

Antalya İli Marul Üretim Alanlarında *Mirafiori Marul İri Damar Virüsü (MiLBVV)*'nin Belirlenmesi

Emine ERDAŞ¹, Handan ÇULAL KILIÇ¹

¹Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 32260, Isparta, Türkiye

(Alınış / Received: 29.12.2021, Kabul / Accepted: 15.03.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

Anahtar Kelimeler

MiLBVV,
Marul,
DAS-ELISA,
RT-PCR

Öz: Bu çalışma 2019-2021 yılları arasında Antalya ili marul üretim alanlarında marul iri damar virüsü (*Mirafiori lettuce big vein virus*: MiLBVV)'nin belirlenmesi amacı ile yürütülmüştür. Arazi çalışmalarında 240 marul örneği toplanmış ve bütün örnekler MiLBVV'ye spesifik antiserumlar kullanılarak DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile testlenmiştir. Testlenen bitki örneklerinin 44 adedinin MiLBVV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Testlenen örneklerdeki hastalık oranı ise %18.33 olarak belirlenmiştir. DAS-ELISA testinde pozitif çıkan 44 örnekten, absorbans değeri yüksek olan 29 adet bitki örneği total RNA izolasyonu ve RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) çalışmalarında kullanılmıştır. RT-PCR testlemelerinde, MiLBVV'ye spesifik primer çiftleri kullanılmış ve MiLBVV'nin 469 bp'lik kılıf protein gen bölgesi çoğaltılarak agaroz jelde UV altında görüntülenmiştir. Agaroz jel elektroforezde MiLBVV'ye özgü beklenen seviyede bant gözlemlenmiştir. Vektör fungus olan *Olpidium* spp.'nin oluşturduğu spor yapılarının belirlenmesi için de marul bitkilerinin enfekteli kökleri trypan blue solüsyon çözeltisi ile boyanmış ve vektör fungusun sporları tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Antalya ili marul üretim alanlarında MiLBVV'nin varlığı serolojik ve moleküler olarak ilk defa ortaya konulmuştur.

Detection of *Mirafiori Lettuce Big Vein Virus* in Lettuce Growing Areas of Antalya Province

Keywords

MiLBVV,
Lettuce,
DAS-ELISA,
RT-PCR

Abstract: This study was conducted for detection of *Mirafiori lettuce big vein virus* (MiLBVV) in the fields where the lettuce production in Antalya province in 2019-2021 years. A total 240 plant samples were collected from fields and all samples were tested for MiLBVV using specific antiserum by double antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay (DAS-ELISA). 44 samples were found to be infected with MiLBVV. MiLBVV infection ratio was determined as %18.33 of field samples. 29 samples with a high absorbance value out of 44 samples that tested positive as a result of the DAS-ELISA test were used to studies of total RNA isolation and Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) studies. In RT-PCR studies, specific primer pairs were used for MiLBVV and 469 bp fragments of MiLBVV representing the coat protein region was amplified and observed under the UV light. The size of expected band for MiLBVV was observed on agarose gel electrophoresis. In order to determine the fungal structures of the vector fungus *Olpidium* spp. for lettuce roots were stained with trypan blue solution and examined on the fungal spore structures under a light microscope. In this study, as serological and molecular the presence of MiLBVV was revealed for the first time in lettuce production areas in Antalya province.

1. Giriş

Sebzeler, kendilerine has aroma ve tatlarının yanı sıra içerdikleri vitamin ve mineraller bakımından beslenmemizde çok önemli bir yer tutmaktadır [1].

İşlenerek ya da taze olarak tüketilmekte olan sebze türleri arasında önemli bir çeşitlilik gözlemlenmektedir [2]. Bu sebze çeşitleri arasında, anavatanı Anadolu, Kafkasya, İran ve Türkistan olarak kabul edilmekte olan marul bitkisi *Asteraceae*

familyası içerisinde yer alan ve yaprağı yenen bir bitki grubunda bulunmaktadır [3].

Ülkemizde 2021 yılı verilerine göre göbekli marul üretimi 212 091 ton, kıvırcık marul üretimi 234 048 ton ve aysberg marul üretimi 94 430 ton olmak üzere toplam marul üretimi 540 569 ton olarak tespit edilmiştir [4].

TÜİK verilerine göre; Antalya marul üretiminde Ankara, Adana ve Mersin illerinden sonra 4. sırada yer almaktadır. Türkiye'de toplam marul üretiminin %5'i Antalya'dan sağlanmaktadır. Antalya ilinin sahip olduğu toprak özellikleri ve iklim koşulları sayesinde toplam 14 669 dekar alanda; 14 640 ton kıvırcık, 4 482 ton aysberg ve 16 934 ton göbekli marul tipi üretimi gerçekleştirilmektedir [4]. Ülkemizde göbekli marul tipinin yarıya yakını Akdeniz Bölgesi tarafından karşılanmaktadır [3].

Dünyada marul üretim alanlarında, üretimi sınırlandıran çok sayıda fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmeni bulunmaktadır. Bunların içerisinde virüslerin neden olduğu hastalıklar aktif bir mücadele yönteminin olmaması nedeni ile önemli bir yer tutmaktadır [5].

Marul iri damar hastalığı ilk olarak 1934 yılında California'da tespit edilmiştir [6], daha sonra Kuwata vd.'nin yaptıkları çalışmada marulda oluşturduğu simptomdan dolayı bu virüse marul iri damar virüsü (lettuce big vein virus: LBVV) ismi verilmiştir [7]. 2000'li yıllarda ise iri damar simptomuna neden olan etmenlerin mirafiori marul iri damar virüsü (mirafiori lettuce big vein virus: MiLBVV) ile lettuce big vein virus olduğu ortaya konulmuştur [8].

MiLBVV, 3-10 nm çapında ince iplikli formdadır. Tek iplikçikli RNA genomuna sahiptir. Viral genom negatif duyarlılıkta RNA 1, RNA 2, RNA 3 ve RNA 4 ile yedi açık okuma çerçeve bölgesine sahip moleküllerden oluşmaktadır [9].

MiLBVV, *Olpidium* spp. toprak funguslarının zoosporları ile taşınmaktadır [8]. Bu virüsün bitkideki en tipik belirtisi; yapraklarda ağ görüntüsünün oluşmasıdır. Virüs, hasta bitkinin yapraklarında anormal damar büyümesi, kloroz, mozayik, deformasyon, bitki boyunda kılma, baş büyüklüğünde azalma ve baş oluşumunda gecikme gibi semptomlara neden olmaktadır. Virüsün ürün kalitesinde ve veriminde önemli azalmalara sebep olduğu bildirilmektedir [10].

Bu çalışma, ön surveyler sırasında iri damar semptomlarının gözlenmesi ve üreticilerden gelen şikayetler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Günümüze kadar Antalya ilinde bulunan marul üretim alanlarında MiLBVV'nin varlığına yönelik çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada marul üretim alanlarında MiLBVV'nin varlığı araştırılmıştır. Ayrıca virüse vektörlük yapan *Olpidium* spp'nin marul köklerinde

oluşturduğu spor yapılarının varlığı ortaya konulmuştur. Bu çalışma; bölgede marul üretim alanlarında MiLBVV'nin serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanılanması bakımından ilk çalışma niteliğindedir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Arazi çalışması ve hastalıklı bitki örneklerinin toplanması

Çalışma, 2019-2021 yılları arasında, Antalya ili Serik, Finike, Muratpaşa, Aksu ve Kaş ilçelerinde örtü altı marul üretim alanlarında sonbahar ve kış yetiştirme döneminde yürütülmüştür. Örnek alma işlemi arazide W şeklinde gezilerek gerçekleştirilmiştir [11]. Örnek alma işlemi sırasında; yapraklarda iri damar oluşumu, yapraklarda ağ görüntüsü, kloroz, mozayik, deformasyon, bodurluk ve baş oluşumunda gecikme gibi belirti gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır. Yaprak örnekleri, üreticinin ismi, bitkinin türü, örneğin alındığı yer ve tarihin yazıldığı etiket ile polietilen torbalara konulmuş ve buz kutusunda laboratuvara getirilerek -20°C de muhafaza edilmiştir. Örnek alınan ilçeler ve örnek sayıları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Aynı zamanda örneklerin toplanmış olduğu üretim alanlarından, kökte bulunan ve MiLBVV'nin taşınmasında görev alan, *Olpidium* spp.'nin incelenmesi amacı ile toprak örnekleri alınmıştır.

Tablo 1. Örnek alınan Antalya'nın ilçeleri ve toplanan örnek sayıları

İlçeler	Alınan örnek sayısı
Serik	65
Finike	59
Muratpaşa	40
Aksu	40
Kaş	36
Toplam	240

2.2. DAS-ELISA testinin uygulanması

Araziden toplanan şüpheli marul yaprak örneklerinin MiLBVV ile enfekteli olup olmadığının belirlenmesi için ilk olarak DAS-ELISA testi uygulanmıştır. ELISA çalışmalarında Loewe (Biochemica GmbH, Almanya) firmasından temin edilen kitler kullanılmış ve firmanın önerileri doğrultusunda çalışmalar yürütülmüştür. Referans olarak kitin içerisinde bulunan pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır.

2.3. Total RNA izolasyonu ve RT-PCR çalışmaları

Marul yaprak örnekleri için kullanılan DAS-ELISA testi sonucunda MiLBVV ile enfekteli olduğu belirlenen örneklerden, RT-PCR çalışmalarında kullanılmak üzere total RNA izolasyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Yaprak örneklerinden total RNA izolasyonunda Ribospin TM Total RNA izolasyon kiti kullanılmış ve

izolasyon üretici firmanın belirttiği şekilde yapılmıştır.

RT-PCR çalışmalarında, DAS-ELISA testinde absorbans değeri yüksek, pozitif sonuç veren 29 marul yaprak örneği kullanılmıştır. RT-PCR reaksiyonları tek aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir.

MiLBVV için, Navarro vd, tarafından yapılan çalışmalarda daha öncede kullanılan kılıf protein gen bölgesine spesifik 469 bp'lik bir kısmı amplifiye eden spesifik primer çifti;

(F) 5'- TATCAGCTCACATACTCCCTATCG -3'; (R) 5' CAACTAGCTCAGAATACATGCAG -3' kullanılmıştır [12].

RT-PCR çalışmalarında tek bir reaksiyon karışımı; 1 µl total RNA, 1 µl forward primer, 1.5 µl reverse primer, 10 µl master mix karışımı ve 6.5 µl ultra saf su ile 20 µl hazırlanmıştır.

RT-PCR çalışması için belirlenmiş olan en uygun sıcaklık, zaman ve döngü sayısı aşağıda verilmiştir.

- 55°C 40 dk
 - 94°C 2 dk
 - 94°C 30 sn
 - 52°C 30 sn
 - 72°C 1 dk
 - 72°C 5 dk
 - +4 °C ∞
- } 35 döngü

RT-PCR sonuçları, büyüklükleri bilinen DNA marker ile (100 bp DNA Ladder) birlikte %1'lik agaroz jel ve TBE tampon solüsyonu kullanılarak 100 V'de 1 saat süre ile elektroforetik ayırma tabi tutulmuş olup virüse özgü spesifik bantların varlığı araştırılmıştır. UV ışığı altında jelin fotoğrafları çekilmiştir.

2.4. MiLBVV'ye vektörlük yapan *Olpidium spp.*'nin bitki köklerinde belirlenmesi

MiLBVV'ye vektörlük yapan *Olpidium spp.*'nin tespiti için, MiLBVV semptomu gösteren bitkilerin kökünden yaklaşık 15-30 cm derinlikten toprak örneği alınmıştır (11). Alınan toprak örneklerine sağlıklı marul tohumları ekilerek Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, iklim odalarında marul bitkisi yetiştirilmiştir. Kontrol bitkisi olarak steril toprak ve kum karışımında yetiştirilmiş olan marul bitkileri kullanılmıştır.

MiLBVV ile bulaşık olduğu düşünülen bitki örneklerinin kökleri, bol su ile yıkanarak topraktan arındırılmış ve saf sudan geçirilmiştir. Temizlenmiş olan marul kökleri, trypan blue boya solüsyonu ile boyanmış ve ışık mikroskobunda incelenmiştir [13].

3. Bulgular

3.1. Marul üretim alanlarında yapılan survey çalışmaları

Survey çalışmaları, Antalya iline bağlı ilçelerde 2019-2021 yılları arasında sonbahar ve kış üretim sezonunda gerçekleştirilmiştir. MiLBVV'nin en tipik semptomu olan ağsı damarlanma semptomu dikkat çekmiştir (Şekil 1, Şekil 2).



Şekil 1. Marul yapraklarında iri damar semptomu



Şekil 2. Marul bitkisinde oluşan iri damar oluşumu

3.2. DAS-ELISA testi sonuçları

Antalya ilçelerinden toplanan 240 marul yaprak örneğine uygulanan DAS-ELISA testi sonucunda Kaş ilçesinden 6 ve Finike ilçesinden 38 olmak üzere toplam 44 bitki örneğinin MiLBVV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Serik, Muratpaşa ve Aksu ilçelerinden alınan örneklerde MiLBVV enfeksiyonuna rastlanılmamıştır (Tablo 2).

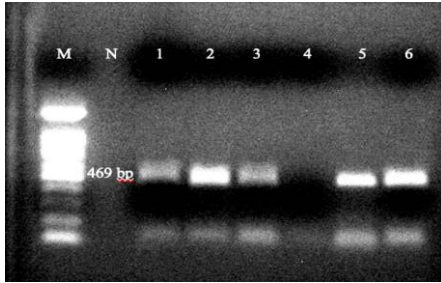
Tablo 2. Antalya ili marul üretim alanlarından toplanan ve MiLBVV ile enfekteli bulunan örnek sayısı

Örnek alınan yerler	Toplanan örnek sayısı	MiLBVV ile enfekteli örnek sayısı
Serik	65	0
Finike	59	38
Muratpaşa	40	0
Aksu	40	0
Kaş	36	6
Toplam	240	44

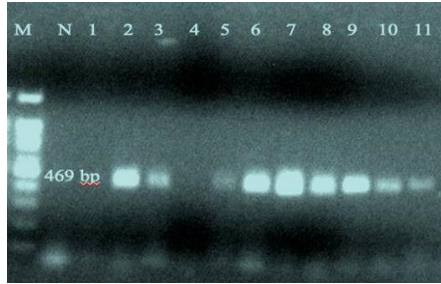
3.3. Total RNA izolasyonu ve RT-PCR çalışma sonuçları

Total RNA izolasyonu çalışmalarında; DAS-ELISA testi sonuçlarında pozitif çıkan 44 örnekten absorbans değeri yüksek olan 29 marul yaprak örneği ile kontrol olarak sağlıklı marul bitkisinin yaprakları kullanılmıştır. Elde edilen toplam RNA'lar %1'lik agaroz jelde elektroforez yöntemiyle ayrıştırılmıştır.

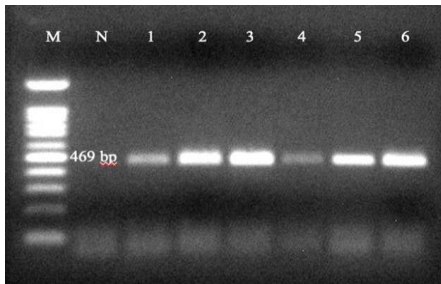
RT-PCR çalışmaları; total RNA izolasyonu sonucu elde edilen RNA'lar ile tek aşamalı olarak yürütülmüştür. RT-PCR çalışmalarında MiLBVV'nin kılıf protein (coat protein: CP) geninin 469 bp'lik bir kısmını amplifiye eden primer kullanılarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon denemelerinde optimum bağlanma sıcaklığı 52°C olarak belirlenmiştir. RT-PCR sonucunda elde edilen PCR ürünleri 100 bp'lik DNA ladder ile birlikte %1'lik agaroz jel elektroforezde ayrıştırılarak analiz yapılmıştır (Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6).



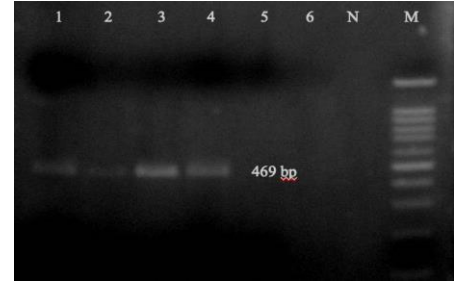
Şekil 3. Antalya ili marul örneklerinden MiLBVV Finike izolatlarının RT-PCR sonuçları. M: 100 bp DNA ladder, N: Negatif Kontrol, 1-Finike_10, 2-Finike_11, 3-Finike_12, 4-Finike_13, 5-Finike_14, 6-Finike_15



Şekil 4. Antalya ili marul örneklerinden MiLBVV Finike izolatlarının RT-PCR sonuçları. M: 100 bp DNA ladder, N: Negatif Kontrol, 1-Finike 16, 2-Finike 17, 3-Finike 18, 4-Finike 19, 5-Finike 20, 6-Finike 21



Şekil 5. Antalya ili marul örneklerinden MiLBVV Kaş izolatlarının RT-PCR sonuçları. M: 100 bp DNA ladder, N: Negatif Kontrol, 1-Kaş 1, 2-Kaş 2, 3-Kaş 3, 4-Kaş 4, 5-Kaş 5, 6-Kaş 6

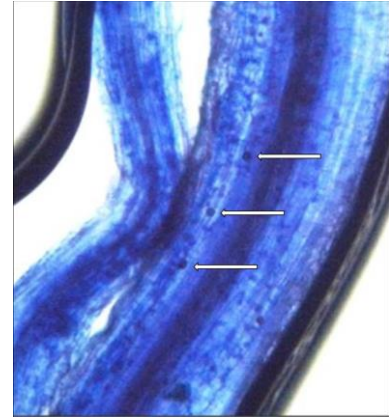


Şekil 6. Antalya ili marul örneklerinden MiLBVV Finike izolatlarının RT-PCR sonuçları. M: 100 bp DNA ladder, N: Negatif Kontrol, 1-Finike_22, 2-Finike_23, 3-Finike_24, 4-Finike_25, 5-Finike_26, 6-Finike_27

RT-PCR çalışmaları sonucunda; DAS-ELISA testi sonucunda pozitif reaksiyon veren 29 izolatin, 24 adedinin beklenen seviyede bant verdiği ve MiLBVV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Negatif kontrolde ise herhangi bir bant oluşumu gözlenmemiştir.

3.4. *Olpidium* spp.'nin bitki köklerinde incelenmesi

MiLBVV'nin vektörü olan *Olpidium* spp.'nin marul kılcal köklerinde oluşturduğu sporlar Şekil. 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7. Enfekteli marul bitkisinin köklerinde bulunan *Olpidium* spp.'nin sporları

4. Tartışma ve Sonuç

Marul bitkisi içerdiği vitamin ve mineraller sayesinde insanların hayatında önemli bir yer tutmakta olup üretimi her daim sağlanmaktadır. İnsan sağlığına önemli faydaları olmakla beraber üreticilere iç pazarda ekonomik katkı sağlamaktadır.

Antalya ilinde de var olan üretim her geçen gün artarak devamlılığını korumaktadır. Özellikle sonbahar ve kış döneminde üretim yoğun olarak gerçekleşmekte olup yaz döneminde ise rakımı yüksek olan yerlerde üretim sürdürülebilmektedir.

Viral hastalık etmenlerinin teşhisinde, gözleme dayanılarak yapılan simptomolojik çalışmaların, yapılacak serolojik ve moleküler testlerle de desteklenmesi gerekmektedir. Ancak etmenin tanısı

yapıldıktan sonra bu virüs hastalığının kontrolüne yönelik önlemler alınabilmektedir.

Araştırma kapsamına giren alanlarda surveyler sırasında marul yapraklarında kloroz, nekroz, mozayik, deformasyon, bitki boyunda kısılma, baş oluşumunda gecikme ve ağ yaprak oluşumu gözlemlenmiştir. Özellikle ağ yaprak oluşumu bu hastalık için karakteristik olup birçok araştırmacı tarafından da bu hastalık belirtileri ifade edilmiştir [14-17].

Çalışmada, DAS-ELISA yöntemi ile testlenen 240 marul yaprak örneğinin 44 adedinin MiLBVV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Testlenen örneklerde % 18.33 oranında MiLBVV enfeksiyonu saptanmıştır.

DAS-ELISA yönteminin güvenilir ve çok sayıda örneğin test edilmesi gibi avantajlarından dolayı rutin testlerde kullanılabilirliği ifade edilmektedir [18]. Farklı araştırmacılar da MiLBVV'nin tanınması çalışmalarında DAS-ELISA yönteminden yararlanmışlardır [19-21].

Yapılan bu çalışmada; DAS-ELISA testi sonuçlarına göre; Finike ilçesi üretim alanlarından toplanmış olan 59 marul yaprak örneğinin 38'i (%64.40) ve Kaş ilçesi üretim alanlarından toplanmış olan 36 örneğin 6'sı (%16.66) virüs ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Serik, Muratpaşa ve Aksu ilçelerinden alınan marul örneklerinde MiLBVV'ye rastlanılmamıştır. Ağ yaprak oluşumu semptomu sergileyen bazı yaprak örneklerinin MiLBVV'ye özgü spesifik kit ile yapılan tanılama çalışmalarında negatif sonuç vermesi; bu örneklerin LBVV ile bulaşık olabileceğini düşündürmektedir.

Roggero vd., Ertunç ve Zelyüt ile Akbaş vd. yaptıkları çalışmada virüslerin tek başına ve karışık olarak bulduklarını ve arazide benzer semptomlara neden olduklarını ortaya koymuşlardır [15, 21, 22].

Buna karşın farklı çalışmalarda MiLBVV'nin, LBVV etmeninin varlığına bağlı olmaksızın tek başına veya LBVV ile karışık enfeksiyonlarının semptomlara sebep olduğu ve marul iri damar hastalığına neden olduğunu, LBVV'nin ise tek başına marul bitkisinde bulunduğu herhangi bir semptom meydana getirmediklerini vurgulamışlardır [16, 23, 24].

Çalışmada; DAS-ELISA'da pozitif reaksiyon veren ve absorbans değeri yüksek olan 29 izolatin total RNA izolasyonu yapılmıştır. Buradan elde edilen nükleik asitler, RT-PCR çalışmalarına kaynak oluşturmuştur.

RT-PCR reaksiyonunda MiLBVV'nin kılıf protein geninin yaklaşık 469 bp'lik bir kısmını çoğaltan primerler kullanılmıştır. RT-PCR çalışmaları sonucunda 29 izolattan 24 adetinin beklenen seviyede bant verdiği ve MiLBVV ile enfekteli olduğu ortaya konulmuştur. Serolojik çalışmalarda pozitif çıkan 5

örnekten moleküler çalışmalarda beklenen seviyede bant elde edilememesi RNA izolasyonu veya virüs konsantrasyonunun düşmesi ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

Benzer şekilde çeşitli araştırmacılar tarafından da MiLBVV'nin kılıf protein geninin yaklaşık 469 bp'lik bir kısmı çoğaltılmış ve bu çalışma ile paralel sonuçlar elde edilmiştir [25, 26].

Ürdün'de 2020 yılında yapılan bir çalışmada marullarda iri damar semptomuna sebep olan etmenlerin MiLBVV ve LBVV olduğu bildirilirken, virüslerin teşhisinde RT-PCR yöntemini kullanmışlardır. Ayrıca çalışmada virüslerin taşınmasına vektörlük eden fungusun, *O. virulentus* olduğunu belirtmişlerdir [26].

Suudi Arabistan'da 2017 yılında yapılan benzer bir çalışmada da 97 marul ve 7 yabancı ot üzerinde MiLBVV ve LBVV'nin varlığını belirlemek için DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemlerini kullanmışlar ve DAS-ELISA testi sonuçlarına göre LBVV'nin enfeksiyon oranını %25, MiLBVV'nin enfeksiyon oranını %9, karışık enfeksiyon oranının ise %63 olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada ayrıca *Olpidium* spp.'nin, her iki virüsün taşınmasında etkili olduğunu vurgulamışlardır [27].

Ülkemizde marul iri damar virüsüne neden olan etmenlerin tanınması ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Ertunç ve Zelyüt, Ankara marul üretim alanlarında virüs hastalıklarının belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada da, MiLBVV ve LBVV'lerin teşhisinde DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemini kullanmışlar ve 544 marul yaprak örneğinin 39'unda MiLBVV'yi ve 6'sında LBVV'yi tespit etmişler, 5 örnekte ise karışık enfeksiyona rastlamışlardır [21].

Benzer şekilde Akbaş vd. Ankara, Konya ve Eskişehir illerinde marul üretim alanlarında virüs hastalıklarının belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada serolojik ve moleküler yöntemleri kullanarak en yaygın virüsün marul iri damar hastalığına sebep olan MiLBVV ve LBVV olduğunu vurgulamışlardır [22].

Marul bitkilerinin kılcal kökleri Phillips ve Hayman'ın belirttiği kök boyama yöntemine göre boyanarak ışık mikroskopunda incelenmiş ve fungusun spor yapıları gözlemlenmiştir [13]. Benzer şekilde spor yapılarını görüntülemek için farklı araştırmacılar tarafından da bu boyama yöntemi kullanılmıştır [28, 29].

Bu çalışma Antalya ilinde bulunan marul üretim alanlarında MiLBVV'nin varlığını ortaya koymaktadır. Ayrıca çalışmada MiLBVV'nin vektörü olan *Olpidium* spp.'nin marul köklerinde oluşturduğu spor yapıları da gözlemlenmiştir.

Gerçekleştirilen çalışma ile Antalya ilinde MiLBVV'nin varlığı serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak ilk kez tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçların ileride yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca daha sonra yapılacak çalışmalarda LBVV'nin de tanınması, MiLBVV ile ilişkilerinin ortaya konulması ve izolatların dizi analizlerinin belirlenmesi üzerine daha detaylı çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma yüksek lisans tezi olup, 2020-YL1-0094 No'lu Proje ile Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı tarafından maddi olarak desteklenmiştir. Destekleri ve katkıları için teşekkür ederiz.

Etik Beyanı

Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.

Kaynakça

- [1] Abak, K., Düzyaman, F., Şeniz, V., Gülen, H., Pekşen, A., Kaymak, H. Ç. 2010. Sebze Üretimini Geliştirme Yöntem Ve Hedefleri. Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak, Ankara, 477-492.
- [2] Erkan, S., Gümüş, M., Paylan, İ. C., Duman, İ., Ergün, M. 2013. İzmir ili ve Çevresindeki Bazı Kışlık Sebzelerde Görülen Viral Etmenlerin Saptanması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 50(3), 311-322.
- [3] Balkaya, A., Sarıbaş, Ş., Özgen, T. 2018. Türkiye'de Kışlık Sebze Türlerinin Tarımsal Üretimdeki Yeri ve Önemi. Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi, 5(20), 8-12.
- [4] TÜİK, 2021. Bitkisel üretim istatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. (Erişim Tarihi: 01.02.2022).
- [5] Moreno, A., Fereres, A. 2012. Virus Diseases in Lettuce in the Mediterranean Basin. Advances in Virus Research, 84, 247-288.
- [6] Jagger, I. C., Chandler, N. 1934. Big vein, a disease of Lettuce. Phytopathology, 24, 11.
- [7] Kuwata, S., Kubo, S., Yamashita, S., Doi, Y. 1983. Rod-Shaped Particles, a Probable Entity of Lettuce Big Vein Virus. Japanese Journal of Phytopathology, 49(2), 246-251.

- [8] Roggero, P., Lot, H., Souche, S., Lenzi, R., Milne, R. G. 2003. Occurrence of Mirafiori lettuce virus and Lettuce Big-Vein Virus in Relation to Development of Big-Vein Symptoms in Lettuce Crops. European Journal of Plant Pathology, 109(3), 261-267.
- [9] Garcia, M. L. 2012. Ophioviruses: state of the art. INTECH Open Access Publisher.
- [10] Araya, C., Peña, E., Salazar, E., Román, L., Medina, C., Mora, R., Rosales, I. M. 2011. Symptom Severity and Viral Protein or RNA Accumulation in Lettuce Affected by Big-Vein Disease. Chilean Journal of Agricultural Research, 71(1), 63.
- [11] Barnet, O. W. 1986. Surveying for plant viruses: Design and consideration in plant virus epidemics: Monitoring, modeling and predicting outbreaks. Academic Press, Sydney, Orlando, 147-166.
- [12] Navarro, J. A., Botella, F., Maruhenda, A., Sastre, P., Sánchez-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(5), 470-477.
- [13] Phillips, J. M., Hayman, D. S. 1970. Improved Procedures for Clearing Roots and Staining Parasitic and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Rapid Assessment of Infection. Transactions of the British Mycological Society, 55(1), 158-161.
- [14] Lot, H., Campbell, R. N., Souche, S., Milne, R. G., Roggero, P. 2002. Transmission by *Olpidium brassicae* of Mirafiori lettuce virus and Lettuce Big-Vein Virus, and Their Roles in Lettuce Big-Vein Etiology. Phytopathology, 92(3), 288-293.
- [15] Roggero, P., Ciuffo, M., Vaira, A. M., Accotto, G. P., Masenga, V., Milne, R. G. 2000. An Ophiovirus Isolated from Lettuce with Big-Vein Symptoms. Archives of Virology, 145(12), 2629-2642.
- [16] Sağlam, H. N., Kamberoğlu, M. A. 2019. 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.
- [17] Zelyüt, F. R., Ertunç, F. 2021. Population Genetic Analysis of Lettuce Big-Vein Disease Viruses and Their Vector Fungi *Olpidium Virulentum* in Ankara Province, Turkey. Physiological and Molecular Plant Pathology, 113.
- [18] 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(3), 475-483.

- [19] Alan, B. 2012. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilen bazı kışlık sebzelerde hastalık yapan virüslerin tanınması ve karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 134s, Adana.
- [20] Sertkaya, G. 2015. Hatay İli Marul ve Ispanak Alanlarında Bazı Virüslerin Araştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(1), 7-12.
- [21] Ertunç, F., Zelyüt, F. R. 2019. Virus Diseases of Lettuce in Ankara Province. International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences, 3(2), 202-206.
- [22] Akbaş, B., Morca, A. F., Coşkan, S. 2021. Ankara, Eskişehir ve Konya İlleri Marul Üretim Alanlarında Görülen Viral Hastalık Etmenlerinin Tespiti. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 31(2), 387-395.
- [23] Hayes, R. J., Wintermantel, W. M., Nicely, P. A., Ryder, E. J. 2006. Host Resistance to Mirafiori Lettuce Big-Vein Virus and Lettuce Big-Vein Associated Virus and Virus Sequence Diversity and Frequency in California. Plant Disease, 90(2), 233-239.
- [24] Sasaya, T., Fujii, H., Ishikawa, K., Koganezawa, H. 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(4), 464-468.
- [25] Zelyüt, F. R. 2016. Ankara İli marul ekim alanlarında görülen virüs hastalıklarının belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 51S, Ankara.
- [26] 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 of Applied Biology, 177(1), 90-100.
- [27] Umar, M., Amer, M. A., Al-Saleh, M. A., Al-Shahwan, I. M., Shakeel, M. T., Zakri, A. M., Katis, N. I. 2017. Characterization of Lettuce Big-Vein Associated Virus and Mirafiori Lettuce Big-Vein Virus Infecting Lettuce in Saudi Arabia. Archives of Virology, 162(7), 2067-2072.
- [28] Varanda, C. M., Silva, M. S., Maria do Rosário, F. F., Clara, M. I. E. 2011. Evidence of Olive Mild Mosaic Virus Transmission by *Olpidium Brassicae*. European Journal of Plant Pathology, 130(2), 165-172.
- [29] Woltjen, C. D. 2010. Responding to industry needs from the field to the greenhouse: Dieback and cankers of *Gleditsia triacanthos* var. *inermis* and characterization of an Ohio isolate of Melon necrotic spot virus and its vector, *Olpidium bornovanus*, collected from *Cucumis sativ.* (Doctoral dissertation, The Ohio State University).