilerine uygulanan mekanik inokulasyonlar sonucunda bu bitkilerde farklı tiplerde lokal lezyonlar ve özellikle sistemik mozaik belirtileri gözlenmiştir. Gerçekleştirilen bu çalışma ile, DAS-ELISA ve RT-PCR testlemeleri yapılarak Domates klorotik leke virüsü (*Tomato chlorotic spot virus*)'e ait iki farklı izolat belirlenmiş ve GenBank veritabanında gerçekleştirilen nükleik asit benzerlik analizleri (BLASTN) ile bu iki izolatin virüse ait diğer izolatlar ile yüksek oranlarda benzer oldukları ortaya konulmuştur. Bu çalışma sonucunda tospovirüslerin neden olduğu kayıplara ilişkin ilk bilgi Brezilya'da ticari hidroponik marul ürünlerinde rapor edilmiştir.

LMV 1921 yılında Amerika'nın Florida eyaletinde ilk marul bitkisi (*Lactuca sativa*)'nde tespit edilmiştir. *Potyviridae* familyasına bağlı *Potyvirus* cinsindedir. Virionlar, ipliksi partiküllere sahip ve zarfsızdır. Virüs tek iplikçikli bir RNA'ya

sahiptir. Son sulandırma noktası 10^{-1} ve 10^{-2} , termal inaktivasyon noktası 55-60 °C ve virionların *in vitro*'da yaşam süreleri 1- 2 gündür (Tomlinson, 1970).

LMV'ye dünya da ve ülkemiz de marul üretimi yapılan her yerde rastlamak mümkündür. LMV mekanik olarak taşınabilen, çoğunlukla *Asteraceae* familyasında bulunan 21 adet bitki türünde doğal olarak enfeksiyonlara sebep oluyorken toplamda 121 farklı bitki türünde hastalık yapabilen (Horvath, 1980) oldukça çok sayıda konukçu bitki türüne sahip bir virüstür. Bezelye (*Pisum sativum*), ıspanak (*Spinacia oleracea*) ve marul (*Lactuca sativa*) ekonomik olarak sorun oluşturduğu, önemli doğal konukçuları olan türlerdir. Bunun yanında, *Lamium amplexicaule*, *Senecio vulgaris*, *Chenopodium album*, *Stellaria media*, *Chenopodium murale* ve *Sonchus asper* bu virüs türüne konukçuluk yapabilen ve doğada yaygın olabilen yabancı ot türleridir (Tomlinson, 1982).

Virüsün ilk vektörü Fransa'da şeftali yaprakbiti (*Myzus persicae*) olarak belirlenmiştir. LMV, non-persistent olarak 15 afid türü ile taşınırken, pamuk yaprakbiti (*Aphis gossypii*) özellikle nispeten daha sıcak olan güney alanlarda en etkin vektör afid türü olarak bildirilmiştir. Bunun yanında, patates yaprakbiti (*Macrosiphum euphorbiae*), yine marulda çokça sorun olan etkin bir vektör afid türüdür (Messiaen and Lafon, 1965).

Dünyada potansiyel olarak marulun en şiddetli ve en yaygın virüsü olduğu belirlenmiştir. LMV, mekanik olarak (%3-10 oranında), tohumla ve polenle de taşınmaktadır (Dinant and Lot, 1992).

Marul iri damar virüsü (LBVV) ilk olarak Amerika'da marul da tespit edilmiştir (Jagger and Chandler, 1934). Çekoslovakya, Avustralya, Japonya, İtalya, Hollanda, İngiltere, Amerika ve Yeni Zelanda'da en çok görülen *Varicosavirus* grubuna ait bir virüsdür. Virionları yuvarlak şekilli ve zarfsızdır. Partiküllerin termal inaktivasyon noktası 50 °C ve *in vitro*'da stabil kalma süreleri yaklaşık bir gündür (Kuvata, 1991).

Brezilya'nın São Paulo State şehrinde yetiştirilen marul bitkilerinde iri damar belirtileri gözlemlenmeleri sonucu sıcaklığın gündüz 18-22 °C, gece 10-16 °C olduğu zamanlarda marul örnekleri toplanmıştır. Bu örnekler, LBVV ve MiLBVV'ye spesifik antiserumlar kullanılarak DAS-ELISA ile testlenmiştir. ELISA testi sonucunda testlenen örneklerde her iki virüs için de pozitif sonuç elde edilmişken, elektron mikroskopi çalışmalarında sadece LBVV'ye ait partiküller gözlenmiştir. Çalışma sonucunda LBVV enfeksiyonlarının 20 °C ve altındaki sıcaklıklarda meydana geldiği,

bununla birlikte subtropikal ekolojik koşullarda her iki virüsün de enfeksiyonlarının yaygın olarak görüldüğü rapor edilmiştir (Colariccio, 2003).

Brezilya'da iri damar hastalığına sebep olan *Mirafiori lettuce big vein virus* (MLBVV) ve *Lettuce big vein associated virus* (LBVaV) birlikte enfeksiyon yaptıklarını belirlemişlerdir. Marul yapraklarından elde edilen LBVaV'nın Brezilya ırklarının, diğer LBVaV ırkları ile aminoasit dizilimi yönünden en az %93 oranında benzerlik gösterdiklerini tespit etmişlerdir (Sanches, 2008).

MiLBVV'nin dünyada yaygın olmasıyla Arjantin'in LaPata şehrinde 2007-2009 kış aylarında yapılan çalışmalarda 40 örnekte marul iri damar hastalığı belirtileri gözlemlenmişlerdir. DAS-ELISA ile üniversal primerler kullanılarak yapılan RT-PCR sonucunda MiLBVV enfeksiyonunu Arjantin'de ilk defa tespit etmişlerdir (Barcala Tabarozzi ve ark., 2010).

Tahran'da LBVV ve MiLBVV'yi tespit ve ayırt etmek için yürütülen bir çalışmada simptom gösteren marul yapraklarından 344 örnek toplamıştır. Bu yaprak örnekleri, LBVV ve MiLBVV'ye karşı hem DAS-ELISA hem de RT-PCR yöntemleri kullanılarak testlenmiştir. Testlemeler sonucunda örneklerde %0.87 LBVV, %0.57 MiLBVV ve %1.74 oranında çoklu enfeksiyonlar tespit edilmiştir (Heidari, 2010).

2.2. Türkiye'de Marulda Görülen Virüsler Üzerine Yapılan Çalışmalar

Marul da hastalığa sebep olan birden fazla virüs etmeni rapor edilmiştir (Yılmaz, 1995, Rosello, 1996, Moreno, 2004, Candresse, 2007, Sertkaya, 2009, Kamberoğlu and Alan, 2011, Erkan, 2013)

LMV'nin 1981-1984 yıllarında İzmir de yapılan çalışmalarda marul yetiştirme alanlarında %5,4 oranında yaygın olduğu tespit edilmişlerdir. LMV %8-9 oranında tohumla ve vektörle (*M.persicae*) taşındığı saptamışlardır. Ayrıca LMV ile birlikte BBWV ve CMV'nin de bulunduğunu saptamışlardır (Fidan and Türkoğlu, 1988).

Hatay ilinin marul üretimi yapılan bölgelerin de 2008 ve 2009 yıllarında sonbahar ve ilkbahar dönemlerinde surveyler yapılmıştır. Yapılan çalışma da hıyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic virus*, CMV) ve marul mozaik virüsü (*Lettuce mosaic virus*, LMV) ve simptomolojik değerlendirmeler, enfeksiyonlarını, biyolojik ve serolojik yöntemlerle tespit etmişlerdir (Sertkaya, 2009).

Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilen ıspanak, marul, turp, karnabahar, lahanaya gibi bazı sebzelerden 2007-2010 yıllarında virüs hastalıklarının saptanması ve yaygınlık

oranlarının belirlenmesi amacıyla bir çalışma yürütülmüştür. Surveylerde, simptomatolojik olarak, TSWV, CMV, LMV, TuMV, CaMV, MiLBVV, BWYV, RaMV, BtMV, BCTV, LiYV ve LBVV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen 808 adet marul yaprakları ile birlikte marul dışında bazı sebzelerden de olmak üzere toplam 1595 adet yaprak örnekleri almış ve araştırmacı bu örneklerdeki virüs varlıklarını belirlemek için ELISA yöntemini kullanmıştır. Marulda; sırasıyla 380, 82, 3, 3, 3 tane MiLBVV, LMV, TSWV, CMV, BWYV bitkiyi ile enfekteli bulmuştur. Moleküler bir test yöntemi olan RT-PCR testlemeleri sonucunda ise kullanılan primerlere göre uygun amplifikasyonlar sağlanmış, gerekli bantlar gözlenmiştir. Ayrıca dizilimleri belirlenen izolatların filogenetik analizlerine göre MiLBVV izolatının Hollanda izolatı ile nükleik asit dizilimi açısından %98 ve LBVV izolatının ise İspanya izolatı ile yine nükleik asit dizilimi açısından %95 oranında ile benzerlik ortaya koydukları belirlenmiştir (Alan, 2012).

İzmir ili ve çevresinde yetiştirilen pırasa, enginar, lahanası, karnabahar, soğan, marul, brüksel lahanası ve brokoli gibi bitkilerden 2010 ve 2011 yıllarında; bitki gelişmesinde gerileme, mozaik, sararma, beneklenme, kıvrılma, lekeler veya çizgiler ve yaprak ve meyvede oluşum bozukluklarının görüldüğü 218 örnek toplanmıştır. Virüsleri tanılamak için moleküler, serolojik ve biyolojik yöntemlerle test etmişlerdir. Bu çalışmayla örneklerde en yaygın olarak *Radish mosaic comovirus* (RaMV) ve *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV)'nin bulunduğunu ve bu etmeni, *Turnip mosaic potyvirus* (TuMV), *Lettuce mosaic potyvirus* (LMV), *Artichoke latent potyvirus* (ArLV) ve *Leek yellow stripe potyvirus* (LYSV) adlı etmenlerin izlediğini göstermişlerdir. En fazla virüs enfeksiyonunu soğan, karnabahar ve marulda tespit etmişlerdir. 30 marul örneğinin de; 15 örneğinin LMV, 5 marul örneğinin CMV ve 5 örneğinde LMV+CMV ile bulaşık olduğunu belirlemişlerdir (Erkan, 2013).

1969 yılında Mersin ilinde yapılan çalışmada ekonomik bakımdan önemli derece zarar veren TSWV ve LMV etmenlerini tespit etmişlerdir. Test bitkileri kullanarak yaptıkları çalışma da virüslerin tespiti için hıyar (*Cucumis sativus*), börülce (*Vigna sinensis*), domates (*Solanum lycopersicum*), bezelye (*Pisum sativum*), fasulye (*Phaseolus vulgaris*) bitkilerini kullanmışlardır. TSWV+LMV'yi birlikte enfeksiyonunu belirlerken, LMV etmenini yoğun olduğunu gözlemlemişlerdir (Tekinel, 1969).

İzmir ilinde yapılan çalışma da sebze üretim alanlarında Yedikule marul çeşidi simptomolojik olarak incelenmiştir. Virüsün bulaşık olduğunu düşünülen marul bitkilerinden enfekteli olanlarından bitki öz sularını alınarak; hanım düğmesi

(*Gomphrena globosa* L.), petunya çiçeği (*Petunia hybrida*), hindiba (*Taraxacum officinale*) bitkilerinin üzerine bulaştırılmıştır. Marul nekroz virüsü ve Aster sarılık virüsünün belirtileri olduğu öne sürülen, test bitkilerinde yoğun miktarda LMV belirtilerini gözlemlenmiştir (Özalp, 1964).

TSWV'yi saptamak için Batı Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilen biber, domates, marul, patates, hıyar ve kabak bitkilerinden toplam 337 bitki örneği toplanmıştır. Etmenin varlığını tespit etmek için ELISA ile testleme yapılmıştır. Test sonucunda 157 bitki örneğinde TSWV'nin %46,58 oranında varlığı saptanmış olup bunlardan TSWV enfeksiyonu biber, marul, domates ve kabakta sırası ile %66,16, 66.66, 46.94 ve 16.66 oranlarında olduğunu belirlenmiştir (Yardımcı and Çulal-Kılınç, 2009).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Çalışma örnekleri 2020 yılında Konya ilinde Mayıs-Ağustos aylarında enfekteli olduğu tahmin edilen Marul (*Lactuca sativa*) ve Kokar Ot (*Bifora radians*), Sirken (*Chenopodium album* L.) bitkilerinden elde edilmiştir. Arazi çalışması sırasında toplanan bitki yaprak örneklerinin, toplandıkları ilçelere ve bitki türlerine göre örnek sayıları Çizelge 3.1.'de belirtilmiştir

Çizelge 3.1. Örnek alınan ilçeler ve bitki bazlı örnek sayıları

İlçe	Yabancı Ot		Kıvırcık	Göbekli	Aysberg	Toplam Örnek Sayısı
	Sirken	Kokar Ot				
Çeltik	0	0	0	2	0	2
İlgin	0	1	0	5	0	6
Meram	4	0	0	21	2	27
Kaşınhanı	0	0	1	22	2	25
Çumra	0	0	1	29	0	30
Karatay	0	1	3	9	0	13
Toplam	6		5	88	4	103

Konya iline bağlı ilçelerde marul üretimi yapılan alanlarda bitki yapraklarında; şekil bozukluğu, kıvırcıklaşma, deformasyon, çalılışma, marul bitkilerinin arazisinde bulunan yabancı otların yaprakları bu araştırma için materyal kaynağını oluşturmaktadır.

3.1.2. Serolojik Testler İçin Gerekli Materyaller

Çalışma için yapılan DAS-ELISA testi çalışmaları; Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Viroloji Laboratuvarında yapılmıştır.

Konya ilçelerinde marul üretim alanlarında, virüs hastalığının belirtileri görülen marul bitkileri ve bu marul bitkilerinin etrafında bulunan yabancı otlardan alınan yaprak örnekleri Serolojik testlerden DAS-ELISA ile test edilmiştir.

DAS-ELISA testi aşamalarında; ticari bir firmadan (Bioreba AG, İsviçre) temin edilen CMV, MiLBVV, LMV ve TSWV'ye spesifik reagent setler (antiserum, pozitif ve negatif kontroller) ile laboratuvarında hazırlanan ekstraksiyon, kaplama, conjugate, substrat ve yıkama tamponları ile 96 çukurlu microplateler (Nunc F96 Maxisorp), otomatik pipetler (Eppendorf), pipet uçları ve saf su kullanılmıştır. ELISA testlerinin verileri absorbans değerleri Anthos 2010 markalı ELISA okuyucusunda okuma işlemi yapılmıştır.

3.1.3. Diğer Materyaller

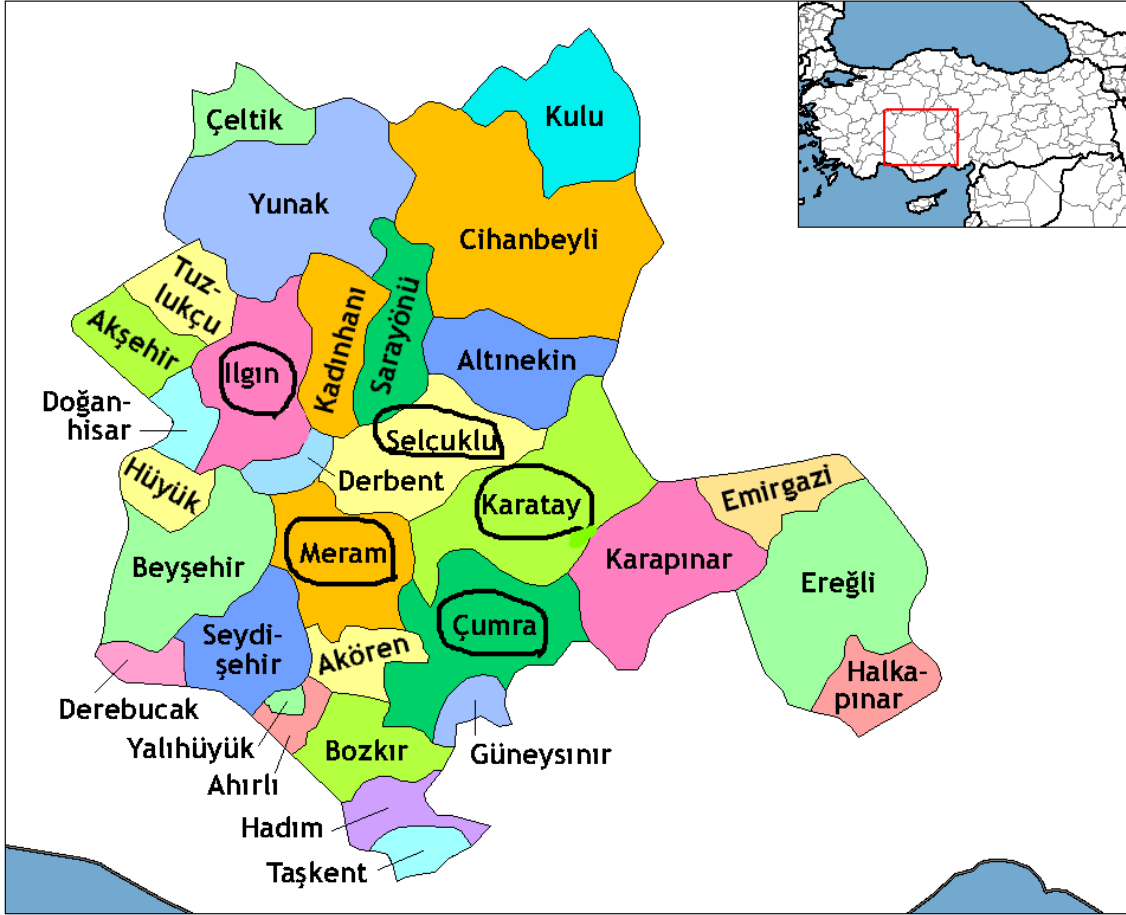
Çalışma dahilinde, Ohaus hassas terazi, Nüve marka saf su makinesi, Nüve EN 400 marka inkübatör, Nüve FN 400 marka pastör fırını, Arçelik marka buzdolabı, Beko marka derin dondurucu, WTW PH3110 marka pH metre ve Daihan marka santrifüj tez çalışmasının diğer materyalleri arasında yer almıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örnek Toplama ve Arazi Çıkışı

Bu tez çalışmasının ana materyalini oluşturan bulaşık bitki örnekleri, Konya ili merkez ve ilçelerinde açık alanda marul üretimi yapılan tarlalardan toplanmıştır. Araziye çalışmaları, Konya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'nden alınan verilere dayanarak marul üretiminin yoğun olarak yapıldığı Konya'nın özellikle Meram, Çumra, Çeltik, Ilgın, Kaşınhanı ve Karatay ilçelerinde 2020 yılı Mayıs ve Ağustos aylarında virüs bulaşık olabileceği düşünülen bitki ve yabancı ot yaprak örnekleri toplanarak gerçekleştirilmiştir.

Araştırma için marul üretimi yapılan 100 da alanda ortalama 50 farklı bitki incelenerek örnekleme çalışması yapılmıştır. Bulaşık olduğu düşünülen bitkilerin toplandığı il ve ilçeler Şekil 3.1.'de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Örneklemenin yapıldığı Konya İl ve İlçeleri

Arazi aşamasında, tarlada rastgele üretim alanını tanımlayacak şekilde seçilip ve örnek alınan her araziden, tipik virüs hastalıklarının belirtilerini gösteren en az 2 farklı bitkiden olmak üzere ve de bu bitkilerin çevresinde bulunan yabancı otlardan genç sürgün ve yapraklarından bitki örnekleri toplanmıştır. Toplanan bitki örnekleri ayrı ayrı olacak şekilde ve üzerinde örneğin alındığı yer, tarih, bitki çeşidi, arazi boyutu numaralandırılmış kağıt kese torbalarının içlerine konularak laboratuvara getirilip muhafaza edilmiştir. Bitki örnekleri plastik poşetlere alınarak serolojik çalışmalarda kullanılmak üzere $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda saklanmıştır.

3.2.2. Serolojik Test Yöntemi

Arazi çıkışları sonucu toplanan enfekteli marul bitkileri ve yabancı otlardan alınan örneklerden elde edilen bitkilerde virüs etmenlerinin tespiti için bu örneklere serolojik yöntemlerden Double antibody sandwich enzyme linked immuno sorbent assay (DAS-ELISA) testi yapılmıştır. Bu yöntemin tercih edilmesinde hızlı, duyarlı, ekonomik ve güvenilir olması etkili olmaktadır. Yapılan bu çalışma ile toplanan marul

örneklerinde CMV, MiLBVV, LMV ve TSWV etmenleri ile bulaşık olup olmadıkları incelenmiştir.

5 farklı ilçeden toplanan 97 adet bitki örneği 0,8'er g hassas terazide tartıldıktan sonra içlerinde 1:10 oranında PBS-TP (pH:7,4) bulunan plastik küçük poşetlerin içine koyulmuştur ve daha sonra o poşetler içindeki marul ve yabancı ot örnekleri ezilerek homojen olarak ezilen bitki ekstraktları sonrasında steril tülbent yardımıyla süzülerek bitki özsuyu falkon tüplerine aktarılmıştır. Tüplerin üzerine gerekli olan bilgiler yazıldıktan sonra test için +4 dolabında muhafaza edilmiştir. Daha sonra aşağıda belirtilen aşamaların gerçekleştirilmesiyle DAS-ELISA testine tabi tutulmuşlardır (Clark and Adams, 1977). Bu çalışmada kullanılan tampon çözeltiler ve hazırlanışları Ek-1'de verilmiştir.

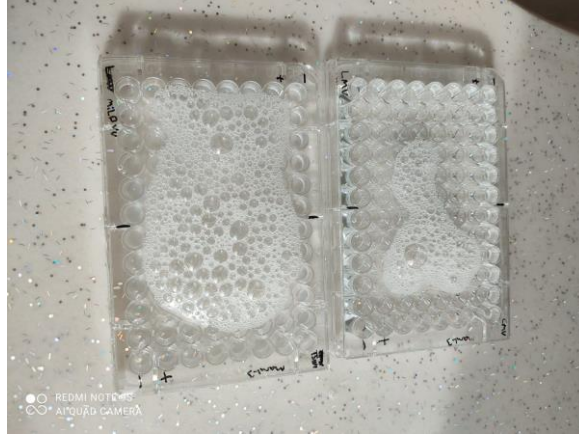
Çalışmada ticari firmanın ELISA kitleri için belirlediği seyreltme oranları dikkate alınarak yapılacak ve aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

1. ELISA tabaklarına kaplama tamponu içerisinde belirli oranda Spesifik olan IgG seyreltilerek her çukura 100 µl yüklenmiştir.



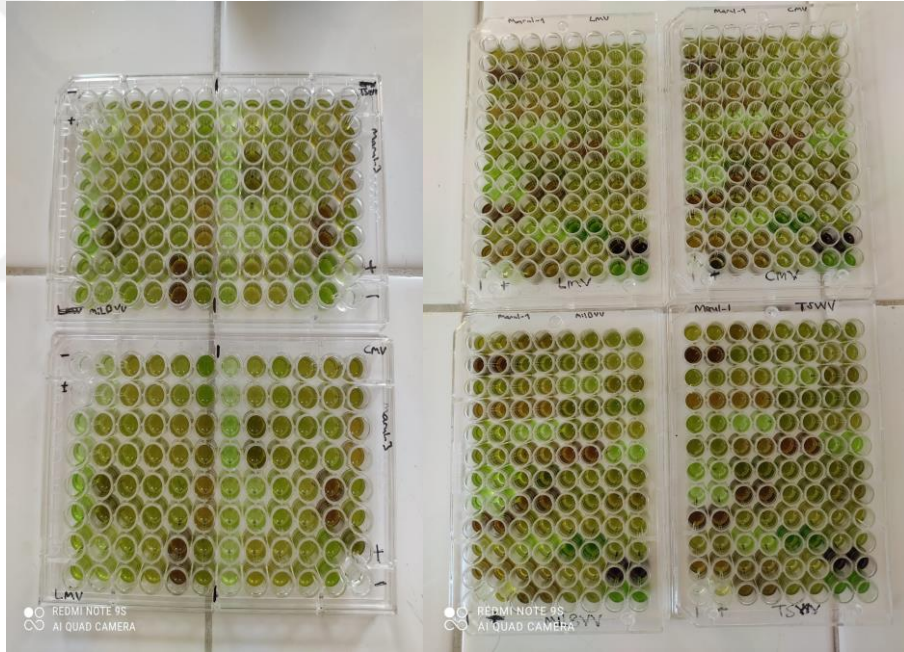
Şekil 3.2. ELISA tabaklarında kaplama tamponu

2. 37°C'de 4 saat inkübasyon edilen ELISA tabakları yıkama tampon çözeltisi ile yüklenerek her yıkama 3'er dakika bekletilerek, 3 kere yıkama yapılmıştır.



Şekil 3.3. ELISA tabaklarında yıkama tampon çözeltisi

- Ekstraksiyon tampon çözeltisinde 1/5 oranında hazırlanmış olan bitki ekstraktından her kuyuya 100'er µl konmuş ve ELISA tabağı +4°C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra yıkama tamponu çözeltisi ile yukarıdaki şekilde yıkama yapılmıştır.



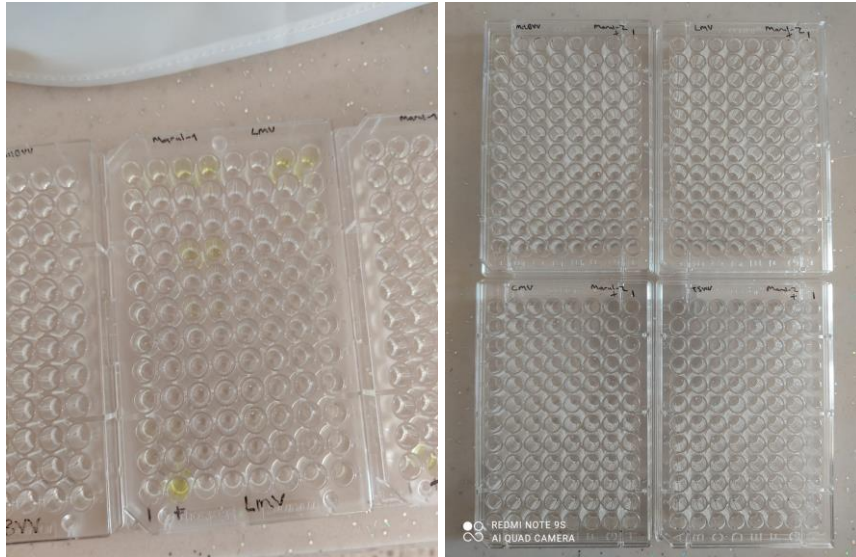
Şekil 3.4. ELISA tabaklarında bitki ekstraktı

- Enzimle işaretli IgG (Konjugate) konjugat tamponu çözeltisi içerisinde sulandırılarak her kuyuya 100'er µl konulmuş ve 37°C'de 4 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra ELISA tabağı yıkama tamponu çözeltisi ile tekrar yıkanmıştır.



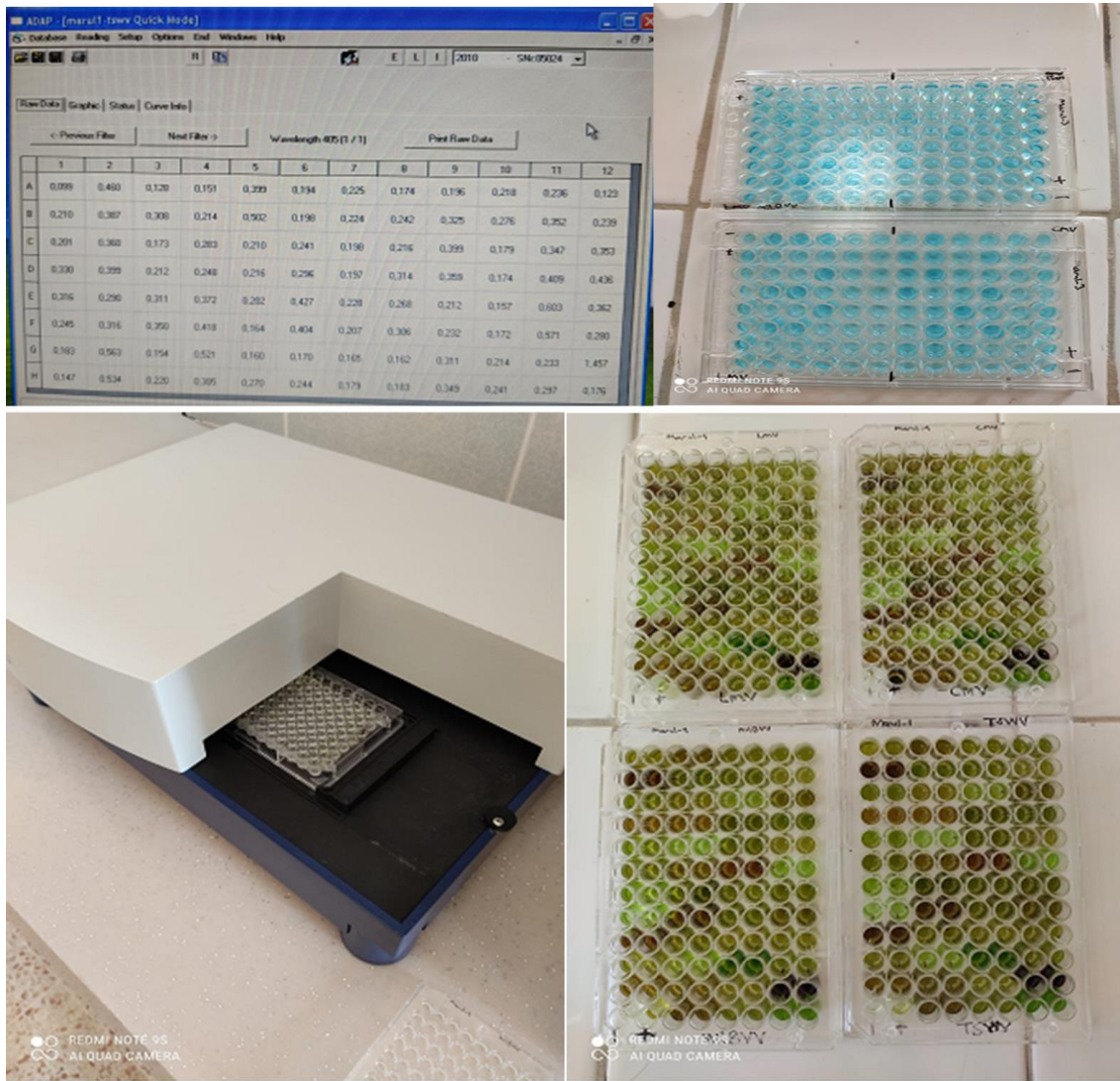
Şekil 3.5. ELISA tabaklarında Konjugat Tamponu

5. ELISA tabağının her bir kuyusuna substrate tampon çözeltisinde 1mg/ml olacak şekilde hazırlanan substrattan 100'er µl ilave edilmiş ve ELISA tabağı 30-60 dakika oda sıcaklığında ışıksız ortamda bekletildikten sonra ELISA okuyucuda okuma yapılmıştır. Her okuma sonucunda elde edilen negatif kontrol değerinin iki katına eşit ya da iki katından daha büyük absorbans değerleri pozitif olarak kabul edilmiştir. Yapılacak ELISA testlerinde her bir örnek için ikişer kuyu kullanılacak ve her bir ELISA pleytinde birer adet pozitif (infekteli), negatif (sağlıklı) ve buffer kontrol bulunmasına dikkat edilmiştir.



Şekil 3.6. ELISA tabağında pozitif örnek ve substrate tampon çözeltisi

ELISA testleri sonunda, ELISA okuyucusunda negatif kontrol için 405 nm' de okunan absorbans değerinin en az iki katı ve daha fazla absorbans değeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.7.. DAS-ELISA çalışmalarının aşamaları

3.2.3. Hastalık ve Yaygınlık Oranlarının Hesaplanması

Survey çalışmalarında il ve ilçe olarak marul bitkilerinde Bora ve Karaca (1970)'da belirtildiği şekilde tarla alanları (da) bazında hastalık oranları belirlenerek; il ve ilçe düzeyinde % yaygınlık oranları hesaplanmıştır. Bir üretim alanında kenar payı bırakılarak köşegenler yönünde beş yerde toplam 100 bitki kontrol edilerek ve gerekli bilgiler kayıt altına alınmıştır. Buna göre, marul ekim alanlarında yaygınlık oranlarını saptamak için aşağıda açıklanan formül kullanılmıştır:

$$\text{Yaygınlık Oranı (\%)} = \frac{\text{Tarlada ölçülen hastalık oranı} \times \text{tarla büyüklüğü (da)}}{\text{Maksimum hastalık oranı (= Toplam tarla alanı} \times 100)}$$

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Arazi Çıkışlarında Toplanan Bitki Örnekleri

Konya (Meram, Çeltik, Kaşınhanı, Karatay, Ilgın ve Çumra) ilindeki marul üretiminin yapıldığı alanlarda, 2020 yılında yapılan arazi çıkışlarında 97 adet virüs ile enfekteli olduğu düşünülen marul bitkisi (97) ve yabancı ot örneği (6) (Çizelge 4.1., 4.2., 4.3.) toplanmıştır.

Çizelge 4.1. 2020 yılında arazide yapılan örnekleme çalışmalarında toplanan bitki örnekleri ve gözlemlenen belirtiler

Örneğin Alındığı İl	Örneğin Alındığı İlçe	Örnek Adı	Bitki Türü*	Gözlenen Simptom**	Tarih
KONYA	ÇELTİK	1	G	M	30.06.2020
		2	G	ŞB	30.06.2020
	ILGIN	3	G	D	2.07.2020
		3,2	Y	D	2.07.2020
		4	G	D	2.07.2020
		5	G	M	2.07.2020
		6	G	M	2.07.2020
		7	G	K	2.07.2020
		8	G	K	3.07.2020
	MERAM	9	G	K	3.07.2020
		10	G	K	3.07.2020
		11	G	K	3.07.2020
		12	G	KI	3.07.2020
		13	G	ŞB	3.07.2020
		14	G	ŞB	3.07.2020
		15	A	ŞB	3.07.2020
		16	G	D	3.07.2020
		16,2	Y	D	3.07.2020
17		G	D	3.07.2020	
18	G	D	3.07.2020		

* K: Kıvrıkcık Marul, G: Göbekli Marul, A: Aysberg Marul, Y: Yabancı Ot

** D: damarlar arası klorozlar, K: Kabarcıklaşma, M: Moziyik, KI: Kıvrılma, ŞB: Şekil Bozukluğu

Çizelge 4.2. 2020 yılında arazide yapılan örnekleme çalışmalarında toplanan bitki örnekleri ve gözlemlenen belirtiler

Örneğin Alındığı İl	Örneğin Alındığı İlçe	Örnek Adı	Bitki Türü*	Gözlenen Simptom**	Tarih
KONYA	MERAM	19	A	K	4.07.2020
		19,2	Y	K	4.07.2020
		20	G	ŞB	4.07.2020
		21	G	ŞB	4.07.2020
		21,2	Y	ŞB	4.07.2020
		22	G	D	4.07.2020
		23	G	D	4.07.2020
		24	G	D	4.07.2020
		24,2	Y	D	4.07.2020
		25	G	K	4.07.2020
		26	G	ŞB	4.07.2020
		27	G	K	4.07.2020
		28	G	ŞB	4.07.2020
		29	G	KI	4.07.2020
	30	G	KI	4.07.2020	
	31	G	KI	5.07.2020	
	32	G	M	5.07.2020	
	33	G	D	5.07.2020	
	34	G	M	5.07.2020	
	35	G	D	5.07.2020	
	36	G	KI	5.07.2020	
	37	G	KI	6.07.2020	
	38	G	KI	6.07.2020	
	39	G	D	6.07.2020	
	40	G	D	6.07.2020	
	41	G	D	6.07.2020	
	42	G	M	6.07.2020	
	43	G	M	6.07.2020	
	44	G	M	6.07.2020	
	45	G	ŞB	6.07.2020	
	46	G	ŞB	7.07.2020	
	47	G	ŞB	7.07.2020	
48	A	M	7.07.2020		
49	A	M	7.07.2020		
50	K	M	7.07.2020		
51	G	M	7.07.2020		
52	G	M	7.07.2020		

* K: Kıvrıcık Marul, G: Göbekli Marul, A: Aysberg Marul

** D: damarlar arası klorozlar, K: Kabarcıklaşma, M: Moziyik, KI: Kıvrılma, ŞB: Şekil Bozukluğu

Çizelge 4.3. 2020 yılında arazide yapılan örnekleme çalışmalarında toplanan bitki örnekleri ve gözlemlenen belirtiler

Örneğin Alındığı İl	Örneğin Alındığı İlçe	Örnek Adı	Bitki Türü*	Gözlenen Simptom**	Tarih	
KONYA	KAŞINHANI	53	G	KI	8.07.2020	
		54	G	KI	8.07.2020	
		55	G	K	8.07.2020	
	ÇUMRA	56	G	K	10.07.2020	
		57	G	K	10.07.2020	
		58	G	D	10.07.2020	
		59	G	M	10.07.2020	
		60	G	D	10.07.2020	
		61	G	M	10.07.2020	
		62	G	M	10.07.2020	
		63	G	ŞB	10.07.2020	
		64	G	ŞB	10.07.2020	
		65	G	ŞB	10.07.2020	
		66	G	D	10.07.2020	
		67	G	D	10.07.2020	
		68	G	K	11.07.2020	
		69	G	KI	11.07.2020	
		70	G	K	11.07.2020	
		71	G	KI	11.07.2020	
		72	G	M	11.07.2020	
		73	G	ŞB	11.07.2020	
		74	G	ŞB	11.07.2020	
		75	G	M	11.07.2020	
		76	G	M	11.07.2020	
		77	G	M	11.07.2020	
		78	G	D	12.07.2020	
		79	K	ŞB	12.07.2020	
		80	G	D	12.07.2020	
		81	G	ŞB	12.07.2020	
		82	G	K	12.07.2020	
		83	G	K	12.07.2020	
		84	G	K	12.07.2020	
		85	G	M	12.07.2020	
		KARATAY	86	K	M	15.07.2020
			87	G	M	15.07.2020
	87,2		Y	M	15.07.2020	
88	G		M	15.07.2020		
89	G		M	15.07.2020		
90	G		KI	15.07.2020		
91	G		KI	15.07.2020		
92	K		ŞB	15.07.2020		
93	G		ŞB	15.07.2020		
94	G		D	15.07.2020		
95	G		D	15.07.2020		
96	G		D	15.07.2020		
97	K	ŞB	15.07.2020			

* K: Kıvrıcık Marul, G: Göbekli Marul, A: Aysberg Marul, Y: Yabancı Ot

** D: damarlar arası klorozlar, K: Kabarcıklaşma, M: Moziyik, KI: Kıvrılma, ŞB: Şekil Bozukluğu

4.2. Üretim Alanlarındaki Enfekteli Bitkilerde Görülen Viral Simptomlar

Konya ilinde üretilen marul da (kıvırcık, göbekli ve aysberg) sistematik ve çevre koşulları da göz önünde bulundurularak virüs hastalıklarının en belirgin belirtileri incelenmiştir.

Marul bitkilerinde mozaik görünümü, damar açılması, nekrotik lekeler, sarı benekler ve damar nekrozu gözlenmiştir.



Şekil 4.1. Yapraklarda klorotik lekeler

Marul bitkisinin yapraklarında klorotik lekeler, büyümede durgunluk gözlemlenmiştir.



Şekil 4.2. Büyüme de durgunluk

Marul bitkisi yapraklarda gevrekleşme, yapraklarında damar açılması, sararma, bitki renginde koyulaşma, bitkide gür bir görünüm ve marulun baş bağlamama belirtileri gözlenmiştir.



Şekil 4.3. Yapraklarda damar açılması

LMV virüsü marul bitkisinde cücelik ve büyüme geriliği meydana gelirken, yapraklarda sararmalar ve mozaikleşme gibi belirtilere neden olur (German-Retana, 2008). Birçok kültür bitkisi üzerinde mozaikleşme, sarı benekler, nekrotik lekeler, damar nekrozu ve damar açılması şeklinde belirtilere neden olur (Brunt, 1996). Virüs genellikle yaprak bitlerinde non-persistent olarak taşınmaktadır. En önemli türleri *Myzus persicae* ve *Macrosiphum euphorbiae*'dir. LMV tohumla da taşınabilmektedir. LMV aktarımının etkinliği ise döllenme zamanında tohumun taşıyıcılığına, çeşidine ve yaşına bağlıdır (German-Retana, 2008).

TSWV, çevre koşullarına ve infeksiyon zamanına bağlı olarak değişmektedir. Bulaşık bitkilerde cüceleşme, genel solgunluk, yaprak ve meyveler üzerinde halkalı lekeler, gelişme geriliği, klorotik ve nekrotik lezyonlar ve genç sürgünlerde geriye doğru ölüm şeklinde simptomlara sebep olmaktadır (Güldür, 1995).

Konukçu bitkilerinde (*Sonchus asper*, *Sonchus oleraceus*, *Lactuca sativa*) sararma, damar açılması veya klorotik lezyonlar gibi belirtiler meydana getirmektedir (Kuvata, 1991).

São Paulo şehrinin sebze alanlarından toplanan Marul ve hindiba (*Cichorium endivia*) bitkisinde büyümede durgunluk, yapraklarında klorotik lekeler gözlemlenmiştir. LBVV ve MiLBVV'nin varlığı biyolojik ve serolojik testler kullanılarak ya da elektron mikroskobu ile saptanmıştır (Colariccio, 2005).

LBVV, marul bitkisi sararma, yapraklarda gevrekleşme, yapraklarında damar açılması, bitkide gür bir görünüm, bitki renginde koyulaşma ve marulun baş bağlamamasına neden olan önemli bir hastalık olarak belirlenmiştir. LBVV en fazla ıslak topraklarda varlığını sürdürdüğü (Hayes, 2008, Campel and Grogan, 1963, Westerlund, 1978A, Westerlund, 1978B) ve münavebe yapılmayan alanlarda daha sık gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Kaliforniya’da kaliteli marul üretimi için etmene karşı genetik dayanıklılık oluşturmanın uzun süreli korumada bir çözüm olabileceği düşünülmüştür. İnfekteli Pavan ve Pasific cinslerinde simptom oluşumu azaltırken, Virosa cinsinde simptom meydana gelmediği rapor edilmiştir (Hayes, 2008).

Slovenya’nın Ljubljana şehrinde Sezana ve özel bahçe de yapılan marul üretimi alanlarında bitkilerin üzerinde iri damar hastalığı görülmesiyle incelemeler yapılarak bitkilerin deforme olduğunu yapraklarda klorotik damar açılmalarının meydana geldiğini ve belirtili bitkilerin belirti göstermeyenlere oranla daha küçük olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacıların çalıştıkları iki alanda yapmış oldukları denemelerde ilk alandan 6 simptomatik bitki ve 2 simptomsuz fidede, ikinci alandan 3 simptomatik bitkide MiLBVV ve LBVV varlığını araştırmak amacı ile RT-PCR ile analiz etmiştir. Analiz sonucunda 2 bitki de MiLBVV tek başına enfeksiyon oluştururken, 4 bitki de MiLBVV ve LBVV birlikte enfeksiyon oluşturduğu görülürken, 2 bitki de her iki virüse de rastlanmamıştır. Özel bahçeden alınan örneklerin analiz sonucunda ise MiLBVV ve LBVV birlikte enfeksiyon halinde bulunmuştur. Araştırma sonucunda Slovenya’da marul da görülen virüslerden MiLBVV tek olarak, MiLBVV ve LBVV birlikte ilk kez rapor edilmiştir (Mavric Plesko, 2009).

Yalova’da marul bitkilerinde yapraklarında nekrotik lekeler, yaprakta kabarma, sarı ve yeşil renkte beneklenmeler, bodurluk ve yaprak kenarlarında deformasyon gibi belirtilerin varlığı üzerine 400 bitkiden örnek almışlardır. TSWV, CMV, LMV için testlemişler ve örneklerin %40’ının LMV ile infekteli olduğunu saptamışlardır (Uzunoğulları and Beşirli, 2011).

4.3. Virüs Hastalıklarının Yaygınlık Oranları

Bu araştırma için Konya ili ve ilçelerinde marul yetiştirme alanlarında 2020 yılı üretim sezonunda surveyler yapılmış ve bitkilerde görülen belirtiler ile belirti gösteren bitki oranları kaydedilmiştir. Yapılan değerlendirmeler ve hesaplamalar sonucunda; 2020 yıllarında Konya ili marul ekim alanlarında; Çumra ‘da toplam 250 da (30 tarla)’

lık alanda ortalama % 2.41, Meram'daki marul üretim alanlarında toplam 186 da (27 tarla)'lık alanda ortalama % 4.02 düzeyinde, Kaşınhanı marul üretim alanlarında toplam 150 da (25 tarla)'lık alanda ortalama % 3.05 düzeyinde, Karatay marul üretim alanlarında toplam 90 da (13 tarla)'lık alanda ortalama 2.75 düzeyinde virüs enfeksiyonlarının bulunduğu görülmüş ve bu enfeksiyonlara neden olan etmenler saptanmaya çalışılmıştır.

4.4. DAS-ELISA Çalışmaları

Konya ilindeki marul üretim alanlarında 2020 yılında toplanan 97 adet virüs hastalık belirtisi gösteren marul bitki örnekleri ve 6 adet yabancı ot örneklerinde virüs varlığının serolojik olarak belirlenmesi için DAS-ELISA testine yapılmıştır. Test sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.4.'de belirtilmiştir. Bu veriler doğrultusunda; 2020 yılında toplanan toplam 103 örneğin 46 adetinin (%44,66) virüsler ile enfekteli oldukları belirlenmiştir.

Konya ilinde toplanan 97 marul bitki örneklerine DAS-ELISA testi uygulanmış ve bu bölgede en çok yaygın olan virüs etmenlerinin tekli ve çoklu enfeksiyonları dahil, TSWV (%38,14) ve LMV (%19,58) oldukları tespit edilmiştir. TSWV etmeninin bulaşıklık oranları sırasıyla, aysberg marulunda %2,70, kıvırcık marulda %8,10, göbekli marulda %89,18 olduğu tespit edilmiştir. Bu etmeni LMV (%19,58) ve CMV (%18,55) etmenleri takip etmektedir. LMV etmeni bulaşıklık oranları ise, aysberg marulunda %21,05, göbekli marulda %78,95 olarak ortaya konulmuştur. Bu etmenleri CMV (%18,55) ve MiLBVV (%7,21) etmenleri takip etmektedir.

Arazi surveylerinde 2 farklı türden 6 yabancı ot örneğinin tamamının virüslerle bulaşık olduğu belirlenmiştir. Sirken (*Chenopodium album* L.) ve Kokar Ot (*Bifora radians*) yabancı otlarından, survey sonucunda toplanan 4 adet sirken bitkisinin 4 adetinde (%100) virüs hastalıkları görülmüştür. Ayrıca, virüsler ile enfekteli olduğu belirlenen sirken örneklerinin hepsinde LMV görülürken %75'inde CMV ve %25'inde TSWV bulaşıklığı ortaya konulmuştur.

Çalışma kapsamında marul bitkilerinde DAS-ELISA testi sonucu çoklu (%9,7) ve ikili virüs enfeksiyonların (%9,7) oranları da tespit edilmiştir. Burada çoklu ve ikili enfeksiyonların yoğunluklarının aynı olduğu saptanmıştır. Ayrıca aşağıda çizelgede görüldüğü gibi çoklu virüslerin %90'si göbekli marula aittir. İkili virüslerde ise %50' si yabancı otlara aittir.

DAS-ELISA testlemesi ile yabancı ot örneklerinde tekli ve çoklu olarak virüs enfeksiyonları tespit edilmiştir.

Marul bitkilerine yapılan DAS-ELISA test verilerine göre tekli olarak MiLBVV etmenine rastlanmamıştır.

Çizelge 4.4. 2020 yılında toplanan marul ve yabancı ot örneklerinde DAS-ELISA testleri sonucunda belirlenen virüsler

Konukçu Bitki Türü	Test Edilen Bitki	Sağlıklı Bitki	Belirlenen Virüsler					
			CMV	LMV	TSWV	MiLBVV	Çoklu Enfeksiyon	İkili Enfeksiyon
Kıvırcık	5	2	0	0	0	0	1	2
Göbekli	88	47	5	7	17	0	9	3
Aysberg	4	3	0	0	1	0	0	0
Sirken	4	0	0	0	0	0	0	4
Kokar ot	2	0	0	0	0	0	1	1
TOPLAM	103	52	5	7	18	0	11	10

Çizelge 4.5. Araştırmanın yapıldığı Konya iline bağlı ilçelerden toplanan örneklerde DAS-ELISA testleri sonucu belirlenen tekli enfeksiyonlara ait maksimum-minimum absorbans değerleri ve bulaşık örnek sayıları

İLÇELER	Maksimum - Minimum Değerler Ve Bulaşık Örnek Sayıları			
	CMV	LMV	TSWV	MiLBVV
Çeltik	---	---	0,228-0,207	---
			1	
Ilgın	---	---	0,276-0,170	---
			2	
Meram	0,209-0,199	3,120-3,001	0,399-0,201	---
	1	1	6	
Kaşınhanı	0,254-0,068	9,999-0,166	0,325-0,164	---
	1	1	4	
Çumra	0,726-0,124	1,955-0,567	0,460-0,160	---
	2	4	4	
Karatay	0,205-0,200	0,230-0,133	0,296-0,241	---
	1	1	1	

Yapılan araştırma dahilinde tekli virüs enfeksiyonlarının ilçelere göre dağılımı ve DAS-ELISA testi sonucunda elde edilen maksimum-minimum absorbans değerleri Çizelge 4.5.'de gösterilmektedir. Tekli enfeksiyon oranları baz alındığında Çumra (%35,71) ile enfeksiyon oranı en yüksek ilçe olarak tespit edilmiştir. Diğer ilçelerin oranları sırasıyla Kaşınhanı (%28,57), Meram (%25), Karatay (%10,71), Ilgın (%7,14) ve Çeltik (%3,57) yer almaktadır.

İlçeler baz alındığında Çumra ilçesinde LMV (%35,71) oranla tekli olarak tespit edilen tek etmenidir. Ayrıca tekli olarak bulunan en yüksek virüs etmenidir. Çizelge 4.5.'de görüldüğü gibi Meram ve Çumra ilçesi 3 farklı virüs etmenini içermeleri nedeniyle en çok tekli virüs etmenini bulunduran ilçeler konumundadır.

Çizelge 4.6. Konya ilinden toplanan bitki örneklerindeki ikili ve çoklu enfeksiyonların bitki türlerine göre sayıları

İLÇELER	Konukçu Bitki Türü	Belirlenen Virüsler									
		LMV+CMV	LMV+TSWV	LMV+MLBVV	CMV+TSWV	CMV+MLBVV	TSWV+MLBVV	LMV+CMV+TSWV	LMV+TSWV+MLBVV	CMV+TSWV+MLBVV	TOPLAM
Çeltik	Göbekli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Ilgın	Göbekli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	Kokar ot	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Meram	Göbekli	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	Aysberg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	Sirken	1	1	-	2	-	-	-	-	-	4
Kaşınhanı	Göbekli	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	Kıvırcık	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Çumra	Göbekli	-	4	-	-	-	1	1	-	3	9
	Kıvırcık	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Karatay	Göbekli	-	-	-	2	-	-	-	-	1	3
	Kıvırcık	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
	Kokar ot	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Çoklu virüs enfeksiyonlarının ilçelere ve marul bitkilerine göre dağılımı ise Çizelge 4.6.'da verilmiştir. İlçeler düzeyinde oransal olarak en fazla virüslü bitki miktarı Çumra ilçesinden toplanan göbekli marul bitkilerinde %90 oran ile tespit edilmiştir. MiLBVV'nin genellikle ikili ve çoklu (%14,28) enfeksiyonlarda tekli etmen olarak bulunmaya nazaran daha yoğun olarak bulunduğu tespit edilmiştir.

Konya ilinden alınan ve DAS-ELISA testi uygulanan 2 farklı türdeki toplam 6 yabancı ot örneğinin %100'ünün virüslerle enfekteli olduğu ve bu virüslerin de LMV (%66,66) ve CMV (%66,66) olduğu belirlenmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde 2020 yılında toplanan 103 örnekten 46'sında virüslerle enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Enfekteli bu örneklerden; 19 adet TSWV, 7 adet LMV, 5 adet CMV, 10 adet ikili ve 10 adet çoklu bulaşıklığın bulunduğu saptanmıştır. İkili enfeksiyonlarda bulaşıklığın yarısı LMV+TSWV (%46,15) enfeksiyonlarından kaynaklıdır. Çoklu enfeksiyonlarda bulaşıklık TSWV+MiLBVV+CMV (%75) enfeksiyonlarından kaynaklanmaktadır.

Yapılan bu çalışma ile Konya ilinde marul üretim alanlarında problem olan pek çok virüs etmeninin olduğu saptanmıştır. Üretim alanlarından toplanan virüs ile enfekteli olduğu düşünülen marul ve yabancı ot örneklerinin serolojik testlerden DAS-ELISA testi sonucunda TSWV, LMV, MiLBVV ve CMV etmenleri ortaya konulmuştur.

1992 ile 1995 yılları arasında yapılan çalışmada 160 bahçeden 64 bitki çeşidinde TSWV'nin varlığını tespit etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda 160 bahçede 64 bitki çeşidinde 36' sısı süs bitkisi, 19' u yabancı ot, 6' sısı sebze, 2' si tarla bitkisi ve 1' i odunsu bitki olmak üzere TSWV' nin doğal enfeksiyonunu tespit ettikleri bildirilmiştir. Konya İlinde yapılan çalışmalarda 97 örnekten 37 örnekte TSWV'nin varlığı tespit edilmiştir. Örnek alınan ilçelerin hepsinde TSWV'ye rastlanmıştır (Mertelik ve ark., 1996).

Arjantin' de yapılan çalışma da Tosporvirüslerin tespiti için DAS-ELISA yöntemi kullanılarak alınan örneklerin %8,8'inde TSWV ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir. Konya ilinde yapılan çalışmada DAS-ELISA yöntemi kullanılarak, örneklerin %38,14' ünün TSWV ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Williams ve ark., 2001).

Hatay ilinde yapılan bir çalışmada semptomlu marul bitkilerinde Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*; TSWV)' nün %8,2 oranında belirlendiği bildirilmiştir (Sertkaya, 2012). Bu çalışma ise TSWV 'nin %38,14 oranında varlığı tespit edilmiştir.

Tahran-İran'da yapılan bir çalışmada DAS-ELISA yöntemi ile marulda *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV), LMV ve TSWV enfeksiyonu belirlenmiştir (Soleimani ve ark., 2011). Gerçekleştirilen bu çalışma kapsamında CMV ile enfekteli

bulunan marul bitkisindeki simptomlar Soleimani ve ark (, 2011)'nın çalışmasına paralellik göstermektedir.

Erigeron bonariensis L.'nin Amerika Birleřik Devletleri'nde TSWV'nin (Cho ve ark.,1987) Brezilya'da LMV'nin (Chaves ve ark., 2003) konukçusu olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise *Chenopodium album* L. Konukçu olduğu tespit edilmiştir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Çalışmanın yapıldığı Konya ilinde marul yetiştiriciliği yaygın olarak yapılmaktadır. Marul yetiştiriciliğinin fazla oluşu hastalık/zararlıları da beraberinde getirmektedir. Bu hastalık/zararlılar içerisinde virüsler önemli bir yere sahiptir. Kimyasal mücadelenin mevcut olmaması ve önemli ölçüde vektör böcekler vasıtasıyla kolayca geniş üretim alanlarına yayılabilmesi sebebiyle viral etmenler dikkat edilmesi gereken bir konudur.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile 2020 yılında Konya ilinde marul bitkilerinin üretim yerlerinden temin edilen, virüs hastalıklarının semptomlarını gösteren marul bitkileri ve yabancı otlar serolojik yöntemlerle tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarından elde edilen bilgilere göre 97 adet marul bitki örneğinin 40 (%41,23)'ünün, 6 adet yabancı ot örneğinin ise 6 (%100) tanesinde virüs ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan testin sonuçlarına göre değerlendirme yapıldığında Konya ilinde bulunan virüslerin; 97 marul bitkisinden LMV (%19,58), CMV (%18,55), TSWV (%38,14), MiLBVV (%7,2) ve 6 yabancı ot örneğinde LMV (%66,66), CMV (%66,66), ve TSWV (%50) ile bulaşık olduğu ortaya konulmuştur. Çalışma verilerine göre Konya ilinde marul yetiştiriciliği yapılan alanlarda gelecekteki enfeksiyonlar için sirken yabancı otunda tespit edilen virüsler için enfeksiyon kaynağı olması ve virüslerin konukçusu olabilecekleri tespit edilmiştir.

5.1.1. DAS-ELISA test sonuçları

Yapılan survey çalışmaları sonucu 97 adet marul örneği ve 6 adet yabancı ot örneklerinde viral etmenlerin varlığını serolojik testler sonucu belirlemek için bitki örneklerine DAS-ELISA testi uygulanmıştır. DAS-ELISA testi verilerine göre 103 adet örneğin 46 adeti (%44,66) bir veya daha fazla virüs etmeni ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir.

Konya ilinde toplanan örneklerden; 97 marul bitkisinden 19 adeti LMV (%19,58), 18 adeti CMV (%18,55), 37 adeti TSWV (%38,14), 7 adeti MiLBVV (%7,21) ve 6 yabancı ot örneğinde LMV (%66,66), CMV (%66,66) ve TSWV (%50) ile bulaşık olduğu ortaya konulmuştur.

Testlenen 97 adet marul bitki örneğinin 40 adetinde (%41,23) virüs etmenleri ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Bu bitkilerde en çok belirlenen virüs etmenleri olarak TSWV (%38,14) bulaşıklığı görülmüştür. TSWV etmeninin bulaşıklık oranları sırasıyla, aysberg marulunda %2,70, kıvırcık marulda %8,10, göbekli marulda %89,18 olduğu tespit edilmiştir. Bu etmeni LMV (%19,58) ve CMV (%18,55) etmenleri takip etmektedir.

DAS-ELISA sonucu 97 bitki örneklerin 2'li, 3'lü ve 4'lü olmak üzere farklı kombinasyonlarda bulunan virüs etmenleri belirlenmiştir. Bunlardan 2'li olarak bulunan virüs örneklerinden 13 adetinde 6'sını enfekte eden LMV+TSWV (%46,15) etmenlerinin enfeksiyonlarından kaynaklıdır. 3'lü olarak enfekte etmiş bitki örneklerinden 8 adetinde 6'sı CMV+TSWV+MiLBVV (%75) enfeksiyonlarından kaynaklandığı raporlanmıştır.

5.2. Öneriler

Konya ilinde yapılan bu yüksek lisans tez çalışması, marul üretimi yapılan alanlarda sorun olan virüs etmenleri ilk kez serolojik yöntemlerden DAS-ELISA ile ortaya konulmuştur. Araştırmanın yapıldığı alanlarda, marul bitkilerinde CMV, LMV, TSWV ve MiLBVV'nin tespiti yapılmıştır ve yaygınlıkları ortaya konulmuştur. Marul üretim alanlarında genellikle marul tarlalarının çoğunluğunda virüs hastalıkları semptomlarının görülmesi ve üreticinin çoğunluğu virüs hastalıklarının ne olduğunu bilmemeleri, Konya ili için bitkisel üretim ve ekonomi açısından dikkat edilmesi gereken bir konudur. Üreticilerin virüs hastalıkları hakkında bilgi sahibi olmaları seminer gibi eğitim planlamaları yapılmalıdır.

Yapılan survey çalışmaları sonucu test edilen bitki örneklerinde virüs hastalığı en yüksek bulaşma görülen bitki göbekli marul da görülmüştür. Sonucun göbekli marul bitkisinin virüs etmenlerine karşı daha hassas olmasından dolayı kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir.

Marul ekim alanlarında yer yer yoğun olarak bulunan yabancı otlarda gözlemlenmiştir. Yabancı otlar virüslerin konukçusu olarak virüslerin varlığını korumakta ve gelecek yıl için enfeksiyon kaynağı olmaktadır. Özellikle virüs hastalıkları belirlenen Sirken yabancı otu üretim alanlarında yaygın olarak görülmüştür. Bundan dolayı yabancı otların iyi olarak tanınması gerekli ve yabancı ot mücadelesine dikkat edilmelidir.

Marul bitkilerinde hastalık meydana getiren virüslerle mücadele için öncelikle, virüsü marul yetiştirilen alanlara bulaştırmamaktadır. O yüzden tohum seçiminde virüs hastalıkları ile bulaşık olup olmadığına dikkat edilerek kullanılmalıdır.

Virüs hastalıklarının yayılmasında önemli faktör olan vektörlere karşı etkili insektisitler gerekli zamanlarda kullanılarak mücadele edilmeli ve yörede belirlenmeyen virüs hastalıklarına karşı gerektiğinde karantina tedbirleri alınarak, üretim alanları virüs hastalıklarına karşı korunmalıdır.

Çalışma sonucu elde edilen verilerin, marul yetiştiriciliği yapan üreticilere ve marul virüsleri hakkında çalışma yapacak araştırmacı için önemli bir kaynak olması beklenmektedir.



KAYNAKLAR

- Adkins, S. (2000). "*Tomato spotted wilt virus*- positive steps towards negative success." *Molecular Plant Pathology*, 1: 151-157.
- Alan, B. (2012). "Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Yetiştirilen Bazı Kışlık Sebzelerde Hastalık Yapan Virüslerin Tanılanması ve Karakterizasyonu." Çukurova Üniv. Fen Bil. Enst. Bitki Koruma Anabilim Dalı Doktora Tezi. Adana.
- Anonim (2015b). "Plant Viruses Online Descriptions and Lists from the VIDE Database." Web sitesi:<http://pvo.bio-mirror.cn/sppindex.htm> Son erişim tarihi: Kasım 2015
- Anonim (2020). "<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr>."
- Araya, C., E. Pena, E. Salazer, L. Roman, C. Medina, R. Roxana-Mora, A. Aljaro and I. M. Rosales (2010). "Symptom Severity and Viral Protein Or Rna Accumulation In Lettuce Affected By Big-Vein Disease." *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71(1). 63-72.
- Arli-Sokmen, M. and M. A. Sevik (2013). "Spread of *Tomato spotted wilt virus* from an internal virus source by thrips species in Samsun, Turkey." *Phytoparasitica* 41(2): 159-168.
- Bagley, C. A. (2001). "Controlling *Tobacco Mosaic Virus* in Tobacco through Resistance." Master of Science in Crop and Soil Environmental Sciences, 76 p.
- Barcala Tabarozzi, A. E., E. J. Peña, E. Dal Bo, G. Robles Luna, C. A. Reyes and M. L. Garcia (2010). "Identification of *Mirafiori lettuce big-vein virus* and *Lettuce big-vein associated virus* infecting *Lactuca sativa* with symptoms of lettuce big-vein disease in Argentina." *Plant Pathology* 59(6): 1160-1161.
- Bora, T. and İ. Karaca (1970). "Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi." Yayın No: 167. Ege Üniv. Mat., Bornova, 44.
- Bruckart, W. L. and J. W. Lorbeer (1975). "*Cucumber Mosaic Virus* in Weed Hosts Near Commercial Fields of Lettuce and Celery. ." *Phytopathology* 66: 253-259.
- Brunt, A. A., K. Crabtree, M. J. Dallwitz, A. J. Gibbs and L. Watson (1996). "Viruses of Plants. Descriptions and Lists from The WIDE Database." CAB International, Wallingford.
- Campel, R. N. and R. C. Grogan (1963). "Big-vein virus of lettuce and its transmission by *Olpidium brassicae*. ." *Phytopathology* 53: 252-259.
- Candresse, T., H. Lot, S. German-Retana, R. Krause-Sakate, J. Thomas, S. Sonche, T. Delaunay, M. Lanneau and O. LeGall (2007). "Analysis of the serological variability of *Lettuce mosaic virus* using monoclonal antibodies and surface plasmon resonance technology." *Journal of General Virology*, 88: 2605-2610.
- Chaves, A. L. R., M. R. Braun, M. Eiras, A. Colariccio and S. R. Gallet (2003). "*Erigeron bonariensis*: an alternative host of *Lettuce mosaic virus* in Brazil." *Fitopatologia Brasileira*, 28 (3): 307-311.

- Cho, J. J., R. F. L. Mau, T. L. German, R. W. Hartman, L. S. Yudin, D. Gonsalves and R. Prouvidenti (1989). "A Multidisciplinary Approach to Management of *Tomato spotted wilt virus* in Hawaii." *Plant Disease*, 73: 375-383.
- Cho, J. J., W. C. Mitchel, R. F. L. Mau and K. Sakimura (1987). "Epidemiology of *Tomato spotted wilt virus* Disease on Crisphead Lettuce in Hawaii." *Plant Disease*, 71: 505-508.
- Clark, M. F. and A. N. Adams (1977). "Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses." *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
- Colariccio, A., A. L. R. Chaves, M. Eiras, C. M. Chagas, R. Lenzi and P. Roggero (2003). "Presence of Lettuce Big-Vein Disease and Associated Viruses in A Subtropical Area of Brazil." *Plant Pathology*, 52: 792.
- Colariccio, A., M. Eiras, A. L. R. Chaves, R. Harakava and C. M. Chagas (2005). "In Sao Paulo, SP, Brazil." Instituto Biologico, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252: 04014-04002.
- Dinant, S. and H. Lot (1992). "*Lettuce Mosaic Virus*." *Plant Pathol*, 41: 528-554.
- Erkan, S., M. Gümüş, İ. C. Paylan, İ. Duman and M. Ergun (2013). "İzmir İli ve Çevresindeki Bazı Kışlık Sebzelerde Görülen Viral Etmenlerin Saptanması." *Ege Uni. Ziraat Fak. Derg.*, 50 (3): 311-322.
- Fidan, Ü. and T. Türkoğlu (1988). "Ege Bölgesi marul bitkilerinde görülen virüs hastalıkları üzerinde ön çalışmalar." *Bitki Koruma Bülteni* 28 (1-2): 43-56.
- Francki, R. I. B. and N. Habili (1987). "*Cucumber mosaic virus*' Viruses of Plants (edited by A. Brunt, K. Crabtree, M. Dallwitz, A. Gibbs and L. Watson)" University Press, Cambridge: 477-482.
- German-Retana, S., J. Walter and O. Le Gall (2008). "*Lettuce mosaic virus*: From pathogen diversity to host interactors." *Molecular Plant Pathology* 9(2): 127-136.
- Gibbs, A. J. (1983). "*Tomato spotted wilt virus*' Viruses of Plants, (edited by A. Brunt, K. Crabtree, M. Dallwitz, A. Gibbs and L. Watson). "University Press, Cambridge.: 1312-1315.
- Güldür, M. E. (1995). "Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) Alanına Giren Şanlıurfa, Diyarbakır ve Mardin İllerinde Yetiştirilen Domateslerde Zararlı Virüsler." Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı. Doktora Tezi ADANA: 120 s.
- Hayes, R. J., E. J. Ryder and W. M. Wintermantel (2008). "Genetic variation for big-vein symptom expression and resistance to *Mirafiori lettuce big-vein virus* in *Lactuca virosa* L., a wild relative of cultivated lettuce." *Euphytica* 164(2): 493-500.
- Heidari, F., M. Koohi Habibi and G. H. Mosahebi (2010). "Identification and Partial Characterization of Viral Agent of Lettuce Big Vein in Tehran Province." *Iranian Journal of Virology* 4(1): 17-22.
- Horvath, J. (1980). "Viruses of Lettuce. II. Hostranges of *Lettuce mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus*." *Acta Argon. Scient. Hungaricae* 29: 333-352.

- Jagger, I. C. and N. Chandler (1934). "Big-Vein, A Disease of Lettuce." *Phytopathology*, 24: 1253-1256.
- Kamberoğlu, M. and B. Alan (2011). "Occurrence of *Tomato spotted wilt virus* in Lettuce in Çukurova Region of Turkey." *Int. J. Agric. Biol.*, 13(3): 431-434.
- Krause-Sakate, R., R. N. Mello, M. A. Pavan, E. M. Zambolim, M. G. Carvalho, O. Gall and F. M. Zerbini (2001). "Molecular characterization of two Brazilian isolates of *Lettuce mosaic virus* with distinct biological properties." *Fitopatologia Brasileira* 26: 153-157.
- Kuvata (1991). "*Lettuce mosaic virus* viruses of Plants (edited by A. Brunt, K. CRABTREE, M. DALLWITZ, A. GIBBS and L. WATSON), ." University Press, Cambridge.: 715-717.
- Lian, S., J. S. Lee, B. K. Cho, J. Yu and M. K. Kim (2013). " Phylogenetic and Recombination Analysis of *Tomato spotted wilt virus*." *PLoS ONE* 8(5): e63380.doi:10.1371/journal.pone.0063380.
- Lot, H., R. N. Campbell, S. Souche, R. G. Milne and P. Roggero (2001). "Transmission by *Olpidium brassicae* of *Mirafiori lettuce virus* and *Lettuce big-vein virus*, and their roles in lettuce big-vein etiology." *Phytopathology* 92: 288-293.
- Mavric Plesko, I., M. Virscekmar and M. Zerjav (2009). "Identification of *Lettuce big-vein associated virus* And *Mirafiori Lettuce big-vein virus* Associated with Lettuce Big-Vein Disease in Slovenia." *Plant disease* Vol. 93(5): 549.
- Mertelík, J., B. Götzová and V. Mokra (1996). Epidemiological aspects of *Tomato spotted wilt virus* infection in the Czech Republic. *Acta Horticulturae*. **432**: 368-375.
- Messiaen, M. C. and R. Lafon (1965). "Les Maladies Des Plantesmaraicheres, Vol; II, IRA,." 272-276.
- Moreno, A., E. Bertolini, A. Olmos, M. Cambra and A. Fereres (2007). "Estimation of vector propensity for *Lettuce mosaic virus* based on viral detection in single aphids." *Spanish Journal of Agricultural Research* 2007 5(3), 376-384ISSN: 1695-971-X.
- Moreno, D., R. Biurrun, M. Nebreda, I. Palacios, M. Duque and A. Fereres (2004). "The incidence and distribution of viruses infecting lettuce, cultivated Brassica and associated natural vegetation in Spain." *Annl. Appl. Biol*, 144: 339-346.
- Ndunguru, J. and R. G. Kapooria (1997). " Detection of *Cucumber mosaic virus* in vegetables and herbs in Zambia." *AfricanPlant Protection* 3(2): 57-56.
- Özalp, O. (1964). "İzmir'de Sebzelerde Görülen Virüs Hastalıkları." *Bitki Koruma Bülteni* 1964 4(1): 18-25.
- Parrella, G., P. Gognalons, K. Gebre-Selassie, C. Vovlas and G. Marchoux (2003). "An update of the host range of *Tomato spotted wilt virus*." *Journal of Plant Pathology* **85**(4 SPEC. ISS.): 227-264.
- Pavan, M. A., R. Krause-Sakate, N. Silva, F. M. Zerbini and O. Gall (2008). "Virus Diseases of Lettuce in Brazil. *Plant Viruses* 2 (1), ." 35-41.
- Revers, F., H. Lot, S. Souche, O. Le Gall, T. Candresse and J. Dunez (1997). "Biological and molecular variability of lettuce mosaic virus isolates." *Phytopathology* **87**(4): 397-403.

- Rosello, S., M. J. Diez and F. Nuez (1996). "Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. The *Tomato spotted wilt virus*-a review." *Scientia Horticulturae*, 67: 117-150.
- Sanches, M. M., R. Krause-Sakate and M. A. Pavan (2008). "Sequence diversity in the coat protein gene of *Lettuce big-vein associated virus* and *Mirafiori lettuce big-vein virus* infecting lettuce in Brazil." *Summa Phytopathologica* 34(2): 175-177.
- Sasaya, T., H. Fujii, K. Ishihawa and H. Koganezawa (2008). ". Further evidence of *Mirafiori lettuce big-vein virus* but not of *Lettuce big-vein associated virus* with big vein disease in lettuce." *Phytopathology* 98: 464-468.
- Sertkaya, G. (2012). "Hatay İli Marul Alanlarında Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV)'nün Araştırılması." 9. Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu-Konya: 484-487.
- Sertkaya, G., F. Karaca, F. Nurel and H. Yokarıbaşı (2009). "Hatay ili marul alanlarında Marul mozaik virüsü ve Hıyar mozaik virüsünün biyolojik ve serolojik yöntemlerle araştırılması." III. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 15-18 Temmuz 2009- Van.: 244.
- Soleimani, A., G. H. Mossahebi and M. Koochi Habibi (2011). Identification of Some Viruses Causing Mosaic on Lettuce and Characterization of *Lettuce mosaic virus* From Tehran Province In Iran *African Journal of Agricultural Research* 6(13): 3029-3035.
- Soleimani, P., G. Mosahebi and M. K. Habibi (2011). "Identification of some viruses causing mosaic on lettuce and characterization of *Lettuce mosaic virus* from Tehran province in Iran." *African Journal of Agricultural Research* 6(13): 3029-3035.
- Şevik, M. A. (2008). "Thrips (*Thripidae*: Thy.) türleri ile taşınan bitki virüsleri, *DERİM*, 25:." 1-11.
- Tekinel, N., M. S. Dolar, S. Sağsöz and Y. Salcan (1969). "Mersin Bölgesinde Ekonomik Bakımdan Önemli Bazı Sebzelerin Virüsleri Üzerinde Araştırmalar." *Bitki Koruma Bülteni Cilt 9 no:1* : 37-49.
- Thomson, A. D. and C. H. Procter (1965). *Cucumber mosaic virus* in lettuce, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 9:1 s: 142-144.
- Tomlinson, J. A. (1982). ". '*Lettuce mosaic virus*' Viruses of Plants (edited by A. Brunt, K. Crabtree, M. Dallwitz, A. Gibbs and L. Watson) pp. 719-721." University Press, Cambridge.
- Tomlinson, L. A. (1970). "*Lettuce mosaic virus*, LMV." *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, (9)
- Tsompana, M., J. Abad, M. Purugganan and W. Moyer (2005). "The molecular population genetics o the *Tomato spotted wilt virüs* (TSWV) genome. *Molecular Ecology*, 14: ." 53-66.
- Uhring, J. F., T. R. Soellick, C. J. Minke, C. Rhilipp, J. W. Kellman and P. H. Schreier (1999). "Homotypic interaction and multimerization of nucleocapsid protein of *Tomato spotted wilt tospovirus*: Identification and characterization of two interacting domains. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 96: ." 55-60.

- Uzunoğulları, N. and G. Beşirli (2011). "Yedikule Marul (L.S.L.var. Longifolia) Çeşidinde Zarar Yapan Bazı Viral Etmenlerin Tanılanması." Türkiye IV. B.K.K. Bildirileri. S:416.
- Westerlund, F. V., K. B. Campbell and R. C. Grogan (1978A). "Effect of temperature on trans-mission, translocation, and persistence of the lettuce big-vein agent and big-vein symptom expression". *Phytopathology*. 68: 921-926.
- Westerlund, F. V., K. B. Campbell, R. C. Grogan and J. M. Duniway (1978B). "Soil factors affecting the reproduction and survival of *Olpidium brassicae* and its transmission of big-vein agent to lettuce." *Phytopathology*. 68: 927-935.
- Williams, L. V., P. M. López Lambertini, K. Shohara and E. B. Biderbost (2001). "Occurrence and geographical distribution of tospovirus species infecting tomato crops in Argentina." *Plant Disease* **85**(12): 1227-1229.
- Yardımcı, N. and H. Çulal-Kılınç (2009). "*Tomato spotted wilt virus* in vegetable growing areas in the west mediterranean region of Turkey." *African Journal of Biotechnology* Vol., 8 (1) : 4539-4541.
- Yılmaz, M. A., S. Baloğlu, M. Özaslan and M. E. Güldür (1995). "GAP Bölgesinde Kültür Bitkilerinde Belirlenen Virüsler." GAP Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri Sempozyumu, 27-29 Nisan-Şanlıurfa: 241-250.
- Yudin, L. S., B. E. Tabashnik, J. Cho and W. C. Mitchell (1990). "Disease prediction and economic models for managing *Tomato spotted wilt virus* disease in lettuce." *Plant Disease* 74: 211-216.
- Zitter, T. A. and J. A. Murphy, (2009). "*Cucumber mosaic virus*." *The Plant Health Instructor*, DOI: 10.1094/PHI-I-2009-0518-01.

EKLER

EK-1.

ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

1- Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7,4 (Fosfat tamponu)

8,0 g	NaCl
0,2 g	KH ₂ PO ₄
2,9 g	Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O veya
	2,3 g Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O
	1,44 g Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O
	1,15 g Na ₂ HPO ₄ (anhydrous)
0,2 g	KCl
0,2 g	NaN ₃

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı 0,1 N NaOH veya 0,1 N HCl ile ayarlanmış ve 4 °C'de saklanmıştır.

2- Coating buffer pH 9,6 (Kaplama tamponu)

1,59 g	Na ₂ CO ₃
2,93 g	NaHCO ₃
0,2 g	NaN ₃

Yukarıda miktarı verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı ayarlanmış 4 °C'de saklanmıştır.

3-Washing Buffer (Yıkama tamponu)

Bir litre PBS tamponu 0,5 ml Tween-20 ilave edilerek hazırlanmıştır.

4- Sample Extraction Buffer (Örnek tamponu)

Bir litre yıkama tamponu çözeltisi içine 20 g Polyvinylpyrrolidone (PVP-40) ilave edilerek hazırlanmıştır.

5- Enzyme Conjugate Buffer (Konjugat tamponu)

Bir litre örnek tampon çözeltisine 2 g ovalbumin (egg albumin) ilave edilerek hazırlanmıştır.

6- Substrat Buffer pH 9,8 (Substrat tamponu)

97 ml Diethanolamine 800 ml saf su içine ilave edildikten sonra 0,2 g NaN₃ konulmuş ve HCl ile pH 9,8'e ayarlanarak 1 litreye tamamlanmıştır.