

TRABZON VE BAYBURT İLLERİNDE TOHURLUK PATATES (*Solanum tuberosum* L.) YUMRULARINDA BELİRLenen VİRÜSLER

Miray ARLI SÖKMEN

O.M.Ü, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun

A. Kemal AYAN

O.M.Ü, Bafra Meslek Yüksek Okulu, Bafra, Samsun

M. Ali ŞEVİK

O.M.Ü, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun

Geliş Tarihi: 09.03. 2005

ÖZET: Patates üretiminin yapıldığı alanlardaki tohumluk patateslerde enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi amacıyla, 2004 yılında Trabzon ve Bayburt iline bağlı ilçelerden yumru örnekleri toplanmıştır. Alınan örneklerin DAS-ELISA (Double antibody sandwich- enzyme linked immunosorbent assay) yöntemi ile test edilmesi sonucunda bu yumruların *Patates X virüsü* (PVX) ve *Patates Y virüsü* (PVY) ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Test edilen toplam 159 yumrunun % 38.9' u PVX, % 1.9' i PVY ile bulaşık olarak tespit edilmiştir. Test edilen patates yumru örneklerinin hiç birisinin *Patates yaprak kıvrıcılık virüsü* (PLRV) ile bulaşık olmadığı saptanmıştır.
Anahtar Kelimeler: Virus, PVX, PVY, PLRV, patates.

VIRUSES INFECTING POTATO TUBERS IN TRABZON AND BAYBURT PROVINCES

ABSTRACT: Tuber samples were collected to determine the viruses infecting seed potatoes during surveys in Trabzon and Bayburt provinces in 2004. The results of ELISA tests revealed that tubers were infected with *Potato virus Y* (PVY) and *Potato virus X* (PVX). Of the 159 tubers tested, 38.9% and 1.9% were infected with PVX and PVY, respectively. It was found that none of the tubers were infected with *Potato leaf roll virus* (PLRV).
Key Words: Virus, PVX, PVY, PLRV, potato.

1. GİRİŞ

Dünya'da yaklaşık 312 milyon ton patates (*Solanum tuberosum* L.) üretimi yapılmaktadır. Ülkemizde ise 198.000 ha alanda yaklaşık 5.200.000 ton patates üretimi mevcuttur. (Anonymous, 2004). Patates bitkisinde yaklaşık 75 farklı etmen hastalık oluşturmaktadır (Zitter ve Gallenberg, 1984) ve bu hastalık etmenlerinin başında virüs hastalıkları gelmektedir. Dünya'da 30 ayrı virüs patates bitkisinde enfeksiyona sebep olmakta ve bunların 13'ü afidler ile taşınmaktadır (Salazar, 1996). Oluşan zararın miktarı, patatesin çeşidine, virüsün irkına, enfeksiyon zamanında bitkinin bulunduğu fenolojik döneme, iklimsel faktörlere ve vektör popülasyonuna bağlı olarak değişmektedir (Parry, 1990; Johnson, 1999; Anonymous, 2000). *Patates Y virüsü* (PVY; Cins *Potyvirus*, Familya *Potyvridae*) ve *Patates yaprak kıvrıcılık virüsü* (PLRV; Cins *Polerovirus*, Familya *Luteoviridae*), patatesin en önemli viral hastalıklarıdır (Brunt, 2001).

Patates vejetatif olarak yumruları ile çoğaltılan bir kültür bitkisidir. Virüs ile bulaşık patates yumrularının kullanılması durumunda virüsler yıldan yıla, bölgeden bölgeye taşınmaktadır. Bu nedenle gerek tohumluk gerekse sofralık patates üretiminde Dünya'da ve ülkemizde patates virüsleri sebebiyle önemli kayıplar oluşmaktadır. Bazı virüs hastalıklarının

patates bitkisinde simptom oluşturmaması veya oluşan simptomların birbirine benzemesi sebebiyle belirtilere göre etmenin teşhisi zordur (Hooker, 1981). Bu sebeple patates yumru ve yaprak örneklerinin test edilmesi için hassas teşhis ve tanı yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Günümüzde ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birisidir ve özellikle örnek sayısının fazla olması durumunda moleküler yöntemlere göre pratik ve ekonomik olması bakımından daha avantajlıdır (Arli-Sökmen et al., 1998).

Çeşitli ülkelerden temin edilen patates tohumluklarının veya ülkemizde tohumluk olarak yetiştirilerek üreticilere dağıtılan yumruların *Patates X Virüsü* (PVX), PVY, PLRV, *Patates S virüsü* (PVS) ve *Patates A virüsü* (PVA) ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Çıtır, 1980 ve 1982; Çalı ve Yalçın, 1991; Eraslan, 1991; Bostan, 1996; Bostan ve Demirci, 2001).

Bu çalışmada, Trabzon'un Maçka, Tonya, Araklı, Çaykara, Köprübaşı ilçelerinde ve Bayburt iline bağlı Aydıntepe ilçesinde patates üretim alanlarından alınan yumrulara sorun oluşturan virüslerin Double Antibody Sandwich (DAS)-ELISA yöntemi kullanılarak belirlenmesi ve bölgenin tohumluk yumrularının PVX, PLRV ve PVY ile bulaşıklık durumunun ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Survey Çalışmaları

Trabzon iline bağlı 5 ilçede (Araklı, Çaykara, Köprübaşı, Maçka, Tonya), ve Bayburt iline bağlı Aydıntepe ilçesinde patates yetiştiriciliğinin yapıldığı rakımı 250-1900 m olan arazilerde örnekleme çalışması yapılmıştır. Surveylerde, 53 farklı klona ait toplam 507 adet yumru alınmıştır. Toplanan yumruların virüs ile bulaşık olup olmadığının belirlenmesi amacıyla her klona ait 3'er adet yumru rasgele seçilerek toplam 159 yumru test edilmek üzere ayrılmıştır.

2.2. Serolojik Çalışmalar

Patates yumruları, DAS-ELISA yöntemi ile ve PVX, PVY ve PLRV poliklonal antiserumları (Loewe Biochemica, Amanyta) kullanılarak test edilmiştir. DAS-ELISA yöntemi Clark ve Adams (1977)' a göre ve antiserumların temin edildiği firmanın önerileri izlenerek uygulanmıştır.

Test edilecek patates yumrularından 3X20 mm boyutlarında silindirik parçalar çıkarılmıştır. Virüs dağılımının düzensiz olabileceği ihtimaline karşı yumrunun 5 farklı noktasından çıkarılan parçalar %0.05 Tween-20, %0.1 yağsız süt tozu ve %2 polivinyl pyrrolidone (PVP-40) içeren ekstraksiyon tampon çözeltisinde (PBS: 0.13 M NaCl, 0.014 M KH₂PO₄, 0.08 M Na₂HPO₄.12H₂O, 0.002 M KCl, pH: 7.4) homojenize edilmiştir (1g örnek:10 ml çözelti). Daha sonra örnekler, önceden kaplama tampon çözeltisinde (pH:9.6) 1:200 oranında sulandırılarak hazırlanan antiserum ile kaplanmış ELISA mikropleytlerine (NUNC, Danimarka) 100 µl olacak şekilde ilave edilmiştir. 1 gece +4°C' de buzdolabında bekletilmiş olan mikropleytler, yıkama tampon çözeltisi (PBS+Tween 20) ile 5 defa yıkandıktan sonra konjugat tampon çözeltisinde 1/1000 oranına göre sulandırılan konjugat'dan 100'er µl mikropleytin her bir çukuruna ilave edilmiştir. Örnek tampon çözeltisi aynı zamanda konjugat tampon çözeltisi olarak da kullanılmıştır. Konjugat inkubasyonu 37°C' de 4 saat yapılmıştır. Mikropleyt çukurları tekrar yıkandıktan sonra substrat (p-nitrofenil fosfat, Sigma) diethanolamin tampon çözeltisi (pH: 9.8) içerisinde 1mg/ml olacak şekilde hazırlanmış ve mikropleyt çukurlarına 100'er µl ilave edilmiştir. Mikropleytler oda sıcaklığında 30-120 dk. inkubasyona bırakılmıştır. Her bir testte sağlıklı patates bitkilerinin yaprakları 1:10 oranında ekstraksiyon tampon çözeltisi ile homojenize edildikten sonra negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Sonuçlar ELISA mikropleyt okuyucusunda (Tecan Spectra II, Grödig/Salzburg, Avusturya) 405 nm dalga boyunda absorbans değerlerinin alınmasıyla elde edilmiştir. Negatif kontrollerin

absorbans değerlerinden iki katı ve daha fazla değer veren örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Davis, 1986; Sammons *et al.*, 1989; Al-Shahwan *et al.*, 1995).

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

Trabzon iline bağlı Maçka, Tonya, Araklı, Çaykara ve Köprübaşı ilçeleri ve Bayburt iline bağlı Aydıntepe ilçesinin köylerinde yapılan surveylerde, toplanan 53 farklı klona ait 159 yumru DAS-ELISA yöntemi ile serolojik olarak test edilmiştir. Test edilen yumruların %38.99'unda (62 yumru) PVX, %1.88'inde (3 yumru) PVY enfeksiyonu belirlenmiştir. Sadece bir yumruda (%0.62) PVX+PVY ikili enfeksiyonu tespit edilmiştir. Test edilen 159 yumrunun hiç birisi PLRV ile enfekteli bulunmamıştır (Çizelge 1).

Tohumluk patateslerdeki virüs bulaşıklık durumunun incelenmesi amacıyla Erzurum ve çevresinde yürütülen çalışmada, patates üreticilerinin kullandıkları tohumluk patates yumrularının %43.6 oranında PVX, %40.5 PVY, %10 PLRV, %5.8 PVS ve çok az oranda PVA ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, bölgede tohumluk olarak kullanılan patateslerin %96 oranında patates virüsleri ile bulaşık olduğu, buna karşılık sadece %4' lük kısmının virüs ile bulaşık olmadığı belirlenmiştir (Çıtır, 1982). Tokat ilinde yapılan çalışmada, Kazova ve Niksar Ovalarında üretimi yapılan tohumluk patates yumrularında, biyolojik ve serolojik yöntemler kullanılarak PVX, PVY ve PLRV tespit edilmiştir (Çıtır ve ark., 1999). Bolu, Erzurum, İzmir, Niğde ve Nevşehir gibi farklı bölgelerden alınan patates yumru örneklerinin test edilmesi sonucunda yumruların PVY (%17.7), PLRV (%14.2), PVX (%11.8) ve PVS (%4.6) ile bulaşık olduğu belirlenmiştir (Bostan and Haliloğlu, 2004).

Bu çalışmada, Trabzon ve Bayburt yöresi patates yumrularında %38.9 oranında bulaşıklığı belirlenen PVX, mekaniksel olarak bitki özsuyu ile, tarım alet ve ekipmanları ile bulaşmaktadır (Matthews, 1992). PVY ile bulaşık olduğu belirlenen yumruların ikisinin Tonya ilçesinde 500 ve 249 m rakım yüksekliğindeki arazilerden ve birinin Araklı ilçesinde 653 m rakım yüksekliğindeki araziden alınan yumrular olduğu belirlenmiştir. Test edilen 159 yumrudan sadece 3'ünün PVY ile bulaşık olması, bu bölgede PVY'nin yaygın olmadığını göstermiştir. PVY, 73 farklı afid (yaprak biti) türü ile non-persistent olarak taşınmaktadır (Varveri, 2000). Ayrıca, çok sayıda yabancı ot PVY'nin konukçusu durumundadır (Anonymous, 2000). PLRV ise afidlerle ile sirkulatif persistent şekilde taşınmaktadır (Matthews, 1992). Genellikle saatte 5 km'nin üzerindeki rüzgarın etkisiyle oluşan

Çizelge 1. Trabzon ve Bayburt İllerinde Tohumluk Patates Alanlarından Alınan Patates Yumrularında DAS-ELISA Yöntemi İle Saptanan Virüsler ve Örneklerin Alındığı Yerlerin Rakım Değerleri

İl	İlçe	Toplanan Örnek Sayısı	Test Edilen Örnek Sayısı	PVX	PVY	PLRV	Örneklerin Toplandığı Yerlerin Rakımı (m)
Trabzon	Maçka	155	57	30	0	0	250-1600
	Tonya	144	51	15	2	0	700-1300
	Araklı	116	39	14	1	0	650-750
	Çaykara	80	6	0	0	0	700-1200
Bayburt	Köprübaşı	7	3	3	0	0	850
	Aydıntepe	5	3	0	0	0	1900
TOPLAM		507	159	62	3	0	
Yüzde (%)				38.9	1.9	0	

hava türbülansına kapılan afitler bazen yüksek alanlara sürüklenebilirler (Radcliffe and Ragsdale., 2002). Ancak bu rakım değerlerine sahip bölgelerde afit popülasyonu diğer alanlara göre daha az olmaktadır. Bu çalışmada afit ile taşınma özelliğinde olan PVY'nin sadece 3 yumru örneğinde (%1.8) tespit edilmesi ve PLRV ile bulaşık hiçbir yumruya rastlanmaması bölgede bu virüslerin taşınmasında etkili olan uygun vektör türlerinin olmadığını ya da az oranda bulunduğunu düşündürmektedir. Vektör türlerin bu bölgedeki varlığı ve hangilerinin yaygın olduğu konusunda detaylı çalışmalara gereksinin vardır.

Bu çalışmada, test edilen ve pozitif olduğu belirlenen yumruların hiçbirisinde virüs semptomuna rastlanmamıştır. Benzer şekilde, Çalı ve Yalçın (1991), Bolu ilinde tohumluk patates üreticilerinden temin ettikleri patates yumrularının semptomatolojik olarak negatif olmasına rağmen, ELISA yöntemi ile PVX, PVY, PLRV ve PVS ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar virüslerin patates yumrularında latent enfeksiyona sebep olduğunu göstermiştir.

Patates virüs hastalıkları ile mücadelede dayanıklı çeşit kullanımı ve patates bitkisi yumru ile çoğaltıldığı için üretimde virüssüz yumru kullanılması oldukça önemlidir. Özellikle, PVY ve PLRV gibi, tohumluk yumru ile yıldan yıla, bölgeden bölgeye taşınan virüsler afit türleri ile etkili bir şekilde yayılabilmekte, afit popülasyon artış oranına paralel olarak enfekteli bitki sayısı ve bitkilerde oluşan verim kayıpları fazlalaşmaktadır (Basky, 2002; Halbert ve ark., 2003). Bu sebeple vektör ve temas yolu ile bulaşmanın mümkün olduğunca önlenmesi gerekmektedir. Ayrıca, patatesin agronomik özellikleri için elverişli ve afit popülasyonunun az olduğu alanların bölgede belirlenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu makaleyi okuyup, olumlu katkıda buldukları için Yrd. Doç. Dr. Selim Ayaç ve Yrd. Doç. Dr. Funda Arslanoğlu (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü)'na teşekkür ederiz.

4. KAYNAKLAR

- Al-Shanwan, I.M., O.A. Abdalla and M.A. Al-Saleh. 1995. Response greenhouse-grown cucumber cultivars to an isolate of Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV). *Plant Disease*. 79: 898-901.
- Anonymous, 2000. Patates entegre mücadele teknik talimatı. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. TAGEM. Bitki Sağlığı Araştırmalar Daire Başkanlığı, Ankara. s. 97.
- Anonymous, 2004. Tarım İstatistikleri Özeti. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enst. Ankara.
- Arlı-Sökmen, M., H. Barker, and L. Torrance, 1998. Factors affecting the detection of potato mop-top virus in potato tubers and improvement of test procedures for more reliable assays. *Ann. Applied Biology* 133: 55-63.
- Basky, Z., 2002. The relationship between aphid dynamics and two prominent potato viruses (PVY and PLRV) in seed potatoes in Hungary. *Crop Protection* 21: 823-827
- Bostan, H., 1996. Erzurum yöresinde patates X ve S virüs hastalık oranları ile konukçu çevrelerinin belirlenmesi ve bu etmenlerin dsRNA analizi ile tanımlanması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, s. 55.
- Bostan, H, ve E. Demirci, 2001. Patates X ve Y virüslerinin bazı patates çeşitlerinde neden olduğu semptomlar. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 31(1): 1-4.
- Bostan, H. and K. Haliloğlu. 2004. Distribution of PLRV, PVS, PVX and PVY (PVY^N, PVY^O and PVY^C) in the seed potato tubers in Turkey. *Pakistan J. of Biological Sciences* 7 (7): 1140-1143.
- Brunt, A. A. 2001. The main viruses infecting potato crops. In: Loebenstein, G., P.H. Berger, A.A. Brunt, and R.H. Lawson (eds), *Virus and Virus-like Diseases of Potatoes and Production of Seed-*

- potatoes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 65-67.
- Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34: 475-483.
- Çalı, S., Yalçın, N. 1991. İthal edilmiş tohumluk patateslerde Önemli Virüs Hastalıklarının DAS-ELISA ve Diğer Yöntemlerle Araştırılması. VI. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri (7-11 Ekim 1991, İzmir). s: 333-336.
- Çıtır, A., 1980. Erzurum ve çevresindeki patates virüs hastalıkları ve bunların tanınması üzerinde bazı araştırmalar. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Erzurum. Doçentlik Tezi, s. 105.
- Çıtır, A., 1982. Erzurum ve çevresindeki tohumluk patates virüs hastalıkları ve bunların tanınması üzerinde bazı araştırmalar. *Doğa Bilim Dergisi* 6(3): 99-109.
- Çıtır, A., M. E. Tugay, M. Doğanlar, G. Yılmaz, F. Eraslan, K. Kara ve K. Çağatay, 1999. Tokat ilinde yayla ve ova koşullarında tohumluk patates üretimini sınırlayan zararlılar ve hastalıklar. II. Ulusal patates Kongresi (28-30 Haziran 1999, Erzurum). s.185-190.
- Davis, R. F., 1986. Partial Characterization of Zucchini Yellow Mosaic Virus Isolated from Squash in Turkey. *Plant Disease* 70: 735 – 738.
- Eraslan, F. 1991. Değişik Tohumluk Patates Üretim Merkezlerinde Virüslerden İleri Gelen Yozlaşmalar ve Tohumluk Üretimine Etkileri. VI. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri (7-11 Ekim, 1991, İzmir). s.337-340.
- Halbert, S.E., D.L. Corsini, and M.A. Wiebe, 2003. Potato virus Y transmission efficiency for some common aphids in Idaho. *American Journal of Potato Research*, 80: 87-91.
- Hooker, W.J., 1981. Compendium of potato diseases. American Phytopathological Society Pres., St.Paul, Minnesota, USA. p. 125.
- Hooker WJ (1981) Compendium of Potato Diseases. American Phytopathological Society, St Paul (US). p. 125.
- Johnson, S.B., 1999. Potato Facts: Potato diseases caused by PVY and PLRV. University of Maine, Cooperative Extension Bulletin 2492: 1-2.
- Matthews, R. E. F. 1992. Fundamentals of Plant Virology. London: Academic Press. p. 403.
- Parry, D.W., 1990. Plant Pathology in Agriculture. Cambridge University Pres, Cambridge, New York, USA. p. 384.
- Radcliffe, E.B. and D. W. Ragsdale. 2002. Aphid-transmitted potato viruses: The importance of understanding vector biology. *American Journal of Potato Research*. 79: 353-387.
- Salazar, L.F. 1996. Potato viruses and their control. CIP, Lima, p. 241.
- Sammons, B., O.W. Barnet, R.F. Davis and M.K. Mizuki, 1989. A survey of viruses infecting yellow summer squash in South Carolina. *Plant Disease*. 73: 401-404.
- Varveri, C., 2000. Potato Y potyvirus detection by immunological and molecular techniques in plants and aphids. *Phytoparasitica* 28: 1-8.
- Zitter, T.A., and D. F. Gallenberger, 1984. Vegetable crops: Virus and viroid disease of potato. Fact Sheet. p. 725-750.