

Orta Anadolu bölgesinde tohumluk olarak kullanılan buğday tohumlarında virüs varlığı

Birol AKBAŞ¹

Diğdem İLHAN¹

Üftade GÜNER¹

SUMMARY

Seed-borne viruses in wheat seeds used by growers in the Central Anatolia region

Wheat seeds collected during 2002-2003 from four different provinces (Ankara, Çorum, Eskişehir and Konya) of the Central Anatolia region in which wheat is widely produced were tested against seed-borne viruses. Seeds of 17 different wheat varieties sown in the region were used. ELISA tests were performed against *Barley stripe mosaic hordeivirus* (BSMV) and *Wheat streak mosaic tritimovirus* (WSMV). Three samples were found to be infected with WSMV among 326 seed samples tested. Infected samples were belong to Montchill, Bezostoja and Dağdaş varieties. The results showed that wheat seeds used by growers in the Central Anatolia region transmit WSMV at rate of 0.92 %.

Key words: *Triticum aestivum* L, seed-borne, virus, Türkiye

ÖZET

Orta Anadolu Bölgesi'nde buğday yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı dört ilin (Konya, Eskişehir, Çorum ve Ankara) farklı ilçelerinden 2002-2003 yıllarında alınan buğday tohumları, virüs varlığı açısından testlenmiştir. Çalışmada üreticilerin tohumluk olarak ektiği 17 farklı buğday çeşidi kullanılmıştır. Buğdayda tohumla taşınan *Barley stripe mosaic hordeivirus* (BSMV) yanında, tohumla çok düşük oranda taşındığı rapor edilen *Wheat streak mosaic tritimovirus* (WSMV)'a karşı da testler yapılmıştır. Bu amaçla bu dört ilin çeşitli ilçelerinden alınan 326 örnek, DAS-ELISA serolojik test yöntemine göre testlenmiştir. Örneklerden

¹ Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, ANKARA
Yazının Yayın Kurulu'na geliş tarihi (Received): 30.11.2005

Montchill, Bezostoja ve Dağdaş çeşitlerine ait birer örnek WSMV ile bulaşık bulunmuştur. Bölgemizde üreticilerin tohumluk olarak kullandığı buğdayların % 0.92 oranında WSMV ile bulaşık bulunduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Triticum aestivum* L, tohum kaynaklı, virüs, Türkiye

GİRİŞ

Buğday (*Triticum*), buğdaygiller (Poaceae) familyasından olup, bütün dünyada en fazla üretilen ve tüketilen bir hububat çeşididir. Tarımsal hammaddeler içinde besin maddesi olarak kullanılanların en önemlisi buğdaydır. Günümüzde dünya nüfusu, günlük enerji gereksiniminin %60'dan fazlasını hububattan, özellikle de buğdaydan sağlamaktadır.

Uluslararası Buğday Konseyi (İngilizcesi) tarafından yapılan son tahminlere göre 2002 dünya buğday üretimi 580 milyon ton civarındadır. Bunun yanı sıra Türkiye dünya ülkeleri arasında 17,5 milyon tonluk üretimi ile 10. sırada yer almakta olup, dünya üretimindeki payı %3 civarındadır. Ülkemizde yaklaşık olarak 27 milyon ha'lık tarım ekiliş alanından 9.1 milyon ha ekiliş alanına sahip olan buğday, en çok İç Anadolu bölgesinde yetiştirilmektedir. Bu nedenle bölge "Türkiye'nin buğday ambarı" olarak da anılmaktadır (Anonymous 2003).

Ülkemiz açısından dikkate alındığında gerek ekili arazi, üretim miktarı, ekonomik değeri, gerekse toplumumuzun beslenmesinde başta gelen ekmek, bulgur, makarna vb. gibi çeşitli ürünlerin hammaddesi olan buğday, Rize ilimiz dışında tüm illerimizde üretilmektedir. Ekim alanı yanında iklim ve toprak koşulları, uygulanan tarım tekniği ile hastalık ve zararlılara bağlı olarak verim yıldan yıla değişmektedir. Buğday verimini etkileyen zararlı organizmalardan biri de virüslerdir. Virüsler buğdayda latent olarak yer alabildiği gibi ölümcül hastalıklara da yol açabilirler. Diğer bitki virüsleri 1950'li yıllarda çok iyi bilinmesine karşın, buğdayda yalnızca buğday mozaik virüsü (*Wheat soil borne mosaic furovirus*, SBWMV) daha iyi bilinmekteydi. Bugün yaklaşık olarak buğdayda 50 virüs ve benzeri etmenin varlığı saptanmıştır. Bunlardan yaklaşık 32 tanesi buğdayda doğal olarak yer almaktadır. Buğdaygillerdeki virusler oldukça dinamik ve değişken bir yapıdadır. Bu alanda daha birçok virüs ve viroid tanımlanmayı beklemektedir. Çünkü bunlardan bazıları besin maddesi eksiklik ve fazlalığı ya da paraziter olmayan hastalıklar olarak gözden kaçmış olabilir (Wiese 1991).

Ülkemizde de serin iklim tahıllarında yapılan virolojik çalışmalar sınırlı düzeyde kalmış olup, bu konuda daha fazla ve detaylı çalışma yapılması gerekmektedir. Bugüne kadar ülkemizde serin iklim tahıllarında yapılan çalışmalarda 10 farklı virüsün (*Barley stripe mosaic hordeivirus*, *Barley yellow dwarf luteovirus*, *Barley yellow striate mosaic cytorhabdovirus*, *Brom mosaic bromovirus*, *Cereal yellow dwarf polerovirus*, *Oat necrotic mottle virus*, *Soilborne wheat mosaic furovirus*, *Wheat dwarf monogeminivirus*, *Wheat streak mosaic*

*tritimo*virus, *Wheat striate mosaic virus*) varlığı bildirilmiştir (Bremer 1971, 1974, Kurçman 1981, Makkouk et al. 1996, Köse and Ertunç 1999, Pocsai et al. 2003, Köklü 2004, İlbağı et al. 2005).

Son yıllarda bölgemizde buğday alanlarında nedeni belli olmayan hastalıklar ortaya çıkmıştır. Sorunlardan bazılarının virüsten kaynaklanabileceğinden şüphelenilmiştir. Bu çalışma, buğdaylarda tohumla taşınan virüslerin sorunlarda payı olup olmadığının ortaya konulması için yapılmıştır. Bu amaçla tohumla taşınan *Barley stripe mosaic hordeivirus* (BSMV)'un (Zilinsky 1983) yanında, tohumla taşınma ihtimali olan *Wheat streak mosaic tritimo*virus (WSMV) (Roger et al. 2005)'un varlığı Orta Anadolu Bölgesi'nde buğday yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı illerden toplanan tohumluk buğday örneklerinde araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Orta Anadolu bölgesinin en önemli buğday yetiştiriciliğinin yapıldığı Ankara, Çorum, Eskişehir ve Konya illerinin farklı yörelerine ait yetiştiricilerden toplanan tohumluk buğday örnekleri çalışmanın ana materyalini oluşturmuştur. Virüs varlığını saptamada kullanılan ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) metodunda kullanılan kimyasal ve sarf malzemeleri ile Barley stripe mosaic hordeivirus (BSMV) ve Wheat streak mosaic potyvirus (WSMV) antiserumları (LOEWE), mekanik inokulasyonlarda kullanılan *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* ve *Nicotiana tabacum* cv. Samsun bitkileri çalışmanın diğer materyalini oluşturmuştur.

Ankara (67 adet), Çorum (108 adet), Eskişehir (84 adet) ve Konya (67 adet) illerinden 17 farklı çeşitten (Altay 2000, Bezostaja 1, Çakmak 79, Dağdaş 94, Flamura 85, Gerek 79, Golia, Gün-91, Haymana 79, Kunduru 414/44, Kate A-1, Kutluk 94, Momtchill, Sonora 63, Sultan 95, Tekirdağ, Türkmen) toplanan 326 adet buğday örneği, her petriye 10 tohum olmak üzere nemli ortama alınarak oda sıcaklığında 1 hafta çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlenen tohumlardan ELISA testinde kullanılmak üzere her örnek için 1 g çimlenmiş yeşil aksam örneği alınmıştır. Daha sonra bu örnekler antiserumların temin edildiği firmanın (LOEWE) protokolüne göre DAS-ELISA testine tabi tutulmuştur. Örnekler 10 ml ekstraksiyon tampon solüsyonunda havan-havan eli yardımıyla ekstrakte edilmiştir. DAS-ELISA testinde pleytler BSMV ve WSMV IgG'leri ile kaplanmıştır. İnkübasyondan (4 saat 37°C'de) sonra 3 kez 3'er dakika PBS-T (Phosphate Buffer Saline-Tween) ile yıkanan pleytler bitki ekstraktları ile kaplanmış ve bir gece buzdolabında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 3 kez 3'er dakika PBS-T ile yıkanan pleytler, BSMV ve WSMV konjugatları ile kaplanarak inkübasyona (4 saat 37°C'de) bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra 3 kez 3'er dakika PBS-T ile yıkanan pleytlere, substrat tampon solüsyonunda 1/1 oranında p-nitro phenyl phosphate ilave edilerek hazırlanmış substrat solüsyonu damlatılmış ve bir saat oda sıcaklığında karanlık bir ortamda tutularak test tamamlanmıştır. Testin absorbans

değerleri 405 nm dalga boyundaki Bio-tek EL 311 model ELISA okuyucusunda ölçülmüştür. Negatif kontrol değerlerinin ortalamasının üç katından fazla absorbands değeri sahip örnekler pozitif kabul edilmiştir.

ELISA test sonuçlarına göre virüsle bulaşık olduğu düşünülen buğday örnekleri mekanik inokulasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla, 3-4 yapraklı *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* ve *Nicotiana tabacum* cv. Samsun test bitkileri kullanılmıştır (Atabekov and Novikov 1971, Brakke 1971). Örnekler 0.01M fosfat tamponu (1/5) yardımıyla ezilmiştir. Elde edilen ekstraktlar cam baget yardımı ile yapraklara celite serpilerek inokule edilmiştir. Daha sonra bitkiler seraya alınmıştır. İnokulasyondan 5 gün sonra, bitkiler virüs varlığı açısından izlenmeye başlanmıştır. Bitkilerde virüs belirtisinin gelişip gelişmediği 20 gün takip edilmiştir.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmada toplanan ve çimlendirilen 326 buğday tohum örneğinden yapılan serolojik (DAS-ELISA) testlerde, Montchill, Bezostoja ve Dağdaş çeşitlerine ait 3 örnek WSMV antiserumuna karşı pozitif reaksiyon vermiştir. Testlenen örneklerin hiçbiri BSMV antiserumuna karşı pozitif reaksiyon vermemiştir. DAS ELISA testlerinde pozitif kontroller 2.000'nin üzerinde absorbands değeri vermişken, negatif kontroller 0.100-0.105 arasında absorbands değeri vermiştir. WSMV'ye karşı pozitif reaksiyon veren örneklerin değerlerinin ortalamaları da sırasıyla 0.320, 0.370 ve 0.390 olarak bulunmuştur. Test edilen örneklerden yaklaşık 6 tanesi WSMV'ye karşı, 4 tanesi de BSMV'ye karşı negatif kontrol değerlerinin ortalamasının 2 katından fazla absorbands değeri vermiştir. Bu örnekler şüpheli kabul edilmiş ve 3 pozitif örnekle beraber toplam 13 örnek *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* ve *Nicotiana tabacum* cv. Samsun'a inokule edilmiş ve bu test bitkilerinde herhangi bir virüs belirtisi gözlenmemiştir. Nitekim WSMV bu test bitkilerinde herhangi bir belirti oluşturmamaktadır (Brakke 1971). Bu bitkiler BSMV'nin test bitkileri arasında yer almakta ve BSMV bunlarda sistemik olmayan geniş klorotik lokal lekelere neden olmaktadır (Atabekov and Novikov 1971). Bu sonuçlara göre test edilen tohumlarda BSMV'nin bulunmadığı bununla birlikte, 3 örnekte de (% 0.92) WSMV'nin yer aldığı tespit edilmiştir.

Tohumla taşınan BSMV'nin ülkemizde bulunduğu dair ilk kayıt Bremer (1974)'e aittir. Tohumla taşınma ihtimali olan WSMV (Roger et al. 2005) ile ilgili ilk kayıt yine Bremer (1971) tarafından yapılmıştır. Buna ilaveten Köse ve Ertunç (1999) Eskişehir ili buğday ve arpa tarlalarında yapmış oldukları çalışmalarda toplanan 51 buğday ve arpa örneğinin 8'inde BSMV'nin varlığını rapor etmişlerdir. Son yıllarda ülkemizde çoğunlukla Trakya bölgesinde yoğunlaşan çalışmalar serin iklim tahıllarında bulunan virüsler ve yaygınlığı üzerinde araştırmalar şeklinde olmuştur (Pocsai et al. 2003, Köklü 2004, İlbağı et al. 2005). Bu çalışmalarda Köklü (2004) BSMV'nin Türkiye'de buğdaylarda ilk kez rapor edildiğini belirtmiştir. İlbağı ve ark. (2005) yapmış oldukları çalışmada ilk yıl toplanan 90

örneğin %10'unun WSMV ile bulaşık olduğunu bildirmişlerdir. Ülkemizde konu ile ilgili yapılan çalışmalarla bu araştırmanın bulgularını karşılaştırdığımızda, varlığı daha önce saptanan ve tohumla taşınan BSMV'nin bölgemiz buğday tohumluklarında yer almaması sevindirici bir durum olarak değerlendirilmiştir. Buna karşın, WSMV'nin buğday tohumlarında %0.5-1.5 taşındığını kanıtlayan Roger ve ark. (2005)'nin çalışmasına paralel olarak, WSMV'nin %0.92 oranında buğday tohumlarında bulunması ilginç bir sonuç olarak karşımıza çıkmıştır. Dolayısıyla bu çalışma, ülkemizdeki varlığı önceki çalışmalarda belirlenmiş olan WSMV'nin akar (*Aceria tulipae*) (Slykhuis 1955) ve çeşitli yabancı Graminae'lerle taşınmasının yanında (Ellis et al. 2004) buğday tohumları ile taşınması, sertifikalı buğday tohumluklarında bu virüsün de dikkate alınması gerektiğini ortaya koymuştur. Bu nedenle tohum hareketlerinde ve yeni açılmış tarlalara ekilen tohumlukların bu virüs açısından da kontrol edilmesi gerekmektedir. Aynı zamanda, bu çalışma kabul edilmiş WSMV epidemiyolojisinin yeniden gözden geçirilmesi gerekliliğini de ortaya koymuştur. Sonuç olarak, bölgemizde ve ülkemizde endemik olan bu virüsün, ithal edilen tohumluklarda uygun karantina kontrollerinin yapılarak ya da en azından bu virüsün varlığının bilinmediği ülke ya da bölgelerden alınması ve buna bağlı olarak yurt içinde ticari buğday tohumluklarında kontrol edilmesi, virüsün bölgemiz ve ülkemizde salgın oluşturma riskini azaltacaktır.

LİTERATÜR

- Anonymous, 2003. Tarımsal yapı-üretim, fiyat, değer. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası, Ankara, 546s.
- Atabekov, J. G. and Novikov, V. K., 1971. *Barley stripe mosaic virus*. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses, No. 68, 4 pp.
- Brakke, M.K., 1971. *Wheat streak mosaic virus*. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses, No: 48. 4pp.
- Bremer, K., 1971. Wheat streak mosaic virus in Turkey. *Phytopathologia mediterranea*, 10:3 280-282 p.
- Bremer, K., 1974. Virus diseases of Graminea in Finland and Turkey. *Annales Agriculture Fenniae*, 13:3 129-148.
- Ellis, M.H., Rebetzke G.J., Kelman W.M., Moore C.S. and Hyles J.E. (2004). Detection of *Wheat streak mosaic virus* in four pasture grass species in Australia. *Plant Pathology*, 53: 239.
- İlbağı, H., Çıtır, A. and Yorgancı, Ü., 2005. Occurrence of virus infections on cereal crops and their identifications in the Trakya region of Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 112 (4): 313–320.
- Köklü, G., 2004. Occurrence of cereal viruses on wheat in Tekirdag, Turkey. *Phytoprotection*, 85:19-25 p.

- Köse, A. and Ertunç, F., 1999. Virus diseases of wheat and barley in Eskişehir province. *Journoul of Turkish Phytopathology*, 28:1-2, 55-62.
- Kurçman, S., 1981. Eskişehir ilinde buğday'da görülen Buğday mozaik virüs hastalığı üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 21:1-17.
- Makkouk, K.M., Bertschinger, L., Conti, M., Bolat, N. and Düşünceli, F., 1996. *Barley yellow striate mosaic rhabdovirus* naturally infects cereal crops in the Anatolian plateau of Turkey. *Journal of phytopathology*, 144: 7-8, 413-415.
- Pocsai, E., Citir A., Ilbagi H., Köklü G., Korkut K., Murányi I., Vida G., 2003. Incidence of *Barley yellow dwarf virus*, *Cereal yellow dwarf virus* and *Wheat dwarf virus* in cereal growing areas of Turkey. *Agriculture*, 49: 583-591.
- Roger, A., Jones C., Coutts B.A. and Mackie A.E., 2005. Seed transmission of *Wheat streak mosaic virus* shown unequivocally in Wheat. *Plant disease*, 89 (10): 1048-1050.
- Slykhuis, J. T. 1955. *Aceria Tulipae* Keifer (Acarina: Eriophyidae) in relation to the spread of wheat streak mosaic. *Phytopathology* 45:116-128.
- Wiese, M.V., 1991. Disease caused by viruses and viruslike agents. *Compendium of Wheat Diseases*. APS Publications, second printing, St. Paul, Minnesota 55121-2097, USA, 112 pp.
- Zilinsky, F.J., 1983. *Common Diseases of Small Grain Cereals. A Guide to Identification*. CIMMYT, 141 pp.