

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI**



**TÜRKİYE ŞEKER PANCARI ÜRETİM ALANLARINDA BEET
VIRUS Q'NUN BELİRLENMESİ VE *POLYMXA BETAE* İLE
TAŞINAN TOPRAK KÖKENLİ VİRÜSLERİN MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

Doktora Tezi

Ebru ERKAN

Danışman

Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.ZRT.1904.12.015 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Ebru ERKAN tarafından, Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ danışmanlığında hazırlanan “TÜRKİYE ŞEKER PANCARI ÜRETİM ALANLARINDA BEET VIRUS Q’NUN BELİRLENMESİ VE POLYMYXA BETAE İLE TAŞINAN TOPRAK KÖKENLİ VİRÜSLERİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 14.2.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Miray SÖKMEN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Selim AYTAÇ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tarım ve İslah Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Özer ÇALIŞ Akdeniz Üniversitesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Şerife TOPKAYA Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fitopatoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

30/01/2023
Ebru ERKAN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : TÜRKİYE ŞEKER PANCARI ÜRETİM ALANLARINDA BEET VIRUS Q'NUN BELİRLENMESİ VE *POLYMYXA BETAE* İLE TAŞINAN TOPRAK KÖKENLİ VİRÜSLERİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 22.06.2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 15

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

30/01/2023
Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ

ÖZET

TÜRKİYE ŞEKER PANCARI ÜRETİM ALANLARINDA BEET VIRUS Q'NUN BELİRLENMESİ VE *POLYMYXA BETAE* İLE TAŞINAN TOPRAK KÖKENLİ VİRÜSLERİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Ebru ERKAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

Doktora, Mart/2023

Danışman: Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ

Şeker pancarı üretim alanlarında Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), Beet soil-borne virus (BSBV) ve Beet virus Q (BVQ)'nun en sıklıkla rastlanan toprak kökenli viral etmenler oldukları bilinmektedir. Bu virüsler protozoa vektör *Polymyxa betae* tarafından taşınmaktadır. Bu çalışmada, Türkiye'nin şeker pancarı alanlarına ait 31 ilden elde edilmiş olan ve BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık olduğu bilinen 82 ve sadece vektör *P. betae* ile bulaşık 21 olmak üzere toplam 103 toprak örneği kullanılmıştır. Tuzak bitki testini takiben, RT-PCR çalışmaları ile incelenen örneklerin %89.3'ünün BVQ ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada, iki BVQ izolatının konukçu çevresi de araştırılmıştır. BVQ'nun mekanik olarak bulaştırıldığı *Beta macrocarpa*, *Nicotiana benthamiana*, *N. rustica*, *Patellifolia patellaris* ve *Spinacia oleracea*'da sistemik enfeksiyon oluşturduğu RT-PCR ve sekans analizi çalışmaları ile ortaya konulmuştur. Bu sonuçlar ile Türkiye'de BVQ ilk defa rapor edilmiştir. Bu çalışmada, coğrafik orjinlerine göre seçilen 15 BVQ, 16 BNYVV ve 10 BSBV izolatının kılıf protein (CP) gen bölgelerinin nükleotit (nt) ve amino asit (aa) dizileri elde edilmiştir. Bu çalışmaya ait 15 BVQ izolatının CP bölgesi bakımından en yüksek aa benzerliğini (%98.80) Fransa'dan FP71 izolatı ile gösterdikleri saptanmıştır. Çalışmada incelenen 10 BSBV izolatından, 9'unun CP bölgelerinin aa dizisi bakımından kendi aralarında %100 benzer oldukları, YZT-355S izolatının ise 92., 121. ve 122. pozisyonlardaki aa'lerin diğer Türkiye ve dünya izolatlarından farklılık gösterdiği saptanmıştır. Türkiye'ye ait 9 BSBV izolatı aa yönünden Çin'e ait pBSBV-cp061027-1 izolatı ile %100 benzer bulunurken; YZT-355S izolatının Çin, Polonya ve Türkiye'ye ait BSBV izolatları ile en yüksek genetik benzerlik gösterdiği (%98.17) belirlenmiştir.

BNYVV izolatlarının CP bölgesi aa dizileri incelendiğinde, 14 izolatın CP bölgesinin A-tip; IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının ise A (P)-tip karakterde olduğu saptanmıştır. Ayrıca, A (P)-tip CP'ye sahip BNYVV izolatlarının diğer RNA'larına (RNA-3, RNA-4, RNA-5) ait gen bölgeleri (P25, P31, P26) bu çalışmada incelenmiştir. Sonuçta bu izolatların oldukça agresif oldukları ve farklı dayanıklılık genleri (*Rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör* genler) içeren şeker pancarı genotiplerini enfekte edebildikleri görülmüştür. İlâveten, sadece BNYVV ile enfekteli KNY-359 izolatının test bitkilerinde oluşturduğu reaksiyonlar incelenmiştir.

Anahtar Sözcükler: BNYVV, BSBV, BVQ, CP, Test bitkisi, Sistemik enfeksiyon, Dizi analizi

ABSTRACT

THE DETERMINATION OF BEET VIRUS Q IN TURKEY SUGAR BEET GROWN AREAS AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOIL-BORNE VIRUSES TRANSMITTED BY *POLYMYXA BETAE*

Ebru ERKAN

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Plant Protection

Ph.D., March/2023

Supervisor: Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ

It is known that Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), Beet soil-borne virus (BSBV) and Beet virus Q (BVQ) are the most common soil-borne viral agents in sugar beet production areas. These viruses are transmitted by the protozoan vector *Polymyxa betae*. In this study, a total of 103 soil samples collected from 31 provinces of Türkiye belonging to sugar beet fields were used. It is known that 82 of them were infested with BNYVV and/or BSBV, and 21 of them were only infested with vector *P. betae*. Following the bait plant test, 89.3% of the soil samples examined by RT-PCR studies were found to be infested with BVQ. In addition, the host range of the two BVQ isolates was also examined. Systemic infection of BVQ on *Beta macrocarpa*, *Nicotiana benthamiana*, *N. rustica*, *Patellifolia patellaris* and *Spinacia oleracea* after mechanical sap-inoculation was first demonstrated by RT-PCR and sequence analysis studies. BVQ was first reported by these results in Türkiye. In this study, nucleotide (nt) and amino acid (aa) sequences of coat protein (CP) gene regions of 15 BVQ, 16 BNYVV and 10 BSBV isolates selected according to their geographical origin were obtained. It was determined that 15 BVQ isolates showed the highest aa similarity (98.80%) with FP71 isolate from France. Of the ten BSBV isolates examined in the study, nine had 100% similarity among them in terms of aa sequence, while the YZT-355S isolate exhibited differences from the other Turkish and world isolates in aa positions 92, 121 and 122. Nine BSBV isolates were found to be 100% similar to pBSBV-cp061027-1 isolate from China in terms of aa sequence. It was determined that YZT-355S isolate showed the highest genetic similarity (98.17%) with BSBV isolates belonging to China, Poland and Turkey.

When the CP region-aa sequences of BNYVV isolates were examined, it was determined that the CPs of 14 isolates were A-type character, whereas those of IGR-9 and ERC-52 isolates were A (P)-type. In addition, the gene regions (P25, P26, P31) belonging to different RNA segments of BNYVV isolates with A (P)-type CP were also examined. As a result, it was found that these A (P)-type BNYVV isolates were highly aggressive and able to infect different sugar beet genotypes carrying various resistance genes (*Rz1*, *Rz1+Rz2* and *Rz1+C48+minor* genes). In addition, the reactions of different KNY-359 isolates in test plants were studied.

Keywords: BNYVV, BSBV, BVQ, CP, test plant, systemic infection, sequence analysis

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, çalışmanın yürütülmesi ve yazımı esnasında desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü)’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez izleme komitesinde bulunan ve bana her zaman yol gösteren ve destek olan sayın hocalarım, Sayın Prof. Dr. Miray SÖKMEN ve Sayın Prof. Dr. Selim AYTAÇ’a değerli katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminde PYO.ZRT.1904.12.015 nolu proje ile desteklenmiştir. Proje çalışmaları süresince verdikleri desteklerden dolayı kurum çalışanlarına da teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmam sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen Antalya Zirai Karantina Müdürlüğüne ve çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Aynı zamanda, manevi desteklerini her an üzerimde hissettiğim aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Ebru ERKAN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLOLAR DİZİNİ	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
2.1. Vektör <i>Polymyxa betae</i>	9
2.2. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV)	11
2.2.1. Coğrafik Yayılımı	11
2.2.2. Virüsün Morfolojisi, Taksonomisi ve Genomik Özellikleri	13
2.2.3. Streyn Tipleri	17
2.2.4. Konukçu Çevresi ve Simptomatoloji	19
2.2.5. Zararı ve Ekonomik Önemi	21
2.2.6. Hastalığın Kontrolü	22
2.3. Beet soil-borne virus (BSBV) ve Beet virus Q (BVQ)	22
2.3.1. Virüslerin İlk Tespitleri ve Coğrafik Dağılımları	23
2.3.2. BSBV ve BVQ'nun Morfolojisi, Taksonomisi ve Genomik Özellikleri	24
2.3.3. Konukçu Çevreleri ve Simptomatolojileri	29
2.3.4. BSBV'nin Kontrolü	31
3. MATERYAL VE YÖNTEM	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Araştırmada Kullanılan Toprak Örnekleri	33
3.1.2. Şeker Pancarı Tohumları	33
3.1.3. Test Bitkileri	34
3.1.4. Antiserum	34
3.1.5. Mikropleytlar	34
3.1.6. Primerler	34
3.1.7. Referans İzolat	35
3.2. Yöntem	35
3.2.1. Türkiye Şeker Pancarı Üretim Alanlarında BVQ'nun Bulunma Durumunun Araştırılması	36
3.2.1.1. Toprak Örneklerinin Seçimi	36
3.2.1.2. Tuzak Bitki Testi Yöntemi	38
3.2.1.3. Kök Boyaması Yöntemiyle Tuzak Bitki Köklerinde Vektör <i>Polymyxa betae</i> 'nin Araştırılması	39
3.2.1.4. RNA İzolasyonu	39
3.2.1.5. Beet virus Q'nun RT-PCR Yöntemi ile Araştırılması	40
3.2.1.6. Agaroz Jel Elektrophorez Yöntemi	41
3.2.1.7. Vektör <i>Polymyxa betae</i> ve Beet virus Q ile Bulaşık Örneklerde Diğer Toprak Kökenli Virüslerin RT-PCR Yöntemi ile Araştırılması	42
3.2.1.8. BVQ'nun Kılıf Protein (CP) Gen Bölgesine Göre Moleküler Karakterizasyonu	44
3.2.1.9. Beet virus Q İzolatlarının Kılıf Protein (CP) Gen Bölgesi Nükleotit Dizilerinin Elde Edilmesi ve Filogenetik Analizi	45
3.2.1.10. Beet virus Q İzolatlarının Konukçu Çevresinin Belirlenmesine Yönelik Biyolojik ve Moleküler Çalışmalar	46

A. BVQ'nun RNA-1 Segmenti Üzerinde Yürütülen Çalışmalar.....	48
B. BVQ'nun RNA-2 Segmenti Üzerinde Yürütülen Çalışmalar.....	49
C. Jelden PCR Ürünlerinin Ekstraksiyonu.....	51
3.2.2. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) Üzerinde Yürütülen Çalışmalar	52
3.2.2.1. BNYVV İzolatlarının Kılıf Protein Gen Bölgesine Göre Moleküler Karakterizasyonu	52
3.2.2.2. BNYVV İzolatlarının P25, P26 ve P31 Gen Bölgelerine Göre Moleküler Karakterizasyonu	54
A. P25 Protein Bölgesinin RT-PCR Yöntemi ile Çoğaltılması	54
B. P31 Protein Bölgesinin RT-PCR Yöntemi ile Çoğaltılması	55
C. P26 Protein Bölgesinin RT-PCR Yöntemi ile Çoğaltılması	55
D. BNYVV İzolatlarının P25, P26 ve P31 Protein Bölgelerinin Nükleotit Dizilerinin Elde Edilmesi ve Filogenetik Analizi	55
3.2.2.3. BNYVV İzolatlarının Konukçu Çevresinin Belirlenmesine Yönelik Biyolojik ve Serolojik Çalışmalar	55
3.2.3. Beet soil-borne virus (BSBV) Üzerinde Yürütülen Çalışmalar	57
3.2.3.1. BSBV İzolatlarının Kılıf Protein Gen Bölgesine Göre Moleküler Karakterizasyonu	57
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	60
4.1. Bulgular.....	60
4.1.1. Beet virus Q Üzerinde Yürütülen Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular	60
4.1.1.1. Türkiye Şeker Pancarı Üretim Alanlarında BVQ'nun Bulunma Durumu ve Yaygınlığının Belirlenmesi.....	60
4.1.1.2. Şeker Pancarında Beet virus Q'nun Tek Olarak Enfeksiyon Oluşturma Durumunun İrdelenmesi	74
4.1.1.3. Beet virus Q'nun Diğer Toprak Kökenli Virüslerle Ortak Enfeksiyon Oluşturma Durumu	80
4.1.1.4. BVQ İzolatlarının Kılıf Protein Gen Bölgesine Göre Moleküler Karakterizasyonu	80
4.1.1.4.1. BVQ'nun Kılıf Protein Gen Bölgesinin Çoğaltılması.....	80
4.1.1.4.2. BVQ İzolatlarının CP Bölgesine Ait Sekans Analiz Sonuçları.....	83
4.1.1.4.3. BVQ İzolatlarının CP Genine Göre Filogenetik Analizi.....	90
4.1.1.5. BVQ İzolatlarının Biyolojik Karakterizasyonu	92
4.1.1.5.1. Beet virus Q İzolatları ile İnokule Edilen Farklı Test Bitkilerinde Yürütülen Moleküler Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular	100
A. Beet virus Q'nun RNA-1 Segmenti Üzerinde Yürütülen Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular.....	100
B. Beet virus Q'nun RNA-2 Segmenti Üzerinde Yürütülen Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular.....	105
C. Beet virus Q ile Enfekteli Test Bitkilerinde Diğer Toprak Kökenli Virüslerin Araştırılması Sonucunda Elde Edilen Bulgular.....	107
4.1.1.5.2. Test Bitkilerinden Elde Edilen BVQ İzolatlarının Kılıf Protein+ Readthrough Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu	110
4.1.2. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV)'ün Kılıf Proteinine Göre Moleküler Karakterizasyonu	114
4.1.2.1. BNYVV'nin Kılıf Protein Gen Bölgesinin Çoğaltılması	114
4.1.2.2. Beet necrotic yellow vein virus İzolatlarının Kılıf protein Bölgesi Sekans Analiz Sonuçları	116
4.1.2.3. BNYVV İzolatlarının CP Genine Göre Filogenetik Analizi	125
4.1.2.4. A (P)-Tipi Kılıf Protein İçeren İki BNYVV İzolatının P25, P31 ve P26 Gen Bölgelerinin Moleküler Karakterizasyonu	130
4.1.2.4.1. P25 Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu.....	130
4.1.2.4.2. P31 Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu.....	140
4.1.2.4.3. P26 Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu.....	143

4.1.2.5. IGR-9 ve ERC-52 BNYVV İzolatının Patojenitelerinin Karşılaştırılması.....	147
4.1.2.6. BNYVV KNY-359 İzolatının Biyolojik Karakterizasyonu.....	148
4.1.3. Beet soil-borne virus (BSBV)'ün Kılıf Proteinine Göre Moleküler Karakterizasyonu.....	156
4.1.3.1. Beet soil-borne virus'un Kılıf Protein Gen Bölgesinin RT-PCR ile Çoğaltılması.....	156
4.1.3.2. Beet soil-borne virus'un Kılıf Protein Bölgesine Ait Sekans Analiz Sonuçları.....	159
4.1.3.3. BSBV İzolatlarının CP Genine Göre Filogenetik Analizi	164
4.2. Tartışma	167
5. SONUÇ	192
KAYNAKLAR	198
EKLER	212
ÖZ GEÇMİŞ.....	250



SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
bp	: Baz çifti
da	: Dekar
dk	: Dakika
g	: Gram
kb	: Kilobaz
kda	: Kilodalton
kg	: Kilogram
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimol
nm	: Nanometre
pH	: Acidity/Basicity of aqueous solution
rpm	: Revolutions per minute
sn	: Saniye
A	: Alanin
A	: Adanin
aa	: Amino asit
AK	: Açık kahve
AYK	: Alt yapraklarda kloroz
BBNV	: Broad bean necrosis virus
BBSV	: Beet black scorch virus
BCTV	: Beet curly top virus
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
BNYVV	: Beet necrotic yellow vein virus
BOLV	: Beet oak-leaf virus
BSBMV	: Beet soil-borne mosaic virus
BSBV	: Beet soil-borne virus
BtMV	: Beet mosaic virus
BWYV	: Beet western yellows virus

BYV	: Beet yellows virus
BVQ	: Beet virus Q
C	: Sistein
C	: Sitozin
C	: Cüceleşme
CRP	: Cysteine-rich protein
CP	: Coat protein
CP-RT	: Coat protein readthrough
CPSbV	: Colombian potato soil borne virus
CWMV	: Chinese wheat mosaic virus
D	: Aspartat
D	: Deformasyon
DAS	: Damarlarda arası siyahlaşma
DAS-ELISA	: Double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay
DB	: Damarda belirginleşme
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
EWMV	: European wheat mosaic virus
F	: Fenilalanin
FAO	: Food and Agriculture Organization
FB	: Form Bozukluğu
G	: Glisin
G	: Guanin
H	: Histidin
HB	: Hafif bombe
HEL	: Helikaz
HK	: Hafif kloroz
HKL	: Hafif klorotik lezyon
I	: İzolösün
ICTV	: International Committee on Taxonomy of Viruses
İKL	: İri klorotik lezyon
İSL	: İri siyah lezyon
K	: Lizin
K	: Kloroz
K	: Kahverengi

KÇ	: Kök çürüklüğü
KE	: Kayıt edilmedi
KK	: Koyu kahve
KLL	: Klorotik lokal lezyon
KV	: Kıvrılma
L	: Lösin
M	: Marker
M	: Metiyonin
ML	: Maxium Likelihood
MSM	: Maleves-Sainte-Marie izolatu
MTR	: Metil transferaz
N	: Asparagin
NBG	: Normal bitki gelişimi
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
nt	: Nükleotit
OGSV	: Oat golden stripe virus
OLV-1	: Olive latent virus
OMMV	: Olive mild mosaic virus
ORF	: Open reading frame
PLRV	: Potato leaf roll virus
PMTV	: Potato mop-top virus
POL	: Polimeraz
PRO	: Proteaz
PTGS	: Post transcriptional gene silencing
PVP	: Polyvinylpyrrolidone
R	: Arginin
RB	: Resistance breaking
RNA	: Ribonükleik asit
RT-PCR	: Reverse transcriptase polymerase chain reaction
S	: Serin
SBWMV	: Soil-borne wheat mosaic virus
SbV2	: Soil-borne virus 2
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
SNL	: Siyah nekrotik lezyon
SrCSV	: Sorghum chlorotic spot virus

SY	: Simptom yok
TEPGE	: Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Müdürlüğü
T	: Treonin
TBİA	: Tissue-blot immunoassay
TE	: Test edilmedi
TGB	: Triple gene block (üçlü gen bloğu)
TNV	: Tobacco necrosis virus
TRV	: Tobacco rattle virus
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UKLL	: Ufak klorotik lokal lezyon
UNLL	: Ufak nekrotik lezyon
V	: Valin
Y	: Tirozin
YB	: Yapraklarda bombe
YDB	: Yaprak damarlarında belirginleşme
YFB	: Yapraklarda form bozukluğu
YHB	: Yapraklarda hafif bombe
YKB	: Yaprak kenarında beyazlaşma
YUS	: Yaprak ucunda sararma

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Polymyxa betae</i> 'nin coğrafik yayılımı.....	9
Şekil 2.2. <i>Polymyxa</i> spp.'nin yaşam döngüsü.....	11
Şekil 2.3. BNYVV'nin coğrafik yayılımı.....	12
Şekil 2.4. BNYVV partiküllerinin elektron mikroskop altında görünümü.....	13
Şekil 2.5. BNYVV'nin genomik bileşenleri ve her bir proteinin fonksiyonları (MTR: methyltransferase; HEL: helicase; PRO: protease; POL: polymerase; RT: read-through protein)	14
Şekil 2.6. BNYVV, CP RT alanında tahmin edilen TM1 ve TM2 motifleri ile plazma membranının iç tarafında KTER motifi ve bir arginin rezidüsü (R) aracılığıyla etkileşiminin şematize görünümü	15
Şekil 2.7. Rhizomania'nın tarlada görünümü ve renk adacıklarının oluşumu	20
Şekil 2.8. Rhizomania'lı şeker pancarı yaprağında oluşan nekrotik sarı damar semptomu ...	20
Şekil 2.9. BNYVV ile enfekteli bitkilerin lateral köklerdeki sakallanma belirtisi (A) ve enfekteli yumrunun enine kesitinde kahverengi iletim halkaların görünümü (B)	21
Şekil 2.10. BSBV'nin coğrafik yayılımı.....	23
Şekil 2.11. BVQ'nun coğrafik yayılımı	24
Şekil 2.12. <i>Pomovirus</i> partikül şekli. Bar, 100 nm'yi ifade etmektedir.	24
Şekil 2.13. Pozitif polariteli üç adet tek sarmallı RNA partikülünden oluşan BSBV, BVQ ve PMTV'nin genomlarının karşılaştırmalı şematik görünümeleri	25
Şekil 2.14. BVQ'nun RNA-2 segmentinin genomik organizasyonu	28
Şekil 2.15. BVQ ve BSBV için CP'lerin RT alanlarında transmembran motiflerinin tahmin edilen etkileşim modeli.	29
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan toprak örneklerinin temin edildiği iller (koyu gri renk ile belirtilen alanlar örneklerin temin edildiği illeri göstermektedir).....	33
Şekil 3.2. İklim odasında tuzak bitki yöntemine göre yetiştirilen bitkilerin genel görünümü	39
Şekil 3.3. Biyolojik çalışmalarda kullanılan indikatör bitkilerin genel görünümü	46
Şekil 3.4. Örnek ekstraksiyonu (A) ve mekanik inokulasyon (B)	47
Şekil 3.5. BVQ'nun CP-RT bölgesinin çoğaltılması amacıyla tasarlanan primer çiftlerinin pozisyonları.....	50
Şekil 4.1. Tuzak bitki yöntemine göre yetiştirilen şeker pancarı bitkilerinin köklerinde belirlenen <i>Polymyxa betae</i> 'ya ait bal peteği şeklindeki dinlenme spor yapılarının görünümü (A, B ve C)	61
Şekil 4.2. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 74 no'lu izolat-Çankırı, 2: 75 no'lu izolat-Amasya, 3: 91 no'lu izolat-Amasya, 4: 99 no'lu izolat-Tokat, 5: 104 no'lu izolat-Tokat, 6: 148 no'lu izolat-Bursa, 7: 119 no'lu izolat-Tokat, 8: 136 no'lu izolat-Kırklareli, 9: 150 no'lu izolat-Çanakkale, 10: 141 no'lu izolat-Bursa, 11: 108 no'lu izolat-Tokat, 12: 164 no'lu izolat-Burdur, 13: 168 no'lu izolat-Burdur, 14: 175 no'lu izolat-Niğde, 15: 190- no'lu izolat-Ankara, 16: 202 no'lu izolat-Eskişehir, 17: 210 no'lu izolat-Eskişehir, 18: 215 no'lu izolat-Eskişehir] illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker	

pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

..... 62

Şekil 4.3. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 218 no'lu izolat-Eskişehir, 2: 225 no'lu izolat-Eskişehir, 3: 229- no'lu izolat-Kütahya, 4: 252 no'lu izolat-Afyon, 5: 259 no'lu izolat-Afyon, 6: 268 no'lu izolat-Afyon, 7: 275 no'lu izolat-Afyon, 8: 277 no'lu izolat-Kastamonu, 9: 281 no'lu izolat-Kastamonu, 10: 291 no'lu izolat-Adapazarı, 11: 222 no'lu izolat-Eskişehir, 12: 312 no'lu izolat-Yozgat, 13: 332 no'lu izolat-Yozgat, 14: 341 no'lu izolat-Yozgat, 15: 347 no'lu izolat-Yozgat, 16: 355 no'lu izolat-Yozgat, 17: 139 no'lu izolat-Kırıkkale) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 63

Şekil 4.4. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 600 no'lu izolat-Denizli, 2: 602 no'lu izolat-Kütahya, 3: 606 no'lu izolat-Kırıkkale, 4: 617 no'lu izolat-Ankara, 5: 625 no'lu izolat-Ankara, 6: 629- no'lu izolat-Ankara, 7: 124 no'lu izolat-Edirne, 8: 134 no'lu izolat-Kırklareli, 9: 581 no'lu izolat-Aksaray, 10: 589 no'lu izolat-Uşak, 11: 594 no'lu izolat-Kırıkkale) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 63

Şekil 4.5. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 373 no'lu izolat-Konya, 2: 389 no'lu izolat-Konya, 3: 419 no'lu izolat-Konya, 4: 424 no'lu izolat-Konya, 5: 431 no'lu izolat-Konya, 6: 440 no'lu izolat-Konya, 7: 446 no'lu izolat-Konya, 8: 486 no'lu izolat-Kırşehir, 9: 490 no'lu izolat-Kırşehir, 10: 449 no'lu izolat-Konya, 11: (493 no'lu izolat- Mucur-Kırşehir, 12: (524 no'lu izolat-Kayseri), 13: (527 no'lu izolat -Kayseri, 14: 542 no'lu izolat-Aksaray, 15: 549 no'lu izolat-Aksaray, 16: 359 no'lu izolat-Konya, 17: 364 no'lu izolat-Konya illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 64

Şekil 4.6. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: (3 no'lu izolat-Iğdır), 2: (9 no'lu izolat-Iğdır), 3: (27 no'lu izolat-G.Antep), 4: (38 no'lu izolat- Elazığ), 5: (44 no'lu izolat-Elazığ), 6: (47 no'lu izolat-Erzincan), 7: (54 no'lu izolat-Samsun), 8: (61 no'lu izolat -amsun), 9: (63 no'lu izolat-Çorum), 10: (64 no'lu izolat-Çorum), 11: (68 no'lu izolat-Çorum), 12: (75 no'lu izolat-Amasya), 13: (91 no'lu izolat-Amasya), 14: (4 no'lu izolat-Iğdır) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 64

Şekil 4.7. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: (99- Erbaa- Tokat), 2: 104 no'lu izolat-Tokat, 3: 119 no'lu izolat-Tokat, 4: 125 no'lu izolat-Edirne, 5: 132- no'lu izolat-Edirne, 6: 133(1) no'lu izolat-Edirne, 7: 133(2) no'lu izolat-Edirne, 8: 136 no'lu izolat-Kırklareli, 9: 148 no'lu izolat-Bursa, 10: 150 no'lu izolat-Çanakkale, 11: 158 no'lu izolat-Tekirdağ, 12: 175 no'lu izolat-Niğde, 13: 218 no'lu izolat-Eskişehir) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol

- (Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 65
- Şekil 4.8. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 222 no'lu izolat-Eskişehir, 2: 225 no'lu izolat-Eskişehir, 3: 229 no'lu izolat-Kütahya, 4: 602 no'lu izolat-Kütahya, 5: 252 no'lu izolat-Afyon, 6: 259 no'lu izolat-Afyon, 7: 291 no'lu izolat-Adapazarı, 8: 341 no'lu izolat-Yozgat, 9: 347 no'lu izolat-Yozgat, 10: 355 no'lu izolat-Yozgat, 11: 359 no'lu izolat-Konya, 12: 364 no'lu izolat-Konya, 13: 373 no'lu izolat-Konya) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol (Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 65
- Şekil 4.9. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 389 no'lu izolat-Konya, 2: 424 no'lu izolat-Konya, 3: 440 no'lu izolat-Konya, 4: 446 no'lu izolat-Konya, 5: 449 no'lu izolat-Konya, 6: 486 no'lu izolat-Kırşehir, 7: 493 no'lu izolat-Kırşehir, 8: 527 no'lu izolat-Kayseri, 9: 549 no'lu izolat-Aksaray, 10: 581 no'lu izolat-Aksaray, 11: 600 no'lu izolat-Denizli) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)], - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 66
- Şekil 4.10. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1-2-3: 205 no'lu izolat (1, 1.5, 0.5 RNA ilaveli)-Eskişehir, 4: 330 no'lu izolat-Yozgat, 5: 171 no'lu izolat-Denizli, 6: 10 no'lu izolat-Erzincan, 7: 618 no'lu izolat-Ankara, 8: 544 no'lu izolat-Aksaray) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA], - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 66
- Şekil 4.11. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 313 no'lu izolat-Yozgat, 2: 128 no'lu izolat-Edirne, 3: 503 no'lu izolat-Kayseri, 4: 135 no'lu izolat-Kırklareli, 5: 443 no'lu izolat-Konya, 6: 160 no'lu izolat-Burdur, 7: 250 no'lu izolat-Afyonkarahisar, 8: 57 no'lu izolat-Samsun, 9: 52 no'lu izolat-Erzincan) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)], - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 67
- Şekil 4.12. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 147 no'lu izolat-Bursa, 2: 485 no'lu izolat-Kırşehir, 3: 233 no'lu izolat-Kütahya, 4: 297 no'lu izolat-Sakarya, 5: 18 no'lu izolat-Kahramanmaraş, 6: 367 no'lu izolat-Konya, 7: 260 no'lu izolat-Afyonkarahisar, 8: 284 no'lu izolat-Kastamonu) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 67
- Şekil 4.13. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında BVQ'nun belirlendiği iller (1: Edirne, 2: Tekirdağ, 3: Kırklareli, 4: Çanakkale, 5: Bursa, 6: Sakarya, 7: Kütahya, 8: Uşak, 9: Denizli, 10: Burdur, 11: Afyonkarahisar, 12: Eskişehir, 13: Ankara, 14: Konya, 15: Niğde, 16: Aksaray, 17: Kırşehir, 18: Kırıkkale, 19: Çankırı, 20: Kastamonu, 21: Çorum, 22: Samsun, 23: Amasya, 24: Tokat, 25: Yozgat, 26: Kayseri, 27: Kahramanmaraş, 28: Gaziantep, 29: Erzincan, 30: Elazığ, 31: Iğdır) (kırmızı renk ile gösterilen iller BVQ'nun saptandığı, yeşil renkle belirtilen il ise BVQ'nun bulunmadığı ifade etmektedir) 74

Şekil 4.14. Seçilen örneklerde Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf protein gen bölgesinin PCR yöntemi ile araştırılması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), 1: 18 no'lu izolat, 2: 147 no'lu izolat, 3: 160 no'lu izolat, 4: 297 no'lu izolat, 5: 367 no'lu izolat, 6: 485 no'lu izolat, + C: 38 no'lu izolat] (jelin orjinal ve invert görünümü birlikte verilmiştir)	75
Şekil 4.15. 128 ve 313 no'lu örneklerde Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf protein gen bölgesinin PCR yöntemi ile araştırılması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), + C: 38 no'lu izolat]	76
Şekil 4.16. Seçilen örneklerde BSBV'nin CP bölgesinin PCR yöntemi ile araştırılması (A: İlk PCR çalışması; B: İkinci PCR çalışması) [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), 1: 18 no'lu izolat, 2: 147 no'lu izolat, 3: 160 no'lu izolat, 4: 297 no'lu izolat, 5: 367 no'lu izolat, 6: 485 no'lu izolat, + C: 9 no'lu izolat] (jelin orjinal ve invert görünümü birlikte verilmiştir) Sarı çizgiler; beklenen büyüklükte bant oluşmadığını ifade etmektedir.....	77
Şekil 4.17. 128 ve 313 no'lu örneklerde Beet soil-borne virus'un kılıf protein gen bölgesinin PCR yöntemi ile araştırılması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), + C: 38 no'lu izolat]	77
Şekil 4.18. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan BVQ izolatlarının seçildiği iller.....	81
Şekil 4.19. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 164 no'lu izolat-Burdur, 2: 268 no'lu izolat-Afyon, 3: 210 no'lu izolat-Eskişehir, 4: 594 no'lu izolat-Kırıkkale) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA.	82
Şekil 4.20. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 629 no'lu izolat-Ankara, 2: 431 no'lu izolat-Konya, 3: 275 no'lu izolat-Afyon, 4: 108 no'lu izolat-Tokat, 5: 134 no'lu izolat-Kırklareli, 6: 141 no'lu izolat-Bursa, 7: 210 no'lu izolat-Eskişehir, 8: 332 no'lu izolat-Yozgat, 9: 594 no'lu izolat-Kırıkkale illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA, + C: Pozitif kontrol [Maleves- Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)].....	82
Şekil 4.21. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat -İğdır, 2: 44 no'lu izolat-Elazığ, 3: 52 no'lu izolat-Erzincan) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA, + C: Pozitif kontrol [Maleves- Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]	82
Şekil 4.22. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 52 no'lu izolat-Erzincan, 3: 64 no'lu izolat-Çorum, 4: 125- no'lu izolat-Edirne, 5: 148 no'lu izolat-Bursa, 6: 164 no'lu izolat-Burdur, 7: 215 no'lu izolat-Eskişehir, 8: 419 no'lu izolat-Konya) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA).	83
Şekil 4.23. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 18 no'lu izolat-Kahramanmaraş, 2: 171 no'lu izolat -Denizli, 3: 268 no'lu izolat-Afyon, 4: 281 no'lu izolat-Kastamonu, 5: 313 no'lu izolat -Yozgat, 6: 389 no'lu izolat-Konya, 7: 542 no'lu izolat-Aksaray, 8: 625 no'lu izolat-Ankara) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA.....	83

Şekil 4.24. Beet virus Q (BVQ) izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BVQ izolatlarının kılıf protein genine göre nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, Maximum Likelihood yöntemi ve Tamura-Nei modeli kullanılmıştır. Dendogramda bootstrap değerleri, dallarda % olarak gösterilmiştir. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını göstermektedir (0.05). <i>Pomovirus</i> cinsi üyesi Potato mop-top virus (PMTV), filogenetik ağacın oluşturulmasında dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlara ait bilgiler Tablo 4.11’de yer almaktadır.....	91
Şekil 4.25. BVQ izolatının <i>Chenopodium quinoa</i> bitkisine mekanik inokulasyonu sonrasında virus-inokule edilen yapraklarda gözlenen hafif klorotik iri alanlar (A), sistemik yapraklarda damarlarda belirginleşme (B) ve bu bitkinin genel görünümü (C).....	95
Şekil 4.26. EDR-128Q izolatının <i>Beta macrocarpa</i> bitkisine mekanik inokulasyonu sonrasında virus-inokule edilen yapraklarında gözlenen hafif klorotik lokal lezyonlar (A) ile üst yapraklarda inokulasyondan bir ay sonra oluşan klorotik lokal lezyonların görünümü (B).....	96
Şekil 4.27. ERD-128Q izolatının <i>Beta macrocarpa</i> ’ya mekanik inokulasyonundan yedi ay sonra sonra 2. tekerrürdeki bitkinin genel görünümü (A ve B).....	96
Şekil 4.28. EDR-128Q izolatının <i>Beta macrocarpa</i> bitkisine mekanik inokulasyonu sonrasında virus inokule edilmeyen üst yapraklarda bir ay içinde oluşan klorotik lokal lezyonlar (A) ile aynı bitkide yedi ay sonra gelişen klorotik lokal lezyonların görünümünün kıyaslanması (B).....	96
Şekil 4.29. YZT-313Q izolatının <i>Beta macrocarpa</i> bitkilerine mekanik inokulasyonundan yedi ay sonra sonra tekerrürlerde oluşan semptomların genel görünümü (A ve B)	97
Şekil 4.30. BVQ izolatlarının inokulasyonu sonucu <i>Patellifolia patellaris</i> bitkisinin virüs inokulasyonu yapılan yaprağın uç kısmındaki damarlarında oluşan renk açılımı ve belirginleşme (A) ile sistemik yapraklarda oluşan hafif kıvrılmaların görünümü (B).....	98
Şekil 4.31. YZT-313Q izolatının inokulasyon sonrası <i>S. oleraceae</i> cv. Nebraska bitkisinin virüs inokule edilen yapraklarında oluşturduğu hafif kloroz ve bombe (A) ile virüs-inokule edilmeyen yapraklarında gözlenen hafif mozaik ve bombe belirtisi (B) ile bu bitkinin genel görünümü (C)	98
Şekil 4.32. YZT-313Q izolatının inokulasyonundan yedi ay sonra <i>S. oleraceae</i> cv. Nebraska’nın 1. (A) ve 2. tekerrüründeki (B) bitkilerin genel görünümü	99
Şekil 4.33. BVQ inokulasyonu sonrası <i>Nicotiana benthamiana</i> bitkisinin virüs inokule edilen yaprağı (A) ile inokulasyon yapılmayan üst yapraklarının genel görünümü (B).....	100
Şekil 4.34. Beet virus Q’nun RNA-1 segmenti üzerinde kısmi baz dizisi analizi yapılan genom bölgesinin şematize edilmiş görünümü.....	101
Şekil 4.35. Test bitkilerinde RNA-1’e spesifik primer ile gerçekleştirilen RT-PCR çalışmaları ile BVQ’nun belirlenmesi. [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: EDR-128Q ile inokuleli <i>B. macrocarpa</i> yaprak, 2: EDR-128Q ile inokule edilmeyen <i>B. macrocarpa</i> yaprak, 3: YZT-313Q ile inokuleli <i>C. quinoa</i> yaprak, 4: YZT-313Q ile inokulesiz <i>C. quinoa</i> yaprak, 5: YZT-313Q ile inokuleli <i>N. benthamiana</i> yaprak, 6: YZT-313Q ile inokulesiz <i>N. benthamiana</i> yaprak, 7: 128 <i>P. patellaris</i> inokuleli yaprak, 8: EDR-128Q ile inokulesiz <i>P. patellaris</i> yaprak, 9: YZT-313Q ile inokuleli <i>S. oleraceae</i> yaprak, 10: YZT-313Q ile inokulesiz <i>S. oleraceae</i> yaprak, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]	101

- Şekil 4.36. Test bitkilerinin virus inokulasyonu yapılmayan üst yapraklarında BVQ RNA-2'si üzerinde yer alan CP bölgesinin RT-PCR ile çoğaltılması [M: 1Kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific), 1: EDR-128Q izolatu ile inokule edilen *B. macrocarpa* bitkisine ait üst yaprak (virüs inokule edilmeyen), 2: YZT-313Q izolatu ile inokule edilen *C. quinoa* bitkisine ait üst yaprak, 3: YZT-313Q izolatu ile inokule edilen *N. benthamiana* bitkisine ait üst yaprak, 4: EDR-128Q izolatu ile inokule edilen *P. patellaris* bitkisine ait üst yaprak, 5: YZT-313Q izolatu ile inokule edilen *S. oleraceae* bitkisine ait üst yaprak, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 106
- Şekil 4.37. Beet virus Q (BVQ)'nun mekanik inokulasyonunda kullanılan şeker pancarı kök örnekleri ile virüs aktarımından sonra test bitkilerinin lokal ve sistemik yapraklarından elde edilen örneklerde BNYVV CP (A), BSBV CP (B) ve BVQ CP (C)'nin RT-PCR yöntemi ile araştırılması [M: 1 Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), her bir test bitkisi için ilk kuyuya virus inokule edilen, ikinci kuyuya ise üst yapraklardan izole edilen RNA'lar kullanılarak elde edilen PCR ürünleri ilave edilmiştir] 108
- Şekil 4.38. Beet virus Q (BVQ)'nun mekanik inokulasyonunda kullanılan şeker pancarı kök örnekleri ile test bitkilerinin lokal ve sistemik yapraklarından elde edilen örneklerde BNYVV CP (A), BSBV CP (B) ve BVQ CP (C)'nin RT-PCR yöntemi ile araştırılması (II. tekrar) [M: 1 Kb DNA ladder(Thermo Fisher Scientific), her bir test bitkisi için ilk kuyuya virus inokule edilen, ikinci kuyuya ise üst yapraklardan izole edilen RNA'lar ile elde edilen PCR ürünleri ilave edilmiştir]..... 109
- Şekil 4.39. Şeker pancarından izole edilen YZT-313Q izolatında PCR (Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity) ile CP-RT bölgesinin belirlenmesine yönelik optimizasyon çalışması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), (primer 1 ve primer 5 için 10 µl'ye ilave edilen MgSO₄ (50 mM) miktarları; 1: 0.3 µl, 2: 0.4 µl, 3: 0.5 µl ve 4: 0.6 µl)]..... 111
- Şekil 4.40. Şeker pancarından izole edilen YZT-313Q izolatının cDNA'lar kullanılarak PCR yöntemi (Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity) ile BVQ'nun CP-RT bölgesinin belirlenmesine yönelik optimizasyon çalışması [M: Marker 1 Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), BNYVV ile enfekteli şeker pancarı bitkisi (1 nolu hücreden 8 nolu hücreye kadar olan hücrelere aynı örnek konulmuş olup bu örneğe farklı sıcaklık değerleri uygulanmıştır. Bu değerler sırasıyla hücrelere göre, 1: 60°C, 2: 59.3°C, 3: 58°C, 4: 56.2°C, 5: 54°C, 6: 52.1°C, 7: 50.8°C, 8: 50°C, M: 100 bp DNA ladder (Promega)] 111
- Şekil 4.41. Şeker pancarından izole edilen EDR-128Q izolatu ve YZT-313Q izolatu ile inokuleli *C. quinoa* bitkisinin üst yapraklarına ait cDNA'lar kullanılarak PCR yöntemi (Gotaq Flexi enzim) ile BVQ'nun CP-RT bölgesinin belirlenmesine yönelik optimizasyon çalışması [M: 100 bp DNA ladder (Promega), Primer 1 (1: 128 ve 2: *C. quinoa*); Primer 5 (1: 128 ve 2: *C. quinoa*)]..... 112
- Şekil 4.42. Şeker pancarından elde edilen YZT-313Q izolatu ile YZT-313Q izolatu ile inokuleli *C. quinoa* ve *N. benthamiana* bitkilerinin üst yapraklarına ait cDNA'lar kullanılarak PCR yöntemi ile BVQ'nun CP-RT bölgesinin araştırılması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), Primer 1 (1: YZT-313Q, 2: *C. quinoa*, 3: *N. benthamiana*), Primer 5 (1: 313, 2: *C. quinoa*, 3: *N. benthamiana*)] 113
- Şekil 4.43. Şeker pancarından elde edilen EDR-128Q izolatu ile EDR-128Q izolatu ile inokuleli *S. oleraceae*, *B. macrocarpa*, *C. quinoa* ve *P. patellaris* bitkilerinin üst yapraklarına ait cDNA'lar kullanılarak PCR yöntemi ile CP-RT bölgesinin araştırılması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), Primer 1 ve

primer 5 için (1: EDR-128Q, 2: <i>S. oleraceae</i> , 3: <i>B. macrocarpa</i> , 4: <i>C. quinoa</i> ve 5: <i>P. patellaris</i>).....	113
Şekil 4.44. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan BNYVV izolatlarının elde edildiği iller.....	114
Şekil 4.45. Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf protein bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 57 no'lu izolat-Samsun, 3: 68 no'lu izolat-Çorum, 4: 125 no'lu izolat-Edirne, 5: 44 no'lu izolat-Elazığ, 6: 259 no'lu izolat-Afyonkarahisar, 7: 373 no'lu izolat-Konya, 8: 581 no'lu izolat-Aksaray illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, -C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)].....	115
Şekil 4.46. Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır 2: 68 no'lu izolat-Çorum, 3: 125 no'lu izolat-Edirne, 4: 291 no'lu izolat-Adapazarı, 5: 148 no'lu izolat-Bursa, 6: 150 no'lu izolat-Çanakkale, 7: 225 no'lu izolat-Eskişehir, 8: 602 no'lu izolat-Kütahya, 9: 27 no'lu izolat-Gaziantep, 10: 38 no'lu izolat-Elazığ, 11: 52 no'lu izolat-Erzincan, 12: 57 no'lu izolat-Samsun, 13: 252 no'lu izolat-Afyon, 14: 355 no'lu izolat-Yozgat, 15: 364 no'lu izolat-Konya illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, -C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)].....	115
Şekil 4.47. Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 164 no'lu izolat-Burdur, 2: 268 no'lu izolat-Afyon, 3: 210- no'lu izolat-Eskişehir, 4: 190 no'lu izolat-Ankara, 5: 259 no'lu izolat (cDNA, 1: 5 seyreltili)-Afyon, 6: 617 no'lu izolat (cDNA 1: 5 seyreltili)-Ankara) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA].....	115
Şekil 4.48. Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 61 no'lu izolat-Samsun, 2: 268 no'lu izolat-Çorum, 3: 389 no'lu izolat-Konya, 4: 542 no'lu izolat-Aksaray, 5: 524 no'lu izolat-Kayseri illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, -C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)].....	116
Şekil 4.49. BNYVV izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının CP genine göre baz dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde ML yöntemi ve Tamura-Nei modeli kullanılmıştır. Dendogramda bootstrap değerleri, dallarda % olarak gösterilmiş ve %50'nin altındaki değerler ağaçta yer almamıştır. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını göstermektedir (0.05). Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV), filogenetik ağacın oluşturulmasında dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlar ait bilgiler Tablo 4.25'de yer almaktadır.....	129
Şekil 4.50. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının P25 gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 1 kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 52 no'lu izolat-Erzincan illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]	130
Şekil 4.51. IGR-9 ve ERC-52 kodlu BNYVV izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının P25 bölgesi nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde MEGA 7 yazılımında yer alan ML yöntemi kullanılmıştır. BSBMV P29 dizisi (erişim numarası AF280540) dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlar ait bilgiler Tablo 4.30'da yer almaktadır.	139

- Şekil 4.52. BNYVV P31 protein geni bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 1Kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 52 no'lu izolat-Erzincan, 3: 44 no'lu izolat -Elazığ) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar. - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), M: 100 bp]..... 140
- Şekil 4.53. BNYVV P31 protein geni bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması 1: 52 no'lu izolat-Erzincan), M: 1Kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific). 140
- Şekil 4.54. IGR-9 ve ERC-52 kodlu BNYVV izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının P31 bölgesi nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde MEGA 7 yazılımında yer alan ML yöntemi kullanılmıştır. BSBMV P32 dizisi (erişim numarası FJ424610) dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlara ait bilgiler Tablo 4. 33'te yer almaktadır 143
- Şekil 4.55. BNYVV P26 protein geni bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat -Iğdır, 2: 52 no'lu izolat -Erzincan) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA) 144
- Şekil 4.56.IGR-9 ve ERC-52 kodlu BNYVV izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının P26 bölgesi nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde MEGA 7 yazılımında yer alan ML yöntemi kullanılmıştır. BSBMV P29 dizisi (erişim numarası AF280540) dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlara ait bilgiler Tablo 4.34'de yer almaktadır 146
- Şekil 4.57. KNY-359 izolatı ile inokule edilen *Chenopodium quinoa* bitkisinin inokuleli yapraklarında 4 hafta sonra oluşan ufak klorotik lokal lezyonlar (A) ile inokule edilmeyen sistemik yapraklarında gözlenen hafif bombe oluşumu (B)..... 151
- Şekil 4.58. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 4 hafta sonra *B. macrocarpa* bitkilerinin virüs-inokuleli (A) ve inokulesiz yapraklarında oluşan ufak klorotik lokal lezyonlar (B) ile bu bitkinin genel görünümü (C)..... 152
- Şekil 4.59. KNY-359 izolatının inokulasyonundan 7 ay sonra *Beta macrocarpa*'nın 1. ve 2. tekerrüründeki bitkilerin yapraklarında gelişen klorotik lokal lezyonlar (A) ve damarlar arası siyahlaşmanın görünümü (B) 152
- Şekil 4.60. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 4 hafta sonra *Patellifolia patellaris* bitkisinin virüs-inokuleli yapraklarında oluşan ufak klorotik lokal lezyonlar (A) ile bu bitkinin genel görünümü (B) 153
- Şekil 4.61. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 7 ay sonra *Patellifolia patellaris* bitkisinin yapraklarında gelişen iri siyah nekrotik lokal lezyonların görünümü 153
- Şekil 4.62. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 4 hafta sonra *Nicotiana benthamiana* bitkisinin virüs-inokuleli yaprağı (A) ile BNYVV inokuleli bu bitkinin genel görünümü (B)..... 154
- Şekil 4.63. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 4 hafta sonra *Nicotiana rustica* bitkisinin genel görünümü 154
- Şekil 4.64. KNY-359 izolatı ile inokule edilen *S. oleraceae* cv. Nebreska bitkilerinin virüs inokuleli yapraklarında gözlenen bombe ve damarlarda büzülme oluşumu (A), üst yapraklarda gözlenen bombe ve form bozukluğu (B) ile bu bitkinin 4 hafta sonunda kaydedilen genel görünümü (C) 155

- Şekil 4.65. BNYVV ve BVQ ile enfekteli *S. oleraceae* cv. Nebraska bitkilerinin virüs inokulasyonundan yedi ay sonra gözlenen yapraklarda form bozukluğu (A) ve (B) 156
- Şekil 4.66. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan BSBV izolatlarının seçildiği iller..... 157
- Şekil 4.67. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 68 no'lu izolat-Çorum, 3: 125 no'lu izolat-Edirne, 4: 291 no'lu izolat-Adapazarı, 5: 148 no'lu izolat-Bursa, 6: 225- no'lu izolat-Eskişehir, 7: 602 no'lu izolat-Kütahya, 8: 27 no'lu izolat-Gaziantep, 9: 52 no'lu izolat-Erzincan, 10: 355 no'lu izolat-Yozgat, 11: 44 no'lu izolat-Elazığ, 12: 259 no'lu izolat-Afyon) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA] 158
- Şekil 4.68. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 44 no'lu izolat (1:5 sulandırma)-Elazığ, 2: 68 no'lu izolat (1:5 sulandırma)-Çorum, 3: 373 no'lu izolat-Konya, 4: 581 no'lu izolat-Aksaray, 5: 617 no'lu izolat-Ankara, 6: 150 no'lu izolat-Çanakkale, 7: 38 no'lu izolat-Elazığ, 8: 57-Samsun, 9: 63 no'lu izolat-Çorum, 10: 625 no'lu izolat-Ankara) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA] 158
- Şekil 4.69. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 27 no'lu izolat - Gaziantep, 2: 52 no'lu izolat-Erzincan, 3: 225 no'lu izolat-Eskişehir, 4: 355 no'lu izolat -Yozgat, 5: 581 no'lu izolat-Aksaray, 6: 373 no'lu izolat -Konya, 7: 281 no'lu izolat-Kastamonu, 8: 527 no'lu izolat -Kayseri, 9: 75 no'lu izolat-Amasya) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]..... 158
- Şekil 4.70. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 75 no'lu izolat - Amasya, 2: 52 no'lu izolat -Erzincan, 3: 225 no'lu izolat-Eskişehir) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)] 159
- Şekil 4.71. Beet soil-borne virus (BSBV) izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BSBV izolatlarının kılıf protein geni nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, Maximum Likelihood yöntemi ve Tamura-Nei modeli kullanılmıştır. Dendogramda bootstrap değerleri, dallarda % olarak gösterilmiş ve %50'nin altındaki değerler ağaçta yer almamıştır. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını göstermektedir (0.05). *Pomovirus* cinsi üyesi Potato mop-top virus (PMTV), filogenetik ağacın oluşturulmasında dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlara ait bilgiler Tablo 4.44'de yer almaktadır. 166

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1. Dünya şeker pancarı ekim alanları (da), üretim miktarları (ton) ve verim (ton/da) değerleri	3
Tablo 1.2. Türkiye’de pancar ekim alanı, üretim miktarı ve verimi	4
Tablo 1.3. İllere Göre Türkiye Şeker Pancarı Ekim Alanları, Üretimi ve Verimi	4
Tablo 1.4. Dünyada şeker pancarında sorun olan hastalık ve zararlıların ekonomik kayıp açısından sıralaması	5
Tablo 2.1. Şeker pancarında enfeksiyon oluşturan toprak kökenli virüsler	7
Tablo 2.2. BNYVV streyn tipleri ve bu streynlerin coğrafik dağılımları	18
Tablo 3.1. Biyolojik çalışmalarda kullanılan test bitkileri, familyası, Türkçe adı ve temin edildiği yerler	34
Tablo 3.2. Moleküler çalışmalarda kullanılan primerler, nükleotit dizileri, virüsün hedef RNA ve bölgesi ile beklenen bant büyüklükleri	35
Tablo 3.3. BVQ’nun varlığının araştırılmasında kullanılan toprak örneklerine ait bilgiler ve bu toprak örneklerinin BNYVV, BSBV ve/ya da <i>P. betae</i> ile bulaşık olma durumları.....	36
Tablo 3.4. Vektör <i>Polymyxa betae</i> ile bulaşık seçilen toprak örnekleri ve bu örneklerin elde edildiği lokasyonlar.....	42
Tablo 3.5. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) ve Beet soil-borne virus (BSBV)’un kılıf protein genine göre araştırması amacıyla seçilen örneklerin lokasyonları, örnek numaraları ile bu örneklerde BNYVV ve BSBV için belirlenen ELISA absorbans değerleri	43
Tablo 3.6. Beet virus Q (BVQ) izolatlarının kılıf protein genine göre moleküler karakterizasyonu için seçilen örneklerin numaraları ve orijinleri.....	44
Tablo 3.7. Biyolojik çalışmalarda kullanılan test bitkileri ve inokulasyon dönemleri	46
Tablo 3.8. Moleküler çalışmalar için seçilen BVQ izolatı ve tekerrür numarası, test bitkilerinde gözlenen makroskopik belirtiler	48
Tablo 3.9. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein genine göre moleküler karakterizasyonu için seçilen örnekler ve orjinleri	52
Tablo 3.10. Beet soil-borne virus (BSBV) izolatlarının kılıf protein genine göre moleküler karakterizasyonu çalışması için seçilen örneklerin numaraları ve orjinleri	58
Tablo 4.1. Vektör <i>Polymyxa betae</i> ile bulaşık toprak örneklerinden elde edilen şeker pancarı örneklerinde Beet virus Q’nun illere göre bulunma durumu.....	68
Tablo 4.2. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında BVQ ve vektör <i>P. betae</i> ’nin bulunma durumu ile tuzak bitki testi yöntemi ile yetiştirilen bitkilere ait genel bilgiler	69
Tablo 4.3. Vektör <i>Polymyxa betae</i> ile bulaşık toprak örneklerinin orjinleri, bu topraklarda yetişen şeker pancarı bitkilerinde kayıt edilen semptomlar, ELISA absorbans değerleri ile RT-PCR sonuçları.....	79
Tablo 4.4. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından coğrafik orjinlerine göre seçilen toprak kökenli virüsler (BNYVV, BSBV) ve/ya da vektör <i>P. betae</i> ile bulaşık toprak örneklerinde BVQ’nun bulunma durumu	80
Tablo 4.5. Türkiye’nin farklı bölgelerinden elde edilen Beet virus Q izolatlarının kılıf protein bölgelerinin nükleotit seviyesinde göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)	85

Tablo 4.6. Türkiye'ye ait Beet virus Q (BVQ) izolatlarının dünyadaki bazı BVQ izolatları ile kılıf proteininde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonlarının karşılaştırılması	86
Tablo 4.7. Türkiye'ye ait Beet virus Q izolatlarının dizi analizi yapılan CP geninin nükleotit düzeyinde dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)	87
Tablo 4.8. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen Beet virus Q izolatlarının kılıf protein bölgelerinin amino asit seviyesinde göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)	88
Tablo 4.9. BVQ izolatlarının dizi analizi yapılan CP geninin aa düzeyinde dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)	89
Tablo 4.10. Türkiye'ye ait Beet virus Q (BVQ) izolatlarının dünyadaki bazı BVQ izolatları ile kılıf proteininde farklılık belirlenen amino asit pozisyonlarının karşılaştırılması	90
Tablo 4.11. Beet virus Q'nun kılıf protein bölgesi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar	92
Tablo 4.12. Beet virus Q izolatları ile inokule edilen test bitkileri ve reaksiyonları.....	94
Tablo 4.13. Test bitkilerinin virüs inokule edilen ve edilmeyen yapraklarında Beet virus Q'nun bulunma durumunun RNA-1'ine spesifik primerler ile RT-PCR yöntemi ile araştırılması.....	102
Tablo 4.14. Mekaniksel inokulasyonla faklı test bitkilerine aktarılan ve bu bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının nükleotit düzeyinde gösterdikleri benzerlik oranları (%).....	103
Tablo 4.15. Mekaniksel inokulasyonla faklı test bitkilerine aktarılan ve bu bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının kısmi sekans analizi yapılan RNA-1 segmentinde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonları.....	103
Tablo 4.16. Farklı test bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının kısmi sekans analizi yapılan RNA-1'ine ait bölgenin dünya izolatları ile nükleotit düzeyinde benzerlik oranları (%)	104
Tablo 4.17. Mekaniksel inokulasyonla faklı test bitkilerine aktarılan ve bu bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının kısmi sekans analizi yapılan RNA-1 segmentinde farklılık belirlenen amino asit pozisyonları	104
Tablo 4.18. Mekaniksel inokulasyonla faklı test bitkilerine aktarılan ve bu bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının kısmi sekans analizi yapılan RNA-1'ine ait bölgenin dünya izolatları ile aa düzeyinde benzerlik oranları	105
Tablo 4.19. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein genine göre nükleotit düzeyinde birbirleriyle göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)	118
Tablo 4.20. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen BNYVV izolatlarının kılıf protein gen bölgesinde farklılık gözlenen nükleotit pozisyonları	119
Tablo 4.21. Türkiye'ye ait Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein (CP) geni nükleotit dizisi bakımından dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)*	121
Tablo 4.22. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein genine göre amino asit düzeyinde birbirleriyle göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)	123

Tablo 4.23. Türkiye'ye ait Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının ve dünyadaki bazı BNYYV izolatlarının kılıf protein gen bölgelerinde farklılık görülen amino asit pozisyonları	124
Tablo 4.24. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein bölgesi amino asit dizisine göre dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)	125
Tablo 4.25. Beet necrotic yellow vein virus'un Kılıf protein bölgesi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar	126
Tablo 4.26. IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının P25 gen bölgesi nükleotit dizisine göre dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)	131
Tablo 4.27. IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının P25 bölgesi amino asit dizisinin dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)	131
Tablo 4.28. ERC-52 ve IGR-9 izolatlarının dünyadaki bazı BNYVV izolatları ile P25 gen bölgesinde farklılık görülen nükleotit pozisyonları	133
Tablo 4.29. ERC-52 ve IGR-9 izolatlarının dünyadaki bazı BNYVV izolatları ile P25 gen bölgesinde farklılık görülen amino asit pozisyonları	136
Tablo 4.30. Beet necrotic yellow vein virus'un P25 gen bölgesi nükleotit esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar ve dış grup olarak yer alan Beet soil-borne mosaic virus izolatı.....	137
Tablo 4.31. BNYVV izolatlarının dünya izolatları ile P31 geni nükleotit dizisine göre benzerlik oranları* (%)	141
Tablo 4.32. BNYVV izolatlarının dünya izolatları ile P31 proteini amino asit dizisine göre benzerlik oranları (%)	141
Tablo 4.33. Beet necrotic yellow vein virus'un P31 gen bölgesi nükleotit dizisi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar ve dış grup olarak yer alan Beet soil-borne mosaic virus izolatı	142
Tablo 4.34. Beet necrotic yellow vein virus'un P26 gen bölgesi nükleotit dizisi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar ve dış grup olarak yer alan Beet soil-borne mosaic virus izolatı	145
Tablo 4.35. IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının kılıf protein, P25, P31 ve P26 gen bölgelerine göre belirlenen streyn grupları	147
Tablo 4.36. IGR-9 ve ERC-52 izolatlarına farklı şeker pancarı genotiplerinin reaksiyonları ile ilgili ELISA absorbans değerleri.....	148
Tablo 4.37. KNY-359 izolatı ile inokule edilen test bitkilerinin reaksiyonları ve DAS-ELISA sonuçları.....	150
Tablo 4.38. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin nükleotit seviyesinde göstermiş olduğu benzerlik oranları (%)	160
Tablo 4.39. BSBV izolatlarının kılıf protein bölgesinde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonları [Almanya'ya ait Ahlum izolatı (U64512) referans olarak kullanılmıştır].....	161
Tablo 4.40. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein geninin nükleotit düzeyinde dünya izolatları ile benzerlik oranları	162
Tablo 4.41. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin amino asit dizisinde belirlenen benzerlik oranları (%)	163

Tablo 4.42. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BSBV izolatlarının kılıf protein gen bölgesinde farklılık belirlenen amino asit pozisyonları [Almanya'ya ait Ahlum izolatı (U64512) referans olarak kullanılmıştır]	163
Tablo 4.43. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein geninin amino asit düzeyinde dünya izolatları ile benzerlik oranları* (%)	164
Tablo 4.44. Beet soil borne virus'ün Kılıf protein geni nükleotit dizisi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar	165



1. GİRİŞ

Şeker pancarı (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *altissima*) günümüzde taksonomik olarak *Caryophyllales* sınıfının, *Amaranthaceae* (Horoziğiğiller = Ispanakgiller) familyasında sınıflandırılmakta olup ekonomik öneme sahip bir kültür bitkisidir. Bu bitki, pazı (*Beta vulgaris* var. *cicla*), ıspanak (*Spinacia oleracea*), sirken (*Chenopodium album*), deniz börülcesi (*Salicornia europaea*), kırmızı pancar (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *conditiva*) ve hayvan pancarı (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *crassa*) gibi diğer bazı bitkilerle aynı grup içerisinde yer almaktadır (Monteiro et al., 2013).

Dünyada temel bir besin kaynağı olan şekerin, %20'si şeker pancarından geri kalan %80'lik kısmı ise şeker kamışından üretilmektedir. Ilıman iklim kuşağında yer alan; Avrupa ülkelerinin yanı sıra, Amerika, Asya ve bazı Afrika ülkeleri ve de ülkemizde şeker üretimi için şeker pancarı bitkisi tercih edilmektedir (Draycott, 2006).

Günümüzde kültürü yapılan şeker pancarı, *Beta vulgaris* ssp. *maritima* ya da *Beta maritima* soyundan gelmektedir (Francis, 2006). İlk kültür formlarının yayılma alanının, büyük çeşit zenginliğinin görüldüğü Akdeniz kıyı bölgeleri olduğu düşünülmektedir. Önceleri, insanlar yabani pancarların yaprak ve köklerini yiyecek olarak kullanmış ve ardından bundan hoşlanmaları üzerine bu bitkiyi yetiştirmeye başlamışlardır. Bir kültür bitkisi olan *Beta* cinsine ilk olarak MÖ 2. yüzyılda Sicilya'da rastlanılmış ve o bölgeden Suriye ve Babil'e götürüldüğü görüşü kabul görmüştür (Akınerdem, 2022). Orta Çağ'a kadar bu şekilde tüketilen şeker pancarına özel ilginin oluşması, iki bin yılı aşkın bir süre gerektirmiştir (Draycott, 2006). Beyaz pancardaki tatlı maddenin, katı ve kristaller halinde elde edilebileceğini ve kimyasal açıdan şeker kamışından elde edilen kristal şekere benzer olduğunu bildiren ilk kişi ise Alman kimyager Andreas Sigismund Marggraf (1709-1782) olmuş ve bu sebeple Marggraf pancar şekerinin bulucusu olarak kabul edilmektedir. Ancak, Marggraf'ın bu buluşunu bir sanayi hamlesi haline getirme fikri ise öğrencisi Franz Achard'a ait olup, 1802 yılında Silezya'da dünyanın ilk şeker fabrikasını kurmuş ve çeşitli pancar tiplerini seçerek üretmiştir. Böylelikle, elde edilen ve 'Beyaz Silezya Pancarı' adı verilen bu çeşit, mevcut şeker pancarı çeşitlerinin temelini oluşturmuştur (Akınerdem, 2022).

Ülkemizde ise, Osmanlı imparatorluğu döneminde tamamı ithal edilen şeker, gerek kıtlığı gerekse pahalı olması sebebiyle tüm topluma ulaşamamış; ancak

sandıklarda saklanan ve misafirlerin kahvelerini tatlandırmak için sunulan bir gıda olmuştur. Avrupa’da 19. yüzyıl başlarında şeker sanayinin gelişmeye başlaması, Osmanlı İmparatorluğu’nu da harekete geçirmiş, şeker kamışı ve şeker pancarı tarımının yaygınlaşması ve şeker fabrikalarının kurulması için pek çok imtiyazlar verilmiş, ancak başarı sağlanamamıştır. Cumhuriyetin ilanından önce, 17 Şubat-4 Mart 1923 tarihleri arasında İzmir’de gerçekleştirilen İktisat Kongresi’nde alınan kararlar doğrultusunda; Uşaklı bir çiftçi olan Mollazade Ömer Nuri Efendi (sonradan Şeker soyadını almıştır) 19 Nisan 1923’te, 50 ortaklı, 300.000 TL sermayeli, Uşak Terakki-i Ziraat Türk Anonim Şirketini kurmuştur. Böylelikle, ülkemizde ilk şeker fabrikasının temelleri atılmıştır. Bu şirket 500 ton/gün kapasite ile Uşak Şeker Fabrikası’nı 10 Aralık’ta deneme üretimine geçirmiştir. Aynı yıl, ikinci fabrika ise İstanbul ve Trakya Şeker Fabrikaları T.A.Ş. tarafından Alpullu (Kırklareli)’da 500 ton/gün kapasite ile işletmeye açılmıştır. Böylelikle, Uşak ve Alpullu Şeker Fabrika’larının hizmete girmesiyle yerli şeker sanayimiz oluşmuştur (Akınerdem, 2022). Ardından, 5 Aralık 1933’te Eskişehir ve 19 Ekim 1935’te Turhal Şeker Fabrika’ları hizmete girmiştir. 6 Temmuz 1935’te ise bu dört şeker fabrikası, Türk Şeker Fabrikaları A.Ş. adı altında toplamıştır (Türk Şeker, 2022). Günümüzde ise, ülkemizde özel, kooperatif ve devlete ait olmak üzere toplam 33 şeker fabrikası bulunmaktadır (Akınerdem, 2022).

Şeker pancarı; iki yıllık yazlık bir endüstri bitkisidir. İlk yıl, şeker içeren etli kazık kök ve bu kökün üstünde çok sayıda düz taç yaprak oluşmakta, ertesi yıl ise, çiçek ve tohum vermektedir. Pancar şeker elde etmek amacıyla yetiştirildiğinde, bitkiler ilkbaharda ekilip, sonbahar-kış döneminde hasat edilmektedir (FAO, 1999). Şeker pancarı yetiştiriciliği, tercihen humus bakımından zengin verimli topraklarda, 15-21°C arasındaki sıcaklıklarda yapılmaktadır. Verim; tohum kalitesi ve çeşitliliği, çevresel faktörler, ekim ve hasat teknikleri gibi koşullara bağlı olmakla beraber 30-70 ton/ha arasında değişebilmektedir (FAO, 2009). Bununla birlikte; şeker pancarında verimin, sukroz miktarının ve kök ağırlığının artırılmasının yanı sıra hastalık ve zararlılara dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi ıslah çalışmalarının en önemli hedeflerini oluşturmaktadır. Nitekim; son 200 yılda bu yönde yapılan çalışmalar ile, şeker içeriğinde %10 artış (%8’den %18’e) sağlanmıştır (Dohm et al., 2014).

Ülkemizde şeker sanayiinin ham maddesini oluşturan şeker pancarı, ayrıca biyoyakıt, yem sanayi, farmakoloji ve plastik sanayi alanlarında da ham madde olarak kullanılmaktadır (Dohm et al., 2014; Finkenstadt, 2014). Ülke ekonomisi bakımından,

özellikle kimya (melas) ve etil alkol sanayisine sağladığı katkı büyük önem taşımaktadır (Şiray, 1990; Akbay, 2003; Erdinç, 2017). Bu nedenle; şeker pancarı, diğer ürünlerle karşılaştırıldığında ekonomik katkısı yüksek ve tüm dünyada stratejik öneme sahip bir ürün olarak ticaret konusu oluşturmaktadır (Dikmen ve Bozdağ, 2018). Öte yandan, şeker karbonhidrat grubunda yer alan, yüksek enerjili tatlı bir gıda maddesi olup karbonhidrat ya da şekerli maddeler canlılar için gerekli olan enerjinin büyük miktarını (insan için %60-70'ini) karşılamaktadır. Normal şartlarda bu değer bir insanın günlük ihtiyacı olan 2700-3200 kalorisinin 1600-2200 kalorisine denk gelmektedir (Akınerdem, 2022).

2020 yılı dünya şeker pancarı ekim alanları incelendiğinde; 9.166.470 da ile Rusya'nın ilk sırayı aldığı, bu ülkeyi sırasıyla ABD, Fransa, Almanya ve 3.363.480 da ile de Türkiye'nin izlediği (5. sırada) görülmektedir (Tablo 1.1; FAO, 2020). Üretim miktarı bakımından ise, 33.915.086 ton ile yine Rusya ilk sırada bulunurken; ABD, Almanya, Fransa ve 23.025.738 ton ile de Türkiye bu ülkeyi takip etmektedir. Söz konusu bu ülkeler dünya pancar şekeri üretiminin yaklaşık %65'ini karşılamaktadır. Verim yönünden irdelendiğinde ise; 7.414,02 ton/da ile Almanya 1. sırada yer almakta; ABD, Fransa ve 6.845,81 ton/da ile de Türkiye 4. sırada bulunmaktadır (Tablo 1.1).

Tablo 1.1. Dünya şeker pancarı ekim alanları (da), üretim miktarları (ton) ve verim (ton/da) değerleri (FAO, 2020)

Ülke adı	Ekim alanı (da)	Üretim (ton)	Verim (ton/da)
Rusya	9.166.470	33.915.086	3.699.91
ABD	4.622.800	30.497.740	6.597.24
Fransa	4.208.900	26.195.460	6.223.83
Almanya	3.860.000	28.618.100	7.414.02
Türkiye	3.363.480	23.025.738	6.845.81
Mısır	2.635.430	13.043.612	4.949.33
Polonya	2.459.200	14.171.540	5.762.66
Ukrayna	2.200.000	9.150.180	4.159.17
Çin	1.952.460	11.597.764	5.940.08
İngiltere	1.110.000	5.980.000	5.382.54
Dünya	443.907.300	252.968.843	5.698.69

Türkiye’de ticari öneme sahip bitkilerin başında gelen şeker pancarının üretimi; Akdeniz, Ege ve Doğu Karadeniz Bölgeleri’nin sahil kısımları dışında diğer tüm bölgelerde yapılabilmektedir (TEPGE, 2020). Ülkemizde 2011-2020 yılları arasında gerçekleşen pancar üretimi (ton), ekim alanı (da) ve verim değerleri (kg/da) Tablo 1. 2’de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde, 2020 yılında şeker pancarı üretim alanı,

üretim miktarı ve verim değerlerinde bir önceki yıla göre artış olduğu dikkat çekmektedir (TÜİK, 2020) (Tablo 1.2).

2020 yılı verilerine göre; Türkiye’de pancar üretiminin yapıldığı iller incelendiğinde, 207.558 da ekim alanı, 1.452.906 ton üretim ve 7 ton/da verim ile ilk sırayı Konya (% 21) ilinin aldığı, bu ili Eskişehir (% 18) ve Ankara (% 9) illerinin izlediği görülmektedir (TEPGE, 2020) (Tablo 1. 3).

Tablo 1.2. Türkiye’de pancar ekim alanı, üretim miktarı ve verimi (TÜİK, 2020)

Yıllar	Üretim (ton)	Hasat alanı (da)	Verim (kg/da)
2011	16.126.489	2.938.410	5.488
2012	14.919.940	2.081.860	7.166
2013	16.488.590	2.909.100	5.667
2014	16.743.045	2.874.610	5.824
2015	16.462.000	2.752.620	5.980
2016	19.592.731	3.219.530	6.085
2017	21.149.020	3.388.830	6.240
2018	17.436.100	2.906.980	5.998
2019	18.085.528	3.101.000	5.832
2020	23.025.738	3.363.480	6.845

Tablo 1.3. İllere Göre Türkiye Şeker Pancarı Ekim Alanları, Üretimi ve Verimi (TEPGE, 2020)

İller	Ekilen Alan (da)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (ton/da)
Konya	207.558	1.452.906	7
Eskişehir	178.277	1.026.876	5.76
Ankara	86.198	537.876	6.24
Karaman	77.017	554.522	7.2
Yozgat	62.960	356.354	5.66
Kastamonu	35.950	170.763	4.75
Denizli	29.448	142.528	4.84
Bursa	26.682	206.519	7.74
Burdur	25.798	131.570	5.1
Ağrı	22.544	84.765	3.76
Malatya	22.392	122.708	5.48
Elazığ	20.955	114.624	5.47
Diğer İller (28 il)	52.908	259.249	4.90
Toplam	965.869	5.824.190	5,98

Ülkemizde şeker ve şeker pancarı, pancar üreticileri ile şirketler arasında sözleşme düzenlenmesi suretiyle kota sistemine göre üretilmektedir. Bundan dolayı yıllık üretim hedeflerine ulaşmak ve bu yönde planlama yapmak çok büyük önem taşımaktadır. Hedeflenen şeker pancarı üretimi için yüksek verimli ve kaliteli olan

çeşitlerin seçilerek ekilmesi birim alandan alınan pancar miktarı açısından önem taşımaktadır. Bu sebeple; uygun yetiştiricilik teknikleri, hastalık ve zararlılara karşı alınacak tedbirlerle üretimin yapılması gerekmektedir. Ekimden itibaren, silolama dönemine kadar, birçok faktör şeker pancarında kayıplara sebep olabilmektedir. Nitekim; şeker pancarı tarımında verimi etkileyen en önemli faktörlerin başında hastalık, zararlı ve yabancı otlar tarafından oluşturulan zararlar gelmektedir (McGrath et al., 2007). Dünyada pancarda verimi olumsuz etkileyen bakteriyel, fungal ve viral olmak üzere yaklaşık 82 hastalığın olduğu ve bunlardan 51'inin ise ülkemizde sorun oluşturduğu bilinmektedir (Özgür, 2003).

Dünyada şeker pancarında sorun olan hastalık ve zararlılarının oluşturdukları ekonomik kayıp açısından sıralaması Tablo 1.4'de verilmiştir. Bu tablodaki sıralama; Avrupa, ABD, Çin ve Japonya'da bu etmenlerin yaygınlığı, çeşitliliği ve neden oldukları zarar dikkate alınarak oluşturulmuştur (Biancardi and Lewellen, 2016).

Tablo 1.4. Dünyada şeker pancarında sorun olan hastalık ve zararlıların ekonomik kayıp açısından sıralaması (Biancardi and Lewellen, 2016)

1.	Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) + <i>Polymyxa betae</i> (Rhizomania)
2.	<i>Cercospora beticola</i>
3.	<i>Heterodera schachtii</i> (kist nematodu), <i>Meloidogyne</i> spp. (kök-ur nematodu)
4.	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Phyium</i> spp., <i>Phoma betae</i> , <i>Aphonomyces cochlioides</i>
5.	<i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>
6.	Beet curly top virus (BCTV), Beet yellows virus (BYV), Beet mosaic virus (BtMV)
7.	<i>Aphis fabae</i> , <i>Myzus persicae</i> , <i>Pemphigus betae</i>
8.	<i>Peronospora solani</i> (mildiyö), <i>Erysiphe betae</i> (külleme)
9.	<i>Tetranops myopaeformis</i> , <i>Lixus junci</i> , <i>Temnorhinus mendicus</i>
10.	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Ramularia beticola</i>

Tablo 1.4'de görüldüğü gibi; hem dünyada, hem de Türkiye'de şeker pancarlarında en önemli ekonomik kayıp rhizomania hastalığının etmeni olan Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV; Şeker pancarı nekrotik sarı damar virüsü) tarafından oluşturulmaktadır. Bu toprak kökenli virüs protozoan vektör *Polymyxa betae* Keskin tarafından taşınmakta olup, pancarın kök verimini %30-90 (Asher and Kerr, 1996), şeker oranını ise %70'lere varan oranda düşürerek (Rush and Heidel, 1995) ürün kayıplarına sebep olabilmektedir. Diğer taraftan; aynı vektör tarafından taşınan ve doğada genellikle şeker pancarında BNYVV ile birlikte enfeksiyon oluşturan; Beet soil-borne virus (BSBV; Şeker pancarı toprak kaynaklı virüsü), Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV; Şeker pancarı toprak kaynaklı mozayik virüsü) ve Beet virus Q (BVQ; Şeker pancarı Q virüsü)'da dünyada şeker pancarı üretimini tehdit

eden toprak kökenli virüsler arasında yer almaktadır (Mouhanna et al., 2002; Lennefors, 2006).

Türkiye’de daha önce yürütülen çalışmalarda, şeker pancarı üretim alanlarında bu viral etmenlerden BNYVV ve BSBV’nin yaygın olarak bulundukları belirlenmiş (Vardar ve Erkan, 1992; Özgür, 1995; Kutluk, 1999; Özgür ve Kaya, 1998; Meunier et al., 2003; Özdemir, 2014; Kutluk Yılmaz vd., 2016a); ancak, BVQ ise şu ana kadar rapor edilmemiştir (Meunier et al., 2003). Bu doktora tez çalışması, aşağıda belirtilen amaçlar doğrultusunda yürütülmüştür:

1. Türkiye’nin önemli şeker pancarı üretim alanlarından daha önceki bir çalışma ile elde edilmiş olan (Kutluk Yılmaz vd., 2016a) toprak örnekleri içerisinde BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık olduğu bilinen 82 ve sadece vektör *P. betae* ile bulaşık 21 olmak üzere toplam 103 toprak örneğinin coğrafik lokasyonlarına göre seçilmesi ve, bu örneklerde BVQ’nun bulunma durumunun araştırılması,

2. Bu çalışma ile BVQ’nun ülkemizde tespit edilmesi durumunda, takiben farklı lokasyonlardan seçilen BVQ izolatlarının moleküler ve biyolojik özelliklerinin karakterize edilmesi,

3. Farklı lokasyonlara ait BNYVV izolatlarının kılıf protein (CP) gen bölgesine göre moleküler karakterizasyonu,

4. Farklı karakterde CP yapısına sahip iki BNYVV izolatının, farklı RNA segmentlerine ait gen bölgelerinin (P25, P26 ve P31) nükleotit ve amino asit dizilerinin belirlenmesi ve takiben bu dizilerin hem kendi aralarında hem de BNYVV dünya izolatları ile karşılaştırılması,

5. Farklı CP yapısına sahip iki BNYVV izolatının farklı dayanıklılık genlerini içeren şeker pancarı genotiplerini enfekte etme durumlarının incelenmesi,

6. Tuzak bitki yöntemiyle tekli enfekteli olduğu belirlenen BNYVV izolatının konukçu çevresinin araştırılması,

7. Farklı lokasyonlara ait BSBV izolatlarının CP gen bölgesinin moleküler karakterizasyonu.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Şeker pancarı üretiminde verimi olumsuz yönde etkileyen etmenler arasında virüs hastalıkları ilk sıralarda yer almaktadır. Son yıllarda tüm dünyada özellikle toprak kökenli virüs hastalıkları şeker pancarı üretimini tehdit etmektedir. Şeker pancarında sorun olan toprak kökenli virüsler; protista alemindeki *Plasmodiophorid* protozoa türleri, Fungi alemindeki *Chytrid* fungus türleri ve *Trichodoridae* familyası üyesi nematod vektörler tarafından taşınmaktadır (Tablo 2. 1).

Tablo 2.1. Şeker pancarında enfeksiyon oluşturan toprak kökenli virüsler

Virüs Adı	Cins	Familiya	Vektör
Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV)	<i>Benyvirus</i>	<i>Benyviridae</i>	<i>Polymyxa betae</i>
Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV)	<i>Benyvirus</i>	<i>Benyviridae</i>	<i>Polymyxa betae</i>
Beet soil-borne virus (BSBV)	<i>Pomovirus</i>	<i>Virgaviridae</i>	<i>Polymyxa betae</i>
Beet virus Q (BVQ)	<i>Pomovirus</i>	<i>Virgaviridae</i>	<i>Polymyxa betae</i>
Beet oak-leaf virus (BOLV)	<i>Varicosavirus</i>	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Polymyxa betae</i>
Beet black scorch virus (BBSV)	<i>Betanecrovirus</i>	<i>Tombusviridae</i>	<i>Olpidium virulentus</i>
Tobacco necrosis virus (TNV)	<i>Alphaonecrovirus</i>	<i>Tombusviridae</i>	<i>Olpidium virulentus</i>
BvANV-1	<i>Alphaonecrovirus</i>	<i>Tombusviridae</i>	?
Tobacco rattle virus (TRV)	<i>Tobravirus</i>	<i>Virgaviridae</i>	<i>Paratrachodorus pachydermus</i> <i>P. minor</i>

Plasmodiophorid vektör *Polymyxa betae* Keskin tarafından taşınan başlıca toprak kökenli virüsler; Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV), Beet virus Q (BVQ) ve Beet soil-borne virus (BSBV)'dür. Bu virüslerden; BNYVV ve BSBMV *Benyviridae* familyasının *Benyvirus* cinsi içerisinde yer almakta (Biancardi and Lewellen, 2016) olup; BNYVV dünya çapında yaygın olarak görülürken; BSBMV sadece ABD'de kayıt edilmiştir (Rush and Heidel, 1995). Diğer taraftan; BSBV ve BVQ, *Virgaviridae* familyasının *Pomovirus* cinsinin üyeleri olup, Avrupa şeker pancarı üretim alanlarında yaygın olarak görülmektedir (Meunier et al., 2003). Bununla birlikte; bahsedilen bu virüs türlerinden BNYVV şeker pancarı üretimini tehdit eden en tahripkar ve ekonomik kayba neden olan virüs türü olarak bilinmektedir (Scholten and Lange, 2000; Biancardi and Lewellen, 2016).

Beet oak-leaf virus (BOLV) ise, ilk olarak 2000'li yılların başlarında Kaliforniya'da BNYVV ile bulaşık tarlalardan izole edilmiştir. BOLV ile enfekteli şeker pancarı bitkilerinin yaprakları, BNYVV'nin bu bitkide oluşturduğu belirtilerden farklı olarak, bazı çeşitlerde meşe yaprağı deseni şeklinde görünüm sergilerken, bazı

çeşitlerde ise simptom oluşturmamaktadır. Bu virüs *P. betae* tarafından taşınmakta ve konukçu çevresi *Chenopodaceae* familyasına ait bitkilerle sınırlı bulunmaktadır (Liu and Gulati Sakhuja, 2011).

Chytrid fungal vektörlerden *Olpidium brassicae* (Woronin) P.A. Dang, tarafından taşınan ve pancarda enfeksiyon oluşturan virüs türlerinin başında Beet black scorch virus (BBSV) gelmektedir (Jiang et al., 1999). BBSV, *Tombusviridae* familyasının *Betanecrovirus* cinsi içerisinde yer almakta (Cao et al., 2002; Yuan et al., 2006; King et al., 2011) olup, ilk olarak 1980'lerin sonunda Çin'de, daha sonra ise ABD (Weiland et al., 2007), İran (Koenig and Valizadeh, 2008) ve Avrupa'da çeşitli ülkelerde kayıt edilmiştir (Gonzalez-Vazquez et al., 2009). BBSV'e ilave olarak, Liu vd. (1999) tarafından ABD'de Kaliforniya'da *Alphanecrovirus* cinsi içerisinde sınıflandırılan ve *O. brassicae* tarafından taşınan Tobacco necrosis virus (TNV)'ün de şeker pancarında enfeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir. İleriki yıllarda *Olpidium* spp., konukçuya özelleşme, virüs taşınma şekli ve fungal ribozomal DNA'nın ITS bölgesinin moleküler analizi dikkate alınarak taksonomik olarak üç türe (*O. virulentus*, *O. bornovanus*, *O. brassicae*) ayrılmıştır (Maccorone et al., 2010). Bu sebeple; daha sonra bu iki virüsü (BBSV ve TNV) taşıyan vektör türün *O. brassicae* yerine *O. virulentus* olduğu bildirilmiştir (Andika et al., 2016). Weiland vd. (2020) ise, ABD'de rhizomania symptomu sergileyen farklı pancar üretim alanlarından 5 toprak örneğinde şeker pancarlarını yetiştirmiş ve daha sonra RNAseq yöntemine göre analiz etmişlerdir. Bu çalışmada, her bir örnek için, 60.000.000 okuma gerçekleştirilmiş ve incelenen okumaların %98'den fazlasının BNYVV, BSBMV ve BBSV ile uyum gösterdiğini bildirmişlerdir. İlave olarak, yapılan detaylı analizler sonucunda, Tobacco necrosis virus A (TNV-A)'nın bir varyantını da belirlemişlerdir. Muhtemel virüs dizisinin, P8 ve P6 genlerinin Olive mild mosaic virus (OMMV) ya da Olive latent virus-1 (OLV-1)'e; CP ve 3'UTR bölgelerinin ise TNV-A'ya benzer olduğunu, toplam 3682 nt uzunluğunda hibrit bir virüs olabileceğini bildirmiş ve (BvANV-1) olarak isimlendirmişlerdir (Cins: *Alphanecrovirus*; Familya: *Tombusviridae*).

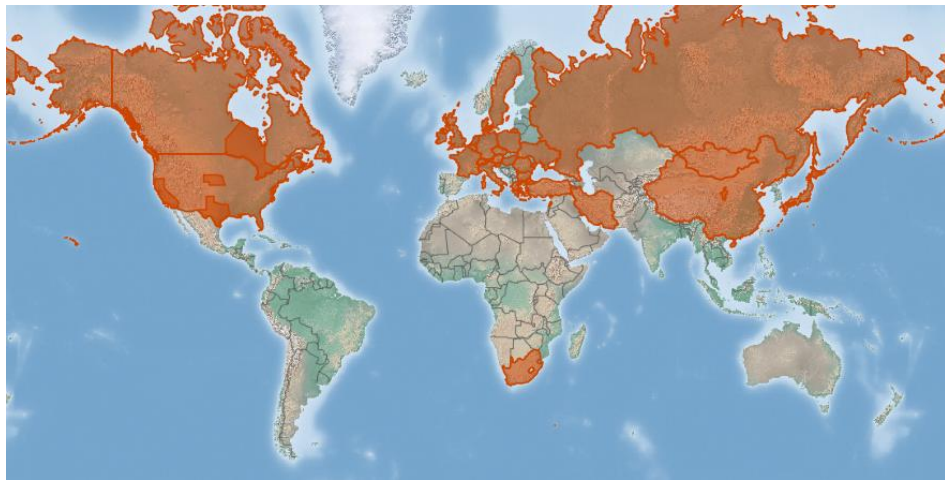
Öte yandan, *Trichodoridae* familyası üyeleri ile taşınabilen, ayrıca tohum ve toprak kaynaklı Tobacco rattle virus (TRV)'ün de dünyanın çeşitli bölgelerinde şeker pancarı üretim alanlarında problem oluşturduğu bildirilmektedir (Dikova, 2014).

2.1.Vektör *Polymyxa betae* Keskin

Önceleri *Myxomycota*'nın bir üyesi olan *Polymyxa betae*, daha sonra Protozoa aleminin *Plasmodiophoromycetes* sınıfı içerisinde gruplandırılmıştır (Ward et al., 2003). Etmenin ilk teşhisi Dr. Bahattin Keskin tarafından yapılmış ve *P. betae* Keskin şeklinde isimlendirilmiştir (Keskin, 1964). Daha sonra, yürütülen çalışmalarla *P. betae*'nin BNYVV (Ivanoviç, 1983), BSBV, BVQ ve BSBMV gibi toprak kökenli virüsleri taşıdığı (vektörü olduğu) tespit edilmiştir (Meunier et al, 2003; McGrann et al., 2009). Bu virüslerin hayat döngüsünün; vektörün sitoplazmasında taşınmalarından dolayı (Hébrard et al., 1999), *P. betae*'nin yaşam döngüsüne bağlı olduğu bildirilmiştir.

Polymyxa betae özellikle *Chenopodiaceae*, *Portulacaceae*, *Amaranthaceae* ve *Caryophyllaceae* familyalarına ait bitki türlerinin köklerinde endoparazit olarak yaşamakta, bu bitki türleri benzer şekilde BNYVV'nin de konukçuları olarak bilinmektedir (Tamada,1986; Abe and Ui, 1986; Hugo et al., 1996). Son yıllarda, Kutluk Yılmaz vd. (2016b) *Crucifera* familyasından *Raphanus raphanistrum* L. (yabani turp)'un da *P. betae* ve BNYVV'nin doğal konukçusu olduğunu bildirmişlerdir.

P. betae; yaygın olarak Avrupa (Canova, 1966), Asya (D'ambra and Mutto, 1977) ve Kuzey Amerika (Falk and Duffus, 1977)'da saptanmış ve dünyada yayılım alanının ise genellikle pancar üretim alanları ile sınırlı olduğu belirtilmiştir (Rush, 2003) (Şekil 2. 1).

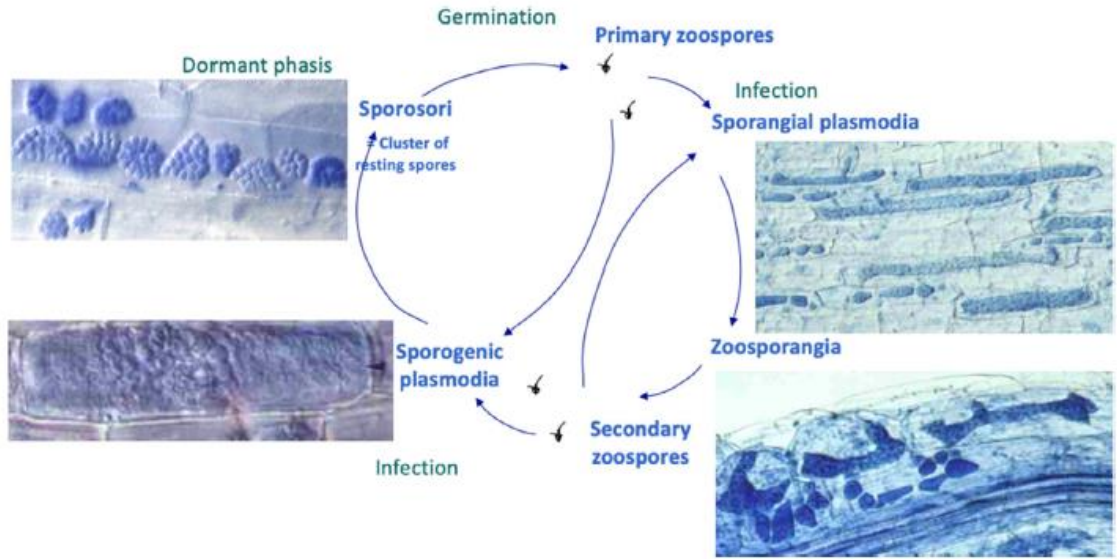


Şekil 2.1. *Polymyxa betae*'nin coğrafik yayılımı

(<https://www.cabi.org/isc/datasheet/42775#toDistributionMaps>; Erişim Tarihi: 20.06.2022)

P. betae'nın bitki köklerinde enfeksiyon oluşturabilmesi için; uygun konukçunun varlığı, toprakta serbest suyun bulunması ve toprak sıcaklığının önemli faktörlerden olduğu belirtilmektedir (Legreve et al., 2002). Diğer taraftan; BNYVV enfeksiyonunun oluşabilmesi için en uygun toprak sıcaklığının 20-25°C civarında olduğu (Blunt et al, 1991; Prillwitz and Schlösser, 1993), 15°C'de enfeksiyonun azaldığı, 10°C'de ise köklerde protozoa olmasına rağmen enfeksiyonun oluşmadığı bildirilmiştir (Blunt et al., 1991). Öte yandan; BSBV enfeksiyonu için ise, optimum toprak sıcaklığının 20°C olduğu ifade edilmektedir (Prillwitz and Schlösser, 1993).

Plasmodiophorid vektörler tarafından taşınan virüslerin hücre içine alınımı ve taşınması gibi konular yürütülen çalışmalarla ortaya konulmuştur (Rochon et al., 2004) (Şekil 2. 2.). *P. betae*, sistosori adı verilen kalın duvarlı, dinlenme spor yapıları halinde uzun yıllar toprakta kalabilmektedir. Enfekteli bitki köklerinde oluşan bu sistosori'ler, çevresel faktörlerin etkisiyle çürüyen köklerden toprağa karışmaktadır. Uygun şartlar oluştuğunda (konukçunun varlığı, sıcaklık, nem gibi); bu dinlenme sporları çimlenerek iki kamçılı primer zoosporları oluşturmaktadır. Primer zoosporlar toprak neminde hareket ederek bitki köklerine ulaşmakta, bu dokulara temas ettiklerinde kamçılarını absorbe ederek enkist hale dönüşmekte ve yaklaşık iki saat içerisinde zoosporların tüm içeriği bitki dokusuna aktarılmaktadır. Eğer vektör virüsü taşıyor ise, virüste zoosporun içeriği ile birlikte konukçu bitkiye aktarılmaktadır. Bitki dokusu içerisinde zoosporların çekirdekleri bölünmeye başlayarak öncelikle plasmodium yapılarını oluşturmaktadır. Bu plasmodium yapılarından ise, ya sekonder zoosporların serbest kalacağı zoosporangium ya da sistosori'lerin oluşacağı sporogenik plasmodium oluşmaktadır. Bu durum çevre koşulları ya da konukçu tipine bağlı olarak şekillenmektedir. Böylelikle, bir döngü yaklaşık 60 saat içerisinde tamamlanmaktadır (Rush, 2003).



Şekil 2.2. *Polymyxa* spp.'nin yaşam döngüsü (Anne Legreve, Louvain üniversite katoloğu)

P. betae ile şeker pancarı arasındaki bu ilişkinin, bitki için zararlı olup olmadığı henüz belirlenememiştir. Bununla birlikte, pancarın en tahripkar virüsü olan BNYVV ile *P. betae* arasındaki ilişki ayrıntılı olarak incelenmiş ve virüsün vektörün dinlenme sporları içerisinde en az 15 yıl canlı kalabildiği tespit edilmiş, ancak bu yapılar içerisinde çoğalamadığı bildirilmiştir (Abe and Tamada, 1986). Ayrıca, BNYVV'nin toprakta bulunan *P. betae*'ya ait dinlenme sporlarının tamamı tarafından taşınmadığı, yaklaşık %10-20'sinin bu taşınmayı gerçekleştirdiği saptanmıştır (McGrann et al., 2009).

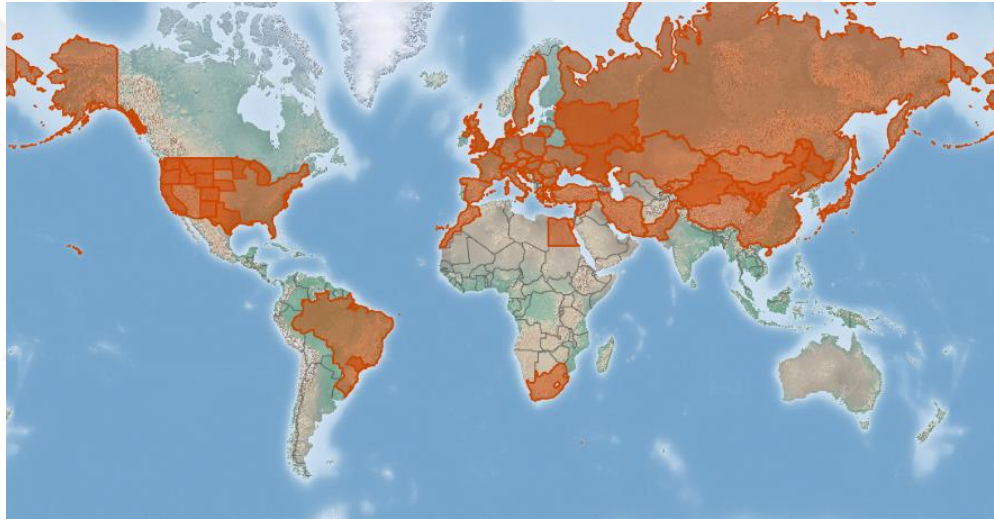
2.2. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV)

Şeker pancarında *P. betae* ile taşınan ve ekonomik olarak zarara neden olan en önemli viral hastalık; Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV; Şeker pancarı nekrotik sarı damar virüsü) tarafından oluşturulan rhizomania hastalığıdır (Scholten and Lange, 2000).

2.2.1. Coğrafik Yayılımı

1950'li yılların başlarında İtalya'da Po Nehri kıyısında yer alan Padan Ovası'nda şeker pancarlarında ciddi problemler kaydedilmiştir. Bu gözlemler, Canova'nın 1959'da rhizomania benzeri semptomları içeren ilk raporunu yayınlamasına neden olmuştur (Canova, 1959). Ardından, aynı araştırmacı bu hastalığa, karakteristik semptomu olan aşırı kılcak kök oluşumundan dolayı kök deliliği anlamına gelen İtalyanca bir terim olan "rhizomania" adını vermiştir (Canova, 1966). 1970'li yıllarda

ise Japon araştırmacılar tarafından, rhizomania belirtisi gösteren şeker pancarı köklerinden çubuk şekilli virüs partikülleri izole edilmiş ve daha önce rapor edilen virüslerden farklılık gösterdiğinden, bu virüse Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) adı verilmiştir (Tamada, 1975). Virüsün 1950’lerde İtalya’da ilk kaydından kısa bir süre sonra, diğer birçok ülkede de BNYVV’nin varlığı saptanmıştır. Günümüzde, BNYVV Avrupa, Asya ve ABD’de şeker pancarı üretim alanlarında yaygın olarak görülmekle birlikte (Asher, 1993; Tamada, 1999; McGrann et al., 2009); 2000’li yıllarda, Ortadoğu’da İran, Mısır, Suriye ve Pakistan pancar üretim alanlarında (Arif et al, 2015); 2015 yılından sonra ise Afrika ve Güney Amerika kıtalarında lokal olarak kırmızı pancar üretim alanlarında tespit edilmiştir (Rezende et al., 2015; Roberts et al., 2016) (Şekil 2. 3).

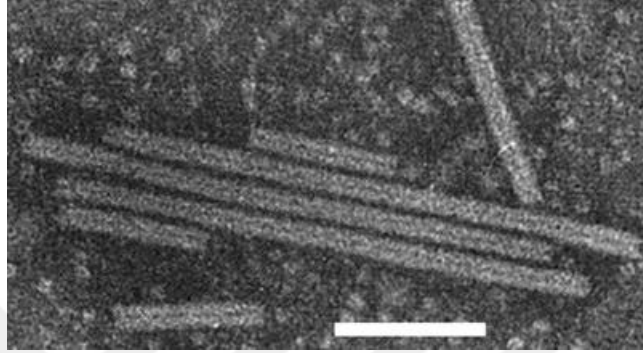


Şekil 2.3. BNYVV’nin coğrafik yayılımı
(<https://www.cabi.org/isc/datasheet/10257#toDistributionMaps>; Erişim Tarihi: 20.06.2022)

Ülkemizde ise, BNYVV ilk olarak 1987 yılında Alpullu Şeker Fabrikası’nın Keşan ve Uzunköprü bölgeleri ile Amasya Şeker Fabrikası’nın Erbaa ve Taşova bölgelerinde rapor edilmiştir (Koch, 1987). Daha sonra, yürütülen çalışmalarla Türkiye şeker pancarı üretim alanlarının büyük bir kısmının BNYVV ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Özer ve Ertunç, 2005; Kaya, 2009; Kutluk Yılmaz vd., 2010, 2016a, 2018; Yardımcı ve Çulal Kılıç, 2011; Özdemir, 2014; Özmen vd, 2020). Son yıllarda ise, ülkemizin farklı bölgelerinde (Ege, Marmara ve Karadeniz) ıspanak üretim alanlarında da BNYVV’nin problem oluşturduğuna dair kayıtlar bulunmaktadır (Gümüş vd, 2014; Güngör vd, 2017; Bağlan ve Korkmaz, 2019).

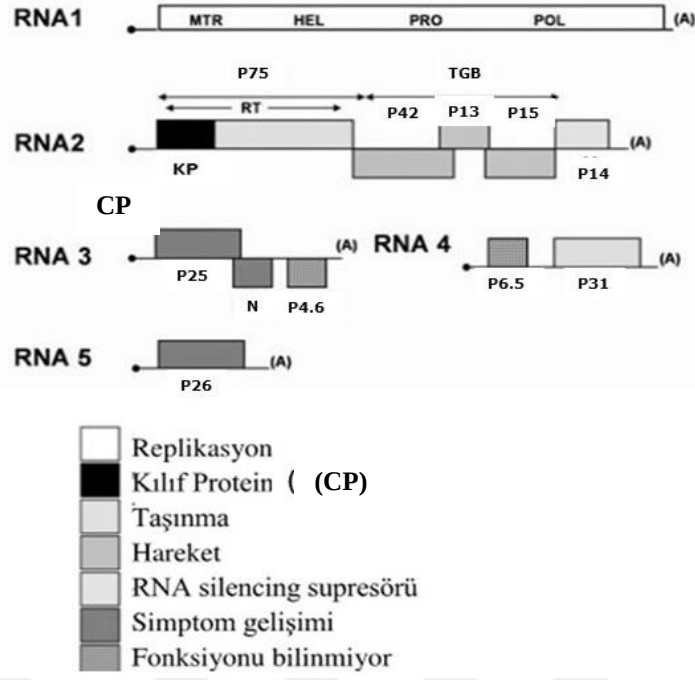
2.2.2. Virüsün Morfolojisi, Taksonomisi ve Genomik Özellikleri

BNYVV; *Benyviridae* familyasının, *Benyvirus* cinsinin bir üyesi olup (Gilmer and Ratti, 2017); genomu 20 nm çapında dört ya da beş adet düz çubuk şeklinde (Şekil 2.4) pozitif duyarlı tek sarmal (ss) RNA partiküllerinden oluşmaktadır. Bu partiküllerin uzunlukları ise RNA-1'den-RNA-5'e doğru sırasıyla; 390 nm, 270 nm, 105 nm, 90 nm ve 80 nm kadardır (Putz, 1977; Tamada et al., 1989).



Şekil 2.4. BNYVV partiküllerinin elektron mikroskop altında görünümü (Bar 100 nm'yi ifade etmektedir) (Tamada, 2002)

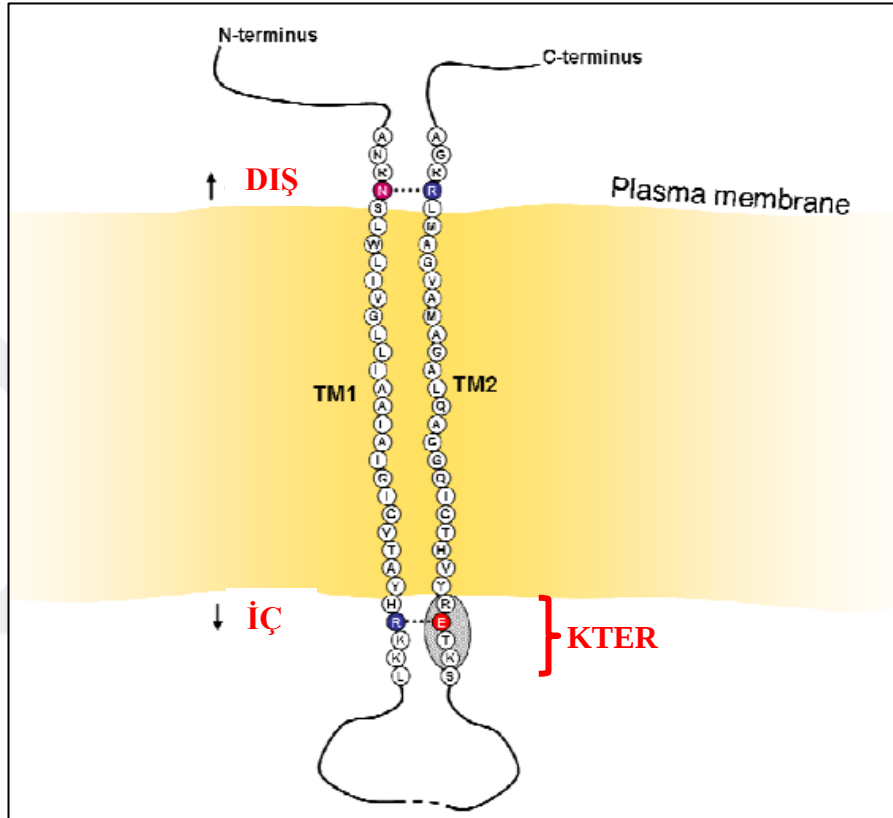
BNYVV'nin RNA-1'i 6.746 nükleotit (nt) uzunluğundadır (poly A-kuyruğu hariç). Bu segment replikasyonla ilgili tek bir açık okuma çerçevesi (ORF: Open Reading Frame) içermekte olup 237 kDa'luk bir polipeptidi kodlamaktadır (Von Regenmortel et al., 2000). P237 proteini, translasyon işleminin ardından 150 kDa'luk (P150) ve 66 kDa'luk (P66) iki proteine ayrılmaktadır. P150 proteini, metil transferaz (MTR), NTP bağlayıcı/helikaz (HEL) ve papain benzeri proteazı (PRO) içerirken; P66 proteini ise RNA'ya bağlı RNA polimeraz (RdRp)'ı (POL) kodlamaktadır (Hehn et al., 1997). RdRp viral replikasyonda yer almaktadır (Quadt and Jaspars, 1989) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. BNYVV'nin genomik bileşenleri ve her bir proteinin fonksiyonları (MTR: methyltransferase; HEL: helicase; PRO: protease; POL: polymerase; RT: read-through protein) (McGrann et al., 2009)

RNA-2 segmenti 4.612 nt uzunluğunda olup (poly A-kuyruğu hariç) altı adet ORF içermektedir. 5' ucunda yer alan ilk ORF (P21)'den, 21 kDa'luk kılıf proteini (CP) sentezlenmektedir. CP gen bölgesi amber stop kodon (UAG) ile sonlanmakta olup takiben P54 kDa'luk RT bölgesinin sentezi gerçekleşmektedir (Ziegler-Graff et al., 1985). Böylelikle, kılıf protein readthrough (CP-RT) bölgesi (P75) oluşmaktadır. RT alanının N-terminal kısmı viral partiküllerin bir arada tutulmasında (Schmitt et al., 1992), C-terminal kısmı ise protist vektör tarafından virüs taşınımı için gereklidir (Tamada and Kusume, 1991). RT alanında tahmin edilen iki transmembran motifi (TM1 ve TM2) ve bunların 'KTER' peptid motifine bağlı olduğu düşünülen membrandaki etkileşimlerin virüsün vektörle taşınmasında etkin olduğu bildirilmektedir (Tamada et al., 1996; Diao et al., 1999a) (Şekil 2. 6). Nitekim; RT bölgesinin 553.-556. pozisyonlarında yer alan amino asit (aa)'lerde 'KTER' motifi olduğunda vektörle taşınmanın gerçekleştiği, 'ATAR' motifinin bulunması durumunda ise taşınmanın olmadığı belirtilmektedir (Tamada and Kusume, 1991; Tamada et al., 1996). RNA-2'nin merkezinde yer alan üçlü (triple) gen bloğu bölgesi (TGB) ise, P42, P13 ve P15 proteinlerinden oluşmakta ve bu bölge enfekteli bitkide virüs partiküllerinin hücreden hücreye taşınmasında rol oynamaktadır (Tamada, 2001). TGB bölgesi; ayrıca, Pomo-, Peclu-, Potex-, Carla- ve Hordeivirus gibi bazı

bitki cinslerinin yapılarında da yer almaktadır (Morozov and Solovyev, 2003). RNA 2'nin 3' ucunda bulunan son ORF'den ise, sistein açısından zengin, 14 kDa'luk P14 proteinini kodlamaktadır (Gilmer et al., 1992) (Şekil 2. 5). Yürütülen çalışmalar ile, P14'ün RNA-2'nin birikimini düzenlediği, CP'inin ifadesini arttırdığı (Hehn et al., 1995) ve de bitkide RNA'nın susturulmasında (RNA silencing) viral baskılayıcı olarak görev yaptığı gösterilmiştir (Dunoyer et al., 2002; Andika et al., 2012).



Şekil 2.6. BNYVV, CP RT alanında tahmin edilen TM1 ve TM2 motifleri ile plazma membranının iç tarafında KTER motifi ve bir arginin rezidüsü (R) aracılığıyla etkileşiminin şematize görünümü (Bu şekil; Diao et al. (1999a) ve Adams et al. (2001)'ın verileri temel alınarak Crutzen (2010) tarafından oluşturulmuştur)

BNYVV'nin RNA-3 segmentinin, *Chenopodiaceae* familyasına ait konukçu bitkiler ile *Tetragonia expansa* (Yeni Zelanda ıspanağı)'da şiddetli simptom oluşumu ve de tarla şartlarında şeker pancarı köklerinde klasik rhizomania belirtilerinin oluşumundan sorumlu olduğu belirtilmektedir (Kuszala et al., 1986; Tamada et al., 1989; Koenig et al., 1991; Jupin et al., 1992). Ayrıca, RNA-3'ün *B. macrocarpa* ve *B. vulgaris* sub sp. *maritima* M8 bitkilerinde sistemik hareket için gerekli olduğu bildirilmiştir (Tamada et al., 1989; Rahim et al., 2007). RNA-3, 1.775 nt uzunluğunda olup (poly A-kuyruğu hariç), toplam üç ORF içermektedir (Bouzoubaa et al., 1985). Bu segmentin ilk ORF'sinden 25 kDa'luk bir P25 proteini sentezlenmektedir. P25

proteininin BNYVV'ye dayanıklı bazı şeker pancarı çeşitleri ve hatlarının mekanik inokule edilen yapraklarında bir avürülens faktörü olarak görev yaptığı ve bu etkileşimin ise P25'deki tek bir amino asit (aa) değişikliği ile kontrol edildiği bildirilmiştir (Chiba et al., 2008). P25 proteininde en fazla farklılığın gözlendiği aa'in ise, 68. pozisyonda yer aldığı belirtilmektedir (Schirmer et al., 2005). Bu nedenle, RNA-3 BNYVV'nin bir patojenite faktörü olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, P25'in immune-gold elektron mikroskop tekniği ile enfekteli hücrelerin çekirdeği ve stoplazmasında lokalize olduğu ifade edilmektedir (Haeberle and Stussi-Garaud, 1995). Üstelik, 169, 172, 175 ve 178. aa pozisyonlarında valin aa.'inin bulunmasının nükleositol plazmik hareket için gerekli olduğu saptanmıştır. Bu hareket yeteneğinden yoksun olan mutantların, *C. quinoa* bitkisinde klorotik lezyonlara neden olamadığı da vurgulanmaktadır (Koenig, 2008). P25'in, nükleer lokalizasyon, nükleer export sinyalleri, sistein bakımından zengin bir bölge ile asidik transkripsiyonel aktivasyon alanını içeren, bir nükleositol plazma mekik proteini (nucleocytoplasm shuttle protein) olduğu belirtilmektedir (Vetter et al., 2004). Diğer taraftan; RNA-3'den P25 proteininin C ucu ile çakışan N (6.8 kDa) olarak isimlendirilen bir diğer protein daha sentezlenmekte olup, bunun ise nekrotik simptom oluşumundan sorumlu olduğu bildirilmektedir (Jupin et al., 1992). Bu segmentin son ORF'sinden ise P4.6 (4.6 kDa) proteini kodlanmakta ancak fonksiyonu bilinmemektedir (Bouzoubaa et al., 1991) (Şekil 2. 5).

BNYVV RNA-4'ü 1467 nt uzunluğunda olup, içerdiği tek ORF'den ise 31 kDa'luk P31 proteini kodlanmaktadır (Bouzoubaa et al., 1985) (Şekil 2. 5). RNA-4'ün vektör *P. betae* tarafından BNYVV'nin etkili bir şekilde taşınması için gerekli olduğu bildirilmektedir (Tamada and Abe, 1989; Rahim et al., 2007) (Şekil 2. 5). Öte yandan, Rahim vd. (2007) *Nicotiana benthamiana* L. bitkilerinde şiddetli simptomların oluşumunun da RNA-4 ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. İlave olarak, aynı araştırmacılar, P31 proteinin şeker pancarı bitkilerinin köklerinde transkripsiyon sonrası gen susturulması (post transcriptional gene silencing; PTGS)'in baskılanması olayından sorumlu olduğunu bildirmişlerdir (Rahim et al., 2007).

BNYVV RNA-5'i ise; uzunluğu BNYVV izolatlarına bağlı olmakla birlikte (Koenig et al., 1997b; Miyanishi et al., 1999; Zhuo et al., 2015); yaklaşık 1342-1347 nt içermekte olup bu segment üzerinde yer alan tek ORF'den 26 kDa'luk P26 proteini sentezlenmektedir (Kiguchi et al., 1996) (Şekil 2.5). RNA-5 şeker pancarı köklerinde

oluşan semptomların şiddeti ile ilişkilendirilmekle birlikte; bu partikülü içeren BNYVV izolatlarının daha agresif oldukları da ifade edilmektedir (Tamada et al., 1996). Ayrıca, P26'nın da nukleostoplazmik bir protein olduğu ve BNYVV ile inokule edilen *C. quinoa* bitkilerinin yapraklarında nekrotik semptom oluşumunu tetiklediği bildirilmektedir (Link et al., 2005). Dünyada; Fransa (Koenig et al., 1997b), Kazakistan (Koenig and Lennefors, 2000), İngiltere (Harju et al., 2002; Ward et al., 2007), Çin (Koenig et al., 2008), Japonya (Tamada et al., 1996; Miyanishi et al., 1999), Almanya (Koenig et al., 2008) ve son olarak da Türkiye'ye ait bazı BNYVV izolatlarının RNA-5'i içerdiği bilinmektedir (Kutluk Yılmaz vd., 2016a).

2.2.3. Streyn Tipleri

1990'lı yıllarda BNYVV izolatları CP genine göre A- ve B-tip olmak üzere iki grupta toplanmıştır (Kruse et al., 1994; Koenig et al., 1995). 1997'de ise bir diğer BNYVV grubu, A-tipi ile yakın ilişkili ancak ilave bir RNA segmenti daha içeren (RNA-5), P-tip ise Fransa'nın Pithiviers bölgesinden izole edilmiştir (Koenig et al., 1997). Daha sonra, P-tip BNYVV izolatları; Kazakistan (Koenig and Lennefors, 2000), İngiltere (Ward et al., 2007) ve İran'da (Nassaj-Hosseini et al., 2013) da saptanmıştır. A-tip ülkemiz de dahil olmak üzere (Kruse et al., 1994; Kutluk Yılmaz vd., 2016a) dünya çapında yaygınlık göstermekle birlikte; B-tip ise Avrupa'da sınırlı alanlarda, ayrıca Çin (Li et al., 2008) ve Japonya (Miyanishi et al., 1999)'da tespit edilmiştir. Diğer taraftan; RNA-5 içeren BNYVV izolatları Avrupa'da sınırlı olup; Çin, Japonya ve Türkiye'de ise geniş alanlara yayılmıştır (Koenig and Lennefors, 2000; Li et al., 2008; Kutluk Yılmaz vd., 2016a). Daha sonra; BNYVV'nin 5. RNA segmentine sahip (RNA-5) Çin ve Japon izolatları, J-tip olarak isimlendirilmiş, virüsün ayrı bir tipi olarak kabul edilmiştir (Schirmer et al., 2005). Ardından, J-tip P26 proteini içeren BNYVV izolatları Almanya'da tek bir tarlada (Koenig et al., 2008) ve Türkiye'de saptanmıştır (Kutluk Yılmaz vd., 2016a; 2018).

BNYVV izolatlarında görülen bu varyasyonu açıklığa kavuşturmak amacıyla; ilk olarak Schirmer vd. (2005) Avrupa'da yaygın olan BNYVV izolatlarının CP (RNA-2), P25 (RNA-3) ve P26 (RNA-5) gen bölgelerini analiz etmiş, takiben Chiba vd. (2011) ise çoğunluğu Asya'ya ait olan BNYVV izolatlarını P31 (RNA-4) genom bölgesini de dahil ederek filogenetik analizlerle incelemişlerdir. Böylelikle, inceledikleri BNYVV izolatlarının; CP'ye göre iki (A-tip ve B-tip), P25'e göre üç (P25-I, P25-II ve P25-III), P31'e göre dört (P31-I, P31-II, P31-III ve P31-IV), P26'ya göre

ise üç (P26-I, P26-II ve P26-III) grupta toplandıklarını belirtmişlerdir (Schirmer et al, 2005; Chiba et al., 2011) (Tablo 2.2). BNYVV'nin CP, P25 ve P31 genlerine ait sekans verileri göz önüne alındığında, orijinal BNYVV popülasyonunun ilk olarak A ve B olmak üzere iki tipe, daha sonra A-tip popülasyonun ise üç alt gruba ayrıldığı (A-I, A-II ve A-III) bildirilmiştir. A-I ve A-II grubundakilerin RNA-5 içerdikleri, ancak P25 ve P31 genlerinin farklılık gösterdiği; A-III grubunda yer alanların ise RNA-5 içermeyip P25 ve P31 genlerinin farklılık sergilediği ifade edilmiştir. B-tipin ise; RNA-5 segmentinin olmadığı ve farklı tipte P25 ve P26 genlerine sahip olduğu belirtilmiştir (Chiba et al., 2011). Bu şekilde gruplandırma ile; dünya genelinde BNYVV izolatlarının en az dört orijinal soydan (A-I, A-II, A-III ve B) gelen, 10 farklı streyn tipinden (Çin-H, Çin-Y, Çin-B, Çin-L, Çin-X, Fransa-P, Japonya-D, Japonya-O, İtalya ve Almanya) oluştuğu gösterilmiştir (Tablo 2.2) (Chiba et al., 2011; Zhuo et al., 2015; Tamada et al., 2016).

Tablo 2.2. BNYVV streyn tipleri ve bu streynlerin coğrafik dağılımları (Chiba et al., 2011; Zhuo et al., 2015; Tamada et al., 2016)

Original tip	Streyn	CP	P25	P31	RNA-5*	Coğrafik Dağılım
A-I	Çin-H	A ya da B	I	I	+	Çin, Japonya, İngiltere
	Çin-Y	A ya da B	I	I	+	Çin
A-II	Fransa-P (P tip)	A	II	II	+	Fransa, Kazakistan, İngiltere, İran
	Japonya-D	A	II	II	+	Japonya
	Japonya-O	A	II	I ya da II	+	Japonya
	Çin-B	A ya da B	II	II	+	Çin, Almanya
	Çin-L	B	II	I	+	Çin
A-III	İtalya (Avrupa A tip)	A	I	III	-	Avrupa, Amerika, Orta Doğu
B	Çin-X	A	III	I ya da III	+	Çin
	Almanya (B tip)	B	III	IV	-	Almanya, Fransa, Belçika, Avusturya, İsviçre, Çekya, Çin

* + = RNA-5 var, - = RNA-5 yok

Tamada vd. (2003), bazı A-tip karakterdeki BNYVV izolatlarının 5. RNA segmentini sonradan kazanarak P-tip streyne dönüştüklerini belirtmiş olmakla birlikte; Chiba vd. (2011) ise, atadan kalma (ancestral) bir BNYVV popülasyonu beş RNA segmenti içeriyorsa, RNA-5 içermeyen varyantların virüsün evrimi ve yayılma sürecinde oluşmuş olabileceğini, nitekim RNA-5'in BNYVV'nin enfeksiyon oluşturmaları için gerekli olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca, aynı araştırmacılar, BNYVV'nin orijininin Doğu Asya olduğunu, genetik olarak en büyük farklılığın ise Çin ve Japon izolatlarında görüldüğünü belirtmişlerdir (Chiba et al., 2011).

2.2.4. Konukçu Çevresi ve Simptomatoloji

BNYVV'nin konukçu çevresi sınırlı olmakla birlikte (Tamada and Baba, 1973; Barr and Asher, 1992; Hugo et al., 1996); doğada, şeker pancarı (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*), pazı (*Beta vulgaris* var. *cicla*), hayvan pancarı, ıspanak (*Spinacia oleracea*) (Tamada, 2016), kırmızı pancar (Roberts et al., 2016) ve *Crucifera* familyasından *Raphanus raphanistrum*'u (Kutluk Yılmaz vd., 2016b) enfekte edebilmektedir. Chiba vd. (2011), yabani şeker pancarının (*Beta vulgaris* subsp. *maritima*) ya da ilgili türlerin BNYVV ya da vektör *P. betae*'nin doğal konukçusu olmayabileceğini bildirmişlerdir. Nitekim, Al Musa and Mink (1981), Washington'da daha önce şeker pancarı tarımı yapılmayan bir alanda yetişen kiraz ağaçlarının altından aldıkları toprak örneğinde tuzak bitki olarak *Gomphrena globosa* (Hanım düğmesi)'yı kullanarak BNYVV'yi ABD'de ilk olarak rapor etmişlerdir. *G. globosa* (*Amaranthaceae*) Amerika'da tropik ve subtropikal alanlarda yaygın bir yabancı ot türü olup, virüslerin teşhisinde indikatör bitki olarak da kullanılmaktadır. Üstelik, bazı araştırmacılar, BNYVV ve *P. betae*'nin monokotiledon bitki türlerini içeren, daha önce rapor edilenden çok daha geniş konukçu çevresinin olabileceği ileri sürmüşlerdir (Legreve et al., 2005; Mouhanna et al., 2008).

Diğer taraftan; BNYVV, enfekteli bitki özsuynun mekanik inokulasyonu yolu ile *Chenopodiaceae* familyasından birçok bitki türüne ilaveten, *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Caryophyllaceae* ve *Solanaceae* familyalarına ait bazı türlere de taşınabilmektedir (Tamada and Baba, 1973; Tamada, 1975, 2002; Kuszala and Putz, 1977; Hugo et al., 1996). Bu *Benyvirus*'un *C. quinoa* ve *T. expansa* gibi konukçularda yayılımı, inokulasyon yapılan yapraklarla sınırlı kalmakta, bu sebeple bahsedilen bu bitkiler BNYVV'nin lokal lezyon konukçusu olarak bilinmektedir. Bununla birlikte; *Beta macrocarpa*, *B. vulgaris* subsp. *maritima* M8, *S. oleracea*, ve *N. benthamiana*'da ise sistemik yayılım göstermektedir (Tamada, 1975; 2002). BNYVV'nin gerek lokal, gerekse sistemik konukçuları olan *N. benthamiana* ve *S. oleracea* bitkilerinde enfeksiyon oluşturabilmesi için sadece RNA-1 ve RNA-2 partiküllerinin bulunmasının yeterli olduğu belirtilmektedir (Gilmer, 2016).

BNYVV'nin ana konukçusu olan şeker pancarı bitkisindeki karakteristik belirtisi asıl yumruda görülmekle birlikte; virüse hassas çeşitlerin yetiştiriciliğinin yapılması durumunda tarlalarda yer yer renk açılımı gösteren bitki toplulukları dikkat çekmektedir (Şekil 2.7). Bu alanlarda, genellikle mevsim sonuna doğru BNYVV ile

enfekteli bitkilerin yaprakları donuk sarı bir renk almakta, yaprak sapları uzamakta ve yapraklar daha dik bir gelişim göstermektedir. Nadiren, yapraklarda özellikle damarlar boyunca yayılan parlak sarı alanlar da (virüse adını veren nekrotik sarı damar belirtisi) oluşabilmektedir (Şekil 2.8) (Tamada, 2016).

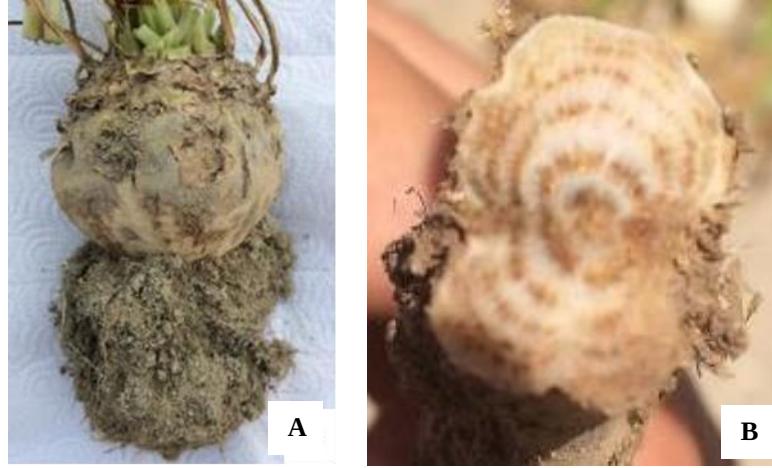


Şekil 2.7. Rhizomania'nın tarlada görünümü ve renk adacıklarının oluşumu (Erişim Tarihi: 06.06.2022; EPPO, <https://gd.eppo.int/taxon/BNYVV0/photos>)



Şekil 2.8. Rhizomania'lı şeker pancarı yaprağında oluşan nekrotik sarı damar belirtisi (Erişim Tarihi: 06.06.2022; EPPO, <https://gd.eppo.int/taxon/BNYVV0/photos>)

Bitkiler erken dönemde enfekte olduklarında, karakteristik kök belirtileri oluşmaktadır (Rush and Hiedel, 1995). Ana kök ucu ölmekte, aşırı kılcal kök gelişiminden dolayı köklerde sakallanma oluşmaktadır (Şekil 2.9-A). Ayrıca, yumrular cüce kalmakta ve bu yumruların enine kesitinde ise iletim demeti halkalarının sarı-kahverengi renk aldığı (Şekil 2.9-B) görülmektedir.



Şekil 2.9. BNYVV ile enfekteli bitkilerin lateral köklerdeki sakallanma belirtisi (A) ve enfekteli yumrunun enine kesitinde kahverengi iletim halkalarının görünümü (B) (Kutluk Yılmaz vd., 2018)

2.2.5. Zararı ve Ekonomik Önemi

Günümüzde rhizomania, şeker pancarı üretimini tehdit eden en tahripkar hastalık olarak bilinmektedir. Dünya genelinde yetiştirilen şeker pancarlarının yaklaşık yarısının bu hastalıktan etkilendiği ve pancar üretiminin ise her yıl %10'luk bir kayba (yılda yaklaşık 3.6 milyon ton) uğradığı tahmin edilmektedir (Biancardi and Lewellen, 2016). Özellikle erken dönemde oluşan enfeksiyonlarda, pancar kök verimi ve şeker içeriğinde önemli kayıplar oluşmakta; pancardan elde edilen özsuynun fabrikada işlenmesi de olumsuz yönde etkilenmektedir (Dehnen-Schmutz et al., 2020). Üstelik, BNYVV enfeksiyonundan dolayı lateral köklerin anormal çoğalması sebebiyle, köklere yapışan toprak miktarının artması ürünün hasadını zorlaştırmaktadır. Hastalığın etkisi ile taze kök ağırlığında %50, şeker oranında ise %50-60 ve hatta %80'e varan oranlarda kayıplar oluşabilmektedir (Asher and Henry, 1993; Henry, 1996). BNYVV ile bulaşık ve bulaşık olmayan alanlarda yürütülen denemeler sonucu; enfekteli bitkilerin yaprak alan endeksinde %24, kuru madde miktarında ise %57 oranında kayıp oluşturduğu tespit edilmiştir (Rezaei et al., 2014). Ayrıca, enfekteli pancarlarda melas oluşturunca sodyum ve potasyum oranının artması nedeniyle, fabrikada işlenme safiyetinin bozulduğu da ifade edilmektedir (Kajiyama et al., 1990). Bazı araştırmacılar, hastalıktan dolayı alpha-amino N ve K gibi bazı melas bileşiklerinin azaldığını ve N'un belirgin şekilde arttığını bildirmişlerdir (De biaggi et al., 1986; Rosso et al., 1988; Skribic, 1995). Hollosy (1991) ise şeker içeriğinin %5-15 ve alpha amino nitrojen oranının %20 oranında azalmasına karşın, potasyumun %5-7 ve

sodyumun ise %55-152 oranında arttığını belirlemiştir. İlave olarak, virüs ile enfekteli bitkilerin düşük sıcaklıklara karşı direncinin azaldığı belirtilmiş (Strausbaugh and Eujayl, 2018) ve BNYVV ile enfekteli yumrulara depo koşullarında sükröz kayıplarının da arttığı bildirilmiştir (Strausbaugh, 2018).

2.2.6. Hastalığın Kontrolü

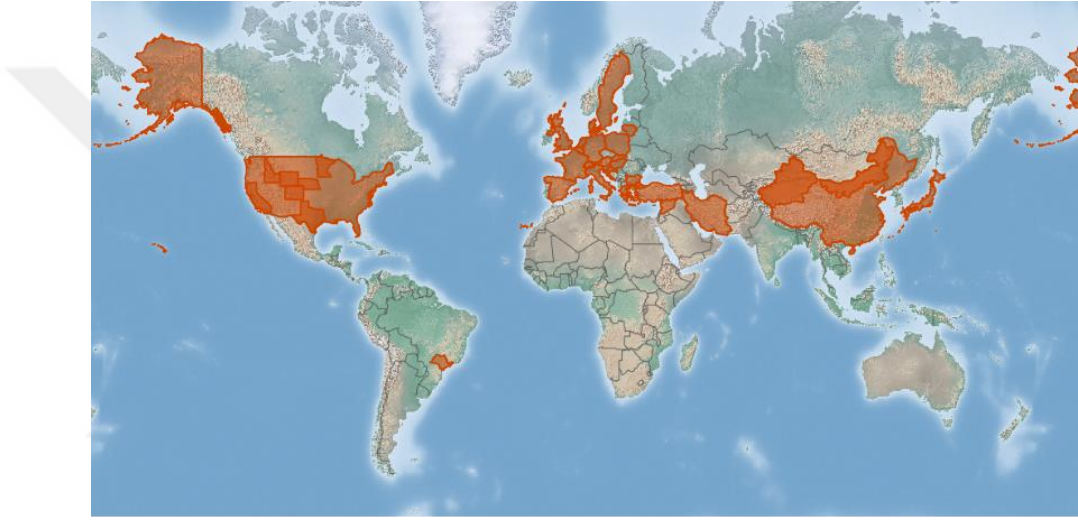
Rhizomania hastalığı, temiz alanlara bulaştıktan sonra kontrolü çok zor olmaktadır. BNYVV'nin vektör *P. betae*'nin kışlama spor yapılarında en az 15 yıl toprakta canlı kalması (Abe and Tamada, 1986) ve çoğu *Chenopodiaceae* familyasına ait yabancı otların hem virüs, hem de vektörünün alternatif konukçuları olması sebebiyle, üründe rotasyon uygulaması hastalığın kontrolünde etkili olmamaktadır (Barr, 1979; Winner, 1984). Bu nedenle; en etkili, en ekonomik olarak bu hastalığın kontrol şekli, dayanıklı çeşitlerin yetiştiriciliğinin yapılması yolu ile olmaktadır. Günümüzde ticari olarak yetiştirilen BNYVV'ye dayanıklı şeker pancarı çeşitlerinin büyük bir kısmı *Rz1* ve/ya da *Rz2* dayanıklılık genlerini içermekte olup bulaşık alanlarda bu çeşitler yoğun olarak yetiştirilmektedir. Yabani pancarlarda farklı dayanıklılık genleri de (*Rz3-Rz5*) saptanmış olmasına rağmen (Gidner et al., 2005; Grimmer et al., 2008), henüz bu genlerin ticari çeşitlere aktarımı yapılmamıştır (Wetzel et al., 2021). Ancak, dünyada son yıllarda yeni oluşan BNYVV varyantları tarafından *Rz1* dayanıklılık geni taşıyan ticari çeşitlerde Amerika (Liu et al., 2005), İspanya (Pferdmenges et al., 2009), Fransa (Koenig et al., 2009), İran (Mehrvar et al., 2009), Almanya, İngiltere, Hollanda (Bornemann and Varrelmann, 2013) ve Türkiye (Kutluk Yılmaz vd, 2018)'de bu dayanıklılığın kırıldığı rapor edilmiştir. Ayrıca, dünya izolatlarından farklı olarak Türkiye'de belirlenen bazı BNYVV izolatlarının tarla şartlarında *Rz1+Rz2* genotipine sahip şeker pancarı bitkilerini de enfekte edebildiği bilinmektedir (Kutluk Yılmaz vd., 2018).

2.3.Beet soil-borne virus (BSBV) ve Beet virus Q (BVQ)

İlk olarak, Ivanoviç and Macfarlane (1982) İngiltere'nin Barney ve Norfolk bölgelerinden aldıkları şeker pancarı köklerinden Beet soil-borne virus (BSBV; Şeker pancarı toprak kökenli virüsü)'u izole etmeyi başarmışlardır. Daha sonra, Lesemann et al. (1989), BSBV'un Ahlum ve Wierthe olmak üzere iki serotipi olduğunu bildirmişlerdir. Takiben, Wierthe serotipi ayrı bir virüs olarak tanımlanmış ve Beet virus Q (BVQ; Şeker pancarı Q virüsü) olarak isimlendirilmiştir (Koenig et al., 1998).

2.3.1. Virüslerin İlk Tespitleri ve Coğrafik Dağılımları

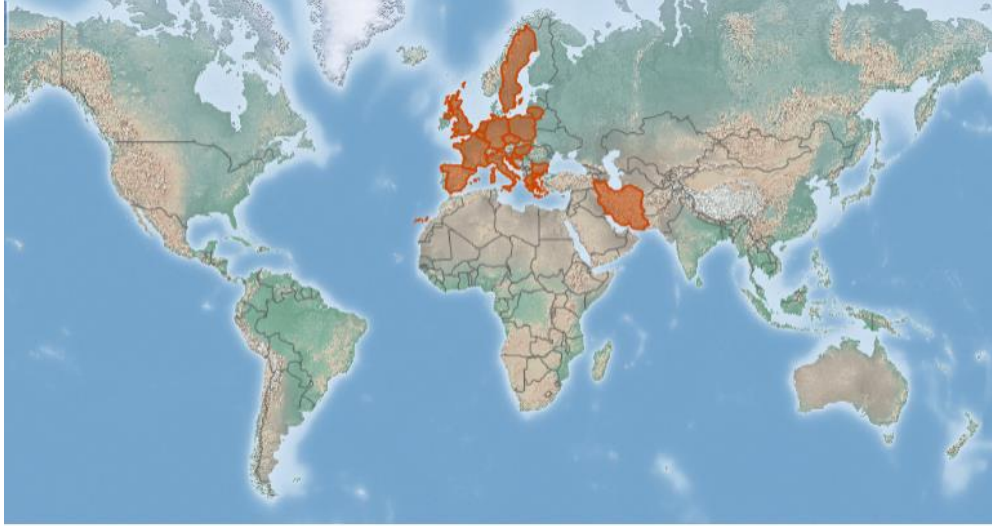
BSBV, dünya çapında şeker pancarı üretim alanlarında yaygın olarak görülen bir virüs türüdür (Lindsten, 1993). Bu virüs, tarımsal açıdan en önemli konukçusu olan şeker pancarında, ilk olarak 1980'lerin başlarında İngiltere'de rapor edilmiştir (Ivanoviç and Macfarlane, 1982). Takiben, tüm Avrupa (Meunier et al., 2003), Türkiye (Meunier et al., 2003; Kutluk Yılmaz vd, 2016a), Orta Doğu (Mohanna et al., 2002), İran (Farzadfar et al., 2002), ABD (Linsten and Rush, 1994), Çin (Wang et al., 2008), Fas (Nouayti et al., 2019), Brezilya (Camelo-Garcia et al., 2019) ve yakın zamanda ise Japonya'da (Nakagami et al., 2022) varlığı kayıt edilmiştir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. BSBV'nin coğrafik yayılımı

(<https://www.cabi.org/isc/datasheet/10213#toDistributionMaps> Erişim Tarihi: 20.06.2022)

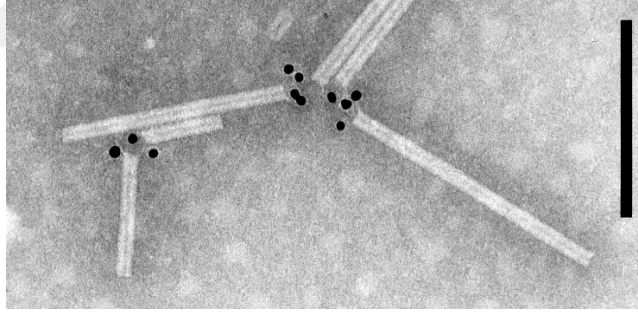
BVQ ise; İngiltere'de ilk tespitinin ardından, birçok Avrupa ülkesinde (Stas et al., 2001; Meunier et al., 2003; Rysanek et al., 2006; Borodynknko et al., 2006; Pavli et al., 2010; Biancardi and Tamada, 2016), İran (Farzadfar et al., 2005; Moradi and Mehrvar, 2021) ve son olarak Japonya (Nakagami et al., 2022)'da şeker pancarı üretim alanlarında rapor edilmiştir (Şekil 2. 11).



Şekil 2.11. BVQ'nun coğrafik yayılımı
(<https://www.cabi.org/isc/datasheet/29811#toDistributionMaps>Erişim Tarihi:20.06.2022)

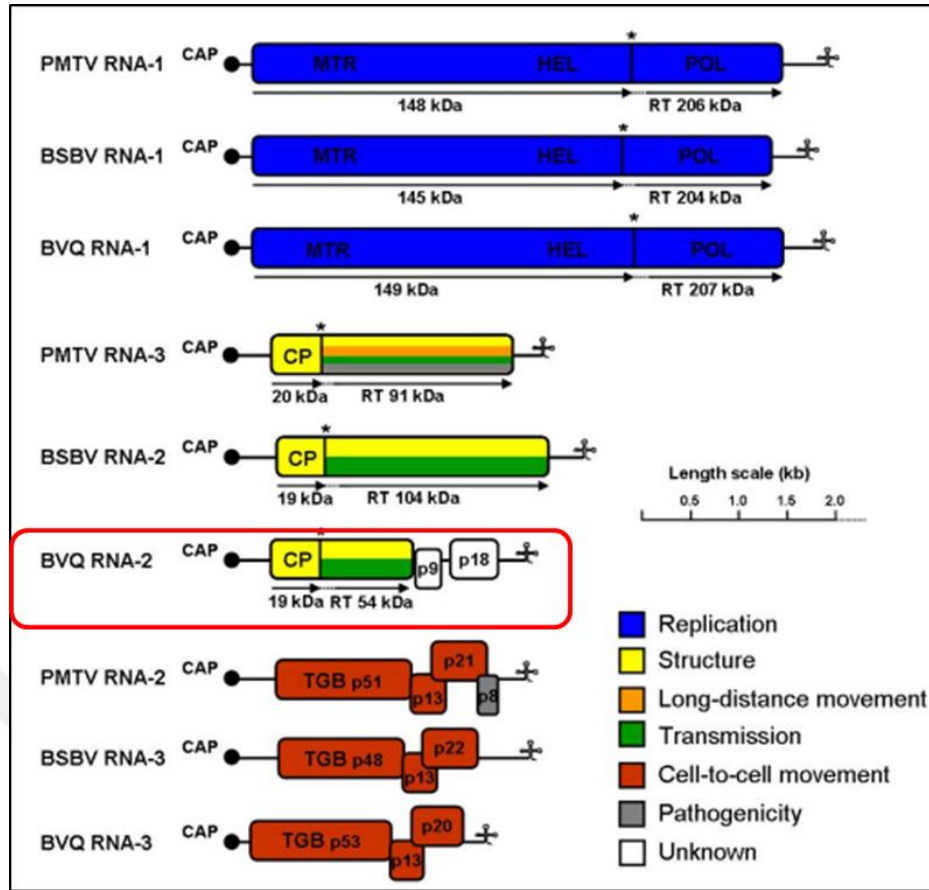
2.3.2. BSBV ve BVQ'nun Morfolojisi, Taksonomisi ve Genomik Özellikleri

Beet soil-borne virus (BSBV) ve Beet virus Q (BVQ)'nun genomu; pozitif duyarlı, tek sarmal RNA içeren, üç adet düz çubuk şeklinde partiküllerden oluşmaktadır (Barbarossa et al., 1992) (Şekil 2. 12).



Şekil 2.12. *Pomovirus* partikül şekli. Bar, 100 nm'yi ifade etmektedir (I. M. Roberts).

Bu iki viral etmen taksonomik olarak *Virgaviridae* familyası, *Pomovirus* cinsi içerisinde sınıflandırılmaktadır (Adams et al., 2009). Bu cinsin tipik üyesi Potato mop-top virus (PMTV) (Savenkov et al., 1999) olup, Broad bean necrosis virus (BBNV; Bakla nekroz virüsü) (Lu et al., 1998), Colombian potato soil-borne virus (CPSbV; Kolombia patates toprak kaynaklı virüsü) (Gil et al., 2016) bu cinsin diğer üyeleri arasında yer almaktadır. Bu türlere ek olarak, patatesten enfeksiyon oluşturan *Pomovirus*-benzeri başka bir virüsün de kısmi baz dizisi elde edilmiş ve Soil-borne virus 2 (SbV2; Toprak kaynaklı virüs 2) olarak isimlendirilmiş ve geçici olarak bu gruba dahil edilmiştir (Gil et al., 2016).



Şekil 2.13. Pozitif polariteli üç adet tek sarmallı RNA'dan oluşan BSBV, BVQ ve PMTV'nin genomlarının karşılaştırmalı şematik görünimleri (Crutzen, 2010)

Pomovirus cinsi içerisinde yer alan virüslerin genom organizasyonları genel olarak benzerlik göstermekle birlikte; bir takım farklılıklar da bulunmaktadır (Savenkov et al., 2003). Üç adet sarmal RNA'dan oluşan BSBV, BVQ ve PMTV genomları şematik olarak Şekil 2.13'de verilmiştir (Crutzen, 2010). Şekilde de görüldüğü gibi, Tüm *Pomovirus*'ler genomlarının 5' ucunda CAP yapısı içermekle birlikte; 3' uçlarında ise tRNA benzeri yapılar mevcuttur (Savenkov et al., 1999; Koenig et al., 1998). Benzer yapıların; *tymo*-, *furo*-, *peclu*-, *tobamo*-, *bromo*-, *cucumo*- ve *hordeivirus*'lerde de bulunduğu bilinmektedir (Dreher, 2009). RNA-1 tarafından sentezlenen replikazlar, metil-transferaz (MTR), helikaz (HEL) ve RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (POL) bölgeleri korunmuş motifler içermektedir. Üçlü gen bloğu (TGB) proteinleri, PMTV için RNA-2, BSBV ve BVQ için ise RNA-3 tarafından kodlanmaktadır. PMTV RNA-2'si ayrıca, diğer iki *pomovirus*'ün karşılık gelen RNA-3'ünde bulunmayan, sistein bakımından zengin protein (CRP)'i içermektedir. Yapısal CP ve RT alanları, BSBV ve BVQ'nun RNA-2, PMTV'nin ise RNA-3 segmenti tarafından kodlanmaktadır. Bununla birlikte, BVQ'nun RNA-2'si tarafından

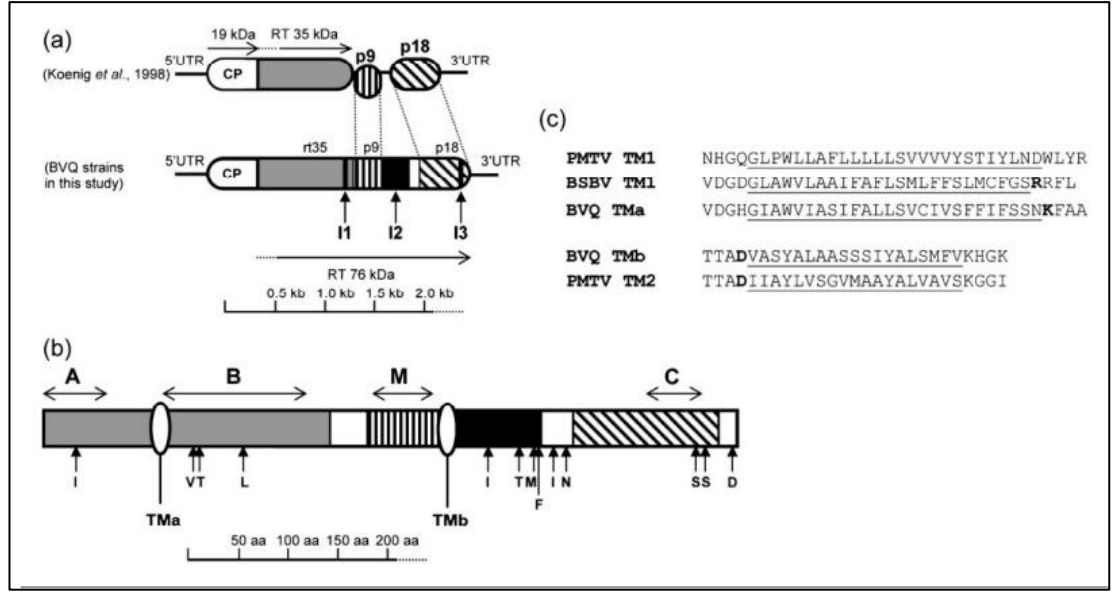
sentezlenen, ancak fonksiyonları bilinmeyen iki ek küçük proteinin (P9 ve P18) de bulunduğu belirtilmiştir.

BSBV ve BVQ'nun partikül uzunlukları ve genom organizasyonları ayrı ayrı ele alınarak aşağıda detaylı olarak da incelenmiştir. Nitekim; BSBV patiküllerinin, 19 nm genişliğinde, 65 nm, 150 nm ve 300 nm uzunluğunda oldukları bildirilmiştir (Ivanoviç et al., 1983). RNA-1 (5.8 kb)'den, replikasyonda görev alan 145-kDa (P145) ve 204-kDa (P204)'luk iki proteinin sentezi gerçekleşmektedir. RNA-2 (3.5 kb) segmentinden, 19 kDa'luk CP ve vektör *P. betae* ile taşınmada etkin olan 104 kDa'luk CP-readthrough (RT) bölgesi kodlanmaktadır (Torrance, 2009). En küçük segment olan RNA-3 (3.0 kb)'den ise TGB proteinleri (P48, P13 ve P22) sentezlenmekte ve bu proteinler virüs partiküllerinin hücreden hücreye taşınmasında görev almaktadır (Koenig et al., 1998; Crutzen et al., 2009a) (Şekil 2. 13).

BVQ'nun ise, RNA-1 partikülü 6.003 nt'ten oluşmakta (Herzog et al., 1994) ve replikasyonda görev alan, sırasıyla 149 kDa ve 207 kDa'luk proteinler sentezlenmektedir (Koonin and Dolja, 1993). BVQ'nun RNA-3'ü üzerinden, BSBV'nin RNA-3'e benzer olarak TGB proteinleri (53kDa, 13 kDa ve 20 kDa'luk) sentezlenmekte ve bu proteinler virüs partiküllerinin hücreden hücreye taşınmasında rol oynamaktadır (Koenig et al., 1996). Ancak, BVQ'nun RNA-3'ünün 2.529 nt'den oluştuğu ve BSBV'nin RNA-3'ünden (3.006 nt) oldukça kısa olduğu bildirilmiştir (Koenig et al., 1998). Diğer taraftan; BVQ'nun RNA-2'si 2.913 nt içermekte olup 5' ucundan sentezlenen ilk protein 19 kDa'luk CP'dir. Bu proteinin karboksilik ucunda; diğer çubuk şekilli virüslerde görülmemekle birlikte; sadece bu iki virüste (BSBV ve BVQ) korunmuş ¹²¹EDSALNVAHQL¹³¹ şeklinde aa diziliminin bulunduğu bildirilmektedir (Pereira et al., 1994). Aynı segment üzerinde CP'yi takiben; BSBV'nin RT proteininden (104 kDa) daha kısa olan, 54 kDa'luk RT proteinin sentezi gerçekleşmektedir. BVQ RNA-2'sinin bu özel genomik organizasyonunun, daha uzun bir RT proteini içeren BSBV'ninkine benzer orijinal bir diziden silinmiş olabileceği düşünülmekte olup, ilave olarak; 9 ve 18 kDa'luk iki küçük proteinin de bu segmentten sentezlendiği bildirilmiştir (Koenig et al., 1998) (Şekil 2.13).

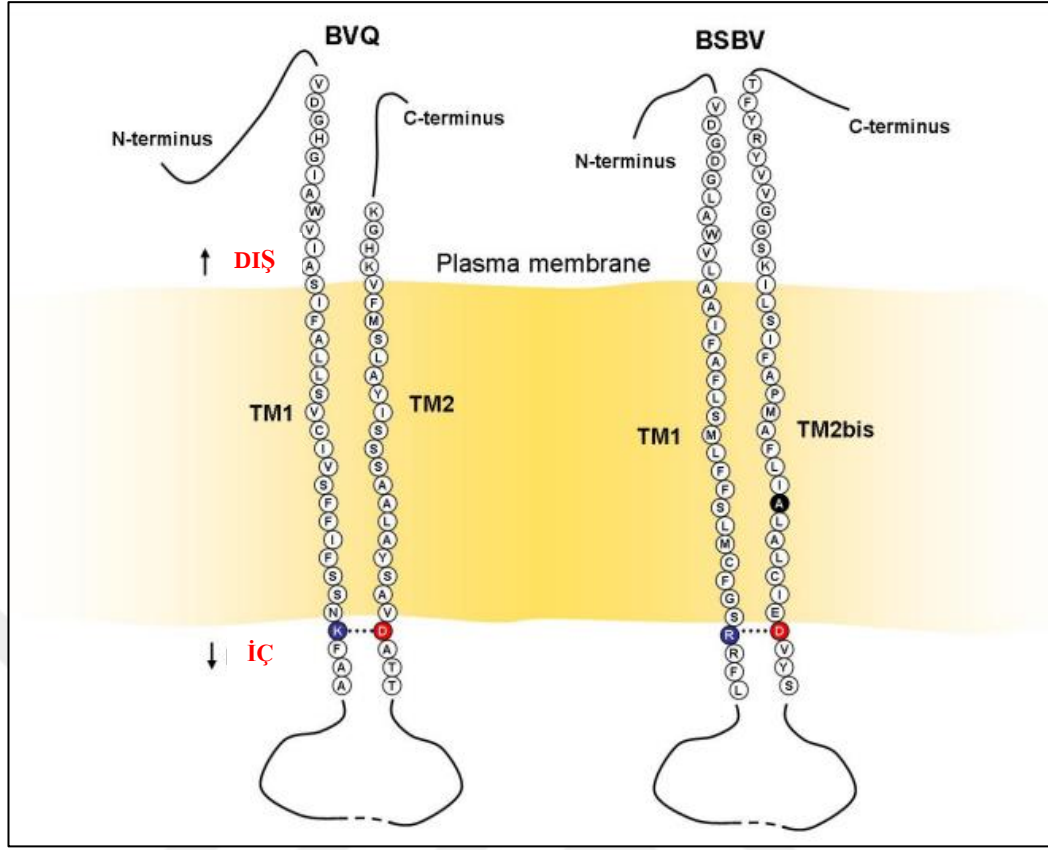
BVQ'nun RNA-2'den sentezlenen RT bölgesi için yukarıda belirtilen bu enteresan durum, daha sonra Crutzen vd. (2009a) tarafından yürütülen bir çalışma ile açıklığa kavuşturulmuştur. Nitekim; BVQ'nun RNA-2 CP-RT bölgesinde kodlanan, iki transmembran (TM1 ve TM2) etki alanının daha önce bildirilenden daha uzun

olduğu saptanmıştır. Çalışmada BVQ'nun RT bölgesine ait ortak bir tanımlama yapabilmek ve bu virüsün vektörle taşınma durumunun anlaşılması amacıyla Avrupa'nın farklı ülkelerinden (Almanya, Fransa, Belçika, Macaristan, İspanya ve Hollanda) elde edilen BVQ izolatlarının RNA-2 segmentinin genom organizasyonları irdelenmiş ve 10 BVQ izolatu ile yürütülen çalışma sonucu daha önce 35 kDa olarak bilinen RT bölgesinin (Koenig et al., 1998); 76 kDa olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada transmembran sarmallar oluşturan iki motif ortaya konulmuştur (TMa ve TMb) (Şekil 2.14-b ve c). İlki (TMa), daha kısa varsayılan BVQ 35 kDa RT için önceden tahmin edilen TM1'e karşılık gelmekte ve korunmuş alan RT'nin N-terminal ucunda yer almaktadır. İkinci transmembran alanı (TMb) ise, varsayılan 76 kDa RT alanına spesifik olup hem C-terminal P9 peptidik motif, hem de N-terminal kısmı üzerinde konumlandırılmıştır (Şekil 2.14-b). Böylelikle; 5 nt (I1), 285 nt (I2) ve 1 nt (I3)'lük üç farklı bölgedeki nükleotit ilavesinin, 35 kDa'luk RT kodlama alanında bulunmadığı, 76 kDa' luk RT kodlama dizisinde olduğu görülmüştür (Şekil 2.14-a). Bu çalışma sonucunda; 76kDa'luk RT bölgesinin iki transmembran sarmalını, yani TM1 ve TM2'yi içerdiği, daha önce bildirilen ve daha kısa olan 35kDa'luk RT bölgesinin ise yalnızca TM1'i içerdiği de belirtilmiştir (Şekil 2.14) (Crutzen et al., 2009a). Aynı araştırmacılar, daha önce açıklanan BVQ RNA-2'nin C-terminal kısmındaki bu üç noktada oluşan delesyonun sebebinin ise, *C. quinoa*'da yürütülen çoklu aşılama döngülerinden kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir (Crutzen et al., 2009a). Ayrıca, daha önce; BNYVV, BSBV, PMTV ve SBWMV gibi diğer ilgili virüsler için yalnızca tek ya da çift silinme olayları bildirilmiş olup (Tamada and Kusume, 1991; Chen et al., 1995; Reavy et al., 1998; Koenig, 2000; Sandgren et al., 2001), böylelikle ilk kez BVQ genomunda üçlü farklı noktada silinme olayının meydana geldiğini ortaya koymuşlardır (Crutzen et al., 2009a).



Şekil 2.14. BVQ'nun RNA-2 segmentinin genomik organizasyonu (Crutzen et al., 2009a)

Diğer taraftan; başlangıçta BVQ'nun 35 kDa'luk RT alanında tek bir transmembran motifi (TM1) tanımlanmış olup (Adams et al., 2001), iki tamamlayıcı transmembran alanının, TM1 ve TM2, *Polymyxa* ve *Spongospora* gibi protist vektörler tarafından viral aktarım için çok önemli olduğu bilinmektedir (Diao et al., 1999a; Adams et al., 2001). Bazı benyvirüsler, furovirüsler ve pomovirüsler için öne sürüldüğü gibi (Adams et al., 2001), Crutzen vd. (2009a)'da BSBV ve BVQ için plazma membranının iç tarafındaki bazik (K) ve asidik (D) aa rezidüleri arasındaki elektrostatik etkileşimin, protist vektör tarafından etkili viral taşınma için gerekli olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 2.14-c). Bu şekilde, 'D' rezidüsünün, BNYVV'nin *P. betae* tarafından iletilmesi için gerekli olarak tanımlanan 'KTER' motifinden 'E' rezidüsüne karşılık geldiğini belirtilmiştir (Tamada et al., 1996). Ayrıca, altı ülkeye ait 10 BVQ izolatının tamamında bu iki motif için hiçbir aa değişikliğinin gözlenmediğini saptamışlardır (Crutzen et al., 2009a). Üstelik, Crutzen (2010) yürüttüğü tez çalışmasında BVQ ve BSBV için RT alanlarındaki transmembran motifleri etkileşim modeli ortaya koymuş ve BVQ ve BSBV için sırasıyla muhtemelen bu motiflerin 'TADV' ve 'YVDE' şeklinde olduğunu bildirmiştir (Şekil 2.15).



Şekil 2.15. BVQ ve BSBV için CP'lerin RT alanlarında transmembran motiflerinin tahmin edilen etkileşim modeli (Crutzen, 2010).

2.3.3. Konukçu Çevreleri ve Simptomatolojileri

BSBV; doğada şeker pancarı, kırmızı pancar, pazı, ıspanak ve *Chenopodium* türlerini enfekte etmektedir (Rysanek et al., 2006). Virüs en önemli konukçusu olan şeker pancarında kökler ile sınırlı olmakla birlikte; bitkinin ne kök, ne de yapraklarında belirgin bir simptome neden olmamaktadır (Tamada, 2016).

Diğer taraftan; BVQ'nun doğada sadece şeker pancarlarını enfekte ettiği bildirilmekte; mekanik olarak ise yine sadece *Chenopodium quinoa*'ya taşındığı belirtilmektedir (Savenkov, 2021). Koenig vd. (2008) ise, BVQ'nun mekanik yolla *N. benthamiana*, *N. clevelandii* ve şeker pancarı bitkilerine aktarılamadığı bildirmişlerdir.

Bu iki *Pomovirüs*'ten; BVQ'nun şu ana kadar şeker pancarında tek olarak enfeksiyonu tespit edilmemiştir. Ancak, BSBV şeker pancarında tek olarak enfeksiyona neden olmakla birlikte, aynı vektör tarafından taşınan BNYVV ve/veya BVQ ile ortak enfeksiyon da oluşturabilmektedir (Meunier et al., 2003). Bu virüslerin karışık enfeksiyonu sonucu bitkilerde oluşan tipik semptomların BNYVV'den kaynaklandığı; BSBV ve/veya BVQ'nun tek olarak pancarda belirgin bir semptom

oluşumuna neden olmadığı ifade edilmektedir (McGrann et al., 2009). Bununla birlikte, BSBV'nin çok sayıda mutantının olmasından dolayı, aynı toprak örneğinde yetişen bitkilerde bile patojenisinde farklılık olabileceği ve bu sebeple BSBV'nin pancarda %0 ile %70 arasında verim kaybı oluşturabileceğini bildirilmiştir (Koenig et al., 2000; Prillwitz and Schlösser, 1992). Ayrıca, yürütülen saksı denemeleri sonucunda; BSBV'nin genç bitkilerin taze ağırlığını azalttığı ve BNYVV'nin neden olduğu ürün kayıplarını arttırdığı da belirtilmiştir (Kaufmann et al., 1993).

Bir diğer çalışmada; BSBV ve BVQ ile enfekteli bitkilerden (Henry et al., 1986; Koenig et al., 1998) ya da tam uzunlukta cDNA klonlarından elde edilen RNA transkriptlerinin mekanik olarak *C. quinoa*'ya inokulasyonu sonrası, bu bitkinin yapraklarında lokal lezyonların oluştuğu bildirilmiştir (Crutzen et al., 2009b). Ancak, *C. quinoa* bitkilerinde BSBV veya BVQ'nun uzun mesafeli hareketi (sistemik enfeksiyon) rapor edilmemiştir (Torrance et al., 2011). Bununla birlikte, reverse genetik çalışmaları ile *C. quinoa*'da BVQ'nun RNA'larının uzun mesafelere taşınabildiği saptanmıştır. BVQ'nun uzun-mesafeli hareketine ilişkin bu çelişki, BVQ CP-RT'nin uzun mesafeli harekete muhtemel olarak dahil edilmesi ile açıklanabilir, çünkü orijinal olarak açıklanan izolatan silinmiş bir CP-RT kodlama dizisini taşıdığı gösterilmiştir (Koenig et al., 1998; Crutzen et al., 2009a). Bu hipotez ayrıca, CP ve CP-RT bölgelerini kodlayan RNA-2 çıkarıldığında, *C. quinoa* yapraklarında sistemik belirtilerin olmaması ile de desteklenmektedir. Crutzen vd. (2009b), BSBV'nin patojenitesi ve protein ifadesi üzerine yürüttükleri bir diğer araştırmada ise, BSBV'nin üç genomik RNA'sı için tam uzunlukta cDNA klonlarını oluşturmuş ve sonrasında beş farklı genom kombinasyonu [1+2+3, 1+2*+3 (*: RT kod bölgesinde bir frame shift mutasyon içeren), 1+2, 2+3 ve 1+3] şeklinde hazırlanan bu transkriptleri *C. quinoa* ve *Beta macrocarpa* bitkilerinin yapraklarına inoküle etmişlerdir. RNA-1 (replikasyonda görevli) ve RNA-3 (hareket proteinleri)'ün her ikisi de bitkide virüs replikasyonu ve *C. quinoa*'da symptom oluşumunda gerekli bulunurken, RNA-2 (CP ve CP-RT)'nin herhangi bir fonksyonu olmadığı görülmüştür. *B. macrocarpa* üzerinde ise hiçbir symptom kaydedilmemiş olmakla birlikte; viral RNA'lar saptanmıştır. Her iki konukçu bitkide de Western blot ile, 19 kDa CP, CP-RT'ye karşılık gelen 115 kDa proteini tespit etmişlerdir (Crutzen et al., 2009b).

BVQ'nun, BSBV ve/veya BNYVV ile ilişkili olduğu ve genellikle bu virüsler ile birlikte enfeksiyon oluşturduğu bilinmektedir (Meunier et al., 2003; Ratti et al.,

2005). Özellikle, şeker pancarında en tahripkar viral etmen olan BNYVV üzerinde çok sayıda çalışma yürütülmüştür (Tamada and Baba, 1973; McGrann et al., 2009). Dolayısıyla; BNYVV'nin şeker pancarına etkisi detaylı olarak ortaya konulurken; BVQ'nun patojenitesi konusunda bir bilgi bulunmamakta idi. Bu sebeple, BVQ'ya ait üç RNA'nın her biri için geliştirilen tam uzunlukta cDNA klonları ile reverse genetik stratejisi oluşturulmuştur. Daha sonra, *C. quinoa* yaprakları üzerinde oluşan enfeksiyon test edilmiştir. Şaşırtıcı bir şekilde, BNYVV ile karışık enfeksiyonların, BVQ transkriptlerinin çoğalması ve bitkideki yapısal proteinlerin ekspresyonu için çok önemli olduğu ortaya konulmuştur (Crutzen, 2010). Bununla birlikte, BSBV veya BNYVV ile karışık enfeksiyonlar uygulandığında dikkat çekici bir çoğalma dinamiği ortaya çıkmıştır. BSBV transkriptleri ile kombine edildiğinde BVQ için RNA bulunamazken, BVQ RNA'larından RNA-1, RNA-2 ve RNA-3'ün tamamı BNYVV transkriptleri ile birlikte inokule edilen yapraklarda tespit edilmiştir. Bu nedenle, BVQ'nun *C. quinoa* yapraklarındaki çoğalmasının, BNYVV RNA'larının 1+2 veya 1+2+3+4'ünün eşzamanlı varlığını gerektirdiği saptanmıştır. Ancak, BSBV RNA'larından 1+2+3'ün varlığında BVQ'nun çoğalmasının gerçekleşmediği belirtilmiştir (Crutzen, 2010).

2.3.4. BSBV'nin Kontrolü

Daha önce belirtildiği gibi, BNYVV'yi kontrol eden en önemli dayanıklılık genleri *Rz1* ve *Rz2*'dir. Bu genlerden; *Rz2*, Danimarka orjinli *B. vulgaris* subsp. *maritima* populasyonunda saptanmıştır (Scholten et al., 1999). Nitekim; *Rz2* gen ürünü, bitkilerde çeşitli patojenlere karşı dayanıklılık sağlayan bir protein ailesine aittir. Bu proteinler, sarmal-bobin (coiled-coil) ve lösün açısından zengin (LRR) tekrar alanlarını içermektedir (Vetzel et al., 2021). Nitekim; Vetzel vd. (2021), şeker pancarında antiviral dayanıklılık geni *Rz2*'yi karakterize etmek için bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu çalışma sonucunda, BNYVV ve BSBMV (Benyvirus) ile yürütülen bir dayanıklılık testi ile, *Rz1*'in BSBMV'yi kontrol etmediği, yalnızca BNYVV'yi hedef aldığı, *Rz2*'nin ise her iki virüsü de hedef aldığı ortaya konulmuştur. Bu durum, daha önce yürütülen genetik haritalama çalışmalarıyla tutarlı olarak (Barzen et al., 1997; Scholten and Lange, 2000), *Rz1* ve *Rz2*'nin farklı genleri temsil ettiğini kanıtlamıştır. Bu sonuçlar, BSBV (*Pomovirus*)'nin *Rz2* tarafından kontrol edildiğinin, ancak *Rz1* tarafından kontrol edilmediğinin bulunmasıyla da desteklenmektedir. Sonuç olarak, bu

araştışıcılar *Rz2*'nin farklı bitki virüsü aileleri arasında dayanıklılık sağladığını saptamışlardır.



3.1.3. Test Bitkileri

Beet necrotic yellow vein virus ve BVQ izolatlarına farklı familyalara ait test bitkilerinin reaksiyonlarının incelenmesi amacıyla kullanılan bitki türleri Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Biyolojik çalışmalarda kullanılan test bitkileri, familyası, Türkçe adı ve temin edildiği yerler

Botanik adı	Familya	Türkçe adı	Temin edildiği yer*
<i>Chenopodium quinoa</i> L.	<i>Chenopodiaceae</i>	Ak kazayağı	A
<i>Nicotiana benthamiana</i> L.	<i>Solanaceae</i>	Tütün	A
<i>Nicotiana rustica</i> L.	<i>Solanaceae</i>	Tütün	A
<i>Spinacia oleracea</i> L. cv. Nebraska	<i>Amaranthaceae</i>	İspanak	B
<i>Beta macrocarpa</i> Guss	<i>Amaranthaceae</i>	Yabani pancar	A
<i>Patellifolia patellaris</i> (Moq.) (Sin: <i>Beta patellaris</i> Moq.)	<i>Amaranthaceae</i>	Yabani pancar	A

*A: USDA/ARS National Center for Genetic Resources Preservation 1111 South Mason St. Fort Collins CO 80521-4500, USA; B: OMU, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Viroloji Laboratuvarı

3.1.4. Antiserum

Serolojik çalışmalarda BNYVV’ye spesifik poliklonal antiserum kullanılmıştır. Bu antiserum (Bioreba, İsviçre) yurt içindeki ticari bir firmadan temin edilmiştir.

3.1.5. Mikropleytlar

Çalışmada 96 çukurlu polystrene maddeden yapılmış olan, düz tabanlı mikropleytlar (Nunc, Danimarka) kullanılmıştır.

3.1.6. Primerler

Bu çalışmada, İontek (İstanbul) ve Genoks (Ankara) firmaları tarafından sentezlenen primerler kullanılmıştır. Bu primerler; BNYVV’nin kılıf proteini (CP), P25, P26 ve P31 proteinleri; BSBV’nin CP ve BVQ’nun ise CP, CP-readthrough (RT) bölgeleri ile RNA-1’ine spesifik ileri (forward) ve geri (reverse) primerler olup, kullanılan bu primerler ilgili genel bilgiler Tablo 3. 2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Moleküler çalışmalarda kullanılan primerler, nükleotit dizileri, virüs, hedef RNA ve gen bölgesi ile beklenen bant büyüklükleri

Primer	Nükleotid dizilimi (5' → 3')	Virüs, Hedef RNA ve Bölgesi	Beklenen Bant Büyüklüğü	Literatür
BVQ/F	GCTGGAGTATATCACCGATGAC	BVQ, RNA-1	291 bp	Meunier et al., 2003
BVQ/R	AAAATCTCGGATAGCATCCAAC			
BVQ/F	TCTGTTGTGTCTAGAAGTATG	BVQ, RNA-2, P19	501 bp	Lennefors et al., 2004
BVQ/R	TCCCAGGACAATTGATTGCTA			
BNYVV/F	GAAGAAGATAGTACCAACATG	BNYVV, RNA-2, P21	567 bp	Lennefors et al., 2004
BNYVV/R	CCGAGCAGCAGCTAATTGCTA			
F29	TTAATCCAAGTACCTCGTCT	BNYVV, RNA-3, P25	1.015 bp	Acosta-Leal et al., 2008
R30	TTGAAATTGTGATAACTCTAA			
RT4F	CAGTCTATCAGTAAGGGGTAG	BNYVV, RNA-4, P31	997 bp	Chiba et al., 2011
RT4R	GAGCCCGTTAATACAATTATAC			
BN5F1	GTTTTTCCGCTCGCACAAGCG	BNYVV, RNA-5, P26	885 bp	Schirmer et al., 2005
BN5R1	CGAGCCCGTAAACACCGCATA			
BSBV/F	CATTACGTCATCTGTTAAGATG	BSBV, RNA-2, P19	495 bp	Lennefors et al., 2004
BSBV/R	GGCGGAGCAGTTGATTGCTA			
Primer 1-F	GCAAAGTGTGCGAGGTGAAG	BVQ, RNA-2	920 bp	Bu çalışma
Primer 1-R	CAGCCGCTAACGTTTCATCG	CP-RT		
Primer 5-F	CGTTTATGGCAGTCAAGGCG	BVQ, RNA-2	488 bp	Bu çalışma
Primer 5-R	GAGCCCCAGAGTAAGAAGCG	CP-RT		

3.1.7. Referans İzolat

Bu çalışmada referans olarak kullanılan BVQ izolatı [Maveles, Sainte Marie (MSM) 2000, Belçika] Prof. Dr. Claude Bragard (UCL Üniversitesi, Belçika)'tan temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

Yürütülen bu doktora tez çalışması; başlangıçta, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarındaki toprak kökenli virüs türlerinin [Beet virus Q (BVQ), Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) ve Beet soil-borne virus (BSBV)] kılıf protein (CP) gen bölgesi temel alınarak moleküler karakterizasyonları şeklinde planlanmıştır. Ayrıca, BNYVV ve BSBV izolatlarının konukçu çevrelerinin irdelenmesi de bu çalışmanın hedefleri arasında idi. Ancak, araştırmanın ilerleyen aşamalarında, özellikle BVQ ve BNYVV izolatları ile ilgili yürütülen bazı çalışmalardan elde edilen bulgular, proje metninde yer almayan bazı ilave çalışmaların yapılmasını ve böylelikle sonuçların kesin olarak

teyidini gerektirmiştir. Bu nedenle, yürütülen çalışmaların takibini kolaylaştırmak için, incelenen her bir virüs türü için ayrı ana başlıklar oluşturulmuş ve Yöntem Bölümü bu şekilde oluşturulmuştur.

3.2.1. Türkiye Şeker Pancarı Üretim Alanlarında BVQ'nun Bulunma Durumunun Araştırılması

3.2.1.1 Toprak Örneklerinin Seçimi

Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında BVQ'nun bulunup bulunmama durumunu ortaya koymak amacıyla, Kutluk Yılmaz vd. (2016a)'nin pancar üretim alanlarından topladıkları 31 ile ait toprak örneği kullanılmıştır. Bu örnekler içerisinde, BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık olduğu bilinen 82 ve sadece vektör *P. betae* ile bulaşık 21 adet (toplam: 103 adet) toprak örneği coğrafik orijinlerine göre seçilmiş (Tablo 3.3) ve Yöntem 3.2.1.2'de belirtilen tuzak bitki testi çalışmalarında kullanılmıştır.

Tablo 3.3. BVQ'nun varlığının araştırılmasında kullanılan toprak örneklerine ait bilgiler ve bu toprak örneklerinin BNYVV, BSBV ve/ya da *P. betae* ile bulaşık olma durumları (Kutluk Yılmaz vd., 2016a)

İl	İlçe	Köy	Örnek No	BNYVV	BSBV	<i>P. betae</i>
Adapazarı	Erenler	Merkez	291	+	+	+
	Merkez	Kömürlük	297	-	-	+
Afyon	Çobanlar	Merkez	268	+	+	+
	Dinar	İshaklı	259	+	+	+
	Dinar	Yapağılı	260	-	-	+
	Emirdağı	Sığırcık	275	+	+	+
	Sandıklı	Merkez	250	-	-	+
	Sandıklı	Koçhisar	252	+	+	+
Aksaray	Eskil	Eşmekeya	544	-	-	+
	Eskil	Eşmekaya	549	+	+	+
	Merkez	Yenikent	581	+	+	+
	Sultanhanı	Merkez	542	+	+	+
Ankara	Ayaş	Uğurçay	617	+	+	+
	Bala	Merkez	618	-	-	+
	Çubuk	Güldartı	629	+	+	+
	Temelli	Bacıköy	190	+	+	+
	Türbealtı	Merkez	625	+	+	+
Amasya	Göynücek	İlisu	91	+	+	+
	Taşova	Elmakırı	75	+	+	+
Burdur	Göhlisar	Hisarardı	164	+	+	+
	Merkez		168	+	+	+
	Yeşilova	Çaltepe	160	-	-	+

Tablo 3.3. (Devam)

İl	İlçe	Köy	Örnek No	BNYVV	BSBV	<i>P. betae</i>
Bursa	M.kemalpaşa	Azatlı	141	+	+	+
	Yenişehir	Yenişehir	147	-	-	+
	Yenişehir	Çardak	148	+	+	+
Çanakkale	Susurluk	Biga	150	+	-	+
Çankırı	Kızılırmak	Kıyıkavurgalı	74	+	-	+
Çorum	Laçın	Çamlıca	64	+	+	+
	Osmancık	Güvercinlik	68	+	+	+
	Sungurlu	Çavuşoğlu	63	+	+	+
Denizli	Acıpayam	Merkez	171	-	-	+
	Çevril	Beydilli	600	+	+	+
Edirne	Keşan-İpsala	İbriktepe	133(1)	+	-	+
	İpsala	İbriktepe	133(2)	+	-	+
	İpsala	Balacancık	132	+	-	+
	Merkez	Karaağaç	124	+	+	+
	Merkez	Bosna	125	+	-	+
	Uzunköprü	Merkez	128	-	-	+
Elazığ	Kovancılar	Yazıbaşı	38	+	+	+
	Merkez	Yedigöze	44	+	+	+
Erzincan	Merkez		47	+	+	+
	Merkez		52	+	+	+
	Tercan	Gözeler	10	-	-	+
Eskişehir	Alpu	Merkez	215	+	+	+
	Alpu	Osmaniye	218	+	+	+
	Beylikova	Akköprü	222	+	+	+
	Çifteler	Merkez	225	+	+	+
	Karhöyük	Merkez	210	+	+	+
	Sivrihisar	İlören	202	+	+	+
	Sivrihisar	Ahrözü	205	-	-	+
Gaziantep	İslahiye	Örtülü	27	+	+	+
İğdır	Karakoyunlu	Gacer	4	+	+	+
	Karakoyunlu	Taşburun	9	+	+	+
	Merkez	Enginalan	3	+	+	+
Kahramanmaraş	Afşin	Çoğulhan	18	-	-	+
Kastamonu	Taşköprü	Ethem	277	+	+	+
	Taşköprü	Aşağıçayırıcık	281	+	+	+
	Taşköprü	Alatarla	284	-	-	+
Kayseri	Bünyan	Merkez	503	-	-	+
	Merkez	Mahzemin	524	+	+	+
	Merkez	Mahzemin	527	+	+	+
Kırıkkale	Balıseyh	Merkez	594	+	+	+
	Balıseyh	Belovası	606	+	+	+
Kırklareli	Babaeski	B. Mandıra	134	+	+	+
	Babaeski	Taşagıl	136	+	+	+
	Lüleburgaz	Ahmetbey	139	+	+	+
	Pehlivan köyü	Akarca	135	-	-	+
Kırşehir	Mucur	Merkez	493	+	+	+
	Kaman	Efendi	485	-	-	+
	Kaman	Hanyeri	486	+	+	+
	Ulupınar	Merkez	490	+	+	+
Konya	Altınekin	Merkez	440	+	+	+
	Altınekin	Merkez	443	-	-	+
	Cihanbeyli	Merkez	449	+	+	+

Tablo 3.3. (Devam)

İl	İlçe	Köy	Örnek No	BNYVV	BSBV	<i>P. betae</i>
Konya	Cumra	Güvercinlik	419	+	+	+
	Cumra	Karkın	424	+	+	+
	Çeltik	Büyükhasan	367	-	-	+
	Çeltik	Hacıosmanoğlu	373	+	+	+
	Karapınar	Kazanhöyüğü	389	+	+	+
	Merkez	Sazlıpınar	431	+	+	+
	Selçuklu	Yazıbelen	446	+	+	+
	Yunak	Saray	359	+	-	+
Kütahya	Yunak	Odabaşı	364	+	+	+
	Aslanapa	Adaköy	233	-	-	+
	Merkez	İnköy	229	+	+	+
Niğde	Simav	Gümele	602	+	+	+
	Merkez	Değirmenli	175	+	-	+
Samsun	Bafra	Yağmurca	54	+	+	+
	Havza	Ortaklar	57	-	-	+
	Vezirköprü	Y.Narlı	61	+	+	+
Tekirdağ	Hayranbolu	Çerkezmüsellim	158	-	+	+
Tokat	Erbaa	Çalkara	99	+	+	+
	Erbaa	Çalkara	104	+	+	+
	Niksar	Direkli	108	+	+	+
	Turhal	Tatlıcak	119	+	+	+
Uşak	Bonaz	Güllüçam	589	-	+	+
Yozgat	Akdağ	Dolak	312	+	+	+
	Madeni					
	Akdağ	Kirsikavağı	313	-	-	+
	madeni					
	Boğazlıyan	Merkez	347	+	+	+
	Merkez	Şefaati	341	+	+	+
	Sarıkaya	Alıfakılı	330	-	-	+
	Sarıkaya	Aşağı Sarıkaya	332	+	+	+
	Yenifakılı	Merkez	355	+	+	+
Toplam	78	95	103	79	73	103

3.2.1.2. Tuzak Bitki Testi Yöntemi

Seçimi yapılan 103 toprak örneği tuzak bitki testi çalışmalarında kullanılmıştır. Ayrıca, bu çalışmada BNYVV ve diğer toprak kökenli virüsler (BSBV ve/ya da BVQ) ile bulaşık olmadığı daha önceki çalışmalarla belirlenen (Kutluk Yılmaz et al., 2016a) Kırıkkale iline ait toprak örneği negatif kontrol olarak, UCL Üniversitesi'nden temin edilen BVQ ile bulaşık toprak örneği ise pozitif kontrol olarak denemelere dahil edilmiştir. Öncelikle, bu topraklar 1:1 oranında steril ırmak kumu ile karıştırılmıştır. Ardından, bu toprak-kum karışımları 7 cm çapındaki plastik kaplara konularak, her birine 10'ar adet BNYVV'e hassas şeker pancarı çeşidine ait (cv. Kasandra) tohumlar ekilmiştir. Daha sonra, bu saksılar 20°C (gece) ve 25°C (gündüz) koşullarına sahip iklim odasında toplam altı hafta süre ile yetiştirilmiştir (Şekil 3.2). Bu yetiştirme periyodu boyunca, bitkiler haftada bir defa Hoagland besin solusyonu (EK-1) ile sulanmıştır. Bu yetiştirme süreci tamamlandığında, her bir saksı ayrı ayrı hasat

edilerek pancar bitkilerinin kökleri musluk suyu altında yıkanarak topraktan arındırılmıştır. Bu bitkilere ait belirtiler kayıt edildikten sonra, toplam kök ve bitki ağırlıkları hassas terazi yardımı ile elde edilmiştir. Daha sonra, bitkilerin kök bölgeleri alınmış, ayrı ayrı etiketlendikten sonra kök boyaması ve RNA izolasyon çalışmalarına kadar -80°C'deki derin dondurucuda saklanmıştır.



Şekil 3.2. İklim odasında tuzak bitki yöntemine göre yetiştirilen bitkilerin genel görünümü

3.2.1.3. Kök Boyaması Yöntemiyle Tuzak Bitki Köklerinde Vektör *Polymyxa betae*'nin Araştırılması

Tuzak bitki testi ile elde edilen pancar bitkilerine ait toplam 103 kök örneğinin her birinden yaklaşık 1 cm uzunluğunda 8-10 parça alınmıştır. Daha sonra bu parçalara, %0.1 oranında asit fuksin içeren lakto-gliserin çözeltisi uygulanmış ve alev ile lama fikse edilmiştir. Bu örneklerde ışık mikroskop (Leica, İsviçre) yardımı ile protozoan vektör *P. betae*'nin sistosori'leri (dinlenme spor yapısı) araştırılmıştır (Abe and Tamada, 1986). Ardından, seçilen bazı örneklerde *P. betae*'ya ait kışlama spor yapılarının fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.1.4. RNA İzolasyonu

BVQ'a spesifik ticari bir antiserumun olmaması nedeni ile, örneklerde virüsün bulunma durumunun araştırılmasında RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, tuzak bitki testi ile elde edilen 103 örnek ile kontrol olarak kullanılan sağlıklı ve enfekteli şeker pancarı bitkilerinin köklerinden toplam RNA'lar PureLink™ RNA Mini Kit (Invitrogen) kullanılarak, kit protokolüne göre izole edilmiştir. Öncelikle, pancar bitkilerine ait köklerden 0.1 g alınmış, ve steril havanda sıvı azot içerisinde toz

haline gelinceye kadar ezilmiştir. Takiben, bu örneklerin üzerine 600 µl Lysis buffer ve 6 µl β-mercaptoethanol ilave edilerek ezme işlemine devam edilmiş ve sonrasında bu örnekler mikrosantrifüj tüplerine transfer edilmiştir. Daha sonra vorteks ile örneklerin karışımı sağlanmış, takiben karışım içeren bu tüpler 12.000 rpm’de 2 dk süre ile santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrası üstte kalan sıvı faz (süpernatant) dikkatle alınarak temiz mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Üzerine 1ml %70’lik etil alkol ilavesini takiben, örnekler vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra, altına toplama tüpü yerleştirilen spin cartridge içeren kolona transfer edilmiş ve 12.000 rpm’de 15 s süre ile santrifüj edilmiştir. Alta geçen sıvı dökülerek, örneğin tamamı kolona transfer edilinceye kadar bu işleme devam edilmiştir. Daha sonra, aynı kolona 700 µl yıkama tamponu I (Wash buffer I) ilave edilmiş ve 12.000 rpm de 15 s santrifüj edilmiştir. Ardından, kolon yeni tüpe yerleştirilip üzerine 500 µl yıkama tamponu II (Wash buffer II) ilave edilerek 12.000 rpm’de 15 s süre ile santrifüj edilmiş ve alta geçen sıvı dökülerek, aynı işlem aynı şekilde bir defa daha tekrar edilmiştir. Sonrasında, kolon boş olarak 12.000 rpm’de 1-2 dk santrifüj edildikten sonra, altta bulunan toplama tüpü atılmış ve kolon üzerlerine örnek numaraları yazılan yeni tüplere yerleştirilmiştir. Kolonun tam merkezine gelecek şekilde 40 µl RNase içermeyen su ilave edilerek oda sıcaklığında 1 dk süre ile bekletilmiştir. Bu süre dolduğunda, son defa örnekler 12.000 rpm’de 2 dk santrifüj edilmiş ve kolon atılarak elde edilen RNA’lar alttaki tüpler içerisinde, -80°C’deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

3.2.1.5. Beet virus Q’nun RT-PCR Yöntemi ile Araştırılması

Öncelikle, RNA izolasyonunu takiben, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarına ait seçilen 103 örnekte BVQ’nun bulunma durumu tek aşamalı RT-PCR yöntemi kullanılarak aşağıda belirtildiği şekilde araştırılmıştır. Daha sonra Şeker pancarı bitkilerinde BVQ’nun tek olarak enfeksiyon oluşturup oluşturmadığının ortaya konulması amacıyla; daha önce yürütülen ELISA testlemeleri ile BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık olmadığı bilinen, ancak kök boyaması çalışmaları ile sadece vektör *P. betae* ile bulaşık olarak belirlenen toplam 21 toprak örneği coğrafik lokasyonlarına göre seçilmiştir (Tablo 3.4). Seçilen bu topraklarda Yöntem 3.2.1.2’de belirtildiği şekilde tuzak bitki testine göre şeker pancarları (cv. Kasandra) yetiştirilmiştir. Bu örneklerden yapılan RNA izolasyonunu (Yöntem 3.2.1.4) takiben, virüsün RNA-1’ine spesifik primerlerin (Meunier et al., 2003) (Tablo 3.2) kullanımı ile RT-PCR çalışmaları aşağıda açıklandığı şekilde yürütülmüştür.

Tablo 3.4. Vektör *Polymyxa betae* ile bulaşık seçilen toprak örnekleri ve bu örneklerin elde edildiği lokasyonlar

İl	İlçe	Örnek No	<i>P. betae</i>
Adapazari	Centrum	297	+
Aksaray	Eskil	544	+
Afyonkarahisar	Sandıklı	250	+
	Dinar*	260	-
Ankara	Bala	618	+
Burdur	Yeşilova	160	+
Bursa	Yenişehir	147	+
Denizli	Acıpayam	171	+
Edirne	Uzunköprü	128	+
Erzincan	Tercan	10	+
Eskişehir	Sivrihisar	205	+
Kahramanmaraş	Afşin	18	+
Kastamonu	Taşköprü*	284	-
Kayseri	Bünyan	503	+
Kırklareli	Pehlivan köyü	135	+
Kırşehir	Kaman	485	+
Konya	Çeltik	367	+
	Altınekin	443	+
Kütahya	Aslanapa	233	+
Yozgat	Akdağ madeni	313	+
	Sarıkaya	330	+
Toplam	21	21	19

* *Beet virus Q* ile bulaşık olarak saptanmayan toprak örneklerini ifade etmektedir

RT-PCR yöntemi Qiagen firmasının One-step RT-PCR kiti protokolü takip edilerek uygulanmıştır. Bu çalışmada oluşturulan PCR reaksiyonu; 0.5 µl total RNA, 2 µl 5X PCR Tampon, 0.4 µl dNTP mix (10 mM), her bir primerden 0.6 µl (10 µM), 0.4 µl Hot Star *Taq* DNA Polymerase (Qiagen) enzim mix, 0.2 µl RNase inhibitörü ve 5.3 µl RNase içermeyen su içermiştir (toplam hacim: 10 µl). PCR Thermocycler (BioRad, ABD)'da uygulanan reaksiyon basamakları, sıcaklıklar ve döngü sayıları ise şu şekildedir: RT basamağı (50°C'de 30 dk), ilk denatürasyon (95°C'de 15 dk), 39 döngü olacak şekilde denatürasyon (94°C'de 30 s), primer bağlanma (58°C'de 30 s), uzama (72°C'de 2 dk) ve 1 döngü son uzama (72°C'de 7 dk)

3.2.1.6. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi

RT-PCR çalışmasının ardından, DNA fragmentlerinin analizi için %1'lik agaroz jel hazırlanmıştır. Bu amaçla; 0.7 g agaroz (Merck, Almanya) 70 ml 1XTBE tampon çözeltisine (89 mM Tris, 89 mM Borik asit ve 2 mM EDTA) ilave edilmiş ve mikro dalga fırında yaklaşık 2-3 dakika süre ile ısıtılarak eritilmiştir. Karışım şeffaf bir görünüm kazanınca, eriyen agarın ılıması için bir müddet beklenmiş ve sonrasında

içerisine 3.5 µl (10 mg/ml) ethidium bromür eklenerek homojen olarak karışımı sağlandıktan sonra, tarak yerleştirilen yatay elektroforez tabağına dökülmüştür. Jelin tamamen katılaşması sağlandıktan sonra, içerisinde 1XTBE tampon çözeltisi bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiş ve tarak dikkatli bir şekilde çıkarılmıştır. İlk ya da son hücreye bantların moleküler büyüklüğünü saptamak için 6 µl markör (100 bp ya da 1 Kb DNA Ladder) konulduktan sonra, diğer hücrelere incelenecek olan örnekler yerleştirilmiş ve 90 mA akımda yaklaşık bir saat süre ile elektroforeze tabi tutulmuştur. Takiben, jeldeki DNA fragmentlerinin analizi ise GelDoc 2000 (Biorad, ABD) görüntüleme sistemi yardımı ile gerçekleştirilmiş ve jelde oluşan bantların fotoğrafları çekilmiştir.

Yukarıda izah edilen bu yöntem, bu tez çalışmasında yürütülen tüm RT-PCR ve PCR çalışmaları sonrası uygulanmış olup, Yöntem Bölümü'nde benzer çalışmaların ardından tekrar bu uygulamadan bahsedilmemiştir.

3.2.1.7. Vektör *Polymyxa betae* ve *Beet virus Q* ile Bulaşık Örneklerde Diğer Toprak Kökenli Virüslerin RT-PCR Yöntemi ile Araştırılması

Çalışmanın bu bölümünde; ELISA testi ile BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık olmadığı belirlenen; ancak kök boyaması çalışmaları ile köklerinde vektör *P. betae* tespit edilen ve RT-PCR çalışması sonucunda da BVQ ile bulaşık olduğu belirlenen toplam 19 örnekte (Tablo 3.4), ELISA sonucunu teyit etmek amacıyla BNYVV ve BSBV'nin RT-PCR yöntemiyle araştırılması yoluna gidilmiştir. Ancak, ilave olarak yürütülen bu çalışma için yeterli miktarda sarf malzeme olmaması nedeniyle, incelenecek olan örnek sayısı sekiz ile sınırlandırılmıştır. Bu çalışma için seçilen örneklerin numaraları, lokasyonları, BNYVV ve BSBV için saptanan ELISA absorbans değerleri Tablo 3.5'de verilmiştir. Bu tablo incelendiğinde; ELISA absorbans değerlerinin BNYVV için 0.075-0.202; BSBV için ise 0.112-0.234 arasında değiştiği ve bu değerlerin daha önce yürütülen çalışmada (Kutluk Yılmaz vd., 2016a) her iki virüs türü için negatif sınırlar içinde bulundukları bilinmektedir.

Tablo 3.5. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) ve Beet soil-borne virus (BSBV)’un kılıf protein genine göre araştırması amacıyla seçilen örneklerin lokasyonları, örnek numaraları ile bu örneklerde BNYVV ve BSBV için belirlenen ELISA absorbands değerleri

İl	İlçe	Örnek No	ELISA Absorbans Değeri	
			BNYVV	BSBV
Kahramanmaraş	Afşin	18	0.076	0.145
Edirne	Uzunköprü	128	0.079	0.112
Bursa	Yenişehir	147	0.077	0.114
Burdur	Yeşilova	160	0.075	0.115
Adapazarı	Centrum	297	0.145	0.156
Yozgat	Akdağ madeni	313	0.150	0.121
Konya	Çeltik	367	0.115	0.169
Kırşehir	Kaman	485	0.202	0.234

Beet necrotic yellow vein virus’un *Beta vulgaris*’de sistemik enfeksiyon oluşturmaları için, virüsün genom segmentlerinden sadece RNA-1+RNA-2+RNA-3’e ihtiyaç olduğu belirtilmektedir (Gilmer, 2016). Diğer taraftan; pancarda *Pomovirus*’lerin sistemik enfeksiyonu için ise, RNA-1, RNA-2 ve RNA 3’ ün gerekli olduğu bildirilmektedir (Torrance et al., 2011). Bu sebeple; bu çalışmada incelenen örneklerde BNYVV ve BSBV’nin varlığının araştırılmasında; her iki virüs türü için CP gen bölgesine (RNA-2 tarafından sentezlenen) spesifik primerler ile RT-PCR çalışmalarının yapılmasına karar verilmiştir.

BVQ ile enfekteli olan örneklerden seçilen sekiz örnekte; BNYVV ve/ya da BSBV’nin bulunma durumlarının araştırıldığı bu çalışmada, iki aşamalı RT-PCR yöntemi uygulanmıştır. Öncelikle, bu örneklerde Omniscript Reverse Transcription Kit (Qiagen, Almanya) ile firmanın belirttiği protokol takip edilerek, cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; steril mikrosantrifüj tüpü içerisine 2 µl RNA ilave edilmiş ve 65°C’de su banyosunda 5 dk süre ile inkübe edilmiştir. Ardından, RNA içeren bu tüpler buz içerisinde kısa bir süre tutulmuştur. Daha sonra; her bir mikrosantrifüj tüpüne 1 µl 10XRT buffer, 2 µl dNTP mix (5 mM), 2 µl reverse primer (10 mM), 1 µl RNase inhibitör (10 U/µl), 1 µl Omniscript RT Enzimi ve 10 µl RNase içermeyen su eklenerek karışım hazırlanmış ve takiben bu karışımı içeren tüpler 37°C’ye ayarlı inkübatörde bir saat süre ile bekletilmiştir.

PCR reaksiyonu; 10 µl 5XGC Buffer, 1 µl dNTP mix (10 mM), primerlerin her birinden 2.5 µl (10 µM), 1.5 µl DMSO, 0.5 µl Phusion High-Fidelity DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific, ABD) enzimi, 29.5 µl RNase-free su ve 2.5 µl cDNA’dan oluşmuştur. BNYVV ve BSBV için amplifikasyonlar thermocycler (Bio-Rad,

ABD)'da 98°C'de 30 s başlangıç denatürasyon basamağının ardından, 25 döngü olacak şekilde; 98°C'de 10 s, 54.2°C'de 30 s, 72°C'de 30 s ve 1 döngü 72°C'de 5 dk ile tamamlanmıştır.

3.2.1.8. BVQ'nun Kılıf Protein (CP) Gen Bölgesine Göre Moleküler Karakterizasyonu

Bu çalışmanın proje metninde 15 BVQ izolatının CP gen bölgesinin moleküler olarak karakterizasyonunun yapılacağı bildirilmiş olmasına rağmen; bu sayı iki katına çıkarılmış ve coğrafik orjinine göre seçilen toplam 30 BVQ izolatı bu çalışmada kullanılmıştır (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. Beet virus Q (BVQ) izolatlarının kılıf protein genine göre moleküler karakterizasyonu için seçilen örneklerin numaraları ve orijinleri

İl	İlçe	Köy	Örnek No	Saptanan Virüs
Afyonkarahisar	Çobanlar	Merkez	268	BVQ
	Emirdağı	Sığırcık	275	BVQ
	Merkez	Yenikent	581	BVQ
	Sultanhanı	Merkez	542	BVQ
	Çubuk	Güldartı	629	BVQ
	Temelli	Bacıköy	190	BVQ
	Türbealtı	Merkez	625	BVQ
Burdur	Göhlisar	Hisarardı	164	BVQ
Bursa	Mustafakemalpaşa	Azatlı	141	BVQ
	Yenişehir	Çardak	148	BVQ
Çankırı	Kızılırmak	Kıyıkavurgalı	74	BVQ
Çorum	Laçın	Çamlıca	64	BVQ
Denizli	Acıpayam	Merkez	171	BVQ
Edirne	Merkez	Karaağaç	124	BVQ
	Merkez	Bosna	125	BVQ
	Merkez	Yedigöze	44	BVQ
Erzincan	Merkez	-	52	BVQ
Eskişehir	Alpu	Merkez	215	BVQ
	Karhöyük	Merkez	210	BVQ
Iğdır	Karakoyunlu	Taşburun	9	BVQ
Kahramanmaraş	Afşin	Çoğulhan	18	BVQ
Kastamonu	Taşköprü	Aşağıçayırıcık	281	BVQ
Kırıkkale	Balıçeyh	Merkez	594	BVQ
Kırklareli	Babaeski	B. Mandıra	134	BVQ
Konya	Çumra	Güvercinlik	419	BVQ
	Karapınar	Kazanhöyüğü	389	BVQ
	Merkez	Sazlıpınar	431	BVQ
Tokat	Niksar	Direkli	108	BVQ
Yozgat	Akdağ madeni	Kırsıkavağı	313	BVQ
	Sarıkaya	A.Sarıkaya	332	BVQ
17	30	29	30	

Seçimi yapılan 30 BVQ izolatının CP bölgesinin çoğaltımı amacıyla, HotStarTaq DNA Polymerase (Qiagen, Almanya) protokolü izlenerek, RT-PCR çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmada Lennefors vd. (2004)'nın belirttikleri primer çifti kullanılmış olup, bu primerlerin baz dizileri Tablo 3.2'de verilmiştir. Bu çalışma

için oluşturulan PCR karışımı; 2.5 µl total RNA, 10 µl 5XPCR buffer, 2 µl dNTP mix (10 mM), her bir primerden 3 µl (10 µM), 2 µl HotStarTaq DNA Polymerase enzim mix, 1 µl RNase inhibitörü ve 26.5 µl RNase free su içermektedir (toplam hacim 50 µl).

Amplifikasyonlar PCR Thermocycler (Bio-Rad, ABD)'da, 50°C'de 30 dk, 95°C'de 15 dk, takiben 39 döngü 94°C'de 30 s, 50°C'de 30s, 72°C'de 2 dk şeklinde uygulanmış ve 1 döngü 72°C'de 7 dk ile tamamlanmıştır.

3.2.1.9. Beet virus Q İzolatlarının Kılıf Protein (CP) Gen Bölgesi Nükleotit Dizilerinin Elde Edilmesi ve Filogenetik Analizi

Çoğaltımı sağlanan 15 BVQ (IGR-9Q, ERC-52Q, CRM-64Q, EDR-125Q, EDR-128Q, BRS-148Q, BRD-164Q, ESK-215Q, AFY-268Q, KST-281Q, YZT-313Q, KNY-389Q, KNY-419Q, KRK-594Q, ANK-625Q) izolatına ait PCR ürünlerinden 40'ar µl, önerilen konsantrasyonda (5 pmol) hazırlanan BVQ CP genine spesifik primerler ile birlikte sekans hizmeti veren bir firmaya (Genoks, Ankara) gönderilmiştir. Daha sonra, bu izolatların Sanger Dizileme Yöntemine göre, ileri (forward) ve geri (reverse) PCR primer çifti kullanımı ile elde edilen ham sekans verileri 'Codon Code Aligner' programı (5.0) programında 'Clustal W Yöntemi' (Thompson et al., 1994) ile hizalanmış ve her iki yöndeki okumaya ait sekans verilerinden konsensus diziler oluşturulmuştur.

Beet virus Q (BVQ) izolatlarının CP gen bölgelerini içeren ileri ve geri yöndeki okumalara ait dizilerinden konsensus diziler oluşturulduktan sonra, gerek nükleotit, gerekse amino asit (aa) dizileri bakımından GenBank (NCBI: National Centre for Biotechnology Information)'da mevcut olan diğer BVQ izolatları ile karşılaştırılmıştır. Böylelikle, BVQ izolatların hem kendi aralarındaki, hem de dünyadaki diğer BVQ izolatları ile genetik benzerlik ve farklılıkları, nükleotit için uygulanan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)n ve aminoasit dizisi için BLASTp analizleri ile belirlenmiştir.

Ayrıca, Mega 7 yazılımında (Kumar et al., 2016) yer alan Tamura- Nei Modeli (Tamura and Nei, 1993) kullanılarak BVQ izolatlarının CP geni temel alınarak genetik uzaklıkları belirlenmiş ve Maximum Likelihood (ML) algoritmasına göre (Felsenstein, 1981) filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bootstrap değeri ise 1.000 olarak alınmıştır.

3.2.1.10. Beet virus Q İzolatlarının Konukçu Çevresinin Belirlenmesine Yönelik Biyolojik ve Moleküler Çalışmalar

Çalışmanın bu parçasında, BVQ izolatlarının farklı familyalara ait konukçu bitki türlerinde oluşturdıkları semptomların irdelenmesi ve böylelikle bu izolatlar arasında biyolojik olarak herhangi bir farklılık olup olmadığının ortaya konulması hedeflenmiştir. Bu amaçla; öncelikle, test bitkilerine (Tablo 3.1) ait tohumlar içerisinde torf bulunan plastik kaplara ekilmiş ve 25°C gündüz, 20°C gece sıcaklığa ayarlı iklim odasında yetiştirilmiştir. Bitkiler uygun inokulasyon dönemine geldiklerinde (Tablo 3.7), torf içeren 7 cm çapındaki plastik kaplara şaşırtılmıştır (Şekil 3.3). Bu bitkiler, yetiştirme periyodu boyunca, böcek zararı ve fungal hastalıklardan korunması amacıyla rutin olarak kontrol edilmiş ve gerek duyulduğunda ilaçlanmıştır.

Tablo 3.7. Biyolojik çalışmalarda kullanılan test bitkileri ve inokulasyon dönemleri (Tamada and Baba, 1973)

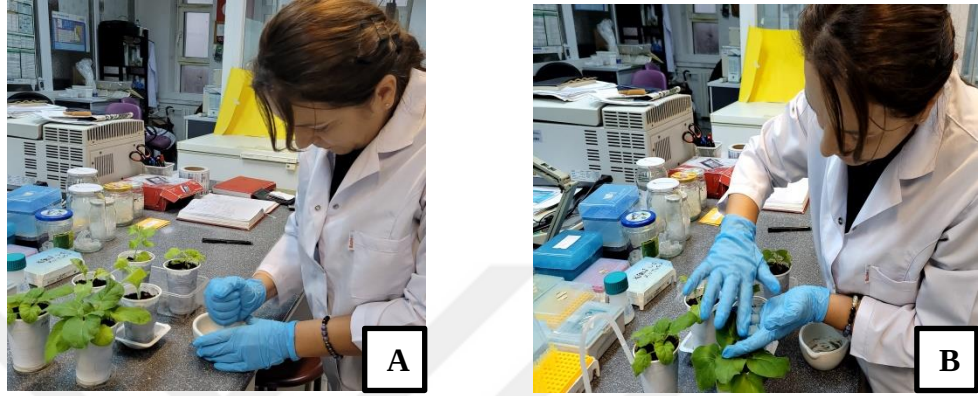
Test Bitkileri	İnokulasyon zamanı (gün)	İnokulasyon dönemi
<i>B. macrocarpa</i>	20-25	2 yapraklı
<i>C. quinoa</i>	28	3-4 yapraklı
<i>S. oleraceae</i> cv. Nebraska	28	6-8 yapraklı
<i>N. benthamiana</i>	30	3-4 yapraklı
<i>N. rustica</i>	20-25	2-3 yapraklı
<i>P. patellaris</i>	20-25	4-6 yapraklı



Şekil 3.3. Biyolojik çalışmalarda kullanılan indikatör bitkilerin genel görünümü

Yürütülen biyolojik çalışmalarda; tuzak bitki testi sonucu elde edilen iki BVQ (EDR-128Q ve YZT-313Q) izolatına ait pancar (cv. Kasandra) kök örnekleri inokulum kaynağı olarak kullanılmıştır. İnokulasyon öncesi, test bitkilerinin karanlık ortamda inokulayona daha hassas hale getirilmesi amacıyla üzerleri iki gün süre ile gazete kağıdı ile kapatılmış ve sonrasında bu kağıt uzaklaştırılmıştır. Takiben, her bir izolat

için; 1 g kök örneği ve 3 ml fosfat tampon çözeltisi [%1'lik 2-mercapto ethanol içeren 0.1 M çözelti (pH: 7.0)] alınarak steril porselen havanda homojenize edilmiştir (Tamada and Baba, 1973). Daha sonra, indikatör bitkilerin seçilen yaprakları uç noktadan kürdan ile delinmek suretiyle işaretlenmiş, ardından 500 mesh'lik karborandum ile tozlanmış ve elde edilen enfekteli bitki özsuvarı ile iki tekerrürlü olarak inokule edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Örnek ekstraksiyonu (A) ve mekanik inokulasyon (B)

İnokulasyonu takiben yaklaşık 5-10 dk sonra, bitkiler hafif akan musluk suyu altında yıkanarak, karborandum tozu ve bitki artıklarından arındırılmıştır. Ayrıca, her bir test bitkisinden birer adet ayrılarak, bu bitkilerin yapraklarına sadece tampon solüsyon uygulanmış ve bu bitkiler kontrol bitki olarak denemeye dahil edilmiştir. İnokulasyon sonrası bu bitkiler 20°C (gece)/ 25°C (gündüz)'ye ayarlı iklim odasına yerleştirilmiştir. Bitkiler periyodik olarak bir ay süre ile gözlenmiş ve bu süreç içerisinde oluşan belirtiler kayıt edilmiştir. Daha sonra, belirti gösteren ve göstermeyen indikatör bitkilerin tamamının (*C. quinoa*, *B. macrocarpa*, *P. patellaris*, *N. benthamiana* ve *S. oleraceae* cv. Nebreska) virüs-inokule edilen ve -edilmeyen üst yapraklarından örnekleme yapılmış, ve bu örnekler moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Literatürde, BVQ'nun konukçu çevresinin *C. quinoa* ile sınırlı olduğu bildirilmektedir (Torrance, 2008). Bu çalışmada; iki farklı BVQ izolatı (EDR-128Q ve YZT-313Q) ile inokule edilen beş farklı test bitkisinde (*C. quinoa*, *B. macrocarpa*, *P. patellaris*, *N. benthamiana* ve *S. oleraceae* cv. Nebreska) oluşan lokal ve/ya da sistemik belirtilerin; ya da test bitkisi virüs-tarzı simptom sergilemese de (simptomsuz konukçu), bu bitkilerin BVQ ile enfekteli olup olmama durumunun net olarak ortaya konulması amaçlanmıştır. Ancak, maliyetinin yüksek olması nedeniyle, iki izolatın

mekanik olarak aktarıldığı beş test bitkisine ait tekerrürlerin tamamından RNA izolasyonu yapılamamıştır. Bununla birlikte; izolat ayrımı yapılmaksızın, test bitkilerinde kayıt edilen semptomlar dikkate alınarak (Tablo 3.8), her bir test bitkisine ait birer tekerrür seçilmiş (Tablo 3.8) ve bu bitkilerin hem virüs-inokule edilen, hem de -edilmeyen üst yapraklarına ait örneklerden toplam RNA'lar Yöntem 3.2.1.4'de belirtildiği şekilde izole edilmiştir.

Tablo 3.8. Moleküler çalışmalar için seçilen BVQ izolatı ve tekerrür numarası, test bitkilerinde gözlenen makroskobik belirtiler

İzolat adı	İndikatör bitki	Tekerrür	Makroskobik Gözlem (*)	
			İnokule Edilen Yaprak	İnokule Edilmeyen Üst Yaprak
EDR-128Q	<i>B. macrocarpa</i>	2.	KLL	KL
	<i>P. patellaris</i>	1.	YDB	HB
YZT-313Q	<i>C. quinoa</i>	1.	İKLL	NBG
	<i>N. benthamiana</i>	1.	HKL	NBG
	<i>S. oleraceae</i> cv. Nebreska	1.	K, HB	HK, HB

*: İKLL: İri klorotik lokal leke, KLL: Klorotik lokal lezyon, HKLL: Hafif klorotik lokal leke, KL: Klorotik leke, YDB: Yaprak damarlarında belirginleşme, HB: Hafif bombe, HK: Hafif kloroz, NBG: Normal bitki gelişimi

Daha sonra; test bitkilerinin lokal ve sistemik yapraklarında, BVQ'nun bulunma durumu farklı RNA segmentlerine yönelik olarak moleküler yöntemlerle araştırılmıştır:

A. BVQ'nun RNA-1 Segmenti Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

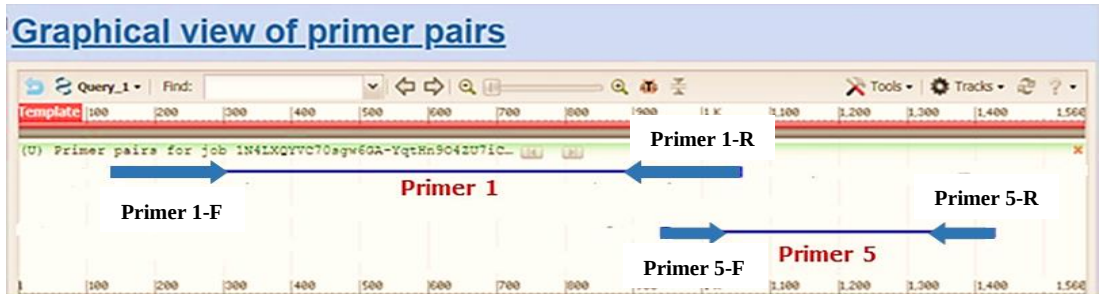
Farklı test bitkilerinin; virüs-inokule edilen ve -inokule edilmeyen üst yaprakları BVQ'nun varlığının araştırılması amacıyla RNA-1'e spesifik primerler (Tablo 3.2) kullanılarak, Yöntem 3.2.1.5'de açıklandığı şekilde RT-PCR yöntemi ile test edilmiştir. Ardından, bu bitkilerin üst yapraklarına ait PCR ürünleri, baz dizisi analizi için Genoks (Ankara) firmasına gönderilmiştir. Daha sonra, elde edilen bu diziler Yöntem 3.2.1.9'da belirtildiği şekilde analiz edilmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

Diğer taraftan, bu çalışmaya paralel olarak, aynı test bitkilerine ait bu örneklerle (BVQ-inokule edilen ve -inokule edilmeyen yapraklar) ilaveten; BVQ için inokulum kaynağı olarak kullanılan şeker pancarı kök örnekleri (EDR-128 ve YZT-313), BNYVV ve BSBV'nin CP bölgesine spesifik primer kullanılarak Yöntem 3.2.1.7.'de izah edildiği şekilde RT-PCR yöntemine ile test edilmiştir. Böylelikle, BVQ'nun bu test bitkilerinde tek ya da diğer virüsler ile birlikte enfeksiyon oluşturma durumunun net olarak ortaya konulması hedeflenmiştir.

B. BVQ'nun RNA-2 Segmenti Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

Çalışmanın bu basamağında; test bitkilerinin üst yaprakları BVQ'nun RNA-2 segmenti üzerinden sentezlenen CP gen bölgesine özgü primer çifti (Tablo 3.2) kullanılarak Yöntem 3.2.1.8'de izah edildiği şekilde RT-PCR ile test edilmiştir. Sonrasında, çoğaltımı sağlanan PCR ürünlerine ait diziler elde edilmiş (Genoks, Ankara) ve Yöntem 3.2.1.9'da belirtildiği şekilde analiz edilmiştir.

Önceki çalışmalarda, BVQ'nun *C. quinoa*'da lokal lezyon oluşumuna sebep olduğu (Henry et al., 1986; Koenig et al., 1998) ve uzun mesafelere taşınarak sistemik enfeksiyon oluşturmadığı bildirilmiştir (Torrance et al., 2011). Bununla birlikte, yürütülen bir reverse genetik çalışmasında, virüsün CP-RT bölgesinin bazı nükleotitlerinde silinme (delesyon) olmaması durumunda, *C. quinoa* bitkisinde BVQ RNA'larının uzun mesafelere taşınabildiği belirtilmiştir (Koenig et al., 1998; Crutzen et al., 2009a). Bu sebeple; bu tezdeki çalışmalarda gerek inokulum kaynağı olarak kullanılan şeker pancarı örnekleri, gerekse test bitkilerine ait örnekler BVQ CP-RT bölgesinin çoğaltılması ve ülkemize ait BVQ izolatlarının bu gen bölgesinde herhangi bir silinme olup olmadığının ortaya konulması amacıyla test edilmiştir. Bu amaçla; iki ayrı primer çifti tasarlanmıştır. Bu çalışma için, farklı BVQ izolatlarının CP-RT bölgesine ait sekans dizileri NCBI'dan indirilmiş ve bu diziler CLC Main Workbench (Versiyon 7.5.1) programında hizalanmıştır. Daha sonra, dizi üzerindeki konservatif bölgeler esas alınarak, NCBI'daki Primer3 programı ile iki ayrı primer çifti (primer 1 ve primer 5) dizayn edilmiştir. Bu primerlerin ve elde edilmesi beklenen PCR ürünlerinin pozisyonları Şekil 3.5'de, primer nükleotit dizileri ve beklenen bant büyüklükleri Tablo 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.5. BVQ'nun CP-RT bölgesinin çoğaltılması amacıyla tasarlanan primer çiftlerinin pozisyonları

Araştırmaya, Qiagen firmasına ait kit kullanılarak, tek aşamalı RT-PCR çalışmaları ile başlanılmıştır. Bu çalışmada RT-PCR reaksiyonu; 0.5 µl total RNA, 2 µl 5XPCR Buffer, 0.4 µl dNTP mix (10 mM), her bir primer çiftinden (primer 1 ve primer 5) 0.6 µl (10 µM), 0.4 µl Hot Start *Taq* DNA Polymerase enzim mix, 0.2 µl RNase inhibitör ve 5.3 µl RNase içermeyen su karışımından oluşturulmuştur (toplam hacim: 10 µl). PCR thermocycler (Bio-Rad, ABD)'da, uygulanan reaksiyon basamakları, sıcaklıklar ve döngü sayıları şu şekildedir; RT basamağı (50°C'de 30 dk ve 95°C'de 15 dk), takiben 39 döngü olacak şekilde, denaturasyon (94°C'de 30 s), her iki primer çifti için primer bağlanma (54°C'de 30s), uzama (72°C'de 2 dk) ve 1 döngü son uzama (72°C'de 7 dk). Ancak, yürütülen bu çalışma sonucunda; her iki primer çifti (primer 1 ve primer 5) ile de beklenen büyüklükte spesifik bant oluşumları gözlenmemiştir.

Daha sonra, RT-PCR çalışmalarına iki aşamalı olarak devam edilmiştir. Bu çalışmada, RT basamağı, farklı bir kitin [M-MLV Reverse Transcriptase Kiti (Invitrogen, ABD)] kullanımı ile, firmanın belirttiği protokole uyularak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; öncelikle, steril santrifuj tüpüne 1 µl RNA, 1 µl reverse primer (10 mM), 1 µl dNTP mix (10 mM) ve 9 µl RNase içermeyen su ilave edilerek karışımı sağlanmış ve bu karışım vorteks aşamasından sonra 65°C'de 5 dk su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Takiben, tüpler buz içerisinde kısa bir süre bekletilmiştir. Kısa süreli santifirüj yapıldıktan sonra, 4 µl 5X first strand buffer, 2 µl 0.1 M DTT ve 1 µl RNase inhibitör ilave edilerek, 37°C'de 2 dk bekletilmiştir. Ardından, M-MLV RT enzimi ilave edilerek 37°C'de 50 dk inkübatör içerisinde ve son olarak da 70°C'ye ayarlanan ısıtıcı blokta 15 dk süre ile inkübasyona bırakılmıştır. PCR basamağında ise, Platinum *Taq* DNA Polymerase High-Fidelity (Invitrogen, ABD) enzimi kullanılmıştır. PCR reaksiyon karışımı; 1 µl 10X High-Fidelity PCR Buffer, 0.2 µl dNTP mix (10 mM), 0.5 µl MgSO₄ (50 mM)), her bir primer çiftinden 0.2 µl, 0.04 µl Platinum *Taq* DNA Hi-Fi enzim mix, 7.36 µl RNase içermeyen su ve 0.5 µl cDNA'dan oluşturulmuştur. PCR cihazının gradient özelliğinden faydalanılarak optimum annealing (primer bağlanma) sıcaklığı belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, her iki primer çifti (primer 1 ve primer 5) ile de aynı örneğe farklı sıcaklık değerleri (50-60°C) uygulanmıştır. Amplifikasyonlar thermocycler'de, 35 döngü olacak şekilde 98°C'de 30 s başlangıç denatürasyon basamağından sonra, 98°C'de 10 s, 50-60°C'de 30 s, 72°C'de 30 s ve 1 döngü 72°C'de 7 dk ile tamamlanmıştır. Böylelikle de, her iki

primer çifti kullanılarak yürütülen çalışmalarda çoklu bant oluşumu sorunu giderilememiştir.

Ardından, aynı enzimin kullanımı ile farklı cDNA konsantrasyonları ve farklı opsiyonlar (MgSO₄ ilaveli, ilavesiz) denenmiş, ancak çoklu bant oluşumu sorunu bir türlü giderilememiştir. İlave olarak; PCR aşamasında farklı kitler [Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase kiti (Invitrogen, ABD), Biomix Red (Meridian Bioscience, ABD)] ve farklı enzimler [Phusion DNA polymerase, (Thermo Fisher Scientific, ABD), Gotaq Flexi (Promega, ABD)] de denenmesine rağmen, örneklerde oluşan çoklu bant sorunu devam etmiştir.

Bununla birlikte; birkaç örnek seçilerek sekans analizi çalışmalarının gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Sekans analizi için seçilen bu örneklerdeki spesifik olmayan bantları uzaklaştırmak amacıyla; hem primer 1 çifti ve hem de primer 5 çifti ile Platinum *Taq* DNA Polymerase High-Fidelity (Invitrogen, ABD) enziminin kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda; Primer 1 çifti için PCR reaksiyonu; 4 µl 10X High-Fidelity PCR buffer, 0.8 µl dNTP mix (10 mM), 2 µl MgSO₄ (50 mM), her bir primerden 0.8 µl (10 mM), 0.16 µl Platinum *Taq* DNA Hi-Fi enzim mix, 29.44 µl RNase-free su ve 2 µl cDNA şeklinde oluşturulmuştur (toplam hacim: 40 µl). Primer 5 çifti (primer kodları?) için ise, oluşturulan PCR reaksiyonu şu şekildedir: 4 µl 10X High-Fidelity PCR buffer, 0.8 µl dNTP mix (10 mM), 1.6 µl MgSO₄ (50 mM), ileri ve geri her bir primerden 0.8 µl (10 mM), 0.16 µl Platinum *Taq* DNA Hi-Fi enzim mix., 29.84 µl RNase-free su ve 2 µl cDNA (toplam hacim: 40 µl). Her iki primer çifti? için Thermocycler'da uygulanan reaksiyon basamakları, sıcaklıklar ve döngü sayıları ise; başlangıç denatürasyon (94°C'de 2dk) basamağını takiben, 30 döngü olacak şekilde; denatürasyon (94°C'de 15 s), her iki primer çifti için primer bağlanma (54°C'de 30 s), uzama (68°C'de 1dk) ve 1 döngü son uzama (68°C'de 7 dk) şeklinde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra; CP-RT bölgesini içeren amplifikasyon ürünleri agaroz jele yüklenmiştir.

C. Jelden PCR Ürünlerinin Ekstraksiyonu

PCR ürünlerinin jelden ekstraksiyonu PureLink Quick Gel Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific) protokolü takip edilerek üç örnekte (Primer 1 çifti için 313 no lu şekerpancarı ve *N. benthamiana*, Primer 5 çifti için ise *P. patellaris*) pürüfikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, jel üzerinde istenilen moleküler büyüklükte oluşan bantlar UV jel görüntüleme cihazı üzerinde steril bir bisturi

yardımıyla kesilip mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra, firmanın açıklamaları dikkate alınarak PCR ürünleri protokol basamakları izlenerek saflaştırılmıştır. 1.5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüplerinin ağırlığı hassas terazi ile ölçülmüştür. Sonrasında, kesilen jel parçaları mikrosantrifüj tüplerine alınarak tartımı yapılmıştır. Takiben, tüplerin darası çıkarılmış ve elde edilen miktarın üç katı kadar (1: 3 oranında) L3 buffer ilavesi yapılmış ve agarozun çözülmesi için 50°C'de 10 dk süre ile su banyosunda inkübe edilmiştir. Bu süreç içerisinde; jelin tam olarak çözüldüğünü anlamak için (karışımın renginin sarı olup olmadığı) belli aralıklarla tüpler kontrol edilmiştir. Ardından, jelin ağırlığı kadar hacimde isopropanol ilave edilerek, bu karışım koleksiyon tüpü üzerine yerleştirilen kolon içerisine aktarılmış ve daha sonra 13.000 rpm'de 1 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Tüpün dibinde toplanan sıvı faz boşaltılarak, kolon tekrar aynı tüp üzerine yerleştirilmiş ve 500 µl yıkama tampon çözeltisi I (wash buffer I) eklenerek 13.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Sonra, kolonun altında biriken sıvı dökülerek, boş kolon tekrar tüp üzerine yerleştirilmiş ve 13.000 rpm'de 1-2 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Daha sonra, kolon temiz mikrosantrifüj tüpü üzerine yerleştirilip, 40 µl elüsyon tampon çözeltisi ilave edilerek 1 dk bekletilmiştir. Ardından, tekrar 13.000 rpm'de 1 dk süre ile santrifüj edilmiş ve elde edilen PCR ürünleri sekans analizi yapılncaya kadar -20°C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

3.2.2.1. BNYVV İzolatlarının Kılıf Protein Gen Bölgesine Göre Moleküler Karakterizasyonu

Proje metninde 15 BNYVV izolatının CP gen bölgesinin moleküler karakterizasyonunun yapılacağı bildirilmiş olmasına rağmen; bu sayı arttırılarak, bu çalışma için coğrafik orjinine göre 26 BNYVV izolatı seçilmiştir (Tablo 3.9).

BNYVV izolatlarının kılıf protein bölgelerinin çoğaltılması amacıyla yürütülen çalışmalarda, iki aşamalı RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Seçilen örneklerde; Omniscript Reverse Transcription kit (Qiagen) kullanımı ile cDNA sentezini takiben Phusion High-Fidelity DNA Polymerase enzimi (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile PCR çalışması Yöntem 3.2.1.7'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.9. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein genine göre moleküler karakterizasyonu için seçilen örnekler ve orjinleri

İl	İlçe	Köy	Örnek No	Saptanan Virüs
Adapazarı	Erenler	Merkez	291	BNYVV
Afyonkarahisar	Çobanlar	Merkez	268	BNYVV
	Dinar	İshaklı	259	BNYVV
	Sandıklı	Koçhisar	252	BNYVV
Aksaray	Eskil	Eşmekaya	549	BNYVV
	Merkez	Yenikent	581	BNYVV
	Sultanhanı	Merkez	542	BNYVV
Ankara	Ayaş	Uğurçay	617	BNYVV
Bursa	Yenişehir	Çardak	148	BNYVV
Çanakkale	Susurluk	Biga	150	BNYVV
Çorum	Osmancık	Güvercinlik	68	BNYVV
Edirne	Merkez	Bosna	125	BNYVV
Elazığ	Kovancılar	Yazıbaşı	38	BNYVV
	Merkez	Yedigöze	44	BNYVV
Erzincan	Merkez	-	52	BNYVV
Eskişehir	Çifteler	Merkez	225	BNYVV
Gaziantep	İslahiye	Örtülü	27	BNYVV
Iğdır	Karakoyunlu	Taşburun	9	BNYVV
Kayseri	Merkez	Mahzemin	524	BNYVV
Konya	Çeltik	Hacıosmanoğlu	373	BNYVV
	Karapınar	Kazanhöyüğü	389	BNYVV
	Yunak	Odabaşı	364	BNYVV
Kütahya	Simav	Gümele	602	BNYVV
Samsun	Havza	Ortaklar	57	BNYVV
	Vezirköprü	Y.Narlı	61	BNYVV
Yozgat	Yenifakılı	Merkez	355	BNYVV
18	26	25	26	

Çoğaltımı sağlanan 16 BNYVV izolatına (IGR-9, ELZ-44, ERC-52, SMS-61, CRM-68, EDR-125, BRS-148, ESK-225, ADP-291, YZT-355, KNY-359, KNY-373, KYS-527, AKS-581, KTH-602 ve ANK-617) ait PCR ürünlerinden 40'ar µl ve 5 pmol konsantrasyonda hazırlanan CP gen bölgesine spesifik primer çifti ile birlikte sekans hizmeti veren firmaya (Genoks, Ankara) gönderilmiştir. Sanger Dizileme Yöntemine göre, her iki yönde elde edilen ham sekans verileri, Yöntem 3.2.1.9.'da belirtildiği şekilde yürütülen uygulamalardan sonra konsensus diziler oluşturulmuştur. Öncelikle, BNYVV izolatlarının CP gen bölgesine ait oluşturulan konsensus diziler hem kendi aralarındaki hem de dünyadaki diğer BNYVV izolatları ile genetik benzerlik ve farklılıkların incelenmesi amacıyla NCBI'daki BLASTn ve BLASTp parametreleri kullanılarak analiz edilmiştir. Sonrasında ise, Mega 7 yazılımında (Kumar et al., 2016) bulunan Tamura- Nei Modeli (Tamura and Nei, 1993)'ne göre BNYVV izolatlarının genetik uzaklıkları belirlenmiş ve ML yöntemine göre (Felsenstein, 1981) filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bootstrap değeri 1.000 olarak alınmıştır.

3.2.2.2. BNYVV İzolatlarının P25, P26 ve P31 Gen Bölgelerine Göre Moleküler Karakterizasyonu

Bu çalışmada, kılıf protein gen bölgesinde farklılık saptanan iki BNYVV izolatının (IGR-9 ve ERC-52) diğer genom segmentlerine ait gen bölgelerinin irdelenmesi yoluna gidilmiştir. Bu amaçla; BNYVV'nin patojenitesi, semptom oluşumu ve vektör *P. betae* ile taşınmasında rol oynayan bazı önemli proteinler (P25, P26 ve P31) temel alınarak, bu gen bölgeleri detaylı bir şekilde analiz edilmiştir.

A. P25 Protein Bölgesinin RT-PCR Yöntemi ile Çoğaltılması

Beet necrotic yellow vein virus'ün RNA-3 segmenti üzerinde yer alan ve virüsün patojenitesi ve semptom oluşumunda rol oynayan P25 proteinine ait gen bölgesinin çoğaltılmasında RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan F29 ve R30 primerlerine (Acosta-Leal et al., 2008) ait baz dizileri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Bu çalışmada, RT-PCR çalışmaları iki aşamalı olarak yürütülmüştür. Yöntem 3.2.1.7'de belirtildiği şekilde yapılan cDNA sentezini takiben, yürütülen PCR aşamasında Q5 High-Fidelity DNA Polymerase enzimi (Thermo Fisher Scientific; ABD) kullanılmıştır. Bu basamakta; 10 µl Q5 Tampon, 1 µl dNTP mix (10 mM), her bir primerden 2.5 µl (10 µM), 0.5 µl enzim, 31 µl RNase içermeyen su ve 2.5 µl cDNA ile PCR karışımı oluşturulmuştur. Thermocycler'da amplifikasyonlar ise; 98°C'de 30 s, ardından 25 döngü olacak şekilde 98°C'de 10 s, 54°C'de 30 s, 72°C'de 45 s ve sonrasında 72°C'de 2 dk'lık bir döngü ile tamamlanmıştır.

B. P31 Protein Bölgesinin RT-PCR Yöntemi ile Çoğaltılması

Beet necrotic yellow vein virus'ün RNA-4 segmenti tarafından sentezlenen ve virüsün vektör *P. betae* tarafından taşınmasında rol oynayan P31 proteininin çoğaltılmasında tek basamaklı RT-PCR [Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum Taq DNA Polymerase kiti (Invitrogen, ABD)] yöntemi uygulanmış olup çalışmada kullanılan RT4F ve RT4R primerleri (Chiba et al., 2011) ile ilgili bilgiler Tablo 3. 2'de gösterilmiştir. RT-PCR çalışmasında; 20 µl 2X Reaction buffer, ileri ve geri primerden 0.8 µl (10 µM), 0.8 µl RT/Platinum Taq mix, 0.4 µl MgSO₄ (50 Mm), 14.8 µl RNase-free su ve 2.4 µl RNA ilavesi ile reaksiyon karışımı oluşturulmuştur (toplam hacim: 40 µl). Thermocycler'da, uygulanan basamaklar, sıcaklıklar ve döngü sayıları ise şu şekildedir: RT basamağı (50°C'de 30 dk), ilk denatürasyon (94°C'de 2

dk), 29 döngü olacak şekilde denaturasyon (94°C’de 30 s), primer bağlanma (53°C’de 30 s), uzama (68°C’de 90 s) ve 1 döngü son uzama (68°C’de 5 dk).

C. P26 Protein Bölgesinin RT-PCR Yöntemi ile Çoğaltılması

Virüsün RNA-5 segmenti üzerinde yer alan ve BNYVV’nin ikinci patojenite faktörü olarak bilinen P26 genine ait bölgenin araştırılmasında tek aşamalı RT-PCR yöntemi uygulanmıştır. Bu çalışmada kullanılan Rhizo 5F ve Rhizo 5R primerlerinin (Schirmer et al., 2005) nükleotit dizileri Tablo 3.2’de verilmiştir. RT-PCR çalışması, Superscript III One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase kit (Invitrogen, ABD) kullanımı ile firmanın önerileri takip edilerek uygulanmıştır. PCR reaksiyonu; 25 µl 2XReaction buffer, her bir primerden 1 µl (10 µM), 2 µl Superscript III RT/Platinum *Taq* DNA Mix, 18.5 µl RNase içermeyen su ve 2.5 µl RNA’dan oluşturulmuştur (Toplam hacim: 50 µl). Thermocycler’da uygulanan basamaklar, sıcaklıklar ve döngü sayıları ise şu şekilde gerçekleştirilmiştir: RT basamağı (55°C’de 30 dk), ilk denaturasyon (94°C’de 2 dk), 40 döngü olacak şekilde denaturasyon (94°C’de 15 s), primer bağlanma (59°C’de 30 s), uzama (68°C’de 1 dk) ve 1 döngü son uzama (68°C’de 5 dk).

D. BNYVV İzolatlarının P25, P26 ve P31 Protein Bölgelerinin Nükleotit Dizilerinin Elde Edilmesi ve Filogenetik Analizi

İki BNYVV izolatına ait (IGR-9 ve ERC-52) çoğaltımı sağlanan P25, P26 ve P31 gen bölgelerinin PCR ürünlerinden 40’ar µl, önerilen konsantrasyonda hazırlanan (5 pmol) primerler ile birlikte sekans hizmeti veren firmaya (Genoks) gönderilmiştir. Takiben, elde edilen sekans verileri Yöntem 3.2.1.9.’da belirtildiği şekilde analiz edilmiş, ve sonrasında her bir gen bölgesi için ML yöntemi kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

3.2.2.3. BNYVV İzolatlarının Konukçu Çevresinin Belirlenmesine Yönelik Biyolojik ve Serolojik Çalışmalar

Bu çalışmada, şansa bağlı olarak seçilen BNYVV izolatının (KNY-359) farklı familyalara ait konukçu bitki türlerinde (Tablo 3.1) oluşturduğu belirtilen semptomlar incelenmiştir. Çalışma için, öncelikle Yöntem 3.2.1.10’da belirtildiği şekilde test bitkileri yetiştirilmiş ve ardından aynı yöntemde belirtilen uygulamalar gerçekleştirilerek BNYV izolatının bu bitkilere aktarımı sağlanmıştır. Virüs inokulasyonunu takiben iklim odası koşullarında bir ay süre ile bu bitkiler yetiştirilmiş

ve oluşan belirtiler gözlenmiş ve kayıt edilmiştir. Daha sonra, simptom gösteren ya da göstermeyen test bitkilerinin tamamının, virüs-inokule edilen ve -edilmeyen üst yapraklarından örnekleme yapılmış ve bu örnekler ELISA testi çalışmaları yapılınca kadar kısa bir süre -80°C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Virüs inokulasyonu yapılan test bitkilerinde BNYVV'nin varlığı Double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) yöntemi ile araştırılmıştır. Yöntem; Clark and Adams (1977) ve antiserumun temin edildiği firmanın (Bioreba, İsviçre) önerileri temel alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; kaplama tampon çözeltisi içerisinde (Ek 2) 1: 1000 oranında sulandırılarak hazırlanan antiserumdan mikroplyt çukurlarının her birine 100'er µl ilave edilmiş ve 30°C'de 4 saat süre ile inkübe edilmiştir. Ardından, bu pleytler 3'er dakikalık süre ile üç defa yıkama tampon solüsyonu (Ek 2) ile yıkanmıştır. Takiben, yaprak örnekleri 1: 10 oranında (1 g yaprak: 9 ml örnek tampon çözeltisi) örnek tampon solüsyonu eklenen porselen havan içerisinde ezilerek, her bir çukura 100 µl ilave edilmiştir. Ayrıca, bu testlemelerde pozitif (BNYVV ile enfekteli) ve negatif (sağlıklı bitki örneği) kontroller de yer almıştır. Çalışmada, her bir örnek iki çukurda test edilmiştir. Örnekler bir gece boyunca +4°C'deki buzdolabında bekletildikten sonra, bu mikroplytler en az dört defa yıkama tampon solüsyonu ile yıkanmıştır. Daha sonra, konjugat tampon çözeltisinde (Ek 2) 1: 1000 oranında seyreltilen konjugat'tan her bir çukura 100 µl konularak 30°C sıcaklığa ayarlı inkübatörde beş saat süre ile tutulmuştur. Bu sürecin ardından, mikroplyt çukurlarının 3 defa yıkama tampon solüsyonu ile yıkanması yapılarak, hazırlanan substrat tampon çözeltisine (Ek 2) 1 mg/ml olacak şekilde substrat (p-nitrofenil fosfat, Sigma) ilave edilmiş ve her bir kuyuya 100 µl eklenmiştir. Daha sonra ise, mikroplytler karanlıkta, oda sıcaklığında yaklaşık iki saat süre ile bekletilerek, kuyulardaki renk değişimleri izlenmiştir.

ELISA okuyucusunda (Tecan Spectra II) 405 nm dalga boyunda substrat ilavesini takiben bir saat sonra ilk okuma ve iki saat sonra ise ikinci okuma alınmasıyla ELISA absorbans değerlerine ait sonuçlar elde edilmiştir. Sağlıklı (negatif) kontrollerin absorbans değerinin iki katı ve daha fazla değer gösteren örnekler, pozitif olarak kabul edilmiştir (Mouhanna et al., 2002).

3.2.3. Beet soil-borne virus (BSBV) Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

3.2.3.1. BSBV İzolatlarının Kılıf Protein Gen Bölgesine Göre Moleküler Karakterizasyonu

Proje metninde belirtilen örnek sayısı 15 olmasına rağmen; bu çalışma için 23 adet BSBV izolatu coğrafik orjinine göre seçilmiştir (Tablo 3.10).



Tablo 3.10. Beet soil-borne virus (BSBV) izolatlarının kılıf protein genine göre moleküler karakterizasyonu çalışması için seçilen örneklerin numaraları ve orjinleri

İl	İlçe	Köy	Örnek No	Saptanan Virüs
Adapazarı	Erenler	Merkez	291	BSBV
Afyonkarahisar	Dinar	İshaklı	259	BSBV
Aksaray	Merkez	Yenikent	581	BSBV
Ankara	Ayaş	Uğurçay	617	BSBV
	Türbealtı	Merkez	625	BSBV
Amasya	Taşova	Elmakırı	75	BSBV
Bursa	Yenişehir	Çardak	148	BSBV
Çanakkale	Susurluk	Biga	150	BSBV
Çorum	Osmancık	Güvercinlik	68	BSBV
	Sungurlu	Çavuşoğlu	63	BSBV
Edirne	Merkez	Bosna	125	BSBV
Elazığ	Kovancılar	Yazıbaşı	38	BSBV
	Merkez	Yedigöze	44	BSBV
Erzincan	Merkez	-	52	BSBV
Eskişehir	Çifteler	Merkez	225	BSBV
Gaziantep	İslahiye	Örtülü	27	BSBV
Iğdır	Karakoyunlu	Taşburun	9	BSBV
Kastamonu	Taşköprü	Aşağıçayırıcık	281	BSBV
Kayseri	Merkez	Mahzemin	527	BSBV
Konya	Çeltik	Hacıosmanoğlu	373	BSBV
Kütahya	Simav	Gümele	602	BSBV
Samsun	Havza	Ortaklar	57	BSBV
Yozgat	Yenifakılı	Merkez	355	BSBV
20	23	22	23	

BSBV izolatlarının CP bölgesinin çoğaltılması amacıyla; iki aşamalı RT-PCR yöntemi uygulanmıştır. Bu uygulama Yöntem 3.2.1.7.'de belirtildiği şekilde yürütülmüştür

Çoğaltımı sağlanan 10 BSBV (IGR-9S, ELZ-38S, EDR-125S, BRS-148S, ESK-225S, AFY-259S, YZT-355S, KNY-373S, ANK-617S, ANK-625S) izolatına ait PCR ürünlerinden 40'ar µl, önerilen konsantrasyonda (5 pmol) hazırlanan BSBV CP genine özgü primerler ile birlikte sekans hizmeti veren firmaya (Genoks, Ankara) gönderilmiştir. Sanger Dizileme Yöntemine göre, ileri ve geri PCR primerleri kullanılarak elde edilen BSBV izolatlarının ham sekans sonuçları MEGA 7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) ve/ya da Codon Code Aligner programında (Kumar et al., 2016) Clustal W (Thompson et al., 1994) yöntemi kullanılarak hizalanmıştır. Daha sonra, her iki yönde okumaya ait sekans verilerinin konsensus dizileri elde edilmiştir.

Öncelikle, BSBV izolatlarının CP gen bölgesine ait oluşturulan konsensus diziler hem kendi aralarındaki, hem de dünyadaki diğer BSBV izolatları ile genetik benzerlik ve farklılıkların incelenmesi amacıyla NCBI'daki BLASTn ve BLASTp

algoritmaları kullanılarak analiz edilmiştir. Sonrasında ise, Mega 7 yazılımında (Kumar et al., 2016) bulunan Tamura-Nei Modeli (Tamura and Nei, 1993)'ne göre BSBV izolatlarının genetik uzaklıkları belirlenmiş ve ML yöntemine göre (Felsenstein, 1981) filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bootstrap değeri 1.000 olarak alınmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Bu doktora tez çalışmasında elde edilen bulgular; vektör protozoa *Polymyxa betae* tarafından taşınan başlıca toprak kökenli virüsler [Beet virus Q (BVQ), Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) ve Beet soil-borne virus (BSBV)] temel alınarak üç ana başlık altında sunulmuştur.

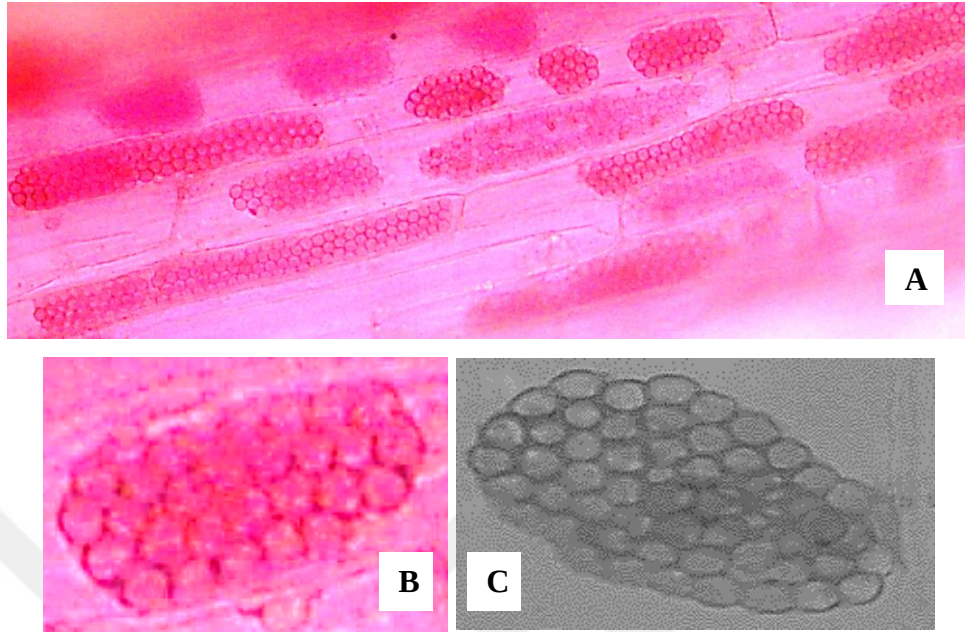
4.1.1. Beet virus Q Üzerinde Yürütülen Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

4.1.1.1 Türkiye Şeker Pancarı Üretim Alanlarında BVQ'nun Bulunma Durumu ve Yaygınlığının Belirlenmesi

Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında, protozoa vektör *P. betae* tarafından taşınan rhizomania hastalığının etmeni olan BNYVV ve BSBV'nin varlığı uzun süreden beri bilinmekle birlikte (Koch, 1987; Meunier et al., 2003), aynı vektör tarafından taşınan bir diğer toprak kökenli virüs türü olan BVQ'nun ülkemiz pancar alanlarında mevcut olduğuna dair bir kayıt bulunmamakta idi. Bu sebeple, bu tez çalışmasında öncelikle Türkiye'nin majör pancar üretim alanlarında BVQ'nun bulunup bulunmama durumunun net olarak ortaya konulması yoluna gidilmiştir. Nitekim; bu konu ile ilgili yürütülen çalışmalarda elde edilen bulgular, BVQ'nun şeker pancarında genellikle BNYVV ve/ya da BSBV ile ortak enfeksiyon oluşturduğunu göstermektedir (Meinuer et al., 2003; Rubies Autonell et al., 2006). Bu sebeple, pancar ekim alanlarında BVQ'nun varlığının araştırılmasında; daha önce yürütülen bir çalışma ile (Kutluk Yılmaz vd., 2016a), 31 ilden elde edilen toprak örnekleri içerisinden coğrafik orjinlerine göre, BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık 82 ve sadece vektör *P. betae* ile bulaşık olan 21 adet olmak üzere toplam 103 toprak örneği seçilmiştir. Seçimi yapılan bu örneklerde, BNYVV'ye hassas şeker pancarları (cv. Kasandra) tuzak bitki testi tekniğine göre altı hafta süre ile yetiştirilmiştir (Şekil 3.2).

Hasat öncesi, herbir saksıdaki bitkilere ait makroskobik gözlemler kayıt edilmiş, hasat sonrası ise kök rengi makroskobik olarak, kök ve bitki ağırlıkları ise hassas terazi yardımı ile belirlenmiştir. Takiben, her bir örnekte kök boyaması çalışmaları ile ışık mikroskobu altında tuzak bitkilerin kılcal köklerinde vektör *P. betae*'nin dinlenme spor yapıları (sistosori) araştırılmıştır. Böylelikle, incelenen örneklerin tamamında bal

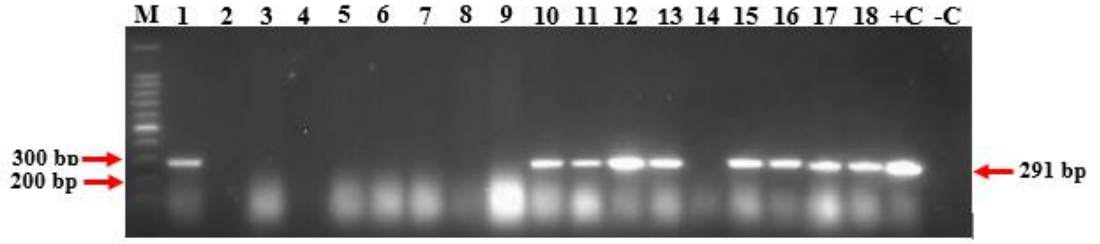
peteği şeklinde oluşan dinlenme spor yapılarının varlığı mikroskopik olarak teyit edilmiştir (Şekil 4. 1).



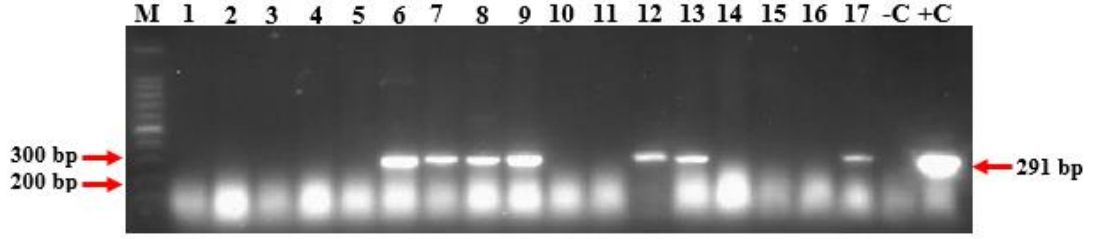
Şekil 4.1. Tuzak bitki yöntemine göre yetiştirilen şeker pancarı bitkilerinin köklerinde belirlenen *Polymyxa betae*'ya ait bal peteği şeklindeki dinlenme spor yapılarının görünümü (A, B ve C)

Daha sonra, şeker pancarı köklerinden toplam RNA'lar izole edilmiş ve BVQ'nun genom segmentlerinden RNA-1'e spesifik primerler kullanılarak Yöntem 3.2.1.5'de belirtildiği şekilde RT-PCR yöntemi ile örnekler analiz edilmiştir. Ancak, çalışmanın başlangıç aşamasında; RT-PCR'ın optimizasyonunda bazı problemler yaşanmış (non-spesifik multiple bant oluşumu gibi) ve bu sebeple farklı kitler (Superscript III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq DNA Polymerase kiti-Invitrogen veya One-step RT-PCR kiti-Qiagen), farklı RNA miktarları, farklı primer bağlanma sıcaklıkları (40°C -56°C) ve cDNA konsantrasyonları denenmiştir. Sonuç olarak, en iyi veriler One step RT-PCR kiti (Qiagen, Almanya) kullanımı ile elde edilmiş ve çalışmalara bu kitin kullanımı ile devam edilmiştir.

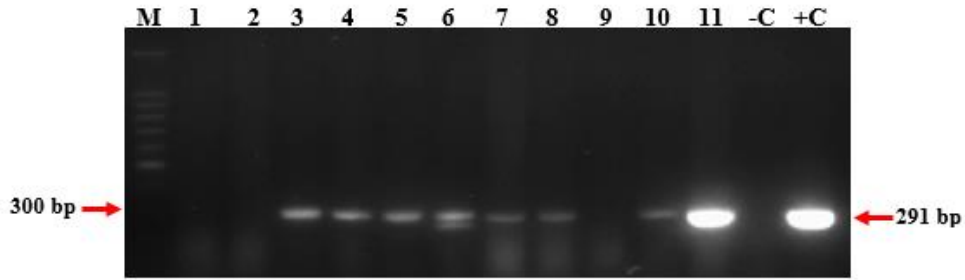
Bu çalışmada, öncelikle BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık 82 örnekte gerçekleştirilen RT-PCR testlemeleri sonucunda; incelenen örneklerin 73'ünde (%89) BVQ için beklenen büyüklükte (291 bp) bant elde edilmiştir (Şekil 4. 2- Şekil 4.9).



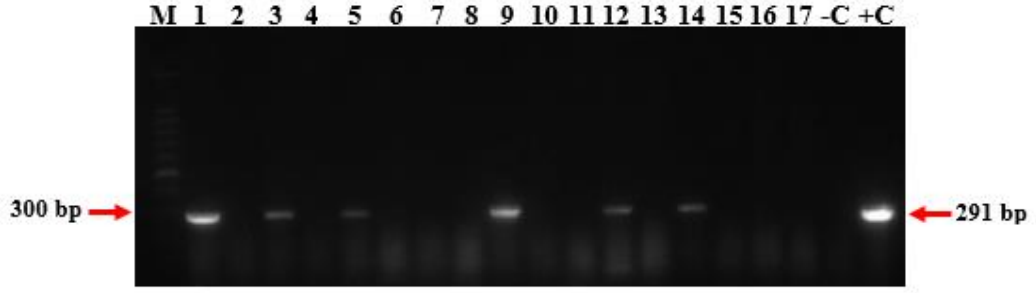
Şekil 4.2. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 74 no'lu izolat-Çankırı, 2: 75 no'lu izolat-Amasya, 3: 91 no'lu izolat-Amasya, 4: 99 no'lu izolat-Tokat, 5: 104 no'lu izolat-Tokat, 6: 148 no'lu izolat-Bursa, 7: 119 no'lu izolat-Tokat, 8: 136 no'lu izolat-Kırklareli, 9: 150 no'lu izolat-Çanakkale, 10: 141 no'lu izolat-Bursa, 11: 108 no'lu izolat-Tokat, 12: 164 no'lu izolat-Burdur, 13: 168 no'lu izolat-Burdur, 14: 175 no'lu izolat-Niğde, 15: 190- no'lu izolat-Ankara, 16: 202 no'lu izolat-Eskişehir, 17: 210 no'lu izolat-Eskişehir, 18: 215 no'lu izolat-Eskişehir) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte- Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



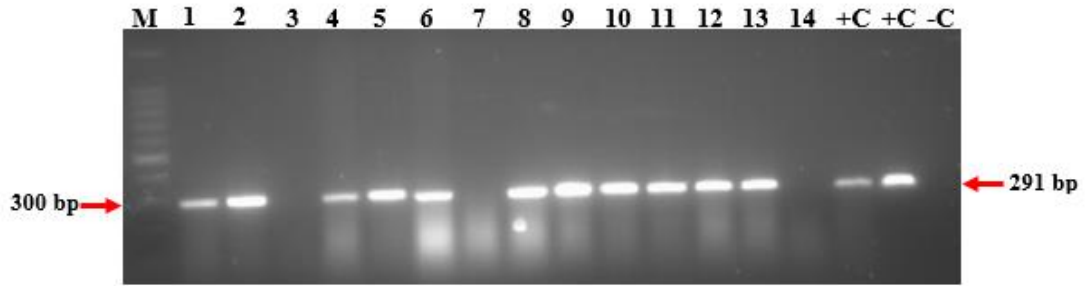
Şekil 4.3. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 218 no'lu izolat-Eskişehir, 2: 225 no'lu izolat-Eskişehir, 3: 229- no'lu izolat-Kütahya, 4: 252 no'lu izolat-Afyon, 5: 259 no'lu izolat-Afyon, 6: 268 no'lu izolat-Afyon, 7: 275 no'lu izolat-Afyon, 8: 277 no'lu izolat-Kastamonu, 9: 281 no'lu izolat-Kastamonu, 10: 291 no'lu izolat-Adapazarı, 11: 222 no'lu izolat-Eskişehir, 12: 312 no'lu izolat-Yozgat, 13: 332 no'lu izolat-Yozgat, 14: 341 no'lu izolat-Yozgat, 15: 347 no'lu izolat-Yozgat, 16: 355 no'lu izolat-Yozgat, 17: 139 no'lu izolat-Kırıkkale) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA]]



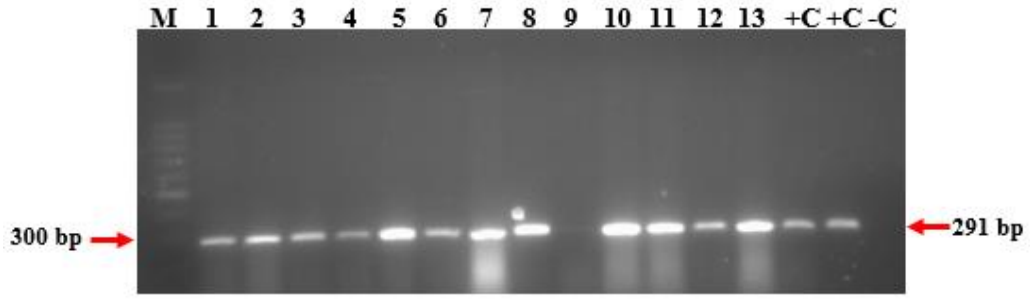
Şekil 4.4. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 600 no'lu izolat-Denizli, 2: 602 no'lu izolat-Kütahya, 3: 606 no'lu izolat-Kırıkkale, 4: 617 no'lu izolat-Ankara, 5: 625 no'lu izolat-Ankara, 6: 629- no'lu izolat-Ankara, 7: 124 no'lu izolat-Edirne, 8: 134 no'lu izolat-Kırklareli, 9: 581 no'lu izolat-Aksaray, 10: 589 no'lu izolat-Uşak, 11: 594 no'lu izolat-Kırıkkale) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA]]



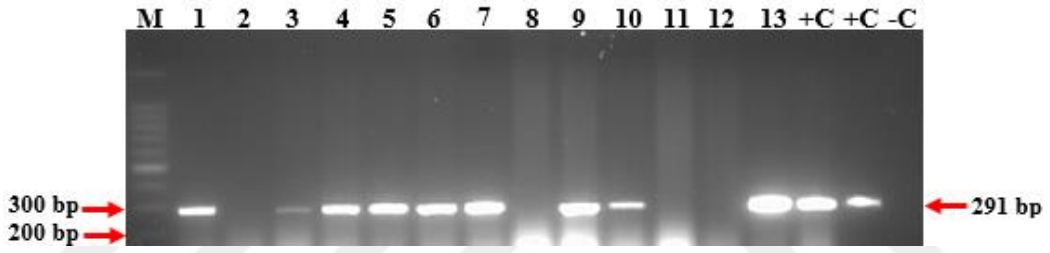
Şekil 4.5. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 373 no'lu izolat-Konya, 2: 389 no'lu izolat-Konya, 3: 419 no'lu izolat-Konya, 4: 424 no'lu izolat-Konya, 5: 431 no'lu izolat-Konya, 6: 440 no'lu izolat-Konya, 7: 446 no'lu izolat-Konya, 8: 486 no'lu izolat-Kırşehir, 9: 490 no'lu izolat-Kırşehir, 10: 449 no'lu izolat-Konya, 11: (493 no'lu izolat- Mucur-Kırşehir, 12: (524 no'lu izolat-Kayseri), 13: (527 no'lu izolat -Kayseri, 14: 542 no'lu izolat-Aksaray, 15: 549 no'lu izolat-Aksaray, 16: 359 no'lu izolat-Konya, 17: 364 no'lu izolat-Konya illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



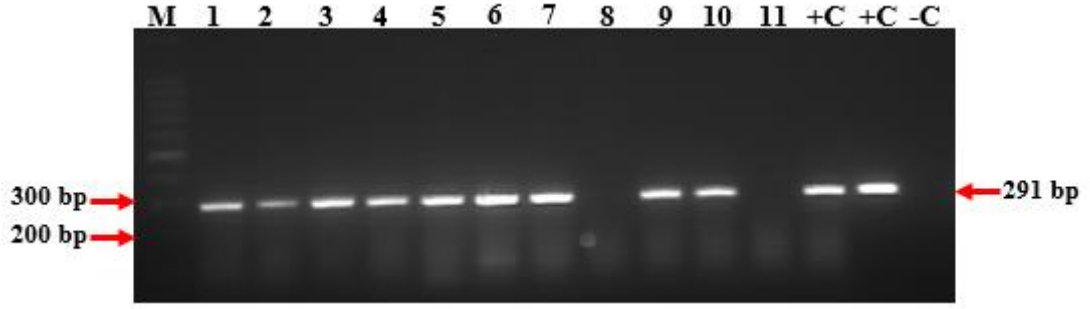
Şekil 4.6. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: (3 no'lu izolat-Iğdır), 2: (9 no'lu izolat-Iğdır), 3: (27 no'lu izolat-G. Antep), 4: (38 no'lu izolat- Elazığ), 5: (44 no'lu izolat-Elazığ), 6: (47 no'lu izolat-Erzincan), 7: (54 no'lu izolat-Samsun), 8: (61 no'lu izolat -amsun), 9: (63 no'lu izolat-Çorum), 10: (64 no'lu izolat-Çorum), 11: (68 no'lu izolat-Çorum), 12: (75 no'lu izolat-Amasya), 13: (91 no'lu izolat-Amasya), 14: (4 no'lu izolat-Iğdır) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



Şekil 4.7. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: (99- Erbaa- Tokat), 2: 104 no'lu izolat-Tokat, 3: 119 no'lu izolat-Tokat, 4: 125 no'lu izolat-Edirne, 5: 132- no'lu izolat-Edirne, 6: 133(1) no'lu izolat-Edirne, 7: 133(2) no'lu izolat-Edirne, 8: 136 no'lu izolat-Kırklareli, 9: 148 no'lu izolat-Bursa, 10: 150 no'lu izolat-Çanakkale, 11: 158 no'lu izolat-Tekirdağ, 12: 175 no'lu izolat-Niğde, 13: 218 no'lu izolat-Eskişehir) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol (Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

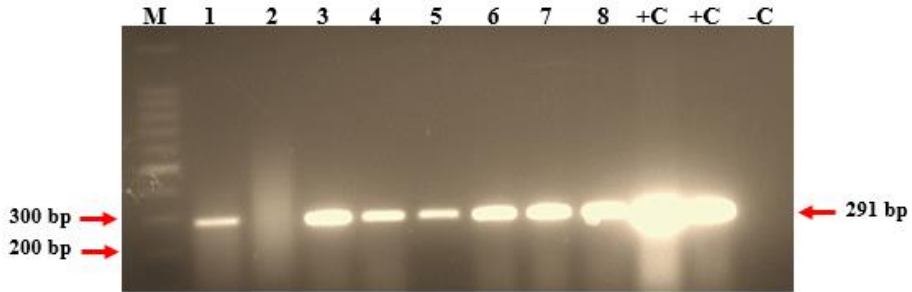


Şekil 4.8. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 222 no'lu izolat-Eskişehir, 2: 225 no'lu izolat-Eskişehir, 3: 229 no'lu izolat-Kütahya, 4: 602 no'lu izolat-Kütahya, 5: 252 no'lu izolat-Afyon, 6: 259 no'lu izolat-Afyon, 7: 291 no'lu izolat-Adapazarı, 8: 341 no'lu izolat-Yozgat, 9: 347 no'lu izolat-Yozgat, 10: 355 no'lu izolat-Yozgat, 11: 359 no'lu izolat-Konya, 12: 364 no'lu izolat-Konya, 13: 373 no'lu izolat-Konya) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol (Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

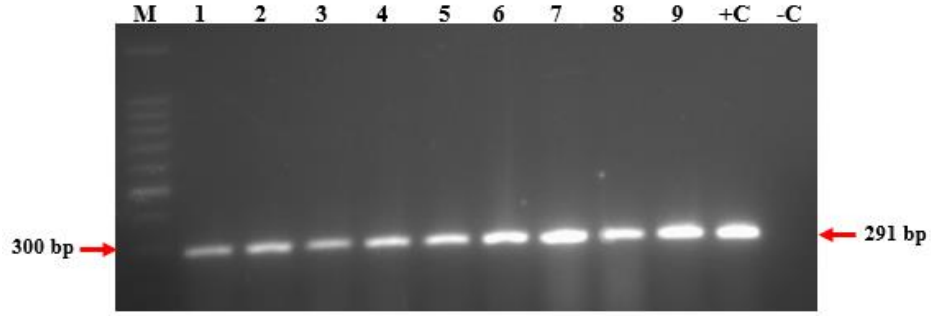


Şekil 4.9. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 389 no'lu izolat-Konya, 2: 424 no'lu izolat-Konya, 3: 440 no'lu izolat-Konya, 4: 446 no'lu izolat-Konya, 5: 449 no'lu izolat-Konya, 6: 486 no'lu izolat-Kırşehir, 7: 493 no'lu izolat-Kırşehir, 8: 527 no'lu izolat-Kayseri, 9: 549 no'lu izolat-Aksaray, 10: 581 no'lu izolat-Aksaray, 11: 600 no'lu izolat-Denizli] illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)], - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)

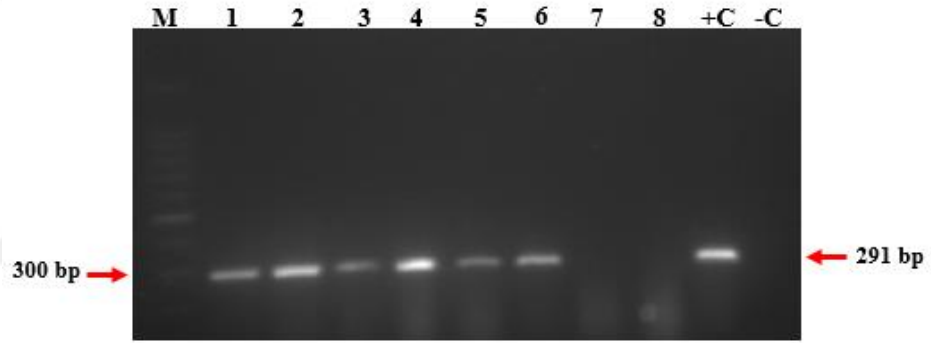
Daha sonra, BVQ'nun araştırılması amacıyla yürütülen RT-PCR çalışmalarına sadece vektör *P. betae* ile bulaşık 21 örnekte devam edilmiştir. Bu çalışma sonucunda; enteresan bir şekilde, incelenen 21 örneğin 19'unda (%90.5) BVQ enfeksiyonu belirlenmiştir (Şekil 4. 10- Şekil 4.12) (Tablo 4. 1).



Şekil 4.10. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1-2-3: 205 no'lu izolat (1, 1.5, 0.5 RNA ilaveli)-Eskişehir, 4: 330 no'lu izolat-Yozgat, 5: 171 no'lu izolat-Denizli, 6: 10 no'lu izolat-Erzincan, 7: 618 no'lu izolat-Ankara, 8: 544 no'lu izolat-Aksaray] illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



Şekil 4.11. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 313 no'lu izolat-Yozgat, 2: 128 no'lu izolat-Edirne, 3: 503 no'lu izolat-Kayseri, 4: 135 no'lu izolat-Kırklareli, 5: 443 no'lu izolat-Konya, 6: 160 no'lu izolat-Burdur, 7: 250 no'lu izolat-Afyonkarahisar, 8: 57 no'lu izolat-Samsun, 9: 52 no'lu izolat-Erzincan) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, + C: Pozitif kontrol [Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)], - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



Şekil 4.12. BVQ'nun RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 147 no'lu izolat-Bursa, 2: 485 no'lu izolat-Kırşehir, 3: 233 no'lu izolat-Kütahya, 4: 297 no'lu izolat-Sakarya, 5: 18 no'lu izolat-Kahramanmaraş, 6: 367 no'lu izolat-Konya, 7: 260 no'lu izolat-Afyonkarahisar, 8: 284 no'lu izolat-Kastamonu) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), + C: Pozitif kontrol Maleves-Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

Tablo 4.1. Vektör *Polymyxa betae* ile bulaşık toprak örneklerinden elde edilen şeker pancarı örneklerinde Beet virus Q'nun illere göre bulunma durumu

İl	İlçe	Örnek No	<i>P. betae</i>	RT-PCR BVQ
Adapazari	Centrum	297	+	+
Aksaray	Eskil	544	+	+
Afyonkarahisar	Sandıklı	250	+	+
	Dinar	260	+	-
Ankara	Bala	618	+	+
Burdur	Yeşilova	160	+	+
Bursa	Yenişehir	147	+	+
Denizli	Acıpayam	171	+	+
Edirne	Uzunköprü	128	+	+
Erzincan	Tercan	10	+	+
Eskisehir	Sivrihisar	205	+	+
Kahramanmaraş	Afşin	18	+	+
Kastamonu	Taşkopru	284	+	-
Kayseri	Bünyan	503	+	+
Kırklareli	Pehlivan köyü	135	+	+
Kırşehir	Kaman	485	+	+
Konya	Çeltik	367	+	+
	Altınekin	443	+	+
Kütahya	Aslanapa	233	+	+
Yozgat	Akdağ madeni	313	+	+
	Sarıkaya	330	+	+
Toplam	21	21	21	19

RT-PCR ve kök boyaması çalışmaları sonuçlarına göre; 31 ile ait şeker pancarı üretim alanlarında BVQ ile *P. betae*'nin bulunma durumları ile tuzak bitki testi yöntemine göre yetiştirilen bitkilere ait ortalama bitki ve kök ağırlıkları (g), kök rengi ve bu bitkilerde kayıt edilen makraskobik gözlemler Tablo 4. 2'de verilmiştir. Bu tablo incelendiğinde; 103 farklı alandan alınan topraklarda yetiştirilen şeker pancarı bitkilerinin kök renginin açık kahverenginden koyu kahverengiye kadar değiştiği, tuzak bitkilerde en sıklıkla saptanan semptomların ise kloroz ve kök çürüklüğü şeklinde olduğu görülmüştür. Bu bitkilerde kayıt edilen ortalama bitki ağırlıkları 0.13 g ile 6.980 g arasında değişirken, ortalama kök ağırlıkları ise 0.003 g ile 4.404 g arasında geniş bir dağılım göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada; 103 örnekte gerçekleştirilen RT-PCR testlemeleri ile; BNYVV ve/ ya da BSBV ile bulaşık 82 örnekten 73'ünde, sadece vektör *P. betae* ile bulaşık 21 örnekten ise 19'unda BVQ enfeksiyonunun varlığı ortaya konulmuştur (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında BVQ ve vektör *P. betae*'nın bulunma durumu ile tuzak bitki testi yöntemi ile yetiştirilen bitkilere ait genel bilgiler

İl	İlçe***	Köy	Örnek No	Bitki ağırlığı (g)	Kök ağırlığı (g)	Kök rengi*	Makroskobik gözlem**	Bulunma durumu	
								<i>P. betae</i> (mikroskopik)	BVQ**** (RT-PCR)
Adapazarı	Erenler	Merkez	291	3.614	0.285	K	N	+	+
	Merkez	Kömürlük	297	4.420	4.404	KK	K	+	+
Toplam	2	2	2					2	2
Afyonkarahisar	Çobanlar	Merkez	268	1.867	0.329	K	K, KÇ	+	+
	Dinar	İshaklı	259	0.922	0.108	K	KÇ	+	+
	Dinar	Yapağılı	260	3.145	0.292	AK	N	+	-
	Emirdağı	Sığırcık	275	5.385	0.937	KK	KÇ, DB, K	+	+
	Sandıklı	Merkez	250	3.005	0.565	AK	K,C	+	+
	Sandıklı	Koçhisar	252	2.759	0.361	K	K, FB	+	+
Toplam	4	6	6					6	5
Aksaray	Eskil	Eşmekeya	544	2.247	0.494	K	C, KÇ, K	+	+
	Eskil	Eşmekaya	549	2.978	0.624	AK	K	+	+
	Merkez	Yenikent	581	4.488	0.548	K	K	+	+
	Sultanhanı	Merkez	542	3.171	0.492	AK	K, D	+	+
Toplam	3	3	4					4	4
Ankara	Ayaş	Uğurçay	617	2.671	0.358	K	KÇ, K, C	+	+
	Bala	Merkez	618	3.501	0.420	AK	K	+	+
	Çubuk	Güldartı	629	1.442	0.313	K	K, KÇ	+	+
	Temelli	Bacıköy	190	5.443	0.712	K	K	+	+
	Türbealtı	Merkez	625	1.898	0.422	AK	K, C	+	+
Toplam	5	5	5					5	5
Amasya	Göynücek	Ilısu	91	3.688	0.424	AK	N	+	+
	Taşova	Elmakırı	75	1.964	0.241	K	KÇ, K	+	+
Toplam	2	2	2					2	2
Burdur	Gölhisar	Hisarardı	164	3.813	0.606	K	K	+	+
	Merkez	-	168	3.460	0.397	AK	K, KÇ	+	+
	Yeşilova	Çaltepe	160	3.190	0.633	AK	KÇ, C	+	+
Toplam	3	2	3					3	3
Bursa	M.Kemalpaşa	Azatlı	141	1.643	0.166	AK	K, FB	+	+
	Yenişehir	Yenişehir	147	5,390	0,735	AK	N	+	+
	Yenişehir	Çardak	148	2.046	0.353	AK	K	+	+
Toplam	2	3	3					3	3

Tablo 4.2. (Devam)

İl	İlçe	Köy	Örnek No	Bitki ağırlığı (g)	Kök ağırlığı (g)	Kök rengi*	Makroskopik gözlem**	Bulunma durumu	
								<i>P. betae</i> (mikroskopik)	BVQ *** (RT-PCR)
Çanakkale	Susurluk	Biga	150	1.404	0.190	K	KÇ, K, C	+	+
Toplam	1	1	1					1	1
Çankırı	Kızılırmak	Kıyıkavurgalı	74	2.473	0.477	AK	K, C	+	+
Toplam	1	1	1					1	1
Çorum	Laçın	Çamlıca	64	4.356	1.273	K	N	+	+
	Osmancık	Güvercinlik	68	3.574	0.755	K	K	+	+
	Sungurlu	Çavuşoğlu	63	2.889	0.574	AK	K	+	+
Toplam	3	3	3					3	3
Denizli	Acıpayam	Merkez	171	3.663	0.400	AK	C, K	+	+
	Çivril	Beydilli	600	1.430	0.306	K	K, KÇ	+	-
Toplam	2	2	2					2	1
Edirne	Keşan-İpsala	İbriktepe	133(1)	1.772	0.188	K	C, K	+	+
	İpsala	İbriktepe	133(2)	1.524	0.193	AK	K	+	+
	İpsala	Balacancık	132	1.380	0.289	K	KÇ, K, C	+	+
	Merkez	Karaağaç	124	1.599	0.275	KK	K, KÇ, C	+	+
	Merkez	Bosna	125	1.116	0.227	K	KÇ, K	+	+
	Uzunköprü	Merkez	128	4.040	0.238	AK	N	+	+
Toplam	3	5	6					6	6
Elazığ	Kovancılar	Yazıbaşı	38	2.954	0.485	AK	K, K	+	+
	Merkez	Yedigöze	44	1.837	0.330	K	K, C	+	+
Toplam	2	2	2					2	2
Erzincan	Merkez	-	47	2.066	0.358	K	KÇ	+	+
	Merkez	-	52	1.642	0.331	K	K, C	+	+
	Tercan	Gözeler	10	3.815	0.637	AK	C, K	+	+
Toplam	2	1	3					3	3
Eskişehir	Alpu	Merkez	215	3.929	0.703	K	K	+	+
	Alpu	Osmaniye	218	4.906	0.691	K	K	+	+
	Beylikova	Akköprü	222	3.164	0.204	K	K	+	+
	Çifteler	Merkez	225	3.010	0.180	K	N	+	-
	Karhöyük	Merkez	210	1.776	0.101	AK	KÇ	+	+
	Sivrihisar	İlören	202	4.055	0.517	AK	KÇ, K, C	+	+
	Sivrihisar	Ahrözü	205	2.207	0.408	AK	N	+	+
Toplam	5	5	7					7	6

Tablo 4.2. (Devam)

İl	İlçe	Köy	Örnek No	Bitki ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Kök rengi*	Makroskopik gözlem**	Bulunma durumu	
								<i>P. betae</i> (mikroskopik)	BVQ (RT-PCR)
Gaziantep	İslahiye	Örtülü	27	6.980	1.900	AK	K	+	-
Toplam	1	1	1					1	0
Iğdır	Karakoyunlu	Gacer	4	3.160	0.300	AK	K	+	-
	Karakoyunlu	Taşburun	9	3.320	0.812	K	KÇ, K, C	+	+
	Merkez	Enginalan	3	3.726	0.752	K	K, KÇ	+	+
Toplam	2	3	3					3	2
K.Maraş	Afşin	Çoğulhan	18	0.494	0.105	AK	N	+	+
Toplam	1	1	1					1	1
Kastamonu	Taşköprü	Ethem	277	2.196	0.230	K	K	+	+
	Taşköprü	A.çayırcık	281	4.957	0.890	KK	K, KÇ	+	+
	Taşköprü	Alatarla	284	4.260	0.477	KK	YKB	+	-
Toplam	1	3	3					3	2
Kayseri	Bünyan	Merkez	503	3.387	0.449	AK	K, KV, C	+	+
	Merkez	Mahzemin	524	3.390	0.560	K	KÇ, K	+	+
	Merkez	Mahzemin	527	1.439	0.116	K	KÇ, K, C	+	-
Toplam	2	2	3					3	2
Kırıkkale	Balışeyh	Merkez	594	3.539	0.522	K	K	+	+
	Balışeyh	Belovası	606	1.286	0.264	KK	N	+	+
Toplam	1	2	2					2	2
Kırklareli	Babaeski	B. Mandıra	134	2.227	0.204	K	K, C	+	+
	Babaeski	Taşagıl	136	3.453	0.691	AK	D, C, K	+	+
	Lüleburgaz	Ahmetbey	139	3.369	0.677	K	D, C	+	+
	Pehlivanköy	Akarca	135	2.520	0.192	K	N	+	+
Toplam	3	4	4					4	4
Kırşehir	Mucur	Merkez	493	2.432	0.344	K	KÇ, K, C	+	+
	Kaman	Efendi	485	2.458	0.451	K	C, K	+	+
	Kaman	Hanyeri	486	6.132	0.914	AK	N	+	+
	Ulupınar	Merkez	490	3.672	0.772	AK	K	+	+
Toplam	3	3	4					4	4

Tablo 4.2. (Devam)

İl	İlçe	Köy	Örnek No	Bitki ağırlığı (g)	Kök ağırlığı (g)	Kök rengi*	Makroskopik gözlem**	Bulunma durumu	
								<i>P. betae</i> (mikroskopik)	BVQ (RT-PCR)
Konya	Altınekin	Merkez	440	2.498	0.353	K	KÇ, K	+	+
	Altınekin	Merkez	443	1.729	0.183	AK	C, K	+	+
	Cihanbeyli	Merkez	449	2.736	0.400	K	KÇ, K, C	+	+
	Cumra	Güvercinlik	419	0.688	0.067	K	KÇ	+	+
	Cumra	Karkın	424	0.133	0.003	K	KÇ	+	+
	Çeltik	Büyükhasan	367	0.864	0.176	K	KÇ	+	+
	Çeltik	Hacıosmanoğlu	373	2.745	0.493	KK	K	+	+
	Karapınar	Kazanhöyüğü	389	2.178	0.370	AK	K	+	+
	Merkez	Sazlıpınar	431	2.691	0.398	K	K	+	+
	Selçuklu	Yazıbelen	446	1.930	0.387	K	K, KÇ	+	+
	Yunak	Saray	359	2.498	0.731	KK	KÇ, K, C	+	-
	Yunak	Odabaşı	364	3.226	0.587	KK	K, KÇ	+	-
Toplam	8	10	12					12	10
Kütahya	Aslanapa	Adaköy	233	5.656	0.633	AK	K, N, KV	+	+
	Merkez	İnköy	229	4.334	0.528	K	K	+	+
	Simav	Gümele	602	3.564	0.760	KK	K, KÇ	+	+
Toplam	3	3	3					3	3
Niğde	Merkez	Değirmenli	175	1.767	0.232	AK	K, C	+	+
Toplam	1	1	1					1	1
Samsun	Bafra	Yağmurca	54	2.797	0.144	AK	N	+	-
	Havza	Ortaklar	57	2.792	0.512	AK	K	+	+
	Vezirköprü	Y.Narlı	61	2.137	0.465	AK	K, D	+	+
Toplam	3	3	3					3	2
Tekirdağ	Hayranbolu	Çerkezmüsellim	158	2.760	0.224	AK	KÇ, K	+	+
Toplam	1	1	1					1	1
Tokat	Erbaa	Çalkara	99	1.921	0.390	AK	K	+	+
	Erbaa	Çalkara	104	2.223	0.459	AK	C,K	+	+
	Niksar	Direkli	108	2.371	0.249	AK	K, C	+	+
	Turhal	Tatlıcak	119	3.086	0.907	AK	K	+	+
Toplam	3	3	4					4	4
Uşak	Bonaz	Güllüçam	589	1.368	0.319	K	K, C	+	+
Toplam	1	1	1					1	1

Tablo 4.2. (Devam)

İl	İlçe	Köy	Örnek No	Bitki ağırlığı (g)	Kök ağırlığı (g)	Kök rengi*	Makroskobik gözlem**	Bulunma durumu	
								<i>P. betae</i> (mikroskopik)	BVQ (RT-PCR)
Yozgat	Akdağ Madeni	Dolak	312	2.739	0.684	K	K	+	+
	Akdağ madeni	Kirsikavağı	313	3.894	0.455	AK	N	+	+
	Boğazlıyan	Merkez	347	1.975	0.226	AK	KÇ, K, C	+	+
	Merkez	Şefaati	341	2.092	0.340	K	KÇ, K, C	+	-
	Sarıkaya	Alifakılı	330	4.912	0.582	AK	N	+	+
	Sarıkaya	A.Sarıkaya	332	3.297	0.591	K	KÇ, K, C	+	+
	Yenifakılı	Merkez	355	1.684	0.343	K	K, KÇ	+	+
Toplam	5	6	7					7	6
Negatif Kontrol				13.124	0.682	AK	N		
Genel Toplam			103					103	92
Enfeksiyon Oranı (%)								100	89.3

* AK: Açık kahve, KK: Koyu kahve, K: Kahverengi

** N: Normal bitki gelişimi, K: Kloroz, KÇ: Kök Çürüklüğü, C: Cüceleşme, D: Deformasyon, FB: Form Bozukluğu, DB: Damarda Belirginleşme, KV: Kıvrılma, YKB: Yaprak kenarında beyazlaşma

*** Yeşil renk ile işaretli örnekler BVQ tespit edilemeyen toprakları ifade etmektedir.



Şekil 4.13. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında BVQ'nun belirlendiği iller (1: Edirne, 2: Tekirdağ, 3: Kırklareli, 4: Çanakkale, 5: Bursa, 6: Sakarya, 7: Kütahya, 8: Uşak, 9: Denizli, 10: Burdur, 11: Afyonkarahisar, 12: Eskişehir, 13: Ankara, 14: Konya, 15: Niğde, 16: Aksaray, 17: Kırşehir, 18: Kırıkkale, 19: Çankırı, 20: Kastamonu, 21: Çorum, 22: Samsun, 23: Amasya, 24: Tokat, 25: Yozgat, 26: Kayseri, 27: Kahramanmaraş, 28: Gaziantep, 29: Erzincan, 30: Elazığ, 31: Iğdır) (kırmızı renk ile gösterilen iller BVQ'nun saptandığı, yeşil renkle belirtilen il ise BVQ'nun bulunmadığını ifade etmektedir)

Bu araştırma sonucunda; Türkiye şeker pancarı üretim alanlarına ait incelenen 103 toprak örneğinin %89.3'ünün (92 adet) BVQ ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Örnekleme yapılan 31 ilden, sadece Gaziantep ili hariç, diğer illere ait toprak örneklerinin tamamının BVQ ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4. 2; Şekil 4. 13). Böylelikle, bu çalışma ile ilk olarak, ülkemize ait önemli şeker pancarı üretim alanlarında BVQ'nun bulunma durumu ve yaygınlığı ortaya konulmuştur. Bu sonuç, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında BVQ'nun varlığının ilk kaydı niteliğindedir.

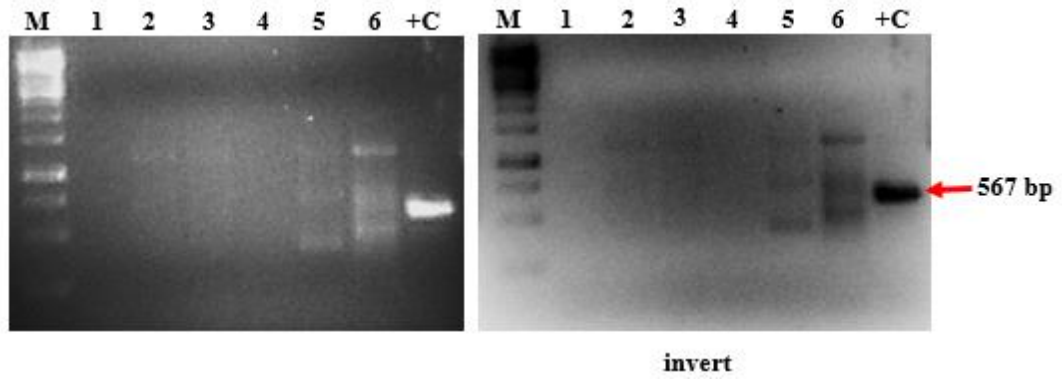
4.1.1.2. Şeker Pancarında Beet virus Q'nun Tek Olarak Enfeksiyon Oluşturma Durumunun İrdelenmesi

Birçok araştırmacı, BVQ'nun aynı vektör tarafından taşınan BNYVV ve/ya da BSBV ile genellikle şeker pancarında ortak enfeksiyon oluşturduğunu bildirmektedir (Meinuer et al., 2003; Rubies Autonell et al., 2006; Farfadzar et al., 2007; Mehrvar, 2009; Moradi and Mehrvar, 2021; Nakagami et al., 2022). Bununla birlikte, bu çalışmada; ELISA testi sonuçlarına göre BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık olmadığı bilinen, ancak kök boyaması çalışmaları ile sadece vektör *P. betae* ile bulaşık olduğu belirlenen 21 toprak örneğinde tuzak bitki testi yöntemine göre yetiştirilen şeker pancarı bitkilerinde BVQ'nun

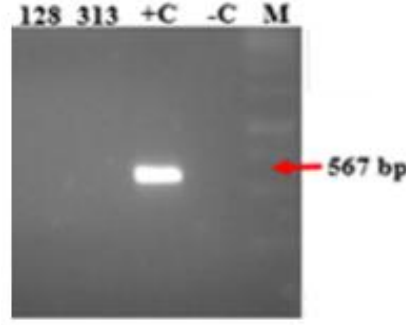
varlığı RT-PCR yöntemi araştırılmış ve böylelikle incelenen 21 örneğin %90.5 (19 adet)'inin tek olarak BVQ ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4. 1). Bu sonucun kesin teyidi amacıyla; 21 örnek içerisinde şansa bağlı olarak seçilen 8 örnekte (18, 128, 147, 160, 297, 313, 367 ve 485 no'lu) virüslerin belirlenmesinde ELISA testine göre daha hassas bir teknik olan RT-PCR yöntemi ile de diğer toprak kökenli virüslerin (BNYVV ve BSBV) araştırılması yoluna gidilmiştir. Bu çalışmada seçilen örneklerin ELISA absorbans değerleri negatif sınırlar içerisinde olmakla birlikte, BNYVV için 0.075-0.202; BSBV için ise 0.112-0.234 arasında bir değişim göstermiştir (Tablo 4. 3). Seçilen bu toprak örneklerinde; hem tarla şartlarında yetişen, hem de iklim odası koşullarında yetiştirilen şeker pancarları bitkilerinde (BNYVV'ye hassas cv. Kasandra) genellikle belirgin bir semptom sergilememekle birlikte; bazı örneklerde kloroz ve kök çürüklüğü oluşumları dikkat çekmiştir (Tablo 4. 3)

Bu çalışmada, öncelikle her iki virüs için seçilen örneklerde cDNA sentezi gerçekleştirilmiş ve takiben bu virüslerin CP bölgelerinin çoğaltılması için Phusion High-Fidelity DNA Polymerase enzimi (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak PCR çalışmaları yürütülmüştür.

BNYVV'ye ait PCR ürünlerinin jel görüntüleme cihazında incelenmesi sonucu; incelenen sekiz örneğin hiçbirisinde pozitif kontrolde oluşan BNYVV-CP bölgesine spesifik 567 bp büyüklüğünde bant gözlenmemiştir (Şekil 4.14, Şekil 4.15) (Tablo 4. 3).

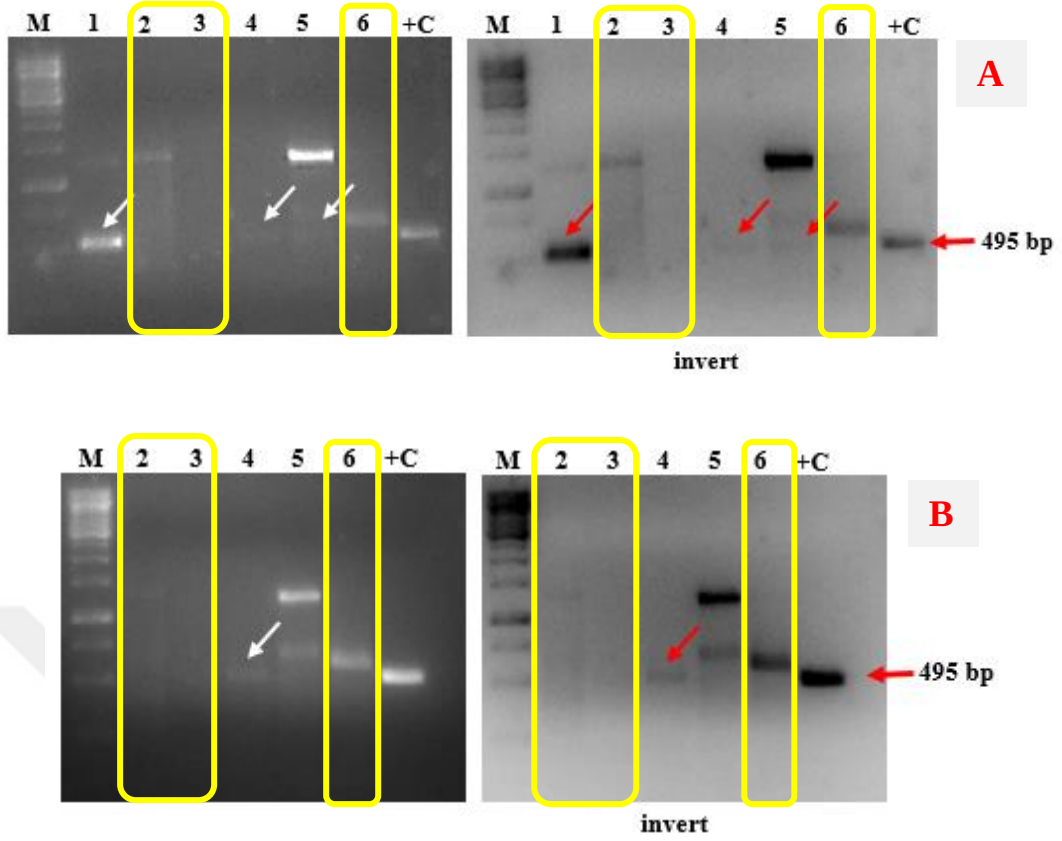


Şekil 4.14. Seçilen örneklerde Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf protein gen bölgesinin PCR yöntemi ile araştırılması (M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), 1: 18 no'lu izolat, 2: 147 no'lu izolat, 3: 160 no'lu izolat, 4: 297 no'lu izolat, 5: 367 no'lu izolat, 6: 485 no'lu izolat, + C: 38 no'lu izolat) (jelin orjinal ve invert görünümü birlikte verilmiştir)

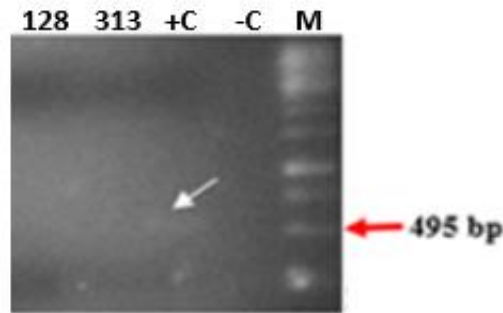


Şekil 4.15. 128 ve 313 no'lu örneklerde Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf protein gen bölgesinin PCR yöntemi ile araştırılması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), + C: 38 no'lu izolat]

Diğer taraftan; BSBV-CP için analiz edilen bu sekiz örneğin birinde (18 no'lu) oluşan ikili banttın tekinin belirgin ve net olup, bu bölgeye spesifik 495 bp büyüklüğünde olduğu saptanmıştır. 297 no'lu örnekte ise bölgeye spesifik çok zayıf tekli bant oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca, 367 no'lu örnekte ise multiple bant içerisinde BSBV-CP bölgesine spesifik çok zayıf bantın varlığı belirlenmiştir. İlave olarak; 147 ve 485 no'lu örneklerde ise non-spesifik bant oluşumu dikkat çekmiştir (Şekil 4.16-A). Daha sonra, bölgeye spesifik net bant oluşumu gözlenen 18 no'lu örnek hariç, diğer örnekler ile PCR çalışması tekrar edilmiştir. Ancak, ilk PCR çalışmasından farklı olarak sadece 367 no'lu örnekte, daha önce BSBV CP'ye spesifik (495 bp) olarak görülen zayıf bantın oluşmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.16-B). Ayrıca, incelenen 128 ve 313 no'lu örneklerde de virüse spesifik bant oluşumu saptanmamıştır (Şekil 4.17). BSBV ile tekrarlanan PCR çalışmaları sonucunda; incelenen sekiz örneğin üçünün BVQ'nun yanısıra BSBV ile de enfekteli olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.3).



Şekil 4.16. Seçilen örneklerde BSBV'nin CP bölgesinin PCR yöntemi ile araştırılması (A: İlk PCR çalışması; B: İkinci PCR çalışması) [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), 1: 18 no'lu izolat, 2: 147 no'lu izolat, 3: 160 no'lu izolat, 4: 297 no'lu izolat, 5: 367 no'lu izolat, 6: 485 no'lu izolat, + C: 9 no'lu izolat] (jelin orjinal ve invert görünümü birlikte verilmiştir). Sarı çizgiler; beklenen büyüklükte bant oluşmadığını ifade etmektedir.



Şekil 4.17. 128 ve 313 no'lu örneklerde Beet soil-borne virus'un kılıf protein gen bölgesinin PCR yöntemi ile araştırılması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), + C: 38 no'lu izolat]

Yürütülen RT-PCR çalışmaları sonucunda; sadece vektör *P. betae* ile bulaşık olduğu bilinen üç örneğin BSBV ile de bulaşık olduğu belirlenmiştir. Diğer, beş örneğin ise sadece BVQ ile enfekteli oldukları (%62.5) anlaşılmıştır. Böylelikle, bu çalışma ile, BVQ'nun şeker pancarında *P. betae* ile taşınan diğer toprak kökenli virüslerle ortak

enfeksiyon oluşturmasının yanısıra, bazı bitkilerde tek başına da enfeksiyon oluşturabildiği belirlenmiştir. İlave olarak, ilk olarak bu çalışmada uygulanan bu yöntem (sadece *P. betae* ile bulaşık toprak örneklerinde tuzak bitki yetiştirilmesi) ile, BNYVV ve BSBV ile benzer vektör ve konukçu çevresine sahip BVQ'nun tek olarak elde edilmesinin mümkün olabileceği ortaya konulmuştur.



Tablo 4.3. Vektör *Polymyxa betae* ile bulaşık toprak örneklerinin orjinleri, bu topraklarda yetişen şeker pancarı bitkilerinde kayıt edilen simptomlar, ELISA absorbands değerleri ile RT-PCR sonuçları

İl	İlçe	Örnek No	Makroskobik gözlem*		<i>P. betae</i>	ELISA Absorbans Değeri		RT-PCR		
			Tarla	Tuzak bitki		BNYVV	BSBV	BNYVV	BSBV	BVQ
Kahramanmaraş	Afşin	18	NBG	NBG	+	0.076	0.145	-	+	+
Edirne	Uzunköprü	128	NBG	NBG	+	0.079	0.112	-	-	+
Bursa	Yenişehir	147	K	NBG	+	0.077	0.114	-	-	+
Burdur	Yeşilova	160	NBG	C	+	0.075	0.115	-	-	+
Adapazari	Centrum	297	K	K	+	0.145	0.156	-	+	+
Yozgat	Akdağ madeni	313	K	NBG	+	0.150	0.121	-	-	+
Konya	Çeltik	367	K	KÇ	+	0.115	0.169	-	+	+
Kırşehir	Kaman	485	K	K	+	0.202	0.234	-	-	+
Toplam (% enfeksiyon)		8			8 (100)			0 (0)	3 (37.5)	8 (100)
Erzincan	Tercan	10	NBG	C	+	0.077	0.112	TE	TE	+
Kırklareli	Pehlivan köyü	135	NBG	NBG	+	0.073	0.125	TE	TE	+
Denizli	Acıpayam	171	NBG	C	+	0.078	0.128	TE	TE	+
Eskisehir	Sivrihisar	205	K	NBG	+	0.087	0.143	TE	TE	+
Kütahya	Aslanapa	233	NBG	HK	+	0.077	0.116	TE	TE	+
Afyonkarahisar	Sandıklı	250	NBG	C	+	0.149	0.131	TE	TE	+
	Dinar	260	NBG	NBG	+	0.074	0.118	TE	TE	-
Kastamonu	Taskopru	284	NBG	-	+	0.078	0.122	TE	TE	-
Yozgat	Sarıkaya	330	K	NBG	+	0.086	0.161	TE	TE	+
Konya	Altınekin	443	NBG	C	+	0.082	0.119	TE	TE	+
Kayseri	Bünyan	503	K	C	+	0.077	0.123	TE	TE	+
Aksaray	Eskil	544	K	HK, KÇ	+	0.082	0.201	TE	TE	+
Ankara	Bala	618	K	K	+	0.086	0.215	TE	TE	+
Toplam		13			13			13	13	11
Genel Toplam		21			21					19

*NBG: Normal Bitki Gelişimi, K: Kloroz, HK: Hafif Kloroz, SY: Symptom Yok, C: Cüceleşme, KÇ: Kök Çürüklüğü

** TE: Test Edilmedi

***+: BVQ enfekteli örnekler

4.1.1.3. Beet virus Q'nun Diğer Toprak Kökenli Virüslerle Ortak Enfeksiyon Oluşturma Durumu

Çalışma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde; daha önce yürütülen ELISA testi çalışmaları ile (Kutluk Yılmaz vd., 2016a) tek olarak BNYVV ile enfekteli olarak belirlenen örneklerin %88.8'i, BNYVV+ BSBV ile enfekteli olanların %88.7'inde BVQ enfeksiyonunun varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca, daha önce ELISA testi (2 adet) ve bu çalışmada RT-PCR yöntemi ile BSBV enfeksiyonu belirlenen örneklerin (3 örnek) tamamının ise BVQ ile de enfekteli oldukları saptanmıştır (Tablo 4.4). Öte yandan, ELISA testi ile BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık olarak saptanmayan, sadece aviruliferous (virüs taşımayan) *P. betae* ile bulaşık olduğu belirlenen farklı lokasyonlara ait 18 toprak örneğinde yetiştirilen şeker pancarı bitkilerinin (BNYVV'ye hassas cv. Kasandra) RT-PCR yöntemi ile analizi sonucunda ise, incelenen bu örneklerin %88.9'unun (16 adet) BVQ ile enfekteli oldukları ortaya konulmuştur (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından coğrafik orjinlerine göre seçilen toprak kökenli virüsler (BNYVV, BSBV) ve/ya da vektör *P. betae* ile bulaşık toprak örneklerinde BVQ'nun bulunma durumu

	Test edilen örnek sayısı	BVQ belirlenen örnek sayısı	BVO'nun bulunma durumu (%)
<i>P. betae</i>	18	16	88.9
BNYVV, <i>P. betae</i>	9	8	88.8
BSBV, <i>P. betae</i>	5	5	100
BNYVV, BSBV, <i>P. betae</i>	71	63	88.7
Toplam	103	92	89.3

4.1.1.4. BVQ İzolatlarının Kılıf Protein Gen Bölgesine Göre Moleküler Karakterizasyonu

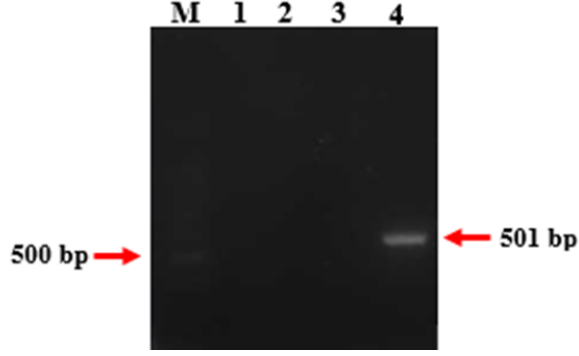
4.1.1.4.1. BVQ'nun Kılıf Protein Gen Bölgesinin Çoğaltılması

Bu çalışmada, BVQ'nun RNA-2 segmenti üzerinde yer alan kılıf protein (CP) genine spesifik primerler kullanılarak, Türkiye'nin farklı coğrafik lokasyonlarına ait şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BVQ izolatları analiz edilmiştir (Şekil 4.18).

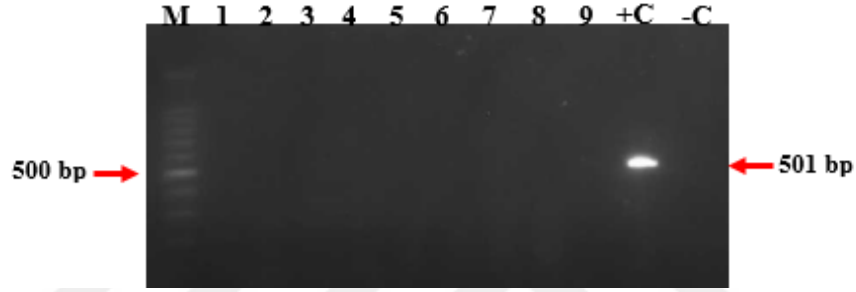


Şekil 4.18. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan BVQ izolatlarının seçildiği iller

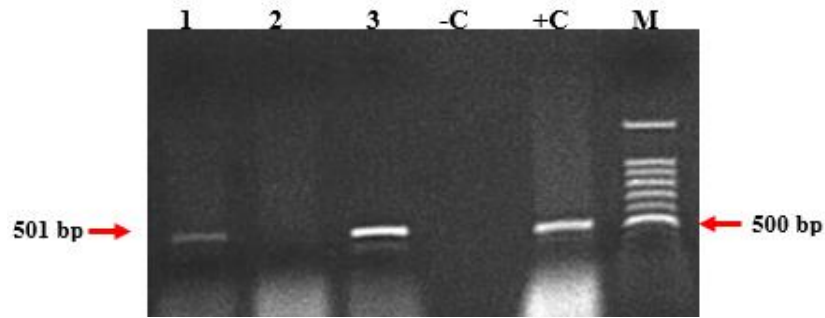
On beş örnekte, Omniscript RT (Qiagen) enzimi kullanılarak RT basamağı gerçekleştirilmiştir. Takiben, BVQ CP bölgesine spesifik primer kullanılarak, bu bölge çoğaltılmıştır. Bu basamakta ise Phusion High-Fidelity DNA Polymerase (Thermo Scientific) enzimi kullanılmıştır. PCR ürünlerinin jel görüntüleme cihazında incelenmesi sonucunda; incelenen örneklerin sadece 1'inde (Kırıkkale iline ait 594 no'lu örnek) bu bölgeye spesifik 501 bp büyüklüğünde bant elde edilebilmiştir (Şekil 4.19). İncelenen diğer örneklerde ise RT-PCR çalışmaları birkaç defa tekrar edilmesine rağmen, bu bölgeye spesifik ürün gözlenmemiştir (Şekil 4.20). Bu durumun zaman içerisinde RNA konsantrasyonunda oluşan kayıptan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bu sebeple, aynı toprak örnekleri kullanılarak yeniden tuzak bitki testi çalışmaları tekrarlanmış ve yeniden RNA izolasyonu yapılarak çalışmalar sürdürülmüştür. Ancak, arzu edilen olumlu sonuçlar elde edilememiş ve bu sebeple farklı firmalara ait RT-PCR ya da PCR kitleri denenerek çalışmalara devam edilmiştir. Bu denemeler sonucunda, Qiagen firmasına ait tek basamaklı RT-PCR kiti ile istenilen kalitede ürün elde edilmiş ve çalışmalar bu kitin kullanımı ile sürdürülmüştür. Sonuç olarak; BVQ için yürütülen bu çalışmada 30 örnekte RT-PCR çalışmaları gerçekleştirilmiş, ancak 16 örnekte BVQ-CP'ine spesifik 501 bp büyüklüğünde bant elde edilebilmiştir (Şekil 4.21 - 4.23).



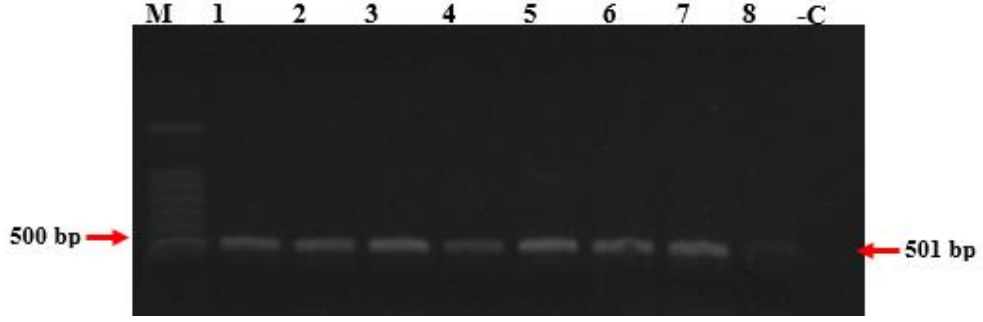
Şekil 4.19. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 164 no'lu izolat-Burdur, 2: 268 no'lu izolat-Afyon, 3: 210 no'lu izolat-Eskişehir, 4: 594 no'lu izolat-Kırıkkale) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA]



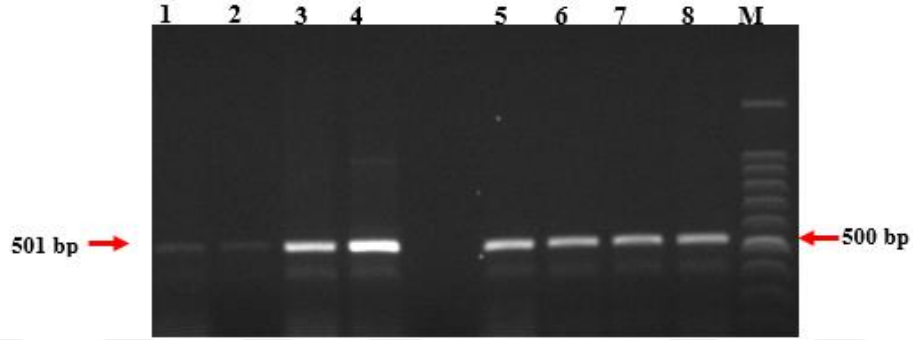
Şekil 4.20. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 629 no'lu izolat-Ankara, 2: 431 no'lu izolat-Konya, 3: 275 no'lu izolat-Afyon, 4: 108 no'lu izolat-Tokat, 5: 134 no'lu izolat-Kırklareli, 6: 141 no'lu izolat-Bursa, 7: 210 no'lu izolat-Eskişehir, 8: 332 no'lu izolat-Yozgat, 9: 594 no'lu izolat-Kırıkkale illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA, + C: Pozitif kontrol [Maleves- Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA]]



Şekil 4.21. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat -İğdır, 2: 44 no'lu izolat-Elazığ, 3: 52 no'lu izolat-Erzincan) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA, + C: Pozitif kontrol [Maleves- Sainte-Marie (MSM) izolatına ait enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA]]



Şekil 4.22. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 52 no'lu izolat-Erzincan, 3: 64 no'lu izolat-Çorum, 4: 125- no'lu izolat-Edirne, 5: 148 no'lu izolat-Bursa, 6: 164 no'lu izolat-Burdur, 7: 215 no'lu izolat-Eskişehir, 8: 419 no'lu izolat-Konya) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)



Şekil 4.23. BVQ'nun kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 18 no'lu izolat-Kahramanmaraş, 2: 171 no'lu izolat - Denizli, 3: 268 no'lu izolat-Afyon, 4: 281 no'lu izolat-Kastamonu, 5: 313 no'lu izolat -Yozgat, 6: 389 no'lu izolat-Konya, 7: 542 no'lu izolat-Aksaray, 8: 625 no'lu izolat-Ankara) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA

4.1.1.4.2. BVQ İzolatlarının CP Bölgesine Ait Sekans Analiz Sonuçları

Sekans analizlerinin yapılması amacıyla 16 örneğe ait PCR ürünü Genoks firmasına (Ankara) gönderilmiş ve projede hedeflenen sayı olan 15 BVQ izolatında istenilen kalitede nükleotit dizileri elde edilmiştir. Bu çalışma ile baz dizileri elde edilen izolatlar; Iğdır (IGR-9Q), Erzincan (ERC-52Q), Çorum (CRM-64Q), Edirne (EDR-125Q ve EDR-128Q), Bursa (BRS-148Q), Burdur (BRD-164Q), Eskişehir (ESK-215Q), Afyonkarahisar (AFY-268Q), Kastamanu (KST-281Q), Yozgat (YZT-313Q), Konya (KNY-389Q ve KNY-419Q izolatları), Kırıkkale (KRK-594Q) ve Ankara (ANK-625Q) olmak üzere toplam 13 ile aittir (Tablo 4.5). Daha sonra, herbir izolata ait elde edilen konsensus baz dizileri temel alınarak aa dizileri oluşturulmuştur (Ek 4). Takiben, Türkiye'nin farklı lokasyonlarına ait 15 BVQ izolatının CP bölgesine

ait PCR ürünlerinin nükleotit dizileri NCBI'a gönderilerek, OL870466-OL870480 numaraları altında GenBank'a kayıt edilmiştir.

BVQ izolatlarının sekans analizi yapılan bölgenin uzunluğu yaklaşık 501 nükleotit kadar olup CP bölgesinin tamamını içermektedir (Ek 3). BVQ izolatlarına ait bu konsensus nükleotit dizileri genetik benzerliklerin incelenmesi amacıyla, birbirleri ile ve NCBI'dan indirilen diğer BVQ izolatlarına ait CP gen bölgesi sekans verileri ile BLAST yöntemi ile analiz edilmiştir. Böylelikle, Konya ilinden elde edilen KNY-419Q izolatı hariç, diğer 14 BVQ izolatının CP gen bölgelerinin nükleotit dizilerinin birbirleriyle %100 benzer oldukları saptanmıştır. KNY-419Q izolatının ise diğer BVQ izolatları ile nükleotit düzeyinde %99.20 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.5).

Türkiye'nin değişik coğrafik bölgelerinden elde edilen 15 BVQ izolatının CP gen bölgesinde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonları Tablo 4. 6'da verilmiştir. Bu tablo incelendiğinde; KNY-419Q izolatının 429. [Adenin (A)→Guanin (G)], 441. [G→C (Sitozin)], 443. (A→G) ve 461. (A→C) pozisyonlarda yer alan bazlarda diğer izolatlardan değişiklik gösterdiği dikkat çekmiştir (Tablo 4.6). Türk izolatlarının nükleotit dizileri diğer bazı dünya izolatları ile kıyaslandığında maksimum 20 pozisyonda farklılık sergilediği saptanmıştır (Tablo 4. 6; Ek 3).

Tablo 4.5. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen Beet virus Q izolatlarının kılıf protein bölgelerinin nükleotit seviyesinde göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)

İzolat adı	No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
IGR-9Q	1	*	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99.20	100	100	100
ERC-52Q	2	100	*	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99.20	100	100	100
CRM-64Q	3	100	100	*	100	100	100	100	100	100	100	100	99.20	100	100	100
EDR-125Q	4	100	100	100	*	100	100	100	100	100	100	100	99.20	100	100	100
EDR-128Q	5	100	100	100	100	*	100	100	100	100	100	100	99.20	100	100	100
BRS-148Q	6	100	100	100	100	100	*	100	100	100	100	100	99.20	100	100	100
BRD-164Q	7	100	100	100	100	100	100	*	100	100	100	100	99.20	100	100	100
ESK-215Q	8	100	100	100	100	100	100	100	*	100	100	100	99.20	100	100	100
AFY-268Q	9	100	100	100	100	100	100	100	100	*	100	100	99.20	100	100	100
KST-281Q	10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	*	100	99.20	100	100	100
Yzt-313Q	11	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	*	99.20	100	100	100
KNY-389Q	12	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	*	100	100	100
KNY-419Q	13	99.20	99.20	99.20	99.20	99.20	99.20	99.20	99.20	99.20	99.20	99.20	99.20	*	99.20	99.20
KRK-594Q	14	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99.20	100	*	100
ANK-625Q	15	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99.20	100	100	*

Tablo 4.6. Türkiye'ye ait Beet virus Q (BVQ) izolatlarının dünyadaki bazı BVQ izolatları ile kılıf proteininde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonlarının karşılaştırılması

İzolat Adı	Nükleotit Pozisyon Numaraları																			
	28	30	39	69	93	102	141	234	237	260	261	306	343	345	422	425	429	441	443	461
IGR-9Q ve diğer 13 izolat (Türkiye)	A	T	T	A	A	C	G	A	C	T	G	A	G	C	A	A	A	G	A	A
KNY-419Q (Türkiye)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	G	C
GT16 (Almanya)	.	.	C	.	.	.	.	G	T	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.	.
WQcp /JQcp//ZQcp (Polonya)	.	.	C	.	.	.	A	G	T	.	.	G	A	.	.	.	G	.	.	.
FP71 (Fransa)	.	C	.	.	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
*- (Almanya)	.	C	.	.	G	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ir-115 ve diğer 7 izolat (İran)	C	C	.	.	G	T	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Ir-136 (İran)	G	C	.	.	G	T	.	.	T	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.
Ir-141 (İran)	C	C	.	C	G	T	.	.	T	C	T	.	.	.	.	G	.	.	.	.
Ir-145 (İran)	C	C	.	.	G	T	.	.	T	C	T	.	.	.	G	.	.	.	.	.

* -: Bilinmiyor

Bu çalışmada incelenen BVQ izolatları CP gen bölgesi bakımından BLASTn algoritması kullanılarak dünya izolatları ile karşılaştırıldığında; KNY-419Q izolatının en yüksek benzerliği %98.60 oran ile Almanya'ya ait GT16 ve Fransa'ya ait FP71 izolatları ile ve bunu %98.20 oranla İran' a ait Ir-115 izolatının izlediği tespit edilmiştir. Diğer 14 BVQ izolatu ise, %99.40 oran ile Fransa'ya ait FP71 izolatu ile en yüksek benzerliği göstermiş olup bunu %99 oran ile Alman ve İran izolatları takip etmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Türkiye'ye ait Beet virus Q izolatlarının dizi analizi yapılan CP geninin nükleotit düzeyinde dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)

İzolat adı	NCBI izolat adı	NCBI Kayıt No	Benzerlik Oranı (%)*	Orjin
IGR-9Q ve diğer 13 izolat	FP71	AJ810289	99.40	Fransa
	GT16	AJ810290	99.00	Almanya
	Ir-115	MW798253	99.00	İran
	GT16	AJ810290	98.60	Almanya
KNY-419Q	FP71	AJ810289	98.60	Fransa
	Ir-115	MV798253	98.20	İran

*BLASTn'e göre göre en yüksek benzerliğe sahip ilk üç BVQ izolatu verilmiştir

Onbeş BVQ izolatının BLASTp analizi sonucunda ise; bu izolatlardan 14'ünün aa'leri tamamen birbirleriyle benzer olarak saptanmış, farklılık görülen tek izolat olan KNY-419Q izolatının ise bu izolatlara benzerlik oranının %94.58 olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.8). KNY-419Q izolatının, diğer Türk izolatlarından farklılık gösteren aa'lerinin ise, 148. [Histidin (H) → Arginin (R)] ve 154. [Lizin (K) → Treonin (T)] pozisyonlarda yer alan aa'ler olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.10; Ek 4).

Tablo 4.8. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen Beet virus Q izolatlarının kılıf protein bölgelerinin amino asit seviyesinde göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)

İzolat Adı		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
IGR-9Q	1	*	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	94.58	100	100	100
ERC-52Q	2	100	*	100	100	100	100	100	100	100	100	100	94.58	100	100	100
CRM-64Q	3	100	100	*	100	100	100	100	100	100	100	100	94.58	100	100	100
EDR-125Q	4	100	100	100	*	100	100	100	100	100	100	100	94.58	100	100	100
EDR-128Q	5	100	100	100	100	*	100	100	100	100	100	100	94.58	100	100	100
BRS-148Q	6	100	100	100	100	100	*	100	100	100	100	100	94.58	100	100	100
BRD-164Q	7	100	100	100	100	100	100	*	100	100	100	100	94.58	100	100	100
ESK-215Q	8	100	100	100	100	100	100	100	*	100	100	100	94.58	100	100	100
AFY-268Q	9	100	100	100	100	100	100	100	100	*	100	100	94.58	100	100	100
KST-281Q	10	100	100	100	100	100	100	100	100	100	*	100	94.58	100	100	100
YZT-313Q	11	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	*	94.58	100	100	100
KNY-389Q	12	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	*	100	100	100
KNY-419Q	13	94.58	94.58	94.58	94.58	94.58	94.58	94.58	94.58	94.58	94.58	94.58	94.58	*	94.58	94.58
KRK-594Q	14	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	94.58	100	*	100
ANK-625Q	15	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	94.58	100	100	*

Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BVQ izolatlarının CP gen bölgesi dünya izolatları ile BLASTp yöntemi ile kıyaslandığında; amino asit bakımından diğer izolatlardan farklılık sergileyen tek izolat olan KNY-419Q izolatının en yüksek genetik benzerliği Fransa'ya ait FP71 izolatı ile (%98.80) gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer 14 BVQ izolatı ise, %100 oranında Fransa'ya ait FP71 izolatı ile benzerlik göstermiş olup, bunu %99.40 oranıyla İran (Ir-136) ve Polonya (WQcp) izolatları takip etmiştir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. BVQ izolatlarının dizi analizi yapılan CP geninin aa düzeyinde dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)

İzolat Adı	NCBI izolat adı	GenBank Kayıt No	Benzerlik Oranı (%)	Orjini
IGR-9Q ve diğer 13 izolat	FP71	CAH1777	100	Fransa
	Ir-136	UDV75573	99.40	İran
	WQcp	ACF08617	99.40	Polonya
KNY-419Q	FP71	CAH1777	98.80	Fransa
	GT16	CAH1778	98.19	Almanya
	WQcp	ACF08617	98.19	Polonya

*BLASTp'e göre en yüksek benzerliğe sahip üç BVQ izolatı verilmiştir

Öte yandan, Almanya'ya ait GT16 izolatı (AJ810290) referans alınarak Tablo 4.10 oluşturulmuş ve bu tabloya göre, ülkemize ait BVQ izolatlarının dünyanın farklı bölgelerinden elde edilen BVQ izolatlarından maksimum yedi pozisyonda yer alan aa'lerinin farklılık sergilediği saptanmıştır (Tablo 4.10; Ek 4). KNY-419Q ve diğer Türk izolatlarından farklılık gösteren aa'lerinin ise, 115. [Serin (S) → Glisin (G)], 148. [Histidin (H) → Arginin (R)] ve 154. [Lizin (K) → Treonin (T)] pozisyonlarda yer alan aa'ler olduğu belirlenmiştir. İlginç olarak, KNY-419Q izolatı, 148. [Histidin (H) → Arginin (R)] ve 154. [Lizin (K) → Treonin (T)] pozisyonlarında yer alan aa'lerinde belirlenen bu tip bir farklılık NCBI'da sınırlı sayıda sekans verisi bulunan diğer BVQ izolatlarında görülmemiştir (Tablo 4.10; Ek 4).

Tablo 4.10. Türkiye’ye ait Beet virus Q (BVQ) izolatlarının dünyadaki bazı BVQ izolatları ile kılıf proteininde farklılık belirlenen amino asit pozisyonlarının karşılaştırılması

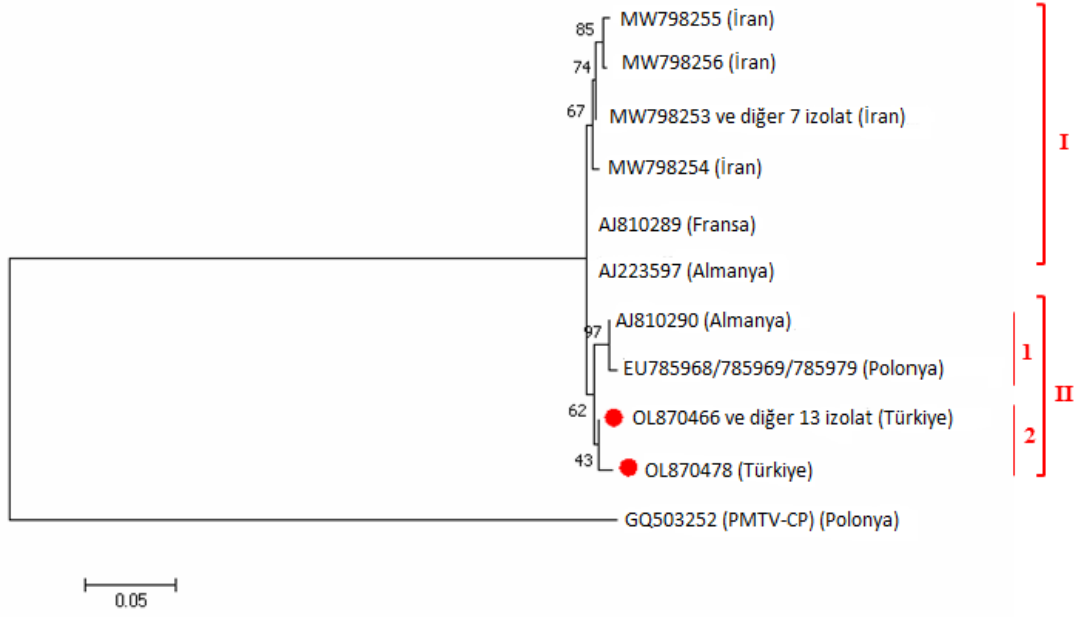
İzolat Adı	Amino Asit Pozisyon Numaraları*						
	10	87	115	141	142	148	154
GT16 (Almanya)	T	L	S	D	D	H	K
IGR-9Q ve diğer 13 izolat (Türkiye)	.	.	G	.	.	.	.
KNY-419Q (Türkiye)	.	.	G	.	.	R	T
WQcp /JQcp//ZQcp (Polonya)	.	.	.	.	.	.	.
FP71 (Fransa)	.	.	G	.	.	.	.
**-(Almanya)	.	.	G	.	.	.	.
Ir-115 ve diğer 7 izolat (İran)	P	.	G	.	.	.	.
Ir-136 (İran)	A	.	G	.	.	.	.
Ir-141 (İran)	P	P	G	.	G	.	.
Ir-145 (İran)	P	P	G	G	.	.	.

* T: Treonin, P: Prolin, A: Alanin, L: Lösin, G: Glisin, D: Aspartik asit, H: Histidin, R: Arjinin, K: Lizin

** -: Bilinmiyor

4.1.1.4.3. BVQ İzolatlarının CP Genine Göre Filogenetik Analizi

Bu çalışmada elde edilen 15 BVQ Türk izolatı ile NCBI’da kayıtlı olan toplam 17 BVQ izolatının tamamı filogenetik ağaç oluşturmada kullanılmıştır (Tablo 4. 11). Bu izolatların CP gen bölgelerine ait nükleotit dizileri, Clustal W yöntemi ile kullanılarak hizalanmış ve daha sonra Mega 7 yazılımında Tamura-Nei modeli (Tamura and Nei, 1993) kullanılarak genetik uzaklıklar belirlenmiş ve ML algoritmasına göre filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bootstrap değeri olarak 1.000 alınmıştır.



Şekil 4.24. Beet virus Q (BVQ) izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BVQ izolatlarının kılıf protein genine göre nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, Maximum Likelihood yöntemi ve Tamura-Nei modeli kullanılmıştır. Dendrogramda bootstrap değerleri, dallarda % olarak gösterilmiştir. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını göstermektedir (0.05). *Pomovirus* cinsi üyesi Potato mop-top virus (PMTV), filogenetik ağacın oluşturulmasında dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlar a ait bilgiler Tablo 4.11’de yer almaktadır

ML dendogramı incelendiğinde; BVQ izolatlarının iki ana grupta (Grup I ve Grup II) toplandıkları görülmektedir. Buna göre; Grup I’in, 11 İran (MW798253-MW798263), bir Alman (AJ223597) ve bir Fransız (AJ810289) izolatından oluştuğu belirlenmiştir. Grup II ise, kendi içerisinde iki alt gruba (altgrup 1 ve altgrup 2) ayrılmış ve Polonya’ya ait üç (EU785970, EU785969 ve EU785968) ve Almanya’ya ait bir (AJ810290) izolat altgrup 1 içerisinde yer alırken; Türkiye’ye ait BVQ izolatlarının tamamı ise altgrup 2 içerisinde toplanmışlardır (Şekil 4.24; Tablo 4.11). Bu çalışma, Türkiye’ye ait BVQ izolatlarının moleküler yönden analiz edildiği ilk çalışma niteliğini taşımaktadır.

Tablo 4.11. Beet virus Q'nun kılıf protein bölgesi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar

Ülke	Lokasyon	İzolat adı	GenBank kayıt no
Türkiye	Karakoyunlu, Iğdır	IGR-9Q	OL870466
	Merkez, Erzincan	ERC-52Q	OL870467
	Laçın, Çorum	CRM-64Q	OL870468
	Bosma, Edirne	EDR-125Q	OL870469
	Uzunköprü, Edirne	EDR-128Q	OL870470
	Yenişehir, Bursa	BRS-148Q	OL870471
	Göhlhisar, Burdur	BDR-164Q	OL870472
	Alpu, Eskişehir	ESK-215Q	OL870473
	Çobanlar, Afyon	AFY-268Q	OL870474
	Taşköprü, Kastamonu	KAS-281Q	OL870475
	Akdağ Madeni, Yozgat	YZT-313Q	OL870476
	Karapınar, Konya	KNY-389Q	OL870477
	Çumra, Konya	KNY-419Q	OL870478
	Merkez, Kırıkkale	KRK-594Q	OL870479
	Şereflikoçhisar, Ankara	ANK-625Q	OL870480
Fransa	Pithiviers	FP71	AJ810289
Almanya	Thurnhof	GT16	AJ810290
	Braunschweig	_*	AJ223597
Polonya	_*	ZQcp	EU785970
	_*	JQcp	EU785969
	_*	WQcp	EU785968
İran	West Azerbaijan	Ir-115	MW798253
	Ardabil	Ir-136	MW798254
	Kermanshah	Ir-141	MW798255
	Kermanshah	Ir-145	MW798256
	Kermanshah	Ir-150	MW798257
	East Azerbaijan	Ir-159	MW798258
	Qazvin	Ir-168	MW798259
	Qazvin	Ir-169	MW798260
	Ravazi Khorasan	Ir-189	MW798261
	Ravazi Khorasan	Ir-192	MW798262
	Ravazi Khorasan	Ir-203	MW798263
Polonya	PMTV-P1 (Dış grup)	-	GQ503252

* -: Bilinmiyor

4.1.1.5. BVQ İzolatlarının Biyolojik Karakterizasyonu

Aviruliferous *P. betae* ile bulaşık toprak örnekleri içerisinde; hem coğrafik lokasyonlarına (Edirne ve Yozgat), hem de gerek tarla, gerekse tuzak bitkilerde oluşturdukları semptomlara (kloroz oluşturup, oluşturmaması) göre iki BVQ izolatı (EDR-128Q ve YZT-313Q) biyolojik karakterizasyon çalışmasında kullanılmıştır. Öncelikle, bu izolatları içeren toprak örneklerinde rhizomania'ya hassas cv. Kasandra bitkileri altı hafta süresince yetiştirilmiştir. Hasat sonrası, bu bitkilerden elde edilen kılcal köklerin bir kısmı RNA izolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere ayrılmış,

diğer parçası ise biyolojik çalışmalar yapılınca kadar -80°C'deki derin dondurucuda kısa bir süre muhafaza edilmiştir.

Seçilen bu iki örnek; öncelikle aynı vektör tarafından taşınan, diğer toprak kökenli virüslerden BNYVV ve/ya da BSBV ile olası bulaşıklık durumunun net olarak ortaya konulması amacıyla, ELISA'ya göre daha hassas bir teknik olan RT-PCR yöntemi ile test edilmiştir. Bu amaçla, bu iki örnekte RNA ekstraksiyonunu (Omniscript reverse-transcriptase kit; Qiagen) takiben; Yöntem 3.2.1.7.' de belirtildiği gibi BNYVV ve BSBV için iki aşamalı RT-PCR çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar sonunda; her iki örneğin de BNYVV ve BSBV ile bulaşık olmadığı saptanmıştır. Diğer taraftan; şeker pancarları aynı vektör (*P. betae*) tarafından taşınan ve *Benyviridae* familyasının bir üyesi olan Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV)'den de etkilenmektedir. Ancak, bahsedilen bu virüs türü şu ana kadar sadece kuzey Amerika'da kayıt edilmiş olduğundan (Rush and Heidel 1995; Heidel et al., 1997; Lee et al., 2001) bu çalışmada testlemelere dahil edilmemiştir.

Daha sonra; bu iki BVQ izolatu (EDR-128Q ve YZT-313Q) virüsün konukçu çevresinin belirlenmesi amacıyla biyolojik çalışmalarda kullanılmıştır. Bu amaçla; EDR-128Q ve YZT-313Q BVQ izolatları farklı familyalardan beş bitki türüne (*Chenopodium quinoa*, *Beta macrocarpa*, *Patellifolia patellaris*, *Nicotiana benthamiana* ve *Spinacia oleraceae* cv. Nebreska) mekanik olarak inokule edilmiştir. İnokule edilen bu bitkiler kontrollü iklim odası şartlarında muhafaza edilmiş ve inokulasyondan sonra bir ay içerisinde oluşan belirtiler kayıt edilmiştir (Tablo 4.12). Virüs inokulasyonunu takiben bir aylık peryot sonunda; bitkiler belirtiler açısından değerlendirilmiş ve bu bitkilerin seçilen tekerrürlerinin hem virüs-inokule edilen, hem de virüs-inokule edilmeyen üst yapraklarından örnekleme yapılmıştır. Daha sonra, bu örneklerden RNA izolasyonu ve sonrasında da RT-PCR çalışmaları yürütülmüştür. Böylelikle, virüs inokule edilen bitkilerde BVQ enfeksiyonu olup olmadığının kesin olarak ortaya konulması hedeflenmiştir.

Tablo 4.12. Beet virus Q izolatları ile inokule edilen test bitkileri ve reaksiyonları

Test Bitkileri	BVQ izolatları									
	EDR-128Q					YZT-313Q				
	Tekerrür	Lokal Simptom*	Sistemik Simptom*			Tekerrür	Lokal Simptom*	Sistemik Simptom*		
			1 ay sonra	RT-PCR	7 ay sonra			1 ay sonra	RT-PCR	7 ay sonra
<i>C. quinoa</i>	1	İKLL	YK, YDB	TE**	-	1	İKLL	YK, YDB	+	-
<i>B. macrocarpa</i>	1	KLL	KL	TE**	-	1	SY	SY	TE**	AYK, İSL
	2	KLL	KL	+	YUS, İKL	2	SY	SY	TE**	-
<i>P. patellaris</i>	1	YDB	YHK	+	-	1	YDB	YHK	TE**	-
	2	-	-	TE**	-	2	UNL	SY	TE**	-
<i>N. benthamiana</i>	1	SY	SY	TE**	-	1	SY	SY	+	-
	2	SY	SY	TE**	-	2	SY	SY	TE**	-
<i>S. oleraceae</i> cv. Nebreska	1	YHB	YHB	TE**	-	1	HK, HB	HM, YB	+	YB
	2	YHB	YB	TE**	-	2	HK, HB	HM, YB	TE**	YB

* **Simptomlar:** İKLL: İri klorotik lokal lezyon, KLL: Klorotik lokal lezyon, KL: Klorotik leke YHK: Yaprakta hafif kloroz, YHB: Yaprakta hafif bombe, YDB: Yaprak damarlarında belirginleşme, YK: Yapraklarda kıvrılma, YB: Yaprakta bombe, YUS: Yaprak ucunda sararma, UNL: Ufak nekrotik lezyon, HK: Hafif kloroz, HM: Hafif mozaik, AYK: Alt yapraklarda kloroz, İSL: İri siyah lezyon, SY: Simptom yok, -: Bitki ölümü

** TE: Test Edilmedi

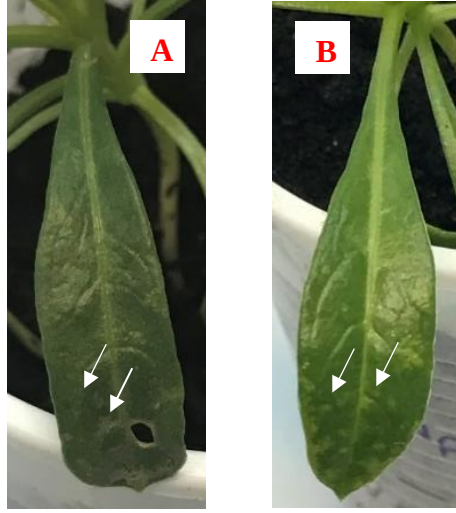
(): RNA ekstraksiyonu için seçilen bitkiler sarı renk ile işaretlenmiştir.

İki farklı BVQ izolatının (EDR-128Q ve YZT-313Q) tek tekerrürlü olarak *C. quinoa* bitkilerine gerçekleştirilen mekanik inokulasyonu sonucunda; inokulasyonu takiben bir hafta içerisinde virüs-inokule edilen yapraklarda iri klorotik lokal alanlar gözlenmiş olup, virüs-inokule edilmeyen üst yapraklarda ise bir aylık süreç içerisinde yapraklarda içe doğru hafif kıvrılma ve damarlarda belirginleşme dışında herhangi bir simptom oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.25; Tablo 4.12).

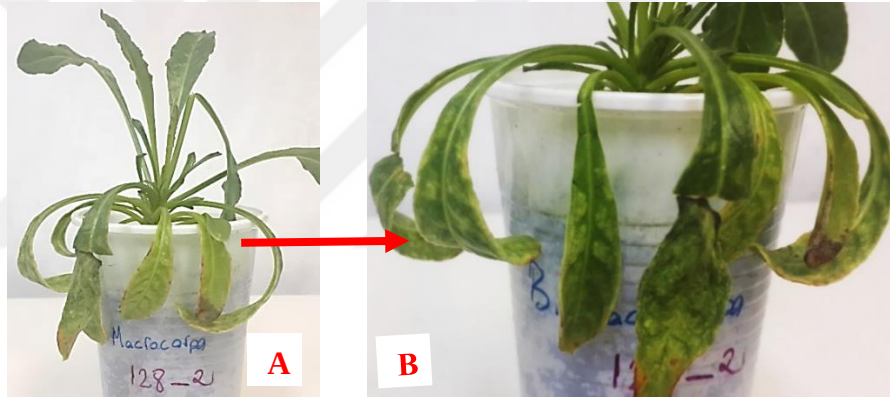


Şekil 4.25. BVQ izolatının *Chenopodium quinoa* bitkisine mekanik inokulasyonu sonrasında virus-inokule edilen yapraklarda gözlenen hafif klorotik iri alanlar (A), sistemik yapraklarda damarlarda belirginleşme (B) ve bu bitkinin genel görünümü (C)

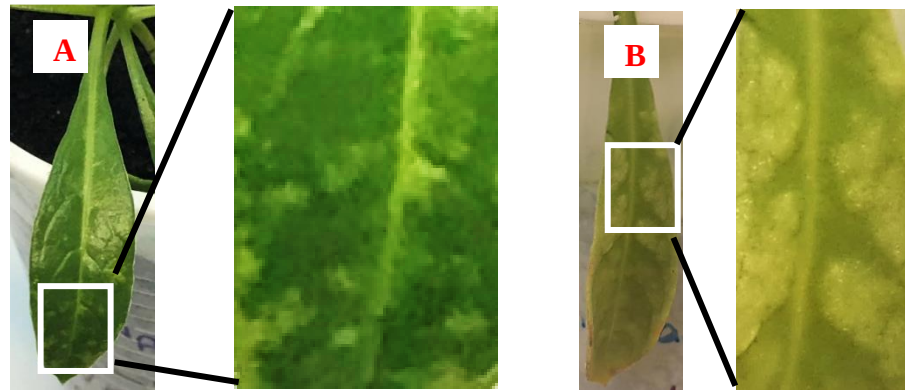
Bu izolatların (EDR-128Q ve YZT-313Q) *B. macrocarpa* bitkilerine mekanik inokulasyonunu takiben ilk bir ay içerisinde sadece EDR-128Q izolatı ile inokule edilen ve virüs-inokule edilmeyen üst yapraklarında klorotik lezyon oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.26; Tablo 4.12). YZT-313Q izolatı ile inokule edilen bitkilerde ise virüs-inokule edilen ve edilmeyen üst yapraklarda herhangi bir belirti tespit edilmemiştir. Bununla birlikte; bu bitkiler ilave altı ay süre kadar daha iklim odasında muhafaza edilmiş ve simptom gelişimleri izlenmeye devam edilmiştir. Yaklaşık yedi aylık süreç sonunda; özellikle EDR-128Q izolatı ile inokule edilen bitkilerin hem virüs-inokulasyonu yapılan, hem de inokulasyon yapılmayan üst yapraklarında oluşan klorotik lekelerin sayısı ve büyüklüklerinde artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.27, Şekil 4.28).



Şekil 4.26. EDR-128Q izolatının *Beta macrocarpa* bitkisine mekanik inokulasyonu sonrasında virus-inokule edilen yapraklarında gözlenen hafif klorotik lokal lezyonlar (A) ile üst yapraklarda inokulasyondan bir ay sonra oluşan klorotik lezyonların görünümü (B)

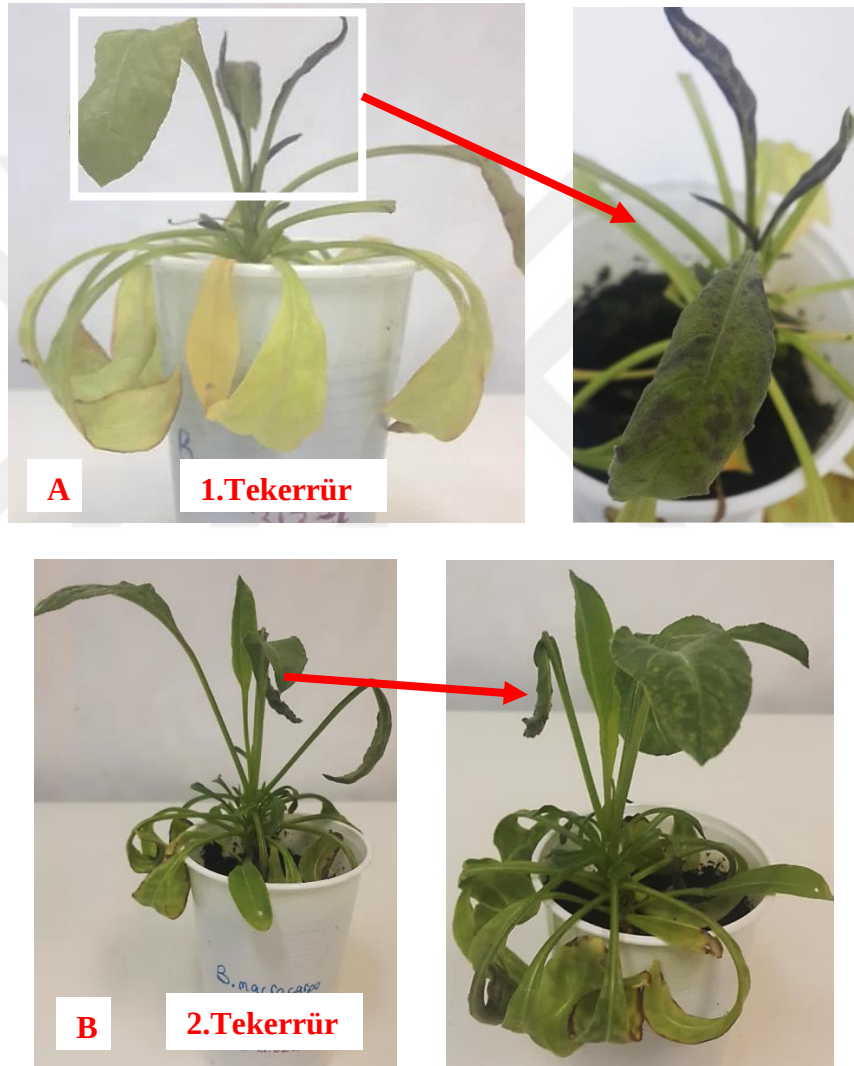


Şekil 4.27. ERD-128Q izolatının *Beta macrocarpa*’ya mekanik inokulasyonundan yedi ay sonra 2. tekerrürdeki bitkinin genel görünümü (A ve B)



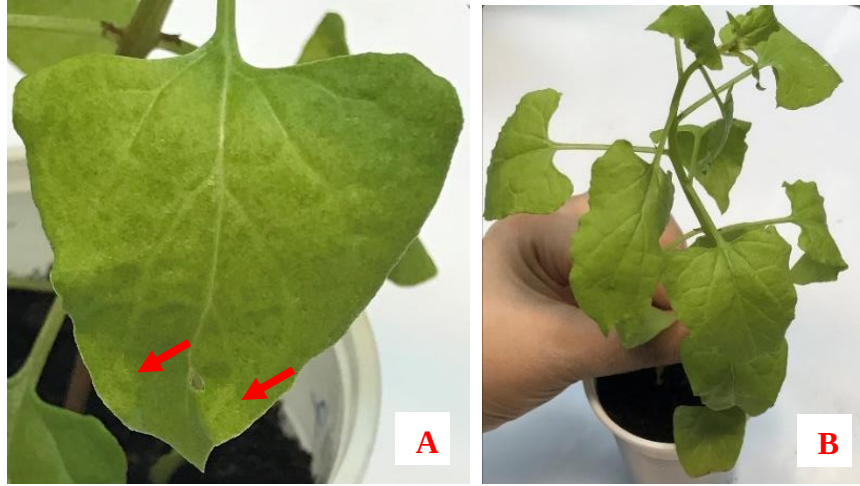
Şekil 4.28. EDR-128Q izolatının *Beta macrocarpa* bitkisine mekanik inokulasyonu sonrasında virus inokule edilmeyen üst yapraklarda bir ay içinde oluşan klorotik lokal lezyonlar (A) ile aynı bitkide yedi ay sonra gelişen klorotik lokal lezyonların görünümünün kıyaslanması (B)

Diğer taraftan; yedi ayı takiben YZT-313Q izolatı ile inokuleli *B. macrocarpa* bitkilerinin ise 1. tekerrüründe virüs inokule edilen alt yapraklarda yoğun kloroz, üst yapraklarda ise ipliksi görünüm, form bozukluğu ile damar aralarında siyah alanların oluşumu dikkat çekmiştir. Bu izolat ile inokule edilen diğer tekerrürde ise, 7 aylık süreç sonunda, hem virüs inokule edilen, hem de edilmeyen üst yapraklarında klorotik leke gelişiminin olduğu görülmüştür. Bu belirtiyeye ilave olarak, tekerrür 1’de olduğu gibi üst yapraklarda form bozukluğu oluşumu da dikkat çekmiştir (Şekil 4.29; Tablo 4.12).



Şekil 4.29. YZT-313Q izolatının *Beta macrocarpa* bitkilerine mekanik inokulasyonundan yedi ay sonra sonra tekerrürlerde oluşan belirtilerin genel görünümü (A ve B)

Aynı BVQ izolatlarının *P. patellaris* bitkisine mekanik inokulasyonu sonucunda; inokule edilen yaprakların uç kısmındaki damarlarda renk açılması ve belirginleşme, BVQ- inokule edilmeyen üst yapraklarda ise dıştan içe doğru hafif kıvrılma şeklinde belirtiler gözlenmiştir (Şekil 4.30; Tablo 4.12).



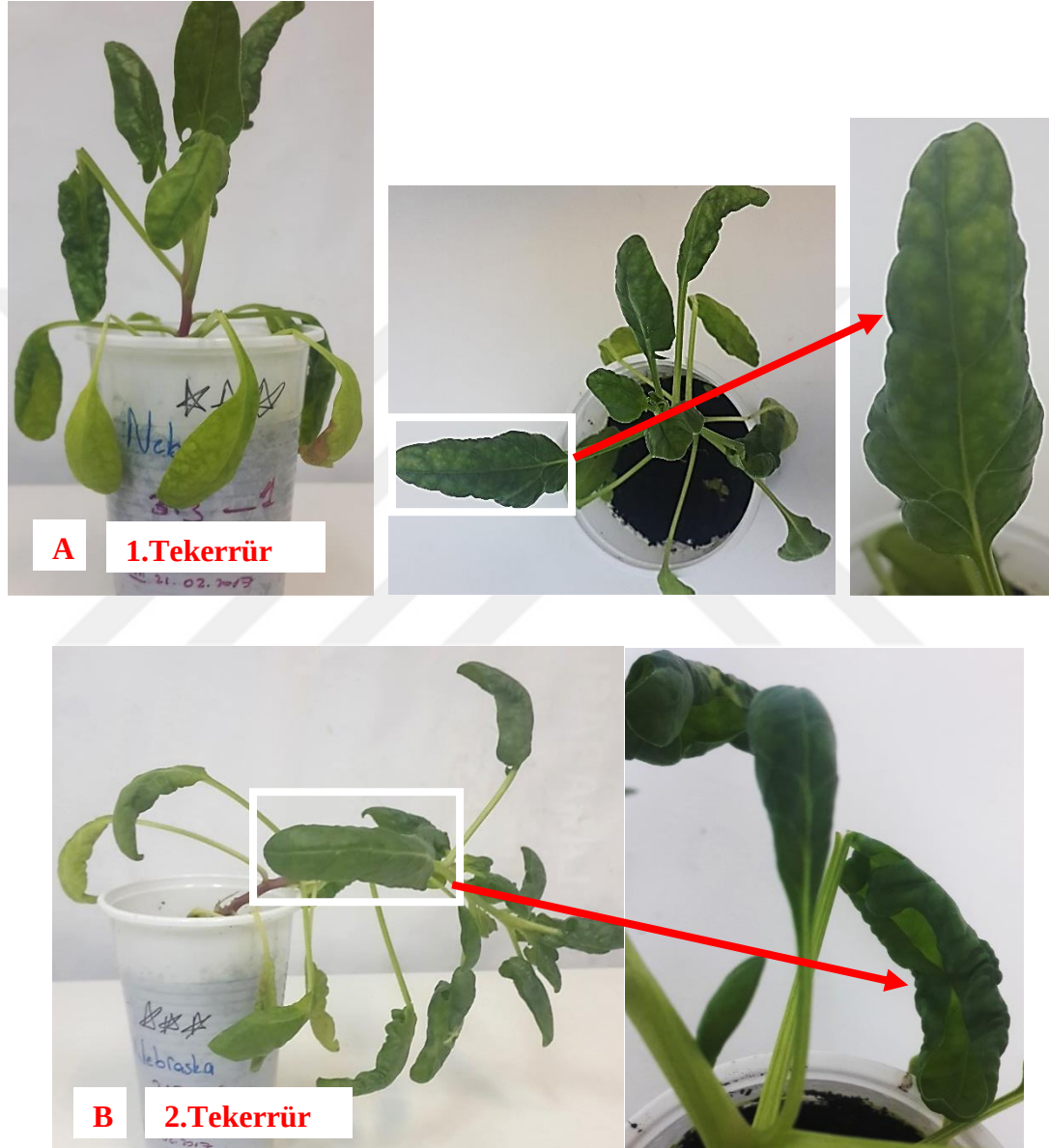
Şekil 4.30. BVQ izolatlarının inokulasyonu sonucu *Patellifolia patellaris* bitkisinin virüs inokulasyonu yapılan yaprağın uç kısmındaki damarlarındaki renk açılması ve belirginleşme (A) ve üst yapraklarda oluşan hafif kıvrılmaların görünümü (B)

Spinacia oleraceae cv. Nebraska bitkilerine BVQ izolatlarının mekanik olarak inokulasyonu sonrasında ise, 4 hafta sonra virüs-inokule edilen yapraklarda hafif kloroz meydana gelirken, virüs-inokulasyonu yapılmayan üst yapraklarda bombeleşme oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca, YZT-313Q izolatının inokulasyonu sonrası bu belirtilere ek olarak virüs-inokule edilen yapraklarda hafif renk açılması şeklinde belirtili oluşumu da dikkat çekmiştir (Şekil 4.31; Tablo 4.12).



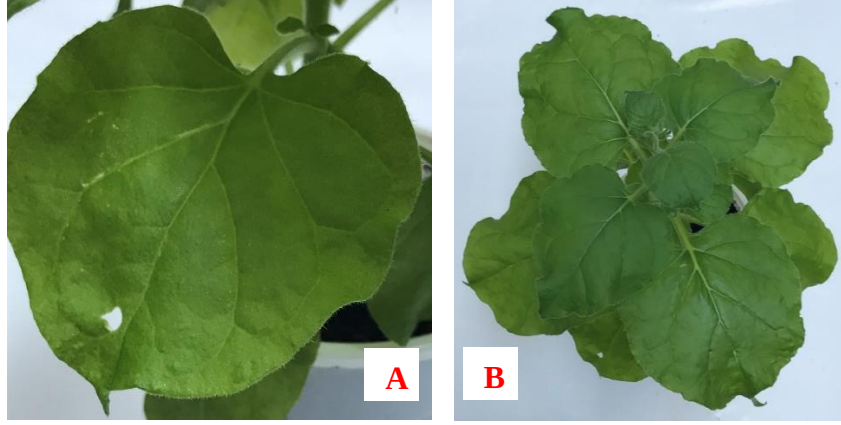
Şekil 4.31. YZT-313Q izolatının inokulasyon sonrası *S. oleraceae* cv. Nebraska bitkisinin virüs inokule edilen yapraklarında oluşturduğu hafif kloroz ve bombe (A) ile virüs-inokule edilmeyen yapraklarında gözlenen bombe belirtisi (B) ve bu bitkinin genel görünümü (C)

Diğer taraftan, YZT-313Q izolatu ile inokule edilen ve yaklaşık 7 ay süre ile iklim odasında tutulan ıspanak bitkilerine ait tekerrürler incelendiğinde; yapraklarda saptanan mozayik ve hafif kloroz oluşumuna ilaveten, bu yaprakların kıvrılarak formunu yitirdikleri hatta tekerrür 2’de içe doğru kıvrıldığı gözlenmiştir (Şekil 4.32; Tablo 4.12).



Şekil 4.32. YZT-313Q izolatinın inokulasyonundan yedi ay sonra *S. oleraceae* cv. Nebraska’nın 1. (A) ve 2. tekerrüründeki (B) bitkilerin genel görünümü

Nicotiana benthamiana bitkilerine BVQ izolatlarının mekanik inokulasyonu sonrasında, izolatlara ait tekerrürlerin hiçbirisinde gerek virüs-inokule edilen, gerekse edilmeyen üst yapraklarında simptom oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.33; Tablo 4.12).



Şekil 4.33. BVQ inokulasyonu sonrası *Nicotiana benthamiana* bitkisinin virüs inokule edilen yaprağı (A) ile inokulasyon yapılmayan üst yapraklarının genel görünümü (B)

4.1.1.5.1. Beet virus Q İzolatları ile İnokule Edilen Farklı Test Bitkilerinde Yürütülen Moleküler Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

Bu tez çalışmasının proje metninde olmamasına rağmen; iki farklı BVQ izolatu (EDR-128Q ve YZT-313Q) ile inokule edilen, beş test bitkisinin (*C. quinoa*, *B. macrocarpa*, *P. patellaris*, *N. benthamiana* ve *S. oleraceae* cv. Nebreska), hem virüs inokule edilen, hem de virüs inokulasyonu yapılmayan üst yapraklarından örnekleme yapılmıştır. Böylelikle, test bitkilerinde gözlenen lokal ve/ya da sistemik semptomların BVQ enfeksiyonundan kaynaklanıp kaynaklanmadığını net olarak ortaya konulması amaçlanmıştır. Ancak, BVQ'nun ticari antiserumunun olmaması ve de moleküler çalışmaların maliyetinin oldukça yüksek olması nedeniyle, iki BVQ izolatının mekanik olarak aktarıldığı beş farklı test bitkisine ait tekerrürlerin tamamında, RNA izolasyon çalışmaları gerçekleştirilememiştir. Bununla birlikte; izolat ayırımı yapılmaksızın, test bitkilerinde oluşan semptomlar dikkate alınarak, her bir test bitkisine ait birer tekerrür seçilmiş ve alınan örneklerden RNeasy RNA izolasyon kiti (Qiagen) kullanılarak Yöntem 3.2.1.4'de belirtildiği şekilde toplam RNA'lar ekstrakte edilmiştir.

A. Beet virus Q'nun RNA-1 Segmenti Üzerinde Yürütülen Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

Moleküler çalışmalara öncelikle BVQ'nun RNA-1 segmentine odaklanılarak başlanılmıştır. Bu amaçla, RNA-1'ine spesifik primerler kullanılarak (Şekil 4.34) yürütülen RT-PCR çalışması (Qiagen) sonucunda; incelenen test bitkilerinin tamamında hem virüs-inokule edilen yaprakları, hem de virüs inokule edilmeyen üst

BVQ RNA-1 (6003 nt)

GenBank: AJ223596.1
FASTA

Link To This View | Feedback

Find: [Search Bar] Tools Tracks ?

(U) BLAST Results for: BVQ RNA-1

Query_166777

AJ223596.1: 2.4K..3.0K (640bp)

Tracks shown: 3/6

Sekans analizi yapılan bölge

101

Tablo 4.13. Test bitkilerinin virüs inokule edilen ve edilmeyen yapraklarında Beet virus Q'nun bulunma durumunun RNA-1'ine spesifik primerler ile RT-PCR yöntemi ile araştırılması

Test bitkileri	Çalışmada kullanılan bitki kısmı	İzolat Adı	RT-PCR RNA-1
<i>B. macrocarpa</i>	BVQ-inokule edilen yaprak	EDR-128Q	+
	BVQ-inokule edilmeyen üst yapraklar	EDR-128Q	+
<i>C. quinoa</i>	BVQ-inokule edilen yaprak	YZT-313Q	+
	BVQ-inokule edilmeyen üst yapraklar	YZT-313Q	+
<i>N. benthamiana</i>	BVQ-inokule edilen yaprak	YZT-313Q	+
	BVQ-inokule edilmeyen üst yapraklar	YZT-313Q	+
<i>P. patellaris</i>	BVQ-inokule edilen yaprak	EDR-128Q	+
	BVQ-inokule edilmeyen üst yapraklar	EDR-128Q	+
<i>S. oleraceae</i> cv. Nebraska	BVQ-inokule edilen yaprak	YZT-313Q	+
	BVQ-inokule edilmeyen üst yapraklar	YZT-313Q	+

Yürütülen RT-PCR çalışması sonucunda; incelenen test bitkilerinin tamamında (*C. quinoa*, *B. macrocarpa*, *P. patellaris*, *N. benthamiana* ve *S. oleraceae* cv. Nebraska) BVQ'nun sistemik enfeksiyon oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.13).

Daha sonra, *B. macrocarpa*, *C. quinoa*, *N. benthamiana*, *P. patellaris* ve *S. oleraceae* cv. Nebraska bitkilerinin virüs inokulasyonu yapılmayan üst yapraklarında BVQ'nun varlığının kesin olarak teyidi amacıyla; seçilen bu örneklerin RT-PCR sonrası elde edilen PCR ürünleri sekans analizlerinin yapılması için Genoks (Ankara) firmasına gönderilmiştir. Sekans analizi sonrası, 'Codon Code Aligner' programı kullanılarak test bitkilerinden elde edilen BVQ izolatlarının RNA-1'ine ait ileri ve geri yönde elde edilen ham sekans verileri hizalanmış ve böylelikle konsensus nükleotit dizileri (Ek 5) ve bu dizilerden de herbir izolata ait aa dizileri (Ek 6) elde edilmiştir.

Test bitkilerinden elde edilen BVQ izolatlarına ait RNA-1'in sekans analizi yapılan bölgenin uzunluğu yaklaşık 279-292 baz kadardır. GenBank kayıt numarası AJ223596 olan BVQ izolatının 2526-2817 nt.'leri arasındaki bölge Şekil 4.35'de gösterilmiştir. Sonrasında, NCBI'daki BLASTn algoritması kullanılarak farklı test bitkilerinden elde edilen BVQ izolatlarının kendi aralarındaki benzerlikleri araştırılmıştır. Buna göre; EDR-128Q izolatının inokulasyonu sonucu *P. patellaris*'den elde edilen BVQ izolatı ile YZT-313Q izolatının aktarımı ile *N. benthamiana*'dan elde edilen BVQ izolatının nükleotit düzeyinde %100 benzer oldukları görülmüştür. Diğer taraftan; EDR-128Q izolatı ile inokule edilen *B. macrocarpa* ve *P. patellaris* bitkilerinden elde edilen BVQ izolatları ise birbirleri ile %99.64 benzer bulunurken; YZT-313Q izolatının inokulasyonu sonucu *S. oleraceae*, *N. benthamiana* ve *C. quinoa*'dan elde edilen BVQ izolatlarının ise yüksek oranda

(sırasıyla %99.32-%99.64) nükleotit benzerliği gösterdikleri tespit edilmiştir (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. Mekaniksel inokulasyonla farklı test bitkilerine aktarılan ve bu bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının nükleotit düzeyinde gösterdikleri benzerlik oranları (%)

İzolatın elde edildiği bitki	İnokule edilen izolat	No	1	2	3	4	5
<i>S. oleraceae</i>	YZT-313Q	1	*	99.66	99.32	99.64	99.64
<i>B. macrocarpa</i>	EDR-128Q	2	99.66	*	99.66	99.64	99.64
<i>C. quinoa</i>	YZT-313Q	3	99.32	99.66	*	99.29	99.28
<i>P. patellaris</i>	EDR-128Q	4	99.64	99.64	99.29	*	100
<i>N. benthamiana</i>	YZT-313Q	5	99.64	99.64	99.28	100	*

Farklı test bitkilerinden elde edilen BVQ izolatının kısmi dizi analizi yapılan RNA-1'rine ait bölgede farklılık belirlenen nükleotit pozisyonları Tablo 4.15'de verilmiştir. Almanya'ya ait BVQ izolatı (AJ223596) referans alınarak oluşturulan bu tablo ile, test bitkilerinden elde edilen BVQ izolatlarının maksimum üç pozisyonda birbirlerinden farklılık sergilediği belirlenmiştir. Alman izolatı ile kıyaslandığında ise, bu farklılığın maksimum altı nükleotit kadar olduğu görülmüştür (Tablo 4.15; Ek 5).

Tablo 4.15. Mekaniksel inokulasyonla farklı test bitkilerine aktarılan ve bu bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının kısmi sekans analizi yapılan RNA-1 segmentinde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonları

İzolatın elde edildiği bitki/ Genbank Kayıt No	İnokule edilen izolat	Nükleotit pozisyonları					
		2434	2461	2553	2586	2665	2687
AJ223596 (<i>Beta vulgaris</i>)		C	T	T	A	C	T
<i>S. oleraceae</i>	YZT-313Q	T	.	C	G	T	.
<i>B. macrocarpa</i>	EDR-128Q	T	.	C	G	T	A
<i>C. quinoa</i>	YZT-313Q	T	A	C	G	T	A
<i>P. patellaris</i>	EDR-128Q	T	.	C	.	T	-
<i>N. benthamiana</i>	YZT-313Q	T	.	C	.	T	-

Bu çalışmada elde edilen BVQ izolatlarının RNA-1'e ait diziler dünya izolatları ile BLASTn ile kıyaslandığında; beş test bitkisinde de elde edilen BVQ izolatlarının nükleotit düzeyinde en yüksek genetik benzerliği %98.29-%98.93 arasında değişen oranlar ile Alman izolatı (AJ223596) ile gösterdikleri belirlenmiştir (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Farklı test bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının kısmi sekans analizi yapılan RNA-1'ine ait bölgenin dünya izolatları ile nükleotit düzeyinde benzerlik oranları (%)

İzolat No/İzolatın Elde Edildiği Bitki	NCBI kayıt no*	İzolat adı**	Orjin	Benzerlik oranı (%)
YZT 313Q	AJ223596	-	Almanya	98.29
<i>S. oleraceae</i> cv. Nebreska	KX578035	bnq-9	Fas	98.80
	DQ309444	-	Polonya	96.10
EDR 128Q	AJ223596	-	Almanya	98.63
<i>B. macrocarpa</i>	KX578035	bnq-9	Fas	98.80
	DQ309444	-	Polonya	96.59
YZT 313Q	AJ223596	-	Almanya	98.29
<i>C. quinoa</i>	KX578035	bnq-9	Fas	98.40
	DQ309444	-	Polonya	96.59
EDR 128Q	AJ223596	-	Almanya	98.93
<i>P. patellaris</i>	KX578035	bnq-9	Fas	99.20
	DQ309444	-	Polonya	96.94
YZT 313Q	AJ223596	-	Almanya	98.92
<i>N. benthamiana</i>	KX578035	bnq-9	Fas	99.20
	DQ309444	-	Polonya	96.92

*BLASTn'e göre en yüksek benzerliğe sahip üç BVQ izolatı verilmiştir, **: Bilinmiyor

Farklı test bitkilerinden elde edilen BVQ izolatının kısmi dizi analizi yapılan RNA-1'ine ait bölgede farklılık belirlenen aa pozisyonları Tablo 4.17'de gösterilmiştir. Almanya'ya ait BVQ izolatı (AJ223596) referans alınarak oluşturulan bu çizelgede, test bitkilerinden elde edilen BVQ izolatlarının maksimum üç pozisyonda yer alan aa'lerde birbirlerinden farklılık sergilediği tespit edilmiştir. Alman izolatı ile kıyaslandığında ise bu farklılığın maksimum dört aa olduğu görülmüştür (Tablo 4.17; Ek 6).

Tablo 4.17. Mekaniksel inokulasyonla farklı test bitkilerine aktarılan ve bu bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının kısmi sekans analizi yapılan RNA-1 segmentinde farklılık belirlenen amino asit pozisyonları

İzolatın elde edildiği bitki/ Genbank Kayıt No	İnokule edilen izolat	aa pozisyon numaraları			
		821	852	863	897
CAA11457 (<i>Beta vulgaris</i>)		C	I	D	I
<i>Spinacia oleraceae</i>	YZT-313Q	.	T	G	F
<i>Beta macrocarpa</i>	EDR-128Q	.	T	G	.
<i>Chenopodium quinoa</i>	YZT-313Q	*	T	G	.
<i>Patellifolia patellaris</i>	EDR-128Q	.	T	.	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	YZT-313Q	.	T	.	-

Tablo 4.18. Mekaniksel inokulasyonla farklı test bitkilerine aktarılan ve bu bitkilerden izole edilen Beet virus Q izolatlarının kısmi sekans analizi yapılan RNA-1'ine ait bölgenin dünya izolatları ile aa düzeyinde benzerlik oranları

İzolat No/ İzolatın Elde edildiği Bitki	NCBI kayıt no*	Orjin	Benzerlik oranı (%)
YZT 313Q <i>S. oleraceae</i> cv. Nebreska			
EDR 128Q <i>B. macrocarpa</i>			
YZT 313Q <i>C. quinoa</i>	CAA11457	Almanya	100
EDR 128Q <i>P. patellaris</i>	AQP02123	Fas	100
YZT 313Q <i>N. benthamiana</i>	ABC33804	Polonya	94.12

*BLASTp'e göre en yüksek benzerliğe sahip üç BVQ izolatı verilmiştir

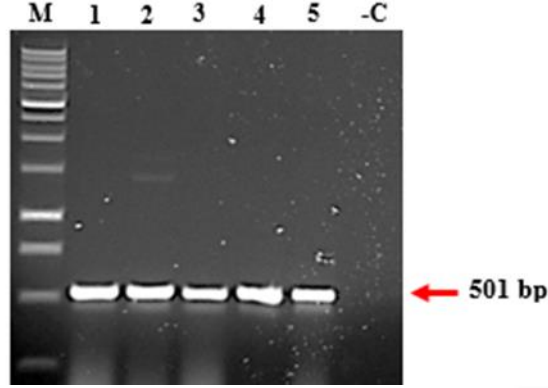
Tablo 4.18'de, BVQ RNA-1'e ait elde edilen diziler dünya izolatları ile BLASTp analizi ile kıyaslandığında; *S. oleraceae*, *B. macrocarpa*, *C. quinoa*, *P. patellaris* ve *N. benthamiana*'dan elde edilen BVQ izolatlarının sırasıyla, Alman izolatı (CAA11457), Fas izolatı (AQP02123) ve Polonya izolatı (ABC33804) (%94.12 ile %100) ile en yüksek oranlarda amino asit benzerliğini gösterdikleri saptanmıştır.

Böylelikle, bu çalışma sonucunda; hem moleküler olarak, hem de dizi analizleri gerçekleştirilerek BVQ izolatlarının beş farklı test bitkisinde sistemik enfeksiyon oluşturduğu saptanmıştır. Şu ana kadar literatürde, *C. quinoa* hariç, hiçbir test bitkisinde BVQ'nun uzun mesafelere taşınması konusunda bir rapor bulunmamaktadır. Elde edilen bu sonuç, dört farklı test bitkisinde (*B. macrocarpa*, *N. benthamiana*, *P. patellaris* ve *S. oleraceae* cv. Nebraska) BVQ'nun sistemik enfeksiyon oluşturması ile ilgili olarak ilk kayıt niteliği taşımaktadır.

B. Beet virus Q'nun RNA-2 Segmenti Üzerinde Yürütülen Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

Daha önce yürütülen bir reverse genetik çalışmasında, BVQ RNA'larının *C. quinoa* bitkisinde uzun mesafelere taşınabildiği belirtilmiş ve bu taşınmada ise CP-RT bölgesinin muhtemelen sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Koenig et al., 1998; Crutzen et al., 2009a). Bu sebeple, bu tez çalışmasının bir sonraki basamağında; beş test bitkisinin sistemik yapraklarından izole edilen RNA'lar kullanılarak, Yöntem 3.2.1.8'de belirtildiği şekilde RT-PCR yöntemi ile BVQ'nun RNA-2'si üzerinde yer

alan CP bölgesinin çoğaltılması yoluna gidilmiştir. Yürütülen RT-PCR çalışması sonucunda; incelenen test bitkilerinin tamamında, BVQ'nun CP gen bölgesine spesifik beklenen büyüklükte (501 bp) ürün elde edilmiştir (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. Test bitkilerinin virus inokulasyonu yapılmayan üst yapraklarında BVQ RNA-2'si üzerinde yer alan CP bölgesinin RT-PCR ile çoğaltılması [M: 1Kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific), 1: EDR-128Q izolatu ile inokule edilen *B. macrocarpa* bitkisine ait üst yaprak (virüs inokule edilmeyen), 2: YZT-313Q izolatu ile inokule edilen *C. quinoa* bitkisine ait üst yaprak, 3: YZT-313Q izolatu ile inokule edilen *N. benthamiana* bitkisine ait üst yaprak, 4: EDR-128Q izolatu ile inokule edilen *P. patellaris* bitkisine ait üst yaprak, 5: YZT-313Q izolatu ile inokule edilen *S. oleraceae* bitkisine ait üst yaprak, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

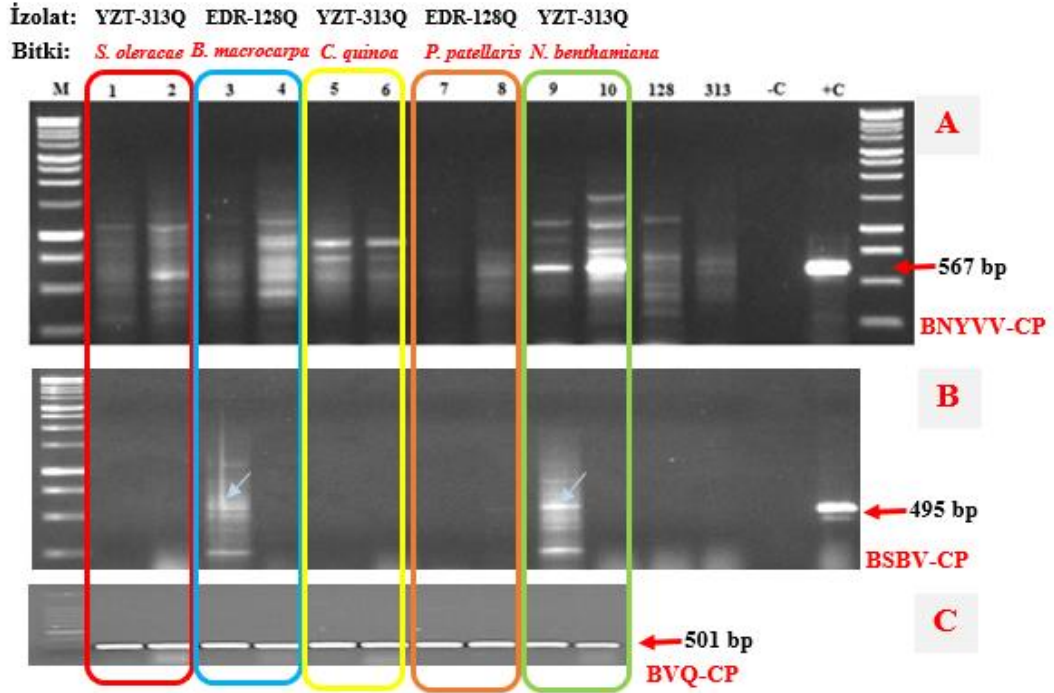
Beş farklı test bitkisinin sistemik yapraklarına ait PCR ürünlerinin dizi analizleri sonrası, bu bitkilerden elde edilen BVQ izolatlarının CP gen bölgesinin Türkiye'nin farklı bölgelerine ait wild tip izolatlarında olduğu gibi 501 nükleotitten oluştuğu (Ek 7) ve 167 aa içerdiği (Ek 8) tespit edilmiştir. Daha sonra, BVQ izolatlarına ait oluşturulan konsensus diziler BLASTn ve BLASTp algoritmaları uygulanarak gerek birbirleri ile, gerekse NCBI'dan indirilen diğer BVQ izolatları ile karşılaştırılmıştır. Bu analizler sonucunda; hem inokulum kaynağı olarak kullanılan BVQ izolatlarının (EDR-128Q ve YZT-313Q), hem de bu izolatların aktarımı sonrasında test bitkilerinden elde edilen izolatların CP bölgesine ait nükleotit ve aa dizilerinin %100 benzer oldukları belirlenmiştir (Ek 7; Ek 8). Öte yandan; dünya izolatları ile karşılaştırıldıklarında ise en yüksek genetik benzerliği Fransa'ya ait FP71 izolatu ile gösterdikleri (nükleotit: %99.40; aa: %95.78), bunu sırasıyla Almanya'ya ait GT16 izolatu (nükleotit: %99; aa: %95.18) ve Polonya'ya ait ZQcp (nükleotit: %98.60; aa: %95.18) izolatının takip ettiği tespit edilmiştir. Böylelikle, incelenen tüm test bitkilerinde sistemik BVQ enfeksiyonu, RNA-2 segmentinden sentezlenen CP gen bölgesinin elde edilen dizi analizleri ile de teyit edilmiştir.

C. Beet virus Q ile Enfekteli Test Bitkilerinde Diğer Toprak Kökenli Virüslerin Araştırılması Sonucunda Elde Edilen Bulgular

Şu ana kadar incelenen literatürün tamamında, BVQ'nun şeker pancarında genellikle BNYVV ve/ya da BSBV ile birlikte ortak enfeksiyon oluşturduğu belirtilmektedir (Meunier et al., 2003; McGrann et al., 2009; Biancardi and Tamada, 2016). Bu çalışmada test bitkilerinde gözlenen semptomlar ve bu bitkilerde oluşan sistemik BVQ enfeksiyonun tek olarak BVQ'dan kaynaklanıp kaynaklanmadığı sorusunu akla getirmiştir. Bu sebeple; araştırmanın bu basamağında BVQ enfeksiyonu belirlenen test bitkilerinde ortak vektör *P. betae* tarafından taşınan diğer toprak kökenli virüslerin (BNYVV ve BSBV) de araştırılması hedeflenmiştir. Nitekim, BNYVV'nin lokal konukçularında virüsün çoğalması; sistemik konukçularında ise vasküler taşınması için genom segmentlerinden RNA-1 ve RNA-2'nin gerekli olduğu bildirilmektedir (Andika et al., 2005). Bu nedenle; beş farklı test bitkisinde BVQ'nun yanı sıra, BNYVV ve BSBV'nin bulunma durumlarının araştırılmasında her bir virüs türü için CP bölgelerinin çoğaltılması hedeflenmiştir.

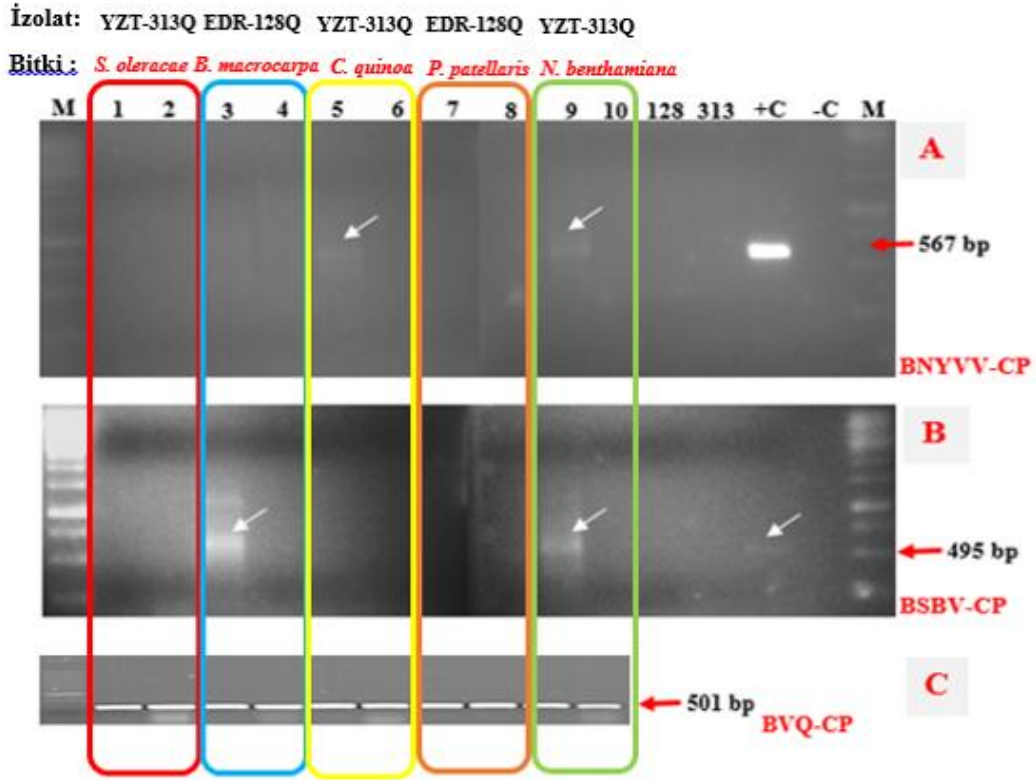
BNYVV ve BSBV için, öncelikle Yöntem 3.2.1.7'de belirtildiği şekilde beş farklı test bitkisininin hem BVQ-inokule edilen, hem de virüs inokulasyonu yapılmayan yapraklarına ait RNA'lar kullanılarak Omniscript RT enzimi (Qiagen) yardımı ile cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Ardından, PCR basamağı ise Phusion High-Fidelity DNA Polymerase (Thermo Scientific) enzimi kullanılarak yürütülmüştür.

PCR sonrası BSBV enfeksiyonuna bakıldığında; inokulum kaynağı olarak kullanılan şeker pancarı kök örneklerinin BSBV ile bulaşık olmadığı görülmüştür (Şekil 4.37-B). Ancak, pozitif kontrole ilaveten, enteresan bir şekilde *B. macrocarpa* ve *N. benthamiana* bitkilerinin sadece BVQ-inokule edilen yapraklarına ait örneklerde gözlenen multiple bant içerisinde 495 bp büyüklüğünde BSBV CP'ine spesifik bantların varlığı dikkat çekmiştir. Bu iki bitkinin sistemik yapraklarında ve diğer üç test bitkisininin ise lokal ve sistemik yapraklarına ait örneklerde ise herhangi bir bant oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.37-B).



Şekil 4.37. Beet virus Q (BVQ)’nun mekanik inokulasyonunda kullanılan şeker pancarı kök örnekleri ile virüs aktarımından sonra test bitkilerinin lokal ve sistemik yapraklarından elde edilen örneklerde BNYVV CP (A), BSBV CP (B) ve BVQ CP (C)’nin RT-PCR yöntemi ile araştırılması [M: 1 Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), her bir test bitkisi için ilk kuyuya virus inokule edilen, ikinci kuyuya ise üst yapraklardan izole edilen RNA’lar kullanılarak elde edilen PCR ürünleri ilave edilmiştir]

Bu örneklerde BNYVV’nin bulunma durumuna bakıldığında ise; pozitif kontrol hariç incelenen örneklerin tamamında, çoklu oluşan bantlar içerisinde zayıf ya da belirgin olarak BNYVV CP’ine spesifik 567 bp büyüklüğünde bant oluşumu tespit edilmiştir (Şekil 4.37-A). Nitekim, çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan örnek bu çalışmaya ait 38 no’lu örnek olup BNYVV izolatlarının CP bölgesinin moleküler karakterizasyonu parçasında kullanılmak amacıyla daha önceden cDNA sentezi gerçekleştirilmiş ve derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Üstelik, bu çalışma ile eş zamanlı olarak viroloji laboratuvarında yürütülen TÜBİTAK projesi (TOVAG 2150495 no’lu) çalışmalarında da BNYVV izolatlarının CP’inin çoğaltılması esnasında benzer durumların yaşanması nedeniyle, bu bölgeye spesifik primerlerin yeniden sentezi gerçekleştirilmiş ve daha sonra durumun tam olarak netleşmesi amacıyla BNYVV ile birlikte BSBV için de, bu çalışmanın cDNA sentezi basamağından itibaren tekrar edilmesine karar verilmiştir.



Şekil 4.38. Beet virus Q (BVQ)’nun mekanik inokulasyonunda kullanılan şeker pancarı kök örnekleri ile test bitkilerinin lokal ve sistemik yapraklarından elde edilen örneklerde BNYVV CP (A), BSBV CP (B) ve BVQ CP (C)’nin RT-PCR yöntemi ile araştırılması (II. Tekrar) [M: 1 Kb DNA ladder(Thermo Fisher Scientific), her bir test bitkisi için ilk kuyuya virus inokule edilen, ikinci kuyuya ise üst yapraklardan izole edilen RNA’lar ile elde edilen PCR ürünleri ilave edilmiştir]

Tekrarlanan çalışma sonucunda; BSBV için bir önceki çalışmaya benzer şekilde, pozitif kontrolde olduğu gibi, *B. macrocarpa* ve *N. benthamiana* bitkilerinin sadece BVQ-inokule edilen yapraklara ait örneklerde BSBV’nin CP bölgesine spesifik 495 bp büyüklüğünde bant oluştuğu görülmüştür (Şekil 4.38-B). BNYVV için ise, inokulum kaynağı olarak kullanılan şeker pancarı örneklerinde (EDR-128Q ve YZT-313Q) herhangi bir PCR ürünü oluşmamış; ancak, *C. quinoa* ve *N. benthamiana* bitkilerinin sadece BVQ-inokulasyonu yapılan yaprak örneklerinde pozitif kontrolle aynı büyüklükte (567 bp) BNYVV CP’inine spesifik zayıf bant oluşumu tespit edilmiştir. Bu iki test bitkisinin sistemik yaprakları ile diğer test bitkilerinin hem lokal, hem de sistemik yapraklarına ait örneklerde ise herhangi bir bant oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.38-A).

BVQ CP’sine ait PCR ürünlerinin jel görüntülerinin incelenmesi sonucunda; beş test bitkisinin virüs-inokule edilen ve virüs- inokule edilmeyen yaprak örneklerinin tamamında 501 bp büyüklüğünde virüsün CP’inine spesifik bant oluşumu gözlenmiştir

(Şekil 4.37-C). Böylelikle, test bitkilerinin hem inokule edilen, hem de üst yapraklarında BVQ enfeksiyonu teyit edilmiştir.

Elde edilen bu sonuç, inokulum kaynağı olan şeker pancarlarında BNYVV ve BSBV'nin muhtemelen çok düşük konstrasyonda bulunması nedeniyle; gerek ELISA testi, gerekse daha hassas bir teknik olan RT-PCR yöntemi ile tespitinin yapılamadığını göstermiştir. Bununla birlikte; bu virüsleri içeren izolatlar bazı test bitkilerine inokule edildiklerinde zaman içerisinde çoğalmış ve bu bitkilerde BVQ ile birlikte lokal enfeksiyona sebep olmuşlardır. Ancak bu virüsler incelenen test bitkilerinde üst yapraklara taşınarak BVQ ile birlikte sistemik enfeksiyon oluşturmamışlardır.

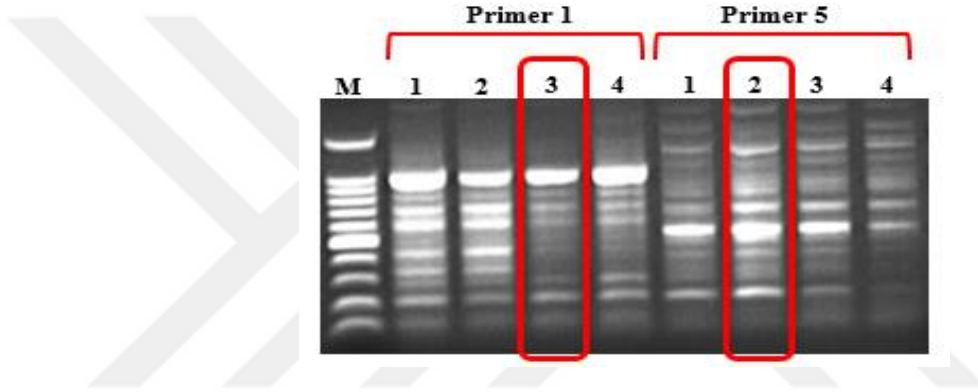
Sonuç olarak; *S. oleraceae* cv. Nebreska ve *P. patellaris* bitkilerinde BVQ'nun tek başına lokal ve sistemik enfeksiyon oluşturduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, BVQ incelenen test bitkilerinden *C. quinoa*'da BNYVV ile; *B. macrocarpa*'da BSBV ile; *N. benthamiana*'da ise hem BNYVV, hem de BSBV ile birlikte lokal enfeksiyon oluşumuna sebep olmuş, ancak bu dört test bitkisinin tamamında sistemik enfeksiyonu BVQ'nun tek başına oluşturduğu belirlenmiştir.

4.1.1.5.2. Test Bitkilerinden Elde Edilen BVQ İzolatlarının Kılıf Protein+ Readthrough Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu

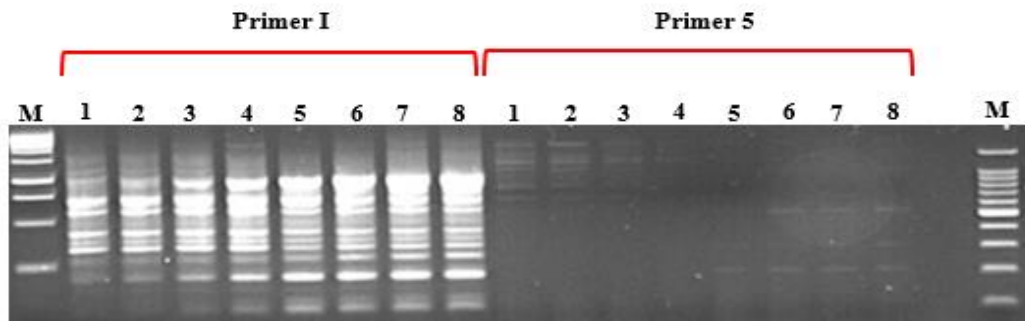
Beet virus Q'nun konukçu çevresi üzerine yürütülen ilk çalışmalarda; konukçu çevresinin oldukça sınırlı olduğu ve sadece *C. quinoa*'nın bu virüsün lokal lezyon konukçusu olduğu bildirilmiştir (Henry et al., 1986; Koenig et al., 1998). İlerleyen zamanlarda, BVQ tarafından *C. quinoa* yapraklarında lokal lezyon oluşumunun ise, muhtemelen tekrarlanan mekanik inokulasyonlar nedeni ile RNA-2 tarafından sentezlenen readthrough (RT) bölgesinde bazı nükleotitlerde tespit edilen delesyonlar (silinme) sonucu olduğu belirtilmiştir (Crutzen et al., 2009b). Eşzamanlı olarak, aynı araştırmacılar, yürüttükleri bir reverse genetik çalışmasında ise, BVQ'nun uzun mesafelere taşınmasının CP-RT bölgesine ait nükleotitlerde delesyon olmadığında gerçekleştiğini göstermişlerdir (Crutzen et al., 2009a).

Çalışmanın bu parçasında, yukarıda özetlenen bilgiler ışığında, ülkemiz pancar üretim alanlarından elde edilen iki BVQ izolatının test bitkilerinde sistemik simptom oluşturmaması nedeniyle; bu bitkilere mekanik aktarım sonrası RNA-2 segmenti üzerinde yer alan CP-RT kod bölgesine ait nükleotitlerde silinme/silinmelerin olup olmadığı sorusunu akla getirmiştir. Bu durumu irdelemek amacıyla; BVQ'nun CP-RT bölgesinin çoğaltılmasında kullanılmak üzere iki primer (primer 1 ve primer 5) çifti

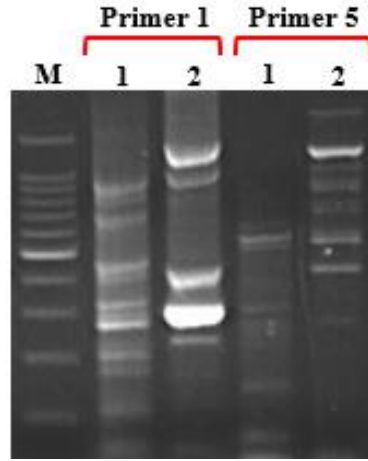
tasarlanmış ve moleküler çalışmalara devam edilmiştir. Bu çalışmada, farklı kitler [HotStarTaq DNA Polymerase (Qiagen), Platinum® Taq DNA Polymerase High-Fidelity (Invitrogen), GoTaq® Flexi DNA Polymerase (Promega), BioMix™ Red (Meridian Bioscience)], enzimler [HotStartTag DNA Polymerase, Platinum® Taq DNA Polymerase High-Fidelity, GoTaq® DNA Polymerase, BioMix™ Red Taq DNA Polymerase], farklı magnezyum konsantrasyonları (0.3 µl, 0.4 µl, 0.5 µl ve 0.6 µl) ve farklı primer bağlanma sıcaklıkları (54°C, 58°C→54°C, 65°C→56°C, 60°C→51°C) denenmesine rağmen, gerek primer 1 çifti (920 bp), gerekse primer 5 çifti (488 bp) ile bu bölgelere spesifik net ürünler elde edilememiş yani, çoklu bant oluşumu giderilememiştir. Bu konuda yürütülen optimizasyon çalışmaları ile ilgili bazı jel görüntüleri Şekil 4.39-Şekil 4.41’de verilmiştir.



Şekil 4.39. Şeker pancarından izole edilen YZT-313Q izolatında PCR (Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity) ile CP-RT bölgesinin belirlenmesine yönelik optimizasyon çalışması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), (primer 1 çifti ve primer 5 çifti için 10 µl’ye ilave edilen MgSO₄ (50 mM) miktarları; 1: 0.3 µl, 2: 0.4 µl, 3: 0.5 µl ve 4: 0.6 µl)].



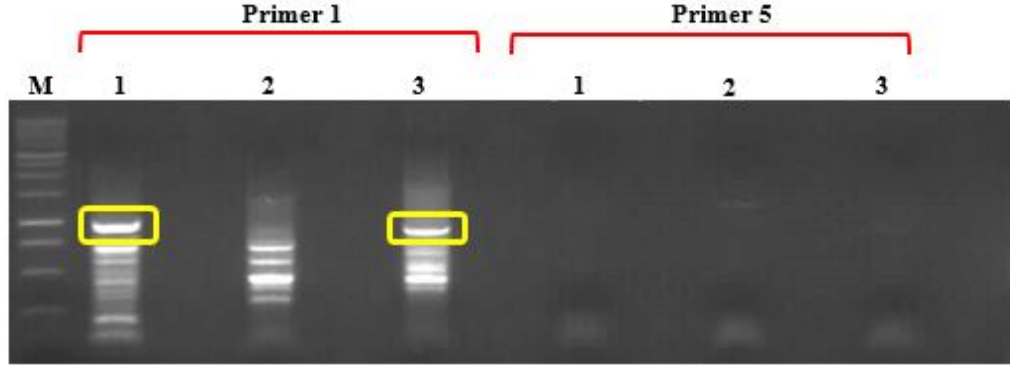
Şekil 4.40. Şeker pancarından izole edilen YZT-313Q izolatının cDNA’ler kullanılarak PCR yöntemi (Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity) ile BVQ’nun CP-RT bölgesinin belirlenmesine yönelik optimizasyon çalışması [M: Marker 1 Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), BNYVV ile enfekteli şeker pancarı bitkisi (1 nolu hücreden 8 nolu hücreye kadar olan hücrelere aynı örnek konulmuş olup bu örneğe farklı sıcaklık değerleri uygulanmıştır. Bu değerler sırasıyla hücrelere göre, 1: 60°C, 2: 59.3°C, 3: 58°C, 4: 56.2°C, 5: 54°C, 6: 52.1°C, 7: 50.8°C, 8: 50°C, M: 100 bp DNA ladder (Promega)]



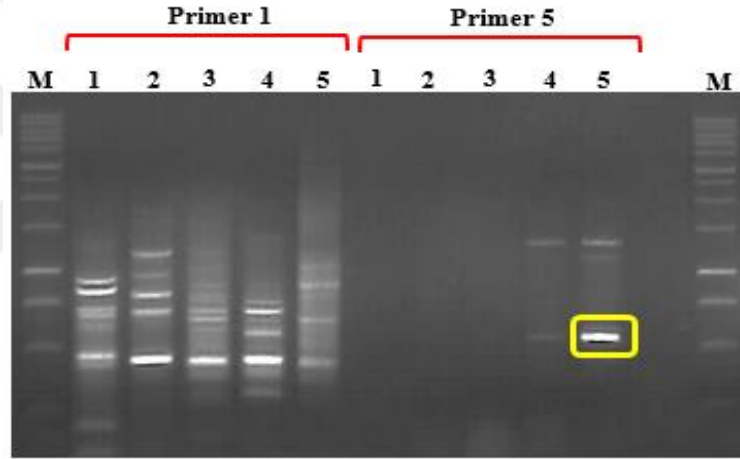
Şekil 4.41. Şeker pancarından izole edilen EDR-128Q izolatu ve YZT-313Q izolatu ile inokule edilen *C. quinoa* bitkisinin üst yapraklarına ait cDNA'lar kullanılarak PCR yöntemi (Gotaq Flexi enzim) ile BVQ'nun CP-RT bölgesinin belirlenmesine yönelik optimizasyon çalışması [M: 100 bp DNA ladder (Promega), Primer 1 çifti (1: 128 ve 2: *C. quinoa*); Primer 5 çifti (1: 128 ve 2: *C. quinoa*)]

Bu çalışmanın ileri aşamasında, sekans analizi için üç örnek seçilerek (pancardan izole edilen YZT-313Q izolatu, YZT-313Q izolatu ile inokule edilen *C. quinoa* ve *N. benthamiana* bitkilerinin sistemik yaprak örneklerine ait cDNA), bu örneklerde hem primer 1 çifti, hem de primer 5 çifti için Platinum *Taq* DNA Polymerase High Fidelity enzimi kullanılarak PCR çalışması yürütülmüştür. PCR ürünlerinin jel görüntüleme cihazında incelenmesi sonucunda; primer 1 çiftine ait örneklerin tamamında spesifik olmayan çoklu bant oluşumu gözlenirken, primer 5 çiftine ait örneklerde ise belirgin bir bant oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.42). Bununla birlikte; iki örnekte (Şeker pancarından izole edilen YZT-313Q izolatu ve bu izolatu inokule edildiği *N. benthamiana*) primer 1 çifti için beklenen bant büyüklüğü olan 920 bp'e yakın büyüklükte (~980 bp) oluşan belirgin bant bisturi yardımı ile kesilerek, jelden ekstrakte edilmiştir (Şekil 4.42).

Eşzamanlı olarak, aynı kitin kullanımı ile Primer 5 çifti için PCR çalışmalarına farklı örnekler ilave edilerek devam edilmiş ve EDR-128 izolatu ile inokule edilen *C. quinoa* ve *P. patellaris* bitkilerinin sistemik yapraklarına ait örneklerde spesifik olmayan çoklu bant oluşumu tespit edilmiştir (Şekil 4. 43). Sonrasında, *P. patellaris*'e ait Primer 5 çifti için beklenen bant büyüklüğüne (488 bp) yakın büyüklükte oluşan bant (~600 bp) jelden kesilerek, PCR ürünü jelden izole edilmiştir (Şekil 4.43).



Şekil 4.42. Şeker pancarından elde edilen YZT-313Q izolatu ile YZT-313Q izolatu ile inokule edilen *C. quinoa* ve *N. benthamiana* bitkilerinin üst yapraklarına ait cDNA'lar kullanılarak PCR yöntemi ile BVQ'nun CP-RT bölgesinin araştırılması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), Primer 1 çifti (1: YZT-313Q, 2: *C. quinoa*, 3: *N. benthamiana*), Primer 5 çifti (1: 313, 2: *C. quinoa*, 3: *N. benthamiana*)]



Şekil 4.43. Şeker pancarından elde edilen EDR-128Q izolatu ile EDR-128Q izolatu ile inokule edilen *S. oleraceae*, *B. macrocarpa*, *C. quinoa* ve *P. patellaris* bitkilerinin üst yapraklarına ait cDNA'lar kullanılarak PCR yöntemi ile CP-RT bölgesinin araştırılması [M: 1Kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific), Primer 1 çifti ve primer 5 çifti için (1: EDR-128Q, 2: *S. oleraceae*, 3: *B. macrocarpa*, 4: *C. quinoa* ve 5: *P. patellaris*)]

Sonrasında, primer 1 çifti için YZT-313Q ve *N. benthamiana*; primer 5 çifti için ise *P. patellaris* örnekleri seçilerek, PCR ürünlerinden 40'ar µl, önerilen konsantrasyonda (5 pmol) hazırlanan ileri ve geri primerler ile birlikte sekans hizmeti veren bir firmaya (Genoks) gönderilmiştir. Ancak, gelen sonuçlar değerlendirildiğinde, YZT-313Q ve *P. patellaris* örneklerinin şeker pancarının genomik DNA'sı ile %100 oranında, *N. benthamiana* örneğinin ise *N. tomentosiformis*'in 28S ribozomal RNA'sı ile tamamen benzer olduğu tespit edilmiştir.

4.1.2. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV)'ün Kılıf Proteinine Göre Moleküler Karakterizasyonu

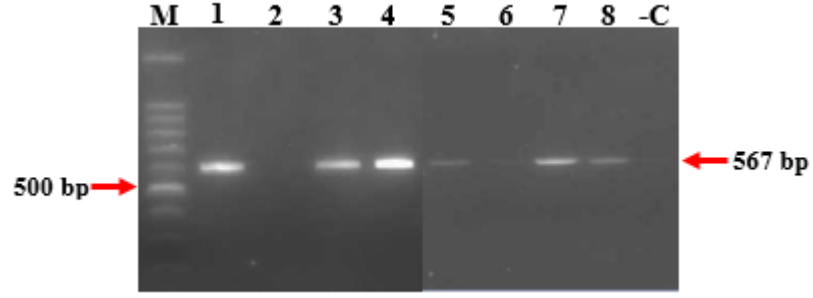
4.1.2.1. BNYVV'nin Kılıf Protein Gen Bölgesinin Çoğaltılması

Tez çalışmasının bu parçasında, Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden (Şekil 4.44) elde edilen BNYVV izolatları Yöntem 3.2.1.7.'de belirtildiği şekilde, BNYVV'nin CP genine spesifik primerler kullanılarak, RT-PCR yöntemi ile analiz edilmiştir.

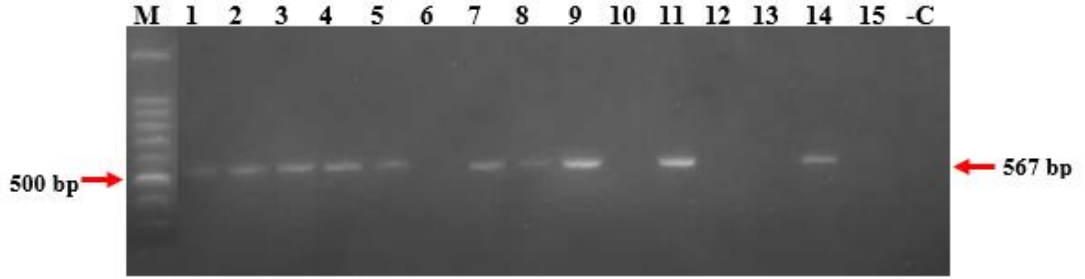


Şekil 4.44. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan Beet necrotic yellow vein virus izolatlarının elde edildiği iller

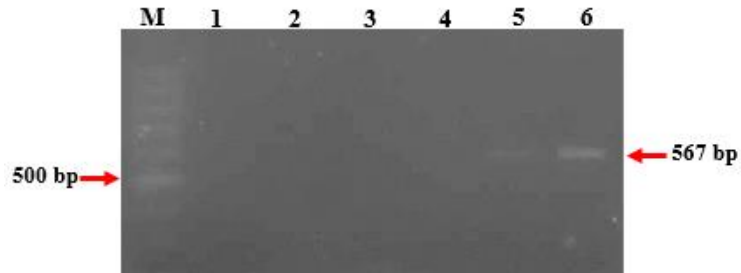
BNYVV'nin CP bölgesinin çoğaltılmasında iki basamaklı RT-PCR yöntemi uygulanmıştır. Proje metninde belirtilen sayı 15 olmakla birlikte, bu sayı arttırılarak seçilen 29 örnekte öncelikle cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Ardından, Phusion High-Fidelity DNA Polymerase (Thermo Scientific) enzimi ile gerçekleştirilen PCR çalışmaları ile 17 örnekte CP bölgesi için beklenen büyüklük olan 567 bp'de ürün elde edilmiştir (Şekil 4.45-Şekil 4.48). Bu örnekler; Iğdır, Çorum, Edirne, Elazığ, Afyonkarahisar, Konya, Aksaray, Adapazarı, Bursa, Eskişehir, Kütahya, Gaziantep, Erzincan, Yozgat, Ankara, Aksaray ve Kayseri illeri şeker pancarı üretim alanlarına aittir. Ancak, Ankara, Afyonkarahisar, Burdur, Çanakkale, Elazığ, Eskişehir, Konya ve Samsun illerine ait 12 örnekte ise virüsün CP bölgesine spesifik amplifikasyon ürünü gözlenmemiştir.



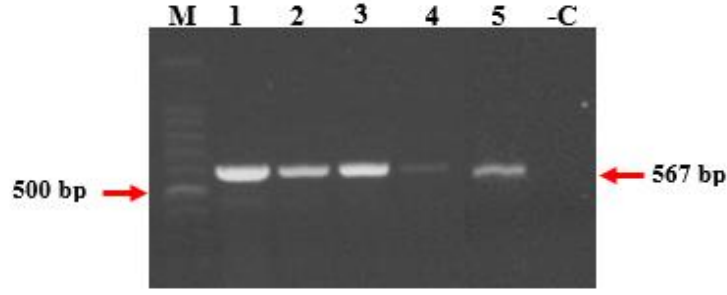
Şekil 4.45. Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf protein bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 57 no'lu izolat-Samsun, 3: 68 no'lu izolat-Çorum, 4: 125 no'lu izolat-Edirne, 5: 44 no'lu izolat-Elazığ, 6: 259 no'lu izolat-Afyonkarahisar, 7: 373 no'lu izolat-Konya, 8: 581 no'lu izolat-Aksaray illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, -C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



Şekil 4.46. Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 68 no'lu izolat-Çorum, 3: 125 no'lu izolat-Edirne, 4: 291 no'lu izolat-Adapazarı, 5: 148 no'lu izolat-Bursa, 6: 150 no'lu izolat-Çanakkale, 7: 225 no'lu izolat-Eskişehir, 8: 602 no'lu izolat-Kütahya, 9: 27 no'lu izolat-Gaziantep, 10: 38 no'lu izolat-Elazığ, 11: 52 no'lu izolat-Erzincan, 12: 57 no'lu izolat-Samsun, 13: 252 no'lu izolat-Afyon, 14: 355 no'lu izolat-Yozgat, 15: 364 no'lu izolat-Konya illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, -C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



Şekil 4.47. Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 164 no'lu izolat-Burdur, 2: 268 no'lu izolat-Afyon, 3: 210- no'lu izolat-Eskişehir, 4: 190 no'lu izolat-Ankara, 5: 259 no'lu izolat (cDNA, 1: 5 seyreltili)-Afyon, 6: 617 no'lu izolat (cDNA 1: 5 seyreltili)-Ankara) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA]



Şekil 4.48. Beet necrotic yellow vein virus'un kılıf proteini bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 61 no'lu izolat-Samsun, 2: 268 no'lu izolat-Çorum, 3: 389 no'lu izolat-Konya, 4: 542 no'lu izolat-Aksaray, 5: 524 no'lu izolat-Kayseri illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, -C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

4.1.2.2. Beet necrotic yellow vein virus İzolatlarının Kılıf Protein Bölgesi

Sekans Analiz Sonuçları

Türkiye'nin farklı illerine ait pancar üretim alanlarından elde edilen 17 BNYVV izolatının kılıf proteinine ait PCR ürünleri, nükleotit dizi analizleri için sekans analizi yapan bir firmaya (Genoks, Ankara) gönderilmiş, ancak Afyonkarahisar iline ait bir örneğin (259 no'lu) dizi analizi iki defa tekrarlanmasına rağmen, düzgün okuma elde edilememiştir. Sonuçta, 15 farklı ile ait 16 BNYVV izolatının her iki yönde baz dizilişleri Sanger Teknolojisine göre elde edilmiştir (Tablo 4.19). Analiz sonrası, 'Codon Code Aligner' programı kullanılarak BNYVV izolatlarının CP bölgesine ait ileri ve geri yönde elde edilen ham sekans dizileri hizalanmış ve konsensus diziler oluşturulmuştur. Bu konsensus nükleotit dizilerinden BNYVV izolatlarına ait aa dizileri elde edilmiştir (Ek10). Daha sonra, Türkiye'nin farklı lokasyonlarına ait 16 BNYVV izolatının CP bölgesine ait PCR ürünlerinin nükleotit dizileri OM323309-OM323324 numaraları altında GenBank'a kayıt edilmiştir.

Bu çalışmada, BNYVV izolatlarının dizi analizi yapılan bölge 567 nükleotit uzunluğunda olup, CP bölgesinin tamamını içermektedir (Ek 9). Ardından, BNYVV izolatlarına ait bu konsensus diziler hem birbirleri ile, hem de NCBI'dan indirilen diğer BNYVV izolatlarına ait CP gen bölgesi dizi verileri ile BLAST algoritması ile analiz edilmiştir. Elazığ (ELZ-44), Çorum (CRM-68), Bursa (BRS-148), Adapazarı (ADP-291), Kayseri (KYS-527), Kütahya (KTY-602), Samsun (SMS-61), Konya (KNY-359 ve KNY-373), Edirne (EDR-125), Ankara (ANK-617), Eskişehir (ESK-225), Yozgat (YZT-355), Aksaray (AKS-581), Iğdır (IGR-9) ve Erzincan (ERC-52) illeri şeker pancarı üretim alanlarına ait, toplam 16 BNYVV izolatının CP bölgesinin baz dizileri

birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Buna göre; ELZ-44, CRM-68, BRS-148, ADP-291, KYS-527 ve KTY-602 izolatlarının kendi aralarında; EDR-125, ESK-225, YZT-355 ve KTY-602 izolatlarının birbirleriyle; IGR-9 ile ERC-52 izolatlarının ise yine kendi aralarında CP genine göre nükleotit düzeyinde %100 benzer oldukları belirlenmiştir. Diğer izolatların ise nükleotit düzeyinde birbirleriyle yüksek oranda (%98.41-%99.82) benzerlik gösterdikleri saptanmıştır (Tablo 4. 19).

Türkiye'nin farklı bölgelerine ait pancar üretim alanlarından elde edilen 16 BNYVV izolatının CP bölgesinde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonları Tablo 4.20'de gösterilmiştir. Bu tabloya göre; ülkemize ait BNYVV izolatının baz dizileri birbirine benzemekle birlikte, maksimum on iki nükleotitte (% 2.1) varyasyon olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.20; Ek 9). Diğer izolatlardan en fazla farklılık sergileyen izolatların Türkiye'nin doğu bölgesine ait IGR-9 ve ERC-52 izolatlarında olması dikkat çekmiştir. Bahsedilen bu iki BNYVV izolatının en yüksek genetik benzerliği %98.77 oran ile EDR-125, ESK-225, YZT-355 ve AKS-581 izolatları ile gösterdiği saptanmıştır (Tablo 4.20).

Tablo 4.19. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein genine göre nükleotit düzeyinde birbirleriyle göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)

İzolat adı	No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
IGR-9	1	*	98.59	100	98.59	98.59	98.77	98.59	98.77	98.59	98.77	98.59	98.77	98.59	98.59	98.41	98.59
ELZ-44	2	98.59	*	98.59	99.65	100	99.82	100	99.82	100	99.82	99.65	99.82	100	99.65	99.82	100
ERC-52	3	100	98.59	*	98.59	98.59	98.77	98.59	98.77	98.59	98.77	98.59	98.77	98.59	98.59	98.41	98.59
SMS-61	4	98.59	99.65	98.59	*	99.65	99.82	99.65	99.82	99.65	99.82	99.65	99.82	99.65	99.65	99.47	99.65
CRM-68	5	98.59	100	98.59	99.65	*	99.82	100	99.82	100	99.82	99.65	99.82	100	99.65	99.82	100
EDR-125	6	98.77	99.82	98.77	99.82	99.82	*	99.82	100	99.82	100	99.82	100	99.82	99.82	99.65	99.82
BRS-148	7	98.59	100	98.59	99.65	100	99.82	*	99.82	100	99.82	99.65	99.82	100	99.65	99.82	100
ESK-225	8	98.77	99.82	98.77	99.82	99.82	100	99.82	*	99.82	100	99.82	100	99.82	99.82	99.65	99.82
ADP-291	9	98.59	100	98.59	99.65	100	99.82	100	99.82	*	99.82	99.65	99.82	100	99.65	99.82	100
YZT-355	10	98.77	99.82	98.77	99.82	99.82	100	99.82	100	99.82	*	99.82	100	99.82	99.82	99.65	99.82
KNY-373	11	98.59	99.65	98.59	99.65	99.65	99.82	99.65	99.82	99.65	99.82	*	99.82	99.65	99.65	99.47	99.65
AKS-581	12	98.77	99.82	98.77	99.82	99.82	100	99.82	100	99.82	100	99.82	*	99.82	99.82	99.65	99.82
KTY-602	13	98.59	100	98.59	99.65	100	99.82	100	99.82	100	99.82	99.65	99.82	*	99.65	99.82	100
ANK-617	14	98.59	99.65	98.59	99.65	99.65	99.82	99.65	99.82	99.65	99.82	99.65	99.82	99.65	*	99.47	99.65
KNY-359	15	98.41	99.82	98.41	99.47	99.82	99.65	99.82	99.65	99.82	99.65	99.47	99.65	99.82	99.47	*	99.82
KYS-527	16	98.59	100	98.59	99.65	100	99.82	100	99.82	100	99.82	99.65	99.82	100	99.65	99.82	*

Tablo 4.20. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen BNYVV izolatlarının kılıf protein gen bölgesinde farklılık gözlenen nükleotit pozisyonları

CP Grubu	İzolat Adı	Nükleotit Pozisyon Numaraları*																	
		50	72	75	174	184	207	239	243	249	273	304	308	324	339	354	372	376	
A	A/B17/E12/UF79	A	C	T	C	A	C	T	C	A	C	G	G	A	T	G	C	A	
A	ELZ-44/CRM-68/BRS-148/ADP-291/KYS-527/KTY-602	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
A	SMS-61	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
A	KNY-359	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
A	KNY-373	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
A	ANK-617	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
A	HUK3/FAH/SPC/EDR-125/ESK-225/YZT-355/AKS-581	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
A (P)	Kas3	G	.	.	.	.	.	.	.	.	T	A	.	.	C	.	.	.	
A (P)	IGR-9/ERC-52	G	.	.	.	.	.	.	.	.	T	A	.	G	C	.	.	.	
B (Germany)	GM/G1/CX1	.	T	.	.	T	T	.	T	.	T	.	A	.	.	A	T	.	
B (J)	S12/ZYCP-4	.	T	.	A	T	T	C	T	G	.T	.	A	.	.	A	T	C	
B (C)	CH7	.	T	.	A	T	T	.	T	G	.T	.	A	.	.	A	T	C	

Tablo 4.20. (Devam)

CP Grubu	İzolat Adı	Nükleotit Pozisyon Numaraları															
		384	408	414	420	426	429	438	441	456	477	483	492	501	516	519	545
A	A/B17/E12/UF79	C	C	T	T	T	T	C	T	G	G	A	T	G	G	G	G
A	ELZ-44/CRM-68/BRS-148/ADP-291/KYS-527/KTY-602	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A
A	SMS-61	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.
A	KNY-359	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A
A	KNY-373	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A	ANK-617	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A	HUK3/FAH/SPC/EDR-125/ESK-225/YZG-355/AKS-581	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A (P)	Kas3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.
A (P)	IGR-9/ERC-52	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.G	A	.
B (Germany)	GM/G1/CX1	T	T	.	C	.	.	T	C	A	A	.	C	A	C	A	.
B (J)	S12/ZYCP-4	T	T	.	C	.	C	T	C	A	A	.	C	.	C	.	.
B (C)	CH7	T	T	.	C	.	C	T	C	A	A	G	C	.	C	A	.

*Nokta sembolü referans izolat ile aynı nükleotidi içerdiğini göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen BNYVV izolatlarının CP gen bölgesi dünya izolatları ile nükleotit düzeyinde karşılaştırıldığında; ülkemize ait BNYVV izolatlarının iki farklı gruba ayrıldıkları görülmüştür. Buna göre; ilk grupta yer alan iki izolat olan IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının, A (P) tipi CP'sine sahip Çin, Fransa ve İran'a ait bahsedildiği sıraya göre, HXL291CP-1, Pithiviers ve IR-GR1 izolatlarıyla %99.65 oran ile en yüksek benzerliğe sahip olduğu saptanmıştır. İkinci grupta yer alan diğer 14 BNYVV izolatı ise, A tip karakterde CP içeren İspanya, ABD ve Sırbistan'a ait BNYVV izolatları ile en yüksek benzerlik göstermişlerdir (%99.65-%100). Üstelik, ikinci grup içerisinde yer alan EDR-125, ESK-225, YZT-355 ve AKS-581 izolatlarının ise İspanya, ABD ve Sırbistan pancar üretim alanlarından izole edilen BNYVV izolatları ile baz dizisi bakımından %100 benzer oldukları belirlenmiştir (Tablo 4.21; Ek 9).

Tablo 4.21. Türkiye'ye ait Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein (CP) geni nükleotit dizisi bakımından dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)*

İzolat Adı	NCBI izolat adı	NCBI kayıt no	Benzerlik oranı (%)*	CP tipi	Orjini
IGR-9	HXL291CP-1	KP316581	99.65	A (P)	Çin
ERC-52	Pithiviers	HM117903	99.65	A (P)	Fransa
	IR-GR1	FM210683	99.65	A (P)	İran
ELZ-44					
CRM-68	E12	EU330451	99.82	A	İspanya
BRS-148	UF79	AJ810285	99.82	A	ABD
ADP-291	A-CP	AY920465	99.82	A	Sırbistan
KTH-602					
KYS-527					
	E12	EU330451	99.82	A	İspanya
SMS-61	UF79	AJ810285	99.82	A	ABD
	A-CP	AY920465	99.82	A	Sırbistan
EDR-125	E12	EU330451	100	A	İspanya
ESK-225	UF79	AJ810285	100	A	ABD
YZT-355	A-CP	AY920465	100	A	Sırbistan
AKS-581					
	E12	EU330451	99.82	A	İspanya
KNY-373	UF79	AJ810285	99.82	A	ABD
	A-CP	AY920465	99.82	A	Sırbistan
	E12	EU330451	99.82	A	İspanya
ANK-617	UF79	AJ810285	99.82	A	ABD
	A-CP	AY920465	99.82	A	Sırbistan
	E12	EU330451	99.65	A	İspanya
KNY-359	UF79	AJ810285	99.65	A	ABD
	A-CP	AY920465	99.65	A	Sırbistan

* BLASTn analizine göre en yüksek benzerliğe sahip ilk üç BNYVV izolatı verilmiştir

Beet necrotic yellow vein virus izolatlarının CP bölgesine göre kendi aralarındaki aa düzeyindeki benzerlikleri BLASTp analizi ile irdelenmiş ve bunun

sonucunda; IGR-9 ile ERC-52 izolatlarnn kendi aralarında; ELZ-44, CRM-68, BRS-148, ADP-291, KYS-527 ve KTY-602 izolatlarnn birbirleriyle %100 benzer oldukları saptanmıştır. Diğer taraftan; EDR-125, ESK-225, YZT-355, KNY-373, AKS-581 ve ANK-617 izolatlarnn ise kendi aralarında %100 benzer oldukları görülmüştür. SMS-61 izolatu en yüksek benzerliği %99.47 oran ile EDR-125, ESK-225, YZT-355, KNY-373, AKS-581 ve ANK-617 izolatlarn ile gösterirken, en düşük benzerlik gösterdiği izolatu %97.37 oran ile KNY-359 izolatu olduğu belirlenmiştir. Öte yandan, KNY-359 izolatuinn ise, diğer izolatlarla benzerlik oranının %96.84-%98.42 olması dikkat çekmiştir (Tablo 4. 22; Ek 10).



Tablo 4.22. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein genine göre amino asit düzeyinde birbirleriyle göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)

İzolat adı	No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
IGR-9	1	*	98.40	100	98.40	98.40	98.94	98.40	98.94	98.40	98.94	98.94	98.94	98.40	98.94	96.84	98.40
ELZ-44	2	98.40	*	98.40	98.94	100	99.47	100	99.47	100	99.47	99.47	99.47	100	99.47	98.42	100
ERC-52	3	100	98.40	*	98.40	98.40	98.94	98.40	98.94	98.40	98.94	98.94	98.94	98.40	98.94	96.84	98.40
SMS-61	4	98.40	98.94	98.40	*	98.94	99.47	98.94	99.47	98.94	99.47	99.47	99.47	98.94	99.47	97.37	98.94
CRM-68	5	98.40	100	98.40	98.94	*	99.47	100	99.47	100	99.47	99.47	99.47	100	99.47	98.42	100
EDR-125	6	98.94	99.47	98.94	99.47	99.47	*	99.47	100	99.47	100	100	100	99.47	100	97.89	99.47
BRS-148	7	98.40	100	98.40	98.94	100	99.47	*	99.47	100	99.47	99.47	99.47	100	99.47	98.42	100
ESK-225	8	98.94	99.47	98.94	99.47	99.47	100	99.47	*	99.47	100	100	100	99.47	100	97.89	99.47
ADP-291	9	98.40	100	98.40	98.94	100	99.47	100	99.47	*	99.47	99.47	99.47	100	99.47	98.42	100
YZT-355	10	98.94	99.47	98.94	99.47	99.47	100	99.47	100	99.47	*	100	100	99.47	100	97.89	99.47
KNY-373	11	98.94	99.47	98.94	99.47	99.47	100	99.47	100	99.47	100	*	100	99.47	100	97.89	99.47
AKS-581	12	98.94	99.47	98.94	99.47	99.47	100	99.47	100	99.47	100	100	*	99.47	100	97.89	99.47
KTH-602	13	98.40	100	98.40	98.94	100	99.47	100	99.47	100	99.47	99.47	99.47	*	99.47	98.42	100
ANK-617	14	98.94	99.47	98.94	99.47	99.47	100	99.47	100	99.47	100	100	100	99.47	*	97.89	99.47
KNY-359	15	96.84	98.42	96.84	97.37	98.42	97.89	98.42	97.89	98.42	97.89	97.89	97.89	98.42	97.89	*	98.42
KYS-527	16	98.40	100	98.40	98.94	100	99.47	100	99.47	100	99.47	99.47	99.47	100	99.47	98.42	*

Türkiye'ye ait 16 BNYVV izolatının CP gen bölgesinin 189 aa'den oluştuğu tespit edilmiştir. CP geninin 62, 103 ve 172. pozisyonlarındaki aa'lerdeki farklılıklara göre BNYVV izolatlarının A-tip (T₆₂S₁₀₃L₁₇₂) ve B-tip (S₆₂N₁₀₃F₁₇₂) olarak ayırımı sağlanmaktadır (Miyanishi et al., 1999). Buna göre; bu çalışmada incelenen BNYVV izolatlarının tamamının A-tip CP yapısına sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.23). Bununla birlikte; bazı kaynaklarda, R₁₇T₆₂I₁₀₂S₁₀₃L₁₇₂ şeklinde aa dizilerine sahip BNYVV izolatları P-tip olarak kabul edilmektedir (Kruse et al., 1994, Lennefors et al., 2005). Bu durum gözönüne alındığında; Iğdır iline ait IGR-9 izolatı ile Erzincan iline ait ERC-52 izolatının CP gen bölgelerinde P-tip BNYVV izolatları ile ilişkili aa'leri taşıdıkları [A (P)] tespit edilmiştir. İlave olarak, Samsun iline ait SMS-61 izolatının ise A ya da B-tip BNYVV izolatlarının içerdiği motiflerden farklı olarak alışılmadık T₆₂S₁₀₃F₁₇₂ motifine sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 4.23; Ek 10).

Tablo 4.23. Türkiye'ye ait Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının ve dünyadaki bazı BNYVV izolatlarının kılıf protein gen bölgelerinde farklılık görülen amino asit pozisyonları

CP tipi	İzolat adı	Amino asit pozisyon numaraları*							
		17	62	80	102	103	126	172	182
A	A/B17/E12/UF79	K	T	M	V	S	N	L	R
A	ELZ-44/CRM-68/ BRS-148/ADP-291/ KYS-527/KTY-602	.	.	.	.	.	.	.	K
A	SMS-61	.	.	.	.	.	.	F	.
A	KNY-359	.	.	.	.	.	.	.	K
A	HUK3/FAH/SPC/ EDR-125/ESK-225/ YZT-355/ KNY-373/ AKS-581/ANK-617	.	.	.	.	.	.	.	.
A (P)	Kas3	R	.	.	I	.	.	.	.
A (P)	IGR-9/ERC-52	R	.	.	I	.	.	.	.
B (Almanya)	GM/G1/CX1	.	S	.	.	N	.	F	.
B (J)	S12/ZYCP-4	.	S	T	.	N	H	F	.
B (C)	CH7	.	S	.	.	N	H	F	.

* K: Lizin, T: Treonin, M: Metiyonin, V: Valin, S: Serin, N: Asparagin, L: Lösin, R: Arginin, F: Fenilalanin, I: İzolösin, H: Histidin. Nokta sembolü referans izolat ile aynı amino asiti içerdiğini göstermektedir.

Bu çalışmada incelenen BNYVV izolatları CP gen bölgesine göre dünya izolatları ile aa yönünden kıyaslandığında; ülkemiz izolatlarının iki farklı grupta toplandıkları belirlenmiştir. IGR-9 ve ERC-52 izolatları birinci grupta yer almış ve bu izolatlar A (P) tipi CP'ine sahip Çin, Fransa ve İran'a ait bahsedildiği sıraya göre HXL291CP-1, Pithiviers ve IR-GR1 izolatları ile %100 benzer bulunmuştur. Öte yandan; diğer 14 BNYVV izolatı ise ikinci grupta toplanmış olup A-tipi CP'inine sahip

Avrupa izolatları ile yüksek oranda benzerlik göstermişlerdir. Bunlardan; EDR-125, ESK-225, YZT-355, KNY-373, AKS-581 ve ANK-617 izolatları ise İspanya'ya ait E12, ABD'ye ait UF79 ve Sırbistan'a ait A-CP izolatları ile %100 benzer oldukları belirlenmiştir. ELZ-44, CRM-68, BRS-148 ADP-291, KTH-602, KYS-527 ve SMS-61 izolatları ise İspanya, ABD ve Sırbistan'a ait BNYVV izolatları ile %99.47 oran ile en yüksek genetik benzerlik göstermişlerdir (Tablo 4.24; Ek 10).

Tablo 4.24. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının kılıf protein bölgesi amino asit dizisine göre dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)

İzolat Adı	GenBank Kayıt No	İzolat Adı	Ülke	Benzerlik Oranı* (%)
IGR-9	AKI85485	HXL291CP-1	Çin	100
ERC-52	ADI60330	Pithiviers	Fransa	100
	CAR66234	IR-GR1	İran	100
ELZ-44	ACA63017	E12	İspanya	99.47
CRM-68	CAH17773	UF79	ABD	99.47
BRS-148	CAH17773	UF79	ABD	99.47
ADP-291	CAH17773	UF79	ABD	99.47
KTH-602	AAX83053	A-CP	Sırbistan	99.47
KYS-527	AAX83053	A-CP	Sırbistan	99.47
	ACA63017	E12	İspanya	99.47
SMS-61	CAH17773	UF79	ABD	99.47
	AAX83053	A-CP	Sırbistan	99.47
EDR-125	ACA63017	E12	İspanya	100
ESK-225	ACA63017	E12	İspanya	100
YZT-355	CAH17773	UF79	ABD	100
AKS-581	CAH17773	UF79	ABD	100
KNY-373	AAX83053	A-CP	Sırbistan	100
ANK-617	AAX83053	A-CP	Sırbistan	100
	ACA63017	E12	İspanya	97.89
KNY-359	CAH17773	UF79	ABD	97.89
	AAX83053	A-CP	Sırbistan	97.89

* BLASTp'ye göre en yüksek benzerliğe sahip ilk üç BNYVV izolatı verilmiştir

4.1.2.3. BNYVV İzolatlarının CP Genine Göre Filogenetik Analizi

Bu çalışmada, NCBI veri tabanında kayıtlı olan 51 BNYVV izolatı filogenetik analizde kullanılmıştır (Tablo 4.25). Öncelikle, Clustal W yöntemi ile bu izolatların CP gen bölgelerine ait nükleotit dizileri hizalanmış, sonrasında Mega 7 yazılımında Tamura-Nei modeli (Tamura ve Nei, 1993) kullanılarak genetik uzaklıklar belirlenmiş ve ML algoritmasına göre filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bootstrap değeri olarak 1.000 alınmıştır.

Tablo 4.25. Beet necrotic yellow vein virus'ün Kılıf protein bölgesi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar

Ülke	Lokasyon	İzolat adı	CP tipi	GenBank kayıt no
Türkiye	Karakoyunlu, Iğdır	IGR-9	A (P)	OM323309
	Merkez, Elazığ	ELZ-44	A (İtalya)	OM323310
	Merkez, Erzincan	ERC-52	A (P)	OM323311
	Vezirköprü, Samsun	SMS-61	A (İtalya)	OM323312
	Osmancık, Çorum	CRM-68	A (İtalya)	OM323313
	Merkez, Edirne	EDR-125	A (İtalya)	OM323314
	Yenişehir, Bursa	BRS-148	A (İtalya)	OM323315
	Çifteler, Eskişehir	ESK-225	A (İtalya)	OM323316
	Erenler, Adapazarı	ADP-291	A (İtalya)	OM323317
	Yenifakılı, Yozgat	YZT-355	A (İtalya)	OM323318
	Yunak, Konya	KNY-359	A (İtalya)	OM323319
	Çeltik, Konya	KNY-373	A (İtalya)	OM323320
	Merkez, Kayseri	KYS-527	A (İtalya)	OM323321
	Merkez, Aksaray	AKS-581	A (İtalya)	OM323322
	Simav, Kütahya	KTY-602	A (İtalya)	OM323323
	Ayaş, Ankara	ANK-617	A (İtalya)	OM323324
	Kastamonu	TUK	A (İtalya)	AB563026
Avusturya	Bruck/Leitha	A4	A (İtalya)	AY696075
İran	-*	IR-GR1	A (P)	FM210683
İspanya	Ciudad Real	SPC	A (İtalya)	AB563025
	-*	E12	A (İtalya)	EU330451
	Pozoamargo	S4	A (İtalya)	AY696111
İtalya	Veneto	IV4	A (İtalya)	AB563002
Kazakistan	-*	Kas3	A (P)	AF197556
Fransa	Pithiviers	FP	A (P)	AB018628
	Barbare Cartigny	FB	A (İtalya)	AB563013
	Hungerer	FAH	A (İtalya)	AB563014
	Corbeille	FC	A (P)	AB018627
	Obernai, Alsace	FAO	B (Almanya)	AB563012
Japonya	Shimizu, Tokachi	SH1	A (P)	AB018621
	Shari, Abashiri	S12	B (J)	AB018623
	Hokkaido, Iburi, Toya	T101	A (İtalya)	AB562977
	Ikeda	JIK6-2	A (İtalya)	LC637333
	Honbetsu	JH45-1	B (J)	LC637342
	Shari	JS28	B (J)	LC637345
Almanya	Mooz	GM	B (Almanya)	AB563018
	Illkofen	G1	B (Almanya)	AB563016
Macaristan	Komarom	HUK3	A (İtalya)	AB563022
	Meggyeshaza	HUM1	A (İtalya)	AB563021
Belçika	Kieldrecht	B17	A (İtalya)	AJ634735
	Mons-Haulchin	B2	B (Almanya)	AY696077
Slovakya	Novy Zivot	SLN1	A (İtalya)	AB563019
Amerika	Roshfield, Minesota	USM	A (İtalya)	AB563030
	Fort Morgan	UF79	A (İtalya)	AJ810285
Brezilya	-*	Brazilian	A (İtalya)	MH106727

Tablo 4.25. Devam

Ülke	Lokasyon	İzolot adı	CP tipi	GenBank kayıt no
Çin	Hohhot, Inner Mangolia	Hoh2	B (C)	EF473092
	Wuwei	CW1	A (Çin-X)	AB562991
	Harbin	Har4	A (P)	EF473090
	Xinjiang	LYCP-1	B	KP316638
	Xinjiang	LYCP-5	B	KP316642
	Heilongjiang	YACP-5	B	KP316600
	Gansu	DHXC-1	A (Çin-X)	KP316603
	Heilongjiang	KY2CP-2	B	KP316586
	Hohhot	CH4	A (P)	AB562987
	Yanji, Xingjiang	CX5	A (Çin-X)	AB562996
	Bautou, Nei Menggu	Bao	A (P)	EF473093
	Wuwei, Gansu	Wu1	A (P)	EF473094
	Wuwei, Gansu	Wu2	A (Çin-X)	EF473095
	Shuangyashan, Heilongjiang	HXL291CP-1	A (P)	KP316581
	Inner Mongolia	BTCP-2	B	KP316550
	Changji, Xingjiang	Chan1	B	EF473098
	Shihezi, Xingjiang	CX1	B (Almanya)	AB562994
	Zhangye, Gansu	ZYCP-4	B (J)	KP316615
	Shuangyashan, Heilongjiang	HXL291CP-2	B (J)	KP316582
	Hohhot, Inner Mangolia	CH6	B (C)	AB562989
	Hohhot, Inner Mangolia	CH7	B (C)	AB562990
	Yinchuan, I.M	CY3	B (C)	AB018625
	Region Hohhot	IMHHCP-1	B (C)	KM676433
Amerika	Fort Morgan	UF10	BSBMV	AJ810291

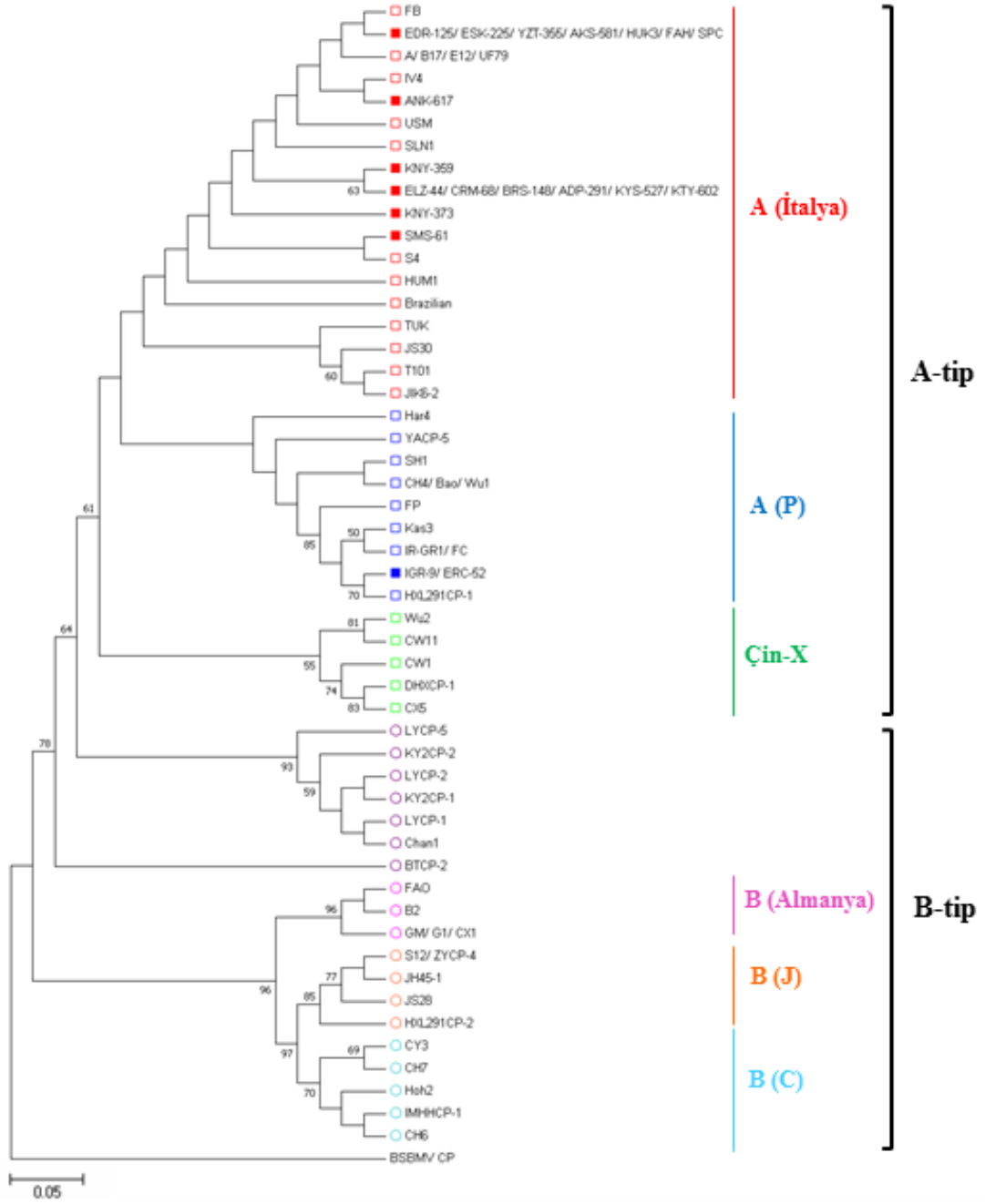
*-: İzolatın ait olduğu lokasyon ile ilgili bilgiye ulaşılamamıştır.

ML dendrogramı incelendiğinde; BNYVV izolatlarının A- ve B-tipi olmak üzere iki ayrı dala ayrıldığı ve Türkiye'ye ait BNYVV izolatlarının tamamının ise A-tipi grup içerisinde yer aldıkları belirlenmiştir (Şekil 4.49; Tablo 4.25). A-tipi CP grubu ise kendi içerisinde İtalya, A (P) ve Çin-X olmak üzere üç alt gruptan oluşmaktadır. Buna göre; incelenen 14 BNYVV izolatının (ELZ-44, SMS-61, CRM-68, BRS-148, EDR-125, ESK-225, ADP-291, YZT-355, KNY-359, KNY-373, KYS-527, AKS-581, KTY-602 ve ANK-617) dünyada en yaygın olarak görülen İtalya grubu içerisinde bulundukları ortaya konulmuştur. Ülkemize ait bu 14 BNYVV izolatının, İtalya (IV4), Fransa (FB), Macaristan (HUK3 ve HUM1), İspanya (SPC, S4 ve E12), Slovakya (SLN1), ABD (USM ve UF79), Brezilya (Brazilian), Belçika (B17), Avusturya (A), Japonya (JS30, T101 ve JIK6-2) ve Türkiye (TUK)'ye ait izolatlar ile aynı alt dalda bulundukları görülmektedir. Diğer taraftan; IGR-9 ve ERC-52 izolatları ise, 14 izolattan farklı olarak, A (P) tipi CP'yi içeren izolatlarla birarada kümelenmişlerdir. Bu grup içerisinde yer alan diğer izolatlar ise, Fransa (FP ve FC), Çin (Har4, YaCP-5, CH4, Bao, Wu1, HXL291CP-1), Japonya (SH1), İran (IR-GR1) ve Kazakistan (KAS3) pancar üretim alanlarına aittir. A-tipin 3. alt grubunun tamamını ise, BNYVV'nin Çin-X streyn grubu

içerisinde yer alan ve Çin'den izole edilen izolatlar (Wu2, CW11, CW1, DHXCP-1 ve CX5) oluşturmuştur (Şekil 4.49; Tablo 4.25).

Dendrogramda B olarak belirtilen alt dal, BNYVV'nin B-tip CP içeren izolatlarından oluşmuş olup, kendi içerisinde B (Almanya), B (J-Japonya) ve B (C-Çin) olarak alt gruplara ayrılmıştır. Bu dal içerisindeki B-tip CP yapısına sahip BNYVV izolatlarının büyük çoğunluğunu Çin, Alman ve Japon izolatları oluşturmuştur (Şekil 4.49; Tablo 4.25).





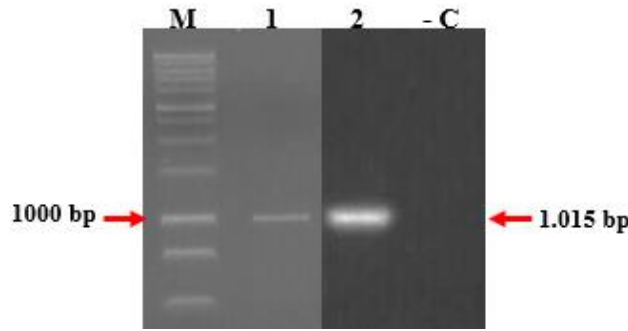
Şekil 4.49. BNYVV izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının CP genine göre nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde ML yöntemi ve Tamura-Nei modeli kullanılmıştır. Dendogramda bootstrap değerleri, dallarda % olarak gösterilmiş ve %50'nin altındaki değerler ağaçta yer almamıştır. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını göstermektedir (0.05). Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV), filogenetik ağacın oluşturulmasında dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlara ait bilgiler Tablo 4.25'de yer almaktadır.

4.1.2.4. A (P)-Tipi Kılıf Protein İçeren İki BNYVV İzolatının P25, P31 ve P26 Gen Bölgelerinin Moleküler Karakterizasyonu

Şu ana kadar ülkemizde yürütülen çalışmalarla, pancar üretim alanlarımızda BNYVV'nin A- (dört RNA segmentli) ve J-tip (beş RNA segmentli) olmak üzere iki farklı streyn grubunun varlığı tespit edilmiştir. Ancak, bu çalışmada, enteresan olarak, Iğdır ve Erzincan illerine ait iki izolatın (IGR-9 ve ERC-52), virüsün bir diğer streyn tipi olan P-tip (beş RNA segmentli) ile ilişkili A (P) tipi CP'ini içerdiği belirlenmiştir. Bu tez çalışmasının bu bölümünde bu iki BNYVV izolatının diğer genom segmentleri üzerinde yer alan P25, P31 ve P26 proteinleri analiz edilmiştir.

4.1.2.4.1. P25 Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu

RNA-3 tarafından sentezlenen P25 proteini BNYVV'nin patojenitesi ve simptom oluşumunda rol oynamaktadır. Bu çalışmada, Omniscript RT (Qiagen) enzimi kullanımı ile öncelikle RT basamağı, ardından da bu bölgeye spesifik primerler ve Q5 High-Fidelity DNA Polymerase enzimi (Thermo Scientific) kullanılarak PCR aşaması gerçekleştirilmiştir. PCR ürünlerinin incelenmesi sonucunda, her iki örnekte de bu bölgeye spesifik 1.015 bp büyüklüğünde bant oluşumu belirlenmiştir (Şekil 4.50).



Şekil 4.50. Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) izolatlarının P25 gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 1 kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 52 no'lu izolat-Erzincan illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

Sonrasında, iki örneğin direkt sekans analizleri (Genoks, Ankara), ile her iki yöndeki baz dizileri elde edilmiştir. Konsensus diziler oluşturulduktan sonra ise, bu diziler hem birbirleri ile hem de GenBank'tan indirilen diğer BNYVV izolatlarına ait P25 bölgesine ait sekans verileri ile BLAST yapılarak analiz edilmiştir.

Bu çalışmada, IGR-9 izolatında sekans analizi yapılan bölgenin uzunluğu 660 baz kadar olup P25 proteininin tamamını içermekte; ERC-52 izolatında ise elde edilen sekans verisi bu bölgenin yaklaşık 580 bazlık kısmını kapsamaktadır (Ek 11). BLASTn ve BLASTp analizleri sonucunda; bu izolatların genetik benzerliklerinin nükleotit düzeyinde %98.45; aa düzeyinde ise %96.89 olduğu saptanmıştır.

BNYVV izolatları P25 gen bölgesi bakımından dünya izolatları ile karşılaştırıldıklarında (BLASTn ve BLASTp); IGR-9 izolatının Çin'e ait Bao izolatı ile %99.09 oran ile en yüksek nükleotit benzerliği gösterirken (Tablo 4.26), aa bakımından bu izolat ile %98.17 benzer bulunmuştur. ERC-52 izolatının ise Türkiye'ye ait KNYA-388 izolatı ile hem nükleotit, hem de aa düzeyinde %100 benzer olduğu görülmüştür (Tablo 4. 26; Tablo 4. 27).

Tablo 4.26. IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının P25 gen bölgesi nükleotit dizisine göre dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)

İzolat Adı	GenBank Kayıt No	İzolat Adı*	Orjin	Benzerlik Oranı (%)
IGR-9	EF473105	Bao	Çin	99.09
	EU770693	OW01	Almanya	98.79
	KP316654	BTP25-1	Çin	98.64
ERC-52	KU726560	KNYA-388	Türkiye	100
	FM210566	ACHG Fariman 15	İran	99.83
	MT372831	S1	USA	99.66

*BLASTn'e göre en yüksek benzerliğe sahip üç BNYVV izolatı verilmiştir

Tablo 4.27. IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının P25 bölgesi amino asit dizisinin dünya izolatları ile benzerlik oranları (%)

İzolat Adı	GenBank Kayıt No	İzolat Adı*	Orjin	Benzerlik Oranı (%)
IGR-9	ABO77789	Bao	Çin	98.17
	ACI47523	OW01	Almanya	97.72
	ABO77784	Har2	Çin	97.26
ERC-52	AML23185	KNYA-388	Türkiye	100
	AKI85585	HXL291P25-3	Çin	99.48
	ACA53204	Clx	USA	99.48

*BLASTp'e göre en yüksek benzerliğe sahip P25 izolatları verilmiştir

IGR-9 ve ER52 izolatlarının P25 gen bölgesine ait baz dizileri detaylı olarak irdelendiğinde; maksimum sekiz nükleotitte (%1.4) varyasyon olduğu belirlenirken (Tablo 4. 28; Ek-11), bu bölgenin aa dizileri kıyaslandığında ise 68., 129., 132., 163. ve 211. pozisyonlarda yer alan beş aa'de değişikliğin olduğu görülmüştür (%2.6) (Tablo 4.29; Ek-12). Diğer taraftan, bu izolatlarda, BNYVV'nin patojenitesi ve R21 geni dayanıklılığının kırılmasında etkin olduğu bilinen P25 proteininin 67-70.

pozisyonlarında yer alan aa.'leri (tetrat motifler) irdelenmiş ve IGR-9 izolatının 'ASHG', ERC-52 izolatının ise 'ACHG' tetrat motifine sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.29; Ek 12).

Ayrıca; BNYVV izolatlarının P25 genine göre son taksonomik sınıflandırması temel alınarak, bu grupları yansıtacak şekilde NCBI'dan indirilen BNYVV izolatlarının nükleotit ve aa dizileri ile kıyaslandıklarında ise, ERC-52 izolatının en yüksek genetik benzerliği P25 grup I'de yer alan 'İtalya' streynine dahil BNYVV izolatları (SLN-1, HUM1, HUK3 ve S8) ile; IGR-9 izolatının ise, P25 grup II'de yer alan 'Çin-B' streyni içerisindeki Bao izolatu ile gösterdiği saptanmıştır (Tablo 4.28, Tablo 4.29).



Tablo 4.28. ERC-52 ve IGR-9 izolatlarının dünyadaki bazı BNYVV izolatları ile P25 gen bölgesinde farklılık görülen nükleotit pozisyonları

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat Adı	Nükleotit pozisyon numarası*																
			8	9	10	11	40	83	90	94	103	111	141	145	165	189	199	202	203
I	İtalya	SLN-1/HUM1/HUK3/S8	A	T	A	T	A	T	C	C	A	G	T	A	T	A	G	C	A
I	İtalya	ERC-52	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G
I	Çin-H	CH6/CH7	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.
I	Çin-Y	YAP25-8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
II	Çin-B	Bao	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C
II	Çin-B	IGR-9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C
II	Fransa-P	FP	.	.	.	.	.	C	T	.	.	A	.	T	.	.	T	T	.
II	Çin-L	Chan1	.	.	.	.	G	.	.	A	.	A	.	T	.	.	.	T	T
II	Japonya-O	SH1/S12/S42	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	T
II	Japonya-D	T101	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	T	.
III	Almanya-B	GM	.	.	.	.	.	.	.	A	.	A	.	T	C	T	.	T	.
III	Çin-X	CW1	G	C	G	G	.	.	.	A	.	A	.	T	.	.	.	.	.

Tablo 4.28. (Devam)

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat Adı	Nükleotit pozisyon numarası																
			206	208	209	215	249	256	265	285	288	303	306	343	353	354	365	385	394
I	İtalya	SLN-1/HUM1/HUK3/S8	A	G	G	A	A	C	T	T	A	T	A	C	A	T	T	C	T
I	İtalya	ERC-52	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
I	Çin-H	CH6/CH7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
I	Çin-Y	YAP25-8	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	A	.
II	Çin-B	Bao	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	A	A
II	Çin-B	IGR-9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	A
II	Fransa-P	FP	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	A	A
II	Çin-L	Chan1	.	A	.	T	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.	.	A	A
II	Japonya-O	SH1/S12/S42	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	A
II	Japonya-D	T101	G	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	A
III	Almanya-B	GM	.	A	.	.	.	T	.	.	.	.	G	T	C	C	.	G	A
III	Çin-X	CW1	.	A	.	.	G	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	A	A

Tablo 4.28. (Devam)

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat Adı	Nükleotit pozisyon numarası*																
			402	423	426	447	453	471	487	489	535	550	558	565	574	592	606	631	652
I	İtalya	SLN-1/HUM1/HUK3/S8	T	T	C	T	C	A	C	A	A	T	C	A	G	A	A	G	G
I	İtalya	ERC-52	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
I	Çin-H	CH6/CH7	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
I	Çin-Y	YAP25-8	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.
II	Çin-B	Bao	.	.	.	.	T	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A
II	Çin-B	IGR-9	.	.	.	.	T	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	C	-
II	Fransa-P	FP	.	.	T	C	T	.	T	.	.	C	.	.	.	G	.	.	.
II	Çin-L	Chan1	.	.	T	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A
II	Japonya-O	SH1/S12/S42	.	.	T	.	T	.	T	.	.	.	.	.	.	G	.	.	A
II	Japonya-D	T101	.	.	T	.	T	.	T	.	.	C	.	G	.	G	.	.	.
III	Almanya-B	GM	.	.	T	.	T	.	.	G	G	.	T	.	A	.	.	.	.
III	Çin-X	CW1	.	C	T	.	T	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.

*Nokta sembolü referans izolat ile aynı nükleotidi içerdiğini göstermektedir.

Tablo 4.29. ERC-52 ve IGR-9 izolatlarının dünyadaki bazı BNYVV izolatları ile P25 gen bölgesinde farklılık görülen amino asit pozisyonları

P25 grup	P25 alt grup	İzolat Adı	Amino asit pozisyon numarası*																								
			3	4	14	28	32	35	49	67	68	69	70	72	73	118	122	129	132	163	179	184	189	192	198	211	218
I	İtalya	SLN-1	D	I	R	I	H	I	T	A	H	H	G	Y	C	N	I	H	L	P	N	F	T	V	T	A	D
I	İtalya	ERC-52	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
I	Çin-H	CH6	.	.	.	T	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.
I	Çin-Y	YAP25-8	.	.	.	.	.	.	.	.	D	.	.	.	.	.	.	N	.	.	.	.	.	.	.	.	.
II	Çin-B	Bao	.	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	N	I	S	.	.	.	.	.	P	N
II	Çin-B	IGR-9	.	.	.	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	N	I	S	.	.	.	.	.	P	-
II	Fransa-P	FP	.	.	.	T	.	.	S	S	Y	.	.	.	.	.	.	N	I	S	.	L	.	.	A	.	.
II	Çin-L	Chan1	.	.	G	.	N	.	S	.	F	.	R	F	.	.	.	N	I	S	.	.	.	.	.	.	N
II	Japonya-O	SH1	.	.	.	.	.	.	.	.	F	.	.	.	.	.	.	N	I	S	.	.	.	.	A	.	N
II	Japonya-D	T101	.	.	.	.	.	V	.	.	Y	R	V	.	.	.	T	N	I	S	.	L	A	.	A	.	.
III	Almanya-B	GM	.	.	.	.	N	.	S	.	Y	.	R	.	.	T	.	D	I	.	D	.	.	I	.	.	.
III	Çin-X	CW1	G	G	.	.	N	.	S	.	.	.	R	.	.	T	.	N	I	.	.	.	.	.	.	.	.

*Nokta sembolü referans izolat ile aynı amino asiti içerdiğini göstermektedir.

Filogenetik analiz çalışmasında, BNYVV izolatlarının P25 proteinine göre son taksonomik gruplandırması göz önüne alınmıştır. Bu grupları yansıtabilecek şekilde NCBI’den indirilen 51 BNYVV izolatı filogenetik ağaç oluşturmada kullanılmıştır (Tablo 4.30). Öncelikle, ‘Cluster W’ yöntemine göre 51 BNYVV izolatının P25 gen bölgelerine ait nükleotit dizileri hizalanmış ve daha sonra Mega 7 yazılımında ‘Tamura-Nei modeli’ uygulanarak (Tamura ve Nei, 1993) genetik uzaklıkları belirlenmiş ve ML yöntemine göre filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Tablo 4.30. Beet necrotic yellow vein virus’ün P25 gen bölgesi nükleotit esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar ve dış grup olarak yer alan Beet soil-borne mosaic virus izolatı

Ülke	Lokasyon	İzolat adı	P25 grubu	Streyn tipi	GenBank Kayıt No
Türkiye	Iğdır	IGR-9	II	Çin-B	.*
Türkiye	Erzincan	ERC-52	I	İtalya	.*
Türkiye	Kastamonu	TUK	I	İtalya	AB563089
Slovakya	Novy Zivot	SLN1	I	İtalya	AB563082
Slovakya	Podolie	SLP2	I	İtalya	AB563083
Japonya	Hokkaido, Tokachi, Shimizu	SH1	II	Japon-O	AB563035
Japonya	Hokkaido, Iburi, Toya	T101	II	Japon-D	AB563031
Japonya	Shari, Abashiri	S12	II	Japonya-O	AB563040
Japonya	Shari, Abashiri	S42	II	Japon-O	AB563039
Japonya	Rusutsu, Iburi	R83	II	Japon-D	AB563033
Japonya	Sobetsu, Iburi	S110	II	Japon-D	AB563032
Çin	Nei Menggu, Hohhot	CH4	I	Çin-H	AB563046
Çin	Xinjiang	LYP25-1	II	Çin-L	KP316746
Çin	Gansu, Wuwei	CW1	III	Çin-X	AB563050
Çin	Hohhot, Inner Mangolia	CH6	I	Çin-H	AB563048
Çin	Hohhot, Inner Mangolia	CH7	I	Çin-H	AB563049
Çin	Hohhot, Inner Mangolia	Hoh2	I	Çin-H	EF473103
Çin	Wuwei, Gansu	Wu1	I	Çin-H	EF473106
Çin	Bautou, Inner Mangolia	BTP25-1	I	Çin-H	KP316654
Çin	Hohhot, Nei Menggu	CH3	I	Çin-H	AB563045
Çin	Qiqihar, Heilongjiang	YAP25-8	I	Çin-Y	KP316707
Çin	Bautou, Nei Menggu	Bao	II	Çin-B	EF473105
Çin	Harbin, Heilongjiang	Har2	II	Çin-B	EF473100
Çin	Harbin, Heilongjiang	Har4	II	Çin-B	EF473101
Çin	Yanji, Xingjiang	Chan1	II	Çin-L	EF473110
Çin	Yanji, Xingjiang	CX5	III	Çin-X	AB563056
Çin	Yinchuan, Ningxia	CY3	III	Çin-X	AB563053
Almanya	Mooz	GM	III	Almanya	AB563081
Almanya	Wallerstaden	GW	III	Almanya	AB207812
Almanya	Saxony, Anhalt	OWo1	II	Çin-B	EU770693
Almanya	Ililkofen	G1	III	Almanya	AB563079
Macaristan	Tompaiadony	HUT4	I	İtalya	AB563086
Macaristan	Meggyeshaza	HUM1	I	İtalya	AB563084
Macaristan	Komarom	HUK3	I	İtalya	AB563085
İspanya	Laguna de Negrillos	S7	I	İtalya	AY696172
İspanya	Ciudad Real	SPC	I	İtalya	AB563088
İspanya	Torralba de Cva	S5	I	İtalya	AY696171
İspanya	-	E12	I	İtalya	EU330445
Fransa	Pithiviers	FP	II	Fransa-P	AB207807
Fransa	Hungerer	FAH	I	İtalya	AB563078
Fransa	Obernai, Alsace	FAO	III	Almanya	AB563076
Fransa	Pithiviers	FC	II	Fransa-P	AB563074
İtalya	Puglia	IP7	I	İtalya	AB207809
İtalya	Veneto	IV4	I	İtalya	AB207808

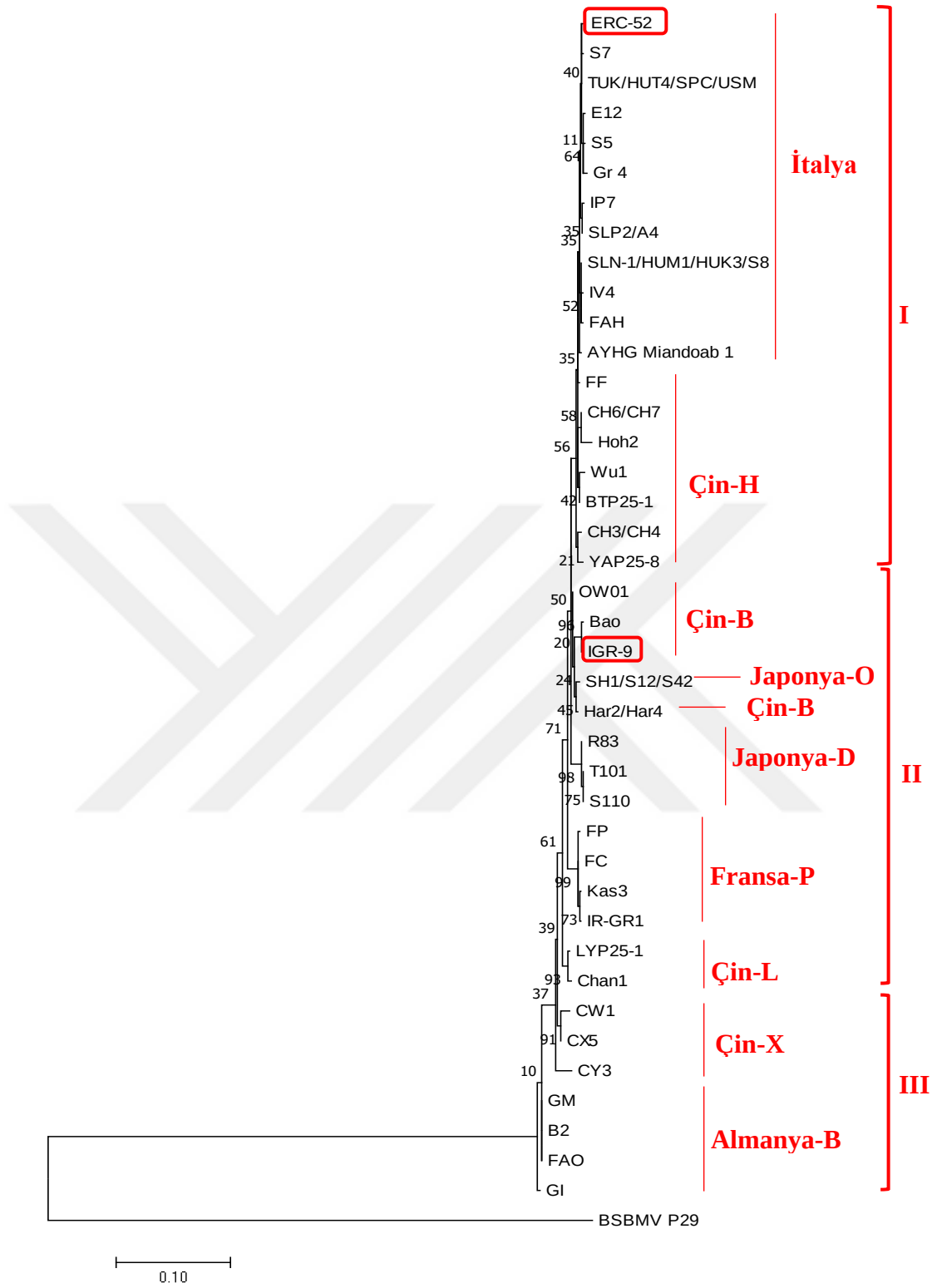
Tablo 4.30. (Devam)

Ülke	Lokasyon	İzolat Adı	P25 grubu	Streyn tipi	GenBank Kayıt No
ABD	Roshfield, Minnesota	USM	I	İtalya	AB563092
Yunanistan	Orestiada	GR4	I	İtalya	FJ224249
Avusturya	Bruck, Leitha	A4	I	İtalya	AY696126
Belçika	Mons-Haulchin	B2	III	Almanya-B	Ay696128
İsveç	.*	S8	I	İtalya	EU330454
İran	Kohkhan, Miadoab	AYHG (Miandoab1)	I	İtalya	AM745585
İran	.*	IR-GR1	II	Fransa-P	FM210625
İngiltere	Norfolk	FF	I	Çin-H	DQ440513
Kazakistan	.*	Kas3	II	Fransa-P	DQ462126
	Dış Grup	BSBMV			AF280540

* -: Bilinmiyor

ML dendrogramı incelendiğinde; BNYVV izolatlarının P25 proteinine göre üç farklı gruba ayrıldıkları görülmüştür (Şekil 4.51). Bu çalışmada incelenen ERC-52 izolatının İtalya, Çin-H ve Çin-Y streynlerinin yer aldıkları Grup I içerisinde; IGR-9 izolatının ise Çin-B, Japonya-O, Fransa-P, Japonya-D ve Çin-L streynlerinin bulundukları Grup II’de yer aldığı tespit edilmiştir. Böylelikle; ERC-52 izolatının İtalya streyn tipinde; IGR-9 izolatının ise streyn tipinin Çin-B olduğu tespit edilmiştir. Grup III’ün ise, Almanya-B ve Çin-X streyn grubuna dair BNYVV izolatlarından oluştuğu belirlenmiştir (Şekil 4.51).

Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında Grup-I’de yer alan İtalya streyn tipine ait BNYVV populasyonlarının yanısıra; ilk olarak bu çalışma ile P25 genine göre Grup II’de yer alan ve Çin-B streyn tipinde BNYVV populasyonunun da mevcut olduğu ortaya konulmuştur.

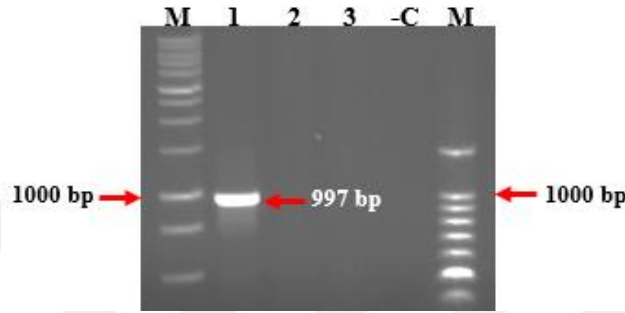


Şekil 4.51. IGR-9 ve ERC-52 kodlu BNYVV izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının P25 bölgesi nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde MEGA 7 yazılımında yer alan ML yöntemi kullanılmıştır. BSBMV P29 dizisi (erişim numarası AF280540) dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlara ait bilgiler Tablo 4.30'da yer almaktadır

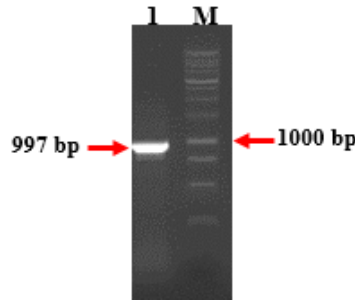
4.1.2.4.2. P31 Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu

Beet necrotic yellow vein virus'un genom segmentlerinden RNA-4 üzerinde yer alan ve 997 nt'den oluşan P31 geni, özellikle BNYVV'nin vektör *P. betae* tarafından etkin bir şekilde taşınmasında rol oynamaktadır (Rahim et al., 2007).

İki BNYVV izolatının P31 gen bölgesinin çoğaltılmasında Süperscript I one-step RT-PCR System with plantium Taq DNA Polymerase kiti (Invitrogen) kullanılmıştır. PCR ürünleri incelendiğinde, örneklerin her ikisinde de bu bölgeye spesifik büyüklükte (997 bp) bant oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.52- 4.53).



Şekil 4.52. BNYVV P31 protein geni bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 1Kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific),, 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 52 no'lu izolat-Erzincan, 3: 44 no'lu izolat -Elazığ) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar. - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), M: 100 bp]



Şekil 4.53. BNYVV P31 protein geni bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması 1: 52 no'lu izolat-Erzincan), M: 1Kb DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific)

Daha sonra, IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının P31 genom bölgelerinin dizi analizleri gerçekleştirilmiş ve bu iki BNYVV izolatının P31 genine ait nükleotit dizileri GenBank'a OM032582-OM032583 numaraları altında kayıt edilmiştir.

Bu izolatlarda sekans analizi yapılan bölgenin uzunluğu yaklaşık 997 baz kadar olup P31 proteininin tamamını içermektedir (Ek 13). BLASTn ve BLASTp analizleri kullanılarak yapılan incelemeler sonucu, iki izolatın (IGR-9 ve ERC-52) nükleotit ve aa. dizilerinin tamamen birbirinin aynı olduğu belirlenmiştir (Ek 13). Bu izolatlar

nükleotit yönünden dünya izolatları ile kıyaslandıklarında ise, en yüksek genetik benzerliği %99.88 oran ile Türkiye’ye ait IGR-6 izolatı ile Kazakistan’a ait Kas2 ve Kas3 izolatları ile göstermiştir (Tablo 4.31).

Tablo 4.31. BNYVV izolatlarının dünya izolatları ile P31 geni nükleotit dizisine göre benzerlik oranları* (%)

İzolat Adı	Genbank kayıt no	GenBank izolat adı	Ülke	Benzerlik Oranı (%)*
IGR-9/ERC-52	OM032581	IGR-6	Türkiye	99.88
	AF197557	Kas3	Kazakistan	99.88
	AF197554	Kas2	Kazakistan	99.88

*BLASTn’e göre en yüksek benzerliğe sahip ilk üç BNYVV izolatı verilmiştir

Tablo 4.32’ de IGR-9 ve ERC-52 izolatları amino asit düzeyinde dünya izolatları ile kıyaslandığında ise Kazakistan (Kas2) izolatı ile %100 benzerlik göstermiş, iki Japon izolatı (M87-O11) ile de %99.65 oranında benzer bulunmuştur.

Tablo 4.32. BNYVV izolatlarının dünya izolatları ile P31 proteini amino asit dizisine göre benzerlik oranları (%)

İzolat Adı	Genbank kayıt no	GenBank izolat adı	Ülke	Benzerlik Oranı (%)*
IGR-9/ERC-52	AAG37090	Kas2	Kazakistan	100
	BAJ23820	M87	Japonya	99.65
	BAJ23818	O11	Japonya	99.65

*BLASTp’ye göre en yüksek benzerliğe sahip ilk üç BNYVV izolatı verilmiştir

BNYVV izolatlarının P31 genine göre Clustal W ve filogenetik analizlerinde kullanılan virüs izolatlarına ait bilgiler Tablo 4.33’de verilmiştir.

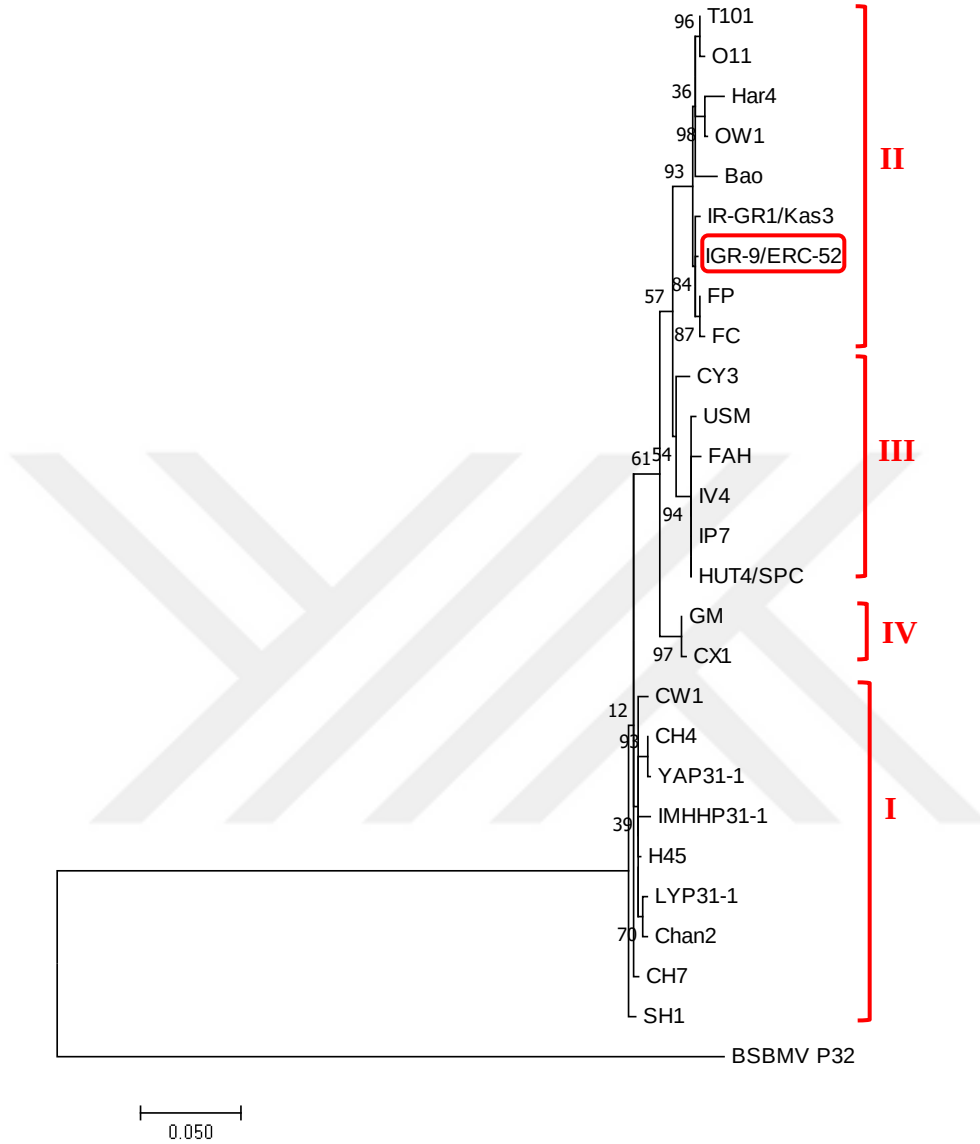
Tablo 4.33. Beet necrotic yellow vein virus'ün P31 gen bölgesi nükleotit dizisi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar ve dış grup olarak yer alan Beet soil-borne mosaic virus izolatı

Ülke	Lokasyon	İzolat adı	P31 grubu	GenBank Kayıt No
Türkiye	Iğdır	IGR-9	II	OM032582
Türkiye	Erzincan	ERC-52	II	OM032583
Fransa	Pithiviers	FP	II	AB563127
Fransa	Corbeille	FC	II	AB563028
Fransa	Hungerer	FAH	III	AB563132
Japonya	Hokkaido, Iburi	T101	II	AB563093
Japonya	Tokachi, Obihiro	O11	II	AB563098
Japonya	Higashimokoto	H45	I	AB563108
Japonya	Shimizu	SH1	I	AB563099
Çin	Harbin	Har4	II	EF473112
Çin	Nei Menggu, Hohhot	CH4	I	AB563111
Çin	Gansu, Wuwei	CW1	I	AB563114
Çin	Bautou, Nei Menggu	Bao	II	EF473115
Çin	Yinchuan, Ningxia	CY3	III	AB563117
Çin	Shihezi, Xingjiang	CX1	IV	AB563118
Çin	Changji, Xingjiang	Chan2	I	EF473119
Çin	Hohhot, Inner Mongolia	CH7	I	AB563113
Çin	Heilongjiang	YAP31-1	I	KP316867
Çin	Hohhot	IMHHP31-1	I	KP006471
Çin	Xinjiang	LYP31-1	I	KP316875
Almanya	Saxony-Anhalt	OW1	II	EU864119
Almanya	Mooz	GM	IV	AB563136
Macaristan	Tompaiadony	HUT4	III	AB563140
Amerika	Roshfield, Minesota	USM	III	AB563143
İtalya	Puglia	IP7	III	AB563126
İtalya	Veneto	IV4	III	AB563124
İran	-*	IR-GR1	II	FM210681
Kazakistan	-*	Ka3	II	AF197557
İspanya	Ciudad Real	SPC	III	AB563141
Amerika	Dış Grup	BSBMV		FJ424610

* -: Bilinmiyor

ML dendrogramı incelendiğinde, BNYVV izolatlarının dört gruba (Grup I, Grup II, Grup III ve Grup IV) ayrıldıkları görülmektedir. Şekil 4.54 ve Tablo 4.33 birlikte değerlendirildiğinde; IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının Kazakistan, Almanya, İran izolatları ile Japonya, Çin ve Fransa'ya ait bazı izolatlarla birlikte Grup II içerisinde yer aldıkları belirlenmiştir. Öte yandan; Çin ve Japon izolatlarının bir kısmı Grup I'de

kümelenirken, Grup III'ün çoğunluğunu Avrupa izolatları oluşturmuş, Grup IV içerisinde ise bazı Alman ve Çin izolatları yer almışlardır (Şekil 4.54; Tablo 4.33).

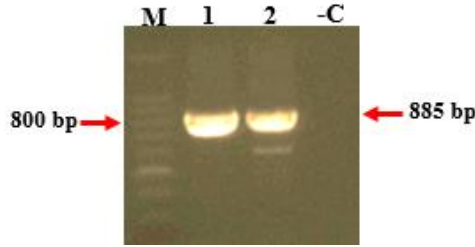


Şekil 4.54. IGR-9 ve ERC-52 kodlu BNYVV izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının P31 bölgesi nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde MEGA 7 yazılımında yer alan ML yöntemi kullanılmıştır. BSBMV P32 dizisi (erişim numarası FJ424610) dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlara ait bilgiler Tablo 4. 33'te yer almaktadır

4.1.2.4.3. P26 Gen Bölgesinin Moleküler Karakterizasyonu

Iğdır (IGR-9) ve Erzincan (ERC-52) illerine ait iki BNYVV izolatında, BNYVV'nin RNA-5 segmenti tarafından sentezlenen ve virüsün patojenite faktörlerinden biri olarak bilinen P26 proteinin araştırılması amacıyla yürütülen RT-PCR çalışmalarında Superscript III one- step RT-PCR System with plantium Taq DNA

Polymerase kiti (Invitrogen) kullanılmıştır. PCR ürünlerinin jel görüntüleme cihazında incelenmesi sonucunda her iki örnekte de bu bölgeye spesifik 885 bp büyüklüğünde bant elde edilmiştir (Şekil 4.55).



Şekil 4.55. BNYVV P26 protein geni bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat -İğdır, 2: 52 no'lu izolat -Erzincan) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

Bu iki BNYVV izolatında sekans analizi yapılan bölgenin uzunluğu 885 baz kadar olup, P26 geninin tamamını içermektedir (Ek 15). Daha sonra, iki izolatın nükleotit ve aa dizileri birbirleriyle kıyaslanmış (BLASTn ve BLASTp analizi ile) ve bu dizilerin hem nükleotit, hem de aa yönünden %100 benzer oldukları belirlenmiştir. Dünya izolatları ile karşılaştırıldıklarında ise, Türkiye'ye ait bir izolat olan IGDR-6 ile nükleotit ve aa düzeyinde %100 benzer oldukları görülmüştür.

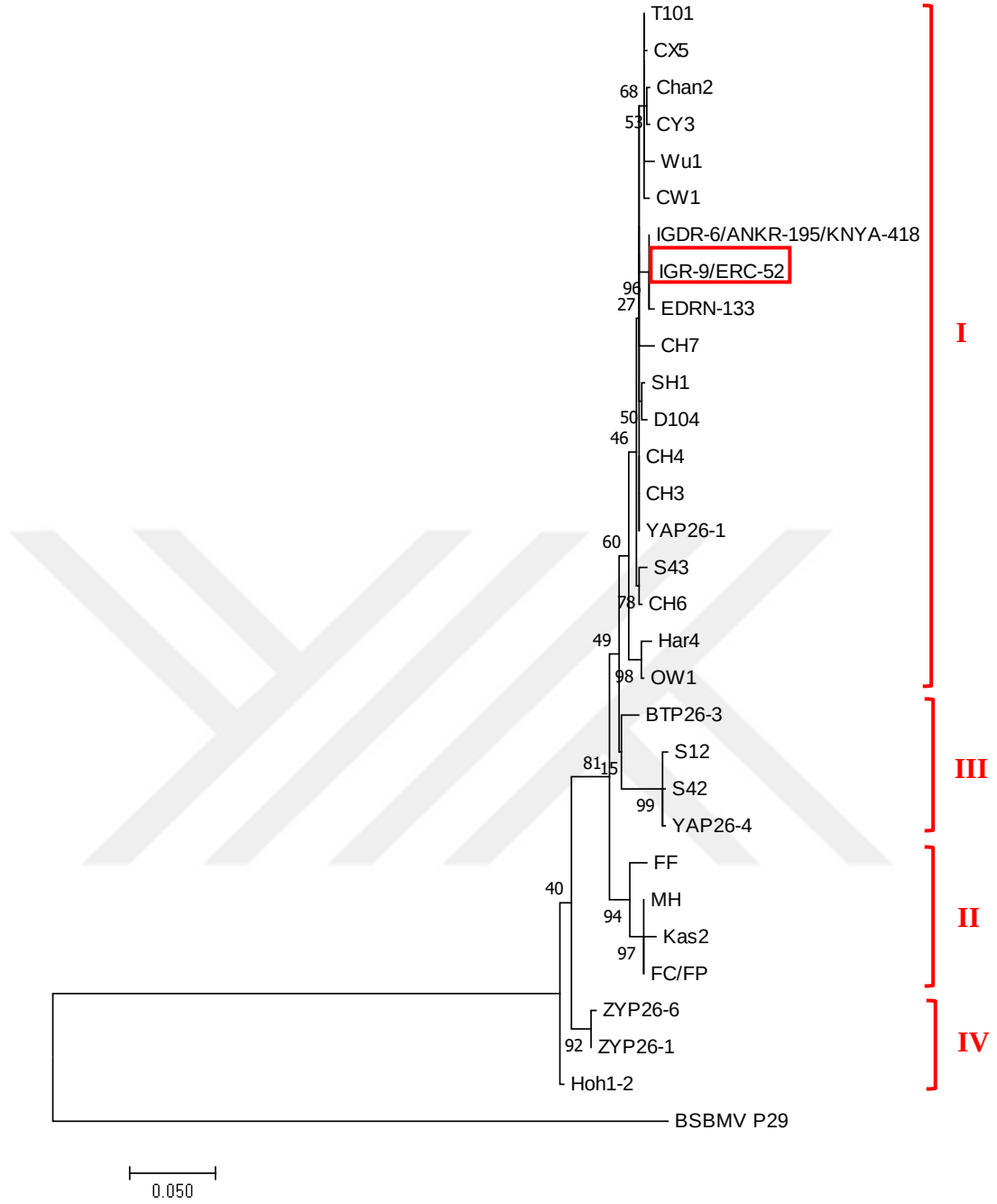
2000'li yıllarda yürütülen bir çalışma ile, BNYVV izolatlarının P26 protein geni nükleotit dizilerindeki farklılıklara göre, Avrupa ve Asya tipi olmak üzere iki gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Yani, bu proteinin, baz dizisindeki iki bölgedeki silinme (pozisyon 77, 227-229) izolatların; Asya tipi (J-tip) ve Avrupa tipi (P-tip) olarak ayırımını sağlamaktadır (Schirmer et al., 2005). Bu çalışmada incelenen her iki izolatın (IGR-9 ve ERC-52) dizilerinde de bahsedilen bölgelerde silinme tespit edilmiş ve bu izolatların P26 proteinin 'J-tip' karakterde olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte; günümüzde, BNYVV izolatlarının gruplandırılmasında P26 proteininin P ya da J-tip olmasının yerine, bu izolatlarda RNA-5 segmentinin var ya da yok olması temel alınmaktadır. Buna göre; bu çalışma ile her iki izolatın da RNA-5 partikülünü içerdikleri tespit edilmiştir.

NCBI veri tabanından indirilen ve bu çalışmaya ait BNYVV izolatlarının P26 proteininin filogenetik analizinde kullanılan izolatlara ait bilgiler Tablo 4.34'de sunulmuştur.

Tablo 4.34. Beet necrotic yellow vein virus'ün P26 gen bölgesi nükleotit dizisi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar ve dış grup olarak yer alan Beet soil-borne mosaic virus izolatı

Ülke	Lokasyon	İzolat Adı	P26 Grup	GenBank Kayıt No
Türkiye	Iğdır	IGR-9	I	.*
Türkiye	Erzincan	ERC-52	I	.*
İngiltere	Norfolk	FF	II	DQ440516
İngiltere	.*	MH	II	DQ459315
Almanya	Saxony-Anhalt	OW1	I	EU864120
Japonya	Toya, Iburi	T101	I	AB018604
Japonya	Shimizu, Tokachi	SH1	I	AB018601
Japonya	Date, Iburi	D104	I	AB018599
Japonya	Shari, Abashiri	S43	I	AB018611
Japonya	Shari, Abashiri	S12	III	AB018606
Japonya	Shari, Abashiri	S42	III	AB018610
Çin	Gansu, Wuwei	CW1	I	AB563148
Çin	Zhangye, Gansu	ZYP26-6	IV	KP316944
Çin	Gansu	ZYP26-1	IV	KP316943
Çin	Inner Mongolia	BTP26-3	III	KP316906
Çin	Hohhot	Hoh1-2	IV	EF473122
Çin	Yanji, Xingjiang	CX5	I	AB563151
Çin	Yanji, Xingjiang	Chan2	I	EF473126
Çin	Yinchuan, Ningxia	CY3	I	AB018617
Çin	Wuwei, Gansu	Wu1	I	EF473124
Çin	Hohhot, Inner Magnolia	CH7	I	AB563147
Çin	Hohhot, Nei Menggu	CH4	I	AB563144
Çin	Hohhot, Nei Menggu	CH3	I	AB018615
Çin	Qiqihar, Heilongjiang	YAP26-1	I	KP316928
Çin	Hohhot, Inner Magnolia	CH6	I	AB563146
Çin	Harbin, Heilongjiang	Har4	I	EF473120
Çin	Qiqihar, Heilongjiang	YAP26-4	III	KP3169343
Kazakistan	.*	Kas2	II	AF197555
Fransa	Corbeille	FC	II	AB018618
Fransa	Pithiviers	FP	II	AB018619
	Dış Grup	BSBMV		AF280540

* -: Bilinmiyor



Şekil 4.56. IGR-9 ve ERC-52 kodlu BNYVV izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının P26 bölgesi nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde MEGA 7 yazılımında yer alan ML yöntemi kullanılmıştır. BSBMV P29 dizisi (erişim numarası AF280540) dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlara ait bilgiler Tablo 4.34’de yer almaktadır

Bu çalışmada, ML algoritmasına göre filogenetik ağaç yapılandırılmıştır. Dendogramdaki BNYVV izolatları incelendiğinde; bu izolatların P26 genine göre dört ayrı dala ayrıldıkları (Grup I, Grup II, Grup III ve Grup IV) görülmüştür (Şekil 4.56).

IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının ise Grup I içerisinde ve daha önce NCBI'a kayıt edilen diğer Türk izolatları (IGDR-6, ANKR-195, KNYA-418 ve EDRN-133) ile %96 bootstrap değeriyle aynı dalda yer aldıkları belirlenmiştir.

Bir Alman izolatına (OW1) ilaveten, bu grup içerisinde yer alan izolatların tamamını Çin ve Japon izolatlarının oluşturması dikkat çekmiştir. Grup II; İngiliz (FF ve MH), Kazak (KAS2) ve Fransız (FP ve FC) izolatlarından oluşmuştur. Grup III içerisinde, Çin (BTP26-3) ve Japon (S12, S42 ve YAP26-4) izolatları yer alırken; IV. Grup içerisinde ise sadece Çin (ZYP26-6, ZYP26-1 ve Hoh1-2) izolatları kümelenmiştir (Şekil 4.56).

Sonuç olarak, IGR-9 ve ERC-52 izolatları üzerine yürütülen moleküler karakterizasyon çalışmaları genel olarak değerlendirildiğinde; bu izolatların RNA-2 segmenti üzerinde yer alan CP geninin A (P)-tip karakterde olduğu belirlenmiştir. BNYVV izolatları RNA-3 tarafından sentezlenen P25 genine göre farklı grup ve streynlere ayrılmaktadırlar. Buna göre; ERC-52 izolatının Grup-I içerisinde İtalyan streyn grubunda yer almasına karşın; IGR-9 izolatının ise Grup-II'de Çin-B streyn grubuna dahil olduğu görülmüştür. RNA-4 segmentinden sentezlenen P31 genine göre ise her iki izolatın da Grup I'de bulundukları tespit edilmiştir. Ayrıca; IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının BNYVV'nin 5. RNA segmentini içerdiği ve RNA-5 tarafından kodlanan P26 genine göre ise her iki izolatın da Grup I'de yer aldıkları ortaya konulmuştur (Tablo 4.35).

Tablo 4.35. IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının kılıf protein, P25, P31 ve P26 gen bölgelerine göre belirlenen streyn grupları

İzolat adı	Genom segmentleri					
	RNA-2	RNA-3			RNA-4	RNA-5
	CP	P25 grubu	Tetrat motif	Streyn tipi	P31 grubu	P26 grubu
IGR-9	A(P)-tip	Grup II	ASHG	Çin-B	Grup I	Grup I
ERC-52	A(P)-tip	Grup I	ACHG	İtalya	Grup I	Grup I

4.1.2.5. IGR-9 ve ERC-52 BNYVV İzolatlarının Patojenitelerinin Karşılaştırılması

IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının elde edildikleri toprak örneklerinin BNYVV'nin yanı sıra; BSBV ve BVQ ile de bulaşık olduğu bu tezin daha önceki kısımlarında belirlenmişti. Bununla birlikte; bu çalışma ile, sıra dışı bu iki BNYVV izolatının farklı

şeker pancarı genotiplerinde [*rz1*, *Rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren] patojenitelerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, her iki toprak örneğinde tuzak bitki testi yöntemine göre üç tekerrürlü olarak, farklı genotiplere ait şeker pancarları sekiz hafta süre ile yetiştirilmiştir. Bu peryodun sonunda, bitkiler hasat edilerek kök bölgeleri alınmış ve BNYVV'ye özgü poliklonal antiserum kullanılarak ELISA ile test edilmiştir. ELISA testi sonucuna göre; bu izolatların BNYVV'ye karşı farklı dayaklılık genlerini içeren (*Rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) üç genotipte de dayanıklılığı kırdıkları tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuç; IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının oldukça agrasif olduğunu ve dayanıklı genotiplerin hiçbirisinin bu izolatları kontrol etme potansiyeline sahip olmadığını göstermiştir (Tablo 4.36).

Tablo 4.36. IGR-9 ve ERC-52 izolatlarına farklı şeker pancarı genotiplerinin reaksiyonları ile ilgili ELISA absorbands değerleri

İzolat adı	BNYVV ELISA absorbands değeri*			
	<i>rz1</i>	<i>Rz1</i>	<i>Rz1+Rz2</i>	<i>Rz1+ C48+minör genler</i>
IGD-9	2.230 (+)	1.551 (+)	3.572 (+)	1.050 (+)
ERC-52	2.221 (+)	2.176 (+)	1.661 (+)	0.578 (+)
Negatif Kontrol	0.118	0.122	0.120	0.133

*Negatif kontrollerin absorbands değerlerinin ortalamasından 3 katı ve üzerinde değer veren örnekler pozitif olarak (dayanıklılık-kırıcı) değerlendirilmiştir (Liu et al., 2005)

4.1.2.6. BNYVV KNY-359 İzolatının Biyolojik Karakterizasyonu

Daha önce yürütülen bir çalışma ile; ELISA testi sonucuna göre BNYVV ile bulaşık, BSBV ile bulaşık olmadığı bilinen; bu çalışma ile de RT-PCR yöntemi ile BVQ ile bulaşık olmadığı saptanan Konya iline ait bir toprak örneği [359 no'lu: Saray/Yunak/Konya] seçilmiş ve BNYVV'nin biyolojik karakterizasyonu çalışmalarında inokulum kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu amaçla, öncelikle bu toprak örneğinde BNYVV hassas şeker pancarları (cv. Kasandra) tuzak bitki tekniğine göre altı hafta süre ile yetiştirilmiş ve sonrasında elde edilen kök örneklerinin bir kısmı alınarak virüsün varlığını teyit etmek için ELISA ile test edilmiştir. Böylelikle, kesin olarak BNYVV ile enfekteli olarak belirlenen kök örnekleri, daha sonra BNYVV izolatının (KNY-359) konukçu çevresinin belirlenmesi amacıyla biyolojik çalışmalarda kullanılmıştır. Bu çalışmada, BNYVV ile enfekteli şeker pancarı kökleri farklı familyalara ait bitki türlerine Yöntem 3.2.1.10'da belirtildiği şekilde inokule edilmiştir. İnokulasyonu takiben 1-4 hafta süresince, BNYVV izolatının bu bitkilerde oluşturduğu reaksiyonlar gözlenerek, oluşan belirtiler kayıt edilmiş (Tablo 4. 37) ve

bitkilerin fotoğrafları çekilmiştir. Bu belirtilerin BNYVV enfeksiyonundan kaynaklandığını teyit etmek amacıyla ise, her bir test bitkisinin virüs inokule edilen ve virüs inokule edilmeyen birer yaprağı alınarak ELISA ile test edilmiştir (Tablo 4. 37). Ayrıca, inokule edilen bitkilerin bir kısmı ayrılarak iklim odasında yaklaşık 7 ay süre ile yetiştirilmeye devam edilmiş ve belirtiler gelişimleri gözlenmiştir.



Tablo 4.37. KNY-359 izolatu ile inokule edilen test bitkilerinin reaksiyonları ve DAS-ELISA sonuçları

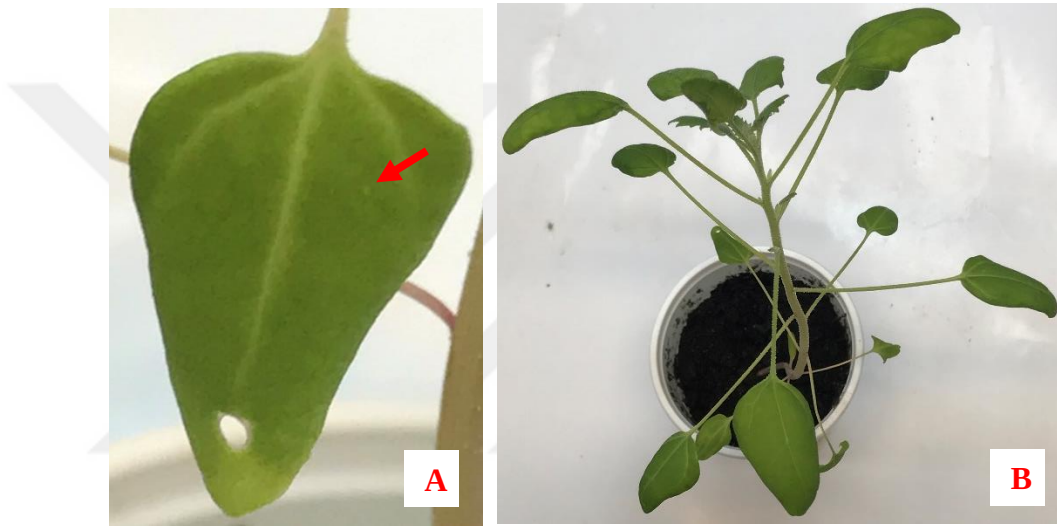
Test Bitkileri	KNY-359									
	Tekerrür	Lokal Simp*	ELISA			Sistemik Simp.*	ELISA		Sistemik Simp.*	ELISA
			2 h sonra	24 h sonra	7 ay sonra		2 h sonra	24 h sonra		
<i>C. quinoa</i>	1	UKLL	0.178 (-)	0.437 (+)	TE**	HB	0.170 (-)	0.400 (+)	KE***	TE
<i>B. macrocarpa</i>	1	UKLL	0.101 (-)	0.173 (-)	0.370 (-)	UKLL	0.098 (-)	0.175 (-)	KL, DAS	0.343 (-)
	2	UKLL	0.103 (-)	0.212 (-)	0.361 (-)	UKLL	0.101 (-)	0.157 (-)	KL, DAS	0.377 (-)
<i>N. benthamiana</i>	1	SY	0.092 (-)	0.123 (-)	TE	HB	0.102 (-)	0.145 (-)	KE	TE
	2	SY	0.106 (-)	0.162 (-)	TE	HB	0.100 (-)	0.133 (-)	KE	TE
<i>N. rustica</i>	1	SY	0.091 (-)	0.146 (-)	TE	SY	0.101 (-)	0.206 (-)	KE	TE
	2	SY	0.095 (-)	0.153 (-)	TE	SY	0.120 (-)	0.210 (-)	KE	TE
<i>P. patellaris</i>	1	UKLL	0.125 (-)	0.234 (-)	TE	SY	0.093 (-)	0.157 (-)	SNL	0.279 (-)
	2	UKLL	0.101 (-)	0.204 (-)	TE	SY	0.100 (-)	0.273 (-)	SNL	0.320 (-)
<i>S. oleracea</i> cv. Nebraska	1	HB, DB	0.100 (-)	0.191 (-)	TE	YFB, YB	0.106 (-)	0.199 (-)	KE	TE
	2	HB, DB	0.287 (+)	0.754 (+)	TE	YFB, YB	0.122 (-)	0.281 (+)	KE	TE
Negatif Kontrol^a			0.099	0.131	0.307		0.099	0.131		0.307

*Simptomlar: HB: Hafif Bombe, YB: Yaprakta Bombe, DAS: Damarlar Arası Siyahlaşma, KL: Klorotik lezyon, SNL: Siyah Nekrotik Lezyon, UKLL: Ufak Klorotik Lokal Lezyon, YFB: Yapraklarda Form Bozukluğu, DB: Damarlarda Büzülme, SY: Simptom yok.

TE: Test Edilmedi; *KE: Kayıt Edilmedi.

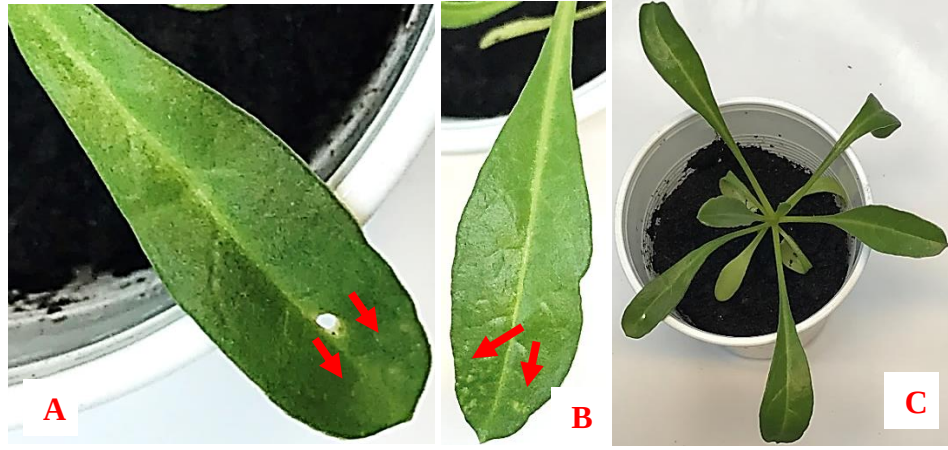
^a (+) = Negatif kontrolün 2 katından fazla olan ELISA absorbans değerleri (pembe renk ile işaretlenmiştir); (-) : BNYVV tespit edilmedi (yeşil renk ile belirtilmiştir).

KNY-359 izolatının *C. quinoa* bitkisine mekanik inokulasyonu sonrasında; virüs inokule edilen yapraklarında ufak klorotik lokal lekeler, virüs inokule edilmeyen üst yapraklarında ise hafif kabarıklık oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.57; Tablo 4.37). İnokulasyonu takiben yaklaşık dört haftalık peryot sonunda, virüs-inokule edilen ve edilmeyen yapraklardan örnekleme yapılmış ve bu örnekler ELISA ile test edilmiştir. Ancak, mikropyletlere substrat ilavesinden iki saat sonra yapılan ELISA okumasında lokal ve sistemik yapraklara ait örneklerde virüsün varlığı saptanamamıştır. Bununla birlikte; pleytin buzdolabında +4°C’de 24 saat inkübasyonunu takiben tekrarlanan okumada *C. quinoa* bitkisinin hem lokal (0.437), hem de sistemik yapraklarında (0.400) BNYVV’nin varlığı tespit edilebilmiştir (Tablo 4.37).

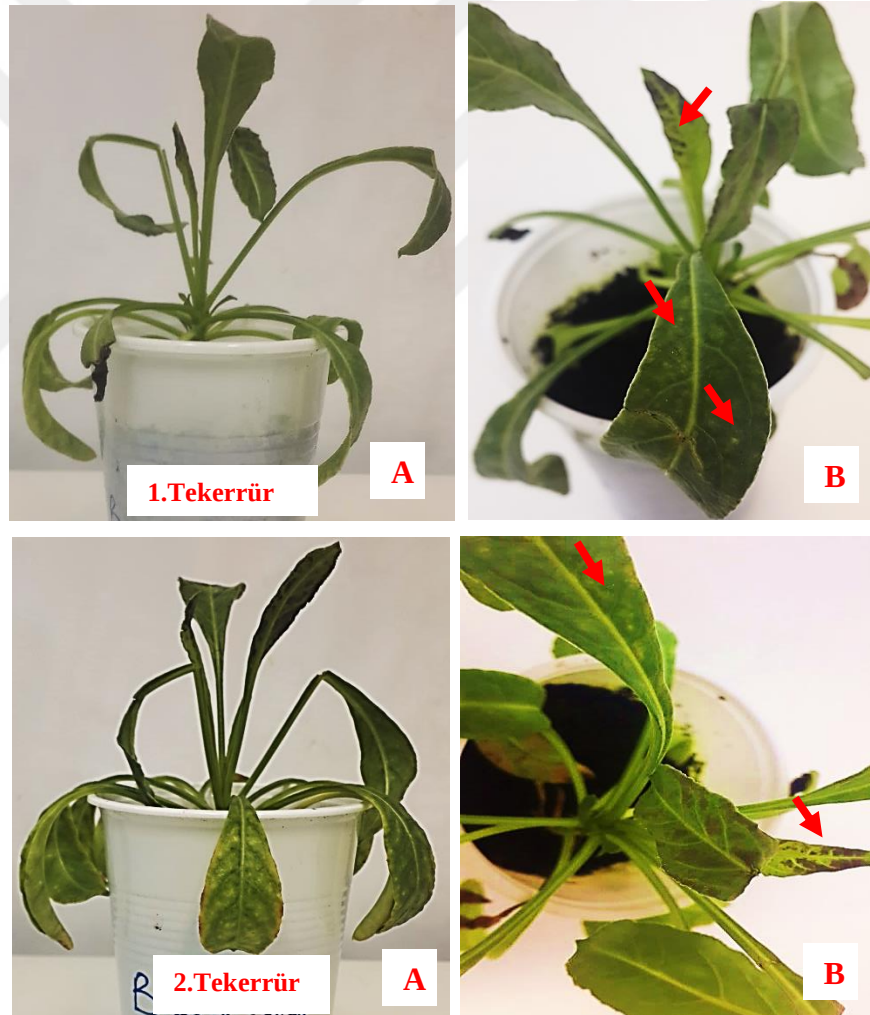


Şekil 4.57. KNY-359 izolatı ile inokule edilen *Chenopodium quinoa* bitkisinin inokule edilen yapraklarında 4 hafta sonra oluşan ufak klorotik lokal lezyonlar (A) ve inokule edilmeyen üst yapraklarında gözlenen hafif kabarıklık oluşumu (B)

BNYVV KNY-359 izolatının *B. macrocarpa* bitkilerine mekanik inokulasyonu sonucunda; iki tekerrürde de virüs-inokule edilen ve –inokule edilmeyen yapraklarda ufak klorotik lezyon oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.58). Ancak, yaklaşık bir ay sonra bu örneklerle uygulanan DAS-ELISA testi sonucu belirti gözlenen inokule edilen ve edilmeyen üst yapraklarda BNYVV enfeksiyonu tespit edilmemiştir (Tablo 4.37). Bununla birlikte, bu bitkiler simptom gelişimini izlemek amacıyla ilave altı ay süre kadar daha iklim odasında muhafaza edilmiştir. İlerleyen zaman içerisinde tekerrürlerin her ikisinde de oluşan klorotik lezyonların sayısının arttığı ve damarlar arası bölgede siyahlaşmaların olduğu görülmüştür (Şekil 4.59) fakat her iki tekerrüre ait bitkilerin üst yapraklarının ELISA ile testi, negatif sonuç vermiştir (Tablo 4.37).

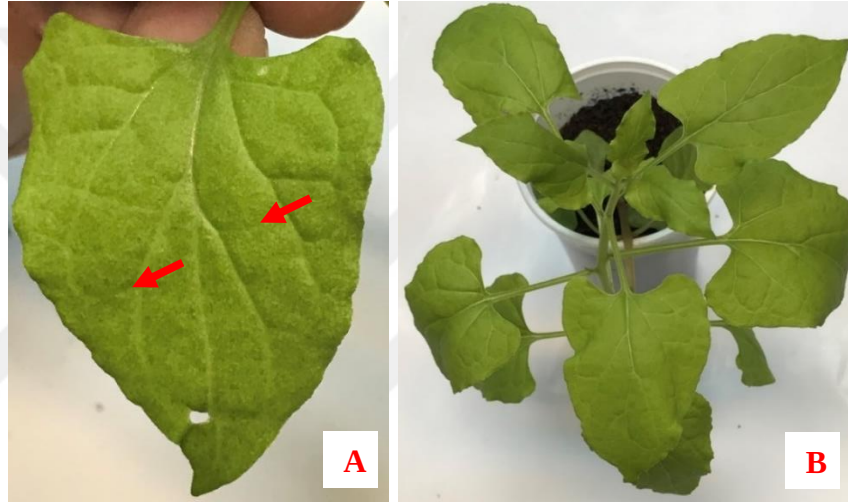


Şekil 4.58. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 4 hafta sonra *B. macrocarpa* bitkilerinin virüs-inokule edilen (A) ve edilmeyen üst yapraklarında oluşan ufak klorotik lokal lezyonlar (B) ve bu bitkinin genel görünümü (C)

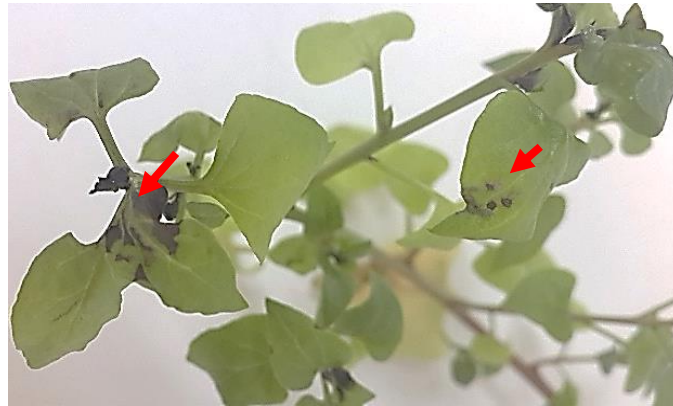


Şekil 4.59. KNY-359 izolatının inokulasyonundan 7 ay sonra *Beta macrocarpa*'nın 1. ve 2. tekerrüründeki bitkilerin yapraklarında gelişen klorotik lezyonlar (A) ve damarlar arası siyahlaşmanın görünümü (B)

Patellifolia patellaris bitkilerinin her iki tekrarında ise; BNYVV inokulasyonunu takiben virüs-inokule edilen yapraklarda ufak klorotik lokal lezyon oluşumu saptanmış, ancak üst yapraklarda ise bariz virüs-benzeri bir belirti kayıt edilmemiştir (Şekil 4.60). Nitekim, bu bitkilerin hem lokal, hem de sistemik yapraklarına uygulanan ELISA testi ile BNYVV enfeksiyonu belirlenememiştir (Tablo 4.37). Bu bitkiler de ek olarak 6 ay süre ile iklim odasında tutulmuş, bu süreç içerisinde bu bitkiye ait iki tekerrürde de yapraklarda iri siyah nekrotik lokal lezyonların oluştuğu görülmüştür (Şekil 4.61). Takiben, bu lekelerin görüldüğü üst yapraklarda ELISA testi tekrarlanmış, fakat örneklerde virüsün varlığı tespit edilememiştir (Tablo 4.37).



Şekil 4.60. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 4 hafta sonra *Patellifolia patellaris* bitkisinin virüs-inokule edilen yapraklarında oluşan ufak klorotik lokal lezyonlar (A) ve bu bitkinin genel görünümü (B)



Şekil 4.61. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 7 ay sonra *Patellifolia patellaris* bitkisinin üst yapraklarında gelişen iri siyah nekrotik lezyonların görünümü

Nicotiana benthamiana bitkisinin virüs inokulasyonu yapılan her iki tekerrüründe de virüs inokulasyonu yapılan yapraklarda herhangi bir simptom oluşumu gözlenmemiş, ancak üst yapraklarda hafif bombe oluşumu dikkat çekmiştir. Ancak, bu bitkiye ait örneklerle uygulanan ELISA testi negatif sonuç vermiştir (Şekil 4. 62; Tablo 4.37).



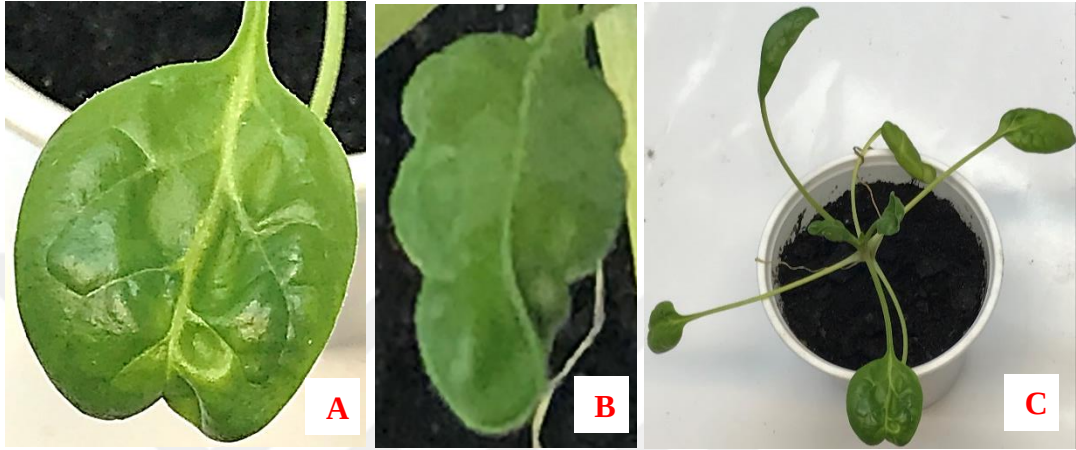
Şekil 4.62. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 4 hafta sonra *Nicotiana benthamiana* bitkisinin virüs-inokule edilen yaprağı (A) ve bitkinin genel görünümü (B)

Nicotiana rustica bitkisinde ise, virüs-inokule edilen ve inokule edilmeyen yapraklarda hiçbir belirti gözlenmemiştir (Şekil 4.63). Bu bitkilerin yapraklarına uygulanan ELISA testi sonucunda, BNYVV'nin varlığına dair bir sonuç elde edilememiştir (Tablo 4.37).



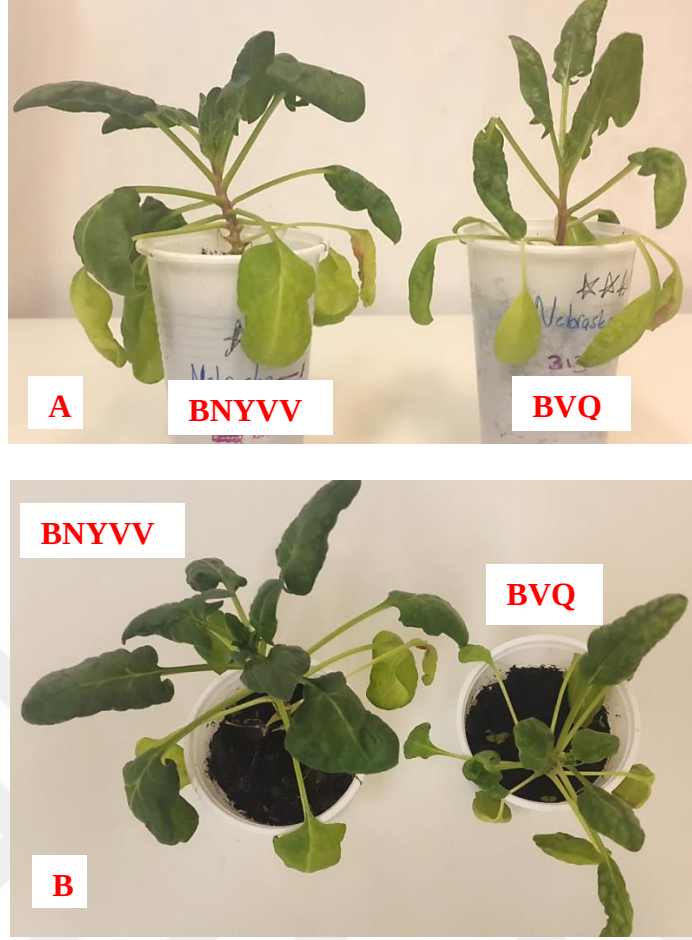
Şekil 4.63. KNY-359 izolatının mekaniksel inokulasyonundan 4 hafta sonra *Nicotiana rustica* bitkisinin genel görünümü

Aynı BNYVV izolatının *S. oleracea* cv. Nebraska bitkilerine mekanik inokulasyonu sonucunda; her iki tekerrürde virüs-inokule edilen yapraklarda hafif bombe ve damarlarda büzülme; sistemik yapraklarda ise bombe ile birlikte form bozukluğu oluşumu dikkat çekmiştir (Şekil 4.64; Tablo 4.37). Bu bitkinin her iki tekerrüre ait; virüs- inokule edilen ve -edilmeyen yaprakları ELISA ile testlenmiş, ancak sadece bir tekerrürde BNYVV enfeksiyonu tespit edilmiştir (Tablo 4.37).



Şekil 4.64. KNY-359 izolatı ile inokule edilen *S. oleraceae* cv. Nebreska bitkilerinin virüs inokule edilen yapraklarında gözlenen bombe ve damarlarda büzülme oluşumu (A), üst yapraklarda gözlenen bombe ve form bozukluğu (B) ve bu bitkinin 4 hafta sonunda kaydedilen genel görünümü (C)

Diğer taraftan; bu çalışmada, BNYVV ve BVQ izolatlarının mekanik inokulasyonunu takiben iklim odası şartlarında yedi ay süre ile yetiştirilen *S. oleraceae* (ıspanak) cv. Nebraska bitkilerinde gözlenen belirtiler kıyaslandığında; gerek BNYVV, gerekse BVQ izolatı ile inokule edilen ıspanak bitkilerinde oluşan belirtilerin birbirine benzer olması dikkat çekmiştir (Şekil 4.65).



Şekil 4.65. BNYVV ve BVQ ile enfekteli *S. oleraceae* cv. Nebraska bitkilerinin virüs inokulasyonundan yedi ay sonra gözlenen yapraklarda form bozukluğu (A) ve (B)

4.1.3. Beet soil-borne virus (BSBV)'ün Kılıf Proteinine Göre Moleküler Karakterizasyonu

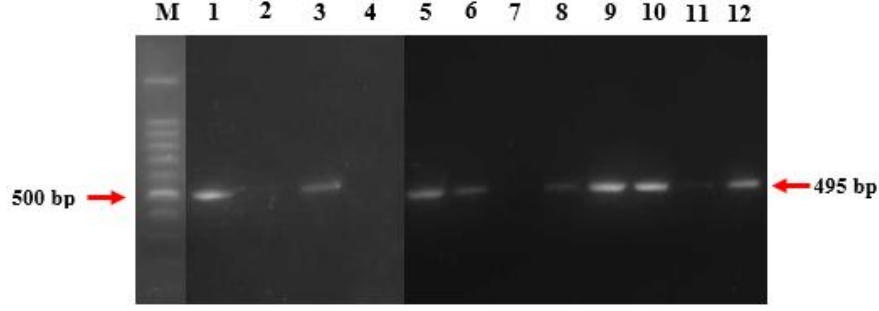
4.1.3.1. Beet soil-borne virus'un Kılıf Protein Gen Bölgesinin RT-PCR ile Çoğaltılması

Bu çalışmada, Türkiye'nin farklı pancar alanlarına (Şekil 4.66) ait BSBV izolatlarının RNA-2 genom segmenti üzerinde yer alan CP gen bölgesinin incelenmesi hedeflenmiştir.

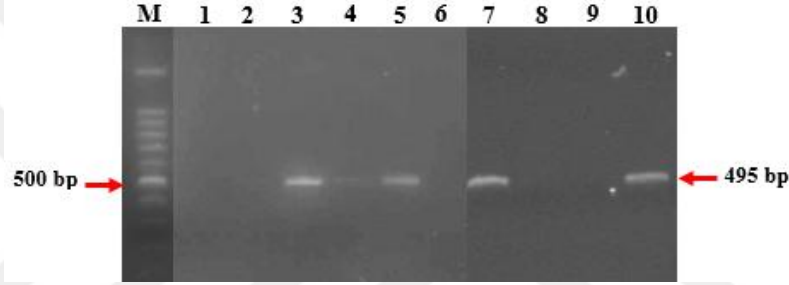


Şekil 4.66. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan BSBV izolatlarının seçildiği iller

Beet soil-borne virus'ün CP geninin çoğaltılmasında, RT-PCR çalışmaları iki aşamalı olarak yürütülmüştür. İlk olarak, Omniscript RT kiti (Qiagen) kullanımı ile RT aşaması gerçekleştirilmiş; daha sonra ise, bu cDNA'lar ve Phusion High-Fidelity DNA Polymerase kullanılarak PCR ile izolatların CP bölgesi çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüleme cihazı ile incelenmesi sonucunda; 14 örnekte (9, 27, 38, 52, 75, 125, 148, 225, 259, 355, 373, 581, 617, 625) bu bölgeye spesifik 495 bp büyüklüğünde ürün elde edilmiştir (Şekil 4.67-Şekil 4.70). Ancak, diğer incelenen 9 örnekte (44, 57, 63, 68, 150, 281, 291, 527, 602 no'lu) ürün oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.67-Şekil 4.70). Projede sekans analizi yapılması planlanan BSBV izolat sayısı 15 olmakla birlikte, farklı kitler (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum Taq DNA Polymerase kiti-Invitrogen; One-Step RT-PCR kiti-Qiagen) ve farklı cDNA konsantrasyonları (1/10 ve 1/20 seyreltme) denenmesine rağmen izolatlardan birinden sonuç alınamamış, ancak 14 izolatın CP bölgesinin çoğaltımı sağlanmıştır.



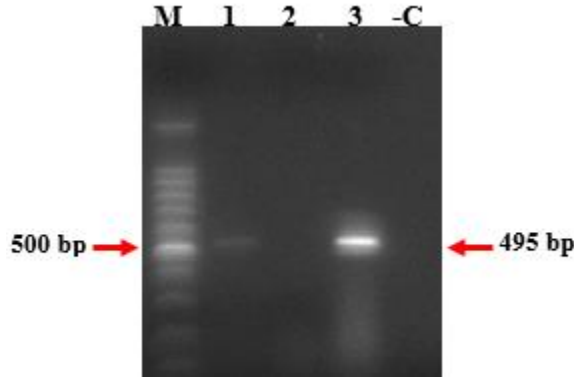
Şekil 4.67. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 9 no'lu izolat-Iğdır, 2: 68 no'lu izolat-Çorum, 3: 125 no'lu izolat-Edirne, 4: 291 no'lu izolat-Adapazarı, 5: 148 no'lu izolat-Bursa, 6: 225- no'lu izolat-Eskişehir, 7: 602 no'lu izolat-Kütahya, 8: 27 no'lu izolat-Gaziantep, 9: 52 no'lu izolat-Erzincan, 10: 355 no'lu izolat-Yozgat, 11: 44 no'lu izolat-Elazığ, 12: 259 no'lu izolat-Afyon) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA]



Şekil 4.68. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 44 no'lu izolat (1:5 sulandırma)-Elazığ, 2: 68 no'lu izolat (1:5 sulandırma)-Çorum, 3: 373 no'lu izolat-Konya, 4: 581 no'lu izolat-Aksaray, 5: 617 no'lu izolat-Ankara, 6: 150 no'lu izolat-Çanakkale, 7: 38 no'lu izolat-Elazığ, 8: 57-Samsun, 9: 63 no'lu izolat-Çorum, 10: 625 no'lu izolat-Ankara) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA]



Şekil 4.69. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 27 no'lu izolat -Gaziantep, 2: 52 no'lu izolat-Erzincan, 3: 225 no'lu izolat-Eskişehir, 4: 355 no'lu izolat -Yozgat, 5: 581 no'lu izolat-Aksaray, 6: 373 no'lu izolat -Konya, 7: 281 no'lu izolat-Kastamonu, 8: 527 no'lu izolat -Kayseri, 9: 75 no'lu izolat-Amasya) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



Şekil 4.70. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin RT-PCR yöntemi ile çoğaltılması [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 1: 75 no'lu izolat -Amasya, 2: 52 no'lu izolat -Erzincan, 3: 225 no'lu izolat-Eskişehir) illerine ait şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

4.1.3.2. Beet soil-borne virus'un Kılıf Protein Bölgesine Ait Sekans Analiz

Sonuçları

Ondört BSBV izolatının PCR ürünlerine ait her iki yönde elde edilen ham sekans dizileri hizalanmış, konsensus diziler oluşturulmuş ve bu konsensus nükleotit dizilerinden de aa dizileri elde edilmiştir (EK-6). Ancak, bu veriler incelendiğinde, Iğdır (IGR-9S), Elazığ (ELZ-38S), Edirne (EDR-125S), Bursa (BRS-148S), Eskişehir (ESK-225S), Afyonkarahisar (AFY-259S), Yozgat (YZT-355S), Konya (KNY-373S) ve Ankara (ANK-617S ve ANK-625S) illerine ait 10 BSBV izolatına ait dizinin düzgün okunduğu görülmüştür (Tablo 4. 39). Ardından, 10 BSBV izolatının CP bölgesine ait nükleotit dizileri GenBank'a gönderilerek, OL870481-OL870490 numaraları altında NCBI'da kayıt altına alınmıştır (Tablo 4.44).

Beet soil-borne virus izolatlarının RNA-2 segmentine ait dizi analizi yapılan bölgenin uzunluğu 495 baz kadar olup, 164 aa kodlamakta ve CP bölgesinin tamamını içermektedir. Ülkemiz pancar üretim alanlarından elde edilen BSBV izolatlarının birbirleriyle genetik benzerliklerini araştırmak amacıyla NCBI'daki BLASTn algoritması kullanılmıştır. Buna göre; IGR-9S ile ELZ-38S izolatlarının birbirleriyle, ESK-225S, AFY-259S ve ANK-625S izolatlarının ise kendi aralarında CP genine göre nükleotit düzeyinde %100 benzer oldukları belirlenmiştir. Diğer beş BSBV izolatının ise, birbirleriyle nükleotit bakımından yüksek oranda (%97.17-%99.80) benzerlik gösterdikleri tespit edilmiştir (Tablo 4.38).

Tablo 4.38. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin nükleotit seviyesinde göstermiş olduğu benzerlik oranları (%)

İzolat adı	No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
IGR-9S	1	*	100	98.18	98.59	98.79	98.79	98.99	98.79	98.59	98.79
ELZ-38S	2	100	*	98.18	98.59	98.79	98.79	98.99	98.79	98.59	98.79
EDR-125S	3	98.18	98.18	*	99.19	98.99	98.99	97.17	98.59	98.79	98.99
BRS-148S	4	98.59	98.59	99.19	*	98.99	98.99	97.78	98.59	98.79	98.99
ESK-225S	5	98.79	98.79	98.99	98.99	*	100	97.71	99.60	99.80	100
AFY-259S	6	98.79	98.79	98.99	98.99	100	*	97.71	99.60	99.80	100
YZT-355S	7	98.99	98.99	97.17	97.78	97.71	97.71	*	97.71	97.50	97.71
KNY-373S	8	98.79	98.79	98.59	98.59	99.60	99.60	97.71	*	99.39	99.60
ANK-617S	9	98.59	98.59	98.79	98.79	99.80	99.80	97.50	99.39	*	99.80
ANK-625S	10	98.79	98.79	98.99	98.99	100	100	97.71	99.60	99.80	*

Tablo 4.39. BSBV izolatlarının kılıf protein bölgesinde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonları [Almanya’ya ait Ahlum izolatu (U64512) referans olarak kullanılmıştır]

Ülke	İzolat adı	Nükleotit pozisyon numaraları*																	
		33	36	60	72	99	120	153	168	171	183	192	194	201	204	207	225	227	240
Almanya	Ahlum	A	T	A	T	T	C	G	A	G	T	T	C	C	C	A	T	A	T
Türkiye	EDR-125S	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	A	.	.	.	.	.	.
	BRS-148S	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	A	.	T	.	.	.	.
	YZT-355S	.	.	.	A	C	.	.	G	.	.	.	A	.	T	.	C	.	C
	IGR-9S, ELZ-38S	.	.	.	.	C	.	.	G	.	.	.	A	.	T	.	C	.	C
	KNY-373S	.	.	.	.	C	.	.	G	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.
	ANK-617S	G	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.
	ESK-225S, AFY-259S, ANK-625S	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.

Tablo 4.39. (Devam)

Ülke	İzolat adı	Nükleotit pozisyon numaraları*																
		246	264	274	297	318	329	351	360	361	364	393	396	415	441	447	456	495
Almanya	Ahlum	G	A	G	G	C	T	A	G	G	G	C	C	A	T	C	A	G
Türkiye	EDR-125S	.	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	BRS-148S	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	YZT-355S	.	.	A	.	.	.	.	A	A	A	.	T	.	A	T	.	.
	IGR-9S, ELZ-38S	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	T	.	.
	KNY-373S	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	T	G	.
	ANK-617S	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	T	G	.
	ESK-225S, AFY-259S, ANK-625S	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	T	G	.

* Nokta sembolü referans izolat ile aynı nükleotidi içerdiğini göstermektedir.

Farklı coğrafik alanlardan elde edilen 10 BSBV izolatının CP gen bölgesinde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonları Tablo 4.39’da gösterilmiştir. Almanya’ya ait Ahlum izolatı (U64512) referans alınarak oluşturulan bu çizelgede, Türkiye izolatlarının maksimum 17 pozisyonda birbirlerinden farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.39).

Tablo 4.40. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein geninin nükleotit düzeyinde dünya izolatları ile benzerlik oranları

İzolat Adı	NCBI kayıt no	NCBI izolat adı	Ülke	Benzerlik oranı (%)*
IGR-9S	MN087415	TR3	Türkiye	99.39
ELZ-38S	MN087412	TR1	Türkiye	99.39
	FN386613	pUBS-2-wt	Belçika	99.39
EDR-125S	EU785965	WBScp	Polonya	99.36
	FJ971718	PL	Polonya	99.19
	EU785966	JBScp	Polonya	99.19
BRS-148S	EU785965	WBScp	Polonya	99.39
	MK731955	BSBV-JKI 1825732	Almanya	99.19
	FJ971718	PL	Polonya	99.19
ESK-225S	FJ971718	PL	Polonya	99.39
AFY-259S	EU785967	ZBScp	Polonya	99.39
ANK-625S	EF113300	pBSBV-cp061027-1	Çin	99.39
YZT-355S	MN087412	TR1	Türkiye	99.19
	MN087415	TR3	Türkiye	98.38
	EF113300	pBSBV-cp061027-1	Çin	97.98
KNY-373S	EF113300	pBSBV-cp061027-1	Çin	99.39
	EF210552	pBSX3-4	Çin	99.19
	FJ971718	PL	Polonya	98.99
ANK-617S	FJ971718	PL	Polonya	99.19
	EU785966	JBScp	Polonya	99.19
	EF113300	pBSBV-cp061027-1	Çin	99.19

*BLASTn’ e göre en yüksek benzerliğe sahip ilk üç BSBV izolatı verilmiştir

Bu çalışmada incelenen BSBV izolatlarının CP gen bölgesinin dünya izolatları ile BLASTn analizi ile karşılaştırılması sonucu; EDR-125S (Edirne) ve BRS-148S (Bursa) izolatları, Polonya’ya ait WBScp izolatı ile sırasıyla % 99.36 ve % 99.39 benzerliğe sahip bulunmuştur. Yozgat ili şeker pancarı alanından izole edilen YZT-355S izolatı en yüksek benzerliği Türkiye’ye ait (Tokat) TR1 izolatı ile (% 99.19); IGR-9S ve ELZ-38S izolatları ise ülkemizden TR1 ve TR3 izolatları ile (% 99.39) göstermiştir. KNY-373S izolatı nükleotit düzeyinde en yüksek benzerliği Çin’e ait pBSBV-cp061027-1 izolatı ile (% 99.39); ANK-617S izolatı, Polonya’ya ait PL izolatı ile (% 99.19) sergilemiştir. Ayrıca, ESK-225S, AFY-259S ve ANK-625S izolatları ise % 99.39 oran ile Polonya’ya ait PL ve ZBScp izolatları ve de Çin’e ait pBSBV-cp061027-1 izolatı ile benzerlik göstermişlerdir (Tablo 4.40).

İzolatlarının kendi aralarındaki aa düzeyindeki benzerliklerini incelemek amacıyla NCBI'daki Blastp analizi uygulanmış ve Iğdır (IGR-9S), Elazığ (ELZ-38S), Edirne (EDR-125S), Bursa (BRS-148S), Eskişehir (ESK-225S), Afyonkarahisar (AFY-259S), Ankara (ANK-617S ve ANK-625S) ve Konya (KNY-373S) illerinden elde edilen dokuz BSBV izolatının birbirleriyle % 100 benzer oldukları saptanmıştır (Tablo 4.41; Ek 18). Ayrıca, Yozgat ilinden elde edilen YZT-355S izolatının ise, diğer izolatlarla benzerlik oranının % 98.17 olduğu belirlenmiş olup 92. [Aspartat (D) → Asparagin (N)], 121. [Glutamat (E) → Lizin (K)] ve 122. [Aspartat (D) → Asparagin (N)] pozisyonlarda yer alan aa'lerin diğer izotlardan farklılık sergilediği tespit edilmiştir (Tablo 4.42).

Tablo 4.41. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein gen bölgesinin amino asit dizisinde belirlenen benzerlik oranları (%)

İzolat Adı		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
IGR-9S	1	*	100	100	100	100	100	98.17	100	100	100
ELZ-38S	2	100	*	100	100	100	100	98.17	100	100	100
EDR-125S	3	100	100	*	100	100	100	98.17	100	100	100
BRS-148S	4	100	100	100	*	100	100	98.17	100	100	100
ESK-225S	5	100	100	100	100	*	100	98.17	100	100	100
AFY-259S	6	100	100	100	100	100	*	98.17	100	100	100
YZT-355S	7	98.17	98.17	98.17	98.17	98.17	98.17	*	98.17	98.17	98.17
KNY-373S	8	100	100	100	100	100	100	98.17	*	100	100
ANK-617S	9	100	100	100	100	100	100	98.17	100	*	100
ANK-625S	10	100	100	100	100	100	100	98.17	100	100	*

Tablo 4.42. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BSBV izolatlarının kılıf protein gen bölgesinde farklılık belirlenen amino asit pozisyonları [Almanya'ya ait Ahlum izolatı (U64512) referans olarak kullanılmıştır]

Ülke	İzolat adı	Amino asit pozisyon numaraları*			
		65	92	121	122
Almanya	Ahlum	T	D	E	D
Türkiye	IGR-9S, ELZ-38S, EDR-125S, BRS-148S, ESK-225S, AFY-259S, KNY-373S, ANK-617S, ANK-625S	N	.	.	.
Türkiye	YZT-355S	N	N	K	N

*T: Treonin, D: Aspartik asit, E: Glütamik asit, N: Asparajin, K: Lizin

Bu çalışmadaki BSBV izolatları kılıf protein bölgesi bakımından dünya izolatları ile BLASTp yöntemi ile karşılaştırıldığında, ülkemizin farklı coğrafik bölgelerden elde edilen dokuz BSBV izolatı, Çin'e ait pBSBV-cp061027-1 izolatı ile %100 benzer bulunmuştur. YZT-355S izolatı ise diğer incelenen izotlardan farklı

olarak Çin, Polonya ve Türkiye’ye ait bahsedilen sıraya göre; pBSBV-cp061027-1, PL ve TR3 izolatları ile %98.17 oran ile en yüksek benzerlik göstermiştir (Tablo 4.43). Ayrıca, bu çalışmada incelenen BSBV izolatlarının tamamının, Almanya’ya ait Ahlum izolatında 65. aa pozisyonunda yer alan Treonin (T) yerine, Asparagin (N) içerdikleri tespit edilmiştir (Tablo 4.42).

Tablo 4.43. Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein geninin amino asit düzeyinde dünya izolatları ile benzerlik oranları* (%)

İzolat Adı	NCBI kayıt no	NCBI izolat adı	Ülke	Benzerlik oranı (%)
IGR-9S, ELZ-38S, EDR-125S, BRS-148S, ESK-225S, AFY-259S, KNY-373S, ANK-617S, ANK-625S	ABN05228	pBSBV-cp061027-1	Çin	100
	QEY10201	TR1	Türkiye	99.39
	CAH17774	FP22	Fransa	99.39
YZT-355S	ABN05228	pBSBV-cp061027-1	Çin	98.17
	ACS14041	PL	Polonya	98.17
	QEY10207	TR3	Türkiye	98.17

*BLASTp’e göre en yüksek benzerliğe sahip ilk üç BSBV izolatı verilmiştir

4.1.3.3. BSBV İzolatlarının Kılıf Protein Genine Göre Filogenetik Analizi

Bu çalışmada, 10 BSBV izolatının kılıf protein (CP) bölgesine ait nükleotit dizileri elde edilmiş ve NCBI veri tabanındaki diğer BSBV izolatlarının dizileri ile Clustal W yöntemi kullanılarak hizalanmıştır. Ardından, BSBV izolatları arasındaki filogenetik ilişki ML yöntemine göre analiz edilmiştir. Clustal W analizi ve filogenetik çalışmalarda kullanılan BSBV izolatlarına ait bilgiler, Tablo 4.44’de verilmiştir.

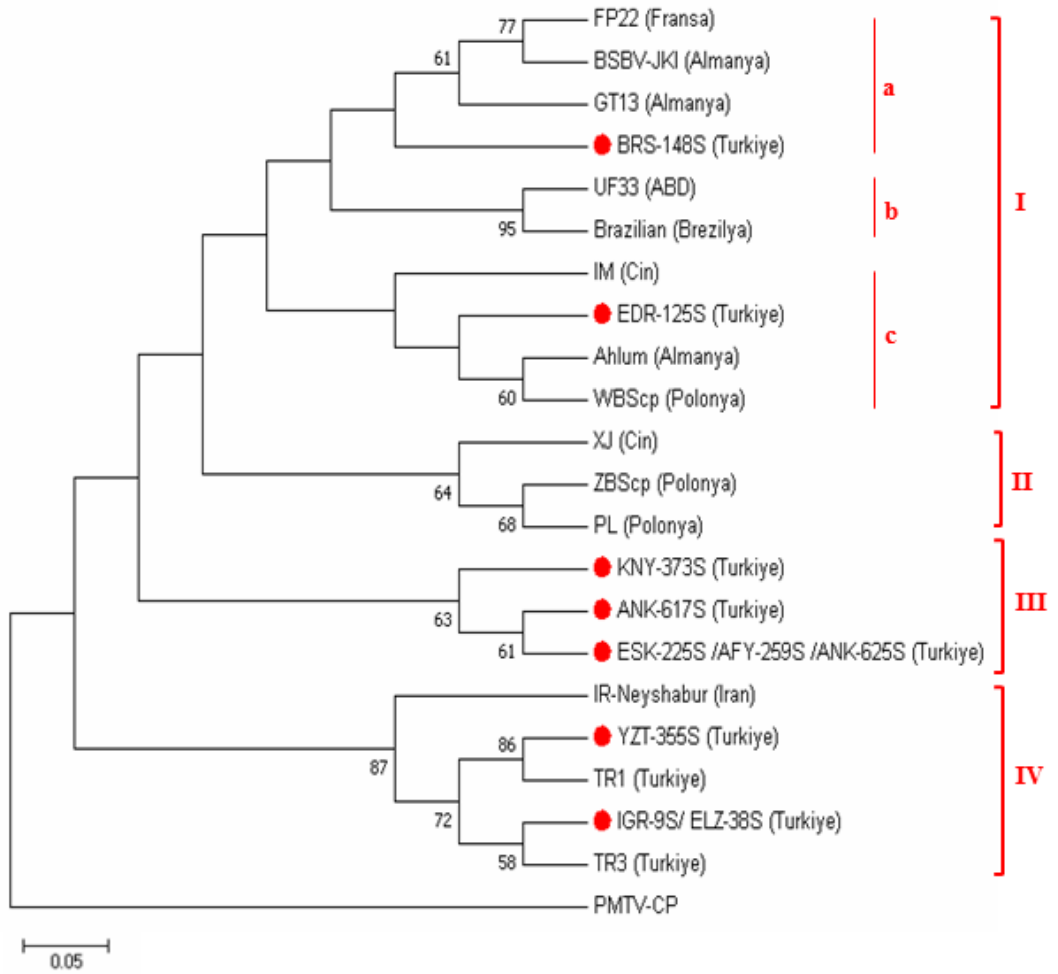
Tablo 4.44. Beet soil borne virus'ün kılıf protein geni nükleotit dizisi esas alınarak uygulanan Filogenetik analizde kullanılan izolatlar

Ülke	Lokasyon	İzolat adı	GenBank kayıt no
Türkiye	Iğdır	IGR-9S	OL870481
	Elazığ	ELZ-38S	OL870482
	Edirne	EDR-125S	OL870483
	Bursa	BRS-148S	OL870484
	Eskişehir	ESK-225S	OL870485
	Afyonkarahisar	AFY-259S	OL870486
	Yozgat	YZT-355S	OL870487
	Konya	KNY-373S	OL870488
	Ankara	ANK-617S	OL870489
	Ankara	ANK-625S	OL870490
Türkiye	Tokat	TR1	MN087412
Türkiye	Tokat	TR3	MN087415
İran	Neyshabur	IR-Neyshabur	FN386613
Almanya	.*	Ahlum	U64512
	Thurnhof	GT13	AJ810287
	.*	BSBV 1825732	MK731955
Fransa	Pithiviers	FP22	AJ810286
Polonya	.*	WBScp	EU785965
	.*	ZBScp	EU785967
	.*	PL	FJ971718
Çin	Xinjiang	XJ	EF545141
	Inner Mongolia	IM	EF545140
ABD	Fort Morgan	UF33	AJ810288
Brezilya	.*	Brazilian	MH106715
Polonya	PMTV-Pl (Dış grup)	-	GQ503252

* -: Bilinmiyor

BSBV izolatlarına ait ML dendogramı incelendiğinde, bu izolatların dört ayrı dala ayrıldığı belirlenmiştir (Şekil 4.71). Buna göre, Türkiye'ye ait BSBV izolatlarının, üç ayrı dalda kümelendikleri gözlenmiştir (Grup I, Grup III ve Grup IV). Marmara bölgesine ait BSBV izolatları Grup I içerisinde toplanmıştır. Grup I'in kendi içerisinde de, üç alt kola ayrıldığı görülmüştür. Buna göre; Bursa ilinden elde edilen BRS-148S izolatının Almanya (BSBV-JKI ve GT13) ve Fransa (FP22) izolatları ile (Grup I-a); Edirne ilinden elde edilen EDR-125S izolatının ise Almanya'dan Ahlum ve Polonya'dan WBScp izolatları ile (Grup-I-c) ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Grup I-b'de ise ABD (UF33) ve Brezilya (Brazilian)'ya ait izolatlar yer almıştır (Şekil 4.71). Dendogramda Grup III olarak işaretlenen alt dal, % 63 bootstrap değeriyle desteklenen ayrı soydan köken alarak ayrılmış ve sadece İç ve Batı Anadolu Bölgeleri'ne ait Türkiye izolatlarından oluşmuştur. Bu grup içerisinde; Konya (KNY-373S), Ankara (ANK-617S ve ANK-625S), Eskişehir (ESK-225S) ve Afyonkarahisar (AFY-259S) illerinden elde edilen BSBV izolatları toplanmıştır (Şekil 4.71). Grup IV'ün ise %

87'lik bootstrap değeriyle desteklenen ayrı soy hattından kaynaklandığı görülmüştür. Grup IV içerisinde, Doğu Anadolu Bölgesi'nden, Iğdır (IGR-9S) ve Elazığ (ELZ-38S) illerine ait izolatlar ile İç Anadolu Bölgesi'nden Yozgat (YZT-355S) izolatı ve bir diğer çalışma ile Tokat ilinden elde edilen (TR1 ve TR3) izolatlar (Moradi vd, 2021) ve İran'a ait IR-Neyshabur izolatı gruplanmıştır (Şekil 4.71). Grup II ise, Çin'den XJ izolatı ve Polonya'ya ait iki BSBV izolatından (ZBScp ve PL) oluşmuştur (Şekil 4.71).



Şekil 4.71. Beet soil-borne virus (BSBV) izolatlarının ve NCBI veri tabanında kayıtlı bazı BSBV izolatlarının kılıf protein geni nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, Maximum Likelihood yöntemi ve Tamura-Nei modeli kullanılmıştır. Dendogramda bootstrap değerleri, dallarda % olarak gösterilmiş ve %50'nin altındaki değerler ağaçta yer almamıştır. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını göstermektedir (0.05). *Pomovirus* cinsi üyesi Potato mop-top virus (PMTV), filogenetik ağacın oluşturulmasında dış grup olarak kullanılmıştır. Referans izolatlar ait bilgiler Tablo 4.44'de yer almaktadır

4.2. Tartışma

Bu çalışmada, Türkiye'nin önemli şeker pancarı üretim alanlarından daha önceki bir çalışma ile elde edilmiş olan (Kutluk Yılmaz vd., 2016a) toprak örnekleri içerisinde BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık olduğu bilinen 82 ve sadece vektör *P. betae* ile bulaşık 21 olmak üzere toplam 103 toprak örneği, coğrafik lokasyonlarına göre seçilmiş ve *P. betae* ile taşınan toprak kökenli virüslerin moleküler ve biyolojik özelliklerinin araştırılması için kullanılmıştır. Bu topraklarda tuzak bitki testi tekniğine göre yetiştirilen hassas şeker pancarı çeşidine (Kasandra) ait bitkilerden elde edilen kök örneklerinin mikroskopik olarak incelenmesi sonucunda, *P. betae*'ya ait dinlenme spor yapıları (sistosori) belirlenmiştir (Şekil 4.1). Böylelikle incelenen örneklerin tamamının plasmodiophorid protist vektör *P. betae* ile bulaşık olduğu teyit edilmiştir (Tablo 4.2). Nitekim; *P. betae*, *Beta vulgaris*'in köklerinde obligat bir parazit olup bu protozoa'nın dinlenme spor yapıları onlarca yıl toprakta kalmakta ve bu spor yapıları içerisinde vektörü olduğu BNYVV (Tamada, 2016), BSBV (Mahillon et al., 2021), BVQ (Crutzen et al., 2009a) ve BSBMV'nin (Heidel et al., 1997) toprakta uzun yıllar varlığını sürdürmesine olanak sağlamaktadır.

Dünyada şeker pancarında ekonomik olarak zarara neden olan ve vektör *P. betae* tarafından taşınan toprak kökenli virüslerin başında BNYVV gelmektedir (Scholten and Lange, 2000). Ülkemizde bu virüsün varlığı 1987 yılında ilk olarak kayıt edilmiş (Koch, 1987), takiben yürütülen çalışmalarla zaman içerisinde pancar üretim alanlarında hızla yayıldığı tespit edilmiştir (Özgür, 1995; Özgür ve Kaya, 1998; Özer ve Ertunç, 2005; Kutluk Yılmaz ve Arli-Sökmen, 2010; Kaya, 2009; Yardimci ve Çulal Kılıç, 2011; Özdemir, 2014; Kutluk Yılmaz vd., 2016a; Kutluk Yılmaz vd., 2018; Ceylan ve Kutluk Yılmaz, 2022). Diğer taraftan, aynı vektör tarafından taşınan BSBV ise, ülkemizde 2000'li yılların başında ilk defa Tokat ili örneklerinde belirlenmiş (Meunier et al., 2003) ve ardından yürütülen çalışmalar ile de şeker pancarı alanlarında yaygın olarak bulunduğu rapor edilmiştir (Kutluk Yılmaz ve Arli-Sökmen, 2010; Kutluk Yılmaz vd., 2016a). İncelenen kaynakların tamamında; *P. betae* tarafından taşınan ve şeker pancarında enfeksiyon oluşturan bir diğer toprak kökenli virüs olan BVQ'nun, genellikle BNYVV ve/ya da BSBV ile ortak enfeksiyon oluşturduğu vurgulanmaktadır (Stas et al., 2001; Meunier et al., 2003; Farzadfar et al., 2007; McGrann et al., 2009; Biancardi and Tamada, 2016; Moradi and Mehrvar, 2021; Nakagami et al., 2022). Bununla birlikte; bu virüsün ülkemizde varlığına dair bir kayıt

bulunmamaktaydı. Bu çalışmada; 103 örnekte BVQ'nun RNA-1'ine spesifik primerler ile yürütülen RT-PCR testlemeleri sonucunda, BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık 82 örneğin 73'ünde; sadece vektör *P. betae* ile bulaşık 21 örneğin 19'unda BVQ için beklenen büyüklükte (291 bp) amplifikasyon ürünü elde edilmiştir. Böylelikle, incelenen 103 toprak örneğinin %89.3'ünün (92 adet) BVQ ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.2; Şekil 4.13). Elde edilen bu sonuç, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında BVQ'nun ilk kaydı niteliğini taşımaktadır. Halbuki, ülkemizde daha önce yürütülen çalışmalarda BVQ'nun bulunma durumu araştırılmış, ancak varlığına dair bulgular elde edilememiştir (Meunier et al., 2003; Kutluk Yılmaz vd., 2004; Kutluk Yılmaz ve Arli-Sökmen, 2010). Nitekim; Meunier vd. (2003) Türkiye de dahil olmak üzere, Avrupa'dan farklı ülkelere ait toprak örneklerinde BNYVV, BSBV, BVQ ve *P. betae*'nin varlığını multipleks RT-PCR (mRT-PCR) yöntemi ile araştırmışlar ve Türkiye'den Tokat iline ait incelenen örneklerin hiçbirisinde BVQ enfeksiyonu saptamamışlardır. Benzer şekilde; Kutluk Yılmaz vd. (2004) ise, yine Tokat iline ait 25 örnekte mRT-PCR yöntemi ile toprak kökenli virüsler (BNYVV, BSBV ve BVQ) ile vektör *P. betae*'yi araştırmış ve incelenen örneklerin, 20'sinin BNYVV, 24'ünün BSBV ve tamamının ise *P. betae* ile bulaşık olduğunu belirlemiş, ancak örneklerin hiçbirisinde BVQ enfeksiyonunu tespit edememişlerdir (Kutluk Yılmaz vd., 2004). Öte yandan, Türkiye'nin komşu ülkelerinde BVQ'nun yaygınlık durumu irdelendiğinde; doğu komşumuz İran'da virüsün yaygınlığının sınırlı, batı komşumuz Yunanistan'da ise bu virüsün oldukça yaygın olması dikkat çekmiştir. Farfadzar vd. (2007), İran'da 14 ile ait 184 tarladan topladıkları 3.486 şeker pancarı bitkisinde yürüttükleri Tissue-blot immunoassay (TBIA) çalışmaları sonucunda; bu örneklerin %52.4'ünün BNYVV, %9.8'inin BSBV ve %1.4'ünün ise BVQ ile bulaşık olduğunu saptamışlardır. Pavli vd. (2010) ise, Yunanistan'da önemli şeker pancarı üretim alanlarına ait 40 örneğin mRT-PCR ile test edilmesi sonucu, bu örneklerin 38'inin BNYVV (%95), 9'unun BSBV (%22.5) ve 23'ünün ise BVQ (%57.5) ile bulaşık olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma ile de; Türkiye'de incelenen 31 ilden, Gaziantep ili hariç, 30 ilin pancar üretim alanlarının BVQ ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Üstelik, BVQ'nun belirli bir lokasyonla sınırlı olmayıp, Güneydoğu Anadolu Bölgesi hariç, Türkiye'nin yoğun pancar üretimi yapılan tüm alanlarında yaygın olarak bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13).

Çalışmanın bu bölümünde; şeker pancarlarında BVQ'nun tek olarak enfeksiyon oluşturma durumunun net olarak ortaya konulması irdelenmiştir. Daha öncede belirtildiği gibi; ELISA testi ile BNYVV ve BSBV belirlenmemiş, ancak kök boyaması çalışmaları ile mikroskopik olarak sadece vektör *P. betae* ile bulaşık 21 toprak örneğinde yürütülen tuzak bitki testi sonrasında, elde edilen şeker pancarı kökleri RT-PCR yöntemi ile analiz edilmiş ve bu örneklerin %90.5'inin (19 örnek) BVQ ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Daha sonra, serolojik olarak BNYVV ve BSBV saptanmayan örnekler içerisinde sekiz adeti şansa bağlı olarak seçilmiş ve ELISA'ya göre daha hassas bir teknik olan RT-PCR yöntemi ile bu virüslerin (BNYVV ve BSBV) araştırılması yoluna gidilmiştir. Bu amaçla, seçilen örneklerde cDNA sentezini takiben BNYVV ve BSBV'nin CP gen bölgeleri PCR yöntemi ile araştırılmış ve incelenen örneklerin hiçbirisinde BNYVV-CP bölgesine spesifik 567 bp büyüklüğünde amplifikasyon ürünü gözlenmemiş (Şekil 4.14, Şekil 4.15) olmakla birlikte; üç örnekte ise BSBV-CP'ye spesifik (495 bp) ürünlerin varlığı dikkat çekmiştir (Şekil 4.16, Şekil 4.17). Böylelikle, incelenen toplam sekiz örneğin üçünün BVQ'nun yanı sıra BSBV ile de bulaşık olduğu görülmüştür. Elde edilen bu sonuç, şeker pancarı bitkisinde BVQ'nun daha önceki çalışmalarda elde edilen bulgulara benzer şekilde diğer toprak kökenli virüslerle ortak enfeksiyon oluşturmalarının (Meinuer et al., 2003; Rubies Autonell et al., 2006; Mehrvar, 2009; Pavli et al., 2010) yanı sıra, tek olarak da enfeksiyon oluşturabildiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte; daha önce ELISA yöntemi ile sekiz örnekte bu virüslerin (BNYVV ve/ya da BSBV) CP'sinin tespit edilememesinin nedeninin, şeker pancarları bitkilerinde viral CP'nin konsantrasyonunun düşük olmasından kaynaklanmış olduğu düşünülmüştür. Nitekim; ELISA testinde tanılama, virüsün nükleik asidini çevreleyen kılıf ya da membran proteinine ve bu proteinlerin özelliklerine göre yapılmaktadır (Erkan vd., 2011).

Diğer taraftan; şu ana kadar dünyada yürütülen çalışmalarda şeker pancarında BVQ'nun tek olarak enfeksiyon oluşturma durumu rapor edilmemiş olup, bu sebeple bu bitkide virüsün neden olduğu ekonomik kayıp tam olarak bilinmemektedir (Koenig et al., 1998). Çalışmada uygulanan bu yöntem ile (sadece *P. betae* ile bulaşık toprak örneklerinde tuzak bitki yetiştirilmesi) ileride farklı şeker pancarı genotip ve çeşitlerinde BVQ'nun verime etkisinin net olarak ortaya koyulması mümkün olabilecektir.

Kılıf protein (CP) bölgesine ait nükleotit dizileri, virüslerin intraspesifik değişkenliği ve filogenetik ilişkilerini araştırmak amacıyla günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lennefors et al., 2005; Borodynko et al., 2009). Bu doktora tez çalışmasının temel araştırma konusunu vektör *P. betae* tarafından taşınan toprak kökenli virüslerin (BNYVV, BSBV ve BVQ) CP genine göre moleküler karakterizasyonunu içermektedir. Bu amaçla; her bir virüs türü için tuzak bitki testinde gözlenen belirtiler ve coğrafik orijinler temel alınarak seçilen örneklerde çalışmalar yürütülmüştür. Tezin proje metninde hedeflenen sekans analizi sayısı, her bir virüs için 15 olmakla birlikte; BNYVV için 16, BVQ için 15 izolatın CP bölgesinin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiş, BSBV için ise RT-PCR çalışmaları tekrarlanmasına rağmen, ancak 10 izolatın dizi analizinden arzu edilen sonuçlar elde edilmiştir.

Bu doktora tez çalışmasında; 15 BVQ izolatının istenilen kalitede dizileri elde edilebilmiş, bu diziler GenBank'a kayıt edilmiştir. Böylelikle, bu tez çalışması ile Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BVQ izolatlarına ait NCBI'da ilk veri tabanı oluşturulmuştur. Çalışmada incelenen BVQ izolatlarının tamamında CP gen bölgesinin, daha önceki çalışmalara benzer şekilde (Lennefors et al., 2005; Borodynko et al., 2009); 501 nükleotit ve 166 amino asit (aa)'den oluştuğu görülmüştür. İlginç olarak; farklı lokasyonlarından elde edilen 14 BVQ izolatının, hem nükleotit, hem de aa dizilerinin tamamen aynı olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, Konya ilinden elde edilen KNY-419Q izolatının ise, diğer Türkiye izolatlarından 429., 441., 443. ve 461. nükleotit pozisyonlarında farklılık sergilediği ve bu farklılığın ise 148. [Histidin (H) → Arginin (R)] ve 154. [Lizin (K) → Treonin (T)] pozisyonlarında yer alan iki aa'de değişime neden olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.10). Üstelik, CP kod bölgesinin bu iki aa pozisyonunda belirlenen değişimin NCBI'da kayıtlı hiçbir BVQ izolatında görülmemesi de dikkat çekmiştir. Sonuç olarak, ülkemiz BVQ izolatlarının CP genom bölgelerinin oldukça stabil olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, komşu ülke İran'da da incelenen BVQ izolatlarının CP dizileri arasında önemli bir varyasyonun olmadığı bildirilmiştir (Moradi and Mehrvar, 2021). Ayrıca, diğer bazı araştırmacılar da BVQ'nun CP bölgesi dizilerindeki değişkenliğin son derece düşük düzeyde olduğunu belirtmişlerdir (Stas et al., 2001; Lennefors et al., 2005). Bu izolatların CP gen bölgesi dünya izolatları ile BLAST yöntemi ile nükleotit ve aa yönünden kıyaslandığında; Türkiye'ye ait 14 BVQ izolatının en yüksek genetik

benzerliği Fransa'ya ait FP71 izolatı (nükleotit bakımından %99.40; aa bakımından %100) ile; diğer Türkiye izolatlarından farklılık sergileyen KNY-419Q izolatının ise en yüksek benzerliği yine Fransız FP71 izolatı (nükleotit bakımından %98.60; aa bakımından %98.80) ile gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.7; Tablo 4.9). Diğer taraftan; bu çalışmada elde edilen BVQ izolatlarının *CP* gen bölgesine ait nükleotit dizileri ve GenBank'ta kayıtlı olan diğer ülkelere ait 17 BVQ izolatının sekans verileri kullanarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Tablo 4.11). Doğada BVQ'nun taşınması sadece vektör *P. betae* tarafından gerçekleştirilmekte ve viruliferous *P. betae*'nin dinlenme sporları ise toprak materyali ile bir yerden bir yere transfer olmaktadır. Komşu  lke İran'dan bitki materyali alış-verişi, araba lastikleri, ayakkabılar ve hayvanlara bulaşarak ya da iklimsel olaylar vasıtası ile kolaylıkla ülkeye bulaşabileceği düşünülse de, bu çalışmada incelenen BVQ izolatlarının, İran izolatlarından ziyade, genetik olarak Avrupa izolatlarına benzerlik gösterdikleri tespit edilmiştir.

Tez çalışmasının bu parçasında, farklı coğrafik alanlardan elde edilen (Edirne ve Yozgat) iki BVQ izolatının (EDR-128Q ve YZT313Q) yürütülen biyolojik çalışmalarla konukçu çevresi irdelenmiştir. Bu çalışmada, iki BVQ izolatının *C. quinoa*, *B. macrocarpa*, *N. benthamiana*, *P. patellaris* ve *S. oleracae* cv. Nebreska bitkilerine mekanik olarak bulaştırılma durumu incelenmiş ve bu bitkilerde oluşan simptomlar gözlenmiştir. Literatürde BVQ'nun konukçu çevresinin oldukça sınırlı olduğu, doğal olarak sadece şeker pancarında enfeksiyon oluşturduğu ve mekanik inokulasyon yolu ile de sadece *C. quinoa* bitkilerine taşınabildiği belirtilmektedir (Torrance, 2008; Savenkov, 2021). Üstelik, *C. quinoa*'nın ise BVQ'nun lokal lezyon konukçusu olduğu bildirilmektedir (Henry et al., 1986; Koenig et al., 1998). Bu  alışmada, BVQ inokulasyonunu takiben, *C. quinoa* bitkilerinin virüs-inokule edilen yapraklarında iri klorotik lokal alanlar; virüs-inokule edilmeyen üst yapraklarında ise i e doğru hafif kıvrılma ve damarlarda belirginleşme şeklinde simptom oluşumları gözlenmiştir (şekil 4.25). Halbuki; Koenig vd. (1998) Almanya'da rhizomania ile bulaşık bir tarladan alınan şeker pancarı bitkilerinin köklerinden BNYVV ile birlikte BVQ'u da izole etmişler ve BVQ'nun, mekanik inokulasyonu takiben yaklaşık beş gün sonra, BNYVV'den daha erken sürede, *C. quinoa* bitkisinin virüs-inokule edilen yapraklarında lokal lezyon oluşumunun gözlendiğini ve oluşan bu lekelerin ise düzensiz şekilli olup, damarlar boyunca yayılma eğiliminde olduğunu belirtmişlerdir.

Bu durumun aksine, Crutzen (2010) ise yürüttükleri reverse genetik çalışması sonucunda, BVQ transkript RNA'larının *C. quinoa*'da tek başına çoğalamadığını ve bitkide simptom oluşturmadağını bildirmişlerdir. Bahsedilen bu çalışmada, tam uzunluktaki cDNA klonlarından *in vitro*'da üretilen BVQ transkript RNA'lar *C. quinoa* bitkilerinin yapraklarına bulaştırılmıştır. BVQ'nun tek olarak inokulasyonunu takiben bu bitkide herhangi bir simptom oluşturmadağını, ancak BVQ transkript RNA'larının, BSBV'nin RNA-1+RNA-2+RNA-3, BNYVV'nin RNA-1+RNA-2 ya da BNYVV'nin RNA-1+RNA-2+RNA-3+RNA-4'leri ile kombine edilerek bulaştırılması sonucunda simptomlarda artış ya da azalma olduğunu saptamışlardır. Tam uzunluktaki BSBV transkript RNA'larının ise, *C. quinoa*'nın bulaştırma yapılan yapraklarında çok sayıda küçük klorotik leke, halkalı leke ile hafif sararma ve aynı zamanda solmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Öte yandan, BNYVV'nin RNA-1+RNA-2'sinin bulaştırılması sonucunda ise yapraklarda yoğun sararma, sınırlı sayıda klorotik ve nekrotik lekeler oluşmuştur. Benzer simptomlar BNYVV'nin RNA-1+RNA-2+RNA-3+RNA-4 ile inokule edilen bitkilerde de gözlenmiş, fakat yapraklarda oluşan bu sararmanın daha az olduğu bildirilmiştir (Crutzen, 2010). Aynı araştırmacılar, Norhern blot yöntemi ile *C. quinoa*'nın bulaştırma yapılan yapraklarında viral çoğalmayı da incelemişlerdir. Bu bitkide; BSBV ve BNYVV transkript RNA'larının aksine, BVQ transkript RNA'larının kendi kendine çoğalamadığını tespit etmişlerdir. Nitekim, tek olarak BVQ transkript RNA'ları ile inokule edilen asimptomatik yapraklarda BVQ'nun üç genomik RNA'sından hiçbirisini belirleyememişlerdir. BSBV transkript RNA'ları ile BVQ'nun birlikte kombinasyonu sonucunda da, BVQ RNA'ları saptanamamış, ancak BNYVV transkriptleri ile BVQ'nun birlikte inokule edilen yapraklarda, BVQ RNA'larının tamamının (RNA-1, RNA-2 ve RNA-3) belirlendiği bildirilmiştir (Crutzen, 2010).

Öte yandan; literatürde BVQ'nun konukçusu olarak bildirilmeyen bitki türlerinden olan *B. macrocarpa*'ya mekanik inokulasyonunu takiben bir aylık periyot içerisinde sadece EDR-128Q izolatı ile inokule edilen bitkilerin virüs-inokule edilen ve virüs-inokule edilmeyen yapraklarında klorotik lokal lezyon oluşumu görülmüştür (Şekil 4.26). BVQ izolatlarının *P. patellaris*'e mekanik aktarımı sonucunda ise; virüs-inokuleli yaprakların uç kısmındaki damarlarda renk açılımı ve belirginleşme, virüs-inokule edilmeyen üst yapraklarda ise hafif kıvrılma şeklinde belirtiler görülürken (Şekil 4.30); *N. benthamiana* bitkilerinin virüs-inokule edilen ve edilmeyen sistemik

yapraklarında herhangi bir belirti gözlenmemiştir (Şekil 4.33). Koenig vd. (2008) ise, BVQ'nun mekanik yolla *N. benthamiana*, *N. clevelandii* ve şeker pancarı bitkilerine aktarılamadığı bildirmişlerdir. Bu çalışmada, *S. oleraceae* cv. Nebraska bitkilerinde ise, BVQ inokulasyonundan dört hafta sonra virüs-inokule edilen yapraklarda hafif kloroz meydana gelirken, virüs-inokulasyonu yapılmayan üst yapraklarda bombeleşme oluşumu dikkat çekmiştir. Bu belirtiye ilaveten YZG-313Q izolatu ile inokule edilen bitkilerin yapraklarında hafif mozaik oluşumu da tespit edilmiştir (Şekil 4.31).

Bu çalışmada, gerek dört test bitkisinde (*C. quinoa*, *B. macrocarpa*, *P. patellaris* ve *S. oleraceae*) gözlenen belirtilerin, gerekse simptom oluşumu gözlenmeyen *N. benthamiana* bitkisinde BVQ'nun enfeksiyon oluşturup oluşturmadığının kesin olarak ortaya konulması amaçlanmıştır. İzolat ayrımı yapılmaksızın, belirtiler temel alınarak, her bir test bitkisine ait birer tekerrür bitki seçilmiş ve virüs inokule edilen ve -edilmeyen yapraklardan RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu örneklerin BVQ RNA-1'ine spesifik primerler ile RT-PCR ile test edilmesi sonucunda; incelenen test bitkilerinin tamamının hem virüs-inokule edilen, hem de virüs-inokulasyonu yapılmayan sistemik yapraklarında BVQ için beklenen büyüklükte (291 bp) amplifikasyon ürünü elde edilmiştir (Şekil 4.35). Ardından, her bir test bitkisinin sadece sistemik yapraklarına ait PCR örneklerinin sekans verileri elde edilmiş ve böylelikle virüsün varlığı kesin olarak teyit edilmiştir (EK-5). İncelenen test bitkilerinin tamamında (*C. quinoa*, *B. macrocarpa*, *P. patellaris*, *N. benthamiana* ve *S. oleraceae* cv. Nebraska) BVQ'nun sistemik enfeksiyon oluşturduğu ortaya konulmuştur. İncelenen bu test bitkilerinden, *C. quinoa*'da gerek BVQ (Koenig et al. 1998; Torrance et al., 2011), gerekse BSBV'nin uzun mesafelere taşınması (sistemik yayılımı) rapor edilmemiştir (Torrance et al., 2011). Bununla birlikte; yürütülen reverse genetik çalışması sonucunda, BVQ RNA'larının *C. quinoa* bitkisinde uzun mesafelere taşınabileceği ileri sürülmüştür (Crutzen et al., 2009a). Şu ana kadar, *C. quinoa* hariç, hiçbir test bitkisinde BVQ'nun uzun mesafelere taşınması konusunda bir rapor bulunmamaktadır (Crutzen et al., 2009a). Yürütülen bu çalışma ile elde edilen bu sonuç, BVQ'nun; *B. macrocarpa*, *N. benthamiana*, *P. patellaris* ve *S. oleraceae* cv. Nebraska bitkilerinde sistemik enfeksiyon oluşturmalarının ilk kaydı niteliğindedir.

Bu çalışmada, ayrıca, beş farklı test bitkisinde BVQ'nun RNA-2 segmentinden sentezlenen ve virüsün yapısal proteinlerinden biri olan CP bölgesi incelenmiştir.

Nitekim; BVQ RNA'larının *C. quinoa* bitkisinde sistemik olarak taşınmasında muhtemelen CP-RT bölgesinin sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Crutzen et al., 2009a). Bu amaçla, beş test bitkisinin virüs-inokulasyonu yapılmayan üst yapraklarına ait RNA'lar ve bu bölgeye spesifik primerler kullanılarak RT-PCR çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Böylelikle, incelenen test bitkilerinin tamamında, BVQ'nun CP bölgesi için beklenen büyüklükte (501 bp) ürün elde edilmiştir (Şekil 4.36). Sekans analizini takiben, yürütülen BLAST analizleri ile de; hem inokulum kaynağı olarak kullanılan BVQ izolatlarının (EDR-128Q ve YZT-313Q), hem de bu izolatların aktarımı sonrasında test bitkilerinden elde edilen BVQ örneklerine ait CP bölgelerinin nükleotit ve aa dizilerinin %100 benzer oldukları belirlenmiştir (Ek 7; Ek 8). Elde edilen bu sonuç, test bitkilerinde sistemik enfeksiyon esnasında BVQ'nun RNA segmentlerinden RNA-1 ve RNA-2'nin virüs tarafından oluşturulduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, test bitkisinden elde edilen BVQ'nun CP bölgesine ait diziler ile virüsün bu bitkilerde sistemik enfeksiyon oluşturma durumu bir defa daha teyit edilmiştir. Crutzen (2010) ise yürüttükleri reverse genetik çalışmasında, sadece BNYVV ile karışık enfeksiyonlarda, *C. quinoa*'nın yapraklarında BVQ'nun RNA-2 segmenti üzerinden sentezlenen CP ve CP-RT genom bölgelerini Western blot yöntemi ile belirlediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, doğrudan BVQ ile enfekteli bitki özsuvarından elde edilen viral partiküller ile mekanik inokulasyon çalışması yürütülmüştür, halbuki Crutzen (2010) ise *in vitro*'da cDNA yapılarından oluşturulan transkript RNA'lar ile bu çalışmayı gerçekleştirmişlerdir. Her iki çalışma arasındaki en büyük farkın, viral inokulumun içeriği ile ilgili olduğu ve buna bağlı olarak farklı sonuçların elde edilmiş olabileceği düşünülmektedir. Nitekim; şeker pancarı köklerinden elde edilen bitki özsuvarındaki BVQ partiküllerinin *C. quinoa* yapraklarına bulaşabilmesi ve çoğalabilmesine rağmen (Koenig et al., 1998; Rubies-Autonell et al., 2006), bu konukçu bitkide BVQ transkript RNA'larının tek başına çoğalamadığı tespit edilmiştir (Crutzen, 2010).

Bu çalışmada, farklı test bitkilerinde BVQ'nun enfeksiyon oluşturma durumu, araziden alınan farklı toprak örneklerinde yetiştirilen şeker pancarı bitkilerinin inokulum kaynağı olarak kullanılması ve test bitkilerine inokulasyonu ile ilgili sonuçlara göre değerlendirilmiştir. Şeker pancarlarında genellikle BNYVV, BSBV ve/ya da BVQ'nun karışık enfeksiyona neden oldukları rapor edildiğinden dolayı (Meunier et al., 2003; McGrann et al., 2009; Biancardi and Tamada, 2016); bu şekilde

değerlendirme yoluna gidilmesinin bu çalışma sonuçlarını analiz etmede bir risk oluşturabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, karışık enfeksiyonlarda bir virüsün kılıf proteininin, diğer virüsün kılıf proteininin ekspresyonunu baskılayabilmesi sebebiyle (Mahmood and Rush, 1999), ELISA yoluyla virüs tespiti yapılması durumunda, virüslerden diğerinin gözden kaçma durumu da söz konusu olabilmektedir (Crutzen, 2010). Bu çalışmada, inokulum kaynağı olarak seçilen iki örnekte, BNYVV ve BVBV'nin bulunma durumu ELISA yöntemi ile araştırılmış ve bu örneklerin her iki virüs ile de bulaşık olmadıkları tespit edilmiştir. Aynı iki örnekte, BVQ'nun varlığı RT-PCR yöntemi ile ortaya konulmuştur. Bununla birlikte; yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı, bu çalışmada test bitkilerinde gözlenen semptomlar ve bu bitkilerde oluşan sistemik enfeksiyonun, tek olarak BVQ'dan kaynaklanıp kaynaklanmadığı sorusunu akla getirmiştir. Bu sebeple; beş farklı test bitkisinde BVQ ile birlikte, BNYVV ve/ya da BSBV'nin bulunma durumu daha hassas bir teknik olan RT-PCR ile de araştırılmıştır. BNYVV'nin lokal lezyon konukçularında çoğalması; sistemik konukçularında ise vasküler taşınması için genom segmentlerinden RNA-1 ve RNA-2'nin mutlak gerekli olduğu bildirilmektedir (Andika et al., 2005). Bu nedenle; test bitkilerinde BVQ, BNYVV ve BSBV'nin araştırılmasında her üç virüsün RNA-2 segmentinden sentezlenen CP genom bölgeleri temel alınmıştır. Bu amaçla; test bitkilerinin tamamının virüs-inokule edilen ve -inokule edilmeyen yaprak örneklerinde, her bir virüsün CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak bu bölgeleri RT-PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. BNYVV ve BSBV için yapılan testlemelerde, test bitkilerine ilaveten, denemede inokulum kaynağı olarak kullanılan şeker pancarlarına ait iki BVQ izolatu (EDR-128Q ve YZT313Q) da çalışmaya dahil edilmiştir. Jel görüntüsünün incelenmesi sonucunda; test bitkilerinin tamamının; hem lokal, hem de sistemik yapraklarında 501 bp büyüklüğünde BVQ-CP'ye spesifik amplifikasyon ürünü gözlenmiş (Şekil 4.38-C) ve bu bitkilerde BVQ enfeksiyonu teyit edilmiştir. Bu çalışmada; BNYVV ile ilgili yürütülen RT-PCR çalışmalarında primerden kaynaklı problemin oluşması, BSBV için ise çoklu bant oluşumu sebebiyle bu iki virüs türü için RT-PCR çalışmaları bir defa daha tekrarlanmıştır. Sonrasında; BNYVV için jel görüntüsü incelendiğinde; inokulum kaynağı olarak kullanılan şeker pancarı örneklerinde herhangi bir ürün oluşumu gözlenmemiş, ancak *C. quinoa* ve *N. benthamiana* bitkilerinin sadece virüs-inokule edilen yapraklarında 567 bp büyüklüğünde BNYVV- CP'inine spesifik zayıf ürün oluşumu dikkat çekmiştir. Ancak, bu iki test bitkisinin inokule edilmeyen üst yaprakları ile diğer üç test bitkisinin

gerek lokal, gerekse üst yapraklarına ait örneklerde ise herhangi bir PCR ürünü gözlenmemiştir (Şekil 4.38-A). Bu çalışmada; inokulum kaynağı olarak kullanılan şeker pancarı örneklerinde, hem ELISA, hem de RT-PCR yöntemi ile BNYVV tespit edilmemesine rağmen, *C. quinoa* ve *N. benthamiana* bitkilerinin sadece virüs inokule edilen yapraklarında BVQ ile birlikte BNYVV'nin de saptanması şaşırtıcı bulunmuştur. Çalışmamızda *C. quinoa*'nın lokal yapraklarında BVQ ve BNYVV'nin birarada tespiti, Crutzen, (2010)'in bulguları ile benzerlik göstermektedir. Bu araştırmacılar, yürüttükleri çalışmada Western blot yöntemi ile BNYVV ile karışık enfeksiyonlarda BVQ'nun CP ve CP-RT genom bölgelerini belirlediklerini bildirmişler ve BVQ transkript RNA'larının *C. quinoa*'da çoğalmak ve yapısal proteinlerini ifade etmek için, eşzamanlı olarak BNYVV'nin kısmi (RNA-1+RNA-2) ya da tam (RNA-1+RNA-2+RNA-3+RNA-4) genom kombinasyonunun varlığına bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, aynı araştırmacılar BVQ CP ve CP-RT gen bölgelerinin ifade düzeyinin, BNYVV'nin RNA3 ve RNA-4 segmentleri olmadığında daha da yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Crutzen, 2010). Öte yandan, Rahim vd. (2007) ve Wang vd. (2011) ise, BNYVV ile inokule edilen model bitki *N. benthamiana* örneklerinin tamamında enfeksiyon esnasında BNYVV CP'inin oluştuğunu ifade etmişlerdir. Gilmer (2016) ise, *N. benthamiana*'da BNYVV'nin sistemik enfeksiyon oluşturabilmesi için genom segmentlerinden RNA-1 ve RNA-2'nin mutlaka gerekli olduğunu bildirmiştir. *N. benthamiana* bitkilerinde oluşan sistemik semptomların (şiddetli mozayik, cüceleşme gibi) ise, BNYVV'nin RNA-4'ü tarafından kodlanan P31 proteini ile ilişkili olduğunu belirtilmiştir (Rahim et al., 2007; Wang et al., 2011). Bu sebeple, bu çalışmada, *N. benthamiana* bitkilerinin üst yapraklarında makroskobik olarak herhangi bir belirtinin gözlenmemiş olması da (Şekil 4.33; Tablo 4.12), bu bitkide BNYVV'nin sistemik enfeksiyon oluşturmadığının bir kanıtı olabilir. Diğer taraftan; *C. quinoa* ve *Tetragonia expansa* (Yeni Zelenda ıspanağı) bitkileri BNYVV'nin lokal lezyon konukçusu olarak bilinmektedir. Bu konukçularda BNYVV enfeksiyon oluşturmak için ise, RNA-1 ve RNA-2'yı içeren partiküllere gereksinim duymaktadır (Gilmer, 2016). Bu çalışmada, BVQ izolatlarının *C. quinoa* bitkilerinde mekanik inokulasyonunu takiben bir hafta içerisinde virüs-inokule edilmiş olan yapraklarda iri klorotik lezyonlar; üst yapraklarda ise içe doğru hafif kıvrılma ve damarlarda belirginleşme şeklinde belirtiler gözlenmiştir (Şekil 4.25; Tablo 4.12). Halbuki, bu konukçada BNYVV'nin inokulasyondan beş gün sonra, lokal yapraklarda klorotik ya da nekrotik lezyonların oluştuğu bildirilmektedir (Tamada and Baba,

1973). Uzunbacak (2019) ise, yürüttüğü tez çalışmasında Konya iline ait bir BNYVV izolatının (KNYA-386) *C. quinoa*'ya mekanik inokulasyonu sonucunda 13 tekerrürden sadece birinde simptom oluşturmaksızın, sistemik enfeksiyona neden olduğunu ELISA yöntemi ile belirlemiştir. Üstelik, BVQ'nun ise, *C. quinoa*'da inokulasyonu takiben beş gün içerisinde virüs-inokule edilen yapraklarda düzensiz şekilli lokal lezyon oluşturduğu bildirilmektedir (Koenig et al., 1998). Dolayısı ile; bu çalışmada *C. quinoa* bitkilerinde saptanan belirtilerin, ne BNYVV ne de BVQ tarafından oluşturulan tipik simptomlar ile benzerlik göstermemesi dikkat çekmiştir.

Diğer taraftan; bu çalışmada PCR sonrası test bitkilerinde BVQ ile birlikte BSBV'nin enfeksiyon oluşturma durumu irdelendiğinde, inokulum kaynağı olarak kullanılan şeker pancarı kök örneklerinin BSBV ile bulaşık olmadığı tespit edilmesine rağmen; *B. macrocarpa* ve *N. benthamiana* bitkilerinin sadece BVQ ile inokule edilen yapraklarda BSBV'nin CP gen bölgesine spesifik 495 bp büyüklüğünde PCR ürünü görülmüştür. Bununla birlikte; bu iki bitkinin sistemik yaprakları ile diğer üç test bitkisinin (*C. quinoa*, *P. patellaris* ve *S. oleraceae*) hem lokal, hem de sistemik yapraklarına ait örneklerde BSBV'ye spesifik herhangi bir ürün oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.38-B). Halbuki, Crutzen (2010) BVQ transkriptlerinin *C. quinoa*'da çoğalmak ve yapısal proteinlerini ifade etmek için *Benyvirus* cinsinin bir üyesi olan BNYVV'ye ihtiyaç duymasına rağmen, BVQ ile yakın ilişkili olan BSBV'ye (her ikisi de *Pomovirus* cinsi üyesi) ihtiyaç duymadığını bildirmişlerdir. Öte yandan; Crutzen vd. (2009b) BSBV'nin patojenitesi ve protein ifadesi üzerine yürüttükleri bir diğer araştırmada, BSBV'nin üç genomik RNA'sı için tam uzunlukta cDNA klonlarını oluşturmuş ve sonrasında beş farklı genom kombinasyonu [1+2+3, 1+2*+3 (*: RT kod bölgesinde bir frame shift mutasyon içeren), 1+2, 2+3 ve 1+3] şeklinde hazırlanan bu transkript RNA'ları *C. quinoa* ve *B. macrocarpa* bitkilerinin yapraklarına inokule etmişlerdir. Bunun sonucunda; hem RNA-1'in (replikaz), hem de RNA-3'ün (hareket proteinleri), bu iki bitkideki virüs replikasyonu ve *C. quinoa*'daki simptom oluşumu için gerekli olduğunu, ancak RNA-2 (CP ve RT)'nin ise gerekli olmadığını kanıtlamışlardır. *C. quinoa*'da bu simptomların inokulasyonu takiben üç gün içerisinde oluşmaya başladığını ve oluşan simptomların ise küçük nekrotik leke, nekrotik halkalı leke ve kloroz şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, aynı araştırmacılar; BSBV transkript RNA'larının farklı kombinasyonlarda uygulanması sonucu, *B. macrocarpa* bitkilerinde herhangi bir simptom oluşumu görülmemesine

rağmen, viral RNA'ların tespit edildiğini bildirmişlerdir. Ek olarak, her iki konukçu bitkide de Western blot yöntemi ile 19 kDa'luk CP ve ayrıca 115 kDa luk CP-RT'yi tespit ettiklerini belirtmişlerdir (Crutzen et al., 2009b). Bu çalışmada, ilginç olarak, BVQ izolatlarından YZT-313Q'nın *B. macrocarpa*'ya inokulasyonunun ardından bir aylık süreç içerisinde bu bitkide herhangi bir semptom gözlenmezken; EDR-128Q izolatının inokulasyonu sonucunda ise, hem virüs-inokule edilen, hem de virüs-inokule edilmeyen üst yapraklarda klorotik lokal lezyon oluşumu tespit edilmiştir. Ancak, sadece EDR-128Q ile inokule edilen *B. macrocarpa* bitkisinden RNA izolasyonu yapılmış ve çalışmalar bu örnekte yürütülmüştür. Bu sebeple; ne YZT-313Q izolatının bu bitkide semptom oluşturmadığını, ne de bu izolat ile inokuleli bitkilerde BVQ'nun enfeksiyonunun oluşturmadığını söylemek mümkün gözükmemektedir. Bu durumda; EDR-128Q izolatı ile inokule edilen *B. macrocarpa* bitkilerinde oluşan sistemik belirtilerin tek olarak BVQ enfeksiyonundan kaynaklandığı ifade edilebilir. Öte yandan, bu çalışmada, her iki BVQ izolatının mekanik taşınımı sonrasında, izolatlara ait tekrürlerin hiçbirisinde gerek virüs-inokule edilen, gerekse edilmeyen üst yapraklarında semptom oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.31; Tablo 4.12), bununla birlikte inokule edilen ve edilmeyen üst yapraklarda BVQ-CP tespit edilmiştir (Şekil 4.38-C).

Elde edilen bu sonuç, biyolojik çalışmalarda inokulum kaynağı olarak kullanılan şeker pancarı bitkilerinde viral CP'lerin muhtemelen çok düşük konsantrasyonda olması nedeniyle; gerek ELISA testi, gerekse daha hassas bir teknik olan RT-PCR yöntemi ile BNYVV ve BSBV'nin tespitinin yapılamadığını göstermiştir. Nitekim; her üç virüs türü için de RT-PCR çalışmaları CP'lerine spesifik primerler ile yürütülmüştür. Üstelik, ELISA testinde de virüslerin tanınması; virüsün nükleik asidini çevreleyen kılıf proteinine ve onların özelliklerine dayalı olarak gerçekleştirilmektedir (Erkan vd., 2011). Bununla birlikte; BNYVV ve BSBV uygun konukçusu olan bazı test bitkilerinde zaman içerisinde çoğalmaya devam etmiş ve bu bitkilerde BVQ ile birlikte lokal enfeksiyon oluşumuna sebep olmuşlar, ancak üst yapraklara taşınarak BVQ ile birlikte sistemik enfeksiyon oluşturamamışlardır. Diğer taraftan; bu çalışmada BVQ ile birlikte BNYVV ve/ya da BSBV belirlenen test bitkilerinden elde edilen bu sonuç, şeker pancarı alanlarında BVQ'nun genellikle BNYVV ve/ya da BSBV bir arada bulunma durumu gözönüne alındığında, BVQ'nun şeker pancarı bitkilerinde çoğalmak için BNYVV ya da BSBV'ye bağımlılığının bir göstergesi olabilir. Bu kompleks

durumun net olarak ortaya konulabilmesi için ileride daha detaylı çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir.

Şu ana kadar incelenen kaynakların tamamında, BVQ'nun sınırlı bir konukçu çevresine sahip olduğu ve mekanik olarak sadece *C. quinoa*'ya taşınabildiği belirtilmiş olmasına rağmen (Savenkov, 2021); bu tez çalışmasında; böylelikle BVQ'nun *C. quinoa*'ya ilaveten *B. macrocarpa*, *N. benthamiana*, *P. patellaris* ve *S. oleraceae* cv. Nebreska bitkilerine de taşınabildiği saptanmıştır. Ayrıca, virüsün bu test bitkilerinde sistemik enfeksiyon oluşturabildiği; gerek BVQ'nun RNA-1'ine ve RNA-2'den sentezlenen CP gen bölgesine spesifik primerler ile yürütülen RT-PCR çalışmaları ile, gerekse bahsedilen bu bölgelerin dizi analizleri ile de ortaya konulmuştur (Ek-6 ve Ek-7). Her iki genom segmentine ait sekans verilerinin dünya izolatları ile kıyaslanması sonucunda ise, test bitkilerinden elde edilen izolatların bu izolatlar ile oldukça benzerlik gösterdikleri tespit edilmiştir.

Çalışmanın bu parçasında, yukarıda özetlenen bilgiler ışığında, ülkemiz pancar üretim alanlarına ait BVQ izolatının test bitkilerinde sistemik simptom oluşturduğu göz önüne alındığında; bu izolatların farklı test bitkilerine inokulasyonu sonucunda CP-RT bölgesine ait nükleotitlerde bir silinme/silinmeler oluşturdu mu sorusunu akla getirmiş ve bu konunun irdelenmesi yoluna gidilmiştir. *C. quinoa* bitkilerinin yaprakları BSBV ve BVQ ile enfekteli bitki özsuvarı (Henry et al., 1986; Koenig et al., 1998) ya da tam uzunluktaki cDNA klonlarından oluşturulan RNA transkriptleri (Crutzen et al., 2009b) ile inokule edildiğinde, BSBV ve BVQ virüs-inokule edilen yapraklarda lokal lezyonlar oluşturmaktadır. Ancak, bu konukçuda BSBV ya da BVQ'nun uzun mesafeli taşınması rapor edilmemiştir (Torrance et al., 2011). Bununla birlikte; yürütülen bir reverse genetik çalışması, *C. quinoa*'da BVQ RNA'larının uzun mesafelere taşınabildiğini göstermiştir. BVQ'nun uzun mesafeli taşınmasıyla ilgili bu çelişki, BVQ CP-RT bölgesinin uzun mesafeli harekete olası katılımıyla açıklanabilir, çünkü orijinal olarak tanımlanan BVQ izolatının aslında eksik bir CP-RT kodlama dizisi taşıdığı yani bu bölgede delesyonun olduğu gösterilmiştir (Koenig et al., 1998; Crutzen et al., 2009a). Bu hipotez, CP ve CP-RT kodlayan RNA-2 çıkarıldığında, *C. quinoa* yapraklarında sistemik simptomların oluşmamasıyla da desteklenmiştir (Crutzen and Bragard, yayınlanmamış veri) (Torrance et al., 2011). Nitekim, Crutzen vd. (2009a) Avrupa'da altı ülkeden 10 BVQ izolatının CP-RT bölgesinin nükleotit dizilerini elde etmiş ve üç farklı noktada 5, 285 ve 1 nt'lik ilave ile 76 kDa'luk elde

edilen RT bölgesinin, o güne kadar bilinen tek referans BVQ izolatından (35 kDa) daha uzun olduğunu belirlemişlerdir. Daha önce açıklanan BVQ RNA-2'nin C-terminal kısmındaki bu üç noktada oluşan delesyonun sebebinin ise, *C. quinoa*'da yürütülen çoklu aşılama döngülerinden kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir.

Viral CP'ye, RT bölgesinin eklenmesi, farklı familya ve cinslere ait bazı pozitif anlamlı tek sarmal RNA içeren virüs türlerinde görülmektedir. Örnek olarak; toprak kaynaklı Pomovirüsler (BSBV, BVQ ve Potato mop top virus-PMTV) (Koenig et al., 1997a; Lu et al., 1998; Koenig et al., 1998; Reavy et al., 1998), Furovirüsler [Chinese wheat mosaic virus (CWMV), European wheat mosaic virus (EWMV), Oat golden stripe virus (OGSV), Soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV), Sorghum chlorotic spot virus (SrCSV)] (Diao et al., 1999a; Diao et al., 1999b; Yamamiya and Shirako, 2000) ve Benyvirüsler (BNYVV ve BSBMV) (Ziegler-Graff et al., 1985; Niesbach-Klösgen et al., 1990; Lee et al., 2001) CP-RT'leri kodlamaktadır. Bahsedilen bu virüslerin tamamı, plasmodiophorid vektörler tarafından taşınmaktadır. Ayrıca, *Luteoviridae* familyasından yaprak bitleri ile taşınan virüslerin RNA-1'i üzerinde yer alan CP'ye ekli bir RT alanını kodladığı da rapor edilmiştir (Cheng et al., 1994). CP'lerin RT bölgesini oluşturmak için esas olarak iki amber kodon kullanılmaktadır. UAG leakly kodon beny- ve pomovirüsler için, UGA kodonu ise furovirüsler için rapor edilmiştir (Crutzen, 2010). Bitki virüslerinin CP'lerinin RT bölgelerinin, viral döngünün farklı aşamalarında çeşitli işlevler için gerekli olduğu gösterilmiştir. Bu bölgenin, virüs türüne göre değişmekle birlikte; enkapsidasyon, uzun mesafeli hareket, taşınma ya da symptom şiddeti gibi farklı işlevlerde yer aldığı belirtilmesine rağmen; ancak hiçbir zaman replikasyon mekanizmasında rol oynadığı bildirilmemiştir (Crutzen, 2010). Özellikle; RT bölgesinin N terminal kısmının Beet western yellows virus (BWYV) ve Potato leafroll virus (PLRV)'ün afid vektörler ile taşınmasında gerekli olduğu bildirilmesine rağmen (Bruyère et al., 1997; Peter et al., 2008); C terminal kısmının ise BNYVV ve PMTV'nin protist vektörler tarafından taşınmasında çok önemli olduğu gösterilmiştir (Tamada and Kusume, 1991; Reavy et al., 1998). Diğer taraftan; labotaruvarlarda, taze bitkisel materyale ihtiyaç duyulduğundan test bitkileri virüsleri çoğaltmak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu gibi durumlarda, virüs çoğalmasını optimize etmek amacıyla test bitkilerine yapılan mekanik inokulasyonlar sonucu; virüsün vektörü tarafından doğal yayılımı bypass edilebilmektedir. Böylelikle, bu tür uygulamalar nedeniyle, anormal genom

düzenlemeleri ortaya çıkabilmektedir. Örneğin; *T. expansa*, *C. quinoa*, *Triticum aestivum* ve *Nicotiana sp.*'de bahsedildiği sıraya göre; BNYVV, BSBV, SBWMV ve PMTV'nin seri aktarımları sonucunda, bu virüslerin CP-RT bölgelerinde kendiliğinden silinmelerin (delesyonların) olduğu bildirilmiştir (Tamada and Kusume, 1991; Chen et al., 1995; Koenig et al., 1997a; Reavy et al., 1998; Koenig, 2000; Sandgren et al., 2001). Bu virüsler için; CP-RT bölgelerinin N terminal kısımları hariç, C terminal kısımlarında 3 ila 1030 nt'lik dizi silinmeleri tespit edilmiştir. İlginç bir şekilde, genomun bu bölgesinde silinme saptanan streynler, viral genomlarının önemli ölçüde yeniden düzenlenmesine rağmen virüs inokule edilen yapraklarda etkili bir şekilde çoğalabilmiştir. Bununla birlikte; BNYVV ve PMTV'de delesyonlu formların oluşumu durumunda, bu formların ilgili vektörler tarafından taşınmadığı belirlenmiştir (Tamada and Kusume, 1991; Reavy et al., 1998). Koenig vd. (1998) ise, BVQ streyninin RT bölgesinin C terminal kısmında bazı nükleotitlerde silinmeler oluşmasına rağmen, *C. quinoa* yapraklarında etkili bir şekilde çoğaldığını bildirmişlerdir.

Çalışmanın bu kısmında, öncelikle BVQ'nun CP-RT bölgesinin çoğaltılma amacıyla iki primer (primer 1 ve primer 5) çifti tasarlanmış ve optimizasyon çalışmaları yapılmasına rağmen her iki primer ile de çoklu bant oluşumu giderilememiştir. Bununla birlikte; jelde oluşan çoklu bantlar içerisinde, primer 1 çifti için beklenen ürün büyüklüğü olan 920 bp, primer 5 çifti için ise 488 bp büyüklüğüne en yakın büyüklükte bantlar kesilerek böylelikle nükleotit dizi analizlerinin elde edilmesi istenmiştir. Bu amaçla; primer 1 çifti için YZT-313Q ve *N. benthamiana*; primer 5 çifti için ise *P. patellaris* örnekleri seçilerek, PCR ürünleri sekans hizmeti veren bir firmaya (Genoks) gönderilmiştir. Ancak, elde edilen bu diziler incelendiğinde, YZT-313Q ve *P. patellaris* örneklerinin şeker pancarının genomik DNA'sı ile %100 oranında, *N. benthamiana* örneğinin ise *N. tomentosiformis*'in 28S ribozomal RNA'sı ile tamamen benzer olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak; bu çalışmada tasarlanan primerler ile BVQ'nun CP-RT bölgesinin çoğaltımında başarılı olunamamıştır. Bu çalışmada, BVQ izolatlarının test bitkilerine mekanik inokulasyonunu takiben CP bölgesinde nükleotit silinmesi olmadığı ortaya konulmuş olmakla birlikte, RT bölgesinde herhangi bir silinme olup olmadığı sorusu cevaplanamamıştır. Bu durumun netlik kazanabilmesi için ileride RT

bölgesine spesifik farklı primerlerin tasarımı yapılarak çalışmalara devam edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmanın ikinci bölümünde, bir diğer toprak kökenli virüs olan BNYVV'nin CP gen bölgesine göre moleküler karakterizasyonu ele alınmıştır. Bu amaçla; virüsün CP'sine spesifik primerler ile gerçekleştirilen RT-PCR çalışmaları sonucunda, farklı coğrafik lokasyonlardan elde edilen 17 örnekte, bu bölgeye spesifik büyüklükte (567 bp) amplifikasyon ürünü gözlenmiş (Şekil 4.45-Şekil 4.48) ve sonrasında gerçekleştirilen sekans analizleri ile 16 BNYVV izolatının düzgün baz dizileri elde edilmiştir (Ek-9). İncelenen BNYVV izolatlarının tamamının, diğer dünya izolatlarının birçoğunda olduğu gibi (Miyanishi et al., 1999; Lennefors et al., 2004; Zhuo et al., 2005), CP gen bölgesinin 567 bazdan oluştuğu ve bu bölgenin 189 aa kodladığı belirlenmiştir. BLASTn analizi ile; ELZ-44, CRM-68, BRS-148, ADP-291, KYS-527 ve KTY-602 izolatlarının birbirleri ile; EDR-125, ESK-225, YZT-355 ve KTY-602 izolatlarının kendi aralarında; IGR-9 ile ERC-52 izolatlarının ise birbirleriyle CP genine göre nükleotit düzeyinde %100 benzer oldukları saptanmıştır. Diğer dört BNYVV izolatının ise birbirleriyle nükleotit bakımından yüksek oranda benzerlik gösterdikleri (%98.41-%99.82) tespit edilmiştir (Tablo 4.19).

Önceden, BNYVV izolatları basit bir şekilde CP gen bölgelerine göre A- ve B-tip olmak üzere iki guba ayrılmakta idi (Kruse et al., 1994; Koenig et al., 1995). Bu ayırmada; CP geninin 62, 103 ve 172. pozisyonlarındaki aa'ler temel alınmakta, böylelikle BNYVV izolatlarının A-tip (T₆₂S₁₀₃L₁₇₂) ve B-tip (S₆₂N₁₀₃F₁₇₂) olarak ayırımı sağlanmakta idi (Miyanishi et al., 1999). Buna göre; bu çalışmada incelenen BNYVV izolatlarının tamamının A-tip CP yapısına sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.23). Elde edilen bu bulgu, ülkemizde şu ana kadar yürütülen çalışmalarla benzerlik göstermiştir (Kruse et al., 1994; Kutluk Yılmaz vd., 2007, 2016a, 2018). Nitekim; A- ve B-tip BNYVV izolatları dört RNA segmentine sahip olup, A-tip CP içeren BNYVV izolatları dünyada yaygın olarak görülürken (Schirmer et al., 2005), B-tip CP içerenler ise genellikle Japonya ve Çin'de yaygın olmakla birlikte (Koenig and Lenefors, 2000; Li et al., 2008; Zhuo et al., 2015); Avrupa'da da sınırlı alanlarda görüldüğü (Koenig et al., 2008) bildirilmiştir. Diğer taraftan; ilave bir RNA segmenti daha içeren (RNA-5) BNYVV izolatları (P- ya da J-tip) Avrupa (Koenig ve Lennefors, 2000; Schirmer et al., 2005; Ward et al., 2007; Koenig et al., 2008)'da ve İran (Nassaj-Hosseini et al., 2013)'da sınırlı sayıda örnekte tespit edilmesine rağmen; Çin, Japonya ve Türkiye'de

yaygınlık göstermektedir (Miyanishi et al., 1999; Koenig and Lenefors, 2000; Li et al., 2008; Zhuo et al., 2015; Kutluk Yılmaz vd., 2016a). Üstelik, bazı kaynaklarda, CP genom bölgesinde **R**₁₇**T**₆₂**I**₁₀₂**S**₁₀₃**L**₁₇₂ şeklinde aa dizilerine sahip BNYVV izolatları P-tip olarak kabul edilebilmektedir (Kruse et al., 1994, Lennefors et al., 2005). Bu durum göz önüne alındığında; ülkemizin doğu bölgesine ait illerden; Iğdır (IGR-9 izolatı) ile Erzincan (ERC-52 izolatı) ili BNYVV izolatlarının CP gen bölgelerinde P-tip BNYVV izolatları ile ilişkili aa'leri taşımaları [A (P)] dikkat çekmiştir. Öte yandan, P-tipi BNYVV izolatların A-tipi izolatlarla yakından ilişkili olduğu da bilinmektedir (Koenig ve Lennefors, 2000; Meunier et al., 2005; Schirmer et al., 2005). Ayrıca, bu çalışmada, Samsun iline ait SMS-61 izolatının A ya da B-tip BNYVV izolatlarının içerdiği aa motiflerinden farklı olarak, alışılmadık **T**₆₂**S**₁₀₃**F**₁₇₂ motifine sahip olduğu da belirlenmiştir (Tablo 4.23).

BLASTp yöntemi ile bu çalışmada elde edilen BNYVV izolatları aa düzeyinde birbirleriyle kıyaslandıklarında; IGR-9 ile ERC-52 izolatlarının kendi aralarında; ELZ-44, CRM-68, BRS-148, ADP-291, KYS-527 ve KTY-602 izolatlarının ise birbirleriyle %100 benzer oldukları görülmüştür. Ayrıca, EDR-125, ESK-225, YZG-355, KNY-373, AKS-581 ve ANK-617 izolatları ise kendi aralarında %100 benzer bulunmuştur. KNY-359 izolatının ise, diğer izolatlarla genetik benzerlik oranının %96.84-%98.42 olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4. 22; Ek-10). Diğer taraftan, NCBI'dan indirilen ve bu çalışmada elde edilen BNYVV izolatlarına ait CP gen bölgesi dizileri kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur. ML dendrogramı incelendiğinde; Türkiye'ye ait BNYVV izolatlarının tamamının A-tip CP içeren izolatlar ile birlikte aynı grup içerisinde yer aldıkları açıkça görülmüştür (Şekil 4.49; Tablo 4.25). Son taksonomik düzenlemeye göre; A-tip CP içeren BNYVV izolatları; İtalya, A (P) ve Çin-X olmak üzere kendi içerisinde üç alt gruba ayrılmaktadır. Buna göre; incelenen 14 BNYVV dünyada en yaygın olarak görülen ve BNYVV'nin streyn tiplerinden biri olan, A-tip CP'ye sahip, İtalya grubu içerisinde bulundukları saptanmıştır. Öte yandan, diğer izolatlardan farklı olarak IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının ise, A (P) tip CP geni içeren P-tip streyn grubunda yer alan izolatlarla aynı dalda toplandıkları tespit edilmiştir (Şekil 4.49; Tablo 4.25). Böylelikle; hem nükleotit ve aa dizilerinin karşılaştırılması, hem de filogenetik analiz, Türkiye'nin farklı lokasyonlarına ait BNYVV izolatlarının CP gen bölgesine göre iki gruba ayrıldıklarını ve dolayısıyla genetik olarak farklılık gösterdiklerini desteklemiştir.

Şu ana kadar ülkemizde yürütülen çalışmalarla, pancar üretim alanlarımızda BNYVV'nin A- (dört RNA segmentli) ve J-tip (beş RNA segmentli) olmak üzere iki farklı streyn grubunun varlığı tespit edilmiştir (Kutluk Yılmaz vd., 2016a). Bu çalışmada iki BNYVV izolatının (IGR-9 ve ERC-52) CP gen bölgesine ilaveten, diğer genom segmentleri üzerinde yer alan P25, P31 ve P26 gen bölgeleri de moleküler olarak karakterize edilmiştir. RNA-3 üzerinde bulunan P25 protein bölgesinin, BNYVV tarafından oluşturulan ürün kayıpları ve doğal konukçusu olan şeker pancarında simptom oluşumundan sorumlu olduğu bilinmektedir. Özellikle de, P25 proteininin 67-70. pozisyonlardaki aa'lerde (tetrat motif) büyük varyasyonların olduğu ifade edilmekte ve bu durumun ise virüsün patojenitesini etkilediği bildirilmektedir (Tamada et al., 1999; Schirmer et al., 2005). Bu çalışmada, IGR-9 izolatında sekans analizi yapılan bölgenin uzunluğu 660 baz kadar olup, P25 proteininin tamamını içermekte; ERC-52 izolatında ise bu bölgenin ilk 580 bazlık kısmını kapsamaktadır (Ek-11). Bu izolatların tetrat motifleri irdelendiğinde; IGR-9 izolatının 'ASHG', ERC-52 izolatının ise 'ACHG' tetrat motifine sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.29; Ek-12). Benzer şekilde; Uzunbacak (2019)'da yürüttüğü tez çalışmasında Iğdır iline ait IGDR-2 izolatının 'ASHG' tetrat motifini içerdiğini bildirmiştir. 'ACHG' tetrat motifi ise ülkemiz pancar alanlarına ait BNYVV izolatlarında yaygın olarak rastlanan tetrat motifler arasında yer almaktadır (Kutluk Yılmaz vd., 2016a; 2018). P25 bölgesinin filogenetik analizi ile oluşturulan ML dendogramı incelendiğinde ise; ERC-52 izolatının çoğunluğunu İtalya streyn grubuna dahil BNYVV izolatlarının oluşturdukları Grup I içerisinde; IGR-9 izolatının ise Çin-B streyni içerisinde yer alan Bao ve OW01 izolatları ile birlikte Grup II içerisinde toplandıkları görülmüştür (Şekil 4.51). Nitekim; BNYVV'nin CP, P25 ve P31 genleri ile ilgili yürütülen son filogenetik çalışmalar, BNYVV izolatlarının dört orijinal soyundan türeyen (A-I, A-II, A-III ve B), 10 farklı streyn tipinden oluştuğunu göstermiştir (Chiba et al., 2011; Zhuo et al., 2015). Üstelik; BNYVV izolatları P25 genine göre üç ana gruba (P25-I, P25-II ve P25-III) ayrılmakta ve bahsedilen 10 streyn tipinin ise yine bu gen bölgesi temel alınarak (alt grup olarak) ayırımları gerçekleştirilmektedir (Chiba et al., 2011; Zhuo et al., 2015). BNYVV'nin bu streyn tiplerinden; İtalya streyni, 'Avrupa A-tip syreyni' olarak da isimlendirilmekte olup ilk olarak 1950'lerde İtalya'da tespit edilmiş, ardından özellikle Avrupa, Ortadoğu ve ABD'ye yayılmıştır. Bu streyn tipi virüsün A-III soyundan türeyen tek streyn tipi olup, BNYVV'nin dünyada en yaygın streyn grubunu oluşturmaktadır (Koenig and

Lennefors, 2000; Schirmer et al., 2005; Koenig et al., 2008; Mehrvar et al., 2009; Chiba et al., 2011). Chiba vd. (2011) Kastamonu iline ait bir Türk izolatının da yer aldığı (TUK izolatı-AB563089) dünyanın farklı lokasyonlarına ait BNYVV izolatları ile yürüttükleri çalışmada, benzer şekilde TUK izolatının P25' in I. grubu içerisinde, İtalya streyn alt grubunda yer aldığını bildirmişlerdir. Ayrıca, Kutluk Yılmaz vd. (2016a; 2018)'de İtalya streyninin ülkemizde yaygın olarak görüldüğünü belirtmişlerdir. Çin-B (Bautou) streyni (Bao ve Har4 izolatlarını içeren) ise, BNYVV'nin A-II soyundan türeyen beş streyn tipinden (Fransa-P, Japonya-D, Japonya-O, Çin-B ve Çin-L) biri olup ilk defa 2000'li yılların sonunda Çin'in Neimenggu ve Heilongjiang illerinde rapor edilmiştir (Li et al., 2008). Hemen ardından, bir Alman izolatı olan OW1'in de Çin-B streynine dahil olduğu belirlenmiştir (Koenig et al., 2008). Bu çalışma ile, Uzunbacak (2019)'un bulgularıyla benzer olarak IGR-9 izolatının Çin-B streyni içerisinde yer aldığı ve P25-II grubunda bulunduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuç; ülkemiz pancar alanlarında iki farklı soydan gelen BNYVV popülasyonunun bulunduğuna işaret etmiştir.

Ayrıca, BNYVV'nin RNA-4 segmenti tarafından kodlanan; virüsün vektör *P. betae* tarafından taşınması (Tamada and Abe, 1989; Rahim et al., 2007) ve *N. benthamiana* bitkilerinde symptom oluşumundan sorumlu (Rahim et al., 2007) olan P31 genine göre de benzer çalışma yürütülmüştür. Bu gene göre; IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının Kazakistan, Almanya, İran izolatları ile Japonya, Çin ve Fransa'ya ait bazı izolatların bulunduğu Grup II içerisinde yer aldıkları belirlenmiştir (Şekil 4. 54). Daha önce yürütülen bir tez çalışmasında Güngör (2020) ise, 10 BNYVV izolatının P31 gen bölgesinin baz dizilerini elde etmiş ve oluşturduğu filogenetik ağaç ile bu izolatlardan dokuzunun Grup-III'de yer aldıklarını ve Iğdır ilinden elde edilen sadece bir izolatın (IGDR-6) ise bu çalışmanın bulgularına benzer şekilde Grup-II'de bulunduğunu göstermiştir.

Diğer taraftan, bu çalışmada incelenen iki BNYVV izolatının virüsün bir diğer patojenite faktörü olarak kabul edilen RNA-5'i de içerdikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.55). Üstelik, her iki izolatın da P26 proteinin J-tip karakterde olduğu belirlenmiştir. J-tip BNYVV izolatları, Çin, Japonya ve ülkemizde yaygın olarak görülmektedir (Schirmer et al., 2005; Kutluk Yılmaz et al., 2016a). Dünya'nın çeşitli bölgelerinden elde edilen BNYVV RNA-5'lerin nükleotit dizileri esas alınarak ML analiz yöntemine göre filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Buna göre; her iki izolatın da, P26 genine göre

dört gruba (P26-I, P26-II, P26-III ve P26-IV) ayrılan BNYVV izolatlarının (Chiba et al., 2011; Zhuo et al., 2015); Grup I'i içerisinde yer aldıkları saptanmıştır (Şekil 4.56).

Bitki virüslerinde genomik çeşitliliğe; rekombinasyon, farklı streynler arasında genom segmentlerinin karışması (reassortment) ve ekstra genomik parçaların kazanılması yoluyla oluşan mutasyonlar neden olmaktadır. Üstelik; genomik RNA'da mutasyon oranı oldukça yüksek olup, virüs izolatları çevresel kaynaklı baskıya cevap olarak genom dizilerinde değişikliğe gidebilmekte ve böylece birbirleri ile çok yakından ilişkili mutant topluluklar oluşturabilmektedirler (Garcia-Arenal et al., 2001; Harrison, 2002). Nitekim; Ratti vd. (2009) BNYVV'nin yakın ilişkili olduğu bir diğer virüs olan Beet soil-borne mosaic virus (BSBMV)'ün RNA-3'ünü kopyalayabildiğini bildirmişlerdir. Bu iki *Benyvirus*'ün 5' ve 3' untranslated bölgeleri (UTR) yapı ve yüksek sekans benzerlikleri göstermekte ve BSBMV RNA-3'ü, BNYVV tarafından kendi RNA'larından biri olarak kabul edilebilmektedir. Diğer taraftan; A-, B- ve P-tip BNYVV izolatları bir arada karışık enfeksiyonlar da oluşturabilmektedir. Bu durum, genomda farklı streynler arasında genom segmentlerinin karışması (reassortment) ile sonuçlanabilmektedir (Koenig et al., 2009). Teorik olarak, dayanıklılık kıran A-tip ile, dayanıklılık kıramayan B-tip'den oluşan karışık enfeksiyon, *Rz1* dayanıklılığını kırabilen yeni bir B-tip varyantın oluşumuna neden olabilmektedir (Wetzel et al., 2021). Ratti vd. (2005), Avrupa'ya ait incelenen 72 örneğin sadece birinde A/B tip enfeksiyonunu bir arada belirlemişlerdir. Takiben, İngiltere (Ward et al., 2007), Fransa (Koenig et al., 2009) ve Asya'da lokal alanlarda (Li et al., 2008; Chiba et al., 2011) bazı farklı BNYVV izolatlarının RNA segmentlerinin yeni kombinasyonlar oluşturacak şekilde karışması durumu (reassortment) rapor edilmiştir. Son olarak, Galein vd. (2018) ise Fransa (Pithiviers)'da yürüttükleri araştırmada; incelenen 835 örneğin % 20'sinde A- ve B-tip ile ilişkili farklı tetralara sahip BNYVV izolatlarının, 5. RNA segmentini de içerdiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da benzer şekilde; CP, P25, P31 ve P26 protein gen bölgeleri analiz edilen iki BNYVV izolatının (IGR-9 ve ERC-52); P31 genine göre Grup II içerisinde yer aldıkları halde J-tip P26 proteinini içerdikleri görülmüştür. Oysaki literatürde; İtalya streyn grubunda yer alan BNYVV izolatlarının P31 genine göre Grup I'de yer aldıkları ve RNA-5 segmentini de içermedikleri belirtilmektedir (Chiba et al., 2011; Zhuo et al., 2015). Üstelik, bu çalışmada her iki izolatın da CP bölgelerinin A (P) tip karakterde olduğu saptanmıştır. Bu CP yapısı içeren iki BNYVV izolatının P-tip streyn ile uyumlu, beşinci bir RNA

segmenti içermesi gerekirken; her ikisinin de P26 proteinlerinin J-tip olduğu görülmüştür. Elde edilen bu sonuç, her iki izolatın farklı RNA segmentlerinde yeniden kombinasyon olayının gerçekleştiğine işaret etmektedir. Öte yandan, dünyada lokal alanlarda rapor edilen bu özellikteki alışılmadık BNYVV varyantlarının dayanıklılık kırma durumları net olarak bilinmemektedir. Bu projedeki çalışmalar ile bu iki sıra dışı BNYVV izolatının farklı genotiplerde (*Rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) dayanıklılık kırma durumu üzerinde de durulmuştur. Bu araştırmada; iklim odasında yürütülen patojenite çalışmaları ile her iki izolatın da incelenen tüm genotiplerde dayanıklılığı kırabildikleri tespit edilmiştir (Tablo 4.36). Elde edilen bu sonuç; iki BNYVV izolatının da virülensinin yüksek olduğunu ve dayanıklı genotiplerin hiçbirisinin bu izolatları kontrol etme potansiyeline sahip olmadığını göstermiştir. İlginç olarak, şu ana kadar dayanıklılık kırılması olayı sadece A- ve P-tip BNYVV izolatları için rapor edilmiştir (Wetzel et al., 2021). P-tipinin dayanıklılık kırmasında P25'deki 67-70.aa'lerdeki mutasyonlardan ziyade, RNA-5 ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır (Chiba et al., 2011). Farklı ülkelerde dayanıklılık kırıcı BNYVV varyantlarının hemen hemen eşzamanlı olarak ortaya çıkışı, birbirinden bağımsız bir gelişme sürecinin olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, farklı lokasyonlardaki BNYVV izolatlarının *Rz1* dayanıklılığını kırabilmek için farklı stratejiler geliştirdikleri öne sürülmektedir. Bununla birlikte; birçok ülkede henüz BNYVV tiplerinin genetik bir değişim içinde olup olmadıkları bilinmemektedir (Wetzel et al., 2021). Türkiye'de ise; RNA-5'li A-tip dayanıklılık kıran BNYVV populasyonlarının yanı sıra, 67.-70. pozisyonlarda yer alan aa'lerde farklı tetralar oluşturarak dayanıklılık kıran A-tip BNYVV izolatları bulunmaktadır (Kutluk Yılmaz vd., 2016a; 2018). Buna ilave olarak, ülkemizde P25 proteininin 67. ya da 68. aa'de tek noktadaki silinmeye rağmen dayanıklılık kırabilen BNYVV varyantları saptanmıştır (Kutluk Yılmaz vd., 2018). Bu çalışma ile farklı izolatların genom segmentleri arasında yeniden kombinasyon sonucu ortaya çıkma olasılığı yüksek olan iki BNYVV varyantının farklı genotiplerde dayanıklılığı kırabildiği belirlenmiştir. Bu durum, ülkemizdeki BNYVV populasyonlarının dayanıklılığı kırabilmek için birden fazla stratejiyi bir arada geliştirebildiğine işaret etmektedir. İleride yürütülecek çalışmalarla, bu durumun net olarak ortaya konulması ülkemizde BNYVV'nin kontrolü açısından büyük önem taşımaktadır.

BNYVV dar bir konukçu çevresine sahip olup, *Chenopodiaceae* familyasına ait birçok bitki türü ile *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Caryophyllaceae* ve *Solanaceae* familyasından birkaç bitki türüne, bitki özsuynun inokulasyonu yolu ile taşınabilmektedir (Tamada and Baba, 1973; Kuszala and Putz, 1977; Hugo et al., 1996). BNYVV genellikle virüs-inokulasyonu yapılan yapraklarda çoğalma eğiliminde olmakla birlikte; *B. macrocarpa*, *B. vulgaris* spp. *maritima*'nın bazı accesionları, *S. oleracea* ve *N. benthamiana*'da ise sistemik enfeksiyon oluşturabilmektedir (Tamada, 1975). Bu tez çalışmasında; Konya ili örnekleri arasından seçilen bir BNYVV izolatının (KNY-359) konukçu çevresi yürütülen biyolojik çalışmalarla irdelenmiştir. Bu amaçla; KNY-359 izolatı altı farklı test bitkisine (*C. quinoa*, *B. macrocarpa*, *N. benthamiana*, *N. rustica*, *P. patellaris* ve *S. oleracea* cv. Nebraska) mekanik olarak inokule edilmiş ve 1-4 hafta içerisinde bu test bitkilerinde gözlenen belirtiler kayıt edilmiştir. Ayrıca, oluşan belirtilerin BNYVV'den kaynaklanıp kaynaklanmadığını net olarak görebilmek için inokulasyondan dört hafta sonra tüm indikatör bitkilerin virüs-inokule edilen ve -edilmeyen yaprakları ELISA ile testlenmiştir. Bu çalışmada; BNYVV-inokulasyonu yapılan test bitkilerinden, sadece *C. quinoa* ve *S. oleracea* cv. Nebraska'da hem lokal hem de sistemik yapraklarda belirtiler oluşumları gözlenmiş, üstelik lokal ve sistemik yaprak örneklerine uygulanan ELISA testleri de pozitif sonuç vermiştir (Tablo 4.37). Tamada and Baba (1973), BNYVV'nin *C. quinoa*'a aktarımından 5-7 gün sonra virüs-inokule edilen yapraklarda klorotik ya da nekrotik lokal lezyon oluşumlarının görüldüğünü, ancak bu bitkide BNYVV'nin sistemik enfeksiyon oluşturmadığını bildirmişlerdir (Tamada and Baba, 1973). Gilmer (2016) ise benzer şekilde; *C. quinoa* bitkisinin BNYVV'nin lokal lezyon konukçusu olduğunu ve bu lokal belirtilerin oluşması için BNYVV'nin genom segmentlerinden RNA-1 ve RNA-2'nin gerekli ve yeterli olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada, KNY-359 izolatının *C. quinoa* bitkisine aktarımı sonucunda, virüs-inokule edilen yapraklarda ufak klorotik lokal lezyon, inokule edilmeyen üst yapraklarda ise bombeleşme/kabarıklık gözlenmiş olup, bu yapraklarda virüsün varlığı ELISA ile de teyit edilmiştir (Şekil 4. 57). Benzer şekilde; Uzunbacak (2019)'da incelediği 10 BNYVV izolatından sadece Konya ilinden elde ettiği KNYA-386 izolatının; *C. quinoa*'a mekanik inokulasyonu sonrası 13 tekrarin yalnızca birinde belirtiler oluşturmaksızın, sistemik enfeksiyona neden olduğunu ELISA testi ile saptamıştır. Elde edilen bu sonuçlar, literatürde *C. quinoa*'nın BNYVV'nin lokal lezyon konukçusu olduğu bildirilmesine rağmen; ülkemize ait bazı

BNYVV izolatlarının bu bitkide sistemik enfeksiyon da oluşturabildiğini göstermiştir. Sistemik enfeksiyon oluşumuna sebep olan bu BNYVV izolatlarının, ileride yürütülecek çalışmalarla RNA-1 ve RNA-2 genom segmentlerine ait sekans analizlerinin elde edilerek *C. quinoa*'da lokal lezyon oluşturan izolatlarla kıyaslanması yerinde olacaktır. Öte yandan; bu çalışmada KNY-359 izolatının *S. oleracea* cv. Nebraska bitkilerine inokulasyonu takiben, uygulanan iki tekerrürün 2'sinde de virüs-inokuleli yapraklarda hafif bombe; sistemik yapraklarda ise bombe ile birlikte form bozukluğu oluşumu tespit edilmiştir (Şekil 4.64; Tablo 4.37). Bu bitkinin her iki tekerrüre ait; virüs-inokule edilen ve -edilmeyen yaprakları 4 haftalık süreç sonunda ELISA ile testlenmiş ve sadece tekerrürlerin 1'inde hem lokal, hem de sistemik yapraklarda BNYVV enfeksiyonu belirlenmiştir (Tablo 4.37). Her iki ıspanak bitkisinde de gözlenen belirtilerin benzer olmasına rağmen, sadece tekerrürlerden birinde virüsün ELISA testi ile teyit edilmesi enteresan bulunmuştur. Bir tekerrürden elde edilen pozitif sonuç, Tamada (1975)'nin bulguları ile paralellik göstermiştir. Ayrıca, Uzunbacak (2019) ise, tez çalışmasında incelediği 10 BNYVV izolatından sadece Yozgat iline ait YZGT-312 izolatının literatürde ifade edildiği gibi ıspanak bitkisinde sistemik enfeksiyon oluşturmaya rağmen, diğer dokuz izolatın ise bu bitkide herhangi bir enfeksiyona neden olmadığını bildirmiştir. Diğer taraftan, Liu vd. (2005) ise, *Rz1* dayanıklılığını kıran bazı Amerikan BNYVV izolatlarının *S. oleracea* ve *N. benthamiana* bitkilerinde enfeksiyona neden olmadıklarını ve bahsedilen test bitkilerinin bu izolatların konukçusu olmadıklarını bildirmişlerdir. Gilmer (2016), ıspanak bitkisinin BNYVV'nin sistemik konukçusu olduğunu ve bu bitkide viral enfeksiyonun oluşması için BNYVV'nin RNA-1 ve RNA-2'sinin bulunması gerektiğini bildirmiştir. Bu çalışmada; *B. macrocarpa*, *N. benthamiana*, *N. rustica* ve *P. patellaris* bitkilerinin lokal ve/ ya da sistemik yapraklarında bazı belirtiler kayıt edilmiş olsa da; bu bitkilerde BNYVV enfeksiyonunun varlığı ELISA ile tespit edilememiştir. Bu durumun, KNY-359 izolatının konukçu çevresinin sadece *C. quinoa* ve *S. oleracea* cv. Nebraska bitkileri ile sınırlı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bu doktora tez çalışmasının son parçasında ise; bir diğer toprak kökenli Pomovirus olan BSBV'nin CP gen bölgesinin moleküler karakterizasyonunun yapılması için çalışmalar yürütülmüştür. Bu çalışmada, farklı lokasyonlara ait toplam 10 BSBV izolatının CP genine spesifik primerler ile uygulanan RT-PCR yöntemi ve

elde edilen DNA ürünlerinin baz dizi analizi sonrasında, tüm BSBV izolatlarının CP bölgelerinin 495 nükleotit ve 164 aa içerdiği tespit edilmiştir. Bu diziler NCBI'a gönderilerek, OL870481-OL870490 kayıt numaraları altında GenBank'a kayıt altına alınmıştır. İlginç bir şekilde, farklı lokasyonlardan elde edilen dokuz BSBV izolatı birbirleriyle karşılaştırıldığında, bu izolatların aa düzeyinde %100 benzer oldukları saptanmıştır. Bununla birlikte, Yozgat ilinden elde edilen YZT-355S izolatının, diğer izolatlarla aa benzerlik oranının % 98.17 olduğu ve 92., 121. ve 122. pozisyonlarda yer alan aa'lerin diğer Türkiye izotları ve daha önce tanımlanan BSBV dünya izolatlarından farklılık sergilediği tespit edilmiştir (Tablo 4.41). Bu çalışmadaki BSBV izolatları kılıf protein bölgesi bakımından dünya izolatları ile BLASTp yöntemi ile karşılaştırıldığında, ülkemizin farklı coğrafik bölgelerden elde edilen 9 BSBV izolatı, Çin'e ait pBSBV-cp061027-1 izolatı ile %100 benzer bulunmuştur. YZT-355S izolatı ise, diğer incelenen dokuz BSBV izolatından farklı olarak Çin, Polonya ve Türkiye'ye ait bahsedilen sıraya göre; pBSBV-cp061027-1, PL ve TR3 izolatları ile %98.17 oran ile en yüksek genetik benzerliği göstermiştir (Tablo 4.43). Ayrıca, bu çalışmada incelenen BSBV izolatlarının tamamının, Lennefors vd. (2005), Wang vd. (2008) ve Moradi vd. (2021)'ın belirttikleri gibi, Almanya'ya ait Ahlum izolatında 65. aa pozisyonunda belirtilen Treonin (T) (Koenig et al., 1997a) yerine, Asparagin (N) içerdikleri belirlenmiştir (Tablo 4.42).

BSBV dünyada yaygın bir virüs olmasına rağmen, tam genom dizisi ve genetik çeşitliliği hakkındaki bilgiler sınırlıdır. Bununla birlikte, BSBV'nin şu ana kadar, bir Alman izolatı (BSBV-G), bir Polonya (BSBV-PL), iki Çin (BSBV-XJ ve BSBV-IM) (Koenig et al., 1996; Koenig and Loss, 1997; Borodynko et al., 2006; Wang et al., 2008) ve yakın zamanda ise iki Türkiye izolatının (TR1 ve TR2) tam genom dizi analizleri gerçekleştirilmiştir (Moradi et al., 2021). Tokat iline ait iki Türkiye izolatı ile yürütülen genom analizi çalışmasında, diğer gen bölgeleri ile kıyaslandığında, en fazla genetik varyasyonun RNA-3 tarafından kodlanan üçlü gen bloğu (Triple gene block) proteinlerinden TGB-3'de görüldüğü bildirilmiştir (Moradi et al., 2021). Ayrıca, aynı çalışmada, Türkiye izolatlarının CP'nin karboksilik ucunda korunmuş $121\text{EDSALNVAHQL}_{131}$ şekilde aa diziliminin bulunduğu dikkat çekilmiştir (Moradi et al., 2021). Bu çalışmada ise, incelenen 9 BSBV izolatının benzer şekilde aa dizilimi içerdiği tespit edilmekle birlikte; YZT-355S izolatının $121\text{KNSALNVAHQL}_{131}$

şeklindeki motifi ile, incelenen tüm dünya izolatlarından farklılık sergilediği belirlenmiştir (Ek-18).

Bunun yanı sıra, 24 BSBV izolatının (bu çalışmadan 10 ve GenBank'tan 14) filogenetik analizi, tüm izolatların I, II, III ve IV olmak üzere dört ana grupta toplandığını göstermiştir. Grup I'e ait Türkiye izolatları iki alt gruba (alt grup a ve c) ayrılırken, diğer Türkiye izolatları grup III ve grup IV içerisinde yer almışlardır (Şekil 4.71).



5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarının %75'ini kapsayan, 31 ili içeren geniş bir bölge içerisinde coğrafik orjinlerine göre seçilen; BNYVV ve/ya da BSBV ile bulaşık 82 örneğin 73'ünün, sadece *P. betae* ile bulaşık 21 örneğin ise 19'unun RT-PCR yöntemi ile BVQ ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Böylelikle, incelenen toplam 103 toprak örneğinin %89.3'ünün BVQ ile bulaşık olduğu ve ülkemizde şeker pancarlarında BNYVV ve BSBV dışında aynı vektör tarafından taşınan bir diğer toprak kökenli virüs olan BVQ'nun da enfeksiyon oluşturduğu ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Üstelik, BVQ'nun bulunma durumunun lokal alanlarla sınırlı olmayıp, şeker pancarı üretim alanlarının neredeyse tamamında (Gaziantep ili hariç) yaygınlık gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, 103 örneğin tamamında kök boyaması çalışmaları yapılarak *P. betae*'nin dinlenme spor yapıları ışık mikroskop altında incelenmiş ve bu örneklerde vektörün varlığı kesin olarak teyit edilmiştir.

Dünya'da şeker pancarı üzerine yürütülen viral çalışmalarda, araştırmacılar tarafından genellikle bitkinin en tahripkar hastalığı olarak kabul edilen rhizomania'nın etmeni olan BNYVV üzerine yoğunlaşmış, ancak şu zamana kadar BVQ'nun doğal konukçusu olan şeker pancarında enfeksiyon oluşturma durumu, virüsün konukçu çevresi ve bu bitkide neden olduğu ekonomik kayıp detaylı olarak ele alınmamıştır. Bu çalışmada, şeker pancarında BVQ'nun tek başına enfeksiyon oluşturma durumu; ELISA sonuçlarına göre BNYVV ve /ya da BSBV ile bulaşık olmayıp, sadece vektör *P. betae* ile bulaşık olarak bilinen sekiz örnekte tuzak bitki testi ve RT-PCR yöntemleri ile irdelenmiştir. Buna göre; incelenen sekiz örnekten beşinin sadece BVQ ile bulaşık olduğu tespit edilmiş ve böylece BVQ'nun tek olarak elde edilmesinde başarı sağlanmıştır. Bu sonuç; literatürde daha önce belirtildiği gibi BVQ'nun şeker pancarlarında BNYVV ve/ ya da BSBV ile birlikte enfeksiyon oluşturmalarının yanı sıra, ayrıca tek olarak da bu bitkide enfeksiyon oluşturabileceğini göstermiştir. Ayrıca, sadece vektör *P. betae* tespit edilen örneklerin, pancarda belirgin bir simptom oluşumuna sebep olmayan BVQ ile de bulaşık olabileceği gerçeğini ortaya koymuştur. Şu ana kadar dünyada yürütülen çalışmalarda şeker pancarında tek BVQ enfeksiyonu rapor edilmemiş olup, bu nedenle virüsün pancarda neden olduğu ekonomik kayıp tam olarak bilinmemektedir (Koenig et al., 1998). Böylelikle, bu çalışmada uygulanan bu yöntem ile hem virüsün bitkiden kolaylıkla tek olarak elde edilmesi, hem de ileride

yürütülecek çalışmalarla pancarda oluşturduğu ekonomik kaybın net olarak saptanması mümkün olabilecektir.

Diğer taraftan; bu doktora tezinde, BVQ izolatlarının (EDR-128Q ve YZT313Q) konukçu çevresini saptamak amacıyla yürütülen biyolojik çalışmalar sonucunda, virüsün daha önce sistemik enfeksiyon oluşturduğu bilinen *C. quinoa* bitkisi dışında, mekanik aktarımı ile *B. macrocarpa*, *N. benthamiana*, *P. patellaris* ve *S. oleraceae* bitkilerinde de sistemik enfeksiyon oluşturabildiği; BVQ'nun gerek RNA-1 ve RNA-2 segmentleri üzerinde yürütülen RT-PCR çalışmaları, gerekse elde edilen baz dizisi analizleri (kısmi RNA-1 ve CP) ile bu çalışmada ilk defa ortaya konulmuştur. İlave olarak, biyolojik çalışmalarda inokulum kaynağı olarak kullanılan ve daha önce ELISA testi ile BNYVV ve/ya da BSBV enfeksiyonu saptanmayan iki BVQ izolatının, beş farklı test bitkisine mekanik inokulasyonunu takiben; bu test bitkilerinin hem lokal, hem de sistemik yapraklarında BVQ dışında diğer virüslerin (BNYVV, BSBV) bulunma/oluşma durumları CP bölgelerine spesifik primerler ile yürütülen RT-PCR çalışmaları ile de araştırılmıştır. Böylelikle, bazı test bitkilerinde kayıt edilen semptomlar ile bu bitkilerin tamamında oluşan sistemik BVQ enfeksiyonun, tek olarak BVQ'dan kaynaklanıp kaynaklanmadığının ELISA'ya göre daha hassas bir teknik olan RT-PCR yöntemi ile kesin olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada; inokulum kaynağı olarak kullanılan bitki örneklerinin ikisinde de BVQ ile birlikte BNYVV ve BSBV'nin varlığı RT-PCR ile saptanamamış olmasına rağmen; mekanik aktarımı takiben bazı test bitkilerinin sadece lokal yapraklarında BVQ'nun yanı sıra BNYVV ve/ya da BSBV enfeksiyonunun tespiti yapılmış oldukça enteresan bir bulgu olarak görülmüştür. Bu durumun; inokulum kaynağı olan şeker pancarı köklerinde diğer virüslere (BNYVV ve BSBV) ait viral CP'lerin çok düşük konsantrasyonda olması sebebiyle RT-PCR bile saptanamamasından kaynaklandığı; ancak konukçusu olan bazı test bitkilerinde bahsedilen virüslerin zaman içerisinde çoğalmaya devam ederek BVQ ile birlikte lokal enfeksiyon oluşumuna neden oldukları düşünülmüştür. Bununla birlikte; çalışmada incelenen beş test bitkisinin tamamında saptanan sistemik BVQ enfeksiyonunun, aynı vektör ile taşınan diğer toprak kökenli virüslerin varlığına bağlı olarak oluşmadığı açıkça görülmüştür. Öte yandan; test bitkilerinde lokal enfeksiyon esnasında gözlenen bu ilginç durum, şeker pancarı üretim alanlarında BVQ'nun genellikle BNYVV ve/ya da BSBV bir arada bulunma durumu göz önüne alındığında, belki de BVQ'nun bu bitkide çoğalmak için

BNYVV ya da BSBV'ye bağımlılığının bir göstergesi olabileceğini de düşündürmüştür. Bu virüsler arasındaki kompleks ilişkinin net olarak ortaya konulabilmesi için, ileride her bir virüs türünün diğer genom segmentleri de ele alınarak daha detaylı çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir. Ayrıca, yürütülen bir reverse genetik çalışmasında BVQ RNA'larının *C. quinoa* bitkisinde uzun mesafelere taşınabileceği ileri sürülmüş ve bu taşınmada ise CP-RT bölgesinin muhtemelen sorumlu olabileceği belirtilmiştir (Crutzen et al., 2009a). Bu çalışmada, gerek şeker pancarı köklerinden, gerekse test bitkilerinden elde edilen RNA'lar kullanılarak, CP-RT bölgesine spesifik tasarlanan primerler ile de RT-PCR çalışmaları yürütülmüş, ancak bu bölgenin çoğaltılmasında başarı sağlanamamıştır. Bu sebeple, ülkemize ait BVQ izolatlarının test bitkilerinde sistemik enfeksiyon oluşturma durumları, RT bölgesinin dizi analizleriyle bu bölgedeki nükleotitlerde bir silinme olup olmadığı ya da bu bölgenin dünya izolatlarından farklılık gösterip göstermediği bu çalışmada ortaya konulamamıştır. İleride, RT bölgesine spesifik farklı primerler çiftleri tasarlanarak çalışmalara devam edilmesi gerekmektedir.

Bu doktora tezi ayrıca, Türkiye pancar üretim alanlarında saptanan toprak kökenli virüslerin (BNYVV, BSBV ve BVQ) önemli bazı gen bölgelerine göre moleküler karakterizasyonunu içermektedir. Bu amaç kapsamında, farklı coğrafik alanlara ait 15 BVQ izolatının CP gen bölgesinin nükleotit dizileri elde edilmiş ve bu diziler OL870466-OL870480 numaları altında NCBI'a kayıt edilmiştir. Böylelikle; NCBI'da sınırlı sayıda (toplam 17 adet) kayıtlı olan dünya izolatlarına 15 Türkiye BVQ izolatı daha eklenmiş ve bu şekilde ülkemize ait BVQ izolatlarının GenBank'ta ilk veri tabanı oluşturulmuştur. Yapılan BLAST analizleri sonucunda; 14 BVQ izolatının hem nükleotit, hem de aa bakımından tamamen aynı oldukları ve aralarında genetik bir farklılığın bulunmadığı, sadece tek bir izolatın (KNY-419Q izolatı) ise, diğer Türkiye izolatlarından 429., 441., 443. ve 461. nükleotit pozisyonlarında farklılık sergilediği ve bu farklılığın da 148. [Histidin (H) → Arginin (R)] ve 154. [Lizin (K) → Treonin (T)] pozisyonlarında yer alan iki aa'de değişime neden olduğu belirlenmiştir. BVQ izolatlarının nükleotit dizileri temel alınarak CP genine göre oluşturulan filogenetik ağaç; dünya izolatlarının iki gruba ayrıldıklarını (Grup I ve Grup II), Türkiye'ye ait izolatların Almanya ve Polonya izolatları ile birlikte Grup II içerisinde yer almakla birlikte, Türkiye izolatlarının tamamının ayrı bir alt grupta (Grup II-2) toplandıklarını göstermiştir. Bu şekilde, Türkiye'ye ait BVQ izolatlarının

CP gen bölgesine göre moleküler açıdan karakterizasyonları bu çalışma ile ilk kez gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada, ayrıca, Türkiye şeker pancarı alanlarında varlığı 1980'li yılların sonundan beri bilinen bir diğer toprak kökenli virüs olan BNYVV'ye ait 16 izolatın CP genom bölgesinin nükleotit dizileri belirlenmiştir. Elde edilen bu sekans verileri GenBank'ta OM323309-OM323324 numaraları altında kayıt edilmiştir. Türkiye BNYVV izolatlarının aa dizileri incelendiğinde; 14 BNYVV izolatının CP'nin çoğu Avrupa ve ABD izolatları gibi A-tip karakterde; diğer iki BNYVV izolatının (ERC-52 ve IGR-9) ise, P-tip streyn ile ilişkili (Pithiviers izolatı ile aa bakımından %100 benzer) A (P)-tip CP karakterinde oldukları tespit edilmiştir. Filogenetik analiz sonuçları da bu verileri desteklemiş ve A-tip içerisinde iki ayrı alt grupta toplanan Türkiye'ye ait BNYVV izolatlarının genetik olarak farklı orjinlere sahip olduklarına işaret etmiştir.

Bu çalışma ile ilk defa A (P) tip karakterde BNYVV izolatlarının ülkemizde varlığı ortaya konulmuş olup, elde edilen bu sonuç bu iki izolatın diğer genom segmentlerinde de bir farklılık olup olmadığı sorusunu akla getirmiştir. Bu sebeple, ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi'ne ait ERC-52 (Erzincan) ve IGR-9 (İğdır) izolatlarının; RNA-3 tarafından sentezlenen P25, RNA-4 tarafından kodlanan P31 ve RNA-5 üzerinde yer alan P26 genom bölgeleri de detaylı olarak bu çalışmada analiz edilmiştir. P25 genine göre oluşturulan filogenetik ağaç; IGR-9 izolatının, Çin-B streyn tipinde izolatlar ile P25'in ikinci grubunda; ERC-52 izolatının ise P25'in birinci grubunda yer alan İtalya streyn grubu BNYVV izolatları ile aynı grupta bulunduğunu göstermiştir. Böylelikle, Doğu Anadolu Bölgesi'nde BNYVV'nin P25 genine göre iki ayrı streyn tipine ait BNYVV populasyonlarının mevcut olduğu ortaya konulmuştur. Öte yandan; ERC-52 ve IGR-9 izolatlarının her ikisinin de P31 genom bölgesine göre Grup II içerisinde yer aldıkları tespit edilmiştir. Ayrıca, P26 gen bölgeleri incelendiğinde ise, her iki izolatın da P26'nın I. grubu içerisinde bulunup, bu proteinlerinin J-tip karakterde olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar; IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının; CP gen bölgelerinin P-tip streyn ile ilişkili A (P) tip karakterde olmasına rağmen, P26 proteinlerinin ise P-tip streyn yerine J-tip streyn ile benzer olduğu görülmüştür. İtalya streyn grubu içerisinde yer alan ERC-52 izolatının, P31 genom bölgesine göre, birinci grup BNYVV izolatları ile birlikte aynı grup içerisinde bulunması gerekirken, bu bölgenin ikinci grup BNYVV izolatları ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Üstelik, İtalya streyn grubu BNYVV üyelerinin 5. genom

segmentini (RNA-5) içermedikleri bilinmektedir. Halbuki; ERC-52 izolatının RNA-5 içerdiği saptanmıştır. Bu sebeple, her iki izolatın farklı RNA parçaları üzerinde yer alan önemli proteinleri irdelendiğinde; bu iki izolatın farklı BNYVV streynleri arasında genom segmentlerinin karışması ve yeniden kombinasyonu sonucu yani 'reassortment' olayı ile oluşmuş olabileceği düşünülmüştür. Böylece, bu çalışma ile ülkemiz pancar alanlarında çok farklı BNYVV varyantlarının varlığı ortaya konulmuştur. Ayrıca, bu sıra dışı BNYVV izolatlarının farklı şeker pancarı genotiplerinde (*Rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) dayanıklılık kırma durumları da araştırılmıştır. İklim odasında yürütülen patojenite çalışmaları sonucunda; sıradışı BNYVV izolatlarının incelenen genotiplerin tamamında dayanıklılığı kırabildikleri saptanmıştır. Günümüzde, dünyada olduğu gibi ülkemizde de rhizomania problemi yaşanan alanlarda hastalığın kontrolü amacıyla *Rz1* ve/ya da *Rz2* dayanıklılık genlerini içeren şeker pancarı çeşitlerinin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Elde edilen bu sonuç, Türkiye'deki BNYVV popülasyonlarının virülensinin yüksek olması nedeniyle dayanıklı çeşitlerin (*Rz1* ve/ya da *Rz2*) kullanılması ile virüsün kontrol altına alınamayacağını göstermiş ve bu daha agresif karakterdeki BNYVV popülasyonlarının ülkemiz pancar üretim alanlarında yayılması durumunda, şeker pancarı tarımının ekonomik olarak gerçekleştirilemeyeceğine işaret etmiştir. Bu sebeple; özellikle ülkemizde yürütülecek ıslah çalışmalarında, farklı gen kaynaklarının bu çalışmalara dahil edilmesinin gerekliliği anlaşılmıştır.

İlave olarak, bu çalışmada, seçilen bir BNYVV izolatının (KNY-359) biyolojik çalışmalarla konukçu çevresi araştırılmıştır. Bu amaçla; KNY-359 izolatının farklı test bitkilerine (*C. quinoa*, *B. macrocarpa*, *N. benthamiana*, *N. rustica*, *P. patellaris* ve *S. oleracea* cv. Nebraska) mekanik yolla inokulasyonu gerçekleştirilmiş ve bu uygulama sonucunda; sadece *C. quinoa* ve *S. oleracea* cv. Nebraska bitkilerinin hem lokal, hem de sistemik yapraklarında simptom oluşumu gözlenmiş olup, bu yapraklarda BNYVV'nin varlığı ELISA ile de teyit edilmiştir. Enteresan olarak; literatürde *C. quinoa*'nın BNYVV'nin lokal lezyon konukçusu olduğu bildirilmesine rağmen; bu çalışmada inokulum kaynağı olarak kullanılan KNY-359 kodlu BNYVV izolatının bu konukçuda sistemik enfeksiyona neden olduğu tespit edilmiştir. Diğer dört test bitkisinin ise, bu izolatın konukçusu olmadıkları görülmüştür. Sistemik enfeksiyon oluşturan bu BNYVV izolatının, ileride yürütülecek çalışmalarla farklı genom segmentlerine (özellikle; RNA-1, RNA-2 ve RNA-3) ait dizi analizlerinin

gerçekleştirilerek, *C. quinoa*'da lokal lezyon oluşturan diğer BNYVV izolatlarının sekans verileri ile karşılaştırılması, virüsün sistemik enfeksiyon oluşturma durumunun anlaşılması için gereklidir.

Ayrıca, bu çalışmada bir diğer *Pomovirus* türü olan BSBV'ye ait 10 izolatın CP genom bölgesinin nükleotit dizileri elde edilmiştir. Daha sonra, farklı coğrafik lokasyonlardan izole edilen 10 BSBV izolatının sekans verileri NCBI'da kayıt altına (OL870481-OL870490) alınmıştır. Bu çalışmada, incelenen dokuz BSBV izolatının CP genom bölgeleri aa dizileri bakımından tamamen benzer bulunmuş olup, bir BSBV izolatının (YZT-355) ise diğer izolatlardan genetik olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Öte yandan, BSBV izolatlarının CP bölgesi dünya izolatları ile BLASTp yöntemi ile karşılaştırıldığında, ülkemizin farklı coğrafik bölgelerden elde edilen dokuz BSBV izolatı, Çin'e ait pBSBV-cp061027-1 izolatı ile %100 benzer bulunmuştur. YZT-355S izolatı ise diğer incelenen izolatlardan farklı olarak Çin, Polonya ve Türkiye'ye ait bahsedilen sıraya göre; pBSBV-cp061027-1, PL ve TR3 izolatları ile % 98.17 oran ile en yüksek benzerliği göstermiştir.

BSBV izolatlarının CP bölgesi nükleotit dizisi arasındaki filogenetik ilişki ML yöntemine göre analiz edilmiş olup, oluşturulan filogenetik ağaç incelendiğinde; Türkiye'nin batısından elde edilen BSBV izolatlarının Grup I, İç Anadolu'dan elde edilenlerin Grup III, YZT-355 izolatının ise doğu bölgesi illerine ait izolatlarla birlikte Grup IV içerisinde toplandıkları görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Abe, H. and Tamada, T. (1986). Association of Beet Necrotic Yellow Vein Virus with Isolates of *Polymyxa betae* Keskin, *Annls. Phytopath. Soc. Jap.* 52, 235-247.
- Abe, H. and Ui, T. (1986). Host range of *Polymyxa betae* Keskin strains in rhizomania-infected soils of sugar beet fields in Japan. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 52, 394-403.
- Adams, M. J., Antoniw, J. F. And Mullins, J. G. L. (2001). Plant virus transmission by plasmodiophorid fungi is associated with distinctive transmembrane regions of virus-encoded proteins. *Arch Virol* 146, 1139- 1153.
- Adams, M., Antoniw, J. and Kreuze, J. (2009). Virgaviridae: a new family of rod-shaped plant viruses. *Arch. Virol.* 154, 1967–1972.
- Acosta-Leal, R., Fawley, M. W. and Rush, C. M. (2008). Changes in the intra isolate genetic structure of Beet necrotic yellow vein virus populations associated with plant resistance breakdown. *Virology*, 376, 60-68.
- Akbay, A. Ö. (2003). Türkiye’de Şeker Üretiminin Ekonomik ve Sosyal Karlılığının Değerlendirilmesi, Temmuz 2003, Ankara.
- Akinerdem, F. (2022). Şeker pancarı tarımının tarihi ve ekonomik önemi. Şeker Pancarı Tarımı, Nobel Yayınevi, İzmir, 8-16.
- Al Musa, A.M. and Mink, G.I. (1981). Beet necrotic yellow vein virus in North America. *Phytopathology*, 71, 773–776.
- Andika, I.B., Kondo, H., Nishiguchi, M. and Tamada, T. (2012). The cysteine-rich proteins of beet necrotic yellow vein virus and tobacco rattle virus contribute to efficient suppression of silencing in roots. *J. Gen. Virol.*, C:93, S: 8
- Andika, I.B., Kondo, H. and Sun. L. (2016). Interplays between Soil-Borne Plant Viruses and RNA Silencing-Mediated Antiviral Defense in Roots. *Froniers in Mikrobiology* C:7 (1458-1470)
- Arif, M., Khan, W. and Shafi, A. (2015). Detection of beet necrotic yellow vein virus in Pakistan using bait-plant bioassay, ELISA and RT-PCR. *Arf. J. Biotechnology* 14(48), 3206-3215.
- Asher, M. J. C. (1993). *Rhizomania*. In: Cooke DA, Scott RK (ed.) The sugar beet crop: science into practice. Chapman and Hall, London UK, ss. 311–346.
- Asher, M.J.C. and Henry, C.M. (1993). Research to contain beet Rhizomania in the UK. In: Ebbels, D. (Ed.). Plant Health and the European Single Market. British Crop Protection UK. ss.111-122.
- Asher, M.C.J. and Kerr, S. (1996). *Rhizomania: Progress with resistant varieties*. British Sugar Beet Review 64 (2), 19-22.
- Autonell, C.R., Ratti, C., Resca, R., Biaggi, M.D. and Garcia, J.A. (2006). First report of beet virüs Q in Spain. *Plant Disease* 90 (1),110.
- Bağlan, Z. ve Korkmaz, S. (2019). Çanakkale İli Ispanak Üretim Alanlarında Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü (Beet Necrotic Yellow Vein Virus; BNYSV)’nün Tespiti ve Moleküler Karakterizasyonu. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(2), 278-292.
- Barbarossa, L., Vetten, H.J., Kaufmann, A., Lesemann, D.E. and Koenig, R. (1992). Monoclonal antibodies to beet soil-borne virus. *Ann Appl Biol* 121: 143-150.

- Barr, D. J. S. (1979). Morphology and host range of *Polymyxa graminis*, *Polymyxa betae* and *Ligniera pilorum* from Ontario and some other areas. *Canadian Journal Plant Pathology*, 1:85–94.
- Barr, K. J. and Asher, M. J. C. (1992). The host range of *Polymyxa betae* in Britain. *Plant Pathol* 41:64–68.
- Barzen, E., Stahl, R., Fuchs, E., Borchardt, D.C. and Salamini, F. (1997) Development of coupling-repulsion-phase SCAR markers diagnostic for the sugar beet Rr1 allele conferring resistance to rhizomania. *Molecular Breeding*, 3, 231–238.
- Bornemann, K. And Varrelmann, M. (2013). Effect of sugar beet genotype on the Beet necrotic yellow vein virus p25 pathogenicity factor and evidence for a fitness penalty in resistance-breaking strains. *Molecular Plant Pathology*. 14: 356-364.
- Biancardi, E. and Lewellen, R.T. (2016). Introduction: *Pest and Diseases. Rhizomania*. Biancardi, E. Tamada, T. (ed.), Switzerland, Springer.
- Blunt, S. J., Asher, M. J. C. and Gilligan, C. A. (1991). Infection of Sugar Beet by *Polymyxa betae* in relation to soil temperature. *Plant Pathology*, 40, 257– 267.
- Borodynko, N., Hasiów, B. and Pospieszny, H. (2006). First report of *Beet soilborne virus* in Poland. *Plant Disease*, 90, 112.
- Borodynko, N., Rymelska, N., Hasiow-Jaroszewska, B. and Pospieszny, H. (2009). Molecular characterization of three soil-borne sugar beet-infecting viruses based on the coat protein gene. *Journal of Plant Pathology*, 91 (1), 191-193.
- Bouzoubaa, S., Guilley, H., Jonard, G., Richards, K. and Putz, C. (1985). Nucleotide Sequence Analysis of RNA-3 and RNA-4 of Beet Necrotic Yellow Vein Virus, Isolates F2 and G1. *J. Gen.Virol.* 66, 53-1564.
- Bouzoubaa, S. , Niesbachklosgen, U. , Jupin, I. , Guilley, H. , Richards, K. and Jonard, G. (1991) Shortened forms of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA-3 and -4: internal deletions and a subgenomic RNA. *J. Gen. Virol.* 72, 259–266.
- Bruyère, A., Brault, V., Ziegler-Graff, V., Simonis, M. T., Van den Heuvel, J. F., Richards, K., Guilley, H., Jonard, G. and Herrbach, E. (1997). Effects of mutations in the beet western yellows virus readthrough protein on its expression and packaging and on virus accumulation, symptoms, and aphid transmission. *Virology* 230, 323-334.
- Camelo-Garcia, V.M., Rezende, J.A.M. And Nagata, T. (2019). First report of beet soil-borne virus on red table beet in Brazil. *Plant Disease*, 103: 2146.
- Canova, A. (1959). *Informatore Fitopatologico* 20, 390-396.
- Canova, A. (1966). Ricerche Virologiche Della Bietola, *Annali Accademia Nazionale de Agricoltura*, 72, 37-46.
- Cao, Y., Cai, Z.N., Ding, Q., Li, D., Han, C., Yu, J.L. and Liu, Y. (2002). The complete nucleotide sequence of Beet black scorch virus (BBSV), a new member of the genus Necrovirus. *Arch Virol*, 147, 2431–2435.
- Chen, J., Macfarlane, S. A. and Wilson T. M. (1995). An analysis of spontaneous deletion sites in soil-borne wheat mosaic virus RNA2. *Virology* 209, 213-217.
- Cheng, S. L., Domier, L. L. and D'Arcy, C. J. (1994). Detection of the readthrough protein of barley yellow dwarf virus. *Virology* 202, 1003-1006.
- Chiba, S., Miyanishi, M., Andika, I.B., Kondo, H. and Tamada, T. (2008). Identification of amino acids of the beet necrotic yellow vein virus p25 protein required for induction of the resistance response in leaves of *Beta vulgaris* plants. *Journal of General Virology* 89: 1314-1323.

- Chiba, S., Kondo, H., Miyanishi, M., Andika, I.B., Han, C.G. and Tamada, T. (2011). *The evolutionary history of beet necrotic yellow vein virus deduced from genetic variation, geographical origin and spread, and the breaking of host resistance*. Mol Plant-Microbe Interact 24:207–221.
- Crutzen, F., Kreit, M. and Bragard, C. (2009a). The Beet virus Q coat protein readthrough domain is longer than previously reported, with two transmembrane domains. J Gen Virol 90, 754-758.
- Crutzen, F., Mehrvar, M., Gilmer, D. and Bragard, C. (2009b). A fulllength infectious clone of Beet soil-borne virus indicates the dispensability of the RNA-2 for virus survival in planta and symptom expression on Chenopodium quinoa leaves. J Gen Virol 90, 3051-3056.
- Crutzen, F. (2010). Pomoviruses associated with the rhizomania syndrome: a reverse genetic approach of the genome organization and multiplication requirements in planta. Université Catholique De Louvain. Earth and Life Institute, Applied Microbiology – Phytopathology. Doctoral Thesis, ss. 159.
- D'ambra, V. and Mutto, S. (1977). The ultrastructure of *Polymyxa betae* zoospore exit tube differentiation. Canadian. Journal of Plant Pathology, 55, 831-839.
- De Biaggy, M., Giunchedi, L., Polini, C.P., Dradi, D. and Poggi Pollini, C. (1986). Impiego Della Tecnica ELISA Per Determinare il Livello di Tolleranze al Virus Della Rhizomania in Genotipi di Bietole Allevate in Serra. *Sementi Elette*, (32, 11-13).
- Diao, A., Chen, J., Gitton, F., Antoniow, J. F., Mullins, J., Hall, A. M. and Adams, M. J. (1999a). Sequence of European Wheat Mosaic Virus and Oat Golden Stripe Virus and Genome analysis of the genus Furovirus. *Virology* 261, 331-339.
- Diao, A., Chen, J., Ye, R., Zheng, T., Yu, S., Antoniow, J. F. and Adams, M. J. (1999b). Complete sequence and genome properties of Chinese wheat mosaic virus, a new furovirus from China. *J Gen Virol* 80, 1141-1145.
- Dikmen, F. H. ve Bozdağ, E. G. (2018). Türkiye’de Kamu Şeker Fabrikaları İçin Bir Etkinlik Analizi: 2003-2016. *İşletme Araştırmaları Dergisi*, 10 (3), 452-470.
- Dikova, B. (2014). *Tobacco Rattle Virus (TRV) Transmission by Sugar Beet Seeds, Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 19(2), 87-90.
- Dohm, J.C., Minoche, A.E. and Holtgräwe, D. (2014). The genome of the recently domesticated crop plant sugar beet (*Beta vulgaris*). *Nature*, 505, 546–549.
- Duffus, J.E. and Liu, H.Y. (1987). First report of rhizomania of Sugar Beet from Texas, Pl. Dis. 71, 557.
- Dunoyer, P., Pfeffer, S., Fritsch, C., Hemmer, O., Voinnet, O. and Richards, K.E. (2002). Identification, subcellular localization and some properties of a cysteine-rich suppressor of gene silencing encoded by Peanut clump virus. *The Plant Journal* 29, 555–567.
- Draycott A.P. (2006). Sugar beet Oxford (UK): Blackwell Publishing Ltd. DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470751114>.
- Erdiller, G. ve Özgür, O.E. (1994). Rhizomania diseases of sugar beet in Türkiye. 9th Congr. Mediter. Phytopathol. Union, Kuşadası-Aydın, (3-6).
- Erdinç, Z. (2017). Türkiye’de Şeker Sanayinin Gelişimi ve Şeker Sanayinde İzlenen Politikalar. Cilt 17, s: 3, ss: 9 – 26.
- Erkan, S., Gümüş, M., Paylan, İ. C. ve Sipahioğlu, H. M. (2011). Bitki virüslerinin tanımlanmasında kullanılan serolojik yöntemler. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9 (2), 35-49.

- Ertunç, F. ve İlhan, D. (2002). dsRNA analysis of Turkish Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) Isolates, *J. Turk. Phytopath.*, 31(3), 173-83.
- Falk, B. W. and Duffus, J. E. (1977). The first report of *Polymyxa betae* in the Western Hemisphere. *Plant Disease Reporter*, 61, 492-494.
- Farzatfar, S.H., Pourrahim, R., Golnaraghi, A.R. and Shahraeen, N. (2002). First report of *Beet soil-borne virus* on sugar beet in Iran. *Plant Disease*, 86, 187.
- Farzadfar, Sh., Pourrahim, R., Golnaraghi, A.R. and Ahoonmanesh, A., (2007). Surveys of Beet necrotic yellow vein virus, Beet soil-borne virus, Beet virus Q and *Polymyxa betae* in sugar beet fields in Iran. *Journal of Plant Pathology*, 89 (2), 277-281.
- Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17 (6), 368-376.
- Finkenstadt, V.L. (2014). *A review on the complete utilization of the sugarbeet Sugar Technology*, 16(4), 339-346.
- Food and Agriculture Organization of The United Nations Production Crops. Sugarbeet. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?pageID=567#ancor>
- François, C., Mohsen, M., David, G. and Claude, B. (2009). A full-length infections clone of beet soil-borne virus indicates the dispensability of the RNA -2 for virus survival in planta and symptom expression on *Chenopodium quinoa* leaves. *Journal of General Virology*, 90, 3051-3056.
- Galein, Y., Legrève, A. and Bragard, C. (2018) Long term management of rhizomania disease Insight into the changes of the Beet necrotic yellow vein virus RNA-3 observed under resistant and non-resistant sugar beet fields. *Frontiers in Plant Science*, 9, (795-810).
- García-Arenal, F., Fraile, A. and Malpica, J.M. (2001). Variability and genetic structure of plant virus populations. *Annu. Rev. Phytopathol.* 39, 157–186.
- Gidner, S., Lennefors, B.-L., Nilsson, N.O., Bensefelt, J., Johansson, E., Gyllenspetz, U. and Kraft T. (2005). QTL mapping of BNYVV resistance from the WB41 source in sugar beet. *Genome* 48: 279–285.
- Gi, J.F., Adams I., Boonham, N., Nielsen, S.L. and Nicolaisen, M. (2016). Molecular and biological characterization of two novel pomo-like viruses associated with potato (*Solanum tuberosum*) fields in Colombia. *Archives of Virology*, 161: 1601-1610.
- Gilmer, D. (2016). Molecular biology and replication of beet necrotic yellow vein virus. ss 85-107 in: *Rhizomania*. E. Biancardi and T. Tamada, ed.. Springer International Publishing, Cham, Switzerland.
- Gilmer, D. and Ratti, C. (2017). ICTV Virus Taxonomy Profile: *Benyviridae*, *Journal of General Virology*, ICTV Report Consortium DOI 10.1099/jgv.0.000864.
- Grimmer, M. K., Kraft, T., Francis, S. A. And Asher, M. J. C. (2008). Short communication. QTL mapping of BNYVV resistance from the WB258 source in sugar beet. *Plant breeding*. 127:650-652.
- Gümüş, M., Erbay, E., Erkan, S. ve Paylan, İ. C. (2014). Occurrence of viruses infecting spinach in Western Anatolia of Turkey: the first field survey report, *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 12, 272-275.
- Güngör, M., Uzunbacak, H., Kutluk Yilmaz, N. D. ve Şevik, M. A. (2017). Samsun ili ıspanak üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 32, 164-168.

- Günel, E., Çalışkan, M. E., Kuşman, N., Tuğrul, K. M., Yılmaz, A., Ağırnaslıgil, T. ve Onaran, H. (2010). Nişasta ve Şeker Bitkileri Üretimi. *Türkiye VII. Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi Bildiri Kitabı*, 377-395, Ankara.
- Haeberle, A.M. and Stussi-Garaud, C. (1995). In situ localization of the non-structural protein P25 encoded by Beet necrotic yellow vein virus RNA 3. *Journal of General Virology* 76, 643–650.
- Harrison, B.D. (2002). Virus variation in relation to resistance-breaking in plants. *Euphytica* 124, 181–192.
- Harju, V.A., Mumford, R.A., Blockley, A., Boonham, N., Clovert, G.R.G., Weekes R. and Henry C.M. (2002). Occurrence in the United Kingdom of *Beet necrotic yellow vein virus* isolates which contain RNA 5, *Plant Pathol.*, 51, 811.
- Hebrard, E., Froissart, R., Louis, C. and Blanc, S. (1999). Les modes de transmission des virüs phytopathogènes par vecteurs. *Virologie*, 3(1):35-48.
- Hehn, A., Bouzoubaa, S., Bate, N., Twell, D., Marbach, J., Richards, K., Guilley, H. and Jonard, G. (1995). The small cysteine-rich protein p14 of Beet necrotic yellow vein virus regulates accumulation of RNA-2 in cis and coat protein in trans. *Virology*, 210, 73– 81.
- Hehn, A., Fritsch, C., Richards, K.E., Guilley, H. and Jonard, G. (1997). Evidence for *in vitro* and *in vivo* autocatalytic processing of the primary translation product of Beet necrotic yellow vein virus RNA 1 by a papain-like proteinase. *Arch. Virol.* 142, 1051– 1058.
- Heidel, G. B., Rush, C. M., Kendall, T. M., Lommel, S. A. and French, R. C. (1997). Characteristics of Beet soilborne mosaic virus, a fur-like virus infecting sugar beet. *Plant Dis* 81, 1070-1076.
- Henry, C.M., Jones, R.A.C. and Coutts, R.A. (1986). Occurrence of a soil-borne virus of sugar beet in England, *Plant Pathology*, 35, 585-591.
- Henry, C. (1996). Rhizomania-Its effects on sugar beet yield in the UK, *British Sugar Beet Review*, 64 (2), 24-26.
- Herzog, E., Guilley, H., Manohar, S. K., Dollet, M., Richards, K., Fritsch, C. and Jonard, G. (1994). Complete nucleotide sequence of peanut clump virus RNA 1 and relationships with other fungus-transmitted rod-shaped viruses. *Journal of General Virology* 75, 3147–3155.
- Hollosy, I. (1991). The Effect of Rhizomania on Sugar Beet Inner Comhasition. *Cukoripar.* 44(1), 14 ref., 5-10.
- Hugo, S.A., Henry, C.M. and Harju, V. (1996). The role of alternative hosts of *Polymyxa betae* in transmission of beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in England. *Plant Pathol.*, 45, 662–666.
- Ivanoviç, M. and Mc Farlane, I. (1982). Atubular virus associated with infection of sugar beet by *P. betae* Rep. Rothamsted Exp. Stat. For 1981, (190-191).
- Ivanoviç, M. (1983). Viruses of Sugarbeet Associated with *Polymyxa betae* Ann. Rep. Rothamsted Exp. St. 1982, (189-190).
- Jiang, J.X., Zhang, J.F., Che, S.C., Yang, D.J., Yu, J.L., Cai, Z.N. and Liu, Y. (1999). Transmission of Beet black scorch virus by *Olpidium brassicae*. *J Jiangxi Agric Univ.* 21, 525–528.
- Jupin, I., Guilley, H., Richards, K.E. and Jonard, G. (1992). Two proteins encoded by Beet necrotic yellow vein virus RNA 3 influence symptom phenotype on leaves. *The EMBO Journal* 11, 479-488.

- Kajiyama, T., Yoshizawa, A., Yoshida, T., Yanagisawa, A., Yoshimura, Y., Ohtsuchi, K., Abe, H. and Niura, T. (1990). Response of sugar beet varieties to rhizomania disease of sugar beet. *I. The yield and quality of sugar beet. Proceedings of Japanese Society of Sugar Beet Technologists* 32, 53-58.
- Kaufmann, A., Koenig, R. and Rohloff, H. (1993). Influence of Beet soilborne virus on mechanically inoculated sugar beet. *Plant Pathol* 42, 413– 417.
- Kaya, R. (2009). Distribution of rhizomania disease in sugar beet growing areas of Turkey, *Tarım Bilimleri Dergisi.*, 15(4), 332-340.
- Keskin, B. (1964). *Polymyxa betae* n.sp. ein parasit in den wurzein von *Beta vulgaris* Tournefort, besonders während den jugendent wicklung den zuckerrübe. *Arch. Microbiology*, 49, 348-374.
- Kıymaz, B. ve Ertunç, F. (1996). Reserches on the Detection of Virus Diseases of Sugar Beet in Ankara. *J. Turk. Phytopath.* 25(1-2), 55-56.
- Kiguchi, T., Saito, M. and Tamada, T. (1996). Nucleotide sequence analysis of RNA 5 of five isolates of beet necrotic yellow vein virus and identity of a deletion mutant, *J. Gen. Virol.*, 77, 575-580.
- King, A. M. Q., Adams, M. J., Carstens, E. B. and Lefkowitz, E. J. (2011). *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego, CA: Elsevier Inc.
- Koch, F. (1987). *Bericht über eine in verschiedene zuckerrübenanbaugebiete der Turkseker in Anatolien und Thrazien zum stadium von wurzelerkrankungen*. KWS Kleinwanzlebener Saatzucht, AG, Einbeck, Germany.
- Koenig, R., Jarausch, W., Li, Y., Commandeur, U., Burgermeister, W., Gehrke, M. and Luddecke, P. (1991). Effect of recombinant beet necrotic yellow vein virus with different RNA compositions on mechanically inoculated sugarbeets, *J. Gen. Virol.*, (72, 2243-2246).
- Koenig, R., Lüddecke, P. and Haeberle, A.M. (1995). Detection of beet necrotic yellow vein virus strains, variants and mixed infections by examining single-strand conformation polymorphisms of immunocapture RT-PCR products, *J. Gen. Virol.*, 76, (2051-2055).
- Koenig, R., Beier, C., Commandeur, U., Lüth, U., Kaufmann, A. and Lüddecke, P. (1996). Beet soil-borne virus RNA 3 – a further example of the heterogeneity of the gene content of furovirus genomes and of triple gene block-carrying RNAs. *Virology* 216, 202-207.
- Koenig, R. and Loss, S. (1997). Beet soil-borne virus RNA 1: genetic analysis enabled by a starting sequence generated with primers to highly conserved helicase-encoding domains. *J Gen Virol* 78, 3161-3165.
- Koenig, R., Commandeur, U., Loss, S., Beier, C., Kaufmann, A. and Lesemann, D. E. (1997a). Beet soil-borne virus RNA 2: similarities and dissimilarities to the coat protein gene-carrying RNAs of other furoviruses. *J Gen Virol* 78, 469-477.
- Koenig, R., Haeberle, A.M. and Commandeur, U. (1997b). Detection and characterization of a distinct type of Beet necrotic yellow vein virus RNA 5 in a sugarbeet growing area in Europe. *Arch Virol* 142, 1499-1504.
- Koenig, R., Pleij, C.W.A., Beier, C. and Commandeur, U. (1998). Genome properties of beet virus Q, a new furo-like virus from sugar beet, determined from unpurified virus, *J. Gen. Virol.* (79, 2027-2036).
- Koenig, R. (2000). Deletions in the KTER-encoding domain, which is needed for Polymyxa transmission, in manually transmitted isolates of Beet necrotic yellow vein benyvirus. *Arch Virol* 145, 165-170.

- Koenig, R. and Lennefors, B.L. (2000). Molecular analyses of European A, B and P type sources of Beet necrotic yellow vein virus and detection of the rare P type in Kazakhstan, *Arc. Virol.* (145, 1561- 1570).
- Koenig, R., Pleij, C. W. A. and Büttner, G. (2000). Structure and variability of the 3' end of RNA 3 of Beet soil-borne pomovirus a virus with uncertain pathogenic effects. *Arch Virol* 145, 1173-1181.
- Koenig, R. (2008). Benyvirus A2 - Mahy, Brian W.J., in: Regenmortel, M.H.V.V. (Ed.), *Encyclopedia of Virology*, Third Edition. Academic Press, Oxford, ss. 308– 314.
- Koenig, R. and Valizadeh, J. (2008). Molecular and serological characterization of an Iranian isolate of Beet black scorch virus. *Arch. Virology*, 153, 1397–1400. doi: 10.1007/s00705-008-0121-y.
- Koenig, R., Kastirr, U., Holtschulte, B., Deml, G. and Varrelmann, M. (2008). Distribution of various types and P25 subtypes of Beet necrotic yellow vein virus in Germany and other European countries, *Archives of Virology*, 153, 2139-2144.
- Koenig, R., Kastirr, U., Holtschulte, B., Deml, G., Lüddecke, P., Schuhmann, S., Maaß, C. and Pöggeler, K.R. (2009). Beet necrotic yellow vein virus genome reassortments in a resistant sugar beet variety showing In a small area in France Strong rhizomania symptoms. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 116 (1), 7–9, 2009, ISSN 1861-3829.
- Koonin, E. V. and Dolja, V. V. (1993). Evolution and taxonomy of positive-strand RNA viruses: implications of comparative analysis of amino acid sequences. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 28, 375–430.
- Kuszala, M. and Putz, C. (1977). Rhizomania of sugar beet in Alsace. Host range and biological properties of beet necrotic yellow vein virus. *Ann Phytopathol* 9, 435–446.
- Kuszala, M., Ziegler-Graff, V., Bouzoubaa, S., Richards, K., Putz, C., Guilley, H. and Jonard, G. (1986). Beet necrotic yellow vein virus: different isolates are serologically similar but differ in RNA composition. *Annals of Applied Biology* 109, 155-162.
- Kruse, M., Koenig, R., Hoffman, A., Kaufmann, A., Commandeur, U., Solevye, A.G., Savenkov, I. and Burgermeister, W. (1994). Restriction fragment length polymorphism analysis of reverse transcription-PCR products reveals the existence of two major strain groups of beet necrotic yellow vein virus. *J. General Virol.* 75, 1835-1842.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870-1874.
- Kutluk Yılmaz, N.D., Yanar, Y., Günel, H. ve Erkan, S. (2004). Effects of Soil Properties on the Occurrence of Beet Necrotic Yellow Vein Virus and Beet Soilborne Virus on Sugar Beet in Tokat, Turkey. *Plant Pathology Journal*, 3(2), 56-60.
- Kutluk Yılmaz, N.D. ve M. Sökmen. (2007). Orta Karadeniz Bölgesi şeker pancarı alanlarında belirlenen *Beet necrotic yellow vein virus* izolatlarında RNA-5'in araştırılması. *Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi*, Isparta, (ss. 303).
- Kutluk Yılmaz, N.D., Meunier, A., Schmit, J.F., Stas, A. and Bragard, C. (2007). Partial nucleotide sequence analysis of Turkish isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) RNA-3. *Plant Pathol.* 56, 311-316.
- Kutluk Yılmaz, N.D. ve Sökmen, M. (2010). Occurrences of sugar beet soilborne viruses transmitted by *Polymyxa betae* Keskin in Northern and Central Parts of Turkey, *Journal of Plant Pathology*.
- Kutluk Yılmaz, N.D., Arli Sokmen, M., Kaya, R., Sevik, M.A., Tunali, B. ve Demirtas, S. (2016a). The widespread occurrences of *Beet soil-borne virus* and RNA-5 containing

- Beet necrotic yellow vein virus* isolates in sugar beet production areas in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 144, 443-455.
- Kutluk Yilmaz, N.D., Kaya Altop, E., Phillippo C.J. ve Mennan, H. (2016b). new natural weed host *raphanus raphanistrum* l. (*brassicaceae*) for beet necrotic yellow vein virus and its vector *polymyxa betae* keskin, *turkish journal of agriculture and forestry*, 40, 1 , 10.3906/tar-1410-1413
- Kutluk Yilmaz, N. D., Arli-Sokmen, M. ve Kaya, R. (2018). P25 pathogenicity factor deletion mutants of beet necrotic yellow vein virüs occurring in sugar beet fields in Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125: 8998: doi:<https://doi.org/10.1007/s41348-017-0142-4>.
- Lee, L., Telford, E. B., Batten, J. S., Scholthof, K. B. and Rush, C. M. (2001). Complete nucleotide sequence and genome organization of Beet soilborne mosaic virus, a proposed member of the genus Benyvirus. *Arch Virol* 146, 2443-2453.
- Legrève, A., Delfosse, P. and Maraite, H. (2002). Phylogenetic analysis of *Polymyxa* species based on nuclear 5,8S and internal transcribed spacers ribosomal DNA sequences. *Mycological Research*, 106(2), 138-147.
- Legreve A., Schmit J.F., Bragard C. and Maraite H. 2005. The Role of Climate and Alternative Hosts in the Epidemiology of Rhizomania. Proceedings of the Sixth Symposium of the International Working Group on Plant Viruses with Fungal Vectors, 5-7 September 2005, Bologna, Italy, 125-128.
- Lennefors, B.L., Savenkov, E.I., Mukasa, S.B., and Valkonen, J.P.T. (2004). *Secuence Divergence of Four Soilborne Sugarbeet-Infecting Viruses*. *Virus Genes*, 31, 1, 57-64.
- Lennefors, B.L., Savenkov, E. I., Mukasa, S. B. and Valkonen, J. P. T. (2005). Sequence divergence of four soilborne sugarbeet-infecting viruses. *Virus Genes* 31, 57-64.
- Lennefors, B.L. (2006). *Molecular Breeding for Resistance to Rhizomania in Sugar Beets*. Swedish University of Agricultural Sciences, 2006. Doctoral Thesis, 41pp. Uppsala.
- Lesemann, D. E., Koenig, R., Lindsten, K. and Henry, C. (1989). *Serotypes of beet soil-borne furovirus from FRG and Sweden*, *Bull. EPPO/OEPP*, 19, 539-540.
- Lindsten, K. (1993). Rhizomania are both beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) and beet soil-borne virus (BSBV) involved, Proceedings of the Second Symposium of the International Working Group on Plant Viruses with Fungal Vectors, Denver-Colo, 67-70.
- Li, M., Liu, T., Wang, B., Han, C. G., Li, D. W. and Yu, J. L. 2008. Phylogenetic analysis of Beet necrotic yellow vein virus isolates from China. *Virus Genes*, 36, 429-432.
- Link, D., Schmidlin, L., Schirmer, A., Klein, E., Erhardt, M., Geldreich, A., Lemaire, O. and Gilmer, D. (2005). Functional characterization of the Beet necrotic yellow vein virus RNA-5 encoded p26 protein: evidence for structural pathogenicity determinants. *Journal of General Virology*, 86, 2115-2125.
- Liu, L.X., Spoerke, J.M., Mulligan, E.L., Chen, J., Reardon, B., Westlund, B., Abel, K., Armstrong, B., Hardiman, G. and King, J. (1999). High-throughput isolation of *Caenorhabditis elegans* deletion mutants. *Genome Res.*, 9(9): 859-867.
- Liu, H. Y., Sears, J. L. and Lewellen R. T. (2005). Occurrence of resistance-breaking beet necrotic yellow vein virus of sugar beet. *Plant Disease*, 89, 464-468.
- Liu, H. and Gulati Sakhuja, A.N. (2011). Biological and molecular characterization of Beet oak-leaf virus. *American Society of Sugarbeet Technologists*. <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=262115>

- Maccarone, L. D., Barbetti, M., Sivasithamparam, K., and Jones, R. A. C. (2010). Molecular genetic characterisation of *Olpidium virulentus* isolates associated with big-vein diseased lettuce plants. *Plant Disease*. 94: (563-569).
- Mahillon, M., Decroës, A., Peduzzi, C., Romy, G., Legrève, A. and Bragard, C. (2021) RNA silencing machinery contributes to inability of BSBV to establish infection in *Nicotiana benthamiana*: evidence from characterization of agroinfectious clones of Beet soil-borne virus. *Journal of General Virology*, 102, 2.
- Mahmood, T. and Rush, C. M. (1999). Evidence of cross-protection between Beet soil-borne mosaic virus and Beet necrotic yellow vein virus in sugar beet. *Plant Disease* 83, 521-526.
- Mehrvar, M. (2009). Diversity of soil-borne sugar beet viruses in Iran: a comprehensive study of Beet necrotic yellow vein virus, Beet black scorch virus and other pomoviruses in Iran. Ph.D. Thesis. Universite Catholique de Louvain, Belgium, ss.160
- Meunier, A., Schmit, J-F., Stas, A., Kutluk, N. and Bragard, C. (2003). Multiplex reverse transcription for simultaneous detection of beet necrotic yellow vein virus, beet soilborne virus, and beet virus Q and their vector *Polymyxa betae* KESKIN on sugar beet, *App. Environ. Microbiol.*, (2356-2360).
- McGrath, JM., Saccomani, M., Stevanato, P. and Biancardi, E. (2007). Beet. In: Kole C (ed.) *Genome mapping and molecular breeding in plants*, Vol. 5. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, ss. 191–207.
- McGrann, G.R.D., Grimmer, M.K., Mutasa-Gottgens, E.S. and Stevens, M. (2009). *Progress towards the understanding and control of sugar beet rhizomania diseases*. *Molecular Plant Pathology*, 10, 129-141.
- Miyanishi, M., Kusume, T., Saito, M. and Tamada, T. (1999). *Evidence for three groups of sequence variants of beet necrotic yellow vein virus RNA 5*, *Archives of Virology*, 144, 879-892.
- Monteiro, F., Romeiras, M. M., Batista, D. and Duarte, M. C. (2013). Biodiversity assessment of sugar beet species and its wild relatives: linking ecological data with new genetic approaches. *Am. J. Plant Sci.* 4, 21–34. doi: 10.4236/ajps.2013.48A003.
- Moradi, Z. And Mehrvar, M. (2021). Incidence and molecular characterization of Beet virus Q in sugar beet production areas of Iran based on coat protein gene. *Journal of Crop Protection*, 10 (3), 557-564.
- Moradi Z., Maghdoori, H., Nazifi, E. and Mehrvar, M. (2021). Complete genomic characterization of two Beet soilborne virus isolates from Turkey: Implications of comparative analysis of genome sequences. *Journal of Plant Pathology*, 37 (2): 152-161.
- Morozov, S.Y. and A.G. Solovyev. (2003). Triple gene block: Modular design of a multifunctional machine for plant virus movement. *Journal of General Virology* 84, 1351-1366.
- Mouhanna, A. M., Nasrallah, A., Langen, G. and Schlösser, E. (2002). Surveys for *beet necrotic yellow vein virus* (the cause of Rhizomania), other viruses, and soil-borne fungi infecting sugar beet in Syria. *Journal of Phytopathology*, 150, 657-662.
- Mouhanna, A.M., Langen, G. and Schlosser, E. (2008). Weeds as alternative hosts for BSBV, BNYVV, and the vector *Polymyxa betae* (German isolate). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 115, 193–198.
- Nakagami R, Chiba S, Yoshida N, Senoo Y, Saito M, Iketani S, Kondo H. and Tamada T. (2022). Epidemic progress of beet necrotic yellow vein virus: Evidence from an investigation in Japan spanning half a century. *Plant Pathology*. 71:715-728.

- Nassaj Hosseini, S. M., Shams-Bakhsh, M., Mehrvar, M. and Salmanian, A. H. (2013). Evolutionary characterization and genetic structure of Iranian isolates of Beet necrotic yellow vein virus population based on p25 protein, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15, 829-842.
- Niesbach-Klöggen, U., Guilley, H., Jonard, G. and Richards, K. (1990). Immunodetection in vivo of beet necrotic yellow vein virus-encoded proteins. *Virology* 178, 52-61.
- Nouayti, F., Tahiri, A., Madani, I., Blenzar, A. and Lahlali, R. (2019). Detection and prevalence of viruses associated with sugar beet in the Tadla region of Morocco. *Journal of Plant Pathology*, 101: 173-177.
- Novak, J.B. and J. Lanzova. (1984). Serological Prof of Beet Necrotic Yellow Vein Virus on Sugar Beet in Czechoslovakia. Proc. 9th Czechoslovak Pl. Prot. Conf. in Brno 1983, (253-254).
- Özer, G. ve Ertunç, F. (2005). Amasya şeker fabrikası şeker pancarı ekim alanlarında rhizomania hastalığının belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 11(3), 339-343.
- Özdemir, H. (2014). *Trakya Bölgesi şeker pancarı üretim alanlarında Beet Necrotic Yellow Vein Virus (BNYVV), Beet Western Yellows Virus (BWYV) ve Beet Yellows Virus (BYV) hastalıklarının saptanması üzerine araştırmalar*. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, 42, Tekirdağ.
- Özmen, C.Y., Khabbazi, S.D., Khabbazi, A.D., Gürel, S., Kaya, R., Oğuz, M.Ç., Turan, F., Rezaei, F., Kibar, U., Gürel, E. ve Ergül, A. (2020). Genome composition analysis of multipartite BNYVV reveals of genetic re-assortment in the isolates of Asia Minor and Thrace. *Scientific Reports*, 10, 4129.
- Özgür, O.E. (1995). *Türkiye Şeker Pancarı Hastalıkları. Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Genel Müdürlüğü*, Yayın No: 218, Ankara, (ss: 33-47).
- Özgür, O.E. ve Kaya, R. (1998). *Önemli Şeker Pancarı Hastalıkları. Türkiye Şeker Fabrikaları A. Ş. Şeker Enstitüsü, Tarımsal Araştırma Bölümü, Fitopatoloji Şube Notları*, Ankara, (s: 30).
- Özgür, O.E. (2003). *Türkiye Şeker Pancarı Hastalıkları. Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Genel Müdürlüğü*. Yayın No: 219, Ankara, (s: 192).
- Pavli, O. (2010). Molecular characterization of *Beet necrotic yellow vein virus* and transgenic approaches towards enhancing rhizomania disease resistance. Ph.D. Thesis. University of Wageningen, The Netherlands.
- Peter, K. A., Liang, D., Palukaitis, P. & Gray, S. M. (2008). Small deletions in the potato leafroll virus readthrough protein affect particle morphology, aphid transmission, virus movement and accumulation. *J Gen Virol* 89, 2037-2045.
- Pereira, L. G., Torrance, L., Roberts, I. M. and Harrison, B. D. (1994). Antigenic structure of the coat protein of potato mop-top virus. *Virology* 203, 277-285.
- Pferdmenges, F., Korf, H. and Varrelman, M. (2009). Identification of rhizomaniainfected soil in Europe able to overcome Rz1 resistance in sugar beet and comparison with other resistance-breaking soils from different geographic origins. *European Journal of Plant Pathology*. 124 (1):31-43.
- Prillwitz, H. and E. Schlösser. (1992). Beet soil-borne virus: occurrence, symptoms and effect on plant development, *Med. Fac. Landbouw Univ. Gent*. (57/2a, 295-302).
- Prillwitz, H. and E. Schlösser. (1993). *Temperature requirements of beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) and beet soil-borne virus (BSBV-2)*. *Z. Pfl.krankh. Pfl.schutz* 6, 665-669.

- Putz, C. (1977). Composition and structure of Beet necrotic yellow vein virus. *Journal of General Virology* 35, 397–401.
- Rochon D-A, Kakani K, Robbins M, Reade R (2004) Molecular aspects of plant virus transmission by oloidium and plasmodiophorid vectors. *Annual Review of Phytopathology*, 42, 211-241.
- Rahim, M.D., Andika, I.B., Han, C., Kondo, H. and Tamada, T. (2007). RNA4-encoded p31 of Beet necrotic yellow vein virus is involved in efficient vector transmission, symptom severity and silencing suppression in roots. *Journal of General Virology* 88, 1611–1619. doi:10.1099/vir.0.82720-0.
- Ratti, C., Bianchi, L., Resca, R., De Biaggi, M., Harju, V.A., Henry, C. M., Jackeviciene, E., Cvjetković, B. and Rubies Autonell, C. (2005). Incidence of sugar beet soil-borne viruses in sugar beet growing countries. In Proceedings of the Sixth Symposium of the International Working Group on Plant Viruses with Fungal Vectors, 6th edn, ss. 165–168.
- Ratti, C., Hleibieh, K., Bianchi, L., Schirmer, A., Autonell, C. R. and Gilmer, D. (2009). Beet soil-borne mosaic virus RNA-3 is replicated and encapsidated in the presence of BNYVV RNA-1 and -2 and allows long distance movement in *Beta macrocarpa*. *Virology* 385, 392-399.
- Reavy, B., Arif, M., Cowan, G. H. and Torrance, L. (1998). Association of sequences in the coat protein/readthrough domain of potato mop-top virus with transmission by *Spongospora subterranea*. *J Gen Virol* 79, 2343-2347.
- Rezaei, J., Bannayan, M., Nezami, A., Mehrvar, M. and Mahmoodi, B. (2014). Growth analysis of rhizomania infected and healthy sugar beet. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 17:59-69.
- Rezende, J.A.M., Camelo, V.M., Flôres, D., Mello, A.P.O.A., Kitajima, E.W. and Bedendo, I.P. (2015). First report of *Beet necrotic yellow vein virus* on red table beet in Brazil. *Plant Disease* 99(3), p 423.
- Roberts, R., Botha, W.J., Wolfaardt, J.P. and Jooste, A.E.C. (2016). *First report of Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) on red table beet in South Africa. Plant Disease*, 100(5). 1025- 1026. Doi: 10.1094/PDIS-08-15-0919-PDN.
- Rochon, D.A., Kakani, K., Robbins, M. and Reade, R. (2004) Molecular aspects of plant virus transmission by oloidium and plasmodiophorid vectors. *Annual Review of Phytopathology* 42, 211-241
- Rosso, F., Bimbatti, M. and Meriggi, P. (1988). Effetti della rhizomania sulla evoluzione dei parametri tecnici della produzione, *Sementi Elette*, (34, 41-49).
- Rubies Autonell, C., Ratti C., Resca, R., De Biaggi, M. and Ayala García, J. (2006). First report of Beet virus Q in Spain. *Plant Dis* 90, 110.
- Rush, C.M. and G.B. Heidel. (1995). Furovirus Diseases of Sugar Beets in the United States. *Plant Dis.*, 79 (9), (868-875).
- Rush, C.M. (2003). Ecology and Epidemiology of Benyviruses and Plasmodiophorid Vectors. *Annu. Rev. Phytopathol.* (41, 567-592).
- Rysanek, P., Homa, I.H. and Zouhar, M. (2006). Study of sugar beet viruses transmitted by *Polymyxa betae* in the Czech Republic. *Matica Srpska Proceedings for Natural Sciences* (110: 47-54).
- Sandgren, M., Savenkov, E. I. and Valkonen, J. P. (2001). The readthrough region of Potato mop-top virus (PMTV) coat protein encoding RNA, the second largest RNA of PMTV genome, undergoes structural changes in naturally infected and experimentally inoculated plants. *Arch Virol* 146, 467- 477.

- Savenkov, E. I., Sandgren, M. and Valkonen, J. P. (1999). Complete sequence of RNA 1 and the presence of tRNA-like structures in all RNAs of Potato mop-top virus, genus Pomovirus. *J Gen Virol* 80, 2779-2784.
- Savenkov, E. I., Germundsson, A., Zamyatin Jr., A. A., Sandgren, M. and Valkonen, J. P. (2003). Potato mop-top virus: the coat protein-encoding RNA and the gene for cysteine-rich protein are dispensable for systemic virus movement in *Nicotiana benthamiana*. *J Gen Virol* 84, 1001-1005.
- Savenkov, E. (2021). Pomoviruses (Virgaviridae). In: Bamford, D.H, Zuckerman, M. (ed.) *Encyclopedia of Virology (Fourth Edition)*, Academic Press, Elsevier, Volume 3, ss. 603-611.
- Schirmer, A., Link, D., Cognat, V., Beuve, M., Meunier, A., Bragard, C., Gilmer, D. and Lemaire, O. (2005). Phylogenetic analysis of isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* collected worldwide. *J. Gen. Virol.* (86, 2897-2911).
- Schmitt, C., Balmori, E., Jonard, G., Richards, K. and Guilley, H. (1992). In vitro mutagenesis of biologically active transcripts of beet necrotic yellow vein virus RNA2: Evidence that a domain of the 75kDa readthrough protein is important for efficient virus assembly. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 89 (13):5715-5719.
- Scholten, O.E., de Bock, T.S., Klein-Lankhorst, R.M. and Lange, W. (1999) Inheritance of resistance to beet necrotic yellow vein virus in *Beta vulgaris* conferred by a second gene for resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, 99, 740-746.
- Scholten, O.E. and W. Lange. (2000). *Breeding for resistance to rhizomania in sugar beet: a review*. *Euphytica* 112:219-231.
- Shirako, Y., Suzuki, N. and French, R. C. (2000). Similarity and divergence among viruses in the genus Furovirus. *Virology* 270, 201-207.
- Skribic, K. (1995). Influence of additional crop space and nitrogen on yields and quality of sugar beet cultivars under conditions of rhizomania infection, *Review of Research Work at the Faculty of Agriculture*, Belgrade, (40, 7-23).
- Stas, A., Meunier, A., Schmit, J.F. and Bragard, C. (2001). First report of Beet virus Q in Belgium. *Plant Dis* 85, 1288.
- Strausbaugh, C.A. (2018). Incidence, Distribution, and Pathogenicity of Fungi Causing Root Rot in Idaho Long-Term Sugar Beet Storage Piles. *Plant Disease*, 102, 2296-2307.
- Strausbaugh, C.A. and Eujayl, I.A. (2018). Influence of Beet necrotic yellow vein virus and Freezing Temperatures on Sugar Beet Roots in Storage. *Plant Disease*, 102, 932-937.
- Şiray, A. (1990). Şeker Pancarı Tarımı. Pankobirlik Yayınları, No: 2, Ankara, (s: 128).
- Tamada, T. and T. Baba. (1973). Beet Necrotic Yellow Vein Virus from "Rhizomania" Affected Sugar Beet in Japan. *Annls. Phytopath. Soc. Japan*, 39: 325-352.
- Tamada, T. (1975). *Beet Necrotic Yellow Vein Virus*. CMI/ABB. Descriptions of Plant Viruses. No: 144.
- Tamada, T. and H. Abe. (1989). Evidence that Beet necrotic yellow vein virus RNA-4 is essential for efficient transmission by the fungus *Polymyxa betae*. *J. Gen. Virol.* 70, 3391- 3398.
- Tamada, T. and Kusume, T. (1991). Evidence that the 75K readthrough protein of beet necrotic yellow vein virus RNA-2 is essential for transmission by the fungus *Polymyxa betae*. *J Gen Virol* 72, 1497-1504.
- Tamada, T., Kusume, T., Uchino, H., Kiguchi, T. and Saito, M. (1996). Evidence that Beet necrotic yellow vein virus RNA 5 is involved in symptom development of sugar beet roots. *Proc. 3rd Symp. Int. Work. Group Plant Viruses Fungal Vectors*, pp: 49-52.

- Tamada, T., Uchino, H., Kusume, T. and Saito, M. (1999). RNA 3 deletion mutants of beet necrotic yellow vein virus do not cause rhizomania in sugar beets. *Phytopathology* 89, 1000–1006.
- Tamada, T. (2002). Beet necrotic yellow vein virus. CMI/AAB description of plant viruses. *Association of Applied Biologists*. Wellesbourne UK. <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=391>
- Tamada, T., Miyanishi, M., Kondo, H., Chiba, H. and Han C.G. (2003): Pathogenicity and molecular variability of Beet necrotic yellow vein virus isolates from Europe, Japan, China and the United States. In: C. M. Rush, U. Merz (ed.): *Proceedings of the Fifth Symposium of the International Working Group on Plant Viruses with Fungal Vectors*, Zurich, July 22-25, 2002, 13-16.
- Tamada, T. (2016). In: Biancardi E and Tamada T (ed.). *General Features of Beet Necrotic Yellow Vein Virus. Rhizomania*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30678-0_3.
- Tamada, T., Kondo, H. and Chiba, S. (2016). *Genetic diversity of Beet necrotic yellow vein virus*. Rhizomania. Editörler: Biancardi, E., Tamada, T. Switzerland: Springer.
- Tamura, K. and Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.
- TEPGE. (2020). İllere göre şeker pancarı ekimi ve üretimi. Erişim: 15 Haziran 2022, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge>
- Thiel, H. and M. Varrelmann. (2009). Identification of Beet necrotic yellow vein virus P25 pathogenicity factor–interacting sugar beet proteins that represent putative virus targets or components of plant resistance. *Mol. Plant–Microbe Interact.* 22, 999–1010.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ, 1994. Clustal W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.
- Torrance, L., Lukhovitskaya, N. I., Schepetilnikov, M. V., Cowan G. H., Ziegler, A. and Savenkov, E. I. (2009). Unusual long-distance movement strategies of Potato mop-top virus RNAs in *Nicotiana benthamiana*. *Mol Plant Microbe Interact* 22, 381-390.
- Torrance L., Wright K. M., Crutzen F., Cowan G. H., Lukhovitskaya N. I., Bragard C. and Savenkov E. I. (2011). Unusual features of potyviral RNA movement. *Front Microbiol.* 2:259.
- TÜİK. (2020). *Bölgesel göstergeler* Ankara: Türkiye İstatistik Kurumu.
- Türkşeker. (2022). Erişim: 15 Haziran 2022, <https://www.turkseker.gov.tr/?ModulID=3&MenuID=15>
- Wang, B., Li, M., Han, C., Li, D. and Yu, J. (2008). Complete genome sequences of two Chinese *Beet soil-borne virus* isolates provide evidence that the genome is highly conserved. *Journal of Phytopathology* doi: 10.1111/j.1439-0434.2007.01373.x *Journal of Plant Pathology* (2009), 91 (1), 191-193 Borodynko et al. 193 Received June.
- Wang, Y., Fan, H., Wang, X. B., Li, M., Han, C. and Yu, J. (2011). Detection and characterization of spontaneous internal deletion mutants of Beet necrotic yellow vein virus RNA-3 from systemic host *Nicotiana benthamiana*. *Virology Journal*, 8: 335.
- Ward, L., Fenn, M. and Henry, C. (2003). Development of a Direct Detection Method for *Polymyxa* sp. in Soil. *American Society of Sugar Beet Technologists*, 111- 114.

- Ward, E., Koenig, R., Budge, G., Garrido, C., McGrath, C., Stubbley, H. and Boonham, N. (2007). Occurrence of two different types of RNA-5 containing Beet necrotic yellow vein virus in the UK. *Archives of Virology*, 152, 59-73.
- Weiland, J. J., Van Winkle, D., Edwards, M. C., Larson, R. L., Shelver, W. L. and Freeman, T. P. (2007). Characterization of a U.S. isolate of Beet black scorch virus. *Phytopathology* 97, 1245–1254. doi: 10.1094/PHYTO-9710-1245.
- Weiland, J.J., Sharma Poudel, R., Flobinus, A., Cook, D.E., Secor, G.A. and Bolton, M.D. (2020). RNAseq Analysis of Rhizomania-Infected Sugar Beet Provides the First Genome Sequence of Beet Necrotic Yellow Vein Virus from the USA and Identifies a Novel Alphanecrovirus and Putative Satellite Viruses. *Viruses*, 12, 626.
- Wetzel, V., Willems, G., Darracq, A., Galein, Y., Liebe, S. and Varrelmann, Mark. (2021). The Beta vulgaris derived resistance gene Rz2 confers broad-spectrum resistance against soilborne sugar beet-infecting viruses from different families by recognizing triple gene block protein 1. *Molecular Plant Pathology*. 22:829–842.
- Whitney, E. D. and I. E. Duffus. (1995). Rhizomania (Beet Necrotic Yellow Vein Virus). *Compendium of Beet Diseases and Insects*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, Pp: 29-30.
- Winner, C. (1984). Viröse Wurzelbartigkeit (Rizomania) der Beta-Rübe als Herausforderung für Forschung und Resistenzzüchtung, *Zuckerindustrie*, 109, 113-120.
- Vardar, B. ve S. Erkan. 1992. The first studies on the detection of beet necrotic yellow vein virus in sugar beet Türkiye, *J. Turk. Phytopath.*, 21 (2-3), 71-79.
- Vetter, G., Hily, J.M., Klein, E., Schmidlin, L., Haas, M., Merkle, T. and Gilmer, D. (2004). Nucleo-cytoplasmic shuttling of the Beet necrotic yellow vein virus RNA-3-encoded p25 protein. *J. Gen. Virol.* 85, 2459–2469.
- Von Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carstens, E.B., Estes, M.K., Maniloff, J., Mayo, M.A., McGeoch, D.J., Pringle, C.R. and Wickner, R.B. (2000). *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses, 7th Report of the International on Taxonomy of Viruses*, Academic Press, pp: 904-922.
- Yamamiya, A. and Shirako, Y. (2000). Construction of full-length cDNA clones to Soil-borne wheat mosaic virus RNA1 and RNA2, from which infectious RNAs are transcribed In vitro: virion formation and systemic infection without expression of the N-terminal and C-terminal extensions to the capsid protein. *Virology* 277, 66-75.
- Yardımcı, N. ve H. Çulal Kılıç. (2011). Identification of Beet necrotic yellow vein virus in lakes district: A major beet growing area in Turkey, *Indian Journal of Virology*, 22 (2), 127-130.
- Yuan, X. F., Cao, Y. H., Xi, D. H., Guo, L. H., Han, C. G., Li, D. W., Zhai, Y. F. and Yu, J. L. (2006). Analysis of the subgenomic RNAs and the small open reading frames of Beet black scorch virus. *J. Gen. Virol.* 87, 3077–3086.
- Zhuo, N., Jiang, N., Zhang, C., Zhang, Z.Y., Zhang, G.Z., Han, C.G. and Wang, Y. (2015). Genetic diversity and population structure of beet necrotic yellow vein virus in China. *Virus Res.* 205, 54–62.
- Ziegler-Graff, V., Richards, K., Guilley, H., Jonar, D. G. and Putz, C. (1985). Cell-free translation of beet necrotic yellow vein virus RNA: readthrough of the coat protein cistron. *Journal of General Virology* 66, 2079-2087.

EKLER

(Ek 1) Hoagland Solüsyonu

Tuzak bitki testi sırasında bitkilerin sulanması amacıyla kullanılan Hoagland besin solüsyonu A, B ve C olmak üzere üç stok solüsyondan oluşmaktadır.

A Solüsyonu

5.06 g KNO_3 , 1.36 g KH_2PO_4 , 4.93 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 12.40 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 5.85 g NaCl maddeleri 1000 ml saf suya konularak çözülmüştür.

B Solüsyonu

1 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 1.04 g EDTA maddeleri ayrı ayrı 50 şer ml'lik saf suda çözdürüldükten sonra bir arada karıştırılmıştır.

C Solüsyonu

0.110 g H_3BO_3 , 0.015 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 0.010 g ZnCl_2 , 0.015 g $\text{MnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 0.03 g MoO_3 maddeleri 100 ml saf suda çözülmüştür.

Hoagland solüsyonunu hazırlamak için A solüsyonundan 600 ml, B ve C solüsyonlarından 15'er ml alınarak, bu üç solüsyon bir araya getirilip, saf su ile 1000 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

(Ek 2) ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler (g/l)

Fosfat Tamponu Salin (PBS) (pH=7.4)

8.0 g NaCl, 0.2 g KH₂PO₄, 0.2 g KCl, 0.2 g NaN₃, 2.9 g Na₂HPO₄

Yukarıdaki kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı 0.1 M NaOH veya 0.1 M HCl ile ayarlanmış ve 4°C'de saklanmıştır.

Kaplama Tampon Çözeltisi (pH=9.6)

1.59 g Na₂CO₃, 2.93 g NaHCO₃, 0.2 g NaN₃

Yukarıdaki kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı ayarlanmış ve 4°C'de saklanmıştır. Ancak her kullanımda pH tekrar kontrol edilmiştir.

Yıkama Tampon Çözeltisi

1 lt PBS + 0.5 ml Tween-20

Ekstraksiyon Tampon Çözeltisi

1 lt yıkama tampon çözeltisi + 20 g (%2) Polyvinylpyrrolidone 40.000 (PVP-40) + 1g yağsız süt tozu ilave edilerek hazırlanmıştır.

Konjugat Tampon Çözeltisi

Ekstraksiyon tampon çözeltisi, konjugat tampon çözeltisi olarak da kullanılmıştır.

Substrat Tampon Çözeltisi

9.7 ml Diethanolamin 80 ml saf su içine ilave edildikten sonra 20 mg NaN₃ konmuş ve HCl ile pH 9.8'e ayarlanarak 100 ml'ye tamamlanmıştır.

(Ek 3) Türk BVQ-CP izolatlarının kılıf proteininin tamamını içeren bölgenin nükleotit dizilerinin Dünya'daki bazı BVQ izolatları ile karşılaştırılmalı sonuçları

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	1	39
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	A T G G T T G A T C C A A G A T A T G A G C A T T G G A C T G C G G A A C A T	
II	OL870478	KNY-419Q	.	
II	AJ810290	GT16	.	C
II	EU785968	WQcp	.	C
I	AJ810289	FP71	.	C
I	AJ223597	-	.	C
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	C
I	MW798254	Ir-136	.	G
I	MW798255	Ir-141	.	C
I	MW798256	Ir-145	.	C

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	40	78
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	G C C A A A G C T G C G G C A A A A A A T A A A T T T G G A T C G T A T G A A	
II	OL870478	KNY-419Q	.	
II	AJ810290	GT16	.	
II	EU785968	WQcp	.	
I	AJ810289	FP71	.	
I	AJ223597	-	.	
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	
I	MW798254	Ir-136	.	
I	MW798255	Ir-141	.	C
I	MW798256	Ir-145	.	

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	79	117
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	A C G T T G T T A T C G C T A G T T A A A A A C T G G C G T G A A G T G C G A	
II	OL870478	KNY-419Q	.	
II	AJ810290	GT16	.	
II	EU785968	WQcp	.	
I	AJ810289	FP71	.	G
I	AJ223597	-	.	G
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	G
I	MW798254	Ir-136	.	G
I	MW798255	Ir-141	.	G
I	MW798256	Ir-145	.	G

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	118	156
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	C T T A G T G T A G T T G A G C A T T C C G C G A C T A T A T T G A C G C A A	
II	OL870478	KNY-419Q	.	
II	AJ810290	GT16	.	
II	EU785968	WQcp	.	A
I	AJ810289	FP71	.	
I	AJ223597	-	.	
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	
I	MW798254	Ir-136	.	
I	MW798255	Ir-141	.	
I	MW798256	Ir-145	.	

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	157	195
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	A T C A A T G A G T T T G G G A A C A A G G C T T C T A C A G T A G G A C C	
II	OL870478	KNY-419Q	.	
II	AJ810290	GT16	.	
II	EU785968	WQcp	.	
I	AJ810289	FP71	.	
I	AJ223597	-	.	
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	
I	MW798254	Ir-136	.	
I	MW798255	Ir-141	.	
I	MW798256	Ir-145	.	

(Ek 3) devam

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	196	234
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	G T G C G T T T C G G T G G T C C C A T G C C G G C T G G T G A C A T G T T A	
II	OL870478	KNY-419Q	.	.
II	AJ810290	GT16	.	G
II	EU785968	WQcp	.	G
I	AJ810289	FP71	.	.
I	AJ223597	-	.	.
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	.
I	MW798254	Ir-136	.	.
I	MW798255	Ir-141	.	.
I	MW798256	Ir-145	.	.

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	235	273
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	T T C G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
II	OL870478	KNY-419Q	.	.
II	AJ810290	GT16	.	T .
II	EU785968	WQcp	.	T .
I	AJ810289	FP71	.	T .
I	AJ223597	-	.	T .
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	T .
I	MW798254	Ir-136	.	T .
I	MW798255	Ir-141	.	T . C T .
I	MW798256	Ir-145	.	T . C T .

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	274	312
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G A G G T G A A	
II	OL870478	KNY-419Q	.	.
II	AJ810290	GT16	.	.
II	EU785968	WQcp	.	G .
I	AJ810289	FP71	.	.
I	AJ223597	-	.	.
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	.
I	MW798254	Ir-136	.	.
I	MW798255	Ir-141	.	.
I	MW798256	Ir-145	.	.

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	313	351
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T G G C G A A T C C	
II	OL870478	KNY-419Q	.	.
II	AJ810290	GT16	.	A .
II	EU785968	WQcp	.	A .
I	AJ810289	FP71	.	.
I	AJ223597	-	.	.
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	.
I	MW798254	Ir-136	.	G .
I	MW798255	Ir-141	.	.
I	MW798256	Ir-145	.	.

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	352	390
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	A G C A C G G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
II	OL870478	KNY-419Q	.	.
II	AJ810290	GT16	.	.
II	EU785968	WQcp	.	.
I	AJ810289	FP71	.	.
I	AJ223597	-	.	.
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	.
I	MW798254	Ir-136	.	.
I	MW798255	Ir-141	.	.
I	MW798256	Ir-145	.	.

(Ek 3) devam

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	391	429
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A A	
II	OL870478	KNY-419Q		G
II	AJ810290	GT16		G
II	EU785968	WQcp		G
I	AJ810289	FP71		
I	AJ223597	-		
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat		
I	MW798254	Ir-136		
I	MW798255	Ir-141		G
I	MW798256	Ir-145		G

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	430	468
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
II	OL870478	KNY-419Q	 C . G	C
II	AJ810290	GT16		
II	EU785968	WQcp		
I	AJ810289	FP71		
I	AJ223597	-		
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat		
I	MW798254	Ir-136		
I	MW798255	Ir-141		
I	MW798256	Ir-145		

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	469	501
II	OL870466	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	
II	OL870478	KNY-419Q		
II	AJ810290	GT16		
II	EU785968	WQcp		
I	AJ810289	FP71		
I	AJ223597	-		
I	MW798253	Ir-115 ve diğer 7 izolat		
I	MW798254	Ir-136		
I	MW798255	Ir-141		
I	MW798256	Ir-145		

(Ek 4) Türk BVQ-CP izolatlarının kılıf proteininin tamamını içeren bölgenin aa dizilerinin Dünya'daki bazı BVQ izolatları ile karşılaştırılmalı sonuçları

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	1	41
II	-	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	M V D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S	
II	-	KNY-419Q	.	.
II	CAH17778	GT16	.	.
II	-	WQcp	.	.
I	CAH17777	FP71	.	.
I	CAA11458	-	.	.
I	UDV75572	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	P .
I	UDV75573	Ir-136	.	A .
I	UDV75574	Ir-141	.	P .
I	UDV75575	Ir-145	.	P .

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	42	82
II	-	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	V V E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M	
II	-	KNY-419Q	.	.
II	CAH17778	GT16	.	.
II	-	WQcp	.	.
I	CAH17777	FP71	.	.
I	CAA11458	-	.	.
I	UDV75572	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	.
I	UDV75573	Ir-136	.	.
I	UDV75574	Ir-141	.	.
I	UDV75575	Ir-145	.	.

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	83	128
II	-	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	S E Q R L R R I M S N I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D G E S S T G G E D	
II	-	KNY-419Q	.	.
II	CAH17778	GT16	.	S .
II	-	WQcp	.	S .
I	CAH17777	FP71	.	.
I	CAA11458	-	.	.
I	UDV75572	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	.
I	UDV75573	Ir-136	.	.
I	UDV75574	Ir-141	.	P .
I	UDV75575	Ir-145	.	P .

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	129	169
II	-	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	S A L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T	
II	-	KNY-419Q	.	R T
II	CAH17778	GT16	.	.
II	-	WQcp	.	.
I	CAH17777	FP71	.	.
I	CAA11458	-	.	.
I	UDV75572	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	.
I	UDV75573	Ir-136	.	.
I	UDV75574	Ir-141	.	G .
I	UDV75575	Ir-145	.	G .

BVQ-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	170	171
II	-	IGR-9Q ve diğer 13 izolat	G	S *
II	-	KNY-419Q	.	.
II	CAH17778	GT16	.	.
II	-	WQcp	.	.
I	CAH17777	FP71	.	.
I	CAA11458	-	.	.
I	UDV75572	Ir-115 ve diğer 7 izolat	.	.
I	UDV75573	Ir-136	.	.
I	UDV75574	Ir-141	.	.
I	UDV75575	Ir-145	.	.

İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	1	39
AJ223596	A T G G A A A C A G G A G A G T G T T C G C G A C C G C T G G A G T A T A T C	
<i>Spinacia oleracea</i>	-	-
<i>Beta macrocarpa</i>	-	-
<i>Chenopodium quinoa</i>	-	-
<i>Patellifolia patella</i>	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-	-
KX578035	-	-
DQ309444	G . . T G T T A T T C . A G . . T A C . T G C C A G A . C T . . . G . A . C T	
İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	40	78
AJ223596	A - - - C C G A T G A C T C - - A G A C G A T A G T G A T A A C G G T G G T -	
<i>Spinacia oleracea</i>	-	T
<i>Beta macrocarpa</i>	-	T
<i>Chenopodium quinoa</i>	-	T
<i>Patellifolia patella</i>	-	T
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-	T
KX578035	-	-
DQ309444	G A A T . T . . C . . T . T T A G . . . C . T . C C . . G . A A . A . T . C	
İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	79	117
AJ223596	- - G G A G T A T G T G A A A T A A T A C C G G G A A G A T G G G C A G A G A	
<i>Spinacia oleracea</i>	-	-
<i>Beta macrocarpa</i>	-	-
<i>Chenopodium quinoa</i>	-	A
<i>Patellifolia patella</i>	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-	-
KX578035	-	-
DQ309444	T T . T G . . . T . . C G . . G C A . A A T . A T . . C A . A C A . . T C T	
İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	118	156
AJ223596	T G G C C G A T G A T T C T G A C G T C G C C G T G A C G A T G A A A G A A G	
<i>Spinacia oleracea</i>	-	-
<i>Beta macrocarpa</i>	-	-
<i>Chenopodium quinoa</i>	-	-
<i>Patellifolia patella</i>	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-	-
KX578035	-	-
DQ309444	A C . A T . T . . G A . G C T . T C C G A G A T - - - - - - - - - - - - -	
İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	157	195
AJ223596	C G A G C C C C C C G T G G A C C C C A T G A T A G T G T G T T A T T C A A	
<i>Spinacia oleracea</i>	-	-
<i>Beta macrocarpa</i>	-	-
<i>Chenopodium quinoa</i>	-	-
<i>Patellifolia patella</i>	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-	-
KX578035	-	-
DQ309444	-	-
İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	196	234
AJ223596	G G T T A C C T A C C A G A C C T G A T G A A A C T G A A T C T G A C G A T T	
<i>Spinacia oleracea</i>	-	-
<i>Beta macrocarpa</i>	-	-
<i>Chenopodium quinoa</i>	-	-
<i>Patellifolia patella</i>	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-	-
KX578035	-	-
DQ309444	-	-
İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	235	273
AJ223596	T T A G G A C G C T T G C T A A G A A A G A G T T C T T G T G G T A T T T G C	
<i>Spinacia oleracea</i>	-	-
<i>Beta macrocarpa</i>	-	-
<i>Chenopodium quinoa</i>	-	-
<i>Patellifolia patella</i>	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	-	-
KX578035	-	-
DQ309444	-	-

(Ek 5) Devam

İzolatu Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	274	288
AJ223596	G A T G C A A A T G A T A G	
<i>Spinacia oleraceae</i>	- - - - -	- - - - -
<i>Beta macrocarpa</i>	- - - - -	- - - - -
<i>Chenopodium quinoa</i>	- - - - -	- - - - -
<i>Patellifolia patella</i>	- - - - -	- - - - -
<i>Nicotiana benthamiana</i>	- - - - -	- - - - -
KX578035	- - - - -	- - - - -
DQ309444	- - - - -	- - - - -

(Ek 6) Mekaniksel inokulasyon sonucu bazı indikatör bitkilerin sistemik yapraklarından elde edilen BVQ'nun kısmi RNA-1 aa dizisi verilerinin Almanya (CAA11457), Fas (AQP02123) ve Polonya'ya (ABC33804) ait BVQ İzolatları ile aa düzeyde karşılaştırılması

İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	1	41
CAA11457	M E T G E C S R P L E Y I - - D D - - T I V I T V - - E Y V K * Y R E D G Q R W P	
<i>Spinacia oleraceae</i>	- - - - - - - - - - - - - - - M	
<i>Beta macrocarpa</i>	- - - - - - - - - - - - - - - M	
<i>Chenopodium quinoa</i>	- - - - - - - - - - - - - - - M E	
<i>Patellifolia patella</i>	- - - - - - - - - - - - - - - M	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	- - - - - - - - - - - - - - - M	
AQP02123	- - - - - - - - - - - - - - -	
ABC33804	V C Y S R L P A R P . E T E S . . F R . L A M K E F L W . L R C K M I A D K S T M	

İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	42	82
CAA11457	M I L T S P * R * K K R A P P W T P * * C V I Q G Y L P D L M K L N L T I L G R L	
<i>Spinacia oleraceae</i>	- - - - - - - - - - - - - - -	
<i>Beta macrocarpa</i>	- - - - - - - - - - - - - - -	
<i>Chenopodium quinoa</i>	- - - - - - - - - - - - - - -	
<i>Patellifolia patella</i>	- - - - - - - - - - - - - - -	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	- - - - - - - - - - - - - - -	
AQP02123		
ABC33804	L D A I R D - - - - -	

İzolatın Elde Edildiği Bitki/ Genbank Kayıt No	83	94
CAA11457	L R K S S C G I C D A K * *	
<i>Spinacia oleraceae</i>	- - - - -	
<i>Beta macrocarpa</i>	- - - - -	
<i>Chenopodium quinoa</i>	- - - - -	
<i>Patellifolia patella</i>	- - - - -	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	- - - - -	
AQP02123		
ABC33804	- - - - -	

(Ek 7) Mekaniksel inokulasyon sonucu bazı indikatör bitkilerin sistemik yapraklarından elde edilen BVQ'nun CP baz dizisi verilerinin *Beta vulgaris* cv. Arosa (YZG-313Q), Fransa (AJ810289), Polonya (EU785970) ve Almanya'ya ait (AJ810290) BVQ izolatları ile nükleotid düzeyinde karşılaştırılması

İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	1	39
<i>Spinacia oleraceae</i>	ATGGTTTGATCCAAAGATATGAGCATTGGACTGCGGAACAT	
<i>Beta macrocarpa</i>	ATGGTTTGATCCAAAGATATGAGCATTGGACTGCGGAACAT	
<i>Chenopodium quinoa</i>	ATGGTTTGATCCAAAGATATGAGCATTGGACTGCGGAACAT	
<i>Patellifolia patella</i>	ATGGTTTGATCCAAAGATATGAGCATTGGACTGCGGAACAT	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	ATGGTTTGATCCAAAGATATGAGCATTGGACTGCGGAACAT	
313-BVQ-CP	ATGGTTTGATCCAAAGATATGAGCATTGGACTGCGGAACAT	
AJ810289 FP71	ATGGTTTGATCCAAAGATATGAGCATTGGACTGCGGAACAT	
EU785970 ZQcp	ATGGTTTGATCCAAAGATATGAGCATTGGACTGCGGAACAC	
AJ810290 GT16	ATGGTTTGATCCAAAGATATGAGCATTGGACTGCGGAACAC	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	40	78
<i>Spinacia oleraceae</i>	GCCAAAGCTGCGGCCAAAAAATAAATTTGGATCGTATGAA	
<i>Beta macrocarpa</i>	GCCAAAGCTGCGGCCAAAAAATAAATTTGGATCGTATGAA	
<i>Chenopodium quinoa</i>	GCCAAAGCTGCGGCCAAAAAATAAATTTGGATCGTATGAA	
<i>Patellifolia patella</i>	GCCAAAGCTGCGGCCAAAAAATAAATTTGGATCGTATGAA	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	GCCAAAGCTGCGGCCAAAAAATAAATTTGGATCGTATGAA	
313-BVQ-CP	GCCAAAGCTGCGGCCAAAAAATAAATTTGGATCGTATGAA	
AJ810289 FP71	GCCAAAGCTGCGGCCAAAAAATAAATTTGGATCGTATGAA	
EU785970 ZQcp	GCCAAAGCTGCGGCCAAAAAATAAATTTGGATCGTATGAA	
AJ810290 GT16	GCCAAAGCTGCGGCCAAAAAATAAATTTGGATCGTATGAA	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	79	117
<i>Spinacia oleraceae</i>	ACGTTGTTATCGCTAGTTAAAAAAGCTGGCGTGAAAGTGCGA	
<i>Beta macrocarpa</i>	ACGTTGTTATCGCTAGTTAAAAAAGCTGGCGTGAAAGTGCGA	
<i>Chenopodium quinoa</i>	ACGTTGTTATCGCTAGTTAAAAAAGCTGGCGTGAAAGTGCGA	
<i>Patellifolia patella</i>	ACGTTGTTATCGCTAGTTAAAAAAGCTGGCGTGAAAGTGCGA	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	ACGTTGTTATCGCTAGTTAAAAAAGCTGGCGTGAAAGTGCGA	
313-BVQ-CP	ACGTTGTTATCGCTAGTTAAAAAAGCTGGCGTGAAAGTGCGA	
AJ810289 FP71	ACGTTGTTATCGCTAGTTAAAAAAGCTGGCGTGAAAGTGCGA	
EU785970 ZQcp	ACGTTGTTATCGCTAGTTAAAAAAGCTGGCGTGAAAGTGCGA	
AJ810290 GT16	ACGTTGTTATCGCTAGTTAAAAAAGCTGGCGTGAAAGTGCGA	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	118	156
<i>Spinacia oleraceae</i>	CTTAGTGTAAGTTGAGCATTCCGCGGACTATATTGACGCCAA	
<i>Beta macrocarpa</i>	CTTAGTGTAAGTTGAGCATTCCGCGGACTATATTGACGCCAA	
<i>Chenopodium quinoa</i>	CTTAGTGTAAGTTGAGCATTCCGCGGACTATATTGACGCCAA	
<i>Patellifolia patella</i>	CTTAGTGTAAGTTGAGCATTCCGCGGACTATATTGACGCCAA	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	CTTAGTGTAAGTTGAGCATTCCGCGGACTATATTGACGCCAA	
313-BVQ-CP	CTTAGTGTAAGTTGAGCATTCCGCGGACTATATTGACGCCAA	
AJ810289 FP71	CTTAGTGTAAGTTGAGCATTCCGCGGACTATATTGACGCCAA	
EU785970 ZQcp	CTTAGTGTAAGTTGAGCATTCCGCGGACTATATTGACGCCAA	
AJ810290 GT16	CTTAGTGTAAGTTGAGCATTCCGCGGACTATATTGACGCCAA	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	157	195
<i>Spinacia oleraceae</i>	ATCAATGAGTTTGGGAAACAAGGCTTCTACAGTAGGACC	
<i>Beta macrocarpa</i>	ATCAATGAGTTTGGGAAACAAGGCTTCTACAGTAGGACC	
<i>Chenopodium quinoa</i>	ATCAATGAGTTTGGGAAACAAGGCTTCTACAGTAGGACC	
<i>Patellifolia patella</i>	ATCAATGAGTTTGGGAAACAAGGCTTCTACAGTAGGACC	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	ATCAATGAGTTTGGGAAACAAGGCTTCTACAGTAGGACC	
313-BVQ-CP	ATCAATGAGTTTGGGAAACAAGGCTTCTACAGTAGGACC	
AJ810289 FP71	ATCAATGAGTTTGGGAAACAAGGCTTCTACAGTAGGACC	
EU785970 ZQcp	ATCAATGAGTTTGGGAAACAAGGCTTCTACAGTAGGACC	
AJ810290 GT16	ATCAATGAGTTTGGGAAACAAGGCTTCTACAGTAGGACC	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	196	234
<i>Spinacia oleraceae</i>	GTGCGTTTCGGTGGTCCCATGCGCGGCTGGTGACATGTTA	
<i>Beta macrocarpa</i>	GTGCGTTTCGGTGGTCCCATGCGCGGCTGGTGACATGTTA	
<i>Chenopodium quinoa</i>	GTGCGTTTCGGTGGTCCCATGCGCGGCTGGTGACATGTTA	
<i>Patellifolia patella</i>	GTGCGTTTCGGTGGTCCCATGCGCGGCTGGTGACATGTTA	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	GTGCGTTTCGGTGGTCCCATGCGCGGCTGGTGACATGTTA	
313-BVQ-CP	GTGCGTTTCGGTGGTCCCATGCGCGGCTGGTGACATGTTA	
AJ810289 FP71	GTGCGTTTCGGTGGTCCCATGCGCGGCTGGTGACATGTTA	
EU785970 ZQcp	GTGCGTTTCGGTGGTCCCATGCGCGGCTGGTGACATGTTG	
AJ810290 GT16	GTGCGTTTCGGTGGTCCCATGCGCGGCTGGTGACATGTTG	

(Ek 7) Devam

İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	235	273
<i>Spinacia oleraceae</i>	T T C G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
<i>Beta macrocarpa</i>	T T C G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
<i>Chenopodium quinoa</i>	T T C G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
<i>Patellifolia patella</i>	T T C G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	T T C G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
313-BVQ-CP	T T C G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
AJ810289 FP71	T T T G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
EU785970 ZQcp	T T T G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
AJ810290 GT16	T T T G T T A G C A T G A G T G A A C A A C G C C T G C G G C G C A T A A T G	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	274	312
<i>Spinacia oleraceae</i>	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G A G G T G A A	
<i>Beta macrocarpa</i>	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G A G G T G A A	
<i>Chenopodium quinoa</i>	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G A G G T G A A	
<i>Patellifolia patella</i>	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G A G G T G A A	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G A G G T G A A	
313-BVQ-CP	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G A G G T G A A	
AJ810289 FP71	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G A G G T G A A	
EU785970 ZQcp	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G G G T G A A	
AJ810290 GT16	A G T A A C A T T A T T A T T G C A T T G C A A A G T G T G C G A G G T G A A	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	313	351
<i>Spinacia oleraceae</i>	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T G G C G A A T C C	
<i>Beta macrocarpa</i>	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T G G C G A A T C C	
<i>Chenopodium quinoa</i>	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T G G C G A A T C C	
<i>Patellifolia patella</i>	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T G G C G A A T C C	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T G G C G A A T C C	
313-BVQ-CP	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T G G C G A A T C C	
AJ810289 FP71	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T G G C G A A T C C	
EU785970 ZQcp	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T A G C G A A T C C	
AJ810290 GT16	G G G A G G T C G A A A A G A C T T G G C A T T A A A G A T A G C G A A T C C	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	352	390
<i>Spinacia oleraceae</i>	A G C A C G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
<i>Beta macrocarpa</i>	A G C A C G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
<i>Chenopodium quinoa</i>	A G C A C G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
<i>Patellifolia patella</i>	A G C A C G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	A G C A C G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
313-BVQ-CP	A G C A C G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
AJ810289 FP71	A G C A C G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
EU785970 ZQcp	A G C A C G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
AJ810290 GT16	A G C A C G G G G G A G A A G A T A G C G C T C T T A A T G T G G C A C A T	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	391	429
<i>Spinacia oleraceae</i>	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A A	
<i>Beta macrocarpa</i>	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A A	
<i>Chenopodium quinoa</i>	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A A	
<i>Patellifolia patella</i>	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A A	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A A	
313-BVQ-CP	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A A	
AJ810289 FP71	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A A	
EU785970 ZQcp	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A G	
AJ810290 GT16	C A A C T T T C G G A G T T A G C T G A T T T G C T G G A G G A T G A T G A G	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	430	468
<i>Spinacia oleraceae</i>	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
<i>Beta macrocarpa</i>	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
<i>Chenopodium quinoa</i>	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
<i>Patellifolia patella</i>	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
313-BVQ-CP	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
AJ810289 FP71	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
EU785970 ZQcp	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
AJ810290 GT16	T T C C T G A A A T C G C A T G T A T T T A C G C A G G A C A A A T T C G A G	
İzolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	469	501
<i>Spinacia oleraceae</i>	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	
<i>Beta macrocarpa</i>	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	
<i>Chenopodium quinoa</i>	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	
<i>Patellifolia patella</i>	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	
<i>Nicotiana benthamiana</i>	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	
313-BVQ-CP	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	
AJ810289 FP71	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	
EU785970 ZQcp	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	
AJ810290 GT16	C T A A C G C T T G G A T T G A A G T G G A C C G G C T C A T A G	

(Ek 8) Mekaniksel inokulasyon sonucu bazı indikatör bitkilerin sistemik yapraklarından elde edilen BVQ'nun CP aa dizisi verilerinin *Beta vulgaris* cv. Arosa (YZG-313Q), Fransa (CAH17777), Polonya (ACF08619) ve Almanya'ya ait (CAH17778) BVQ izolatları ile aa düzeyinde karşılaştırılması

Izolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	1	41
<i>Spinacia oleraceae</i>	M V	D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S
<i>Beta macrocarpa</i>	M V	D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S
<i>Chenopodium quinoa</i>	M V	D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S
<i>Patellifolia patella</i>	M V	D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S
<i>Nicotiana benthamiana</i>	M V	D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S
313-BVQ-CP	M V	D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S
CAH17777 FP71	M V	D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S
ACF08619 ZQcp	M V	D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S
CAH17778 GT16	M V	D P R Y E H W T A E H A K A A A K N K F G S Y E T L L S L V K N W R E V R L S

Izolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	42	82
<i>Spinacia oleraceae</i>	V V	E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M
<i>Beta macrocarpa</i>	V V	E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M
<i>Chenopodium quinoa</i>	V V	E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M
<i>Patellifolia patella</i>	V V	E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M
<i>Nicotiana benthamiana</i>	V V	E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M
313-BVQ-CP	V V	E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M
CAH17777 FP71	V V	E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M
ACF08619 ZQcp	V V	E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M
CAH17778 GT16	V V	E H S A T I L T Q I N E F G K Q G F Y S R T V R F G G P M P A G D M L F V S M

Izolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	83	123
<i>Spinacia oleraceae</i>	S E	Q R L R R I M S N I I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D G E S S T G G E D
<i>Beta macrocarpa</i>	S E	Q R L R R I M S N I I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D G E S S T G G E D
<i>Chenopodium quinoa</i>	S E	Q R L R R I M S N I I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D G E S S T G G E D
<i>Patellifolia patella</i>	S E	Q R L R R I M S N I I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D G E S S T G G E D
<i>Nicotiana benthamiana</i>	S E	Q R L R R I M S N I I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D G E S S T G G E D
313-BVQ-CP	S E	Q R L R R I M S N I I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D G E S S T G G E D
CAH17777 FP71	S E	Q R L R R I M S N I I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D G E S S T G G E D
ACF08619 ZQcp	S E	Q R L R R I M S N I I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D S E S S T G G E D
CAH17778 GT16	S E	Q R L R R I M S N I I I A L Q S V R G E G R S K R L G I K D S E S S T G G E D

Izolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	124	164
<i>Spinacia oleraceae</i>	S A	L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T
<i>Beta macrocarpa</i>	S A	L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T
<i>Chenopodium quinoa</i>	S A	L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T
<i>Patellifolia patella</i>	S A	L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T
<i>Nicotiana benthamiana</i>	S A	L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T
313-BVQ-CP	S A	L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T
CAH17777 FP71	S A	L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T
ACF08619 ZQcp	S A	L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T
CAH17778 GT16	S A	L N V A H Q L S E L A D L L E D D E F L K S H V F T Q D K F E L T L G L K W T

Izolat No / İzolatın elde edildiği bitki / Genbank kayıt no	165	166
<i>Spinacia oleraceae</i>	G S	*
<i>Beta macrocarpa</i>	G S	*
<i>Chenopodium quinoa</i>	G S	*
<i>Patellifolia patella</i>	G S	*
<i>Nicotiana benthamiana</i>	G S	*
313-BVQ-CP	G S	*
CAH17777 FP71	G S	*
ACF08619 ZQcp	G S	*
CAH17778 GT16	G S	*

[illegible][illegible][illegible][illegible]

(Ek 9) devam

CP Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	157	195
A	AJ634735	B17	G C T T T G G C A G G A T T A G G C T C G G G T T G G A C T G A C A A T A A T	
A	44	ELZ-44	.	.
A	61	SMS-61	.	.
A	68	CRM-68	.	.
A	125	EDR-125	.	.
A	148	BRS-148	.	.
A	225	ESK-225	.	.
A	291	ADP-291	.	.
A	355	YZG-355	.	.
A	359	KNY-359	.	.
A	373	KNY-373	.	.
A	527	KYS-527	.	.
A	581	AKS-581	.	.
A	602	KTH-602	.	.
A	AB563022	HUK3	.	.
A (P)	AF197556	KAS3	.	.
A (P)	9	IGR-9	.	.
A (P)	52	ERC-52	.	.
B (Almanya)	AB563018	GM	.	T
B (J)	AB018623	S12	.	T
B (C)	AB562990	CH7	.	T

CP Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	196	234
A	AJ634735	B17	C C T T T T G T G T C C C G A T G A C C C G T T T T C C A C A G A C A C T A	
A	44	ELZ-44	.	.
A	61	SMS-61	.	.
A	68	CRM-68	.	.
A	125	EDR-125	.	.
A	148	BRS-148	.	.
A	225	ESK-225	.	.
A	291	ADP-291	.	.
A	355	YZG-355	.	.
A	359	KNY-359	.	.
A	373	KNY-373	.	.
A	527	KYS-527	.	.
A	581	AKS-581	.	.
A	602	KTH-602	.	.
A	AB563022	HUK3	.	.
A (P)	AF197556	KAS3	.	.
A (P)	9	IGR-9	.	.
A (P)	52	ERC-52	.	.
B (Almanya)	AB563018	GM	.	T
B (J)	AB018623	S12	.	T
B (C)	AB562990	CH7	.	T

CP Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	235	273
A	AJ634735	B17	A C T A T G T A C G G T G C A C T T G T G T T A T A T G T T A A T C T G T C C	
A	44	ELZ-44	.	.
A	61	SMS-61	.	.
A	68	CRM-68	.	.
A	125	EDR-125	.	.
A	148	BRS-148	.	.
A	225	ESK-225	.	.
A	291	ADP-291	.	.
A	355	YZG-355	.	.
A	359	KNY-359	.	.
A	373	KNY-373	.	.
A	527	KYS-527	.	.
A	581	AKS-581	.	.
A	602	KTH-602	.	.
A	AB563022	HUK3	.	.
A (P)	AF197556	KAS3	.	T
A (P)	9	IGR-9	.	T
A (P)	52	ERC-52	.	T
B (Almanya)	AB563018	GM	.	T
B (J)	AB018623	S12	.	T
B (C)	AB562990	CH7	.	T

CP Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	274	312
A	AJ634735	B17	G A C C C A G A A T T T G C G T T G A T A A T G A C T A A G G T A A G T A C T	
A	44	ELZ-44	.	.
A	61	SMS-61	.	.
A	68	CRM-68	.	.
A	125	EDR-125	.	.
A	148	BRS-148	.	.
A	225	ESK-225	.	.
A	291	ADP-291	.	.
A	355	YZG-355	.	.
A	359	KNY-359	.	.
A	373	KNY-373	.	.
A	527	KYS-527	.	.
A	581	AKS-581	.	.
A	602	KTH-602	.	.
A	AB563022	HUK3	.	.
A (P)	AF197556	KAS3	.	A
A (P)	9	IGR-9	.	A
A (P)	52	ERC-52	.	A
B (Almanya)	AB563018	GM	.	A
B (J)	AB018623	S12	.	A
B (C)	AB562990	CH7	.	A

(Ek 9) devam

CP Grubu	Izolat No/ Genbank Access. No	Izolat Adı
A	AJ634735	B17
A	44	EL-244
A	61	SMS-61
A	68	CRM-68
A	125	EDR-125
A	148	BRS-148
A	225	ESK-225
A	291	ADP-291
A	355	YZG-355
A	359	KNY-359
A	373	KNY-373
A	527	KYS-527
A	581	AKS-581
A	602	KTH-602
A	AB563022	HUK3
A (P)	AF197556	KAS3
A (P)	9	IGR-9
A (P)	52	ERC-52
B (Almanya)	AB563018	GM
B (J)	AB018623	S12
B (C)	AB62990	CH7

[illegible]

CP	Grubu	Izolat No/ Genbank Access. No	Izolat Adı	391																																							429	
A		AJ634735	B17	T	C	C	G	G	T	A	A	A	A	C	T	G	C	T	G	G	C	A	C	T	A	A	T	G	A	G	A	A	T	T	C	T	G	C	T	T	A	T		
A		44	ELZ-44	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		61	SMS-61	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		68	CRM-68	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		125	EDR-125	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		148	BRS-148	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		225	ESK-225	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		291	ADP-291	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		355	YZG-355	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		359	KNY-359	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		373	KNY-373	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		527	KYS-527	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		581	AKS-581	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		602	KTH-602	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A		AB563022	HUK3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A (P)		AF197556	KAS3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A (P)		9	IGR-9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
A (P)		52	ERC-52	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
B (Almanya)		AB563018	GM	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
B (J)		AB018623	S12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
B (C)		AB562990	CH7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C

[illegible]

(Ek 9) devam

CP Grubu	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	569
A	AJ634735	B17	A G G C T T G A G G A A T T A A T G T G G A C T C G G G A T A A G T T T G A G
A	44	ELZ-44	.
A	61	SMS-61	.
A	68	CRM-68	.
A	125	EDR-125	.
A	148	BRS-148	.
A	225	ESK-225	.
A	291	ADP-291	.
A	355	YZG-355	.
A	359	KNY-359	.
A	373	KNY-373	.
A	527	KYS-527	.
A	581	AKS-581	.
A	602	KTH-602	.
A	AB563022	HUK3	.
A (P)	AF197556	KAS3	.
A (P)	9	IGR-9	.
A (P)	52	ERC-52	.
B (Almanya)	AB563018	GM	.
B (J)	AB018623	S12	.
B (C)	AB562990	CH7	.

CP Grubu	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	568
A	AJ634735	B17	G A C C G G T T G A A G T T A C C A T G G A C A C C T G T T C A A G G T A G A
A	44	ELZ-44	.
A	61	SMS-61	.
A	68	CRM-68	.
A	125	EDR-125	.
A	148	BRS-148	.
A	225	ESK-225	.
A	291	ADP-291	.
A	355	YZG-355	.
A	359	KNY-359	.
A	373	KNY-373	.
A	527	KYS-527	.
A	581	AKS-581	.
A	602	KTH-602	.
A	AB563022	HUK3	.
A (P)	AF197556	KAS3	.
A (P)	9	IGR-9	.
A (P)	52	ERC-52	.
B (Almanya)	AB563018	GM	.
B (J)	AB018623	S12	.
B (C)	AB562990	CH7	.

CP Grubu	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	547
A	AJ634735	B17	A C C A G T C C A C C C G G A C A A T A G
A	44	ELZ-44	.
A	61	SMS-61	.
A	68	CRM-68	.
A	125	EDR-125	.
A	148	BRS-148	.
A	225	ESK-225	.
A	291	ADP-291	.
A	355	YZG-355	.
A	359	KNY-359	.
A	373	KNY-373	.
A	527	KYS-527	.
A	581	AKS-581	.
A	602	KTH-602	.
A	AB563022	HUK3	.
A (P)	AF197556	KAS3	.
A (P)	9	IGR-9	.
A (P)	52	ERC-52	.
B (Almanya)	AB563018	GM	.
B (J)	AB018623	S12	.
B (C)	AB562990	CH7	.

(Ek 10) Türk BNYVV-CP izolatlarının kılıf proteininin tamamını içeren bölgenin amino asit dizilerinin Dünya'daki bazı BNYYV izolatları ile karşılaştırılmalı sonuçları

CP Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	%1	%41
A	CAG26990	B17	M S S E G R Y M T W K D M S H N K F M T D R W A R V S D V V S V I K Q S H A M D L	
A	44	ELZ-44	.	.
A	61	SMS-61	.	.
A	68	CRM-68	.	.
A	125	EDR-125	.	.
A	148	BRS-148	.	.
A	225	ESK-225	.	.
A	291	ADP-291	.	.
A	355	YZG-355	.	.
A	359	KNY-359	.	.
A	373	KNY-373	.	.
A	527	KYS-527	.	.
A	581	AKS-581	.	.
A	602	KTH-602	.	.
A	BAJ23742	HUK3	.	.
A (P)	AAG37092	KAS3	.	R
A (P)	9	IGR-9	.	R
A (P)	52	ERC-52	.	R
B (Almanya)	BAJ23738	GM	.	.
B (J)	BAA33921	S12	.	.
B (C)	BAJ23710	CH7	.	.

CP Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	%42	%82
A	CAG26990	B17	S K A A N L S I I K T A L A G L G S G W T D N N P F V S P M T R F P Q T L T M Y G	
A	44	ELZ-44	.	.
A	61	SMS-61	.	.
A	68	CRM-68	.	.
A	125	EDR-125	.	.
A	148	BRS-148	.	.
A	225	ESK-225	.	.
A	291	ADP-291	.	.
A	355	YZG-355	.	.
A	359	KNY-359	.	.
A	373	KNY-373	.	.
A	527	KYS-527	.	.
A	581	AKS-581	.	.
A	602	KTH-602	.	.
A	BAJ23742	HUK3	.	.
A (P)	AAG37092	KAS3	.	.
A (P)	9	IGR-9	.	.
A (P)	52	ERC-52	.	.
B (Almanya)	BAJ23738	GM	.	S
B (J)	BAA33921	S12	.	S
B (C)	BAJ23710	CH7	.	S

CP Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	%83	%123
A	CAG26990	B17	A L V L Y V N L S D P E F A L I M T K V S T L T D S G L A D N A S A N V R R D V V	
A	44	ELZ-44	.	.
A	61	SMS-61	.	.
A	68	CRM-68	.	.
A	125	EDR-125	.	.
A	148	BRS-148	.	.
A	225	ESK-225	.	.
A	291	ADP-291	.	.
A	355	YZG-355	.	.
A	359	KNY-359	.	.
A	373	KNY-373	.	.
A	527	KYS-527	.	.
A	581	AKS-581	.	.
A	602	KTH-602	.	.
A	BAJ23742	HUK3	.	.
A (P)	AAG37092	KAS3	.	I
A (P)	9	IGR-9	.	I
A (P)	52	ERC-52	.	I
B (Almanya)	BAJ23738	GM	.	N
B (J)	BAA33921	S12	.	N
B (C)	BAJ23710	CH7	.	N

(Ek 10) devam

CP Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	124	164
A	CAG26990	B17	S G N K A E S S G K T A G T N E N S A Y T L T V S L A G L A Q A L R L E E L M W T	
A	44	ELZ-44	.	.
A	61	SMS-61	.	.
A	68	CRM-68	.	.
A	125	EDR-125	.	.
A	148	BRS-148	.	.
A	225	ESK-225	.	.
A	291	ADP-291	.	.
A	355	YZG-355	.	.
A	359	KNY-359	.	.
A	373	KNY-373	.	.
A	527	KYS-527	.	.
A	581	AKS-581	.	.
A	602	KTH-602	.	.
A	BAJ23742	HUK3	.	.
A (P)	AAG37092	KAS3	.	.
A (P)	9	IGR-9	.	.
A (P)	52	ERC-52	.	.
B (Almanya)	BAJ23738	GM	.	.
B (J)	BAA33921	S12	.	.
B (C)	BAJ23710	CH7	.	.

CP Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	165	188
A	CAG26990	B17	R D K F E D R L K L P W T P V Q G R T S P P G Q *	
A	44	ELZ-44	.	K
A	61	SMS-61	.	F
A	68	CRM-68	.	K
A	125	EDR-125	.	.
A	148	BRS-148	.	K
A	225	ESK-225	.	.
A	291	ADP-291	.	K
A	355	YZG-355	.	.
A	359	KNY-359	.	K
A	373	KNY-373	.	.
A	527	KYS-527	.	K
A	581	AKS-581	.	.
A	602	KTH-602	.	K
A	BAJ23742	HUK3	.	.
A (P)	AAG37092	KAS3	.	.
A (P)	9	IGR-9	.	.
A (P)	52	ERC-52	.	.
B (Almanya)	BAJ23738	GM	.	F
B (J)	BAA33921	S12	.	F
B (C)	BAJ23710	CH7	.	F

(Ek 11) Türk izolatlarının BNYVV P25 bölgesinin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile nükleotit düzeyinde karşılaştırılması

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	71	39
I	İtalya	AB563082	SLN1	A T G G G T G A T A T A T T A G G C G C A G T T T A T G A T T T A G G G C A C	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	ICR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	40	78
I	İtalya	AB563082	SLN1	A G A C C T T A C C T A G C A C G G C G T A C G G T T T A T G A G G A T C G T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	ICR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	G	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	79	117
I	İtalya	AB563082	SLN1	T T G A T T C T T A G C A C A C A T G G T A A T A T C T G T C G G G C T A T T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	C
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	ICR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	C
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	118	156
I	İtalya	AB563082	SLN1	A A C T T G T T A A C T C A C G A T A A T C G T A C T A C A C T G G T G T A T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	ICR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	157	195
I	İtalya	AB563082	SLN1	C A C A A T A A T A C T A A A C G C A T A A G G T T T C G T G G A T T A T T G	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	ICR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	196	234
I	İtalya	AB563082	SLN1	T G T G C T C A T C A T G G G C C T T A T T G T G G G T T T C G T G C C T T A	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	ICR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

(Ek 11) devam

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	79	117
I	İtalya	AB563082	SLN1	T T G A T T C T T A G C A C A C A T G G T A A T A T C T G T C G G G C T A T T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	118	156
I	İtalya	AB563082	SLN1	A A C T T G T T A A C T C A C G A T A A T C G T A C T A C A C T G G T G T A T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	157	195
I	İtalya	AB563082	SLN1	C A C A A T A A T A C T A A A C G C A T A A G G T T T C G T G G A T T A T T G	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	196	234
I	İtalya	AB563082	SLN1	T G T G C T C A T C A T G G G C C T T A T T G T G G G T T T C G T G C C T T A	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	235	273
I	İtalya	AB563082	SLN1	T G T A G A G T A A T G T T A T G T T C T C T A C C T C G T T T G T G T G A C	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	274	312
I	İtalya	AB563082	SLN1	A T C C C T A T C A A T G G A T C T C G C G A C T T T G T T G C A G A T C C T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	.
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

(Ek 11) devam

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	352	390
I	İtalya	AB563082	SLN1	A A T G G T C T C G T C A T C C A C T A T G A T C G T G T T C A T C A T G T T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	A
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	A
II	Çin-B	9	IGR-9	.	A
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	A
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	A
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	A
II	Japonya-D	AB563031	T101	C	A
III	Almanya-B	AB563081	GM	C C	G
III	Çin-X	AB563050	CW1	C	A

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	391	429
I	İtalya	AB563082	SLN1	C C C T T A C A C A C T G A T G G T T T T G A A G T T G T A G A T T T C A C G	
I	İtalya	52	ERC-52	.	C
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	A	.
II	Çin-B	9	IGR-9	A	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	A	T
II	Çin-L	EF473110	Chan1	A	T
II	Japonya-O	AB563035	SH1	A	T
II	Japonya-D	AB563031	T101	A	T
III	Almanya-B	AB563081	GM	A	T
III	Çin-X	AB563050	CW1	A	C

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	430	468
I	İtalya	AB563082	SLN1	A C T G T C T T T C G T G G T C C T G G A A A C T T T C T T T T G C C T A A T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	T
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	T
II	Çin-B	EF473105	Bao	C	T
II	Çin-B	9	IGR-9	C	T
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	C
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	T
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	T
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	T
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	G
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	T

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	469	507
I	İtalya	AB563082	SLN1	G C A A C A A A T T T C C C T C G G C C A A C C A C A A C C G A T C A G G T T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	T
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	C	T
II	Çin-B	9	IGR-9	C	T
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	T
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	T
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	T
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	T
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	G
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	G

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	508	546
I	İtalya	AB563082	SLN1	T A C A T G G T G T G T T T G G T A A A C A C G G T T A A T T G T G T G T T A	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	.	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	.
II	Japonya-D	AB563031	T101	.	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	G
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	547	585
I	İtalya	AB563082	SLN1	C G T T T T G A G T C C G A A C T T A C A G T G T G G G T T C A C T C T G G T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	AB563048	CH6	.	.
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	.	.
II	Çin-B	EF473105	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	AB207807	FP	C	.
II	Çin-L	EF473110	Chan1	.	.
II	Japonya-O	AB563035	SH1	.	G
II	Japonya-D	AB563031	T101	C	.
III	Almanya-B	AB563081	GM	.	T
III	Çin-X	AB563050	CW1	.	A

(Ek 11) devam

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	586	624
I	İtalya	AB563082	SLN1	T T G T A T A C A G G T G A T G T T T T A G A T G T G G A T A A T A A T G T T	
I	İtalya	52	ERC-52	- - - - -	
I	Çin-H	AB563048	CH6	- - - - -	
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	- - - - - G - - - - -	
II	Çin-B	EF473105	Bao	- - - - -	
II	Çin-B	9	IGR-9	- - - - -	
II	Fransa-P	AB207807	FP	- - - - - G - - - - -	
II	Çin-L	EF473110	Chan1	- - - - -	
II	Japonya-O	AB563035	SH1	- - - - - G - - - - -	
II	Japonya-D	AB563031	T101	- - - - - G - - - - -	
III	Almanya-B	AB563081	GM	- - - - -	
III	Çin-X	AB563050	CW1	- - - - -	

P25 Grup	P25 Alt Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	625	660
I	İtalya	AB563082	SLN1	A T T C A A G C C C C T G A C G G T G T T G A T G A T G A T G A T T A G	
I	İtalya	52	ERC-52	- - - - -	
I	Çin-H	AB563048	CH6	- - - - -	
I	Çin-Y	KP316707	YAP25-8	- - - - -	
II	Çin-B	EF473105	Bao	- - - - - C - - - - -	
II	Çin-B	9	IGR-9	- - - - - C - - - - - C G - - - - - T - - - - -	
II	Fransa-P	AB207807	FP	- - - - -	
II	Çin-L	EF473110	Chan1	- - - - -	
II	Japonya-O	AB563035	SH1	- - - - - A - - - - -	
II	Japonya-D	AB563031	T101	- - - - - A - - - - -	
III	Almanya-B	AB563081	GM	- - - - -	
III	Çin-X	AB563050	CW1	- - - - -	



(Ek 12) Türk izolatlarının BNYVV P25 bölgesinin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile aa düzeyinde karşılaştırılması

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	1	41
I	İtalya	BAJ23802	SLN1	M G D I L G A V Y D L G H R P Y L A R R T V Y E D R L I L S T H G N I C R A I N L	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	BAJ23768	CH6	.	.
I	Çin-Y	AKI85611	YA P25-8	.	.
II	Çin-B	ABO77789	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	BAD91210	FP	.	.
II	Çin-L	ABO77794	Chan1	.	.
II	Japonya-O	BAJ23755	SH1	.	.
II	Japonya-D	BAJ23751	T101	.	.
III	Almanya-B	BAJ23801	GM	.	.
III	Çin-X	BAJ23770	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	42	62
I	İtalya	BAJ23802	SLN1	L T H D N R T T L V Y H N N T K R I R F R G L L C A H H G P Y C G F R A L C R V M	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	BAJ23768	CH6	.	.
I	Çin-Y	AKI85611	YA P25-8	.	.
II	Çin-B	ABO77789	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	BAD91210	FP	.	.
II	Çin-L	ABO77794	Chan1	.	.
II	Japonya-O	BAJ23755	SH1	.	.
II	Japonya-D	BAJ23751	T101	.	.
III	Almanya-B	BAJ23801	GM	.	.
III	Çin-X	BAJ23770	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	63	128
I	İtalya	BAJ23802	SLN1	L C S L P R L C D I P I N G S R D F V A D P T R L D S S V N E L L V S N G L V I H	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	BAJ23768	CH6	.	.
I	Çin-Y	AKI85611	YA P25-8	.	.
II	Çin-B	ABO77789	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	BAD91210	FP	.	.
II	Çin-L	ABO77794	Chan1	.	.
II	Japonya-O	BAJ23755	SH1	.	.
II	Japonya-D	BAJ23751	T101	.	.
III	Almanya-B	BAJ23801	GM	.	.
III	Çin-X	BAJ23770	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	129	169
I	İtalya	BAJ23802	SLN1	Y D R V H H V P L H T D G F E V V D F T T V F R G P G N F L L P N A T N F P R P T	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	BAJ23768	CH6	.	.
I	Çin-Y	AKI85611	YA P25-8	.	.
II	Çin-B	ABO77789	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	BAD91210	FP	.	.
II	Çin-L	ABO77794	Chan1	.	.
II	Japonya-O	BAJ23755	SH1	.	.
II	Japonya-D	BAJ23751	T101	.	.
III	Almanya-B	BAJ23801	GM	.	.
III	Çin-X	BAJ23770	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	170	210
I	İtalya	BAJ23802	SLN1	T T D Q V Y M V C L V N T V N C V L R F E S E L T V W V H S G L Y T G D V L D V D	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	BAJ23768	CH6	.	.
I	Çin-Y	AKI85611	YA P25-8	.	.
II	Çin-B	ABO77789	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	BAD91210	FP	.	.
II	Çin-L	ABO77794	Chan1	.	.
II	Japonya-O	BAJ23755	SH1	.	.
II	Japonya-D	BAJ23751	T101	.	.
III	Almanya-B	BAJ23801	GM	.	.
III	Çin-X	BAJ23770	CW1	.	.

P25 Grup	P25 Alt Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	211	224
I	İtalya	BAJ23802	SLN1	N N V I Q A P D G V D D D D *	
I	İtalya	52	ERC-52	.	.
I	Çin-H	BAJ23768	CH6	.	.
I	Çin-Y	AKI85611	YA P25-8	.	.
II	Çin-B	ABO77789	Bao	.	.
II	Çin-B	9	IGR-9	.	.
II	Fransa-P	BAD91210	FP	.	.
II	Çin-L	ABO77794	Chan1	.	.
II	Japonya-O	BAJ23755	SH1	.	.
II	Japonya-D	BAJ23751	T101	.	.
III	Almanya-B	BAJ23801	GM	.	.
III	Çin-X	BAJ23770	CW1	.	.

(Ek 13) Türk izolatlarının BNYVV P31 bölgesinin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile nükleotit düzeyinde karşılaştırılması

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	1	39
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A T G G C T G A T G G A G A G A T A T G T C G G T G T C A G G T T A C T G A T	
II	EF473115	Bao	 C	
I	AB563099	SH1	 A	
III	AB563132	FAH		
IV	AB563136	GM		
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	40	78
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	C C T C C T T T G A T A C G T C A T G A A G A C T A T G A T T G T A C T G C T	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1		
III	AB563132	FAH	. T T	
IV	AB563136	GM		
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	79	117
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A G G A T G G T G C A G A A A C G G A T T G A G A T T G G C C C A T T G G G T	
II	EF473115	Bao	 C	
I	AB563099	SH1		
III	AB563132	FAH		
IV	AB563136	GM		
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	118	156
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	G T T T T A C T C A A T C T T A A T A T G T T A T T T C A T A T G T C T C G T	
II	EF473115	Bao	 A	
I	AB563099	SH1	. . C A	
III	AB563132	FAH	 C . C	
IV	AB563136	GM	 C	
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	157	195
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	G T T A G A C A T A T T G A T G T T T A T C C G T A T C T G A A T A A T A T T	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1		
III	AB563132	FAH	 C	
IV	AB563136	GM	 C	
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	196	234
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A T G T C T A T T T C G G T G T C G C T G G A T G T T C C T G T G T C T A G T	
II	EF473115	Bao	 C	
I	AB563099	SH1	 T	
III	AB563132	FAH	 T	
IV	AB563136	GM	 G T	
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	235	273
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	G G C G T T G G T G T T G G A C G T G T A C G T G T T T T A A T A T T T A C A	
II	EF473115	Bao	 C	
I	AB563099	SH1	 G	
III	AB563132	FAH	 C	
IV	AB563136	GM	 C	
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	274	312
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A C T A G T C G T G A A C G T G T T G G T A T A T T C C A C G G A T G G C A G	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1	 T	
III	AB563132	FAH	 T	
IV	AB563136	GM	 T	
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	313	351
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A T T G T G C C T G G G T G C T T T C T T A A T G C C C C G T G T T A T A G T	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1	G C	
III	AB563132	FAH	G	
IV	AB563136	GM	G	

(Ek 13) Devam

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	352	390
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	G G T G T T G A T G T T C T G T C T G A T G A G T T G T G T G A A G C T A A T	
II	EF473115	Bao	 A	
I	AB563099	SH1	 A	
III	AB563132	FAH	 C . A	
IV	AB563136	GM	 A	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	391	429
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A T T G T T C A T A C T T C G G T T T C G T C T G T T G C G A T G T T C G A T	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1	. . . A C . A T . . . A . .	
III	AB563132	FAH	 A	
IV	AB563136	GM	. . . A . C A A . .	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	430	468
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A G G T C G T A T A A A C C T G A A G A C G T C T G G A T A C T A T T A C T T	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1	G G	
III	AB563132	FAH	 C G	
IV	AB563136	GM	 C	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	469	507
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A C G T C T A G T A C T T G T T A T G G T T A T C A T G A T G T T G T T G T T	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1		
III	AB563132	FAH		
IV	AB563136	GM		

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	508	546
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	G A G A T A G A C C A A T G T A C A T T A C C T T C T A A T A T A G A T G G G	
II	EF473115	Bao	. . T A	
I	AB563099	SH1	. . T A	
III	AB563132	FAH	. . A	
IV	AB563136	GM	. . T A C	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	547	585
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	T G T G T T C A T T G T T C T G G C G T T T G C T A T T T C A A T G A T A A T	
II	EF473115	Bao	 G	
I	AB563099	SH1	 T G	
III	AB563132	FAH	 T	
IV	AB563136	GM	 T	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	586	624
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	C A T T G T T T T T G T G G T C G T C G T G A T A G T A A T C C A T T C A A T	
II	EF473115	Bao	 A	
I	AB563099	SH1		
III	AB563132	FAH	 A C	
IV	AB563136	GM	 C	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	625	663
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	C C G C C T T G T T T T C A A T T T A T T A A A G A T T G T A A T G A G T T G	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1		
III	AB563132	FAH		
IV	AB563136	GM		

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	664	702
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	T A T G G A A C A A A T G A A A C T A A A C A A T T C A T T T G T G A C C T T	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1		
III	AB563132	FAH	 C	
IV	AB563136	GM	 C	

(Ek 13) Devam

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	703	741
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	G T T G G T G A T G A C A A T T T G G A C A G T G T T A A C A C T C T A A C A	
II	EF473115	Bao	 C	
I	AB563099	SH1	 T . . C T	
III	AB563132	FAH	 T . . C	
IV	AB563136	GM	 C T . . C T	
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	742	780
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A A A G A A G G G T G G C G A A G G T T T T G T G A T G T T C T T T G G A A T	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1	. . G	
III	AB563132	FAH	 G	
IV	AB563136	GM	. . G	
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	781	819
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	A C C A C T T A T G G T G A T G T T G A G T C T C G T A C T T T T G C A C G C	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1		G
III	AB563132	FAH		
IV	AB563136	GM		
P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	820	849
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	T T T C T G T G G T T T G T C T T T T A T C A C G A T T A G	
II	EF473115	Bao		
I	AB563099	SH1		
III	AB563132	FAH		
IV	AB563136	GM		

(Ek 14) Türk izolatlarının BNYVV P31 bölgesinin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile aa düzeyinde karşılaştırılması

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	1	41
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	M A D G E I C R C Q V T D P P L I R H E D Y D C T A R M V Q K R I E I G P L G V L	
II	ABS19948	Bao	 L	
I	BAJ23819	SH1		
III	BAJ23852	FAH	 L	
IV	BAJ23856	GM		

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	42	82
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	L N L N M L F H M S R V R H I D V Y P Y L N N I M S I S V S L D V P V S S G V G V	
II	ABS19948	Bao	 A .	
I	BAJ23819	SH1		
III	BAJ23852	FAH	 T T	
IV	BAJ23856	GM	 T V	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	83	123
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	G R V R V L I F T T S R E R V G I F H G W Q I V P G C F L N A P C Y S G V D V L S	
II	ABS19948	Bao		
I	BAJ23819	SH1	 V	
III	BAJ23852	FAH	 V	
IV	BAJ23856	GM	. . A V	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	124	164
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	D E L C E A N I V H T S V S S V A M F D R S Y K P E D V W I L L L T S S T C Y G Y	
II	ABS19948	Bao		
I	BAJ23819	SH1	 T N I N G R	
III	BAJ23852	FAH	 N M	
IV	BAJ23856	GM	 I N N	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	165	205
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	H D V V V E I D Q C T L P S N I D G C V H C S G V C Y F N D N H C F C G R R D S N	
II	ABS19948	Bao	 D . . . Y S . . I	
I	BAJ23819	SH1	 D . E C	
III	BAJ23852	FAH		
IV	BAJ23856	GM	 D . E	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	206	246
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	P F N P P C F Q F I K D C N E L Y G T N E T K Q F I C D L V G D D N L D S V N T L	
II	ABS19948	Bao		
I	BAJ23819	SH1		
III	BAJ23852	FAH	. S	
IV	BAJ23856	GM	. S A	

P31 Grubu	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	247	282
II	9/ 52	IGR-9/ ERC-52	T K E G W R R F C D V L W N T T Y G D V E S R T F A R F L W F V F Y H D *	
II	ABS19948	Bao		
I	BAJ23819	SH1		
III	BAJ23852	FAH		
IV	BAJ23856	GM		

(Ek 15) Türk izolatlarının BNYVV P26 bölgesinin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile nükleotit düzeyinde karşılaştırılması

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Ülke	P26 Grup	Baz No	Start Codon ↓		Baz No
9	IGDR-9	Türkiye	I	1	ATG	GATATTGATCATTGTATGCCTGTATTGATATGGCATATAGCGACGATAATCACCTC	60
52	ERZ-52	Türkiye	I	1	ATG	GATATTGATCATTGTATGCCTGTATTGATATGGCATATAGCGACGATAATCACCTC	60
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	1	ATG	GATATTGATCATTGTATGCCTGTATTGATATGGCATATAGCGACGATAATCACCTC	60
AB018601	SH1	Japonya	I	1	ATG	GATATTGATCATTGTATGCCTGTATTGATATGGCATATAGCGACGATAATCACCTC	60
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	1	ATG	GATATTGATCATTGTATGCCTGTATTGATATGGCATATAGCGACGATAATCACCTC	60
EU864120	OW1	Almanya	I	1	ATG	GATATTGATCATTGTATGCCTGTATTGATATGGCATATAGCGACGATAATCACCTC	60
AB018619	FP	Fransa	II	1	ATG	GATATTGATCATTGTATGCCTGTATTGATATGGCATATAGCGACGATAATCACCTC	60
9	IGDR-9	Türkiye	I	61	CCTTATTACATACAGAGATCGACTCAT	CATGTGGTTCGGGATGTTGATTATACTGGTTTT	120
52	ERZ-52	Türkiye	I	61	CCTTATTACATACAGAGATCGACTCAT	CATGTGGTTCGGGATGTTGATTATACTGGTTTT	120
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	61	CCTTATTACATACAGAGATCGACTCAT	CATGTGGTTCGGGATGTTGATTATACTGGTTTT	120
AB018601	SH1	Japonya	I	61	CCTTATTACATACAGAGATCGACTCAT	CATGTGGTTCGGGATGTTGATTATACTGGTTTT	120
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	61	CCTTATTACATACAGAGATCGACTCAT	CATGTGGTTCGGGATGTTGATTATACTGGTTTT	120
EU864120	OW1	Almanya	I	61	CCTTATTACATACAGAGATCGACTCAT	CATGTGGTTCGGGATGTTGATTATACTGGTTTT	120
AB018619	FP	Fransa	II	61	CCTTATTACATACAGAGATCGACTCAT	CATGTGGTTCGGGATGTTGATTATACTGGTTTT	120
9	IGDR-9	Türkiye	I	121	ATATGTTATCCTTTGCAGGT	TGATCTCAATGATAATGTTGAGGTTGGTGCTGATATTTAT	180
52	ERZ-52	Türkiye	I	121	ATATGTTATCCTTTGCAGGT	TGATCTCAATGATAATGTTGAGGTTGGTGCTGATATTTAT	180
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	121	ATATGTTATCCTTTGCAGGT	TGATCTCAATGATAATGTTGAGGTTGGTGCTGATATTTAT	180
AB018601	SH1	Japonya	I	121	ATATGTTATCCTTTGCAGGT	TGATCTCAATGATAATGTTGAGGTTGGTGCTGATATTTAT	180
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	121	ATATGTTATCCTTTGCAGGT	TGATCTCAATGATAATGTTGAGGTTGGTGCTGATATTTAT	180
EU864120	OW1	Almanya	I	121	ATATGTTATCCTTTGCAGGT	TGATCTCAATGATAATGTTGAGGTTGGTGCTGATATTTAT	180
AB018619	FP	Fransa	II	121	ATATGTTATCCTTTGCAGGT	TGATCTCAATGATAATGTTGAGGTTGGTGCTGATATTTAT	180
9	IGDR-9	Türkiye	I	181	CACATGAAGATTAA	AACTATGAGATTTAATGTTGATATTTATAAATAAC	240
52	ERZ-52	Türkiye	I	181	CACATGAAGATTAA	AACTATGAGATTTAATGTTGATATTTATAAATAAC	240
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	181	CACATGAAGATTAA	AACTATGAGATTTAATGTTGATATTTATAAATAAC	240
AB018601	SH1	Japonya	I	181	CACATGAAGATTAA	AACTATGAGATTTAATGTTGATATTTATAAATAAC	240
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	181	CACATGAAGATTAA	AACTATGAGATTTAATGTTGATATTTATAAATAAC	240
EU864120	OW1	Almanya	I	181	CACATGAAGATTAA	AACTATGAGATTTAATGTTGATATTTATAAATAAC	240
AB018619	FP	Fransa	II	181	CACATGAAGATTAA	AACTATGAGATTTAATGTTGATATTTATAAATAAC	240

(Ek 15) Devam

İzolant No/ Genbank Acces. No	İzolant Adı	Ülke	P26 Grup	Baz No		Baz No
9	IGDR-9	Türkiye	I	241	ACAAAGTTCCAGGTTGGGTAGGTTTATTGTGTTTTGTACACCTCCTGTGTCTTCTTGG	300
52	ERZ-52	Türkiye	I	241	ACAAAGTTCCAGGTTGGGTAGGTTTATTGTGTTTTGTACACCTCCTGTGTCTTCTTGG	300
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	241	ACAAAGTTCCAGGTTGGGTAGGTTTATTGTGTTTTGTACACCTCCTGTGTCTTCTTGG	300
AB018601	SH1	Japonya	I	241	ACAAATTTCCAGGTTGGGTAGGTTTATTGTGTTTTGTACACCTCCTGTGTCTTCTTGG	300
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	241	ACAACTTTCCAGGTTGGGTAGGTTTATTGTGTTTTGTACACCTCCTGTGTCTTCTTGG	300
EU864120	OW1	Almanya	I	241	ACAAAGTTCCAGGTTGGGTAGGTTTATTGTGTTTTGTACACCTCCTGTGTCTTCTTGG	300
AB018619	FP	Fransa	II	241	ACAAATTTCCAGGTTGGGTAGGTTTATTGTGTTTTGTACACCTCCTGTGTCTTCTTGG	300
9	IGDR-9	Türkiye	I	301	GTTAATGACGGGTGCTCTAGTCTGTTTTACCTTTTGTAGGTGTGAATAGTTTTATTGAT	360
52	ERZ-52	Türkiye	I	301	GTTAATGACGGGTGCTCTAGTCTGTTTTACCTTTTGTAGGTGTGAATAGTTTTATTGAT	360
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	301	GTTAATGACGGGTGCTCTAGTCTGTTTTACCTTTTGTAGGTGTGAATAGTTTTATTGAT	360
AB018601	SH1	Japonya	I	301	GTTAATGACGGGTGCTCTAGTCTGTTTTACCTTTTGTAGGTGTGAATAGTTTTATTGAT	360
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	301	GTTAATGACGGGTGCTCTAGTCTGTTTTACCTTTTGTAGGTGTGAATAGTTTTATTGAT	360
EU864120	OW1	Almanya	I	301	GTTAATGACGGGTGCTCTAGTCTGTTTTACCTTTTGTAGGTGTGAATAGTTTTATTGAT	360
AB018619	FP	Fransa	II	301	GTTAATGACGGGTGCTCTAGTCTGTTTTACCTTTTGTAGGTGTGAATAGTTTTATTGAT	360
9	IGDR-9	Türkiye	I	361	CCTAAATTGTTAAACCGTGATGGTCATGGGATTACTGTGTTACATGATGGTATTTATTGC	420
52	ERZ-52	Türkiye	I	361	CCTAAATTGTTAAACCGTGATGGTCATGGGATTACTGTGTTACATGATGGTATTTATTGC	420
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	361	CCTAAATTGTTAAACCGTGATGGTCATGGGATTACTGTGTTACATGATGGTATTTATTGC	420
AB018601	SH1	Japonya	I	361	CCTAAATTGTTAAACCGTGATGGTCATGGGATTACTGTGTTACATGATGGTATTTATTGC	420
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	361	CCTAAATTGTTAAACCGTGATGGTCATGGGATTACTGTGTTACATGATGGTATTTATTGC	420
EU864120	OW1	Almanya	I	361	CCTAAATTGTTAAACCGTGATGGTCATGGGATTACTGTGTTACATGATGGTATTTATTGC	420
AB018619	FP	Fransa	II	361	CCTAAATTGTTAAACCGTGATGGTCATGGGATTACTGTGTTACATGATGGTATTTATTGC	420
9	IGDR-9	Türkiye	I	421	TTGTGCTATCAAGAAATTTCACCAAGAATTTTGAGTTTAACTTTCGTGGACCTGGTAAT	480
52	ERZ-52	Türkiye	I	421	TTGTGCTATCAAGAAATTTCACCAAGAATTTTGAGTTTAACTTTCGTGGACCTGGTAAT	480
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	421	TTGTGCTATCAAGAAATTTCACCAAGAATTTTGAGTTTAACTTTCGTGGACCTGGTAAT	480
AB018601	SH1	Japonya	I	421	TTGTGCTATCAAGAAATTTCACCAAGAATTTTGAGTTTAACTTTCGTGGACCTGGTAAT	480
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	421	TTGCGCTATCAAGAAATTTTACCAGAAGTTTTGAGTTTAACTTTCGTGGACCTGGTAAT	480
EU864120	OW1	Almanya	I	421	TTGTGCCATCAAGAAATTTCACCAAGAATTTTGAGTTTAACTTTCGTGGACCTGGTAAT	480
AB018619	FP	Fransa	II	421	TTGCGCTATCAAGAAATTTTACCAGAAGTTTTGAGTTTAACTTTCGTGGACCTGGTAAT	480

(Ek 15) Devam

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Ülke	P26 Grup	Baz No		Baz No
9	IGDR-9	Türkiye	I	481	TATACCCTAACTAATGATGTTTGGTCCCCCGCTACTAATGTAGATTCTATATATGTG	540
52	ERZ-52	Türkiye	I	481	TATACCCTAACTAATGATGTTTGGTCCCCCGCTACTAATGTAGATTCTATATATGTG	540
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	481	TATACCCTAACTAATGATGTTTGGTCCCCCGCTACTAATGTAGATTCTATATATGTG	540
AB018601	SH1	Japonya	I	481	TATACCCTAACTAATGATGTTTGGTCCCCCGCTACTAATGTAGATTCTATATATGTG	540
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	481	TATACCCTAACTAATGATGTTTGGTCCCCCGCTACTAGTGTGGATTCTATATATGTG	540
EU864120	OW1	Almanya	I	481	TATACCCTAACTAATGATGTTTGGTCCCCCGCTACTAATGTAGATTCTATATATGTG	540
AB018619	FP	Fransa	II	481	TATACCCTAACTAATGATGTTTGGTCCCCCGCTACTAGTGTGGATTCTATATATGTG	540
9	IGDR-9	Türkiye	I	541	GCTTGTGTTGCTAGTTGGTGTGGTGATAGTGCTTTTATGTTGCAGTCCGATAGTGTGTCT	600
52	ERZ-52	Türkiye	I	541	GCTTGTGTTGCTAGTTGGTGTGGTGATAGTGCTTTTATGTTGCAGTCCGATAGTGTGTCT	600
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	541	GCTTGTGTTGCTAGTTGGTGTGGTGATAGTGCTTTTATGTTGCAGTCCGATAGTGTGTCT	600
AB018601	SH1	Japonya	I	541	GCTTGTGTTGCTAGTTGGTGTGGTGATAGTGCTTTTATGTTGCAGTCCGATAGTGTGTCT	600
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	541	GCTTGTGTTGCTAGTTGGTGTGGTGATAGTGCTTTTATGTTGCAGTCCGATAGTGTGTCT	600
EU864120	OW1	Almanya	I	541	GCTTGTGTTGCTAGTTGGTGTGGTGATAGTGCTTTTATGTTGCAGTCCGATAGTGTGTCT	600
AB018619	FP	Fransa	II	541	GCTTGTGTTGCTAGTTGGTGTGGTGATAGTGCTTTTATGTTGCAGTCCGATAGTGTGTCT	600
9	IGDR-9	Türkiye	I	601	TGGGTACACAAGAGATTTTGGCAACGACCTGTGTTGGAATTTGGGCAATGTTTGGATGAT	660
52	ERZ-52	Türkiye	I	601	TGGGTACACAAGAGATTTTGGCAACGACCTGTGTTGGAATTTGGGCAATGTTTGGATGAT	660
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	601	TGGGTACACAAGAGATTTTGGCAACGACCTGTGTTGGAATTTGGGCAATGTTTGGATGAT	660
AB018601	SH1	Japonya	I	601	TGGGTACACAAGAGATTTTGGCAACGACCTGTGTTGGAATTTGGGCAATGTTTGGATGAT	660
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	601	TGGGTACACAAGAGATTTTGGCAACGACCTGTGTTGGAATTTGGGCAATGTTTGGATGAT	660
EU864120	OW1	Almanya	I	601	TGGGTACACAAGAGATTTTGGCAACGACCTGTGTTGGAATTTGGGCAATGTTTGGATGAT	660
AB018619	FP	Fransa	II	601	TGGGTACACAAGAGATTTTGGCAACGACCTGTGTTGGAATTTGGGCAATGTTTGGATGAT	660
9	IGDR-9	Türkiye	I	661	CTACCAGATCATG-----ATAATGACTGTGGATGA	699
52	ERZ-52	Türkiye	I	661	CTACCAGATCATG-----ATAATGACTGTGGATGA	699
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	661	CTACCAGATCATG-----ATAATGACTGTGGATGA	699
AB018601	SH1	Japonya	I	661	CTACCAGATCATG-----ATAATGATTGTGGATGA	699
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	661	CTACCAGACCATG-----GTAATGATTGTGGATGA	699
EU864120	OW1	Almanya	I	661	CTGCCAGATCATG-----ATAATGATTGTGGATGA	699
AB018619	FP	Fransa	II	661	CTACCAGATCATGATAATAATAATAATGATTGTGGATGA	699

(Ek 16) Türk izolatlarının BNYVV P26 bölgesinin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile amino asit düzeyinde karşılaştırılması

İzolat No	İzolat Adı	Ülke	P26 Grup	AA No		AA No
9	IGDR-9	Türkiye	I	1	MDIDHCMPVFDMAYSDDNHLPPYYIQRSTHHVVRDVDYTGFCYPLQVDLNDNVEVGADIY	60
52	ERZ-52	Türkiye	I	1	MDIDHCMPVFDMAYSDDNHLPPYYIQRSTHHVVRDVDYTGFCYPLQVDLNDNVEVGADIY	60
AB018601	SH1	Japonya	I	1	MDIDHCMPVFDMAYSDDNHLPPYYIQRSTHHVVRDVDYTGFCYPLQVDLNDNVEVGADIY	60
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	1	MDIDHCMPVFDMAYSDDNHLPPYYIQRSTHHVVRDVDYTGFCYPLQVDLNDNVEVGADIY	60
EU864120	OW1	Almanya	I	1	MDIDHCMPVFDMAYSDDNHLPPYYIQRSTHHVVRDVDYTGFCYPLQVDLNDNVEVGADIY	60
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	1	MDIDHCMPVFDMAYSDDNHLPPYYIQRSTHHVVRDVDYTGFCYPLQVDLNDNVEVGADIY	60
AB018619	FP	Fransa	II	1	MDIDHCMPVFDMAYSDDNHLPPYYIQRSTHHVVRDVDYTGFCYPLQVDLNDNVEVGADIY	60
9	IGDR-9	Türkiye	I	61	HMKIKTMRENVDIYNND--VATKFPGWVRFVFCPPVSSWVNDGCSSLFSPFVGVNSFİD	120
52	ERZ-52	Türkiye	I	61	HMKIKTMRENVDIYNND--VATKFPGWVRFVFCPPVSSWVNDGCSSLFSPFVGVNSFİD	120
AB018601	SH1	Japonya	I	61	HMKIKTMRENVDIYNND--VATKFPGWVRFVFCPPVSSWVNDGCSSLFSPFVGVNSFİD	120
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	61	HMKIKTMRENVDIYNND--VATKFPGWVRFVFCPPVSSWVNDGCSSLFSPFVGVNSFİD	120
EU864120	OW1	Almanya	I	61	HMKIKTMRENVDIYNND--VATKFPGWVRFVFCPPVSSWVNDGCSSLFSPFVGVNSFİD	120
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	61	HMKIKTMRENVDIYNND--VATKFPGWVRFVFCPPVSSWVNDGCSSLFSPFVGVNSFİD	120
AB018619	FP	Fransa	II	61	HMKIKTMRENVDIYNNDVATNFPGWVRFVFCPPVSSWVNDGCSSLFSPFVGVNSFİD	120
9	IGDR-9	Türkiye	I	121	PKLLKRDGHGIVTLHDGIYCLCYQEHFTRSFENFRGPGNYTLTNDVCWSPATNVDSİYV	180
52	ERZ-52	Türkiye	I	121	PKLLKRDGHGIVTLHDGIYCLCYQEHFTRSFENFRGPGNYTLTNDVCWSPATNVDSİYV	180
AB018601	SH1	Japonya	I	121	PKLLKRDGHGIVTLHDGIYCLCYQEHFTRSFENFRGPGNYTLTNDVCWSPATNVDSİYV	180
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	121	PKLLKRDGHGIVTLHDGIYCLCYQEHFTRSFENFRGPGNYTLTNDVCWSPATNVDSİYV	180
EU864120	OW1	Almanya	I	121	PKLLKRDGHGIVTLHDGIYCLCYQEHFTRSFENFRGPGNYTLTNDVCWSPATNVDSİYV	180
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	121	PKLLKRDGHGIVTLHDGIYCLCYQEHFTRSFENFRGPGNYTLTNDVCWSPATNVDSİYV	180
AB018619	FP	Fransa	II	121	PKLLKRDGHGIVTLHDGIYCLCYQEHFTRSFENFRGPGNYTLTNDVCWSPATNVDSİYV	180
9	IGDR-9	Türkiye	I	181	ACVASWCGDSAFMLQSDSVSWVHKRFWQRPVLEFGQCLDDLPDHDN-----DCG	240
52	ERZ-52	Türkiye	I	181	ACVASWCGDSAFMLQSDSVSWVHKRFWQRPVLEFGQCLDDLPDHDN-----DCG	240
AB018601	SH1	Japonya	I	181	ACVASWCGDSAFMLQSDSVSWVHKRFWQRPVLEFGQCLDDLPDHDN-----DCG	240
DQ440516	UK-FF	İngiltere	II	181	ACVASWCGDSAFMLQSDSVSWVHKRFWQRPVLEFGQCLDDLPDHDN-----DCG	240
EU864120	OW1	Almanya	I	181	ACVASWCGDSAFMLQSDSVSWVHKRFWQRPVLEFGQCLDDLPDHDN-----DCG	240
KF525377	T-IGDR-6	Türkiye	I	181	ACVASWCGDSAFMLQSDSVSWVHKRFWQRPVLEFGQCLDDLPDHDN-----DCG	240
AB018619	FP	Fransa	II	181	ACVASWCGDSAFMLQSDSVSWVHKRFWQRPVLEFGQCLDDLPDHDN-----DCG	240

(Ek 17) Türk BSBV-CP izolatlarının kılıf proteininin tamamını içeren bölgenin nükleotit dizilerinin Dünya'daki bazı BSBV izolatları ile karşılaştırılmalı sonuçları

İzolat Adı	1	39
EDR-125S	A T G G T T G A T C C G C G G T A T G A A G G G T G G A A C C A A C G T G A G	
BRS-148S	.	.
YZT-355S	.	.
IGR-9S / ELZ-38S	.	.
KNY-373S	.	.
ANK-617S	.	G
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
TR3	.	.
TR1	.	.
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	.	.
FP22	.	.
UF33	.	C
Brazilian	.	C
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

İzolat Adı	40	78
EDR-125S	G C T A T A A G A G C C A A G A A G C G A A G G T T T G T A T C T T A C G A T	
BRS-148S	.	C
YZT-355S	.	A
IGR-9S / ELZ-38S	.	.
KNY-373S	.	.
ANK-617S	.	.
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
TR3	.	G
TR1	.	A
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	.	.
FP22	.	.
UF33	.	.
Brazilian	.	.
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

İzolat Adı	79	117
EDR-125S	A C T T T T A T G G A T T T A A T C G T T A A T T G G C G A G A G G T G C G G	
BRS-148S	.	.
YZT-355S	.	C
IGR-9S / ELZ-38S	.	C
KNY-373S	.	C
ANK-617S	.	C
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	C
TR3	.	C
TR1	.	C
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	.	.
FP22	.	.
UF33	.	C
Brazilian	.	C
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

(Ek 17) devam

İzolat Adı	118	156
EDR-125S	G T C G G T A T T A T A G A G C A C T C C G C T A C T A T A C T G T C G C A G	
BRS-148S	.	.
YZT-355S	.	.
IGR-9S / ELZ-38S	.	.
KNY-373S	.	.
ANK-617S	.	.
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
TR3	.	.
TR1	.	.
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	T	.
FP22	.	.
UF33	.	T
Brazilian	.	T
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

İzolat Adı	157	195
EDR-125S	G T T A G T A G G T T A G G A G A A G C A A A T T T T A C G G A C G T A A T	
BRS-148S	.	G
YZT-355S	.	G
IGR-9S / ELZ-38S	.	G
KNY-373S	.	G
ANK-617S	.	G
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	G
TR3	.	G
TR1	.	G
Ahlum	.	G
BSBV-JKI	.	G
GT13	.	G
IR-Neyshabur	.	G
FP22	.	G
UF33	.	G
Brazilian	.	G
IM	.	G
XJ	.	G
PL	.	G
WBScp	.	G
ZBScp	.	G

İzolat Adı	196	234
EDR-125S	A A G C G C T T C G G A A G A G T T G A C A C T A A C G G T G A C G T T T T T	
BRS-148S	.	T
YZT-355S	.	T
IGR-9S / ELZ-38S	.	T
KNY-373S	.	T
ANK-617S	.	T
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	T
TR3	.	T
TR1	.	T
Ahlum	.	T
BSBV-JKI	.	T
GT13	.	T
IR-Neyshabur	.	T
FP22	.	T
UF33	.	T
Brazilian	.	T
IM	.	T
XJ	.	T
PL	.	T
WBScp	.	T
ZBScp	.	T

(Ek 17) devam

İzolat Adı	235	273
EDR-125S	T A T G T T G A T T T G A G T G A G G C C A G G A T A A G A A A A A T T T T A	
BRS-148S	.	.
YZT-355S	.	.
IGR-9S / ELZ-38S	C .	.
KNY-373S	.	.
ANK-617S	.	.
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
TR3	C .	G .
TR1	C .	.
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	C .	A .
FP22	.	.
UF33	.	A .
Brazilian	.	A .
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

İzolat Adı	274	312
EDR-125S	G A T A A C A T A A T T A T T G C T T T A C A G A C T A C T T C C G G T G A A	
BRS-148S	.	.
YZT-355S	A .	.
IGR-9S / ELZ-38S	.	.
KNY-373S	.	A .
ANK-617S	.	.
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
TR3	.	.
TR1	.	.
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	.	.
FP22	.	.
UF33	.	.
Brazilian	.	.
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

İzolat Adı	313	351
EDR-125S	G G A C G T G C T A A A C G A T T A G G A A A G G A G G C G A G C A C G A C A	
BRS-148S	C .	.
YZT-355S	C .	.
IGR-9S / ELZ-38S	C .	.
KNY-373S	C .	.
ANK-617S	C .	.
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	C .	.
TR3	C .	.
TR1	C .	G .
Ahlum	C .	G .
BSBV-JKI	C .	.
GT13	C .	.
IR-Neyshabur	C .	.
FP22	C .	C .
UF33	C .	G .
Brazilian	C .	G .
IM	C .	.
XJ	C .	G .
PL	C .	G .
WBScp	C .	.
ZBScp	C .	G .

(Ek 17) devam

İzolat Adı	352	390
EDR-125S	G C A G G C G C A G A A G A T A G C G C T C T G A A T G T G G C A C A T C A A	
BRS-148S	.	.
YZT-355S	.	.
IGR-9S / ELZ-38S	.	.
KNY-373S	.	.
ANK-617S	.	.
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
TR3	.	.
TR1	.	.
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	.	.
FP22	.	.
UF33	.	.
Brazilian	.	.
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

İzolat Adı	391	429
EDR-125S	C T C G C C G A G C T A G C C G A G C T T A T G A C C T C C G A T C A G T T T	
BRS-148S	.	.
YZT-355S	.	.
IGR-9S / ELZ-38S	.	.
KNY-373S	.	.
ANK-617S	.	.
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
TR3	.	.
TR1	.	.
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	.	.
FP22	.	.
UF33	.	.
Brazilian	.	.
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

İzolat Adı	430	468
EDR-125S	A T T G A A G A C G C T T G C T T C A C G A G A G A A A A G T T T G A G C A T	
BRS-148S	.	.
YZT-355S	.	.
IGR-9S / ELZ-38S	.	.
KNY-373S	.	.
ANK-617S	.	.
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
TR3	.	.
TR1	.	.
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	.	.
FP22	.	.
UF33	.	.
Brazilian	.	.
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

(Ek 17) devam

İzolat Adı	469	495
EDR-125S	G A A G T T G G T T T G C G C T G G G T T G A A T A G	
BRS-148S	.	.
YZT-355S	.	.
IGR-9S / ELZ-38S	.	.
KNY-373S	.	.
ANK-617S	.	.
ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
TR3	.	.
TR1	.	.
Ahlum	.	.
BSBV-JKI	.	.
GT13	.	.
IR-Neyshabur	.	.
FP22	.	.
UF33	.	.
Brazilian	.	A
IM	.	.
XJ	.	.
PL	.	.
WBScp	.	.
ZBScp	.	.

(Ek 18) Türk BSBV-CP izolatlarının kılıf proteininin tamamını içeren bölgenin aa dizilerinin Dünya'daki bazı BSBV izolatları ile karşılaştırılmalı sonuçları

BSBV-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	1	41
I (c)	125	EDR-125S	M V D P R Y E G W N Q R E A I R A K K R R F V S Y D T F M D L I V N W R E V R	V G
I (a)	148	BRS-148S	.	.
IV	355	YZT-355S	.	.
IV	9 / 38	IGR-9S / ELZ-38S	.	.
III	373	KNY-373S	.	.
III	617	ANK-617S	.	.
III	225 / 259 / 625	ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
IV	QEY10207	TR3	.	.
IV	QEY10201	TR1	.	.
I (c)	AAB47478	Ahlum	.	.
I (a)	QCF59317	BSBV-JKI	.	.
I (a)	CAH17775	GT13	.	.
IV	CAY39852	IR-Neyshabur	.	.
I (a)	CAH17774	FP22	.	.
I (b)	CAH17776	UF33	.	.
I (b)	AYV75116	Brazilian	.	.
I (c)	ABU63615	IM	.	.
II	ABU63617	XJ	.	.
II	ACS14041	PL	.	.
I (c)	ACF08614	WBScp	.	.
II	ACF08616	ZBScp	.	.

BSBV-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	41	82
I (c)	125	EDR-125S	I I E H S A T I L S Q V S R L G E A N F Y G R N K R F G R V D T N G D V F Y V D L	
I (a)	148	BRS-148S	.	.
IV	355	YZT-355S	.	.
IV	9 / 38	IGR-9S / ELZ-38S	.	.
III	373	KNY-373S	.	.
III	617	ANK-617S	.	.
III	225 / 259 / 625	ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
IV	QEY10207	TR3	.	.
IV	QEY10201	TR1	.	.
I (c)	AAB47478	Ahlum	.	T .
I (a)	QCF59317	BSBV-JKI	.	.
I (a)	CAH17775	GT13	.	.
IV	CAY39852	IR-Neyshabur	.	.
I (a)	CAH17774	FP22	.	.
I (b)	CAH17776	UF33	.	.
I (b)	AYV75116	Brazilian	.	.
I (c)	ABU63615	IM	.	.
II	ABU63617	XJ	.	.
II	ACS14041	PL	.	.
I (c)	ACF08614	WBScp	.	.
II	ACF08616	ZBScp	.	.

BSBV-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	83	123
I (c)	125	EDR-125S	S E A R I R K I L D N I I I A L Q T T S G E G R A K R L G K E A S T T A G A E D S	
I (a)	148	BRS-148S	.	.
IV	355	YZT-355S	.	N .
IV	9 / 38	IGR-9S / ELZ-38S	.	K N .
III	373	KNY-373S	.	.
III	617	ANK-617S	.	.
III	225 / 259 / 625	ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
IV	QEY10207	TR3	.	.
IV	QEY10201	TR1	.	G .
I (c)	AAB47478	Ahlum	.	.
I (a)	QCF59317	BSBV-JKI	.	.
I (a)	CAH17775	GT13	.	.
IV	CAY39852	IR-Neyshabur	.	.
I (a)	CAH17774	FP22	.	S .
I (b)	CAH17776	UF33	.	.
I (b)	AYV75116	Brazilian	.	.
I (c)	ABU63615	IM	.	.
II	ABU63617	XJ	.	.
II	ACS14041	PL	.	.
I (c)	ACF08614	WBScp	.	.
II	ACF08616	ZBScp	.	.

BSBV-CP Grup	İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	124	164
I (c)	125	EDR-125S	A L N V A H Q L A E L A E L M T S D Q F I E D A C F T R E K F E H E V G L R W V E	
I (a)	148	BRS-148S	.	.
IV	355	YZT-355S	.	.
IV	9 / 38	IGR-9S / ELZ-38S	.	.
III	373	KNY-373S	.	.
III	617	ANK-617S	.	.
III	225 / 259 / 625	ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.	.
IV	QEY10207	TR3	.	.
IV	QEY10201	TR1	.	.
I (c)	AAB47478	Ahlum	.	.
I (a)	QCF59317	BSBV-JKI	.	.
I (a)	CAH17775	GT13	.	.
IV	CAY39852	IR-Neyshabur	.	.
I (a)	CAH17774	FP22	.	.
I (b)	CAH17776	UF33	.	.
I (b)	AYV75116	Brazilian	.	.
I (c)	ABU63615	IM	.	A .
II	ABU63617	XJ	.	.
II	ACS14041	PL	.	.
I (c)	ACF08614	WBScp	.	.
II	ACF08616	ZBScp	.	.

(Ek 18) devam

BSBV-CP	Grup	Izolat No/ Genbank Acces. No	Izolat Adı	165
I (c)		125	EDR-125S	*
I (a)		148	BRS-148S	.
IV		355	YZT-355S	.
IV		9 / 38	IGR-9S / ELZ-38S	.
III		373	KNY-373S	.
III		617	ANK-617S	.
III		225 / 259 / 625	ESK-225S / AFY-259S / ANK625S	.
IV		QEY10207	TR3	.
IV		QEY10201	TR1	.
I (c)		AAB47478	Ahlum	.
I (a)		QCF58317	BSBV-JK1	.
I (a)		CAH17775	GT13	.
IV		CAY39852	IR-Neyshabur	.
I (a)		CAH17774	FP22	.
I (b)		CAH17776	UF33	.
I (b)		AYV75116	Brazilian	.
I (c)		ABU63615	IM	.
II		ABU63617	XJ	.
II		ACS14041	PL	.
I (c)		ACF08614	WBScp	.
II		ACF08616	ZBScp	.

ÖZGEÇMİŞ

Ebru EKAN, Samsun Ondokuz Mayıs Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümünden 13.02.2004 tarihinde mezun oldu. 2005 yılında OMÜ LEE Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programına girdi. 05.02.2008 tarihinde bitirdi. 2008 yılında Bitki Koruma Ana Bilim Dalı doktora programına başladı. Mezuniyetinden bu yana Mühendis olarak görev yapan Ebru ERKAN, orta derecede İngilizce bilmektedir (KPDS 50) (05.07.2022).

İletişim Bilgileri

ORCID ID

Yayınlar:

1. **Erkan, E.** ve N.D. Kutluk Yılmaz. (2009). Samsun İli Buğday Üretim Alanlarında Saptanan *Polymyxa graminis* Ledingham İzolatlarının Konukçu Çevresine Göre Ribotiplerinin Belirlenmesi. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 15-18 Temmuz 2009, Van, s.249.
2. **Erkan, E.** ve N.D. Kutluk Yılmaz. (2009). Samsun İli Buğday Üretim Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan Virüslerin Saptanması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 24 (2), 67-75.
3. Kutluk Yılmaz, N.D., Arlı Sökmen, M. ve **Erkan, E.** (2011). Orta Karadeniz Bölgesi Şeker Pancarı Üretim Alanlarından Elde Edilen Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) İzolatlarının Moleküler Farklılıklarının ve Patojenitelerinin Belirlenmesi. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş, s.56.
4. Kutluk Yılmaz, N.D., Arlı Sökmen, M., Kaya, R., Toksöz, Y., Tunalı, B., **Erkan, E.** ve Şevik, M. A. (2012). Resistance-Breaking Isolates of Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) Collected from Sugar Beet Fields in the Northern, Eastern and Central Parts of Turkey. 10th Conference of the European Foundation for Plant Pathology-IPM 2.0 Towards future-proof crop protection in Europe, 1-5 October 2012, Wageningen, Hollanda, s.39.
5. **Erkan, E.** ve N.D. Kutluk Yılmaz. (2017). Prevalence of Beet Virus Q in Sugar Beet Production Areas of Turkey. *Jurnal of Turkish Phytopathology*, 46 (2), 53-60.
6. **Erkan, E.** ve N.D. Kutluk Yılmaz. (2021). Molecular Characterization of Beet virus Q Isolates in Sugar Beet Production Areas of Turkey Based on Coat Protein Gene. International Soil Science Symposium on Soil Science and Plant Nutrition (6th International Scientific Meeting), 15-16 Aralık 2021, Samsun, Türkiye.

7. **Erkan, E.** ve N.D. Kutluk Yılmaz. (2022). Türkiye şeker pancarı üretim alanlarına ait topraklardan elde edilen Beet soil-borne virus izolatlarının kılıf protein genine göre moleküler karakterizasyonu. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi* 10 (1), 10-18.
8. Güngör, M., **Erkan, E.** ve N.D. Kutluk Yılmaz. (2022). Türkiye’de Şeker Pancarı Üretim Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan Beet Necrotic Yellow Vein Virus İzolatlarının P31 Geninin Moleküler Karakterizasyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 37 (3), 505-527.

