

ÇANAKKALE İLİ VE İLÇELERİNDEKİ SOĞANLI SÜS BİTKİLERİNDE HIYAR MOZAIK VİRÜSÜ ENFEKSİYONUNUN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLER İLE ARAŞTIRILMASI

Ali KARANFİL, Burçin SOYLU, Savaş KORKMAZ*

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 17020, Çanakkale,

*Corresponding author: e-mail: skorkmaz@comu.edu.tr

Alınış (Received): 01 Haziran 2016, Kabul Ediliş (Accepted): 28 Ağustos 2016, Basım (Published): 15 Aralık 2016

Özet: Süs bitkileri yetiştiriciliğinde hastalık ve zararlılardan kaynaklanan çok sayıda sorun ortaya çıkmaktadır. Bu hastalıklar arasından viral kaynaklı patojenler bitkiden bitkiye mekanik yollardan kolaylıkla bulaşabilmeleri, tohum, vejetatif üretim materyali ve vektör böcekler aracılığı ile hızlı bir şekilde yayılabilmeleri ve kimyasal mücadele yönteminin bulunmaması nedeni ile diğer bitki hastalıklarına göre farklı bir öneme sahiptirler. Bu virüs hastalıklarından bir tanesi de Hiyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic virus*; CMV)'dür. CMV, Tütün mozaik virüsü'nden sonra dünyada en fazla konukçu dizisine sahip olan ikinci virüstür. Bu çalışma kapsamında Çanakkale ili ve ilçelerindeki soğanlı süs bitkilerinde (nergis, sümbül, zambak) CMV varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla 2012-2015 yılları arasında arazi çıkışları yapılarak virüs ve virüs benzeri hastalık semptomu gösteren 128 soğanlı süs bitkisi örneği toplanmıştır. Toplanan örnekler CMV varlığı açısından serolojik bir yöntem olan DAS-ELISA testi ve moleküler bir yöntem olan RT-PCR ile araştırılmıştır. Gerçekleştirilen deneyler sonucunda toplanan 128 örneğin 29'u (%22,65) CMV ile enfekteli olarak bulunmuştur. CMV ile enfekteli bitkilerdeki en yaygın semptomların damarlardaki renk açılmaları ve hafif mozaik belirtiler olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: CMV, süs bitkileri, DAS-ELISA, RT-PCR.

Investigation of Cucumber Mosaic Virus Infection by Serological and Molecular Methods on Ornamental Bulbous Plants in Çanakkale Province and Its Districts

Abstract: There are many problems during cultivation of ornamental plants arising from diseases and pests. Viral borne pathogens, among these diseases, have a distinctive importance compared to other plant diseases due to their easy mechanical transmission from plant to plant, their rapid spreading ability by means of seeds, vegetative material and vector insects and the absence of a chemical control method. Cucumber mosaic virus (CMV) is one of these virus diseases. CMV is the second virus after tobacco mosaic virus (TMV) over the world in terms of the number of hosts. In this study, presence of CMV was investigated in ornamental bulbous plants (daffodils, hyacinths, lilies) in Çanakkale province and its districts. For this purpose, 128 bulbous ornamental plant samples showing virus and virus like disease symptoms were collected in field studies performed between the years 2012-2015. The collected samples were tested for the presence of CMV using serological and molecular methods with DAS-ELISA and RT-PCR, respectively. Twenty-nine out of 128 samples (%22.65) were found to be infected with CMV. Chlorosis was observed throughout veins and light mosaics were observed to be the most common symptoms in CMV infected plants.

Key words: CMV, ornamental plants, DAS-ELISA, RT-PCR.

Giriş

Günümüzde hızlı bir şekilde devam eden kentleşme ve sanayileşme sonucu yeşil alan varlıklarımız hem tahrip olmakta hem de yok olmaktadır. Her geçen gün doğadan bir şekilde uzak kalan insanların yeşil alan ve bitkilere olan ihtiyacı artmaktadır. İnsanlar bu ihtiyaçlarını, kendi yaşadığı ortam içinde yetiştirmeye başladığı süs bitkileri ile aşmaya çalışmaktadır (Korkut ve İnan 2002). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de süs bitkileri sektörü son yıllarda hızlı bir ilerleme göstermiştir. Yeni yetiştirme

tekniklikleri ve teknolojilerinin kullanılması ile süs bitkileri üretimi ülke ekonomilerine önemli katkılar sağlamaya başlamıştır (Yazgan ve ark. 2005). İnsanların yaşadığı her yerde görülebilen süs bitkilerinde virüs hastalıkları yönünden bazı sorunlar mevcuttur. Süs bitkilerinde hastalığa neden olan virüs hastalığı etmenlerinden bir tanesi de Hiyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic virus*; CMV)'dür.

Hıyar mozaik virüsü, ilk olarak hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkisi üzerinde 1934 yılında Amerika'da Price tarafından bulunduğu rapor edilmiştir. Bu virüs Bromoviridae familyası içerisinde yer alan Cucumovirus cinsinin en önemli üyelerinden birisi olarak kabul edilmektedir. CMV, TMV'den sonra en fazla konukçu dizisine sahip virüs olarak bilinmektedir. Ayrıca diğer virüs hastalıklarından sahip oldukları konukçu dizisi ve sayısı bakımından daha önemli olarak görülmektedir. Virüs 100 familyaya giren 1200'den fazla bitkiyi enfekte edebilme yeteneğindedir (Zitter ve Murphy 2009). CMV, izometrik ve zarf içermeyen, yaklaşık olarak 29-30nm çapında yuvarlak şekilli, üç parçacıklı (+) ssRNA genomuna sahip ve tek bir partikülden oluşan bir virüstür (Palukaitis ve Garcia-Arenal 2003). Bu 3 parçalı genom RNA1 (~3350nt), RNA2 (~3050nt) ve RNA3 (~2200nt)'den oluşmaktadır. Ayrıca RNA3'ün bazen dördüncü bir RNA (~1030nt) içerebildiği de belirtilmiştir. RNA1 tek bir protein kodlamaktadır. RNA1'in kodladığı bu protein 1a olarak ifade edilmiş ve genomun viral replikasyon için hayati öneme sahip olduğu bildirilmiştir (Zitter ve Murphy 2009). RNA2 ise 2a ve 2b olmak üzere 2 protein kodlamaktadır. 2a proteini viral replikasyonla ilişkilendirilirken, 2b proteini ise enfeksiyon sırasında konukçunun kendini savunmak amacı ile ürettiği gen sessizleştirme sinyallerini engellemektedir. Son olarak RNA3 ise 3a ve kılıf proteini olmak üzere 2 protein kodlamaktadır. RNA3'ün kodladığı bu 3a proteininin virüsün hücreden hücreye hareketinden sorumlu hareket proteini olduğu belirtilmiştir (Zitter ve Murphy 2009).

Ülkemizde CMV ile ilgili farklı konukçularda yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur (Gümüş ve ark. 2004, Çuhâl-Kılıç ve Yardımcı 2012, Çifçi ve Ulubaş Serçe 2014). Beler ve Açıkgöz (2005), Marmara ve Ege bölgesi zeytin alanlarında bazı virüs hastalıklarının enfeksiyonlarını araştırmışlardır. Araştırmacılar çalışmalarının sonucunda zeytin alanlarında CMV enfeksiyonunu %36,36 olarak bildirmişlerdir. Değirmenci ve Uzunoğulları (2007), Marmara bölgesi domates alanlarında bazı virüs hastalıklarının enfeksiyonlarını araştırdıkları çalışmalarında, CMV enfeksiyon oranını %9-68,7 olarak belirtmişlerdir. Erkan ve ark. (2013), İzmir ili ve çevresinde yetiştiriciliği yapılan bazı kışlık sebzelerdeki viral etmenlerin saptanması üzerine yürüttükleri çalışmalarında en yaygın olarak tespit edilen virüs hastalıklarından bir tanesinin CMV olduğunu belirtmişlerdir. Sertkaya (2015), Hatay ili marul ve ıspanak üretim alanlarında sorun oluşturan bazı virüs hastalıklarının tespiti amacı ile yapmış olduğu çalışmalarda marullarda %3,7, ıspanaklarda ise %16,6 oranında CMV enfeksiyonunu tespit etmiştir.

Dünyada ve ülkemizde soğanlı süs bitkilerinde CMV enfeksiyonu ile ilgili yapılan bazı çalışmalar mevcuttur. Fakat özellikle ülkemizde konu hakkında yapılan araştırma sayısının oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Türkoğlu ve Fidan (1996), Ege Bölgesinde ticari amaçla üretilen bazı soğanlı süs bitkilerinde virüs hastalıklarının tespitine yönelik 1979-1984 yıllarında gerçekleştirdikleri

biyolojik indeksleme çalışmaları sonucunda krizantem mozaik virüsü, lale kıran virüsü ve zambak mozaik virüslerini tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Raj ve ark. (2002), Hindistan'da glayöllerdeki CMV enfeksiyonunun karakterizasyonu amacı ile birtakım çalışmalar yürütmüşlerdir. Sharma ve ark. (2005), Hindistan'da zambak yetiştirilen bölgelerden alınan dört farklı zambak türündeki bazı virüs hastalıklarının tespitine yönelik olarak gerçekleştirdikleri çalışmalarında CMV enfeksiyonunu tespit etmişlerdir. Uzunoğulları ve Gümüş (2015), Marmara Bölgesinde CMV'nin doğal enfeksiyonunu araştırdıkları çalışmalarında glayöl bitkilerinde CMV enfeksiyonunu tespit etmişlerdir. Gerçekleştirilen bu çalışmalardan da anlaşılacağı üzere dünyada ve ülkemizde soğanlı süs bitkilerinde CMV enfeksiyonunun tespit edildiği görülmüştür.

Gerçekleştirilen bu çalışma kapsamında Çanakkale ili ve ilçelerindeki ev bahçeleri ve açık alanlarda bulunan soğanlı süs bitkilerindeki CMV varlığı serolojik ve moleküler yöntemler ile araştırılarak ilimizde mevcut varlığı ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen çalışmalar temel olarak 2 aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada Çanakkale ili ve ilçelerine arazi çıkışları gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada ise araziden toplanarak laboratuvara getirilen örneklerdeki CMV varlığının belirlenmesi amacı ile serolojik ve moleküler deneyler gerçekleştirilmiştir.

Arazi Çalışmaları

Arazi çıkışları Çanakkale ili ve ilçelerindeki soğanlı süs bitkilerinin yetiştiriciliğinin yapıldığı veya doğal olarak yetişen ev bahçeleri ve açık alanlara (park, bahçe vb. gibi rekreasyon alanları) gerçekleştirilmiştir. Arazi çıkışlarında mozaik, sararma, kloroz, cücelik vb. gibi virüs ve virüs benzeri belirti gösteren bitkilerden örneklemeler yapılmıştır (Şekil 1). Aynı alanda birbirine benzer belirti gösteren çok sayıda hastalıklı bitki olması durumunda ise en fazla 3 bitkiden örneklemeler yapılmıştır. Örneklemeler bitkinin büyüklüğüne göre semptom gösteren yaprak veya



Şekil 1. Arazide virüs ve virüs benzeri hastalık semptomu gösteren ve örneklemeler yapılan süs bitkileri (a-b: Yapraklarında mozaik belirtiler gösteren zambak bitkileri)

Tablo 1. RT-PCR aşamasında kullanılan primer çiftleri.

Kod	Primer Dizisi	Sense	Spesifik Geni
SK5-CMV	5' ATG GAC AAA TCT GAA TCA ACC 3'	Forward (ileri)	CP
SK6-CMV	5' GAT GTG GGA ATG CGT TGG TGC 3'	Reverse (geri)	(638bp)

bitkinin tamamı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Toplanan örnekler buz kutusunda muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiş ve kullanılmaya kadar silika jel içinde +4°C'de saklanmıştır.

Serolojik ve Moleküler Testler

Toplanan örneklerdeki CMV varlığını belirlemek amacı ile ilk olarak serolojiye dayalı bir yöntem olan DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent assay) testi Clark ve Adams (1977)'a göre yapılmıştır. DAS-ELISA testleri sonucunda negatif kontrolün iki katı absorbans değerine yakın sonuç veren örnekler ise şüpheli olarak değerlendirilerek DAS-ELISA testine göre daha kesin sonuçlar veren moleküler bir yöntem olan RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) ile araştırılmıştır (Niimi ve ark. 2003).

DAS-ELISA Testi

Araziden CMV enfeksiyon şüphesi ile toplanan soğanlı süs bitkilerinde CMV'nin varlığı, günümüzde hala virüs hastalıklarının tanınmasında kullanılan en yaygın yöntem olan DAS-ELISA ile araştırılmıştır. Bu amaçla Bioreba (İsviçre) firmasından sağlanan CMV'ye spesifik ELISA kiti ve 96 çukur içeren Microtiter plate'ler kullanılmıştır. ELISA testi üretici firmanın önerileri doğrultusunda antidi, konjugat antidi ve substrat belirtilen solüsyonlarda ve oranlarda sulandırılarak Clark ve Adams (1977)'in belirttiği temel yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Test sonuçları Medispec ESR 200 ELISA okuyucusunda (Awareness Tech. Ins., USA) 405nm dalga boyunda okuma işlemine tabi tutularak değerlendirilmiştir. Negatif kontrolün 2 katı üzerinde olan örnekler enfekteli olarak değerlendirilmiştir.

RT-PCR Testi

DAS-ELISA testleri sonucunda şüpheli olarak bulunan tüm örneklere RT-PCR uygulanmıştır. DAS-ELISA testleri sonucunda CMV ile enfekteli olarak bulunan ikişer örnek pozitif kontrol olarak ve sağlıklı olduğu belirlenen iki örnek ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. RT-PCR çalışmaları CMV CP genine spesifik primer çiftleri kullanılarak (Tablo 1), PrimeScript™ RT-PCR (Fermantas, Litvanya) kitinin alındığı firmanın önerileri doğrultusunda temel olarak 3 aşamada Gökdağ ve ark. (2016)'nın belirttiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak soğanlı bitkilerinden RNeasy Mini Kit (Qiagen, Kanada) ile total RNA ekstrasyonu yapılmıştır. İkinci aşamada elde edilen total RNA'lar PCR makinasında (Bio-Rad, ABD) 65°C 5dk bekletilmiş ve

hemen ardından buza alınarak denatürasyon aşaması tamamlanmıştır. Denatüre edilmiş RNA'lardan cDNA'lar sentezlenmesi amacı ile RT karışım hazırlanarak 30°C'de 10dk, 42°C'de 45dk, 70°C'de 15dk ve +4°C'de sonsuz şekilde bekleyecek şekilde programlanan PCR makinesine konularak komplementar DNA (cDNA)'lar sentezlenmiştir. RT-PCR çalışmalarının son aşamasında elde edilen cDNA'ların amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla hazırlanan PCR karışımına cDNA'lar eklenerek 94°C 3dk, 40 defa tekrarlanan 94°C'de 30sn, 55°C'de 30sn ve 72°C'de 45sn, 72°C'de 5dk daha sonra da +4°C'de sonsuz şekilde bekleyecek şekilde programlanan PCR makinesine konularak CMV CP genlerinin çoğaltılması yapılmıştır. Son olarak elde edilen PCR ürünleri 100-1000bç DNA büyüklük markılarıyla birlikte %1'lik agaroz jel içinde 100 voltta, 45 dakika ayrıştırılıp EtBr ile boyandıktan sonra jel görüntüleme cihazında (Major Science UVdi, Tayvan) hedef virüsün kılıf protein genine ait bantlar görüntülenmiştir.

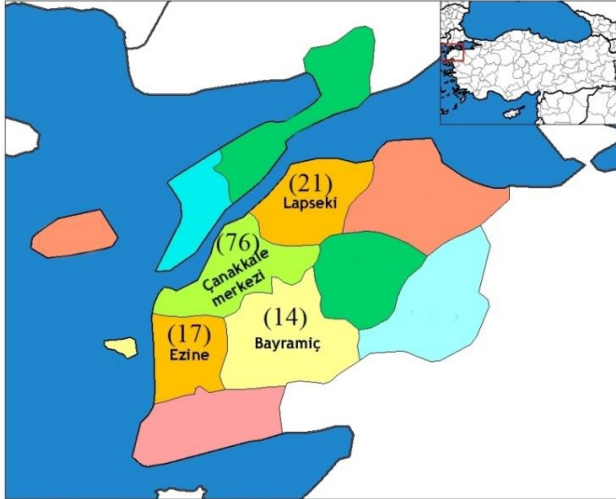
Bulgular

Arazi Çalışmaları

Gerçekleştirilen arazi çalışmaları kapsamında Çanakkale Merkez ve bazı diğer ilçelerine arazi çıkışları yapılmıştır. Arazi çıkışları sonucunda Çanakkale'nin 4 farklı ilçesinden toplam 128 soğanlı süs bitkisi (nergis, sümbül, zambak) örneği toplanmıştır. Toplanan örneklerin 21'i Lapseki, 76'sı Merkez, 17'si Ezine ve 14'ü de Bayramiç ilçelerinden elde edilmiştir. En fazla örnek 76 adet ile Çanakkale'nin Merkez ilçesinden en az örnek ise 14 örnek ile Bayramiç'ten alınmıştır (Şekil 2). Toplanan 128 örneğin 61 tanesi zambak, 32 tanesi sümbül ve 35 tanesi de nergis bitkilerinden oluşmaktadır.

DAS-ELISA ve RT-PCR Yöntemleri

Arazi çalışmaları sonucunda toplanan örneklere ilk olarak DAS-ELISA testi uygulanmıştır. İkinci aşamada ise DAS-ELISA testlerinde negatif kontrolün tam olarak iki katına ulaşmayan, kısmen yüksek sayılabilecek absorbans değerleri vererek şüpheli olarak değerlendirilen örneklere RT-PCR uygulanmıştır. DAS-ELISA testleri sonucunda seçilen bazı CMV ile enfekteli bulunan ve sağlıklı olarak belirlenen örneklerde pozitif ve negatif kontrol olarak kullanılarak RT-PCR yöntemi gerçekleştirilmiştir. Toplanan örneklerin DAS-ELISA ile CMV varlığı açısından araştırılması sonucunda örnek toplanan Çanakkale'nin tüm ilçelerindeki soğanlı süs bitkilerinde CMV varlığı saptanmıştır. DAS-ELISA testlerine göre



Şekil 2. Örnekleme yapılan Çanakkale ili ve ilçeleri (Parantez içerisindeki rakamlar arazi çıkışları sonucunda toplanan örnek sayılarını göstermektedir).

toplanan örneklerin 29'u CMV ile enfekteli olarak bulunmuştur. Yedi örnek ise negatif kontrole göre kısmen yüksek absorpsiyon değeri göstermiş ve şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Bu kapsamda şüpheli olarak değerlendirilen 7 örnek moleküler bir yöntem olan RT-PCR ile tekrar değerlendirilmeye alınmıştır.

RT-PCR sonuçlarında şüpheli bulunan örneklerde CMV enfeksiyonu saptanamamıştır. DAS-ELISA ve RT-PCR sonuçlarına göre en fazla CMV enfekteli soğanlı süs bitkisi örneği Merkez ilçeden, en az enfekteli bitki örneği ise Bayramiç'ten elde edilmiştir. İlçeler bazında toplanan örneklerdeki CMV enfeksiyon oranları Lapseki'de %9,50, Merkez'de %19,73 Ezine'de %47,05 ve Bayramiç'te %28,57 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Bu sonuçla toplanan örneklerdeki CMV enfeksiyon oranı ise %22,65 olarak bulunmuştur. Bitki bazında değerlendirilmek istenildiğinde ise toplanan 61 zambak örneğinin 17'si, 32 sümbül örneğinin 8'i ve 35 nergis örneğinin 4'ü CMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir.

Sonuçlar ve Tartışma

Arazi çalışmaları kapsamında toplanan örnek sayısının belli bir düzeye ulaşması ve Çanakkale Merkez ilçe dışındaki diğer ilçelerde rekreasyon alanlarının kısmen daha az olmasından dolayı Çanakkale'nin bazı ilçelerine arazi çıkışı yapılmamıştır.

Gerçekleştirilen arazi çalışmaları kapsamında örnekleme yapılan Çanakkale ili ve ilçelerindeki soğanlı süs bitkilerinde virüs ve virüs benzeri hastalık belirtileri olarak yaprak damarları boyunca uzanan kloroz ve hafif mozaik belirtiler dikkat çekmiştir. Raj ve ark. (2002), Hindistan'da glayöllerdeki CMV enfeksiyonunun belirlenmesine yönelik çalışmalarında araziden CMV enfeksiyon belirtisi olarak yapraklarda şiddetli mozaik ve renk açılmalarının olduğunu belirtmiştir. Araştırmacılar gerçekleştirmiş oldukları çalışmalar ile bu belirtilere neden olan etmenin CMV olduğunu desteklemektedir. Benzer

Tablo 2. Çalışma kapsamında örnekleme yapılan soğanlı süs bitkilerine ait bilgiler.

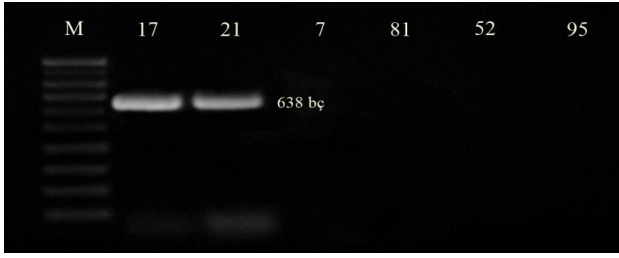
Örnekleme Yapılan Çanakkale İlçeleri	CMV ile Enfekteli Olarak Bulunan Örnek Sayısı/Toplanan Örnek Sayısı	Toplanan Örneklerdeki Enfeksiyon Yüzdesi
Lapseki	2/21	9,50
Merkez	15/76	19,73
Ezine	8/17	47,05
Bayramiç	4/14	28,57
Toplam	29/128	22,65

belirtiler Uzunoğulları ve Gümüş (2015) tarafından glayöl bitkilerinde gözlenmiştir. Bu bağlamda soğanlı süs bitkilerinde CMV enfeksiyon belirtileri olarak çalışmalar arasındaki sonuçlar paralellik göstermektedir.

DAS-ELISA yöntemi sonucunda şüpheli olan örnekler RT-PCR yöntemi sonucunda da negatif sonuç verirken, DAS-ELISA testleri sonucunda CMV ile enfekteli olarak bulunan ve pozitif kontrol olarak kullanılan iki örnekte 638bc büyüklüğünde bandlar elde edilirken, negatif kontrol olarak kullanılan sağlıklı örneklerden ise bant elde edilmemiştir (Şekil 3).

Gerçekleştirilen RT-PCR sonucunda, DAS-ELISA testleri sonucunda şüpheli olarak bulunan örneklerin pozitif olarak bulunmasını beklemek yüksek bir ihtimal olarak gözükmesine rağmen negatif olarak bulunmuştur. Bu durumda DAS-ELISA testleri sonucunda şüpheli olarak nitelendirilen izolatlardan elde edilen yüksek sayılabilecek absorpsiyon değerleri, olasılıkla kullanılan antiserumun poliklonal olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bazen poliklonal antiserumlar bu tip reaksiyonlar gösterebilmektedirler. Niimi ve ark. (2003), zambaklarda sorun oluşturan CMV, *Lily symptomless virus* (LSV) ve *Lily mottle virus* (LMoV)'lerin varlığını RT-PCR ve ELISA yöntemlerini kullanarak araştırmışlardır. Araştırmacılar RT-PCR çalışmaları sonucunda 22 bitki örneğinden 18'inin en az bir virüsle enfekteli olduğunu bulurlarken, ELISA testleri sonucunda ise yalnızca 4 (%18,2) bitkinin enfekteli olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonucunda RT-PCR yönteminin ELISA yöntemine göre virüsleri tanılamada çok daha duyarlı bir metot olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Çalışma kapsamında DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri sonucunda 128 örneğin 29'u CMV ile enfekteli olarak bulunmuştur. Ülkemizde yapılan bir çalışmada Uzunoğulları ve Gümüş (2015), Marmara Bölgesi'ndeki bazı kültür bitkilerinde CMV'nin doğal enfeksiyonlarını araştırmışlar ve soğanlı bir süs bitkisi olan glayöllerden şüpheli gördükleri 35 bitkiden örnekleme yapmışlardır. Böylece CMV varlığını tespit etmeye yönelik çalışmalar sonucunda aldıkları 24 örneğin CMV ile enfekteli olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar soğanlı süs bitkilerinde CMV enfeksiyonunun yaygın olarak bulunduğu göstermektedir. Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bir başka çalışmada ise başka bir soğanlı süs bitkisi olan



Şekil 3. RT-PCR analiz sonuçları (M: Marker; 100-1000bp; 17, 21: DAS-ELISA testlerinde CMV ile enfekteli bulunan izolatlar; 7, 81: CMV ile enfekteli olduğundan şüphelenilen izolatlar; 52, 95: DAS-ELISA testleri sonucunda sağlıklı olarak bulunan izolatlar).

laleler üzerinde yapılmıştır. Araştırmacı topladığı 400 örnekte içlerinde CMV'nin de bulunduğu 6 farklı virüsün varlığını tespit etmiştir (Nemethy 1994).

Bu çalışma kapsamında Çanakkale ili ve ilçelerinden toplanan soğanlı süs bitkilerinin hepsinin virüs ve virüs benzeri hastalık semptomu göstermesine rağmen toplanan 128 örneğin 29'unun CMV ile enfekteli bulunmasından dolayı, CMV ile enfekteli örneklerde dahil tüm örneklerin tek veya karışık enfeksiyonlar şeklinde diğer virüs ve virüs benzeri hastalıklar ile enfekteli olabileceği ihtimali vardır.

References

1. Beler, Ö. & Açıkgöz, S. 2005. Ege ve Marmara bölgelerindeki zeytin fidanlıkları ve ağaçlarında görülen bazı virüs hastalıklarının ELISA testi ile saptanması. *ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1): 79 – 84.
2. Clark, M.F. & Adams, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
3. Çifçi, O. & Ulubaş Serçe, Ç. 2014. Türkiye'de Mardin ili zeytin alanlarında bazı virüslerin serolojik ve moleküler tekniklerle araştırılması. *Bitki Koruma Bülteni*, 54(3): 233-246.
4. Çulal-Kılıç, H. & Yardımcı, N. 2012. Burdur Çine Ovası fasulye alanlarında hıyar mozaik virüsü. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2): 12-15.
5. Değirmenci, K. & Uzunoğulları, N. 2007. Marmara bölgesinde domates yetiştiricilik alanlarında sorun olan virüslerin belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 47(1-4): 72-77.
6. Erkan, S., Gümüş, M., Paylan, İ.C., Duman, İ. & Ergün, M. 2013. İzmir İli ve Çevresindeki Bazı Kışlık Sebzelerde Görülen Viral Etmenlerin Saptanması. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(3): 311-322.
7. Gökdag, S., Karanfil, A. & Korkmaz, S. 2016. Çanakkale İli Ispanak Alanlarındaki Şalgam mozaik virüsü ve Hıyar mozaik virüsü Varlığının Belirlenmesi. *Bahçe*, 45: 166-170.
8. Gümüş, M., Erkan, S. & Tok, S. 2004. Bazı kabakgöl türlerinin tohumlarındaki viral etmenlerin saptanması üzerinde araştırmalar. *Ege Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(1): 49-56.
9. Korkut, A.B. & İnan, İ.H. 2002. *Saksılı Süs Bitkileri*. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti., Altan Matbaası, İstanbul, 2. Baskı.
10. Nemethy, Z.I. 1994. Survey on virus diseases of bulbous flowers in Hungary. *Acta Horticulturae*, Eighth international symposium on virus diseases of ornamental plants, 24-28 August, Prague, 267-274.
11. Niimi, Y., Han, D.S., Mori, S. & Kobayashi, H. 2003. Detection of cucumber mosaic virus, lily symptomless virus and lily mottle virus in lily species by RT-PCR technique. *Scientia Horticulturae*, 97: 57-63.
12. Palukaitis, P. & Garcia-Arenal, F. 2003. Cucumber mosaic virus. AAB. Descriptions of Plant Viruses, No: 400.
13. Raj, S.K., Srivastava, A., Chandra G. & Singh B.P. 2002. Characterization of cucumber mosaic virus isolate infecting gladiolus cultivars and comparative evaluation of serological and molecular methods for sensitive diagnosis. *Current Science*, 83(9): 1132-1137.
14. Samuitiene, M. & Navalinskiene, M. 2008. Occurrence of cucumber mosaic cucumovirus on ornamental plants in Lithuania. *Zemdirbyste-Agriculture*, 95(3): 135-43.
15. Sertkaya, G. 2015. Hatay ili marul ve ıspanak alanlarında bazı virüslerin araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1): 7-12.
16. Sharma, A., Mahinghara, B.K., Singh, A.K., Kulshrestha, S., Raikhy, G., Singh, L., Verma, N., Hallan, V., Ram, R. & Zaidi, A.A. 2005. Identification, detection and frequency of lily viruses in Northern India. *Scientia Horticulturae*, 106: 213-227.
17. Sochacki, D. 2013. The occurrence of the viruses in tulip crops in Poland. *Journal of Horticultural Research*, 21(1): 5-9.

18. Türkoğlu, T. & Fidan, Ü. 1996. Ege bölgesinde krizantem, nergis, zambak ve lalelerde görülen virüs hastalıklarının tanıtılması. *Bitki Koruma Bülteni*, 36(1-2): 73-78.
19. Uzunoğulları, N. & Gümüş, M. 2015. Marmara Bölgesi'nde bazı kültür bitkilerinde doğal enfeksiyona neden olan hıyar mozaik virüsü (cucumber mosaic virus, cmv)'nün tespiti. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 16(1): 9-15.
20. Yazgan, M.E., Korkut, A.B., Barış, E., Erkal, S., Yılmaz, R., Erken, K., Gürsan, K. & Özyavuz, M. 2005. Süs bitkileri üretiminde gelişmeler. Ziraat Mühendisleri Odası Teknik Kongresi, 3-7 Ocak, Ankara, 1-20.
21. Zitter, T.A. & Murphy, J.A. 2009. Cucumber mosaic. *The Plant Health Instructor*, DOI: 10.1094/PHI-I-2009-0518-01.