



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

Ankara, Eskişehir ve Konya İlleri Marul Üretim Alanlarında Görülen Viral Hastalık Etmenlerinin Tespiti

Birol AKBAŞ¹, Ali Ferhan MORCA^{2*}, Sevgi COŞKAN³

^{1,2,3} Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Ankara, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-9797-7536> ²<https://orcid.org/0000-0002-7480-922X> ³<https://orcid.org/0000-0002-3589-6041>

*Sorumlu yazar e-posta: ferhan.morca@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 02.12.2020
Kabul: 03.05.2021
Online Yayınlanma 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.818644

Anahtar kelimeler

DAS-ELISA,
Marul iri damar hastalığı,
RT-PCR,
Virüs,
Yaygınlık.

Öz: Türkiye’de önemli bir yere sahip olan kışlık sebze üretimi, iklim koşullarının uygun olduğu birçok bölgede yapılmaktadır. Önemli bir kışlık sebze olan ve İç Anadolu Bölgesinin farklı illerinde üretimi yapılan marul bitkisini kalite ve verim açısından etkileyen birçok viral hastalık etmeni bulunmaktadır. Bu önemli viral hastalık etmenlerinin durumunun tespit edilmesi amacıyla 2017-2018 yıllarında Ankara, Eskişehir ve Konya illeri marul alanlarında sürveyler yapılarak, 164 adet örnek toplanmıştır. Toplanan örnekler, 14 farklı virüs [*Beet western yellows virus* (BWYV), *Broad bean wilt virus* (BBWV), *Cauliflower mosaic virus* (CaMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Lettuce mosaic virus* (LMV), *Mirafiori lettuce big-vein virus* (MiLBVV), *Radish mosaic virus* (RaMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tobacco necrosis virus* (TNV), *Tobacco rattle virus* (TRV), *Tobacco streak virus* (TSV), *Tomato black ring virus* (TBRV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Turnip mosaic virus* (TuMV)] serolojik olarak DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Serolojik olarak ticari kiti bulunmayan 2 virüs için [*Lettuce big vein associated virus* (LBVaV) ve *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV)] moleküler bir yöntem olan RT-PCR kullanılmıştır. Ayrıca serolojik olarak bölgede yüksek oranda tespit edilmiş olan MiLBVV moleküler yöntemlerle doğrulanmıştır. Yapılan analizler sonucunda LBVaV, MiLBVV, LMV, TNV etmenleri sırasıyla % 31.7, 19.5, 7.3 ve 3.7 oranında tespit edilmiştir. En yaygın viral etmenlerin LBVaV ve MiLBVV olduğu görülmüştür.

Determination of Virus Diseases in Lettuce Production Areas of Ankara, Eskisehir, and Konya Provinces of Turkey

Article Info

Received: 02.12.2020
Accepted: 03.05.2021
Online Published 30.06.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.818644

Keywords

DAS-ELISA,
Lettuce big vein disease,
RT-PCR,
Virus,
Prevalence.

Abstract: Winter vegetable cultivation is realized in several having suitable climate condition region of Turkey. Lettuce, an important winter crop for Turkey is cultivated in various provinces of the Central Anatolia Region. A lot of virus agents affect lettuce plants in the sense of quality and quantity. To identify these viral agents, surveys were conducted in lettuce cultivation areas in Ankara, Eskisehir and Konya provinces and 164 samples were collected during the vegetation period of 2017 and 2018. Collected samples were tested serologically by DAS-ELISA tests using specific commercial antibodies against the following viruses: *Beet western yellows virus* (BWYV), *Broad bean wilt virus* (BBWV), *Cauliflower mosaic virus* (CaMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Lettuce mosaic virus* (LMV), *Mirafiori lettuce big-vein virus* (MiLBVV), *Radish mosaic virus* (RaMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tobacco necrosis virus* (TNV), *Tobacco rattle virus* (TRV), *Tobacco streak virus* (TSV), *Tomato black ring virus* (TBRV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Turnip mosaic virus* (TuMV).

Samples were also molecularly analysed by RT-PCR against 2 viruses [*Lettuce big-vein associated virus* (LBVaV) and *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV)] that have no commercial serological kits. Additionally, MiLBVV that was serologically detected at a high rate in the region, was also confirmed by RT-PCR analysis in the study. As a result of the analysis, infection rates of LBVaV, MiLBVV, LMV, and TNV were found as 31.7, 19.5, 7.3 and 3.7 %, respectively. With the present study, LBVaV and MiLBVV were determined to be the most prevalent viruses in lettuce in the region.

1. Giriş

Salata grubu yaprağı yenen en önemli bitkilerin başında gelen marul bitkisi (*Lactuca sativa* L.) Türkiye'nin hemen hemen her bölgesinde iklim ve coğrafi koşullara bağlı olarak açık alan veya örtü altında yetiştiriciliği yapılmaktadır. Dünyada marul üretimi yaklaşık olarak 27.3 milyon ton olup, Çin 15 546 415 ton üretim miktarı ile ilk sırada yer alırken, Türkiye 487 543 ton üretim miktarı ile dünyada 8. sırada yer almaktadır (FAO, 2018). İç Anadolu Bölgesi 108 849 ton marul üretim miktarı ile Türkiye üretiminin yaklaşık % 22.33'ünü karşılamaktadır. İç Anadolu Bölgesinde marul üretiminin en yaygın yapıldığı iller sırası ile Ankara, Eskişehir, Karaman ve Konya'dır (TÜİK, 2018).

Bütün bitkilerde olduğu gibi marul bitkisi de birçok zararlı organizmadan etkilenmektedir. Viral etmenler de marulu olumsuz olarak etkileyen önemli bir patojen grubudur. Uygun olmayan çevre ve yetiştirme koşullarında virüslerin marul yetiştiriciliğinde %100'e varan verim kaybına yol açtığı bilinmektedir. Marul iri damar hastalığına (Lettuce big-vein disease) neden olan virüslerin marul ekiliş alanlarında % 50-70'e varan kayıplara yol açtığı (Resende ve Cupertino, 1995; Moreno ve Fereres, 2012; Maccarone, 2013) ve özellikle son yıllarda dünyada marul yetiştiriciliği yapılan hemen her yerinde yaygın olarak görüldüğüne dair birçok rapor mevcuttur (Bernal-Vicente ve ark., 2018; Opatovsky ve ark., 2019; Salem ve ark., 2020). Dünyada marul bitkisinde virüs çalışmaları 1920'li yıllarda başlarken (Jagger, 1921; Newhall, 1923), Türkiye'de ilk çalışmalar Özalp (1964) ve Kurçman (1969) tarafından Ege Bölgesi'nde gözleme dayalı olarak başlatılmıştır. Bunu takip eden yıllarda Akdeniz Bölgesi marul alanlarında LMV (Yılmaz,1981), akabinde LMV ile birlikte CMV ve BBWV (Erkan ve Schlosser, 1985), İzmir ilinde LMV (Fidan ve Türkoğlu, 1988), Doğu Anadolu Bölgesinde LBVaV (Döken ve ark., 1993), Güneydoğu Anadolu Bölgesinde LMV (Yılmaz ve ark., 1995), Yalova'da LMV (Uzunoğulları ve Beşirli, 2011) varlığı rapor edilmiştir. Bu virüslerin yanında marulda az oranda da olsa TSWV ve AMV enfeksiyonları da belirlenmiştir (Özdemir ve Erilmez, 2007; Yardımcı ve Kılıç, 2009; Kamberoğlu ve Alan, 2011).

Özet olarak marul yetiştiriciliğinde 20'ye yakın virüs hastalığı saptanmış, ancak bunlardan yaklaşık 10 tanesinin Akdeniz ve Avrupa bölgesinde ekonomik olarak önemli olduğu Moreno ve Fereres, (2012) tarafından bildirilmiştir. Ülkemizde ise lokal olarak marul yetiştiriciliği yapılan hemen hemen tüm bölgelerde 7 farklı virüsün varlığı rapor edilmiştir (Tekinel ve ark., 1969; Fidan ve Türkoğlu, 1988; Döken ve ark., 1993; Bozdoğan, 2009; Alan, 2012; Erkan ve ark., 2013; Sertkaya, 2015). Türkiye'de son yıllarda yapılan çalışmalarda Marul iri damar hastalığına yol açan MiLBVV ve LBVaV'nin baskın olarak yer aldığı farklı çalışmalarda rapor edilmiştir (Sertkaya, 2015; Randa-Zelyüt, 2016; Ertunç ve Randa-Zelyüt, 2019; Sağlam ve Kamberoğlu, 2019).

Bu çalışma, Ankara, Eskişehir ve Konya illeri açık alan ve örtü altı marul yetiştiriciliği yapılan sahalarda, özellikle üreticilerden gelen şikâyetlerin viral kaynaklı olup olmadığının ortaya konulması amacıyla gerçekleştirilmiştir. İç Anadolu Bölgesinde marul alanlarında bu zamana kadar viral etmenlerin varlığının araştırılması amacıyla farklı çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, bu çalışma ile 16 farklı viral etmenin varlığı araştırılarak, virüs kaynaklı problemlerin daha etkin bir şekilde ortaya konması planlanmıştır. Ayrıca son yıllarda tüm dünyada marul virüs hastalıklarının ana hastalığı olarak gözüken Marul iri damar hastalığının etmenleri olan MiLBVV ve LBVaV'nin bölgedeki son durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Sürvey çalışmaları ve örneklerin toplanması

Sürvey çalışmaları 2017-2018 yılları arasında iki farklı vejetasyon döneminde bölgede marul yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Ankara ilinin Ayaş, Beypazarı ve Nallıhan; Konya ilinin Çumra ve Meram; Eskişehir ilinin Mihalgazi ve Tepebaşı ilçelerinde yapılmış ve virüs belirtisi gösteren 164 bitkiden örnek toplanmıştır.

2.2. Serolojik çalışmalar

Toplanan marul örnekleri 14 farklı virüs antiserumu ile (Çizelge 1) DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) metoduna göre analiz edilmiştir. DAS-ELISA testleri antiserumların temin edildiği firmaların (Loewe® Biochemica GmbH, Germany ve Agdia Inc. Elkhart, IN, USA) belirlediği protokollere uygun olarak yapılmıştır. Değerlendirmelerde negatif kontrol OD değerinin 2 katı ve üzeri olan örnekler enfekteli olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 1. DAS-ELISA analiziyle varlığı araştırılan viral etmenler

Etmen	Akronim	Etmen	Akronim
<i>Beet western yellows virus</i>	BWYV	<i>Tomato black ring virus</i>	TBRV
<i>Broad bean wilt virus</i>	BBWV	<i>Tobacco mosaic virus</i>	TMV
<i>Cucumber mosaic virus</i>	CMV	<i>Tomato spotted wilt virus</i>	TSWV
<i>Cauliflower mosaic virus</i>	CaMV	<i>Turnip mosaic virus</i>	TuMV
<i>Lettuce mosaic virus</i>	LMV	<i>Tobacco necrosis virus</i>	TNV
<i>Mirafiori lettuce big-vein virus</i>	MiLBVV	<i>Tobacco rattle virus</i>	TRV
<i>Tobacco streak virus</i>	TSV	<i>Radish mosaic virus</i>	RaMV

2.3. Moleküler çalışmalar

DAS-ELISA çalışmalarında ticari antiserumu bulunmayan “*Tomato infectious chlorosis virus* (TICV)” ve “*Lettuce big-vein associated virus* (LBVaV)” un tespiti için moleküler analizler yapılmıştır. Bununla beraber marul üretim alanlarındaki Marul iri damar hastalığına sebep olan etmenlerden biri olan ve DAS-ELISA çalışmalarına göre en yoğun olarak tespit edilen MiLBVV’de moleküler analizlere dahil edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda RNA yapısında olan bu üç virüse karşı ilk olarak total RNA ekstraksiyonu, ardından tek aşamalı RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) analizi gerçekleştirilmiştir.

2.3.1. Total RNA ekstraksiyonu

Nükleik asit ekstraksiyonu Foissac ve ark. (2001)’nin önerdiği yöntemde minör modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu protokole göre; 100 mg bitki dokusuna 1 ml ekstraksiyon tampon çözeltisi (6 M guanidine thiocyanate, 0.2 M sodium acetate, 25 mM EDTA, 1 M potassium acetate, % 2.5 PVP-40 ve % 1 mercaptoethanol) ilave edilip, ezilerek karıştırılmıştır. Bu karışımdan 500 µl alınarak 100 µl % 10 sodium lauryl sulfate solüsyonu ilave edilip karıştırılmıştır. Bu karışım 70 °C de 10 dk ara sıra karıştırılarak inkübe edildikten sonra 5 dk buzda bekletilmiştir. Daha sonra 14.000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiş ve tüpün üzerinde kalan yaklaşık 300 µl sıvı yeni bir tüpe transfer edildikten sonra üzerine 150 µl ethanol, 35 µl silika jel (Silicon Dioxide, pH: 2) ve 300 µl 6 M sodium iodide ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 10 dk çalkalayıcıda karıştırılarak bekletildikten sonra 6.000 rpm de 1.5 dk santrifüj edilmiştir. Sonra üst sıvı atılmış ve pelet 500 µl yıkama tamponu (0.05 mM EDTA, 50 mM NaCl ve % 50 ethanol içeren 10 mM Tris-HCl) içerisinde çözdürülmüştür. Yıkama işlemi iki kez tekrarlandıktan sonra pelet 75 µl RNase-free su içerisinde çözdürülmüştür. Son olarak 70 °C de 4 dk kuru blokta inkübe edilip, 14.000 rpm de 3 dk santrifüj edilmiş ve üst sıvı yeni bir tüpe alınmıştır. Elde edilen total RNA’ların miktarı ve saflığı elektrospektrofotometrede (Nanodrop 2000, Thermo-USA)

ölçüldükten sonra her bir örnek konsantrasyonu 50 ng/µl olacak şekilde seyreltilerek, RNA'lar -20 °C'de saklanmıştır.

2.3.2. RT-PCR

Ekstraksiyon aşamasından sonra elde edilen total RNA'lar virüslere spesifik primerler (Çizelge 2) kullanılarak tek aşamalı RT-PCR yöntemi ile analiz edilmiştir. RT-PCR karışımı toplam hacmi 25 µl olacak şekilde her 3 virüs için; dH₂O 11.4 µl, 5X Go Taq reaksiyon tampon solüsyonu 7 µl, 25 mM MgCl₂ 1.25 µl, 10 mM dNTPs 0.7 µl, F-R primer 2µl (1+1), Taq DNA polimeraz (Promega-M3005) 0.25 µl (1.25 U/µl), RT enzim (Thermo-EP0441) 0,2 µl ((200 U/µl), RNase (NEB- M0243L) 0,2 µl ve RNA 2 µl (50 ng/µl) olarak hazırlanmıştır.

Çizelge 2. TICV, LBVaV ve MiLBVV etmenleri için RT-PCR'da kullanılan primerler

Virüs adı	Primer adı ve dizisi	Baz boyutu	Kaynak
TICV	F- 5'-TCA GTG CGT ACG TTA ATG GG-3' R- 5'-CAC AGT ATA CAG CAG CGG CA-3'	501 bp	Hartono ve ark., 2003
LBVaV	VP 248- 5'-CGC CAG GAT CTT TGA TCC ATC TG-3' VP 249- 5'-TTG CGA CAT GTT CCT CCT CAT CG-3'	296 bp	Navarro ve ark., 2004
MiLBVV	VP 286- 5'-TAT CAG CTC ACA TAC TCC CTA TCG-3' VP 287- 5'-CAA CTA GCT CAG AAT ACA TGC AG-3'	469 bp	Navarro ve ark., 2004

Çizelge 2'de verilen primerler ile her virüse özgü reaksiyon koşulları optimize edilerek hazırlanmıştır. LBVaV için RT-PCR koşulları 50 °C'de 30 dk, 95 °C'de 5 dk, 35 döngü 94 °C 30 sn, 42 °C 45 sn ve 72 °C'de 45 sn'yi takiben son uzama (extension) için 72 °C'de 7 dk olarak uygulanmıştır. MiLBVV için 42 °C'de 50 dk, 95 °C'de 5dk, 35 döngü 94 °C 30 sn, 59 °C 45 sn ve 72 °C'de 1 dk'ı takiben son uzama (extension) için 72 °C'de 10 dk olarak uygulanmıştır. TICV için 50 °C'de 30 dk, 94 °C'de 5 dk, 35 döngü 94 °C 15 sn, 57°C 30 sn ve 72 °C'de 30 sn'yi takiben son uzama (extension) için 72 °C'de 5 dk olarak uygulanmıştır. PCR ürünleri Pronasafe nükleik asit boyası (Conda, Madrid, Spain) ilaveli % 1.5'lük agaroz jelde 100 V'da 75 dk koşutularak, UV transilüminörde görüntülenmiş ve elde edilen bant görüntüleri değerlendirilmiştir.

3. Bulgular

3.1. Arazi çalışmaları

Ankara ili Ayaş, Beypazarı, Nallıhan; Eskişehir ili Tepebaşı, Mihalgazi; Konya ili Çumra ve Meram marul ekiliş alanlarında (sera ve açık alan) yapılan sürveylerde, marullarda mozaik, halkalı klorotik ve nekrotik lekeler, kıvrılma, şekil bozukluğu, damarlarda şişme ve cücelik gibi karakteristik viral belirtiler gözlenmiştir. Ancak en yaygın görülen belirtilerin damarlarda açılma, şişkinlik, yapraklarda nekroz ve şekil bozukluğu olduğu (Şekil 1), bazı bölgelerde söz konusu belirtilerin tarla/sera kenarlarından başlayıp içeri doğru lokal olarak yer aldığı görülmüştür.



Şekil 1. Arazi çalışmalarında görülen nekroz (a), şekil bozukluğu (b) ve cüceleşme (c) belirtileri.

3. 2. Serolojik analiz sonuçları

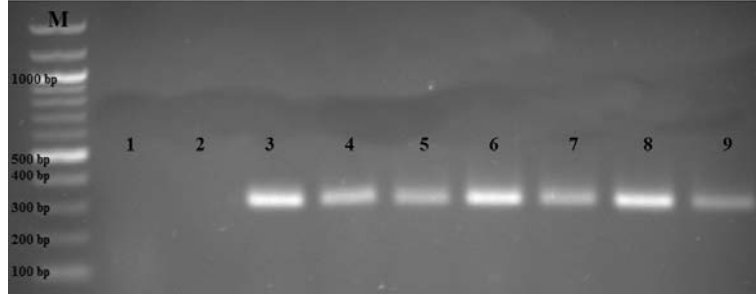
DAS-ELISA ile 14 virüs için yapılan analiz sonuçlarına göre toplam 164 marul örneğinden 40 adetinin bir veya birden fazla virüs ile enfekteli olduğu geriye kalan 124 örneğin herhangi bir virüs ile enfekteli olmadığı belirlenmiştir. Ankara ilinden toplanan 66 örneğin 22'sinin, Eskişehir ilinden toplanan 82 örneğin 18'nin virüs ile enfekteli olduğu bulunmuştur. Konya'dan toplanan 16 örneğin tamamı negatif sonuç vermiştir. DAS-ELISA testlerinde pozitif 40 adet marul bitkisinin MiLBVV, LMV ve TNV etmenleri ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. İl-İlçe bazında ELISA test sonucuna göre tespit edilen virüsler

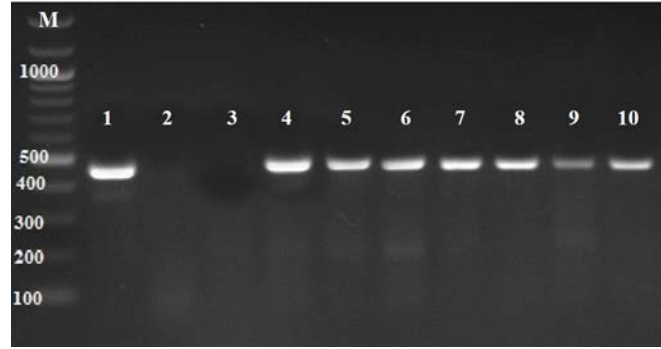
İl	İlçe	MiLBVV	LMV	MiLBVV+LMV	TNV	Enfekteli Örnek Sayısı
Ankara	Ayaş	-	-	-	-	-
	Beypazarı	8	8	6	-	22
	Nallıhan	-	-	-	-	-
Eskişehir	Tepebaşı	8	-	-	6	14
	Mihalgazi	-	4	-	-	4
Konya	Çumra	-	-	-	-	-
	Meram	-	-	-	-	-
Genel Toplam		16	12	6	6	40

3. RT-PCR sonuçları

Moleküler çalışmalarda üç viral etmen için ayrı ayrı yapılan tek aşamalı RT-PCR sonuçlarına göre TICV hariç örneklerin LBVaV ve MiLBVV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. LBVaV için VP 248-249 primer çifti ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonucunda beklenen 296 nt'lik PCR ürünlere ait örnek agaroz jel görüntüsü Şekil 2'de ve MiLBVV için VP 286-287 primer çifti ile gerçekleştirilen amplifikasyon sonucunda beklenen 469 nt'lik PCR ürünlerine ait örnek agaroz jel görüntüsü Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 2. LBVaV için VP 248-249 primer çiftleri kullanılarak yapılan RT-PCR amplifikasyonuna ait agaroz jel görüntüsü. (M; 100 bp DNA Markör, 1; Su Kontrol 2; Negatif Kontrol, 3; Pozitif Kontrol, 4-9; LBVaV izolatları).



Şekil 3. MiLBVV için VP 286-287 primer çiftleri kullanılarak yapılan RT-PCR amplifikasyonuna ait agaroz jel görüntüsü. (M; 100 bp DNA Markör, 1; Pozitif Kontrol 2; Negatif Kontrol, 3; Su Kontrol, 4-10; MiLBVV izolatları).

RT-PCR çalışmalarında MiLBVV'nin DAS-ELISA ile tespitinden farklı olarak 32 örneğin fazladan enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Ankara ilinden alınan 66 marul örneğinden 58 adetinde, Eskişehir ilinde alınan 82 marul örneğinin 50'sinde tek ya da karışık LBVaV ve MiLBVV enfeksiyonu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda Ankara ve Eskişehir illerinde enfeksiyon oranlarının oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Ankara ilinde 16 örnekte, Eskişehir ilinde 8 örnekte her iki virüsün ortak enfeksiyonu tespit edilmiştir. Konya ilinden toplanan 16 örneğin tamamında herhangi bir virüs enfeksiyonu belirlenmemiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. LBVaV ve MiLBVV için yapılmış olan RT-PCR sonuçları

Sürvey Yapılan İller	Toplam Örnek Sayısı	LBVaV	MiLBVV	LBVaV+MiLBVV	Temiz Örnek Sayısı
Ankara	66	26	16	16	8
Eskişehir	82	26	16	8	32
Konya	16	-	-	-	16
Toplam	164	52	32	24	56

4. Tartışma ve Sonuç

Ankara, Eskişehir ve Konya illeri marul yetiştiriciliği yapılan alanlarda 2017-2018 yıllarında virüs şüphesi uyandıran 164 örneğin 108'nin en az bir virüs ile enfekteli olduğu serolojik ve moleküler testlerle belirlenmiştir. Cüceleşme, yaprak kıvrıcıklığı, genel sararma, mozaik ve damarlarda şişme belirtileri gösteren örneklerin alındığı bitkilerin çeşitli virüsler ile enfekteli olduğu ve bunların daha önce bu konuda yapılan çalışmalar ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (Colariccio ve ark., 2005; Uzunoğulları ve Beşirli, 2011; Ertunç ve Randa Zelyüt, 2019; Sağlam ve Kameroğlu, 2019).

Yapılan serolojik testlerde, Ankara ilinde 14 adet marul bitkisinde MiLBVV'nin varlığı tespit edilmiş olmasına rağmen RT-PCR sonucunda bu sayının 32'ye çıktığı; benzer şekilde Eskişehir ilinden

toplanan örneklerde bu sayının 8 den 24 e çıktığı görülmüştür. Bu da RT-PCR'ın MiLBVV tespitinde daha hassas sonuçlar verdiğini bir kez daha göstermiştir (Navarro ve ark., 2002; Navarro ve ark., 2004).

Sürvey yapılan 2017-2018 yıllarında Konya ilinden virüs şüphesi ile toplanan 16 örneğe yapılan serolojik ve moleküler analizler neticesinde herhangi bir virüs tespit edilmemesi, belirtilerin bitki besin maddesi noksanlığı, hatalı tarımsal işlemler ya da uygun olmayan iklim koşulları gibi abiyotik sorunlardan kaynaklı belirtilerden olduğu kanaatini uyandırmıştır (Kennelly ve ark, 2012).

Ankara ili marul ekiliş alanlarında RT-PCR analizine göre göre 16 bitkide, Eskişehir ilinde ise 8 bitkide LBVaV+MiLBVV'nin karışık enfeksiyonu tespit edilmiştir. Karışık enfeksiyonların görüldüğü bitkilerde belirtilerin daha şiddetli olduğu ve bitkilerin ticari değerini tamamıyla kaybettiği gözlenmiştir (Şekil 4). Sanches ve ark.(2008) ve Heidari ve ark. (2010) da benzer şekilde marul bitkisinde karışık viral enfeksiyonların görüldüğünü ve bu durumun belirtileri daha da şiddetli kıldığını rapor etmişlerdir.



Şekil 4. LBVaV ve MiLBVV'nin karışık enfeksiyonunun marul bitkisinde oluşturduğu aşırı damar şişkinliği belirtisi.

Daha önce yapılan çalışmalarda (Randa-Zelyüt, 2016; Ertunç ve Randa-Zelyüt, 2019) Ankara ilinde varlığı saptanan MiLBVV ve LBVaV etmenlerinin, üretim alanlarında yaygın olarak bulunmasının nedeni vektör *Olpidium brassicae*'ye bağlanmıştır. Virüslerin toprakta vektörünün dinlenme sporlarında uzun süre canlı kalabildiği ve salma sulama ile sporların harekete geçmesiyle aktif duruma geçtiği düşünülmektedir. Enfekteli bitkilerin daha çok salma sulamanın yapıldığı yerlerde yoğunlaşması bu ihtimali güçlendirmiştir. Aynı şekilde sürvey yapılan illerde virüsün yoğun olarak görüldüğü alanlarda ekim nöbeti yapılmadan art arda ekim yapıldığı saptanmış ve burada vektörlerin payının oldukça yüksek olduğunu düşünmekteyiz. Benzer şekilde Heidari ve ark. (2010) art arda yapılan marul yetiştiriciliğinde MiLBVV ve LBVaV'nin epidemiyolojisine sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Marul iri damar hastalığına yol açan virüslerin tek başına enfeksiyonlarının yanında, karışık enfeksiyonlarının da söz konusu olduğu farklı çalışmalarda belirlenmiştir (Salem ve ark., 2020). Benzer şekilde Ankara ili marul sahalarında LBVaV'nin tek başına veya MiLBVV ile karışık enfeksiyon oluşturduğu, Eskişehir ilinde ise her iki virüsün karışık enfeksiyonunun yanında tek başına ayrı ayrı enfeksiyon oluşturduğu da görülmüştür.

Marul bitkisinde LBVaV ve MiLBVV etmenleri kadar tahribata sebep olan TSWV enfeksiyonuna sürvey yapılan illerde rastlanmamıştır. Türkiye'de farklı araştırmacılar tarafından (Tekinel ve ark., 1969; Bozdoğan, 2009; Kameroğlu ve Alan, 2011; Sertkaya, 2015) marul bitkisinde

bu virüsün enfeksiyonu tespit edilmesine rağmen bu çalışmada varlığına rastlanmamıştır. Bu durumun İç Anadolu Bölgesinde marul ekim döneminin Akdeniz kuşağına göre daha soğuk dönemlerde yapılması ve vektörü olan Thrips popülasyonunun erken dönemde ortaya çıkmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Aynı şekilde daha önceki çalışmalarda saptanan diğer önemli bir virüs olan CMV'ye de bu çalışmada rastlanmamıştır (Fidan ve Türkoğlu, 1988; Sertkaya, 2015). Bu bulgular Ertunç ve Randa-Zelyut (2019)'un Ankara ili marul alanlarında yapmış olduğu çalışmayla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak 2017-2018 yıllarında Ankara ve Eskişehir illerinde LBVaV-MiLBVV enfeksiyonunun düzenli olarak tespit edilmesinde vektör popülasyonu ile özellikle düzensiz iklim şartlarının (aşırı sıcak, kuraklık, nem, don) etkili olduğunu düşünmekteyiz. Marul yetiştiriciliği yapılan alanların sürekli aynı ürün için kullanılması, hastalık oranının artmasında birinci sebep olarak görülmektedir. Üretim alanlarında ekim nöbeti uygulamalarına önem verilmesi ve bitki artıklarının vektör popülasyonunun artmasına sebep olması nedeniyle üretim alanlarından kesinlikle uzaklaştırılması gerektiğini düşünmekteyiz. Çalışmada ayrıca serolojik olarak tespit edilen LMV ve TNV etmenlerinin RT-PCR analizlerinin yapılarak, LBVaV-MiLBVV izolatları ile beraber dizi analizlerinin gerçekleştirilmesi ve izolatların genetik çeşitliliğinin araştırılmasının gerekli olduğunu kanaatine varılmıştır.

Kaynakça

- Alan, B. (2012). *Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Yetiştirilen Bazı Kışlık Sebzelerde Hastalık Yapan Virüslerin Tanılanması ve Karakterizasyonu*. (Doktora), Çukurova Üniv. Fen Bil. Ens. Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.
- Bernal-Vicente, A., Donaire, L., Torre, C., Gómez-Aix, C., Sánchez-Pina, M. A., Juárez, M., Hernando, Y., & Aranda, M. A. (2018) Small RNA-Seq to Characterize Viruses Responsible of Lettuce Big Vein Disease in Spain. *Frontiers in Microbiology* 9, 3188, 1-16.
- Bozdoğan, V. (2009). *Antalya ilinde domates, biber ve marul yetiştirilen alanlarda Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus, TSWV)'nin saptanması*. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi ADANA.
- Colariccio, A., Chaves, A. L., Eiras, M., Chagas, C. M., & Roggero, P. (2005). Detection of Varicosavirus and Ophiovirus in lettuce associated with lettuce big-vein symptoms in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 30(4), 416-419.
- Döken, M. T., Açıkgöz, S., & Demirci, E. (1993). Erzurum, Türkiye'de marulda görülen büyük damar virüsü hastalığı. *Türk Fitopatoloji Dergisi*, 22 (1), 41-43.
- Erkan, S., Gümüş, M., Paylan, İ. C., Duman, İ. & Ergün, M. (2013). İzmir ili ve kullanılmış bazı kışlık sebzelerde viral etmenlerin saptanması. *E.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50 (3), 311-322.
- Ertunç, F. & Randa-Zelyut, F. (2019). Virus diseases of lettuce in ankara province. *Int. International Journal of Agriculture, Forestry and Life Sciences*, 3(2), 202-206.
- FAO. (2018). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> Erişim tarihi: 26 Ekim 2020.
- Fidan, Ü., & Türkoğlu, T. (1988). Ege Bölgesi marul bitkilerinde görülen virüs hastalıkları üzerinde ön çalışmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 28 (1-2), 43-56.
- Foissac, X., Svanella-Dumas, L., Dulucq, M. J., Candresse, T., & Gentit, P. (2001). Polyvalent detection of fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by nested RT-PCR using degenerated and inosine containing primers (PDO RT-PCR). *Acta Hort.*, 550, 37-43.
- Hartono, S., Natsuaki, T., Sayama, H., Atarashi, H., & Okuda, S. (2003). Yellowing disease of tomatoes caused by *Tomato infectious chlorosis virus* newly recognized in Japan. *Plant Pathology* 69, 61– 64.
- Heidari, F., Koohi-Habibi, M., & Mosahebi, G. H. (2010) Identification and partial characterization of viral agent of *Lettuce big vein* in Tehran province. *Iranian Journal of Virology* 4(1), 17-22.
- Jagger, I. C., (1921). A transmissible Mosaic Disease of Lettuce. *Journal of Agricultural Research*, 20 (10), 737-739.
- Kameroğlu, M., & Alan, B. (2011). Occurrence of Tomato spotted wilt virus in lettuce in Çukurova region of Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13(3), 431–434.

- Kennelly, M., O'Mara, J., Rivard, C., Miller, G.L. & D. Smith 2012. Introduction to abiotic disorders in plants. *The Plant Health Instructor*.
- Kurçman, S. (1969). *Türkiye kültür bitkilerinde virüs problemi ve çözümü üzerinde düşünceler* (Uzmanlık tezi).
- Maccarone, L. D. (2013). Relationships between the pathogen *Ospidium virulentus* and viruses associated with lettuce big-vein disease. *Plant Disease*, Vol. 97 No. 6, 700-707.
- Moreno, A. & Fereres, A. (2012). Virus Diseases in Lettuce in the Mediterranean Basin. *Advances in Virus Research*, Vol. 84, pp 247-288. Academic Press.
- Navarro, J. A., Botella, F., Sastre, P., Marhuenda, A., Sanchez-Pina, A., & Pallas, V. (2002). *Desarrollo de métodos moleculares para la detección de dos virus asociados con la enfermedad de las venas grandes de la lechuga y su aplicación a la identificación de reservorios naturales*. Proceedings of the XI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Almería, p.109.
- Navarro, J. A., Botella, F. A., Maruhenda, A., Sastre, P., Sanchez-Pina, M. A., & Pallas, V. (2004). Comparative infection progress analysis of Lettuce big-vein virus and Mirafiori lettuce virus in lettuce crops by developed molecular diagnosis techniques. *Phytopathology*, 94, 470-477.
- Newhall, A. G., (1923). Seed transmission of Lettuce mosaic. *Phytopathology*, 13 (2), 104-106.
- Opatovskaya, I., Elbaza, M., Doria, I., Avrahamb, L., Mordechai-Lebiushc, S., Dombrovskyd, A., & Tsrer (Lahkim), L. (2019). Control of lettuce big-vein disease by application of fungicides and crop covers. *Plant Pathology*, 68, 790-795.
- Özalp, M. O. (1964). İzmir'de sebzelerde görülen virüs hastalıkları. *Bitki Koruma Bülteni* 4(1), 18-25.
- Özdemir, S. & Erilmez, S. (2007, Ağustos). *Denizli ilinde yetiştirilen biber, patlıcan ve marul üretim alanlarında bazı viral etmenlerin saptanması*. Türkiye II.Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. Isparta, s.114.
- Randa-Zelyüt, F. (2016). *Ankara ili marul ekim alanlarında görülen virüs hastalıklarının belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Resende, J. A. M., & Cupertino, E. P. (1995). Doença em hortaliças. *Informe Agropecuario*, 18, 18-27.
- Salem, N., Odeh, S., Muslem, M. A., Tahzima, R. (2020). Occurrence and partial genetic characterisation of Lettuce big-vein associated virus and Mirafiori lettuce big-vein virus infecting lettuce in Jordan. *Annals Applied Biology*, 177, 90-100.
- Sağlam, H. N., & Kamberoğlu, M. A. (2009) Identification and characterization of lettuce big vein disease (LBVD) in lettuce (*Lactuca sativa*) crops in Adana and Mersin provinces in Turkey. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 32(3), 315-321.
- Sanches, M. M., Krause-Sakate, R., & Pavan, M. A. (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.
- Sertkaya, G. (2015). Hatay ili marul ve ıspanak alanlarında bazı virüslerin araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. ISSN:1300-9362. 20(1), 7-12.
- Tekin, N., Dolar, M. S., Sağsöz, S., & Salcan, Y. (1969). Mersin bölgesinde ekonomik bakımdan önemli bazı sebzelerin virüsleri üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 9, 1, 37-49.
- TÜİK. (2018). Türkiye İstatistik Kurumu. Tarım istatistikleri <https://data.tuik.gov.tr/> Erişim tarihi: 25 Ekim 2020.
- Uzunoğulları, N., & Beşirli, G. (2011). *Yedikule marul (Lactuca Sativava L. var. longifolia) çeşidinde zarar yapan bazı viral etmenlerin tanınması*. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, Kahramanmaraş.
- Yardımcı, N., & Kilic, H. C. (2009). Tomato spotted wilt virus in vegetable growing areas in the west mediterranean region of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8(18), 4539-4541.
- Yılmaz, M. A., (1981). Virüs partisi es associated with diseases of tomato and lettuce in Turkey. *Phytopathology Mediterranea*. 20, 79-80.
- Yılmaz, M. A., Baloğlu, S., Özaslan, M., & Güldür, M. E. (1995, Nisan). *GAP bölgesinde kültür bitkilerinde belirlenen virüsler*. GAP Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri.