

## **Güney Marmara Bölgesi'nde *Allium* Cinsi Bitkilerde Soğan Sarı Cücelik Virüsü'nün Elisa Yöntemi ile Belirlenmesi**

**Hasan Tuna Tuzlalı, Ali Karanfil, Savaş Korkmaz**

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 17100, Çanakkale  
**e-posta:** tunatuzlali@comu.edu.tr

### **Özet**

Soğan (*Allium cepa*), sarımsak (*Allium sativum*) ve pırasa (*Allium porrum*) ekonomik değerlerinin yanı sıra besleyici özellikleri ve tıbbi aromatik bitki özelliği taşımaları nedeni ile tarımsal üretimde büyük önem taşırlar. 2014 yılı verilerine göre ülkemizde 1.938.255 ton soğan, 116.089 ton sarımsak ve 223.303 ton pırasa üretimi gerçekleştirilmiştir. *Allium* cinsi bitkilerin üretimini sınırlandıran birçok hastalık bulunmaktadır. Bu hastalıklardan birisi de verim ve kalite kayıplarına neden olan Soğan sarı cücelik virüsü (*Onion yellow dwarf virus*; OYDV)'dir. Bu çalışmada Çanakkale, Bursa ve Balıkesir illerinde pırasa, sarımsak ve soğan üretimi yapılan alanlarda OYDV'nin varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda 2014-2015 üretim sezonu içerisinde bir sorvey gerçekleştirilerek OYDV ile infekteli olduğu düşünülen ve kloroz, budurluk, yapraklarda kıvrılma ve bükülme belirtileri gösteren 78'i pırasa, 52'si soğan ve 35'i sarımsak olmak üzere toplam 165 bitki toplanmış ve OYDV'ye özgü ticari poliklonal antikorlar kullanılarak DAS-ELISA ile test edilmiştir. DAS-ELISA testleri sonucunda 165 örnekten 68'i pozitif olarak saptanırken, 8 örnek ise şüpheli olarak değerlendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Güney Marmara Bölgesi, Soğan sarı cücelik virüsü, OYDV, Elisa

\* Bu çalışma "Güney Marmara Bölgesi'nde *Allium* Cinsi Bitkilerde Potyviruslerin Tanınması ve Karakterizasyonu" isimli doktora çalışmasının bir bölümüdür.

### **Determination of *Onion yellow dwarf virus*; (OYDV) in *Allium* Genus Plants in South Marmara Region by Elisa Method**

#### **Abstract**

Besides their economic value, onion, garlic and leek have huge importance in agricultural production due to their nutritional properties and their medicinal aromatic plant characteristics. According to 2014 statics, onion production was 1.938.225 tons, garlic production was 116.089 tons and leek production was 223.303 tons in Turkey. There a lot of diseases that restricts production of plants from *Allium* genus. One of these diseases is *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) which causes important loses in yield and product quality. The aim of this study is to determination of the presence of OYDV in garlic, onion and leek production areas in Çanakkale, Bursa and Balıkesir provinces. As regards to this aim, a survey for OYDV infected plants was conducted in 2014-2015 production seasons. A total of 165 samples was collected including 78 leek samples, 52 onion samples and 35 garlic samples, which shows symptoms like chlorosis, dwarfing and leaf roll. These samples were tested by DAS-ELISA with using special polyclonal antibodies for OYDV. As a results of DAS-ELISA tests, out of 165 samples 68 were positive and eight was found as suspicious of OYDV.

**Keywords:** South Marmara Region, *Onion yellow dwarf virus*, OYDV, Elisa

\* This study is a part of a PhD study called "Detection and Characterization of Potyvirus in Plants of *Allium* Genus in South Marmara Region".

#### **Giriş**

Dünya nüfusunun hızla arttığı ve de kıt kaynakların kullanımının daha da önemli hale geldiği günümüz koşullarında, hem artan besin ihtiyacının karşılanması hem de sağlıklı ve dengeli beslenme dinamiklerinin oluşturulması için sebzelere olan ihtiyacımız gün geçtikçe artmaktadır. Bu sebzelerden pırasa, soğan ve sarımsağın, besleyici özelliklerinin bulunması, lezzetli olmaları, birim alandan yüksek getirilerinin olması, geniş alanlarda farklı ekolojik istekleri olan coğrafyalarda

üretimlerinin yapılabilmesi ve ayrıca tıbbi aromatik bitki özelliği taşımaları, *Allium* cinsi içerisinde yer alan bu türlerin diğer bazı sebze türlerine göre önemli üstünlükleri arasında sayılabilmektedir.

Ülkemizde 2014 yılı verilerine göre 1.938.255 ton soğan, 116.089 ton sarımsak ve 223.303 ton pırasa yetiştiriciliği yapılmıştır. Güney Marmara Bölgesi'nin yetiştiricilikteki payı, pırasada %20, soğan ve sarımsakta ise yaklaşık olarak %6 civarındadır (Anonim, 2014). Soğan, sarımsak ve pırasanın üretimini

sınırlandıran birçok viral hastalık etmeni bulunmaktadır.

Bu viral etmenler arasında bulunan Soğan sarı cücelik virüsü (*Onion yellow dwarf virus*; OYDV) *Allium* türlerini infekte eden en önemli virüs hastalığıdır (Van Dijk, 1993). Viral hastalık etmeni, dünya genelinde yaygındır ve Yunanistan, Arjantin, Çek Cumhuriyeti, Mısır, Brezilya, Hindistan ve Sudan'da yüksek oranlarda saptanmıştır (Dovas ve ark., 2001; Conci ve ark., 2003; Klukáčková ve ark., 2004; Abd El Wahab ve ark., 2009; Fayad-André ve ark., 2011; Katis ve ark., 2012; Kumar ve ark., 2012; Mohammed ve ark., 2013). OYDV'nin 50'den fazla yaprakbiti türü ile non-persistent olarak taşındığı (Drake ve ark., 1933), vektörleri arasında en etkin olanın başta *Myzus persicae* olduğu ve onu takiben *Aphis craccivora* ve *A. gossypii* olduğu rapor edilmiştir. (Abd El-Wahab, 2009; Kumar ve ark., 2011). OYDV, ilk olarak soğan bitkisinde Amerika (Iowa)'da tanımlanmış ve konukçu dizini *Allium* türleri ile sınırlandırılmıştır (Melthus ve ark., 1929). Virüs, başlıca soğan ve sarımsakta enfeksiyon oluşturmakla birlikte Shallot (Arpacık soğanı) ve pırasa da hastalığın diğer konukçuları arasındadır.

Soğan sarı cücelik virüsü genel olarak konukçularında bodurlaşma, mozaik ve sarı çizgiler, büzüşme ve çiçek sapının yapısında bozulma ile çiçek oluşumu, tohum sayısı ve kalitesinde azalmalara neden olmaktadır (Bos, 1976).

OYDV, soğanlarda sarı çizgilere, sararmalara, bükülmelere, yapraklarda yassılaşma ve büzüşme ile bitkinin cüceleşmesine neden olur. Tohumlu bitkilerde çiçek sapı yuvarlak ve şişkin kalmasına rağmen sararma ve bozulma gözlenir. Buna ek olarak çiçek sapı normalden kısa olur, tohum sayısında ve kalitesinde sıklıkla azalma gözlenir (Kumar ve ark. 2012). OYDV enfeksiyonları tohumlarda (%50'ye kadar), soğan ağırlığı ve boyutunda (%40'a kadar) ve ürünün depolama sürecinde kayıplara neden olur (Conci ve ark., 2003; Elnagar ve ark., 2011; Kumar ve ark., 2012). OYDV, sarımsaklarda virüs izolatu ve çeşide bağlı olmak üzere orta şiddetten kuvvetliye doğru parlak klorotik çizgilere ve sarımsak gelişimi ve boyutunda azalmalara neden olmaktadır (Arya ve ark., 2006).

“Güney Marmara Bölgesi'nde *Allium Cinsi Bitkilerde Potyviruslerin Tanılanması ve Karakterizasyonu*” isimli doktora çalışmasının bir bölümünü oluşturan bu çalışmada Bursa, Balıkesir ve Çanakkale illerinde soğan, sarımsak ve pırasalarda Soğan sarı cücelik virüsü (OYDV)'nün varlığının serolojik bir yöntem olan DAS-ELISA (Double-Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

## **Materyal ve Yöntem**

### **Materyal**

Çalışmanın ana materyalini 2014-2015 üretim sezonu içerisinde, Güney Marmara Bölgesi'nde bulunan Bursa, Balıkesir ve Çanakkale ili ve ilçelerinden toplanan pırasa, soğan ve sarımsak bitkileri oluşturmuştur.

Üretiminin ticari olarak yoğun yapıldığı tarlaların yanı sıra, küçük parsellerde üretim yapılan alanlarda ve ev bahçelerinde de arazi çıkışları yapılmış, sararma, bodurluk, yapraklarda kıvrılma ve bükülme belirtileri gösteren bitki örnekleri toplanmıştır.

### **Yöntem**

Soğan sarı cücelik virüsü'nün serolojik bir yöntem olan Elisa (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) testi ile teşhisinde Bioreba (İsviçre) firmasından sağlanan Elisa komple kit ve 96 çukur içeren Microtiter plate'ler kullanılmıştır. Toplanan örnekler DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Elisa testi, üretici firmanın önerileri doğrultusunda Clark ve Adams (1977)'in belirttiği yöntem temel alınarak yapılmıştır.

### **Bulgular**

Arazi çalışmaları kapsamında Çanakkale (Merkez, Ezine, Çan, Biga, Lapseki ilçeleri), Bursa (Mustafakemalpaşa ve Karacabey ilçeleri) ve Balıkesir (Merkez ve Edremit ilçeleri) illerinden OYDV ile infekteli olduğu düşünülen ve kloroz, bodurluk, yapraklarda kıvrılma ve bükülme ile boyuna dik düzenli sarı çizgi belirtileri gösteren 78'i pırasa, 52'si soğan ve 35'i sarımsak olmak üzere toplam 165 bitki örneği toplanmıştır.

Toplanan örnekler, OYDV'nin varlığının belirlenmesi amacı ile DAS-ELISA ile test edilmiş ve Elisa testi sonucunda 68 örnek (%41.21) OYDV ile infekteli olarak saptanırken, 8 örnek ise şüpheli olarak değerlendirilmiştir.

## **Tartışma ve Sonuç**

Bitki virüs hastalıkları kültür bitkilerinin üretimini sınırlandıran ve kesinlikle mücadele edilmesi gereken patojenlerdir. Viral hastalık etmenleri ile mücadele edilebilmesi için, şüphesiz etmenin iyi tanınması ve karakterize edilmesi gerekir. “Güney Marmara Bölgesi’nde *Allium* Cinsi Bitkilerde Potyviruslerin Tanılanması ve Karakterizasyonu” isimli doktora tez çalışmasının bir bölümünü kapsayan bu çalışmada da ilk olarak OYDV ile infekteli izolatların varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda daha önceleri yapılmış çalışmalara istinaden bodurlaşma, mozaik ve sarı çizgiler ile bitki yapısında bozulma vb (Bos 1976; Saffar 2013) belirtileri gösteren bitki örnekleri toplanmış ve OYDV’nin varlığını belirlemek üzere DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Elisa testi sonucunda infekteli olan ve olmayan örnekler ait bazı fotoğraflar Şekil 1, 2 ve 3’te yer almaktadır.

ELISA testi serolojik bir yöntem olup, bitki virüs hastalıklarının teşhis edilmesinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Yöntemin hızlı ve pratik olması ve ticari olarak virüslere spesifik antiserum hazırlanan kitlerin kolay temin edilmesi yöntemin önemli avantajları arasında yer almaktadır. Tüm bu avantajların yanı sıra virüslerin çapraz reaksiyon gösterebilmesi ya da bitkide bulunan virüs konsantrasyonunun düşük olması gibi dezavantajlardan dolayı teşhiste sorunlar yaşanabilmektedir.

Hastalıklı bitki sayılarının ve/veya oranlarının belirlenmesinde kuşkusuz bitki çeşidi, virüs streynleri ve çalışma kapsamına bağlı olarak sonuçlarda izlenen stratejiler büyük rol almaktadır. Bu vb sebeplerden dolayı çalışmalarda elde edilen bitki sayılarının ve/veya oranları farklılıklar gösterebilmektedirler.

Bu çalışmada DAS-ELISA testleri sonucunda 165 örnekten 68’i (%41.21) OYDV ile infekteli bulunurken pırasa, sarımsak ve soğanlarda infeksiyon oranları sırası ile %44.21, %94.28 ve %0 olarak belirlenmiştir. Hastalıklı bitki sayıları ve toplam bitki sayıları Çizelge 1 ‘de verilmiştir. Soğan bitkisi OYDV’nin önemli konukçuları arasındadır ve bu çalışmada infekteli soğan bitkisinin bulunamamasının başlıca nedeninin virüs ile infekteli olduğu düşünülen bitkilerde oluşan belirtilerin, diğer virüs ve virüs benzeri hastalıklar ya da herbisit

zarının oluşturduğu belirtiler ile karıştırılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer çalışmalarda Wahab ve ark. (2009), soğan, sarımsak ve pırasalarda OYDV’nin varlığını sırası ile %86.9, %70.5 ve % 29.5 olarak belirlemişlerdir. Saffar ve ark. (2013), OYDV infeksiyonlarını %94, Bağı ve ark. (2012) ise %30.5 olarak saptamışlardır.

OYDV, *Allium* cinsi bitkilerin en önemli hastalığı olarak bilinmektedir. Hastalık tüm dünya üzerinde olduğu gibi ülkemizde de farklı bölgelerde tespit edilmiştir (Fidan, 2010; Şevik, 2012). OYDV, yaprakbitleri ile uzak mesafelere kısa sürede yayılabilmektedir. Bu nedenle hastalık etmeninin yayılmasını önleyecek tüm tedbirlerin alınması gerekmektedir. Bu tedbirlerin başında vektörlerle mücadele ve infeksiyon kaynaklarının yok edilmesi gelmektedir.

Hastalık etmenine karşı uygulanacak kontrol yöntemleri arasında dayanıklı çeşit kullanımı oldukça önem taşımaktadır. Mücadele edilmesi gereken virüslere karşı dayanıklılık çalışmalarının geliştirilmesinde virüslerin karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar, kaynak niteliği taşımasından dolayı ayrıca bir öneme sahiptirler .

Bu çalışma ile Güney Marmara Bölgesi’nde OYDV’nin varlığı tespit edilmiştir. “Güney Marmara Bölgesi’nde *Allium* Cinsi Bitkilerde Potyviruslerin Tanılanması ve Karakterizasyonu” isimli çalışmanın bir bölümü olan bu çalışmanın tamamlanabilmesi ile bölgede bulunan OYDV izolatlarının karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesi planlanmaktadır.

Elde edilecek tüm verilerin, hastalığın orijin bölgesinin saptanması ve evrimsel gelişimi ile daha fazla bilgi edinilmesine, hastalık ile ilgili ülkemizde devam edecek çalışmalara yön vermesine ve bu kapsamda olası yeni konukçuların bulunmasına yönelik çalışmaların artırılmasına olanak sağlayabilecektir.

## **Kaynaklar**

- Abd El-Wahab A.S., 2009. Aphid-transmission efficiency of two main viruses on garlic in Egypt, Onion Yellow Dwarf Virus (OYDV-G) and Leek Yellow Stripe Virus (LYSV-G). Academic Journal of Entomology, 2(1):40-42.
- Abd El-Wahab A.S., Elnagar, S., El Sheikh, M.A.K., 2009. Incidence of aphid-borne Onion yellow dwarf virus (OYDV) in alliaceae crops and

- associated weeds in Egypt. 4th Conference on Recent Technologies in Agriculture, 21–33.
- Arya, M., Baranwal, V.K., Ahlawat, Y.S., Singh, L., 2006. RT-PCR detection and molecular characterization of Onion yellow dwarf virus associated with garlic and onion. *Current Science* 91 (9):1230–1234.
- Bagi, F., Stojšin, V., Budakov, D., El Swaeh, S.M.A., Gvozdanović-Varga, J., 2012. Effect of onion yellow dwarf virus (OYDV) on yield components of fall garlic (*Allium sativum* L.) in Serbia. *African Journal of Agricultural Research* 7 (15):2386–2390.
- Bos, L., 1976. Onion yellow dwarf virus. CMI/AAB. Descriptions of plant viruses, vol 158, Wageningen, The Netherlands.
- Clark, M.F., Adams, A.N., 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Genet. Virol.*, 34:475–483.
- Conci, V.C., Canavelli, A., Lunello, P., 2003. Yield losses associated with virus-infected garlic plants during five successive years. *Plant Disease* 87:1411–1415.
- Dovas, C.I., Hatziloucas, E., Salomon, R., Barg, E., Shibolet, Y., Katis, N.I., 2001. Incidence of viruses infecting *Allium* spp. in Greece. *European Journal of Plant pathology* 107, 677–684. *Pathology* 99 (Suppl.) 2, 1–48.
- Drake, C.J., Tate, H.D., Harris, H.M., 1933. The relationship of aphids to the transmission of yellow dwarf of onion. *Journal of Economic Entomology* 26:841–846.
- Elnagar, S., El-Sheikh, M.A.K., Abd El-Wahab, A.S., 2011. Effect of natural infection with onion yellow dwarf virus (OYDV) on yield of onion and garlic crops in Egypt. *Journal of Life Science* 5:634–638.
- Fayad-André, M. de S., Dusi, A.N., Resende, R.O., 2011. Spread of viruses in garlic fields cultivated under different agricultural production systems in Brazil. *Tropical Plant Pathology* 36: 341–349.
- Fidan, H., 2010. Sarımsak, soğan ve pırasadaki virüs hastalıklarının saptanması ve Taşköprü 56 sarımsak tipinin en yaygın virüse karşı reaksiyonunun belirlenmesi. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Katis, N.I., Maliogka, V.I., Dovas, C.I., 2012. Viruses of the genus *Allium* in the Mediterranean Region. In: Lecoq H., Loebenstein G., (Ed.), *Viruses and Virus Diseases of Vegetables in the Mediterranean Basin*. Academic Press, San Diego, CA, USA, 163–208.
- Klukackova, J., Navratil, M., Vesela, M., Havranek P., Safarova, D., 2004. Occurrence of garlic viruses in the Czech Republic. Proceedings Conference Organized at Slovak Agricultural University in Nitra, Slovakia. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 126–128.
- Kumar, P., Dhawan, P., Mehra, R., 2011. Characterization, transmission and host range of onion yellow dwarf virus. *Plant Disease Research* 26 (2):176.
- Kumar P., Dhawan, P., Mehra, R., 2012. Symptoms and losses caused by onion yellow dwarf virus and iris yellow spot virus diseases of onion crop in Northern India. *Journal of Mycology and Plant Pathology* 42 (1):153–160.
- Sevik, M.A., 2012. Determination of onion yellow dwarf virus concentration levels on onion bulb and leaf by double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45:3:339-343.
- Melhus, I.E., Reddy, C., Shenderson, W.J., Vestal, E., 1929. A new virus disease epidemic on onions. *Phytopathology* 19:73–77.
- Saffar, Z.N., Torabi, S., Naghavi, M., Golnaraghi, A.R., Aryakia, E., 2013. Onion yellow dwarf virus on leek, onion, shallot and welsh onion in Iran. *Journal of Plant Pathology* 2013 Vol. 95 No. 4, Supplement pp. S4.73.
- Tuik, 2014, <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> Erişim: Temmuz 2015.
- Van Dijk, P., 1993. Survey and characterization of potyviruses and their strains of *Allium* species. Netherlands. *Journal of Plant*

**Çizelge 1.** Güney Marmara Bölgesi illeri hastalıklı bitki sayıları ve toplam bitki sayıları\*

	Çanakkale	Bursa	Balıkesir	Toplam
Pırasa	17/37	9/18	9/23	35/78
Soğan	0/2	0/34	0/16	0/52
Sarımsak	3/3	0/0	30/32	33/35
Toplam	20/42	9/52	39/71	68/165

\* İnfekteli bitki sayısı/Toplam bitki sayısı



Şekil 1. A, B; OYDV ile infekteli pırasa bitkileri



Şekil 3. E,F; OYDV ile infekteli olmayan soğan bitkileri



Şekil 2. C,D; OYDV ile infekteli sarımsak bitkileri