ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma ŞAFAK

İSTANBUL İLİ ADALAR İLÇESİ'NDE HOBİ BAHÇELERİ VE PEYZAJ ALANLARINDA YETİŞTİRİLEN SÜS BİTKİLERİNDE TOSPOVİRÜSLERİN SAPTANMASI

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2017

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSTANBUL İLİ ADALAR İLÇESİ'NDE HOBİ BAHÇELERİ VE PEYZAJ ALANLARINDA YETİŞTİRİLEN SÜS BİTKİLERİNDE TOSPOVİRÜSLERİN SAPTANMASI

Fatma ŞAFAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu Tez 22/05/2017 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ ile Kabul Edilmiştir.

…….	…….	…….
Yard. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU	Prof. Dr.Saadettin BALOĞLU	Prof. Dr. Gülşen SERTKAYA
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2016-5997

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL İLİ ADALAR İLÇESİ'NDE HOBİ BAHÇELERİ VE PEYZAJ ALANLARINDA YETİŞTİRİLEN SÜS BİTKİLERİNDE TOSPOVİRÜSLERİN SAPTANMASI

Fatma ŞAFAK

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Yard. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU
Yıl: 2017, Sayfa: 68
Jüri : Yard. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU
: Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
: Prof. Dr. Gülşen SERTKAYA

Bu çalışma, İstanbul ili Adalar İlçesinde (Büyükada, Heybeliada, Kınalıada, Burgazada) hobi bahçeleri ve peyzaj alanlarında yetiştirilen süs bitkilerinde *Tomato Spotted Wilt Virus* (TSWV), *Iris Yellow Spot Virus* (IYSV) ve *Impatients Necrotic Spot Virus* (INSV) varlığının saptanması amacıyla, 2015 ile 2016 yılları arasında yürütülmüştür. Arazide yapılan survey çalışmalarında simptomolojik olarak şüpheli süs bitkileri ile simptom göstermeyen süs bitkilerinden doku örnekleri alınmıştır. Toplanan 150 adet süs bitkisi örneği öncelikle ELISA yöntemi ile testlenmiş ve örneklerin hiçbirinde TSWV ve INSV enfeksiyonu saptanmamıştır. IYSV ile bulaşık olduğu belirlenen örnekler ise, RT-PCR çalışmalarında kullanılmış ve IYSV-465c; IYSV-239f primer çifti ile yapılan RT-PCR çalışmaları sonucunda agaroz jel elektroforezde (%1.5'luk) 240 bp büyüklüğe sahip band gözlenmiştir. bunlardan *Pittosporum tobira ve Hydrangea macrophylla* 'nın IYSV ile bulaşık olduğu moleküler olarak ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Süs bitkileri, TSWV, INSV, IYSV, RT-PCR, ELISA

ABSTRACT

MSc THESIS

THE DETECTION OF TOSPOVIRUSES IN ORNAMENTAL PLANTS IN HOBBY GARDENS AND LANDSCAPING AREAS IN ADALAR DISTRICT OF ISTANBUL PROVINCE

Fatma ŞAFAK

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU
Year: 2017, Pages: 68
Jury : Asst. Prof. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU
: Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
: Prof. Dr. Gülşen SERTKAYA

This study was conducted in order to detect *Tomato Spotted Wilt Virus* (TSWV), *Irish Yellow Spot Virus* (IYSV) and *Impatients Necrotik Spot Virus* (INSV) in ornamental plants growing hobby gardens and landscaping areas in Adalar district (Büyükada, Heybeliada, Kınalıada and Burgazada) of Istanbul provınce between 2015 and 2016. During the surveys carried out in the field, the samples were collected from simptomatologically suspicious ornamental plants and the ornamental plants which did not show symptoms. All of the collected samples (150) were firstly tested by ELISA method and the samples were not found to be infected with TSWV and INSV. The samples were detected to be infected with IYSV by ELISA and they were used in RT-PCR studies. At the end of the RT-PCR studies using the IYSV-465c;IYSV-239f primer pair, a band with a size of 240 bp was observed in the agarose gel electrophoresis (1.5%) and bunlardan *Pittosporum tobira ve Hydrangea macrophylla* were found to be infected with IYSV molecularly.

Keywords: Ornamentals, TSWV, INSV, IYSV, RT-PCR, ELISA

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

İnsanlar, hayatları boyunca zorunlu ihtiyaçlarını karşılamışlar, aynı zamanda yaşam standartlarının artmasına paralel olarak yaşam kalitesini artırmak için kişiye göre değişen, kendilerini mutlu eden alternatif arayışlar içerisine girmişlerdir. Kentsel yaşamın artmasıyla birlikte yaşadığı ortamı daha yaşanılır bir duruma getirmek ve kendilerini mutlu etmek için yaşadığı yeri ve çevresini estetik açıdan zenginleştirmek, doğa özlemini gidermek amacıyla peyzaj düzenlemelerine yönelmişlerdir. Süs bitkilerinin büyük bir çoğunluğu, doğal yaşam alanlarında görüldüğü gibi, park ve bahçelerde de kullanılan önemli bitkisel materyallerdir. Dünya üzerinde 50'den fazla ülkede süs bitkisi üretimi yapılmaktadır.

İstanbul Adalar ilçesinde peyzaj alanlarında ve ev bahçelerinde hobi amaçlı süs bitkilerinin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Adalar; İstanbul ilinin Anadolu yakasında bulunan Türkiye'de süs bitkileri üretiminin ilk yapıldığı yer olup, 1984 yılında kültürel ekolojik ve turistik açıdan sit alanı olarak ilan edilen bir ilçemizdir. Adalar'ın tamamı,16 km² yüzölçüme sahip olup, bunun yaklaşık 542 hektarı binalarla kaplıdır. Diğer kısımlar genelde ormanlık, makilik ve kayalıktır. Büyükada, Heybeliada, Kınalıada, Burgazada da az da olsa yerleşim bulunmaktadır.

Ticari anlamda yapılan süs bitkileri yetiştiriciliği kontrollü yapıldığı ve ticari değeri olduğundan hastalık ve zararlılara karşı kontrol altında yetiştirilmektedir. Ekonomik anlamda bir beklentisi olmadan yetiştirilen süs bitkileri bilinçsiz olarak yetiştirme ihtimalinin yüksek olmasından dolayı hastalık ve zararlılara rastlama olayı daha fazladır.

Kültür bitkilerinde hastalık yapan virüs gruplarından birisi de tospovirüslerdir. Tospovirüsler, bitkilere zarar veren en yıkıcı ilk on bitki virüs hastalığı içerisinde yer almaktadır ve bunlardan, TSWV, IYSV ve INSV süs bitkilerinde en fazla rapor edilen viral etmenlerdir.

Bu çalışma, İstanbul İli Adalar ilçesinde peyzaj alanları ve hobi bahçelerinde yetiştirilen süs bitkilerinde tospovirüslerin; IYSV, TSWV ve INSV saptanması amacıyla, 2015 yılı Nisan-Ekim, 2016 yılı Mayıs-Eylül ayları arasında gerçekleştirilmiştir.

Çalışma materyalini öncelikle simptom gösteren süs bitkilerinden alınan yaprak ve genç sürgünler oluşturmuştur. Ayrıca, simptom göstermeyen bitkilerden de örneklemeler yapılmıştır. Tospovirüsler ile bulaşık olduğundan şüphelenilen bitkilerin belirlenmesi amacıyla, öncelikle simptomatolojik gözlemler yapılmış, örnek olarak alınan bitkilerde, tospovirüslerin neden olduğu, yapraklarda deformasyon, klorotik halkalı lekeler, sararma, klorotik ve nekrotik alanlar, gövde ve yaprak sapı üzerinde yağ lekeleri ve şok simptomları aranmıştır.

Toplanan bitki örnekleri etiketlenerek polietilen torbalara konulmuş ve buz kutusu içerisine yerleştirilerek laboratuvara getirilmiştir. Toplanan materyaller çalışmalarda kullanılıncaya kadar kısa bir süre için +4 ºC'de buzdolabında, uzun süreler için ise, –20 ºC'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Süs bitkilerinden alınan doku örnekleri DAS-ELISA testinde materyal olarak kullanılmıştır. ELISA testleri sonucunda, sağlıklı kontrol için 405 nm'de elde edilecek absorbans değerinin en az iki katı ve daha fazla absorbans değeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir.

DAS-ELISA testlerinde kullanılan TSWV, IYSV ve INSV'ye spesifik poliklonal antiserumlar, pozitif ve negatif kontroller AGDİA ve BIOREBA (Fransa) firmalarından ticari olarak temin edilmiştir. ELISA testleri sonucunda, enfekteli olduğu saptanan arazi örneklerinden elde edilen bitki özsuları total nükleik asit ekstraksiyonu çalışmalarında çalışma materyalini oluşturmuştur.

İki aşamadan oluşan işlemin birinci aşamasında; RT (Reverse transcription) işlemi ile cDNA'lar elde edilmiş, ikinci aşamada ise, bu cDNA'lar kullanılarak PCR yapılmıştır. RT-PCR yönteminde, total nükleik asit ekstraktları materyal olarak kullanılmıştır. RT- PCR çalışmalarında elde edilen PCR ürünleri agarose gel elektroforez çalışmalarında, materyal olarak kullanılmıştır.

İstanbul ili Adalar İlçesi'nde (Büyükada, Heybeliada, Kınalıada, Burgazada) 146 hobi bahçesi ve 4 peyzaj alanında yürütülen survey çalışmalarında, 23 familyaya ait süs bitkisinden örnekleme yapılmıştır. Büyükada'dan 80, Heybeliada'dan 50, Kınalıada'dan 15 ve Burgazada'dan 5 olmak üzere toplam 150 adet bitkiden örnek alınmıştır.

DAS-ELISA sonucunda; testlenen 150 bitki örneğinden 16 tanesinin IYSV ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte örneklerin hiçbirinde TSWV ve INSV enfeksiyonuna rastlanmamıştır. IYSV ile enfekteli olduğu saptanan 16 örnek kodlanarak RT-PCR çalışmalarında kullanılmış ve bunlardan *Pittosporum tobira ve Hydrangea macrophylla* bitkilerinde IYSV'nin varlığı moleküler olarak da saptanmıştır. Yapılan RT-PCR çalışmaları sonunda, her bir örnek için agaroz jelde görüntülenen 240 bp büyüklüğe sahip band, bunların IYSV ile bulaşık olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada, birçok bitkide verimi, görüntüyü sınırlayan ve thripsler ile etkin bir şekilde taşınan ve direkt bir mücadele yöntemi bulunmayan tospovirüslerin İstanbul ili Adalar ilçesinde survey çalışması ELISA testi ile yapılmış ve sonuçlar RT-PCR yöntemi ile desteklenmiştir. ELISA testlerinde pozitif sonuç veren örnekler kodlanarak RT-PCR çalışmalarında kullanılmış ve bunlardan *Pittosporum tobira* ve *Hydrangea macrophylla* bitkilerinde IYSV'nin varlığı moleküler olarak da tespit edilmiştir. Bu çalışma, birçok soğanlı bitkide verimi, süs bitkilerinde görüntüyü etkileyerek ekonomik kayıplara yol açan IYSV'nin varlığı konusunda İstanbul ili Adalar ilçesinde yapılan ilk araştırma sonuçlarını vermesi bakımından ayrıca bir öneme sahiptir.

Elde edilen sonuçlar, İstanbul ilinde diğer ilçelerde de yetiştiriciliği yapılan süs bitkileri ve sebzeler için hem pratikte fikir vermesi açısından faydalı olacak, hem de bilimsel açıdan bundan sonra yapılacak çalışmalara basamak teşkil ederek bir literatür eksiğini tamamlayacak niteliktedir.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın yürütülmesinde bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Muharrem Arap KAMBEROĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımı yapmış olduğum Viroloji Laboratuarında başta Sayın Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU olmak üzere, laboratuar çalışmalarımdaki yardımlarından dolayı, Ziraat Mühendisi Fatma DAŞ'a, Ziraat Mühendisi Sabire CAN'a ve Ziraat Mühendisi Ali GÜNEŞ'e teşekkür ederim.

Çalışmalarımın her aşamasında büyük bir özveri ile bana yardımcı ve destek olan Ziraat Mühendisi Havva Nur SAĞLAM'a teşekkür ederim.

Projemin yürütülmesinde çalışmalarıma maddi olanak sağlayan Ç.Ü. Araştırma Fonu Merkezine teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi yüksek lisans çalışmalarım sırasındada maddi ve manevi hiçbir desteğini esirgemeyen ve beni destekleyen ailemin tüm fertlerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET III
TEŞEKKÜR VII
İÇİNDEKİLER VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ X
ŞEKİLLER DİZİNİ XII
SİMGELER VE KISALTMALAR XIV
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 9
3. MATERYAL VE YÖNTEM 27
3.1. Materyal 27
3.1.1. Survey Alanı ve Çalışma Materyali Hakkında Bilgiler 27
3.1.2. Serolojik Çalışmalarda Kullanılan Materyal 27
3.1.4. Total RNA Ekstraksiyonu Çalışmalarında Kullanılan Materyal 27
3.1.5. RT-PCR Çalışmalarında Kullanılan Materyal 27
3.1.6. Agarose Gel Elektroforez Çalışmalarında Kullanılan Materyal 28
3.2. Metod 28
3.2.1. Arazi Gözlemleri, İnfekteli Bitki Materyallerinin Elde Edilmesi ve Muhafazası 28
3.2.2. Serolojik Çalışmalar 29
3.2.3. DAS-ELISA Testi 29
3.2.4. Total RNA Ekstraksiyonu 30
3.2.5. RT- PCR Çalışmaları 31
3.2.6. Agarose Gel Elektroforez Çalışmaları 32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 35
4.1. Survey Çalışmaları 35

4.2. ELISA Testleri..... 38
4.3. RT- PCR Çalışmaları..... 44
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 47
KAYNAKLAR..... 49
ÖZGEÇMİŞ..... 63
EKLER 64

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Türkiye çiçek üretim miktarı ve alanı 2
Çizelge 1.2. İstanbul ilçeler çiçek üretim miktarı ve alanı 3
Çizelge 1.3. Adalar Mahalleleri Nüfus Miktarı.....5
Çizelge 1.4. İstanbul Adaları'nın Yüzölçümü.....5
Çizelge 2.1. Tospovirüs cinsinde yer alan bitki virüsleri 17
Çizelge 3.1. PCR çalışmalarında kullanılan IYSV'ye spesifik primer çiftleri 28
Çizelge 4.1. Büyükada, Heybeliada, Kınalıda, Burgazada'dan Toplanan örnekler ve sayıları.....36
Çizelge 4.2. Örneklerin toplandığı yerler, bitki türleri ve alınan örnek sayıları.....37
Çizelge 4.3. ELISA testi sonucunda IYSV enfeksiyonu saptanan bitkiler.....39

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 2.1. Tospovirüslerin tripsler ile biyolojik döneme göre taşınma periyodu (Whitfield ve ark, 2005).....9

Şekil 4.1. Survey çalışması yapılan Adalar ilçesi 35

Şekil 4.2. Survey çalışmalarının yapıldığı bazı alanlardan görünümler.....38

Şekil 4.3. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Bellis perennis* bitkisinde yaprakta kabarcıklar şeklinde görülen deformasyon.....40

Şekil 4.4. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Rosa L.* bitkisinde yaprakta renk açılması 40

Şekil 4.5. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Spartium junceum L.* bitkisinin yaprağında görülen klorotik halka lekeler 41

Şekil 4.6. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Hydrangea macrophylla* bitkisinin yaprağında görülen renk açılması 41

Şekil 4.7. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Nerium oleander* bitkisi yaprağında damarlar arasında renk açılması ve damar bantlaşması ...41

Şekil 4.8. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Begonia L.* bitkisinde çiçeklerde ve yaprakta görülen saman renginde açılma.....42

Şekil 4.9. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Tagetes L.* bitkisinin yaprağında halka yapısı şeklinde görülen mozayik ve klorotik lekeler.....42

Şekil 4.10. *Pittosporum tobira* bitkisi yapraklarında görülen renk açılması, yapraklarda küçülme ve damar bantlaşması 43

Şekil 4.11. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Hosta undulata* bitkisi yaprağında kabarcıklar şeklinde deformasyon ve renk açılması.....43

Şekil 4.12. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Pelargonium spp.* bitkisi yaprağında görülen klorotik halkalı lekeler 44

Şekil 4.13. RT- PCR çalışmaları sonucunda elde edilen baz çifti uzunluğu (RT- PCR çalışmaları sonunda IYSV ile bulaşık olduğu saptanan örneklerden elde edilen 240 bp büyüklüğündeki band) 45

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADKNS	: Adrese Dayalı Nüfus Kayıt Sistemi
µl	: Microlitre
bp	: Base Pair
cDNA	: Komplementer Deoksiribonükleikasid
CMV	: *Cucumber mosaic virus*
DsMV	: *Dasheen mosaic virus*
DNA	: Deoksiribonükleikasid
dNTP	: Deoksinükleotidtrifosfat
ELISA	: Enzim Linked Immunosorbent Assay
gr	: Gram
GRSV	: *Groundnut ringspot virüs*
kDa	: Kilo Dalton
Lt	: Litre
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MMLV	: Moloney Murine Leukemia Virus
nm	: Nanometre
Pr	: Primer
RNA	: Ribonükleikasit
Rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
RT	: Reverse Trancriptase
RT-PCR	: Reverse Transcription Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TAE	: Tris Asetik Asit EDTA
Taq	: Termo Stabil Polimeraz Enzimi
W/V	: Ağırlık/Hacim

TCSV :*Tomato chlorotic spot virüs*

TSWV : *Tomato spotted wilt virus*

TYLCV : *Tomato yellow leaf curl virus*

TÜİK : Türkiye İstatistik Kurumu

INSV : *Impatients necrotic spot virüs*

IYSV : *Iris yellow spot virüs*

WSMV : *Watermelon silver mottle virus*

1. GİRİŞ

İnsanlar, hayatları boyunca yaşam kalitesini artırmak için kişiye göre değişen, kendilerini mutlu eden alternatif arayışlar içerisine girmişlerdir. Yaşam kalitesi, bireysel olarak ‘‘sağlık, mutluluk, refah’’ mekansal olarak ise, ‘‘iyi bir yer’’ tanımlarını içermektedir (Dissart ve Deller, 2000). İyi bir yer tanımlamasınının tüm öğelerini kapsayan süs bitkileri yetiştiriciliği hem insanlar için ferah bir ortam yaratma isteği uyandırmakta, hem de hobi olarak görselliği bir hayli zenginleştirerek insanlar için bir uğraş alanı oluşturmaktadır.

Peyzaj çalışmalarında kullanılan süs bitkileri üretimi ülkemizde 1940’lı yıllarda önce İstanbul’un Adalar ilçesinde başlamış, daha sonra Yalova’da gelişmeyi sürdürmüştür. Bölge çiçek üreticileri 1945 yılında bir kooperatif çatısı altında birleşmiş ve daha sonra 1955 yılında ise ikinci bir kooperatif kurularak çiçek yetiştiriciliğini çekici duruma getirmişler ve çiçekçiliğin gelişmesine büyük katkıda bulunmuşlardır. Benzer şekilde 1970 yılında İzmir’de, 1980’lerde Antalya’da, 1990’lı yıllarda Adana ve Muğla illerinde çiçekçilik organize olmaya ve gelişmeye başlamıştır.

1990’lı yıllarda illerin metropolleşmesiyle birlikte büyük sitelerin ve bireysel konutların çevre düzenlemelerinde süs bitkileri kullanım tercihi artmıştır. Türkiye’de, peyzaj çalışmalarına yönelik bitkisel materyal sektörünü, kesme çiçek, iç mekan bitkileri, dış mekan bitkileri ve doğal çiçek soğanları olmak üzere 4 grup altında toplamak mümkündür (Korkut ve ark, 1995; Titiz ve ark, 2000).

TÜİK 2016 verilerine göre, Türkiyede toplam 3.464.990.339 adet süs bitkisi üretimi yapılmakta bu üretimin 44.409.870 adeti İstanbul’da gerçekleştirilmektedir (Çizelge 1.1., Çizelge 1.2.).

Çizelge 1.1. Türkiye çiçek üretim miktarı ve alanı (TÜİK 2016a)

Grup adı	Ürün adı	Ekilen alan (m2)	Üretim (Adet)
Kesme Çiçekler	Karanfil	4.823.955	593.260.930
	Glayöl (Gladiol)	586.900	15.068.000
	Gerbera	1.136.032	128.063.850
	Gypsohilla	252.040	17.980.040
	Kasımpatı (Krizantem)	637.215	44.915.925
	Anemon (Manisa Lalesi)	10.400	1.188.000
	Lilyum (Zambak)	767.589	13.310.185
	Orkide	18.750	269.000
	Lale	413.430	40.601.005
	Gül (Kesme)	1.808.882	89.415.150
	Nergiz	415.560	13.808.850
	Lisianthus	152.864	9.521.500
	Fresia	155.989	17.820.150
	Şebboy	161.199	6.425.640
	Sümbül	44.870	1.568.350
	İris	24.650	1.038.000
	Statice	27.000	183.000
	Solidago (Altınbaşak)	127.900	18.302.500
	Diğer Kesme Çiçekler	384.012	25.256.300
Çiçek Soğanları ve Diğer Süs Bitkileri	İç Mekan Süs Bitkileri	1.312.793	38.150.927
	Çiçek Soğanları	597.305	25.337.330
	Dış Mekan Süs Bitkileri	34.721.572	412.227.915

Çizelge 1.2. İstanbul ilçeler çiçek üretim miktarı ve alanı (TÜİK 2016a)

İlçe Adı	Grup adı	Ürün adı	Ekilen alan (m2)	Üretim (Adet)
Beykoz	Çiçek Soğanları ve Diğer Süs Bitkileri	Dış Mekan Süs Bitkileri	18.640	1.658.960
	Kesme Çiçekler	Glayöl (Gladiol)	6.000	180.000
		Kasımpatı (Krizantem)	12.400	496.000
		Lilyum (Zambak)	7.750	186.000
		Orkide	3.950	15.800
		Fresia	4.500	481.500
		Şebboy	2.773	83.190
Eyüp	Kesme Çiçekler	Kasımpatı (Krizantem)	2.000	22.000
		Lilyum (Zambak)	1.800	10.800
Kartal	Kesme Çiçekler	Glayöl (Gladiol)	700	16.800
		Kasımpatı (Krizantem)	750	13.500
		Lisianthus	300	5.400
		Şebboy	300	6.000
		Diğer Kesme Çiçekler	5.000	100.000
Pendik	Çiçek Soğanları ve Diğer Süs Bitkileri	Dış Mekan Süs Bitkileri	30.000	390.000
	Kesme Çiçekler	Glayöl (Gladiol)	16.000	512.000
		Gerbera	15.000	945.000
		Gypsohilla	17.000	425.000
		Kasımpatı (Krizantem)	52.000	2.340.000
		Lilyum (Zambak)	120.000	2.880.000
		Şebboy	50.000	3.500.000
Sarıyer	Kesme Çiçekler	Karanfil	5.000	125.000
		Anemon (Manisa Lalesi)	4.000	48.000
		Lilyum (Zambak)	8.000	160.000
		Gül (Kesme)	5.000	75.000
		Lisianthus	2.000	32.000
		Fresia	1.500	37.500
		Şebboy	2.000	20.000
		Sümbül	500	500

Çizelge 1.2. Devamı

İlçe Adı	Grup Adı	Ürün Adı	Ekilen alan (m2)	Üretim (Adet)
Tuzla	Kesme Çiçekler	Karanfil	1.500	150.000
		Gerbera	5.000	600.000
		Gypsohilla	1.300	91.000
		Kasımpatı (Krizantem)	1.250	56.250
		Anemon (Manisa Lalesi)	2.400	240.000
		Lilyum (Zambak)	9.500	405.000
		Lale	1.500	112.500
		Diğer Kesme Çiçekler	1.250	25.000
Çatalca	Çiçek Soğanları ve Diğer Süs Bitkileri	Dış Mekan Süs Bitkileri	9.900	1.980.000
Silivri	Çiçek Soğanları ve Diğer Süs Bitkileri	İç Mekan Süs Bitkileri	6.000	1.440.000
		Çiçek Soğanları	6.000	270.000
		Dış Mekan Süs Bitkileri	9.000	2.160.000
	Kesme Çiçekler	Lale	6.000	270.000
		Nergiz	150	7.500
		Sümbül	6.500	690.000
		İris	650	78.000
Şile	Çiçek Soğanları ve Diğer Süs Bitkileri	Dış Mekan Süs Bitkileri	19.000	4.700.000
Çekmeköy	Çiçek Soğanları ve Diğer Süs Bitkileri	Dış Mekan Süs Bitkileri	13.300	39.900
Sancaktepe	Çiçek Soğanları ve Diğer Süs Bitkileri	Dış Mekan Süs Bitkileri	8.448	1.402.440
	Kesme Çiçekler	Orkide	3.300	29.700
		Diğer Kesme Çiçekler	8.000	56.000

Türkiye gerek konum itibari ile ve gerekse de iklimi ile birçok bitkiyi bünyesinde barındıran birçok ülkeye göre bu yönde avantajı olan bir ülkedir. Aynı şekilde bitki florası bakımından oldukça zengin ve bundan dolayı birçok doğal, kültürel süs bitkisine ev sahipliği yapmaktadır.

Çizelge 1.3. Adalar Mahalleleri Nüfus Miktarı (TÜİK 2016b)

Adalar Nüfusu		**Kişi Sayısı**
2016	İstanbul (Adalar/Adalar Bel./Burgazada Mah.)-40139	1422
	İstanbul (Adalar/Adalar Bel./Heybeliada Mah.)-40142	3757
	İstanbul (Adalar/Adalar Bel./Kınalıada Mah.)-40143	1905
	İstanbu l(Adalar/Adalar Bel./Maden Mah.)-40140	4335
	İstanbul (Adalar/Adalar Bel./Nizam Mah.)-40141	3059
	TOPLAM	**14.478**

2016 yılı ADNKS sonuçlarına göre 14.478 kişi ikamet etmektedir (Çizelge 1.2.). Yaz aylarında Nisan ve Mayıs'tan itibaren artarak, Temmuz-Ağustos aylarında Büyükada 30.000 (Sedefadası dahil), Heybeliada 20.000, Burgazada 7.000 ve Kınalıada 15.000 olmak üzere, toplam 72.000 civarına ulaşmakta, günü birlik ziyaretçilerle ilçe nüfusumuz 140.000 kişiyi bulmaktadır.

Adalar; İstanbul ilinin Anadolu yakasında bulunan Türkiye'de süs bitkileri üretimin ilk yapıldığı yer olup 1984 yılında kültürel ekolojik ve turistik açıdan Sit Alanı olarak ilan edilen bir ilçemizdir. Adalar'ın tamamı, 16 km² yüzölçüme sahiptir (Çizelge 1.3.). Bunun yaklaşık 542 hektarı binalarla kaplıdır. Diğer kısımlar genelde ormanlık, makilik ve kayalıktır. Büyükada, Heybeliada, Kınalıada, az da olsa Burgazada da yerleşim bulunmaktadır.

Çizelge 1.4. İstanbul Adaları'nın Yüzölçümü

Ada Adı	**Yüzölçümü (km^2)**
Büyükada	5,4 km^2
Heybeliada	3,24 km^2
Burgazada	2,95 km^2
Kınalıada	1,65 km^2
Diğer adalar	2,76 km^2

Adalar iklimi Karadeniz ve Akdeniz iklim özelliği gösterir. Mayıs ayında Karadeniz üzerinden geceleri meltem rüzgarları esmekte, kışın Balkan rüzgarlarının etkisi altında kalmaktadır. Bahar ve kış aylarında yağışlı havanın etkisi altında, yazlar ise kurak geçmektedir. Sonbahar, kış ve ilkbaharda lodos esmektedir. Adalar, İstanbul'un doğal zenginliğini pekiştiren jeolojik oluşumlardır. Jeolojik ve topografik yapı bakımından dördüncü zaman başlarında bir çöküntü ile Kocaeli Yarımadası'ndan ayrılmış kara parçaları olduğu kabul edilmektedir.

Adalar, dünyamızın oluşumu sırasında, Trakya/Kocaeli penepleninin yer yer alçalıp yükselmesi, bilhassa Boğazların açılıp, güney bölümünün deniz sularının altında kalması sonucu, bu peneplenin sular üzerinde kalmış parçalarıdır. Doğa, eşsiz güzellikte yarattığı İstanbul tablosunu en son ADALAR'ı renklendirerek noktalamıştır. ''Constantinople" adlı eserinde adaların oluşumunu anlatan Thomas Allom; bunu, doğanın çırpınmasıyla açıklar. Adalar, İstanbul'un güney-doğusunda gruplanmış olarak bir gerdanlık görünümünde sıralanmaktadırlar (Uzun, 1991).

Günümüzde yerli ve yabancı turistler tarafından büyük ölçüde rağbet görmektedir. Adalara sadece deniz yoluyla ulaşım bulunmaktadır. İzole bir bölge olması, kara yoluyla bağlantısının bulunmaması, bitki florası açısından zengin olması, çoğunluğunu köşklerin oluşturduğu mimari yapıya sahip olması ve şehir merkezinde bulunan binalardan farklı olarak hemen hemen her mülkün bahçesinde hobi amaçlı süs bitkileri yetiştirmeye imkan sağlayan alanların bulunması gibi özelliklerinden dolayı diğer bir çok ilçeden önemli derece de üstünlüğe sahiptir.

Birçok bitkisel üründe olduğu gibi süs bitkileri yetiştirirken de hastalık ve zararlılar enfeksiyona neden olmakta, hobi amaçlı yetiştiriliyorsa görselliği etkilemekte hatta bitkinin ölümüne neden olmakta, çevresindeki sağlıklı bitkiler için risk oluşturmakta, ticari olarak yetiştiriliyorsa bunların yanında ekonomik açıdan kayıplar da görülmektedir. Süs bitkilerinin; ticari anlamda yetiştiriciliği yapıldığı gibi, iç mekanlarda ve ev bahçelerinde ve peyzaj alanlarında hobi amaçlı ticari değeri olmayan yetiştiriciliği de yapılmaktadır. Ticari anlamda yapılan süs

bitkileri yetiştiriciliği kontrollü yapıldığı ve ticari değeri olduğundan hastalık ve zararlılara karşı kontrol altında yetiştirilmektedir. Ekonomik anlamda bir beklentisi olmadan yetiştirilen süs bitkilerinde bilinçsiz olarak yetiştirilme ihtimalinin yüksek olmasından dolayı hastalık ve zararlılara rastlama olayı daha fazladır. Bu tip bitkilerin hastalıklar ve zararlılar için konukçu olma ihtimali daha fazla yüksektir.

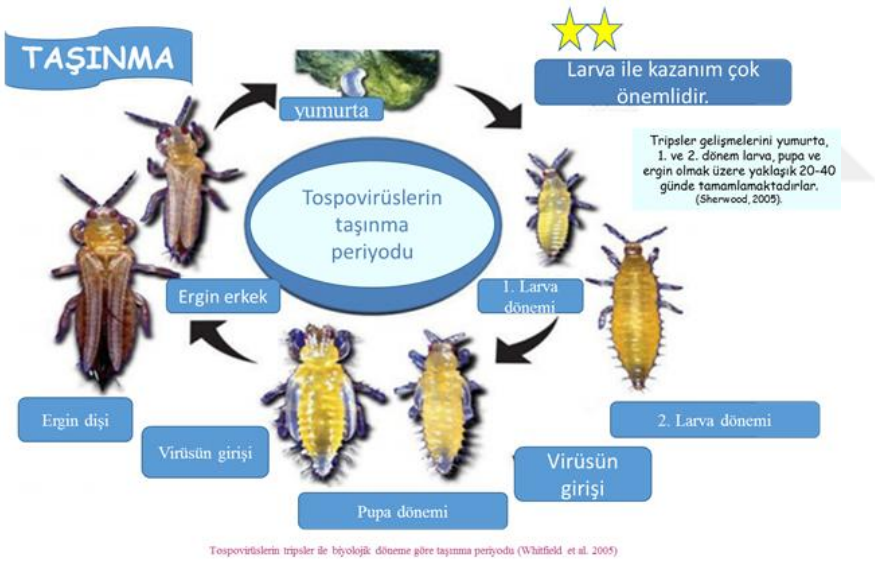
Kültür bitkilerinde hastalık yapan virüs gruplarından birisi de tospovirüslerdir. Tospovirüsler, bitkilere zarar veren en yıkıcı ilk on bitki virüsleri içerisinde bulunmaktadır (German ve ark, 1992). TSWV, nükleotid dizisi ve serolojik özelliklerine göre, TSWV (type species), *Impatients necrotic spot virüs* (INSV), *Tomato chlorotic spot virüs* (TCSV), *Groundnut ringspot virüs* (GRSV), IYSV ve *Watermelon silver mottle virüs* (WSMoV) olmak üzere altı türe ayrılmıştır (Mumford ve ark, 1996). 20 tospovirüs türünün dünya çapında Thripidae takımına ait 14 trips türü ile taşındığı tespit edilmiştir (Ullman ve ark, 1997; Jones, 2005; Pappu ve ark, 2009; Ciuffo ve ark, 2010; Hassani-Mehraban ve ark, 2010). Tospovirüs simptomları bitkinin çeşidine, gelişim aşamasına ve çevresel faktörlere göre farklılık gösterir. Tospovirüs simptomları yapısal bozukluklarla karıştırılabilir. Kahve veya siyah-beyaz beneklenmeler, petiol üzerinde nekrozlar, sarı leke veya renk değişimi, genç bitkilerde terminal meristem ölümü, bodurluk, gövdede kaverengi veya siyah çürüklük, yoğun halka lekeler, mozaikleşme, düz veya desenli leke simptomlarından bir veya birkaçı görüldüğü zaman tospovirüs varlığından söz etmek mümkündür.

Bu çalışma, özellikle refah seviyesinin yüksek olmasından dolayı peyzaj düzenlemelerine, yetiştirdikleri bitkilerin görünümüne ve sağlığına büyük önem veren kişilerin ikamet ettiği ve Türkiye'de ticari anlamda süs bitkileri yetiştiriciliğinin başlangıç yeri olan Adalar ilçesi'nde mevcut ev bahçelerinde hobi amaçlı yetiştirilen süs bitkileri ile park ve peyzaj alanlarında bulunan süs bitkilerinde tospovirüslerin (INSV, IYSV ve TSWV) saptanması ve karakterizasyonu amacıyla yürütülmüştür.

Böylece, etrafı sularla çevrili olan ve anakara ile sadece deniz bağlantısı bulunan izole Adalar ilçesi gibi bir bölgede, özellikle Yalova ili'nden satın alınarak veya yurt dışından getirilerek peyzaj düzenlemelerinde kullanılan ve çeşitliliğin fazla olduğu bitkilerle kurulan hobi bahçeleri ve peyzaj alanlarında mevcut tospovirüslerin durumu ortaya konulmuştur.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

***Tomato Spotted Wild Virus* (TSWV):** TSWV, Bunyaviridae familyası dahil, Tospovirüs cinsinin bir üyesidir (Prins and Goldbach, 1998). TSWV'nin; *Thrips tabaci*, *T. setosus*, *T. palmi*, *Frankliniella occidentalis*, *F. fusca*, *F. intonsa*, *F. schultzei* ve *Scirtothrips dorsalis* turleri ile etkin olarak taşınabildiği bildirilmektedir (Rosello ve ark, 1996). Ülkemizde TSWV'nin yayılmasında etkili olan iki onemli vektör, *Frankliniella occidentalis* ve *Thrips tabaci* olup tarla ve sera ürünlerinde hastalığın yayılmasına neden olmaktadır (Lodos, 1982; Tunç, 1985; Tunç ve Göçmen, 1995; Coutts ve Jones, 2003). TSWV thripsler tarafından persistent propagative olarak taşınmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Tospovirüslerin tripsler ile biyolojik döneme göre taşınma periyodu (Whitfield ve ark, 2005)

TSWV ekonomik kayba neden olan ilk on bitki virüsleri arasında yer almaktadır (Peters, 2003). Bu viral etmenin dünya çapında yılda 1 milyar dolar üzerinde kayıp verdiği tahmin edilmektedir (Prins ve Goldbach, 1998).

TSWV izometrik yapıda olup, genişligi 85-120 nm'dir. Virionlar, %5 nükleik asit, %70 protein, %20 lipit ve %5 karbonhidrat içermektedir. Genom 3 farklı (S RNA; 2.9 kb, M RNA; 4.9 kb ve L RNA; 8.9 kb), (-) sens ve ambisens ssRNA molekülünden oluşmaktadır (Adkins, 2000). Tek iplikli linear yapıda RNA moleküllerinin etrafını TSWV partikülündeki membran ve protein kılıf sarmaktadır.

Genomik nükleik asitleri, izole edilmiş ve temel bileşiminde %16.2 G, %31.6 A, %19.3 C ve %32.9 U bazı bulunduğu tespit edilmiştir (Haan ve ark, 1990).

Monokotiledon ve dikotiledon 80 familyaya ait 1.090 bitki türü, TSWV'nin konukçusu durumundadır (Parrella ve ark, 2003). Bulaşma materyali olarak "tohum hariç domates, biber, kereviz, kavun, camgüzeli, patlıcan, marul, yerfıstığı ve tütün fideleri ve patates üretim materyalleri" gösterilmektedir (Anonim, 2007).

Asteraceae, Fabaceae ve Solanaceae familyalarından ise 100'den fazla tür TSWV konukçusu olarak tespit edilmiştir. Dünyada en fazla zarar oluşturduğu bitki türleri arasında domates, biber, marul, tütün, yer fıstığı ve bazı süs bitkileri yer almaktadır. Süs bitkilerinden konukçusu olan cinsler *Alstroemeria*, *Anemone*, *Antirrhinum*, *Araceae*, *Aster*, *Begonia*, *Bouvardia*, *Calceolaria*, *Callistephus*, *Celosia*, *Cestrum*, *Columnea*, *Cyclamen*, *Dahlia*, *Dendranthema* x *grandiflorum*, *Eustoma*, *Fatsia japonica*, *Gazania*, *Gerbera*, *Gladiolus*, *Hydrangea*, *Impatiens*, *Iris*, *Kalanchoe*, *Leucanthemum*, *Limonium*, *Pelargonium*, *Ranunculus*, *Saintpaulia*, *Senecio cruentus*, *Sinningia*, *Tagetes*, *Verbena*, *Vinca* ve *Zinni'*dir. Yabancı otlardan *Amaranthus* spp., *Conyza bonariensis*, *Galinsoga* spp., *Polygonum lapathifolium*, *Portulaca oleracea*, *Senecio vulgaris*, *Solanum nigrum*, *Sonchus* spp., *Stellaria media*, *Taraxacum officinale* gibi türler TSWV'nin konukçusudur (EPPO, 1999)

Bodurluk, nekroz, kloroz, bronzlaşma, kırmızı lekeler ve çizgiler gibi simptomlara sebep olmaktadır (Adkins, 2000).

Hastalık ilk olarak 1915'lerde Avusturalya'nın güney bölgelerinde Brittland tarafından domates bitkisi üzerinde rapor edilmiştir. Samuel ve ark (1930), patojen karakterizasyon çalışmalarında etmenin virüs olduğu belirlenmiştir. Virüsün diğer Avrupa ülkelerine dağılımı 1987'den itibaren başlamış, Hollanda (Stijger v ve ark, 1989); Fransa (Gebre-Selassie ve ark, 1989); İngiltere (Barker, 1989); İtalya (Bellardi ve Vicchi, 1990) ve İspanya (Jorda ve Osca, 1991) tespit edilmiştir.

Whipker (2014) tarafından yapılan çalışmada, zambak bitkisinde yapraklarda sarı halkalı leke, beneklenme, nekrotik leke simptomları görülmüş ve TSWV varlığı rapor edilmiştir.

Gerbera sp. bitkisinde TSWV-G izolatında nükleoprotein N geni ile ilgili viral genom fragmentleri RT-PCR testi ile araştırılmıştır. Elde edilen cDNA purifiye edilmiş, klonlanmış ve sekanslanmıştır. Üç purifikasyon yöntemi uygulanmış ve ilk prosedürün klonlama için çok uygun olduğu bildirilmiştir. Purifiye edilen PCR ürünleri pBluesscript klonlama vektörü ile ligasyona tabi tutulup elektroporasyonla *Escheria coli* vektörü içerisine aktarılmıştır. Analiz edilen DNA sekansları TSWV izolatlarının N-geni için yayınlanan izolatlar ile arasında % 97-99 oranında yüksek düzeyde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak; viral genomun N-genini tanımlayan ve seçilen fragmentlerin TSWV-grubu için karakterize edilen G izolatına ait olduğu bildirilmiştir (Korbin ve ark, 2002).

2009 yılında Sırbistan Vranjska Banja bölgesinde yapılan çalışmada serada yetiştirilen *Gerbera hybrida* bitkisinde yapraklarda deformasyon, nekroz ve klorotik lokal leke simptomlarınının görüldüğü hastalıktan dolayı %30 ürün kayıpları olduğu bildirilmiştir. ELISA sonucunda, 20 *Gerbera* sp. bitkisinin 18'nde TSWV saptanmış, RT-PCR çalışmaları ile doğrulanmıştır. Bu çalışma Sırbistan'da TSWV'nün süs bitkisi konukçusu olan gerberadaki bulunuşun ilk raporudur (Stankovic ve ark, 2011).

Salzburg bölgesinde *Capsicum annuum* ve *Gerbera* sp. bitkileri üzerinde TSWV'nin varlığı PCR testleri tespit edilmiştir (EPPO, 2015).

Bosna Hersek'te 2012 yılında, bardak menekşesi üzerine yapılan çalışmada bitkiler üzerinde klorotik halka noktalar, nekrotik desenler, yaprak nekroz ve deformasyon simptomları görülmüş, öncelikle DAS-ELISA ile testlenmiş ve ardından RT-PCR çalışması yapılmış sonuç olarak bardak menekşesi üzerinde TSWV tespit edilmiştir (EPPO**,** 2013).

Hippeastrum hybridum bitkisinde biyolojik, serolojik, moleküler karakterizasyonu üzerine yapılan çalışmada; H1 ve H2 TSWV izolatları, çalışmada kullanılmıştır. H1 virüs izolatında şiddetli nekrotik lekeler ve desenler, H2 izolatında ise hafif mozaik belirtiler görülmüştür. Her iki izolatta da otsu indikatör bitkiler üzerinde yapılan çalışmada benzer simptomlara neden olduğu, fakat nükleotid dizilişleri S ve M ssRNAs bölümlerinin farklı olduğu belirtilmiştir. Nükleotid dizileri kodlayan nükleokapsid (N) ve yapısal olmayan (NSS ve Nm) proteinleri, sırasıyla %98.2 , %97.5 ve %96.5 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Nm ORF analiz edildiğinde, test edilen izolatların ayrı bir küme oluşturduğu: H1 izolatnının, krizantem ve biber bitkilerinde; buna karşılık H2 izolatının tatlı biber ve domateste görülen virüs izolatlarına daha yakın olduğu görülmüştür. Sonuç olarak her iki izolatta iki yada daha fazla benzer virüsten elde edilen genetik materyal arasındaki farklı izolatlar TSWV'nin iki değişik genetik modelini temsil ettiği bildirilmiştir (Berniak, 2016).

ABD'nin Virginia eyaletinde 2014 yılında yapılan çalışmada, TSWV'nin varlığı odunsu bitkilerde ilk olarak *Pittosporum tobira* bitkisinde rapor edilmiştir. Bu çalışma ile ticari olarak virüsün konukçu aralığının genişlemiş olduğu tespit edilmiştir (Liu ve ark, 2016).

Finlandiya'da 2010 yılında, *Osteospermum* ve saksı bitkileri üzerine üretim yapılan 50 farklı yerde TSWV'nin varlığı DAS-ELISA ile tespit edilmiştir **(**EPPO, 2011**).**

TSWV'nin, Polonyada açık alanda yetiştirilen domates ve tütünde 1950 yılından beri varlığı bilnmektedir (Zawirska ve ark, 1983). TSWV'nin *Frankiniella occidentalis* ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kaminska, 1992; Kaminsk & Korbin 1994). TSWV'nin yoğun olarak görüldüğü bitkiler domates, tatlı biber, gerbera ve krizantemdir (Kaminska, 1992). Son on yılda süs bitkilerinde yoğun olarak varlığı görülmektedir. 2012 yılından itibaren her geçen yıl Polonya'da TSWV simptomlarının hızla arttığı görülmektedir (Berniak, 2014). 1990 larda süs bitkileri üzerine yapılan çalışmada TSWV varlığını doğruladı, bitkilerde düzensiz büyümeler görülmüştür (Kaminska, 1992). Polonyada yapılan çalışmada virüs biyo- indeksleme sonuçlarına ve enfekte bitki özsuyu in vitro özelliklerinde göre karakterize edilmiştir, diğer özellikleri ve karekteristikleri üzerine herhangi bir rapor bulunmamaktadır.

2005 yılında İspanya'da soğan üretim alanlarında yapılmış olan çalışmada, TSWV, *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) ve *Leek yellow stripe virus* (LYSV) türleri tespit edilmiştir (Cordoba-Selles ve ark, 2007).

2006 yılında Ürdün'de domates yetiştirilen birçok arazide TSWV belirtilerine ilk defa rastlanmıştır. RT-PCR ve IC-RT-PCR (Immunocapture reverse transcriptase PCR) ve spesifik primerler ile izole edilen TSWV izolatının diğer ülke izolatlarıyla büyük ölçüde nükleotidlerinin benzerlik gösterdiği görülmüştür. Daha önceden *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) 'e dayanıklı olarak geliştirilen farklı hibridlerin TSWV'ye reaksiyonları araştırıldığında, test edilen bütün hibritlerin virüse hassas olduğu ve TSWV dayanıklılık geni *Sw*-5 ile ilişkili SCAR 421 markırları kullanılarak moleküler düzeydeki bu duyarlılığı doğrulamıştır (Anfoka ve ark, 2006).

İran'ın Razavi Bölgesi domates tarlalarında TSWV'nin araştırılması için toplanan örneklerde TSWV serolojik ve moleküler testlerle tespit edilmiştir (Shoushtari ve ark, 2013).

2016 yılında yıkıcı hastalığa neden olan TSWV'nin, Çin'de değişik konukçuları enfekte ettiği rapor edilmiştir. 3 yeni izolat için farklı uzunluklardaki

genomlar (L, M ve S segmentler) RT-PCR'da kullanılmıştır. Tanımlamada nükleotid ve amino asit dizileri DNAMAN tarafından analiz edilmiştir. MEGA 5.0 filogenetik ağaçlarda kullanılmıştır. RDP4, izolatların evrimi sırasında rekombinasyon olaylarını belirlemek için kullanılmıştır. 3 yeni izolatın genom dizileri Çin'de belirlenmiştir. Bununla birlikte diğer mevcut izolatlar, 29 RNA L, 62 RNA S ve 66 RNA S TSWV izolatları moleküler çeşitlilik için analiz edilmiştir. Bu analiz TSWV genomu üzerinde, özellikle m ve s RNA, A-U üzerinde büyük farklılıklar olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark, 2016). Aynı araştırıcılar, TSWV'nin Avustralya'dan sonra Avrupa, Afrika, Kuzey Amerika, ve Güney Amerika'da yayıldığını bildirmişlerdir.

TSWV'nin ülkemizde varlığı ilk olarak Tekinel ve ark. (1969) tarafından marul bitkilerinde rapor edildikten sonra, farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda çeşitli bitki türlerinde bildirilmiştir. Güldür ve ark (1995) Türkiye'de sera altında sebze yetiştiriciliğinin yapıldığı en önemli bölgelerden biri olan Kazanlı-Mersin yöresinde domates bitkilerinde yaptıkları çalışmada TSWV'nin varlığını rapor etmişlerdir.

Kamberoğlu ve ark (2005), TSWV varlığının tespiti için Mersin'de yapılan survey çalışmasında; sararma, mozaik, nekrotik lekeler ve cücelik simptomlarını gösteren veya simptomsuz olan 18 adet *Ranunculus arvensis* L. ve 20 adet *Ranunculus muricatus L*. bitkisi toplanmıştır. Bu bitki türleri üzerinde, TSWV'nin vektörü olan batı çiçek thripsi (*Frankliniella occidentalis* (Pergande)) görsel olarak tanımlamıştır. Yapılan ELISA testleri sonucunda, toplanan ***R. arvensis*** L. bitkisinden 2 tanesinin (%11.1) ve ***R. muricatus*** L. bitkisinden 4 tanesinin (%20) TSWV ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Bu çalışma ile Türkiye'de ilk defa domates lekeli solgunluk virüsünün ***R. arvensis*** and ***R. muricatus*** üzerinde doğal enfeksiyonu tespit edilmiştir.

Arlı-Sökmen ve ark (2005), Samsun ilinde biber yetiştiriciliği yapılan alanlarda birçok virüs hastalığının varlığını rapor etmişlerdir. 1998 ve 1999 yılları arasında ELISA ile testlenmiş ve virüslerin teşhisi yapılmıştır.

Öztürk (2007), Doğu Akdeniz bölgesinde Osmaniye, Adana, Mersin ve Kahramanmaraş illerinde yerfıstığında biyolojik ve serolojik yöntemler kullanarak yaptıkları çalışmada 2 örnekte pozitif sonuç aldıklarını bildirmişlerdir.

Değirmenci ve Uzunoğulları (2007), 2003 ve 2004 yıllarında Marmara bölgesinde (Bursa, Bilecik, Sakarya ve Tekirdağ) domates alanlarında TSWV ile bulaşık olduğunu saptamışlardır.

Küçük (2006), 2005- 2006 yılları arasında yürüttüğü çalışmada, Adana ve Mersin illerinde yetiştirilen domates ve biberlerde zararlı Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün saflaştırılması, biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler ile tanısının yapılması amacıyla, virüslü olduğundan şüphenilen bitkileri, öncelikle ELISA yöntemi ile testlemiş ve toplanan örneklerde hastalık oranını % 45 olarak hesaplamıştır. TSWV ile enfekteli test bitkilerinden total RNA ekstraksiyonu yapılarak, RT- PCR yönteminde kullanılmış ve PCR ürünleri agarose jel elektroforez ile testlenip beklenen band büyüklükleri gözlenmiştir.

Şevik ve Arlı-Sökmen (2007), 2004 yılında yaptıkları çalışmada, 2100 m ^{2}'lik bir alana 4.080 domates bitkisi dikmişler, TSWV ile bulaşık bitkileri haftalık olarak izlemişler ve vektör populasyonu ile ilişkisini araştırmışlardır. Bu amaçla, 15 adet domates bitkisi, TSWV- domates izolatı ile inokule edilmiş, inokulum kaynağı olarak bu enfekteli bitkiler 15 gün ara ile yenileriyle değiştirilmiş virüs konsantrasyonunun yüksek seviyede tutulması sürekliliği sağlanmıştır. 240 bitkiden örnek alınmış ve DAS- ELISA yöntemi ile testlenmiştir. Aynı zamanda araziye yerleştirdikleri tuzaklardaki thrips türlerinin populasyonundaki değişiklikler haftalık olarak takip edilmiştir. Yaptıkları çalışmada deneme alanında *Frankliniella intonsa, Trybom* ve *Thrips tabaci* Lindeman türü thripsleri tespit etmişler. Bu çalışmada domatesten izole edilen TSWV- Samsun izolatının domates ve tütünden tekrar domatese *T. tabaci* bireyleri ile taşınabilirliği biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemlerle belirlenmiştir.

Kamberoğlu ve ark (2009), Adana ve Mersin illerinde patlıcan bitkisinde yaptıkları çalışmada ELİSA testi sonucu TSWV'yi tespit etmişlerdir.

Yardımcı ve Çulal-Kılıç (2009), domates, biber, patates, marul, kabak ve hıyar yetiştirilen alanlarda survey çalışmaları yürütmüşler TSWV enfeksiyonunun biber, marul, domates ve kabakta sırası ile % 66.1, % 66.6, % 46.9 ve % 16.6 oranlarında olduğunu belirlemişlerdir.

Bozdoğan (2009), Antalya'da domates, biber ve marul alanlarında TSWV'nin saptanması ve yaygınlığının ortaya koyulması için yapmış olduğu çalışmada RT-PCR ile TSWV enfeksiyonu teyit edilmiştir.

Özdemir ve ark (2009), 2005-2006 yılları arasında Denizli'de serada yetiştirilen domateslerde ve bazı yabancı otlarda TSWV'nin tespiti amacıyla yürüttükleri çalışmada test edilen 10 yabancı ottan 7 sinin, 71 yaprak örneğinden 43'ünün TSWV ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir.

Kibar (2014), Yalova ili örtüaltı kesme çiçek türlerinden *Anthurium andreanum*, bazı orkide (*Cymbidium sp*.), gül (*Rosa spp*.) ve gerbera bitkilerinin yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlarda *Dasheen mosaic virus* (DsMV), TSWV ve *Cucumber mosaic virus* (CMV) hastalıklarını saptamak amacıyla, 2013 yılı Ekim ve Kasım aylarında 11 farklı örtüaltı üretim alanında çalışma gerçekleştirmiştir. Çalışma esnasında sistemik, mozayik, sarılık, klorotik ve nekrotik lekeler ile yaprak ve çiçeklerde deformasyon simptomları sergileyen *Anthurium andreanum*, bazı orkide, gül ve gerbera bitkilerinden toplam 150 yaprak örneği toplamıştır. DAS-ELISA serolojik testinin uygulandığı örneklerde TSWV, DsMV ve CMV hastalıklarının varlığı araştırılmıştır. DAS-ELISA testi sonuçlarına göre 150 yaprak örneğinden 4 adedinin *Dasheen mosaic virus* (DsMV) ile enfekteli olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda 2 adet *Anthurium andreanum'da* (Flamingo çiçeği) ve 2 adet orkide (*Cymbidium* spp.) bitkisinde saptanan DsMV hastalığının varlığını, Türkiye'de ilk defa bu çalışma ile rapor etmiştir. Ancak Yalova kesme çiçek seralarında TSWV ve CMV virüslerini tespit etmemiştir.

TSWV haricinde bitkilerde enfeksiyona ve kayıplara neden olan tospovirüs cinsinin 14 üyesi bulunmaktadır (Çizelge 2.1.)

Çizelge 2.1. Tospovirüs cinsinde yer alan bitki virüsleri

No	Virüsün Adı		Kısaltması
1	Domates lekeli solgunluk virüsü	*Tomato Spotted wilt virus*	TSWV
2	Impatiens nekrotik leke virüsü	*Impatiens necrotic spot virus*	INSV
3	Karpuz gümüşi mozayik virüsü	*Watermelon silver mottle virüs*	WSMV
4	Karpuz tomurcuk nekroz virüsü	*Watermelon bud necrosis virüs*	WBNV
5	Kavun sarı leke virüsü	*Watermelon yellowspot virüs*	MYSV
6	Domates klorotik leke virüsü	*Tomato chlorotic spot virüs*	TCSV
7	Biber kloroz virüsü	*Capsicum chlorosis virüs*	CaCV
8	Kabak öldürücü kloroz virüsü	*Zucchini lethal chlorosis virus*	ZLCV
9	Yerfıstığı halkalı leke virüsü	*Groundnut ring spot virus*	GRSV
10	Yerfıstığı tomurcuk nekroz virüsü	*Peanut bud necrosis virüs*	PBNV
11	Yerfıstığı klorotik virüsü	*Peanut chlorotic fan virüs*	PCFV
12	Yerfıstığı sarı leke virüsü	*Peanut yellow spot virıs*	PYSV
13	Süsen sarı leke virüsü	*Iris yellow spot virüs*	IYSV
14	Krizantem gövde nekroz virüsü	*Chrysanthemum stem necrosis virus*	CSNV
15	Fenerotu şiddetli benek virüsü	*Physalis severe mottle virus*	PSMV

***Iris yellow spot virus* (IYSV):** IYSV, (Bunyaviridae; Tospovirus)'ün birçok izolatı *T. tabaci* (Takım: Thysanoptera, Familya: Thripidae) ile taşımaktadır (Cortes ve ark, 1998). Ayrıca, *Frankliniella fusca* ve *Thrips tabaci* IYSV'nin vektörleridir (Srinivasan ve ark, 2012). *F. occidentalis* birçok tospovirüsü taşımasına rağmen, IYSV'yi taşımamaktadır (Nagata ve ark, 1999).

IYSV, 80-120 nm pleomorfik parçacıklar olup; virionlar RNA ve proteinlerden, karbonhidrattan ve lipitlerden oluşmaktadır. Nükleokapsid proteini elde etmiş ve daha sonra sezyum sülfat gradyanına uygulanmış ve ekstre edilmiştir.

Viral (v) RNA; elektroforezde, S (2.9 kb), M (4.8 kb) ve L (8.9 kb) olduğu gözlenmiştir. Patojenin temel patojen özelliklerini anlamak için, virüsün genom dizisine bakılmıştır. Diğer tospovirüsler gibi IYSV, büyük (L), orta (M) ve küçük (S) tek sarmallı RNA molekülleri olmak üzere üç segmentli RNA'dan oluşur. RNA'lar negatif (L) veya ambisense (M & S) kodlama içermektedir (Cortes ve ark, 1998).

L RNA 880 nükleotid uzunluğundadır ve viral tamamlayıcı (vc) iplikçikte 8,621 nt'lık tek bir açık okuma çerçevesi içermektedir. ORF, 2.873 aminoasitten oluşan ve 331.17 kDa'lık bir molekül ağırlığı tahmin eden bir proteini kodlar ve bilinen tospovirüslerin L RNA'ları tarafından kodlanan viral RNA'ya bağımlı RNA polimerazın (RdRp) özelliklerinin çoğunu paylaşır. IYSV L RNA'nın (vc) 5 've 3' sırasıyla 33 ve 226 nükleotidlik iki çevrilmemiş bölge içermekte ve her ikisi terminalleri, RNA'lar, tospovirüs genomiklerinin ortak özelliği olan terminal nükleotidleri bulundurmaktadır (Bag ve ark, 2010). M RNA, 4.821 nükleotid uzunluğundadır, iki ORF, bir ambisense aranjman, 935 nükleotidten daha küçük ORF, vsense ipliğinin 5' ucunda bulunur. Muhtemelen potansiyel olarak yapısal olmayan bir hareket proteini olan 34.7 kDa'lık bir molekül kütlesi, 311 aminoasit proteini kodlar. İkinci ORF, glikoprotein öncüsü (Gn / Gc), vc-anlamındadır ve potansiyel olarak 128.84 kDa'lık 1.136 aminoasit proteinini kodlayan 3.410 nt uzunluğundadır. İki açık okuma çerçevesi 380 nükleotid intergenik bölge ile ayrılır (Bag ve ark, 2009; Cortes ve ark., 2002). IYSV'nin S RNA kısmı 3,105 nükleotiddir (Cortes ve ark, 1998), ambisense düzenlemesinde çakışmayan iki ORF'yi kodlar. Viral anlamdaki ORF, potansiyel olarak 50.1 kDa yapısal olmayan proteini (NSs) kodlayan 1.329 nt uzunluğundadır ve vC-anlamda 816 nt uzunluğundaki ikinci ORF ve potansiyel olarak 30.5 kDa'lık nükleo protein kodlar (Cortes ve ark, 1998). Her üç RNA da diğer tospovirüslerin bazı benzer özelliklerini paylaştığını belirtmişlerdir.

IYSV, ilk kez 1981 yılında Brezilya'da soğanlar üzerinde tanımlanmıştır (Pozzer ve ark., 1999), 1989'da ise, Amerika'da varlığı onaylanmıştır (Hall ve ark.,

1993). Daha sonra Hollanda'da pırasa (*A. porrum)* ve iris (*Iris hollandica*) 'den izolayon karakterizasyonu çalışmaları sonucunda IYSV türü olarak belirlenmiştir.

Srinivasan ve ark (2012), *Frankliniella fusca'*nın IYSV'yi serada deney koşulları altında sınırlı bir oranda da taşıdığını bildirmiştir. Diğer böcek zararlılarıyla karşılaştırıldığında, *Thrips tabaci'nin* geniş bir konukçu dizisi bulunduğu bildirilmiştir. IYSV'nin tohum ve soğanlarla taşındığı hakkında herhangi bir rapor bulunmamaktadır (Kritzman ve ark, 2001; Robene-Soutrde ve ark, 2006), ancak yakın zamanda Weilner ve Bedlan (2013), soğanlarda sadece ELISA ile IYSV'yi saptamışlardır.

Bag (2013), soğan bitkilerinin IYSV enfeksiyonu çok çeşitli belirtiler gösterdiğini, başlangıçta, karakteristik sarı-saman renkli klorotik veya nekrotik lezyonlar görüldüğünü, lezyonların genellikle uzun veya iş mili şeklinde olduğunu bildirmiştir. Bunlar, enfekte olmuş bitkilerin orta-alt bölümlerinde görülmektedir. Hastalık geliştikçe ve bitkiler büyüdükçe, lezyonlar uzar ve yaprakları ve sapları tamamen kaplayarak bir araya getirdiğini, genellikle lezyonların merkezinde elmas halka yapısı veren ve genellikle IYSV için tanı simptomu olarak düşünülen yeşil doku oluştuğunu gözlemlemiştir. Bazı durumlarda, tohum başının enfeksiyon noktasında şiştiğini, belirtilerin virüs ve vektör beslemenin kombinasyonundan kaynaklandığını bildirmiştir.

Beslenme sonucunda, hücresel içeriğin bozulmasından dolayı gümüşi yaprak lekeleri oluşmakta ve daha sonra bu lekelerin beyaza dönererek yaprakların kıvrılmasına neden olur (Bailey, 1938). Bu daha sonra bitkilerin fotosentez kabiliyetini azaltır. Besin taşınmasını engelleyebilecek, klorofil açısından zengin alanın azalmasına neden olur (Molenaar, 1984). Azalan soğan ebadı ve ağırlığının yanı sıra (Diaz-Montano ve ark, 2010; Fournier ve ark, 1995; Kendall ve Capinera 1987; Rueda ve ark, 2007). *Allium sativum '*da, düzensiz dairesel lekeler olan kloroz (Bag ve ark, 2009) ve diğer allium konukçularında benzer belirtiler görülürken, yabancı otlarda marjinal kloroz, nekroz, çizgi oluşumu ve mora benzer renk değişimi görülmüştür (Evans ve ark, 2009). Çeşitli indikatör gruplarında

hastalık çoğunlukla klorotik halka simptomu geliştirmiş, klorotik lokal lezyonlar ve nekrotik lekeler birleşerek enfekte olmuş yapraklarda erken yaşlanmaya neden olmuştur.

Virüs çoğunlukla konukçusuna göre lokalizedir, ancak *Nicotiana benthamiana* (Pappu, 2009) ve *Eustoma russellianum*'da (Srinivasan ve ark, 2012) damar, gövde ve tomurcuklarda nekroz ürettiği ve bitkilerin erken yaşlanmasına yol açtığı bildirilmiştir. *Thrips tabaci*, dünya çapında ortaya çıkmış ve allium yetişen her yerde görülme ihtimalinin yüksek olduğu görülmüştür.

Bag (2013), yapmış olduğu çalışmada, IYSV'nin mekanik inokülasyondan sonra virüse karşı farklı tepkiler geliştirdiğini, bitkilerin çoğunda, klorotik lokal lezyonlar, halka lekeler, damar nekrozu, aşılanmış yapraklarda kuruma belirtilerinin görüldüğünü, sadece *Nicotiana benthamiana'*dan yeni inoküle edilmemiş yapraklarda, tomurcuklarda ve köklerde sistemik simptomlar görüldüğünü belirtmiştir. *V. unguiculata'*da inokule edilmiş yapraklarda nekrotik lekeler olarak ortaya çıkmıştır. *Capsicum annuum'*un aşılanmış yaprakları ve *Chenopodium quinoa* üzerinde küçük konsantrik klorotik halka lekeleri geliştiren, tospovirüs enfeksiyonuna özgü simptomlar giderek artmış ve belirgin bir klorotik lezyonlara dönüşmüştür. İki deneysel konukçunun, *D. stramonium* ve *N. benthamiana*'nın IYSV'ye farklı tepkiler verdikleri bulunmuştur. *D. stramonium* üzerinde kısıtlayıcı lokal lezyonlar görülmüş ve virüs, aşılanmış yapraklarla sınırlı iken, *N. benthamiana*, virüsün, aşılanmış ve aşılanmamış dokularına geçmesini sağlayan, sistemik bir konukçudur. Farklı coğrafi bölgelere ait çeşitli izolatlar, her iki konukçu için araştırılmıştır. *D. stramonium*'da, California (IYSV-CA), Idaho (IYSV-ID) ve Washington (IYSV-WA) izolatları aşılanmış yapraklara lokalize edilmiş ve yapraklara, lokasyonlara eşit olarak yayılmış küçük nekrotik lekeler içeren benzer simptomlar üretip sonradan birleştiği görülmüştür. Sistemik konukçu *N. benthamiana* 'da, üç izolatın tümü, inokulasyondan 7-10 gün sonra aşılanmış yapraklardaki küçük klorotik lekeler gibi, yavaş yavaş nekrotik noktalara dönüşen benzer simptomlar göstermiş ve hastalık gelişiminin sonraki safhalarında veinal

nekroz ve kök nekrozuna neden olmuştur. Bununla birlikte, sistemik olarak enfekte apikal yapraklar, IYSV-ID ve IYSV-WA durumunda inokulasyondan 15 gün sonra küçük nekrotik noktalarda bulunurken, sistemik enfeksiyon, inokulasyondan 20-24 güne kadar ertelenmiştir. IYSV-CA ve IYSV-WA'ya kıyasla IYSV-CA'nın yavaş hareketi DAS-ELISA ile doğrulanmıştır. Enfekte olmuş bitkiler daha ileri hastalık gelişimi için gözlem altında tutulmuş ve IYSV-ID ve IYSV-WA izolatları ile enfekte olan bitkiler (altı bitkiden altısı), hastalığın ciddiyetine bağlı olarak erken yaşlılık inokulasyondan 50 gün sonra, sistemik olarak enfekte iken IYSV-CA ile enfekte olmuş bitkiler inokulasyondan sonra 80-90 güne kadar hayatta kalmıştır. *N. benthamiana'*nın bu izolatlara verdiği tepkilerin farklı zamanlarda tekrarlı ve tutarlı olduğu görülmüştür.

IYSV'nin, 2002 yılında Meksika'da da yayılım gösterdiği, çiçek soğanında küçülme, tohum için yetiştirilen bitkilerde verim kaybına neden olduğu, karakteristik olarak saman renkli lezyonlar ya da yuvarlak, elmas şekilli nekrotik lekeler oluşturduğu görülmüştür. Ayrıca tohum saplarında şişme ve gövdeden devrilme şeklinde belirtiler görülmüştür (Goldberg, 2005).

Cordoba ve ark. (2007), İspanya'da yaptıkları bir çalışmada, soğan yetiştirilen alanlarda IYSV enfekteli örneklerin nükleokapsid geninden (IYSV1S ve IYSV1A primerleri kullanılarak) RT-PCR yapmış ve bu PCR ürünleri ticari kit kullanılarak saflaştırdıktan sonra nükleik asit dizilimlerini analiz etmişlerdir. Gen bankasında yapılan karşılaştırma sonucunda, %97 oranında benzerlik gözlenmiş ve bu virüs İspanya'da ilk olarak rapor edilmiştir. Aynı araştırıcılar, bu Tospovirüsün *Thrips tabaci* tarafından propagatif şekilde taşındığını, fakat bu thripsin her ne kadar İspanya'da büyük bir populasyona sahip olsa da Akdeniz iklimi etkisinde INSV'nin taşınmasında etkisinin bilinmediğini bildirmişlerdir.

IYSV enfeksiyonu üzerine çeşitli çalışmalar yapılmış; Afrika'da (Birithia ve ark, 2011; du Toit ve ark, 2007; Lobin ve ark, 2010), Amerika'da (Gent ve ark, 2006a); Hoepting ve ark., 2007; Hoepting ve ark, 2008; Mullis ve ark, 2006; Rosales ve ark, 2005), Avustralya'da (Coutts ve Jones, 2003), Avrupa'da da

(Cordoba-Sellés ve ark, 2007; Huchette ve ark, 2008; Leinhos ve ark, 2007; Plenk and Grausgruber-Groger, 2011; Tomassoli ve ark, 2009) varlığı rapor edilmiştir.

IYSV ile enfekteli soğanlı bitkide geriye doğru ölümler, nekrozlar ve ürün kayıpları meydana gelmektedir (Nischwitz ve ark, 2007; Shock ve ark, 2008). Tohum ile bulaşıcı olduğu bilinmemektedir (Kritzman ve ark, 2001). İki yıllık yada çok yıllık yabani otlar, diğer Allium türleri, çok sayıda süs bitkisi türü hastalığın konukçusu arasında yer almaktadır (Gent ve ark, 2006b).

EPPO (2007b), risk analiz raporuna göre; Avustralya, Brezilya, Kanada, Şili, Guatemala, Hindistan, Japonya, Yeni Zelanda, Peru, Reunion Adası, Güney Afrika ve ABD., Fransa, Almanya, İsrail, İtalya, Hollanda, Sırbistan, Slovenya ve İspanya'da mevcuttur. Bir serada *Eustoma sp*. üzerinde hastalık yayılışı Birleşik Krallık'ta eradike edilmiştir.

2003 yılında İspanya'da Eylül ayında soğan alanında yapılan çalışmalarda bitki yapraklarında kıvrılmalar, nekrotik lezyonlar hastalığın şiddetli olduğu ilerleyen dönemlerinde ise bitkinin öldüğü görülmüştür (Cordoba-Selles ve ark, 2007)

Robene ve ark (2006), en önemli virüs hastalıkları içerisinde yer alan, soğanda düzensiz şekiller veya nekrotik lezyonlar şeklinde simptomlara neden olan IYSV ile çalışma yapmışlardır. Soğanda TSWV, INSV ve IYSV'ye karsı serolojik olarak testlemişler ve sadece IYSV'ye karşı pozitif reaksiyon almışlardır. Serolojik testler sonucu pozitif bulunan örnekler için virüsün kılıf proteinine spesifik primerler kullanılarak RT-PCR yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin sekanslaması yapılarak dünya izolatları ile karşılaştırması yapılmıştır. Daha sonra bu belirtilerin soğan, sarımsak ve pırasa'da da rastlamışlar bunlarla yapılan testlemeler ile pırasada 11 örnekten 9'unda, sarımsakta 11 örnekten 10'unda, soğanlarda ise 3 örnekten üçünde, IYSV pozitif bulmuşlardır. Potansiyel vektörü *Thrips tabaci*'nin bu yayılmada etkili olduğunu bildirmişlerdir.

EPPO (2007b), risk analizi raporuna göre IYSV üzerine Haziran ayında Birleşik Krallık'ta Lisianthus bitkisinde yapılan çalışmada, yaprakların hastalıktan

etkilendiği görülmüştür. Bir seradan toplanan (*Eustoma grandiflorum*) bitkiler üzerinde yapılan çalışmada nekrotik lezyonlar, yaprak renginde açılmalar görülmüş, enfekteli bitkiler kaldırılmış ve eradikasyon çalışmaları yapılmıştır. Hollanda'da yapılan çalışmada *İris hollandica* bitkisinde yapraklarda sararma ve nekrotik, klorotik lekeler görülmüştür. Hollanda'da *Allium porrum* bitkisi üzerinde klorotik halkalar, nekrotik belirtiler görülmüştür. İsrail'de IYSV'li *Allium cepa* yapraklarında halkalı saman rengi simptomlar, Brezilya'da yaprak ve çiçek sapları üzerinde göz benzeri lekeler görülmüştür. ABD'de yapılan çalışmalarda soğansı bitkide nekrotik lekeler, çiçek saplarında lezyonlar oluşmuştur. Diğer lezyonlar ise konsantrik halkalar şeklinde görülmüştür.

Ekvatorda Pichincha ve Tungurahua'da yapılan çalışmalarda Allium bitkisinin yapraklarında saman renginde açılmalar, düzensiz şekiller, klorotik ve nekrotik lekeler görülmüştür. Laboratuar analizi ile IYSV olduğu tespit edilmiştir (Sivaprasad ve ark, 2016).

EPPO (2010a), soğan ve pırasada IYSV'nin varlığı Yunanistan'da rapor edilmiştir. EPPO (2010b), 2007 yılında Sırbistan'da *Trips tabaci* ile yayılım gösterdiği bulgusuna rastlanmış, 2010 yılında rapor edilmiştir.

Sarımsak ve pırasa bitki üzerinde Kıbrıs'ta IYSV rapor edilmiştir. Doğal konukçuları arasında iris, soğan, pırasa, frenk soğanı, arpacık soğanı, sarımsak, Allium türleri, yer almaktadır (Hafez ve ark, 2012).

Soğanların yanında, diğer hassas bitkiler ve çeşitli süs bitkileri ve yabani otlar, virüs inokulumunun potansiyel konukçu kaynakları arasında yer almaktadır (Sampangi ve ark, 2007).

Szostek (2014), Colorado da *Irıs sarı spot vırusu'*nün biyolojisi ve kışın hayatta kalması ile ilgili yaptığı çalışmada, IYSV'yi tespit etmek için, double DAS-ELISA testi uygulamış ve soğan tohumunda pozitif sonuç elde etmiştir. Daha sonra RT-PCR ile soğan çiçeklerinin sapları, yaprakları, anterleri ve meyvelerinde de IYSV tespit etmiştir. Simptom gösteren bitkilerden toplanan soğan tohumu, sera ve büyüme odası koşullarında yetiştirilmiş, fakat altı haftalık fidelerde IYSV tespit

edilmemiştir. Yapılan çalışma ile çimlenme sırasında IYSV'nin tohumdan yeni bitkiye geçmesinin oldukça düşük olduğu görülmüştür. Bu çalışma, *T. tabaci*'nin bulunduğu soğan tarlalarının yakınında IYSV'nin, olduğunu göstermiştir. Kış boyunca *T. tabaci* birçok yabacıot türünde üreyecek ve larvalar allium olmayan kaynaklardan da IYSV'yi kazanabilecektir. Daha sonrasında yapılan çalışmada ise thrips aktivitesi, 2011-2013 yılları arasındaki kış aylarında yapışkan tuzak yoluyla izlenmiştir. Ortalama sıcaklığın 0 °C'nin altına düşmesiyle birlikte böcek aktivitesinin durduğu ve ortalama sıcaklığın 0 °C'nin üzerine çıktığında ise aktivitenin tekrar başladığı görülmüştür. Yetişkin ve larva thripslerinin üzerinde yaşadığı *Malva neglecta* Wallr. (common mallow), *Taraxacum officinale* Weber Wiggers (dandelion), *Descurainia sophia (L.) Webb. Ex Prantl (flixweed), Lactuca serriola L.* (prickly lettuce) ve *Tragopogon dubius Scop. (salsify)* bitkilerden alınan örneklerde 2010-2013 yılları arasında kış boyunca RT-PCR çalışması yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda bu beş bitkiden *Lactuca serriola* L. (prickly lettuce), *Descurainia sophia* (L.), Webb. Ex Prantl (flixweed) bitkilerinde IYSV tespit edilmiştir. Sonuçlar, thripslerin ve IYSV'nin aşırı kış mevsiminde de hayatta kaldığını, bir sonraki büyüme döneminde inokulum sağlayacağını ve kış boyunca yabancı ot kontrolünün yapılması gerektiğini göstermiştir.

***Impatiens necrotic spot tospovirus* (INSV):** INSV, thrips türleri ile taşınabilen tospovirüs cinsine ait bir virüstür. Bu virüs, dünyanın farklı kıtalarında başta süs bitkileri olmak üzere bazı sebze türlerinde önemli kayıplara yol açan enfeksiyonlara neden olmaktadır. Tospovirusler genel olarak birçok böcek (thrips) türü ile taşınırken **(**Jones, 2005, Şevik, 2008). *Impatiens necrotic spot tospovirus* (INSV), Arthropoda şubesi Insecta sınıfına bağlı Thysanoptera (Kirpik kanatlılar) takımı Thripidae familyası içerisinde yer alan Frankliniella cinsinden *F. occidentalis*, *F. schultzei* ve *F. intonsa* thrips türleri ile sirkülatif ve propagatif (vektör bünyesinde çoğalarak) olarak taşınabilmektedir (Mound, 1996, Naidu ve ark, 2001).

INSV morfolojik özellikleri bakımından TSWV'ye benzemekle beraber, 80–120 nm çapında lipit membran içeren küresel partiküllere sahip bir tospovirüs üyesidir. Tospovirüs partikülleri %5 nükleik asit (RNA), %70 protein, %20 lipit ve %5 karbonhidrat içermektedir (Adkins, 2000). Virüs tripslerle persistent olarak taşınır. Taşınma etkinliği virüs türüne ve populasyonuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Etmen, *F. occidentalis* ve *F. intonsa* ile taşınsa da *F. occidentalis* vektörü virüsün taşınmasında daha etkilidir (Sakurai ve ark, 2004). Süs bitkileri içinde yer alan konukçuları; camgüzeli, yasemin, düğün çiçeği, begonya, sıklamen, krizantem, yıldız çiçeği, petunya, gerbera, gloksinya, glayöl, anemon, sarı aster çiçeği, sinerya, exacum, sardunya, lobelya ve menekşedir. Bitki dokusunda sararma, çiçeklenme oranında düşüş, bitkide bodurluk ve yapraklar üzerinde nekrotik ve klorotik leke oluşumuyla birlikte solma simptomları görülür (Anonim, 2013). INSV'nin bitkilerde simptomlar fungal, bakteriyal ve besin elementi noksanlıklarıyla benzerdir. Bitkide sararma, zayıf çiçeklenme, bodurluk, solma ve yapraklar üzerinde nekrotik ve klorotik leke oluşturur. Virüs özellikle süs bitkilerinde Kuzey Amerika, Avrupa ve son zamanlarda Asya'da zarar yapmaktadır (Adkins ve Baker, 2005). Yeni Zellanda'nın güneyinde *Freesia refracta*, impatiens, lobelia, primula ve ranunculus, begonia, gerbera, hibiscus ile cyclamen bitkilerinde zarar meydana getirmiş ve bu bölgede yapılan çalışmada, *F. occidentalis* populasyonunun yoğunluğu dikkat çekmiştir (Elliott ve ark, 2009). Slovenya'da *Chrysanthemum* (Mavrik ve ark, 2001), İtalya'da süs bitkilerinde (Roggero ve Ciuffo, 1999), İran'da *Rosa sp., Gazania sp., Chrysanthemum sp., Leucanthemum sp., Matricaria camomila, Pelargonium roseum, Salvia* sp. ve *Dianthus caryophyllus* türlerinde tespit edilmiştir (Shahraeen, 2008).

2010 ve 2011 yıllarında Samsun iline bağlı Bafra, Çarşamba, Terme, Tekkeköy ve Merkez ilçelerinde sebze üretim alanlarında yapılan survey çalışmasında 985 sebze yaprak örneği toplanmış, toplanan örnekler double-antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) yönetmi ile TSWV, TCSV, INSV ve *Watermelon silver mottle virus* (WSMV) varlığının tespiti

için analiz edilmiştir. Samsun'da sebze üretim alanlarından gerek 2010 yılında ve gerekse de 2011 yılında toplanan 985 sebze yaprak örneklerinin, bazı tospovirüsler yönünden DAS-ELISA yöntemi ile test edilmesi sonucunda, toplanan örneklerde bulaşıklık oranının 2010 yılında %9.2, 2011 yılında ise %9.7 olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerin %9.13'ü TSWV, %1.92'si TCSV ile bulaşık olarak tespit edilirken, TSWV ve TCSV sadece domates ve biber bitkilerinde saptanmıştır. Toplanan ve analiz edilen diğer sebze türlerine ait örneklerin hiçbirisinde INSV ve WSMV enfeksiyonuna rastlanmamıştır (Şevik ve Arlı-Sökmen, 2013).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Survey Alanı ve Çalışma Materyali Hakkında Bilgiler

Bu çalışma, İstanbul İli Adalar ilçesi'nde (Büyükada, Heybeliada, Kınalıada, Burgazada) süs bitkilerinde tospovirüslerin; IYSV, TSWV ve INSV'nin saptanması amacıyla, 2015 yılı Nisan-Ekim ayları ve 2016 yılı Mayıs-Eylül ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Survey çalışmaları, Adalar ilçesinde hobi bahçeleri ve peyzaj alanlarında yetiştiriciliği yapılan alanlarda yürütülmüş ve çalışmanın materyalini oluşturan söz konusu süs bitkilerinde simptomlu ve/veya simptomsuz bitki dokuları toplanarak survey çalışmaları tamamlanmıştır.

3.1.2. Serolojik Çalışmalarda Kullanılan Materyal

DAS-ELISA testlerinde IYSV, TSWV ve INSV etmenlerine spesifik poliklonal antiserumlar, pozitif ve negatif kontroller AGDIA ve BIOREBA (Fransa) firmalarından temin edilmiştir. Spesifik poliklonal antiserumlar, tampon çözeltiler (EK1), pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır.

3.1.4. Total RNA Ekstraksiyonu Çalışmalarında Kullanılan Materyal

IYSV ile enfekteli olduğu ELISA sonucunda tespit edilen bitki dokusu örneklerinden elde edilen bitki özsuları materyal olarak kullanılmıştır. Universal 320R marka masa tipi soğutmalı santrifüj, pipetler, havan ve havan eli, tampon çözeltiler, ependorf tüpleri, kullanılmıştır. Total RNA ekstraksiyonu çalışmasında kullanılan solüsyonlar EK2'de verilmiştir.

3.1.5. RT-PCR Çalışmalarında Kullanılan Materyal

IYSV ile enfekteli bitkilerden elde edilen total nükleik asit ekstratları ve Çizelge 3.1'de belirtilen primerler RT-PCR yönteminde materyal kaynağı olarak kullanılmıştır (Pappu ve ark, 2008).

Elde edilen sonuçları, aynı çalışma sonuçları ile karşılaştırmak için ticari olarak temin edilen 2X PCR Master Mix (Fermentas)'de kullanılmıştır. Virüs genomu üzerinde hedef bölgelerin çoğaltılması amacıyla hedef bölgeler üzerinde uygun sıcaklıklar, TECHNO GENIUS marka termocyle aleti ile sağlanmıştır.

Çizelge 3.1. PCR çalışmalarında kullanılan IYSV'ye spesifik primer çiftleri (Pappu ve ark, 2008)

IYSV-465c 5' - CAG CAA AGT GAG AGG ACC ACC - 3'
IYSV-239f 5' - TGA GCC CCA ATC AAG ACG - 3'

3.1.6. Agarose Gel Elektroforez Çalışmalarında Kullanılan Materyal

Agarose gel elektroforez çalışmalarında, total RNA ekstraksiyonu işlemi sonucunda elde edilecek tospovirüslere ait total RNA'lar ile RT-PCR çalışmalarında elde edilen PCR ürünleri materyal olarak kullanılmıştır. Agarose gel elektroforez işleminde, agarose, tampon çözeltiler, BIORAD marka Mini Sub. DNA Cell Elektroforez cihazı ve güç kaynağı, UVP Ultraviolet Transilluminator marka UV ışık kaynağı ve jel görüntüleme sisteminden yararlanılmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. Arazi Gözlemleri, İnfekteli Bitki Materyallerinin Elde Edilmesi ve Muhafazası

Çalışmanın yürütüldüğü yörelerde tospovirüs varlığının farklı yöntemlerle saptanması amacıyla yapılan survey çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

TSWV, IYSV ve INSV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen bitkilerin belirlenmesi amacıyla, öncelikle simptomatolojik gözlemler yapılmış, örnek alınan bitkilerde, tospovirüslerin neden olduğu, yapraklarda deformasyon, mozayik, klorotik halkalı lekeler, sararma, klorotik ve nekrotik alanlar, gövde ve yaprak sapı üzerinde yağ lekeleri ve şok simptomları aranmıştır.

Toplanan süs bitkileri dokuları etiketlenerek polietilen torbalara konulmuş ve buz kutusu içerisine yerleştirilerek laboratuvara getirilmiştir. Toplanan

materyaller serolojik testler uygulanıncaya kadar kısa süreli muhafaza için +4 ºC'de buzdolabında, uzun süreli muhafaza için –20 ºC'de çalışan derin dondurucuda muhafaza edilmişlerdir.

3.2.2. Serolojik Çalışmalar

Arazi çıkışlarında, simptomatolojik olarak tospovirüs (IYSV, INSV ve TSWV) ile bulaşık olduğundan şüphelenilen süs bitkileri örnekleri, tospovirüslerin varlığının ortaya konulması amacıyla, öncelikle Double Antibody Sandwich (DAS) ELISA testi ile testlenmiştir. Yapılan ELISA testlerinde kullanılan platelerin her birinde, örnek tampon çözeltisi ve sağlıklı ağaçlardan alınan veya firmalardan ticari olarak temin edilen dokular ile hazırlanan ekstrakt olmak üzere iki farklı negatif kontrol ve tospovirüs bulaşık ticari olarak temin edilmiş bir pozitif kontrol karşılaştırma amacıyla kullanılmıştır. ELISA testlerinde kullanılan tampon çözeltiler ve bunların hazırlanması EK1'de verilmiştir.

ELISA testleri sonucunda, sağlıklı kontrol için 405 nm'de elde edilen absorbans değerinin en az iki katı ve daha fazla absorbans değeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir (Barba ve Riccioni, 1993; Helguera ve ark, 2002).

3.2.3. DAS-ELISA Testi

DAS-ELISA çalışmaları, ELISA kitlerinin temin edildiği firma tarafından önerilen sulandırma oranları ve yöntem dikkate alınarak, bazı modifikasyonlarla aşağıdaki şekilde yürütülmüştür.

1. IYSV'ye spesifik γ-globulin, kaplama tamponunda 1/1000 oranında sulandırılarak, ELISA pleytlerine her çukura 100 µl konulmuştur.
2. Pleytler, 30 °C'de 4 saat inkübasyona tabi tutulduktan sonra, yıkama tamponu ile her yıkama 3'er dakika olacak şekilde 3 kere yıkanmıştır.
3. Ekstraksiyon tampon çözeltisinde 1/10 oranında hazırlanmış olan ekstrakttan her kuyuya 100'er µl konulmuş ve pleytler +4 °C'de bir gece

inkübasyona tabi tutulduktan sonra, yıkama tamponu ile yukarıdaki şekilde yıkanmıştır.

4. Konjugat tamponu içerisinde 1/1000 oranında sulandırılmış olan enzimle işaretli γ- globulinden (Konjugate) her kuyuya 100'er µl konulmuş ve 30 °C'de 5 saat inkübasyondan sonra pleytler yıkama tamponu ile yıkanmıştır.
5. Son olarak pleytlerin her kuyusuna substrate tampon çözeltisinde 1mg/ml olacak şekilde hazırlanan substrattan 100'er µl ilave edilmiş ve pleytler 30-60 dakika oda sıcaklığında ışıksız ortamda bekletildikten sonra ELISA okuyucuda okunmuştur.

Yapılan ELISA testlerinde her bir örnek için ikişer kuyu kullanılmış ve her pleytte pozitif, negatif ve buffer kontrol bulunmasına dikkat edilmiştir. ELISA testleri sonunda ELISA okuyucusunda negatif kontrol için okunan absorbans değerinin 2-3 katı absorbans değerine sahip örnekler, IYSV ile bulaşık kabul edilmiştir.

3.2.4. Total RNA Ekstraksiyonu

ELISA testleri sonucunda, IYSV ile bulaşık olduğu saptanan arazi örneklerinden alınan taze dokular kullanılarak yapılan total RNA izolasyon çalışmaları, Astruc ve ark (1996)'nın önerdiği yönteme göre aşağıdaki şekilde yürütülmüştür.

Total RNA ekstraksiyonu yönteminde izlenen basamaklar:

a) Örnekler ekstraksiyon tamponu (100mM Tris-HCI pH.8.0, 50mM EDTA pH. 7.0, 500 NaCI, 10 mM 2. mercapto-ethanol (1/1000)) ile 1:2 (w/v) oranında sulandırılarak ekstrakte edilmiş ve bitki özsuyu steril tülbentten süzülmüştür.
b) Bitki özsuyundan 1 ml alınarak eppendorf tüpleri içerisine yerleştirilmiş ve örnekler 3 dakika 4.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.

c) Supernatant üzerine %20'lik Sodium Dodecylsulfat (SDS)'den 50 ml ilave edilerek vortekste karıştırılmış ve sonra tüpler 65 °C'de 30 dakika su banyosunda inkübe edilmiştir.
d) Tüplere 250 ml potasium asetate (5M) ilave edilerek 20 dakika buz içerisinde bekletilmiş ve daha sonra 15 dakika 13.000 rpm'de santrifüj yapılmıştır.
e) Elde edilen süpernatant ikiye bölünmüş ve 500 ml'si yeni hazırlanmış eppendorf tüplerine konarak -70 °C'de saklanmıştır. Geriye kalan 500 ml süpernatant yeni hazırlanan eppendorf tüplerine konulmuş, üzerine %100'lük ethanolden 500 ml ilave edilerek 1 ml'ye tamamlanmış ve vortekste karıştırılmıştır.
f) Daha sonra tüplere 50 ml sodium asetate (3M) ilave edilmiş ve örnekler tekrar karıştırılarak -70 ºC'de bir gece bekletilmiştir.
g) Örnekler 15 dakika 14.000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant kısmı ortamdan uzaklaştırılmıştır.
h) Eppendorf tüpleri filtre kağıdı üzerinde ters çevrilerek 5 dakika kurutulmuş ve pellet üzerine % 70'lik ethanolden 1ml ilave edilmiştir.
i) Örnekler RNA'ları çöktürmek amacıyla 5 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve tüp içerisindeki ethanol atılarak eppendorf tüpleri kurutma kağıtları ile dikkatlice kurutulmuştur.
j) Elde edilen total RNA'lar 50 ml RNAse free saf su ile sulandırılarak, 15ml ve 35 ml olmak üzere ikiye bölünmüş ve eppendorf tüpleri içerisinde -20ºC'de muhafaza edilmiştir.

3.2.5. RT- PCR Çalışmaları

RT- PCR işlemi; total RNA çalışmaları sonunda elde edilen virüs nükleik asidi üzerindeki belirli bölgelerin spesifik primerler kullanılarak uygun koşullar altında çoğaltılması ve böylelikle IYSV'nin moleküler tanısı amacıyla yapılmıştır.

RT- PCR yöntemi, Jain ve ark (1998)'na göre yapılmıştır. İki aşamadan oluşan işlemin birinci aşamasında; RT (Reverse transcription) işlemi ile cDNA'lar elde edilmiş, ikinci aşamada ise, bu cDNA'lar kullanılarak PCR yapılmıştır.

RT aşamasında; her PCR tüpüne, 1 µl saflaştırılmış total RNA ve 1 µl reverse primer konularak, 70 °C'de 5 dakika bekletilmiş, daha sonra tüpler buz üzerine alınmıştır. Bu PCR tüplerine, 16.6 µl saf su, 5 µl RT tampon çözeltisi (250 mM TrisHC1 (pH 8.3), 250 mM KC1, 20 mM MgC12, 50 mM DTT), 1 µl dNTP (2 mM), 0.3 µl RNAse ve 0.1 µl RT enzimi ilave edilerek, 42 °C'de 60 dakika inkübe edilmiş ve işlem sonunda cDNA'lar elde edilmiştir.

PCR aşamasında ise, ayrı bir PCR tüpüne, yukarıdaki işlemde elde edilen cDNA'dan 1 µl konulmuş, üzerine 16.8 µl saf su, 2.5 µl 10X PCR tampon çözeltisi (100 mM Tris- HC1 (pH 8.8), 500 mM KC1, % 0.8 Nonidet P40), 1.5 µl MgCl2, 1 µl dNTP (2 mM), 0.2 µl Taq DNA polymerase, 1 µl forward primer ve 1 µl reverse primer ilave edilmiştir.

RT-PCR yönteminin her iki aşamasında; tüplerdeki karışım, toplam hacim 25 µl olacak şekilde hesaplanarak hazırlanmıştır. 2X PCR Master mix kullanılarak yapılan RT-PCR işleminde, RT kısmı yukarıda verildiği şekilde uygulanmış, PCR kısmı ise ticari firmanın önerdiği yöntem kullanılarak, yine son hacim 25 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.2.6. Agarose Gel Elektroforez Çalışmaları

RT-PCR işlemleri sonunda, IYSV'nin çoğaltılan nükleik asit materyalleri % 1- l.5'luk agaroz jel elektroforez yöntemine tabi tutulmuştur.

Gallitelli ve Minafra (1994)'e göre modifiye edilerek uygulanan yöntemde; 100- 150 mg agaroz 10 ml lxTAE tampon çözeltisi (4.84 gr Tris, 2 ml 0.5 M Na2EDTA, 1.142 ml Glucial Asetic Acid/1 lt) içerisine konularak, agaroz eriyinceye kadar mikrodalga fırında ısıtılmış ve son hacim tekrar 10 ml'ye ayarlanmıştır. Karışım bir süre soğumaya bırakıldıktan sonra; jel, hazırlanan kısma boşaltılarak tarak takılmıştır. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çekilmiş ve bu

kısım elektroforez tankına yerleştirilerek, jeli l-2 mm geçecek kadar 0.5x TAE tampon çözeltisi ilave edilmiştir.

Örnekler, 5 µl örnek ve 1 µl 6x loading buffer olacak şekilde hazırlandıktan sonra jeldeki kuyulara dikkatli bir şekilde yüklenmiştir. İlk kuyuya marker (4 µl marker, l µl loading buffer) konulmuştur. Loading buffer içindeki turuncu renk (Orange G) jelin sonuna gelene kadar elektroforez tankına 50 V elektrik akımı verilmiştir. Jel, elektroforez işlemi sonunda, oda sıcaklığında 10 dk. 30 µl ethidium bromid/ 100 ml saf su (l0 mg/ml saf su) çözeltisinde çalkalanarak boyanmış ve daha sonra fazla ethidium bromidi uzaklaştırmak için 5 dk. saf su içerisinde tutulmuştur. Yıkanan jel, UV Transilluminatör üzerine konularak, UV ışıkta ortaya çıkan bantlar gözlenmiş ve fotoğrafı çekilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

2014-2016 yılları arasında Adalar ilçesinde gerçekleştirileren çalışma sonucunda elde ettiğimiz sonuçlar, survey, simptomolojik gözlemler, serolojik ve moleküler çalışmaları kapsamaktadır (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Survey çalışması yapılan Adalar ilçesi

4.1. Survey Çalışmaları

Çalışmanın yürütüldüğü İstanbul ili Adalar İlçesi'nde (Büyükada, Heybeliada, Kınalıada, Burgazada) hobi bahçeleri ve peyzaj alanlarında yetiştirilen süs bitkilerinde IYSV, TSWV ve INSV'nin varlığının ortaya konulması ve toplanan örneklerde bu virüslerin varlığının farklı yöntemlerle saptanması amacıyla yürütülen survey çalışmalarında, Büyükada'dan 80 adet, Heybeliada'dan 50 adet, Kınalıada'dan 15 adet, Burgazada'dan 5 adet olmak üzere 23 Familyaya ait, toplam 150 adet bitkiden örnekleme yapılmıştır (Çizelge 4.1., Şekil 4.2.).

Çizelge 4.1. Büyükada, Heybeliada, Kınalıda, Burgazada'dan Toplanan örnekler ve sayıları

Süs Bitkisi Adı	**Familya**	**Toplanan örnek Sayısı**
Gül	Rosaceae	25
Sardunya	Geraniaceae	16
Ortanca	Hydrangeaceae	32
Papatya	Asteraceae	5
Hercai menekşe	Violaceae	7
Nergis	Amaryllidaceae	2
Katır Tırnağı	Fabaceae	2
Mimoza	Fabaceae	1
Begonya	Begoniaceae	3
Zakkum	Apocynaceae	2
Ateş çiçeği	Lamiaceae	4
Gazanya	Asteraceae	2
Çuha çiçeği	Primulaceae	3
Begonvil	Nyctaginaceae	1
Kalendula	Asteraceae	5
Japongülü	Malvaceae	1
Horoz ibiği	Amaranthaceae	3
Bodur Yıldız Çalısı	Pittosporaceae	1
Paşa çadırı	Rubiaceae	1
Küpe çiçeği	Onagraceae	5
Lantana-çalı minesi	Verbenaceae	5
Kala	Araceae	5
Zambak	Liliaceae	3
Medine çiçeği	Amaranthaceae	1
Kadife çiçeği	Asteraceae	8
Akşam sefası	Nyctaginaceae	1
Kar topu çiçeği	Adoxaceae	2
Petunya	Solanaceae	2
Boru çiçeği	Solanaceae	1
Melisa	Solanaceae	1

Çizelge 4.2. Örneklerin toplandığı yerler, bitki türleri ve alınan örnek sayıları

Örnek Alınan Yerler	**Örnek Olarak Toplanan Çiçek Türü**	**Toplanan Örnek Sayısı**
Büyükada	Gül, Melisa, Sardunya, Ortanca, Papatya, Hercai Menekşesi, Nergis, Mimoza, Begonya, Zakkum, Ateş çiçeği, Gazanya, Çuha Çiçeği, Begonvil, Kalendula, Japon Gülü, Horoz İbiği, Bodur Yıldız Çalısı, Paşa Çadırı	80 adet
Heybeliada	Ortanca, Zakkum, Ağaç Küpesi, Çuha Çiçeği, Ortanca, Gül, Sardunya, Kalendula, Lantana, Kala, Lilyum, Hosta, Ateş çiçeği, Begonya, Papatya, Medina çiçeği, Horoz ibiği, Kadife çiçeği, Akşam Sefası, Kartopu çiçeği, Katır tırnağı	50 adet
Kınalıada	Gül, Ortanca	15 adet
Burgazada	Ortanca, Gül, Hercai Menekşesi, Katır Tırnağı, Mimoza, Lantana	5 adet



Şekil 4.2. Survey çalışmalarının yapıldığı bazı alanlardan görünümler

Örneklemelerde, EPPO (2013)'te Bosna Hersek'te bardak menekşesi (*Sinningia speciosa*) bitkisinde rapor edilen klorotik halka noktalar, klorotik ve nekrotik desenler, yaprak nekroz ve deformasyon simptomları ve Kibar'ın 2014 yılında; Yalova ili örtüaltı kesme çiçek türlerinden *Anthurium andreanum*, bazı orkide (*Cymbidium sp.*), gül (*Rosa spp.*) ve gerbera bitkilerinde tespit etmiş olduğu sistemik, mozayik, sarılık, klorotik ve nekrotik lekeler ile yaprak ve çiçeklerde deformasyon simptomları, survey çalışmalarımızda dikkate alınmıştır. Ayrıca simptom göstermeyen bitki örnekleri de toplanmıştır.

Simptomatolojik gözlemlerle virüsün kesin tanısı mümkün olmadığından, bu çalışmada, şüpheli görülen tüm örnekler ELISA testine tabi tutulmuştur. ELISA testleri sonucunda, IYSV ile enfekteli olduğu saptanan örneklerden 16 tanesi kodlanarak, RT- PCR çalışmalarında kullanılmıştır.

4.2. ELISA Testleri

İstanbul ili Adalar İlçesinde yapılan bu çalışmada ELISA testlerinde, arazi çıkışlarında simptomatolojik olarak, TSWV, IYSV ve INSV ile enfekteli olduğundan şüphelenilen 150 adet süs bitkisi örneği testlenmiştir. Testlenen süs bitkisi örneklerinden yapraklarda klorotik halkalı lekeler, renk açılmaları, kabarcıklar ve deformasyon simptomları gözlenen 16 adet bitkinin IYSV ile

enfekteli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3.). Benzer şekilde, Stankovic ve ark (2011), Sırbistan'da *Gerbera hybrida* bitkisinde yapraklarda deformasyon, nekroz ve klorotik lokal leke simptomlarının varlığını gözlemişler ve yaptıkları ELISA testleri sonucunda bu bitkilerin IYSV ile bulaşık olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4.3. ELISA testi sonucunda IYSV enfeksiyonu saptanan bitkiler

Türkçe Adı	**Örneğin Alındığı Yer**	**Enfekteli Bitki Sayısı**	**Tür/Cins**
Sardunya	Heybeliada	2 adet	*Pelargonium spp.*
Bodur Yıldız Çalısı	Büyükada	1 adet	*Pittosporum tobira*
Süpürge çiçeği	Büyükada	1 adet	*Hosta undulata*
Gül	(1)Heybeliada (2)Büyükada	3 adet	*Rosa L*
Melisa	Büyükada	1 adet	*Cestrum nocturnum L.*
Ortanca	Büyükada	2 adet	*Hydrangea macrophylla*
Gazanya	Büyükada	1 adet	*Bellis perennis*
Zakkum	Büyükada	1 adet	*Nerium oleander*
Katır Tırnağı	Heybeliada	1 adet	*Spartium junceum L.*
Begonya	Büyükada	1 adet	*Begonia L.*
Kadife Çiçeği	Heybeliada	1 adet	*Tagetes L.*
Çalı Minesi	Heybeliada	1 adet	*Lantana camara*

Bag (2013), soğan bitkilerinin IYSV enfeksiyonu çok çeşitli belirtiler gösterdiğini, başlangıçta karakteristik sarı-saman renkli klorotik veya nekrotik lezyonlar görüldüğünü, lezyonların genellikle uzun veya iş mili şeklinde olduğunu bildirmiştir. *Hydrangea macrophylla, Rosa L. , Begonia L., Tagetes L., Pittosporum tobira, Hosta undulata , Pelargonium spp., Spartium junceum L.,* bitkilerinden alınan bitki doku örneklerinde de renk açılmaları ve klorotik lezyonlar

görülmüş ELISA testi sonucunda IYSV İle enfekteli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4, 4.5, 4.6., 4.8., 4.9., 4.10., 4.11., 4.12.).

Nerium oleander bitkisinin yaprağında, damarlar arasında renk açılması, damar bantlaşma simptomu görülmüştür (Şekil 4.7.).

Bag ve ark (2009), *Allium sativum bitkisi* üzerinde yapmış oldukları çalışmada yapraklarda düzensiz dairesel lekeler olan kloroz oluşum simptomlarını gözlemlemiş ve IYSV ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir. *Spartium junceum* bitkisinin yaprakları üzerinde benzer simptomlar görülmüş ve ELISA testi sonucunda enfekteli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5.).



Şekil 4.3. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Bellis perennis* bitkisinde yaprakta kabarcıklar şeklinde görülen deformasyon



Şekil 4.4. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Rosa L.* bitkisinde yaprakta renk açılması



Şekil 4.5. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Spartium junceum L.* bitkisinin yaprağında görülen klorotik halka lekeler



Şekil 4.6. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Hydrangea macrophylla* bitkisinin yaprağında görülen renk açılması



Şekil 4.7. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Nerium oleander* bitkisi yaprağında damarlar arasında renk açılması ve damar bantlaşması



Şekil 4.8. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Begonia L.* bitkisinde çiçeklerde ve yaprakta görülen saman renginde açılma



Şekil 4.9. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Tagetes L.* bitkisinin yaprağında halka yapısı şeklinde görülen mozayik ve klorotik lekeler



Şekil 4.10. *Pittosporum tobira* bitkisi yapraklarında görülen renk açılması, yapraklarda küçülme ve damar bantlaşması



Şekil 4.11. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Hosta undulata* bitkisi yaprağında kabarcıklar şeklinde deformasyon ve renk açılması



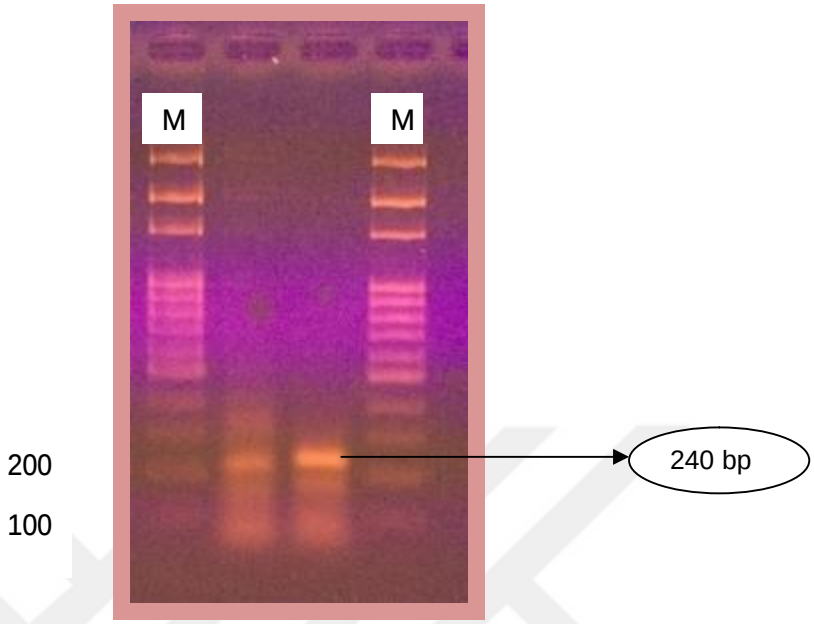
Şekil 4.12. IYSV ile enfekteli olduğu belirlenen *Pelargonium spp.* bitkisi yaprağında görülen klorotik halkalı lekeler

4.3. RT- PCR Çalışmaları

Virüslerin tespiti amacıyla, viroloji alanında yoğun bir şekilde kullanılan moleküler yöntemlerden birisi RT- PCR yöntemidir.

ELISA testleri sonucunda IYSV ile bulaşık olduğu saptanan süs bitkisi örneklerinden elde edilen toral nükleik asit ekstraktları kullanılarak yapılan RT-PCR çalışmalarında, örnekler için 240 bp büyüklüğünde band elde edilmiştir (Şekil 4.13.). Böylece, RT-PCR testi yapılarak *Pittosporum tobira ve Hydrangea macrophylla* örneğinde IYSV'nin varlığı moleküler olarak da ortaya konulmuştur.

Benzer şekilde, Pappu ve ark (2008), soğan bitkisi üzerinde IYSV tespiti amacıyla 465c ve 239f pirimerleri kullanarak yapmış olduğu RT-PCR çalışması sonucunda 227bp uzunluğunda bant elde etmiş, aynı zamanda Pappu (2013), yılında aynı primerleri kullanarak soğan bitkisi üzerinde yapmış olduğu çalışmada 240 bp uzunluğunda bant elde ettiğini bildirmişlerdir.



Şekil 4.13. RT- PCR çalışmaları sonucunda elde edilen baz çifti uzunluğu (RT-PCR çalışmaları sonunda IYSV ile bulaşık olduğu saptanan örneklerden elde edilen 240 bp büyüklüğündeki band)

Ayrıca, bu tez kapsamında, ELISA testlerine ilaveten RT-PCR çalışmalarında da pozitif sonuç veren *Pittosporum tobira* ve *Hydrangea macrophylla* bitkileri üzerinde gözlemlenen simptomlar, Bailey (1938) tarafından soğan bitkileri üzerinde yapılan çalışmada gözlenen karakteristik sarı-saman renkli klorotik veya nekrotik lezyonlar, elmas halka yapısına benzer simptomlar, EPPO (2007b)'e göre; *Eustoma grandiflorum* bitkisi üzerindeki nekrotik lezyonlar, yaprak renginde açılmaları, *İris hollandica* bitkisi üzerinde gözlenen yapraklarda sararma ve nekrotik, klorotik leke simptomları, pırasa (*Allium porrum*) bitkisi üzerinde gözlenen klorotik halkalar, nekrotik belirti simptomlarına benzerlik göstermekte ve uyum içerisindedir.

Bunlara ilaveten, bu tez çalışması dahilindeki simptomlar, İsrail'de IYSV'li *Allium cepa* yapraklarında görülen halkalı saman rengine benzer simptomlar, Brezilya'da soğanda yaprak ve çiçek sapları üzerinde göz benzeri leke simptomları

ve ABD'de yapılan çalışmalarda soğansı bitkilerde nekrotik lekeler ve çiçek saplarında lezyonlar şeklindeki simptomlara benzerlik göstermektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Birçok viral hastalık, dünyada ve ülkemizde vektörler aracılığı ile çok daha uzak alanlara yayılabilmekte ve enfekte ettikleri alanlarda çok ciddi kayıplara yol açmaktadırlar. Ticari amacı olmayan yetiştiricilikte hastalık ve zararlı mücadelesi bilinçli yapılmadığından virüs hastalıklarının yayılması kaçılmazdır. Bu yüzden hastalığın bölgeye girişi veya bölge içerisinde yayılmasını engellemek, öncelikle hastalığın teşhisinin yapılması, varsa vektörünün saptanması ve buna göre gerekli kültürel önlemlerin alınması ile mümkün olmaktadır. Bu yüksek lisans tez çalışmasında süs bitkilerinde saptanan IYSV, thripsler aracılığı ile uzak alanlara kolaylıkla yayılmakta ve zararlara neden olmaktadır. Yapılan bu çalışmada bu hastalık etmeninin varlığı serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak ortaya konulmuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda verildiği gibi özetlenebilir.

İstanbul İli Adalar ilçesinde peyzaj alanları ve hobi bahçelerinde yetiştiriciliği yapılan süs bitkilerinden toplanan şüpheli bitki örnekleri öncelikle ELISA testine tabi tutulmuş ve pozitif sonuç veren izolatlar spesifik primer çiftleri kullanılarak RT-PCR yöntemi ile moleküler olarak da saptanmıştır.

Toplam 4 peyzaj alanından, 146 hobi bahçesinden örnek alınmış ve ELISA yöntemi ile testlenmiştir. Arazi çıkışlarında toplam 150 örnek toplanmış ve ELISA testi sonucunda 16 örnekte IYSV'nin varlığı saptanmıştır.

IYSV ile bulaşık bitkilerden total RNA'lar elde edilmiş ve IYSV'ye spesifik primer çiftleri kullanılarak RT-PCR çalışmaları yapılmıştır. Sonuçta agaroz jelde görüntülenen 240 bp büyüklüğe sahip band, örneklerin tospovirüs grubundan IYSV ile bulaşık olduğunu göstermiştir. Böylece, birçok bitkide verimi ve görüntüyü etkileyen IYSV'nin İstanbul ili Adalar ilçesinde survey çalışması ELISA testi ile yapılmış ve sonuçlar RT-PCR yöntemi ile desteklenmiştir. RT-PCR çalışmaları sonucunda, *Pittosporum tobira ve Hydrangea macrophylla* olmak üzere 2 tür süs bitkisinde IYSV'nin varlığı ELISA testlerine ilaveten moleküler olarak da tespit edilmiştir.

Bu çalışma, IYSV'nin varlığı konusunda İstanbul ili Adalar ilçesinde yapılan ilk araştırma sonuçlarını vermesi bakımından ayrıca bir öneme sahiptir. Elde edilen sonuçlar, İstanbul ilinde diğer ilçelerde de yetiştiriciliği yapılan süs bitkileri ve sebzeler için hem pratikte fikir vermesi açısından faydalı olacak, hem de bilimsel açıdan bundan sonra yapılacak çalışmalara basamak teşkil ederek bir literatür eksiğini tamamlayacak niteliktedir.

Bu çalşma sonucunda önerilebilecek başlıca konular ise aşağıda özetlenmiştir:

1. Öncelikle süs bitkileri üretiminde virüslerin taşınmasına neden olan vektör böceklerle mücadele edilmeli, mücadelede ruhsatlı bitki koruma ilaçları kullanılmalı, bunların kullanımıyla ilgili eğitimler düzenlenmeli ve eğitimlerden yararlanılmalıdır.
2. Hobi olarak yetiştirilen bitkiler her ne kadar kar amaçlı olmasa da, bunların yetiştirilmesinde bazı koşulların sağlanması gerekir. Çevresinde ekonomik olarak yetiştirilen diğer ürünler için zarar oluşturmaması için gerekli önlemler alınmalıdır.
3. Yapılan çalışmada IYSV'nin taşınmasına neden olan vektörlerin neden olduğu diğer bitki hastalıkları ile ilgili başka çalışmalar yapılmalıdır.
4. Fide olarak getirilen yerlerde de hastalığın tespiti ve hastalık için diğer konukçu bitkilerdeki varlığı ve zarar durumları araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

Adkins, S., 2000. *Tomato spotted wilt virüs*-positive step towards negative success. Molecular Plant Pathology, 1(3):151-157.

Adkins, S., and Baker, C. A., 2005. *Tomato spotted wilt virus* Identified in Desert Rose, in Florida. *Plant Disease,* 89: 526.

Anfoka, G.H., Abhary, M., and Stevens, M.R., 2006. Occurrence of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in Jordan. Bulletin EPPO/OEPP Bulletin, 36: 517–522.

Anonim, 2007. Tomato Spotted Wilt Virus. http://plantpathology.tamu.edu

Anonim, 2013. Greenhouse Plant Viruses (TSWV/INSV)

Arli-Sokmen, M., Mennan, H., Sevik, M.A., Ecevit, O., 2005. Occurrence of viruses in field-grown pepper crops and some of their reservoir weed hosts in Samsun, Turkey. Phytoparasitica, 33:347-358.

Astruc, N., Marcos, J.F., Macquarıe, G., Candresse, G.T. And Vıcent, P., 1996. Studies On The Diagnosis Of Hop Stunt Viroid İn Fruit Trees: İdentification Of New Host And Application Of A Nucleic Acid Extraction Procedure Based On Non-Organik Solvents. *European Journal Of Plant Pathology*, 102: 837-846.

Bag, S., 2013. Biologıcal, Epidemiological and Molecular Insights Into Thrips-*Iris yellow spot tospovırus* Pest Complex. Washıngton State Unıversıty, Department Of Plant Pathology, Doktora Tezi, 144 s.

Bag, S., Druffel, K. L., and Pappu, H. R., 2010. Structure and genome organization of the large RNA of *Iris yellow spot virus* (genus *Tospovirus*, family Bunyaviridae). Arch. Virol., 155 (2):275-279.

Bag, S., Rogers, P., Watson, R., and Pappu, H. R., 2009. First report of natural infection of garlic with *Iris yellow spot virus* in the United States.Plant Disease, 93:839.

Bailey, S. F., 1938. Thrips of economic importance in California. Univ. California, Coll. Agric., Agric. Exp. Stn., 346 s.

Barba, M. And Rıccıonı, L., 1993. Improvement Of Diognostic Methods To Detect Plum Pox Virus İn Apricot Plants. Agriculture, 139- 141.

Barker, I., 1989. Beware spotted wilt. Grower, 2:17-19.

Bellardi, M.G., and Vicchi, V., 1990. TSWV Nuova İnsidia Per La Produzione Agricola İtaliana. ınform. Fitopat, 3: 17-24.

Berniak, H., 2014. *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) on *chrysanthemum*. IV Scientific Conference, Nowe patogeny i choroby roślin, Skierniewice, pp. 9.

Berniak, H., 2016. Characterization of a new *tomato spotted wild virüs* isolates found in *hippeastrum hybridum* (HORT.) plants in Poland. Journal of Horticultural Research, 24 (1): 5-12

Birithia, R., Subramanian, S., Pappu, HR., Sseruwagi, P., Muthomi, JW., Narla, RD., 2011. First report of *Iris yellow spot virus* infecting onion in Kenya and Uganda. Disease, 95 (9) :1195

Bozdoğan, V., 2009. Antalya ilinde domates, biber ve marul yetiştirilen alanlarda domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'nün saptanması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 65 s.

Ciuffo, M., Mautino, G.C., Bosco, L., Turina, M., Tavella, L., 2010. Identification of *Dictyothrips betae* as the vector of *Polygonum ring spot virus.* Annals of Applied Biology, 157: 299–307.

Cordoba-Sellés, C., Cebrián, M., Alfaro-Fernández, A., Muñoz-Yerbes MJ., Jordá-Gutiérrez, C., 2007. First report of *Iris yellow spot virus* in commercial leek (*Allium porrum*) in Spain. Plant disease, 91 (10): 1.365

Cortes, .I, Aires, A., Pereira, AM., Goldbach, R., Peters, D., Kormelink, R., 2002. Genetic organisation of *Iris yellow spot virus* M RNA: Indications for functional homology between the G(C) glycoproteins of tospoviruses and animal-infecting bunyaviruses. Archives of Virology, 147: 2313-2325.

Cortes, I., Livieratos, I. C., Derks, A., Peters, D., and Kormelink, R., 1998. Molecular and serological characterization of Iris yellow spot virus, a new and distinct tospovirus species. Phytopathology, 88:1276-1282.

Coutts, B.A. and R.A.C. Jones. 2003. Suppressing spread of *Tomato spotted wilt virus* by drenching infected source or healty recipient plants with neonicotinoid insecticides to control thrips vectors. Annals of Applied Biology, 146, 95-103.

Değirmenci, K., ve Uzunoğulları, N., 2007. Marmara Bölgesi'nde domates yetiştiricilik alanlarında sorun olan virüslerin belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 47 (1-4) : 72-77.

Diaz-Montano, J., Fuchs, M., Nault, B.A., Shelton, A.M., 2010. Evaluation of onion cultivars for resistance to onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) and *Iris yellow spot virus*. Journal of economic entomology, 103(3):925-37.

Dissart, J.C., and Deller, S.C., 2000. Quality Of Life In The Planning Literature, Journal of Planning Literature, Sage Publications, Inc, 15 (1), 135-161.

du Toit, L.J., Burger, J.T., McLeod, A., Engelbrecht, M, and Viljoen, A. 2007. *Iris yellow spot virus* in onion seed crops in South Africa. Plant Disease, 91:1203.

E. Whipker, 2014. Calla Lily: Mottling and Necrotic Spotting, TSWV, Department of Horticultural Science, NC State University, 3:36.

Elliott, D.R, Lebas, B.S.M., Ochoa-Corona, F.M., Tang, J., Alexander, B.J.R., 2009. Investigation of impatiens necrotic spot virus outbreaks in New Zealand. Australas Plant Pathol, 38:490–495

EPPO, 2011. First finding of *Tomato spotted wild virus* on plants of *Osteospernum eckloni* in Austrai. Reporting Service no:11.

EPPO, 2015. *Tomato spotted wild virus* found again in Austrai. Reporting Service no:02,

EPPO, 1999. Eppo Data Sheets On Quarantıne Pests *Tomato spotted wilt tospovirus*.https://www.eppo.int/QUARANTINE/data_sheets/virus/TSWV00_ds.pdf.

EPPO, 2007a.www.eppo.int/QUARANTINE/virus/Tomato_spotted_wilt_virus/TSWV00_ds.pdf.

EPPO, 2007b. Pest Rısk Analysıs For Irıs Yellow Spot Vırus. https://secure.fera.defra.gov.uk/phiw/riskRegister/downloadExternalPra.cfm?id=3882

EPPO, 2008. 2008/205 Situation of Iris yellow spot virus in onion crops in the Netherlands: 2008 situation. EPPO Reporting Service Nº 10. Accessed: February 8, 2012. http:// archives.eppo.org/EPPOReporting/2008/Rse-0810.pdf.

EPPO, 2010a. First report of *Iris yellow spot virus* in Greece. http://archives.eppo.int/EPPOReporting/2010/Rse-1003.pdf

EPPO, 2010b. Situation of *Iris yellow spot virus* in Serbia. http://archives.eppo.int/EPPOReporting/2010/Rse-1003.pdf

EPPO, 2013. First report *tomato spotted wild virüs* in Bosnia.

Evans, C.K., Bag, S., Frank, E., Reeve, J., Ransom, C., Drost, D, and Pappu, H.R., 2009. Green Foxtail (Setaria viridis), a naturally infected grass host of Iris yellowspot virus in Utah. Plant Dis., 93:670.

Fournier, F., Boivin, G., and Stewart, R. K., 1995. Effect of Thrips tabaci (Thysanoptera: Thripidae) on yellow onion yields and economic thresholds for its management. J. Econ. Entomol., 88: 1401-1407.

Gallitelli, D., and Minafra, A., 1994. Electroforesis. Course On Plant Virus Dıagnosıs, 15- 30 October 1994. Adana-Turkey, s.89- 99.

Gebre-Selassie, K., Chabrière, C., Marchoux, G., 1989. Un Virus Qui Se Rèveille

Gent, D. H., du Toit, L. J., Fichtner, S. F., Mohan, S. K., Pappu, H. R., and Schwartz, H. F. 2006a. Iris yellow spot virus: an emerging threat to onion bulb and seed production. Plant Dis., 90:1468-1480.

Gent, D., du Toit, L. J., Fichtner, S. F., Mohan, S. K., Pappu, H. R, and Schwartz H. F. 2006b. *Iris yellow spot virus*: an emerging threat to onion Bulb And Seed Production. Plant Dis, 90:1468-1480.

German, T.L., Ullman, D.E., and Moyer, J.W., 1992. Tospovirüses: Diagnosis, Molecular Biology, Phylogeny And Vector Relationships. Ann. Rev. Phytopathol., 30: 315- 348.

Goldberg, N., 2005. New Mexico State University, aces.nmsu.edu/pubs/_h/H-255.pdf

Güldür, M.E., Marchouks, M.G.M., Yurtmen, E., and Yılmaz, M.A., 1995. Mersin ve Çevresinde Yetiştirilen domateslerde Zararlı Yeni bir Virüs: Tomato Spotted Wilt Virüs. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 26- 29 Eylül 1995, Adana. Bildiriler, 303- 306.

Haan, P., Wagemakers, L., Peters, D., and Goldbach., R., 1990. The S RNA segment of tomato spotted wilt virus has an ambisense character. Journal of General Virology, 71: 1001-1007.

Hafez, EE., Abdelkhalek, AA., El-Morsi AA., El-Shahaby OA., 2012. First report of *Iris yellow spot virus* infection of garlic and Egyptian leek in Egypt, Plant Dis., 96(4):594

Hall, J.M., Mohan, K., Knott, E.A., and Moyer, J.W.,1993. Tospoviruses associated with scape blight of onion (*Allium cepa*) seed crops in Idaho. Plant Dis., 7: 952.

Hassani-Mehraban, A. Meekes, E. J., Saaijer, D., Peters, R., Goldbach, and Kormelink. R., 2010. A distinct *Tospovirus* causing necrotic streak on *Alstroemeria* sp in Colombia. Archives of Virology, 155: 423–428.

Helguera, P.R., Docampo, D.M., Nome, S.F. And Ducasse, D.A., 2002.Enhanced Detection Of Prune Dwarf Virus İn Peach Leaves Byimmunocapture-Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction With Nested Polymerase Chain Reaction (Ic-Rt-Pcr Nested Pcr).Berlin, J.Phytopathology, 150: 94-96.

Hoepting C., Schwartz H.F., Pappu H.R., 2007. First report of Iris yellow spot virus in onion in New York. Plant Dis., 91: 327.

Hoepting, C. A. J., Allen, K., Vanderkooi, K. D., Fuchs, M. F., Pappu, McDonald, H. R., M. R. ,2008. First report of *Iris yellow spot virus* on onion in Canada. Plant Dis. 92: 318.

http://www.ext.colostate.edu/pubs/garden/02947.

Huchette, O., Bellamy C., Filomenko, R., Pouleau, B., Seddas, S., Pappu, H.R., 2008. *Iris yellow spot virus* on shallot and onion in France. Plant Health Progress Online, doi: 10194/PHP-2008-0610-01-BR.

Jain, R.K., S.S., Pappu, H.R., Culbreath, A.K., And Tood, J.W., 1998. Molecular Diagnosis of Tomato Spotted Wilt Tospovirüs Infection of Peanut and Other Field and Greenhouse Crops. Plant Disease, 82: 900- 904.

Jones, D.R., 2005. Plant viruses transmitted by thrips. European Journal of Plant Pathology, 113: 119-157.

Jorda, C., and Osca, J.M., 1991. Un nuevo virus en España, el TSWV. In: Consejería de Agricultura, Industria y Comercio de Extremadura (ed.). Estudios de Fitopatología. Consejería de Agricultura, Industria y Comercio de Extremadura, Mérida, s.35-40.

Kamberoğlu, A.K., Atakan, E., Uygur, S., Çalışkan, A. F., Küçük, B., 2005. Türkiye'de Ranunculus Spp. Üzerinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tswv) İnfeksiyonuThe Journal of Turkish Phytopathology, 34 (1-2-3):27-29

Kamberoğlu, M.A., Çaliskan, A.F., Alan, B., 2009. First report of *Tomato spotted wilt virus* on eggplant in Turkey. Journal of Plant Pathology, 91: 231-231

Kaminska, M., 1992. The response of gerbera to tomato spotted wilt virus. Phytopathol.Pol., 3: 28-34.

Kaminska, M., and Korbin, M., 1994. New natural hosts of tomato spotted wilt virus. Acta Horticulturae, 377: 123-128

Kendall D.M., Capinera J.L. 1987. Susceptibility of onion growth stages to onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) damage and mechanical damage. Environ., Entomol., 16 (4): 859–863

Kibar, H., 2014. Yalova İli Kesme Çiçek Üretimi Yapılan Alanlarda *Tomato Spotted Wılt Vırus (*TSWV), *Dasheen Mosaıc Vırus* (DSMV) ve *Cucumber Mosaıc Vırus* (CMV)'Lerinin Saptanması Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, 41 s.

Korbin, M., Podwyszynska, M., Komorowska, B., Wawrzynczak, D., 2002. Transformation of *gerbera* plants with *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) nucleoprotein gene. Acta Hort, 522:149-157.

Korkut, A., Yıldırım,T. Görür,G., Çakmak,S., 1995. Türkiye'de Süs Bitkileri Tüketim Projeksiyonları ve Üretim Hedefleri, IV. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, Tarım Haftası Kongre Kitabı, T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları, Ankara, (26):697-714

Kritzman, A., Lampel M., Raccah B., Gera A., 2001. Distribution and transmission of Iris yellow spot virüs, İsrail. Plant Dis. 85:838-842.

Küçük, B., 2006. Adana ve Mersin illerinde Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato Spotted Wilt Virus*)'ünün değisik yöntemlerle saptanması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 72 s.

Le *Tomato Spotted Wilt Virüs* Cultures Lègumières Et Florales. Phytoma, 410s.

Leinhos, G., Muller, J., Heupel, M., and Krauthausen, H.-J. 2007. First report of *Iris yellow spot virus* in bunching and bulb onion crops in Germany. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes (Braunschweig) 59:310-312.

Liu, H., Tolin, S., Bush, E., 2016. First Report of *Tomato spotted wilt virus* on *Pittosporum tobira* in the United States. Dısease Notes, 100 (2):538

Lobin, K., Saison, A., Hostachy, B., Benimadhu, SP., Pappu, HR., 2010. First report of *Iris yellow spot virus* in onion in Mauritius. Plant Disease, 94:645.

Lodos, N. 1982. Türkiye Entomolojisi, Genel Uygulamalı ve Faunistik, Cilt II., Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 429, Ders Kitabı: 542, İzmir.

Mavrik, I., and Ravnıkar, M., 2001. First Report Of Tomato Spotted Wilt Virus and Impatiens Necrotic Spot Virus İn Slovenia. Plant Disease, 85 (12): 1288.

Molenaar, ND., 1984. Genetics, thrips (*Thrips tabaci* L.) resistance and epicuticular wax characteristics of nonglossy and glossy onions (*Allium cepa* L.). University of Wisconsin, Madison.

Mound, L. A., 1996. The Thysanoptera vector species of tospoviruses. Acta Horticulura, 431: 298-307

Mullis, S.W., Gitaitis, R.D., Nischwitz, C., Csinos, A.S., Rafael, Mallaupoma, Z.C., Inguil Rojas E.H., 2006. First report of onion (*Allium cepa*) naturally infected with *Iris yellow spot virus* in Peru. Plant Dis., 90:377.

Mumford, R.A., Barker, I., and Wood, K.R., 1996. The Biology Of The Tospoviruses. Ann. Appl. Biol., 128: 159- 183.

Nagata, T., Almedia, A.L., de Resende, R., and de Avila, C. 1999. The identification of the vector species of iris yellow spot tospovirus occurring in onion in Brazil. Plant Dis., 83:399.

Naidu, R. A., Deom, C. M., and Sherwood, J. L., 2001. First report of *Frankliniella fusca* as a vector of *Impatiens necrotic spot tospovirus*. Plant Dis., 85:11 1211.

Nischwitz, C., Pappu, H.R., Mullis, S.W., Sparks, A.A., Langston, D.R., Csinos, A.S., Gitaitis, R.D., 2007. Phylogenetic analysis of Iris yellow spot virus isolates from Onion (*Allium cepa*) in Georgia (USA) and Peru. *Journal of Phytopathology*, 155: 531-535.

Özdemir, S., Erilmez, S., Kaçan, K., 2009. Detectıon of *Tomato spotted wılt vırus* (TSWV) on tomato crops and some weeds in Denizli. Acta Hort. (ISHS) 808:171-174.

Öztürk, P., 2007. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Yetiştirilen Yerfıstıklarında Zararlı Virüs Hastalıklarının Saptanması ve Tanılanması.Çukurova Üniversitesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 44 s.

Pappu, H. R., 2013. First Report of *Iris yellow spot virus* Infecting Green Onion in Indonesia. Department of Plant Pathology, Washington State University,92 (11): 1,665.2 - 1,665.2

Pappu, H. R., Rosales, I. M., and Druffel, K. L., 2008. Serological and Molecular Assays for Rapid and Sensitive Detect of Iris yellow spot virus Infection of Bulb and Seed Onion Crops. Department of Plant Pathology, Washington State University, Pullman. Plant Dis. 92:588-594.

Pappu, HR., Jones, RAC., Jain, RK., 2009. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: successes achieved and challenges ahead. Virus Res., 141: 219-236.

Parrella, G., Gognolous, P., Gebre–Selassie, K., Vovlas, C., and Marchoux, G., 2003. An Update of the host range of Tomato Spotted wilt virus. Journal of Plant Pathology, 85: 227 – 264

Peters, D., 2003. Host List of TSWV [http://www.dpw.wageningen-ur.nl/viro/research /hostlist.html]

Plenk A., and Grausgruber-Groger S., 2011. First report of Iris yellow spot virus in onions (*Allium cepa*) in Austria. New Disease Reports, 23: 13.

Pozzer L., Bezzera I.C., Kormelink R., Prins M., Peters D., Resende R. de O., de Ávila A.C., 1999. Characterization of a Tospovirus isolate of Iris yellow spot virus associated with a disease in onion fields in Brazil. Plant Dis., 83: 345-350.

Prins, M. & Goldbach, R., 1998. The emerging problem of tospovirus infection and nonconventional methods of control. Trends Microbiol, 6: 31–35.

Robene-Soustrade I, Hostachy B, Roux-Cuvelier M, Minatchy J, Hédont M, Pallas R, Couteau A, Cassam N, Wuster G, 2006. First report of *Iris yellow spot virus* in onion bulb- and seed-production fields in Réunion Island. Plant Pathology, 55-288.

Roggero, P. M. and Ciuffo. 1999. Additional ornamental species as hosts of impatiens necrotic spot tospovirus in Italy. Plant Dis., 83(10): 967.

Rosales, M., Pappu, HR., Mora, R., Aljaro, A., 2005. *Iris yellow spot virus* in onion in Chile. Plant Dis., 89:1245

Rosello, S., Diez, M. J., Nuez, F., 1996. Viral diseases causing the greates economic losses to the tomato crop. I. The tomato spotted wilt virus- a review. Sci. Hort., 67:117-150.

Rueda, A., Badenes-Perez, F. R., and Shelton, A. M., 2007. Developing economic thresholds for onion thrips in Honduras. Crop Prot., 26: 1099-1107.

Sakurai, T., T. Inoue, and S. Tsuda. 2004. Distinct efficiencies of Impatiens necrotic spot virus transmission by five thrips vector species (Thysanoptera: Thripidae) of tospoviruses in Japan. Appl. Entomol. Zool., 39(1): 71-78.

Sampangi, RK., Mohan, SK., Pappu, HR., 2007. Identification of new alternative weed hosts for *Iris yellow spot virus* in the Pacific Northwest. Aps Journals, 91(12):1683.

Samuel, G., Bald, J. G. and Pittman, H. A., 1930. Investigations on 'spotted wilt' of tomatoes. *Australian Council of Science and Industrial Research Bulletin*, 44- 64.

Shahraeen, N., Lesemann, D. E., and Ghotbi, T., 2008 . Viruses İnfecting Onion, Garlic And Leek Crops İn Iranthe Authors. Journal Compilation.

Shock, C.C., Feibert, E., Jensen, L., Mohan, S. K., and Saunders, L. D., 2008. Onion variety response to iris yellow spot virus. HortTechnology, 18: 539-544.

Shoushtari, S., Jafarpour, B., Falahaty Rastegar, M., 2013. Serological and Molecular Detection of Tomato spotted wilt virus (TSWV) in Khorasan Razavi Province. Journal of Plant Protection, 26(4): 43.

Sivaprasad, Y., Garrido, P., Mendez, K., Garrido, A., Ramos, L., 2016. First report of *Iris yellow spot virus* infecting onion in the Pichincha and Tungurahua provinces of Ecuador. *New Disease Reports* 33, 16.

Srinivasan R., Sundaraj S., Pappu H.R., Diffie S., Riley D.G., Gitaitis R.D., 2012. Transmission of Iris yellow spot virus by Frankliniella fusca and Thrips tabaci (Thysanoptera: Thripidae). Journal of Economic Entomology 105: 40-47.

Stankovic, I., Bulajić, A., Vučurović, A. and Ristić, D., 2011. First Report of *Tomato spotted wilt virus* on *Gerbera hybrida* in Serbia. Plant Dis. 95(2):226

Stijger, C.C.M.M., Simmonse, M.P., Verhoeven, J.T.K., 1989. California thrips and *tomato spotted wilt virus.* Discrimination from cucumber mosaic virus is difficult. Weekblad groenten en fruit, 45:30-31.

Szostek, S., A., 2014. Biology And Over-Winter Survival Of Irıs Yellow Spot Virüs In Colorado, Department of Bioagricultural Sciences and Pest Management. Colorado, Doktora Tezi, 149 s.

Şevik, M.A., 2008. Thrips (Thripidae: Thysanoptera) Türleri İle Taşınan Bitki Virüsleri. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi. 25(1):1-11.

Şevik, M.A., Arlı-Sökmen, M., 2013. Samsun İli Sebze Üretim Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan Tospovirüslerin Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetimi Ofisi Başkanlığı Bilimsel Araştırma Projeleri Özetler Kitabı. Proje No:PYO.SMY.1901.10.001.152s.

Şevik, M.A., ve Arlı-Sökmen, M., 2007. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Thrips Türleri (Thrips Tabaci Lindeman Ve Frankliniella İntonsa Trybom) İle Yayılış Durumunun İncelenmesi. Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi 27- 29 Ağustos 2007, Isparta.

Şin, B., 2015. Amasya, Samsun Ve Tokat İllerinde Domates Yetiştirilen Alanlarda Enfeksiyon Oluşturan Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (*Tomato spotted wild virus*, TSWV) İzolatlarının Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, 129 s.

Titiz, S., Çakıroğlu N., Yıldırım T.B., Çakmak S., 2000. "Süs Bitkileri Üretim Ve Ticaretindeki Gelişmeler", Türkiye Ziraat Mühendisliği 5. Teknik Kongresi, , Ankara, 2(38):709-740

Tomassoli, L., Tiberini, A., Masenga, V., Vicchi, V., Turina, M., 2009. Characterization of Iris yellow spot virus isolates from onion crops in northern Italy, 91 (3), 733-739.

Tunç, İ. ve H. Göçmen. 1995. Antalya'da bulunan iki sera zararlısı *Polyphagotar latus* (Banks) (Acarina, Tarsonemidae) ve *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera, Thripidae) üzerine notlar. Türk. Entomol. Der. ,19:101-109.

Tunç, İ., 1985. On some Thysanoptera from the Middle Black Sea region of Turkey. Türk. Bitki Koruma Der., 9:217-224.

TÜİK, 2016a. https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul.

TÜİK, 2016b. http://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=95&locale=tr

Ullman, D.E., Sherwood, J.L., and German. T.L., 1997. Thrips as vectors of plant pathogens, s. 539-565.

Uzun, A., 1991. İstanbul Adalarının Doğal ve Egzotik Bitki Türlerinin Adalar Peyzajındaki Yeri ve Önemi Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Doktora Tezi, 203 s.

Uzunoğulları, N., ve Gümüş, M., 2007. Süs Bitkileri Kongresi, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Bitki Sağlığı Bölümü, 77100 Yalova Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 2:615-620

Weilner, S., and Bedlan, G., 2013. Detection of Iris yellow spot virus (IYSV) in selected Allium species and overwintering hosts in Austrian onion-producing areas, 65 (2): 60–67

Whipker, B. E., 2014. An infection by the *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) of vinca resulted in leaf mottling and necrosis. Stem lesions. http://e-gro.org/pdf/349.pdf

Whitfield, A.E., Ullman, D.E. and German, T.L., 2005. Tospovirus-thrips interactions. Annual Review of Phytopathology, 43: 459-489.

Yardımcı, N., Çulal-Kılıç, H., 2009. Tomato spotted wilt virus in vegetable growing areas in the west mediterranean region of Turkey. African Journal of Biotechnology, 8: 4539-4541.

Zawirska, I., Ruszkiewicz, M., Micinski, B., 1983. The problem of Tomato spotted wilt virus (TSWV) in Poland. Zesztyty Problemowe postepow nauk Rolniczych, 293- 405.

Zhang, Z., Wang, D., Yu, C., Wang, Z., Dong, J., Shi, K., Yuan, X., 2016. Identification of three new isolates of *Tomato spotted wilt virus* from different hosts in China: molecular diversity, phylogenetic and recombination analyses, 13: 8.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta, lise öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2004 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünü kazandı ve 2008 yılında mezun oldu. 2011 yılında Adalar İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü'ne atandı. Adalar ilçesinde 4,5 yıl görev yaptı. 2014 yılında yüksek lisans eğitimine başladı. 2015 yılında İstanbul İl Gıda Tarım ve Hayncılık Müdürlüğü'ne tayin oldu ve halen aynı kurumda görev yapmaktadır. 2015-2017 yılları arasında yapmış olduğu tez çalışmasının sona ermesi ile yüksek lisansını tamamlamış bulunmaktadır.

EKLER

Ek 1.

ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

1. Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7.4 (Fosfat tampon çözeltisi)

8.0 gr NaCl

0.2 gr KH_2PO_4

2.9 gr $Na_2HPO_4.12H_2O$ veya

2.3 gr $Na_2HPO_4.7H_2O$

1.44. gr $Na_2HPO_4.\ 2H_2O$

1.15 gr Na_2HPO_4 (anhdrous)

0.2 gr KCl

0.2 gr 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 ºC'de saklanmıştır.

2. Coating Buffer pH 9.6 (Kaplama tampon çözeltisi)

1.59 gr Na_2CO_3

2.93 gr $NaHCO_3$

0.2 gr NaN_3

Yukarıda miktarı verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip, pH'sı ayarlanmış ve 4 ºC'de saklanmıştır.

3. Washing Buffer (Yıkama tampon çözeltisi)

Bir litre PBS tamponu 0.5 ml Tween- 20 ilave edilerek hazırlanmıştır.

4. Sample Extraction Buffer (Örnek tampon çözeltisi)

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

5. Enzyme Conjugate Buffer (Konjugat tampon çözeltisi)

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

6. Substrat Buffer pH 9.8 (Substrat tampon çözeltisi)

97 ml Diethanolamine 800 ml saf su içine ilave edildikten sonra, 0.2 gr NaN_3 eklenmiş ve HCl ile pH 9.8'e ayarlanarak 1 litreye tamamlanmıştır.

Ek. 2

Total RNA Analizlerinde Kullanılan Solüsyonlar

Ekstraksiyon Buffer (100mM Tris-HCI pH.8.0, 50mM EDTA pH. 7.0, 500 NaCI, 10mM 2-mercaptoethanol (1/1000))

Tris-HCI	2.4228 gr
EDTA	3.7224 gr
NaCI	5.844 gr

Yukardaki miktarlar 150 ml distile su içerisinde sırasıyla çözülmüş, pH ayarlaması yapılmış ve toplam hacim 200 ml'ye tamamlamıştır. Daha sonra 1/1000 oranında 2-mercaptoethanol ilave edilmiştir.

% 20 Sodium Dodecyl Sülfate (SDS)

20 gr sodium dodecyl sülfate 80 ml distile su içerisinde çözülmüş ve hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Potasium asetate (CH3COOK) (5M)

49.075 gr potasium asetate 60 ml su içerisinde çözülmüş ve hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır**.**

Sodium asetate CH3COONa(3M)

40.824 gr sodium asetate 60 ml su içerisinde çözülmüş ve hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır**.**

% 70 lik Ethanol

70 ml %99'luk ethanol ile 29 ml su karıştırılarak % 70 lik ethanol hazırlanmıştır.