

## Çanakkale İlinde *Leek yellow stripe virus* Enfeksiyonunun Güncel Durumu ve İki farklı Gen Bölgesine Göre Kısmi Moleküler Karakterizasyonu

Merve Sarı, Ali Karanfil, Savaş Korkmaz\*

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

### Makale Tarihçesi

Gönderim: 03.03.2020  
Kabul: 08.05.2020  
Yayım: 22.05.2020

### Araştırma Makalesi

**Öz** – Pırasa sarı çizgi virüsü (*Leek yellow stripe virus*, LYSV) pırasa tarımında ekonomik kayıplara neden olan en önemli viral hastalık etmenlerinden birisidir. Ülkemizin farklı illeri ve bölgelerinden LYSV'nin varlığı bugüne kadar yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir. Ancak, yapılan bu çalışmalar virüsün tespiti ve kılıf protein (Coat Protein; CP) geninin moleküler karakterizasyonuna yöneliktir. Ayrıca etmenin enfeksiyonu yıldan yıla değişkenlik gösterebilmektedir. Bu nedenlerle virüsün güncel enfeksiyon durumunun belirlenmesi ve iki farklı gen bölgesine göre virüsün kısmi moleküler karakterizasyonunun yapılması amacıyla bu çalışma planlanmıştır. Bu amaçla, 2019 yılında Çanakkale'nin 3 ilçesinde (Merkez, Ezine ve Ayvacık) arazi çalışmaları yapılarak virüs ve virüs benzeri belirti gösteren 35 pırasa bitkilerinden örnekler alınmıştır. Alınan örnekler double antibody sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) ile LYSV varlığı açısından testlenmiş ve 32 tanesinin enfekteli olduğu bulunmuştur. Enfekteli bulunan örnekler içerisinde 2, daha önce yapılan bir çalışmadan (Korkmaz ve Çevik, 2009) elde edilen örneklerden de 2 tane olmak üzere toplam 4 örneğin nükleer inclusion b (Nuclear Inclusion b; Nib) ve CP gen bölgesi çoğaltılıp dizilerek kısmi moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Yapılan çoklu dizi analizleri sonucunda Çanakkale LYSV izolatlarının her iki gen bölgesine göre de birbirleri ile %90'ın üzerinde dizi benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir. Filogenetik analizler sonucunda ise özellikle Nib bölgesine göre Çanakkale LYSV izolatlarının birbirleri ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler** – ELISA, RT-PCR, Nib, CP, Filogenetik

## Current Status of *Leek yellow stripe virus* in Çanakkale Province of Turkey and Partial Molecular Characterization of Turkish Isolates Based on Two Gene Regions

<sup>1</sup>Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Turkey

### Article History

Received: 03.03.2020  
Accepted: 08.05.2020  
Published: 22.05.2020

### Research Article

**Abstract** – *Leek yellow stripe virus* (LYSV) is one of the most important viral disease agents causing economic losses in leek cultivation. The presence of this virus has been previously reported in different provinces and regions of Turkey. However, those studies to date in Turkey were limited to the detection of LYSV and characterization the coat protein (CP) gene of LYSV isolates. Moreover, the infection rate of LYSV may vary from year to year. Therefore, this study was initiated to determine the current infection situation of LYSV in Çanakkale province, Turkey and partial molecular characterization of the virus based on two different genomic regions. For those purposes, field studies were conducted in 3 districts of Çanakkale province (Merkez, Ezine and Ayvacık), and 35 leek plants showing virus-like symptoms were sampled in 2019. The samples were tested with double antibody sandwich-enzyme-linked immunosorbent (DAS-ELISA) assay for the presence of LYSV and 32 of 35 collected samples were infected with LYSV. The nuclear inclusion b (Nib) and the CP genes of two new and two 2 previously obtained isolates (Korkmaz and Cevik, 2009) were amplified and sequenced for partial molecular characterization. Multiple sequence alignment studies showed that Çanakkale LSYV isolates have over %90 sequence identities with each other based on two genomic regions. Moreover, phylogenetic analysis revealed that Çanakkale LYSV isolates are closely related to each other especially based on Nib region.

**Keywords** – ELISA, RT-PCR, Nib, CP, Phylogenetic

<sup>1</sup>  <http://orcid.org/0000-0003-3447-9104> merwe\_sari97@hotmail.com

<sup>2</sup>  <http://orcid.org/0000-0002-4503-6344> ali.karanfil@hotmail.com

<sup>3</sup>  <http://orcid.org/0000-0001-8227-3800> skorkmaz@comu.edu.tr

\*Sorumlu Yazar / Corresponding Author

## 1. Giriş

Ülkemizde sebze yetiştiriciliği hemen hemen her bölgemizde yapılmakla birlikte özellikle Marmara, Ege ve Akdeniz Bölgeleri'nde daha yoğun olarak yapılmaktadır. Kışlık sebzeler içerisinde pırasa üretimi ticari ya da aile işletmeciliği şeklinde Çanakkale ilinin tüm ilçelerinde yaygın olarak yapılmaktadır. Pırasa, yılın her mevsiminde veya iki senede bir yetişen ve genellikle yaprakları için yetiştirilen bir bitkidir. Pırasa [*Allium ampeloprasum* var. *porrum* (L.)], Liliopsida sınıfı, Asparagales takımı, Alliaceae familyasına dahil olan bir sebzedir (Davis, 1984).

Tarımsal üretimde ürünün kalite ve kantitesine etki eden birçok faktör vardır. Bu faktörlerden birisi hiç kuşkusuz virüs hastalıklarıdır. Bu gruba giren hastalıkların kimyasal bir mücadelesi olmadığı için diğer hastalık etmenlerine göre daha yıkıcı olabilmekte ve bazen üretimde % 70-80'lere varan kayıplara neden olabilmektedirler. Bunun yanında virüsler yetiştirilen ürünün kalite ve pazarlama değerini düşürmektedirler (Conci, Lunello, Buraschi, Italia ve Nome, 2002).

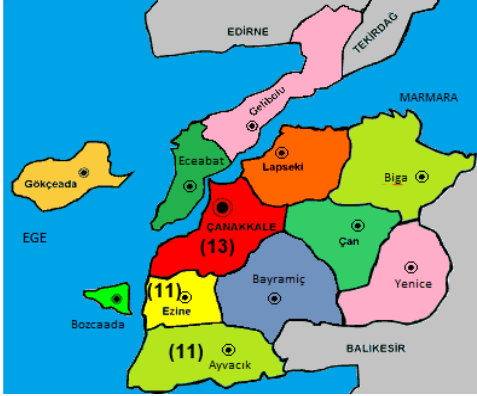
Pırasanın en önemli virüs hastalıklarından birisi *Leek yellow stripe virus* (LYSV)'dür. LYSV, pırasa yetiştiriciliği yapılan ülkemizde ve Avrupa ülkelerinde önemli zararlara neden olmaktadır. LYSV ile bulaşmış bitkilerin gelişiminde zayıflık, cücelik ve solgunluk belirtileri gözlenmektedir. Bunlar pırasanın kalitesi ve kantitesini azalttığı gibi verimde de büyük bir düşüşe neden olmaktadır (Barg, Lesemann, Vetten ve Green, 1993). Bitki virüs hastalıkları arasında potyvirusler büyük ölçüde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Mertens vd., 2005). *Potyviridae* virüs hastalıkları içinde en çok tür barındıran familyadır. LYSV *Potyviridae* familyasına bağlı ve bu gruba dahil olan 175 potyvirus cinsinden bir tanesidir. LYSV partikülleri (+) ssRNA içerir, kıvrımlı, tek parçalı, zarfsız, 815-820 nm uzunluğunda, 12-15 nm çapındadır. Kılıf protein moleküler ağırlığı 34 kDa'dur (Wylie vd., 2017).

Dünyada ve ülkemizde LYSV ile ilgili olarak gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda etmenin farklı seviyelerde moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir (Dovas vd., 2002; Lunello, Ducasse ve Conci, 2005; Fidan ve Baloğlu, 2009; Korkmaz ve Çevik, 2009; Tuzlalı, 2018). Ancak ülkemizde gerçekleştirilen çalışmaların hepsi LYSV'nin kılıf protein genine dayalı kısmi moleküler karakterizasyon çalışmalarıdır. Etmenin diğer genlerinin moleküler özellikleri bilinmemektedir. Bu amaçla gerçekleştirilen bu çalışma kapsamında kılıf protein (Coat Protein; CP) ve nüklear inclusion protein b (Nuclear Inclusion b; Nlb) gen bölgelerinin kısmi moleküler karakterizasyonları gerçekleştirilerek, bundan sonra gerçekleştirilmesi planlanan ülkemiz LYSV izolatlarının tüm genomunun belirlenmesi için bir başlangıç oluşturması amaçlanmıştır. Ayrıca gerçekleştirilen arazi çalışmaları ile de etmenin güncel enfeksiyon durumu tespit edilmiştir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Arazi Çalışmaları

Arazi çalışmaları Çanakkale Merkez ilçe, Ezine ve Ayvacık ilçeleri ticari pırasa üretim alanlarında 2018-2019 üretim sezonunda yürütülmüştür (Şekil 1). Pırasa üretim alanlarının seçimi tesadüfi olarak seçilmiş ve pırasa çeşitleri dikkate alınmadan örnekleme yapılmıştır. Yalnızca tipik olarak virüs ve virüs benzeri belirti gösteren pırasa bitkilerinden örnekler alınmıştır. Alınan örneklerin etiketlenmesi yapıldıktan sonra içlerinde silika jel bulunan 9x10 cm boyutlarında plastik poşetlere konularak buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Getirilen örnekler virüs tanılama çalışmaları yapıncaya kadar ve uzun süreli muhafaza için buzdolabında 4°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Örnekleme yapılan Çanakkale ilçeleri (Parantez içindeki rakamlar o ilçeden toplanan örnek sayılarını ifade etmektedir)

## 2.2. Virüs Tanılama Çalışmaları

Toplanan örneklerdeki LYSV enfeksiyonunun belirlenmesi DAS-ELISA testi ile gerçekleştirilmiştir. DAS-ELISA testleri üretici firmanın (Bioreba, İsviçre) önerileri doğrultusunda Clark ve Adams (1977)'in belirttiği yöntem esas alınarak yapılmıştır. Bu doğrultuda test 4 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Teste ilk olarak 1:1000 oranında kaplama solüsyonu ile sulandırılmış LYSV spesifik IgG, ELISA plakasında yer alan her bir çukura 200 µl olacak şekilde dağıtılarak üstü parafilm ile kapalı bir şekilde 36 °C'de 4 saat inkübe edilerek başlanılmıştır. Sürenin sonunda ekstraksiyon solüsyonu içerisinde ezilen bitki örnekleri ile negatif ve pozitif örneklerden de 200 µl olacak şekilde eklenmiş ve buzdolabında 1 gece (12 saat civarı) 4°C'de inkübe edilmiştir. Testin üçüncü aşamasında her bir çukura 200 µl konjugat IgG ilave edilerek, plaka 36 °C'de 5 saat inkübe edilmiştir. Her bir aşamanın sonunda plaka 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır. Testin son aşamasında ise plaka konsantrasyonu 1 mg/ml olacak şekilde sulandırılan paranitrophenylphosphate eklenerek plaka oda sıcaklığında karanlıkta olacak şekilde en az 30 dakika inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda plaka görsel olarak takip edilmiştir. Ayrıca görsel gözlemler ELISA okuyucusunda 405 nm altında okuma yapılarak doğrulanmıştır.

## 2.3. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları

Toplanan örneklerdeki LYSV ile enfekteli olarak bulunan 2 örnek ve daha önceki çalışmadan elde edilen (Korkmaz ve Cevik, 2009) ve Çanakkale ilinin Avrupa kısmında yer alan Eceabat (TUR-CAN-11) ve Anadolu yakasında yer alan Lapseki (TUR-CAN-148) ilçelerinden birer örnek moleküler karakterizasyon çalışmaları için seçilmiştir. İzolatların seçiminde coğrafik orijinlerinin birbirinden olabildiğince farklı olmasına dikkat edilmiştir. Bu çalışmada LYSV ile enfekteli olduğu belirlenen örnekler içerisinde Merkez (TUR-CAN-50) ve Ayvacık (TUR-CAN-111) ilçelerinden birer izolat seçilmiştir. Bu bağlamda moleküler karakterizasyon çalışmaları LYSV enfekteli toplam 4 örnek üzerinden yürütülmüştür.

### 2.3.1. Total Nükleik Asit İzolasyonu

LYSV ile enfekteli olan örneklerden total nükleik asit (TNA) izolasyonu Li vd. (2008)'nin belirttiği cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TNA'ların kalitesi agaroz jel elektroforezinde kontrol edildikten sonra kullanılıncaya kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 2.3.2. İki Aşamalı Ters Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonunda istenilen gen bölgelerinin çoğaltımı amacıyla ilk olarak komplementer DNA (cDNA)'ların sentezlenmesi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Fermentas (Litvanya) firmasından sağlanan

kit (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit) ile cDNA'ların sentezlenmesi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA'lar kullanılarak hedef gen bölgelerinin çoğaltımı Tablo 1'deki primer çiftleri kullanılarak Takara (Japonya) firmasından sağlanan kitler (PrimeScript RT-PCR Kit) ile Bio-Rad Personel Mini Termal Döngü Cihazı (ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar %1.5'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. İstenilen büyüklükte olan PCR ürünlerinin sahip olduğu nükleotit dizilimleri hizmet alımı (BMLabosis, Ankara) yolu ile çift yönlü olacak şekilde belirlenmiştir.

Tablo 1

Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan primer çiftleri

Kod	Primer Dizisi (5'-3')	Ürün	Hedef Gen Bölgesi	Referans
LYSV-1	CAC ATC AAG AAC ACC AGT TAG AGC	304 bç	CP+3'UTR*	Dovas vd. 2001
LYSV-2	GTA GAA ACT GCC TTG AAC GAG TG			
Nİb_2F	GTI TGY GTI GAY GAY TTY AAY AA	350 bç	Nİb	Zheng, Rodoni, Gibbs ve Gibbs 2010
Nİb_3R	TCI ACI ACI GTI GAI GGY TGN CC			

\*UTR: Translasyon dışı bölge

### 2.3.3. Biyoinformatik Analizler

Elde edilen çift yönlü nükleotit dizileri biyoinformatik yazılımlardan (CLC Main Workbench, Geneious Prime) yararlanarak birleştirilmiş ve konsensüs dizilimler elde edilmiştir. LYSV CP+3' UTR gen bölgesinin CP geninin kısmi CP genine karşılık gelen 187 bç'lik, Nİb gen bölgesinin ise 350 bç'lik kısmı biyoinformatik analizlerde kullanılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen izolatların ilgili gen bölgelerine karşılık gelen dizilimlerde gen bankası (NCBI) veri tabanından alınarak çalışmaya dahil edilmiştir (Tablo 2). Genel olarak gen bankası veri tabanından elde edilen ve hedef gen bölgesi ile uyumlu LYSV izolatlarının sarımsak orijinli olduğu ve her iki gen bölgesi için de pırasadan elde edilen izolatlar olmadığı belirlenmiştir. Elde edilen dizilimler kullanılarak LYSV izolatlarının birbirleri ve dünya izolatları ile göstermiş oldukları filogenetik ilişkileri ve sekans benzerlik oranları araştırılmıştır (Muhire, Varsani ve Martin, 2014). Filogenetik analizlerde *Wild onion symptomless virus* (WoSV) ve *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) dış grup olarak kullanılmıştır.

Tablo 2

Moleküler karakterizasyon çalışmaları kapsamında kullanılan *Leek yellow stripe virus* izolatlarına ait bilgiler

GenBankası Erişim Numarası	İzolat Kodu	Orijin Ülke	Koukçu	Gen Bölgesi
KF597285	SW10	Arjantin	<i>Allium sativum</i>	Nİb+CP*
KP168261	India	Hindistan	<i>A. sativum</i>	Nİb+CP
KP258216	MG	Brazilya	<i>A. sativum</i>	Nİb+CP
AB194623	1A3I	Japonya	<i>A. sativum</i>	Nİb+CP
JX429967	AG1	Avustralya	<i>A. sativum</i>	Nİb+CP
JQ899450	SW3.5	Avustralya	<i>A. sativum</i>	Nİb+CP
JX429965	SG2	İspanya	<i>A. sativum</i>	Nİb+CP
Bu Çalışma Kapsamında Elde Edilen İzolatlara Ait Bilgiler				
GenBankası Erişim Numarası	İzolat Kodu	Orijin Ülke	Konukçu	Gen Bölgesi
MT038061	TUR-CAN-11	Türkiye	<i>Allium porrum</i>	Nİb
MT038062	TUR-CAN-50		<i>A. porrum</i>	Nİb
MT038063	TUR-CAN-111		<i>A. porrum</i>	Nİb
MT038064	TUR-CAN-148		<i>A. porrum</i>	Nİb
MT038065	TUR-CAN-11		<i>A. porrum</i>	CP
MT038066	TUR-CAN-50		<i>A. porrum</i>	CP
MT038067	TUR-CAN-111		<i>A. porrum</i>	CP
MT038068	TUR-CAN-148		<i>A. porrum</i>	CP

\*Nİb:Nuclear Inclusion b, CP: Coat protein

### 3. Bulgular ve Tartışma

Gerçekleştirilen arazi çalışmaları kapsamında tipik olarak viral hastalık benzeri belirti taşıyan 35 bitkiden örnekler alınmıştır. Araziden alınan pırasa örneklerinin DAS-ELISA yöntemi ile testlenmesi sonucunda, 32 bitkinin LYSV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Merkez ve Ayvacık ilçelerinden alınan örneklerin tamamı (toplam 24) LYSV ile enfekteli olarak bulunurken, Ezine'den alınan 11 örneğin 8'i LYSV ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. Elde edilen test sonuçlarına göre, toplanan örneklerdeki LYSV enfeksiyon oranları Merkez ve Ayvacık ilçeleri için %100, Ezine için %72 olarak bulunmuştur (Tablo 3).

Tablo 3.

Virüs tanılama çalışmaları sonuçları

Çanakkale İlçeleri	Enfekteli/Toplanan Örnek Sayıları	Toplanan Örneklerdeki LYSV Enfeksiyon Oranı
Merkez	13/13	%100
Ayvacık	11/11	%100
Ezine	8/11	%72
Toplam	32/35	%91

Test edilen örneklerdeki genel enfeksiyon oranı ise %91 olarak saptanmıştır. Güney Marmara bölgesinde başka bir çalışmada ise LYSV enfeksiyon oranı *Allium* cinsine bağlı pırasa, soğan ve sarımsak bitkilerinde 2014-2017 yılları arasında araştırılmıştır. Gerçekleştirilen bu çalışma sonucunda test edilen örneklerdeki LYSV enfeksiyon oranının % 92.30 olduğu bildirilmiştir (Tuzlalı, 2018). Bu sonuçlar Çanakkale ili pırasa üretim alanlarında LYSV'nin viral hastalık etmenleri arasında yaygın patojen olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte toplanan örneklerin hepsinin virüs ve virüs benzeri belirti taşımaya rağmen, bazı örneklerde LYSV enfeksiyonunun tespit edilmemesinden dolayı, pırasa üretim alanlarında başka viral etmenlerin de olabileceği düşünülmüştür. Nitekim Tuzlalı (2018) ve Fidan (2010) LYSV'den sonra pırasada enfeksiyona neden olan ikinci en önemli viral etmenin *Onion yellow dwarf virus* (OYSV) olduğunu bildirmişlerdir.

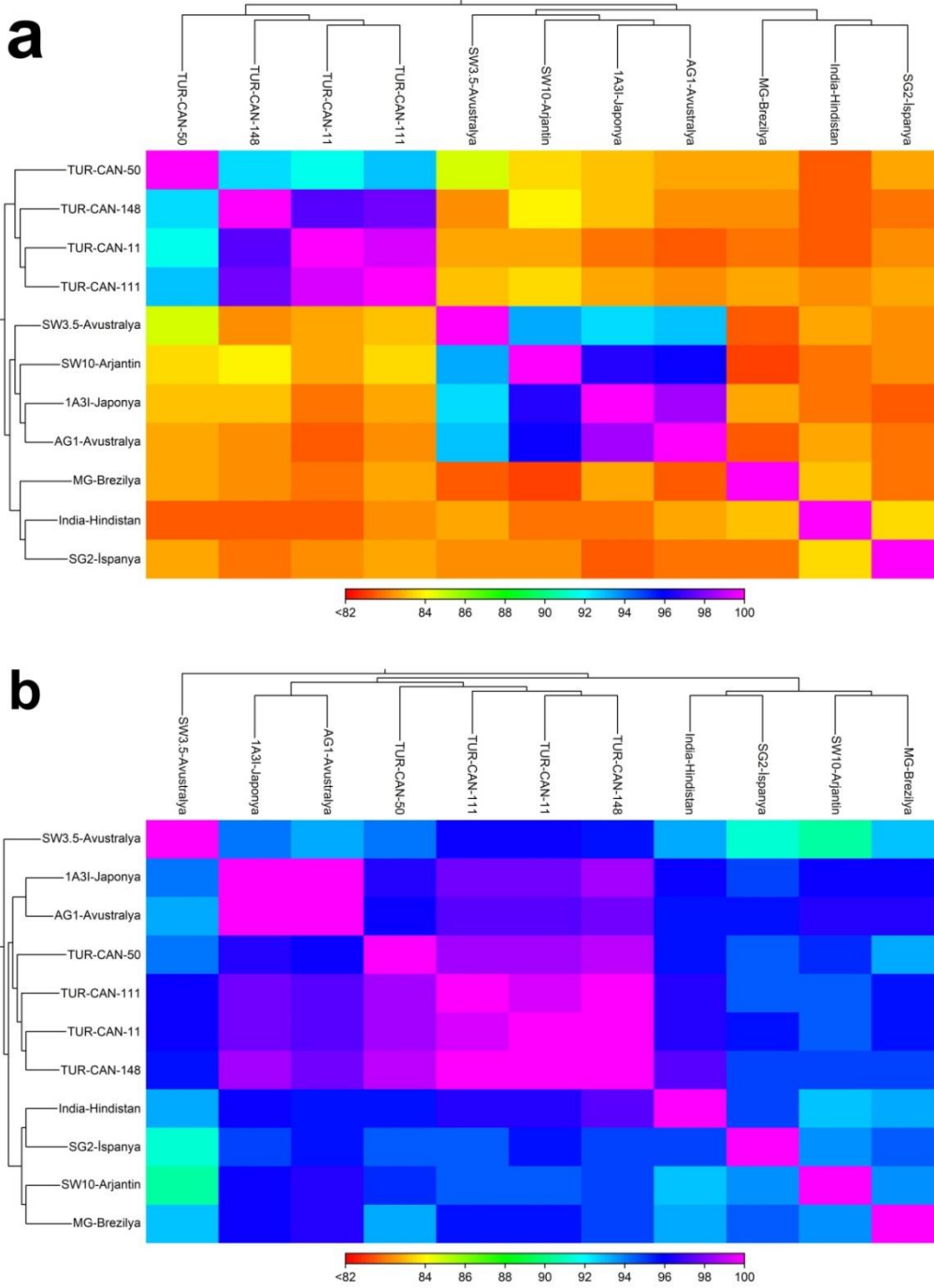
LYSV ile enfekteli olduğu DAS-ELISA testleri sonucunda kesin olarak belirlenen örneklerde görülen en tipik belirtilerin yoğun mozaik belirtilerine ek olarak, virüsün isminden de anlaşılacağı üzere damarlar boyunca şerit şeklinde uzanan renk açılmaları olarak belirlenmiştir (Şekil 1). Benzer belirtiler ülkemiz ve dünyada LYSV ile ilgili olarak gerçekleştirilen çalışmalarda da bildirilmiştir (Pappu, Hellier, ve Dugan, 2005; Kurtuluş, 2012).



Şekil 2. Virüs tanılama çalışmaları sonucunda *Leek yellow stripe virus* ile kesin olarak enfekteli olduğu belirlenen pırasa bitkilerinin arazi koşullarında sahip olduğu belirtiler

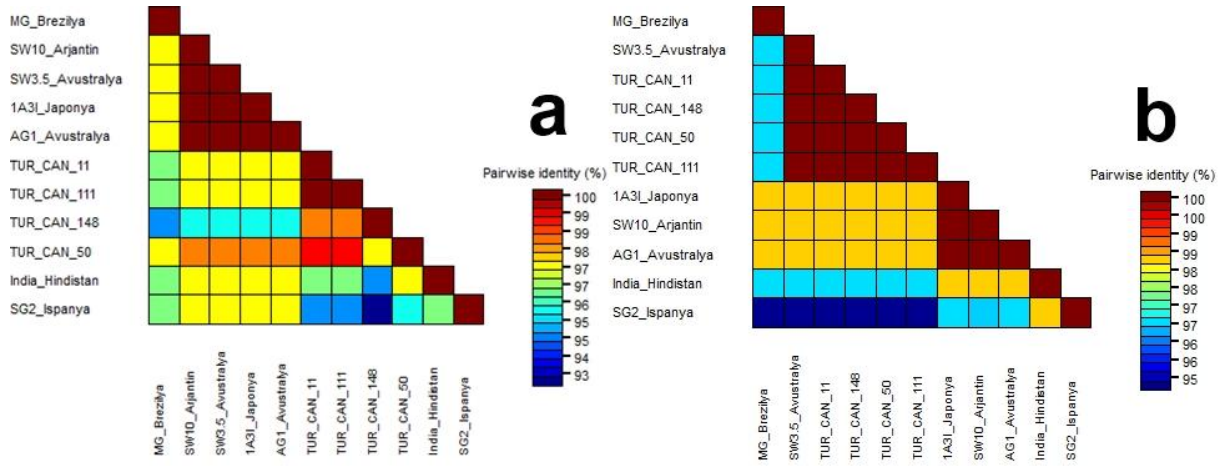
Gerçekleştirilen çoklu dizi karşılaştırmaları sonucunda Çanakkale LYSV izolatları N1b gen bölgesinin nükleotid dizilimlerine göre kendi içlerinde %91-99 oranında, dünya izolatları ile ise %81-84 oranında benzerlik-

ler gösterdiği tespit edilmiştir. Kılıf protein gen bölgesinin nükleotit dizilimlerine göre, LYSV izolatları kendi içlerinde %97-99, dünya izolatları ile %93-97 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Çanakkale ili *Leek yellow stripe virus* izolatlarının dünya izolatları ile nükleotit düzeyinde göstermiş olduğu benzerlik oranları (a: Nuclear inclusion b protein gen bölgesine göre; b: Coat protein gen bölgesine göre)

NIb gen bölgesinin amino asit dizilimlerine göre, Çanakkale LYSV izolatları kendi içlerinde %97-100, dünya izolatları ile ise %95-97 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. CP gen bölgesinin amino asit dizilimlerine göre ise, Çanakkale LYSV izolatlarının kendi içlerinde %100 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Dünya izolatları ile ise %95-100 oranında benzerlikler görüldüğü belirlenmiştir (Şekil 4).

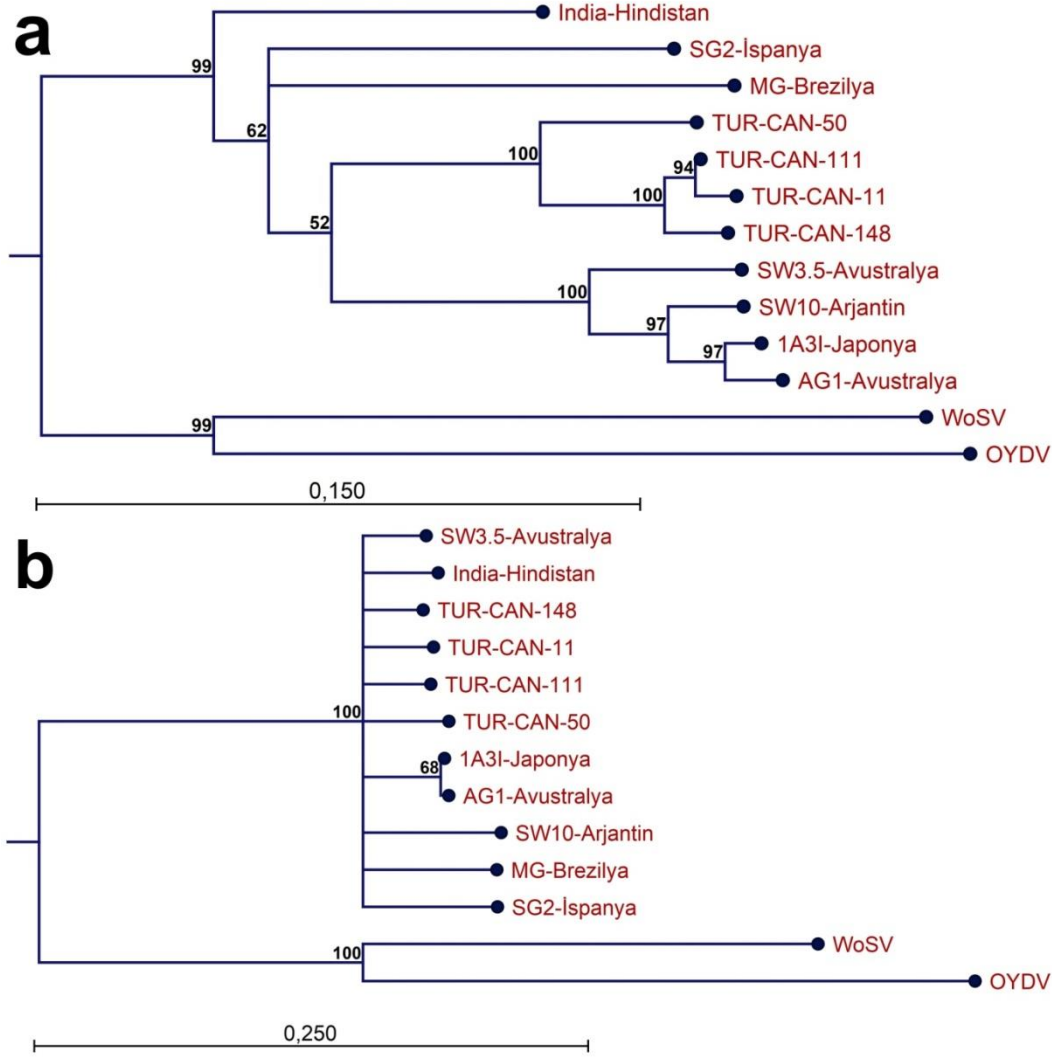


Şekil 4. Çanakkale ili *Leek yellow stripe virus* izolatlarının dünya izolatları ile amino asit düzeyinde göstermiş olduğu benzerlik oranları (a: Nuclear inclusion b protein gen bölgesine göre; b: Coat protein gen bölgesine göre)

Güney Marmara bölgesi *Allium* cinsi bitkilerde LYSV enfeksiyonunun araştırıldığı bir çalışmada da LYSV izolatlarının CP genine göre dünya izolatları ile nükleotit ve amino asit düzeyinde sırası ile %77.9-99.2 ve %78.1-99.6 oranlarında benzerlikler gösterdiği belirtilmiştir (Tuzlalı, 2018). Benzer şekilde Çanakkale ilinde 2012 yılında LSYV izolatlarının CP gen bölgesinin moleküler karakterizasyonu amacı ile gerçekleştirilen başka bir çalışmada da izolatlarının dünya LYSV izolatları ile %77-95 oranında benzerlikler gösterdiği belirtilmiştir (Kurtuluş, 2012). Bu bağlamda, bu çalışma kapsamında da elde edilen benzerlik oranları, yukarıdaki çalışmalardan elde edilen benzerlik oranları ile birbirine paralellik göstermektedir.

Gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda, Nİb gen bölgesine göre Çanakkale LSYV izolatlarının birbirleri ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiş ve dünya izolatlarından ayrı bir küme oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 5a). CP geni temel alınarak gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda ise izolatlar arasında herhangi bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 5b). Nİb gen bölgesine göre izolatlar arasında filogenetik açıdan Türk izolatları farklı bir küme oluştururken, CP gen bölgesine göre bir farklılık bulunmamasının büyük ihtimalle hedef CP gen bölgesinin kısa (187 bç) olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Takaki vd. (2005) Japonya’da sarımsak ve pırasa LYSV izolatlarının moleküler karakterizasyonlarına yönelik yaptıkları bir çalışmada filogenetik olarak pırasa ve sarımsak izolatlarının birbirinden ayrı gruplarda yer aldığını bildirmişlerdir. Brezilya’da LSYV izolatlarının filogenetik ilişkilerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada da, Brezilya LSYV izolatlarının P1 gen bölgesine göre kendi içlerinde %97-99 benzerlikler gösterdiği, dünya izolatları ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda benzerlik oranlarının %51-64’a kadar düştüğü belirtilmiştir (Bampi, Mituti, Pavan, Hammond, ve Krause-Sakate, 2015). Bu bağlamda dünyanın farklı bölgelerinde LYSV izolatlarının moleküler karakterizasyonları sonucu elde edilen bulgular ile bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar birbirine paralellik göstermektedir.



Şekil 5. Çanakkale ili *Leek yellow stripe virus* izolatlarının dünya izolatları ile nükleotit düzeyinde göstermiş olduğu filogenetik ilişkiler (a: Nuclear inclusion b protein gen bölgesine göre; b: Coat protein gen bölgesine göre. Filogenetik ağaçlar neighbor-joining yöntemi ile kimura-2 parametresi ve 1000 bootstrap değeri uygulanarak oluşturulmuştur. Ayrıca, filogenetik ağaçlarda %50 bootstrap eşiği uygulanmıştır)

#### 4. Sonuç

Gerçekleştirilen bu çalışma ile Çanakkale ili pırasa üretim alanlarında LYSV enfeksiyonunun güncel durumu hakkında bilgiler elde edilmiştir. Aynı zamanda ülkemizde ilk kez LYSV izolatlarının NIB gen bölgesinin sekans dizilimlerine yönelik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen benzerlik ve filogenetik analizler sonucunda, dünya sarımsak izolatları ile Çanakkale LYSV izolatlarının sekans dizilimlerinin birbirinden oldukça heterojen bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Bundan sonra yapılacak çalışmaların ülkemiz LYSV izolatlarının tüm genomunun belirlenmesine yönelik olması gerektiği düşünülmektedir.

#### Teşekkür

Bu çalışma kısmen TÜBİTAK 2209-A programı tarafından desteklenmiştir.

#### Yazar Katkıları

Tüm yazarlar eşit katkıda bulunmuştur.



## Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## Kaynaklar

- Bampi, D., Mituti, T., Pavan, M. A., Hammond, J. ve Krause-Sakate, R. (2015). Leek yellow stripe virus isolates from Brazil form a distinct clade based on the P1 gene. *Journal of Plant Pathology*, 97(3), 457-463.  
[https://www.researchgate.net/publication/292816896\\_Leek\\_yellow\\_stripe\\_virus\\_isolates\\_from\\_Brazil\\_form\\_a\\_distinct\\_clade\\_based\\_on\\_the\\_P1\\_gene](https://www.researchgate.net/publication/292816896_Leek_yellow_stripe_virus_isolates_from_Brazil_form_a_distinct_clade_based_on_the_P1_gene).
- Barg, E., Lesemann, D. E., Vetten, H. J. ve Green, S. K. (1993). Identification, partial characterization, and distribution of viruses infecting Allium crops in South and Southeast Asia. *In International Symposium on Alliums for the Tropics*, 358, 251-258.  
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.358.41>
- Clark, M.F. ve Adams, A.N. (1977). Characteristic of the Microplate Method of Enzyme Linked Immune Sorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, 34(3), 475-483.  
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-34-3-475>
- Conci, V. C., Lunello, P., Buraschi, D., Italia, R. R., & Nome, S. F. (2002). Variations of Leek yellow stripe virus concentration in garlic and its incidence in Argentina. *Plant Disease*, 86(10), 1085-1088.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.10.1085>
- Davis, P.H., (1984). Flora of Turkey and the East Aegeon Islands. Vol.8, Edinburgh, Univ. Press, Edinburgh.
- Dovas, C.I., Hatziloukas, E., Salomon, R., Barg, E., Shibolet, Y. ve Katis N.I. (2001). Incidence of viruses infecting Allium spp. in Greece. *European Journal of Plant Pathology*, 107(7), 677-684.  
<https://doi.org/10.1023/A:1011958914573>
- Dovas, C.I., Hatziloukas, E., Salomon, R., Barg, E., Shibolet, Y. ve Katis, N.I. (2002). Comparisons of Methods For Virus Detection in Allium spp. *Journal of Phytopathology*, 149(11-12), 11-12.  
<https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2001.00705.x>
- Fidan, H. ve Baloglu, S. (2009). First report of leek yellow stripe virus on leek in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 91(1), 234.  
[https://www.researchgate.net/publication/290102219\\_First\\_report\\_of\\_Leek\\_yellow\\_stripe\\_virus\\_on\\_leek\\_in\\_Turkey](https://www.researchgate.net/publication/290102219_First_report_of_Leek_yellow_stripe_virus_on_leek_in_Turkey)
- Fidan, H. (2010). *Sarımsak, Soğan ve Pırasa'daki Virüs Hastalıklarının Saptanması ve Taşköprü 56 Sarımsak Tipinin En Yaygın Virüse Karşı Reaksiyonunun Belirlenmesi* (Doktora Tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Korkmaz, S. ve Cevik, B. (2009). Leek yellow stripe virus newly reported in Turkey. *Plant Pathology*, 58(4), 787. [10.1111/j.1365-3059.2009.02049.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02049.x)
- Kurtuluş, E., (2012). *Çanakkale İlinde Pırasa Sarı Çizgi Virüsü (Leek Yellow Stripe Virus; LYSV)'nin Biyolojik ve Moleküler Karakterizasyonu* (Yüksek Lisans Tezi) Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Li, R., Mock, R., Huang, Q., Abad, J., Hartung, J. ve Kinard, G. (2008). A reliable and inexpensive method of nucleic acid extraction for the PCR-based detection of diverse plant pathogens. *Journal of Virological Methods*, 154(1-2), 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.09.008>
- Lunello, P., Ducasse, D. ve Conci, V. (2005). Improved PCR Detection of Potyviruses in Allium Species. *European Journal of Plant Pathology*, 112(4):371-378. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-6232-3>
- Mertens, P. P. C., Maan, S., Samuel, A., Attoui, H., Fauquet, C. M., Mayo, M. A. et al. (2005). Virus taxonomy: eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Fauquet*, 447-454.
- Muhire, B.M., Varsani, A. ve Martin, D.P. (2014). SDT: A virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PLoS One*, 9, 0108277.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108277>

- Pappu, H.R., Hellier, B.C. ve Dugan, F.M. (2005). First report of Onion yellow dwarf virus, Leek yellow stripe virus, and Garlic common latent virus in garlic in Washington State. *Plant Disease*, 89(2), 205-205. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0205C>
- Takaki, F., Sano, T., Yamashita, K., Fujita, T., Ueda, K., ve Kato, T. (2005). Complete nucleotide sequences of attenuated and severe isolates of Leek yellow stripe virus from garlic in northern Japan: Identification of three distinct virus types in garlic and leek world-wide. *Archives of Virology*, 150(6), 1135-1149. <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0482-9>
- Tuzlalı, H.T. (2018). *Güney Marmara Bölgesi'nde Allium Cinsi Bitkilerde Potyviruslerin Tanılanması ve Karakterizasyonu* (Doktora Tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Wylie, S. J., Adams, M., Chalam, C., Kreuze, J., López-Moya, J. J., Ohshima, K. et al. (2017). ICTV virus taxonomy profile: Potyviridae. *Journal of General Virology*, 98(3), 352. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000740>
- Zheng, L., Rodoni, B. C., Gibbs, M. J. ve Gibbs, A. J. (2010). A novel pair of universal primers for the detection of potyviruses. *Plant Pathology*, 59(2), 211-220. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02201.x>