T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BAMYAYI ENFEKTE EDEN TURNIP MOSAIC VIRUS İZOLATININ TÜM GENOM DİZİ ANALİZLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖZDE DEMİR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. SAVAŞ KORKMAZ

ÇANAKKALE – 2021

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BAMYAYI ENFEKTE EDEN TURNIP MOSAIC VIRUS İZOLATININ TÜM GENOM DİZİ ANALİZLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖZDE DEMİR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. SAVAŞ KORKMAZ

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon kurumu tarafından desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2019-3061

ÇANAKKALE – 2021

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Gözde DEMİR tarafından Prof. Dr. Savaş KORKMAZ yönetiminde hazırlanan ve **23/06/2021** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan "**Bamyayı Enfekte Eden Turnip Mosaic Virus İzolatının Tüm Genom Dizi Analizleri**" başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Prof. Dr. Savaş KORKMAZ (Danışman)	……
Prof. Dr. Figen MERT	……
Dr. Öğr. Üyesi Orhan BOZAN	…….

Tez No : ……..

Tez Savunma Tarihi : 23/06/2021

……

Prof. Dr. Pelin KANTEN

Enstitü Müdürü

../../20..

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

(İmza)
Gözde DEMİR
(Tarih) 23/06/2021

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen, her aşamada her türlü bilgi, deneyim ve yardımları ile bana yol gösteren saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Savaş KORKMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Jüri üyeleri saygı değer hocalarım Prof. Dr. Figen MERT ve Dr. Öğr. Üyesi Orhan BOZAN'a yönlendirici fikirleriyle katkıda bulundukları için teşekkür ederim.

Çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve tezin her aşamasında bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Dr. Ali KARANFİL'e çok teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen arkadaşım Ziraat Mühendisi Aysun HELVACI'ya teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana inanan, sevgi ve desteklerini bir an olsun esirgemeyen hayatımın her evresinde yanımda olduğunu hissettiğim aileme, değerli anneme ve babama sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Gözde DEMİR

Çanakkale, Haziran 2021

ÖZET

BAMYAYI ENFEKTE EDEN TURNIP MOSAIC VIRUS İZOLATININ TÜM GENOM DİZİ ANALİZLERİ

Gözde DEMİR
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Prof. Dr. Savaş KORKMAZ
23/06/2021, 83

Ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen sebzelerden bir tanesi bamyadır. Bütün tarımsal üretimlerde olduğu gibi bamya üretiminde de bitki hastalıkları önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu hastalıklar arasından virüs hastalıkları kimyasal mücadelesi olmadığı için ayrı bir öneme sahiptir. Bu virüs hastalıklarından en önemlisi şalgam mozaik virüsü (turnip mosaic virus; TuMV)'dür. TuMV genel olarak Brassicaceae familyası üyelerinde enfeksiyon meydana getirmesine rağmen, bamyada da enfeksiyon meydana getirdiği ülkemizde yapılan son çalışmalar ile bildirilmiştir. Ancak ülkemiz bamya üretiminde enfeksiyon oluşturan TuMV izolatlarının tüm genom dizilimlerine yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla İzmir ve Manisa illerinden toplanan ve TuMV ile enfekteli olduğu daha önceden belirlenen bamya bitkileri içerisinden 3 izolat seçilmiştir. Seçilen 3 izolatın NIb+CP gen bölgeleri kullanılarak tüm genom dizilimi belirlenecek olan izolatın seçimi yapılmıştır. Seçilen örneklerden total nükleik asit izolasyonu yapılarak hedef gen bölgeleri RT-PCR ile çoğaltılmış ve sekansların sahip oldukları gen dizilimleri belirlenmiştir. Gerçekleştirilen çoklu dizi analizleri ve filogenetik analiz sonuçlarına göre içlerinden bir izolat tüm genom analizleri için kullanılmıştır. Tüm genom analizi yapılacak olan izolat belirlendikten sonra 5 farklı primer çifti ile bamya TuMV izolatının tüm genomu çoğaltılmış ve sekanslanarak sahip olduğu gen dizilimleri belirlenmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda bamya TuMV izolatlarının NIb+CP gen bölgelerine göre birbirleri ile yüksek oranda sekans homolojisi gösterdiği ve hepsinin basal-B grubunda olduğu belirlenmiştir. Tüm genom analizleri için seçilen izolatın gen dizilimlerinin dünya TuMV izolatları ile karşılaştırılması sonucunda bamya TuMV izolatının nükleotit

düzeyinde %77-93, amino asit düzeyinde ise %89-97 oranında benzerliklere sahip olduğu bulunmuştur. Gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda ise bamya TuMV izolatının basal-B filogenetik grubunda yer aldığı görülmüştür. Gerçekleştirilen bu çalışma ile dünyada ilk kez bamya bitkisinden elde edilen bir TuMV izolatının tüm genom analizleri gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bamya, Şalgam mozaik virüs, RT-PCR, Benzerlik, Filogenetik, Tüm genom

ABSTRACT

FULL-LENGTH GENOME SEQUENCE OF TURNIP MOSAIC VIRUS ISOLATE INFECTING OKRA

Gözde DEMİR
Çanakkale Onsekiz Mart University
Institute of Graduate Education
Master of Science Thesis in Plant Protection
Advisor: Prof. Dr. Savaş KORKMAZ
06/23/2021, 83

Okra is one of the vegetables commonly grown in Turkey. Plant diseases are an important problem in okra production as in all agricultural production. Viruses are more significant among plant diseases as there is no way to chemical control them. One of the most important plant virus diseases is turnip mosaic virus (TuMV). Although it generally causes infections in brassica plants, it has been recently reported that it also causes infection in okra. However, no studies targeting the full-length genome sequences of TuMV isolates infecting okra plants in Turkey have been done. For this purpose, NIb+CP gene regions of three isolates selected from okra plants known to be infected with TuMV collected from İzmir and Manisa provinces were used for the selection of the isolate whose full-length genome sequence was determined. Total nucleic acid isolation was performed from selected samples, and target gene regions were amplified by reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) and then sequenced. Based on the results of multiple sequencing and phylogenetic analyses, one isolate was selected for full-length genome analyses. After choosing the isolate, the gene regions of this isolate were amplified by RT-PCR with five different primer pairs and sequenced. According to the analyses performed in this study, okra TuMV isolates showed high sequence homology with each other according to NIb+CP gene regions and all of them were in the basal-B group. The comparison of gene sequences of the selected isolate for the full-length genome analyses with TuMV isolates from around the world showed that that the okra TuMV isolate had 77–93% and 89–97% similarities at the

nucleotide and amino acid levels, respectively. Moreover, with the phylogenetic analyses, it was found that the okra TuMV isolate was included in the basal-B phylogenetic group. Furthermore, full-length genome analyses of TuMV isolate infecting okra were carried out for the first time.

Keywords: Okra, Turnip mosaic virus, RT-PCR, Similarity, Phylogenetic, Full-length genome

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI ……..…….... i
ETİK BEYAN …… ii
TEŞEKKÜR ……... iii
ÖZET ……..…….. iv
ABSTRACT ……... vi
İÇİNDEKİLER ……..…… viii
SİMGELER ve KISALTMALAR ……..…… xi
TABLOLAR DİZİNİ ……..… xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ ……..……...…….….. xiv

BİRİNCİ BÖLÜM
GİRİŞ 1

İKİNCİ BÖLÜM
KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5

2.1. Dünyada TuMV ile İlgili Yapılan Çalışmalar …….. 5
2.2. Ülkemizde TuMV ile İlgili Yapılan çalışmalar ……...…...…….. 12

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL YÖNTEM 16

3.1. Virüs İzolatları ...……..... 16
3.2. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları ...…….…….... 16
3.2.1. NIb+CP Genine Göre Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları ……. 16
Total Nükleik Asit İzolasyonu ……... 17
Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) …….. 18
RT Aşaması …… 18
Denatürasyon Aşaması ……... 18
Ters Transkripsiyon Aşaması (RT) …… 18

PCR Aşaması (Amplifikasyon) …….. 19
Agaroz Jel Elektroforezi ……. 19
PCR Ürünlerinin Saflaştırılması ……. 20
3.2.2. Biyoinformatik Analizler ……... 20
Çoklu Dizi Analizleri ……..... 20
Filogenetik Analizler …….. 21
3.3. Tüm Genom Analizleri ...……..... 23

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI 25

4.1. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları …… 25
4.1.1. NIb+CP Genine Göre Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu RT-PCR Analizleri …… 25
4.1.2. Tüm Genom Analizleri ……... 27
4.2. NIb+CP Genlerinin Dizi Analizleri ...……..... 28
4.2.1. Nükleotit ve Amino Asit Dizi Analizleri ……..... 28
4.2.2. NIb+CP Genlerinin Filogenetik Analizleri ……. 31
4.3. TuMV Tüm Genom Dizileme Sonuçları ……... 34
4.3.1. 6K1 Geni Dizi Analizleri Sonuçları ……..... 37
4.3.2. 6K2 Geni Dizi Analizleri Sonuçları ……..... 39
4.3.3. CI Geni Dizi Analizleri Sonuçları ……... 41
4.3.4. CP Geni Dizi Analizleri Sonuçları ….…… 44
4.3.5. HC-Pro Geni Dizi Analizleri Sonuçları ……. 46
4.3.6. NIa-Pro Geni Dizi Analizleri Sonuçları ...……... 48
4.3.7. NIa-VPg Geni Dizi Analizleri Sonuçları ..……... 50
4.3.8. NIb Geni Dizi Analizleri Sonuçları ...…….. 52
4.3.9. P1 Geni Dizi Analizleri Sonuçları ……... 55
4.3.10. P3 Geni Dizi Analizleri Sonuçları ..…… 57
4.4. Filogenetik Analiz Sonuçları …… 59
4.4.1. 6K1 Geni Filogenetik Analiz Sonuçları …….. 62
4.4.2. 6K2 Geni Filogenetik Analiz Sonuçları …….. 63
4.4.3. CI Geni Filogenetik Analiz Sonuçları ……. 64

4.4.4. CP Geni Filogenetik Analiz Sonuçları ……... 65
4.4.5. HC-Pro Geni Filogenetik Analiz Sonuçları ……..... 67
4.4.6. NIa-Pro Geni Filogenetik Analiz Sonuçları ……..... 70
4.4.7. NIa-VPg Geni Filogenetik Analiz Sonuçları ……... 71
4.4.8. NIb Geni Filogenetik Analiz Sonuçları ……... 72
4.4.9. P1 Geni Filogenetik Analiz Sonuçları ……. 73
4.4.10. P3 Geni Filogenetik Analiz Sonuçları ……. 74

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ ve ÖNERİLER 75

KAYNAKÇA ...……. 78
ÖZGEÇMİŞ ….……..... I

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
Asya-BR	Asian- *Brassica*/*Raphanus*
bç	Baz çifti
BWYV	Beet western yellows virus
bazal-B	basal- *Brassica*
bazal-BR	basal-*Brassica*/*Raphanus*
CTAB	Cetyltrimethyl-ammonium bromide
cDNA	Komplementer Deoksiribonükleik asit
°C	Derece santigrat
CP	Kılıf Protein (Coat Protein)
CaMV	Cauliflower mosaic virus
CMV	Cucumber mosaic virus
dNTP	Deoksinükleotidtrifostat
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
DAS-ELISA	Double Antibody Sandwich-ELISA
ELISA	Enzim Linked Immunosorbent Assay
EtBr	Etidyum Bromür
FAO	Food and Agriculture Organization
kDa	Kilo Dalton
mM	Milimolar
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
nM	Nanometre
NIb	Nuclear Inclusion b
NIb+CP	Nuclear Inclusion b + Coat Protein
NCBI	The National Center for Biotechnology Information
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonu
PCR	Polymerase Chain Reaction
RT	Reverse Transcription
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

rpm	Dakikadaki devir sayısı
RNase	Ribonükleaz
RNA	Ribonükleik asit
+ssRNA	Tek sarmallı (+) duyarlılıkta RNA
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforez
spp.	Türler
sp.	Tür
sn	Saniye
sa	Saat
Tris-HCI	Tris (hydroxymethyl) Aminomethane Hydrochloride
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TuYV	Turnip yellow virus
TuMV	Turnip mosaic virus
TYMV	Turnip yellow mosaic virus
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
vd.	Ve diğerleri
%	Yüzde oranı
q-PCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction
world-B	world-*Brassica*

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Bamyanın sistematiği	2
Tablo 2	RT-PCR yönteminde kullanılan primer çifti	19
Tablo 3	Çoklu dizi ve filogenetik karşılaştırmalarda kullanılan dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları	21
Tablo 4	Tüm genom kapsamında kullanılan primer çiftleri	24

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Türkiye'de son 5 yıllık bamya üretim alanı ve üretim miktarı.	3
Şekil 2	Şalgam mozaik virüsü'nün genom yapısı.	4
Şekil 3	RT-PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmesi sonucunda oluşan band görüntüleri (M:100-5000 bç marker; 1, 2, 3, 4, 5, 6: Şalgam mozaik virüsü ile enfekteli izolatlara ait numaralar).	26
Şekil 4	Şalgam mozaik virüs izolatlarının tüm genom PCR sonuçlarını gösteren jel fotoğrafı.	27
Şekil 5	Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb+CP geninin nükleotit dizilimlerine göre kendi içlerinde ve dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	29
Şekil 6	Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb+CP geninin amino asit dizilimlerine göre kendi içlerinde ve dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	30
Şekil 7	CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb+CP geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	32
Şekil 8	Şalgam mozaik virüs izolatlarının tüm genom nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	35
Şekil 9	Şalgam mozaik virüs izolatlarının tüm genom amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	36
Şekil 10	Şalgam mozaik virüs izolatlarının 6K1 geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	37
Şekil 11	Şalgam mozaik virüs izolatlarının 6K1 geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	38
Şekil 12	Şalgam mozaik virüs izolatlarının 6K2 geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	40

Şekil 13	Şalgam mozaik virüs izolatlarının 6K2 geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	41
Şekil 14	Şalgam mozaik virüs izolatlarının CI geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	42
Şekil 15	Şalgam mozaik virüs izolatlarının CI geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	43
Şekil 16	Şalgam mozaik virüs izolatlarının CP geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	44
Şekil 17	Şalgam mozaik virüs izolatlarının CP geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	45
Şekil 18	Şalgam mozaik virüs izolatlarının HC-Pro geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	47
Şekil 19	Şalgam mozaik virüs izolatlarının HC-Pro geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	48
Şekil 20	Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIa-Pro geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	49
Şekil 21	Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIa-Pro geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	50
Şekil 22	Şalgam mozaik virus izolatlarının NIa-VPg geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	51
Şekil 23	Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIa-VPg geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	52
Şekil 24	Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	53

Şekil 25	Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	54
Şekil 26	Şalgam mozaik virüs izolatlarının P1 geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	56
Şekil 27	Şalgam mozaik virüs izolatlarının P1 geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	57
Şekil 28	Şalgam mozaik virüs izolatlarının P3 geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	58
Şekil 29	Şalgam mozaik virüs izolatlarının P3 geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.	59
Şekil 30	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının tüm genomunun nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	60
Şekil 31	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının 6K1 geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	63
Şekil 32	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının 6K2 geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	64
Şekil 33	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının CI geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	65
Şekil 34	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının CP geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	66
Şekil 35	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının HC-Pro geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	68
Şekil 36	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının NIa-Pro geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	70

Şekil 37	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının NIa-VPg geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	71
Şekil 38	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının NIb geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	72
Şekil 39	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının P1 geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	73
Şekil 40	CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının P3 geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.	74

BİRİNCİ BÖLÜM
GİRİŞ

Sebze, artan dünya nüfusunun ihtiyaçlarını karşılamak için birim alandan daha fazla yararlanılarak daha ekonomik ve getirisi yüksek ürün eldesi ile önemli bir tarım ürünüdür. Bunun yanı sıra hayvansal gıdaların yanında dengeli ve sağlıklı beslenmek için sebze tüketimi önemli bir yer tutmaktadır. Artan nüfusla birlikte artan tüketim ihtiyacını karşılamada kaliteden ödün vermeden verimi arttırmaya yönelik tüm dünyada çalışmalar yapılmaktadır.

Sebzelerin meyve, tohum, çiçek, yaprak, sürgün, gövde ve kökleri canlıların beslenmesindeki yeri içerdikleri besin maddeleriyle olmazsa olmazlar arasında yer almaktadır. Sebzeler çiğ veya pişmiş olarak tüketilebildiği gibi aynı zamanda sanayi ürünü olarak da kullanılabilmektedir. Sebzeler, lifli yapısı ve besin içeriği bakımından son dönemlerde diyet ürünlerinin vazgeçilmezleri arasına girmiştir.

Ülkemizin bulunduğu özel coğrafi konumu, farklı iklimlerin görülmesi ve verimli geniş tarım arazilerine sahip olması nedeniyle çeşitli tarım ürünleri yetişmektedir. Bu çeşitlilik sebze yetiştiriciliğinde de önemli bir yere sahiptir (Akbay, vd., 2005: 96). Ülkemizde sebze yetiştiriciliği gitgide artmakta olup, yetiştirilen sebze miktarı 2019 yılında bir önceki yıla göre %3,5 artarak yaklaşık 31 milyon ton olmuştur (TÜİK, 2019).

Bamya (*Abelmoschus esculentus*) pamuğunda içinde yer aldığı Ebegümecigiller (Malvaceae) ailesi içinde yer almasına (Tablo 1) rağmen pamuktan çok daha büyük sert yaprakları ve daha kalın bir gövdeye sahiptir (Lamont, 1999).

Tablo 1

Bamyanın sistematiği (Kumar, vd., 2013: 129)

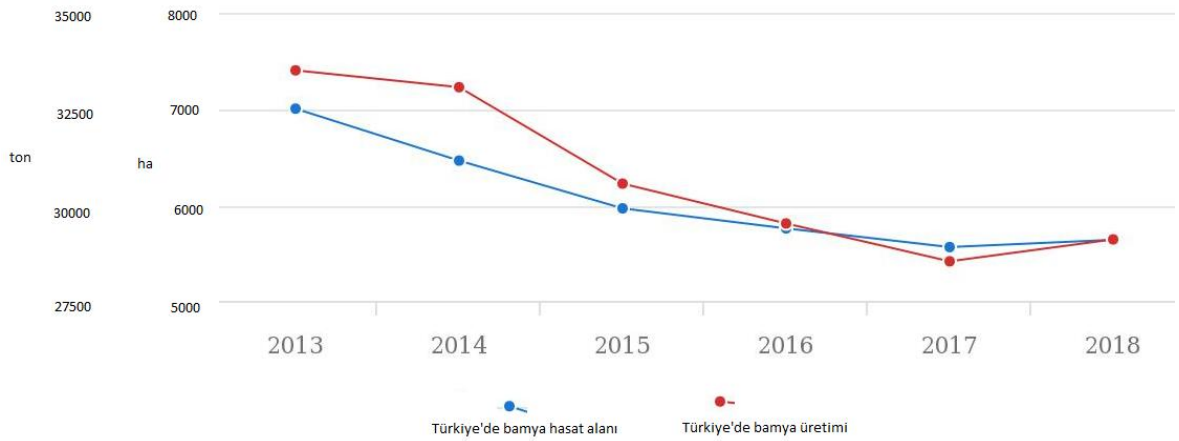
Alem	Plantae
Bölüm	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Malvales
Familya	Malvaceae
Cins	*Abelmoschus*
Tür	*Abelmoschus esculentus*

Dünyanın en eski yetiştirilen ürünlerinden biri olan bamya ilk olarak, Mısırlılar tarafından M.S. 1216'da yetiştirildiğine dair kanıtlar bulunmuş olsa da bitki araştırmacısı Vavilov, bamyanın Etiyopya'nın tropikal ikliminde o tarihten önce bile geliştiğine dair güçlü kanıtlar olduğunu bulmuştur. Diğer araştırmacılar ise kökeninin Hindistan olduğunu buradan da Akdeniz'e ve Batı'ya doğru yayıldığını savunmaktadırlar (Lamont, 1999).

Dünya genelinde tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde yetiştirilen bamya, ekonomik açıdan önemli bir sebze çeşididir. Türkiye, Hindistan, Pakistan, Bangladeş, Afganistan, İran, Batı Afrika, Burma, Yugoslavya, Japonya, Malezya, Brezilya, Gana, Etiyopya, Kıbrıs, Güney Amerika Birleşik Devletleri gibi geniş bir coğrafyada ticari olarak yetiştirilmektedir (Kumar, vd., 2016: 345).

Dünyada 2018 yılında 9.872.826 tonluk bamya üretimi yapılmıştır. Üretim verilerine bakıldığı zaman ilk sırada Hindistan'ın yer aldığı görülmektedir. Bu ülkeyi Nijerya ve Sudan izlemektedir. Ülkemiz ise 29.111 ton üretimiyle 17. sırada yer almaktadır (FAO, 2018).

Ülkemizde son beş yıllık süreçte bamya üretimine bakıldığında, 2013'de üretim alanı 7.016 hektar ve üretim miktarı 33.545 ton olan bamyanın 2018'de üretim alanı 5.640 hektar ve üretim miktarı 29.111 ton olmuştur. Bamyanın üretim alanı ve üretim miktarının 2013'den 2017'ye kadar her iki alanda da düşüş meydana geldiği ancak 2018'de artış meydana geldiği görülmektedir (Şekil 1) (FAO, 2018).



Şekil 1. Türkiye'de son 5 yıllık bamya üretim alanı ve üretim miktarı.

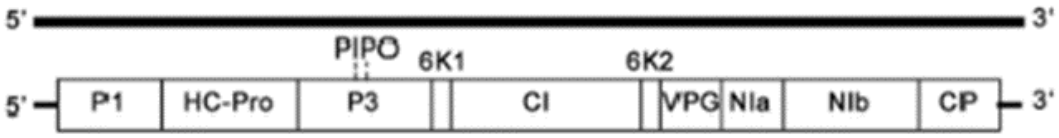
Bamya üretiminde zararlılar ve hastalıklar önemli sorunlar oluşturmaktadır (Asare-Bediako, vd., 2014). Bamya üretimi, diğer sebze çeşitlerine kıyasla çok az zararlısı olmasına rağmen viral hastalıklar tarafından tehdit altındadır (Lamont, 1999; Yadav, vd., 2018). Kimyasal mücadelenin olmadığı viral hastalıklarda, fungal ve bakteri hastalıklarına oranla %70-80'lere varan kayıplar olabilmektedir. Viral hastalıkların teşhisi, yayılma yollarının belirlenmesi, moleküler olarak karakterize edilmesi kontrol önlemlerinin planlanması açısından önemlidir (Provvidenti, vd., 1996; Yasaka, vd., 2017). Bu viral hastalıklardan en önemlisi şalgam mozaik virüsü (turnip mosaic virus; TuMV)'dür. TuMV, dünyada konukçusu olduğu bitkilerin üretiminin gerçekleştiği alanlarda ekonomik kayıplara sebep olabilmektedir (Edwardson ve Christie, 1991; Ohshima, vd., 2002).

Potyviridae ailesinde potyvirüs cinsi içerisinde yer alan şalgam mozaik virüsü çoğu iklim bölgesinde hem tek çenekli bitki hem de çift çenekli bitkiler olmak üzere geniş bir konukçu dizisine sahiptir. Önemli konukçularından olan lahana, karnabahar ve Brüksel lahanasında beneklenme, siyah nekrotik ve halka şeklinde lekeler oluştururken; şalgam, İsveç lahanası, turp, hardal, Çin lahanası, su teresi ve yabani turpta yaprak deformasyonuyla birlikte bodurlaşma ve mozaik şeklinde belirtilere neden olmaktadır (Urcuqui-Inchima, vd., 2001).

Şalgam mozaik virüsü 700-750 nm uzunluğunda ve çapı ise 10-12 nm genişliğinde esnek, zarsız, çubuk şeklinde yapılara sahiptir. Tek sarmallı (+) duyarlılıkta RNA'dan oluşur. Bu +ssRNA yaklaşık 10.000 nükleotit içermekte olup, nükleer inklüzyon (Nuclear

Inclusion b; NIb) proteini 60 kDa ve kılıf proteini (CP) ise 33 kDa ağırlığındadır (Şekil 2) (Riechman, vd., 1992; Urcuqui-Inchima, vd., 2001; Walsh ve Jenner, 2002).

Şalgam mozaik virüsü de diğer potyvirüsler gibi yaprak bitleri tarafından non-persistent olarak taşınırlar ve ürünlerde %70'e varan ciddi verim kaybına neden olurlar (Urcuqui-Inchima, vd., 2001; Li, vd., 2019).



Şekil 2. Şalgam mozaik virüsü'nün genom yapısı.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile dünyada ilk kez bamyayı enfekte eden TuMV etmeninin tüm genom dizilim/dizilimlerine dayalı moleküler karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu kapsamda ilk olarak en fazla 3 bamya TuMV izolatının NIb+CP (Nuclear Inclusion b+Coat Protein) genlerine dayalı olarak moleküler karakterizasyon çalışmaları yapılmış ve elde edilen sonuçlara göre içlerinden bir tanesi seçilerek tüm genom dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen bu çalışmalar sonucunda ülkemiz bamya TuMV izolatının tüm genom ve sahip olduğu gen bölgelerine göre dünya izolatları ile göstermiş olduğu sekans benzerlikleri ve farklılıkları ile filogenetik ilişkileri belirlenmiştir.

İKİNCİ BÖLÜM
KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Şalgam mozaik virüsü dünyada ilk defa 1921 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde *Brassica oleracea* var. *rapa*. (şalgam) bitkisinde bulunmuştur. Bu tarihten sonra etmenin Afrika, Avrupa, Asya, Kuzey ve Güney Amerika gibi ülkelerde ılıman ve sıcak iklimin görüldüğü yörelerde geniş ölçüde enfeksiyonlar meydana getirdiği bildirilmiştir (Provvidenti, vd., 1996; Walsh ve Jenner, 2002). Virüs ile ilişkili dünyada ve ülkemizde yapılan bazı çalışmalar aşağıda verilmiştir.

2.1. Dünyada TuMV ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Gera, vd., (1997), hastalıkla enfekteli olduğunu düşündükleri *Allium ampeloprasum* bitkilerinde sarı çizgiler, kloroz, büyümede azalma ve nekrotik lekeler sonucunda yapraklarda şekil bozukluğu gözlemlemişlerdir. Elektron mikroskobu ile yapmış oldukları çalışmalar sonucunda hastalık etmeninin morfolojisinin potyvirüslere benzediğini belirtmişlerdir. *Allium* cinsi bitkilerde bulunan potyvirüslere karşı antibadiler kullanarak test etmişlerdir. Test sonucunda sadece şalgam mozaik virüsü'nün reaksiyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmalarını desteklemek amacıyla SDS-PAGE analizi ile virüsün CP geninin 35 kDa moleküler ağırlığa sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Maskell, vd., (1999), yapmış oldukları saha çalışmasında yabani lahana bitkisinin gelişmesi üzerinde şalgam mozaik virüsü (turnip mosaic virüs; TuMV) ve şalgam sarı mozaik virüsü (turnip yellow mosaic virüs; TYMV)'nün etkilerini incelemişlerdir. İnceleme sonucunda virüslerle enfekte olan bitkilerin yaşamları, büyümeleri ve tohum oluşturmalarının önemli ölçüde azaldığını saptamışlardır. Araştırmacılar şalgam mozaik virüsü enfeksiyonunun çiçek açan bitki üzerinde hiçbir etkisi olmadığını bildirirken, enfekte olmuş bitkilerin daha az bakla ve daha düşük toplam tohum çıktısı ürettiklerini bildirmişlerdir. Her iki virüsün de yabani lahana bitkisinde vejetatif ve üreme performansını önemli ölçüde etkileyebileceği sonucunu çıkarmışlardır.

Gera, vd., (2001), İsrail'in Celile şehrinde *Hibiscus esculentus* bitkisinde nekrozla birlikte kloroz, damar açılması simptomu gözlemlemişlerdir. Simptom gösteren bitki örneklerini, ELISA yöntemi ile poliklonal antibadi kullanarak TuMV hastalığına karşı test etmişlerdir. Yapılan test sonucuna göre örneklerde TuMV'nin varlığını saptamışlardır. RT-PCR analizi sonucunda TuMV'ye ait 300 bç büyüklüğünde band elde etmişlerdir. Bu çalışmayla *Hibiscus esculentus* bitkisinde TuMV'nin neden olduğu enfeksiyonun ilk raporu olduğu bildirilmiştir.

Ohshima, vd., (2002), *Brassica* ve *Raphanus* cinsinden oluşan dünyanın dört bir yanından toplam 76 adet TuMV izolatı toplamışlardır. Topladıkları izolatları konukçu testi sonucuna göre 4 gruba ayırmışlardır. Avrasya'nın güneybatısı ve merkezinden toplanan *Brassica* cinsi 8 izolatın B patotipinden oluşan bazal-B grubuna ait olduğunu saptamışlardır. Buna yakın olan, 8 Avrasya izolatının BR patotipinden oluşan bazal-BR grubuna girdiğini belirtmişlerdir. Tamamının Doğu Asya'dan çoğunlukla da Japonya'dan toplanan *Brassica* ve *Raphanus* cinslerinden 22 izolatın BR patotipinden oluşan Asya-BR grubundan olduğunu tespit etmişlerdir. Tüm kıtalardan daha çok *Brassica* cinslerinden elde edilen 36 izolatın ise B patotipinden oluşan world-B grubuna girdiğini bildirmişlerdir.

Hughes, vd., (2003), kanola ve kolza bitkisinde TuMV-CDN 1 izolatının patotip 4'e karşı yeni bir direnç oluşturduğunu bulmuşlardır. CDN 1'e direnç ayrışmasının analizi sonucunda, direncin baskın ve monojen olduğunu tespit etmişlerdir. AFLP analizi ve 6 mikrosatellit marker ile TURBO3 olarak adlandırılan direnç lokusu ile ilişkilendirmişlerdir. Kanola ve kolza bitkisinin tüm TuMV izolatları TURBO3 ile test etmişler ancak tüm patotip 4 izolatlarına karşı etkili olmadığını saptamışlardır. Test edilen patotip 3 izolatlarının bazılarına karşı ise etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Lehmann, vd., (2003), şalgam mozaik virüsü'nün kılıf protein (CP) geni ile dönüştürülen yağlı tohum kolza hatları, CP RNA veya kılıf protein (CP) aracılığıyla TuMV'ye karşı direnç etkinliğini belirlemek için kullanmışlardır. Fonksiyonel bir başlangıç koduna sahip CP genini içeren T2 ve T3 hatları, TuMV'ye karşı yüksek, ancak değişken seviyelerde direnç gösterdiğini belirtmişlerdir. Mutasyona uğramış bir başlangıç kodu ile CP genini taşıyan tüm soyların T1 ve T2 hatlarının, kontroller kadar TuMV'ye duyarlı

olduklarını saptamışlardır. Araştırmacılar yaptıkları deneylerde CP aracılı direnci başlatabildiklerini ancak RNA aracılı direnci başlatamadıklarını bildirmişlerdir.

Yunzhi, vd., (2005), Shandong şehrinin üç farklı bölgesinde Çin lahanası ve turp bitkilerinden (TuMV-SD1, TuMV-SD2, TuMV-SD3, TuMV-SD4, TuMV-SD5 ve TuMV-SD6) 6 adet şalgam mozaik virüsü izolatı elde etmişlerdir. Elde ettikleri bu izolatların kılıf protein genlerinin nükleotit dizilerine dayalı olarak bir çift primer tasarlayarak sentezlemişlerdir. Elde ettikleri bu 6 izolatın kılıf protein genini RT-PCR yöntemi ile klonlayarak sekanslamışlardır. Elde ettikleri bu dizileri gen bankasında bulunan diğer TuMV kılıf protein geni dizileri ile karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda 6 TuMV kılıf protein geninin dizilerinin tamamının 867 nükleotit uzunluğa sahip olduğunu ve izolatların %97-99,4 arasında benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca bu 6 izolatın world-B grubu izolatlarının dizileriyle %91,8-100, *Brassica-Raphanus* (BR) grubu izolatlarının dizileri ile %89,1-91 ve basal-B grubu izolatlarının dizileri ile %86-90,3 arasında benzerlik gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada analiz edilen 6 izolatın tümünün world-B grubuna ait olduğunu bildirmişlerdir.

Farzadfar, vd., (2005), İran'ın Markazi şehrinde ticari olarak yetiştirilen yedi bitkide bazı simptomlar gözlemlemişlerdir. *Petunia hybrida* bitkisinde klorotik lekeler, mozaik, sarı damar açılması ve bodurluk*; Chrysanthemum* sp.'de beneklenme; *Impatiens balsamina* bitkisinde klorotik lekeler, yaprak sararması ve siyah gövde çizgileri; *Cheiranthus cheiri* bitkisinde beneklenme, yaprak sararması ve şekil bozukluğu; *Matthiola* sp. ve *Zinna elegans* bitkisinde mozaik ve renk kırılması simptomlarının görüldüğünü bildirmişlerdir. Belirti gösteren bu bitkilerden elde ettikleri bitki özsuyunu mekanik inokulasyon için kullandıklarında, *Petunia hybrida* ve *Brassica rapa* bitkilerinde görülen mozaik simptomlarına ek olarak, *Nicotiana glutinosa* bitkisinde nekrotik lokal lezyonla birlikte sistemik ve nekroz simptomlar ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Toplanan yaprak örnekleri ve aşılanmış bitkileri, DAS-ELISA ile şalgam mozaik virüsü için testlemişlerdir. Test sonucuna göre, hem yaprak örneklerinde hem de aşılanmış indikatör bitkilerinde şalgam mozaik virüsü'nün varlığını saptamışlardır. Bu çalışmayla İran'da şalgam mozaik virüsü'nün *Petunia hybrida*, *Chrysanthemun* sp., *Impatiens balsamina*, *Cheiranthus cheiri*, ve *Zinnia elegans* bitkilerinde doğal olarak oluşumunun ilk raporu olduğu bildirilmiştir.

Jinliang, vd., (2006), Çin'in Weifang şehrinde turp kökünden bir TuMV izolatı (TuMV-Ra) elde etmişlerdir. Elde ettikleri TuMV-Ra izolatının kılıf protein genini RT-PCR yöntemi ile çoğaltarak tam nükleotit dizisini belirlemişlerdir. TuMV-Ra izolatının kılıf protein gen bölgesi gen bankasında bulunan 20 TuMV turp izolatı ile nükleotit benzerlikleri ve amino asit dizilerini karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda TuMV-Ra izolatının %89,9-99 nükleotit ve %94,8-99,7 arasında amino asit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir.

Al-Saleh, vd., (2009), Suudi Arabistan'ın Riyah şehrinde turp ve marul üretim alanlarında, mozaik, kloroz ve beneklenme simptomları gözlemlemişlerdir. Enfekteli turp ve marul bitkilerinden elde ettikleri özsuyunu mekanik olarak kırmızı kazayağı bitkisine inokule ettiklerinde bitkide lokal lezyon saptamışlardır. Bitkiyi elektron mikroskobu ile incelemeleri sonucunda potyvirüslere özgü ipliksi, esnek parçacıkları gözlemlemişlerdir. DAS-ELISA testi ile TuMV'nin varlığını tespit etmişlerdir. RT-PCR ve sekans analizi sonucunda TuMV-L-SA izolatının gen bankasındaki diğer izolatlarla %85,3-90,9, TuMV-RA-SA izolatının ise diğer izolatlarla %87,7-94,1 sekans benzerliği aralığına sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır. TuMV-L-SA ve TuMV-Ra-Sa izolatları arasında ise %89 benzerlik olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın Suudi Arabistan'da şalgam mozaik virüsü'nün marul ve turp bitkilerinde ilk raporu olduğu bildirilmiştir.

Martin ve Elena (2009), yürüttükleri çalışmada cDNA bulaşıcı klonlar ile mekanik olarak aşılanan *Arabidopsis thaliana* bitkilerinde karışık enfeksiyonun karnabahar mozaik virüsü (CaMV) ve şalgam mozaik virüsü (TuMV)'nün bulaşıcılığı, patojenitesi ve birikimi üzerindeki etkisini ele almışlardır. Tek başına enfekte olmuş bitkilerde TuMV birikimi, CaMV birikiminden yaklaşık 8 kat daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Birlikte enfekte olmuş bitkilerde, tek başına enfekte olmuş bitkilere kıyasla %77 TuMV birikimi, %56 ise CaMV birikimi olduğunu saptamışlardır. Her bir virüsün bulaşıcılığı diğerinin varlığından etkilenmediği ve hiçbir simptom sinerjisi gözlenmediğini belirtmişlerdir.

Wang, vd., (2009), Çin TuMV bazal-BR izolatlarının önde gelen iki tam genomik dizisi olan WFLB06 ve TANX2 izolatlarının genomları, poli(A) kuyruğu hariç 9833 nükleotitden oluştuğunu ve aynı genomik yapıya sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yapmış oldukları rekombinasyon analizi sonucunda, WFLB06 izolatının bazal-BR ve Asya-BR

gruplarının soylar arası rekombinantı olduğunu tespit etmişlerdir. TANX2 izolatının ise bazal-BR grubunun bir soy içi rekombinantı olduğunu saptamışlardır. Bu iki izolatın iki yeni TuMV rekombinasyon modelini temsil ettiklerini ortaya koymuşlardır.

Farzadfar, vd., (2009), 2003-2008 yılları arasında İran'ın sekiz şehrinde Brassicaceae familyası için araştırmalar yapmışlar ve TuMV'nin konukçusu olan toplam 532 yabancı ot örneği toplamışlardır. Örnekleri, spesifik antibadiler kullanarak ELISA testi ile TuMV varlığı açısından test etmişlerdir. Test ettikleri örnekler arasında 340 örneğin (%64) TuMV ile enfekteli olduğunu tespit etmişlerdir.

Zubareva, vd., (2013), Moskova'da şalgam mozaik virüsü simptomları gösteren toplam 87 *Brassica* cinsi kültür bitkisi toplamışlardır. Bu bitkilerden izole ettikleri altı tane TuMV I2, I3a, I3b, I7, I8 ve I10 izolatlarını, konukçu bitkilerin oluşturduğu lezyon belirtilerine, indikatör bitkilerin tepkisine ve ELISA testinin sonuçlarına göre sınıflandırmışlardır. Filogenetik analiz sonucuna göre, bunların %95 cDNA benzerliği ile iki filogenetik gruba ait olduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar TuMV I2 izolatının, %40'a varan bir sıklıkta *Brassica* cinsinin şalgam mozaik virüsü'ne duyarlı ve şalgam mozaik virüsü'ne toleranslı bitkilerinin tohumları tarafından taşındığını ispatlamışlardır. TuMV izolatı I2'den elde ettikleri genomik cDNA sekansının analizi sonucu bunların tohumlar tarafından taşınma kabiliyetinin P1 gen sekansındaki amino asit yer değiştirme ile bağlantılı olabileceğini vurgulamışlardır.

Zhang, vd., (2014), farklı konukçu bitkilerinde şalgam mozaik virüs varyasyonunu incelemek için, Çin'in Xuzhou ve Jiangsu şehirlerinde enfekteli *Brassica campestris*, *Raphanus sativus* ve *Spinacia oleracea* bitkilerinden (XZYC, XZLB VE XZBOC) üç adet TuMV izolatı elde etmişlerdir. Bu 3 izolatın kılıf protein geni RT-PCR yöntemi ile klonlanmış ve çeşitli programlar ile analiz etmişlerdir. Analizler sonucunda bu 3 izolatın kılıf protein genlerinin dizileri 867 baz çifti uzunluğuna sahip olduğunu ve izolatların %99,8-99,9 nükleotit ve %100 amino asit benzerliği gösterdiğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada analiz edilen 3 izolatın tümü, basal-BR Çin izolatları alt grubuna ait olduğunu tespit etmişlerdir.

Chung, vd., (2015), ortam sıcaklığının Çin lahanasında şalgam mozaik virüsü yoğunluğunu ve sistemik enfeksiyon hızı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Viral enfeksiyon simptomlarının 23-28°C ortam sıcaklığında ve 6 günde başladığını bildirmişlerdir. 33°C'de tutulan bitkiler 6 günde sistemik olarak enfekte edilmiş ve aşılama sırasında büyüme aşamasına bağlı olarak 12-22 güne kadar belirti göstermediklerini belirtmişlerdir. 13°C'de tutulan bitkilerin enfekte olmalarının 45 gün sürdüğünü bildirmişlerdir. Yapmış oldukları q-PCR analizi sonucunda, 23-28°C'de tutulan bitkilerde virüs CP birikiminin daha fazla olduğunu saptamışlardır. Sistemik enfeksiyon hızının 23°C'ye kadar yükselen ortam sıcaklığıyla doğrusal olarak arttığını belirtmişlerdir. 10°C'de tutulan bitkilerde ise enfeksiyon görülmediğini gözlemlemişlerdir.

Zheng, vd., (2017), Çin'de *Phalaenopsis* cinsi bitkilerde şalgam mozaik virüsü'nün varlığını ELISA yöntemi ile tespit etmişlerdir. TuMV'nin varlığını RT-PCR analizi ile, CP gen dizilerine dayanan bir çift dejenere primer ile desteklemişlerdir. TuMV-ZH1 olarak adlandırılan bu izolatın filogenetik analizleri sonucunda world-B grubuna ait olduğunu belirlemişlerdir.

Valouzi, vd., (2017), Tahran'ın kuzeydoğusunda doğal ekosistemlerde yetişen simptomatik yabani bitkilerden toplam 40 adet yaprak örneği toplamışlardır. Toplanan yaprak örneklerinde, geniş spekturumlu potyvirüslere karşı antibadiler kullanarak ELISA yöntemi ile test etmişlerdir. Test sonucunda 4 örnekte TuMV'nin varlığını saptamışlardır. Bu çalışma sonucunda İran'da *Arctium lappa* ve *Sinapis arvensis* bitkisinin TuMV'nin yeni konukçuları olduğunu bildirmişlerdir.

Parmar, vd., (2017), Hindistan'ın farklı bölgelerinden topladıkları turp bitkilerinin dokuzunda TuMV izolatını tespit etmişlerdir. Enfekte olmuş bitkilerin yapraklarından elde ettikleri RNA'yı, TuMV'nin kılıf proteini genine özgü primerler ile RT-PCR yönteminde kullanmışlardır. Bu yöntem sonucunda 1000 bç büyüklüğünde viral amplikonlar elde etmişlerdir. Elde ettikleri bu amplikonları klonlama ve dizilemeye tabi tutmuşlardır. Araştırmacılar 7 izolatın tümünün CP geni 876 bç büyüklüğünde olduğunu ve 288 amino asit kalıntısını kodladığını tespit etmişlerdir. Tüm Hint izolatlarının kendi içlerinde ve NCBI'dan elde edilen diğer TuMV izolatlarıyla CP geninin nükleotit ve amino asit

düzeyindeki benzerliklerini karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda izolatların %87-99 nükleotit ve %92-100 arasında amino asit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir.

Adachi, vd., (2018), yürüttükleri çalışmada şalgam mozaik virüsü filogenetik grubunun, şalgam bitkilerinde yaprak biti vektörlerinin popülasyon büyümesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. *Myzus persicae*'nin popülasyon artışı, şalgam mozik virüsü ile enfekteli bitkiler ve şalgam mozaik virüsü ile enfekte olmamış bitkiler arasında önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir. *Lipaphis erysimi*'nin popülasyon artışı, şalgam mozaik virüsü ile enfekteli bitkilerde, enfekteli olmayan bitkilere kıyasla daha fazla olduğunu saptamışlardır. Şalgam mozaik virüsü'nün world-B ve bazal-BR gruplarını kullanarak yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar elde edildiğini belirtmişlerdir. Bu nedenle, *Lipaphis erysimi*'nin şalgam mozaik virüsü ile *Myzus persicae*'dan daha birbirine bağımlı olduğunu vurgulamışlardır. TuMV filogenetik gruplarındaki farklılıkların şalgam bitkilerinde yaprak biti vektörlerinin popülasyon büyümesini etkilemediğini bildirmişlerdir.

Ribeiro-Junior, vd., (2018), Brezilya'nın Sao Paulo şehrindeki üretim alanlarında mozaik belirti gösteren roka ve yabani turp bitkilerinden örnekler toplamışlardır. Başlangıçta topladıkları bu örnekleri, bir potyvirus antiserumu kullanarak dolaylı olarak ELISA testine tabi tutmuşlardır. Testin sonucuna göre pozitif örnekleri kullanarak toplam RNA ekstraksiyonu ve RT-PCR analizini gerçekleştirmişlerdir. Tam kılıf protein dizisi elde ederek virüsün, şalgam mozaik virüsü olduğunu tespit etmişlerdir. Yapmış oldukları filogenetik analizlere göre, Brezilya'da sırasıyla *Brassica/Raphanus* ve *Brassica* cinsini enfekte eden bazal-BR ve world-B tiplerine karşılık gelen en az 2 farklı TuMV izolatı ortaya koymuşlardır.

Shevchenko, vd., (2018), Ukranya'nın Kiev şehrinde mozaik, beneklenme, damar bandlaşması ve yaprak deformasyonu simptomları gösteren Brassicaceae ailesinden toplam 54 adet örnek toplamışlardır. Toplanan örneklerin yarısının şalgam mozaik virüsü ile enfekteli olduğunu saptamışlardır. Lahanadan izole ettikleri UKR9 Ukrayna izolatının tam uzunluktaki genomik RNA dizisini belirlemişlerdir. UKR9 izolatının rekombinasyon analizi sonucunda bu izolatın, world-*Brassica* ve Asian-*Brassica*/*Raphanus* filogenetik gruplarının bir ara soy rekombinantı olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmayla şalgam mozaik virüsü'nün Ukrayna'da ilk kez ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

2.2. Ülkemizde TuMV ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Korkmaz, vd., (2007), Balıkesir, Çanakkale ve Bursa illerinden mozaik, beneklenme, nekrotik lekeler ve kloroz gibi belirtiler gösteren *Raphanus sativus*, *Raphanus raphanistrum* ve *Brassica oleracea* bitkilerinden yaprak örnekleri toplamışlardır. Yaprak örneklerini DAS-ELISA ile şalgam mozaik virüsü'nün varlığını saptamak için test etmişlerdir. *Brassica oleracea* var. *capitata* ve *gemmifera*, *Raphanus sativus* ve *Raphanus raphanistrum* bitkilerinden elde ettikleri 130 yaprak örneğinden 16'sının TuMV ile enfekteli olduğunu saptamışlardır. *Brassica oleracea* var. *botrytis* bitkisinin ise TuMV ile enfekteli olmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmanın Türkiye'de *Brassica oleracea*, *Raphanus sativus* ve *Raphanus raphanistrum* bitkilerinde TuMV'nin varlığının ilk kayıt olduğunu belirtmişlerdir.

Korkmaz, vd., (2008), Marmara Bölgesi'ndeki tarlalarda Brassicaceae ve Brassicaceae familyasına ait olmayan ürünlerde şalgam mozaik virüsü belirtisi gösteren toplam 142 bitki örneği toplamışlardır. ELISA yöntemi ile Türkiye'nin başlıca *Brassica* ekim alanlarında %13,4 oranında TuMV'nin varlığını tespit etmişlerdir. Virüsün biyolojik olarak farklı iki izolatın, TUR1 ve TUR9'un genomik RNA'larının tam uzunluktaki sekanslarını belirlemişlerdir. Rekombinasyon analizleri sonucunda, TUR1 izolatının soy içi rekombinant olduğunu, TUR9 izolatının ise rekombinant olmadığını göstermişlerdir. Filogenetik analizleri sonucunda TUR1 ve TUR9 izolatlarının sırasıyla world-*Brassica* ve Asian-*Brassica*/*Rahpanus* gruplarına ait olduğunu belirtmişlerdir.

Korkmaz ve Çevik (2009), yürüttükleri çalışmada Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinde araştırmalar yaparak çoğu Brassicaceae familyasına ait sebzeler olmak üzere ve bazı yabancı otlardan toplam 386 örnek toplamışlardır. Örnekleri RT-PCR analizi ile TuMV'nin varlığı açısından test etmişlerdir. Testler sonucunda 55 örneğin TuMV ile enfekteli olduğunu saptamışlardır. Enfekteli örnekler arasından konukçu bitkiler ve toplandığı coğrafi bölgeler göz önüne alınarak 22 izolat seçmişlerdir. Seçilen bu izolatların biyolojik karakterizasyonunu belirlemek için mekanik inokulasyon yöntemi ile indikatör bitkilere inokule etmişler ve moleküler karakterizasyonunu belirlemek için ise kılıf proteinini klonlayarak nükleik asit sekanslarını belirlemişlerdir. Ayrıca seçilen bu izolatların

CP genini Western Blot yöntemi ile analiz ederek ve moleküler karakterizasyonunu belirlemek için CP genini içeren bölgeyi klonlayarak nükleotit sekanslarını belirlemişledir. Belirledikleri bu nükleotit sekansları ve bunların kodladığı amino asit sekanslarını dünya izolatları ile karşılaştırmaları sonucunda Türkiye TuMV izolatlarının %88-96 nükleotit ve %85-99 arasında amino asit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir.

Erkan, vd., (2013), İzmir ve çevresinde üretilen Brüksel lahanası, soğan, marul, lahana, pırasa, enginar, brokoli, karnabahar gibi sebze türlerinde virüs ve virüs benzeri belirti gösteren toplam 218 örnek toplamışlardır. Serolojik ve moleküler yöntemler ile örnekleri test etmişlerdir. Test sonucuna göre örneklerin virüs ile enfekteli olma seviyesinin %38,1 olduğunu belirtmişlerdir. Toplanan bu örneklerde en yaygın hıyar mozaik virüsü ve turp mozaik virüsü'nün görüldüğünü ve bunları şalgam mozaik virüsü ile marul mozaik virüsü'nün takip ettiğini bildirmişlerdir.

Karanfil ve Korkmaz (2016), Çanakkale ilinin Ezine ve Lapseki ilçelerinden şiddetli mozaik belirtiler gösteren kanola bitkilerinden toplam 21 örnek toplamışlardır. Örnekleri, şalgam mozaik virüsü'nün varlığını belirlemek için RT-PCR ve DAS-ELISA analizleri ile test etmişlerdir. Test sonuçlarına göre 15 kanola bitkisi örneğinde şalgam mozaik virüsü'nün varlığını saptamışlardır. TuMV ile enfekteli olduğu saptanan bu izolatlar arasından sadece CK01 izolatının moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. CKO1 izolatına ait çift yönlü nükleik asit sekanslarını belirlemek için NIb+CP genini içeren 1178 bç'lik Ters-Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ürünlerini saflaştırarak elde etmişlerdir. Belirlenen nükleik asit sekanslarını gen bankasındaki diğer şalgam mozaik virüsü izolatları ile karşılaştırarak kanola şalgam mozaik virüsü izolatının nükleotit seviyesinde %88-93 benzerlik aralığına sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Yürüttükleri bu çalışmayla ülkemizde yetişen kanola bitkilerinde şalgam mozaik virüsü'nün varlığını ilk defa ortaya çıkarmışlardır.

Sevik (2016), Samsun ilinde 2012 ve 2014 üretim yılları içerisinde lahana ekili alanlarda virüsün dağılımını belirlemek için sörveyler yapmıştır. Lahana üretim alanlarından toplam 535 yaprak örneği toplamıştır. Toplanan örnekleri DAS-ELISA yöntemi ile şalgam mozaik virüsü (TuMV), karnabahar mozaik virüsü (CaMV), hıyar mozaik virüsü (CMV), şalgam sarı mozaik virüsü (TYMV) ve şeker pancarı batı sarılık virüsü (BWYV)'nün

varlığını belirlemek için test etmiştir. Test sonucuna göre örneklerin %8,1'i TuMV ve %6,9'u CMV ile enfekteli olduğunu belirtmiştir. Ayrıca örneklerin %2,1 ise TuMV+CaMV enfekteli olduğunu bildirmiştir. Örneklerde CMV, TYMV ve BWYV'nin varlığı tespit edilmemiştir.

Güngör, vd., (2017), Samsun ilinin Bafra ve Çarşamba ilçelerinde yetiştirilen ıspanak bitkisinde virüs ve virüs benzeri belirti gösteren toplam 100 bitki örneği toplamışlardır. Toplanan bitki örneklerini ELISA yöntemi ile test etmişlerdir. Test edilen bitki örneklerinin %8'inin hıyar mozaik virüsü ve %3'ünün ise şalgam mozaik virüsü ile enfekteli olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmayla Samsun'da ıspanak yetiştirilen alanlarda şalgam mozaik virüsü ve hıyar mozaik virüsü enfeksiyonunun ilk kayıt niteliğinde olduğunu bildirmişlerdir.

Sevik (2019), Bafra Ovası'nda Brassicaceae familyasına ait virüs ve virüs benzeri belirti gösteren bitkilerden örnekler toplamıştır. Toplanan örnekler şalgam mozaik virüsü (TuMV), turp mozaik virüsü (RaMV), şalgam sarı mozaik virüsü (TYMV), şalgam sarı virüsü (TuYV), karnabahar mozaik virüsü (CaMV), hıyar mozaik virüsü (CMV), pancar batı sarısı virüsü (BWYV)'nün varlığını saptamak için biyolojik ve serolojik yöntemleri kullanarak test etmiştir. Testlemeler sonucunda bu örneklerin %7'sinin bu virüslerden en az biri ile enfekteli olduğunu belirtmiştir. Örneklerin %3'ü TuMV, %2'si CaMV ve %2'sinde ise CMV ile enfekteli olduğunu saptamıştır. TuMV'nin lahanagiller familyasında saptanan en yaygın virüs olduğunu bildirmiştir.

Karanfil ve Korkmaz (2019), İzmir ve Manisa illerinde bamya üretim alanlarından virüs ve virüs benzeri belirtiler gösteren toplam 31 adet örnek toplamışlardır. Toplanan örnekleri, TuMV'nin varlığını belirmek amacıyla DAS-ELISA yöntemi ile test etmişlerdir. Test sonucunda 23 örneğin (%74,2) TuMV ile enfekteli olduğunu saptamışlardır. Enfekteli bu örnekler arasından 2 tane TuMV izolatı seçerek moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Seçilen izolatların NIb+CP genini RT-PCR ile çoğaltmışlar, klonlamışlar ve dizilemişlerdir. Elde ettikleri dizileri, dünya izolatları ile benzerlik oranlarını ve filogenetik ilişkilerini belirlemek için kullanmışlardır. Çoklu dizi karşılaştırması sonucunda TuMV izolatlarının dünya izolatları ile %84-88 nükleotit ve %91-94 arasında amino asit benzerliği gösterdiğini tespit etmişlerdir. Filogenetik analizler sonucunda ise

bamya TuMV izolatlarının bazal-B grubuna ait olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmayla TuMV'nin Türkiye'de bamya üretim alanlarında ilk kez varlığını ortaya koymuşlardır.

Karanfil ve Korkmaz (2020), yürüttükleri çalışmada Tekirdağ ve Çanakkale illerinde yetiştirilen kanola bitkilerinde virüs ve virüs benzeri belirti gösteren bitkilerden örnekler toplamışlardır. Örneklerde, turnip mosaic virüs (TuMV), cauliflower mosaic virüs (CaMV) ve cucumber mosaic virüs (CMV)'ün varlığını saptamak için DAS-ELISA ile test etmişlerdir. Test sonucunda 3 örneğin hıyar mozaik virüsü, 16 örneğin şalgam mozaik virüsü ve bir örnekte ise şalgam mozaik virüsü ve hıyar mozaik virüsü'nün karışık enfeksiyonunu tespit etmişlerdir. Enfekteli örnekler arasından her bir virüs için iki izolat seçerek Ters-Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi ile izolatların istenilen gen bölgelerini kısmi şekilde çoğaltmışlar, klonlamışlar ve dizilemişlerdir. Moleküler karakterizasyon sonucunda CMV izolatlarının gen bankasında bulunan diğer dünya izolatları ile %77-98 nükleotit ve %82-100 arasında amino asit, TuMV izolatlarının ise %80-94 nükleotit ve %90-98 arasında amino asit seviyesinde benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Korkmaz, vd., (2020), Türkiye genelinde araştırmalar yaparak ve çoğu Brassicaceae familyasına ait olan kışlık sebzeler ve bazı yabancı otlardan toplam 437 semptomatik örnek toplamışlardır. DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri ile toplanan örnekleri TuMV'nin varlığı açısından testlemişlerdir. Testlenen 437 örnekten 117 tanesinin TuMV ile enfekteli olduğunu bulmuşlardır. Enfekteli 117 örnek içerisinden 20 tane izolat seçerek biyolojik ve moleküler karakterizasyonları için ayrıca analiz etmişlerdir. Biyolojik indeksleme çalışmaları sonucunda, Türk TuMV izolatlarında TuMV'yi enfekte eden iki konukçu tipi olan, B ve BR'yi tanımlamışlardır. Bu izolatların NIb+CP gen bölgesinin kısmi genomik dizilerini belirlemişlerdir. Filogenetik analiz sonucunda Türk izolatlarının bazal-B, Asya-BR ve world-B gruplarına girdiğini göstermişlerdir. Türk izolatlarının bazal-B, Asya-BR ve world-B soy gruplarındaki evrimsel çeşitlilik değeri nükleotit düzeyinde sırasıyla 0,0026, 0,0134 ve 0,0065 olarak, amino asit düzeyinde ise sırasıyla 0,0243, 0,0102 ve 0,0129 olarak belirlemişlerdir.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tezde yapılan çalışmalar temel olarak 2 aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada Karanfil ve Korkmaz (2019)'ın Manisa ve İzmir illerinden topladıkları TuMV ile enfekteli olduğu daha önceden tespit edilen bamya bitkileri içerisinden toplam 6 izolat seçilmiştir. Seçilen bu izolatlarda total nükleik asit izolasyonu yapılarak, izolatların NIb+CP (Nuclear Inclusion b+Coat Protein) genleri RT-PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. Agaroz jel elektroforez sonuçlarına göre seçilen 3 izolat sekanslanarak sahip oldukları gen dizilimleri çıkarılmıştır. Gerçekleştirilen bu analizleri takiben, dizilemesi yapılan izolatların dünya izolatları ile göstermiş oldukları benzerlik ve filogenetik ilişkilerine göre aralarından bir izolat seçilmiştir. Çalışmanın son aşamasında ise seçilen bu izolatın tüm genom analizi için 5 farklı primer çifti ile bamya TuMV izolatının tüm genomu çoğaltılmış ve daha sonra sekanslanarak sahip olduğu gen dizilimleri ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen TuMV tüm genom dizilimleri kullanılarak bamya TuMV izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile göstermiş olduğu sekans benzerlikleri ve farklılıklarının yanında filogenetik ve evrimsel ilişkileri de ortaya konmuştur.

3.1. Virüs İzolatları

Bu çalışmada kullanılan izolatlar Karanfil ve Korkmaz (2019)'ın Manisa ve İzmir illerinde bamya üretim alanlarından topladıkları TuMV ile enfekteli olduğu daha önceden tespit edilen izolatlar arasından 6 tanesi tesadüfi olarak seçilmiştir.

3.2. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.1. NIb+CP Genine Göre Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları

Moleküler karakterizasyon çalışması TuMV izolatların NIb+CP genine göre yapılmıştır. Çalışmaya önce moleküler karakterizasyonları gerçekleştirilecek olan izolatların belirlenmesiyle başlanılmıştır. Bu amaçla ilk olarak seçilen 6 TuMV izolatının NIb+CP geni RT-PCR ile amplifiye edilmiş ve agaroz jel elektroforezi sonuçlarına göre 3 tanesi

seçilmiştir. Seçilen izolatlara ait RT-PCR ürünleri saflaştırılarak hizmet alımı yolu ile sekanslanmıştır. Sekans verileri kullanılarak TuMV izolatlarının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile göstermiş oldukları ilişkiler incelenmiştir. Gerçekleştirilen bu ilk aşama moleküler karakterizasyon çalışması tüm genom dizilimi belirlenecek olan izolatın seçimi amacı ile yapılmıştır. Çalışmanın son aşamasında ise seçilen izolatın tüm genom dizilimi belirlenerek dünyadaki diğer TuMV izolatları ile göstermiş olduğu benzerlik ve filogenetik ilişkileri belirlenmiştir.

Total Nükleik Asit İzolasyonu

TuMV ile enfekteli olduğu daha önceden belirlenmiş olan ve bu örnekler arasından seçilen izolatlara Li, vd., (2008)'nin önerileri dikkate alınarak CTAB metodu ile total nükleik asit izolasyonu yapılmıştır. İlk olarak seçilen bu örneklerden 1 g tartılarak, 2 µl DDT + 1 ml CTAB buffer porselen havanlar içine eklenerek örneklerin ezilmesi ile başlanmıştır. İzolasyon solüsyonunu içeren karışım ve ezilen bitki örnekleri steril eppendorf tüplere aktarılarak 1 dk boyunca vortekslenme işlemi gerçekleştilerek -20°C'de 30 dk beklemeye bırakılmıştır. Bekleme süresinin sonunda donan homojenizat çözülünceye kadar vortekslenme işlemine devam edilmiştir. Bu homojenizatın çözülmesinden sonra örnekler 65°C'de 30 dk beklemeye bırakılarak her 5 dk bir vortekslenmiştir. Bu sürenin ardından eppendorf tüpler 12.000 rpm'de 6 dk boyunca santrifüj işlemi yapılmıştır. Santrifüj işleminden sonra homojenizatın supernatant kısmından 500 µl alınarak yeni tüplere aktarılmıştır. Üzerine eşit hacimde 24:1 oranında hazırlanan kloroform: izoamilalkol ilave edilerek ve tüpler alt üst edilerek, 12.000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen supernatanttan 250 µl alınarak yeni tüplere eklenmiştir. Üzerine 175 µl soğuk izopropanol ilave edilerek pipetleme işlemi gerçekleştirilmiş ve 12.000 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Eppendorf tüplerindeki pelet kısmına zarar vermeden, supernatant kısmı dökülmüştür. Eppendorf tüplerinde kalan pelet 1000 µl %70'lik etil alkol ile iki defa yıkama işlemi yapılmıştır. Her yıkamadan sonra 12.000 rpm'de santrifüj yapılarak, etil alkol temizlenmiştir. Alkolün tamamen tüplerden temizlenmesi için oda sıcaklığında yaklaşık 5-10 dk arasında tüpler kurumaya bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda pelet 50 µl Tris-HCI (20 nM, pH: 8) ile çözülme işlemi yapılmıştır. Elde edilen total nükleik asitler kullanılıncaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) Çalışmaları

RT-PCR yöntemi TuMV ile infekteli olduğu saptanan 6 izolat üzerinden gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma kapsamında RT-PCR analizinin uygulanmasındaki amaç, izolatlardaki TuMV enfeksiyonunun belirlenmesi değil daha önceden TuMV ile infekteli olduğu tespit edilen izolatlardaki TuMV'nin NIb+CP genlerinin sekanslama aşaması için amplifikasyonunun sağlanmasını oluşturmaktadır. Bu amaçla ilk olarak TuMV ile infekteli olduğu belirlenen izolatlarda total nükleik asit izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen total nükleik asitler kullanılarak, seçilen 6 izolatın RT-PCR ile TuMV NIb+CP genlerinin amplifikasyonu sağlanmıştır.

RT Aşaması

Denatürasyon Aşaması

Denatürasyon aşamasına ilk olarak mikro PCR tüplerini etiketleme ile başlanmıştır. Daha sonra etiketlenen PCR tüplerinde, örneklere ait 2 µl total RNA, 3 µl steril su, 0.5 µl random primer ve 0.5 µl dNTP'den oluşan 6 µl denatürasyon karışımı hazırlanmıştır. 65°C'de yaklaşık 5 dk boyunca thermal cycler'de bekletilen bu karışımın denatürasyon işlemi yapılmıştır. Daha sonra 2 dk boyunca buzda bekletilen örneklerin denatürasyon aşaması gerçekleştirilmiştir.

Ters Transkripsiyon Aşaması (RT)

Bu aşamada ise denatüre işlemi gerçekleştirilen RNA'lardan cDNA'ların sentezi yapılmıştır. 6 µl denatürasyon karışımına RNase inhibitör'den 0.5 µl, 5X Prime Script Buffer (50 mM Tris HCl pH: 8.3, 75 mM KCl, 3 mM MgCl2)'dan 2 µl, 0.5 µl Prime Script Reverse Transcriptase ve 1 µl random primer ilave edilerek RT karışım hazırlanmıştır. PCR makinası, 30°C'de 10 dk, 42°C'de 45 dk, 70°C'de 15 dk ve +4°C'de sonsuz şekilde muhafaza edilecek şekilde hazırlanmıştır ve cDNA'ların sentezlenmesi sağlanmıştır.

PCR Aşaması (Amplifikasyon)

Sentezlenen cDNA'ların çoğaltılması için PCR karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan bu karışımda 10X PCR Buffer (50 mM KCl, 10 mM Tris HCl 25ºC pH: 9.0, %1 Triton X-100)'dan 2.5 µl, 1 µl 10 mM dNTP karışımından, 0.5 µl TUNIP17P ve CP8M primer çiftlerinin her birinden, 15.75 µl steril su ve 0.25 µl Taq polimeraz enziminden ilave edilerek elde edilmiştir (Tablo 2). Etiketlenen PCR tüplerine 5 µl cDNA ve hazırlanan PCR karışımı eklenmiştir. Elde edilen bu karışım 94°C'de 3 dk, 40 defa tekrarlanan 94°C'de 30 sn, 55°C'de 30 sn ve 72°C'de 30 sn, 72°C'de 5 dk daha sonra da +4°C'de sonsuz şekilde muhafaza edilecek şekilde programlanan PCR makinesine konularak TuMV NIb+CP geninin çoğaltılması sağlanmıştır.

Tablo 2
RT-PCR yönteminde kullanılan primer çifti

Kod	Primer Dizisi	Sense	Spesifik Geni	Referans
TUNIP17P	5' TGG TTY ATG TCG CAC CAA GG 3'	İleri	NIb+ CP (1178 bç)	Karanfil ve Korkmaz (2019)
CP8M	5' TCC GTG TTC TCT ACC GTT GT 3'	Geri		

Agaroz Jel Elektroforezi

Elde edilen RT-PCR ürünleri 100-5000 bç DNA büyüklük markörleri ile birlikte 100 voltta %1'lik agaroz jel elektroforezinde, 45 dk boyunca ayrıştırılıp EtBr ile boyanmıştır. Daha sonra Major Science UV jel görüntüleme cihazında TuMV NIb+CP genlerine ait 1178 bç'ye karşılık gelen bandlar fotoğraflanmıştır. Agaroz jel elektroforezi sonuçlarına göre en parlak band veren 3 izolatın RT-PCR ürünleri seçilerek saflaştırma aşamasına geçilmiştir.

PCR Ürünlerinin Saflaştırılması

Seçilen izolatlara ait TuMV NIb+CP genlerinin RT-PCR ürünlerinin pürifiye edilmesi için EZ Column PCR saflaştırma kiti kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda pürifiye işlemi yapılmıştır. İlk olarak 25 µl RT-PCR ürününe 60 µl Binding I buffer ilave edilmiş ve tamamı EZ kolona aktarılarak oda sıcaklığında 2 dk boyunca beklemeye bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda 2 dk boyunca 10.000 rpm'de santrifüj işlemi yapılmıştır. Alt kısmı boşaltılan kolonun, 500 µl yıkama solüsyonu ilave edilerek 2 dk boyunca 10.000 rpm'de santrifüj işlemi yapılmıştır. Bu yapılan işlem bir kez daha tekrarlanarak 500 µl yıkama solüsyonu ilave edilerek 2 dk boyunca 10.000 rpm'de santrifüj işlemi yapılmıştır. Alt kısmı boşaltılan kolon tekrardan 10.000 rpm'de 1 dk boyunca boş bir şekilde santrifüje tabi tutularak kurutulması sağlanmıştır. EZ colomun alt kısmına örnek numaraları yazılarak 1.5 ml eppendorf tüpler konulmuş ve elution solüsyondan 25 µl kolonun içerisine eklenmiş ve oda sıcaklığında 2 dk boyunca beklemeye bırakılmış, daha sonra 2 dk boyunca 10.000 rpm'de santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Tüplerde biriktirilen son ürünler pürifiye edilen TuMV NIb+CP genini içeren RT-PCR ürünlerinin sahip olduğu gen dizilimleri hizmet alımı ile sanger sekanslama metodu ile olacak şekilde BM Labosis firması tarafından belirlenmiştir.

3.2.2. Biyoinformatik Analizler

Seçilen izolatların agaroz jel elektroforezindeki numaraları dikkate alınarak büyükten küçüğe olacak şekliyle izolatlara CNKOkraa (3 numaralı izolat), CNKOkrab (4 numaralı izolat) ve CNKOkrac (5 numaralı izolat) olacak şekilde isimlendirilerek çoklu dizi ve filogenetik analizlerde kullanılmıştır.

Çoklu Dizi Analizleri

İzmir ve Manisa illerinden bamya üretim alanlarından alınan TuMV izolatlarının oluşturduğu DNA dizileri CLC Main Work Bench V.7.9.1 programında Clustal W ile çoklu

nükleotit ve amino asit dizi karşılaştırmaları sonucunda TuMV izolatlarının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile göstermiş oldukları benzerlik oranları nükleotit ve amino asit seviyesinde ortaya çıkarılmıştır. İlk olarak Clustal W ile CLC Main Work Bench V.7.9.1 programı ile TuMV NIb+CP geninin nükleotit ve amino asit dizileri hizalanmıştır. Clustal W ile CLC Main Work Bench V.7.9.1 programı ile ayrıca bulunan yüzde benzerlik hesaplama aracı ile TuMV izolatlarının dünyadaki diğer TuMV izolatları (Tablo 3) ile göstermiş oldukları benzerlik oranları hesaplanmıştır. Sequence Demarcation Tool Version 1.2 (SDTv1.2) programı kullanılarak elde edilen bu benzerlik oranları renklendirilmiş matris olarak da elde edilmiştir (Muhire, vd., 2014).

Filogenetik Analizler

TuMV izolatlarının nükleotit ve amino asit seviyesinde NIb+CP gen dizilimleri kullanılarak elde edilen filogenetik analizler için de Clustal W ile bulunan çoklu dizi karşılaştırma dosyaları ile Kiamura iki parameter algoritması uygulanan UPGMA ve neighbour-joining yöntemleri ile filogenetik soy ağaçları elde edilmiştir. 1000 tekrarlı bootstrap analizi elde edilen soy ağacının istatistiki olarak doğruluğunu ortaya çıkarmak için uygulanmıştır.

İzmir ve Manisa illerinden bamya üretim alanlarından toplanan TuMV izolatlarının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile NIb+CP genine göre benzerlik oranları ve genetik ilişkileri belirlenmiştir.

Tablo 3
Çoklu dizi ve filogenetik karşılaştırmalarda kullanılan dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları

Orjin	**İzolat**	**Konukçu**	**Erişim Numarası**
Yunanistan	GRC42	*Allium* sp.	AB252117
Yunanistan	GRC43	Vahşi *Allium* sp.	AP017756
Yunanistan	GRC39	Lahana	AP017840

Tablo 3'ün devamı

İtalya	ITA1A	*Brassica ruvo*	AB701720
İtalya	ITA8	*Abutilon* sp.	AB701725
İtalya	Cal1	Aynısefa	AB076518
İtalya	ITA2	Şebboy çiçeği	AB701721
Türkiye	TUR242	Roka	AP017815
Türkiye	TUR10	Turp	AP017864
Türkiye	TUR9	Turp	AB362513
Türkiye	TUR77	Turp	AP017884
Türkiye	TUR20	Yabani turp	AP017867
Almanya	OMA	Asker salebi	AB701691
Almanya	OM	Asker salebi	AB701690
Almanya	ORM	Gelincik salebi	AB701692
Almanya	OS	Salep püskülü	AB701693
Almanya	DEU4	Marul	AB701701
Çin	HRD	Turp	AB093627
Çin	CH6	Turp	AB179888
Çin	BJ-B01	Lahana	KC119185
İran	IRNTKE	Bülbül otu	AP017797
İran	IRNRkaraj	Şalgam otu	AP017784
İran	IRNMB6	*Brassica rapa*	AP017773
İran	IRNTOFS6	Bülbül otu	AP017801
İran	IRNTOFS3	Bülbül otu	AP017800
İran	IRNCV1	*Mattiola* sp.	AP017752
İran	IRNTuSh18	*Brassica rapa*	AP017808
İran	IRNS1	Bülbül otu	AP017788
İran	IRNRN6	*Rapistrum rugosum*	AP017785
İran	IRNRaNi3	*Rapistrum rugosum*	AP017780
İran	IRNKhCa	Karnabahar	AP017770
Japonya	KWB779J	*Brassica rapa*	AB252125
Avustralya	AUST21	Nadas turpu	AB989637

Tablo 3'ün devamı

Vietnam	VIET58	Hardal otu	AB747288
Vietnam	VIET80	Turp	AB747293
Çek Cumhuriyeti	CZE5	*Brassica rapa*	AB188916
Danimarka	DNK3	*Brassica rapa*	AB701703
Polonya	CAR51	Yaban turpu	HQ637383
Polonya	CAR37A	Yaban turpu	DQ648591
Rusya	RUS1	Yaban turpu	AB093606
Brezilya	BZ1	*Brassica oleracea*	AB093611

3. 3. Tüm Genom Analizleri

Tüm genom dizilimi belirlenecek olan izolatın seçimi NIb+CP gen bölgelerine göre gerçekleştirilen benzerlik ve filogenetik analiz sonuçları göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Bu bağlamda her 3 izolatında birbirleri ile oldukça benzer ve çok yakın ilişkili bulunmasından dolayı tesadüfi olarak CNKOkrab izolatı seçilmiştir. Gerçekleştirilen analizlerde seçilen bu izolat CNKOkra olarak isimlendirilmiş ve genom analizlerinde bu isimle kullanılmıştır.

TuMV genom dizilimi daha önce gerçekleştirildiği için yeni bir izolatın tüm genomunun dizilenmesinde daha önce gerçekleştirilen genom dizilimi kullanılarak gen bankasındaki tüm genoma ait diziler ile karşılaştırmaları sonucunda bu izolatların korunmuş bölgelerine özgün 5 primer çifti (Tablo 4) ile TuMV'nin tüm genomu Shevchenko, vd., (2018)'nin belirttiği şekilde bazı modifikasyonlar gerçekleştirilerek ortaya çıkarılmıştır. Bu amaçla materyal ve yöntem başlığı altında verilen "3.2. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları" başlığı altındaki RT-PCR aşamaları tekrar edilerek TuMV izolatının tüm genomu primerler ile bağlantılı olarak 5 parça halinde çoğaltılmıştır. PCR aşamasında sadece extension aşamasında her 1.000 bç için süre 1 dk olacak şekilde kullanılmıştır. Her bir gen bölgesi için RT-PCR testleri 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TuMV tüm genomuna ait amplifikonların sahip oldukları gen dizilimleri yeni nesil dizileme teknolojisi kullanılarak hizmet alımı ile FicusBio Teknoloji şirketi tarafından belirlenmiştir.

Elde edilen DNA dizileri CLC Genomic Workbench programında bulunan ContigAssembly Modülüyle analizi yapılarak TuMV tüm genomuna ait DNA dizisi elde edilmiştir. Bu genom dizilimleri gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatlarının tüm genomları ile çoklu dizi ve filogenetik analizleri nükleotit ve amino asit temelli olarak yapılmıştır.

Tablo 4

Tüm genom kapsamında kullanılan primer çiftleri

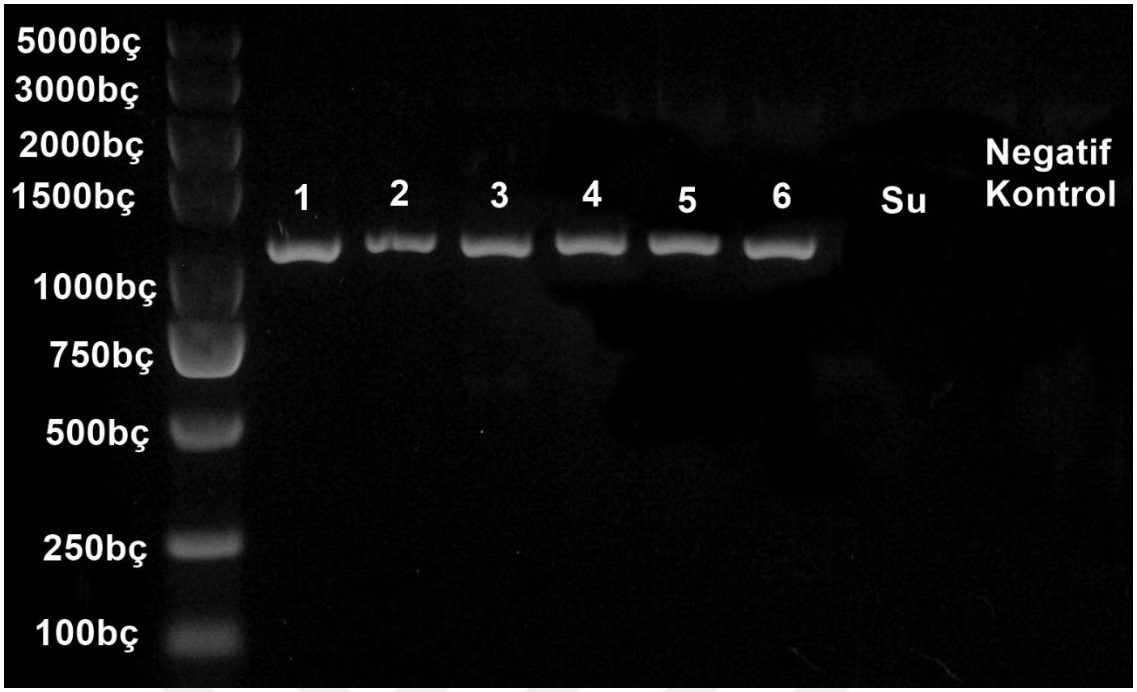
Primer kodu	**Lokus**	**Sekans**	**Ürün büyüklüğü (bç)**	**Referans**
Tu5T4P	1–26	AAAAATATAAAAACTCAACATAACAT	3230	Shevchenk, vd., 2018
TuP3OP1M	3209– 3230	CGCTGTATCTGCCGCCTAAATC		
TuKA1HC11P	1835–1854	TTCATATGGGGTGAGAGAGG	1898	
Tu596K17M	3713–3732	TCTGCGTCAAACATCATGAG		
TuP3OP1P	3092–3113	CARAT CTTGGACGAAGCATGGA	3008	
TuVPG8M	6077–6099	TCAA ATCCATACATGTTGATGAA		
Tu59CI9P	5609–5628	GTGCTTGARGGAGCRAAGTC	1691	
TuNI B14M	7280–7299	ACYGTGTGCTTYGTCACAAG		
Tu59NIA3P	7164–7184	GCAARCTAATMTCAGACCTYG	2621	
Tu3T9M	9835-polyA	GGGG CGGCCGCT15		

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları

4.1.1. NIb+CP Genine Göre Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu RT-PCR Analizleri

Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen total nükleik asit izolasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. NIb+CP genlerinin RT-PCR analizleri için TuMV ile enfekteli olduğu bilinen 6 örnek üzerinden çalışmalar yürütülmüştür. Bu 6 izolatın NIb+CP gen bölgeleri spesifik primer çiftleri ile çoğaltılmıştır. TuMV NIb+CP genine karşılık gelen 1178 bç büyüklüğünde band oluşumu gözlemlenmiştir. Su örneği ve negatif kontrolde ise herhangi bir band oluşumu gözlemlenmemiştir (Şekil 3). NIb+CP gen bölgeleri PCR yöntemi ile çoğaltılan izolatlar içerisinden seçilen üç izolatın hizmet alımı ile gerçekleştirilen sekans dizileri çift yönlü olarak elde edilmiştir. Sekans dizileri elde edilen TuMV izolatlarının (3, 4 ve 5 numaralı izolatlar) nükleotit ve amino asit dizileri kendi içlerinde ve dünya TuMV izolatları ile benzerlik ve filogenetik açıdan karşılaştırılarak tüm genom dizisi belirlenecek bir adet TuMV izolatının seçimi için RT-PCR çalışmaları yapılmıştır.



Şekil 3. RT-PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmesi sonucunda oluşan band görüntüleri (M:100-5000 bç marker; 1, 2, 3, 4, 5, 6: Şalgam mozaik virüsü ile enfekteli izolatlara ait numaralar).

Ülkemizde yapılan benzer bir çalışmada Karanfil ve Korkmaz (2019: 83), İzmir ve Manisa illerinden elde ettikleri bamya TuMV izolatlarının NIb+CP geninin RT-PCR analizini gerçekleştirmişlerdir. RT-PCR analizi sonucunda seçilen bu izolatların 1178 bç uzunluğunda ve hedef gen bölgelerine karşılık gelen ürünler elde ettiklerini bildirmişlerdir.

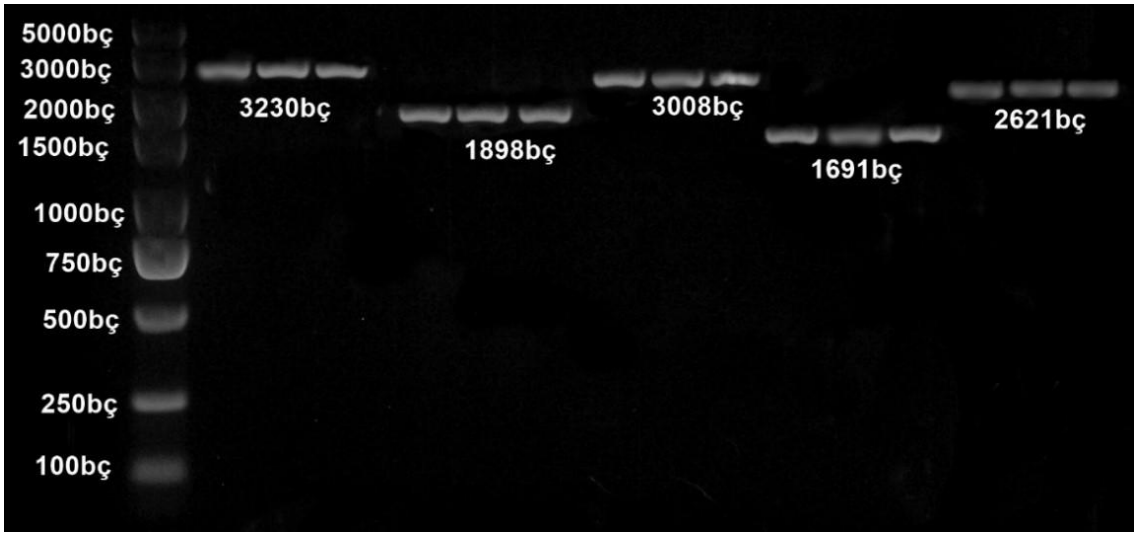
Korkmaz, vd., (2020: 564), tarafından ülkemizde gerçekleştirilen başka bir çalışmada da; TuMV ile enfekteli izolatların moleküler karakterizasyon çalışmaları sonucunda NIb+CP bölgesine karşılık gelen 1178 bç uzunluğunda bandlar elde etmişlerdir.

Gerçekleştirilen çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile bizim bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar RT-PCR yöntemi ile şalgam mozaik virüsü'nün güvenilir bir şekilde belirlendiğini göstermektedir.

4.1.2. Tüm Genom Analizleri

İlk aşama olan NIb+CP genine göre yapılan nükleotit ve amino asit seviyesindeki benzerlik analizleri CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatları üzerinden yürütülmüştür. 2. aşama olan tüm genom analizlerinde ise bu 3 izolat birbirleri ile %99'un üzerinde bir benzerlik gösterdiği için bundan sonraki benzerlik ve filogenetik çalışmalarında CNKOkrab izolatı seçilerek CNKOkra olarak isimlendirilmiştir. Tüm çalışmalar CNKOkra üzerinden yürütülmüştür.

Moleküler karakterizasyon çalışmalarını takiben seçilen bir adet TuMV izolatının tüm genom dizilimi, korunmuş bölgelerine özgün 5 primer çifti ile Sheychenko, vd., (2018)'nin belirttiği şekilde bazı modifikasyonlar gerçekleştirilerek ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen TuMV tüm genom sekans dizileri, benzerlik ve filogenetik ilişkilerinin ortaya çıkarılmasında kullanılmıştır. Tüm genom çalışmaları kapsamında seçilen bir adet TuMV izolatına yapılan RT-PCR çalışması sonuçlarında istenilen band büyüklüklerinin elde edildiği tespit edilmiştir. Tu5T4P ve TuP3OP1M için 3230 bç uzunluğunda, TuKA1HC11P ve Tu596K17M için 1898 bç uzunluğunda, TuP3OP1P ve TuVPG8M için 3008 bç uzunluğunda, Tu59CI9P ve TuNI B14M için 1691 bç uzunluğunda, Tu59NIA3P ve Tu3T9M için 2621 bç uzunluğunda TuMV tüm genomuna ait istenilen band uzunlukları elde edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Şalgam mozaik virüs izolatlarının tüm genom PCR sonuçlarını gösteren jel fotoğrafı.

4.2. NIb+CP Genlerinin Dizi Analizleri

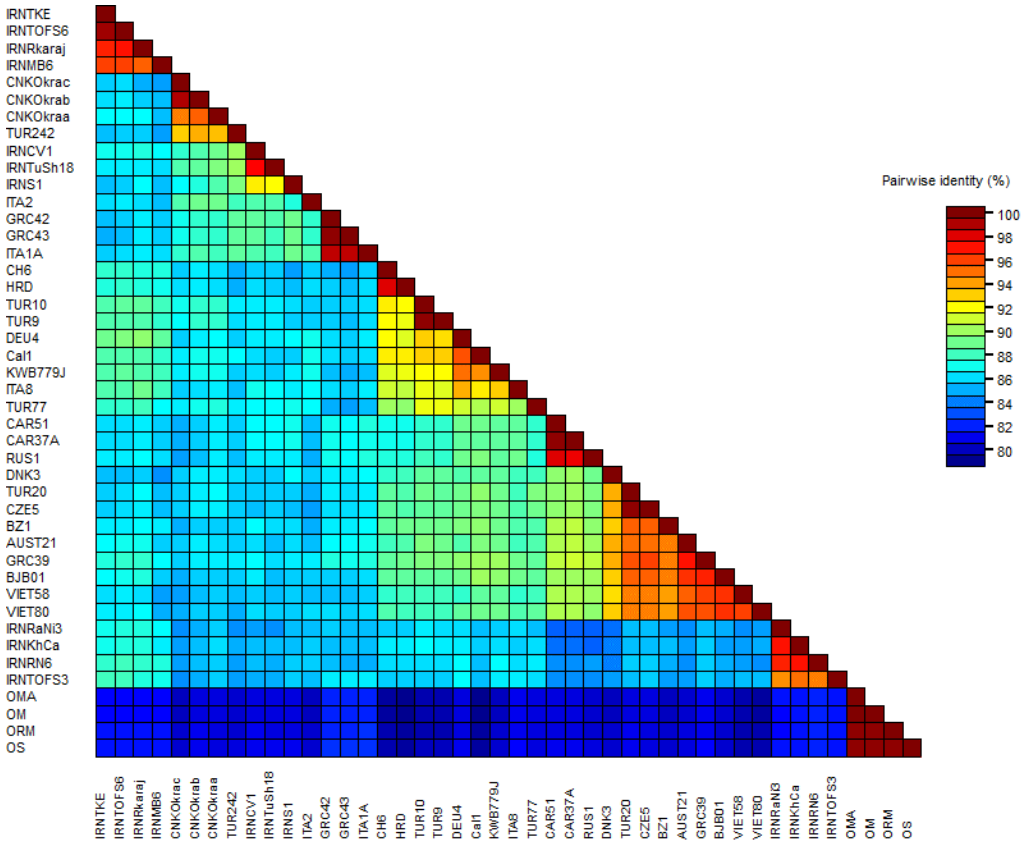
Gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda gen bankasında bulunan dünyadaki diğer TuMV izolatlarının NIb+CP genlerinin karşılaştırılmasında 1178 bç'lik bölgenin tamamı kullanılmıştır. TuMV izolatlarının kendi içlerinde ve gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile nükleotit ve amino asit temelli karşılaştırılmalarında gen bankasında NIb+CP bölgesine ait veriler alınarak gerçekleştirilmiştir.

4.2.1. Nükleotit ve Amino Asit Dizi Analizleri

Çalışmalar kapsamında TuMV bamya izolatının nükleotit ve amino asit temelli kendi içlerinde ve dünyadaki diğer TuMV izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları gerçekleştirilen çoklu dizi analizleri sonucunda belirlenmiştir. Elde edilen bu benzerlik oranları Sequence Demarcation Tool Version 1.2. (SDTv1.2) programı ile renklendirilmiş matris olarak elde edilmiştir.

CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac TuMV izolatlarının nükleotit ve amino asit temelli kendi içlerinde sırasıyla %98 ve %99'un üzerinde benzerlik gösterdikleri görülmüştür (Şekil 5 ve 6).

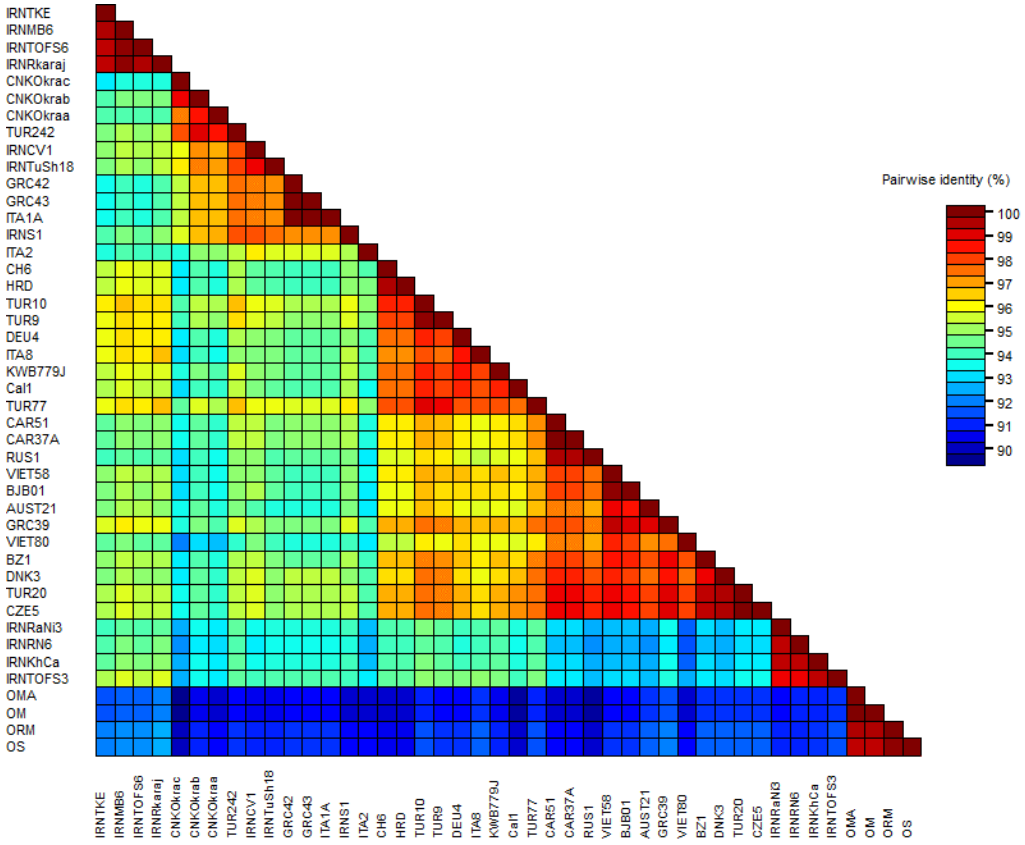
Benzerlik analizlerinde tüm izolatlar dikkate alındığında benzerlik oranının %80-100 arasında olduğu görülmüştür. CNKOkraa, CNKOrab ve CNKOkrac izolatlarının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında ise NIb+CP genine göre nükleotit seviyesinde %80-94 arasında bir benzerlik gösterdikleri saptanmıştır. En yüksek benzerliği %94 oranında TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile göstermiştir. En düşük benzerliği ise %80 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb+CP geninin nükleotit dizilimlerine göre kendi içlerinde ve dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

Benzerlik analizlerinde tüm izolatlar dikkate alındığında %90-100 arasında bir benzerlik oranı olduğu görülmüştür. CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatlarının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile ilişkilerine bakıldığında ise NIb+CP genine göre amino asit seviyesinde %90-99 arasında bir benzerlik gösterdikleri belirlenmiştir. En

yüksek benzerliği %99 oranında TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı arasında olduğu görülmüştür. İkinci en yüksek benzerliği ise %97 oranında IRNCV1 isimli AP017752 erişim numaralı İran izolatı ile gösterdiği belirlenmiştir. En düşük benzerliği ise %90 oranında OMA, OM isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691 ve AB701690 olan Almanya izolatları ile gösterdiği görülmüştür (Şekil 6).



Şekil 6. Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb+CP geninin amino asit dizilimlerine göre kendi içlerinde ve dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

Karanfil ve Korkmaz (2016: 193), yaptıkları çalışmada CKO1 türk izolatının nükleik asit dizilimlerine göre gen bankasındaki diğer şalgam mozaik virüsü izolatları ile karşılaştırmışlardır. Karşılaştırmaları sonucunda CKO1 izolatının nükleotit seviyesinde %88-93 benzerlik aralığına sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır.

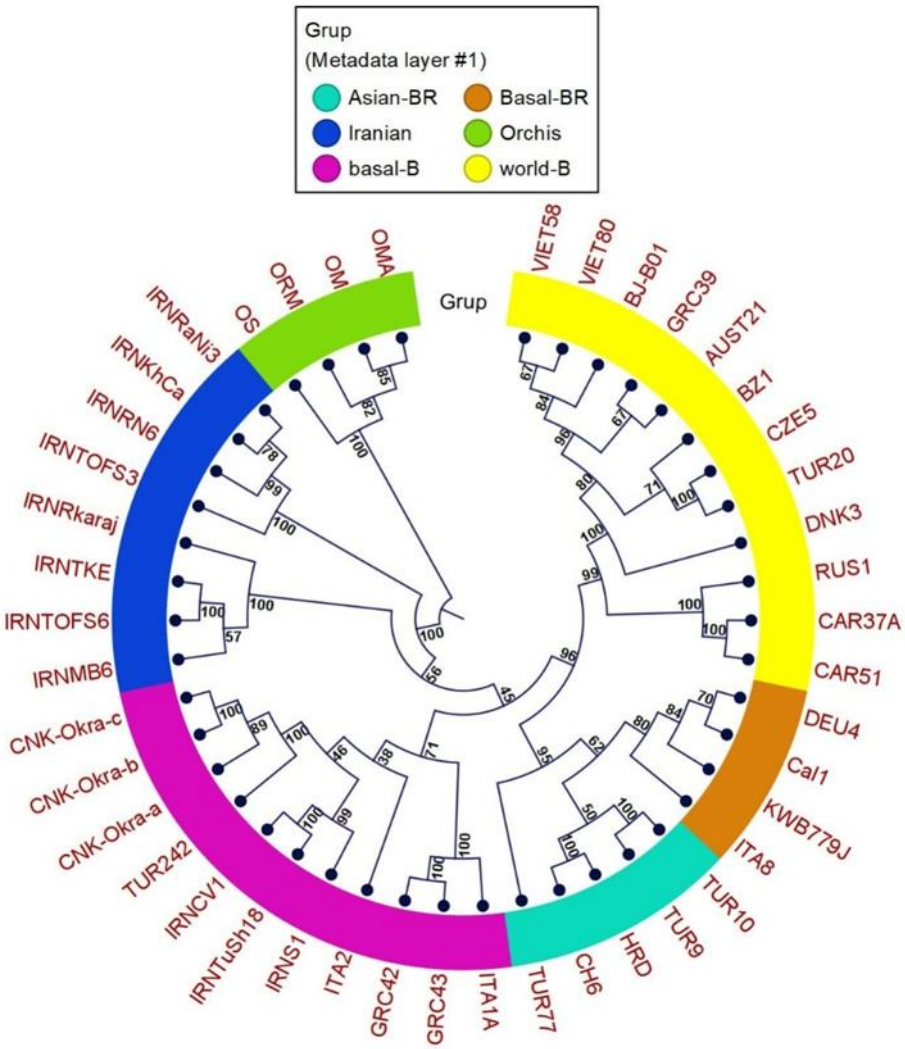
Korkmaz, vd., (2020: 564), tarafından ülkemizde gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, Türk TuMV izolatlarının NIb+CP geninin nükleotit ve amino asit bazlı çoklu dizi

karşılaştırması sonucunda Türk TuMV izolatların dünyaki diğer TuMV izolatları ile %83-100 nükleotit ve %90-100 arasında amino asit seviyesinde benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bizim bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ile daha önceden yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar birbirini destekler niteliktedir.

4.2.2. NIb+CP Genlerinin Filogenetik Analizleri

TuMV izolatlarının filogenetik soy ağacının saptanması için gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatlarının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla NIb+CP geninin nükleotit düzeyinde biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Orchis grubunda 4 izolat, Iranian grubunda 8 izolat, Asian-BR grubunda 5 izolat, basal-BR grubunda 4 izolat, world-B grubunda 12 izolat, basal-B grubunda ise 11 izolat bulunmaktadır. CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac TuMV izolatlarının ise basal-B grubunda yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb+CP geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

NIb+CP geninin nükleotit dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik soy ağacı incelendiğinde Orchis grubunda; OS, ORM, OMA ve OM isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB701693, AB701692, AB701691 ve AB701690 olan Almanya izolatları, Iranian grubunda; IRNMB6, IRNTOFS6, IRNTKE, IRNRkaraj, IRNTOFS3, IRNKhCa ve IRNRaNİ3 isimli ve erişim numaraları sırasıyla AP017773, AP017801, AP017797, AP017784, AP017800, AP017770 ve AP017780 olan İran izolatları, Asian-BR grubunda; TUR9, TUR10 ve TUR77 isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB362513, AP017864 ve AP017884 olan Türkiye izolatları, CH6 ve HRD isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB179888 ve AB093627 olan Çin izolatları, basal-BR grubunda; ITA8 ve Cal1 isimli ve

erişim numaraları sırasıyla AB701725 ve AB076518 olan İtalya izolatları, KWB779J isimli AB252125 erişim numaralı Japonya izolatı ve DEU4 isimli AB701701 erişim numaralı Almanya izolatı, world-B grubunda; VIET58 ve VIET80 isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB747288 ve AB747293 olan Vietnam izolatları, BJ-B01 isimli KC119185 erişim numaralı Çin izolatı, GRC39 isimli AP017840 erişim numaralı Yunanistan izolatı, AUST21 isimli AB989637 erişim numaralı Avustralya izolatı, BZ1 isimli AB093611 erişim numaralı Brezilya izolatı, CZE5 isimli AB188916 erişim numaralı Çek Cumhuriyeti izolatı, TUR20 isimli AP017867 erişim numaralı Türkiye izolatı, DNK3 isimli AB701703 erişim numaralı Danimarka izolatı, RUS1 isimli AB093606 erişim numaralı Rusya izolatı, CAR51 ve CAR37A isimli ve erişim numaraları sırasıyla HQ637383 ve DQ648591 olan Polonya izolatları bulunurken, basal-B grubunda ise TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı, IRNCV1, IRNTuSh18, IRNS isimli ve erişim numaraları sırasıyla AP017752, AP017808, AP017788 olan İran izolatları, ITA2, ITA1A isimli erişim numaraları sırasıyla AB701721, AB701720 olan İtalya izolatları ve GRC42, GRC43 isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB252117, AP017756 olan Yunanistan izolatları ve son olarak ülkemizden elde edilen izolatlar bulunmaktadır.

Ülkemizde yapılan benzer bir çalışmada Karanfil ve Korkmaz (2019: 83), İzmir ve Manisa illerinde bamya üretim alanlarından elde ettikleri bamya TuMV izolatlarının NIb+CP geninin moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Elde ettileri dizi sonuçlarını, dünyadaki diğer TuMV izolatları ile filogenetik ilişkilerini belirlemek için kullanmışlardır. Gerçekleştirdikleri filogenetik analizler sonucunda bamya TuMV izolatlarının basal-B grubuna ait olduğunu bildirmişlerdir.

Karanfil ve Korkmaz (2016: 193-194), tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada da; kullandıkları CK01 izolatının NIb+CP genine ait nükleotit dizisine dayalı gerçekleştirilen filogenetik analizleri sonucunda izolatın genetik ilişkisini belirlemişlerdir. CK01 izolatının ve gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatlarının karşılaştırılması sonucunda üçü aynı anlama sahip olan “trichotomy” tipi dallanma oluştuğunu bildirmişlerdir. Filogenetik soy ağacında CK01 izolatının, TUR9 isimli AB362513 erişim numaralı yüksek oranda benzerlik gösterdiği türk izolatı ile aynı grup içinde yer aldığını bildirmişlerdir.

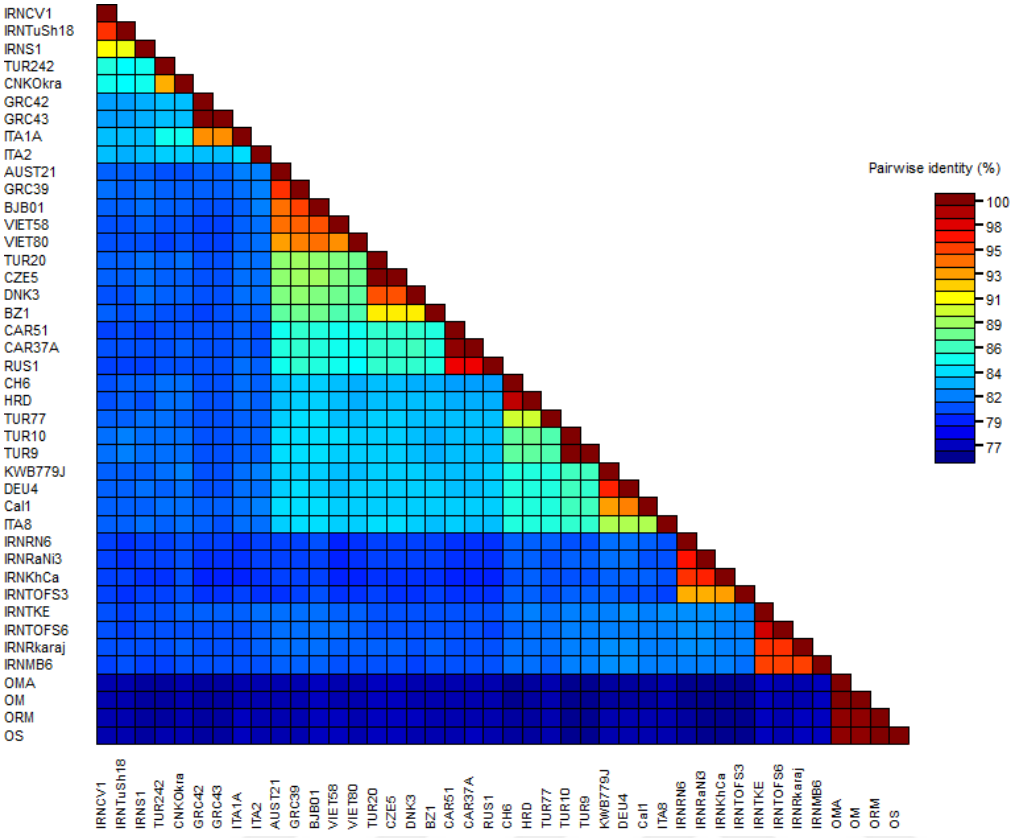
Korkmaz, vd., (2020: 559), tarafından yapılan bu çalışmada da çoğu Brassicaceae familyasına ait olan kışlık sebzelerden ve yabancı otlardan elde ettikleri TuMV izolatlarının biyolojik indeksleme çalışmaları sonucunda, Türk TuMV izolatlarında TuMV'yi enfekte eden 2 konukçu tipi olan B ve BR'yi tanımlamışlardır. Bu izolatların NIb+CP gen bölgesine göre gerçekleştirdikleri filogenetik analiz sonucunda ise Türk izolatlarının bazal-B, Asya-BR ve world-B gruplarına girdiğini belirtmişlerdir.

Gerçekleştirilen bu çalışmalar kapsamında elde edilen sonuçlar ile bu çalışmada bizim elde ettiğimiz sonuçlar birbirini destekler niteliktedir. Bununla birlikte aynı ülke içinde farklı filogenetik gruplara ait izolat varlıklarının da sıklıkla tespit edildiği belirlenmiştir.

4.3. TuMV Tüm Genom Dizileme Sonuçları

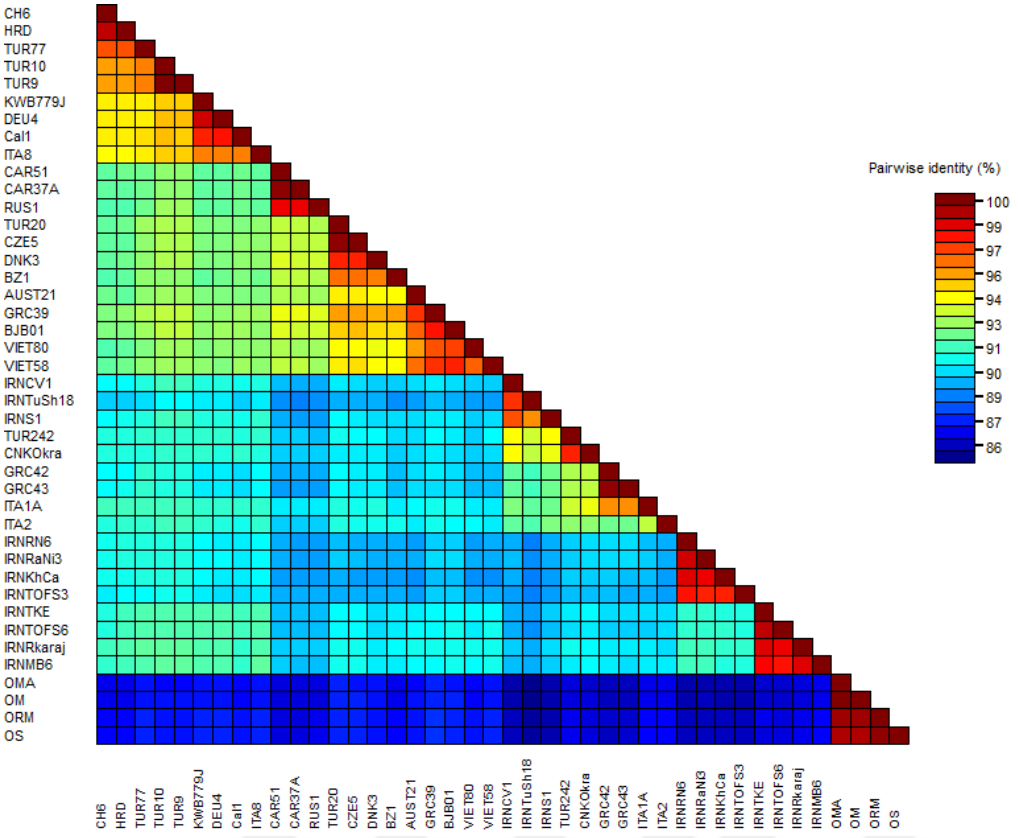
Çalışma kapsamında seçilen CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile benzerlik ilişkileri ortaya konmuştur.

Nükleotit temelli gerçekleştirilen benzerlik analizi sonucuna göre tüm izolatlar dikkate alındığında %77-100 arasında benzerlik oranı olduğu görülmüştür. Tüm genom dizilimlerine göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında ise izolatların %77-93 arasında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. CNKOkra izolatı TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %93 oranında en yüksek benzerliği gösterirken, en düşük benzerliği ise %77 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 erişim numaralı Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Şalgam mozaik virüs izolatlarının tüm genom nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

Amino asit düzeyinde benzerlik analizine göre tüm izolatlar incelendiğinde %86-100 arasında benzerlik oranı olduğu görülmüştür. Tüm genom dizilimlerine göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında ise izolatların %86-98 arasında bir benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. CNKOkra izolatı TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %98 oranında en yüksek benzerliği gösterirken, en düşük benzerliği ise %86 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 erişim numaralı Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. Şalgam mozaik virüs izolatlarının tüm genom amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

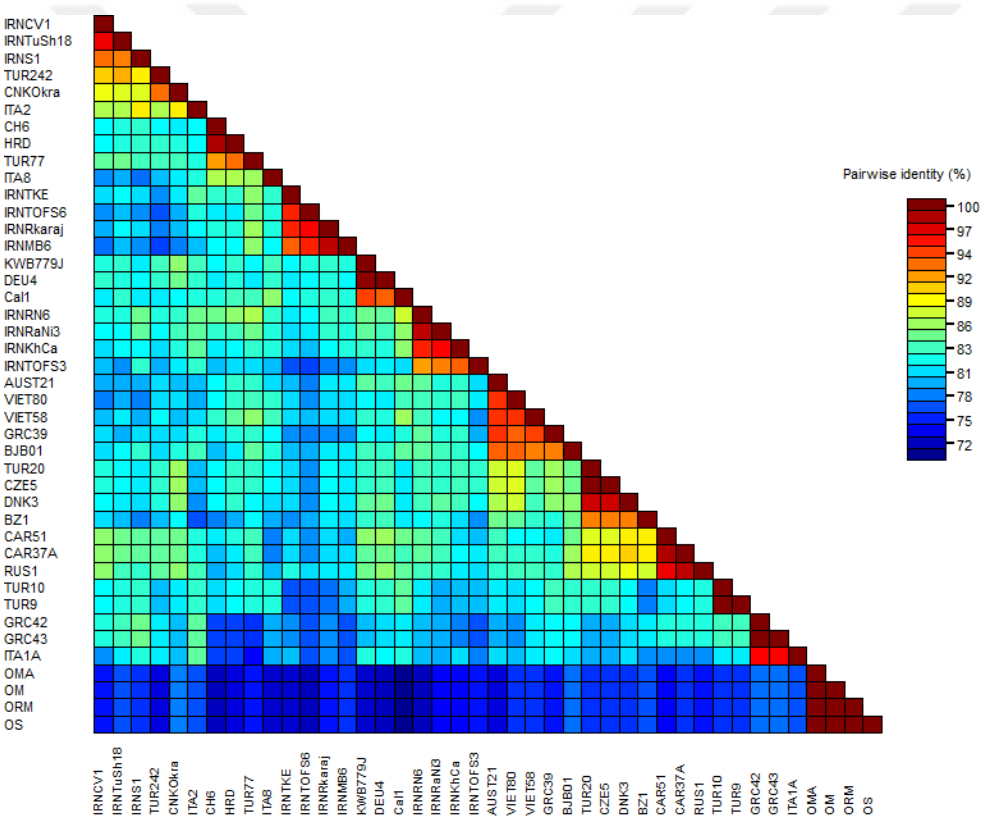
Kozubek, vd., (2007: 301) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Cochlearia armoracia* bitkisinden elde ettikleri TuMV izolatlarının tüm genom dizilerini ortaya çıkararak bu dizilerin karşılaştırmalarını gerçekleştirmişlerdir. CAR37 ve CAR37A olarak adlandırdıkları izolatların tüm genom karşılaştırmaları sonucunda %86,1 nükleotit ve %94,1 amino asit seviyesinde benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Wang, vd., (2009: 424), tarafından Çin'de gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise WFLB06 ve TANX2 TuMV izolatlarının tüm genom dizilerini belirleyerek karşılaştırmasını yapmışlardır. Tüm genom dizi karşılaştırmaları sonucunda izolatların %90,98 nükleotit ve %97,22 amino asit düzeyinde benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Gerçekleştirilen bu çalışmalar kapsamında elde edilen bulgular ile bu çalışmada bizim elde ettiğimiz bulgular birbiri ile paralellik göstermektedir.

4.3.1. 6K1 Geni Dizi Analizleri Sonuçları

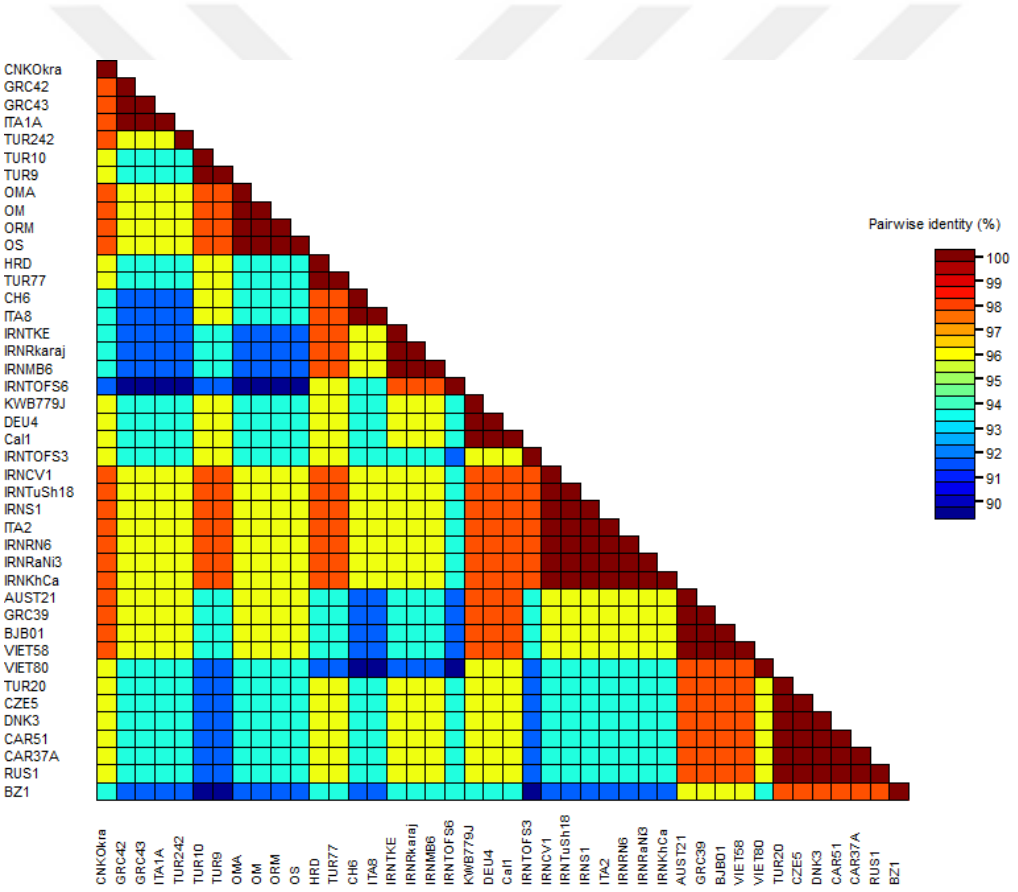
6K1 genine ait nükleotit temelli gerçekleştirilen benzerlik analizi sonucuna göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile farklı düzeylerde benzerlik gösterdikleri ve bu oranın %78-93 arasında olduğu belirlenmiştir. CNKOkra izolatının TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %93 oranında en yüksek benzerlik oranını gösterirken, en düşük benzerlik oranını ise %72 oranında IRNMB6 isimli AP017773 erişim numaralı İran izolatı ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 10).



Şekil 10. Şalgam mozaik virüs izolatlarının 6K1 geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

6K1 genine ait amino asit temelli yapılan benzerlik analizi sonucuna göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında izolatların %92-98 arasında bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. CNKOkra izolatının IRNCV1, IRNTuSh18, IRNS1, IRNRN6, IRNRaNİ3, IRNKhCa isimli erişim numaraları sırasıyla AP017752, AP017808, AP017788, AP017785, AP017780 ve

AP017770 olan İran izolatları, TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı, ITA1, ITA2 isimli erişim numaraları sırasıyla AB701720 ve AB701721 olan İtalya izolatları, GRC39, GRC42 ve GRC43 isimli erişim numaraları sırasıyla AP017840, AB252117 ve AP017756 olan Yunanistan izolatları, OMA, OM, ORM ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB70169, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları, BJ-B01 isimli KC119185 erişim numaralı Çin izolatı, AUST21 isimli AB989637 erişim numaralı Avustralya izolatı ve VIET58 isimli AB747288 erişim numaralı Vietnam izolatı ile %98 oranında en yüksek benzerliği göstermiştir. En düşük benzerliği ise %92 oranında IRNTOFS6 isimli AP017801 erişim numaralı İran izolatı ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 11).



Şekil 11. Şalgam mozaik virüs izolatlarının 6K1 geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

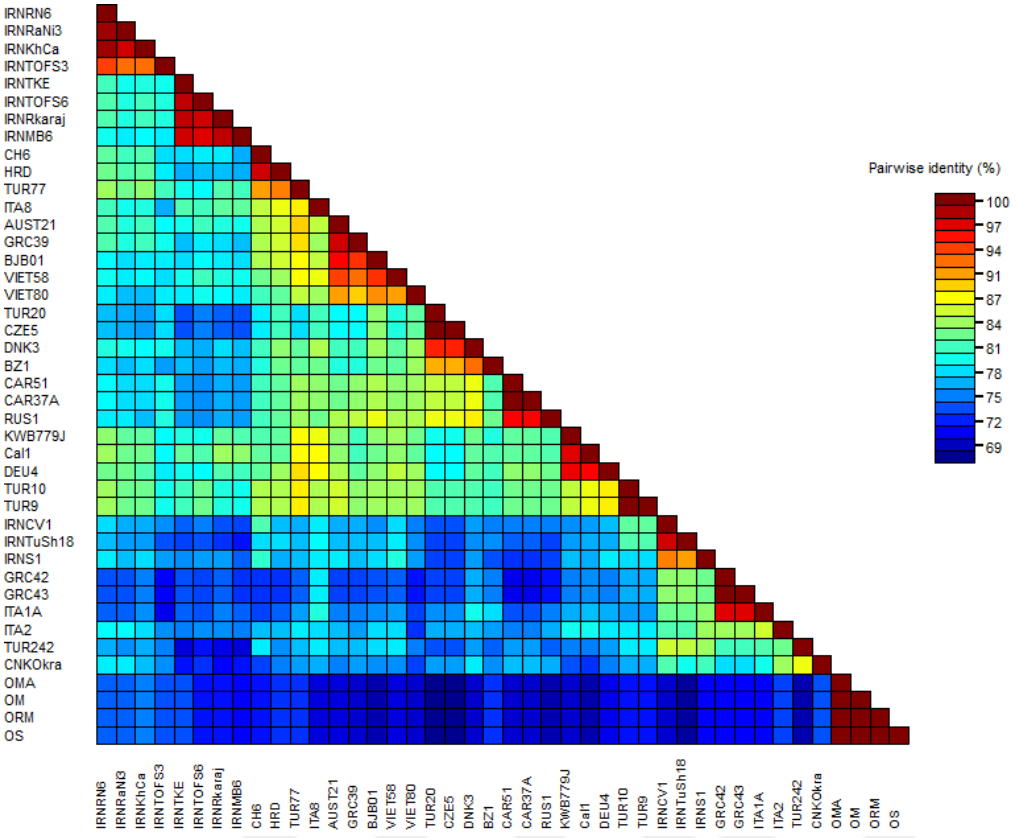
Kozubek, vd., (2007: 301) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Cochlearia armoracia* bitkisinden elde ettikleri TuMV izolatlarının tüm genom dizilerini ortaya çıkararak bu dizilerin karşılaştırmalarını gerçekleştirmişlerdir. CAR37 ve CAR37A olarak

adlandırdıkları izolatların tüm genom karşılaştırmaları sonucunda 6K1 genine göre %84,6 nükleotit ve %98,1 amino asit seviyesinde benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bizim bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ile daha önceden yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar birbirini destekler niteliktedir.

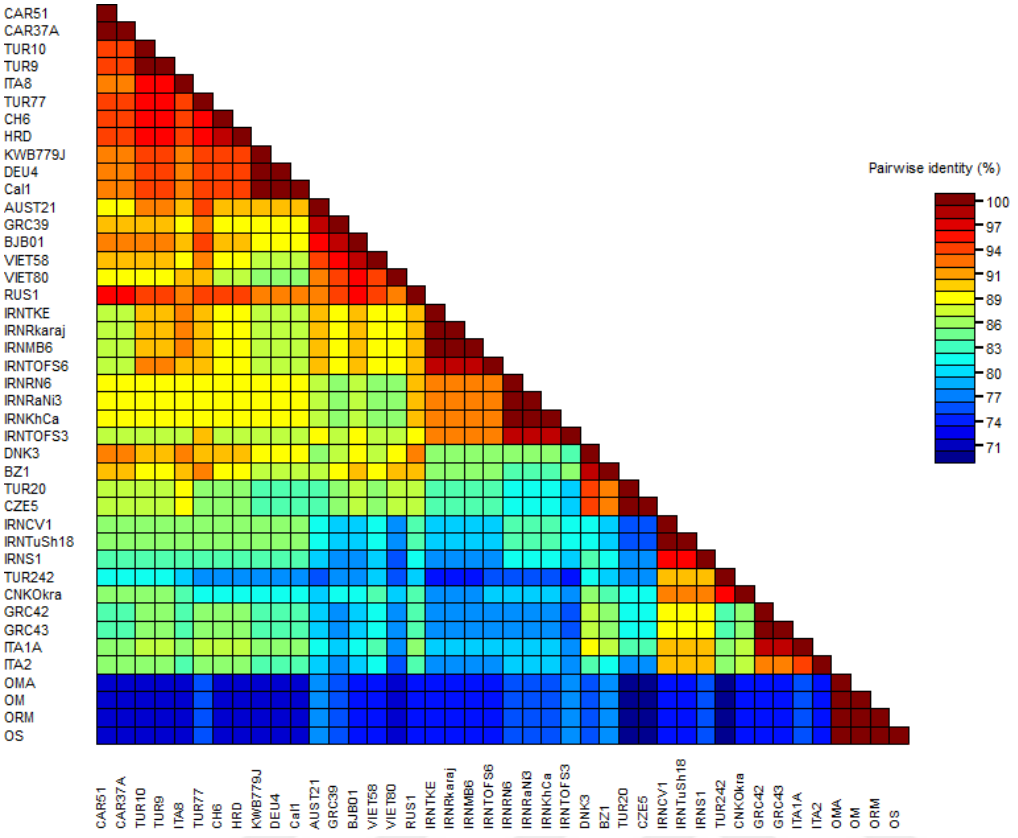
4.3.2. 6K2 Geni Dizi Analizleri Sonuçları

6K2 gen bölgesine göre nükleotit temelli gerçekleştirilen dizi analizlerinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında %72-87 arasında bir benzerliğe sahip olduğu görülmüştür. En yüksek benzerliği %87 oranında TUR242 isimli ve AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %72 oranında IRNTKE, IRNRkaraj ve IRNMB6 isimli ve erişim numaraları sırasıyla AP017797, AP017784 ve AP017773 olan İran izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 12).



Şekil 12. Şalgam mozaik virüs izolatlarının 6K2 geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

6K2 gen bölgesine göre amino asit temelli gerçekleştirilen dizi analizlerinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile %74-96 arasında bir benzerlik oranı olduğu görülmüştür. En yüksek benzerliği %96 oranında TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %74 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdiği saptanmıştır (Şekil 13).



Şekil 13. Şalgam mozaik virüs izolatlarının 6K2 geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

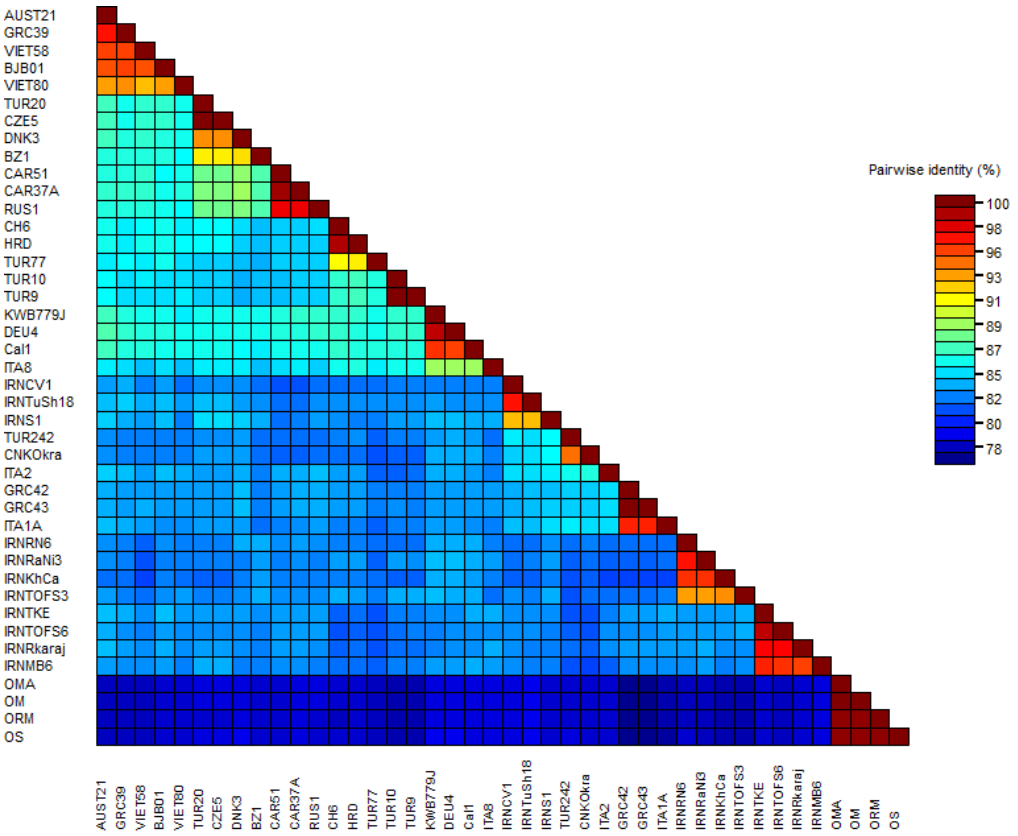
Kozubek, vd., (2007: 301) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Cochlearia armoracia* bitkisinden elde ettikleri TuMV izolatlarının tüm genom dizilerini ortaya çıkararak bu dizilerin karşılaştırmalarını gerçekleştirmişlerdir. CAR37 ve CAR37A olarak adlandırdıkları izolatların tüm genom karşılaştırmaları sonucunda 6K2 genine göre %86,8 nükleotit ve %94,3 amino asit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir.

Gerçekleştirilen çalışma kapsamında elde edilen bulgular ile bu çalışmada bizim elde ettiğimiz bulgular birbiri ile uyumlu olduğu görünmektedir.

4.3.3. CI Geni Dizi Analizleri Sonuçları

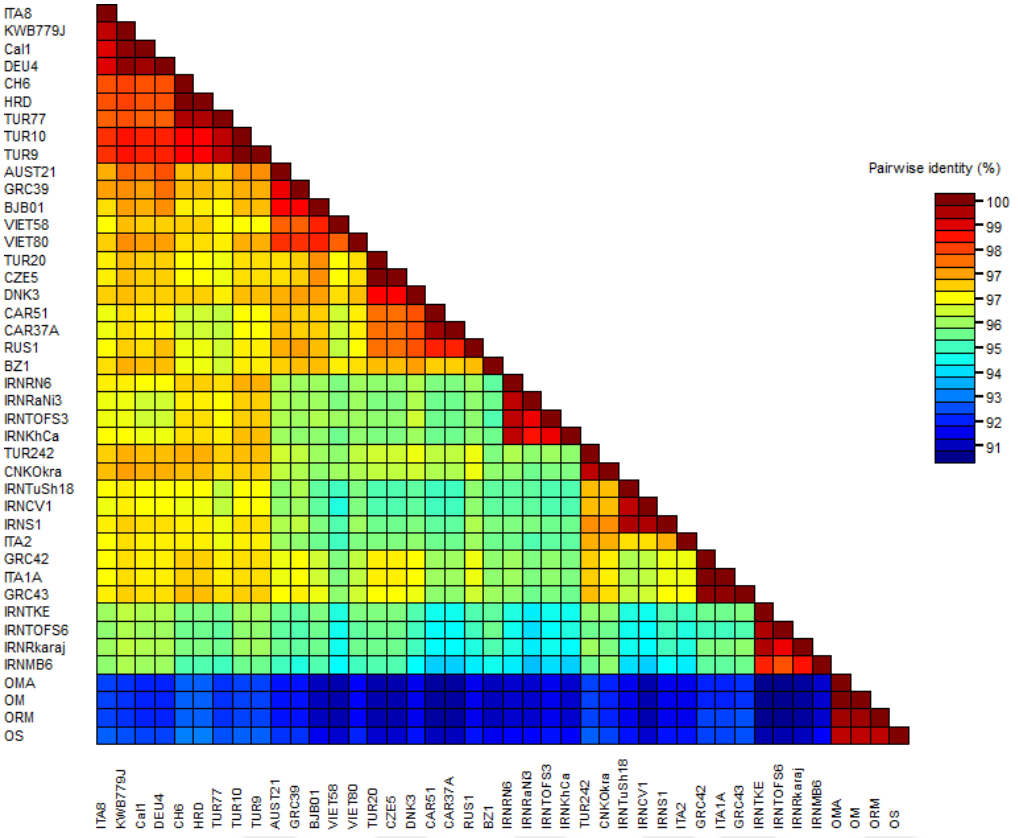
CI gen bölgesine göre nükleotit temelli gerçekleştirilen dizi analizlerinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında %78-94 arasında bir benzerlik gösterdiği görülmüştür. CNKOkra

izolatının TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %94 oranında en yüksek benzerliği gösterirken, en düşük benzerliği ise %78 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 14).



Şekil 14. Şalgam mozaik virüs izolatlarının CI geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

CI gen bölgesine göre amino asit temelli gerçekleştirilen dizi analizlerinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile ilişkilerine bakıldığında izolatların %92-99 arasında bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. CNKOkra izolatı TUR242 isimli ve AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %99 oranında en yüksek benzerliği gösterirken, en düşük benzerliği ise %92 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 15).



Şekil 15. Şalgam mozaik virüs izolatlarının CI geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

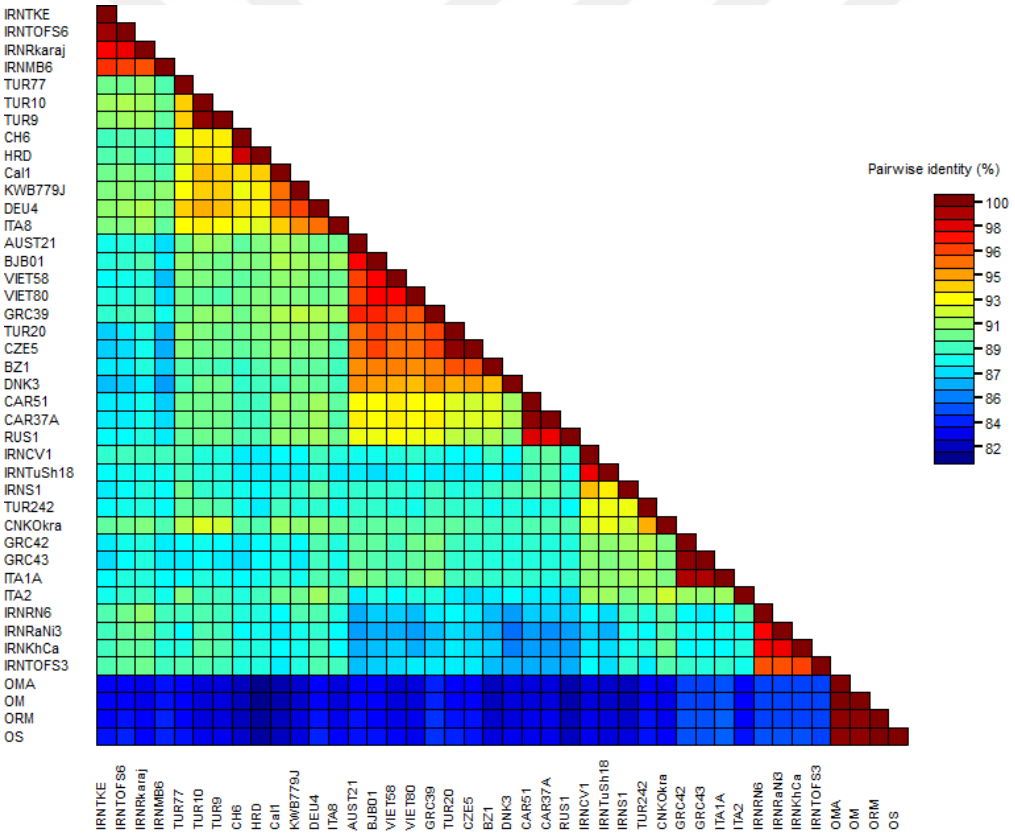
Kozubek, vd., (2007: 301) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Cochlearia armoracia* bitkisinden elde ettikleri TuMV izolatlarının tüm genom dizilerini ortaya çıkararak bu dizilerin karşılaştırmalarını gerçekleştirmişlerdir. CAR37 ve CAR37A olarak adlandırdıkları izolatların tüm genom karşılaştırmaları sonucunda CI genine göre %86,4 nükleotit ve %96,9 amino asit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir.

Singh, vd., (2015: 212), tarafından Hindistan'da gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise *Brassica* spp. elde ettikleri TuMV izolatlarının CI genine göre gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile %91-95 arasında nükleotit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bizim bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ile daha önceden yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar birbirini destekler niteliktedir.

4.3.4. CP Geni Dizi Analizleri Sonuçları

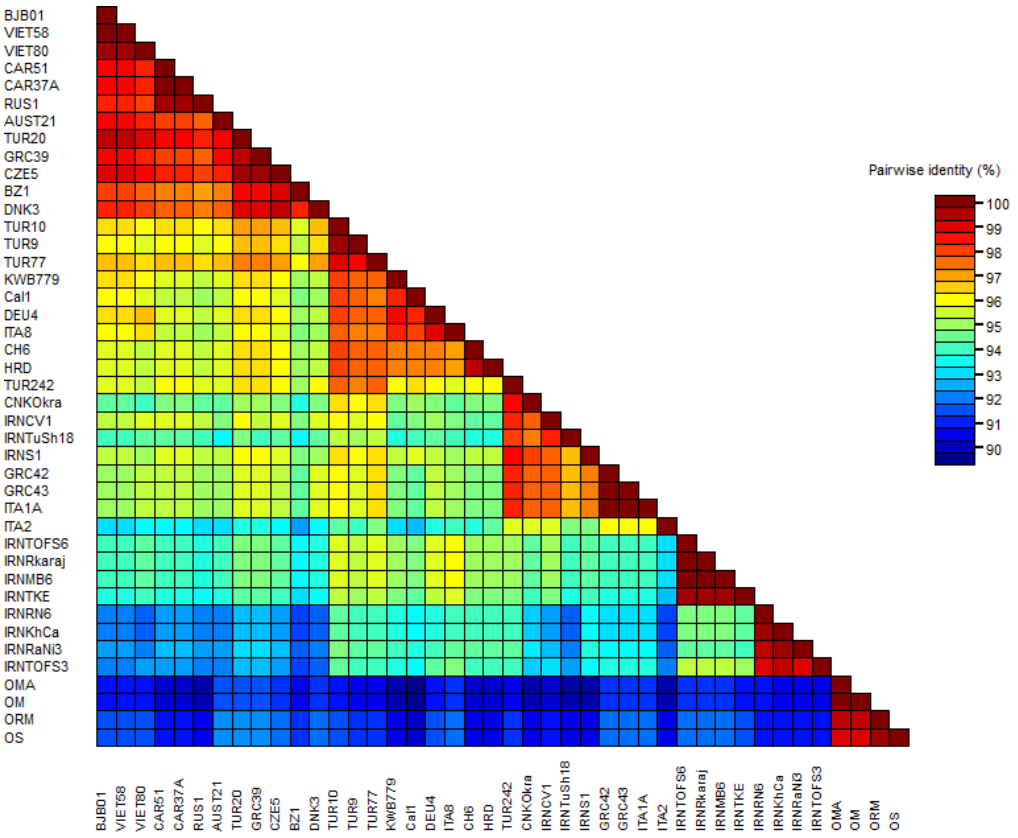
CP genine göre nükleotit temelli benzerlik analizinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında izolatların %83-95 arasında bir benzerlik gösterdiği görülmüştür. CNKOkra izolatının TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %95 oranında en yüksek benzerliği gösterirken, en düşük benzerliği ise %83 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692, AB701693 ve AB701691 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 16).



Şekil 16. Şalgam mozaik virüs izolatlarının CP geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

CP genine göre amino asit temelli benzerlik analizinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında izolatların %90-98 arasında bir benzerlik gösterdiği görülmüştür. CNKOkra izolatının

TUR242 isimli ve AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %98 oranında en yüksek benzerliği göstermiştir. En düşük benzerliği ise %90 oranında OMA ve OM isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB701691 ve AB701690 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 17).



Şekil 17. Şalgam mozaik virüs izolatlarının CP geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

Benzer bir çalışmada Korkmaz ve Çevik (2009: 141), tarafından ülkemizde gerçekleştirilmiştir. Çoğu Brassicaceae familyasına ait sebzeler olmak üzere ve bazı yabancı otlardan elde ettikleri TuMV izolatlarının CP genlerini, nükleotit ve amino asit temelli dünya izolatları ile karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda Türkiye TuMV izolatlarının nükleotit düzeyinde %86-96, amino asit düzeyinde ise %85-99 arasında bir benzerliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çin'de yapılan bir başka çalışmada ise TuMV-Ra izolatının kılıf protein gen bölgesi gen bankasında bulunan 20 TuMV turp izolatı ile nükleotit ve amino asit düzeyinde benzerlik oranlarını karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda TuMV-Ra

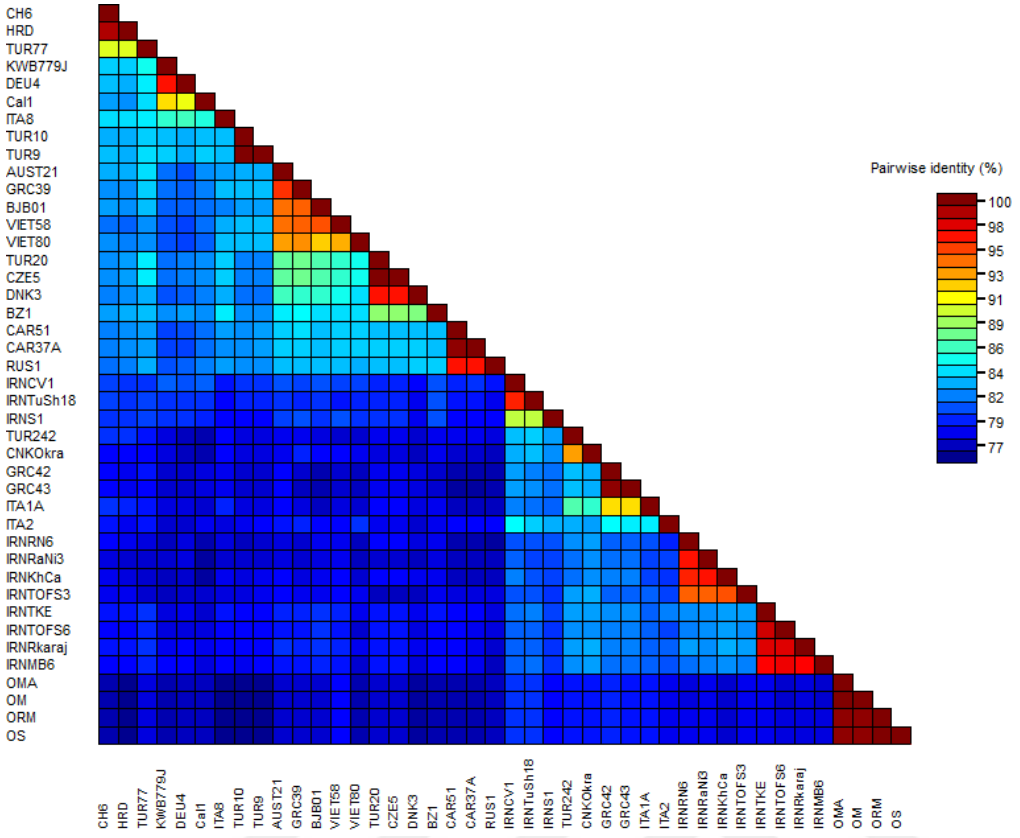
izolatının %89,9-99 nükleotit ve %94,8-99,7 arasında amino asit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir (Jinliang, vd., 2006).

Gera, vd., (2001: 1-2), tarafından İsrail'de gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise *Hibiscus esculentus* bitkisinden elde ettikleri TuMV izolatının, dünyada bulunan diğer TuMV izolatlarıyla CP genine ait nükleotit temelli benzerliğini karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda izolatın %97 oranında bir benzerlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

CP gen bölgesi ile ilişkili yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular birbirlerine çok yakın benzerlikler göstermektedir. Bu çalışmada da elde edilen sonuçlar dünyanın diğer ülkelerinde elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

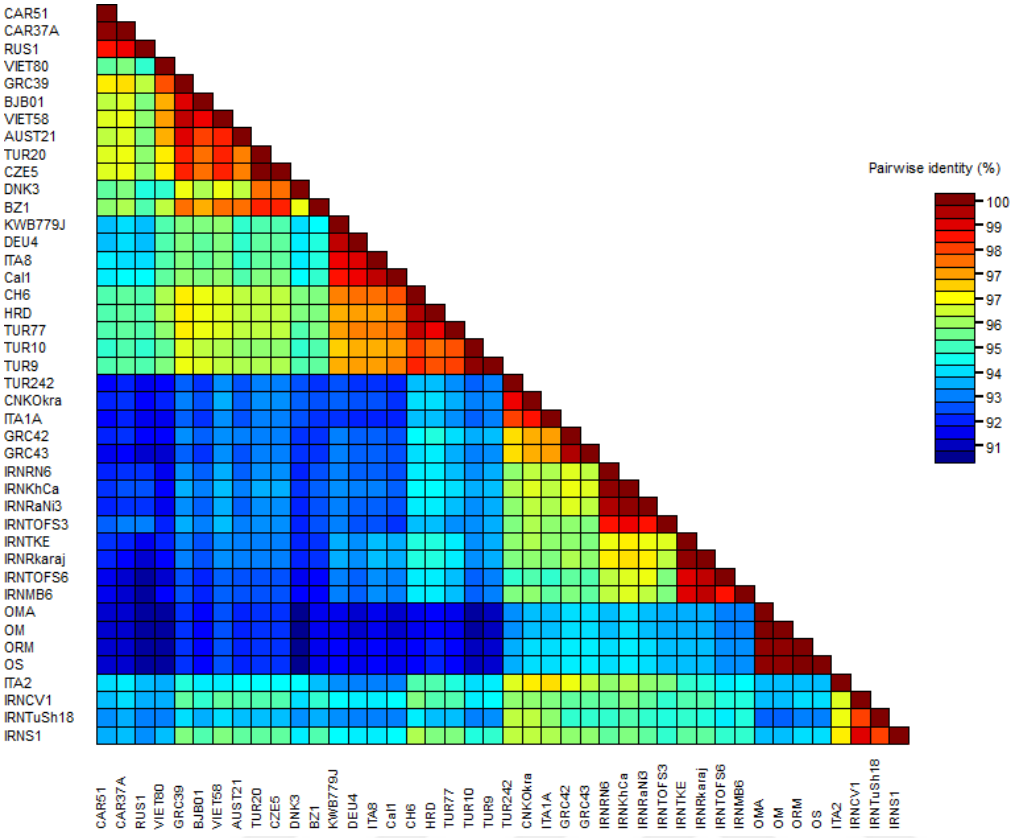
4.3.5. HC-Pro Geni Dizi Analizleri Sonuçları

HC-Pro genine göre nükleotit temelli benzerlik analizlerinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile %77-94 arasında bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. CNKOkra izolatının TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %94 oranında en yüksek benzerliği gösterirken, en düşük benzerliği ise %77 oranında Cal1 isimli AB076518 erişim numaralı İtalya izolatı ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 18).



Şekil 18. Şalgam mozaik virüs izolatlarının HC-Pro geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

Amino asit bazlı yapılan benzerlik analizinde HC-Pro genine göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile ilişkilerine bakıldığında izolatların %91-98 arasında bir benzerlik gösterdiği saptanmıştır. CNKOkra izolatının ITA1A isimli AB701720 erişim numaralı İtalya izolatı ile %98 oranında en yüksek benzerliği gösterdiği belirlenirken, en düşük benzerliği ise %91 oranında RUS1 isimli AB093606 erişim numaralı Rusya izolatı ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 19).



Şekil 19. Şalgam mozaik virüs izolatlarının HC-Pro geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

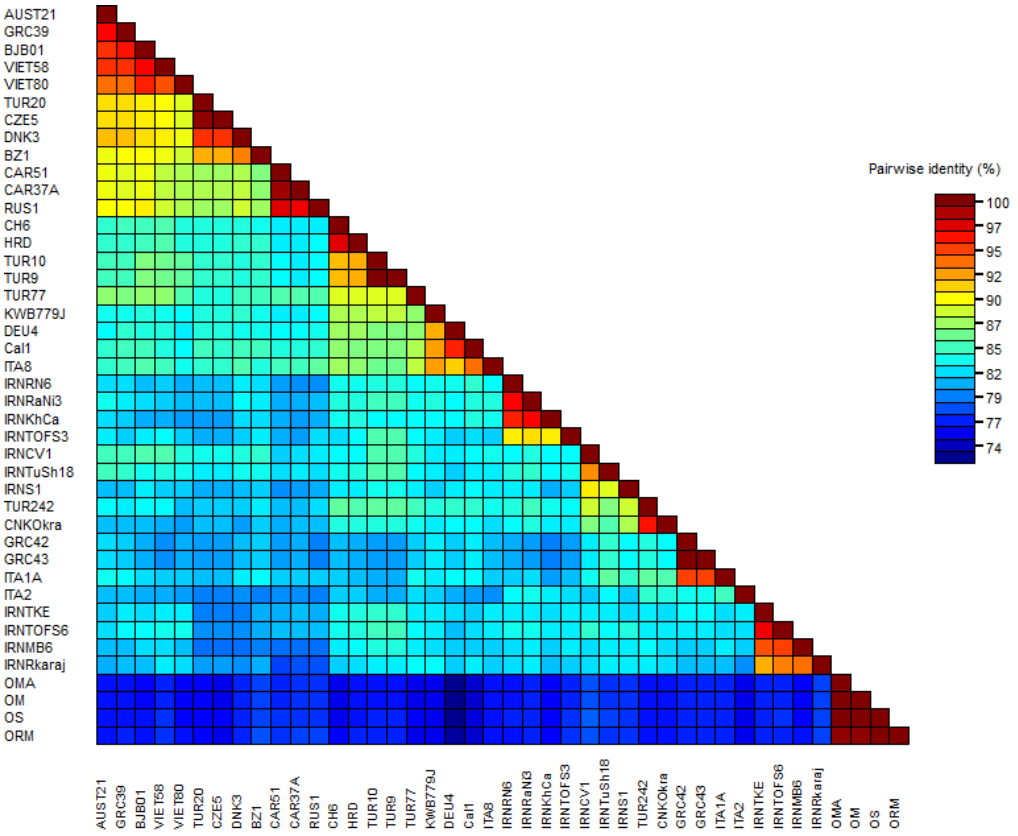
Kozubek, vd., (2007: 301) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Cochlearia armoracia* bitkisinden elde ettikleri TuMV izolatlarının tüm genom dizilerini ortaya çıkarmışlardır. CAR37 ve CAR37A olarak adlandırdıkları izolatların tüm genom karşılaştırmaları sonucunda HC-Pro genine göre %83,1 nükleotit ve %95,4 amino asit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bizim bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ile daha önceden yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar birbirleri ile paralellik göstermektedir.

4.3.6. NIa-Pro Geni Dizi Analizleri Sonuçları

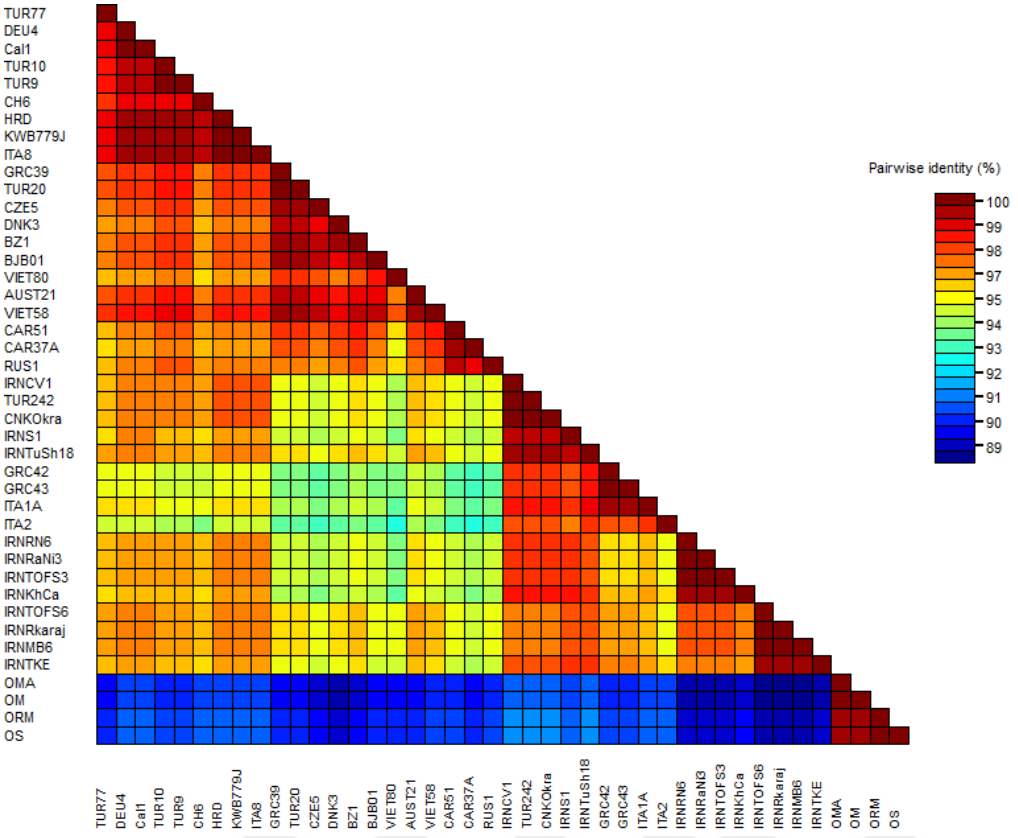
NIa-Pro genine göre nükleotit bazlı benzerlik analizinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında %76-96 arasında bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek benzerliği %96 oranında TUR242

isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %76 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 20).



Şekil 20. Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIa-Pro geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

NIa-Pro genine göre amino asit bazlı benzerlik analizinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında %91-100 arasında bir benzerlik gösterdiği görülmüştür. En yüksek benzerliği %100 oranında IRNCV1 ve IRNTuSh18 isimli erişim numaraları sırasıyla AP017752 ve AP017808 olan İran izolatları ve TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türk izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %91 oranında OMA ve OM isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691 ve AB701690 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 21).



Şekil 21. Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIa-Pro geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

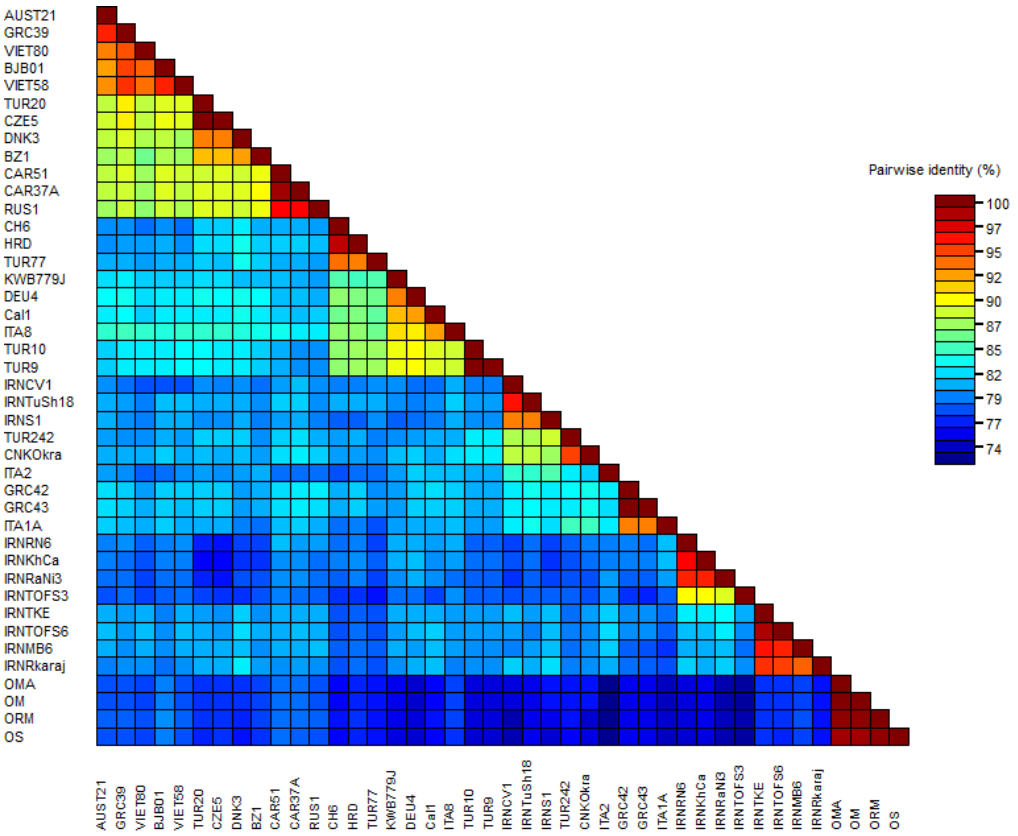
Kozubek, vd., (2007: 301) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Cochlearia armoracia* bitkisinden elde ettikleri TuMV izolatlarının tüm genom dizilerini ortaya çıkarmışlardır. CAR37 ve CAR37A olarak adlandırdıkları izolatların tüm genom karşılaştırmaları sonucunda NIa-Pro genine göre %88,9 nükleotit ve %97,9 amino asit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bu bağlamda bizim bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ile daha önceden yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar birbirini destekler niteliktedir.

4.3.7. NIa-VPg Geni Dizi Analizleri Sonuçları

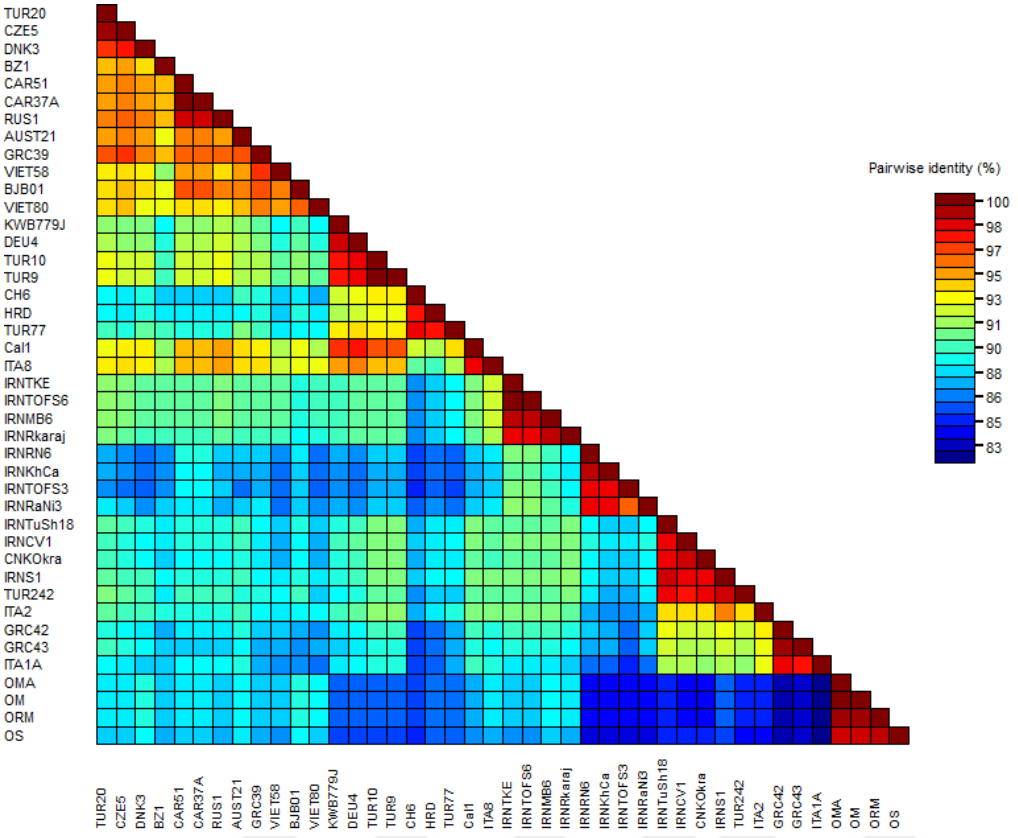
Nükleotit temelli yapılan benzerlik analizinde NIa-VPg genine göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile ilişkileri incelendiğinde %76-95 arasında bir benzerlik gösterdiği görülmüştür. CNKOkra izolatının TUR242 isimli

AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %95 oranında en yüksek benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir. En düşük benzerliği ise %76 oranında ORM ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 22).



Şekil 22. Şalgam mozaik virus izolatlarının NIa-VPg geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

Amino asit temelli yapılan benzerlik analizinde NIa-VPg genine göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile ilişkileri incelendiğinde %83-98 arasında bir benzerlik gösterdiği görülmüştür. CNKOkra izolatının IRNCV1 isimli AP017752 erişim numaralı İran izolatı ile %98 oranında en yüksek benzerliği gösterdiği belirlenmiştir. En düşük benzerliği ise %83 oranında OMA, OM ve ORM isimli AB701691, AB701690 ve AB701692 erişim numaralı Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 23).



Şekil 23. Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIa-VPg geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

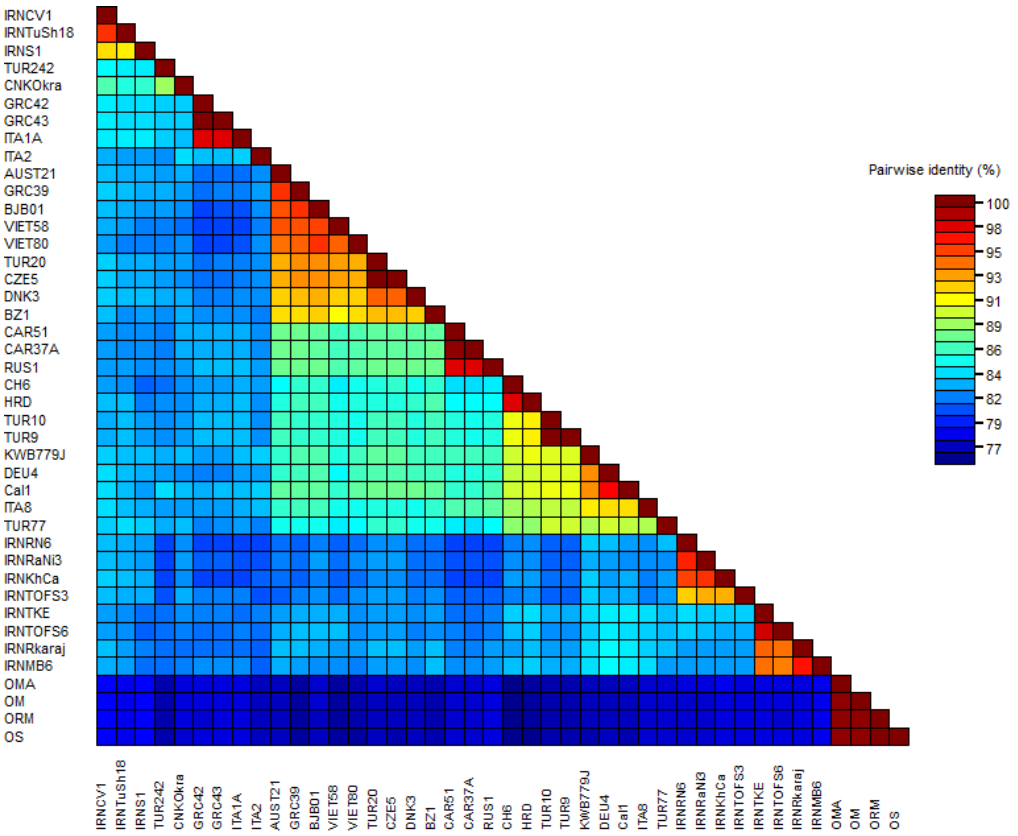
Kozubek, vd., (2007: 301) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Cochlearia armoracia* bitkisinden elde ettikleri TuMV izolatlarının tüm genom dizilerini ortaya çıkarmışlardır. CAR37 ve CAR37A olarak adlandırdıkları izolatların tüm genom karşılaştırmaları sonucunda NIa-VPg genine göre %87 nükleotit ve %94,3 amino asit benzerliği gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bizim elde ettiğimiz sonuçlar ile yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar birbiri ile paralellik göstermektedir.

4.3.8. NIb Geni Dizi Analizleri Sonuçları

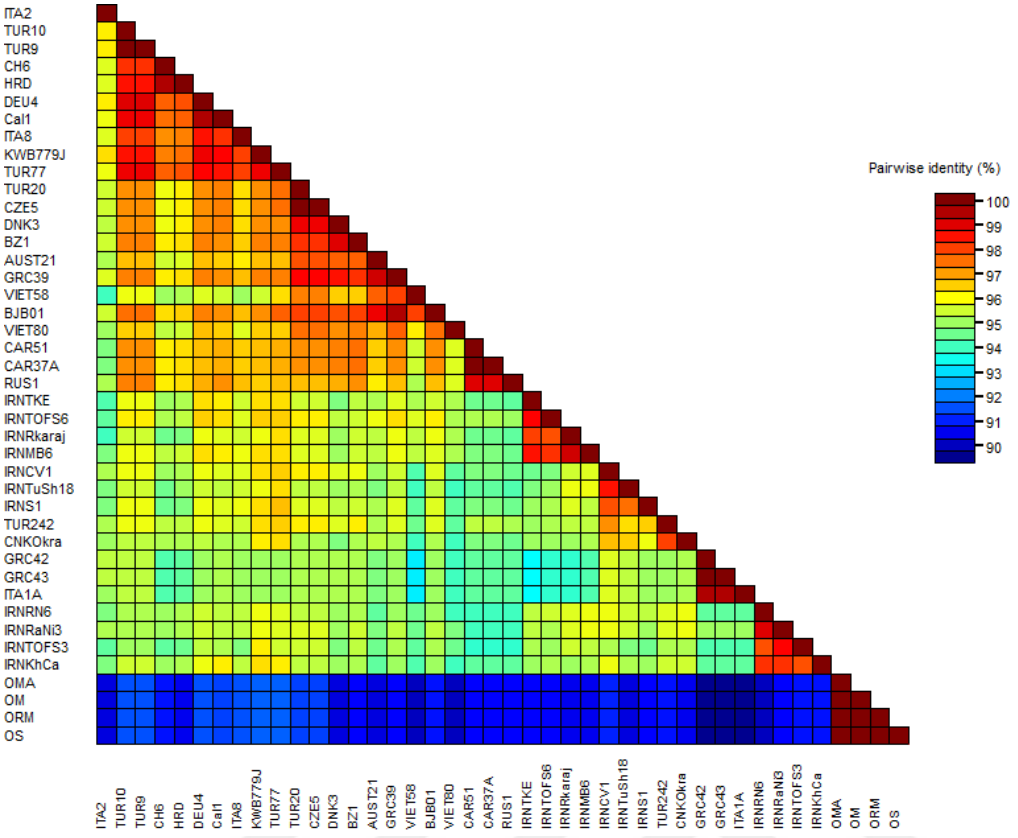
NIb genine göre nükleotit seviyesinde yapılan benzerlik analizinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında izolatların %78-89 arasında bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

CNKOkra izolatı TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %89 oranında en yüksek benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir. En düşük benzerliği ise %78 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 erişim numaralı Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 24).



Şekil 24. Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

NIb genine göre amino asit seviyesinde yapılan benzerlik analizinde CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında izolatların %91-98 arasında bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. CNKOkra izolatı TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %98 oranında en yüksek benzerliği gösterdiği görülmüştür. En düşük benzerliği ise %91 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 25).



Şekil 25. Şalgam mozaik virüs izolatlarının NIb geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

Karanfil ve Korkmaz (2019: 83), tarafından ülkemizde gerçekleştirilen bir çalışmada TuMV izolatlarının NIb+CP geninin nükleotit ve amino asit düzeyinde çoklu dizi karşılaştırmasını gerçekleştirmişlerdir. Çoklu dizi karşılaştırması sonucunda TuMV izolatlarının dünya izolatları ile %84-88 nükleotit ve %91-94 arasında amino asit benzerliği gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Karanfil ve Korkmaz (2016: 193), tarafından yapılan başka bir çalışmada ise CKO1 türk izolatının NIb+CP genlerinin nükleik asit dizilimlerine göre gen bankasındaki diğer şalgam mozaik virüsü izolatları ile karşılaştırmışlardır. Karşılaştırmaları sonucunda CKO1 izolatının nükleotit seviyesinde %88-93 benzerlik aralığına sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır.

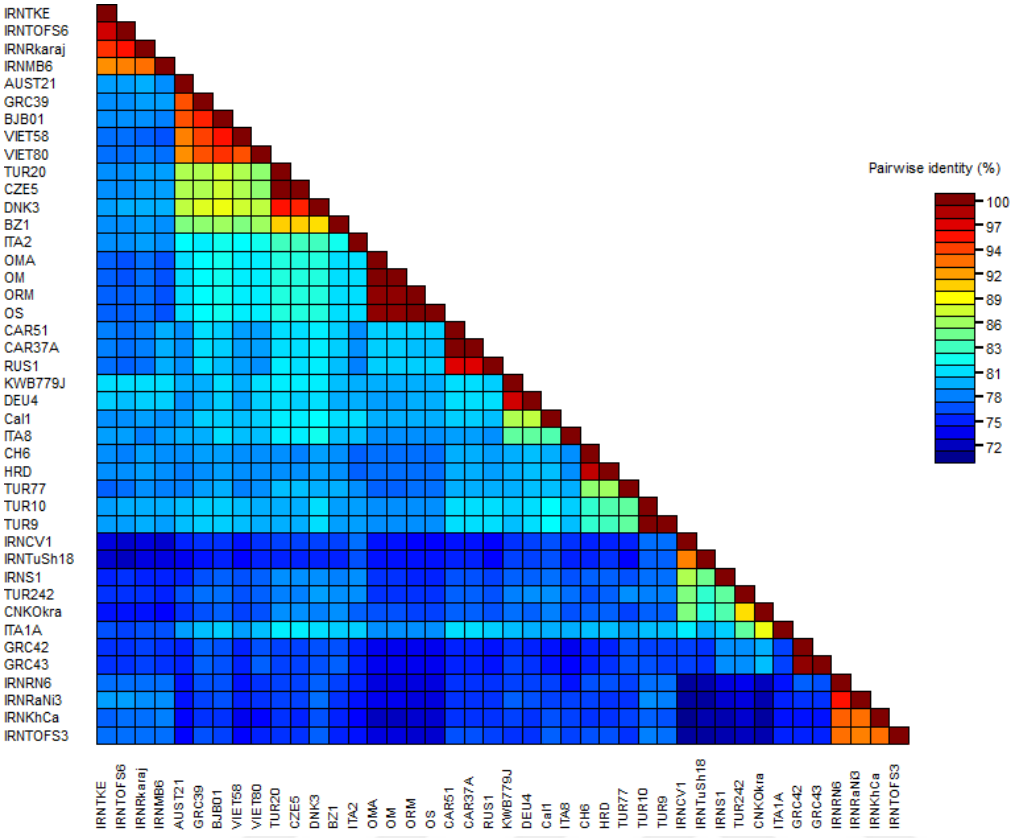
Korkmaz, vd., (2020: 564), Türkiye genelinde araştırmalar yaparak ve çoğu Brassicaceae familyasına ait olan kışlık sebzeler ve yabani otlardan semptomatik örnek toplamışlardır. TuMV ile enfekteli buldukları 20 izolatın moleküler karakterizasyon

çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Bu izolatların NIb+CP gen bölgesinin kısmi genomik dizilerini belirleyerek karşılaştırmasını yapmışlardır. Karşılaştırmaları sonucunda izolatların %83-100 nükleotit ve %90-100 amino asit seviyesinde benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Gerçekleştirilen çalışmalarda elde edilen bulgular ile bu çalışma kapsamında bizim elde ettiğimiz bulgular birbiri ile uyumlu olarak gözükmektedir.

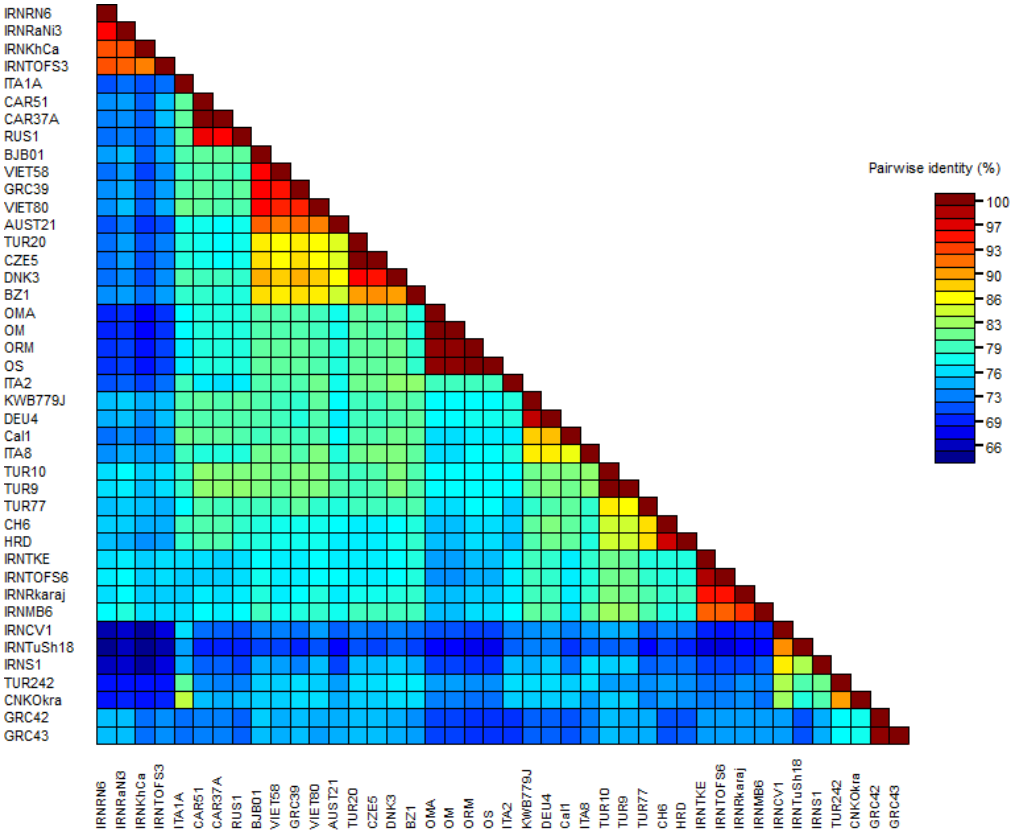
4.3.9. P1 Geni Dizi Analizleri Sonuçları

Nükleotit bazlı benzerlik analizinde P1 genine göre CNKOkra izolatının gen bankasındaki diğer TuMV izolatları ile ilişkilerine bakıldığında izolatların %72-91 arasında bir benzerlik gösterdiği görülmüştür. CNKOkra izolatı ITA1 isimli AB701720 erişim numaralı İtalya izolatı ve TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %91 oranında en yüksek benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir. En düşük benzerliği ise %72 oranında IRNRN6, IRNRaNİ3, IRNKhCa ve IRNTOFS3 isimli erişim numaraları sırasıyla AP017785, AP017780, AP017770 ve AP017800 olan İran izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 26).



Şekil 26. Şalgam mozaik virüs izolatlarının P1 geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

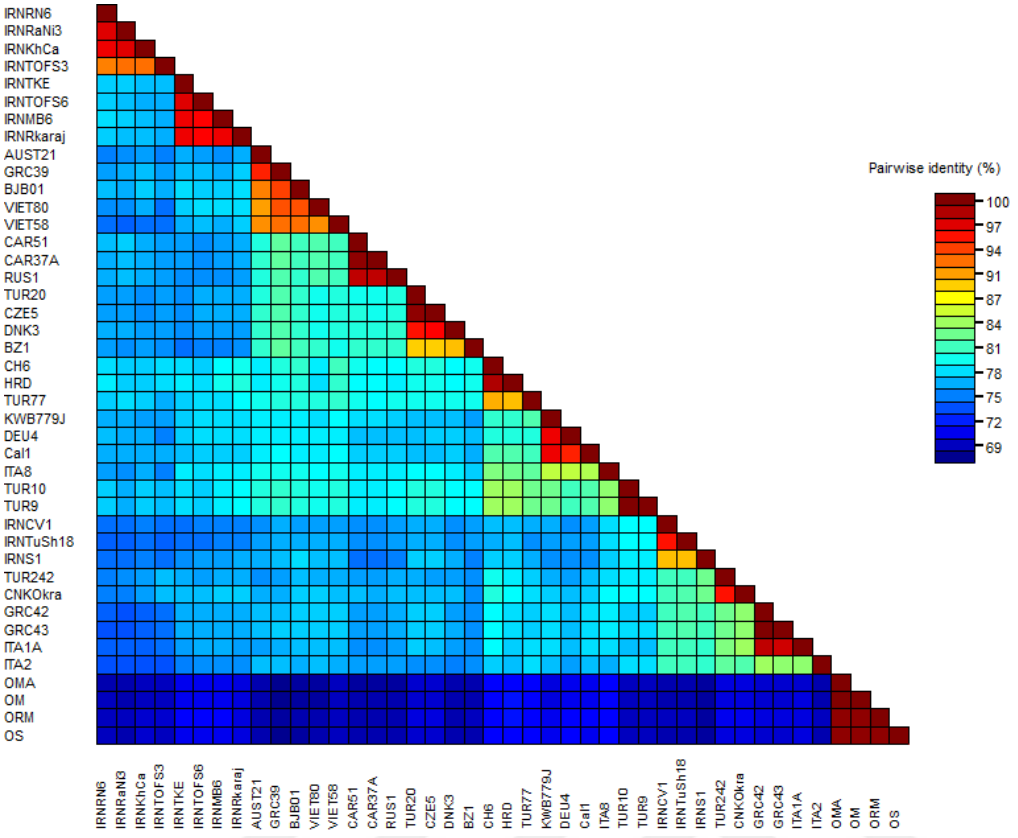
Amino asit bazlı benzerlik analizinde P1 genine göre CNKOkra izolatının gen bankasındaki diğer TuMV izolatları ile ilişkilerine bakıldığında izolatların %67-91 arasında bir benzerlik gösterdiği görülmüştür. CNKOkra izolatı TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %91 oranında en yüksek benzerliği gösterirken, en düşük benzerliği ise %67 oranında IRNRN6 ve IRNKhCa isimli erişim numaraları sırasıyla AP017785 ve AP017770 olan İran izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 27).



Şekil 27. Şalgam mozaik virüs izolatlarının P1 geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

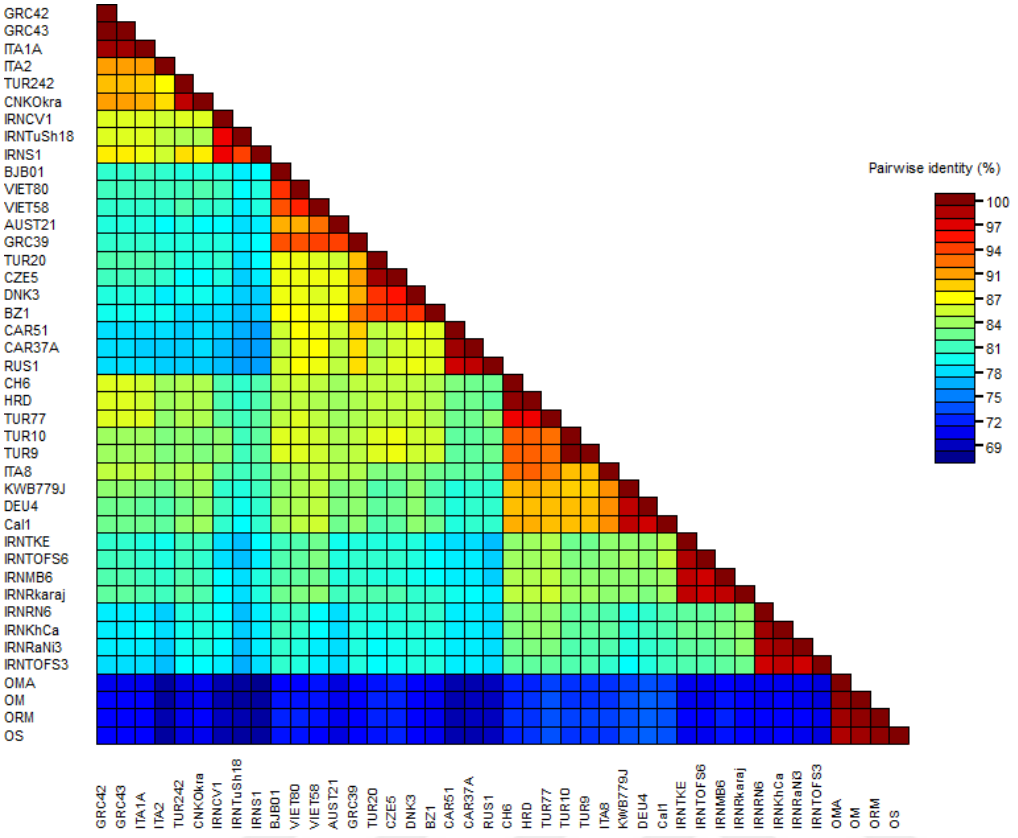
4.3.10. P3 Geni Dizi Analizleri Sonuçları

P3 genine göre nükleotit düzeyinde benzerlik analizi sonucuna göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile karşılaştırıldığında %72-96 arasında bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek benzerliği %96 oranında TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %72 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 28).



Şekil 28. Şalgam mozaik virüs izolatlarının P3 geninin nükleotit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

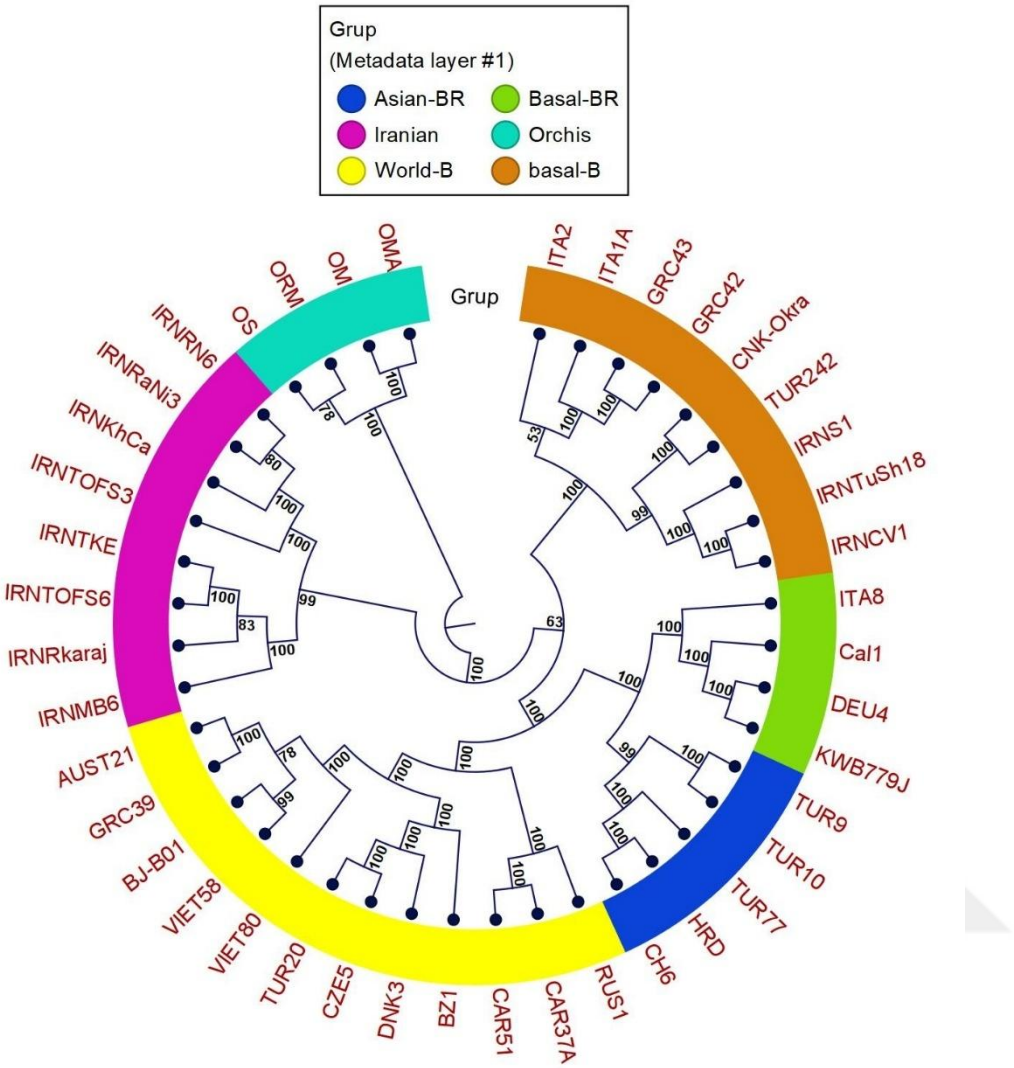
P3 genine göre amino asit düzeyinde benzerlik analizi sonucuna göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile karşılaştırıldığında %72-98 arasında bir benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek benzerliği %98 oranında TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %72 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 29).



Şekil 29. Şalgam mozaik virüs izolatlarının P3 geninin amino asit dizilimlerine göre dünyadaki diğer şalgam mozaik virüs izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları.

4.4. Filogenetik Analiz Sonuçları

TuMV izolatlarının filogenetik soy ağacının saptanması için gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla tüm genomun nükleotit düzeyinde biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Orchis grubunda 4 izolat, Iranian grubunda 8 izolat, Asian-BR grubunda 5 izolat, basal-BR grubunda 4 izolat, world-B grubunda 12 izolat ve basal-B grubunda ise 9 izolat yer almaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu tespit edilmiştir (Şekil 30).



Şekil 30. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının tüm genomunun nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

Tüm genomun nükleotit dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik soy ağacı incelendiğinde Orchis grubunda OS, ORM, OMA ve OM isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB701693, AB701692, AB701691 ve AB701690 olan Almanya izolatları, Iranian grubunda ise IRNRN6, IRNRaNi3, IRNKhCa, IRNTOFS3, IRNTKE, IRNTOFS6, IRNRkaraj ve IRNMB6 isimli ve erişim numaraları sırasıyla AP017785, AP017780, AP017770, AP017800, AP017797, AP017801, AP017784 ve AP017773 olan İran izolatları, Asian-BR grubunda ise CH6 ve HRD isimli ve erişim numaraları AB179888 ve AB093627 olan Çin izolatları, TUR77, TUR9 ve TUR10 isimli ve erişim numaraları sırasıyla AP017884, AB362513 ve AP017864 olan Türkiye izolatları, basal-BR grubunda ise KWB779J isimli AB252125 erişim numaralı Japonya izolatı, DEU4 isimli AB701701 erişim

numaralı Almanya izolatı, Cal1 ve ITA8 isimli ve erişim numaraları AB076518 ve AB701725 olan İtalya izolatları, world-B grubunda ise GRC39 isimli AP017840 erişim numaralı Yunanistan izolatı, BJ-B01 isimli KC119185 erişim numaralı Çin izolatı, VIET80 ve VIET58 isimli ve erişim numaraları AB747293 ve AB747288 olan Vietnam izolatları, TUR20 isimli AP017867 erişim numaralı Türkiye izolatı, CZE5 isimli AB188916 erişim numaralı Çek Cumhuriyeti izolatı, AUST21 isimli AB989637 erişim numaralı Avustralya izolatı, DNK3 isimli AB701703 erişim numaralı Danimarka izolatı, BZ1 isimli AB093611 erişim numaralı Brezilya izolatı, CAR51 ve CAR37A isimli erişim numaraları ise HQ637383 ve DQ648591 olan Polonya izolatları ve RUS1 isimli AB093606 erişim numaralı Rusya izolatı bulunurken, basal-B grubunda ise IRNCV1, IRNS1 ve IRNTuSh18 isimli erişim numaraları ise sırasıyla AP017752, AP017788 ve AP017808 olan İran izolatları, GRC42 ve GRC43 isimli erişim numaraları ise AB252117 ve AP017756 olan Yunanistan izolatları, TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı, ITA1A ve ITA2 isimli erişim numaraları ise AB701720 ve AB701721 olan İtalya izolatları bulunduğu görülmektedir.

Farzadfar, vd., (2009: 45), İran'da yaptıkları bir çalışmada *Rapistrum rugosum* ve *Sisymberium loeselii* bitkilerinden elde ettikleri IRNTRa6 ve IRNSS5 izolatlarının genomik RNA'larının tam uzunluktaki dizilerini belirlemişlerdir. Elde ettikleri bu dizilerin filogenetik analizi sonucunda bu iki izolatın basal-B grubuna dahil olduğunu bildirmişlerdir.

Kim, vd., (2019: 1642), tarafından Kore'de gerçekleştirilen başka bir çalışmada da; KIH1 ve HJY1 Kore izolatlarının tam nükleotit dizilerine dayalı gerçekleştirilen filogenetik analizleri sonucunda izolatların genetik ilişkilerini belirlemişlerdir. KIH1 ve HJY1 izolatlarının ve NCBI'da bulunan 38 TuMV izolatları ile karşılaştırılması sonucunda Japonya ve İtalya izolatları ile basal-B grubuna dahil olduğunu belirtmişlerdir.

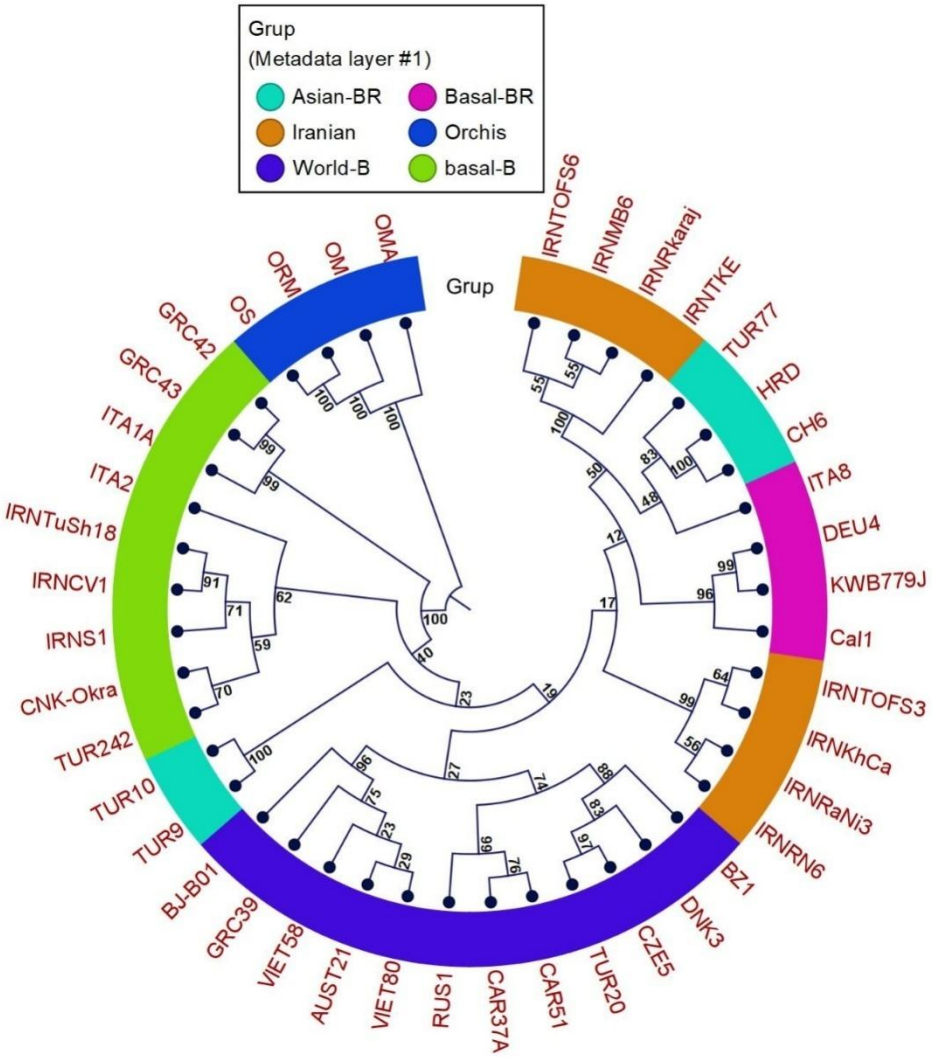
Ülkemizde gerçekleştirilen bir çalışmada Korkmaz, vd., (2008: 1155), biyolojik olarak farklı iki izolatın, TUR1 ve TUR9'un genomik RNA'larının tam uzunluktaki sekanslarını belirlemişlerdir. Elde ettikleri bu dizilerin filogenetik analizi sonucunda, TUR1 ve TUR9 izolatlarının sırasıyla world-B ve Asya-BR gruplarına dahil olduğunu tespit etmişlerdir.

Ukranya'da yapılan bir çalışmada Shevchenko, vd., (2018: 435), lahanadan izole ettikleri UKR9 Ukrayna izolatının tam uzunluktaki genomik RNA dizisini belirlemişlerdir. UKR9 izolatının biyoinformatik analizleri sonucunda Maximum likelihood (ML) ağacında ana ebeveyn izolatı TUR9 ile Asya-BR grubuna dahil oluğunu bildirmişlerdir.

Bu bağlamda gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular ile bu çalışmada bizim elde ettiğimiz bulgular birbiri ile uyumlu olarak gözükmektedir. Bununla birlikte farklı filogenetik gruplara ait izolat varlıkları da sıklıkla tespit edilmiştir.

4.4.1. 6K1 Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

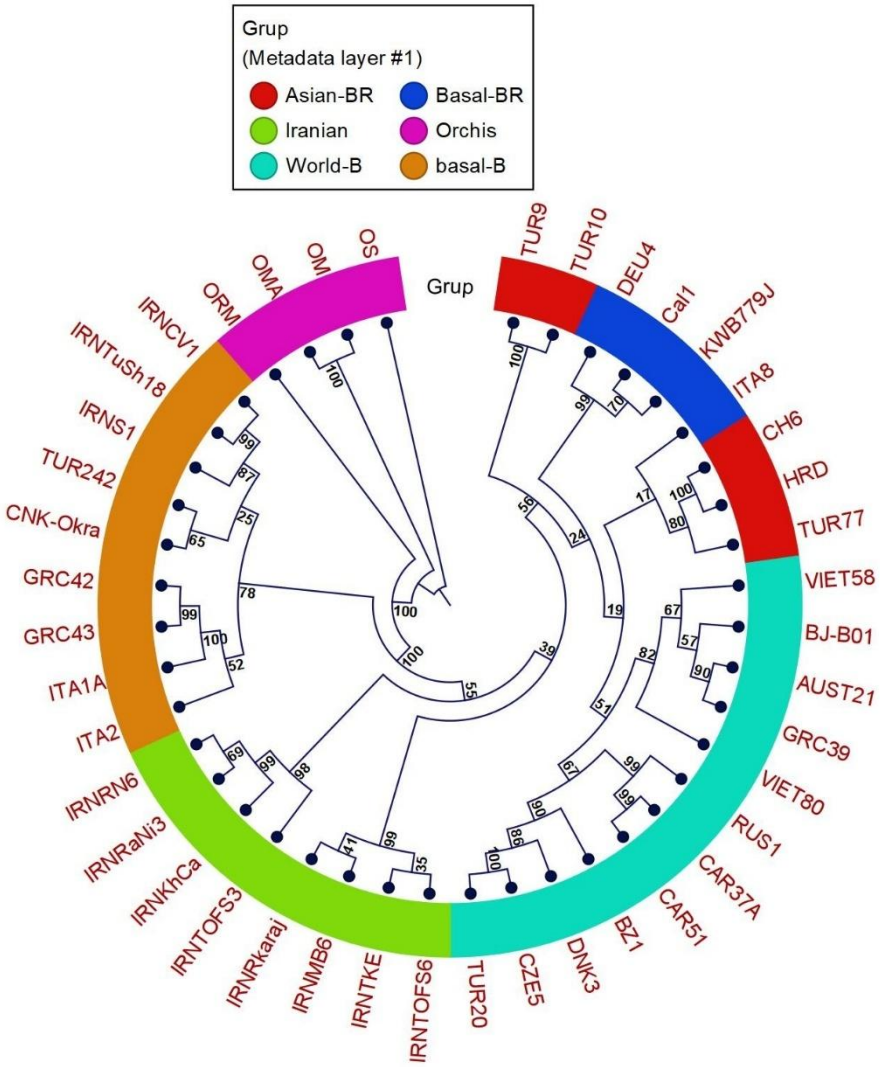
6K1 geninin nükleotit dizilimlerine dayalı CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Basal-B grubunda 9 izolat, world-B grubunda 12 izolat, basal-BR grubunda 4 izolat, Asian-BR grubunda 5 izolat, Iranian grubunda 8 izolat ve Orchis grubunda ise 4 izolat yer almaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 31).



Şekil 31. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının 6K1 geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

4.4.2. 6K2 Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

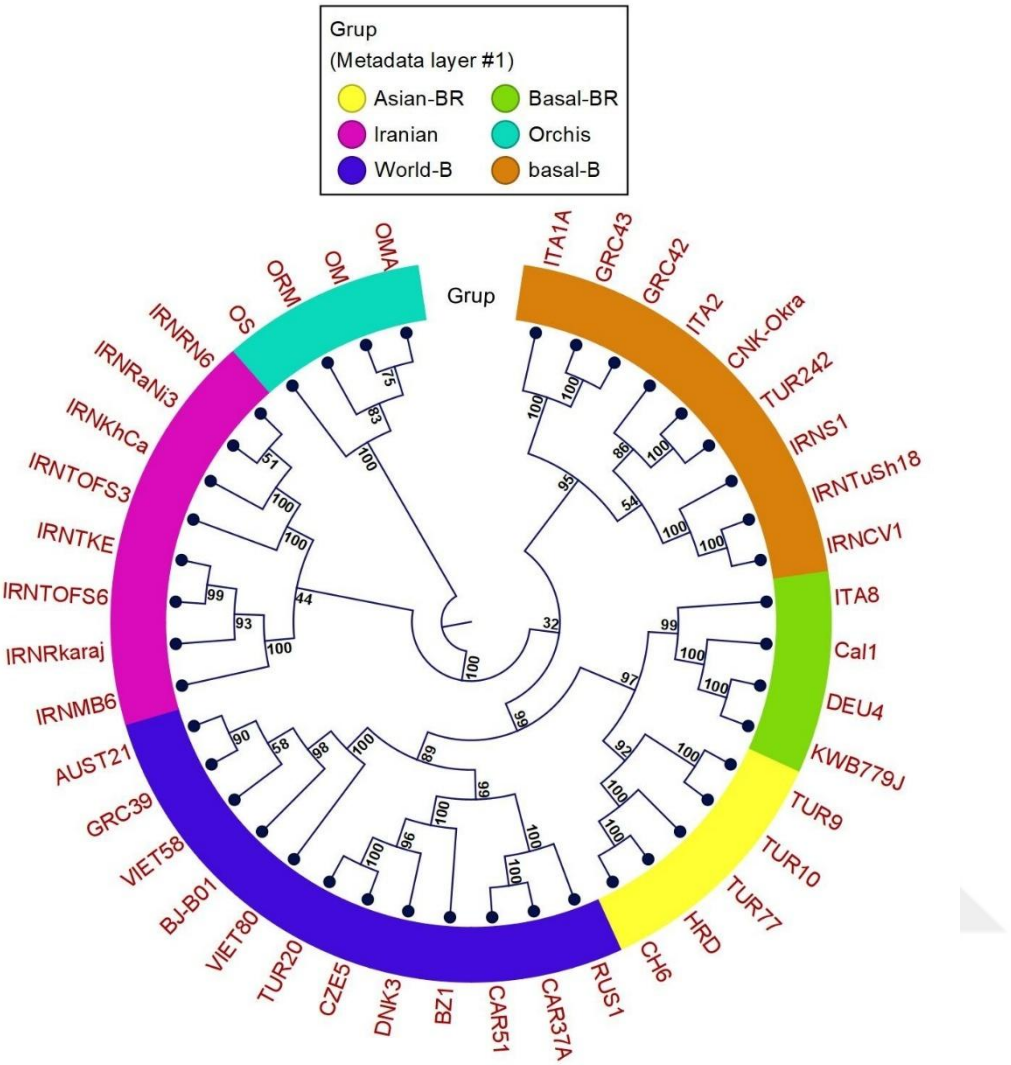
CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile 6K2 geninin nükleotit dizilimlerine dayalı genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Asian-BR grubunda 5 izolat, basal-BR grubunda 4 izolat, Iranian grubunda 8 izolat, Orchis grubunda 4 izolat, basal-B grubunda 9 izolat ve world-B grubunda ise 12 izolat bulunmaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 32).



Şekil 32. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının 6K2 geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

4.4.3. CI Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

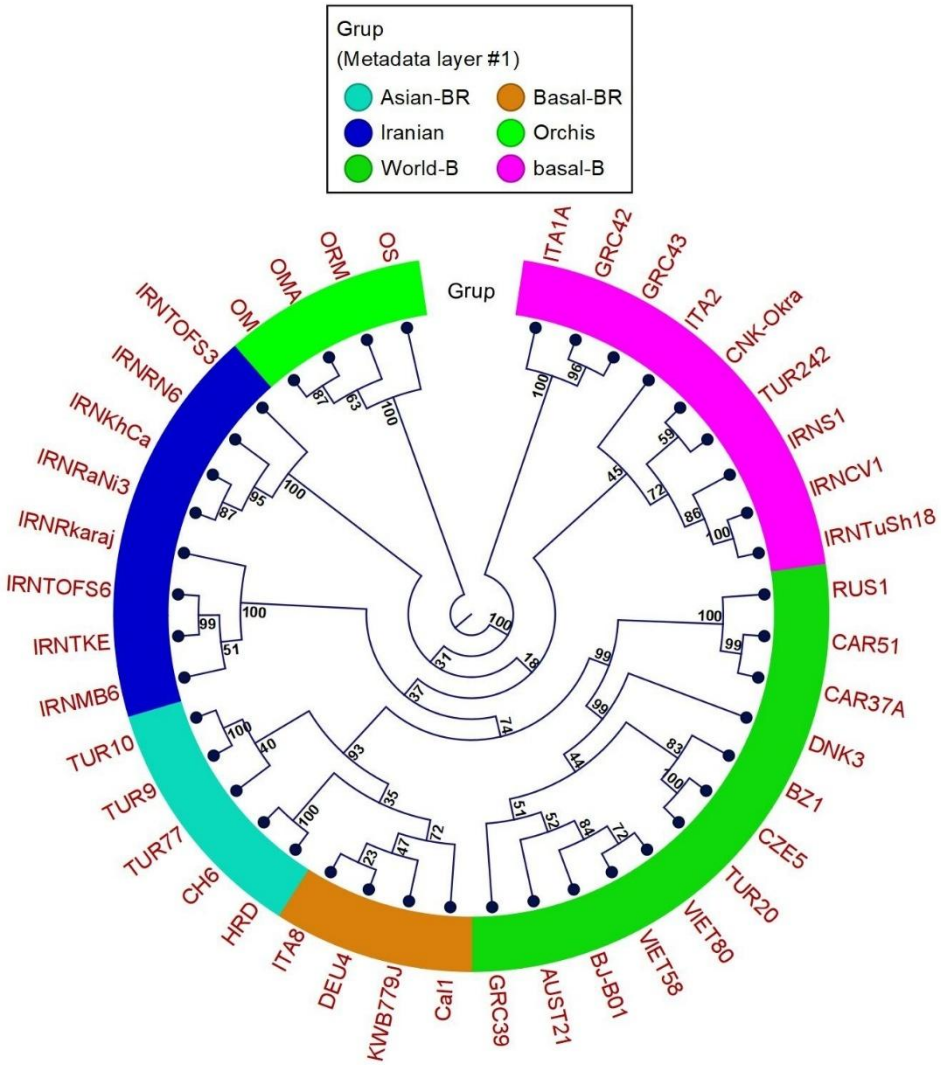
CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile CI geninin nükleotit dizilimlerine dayalı genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Iranian grubu 8 izolat, world-B grubu 12 izolat, basal-B grubu 9 izolat, Orchis grubu 4 izolat, basal-BR grubu 4 izolat ve Asian-BR grubu ise 5 izolattan oluşmaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 33).



Şekil 33. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının CI geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

4.4.4. CP Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile CP geninin nükleotit dizilimlerine dayalı genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Basal-BR grubunda 4 izolat, Orchis grubunda 4 izolat, basal-B grubunda 9 izolat, Asian-BR grubunda 5 izolat, world-B grubunda 12 izolat ve Iranian grubunda ise 8 izolat yer almaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 34).



Şekil 34. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının CP geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

CP geninin nükleotit dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik soy ağacı detaylı olarak incelendiğinde, basal-BR grubunda; Cal1 ve ITA8 isimli erişim numaraları sırasıyla AB076518 ve AB701725 olan İtalya izolatları, KWB779J isimli AB252125 erişim numaralı Japonya izolatı, DEU4 isimli AB701701 erişim numaralı Almanya izolatı, Orchis grubunda; OM, ORM, OMA ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB701690, AB701692, AB701691 ve AB701693 olan Almanya izolatları, basal-B grubunda; TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı, ITA2 ve ITA1A isimli erişim numaraları sırasıyla AB701721 ve AB701720 olan İtalya izolatları, IRNCV1, IRNS1 ve IRNTush18 isimli erişim numaraları sırasıyla AP017752, AP017788 ve AP017808 olan İran izolatları, GRC42 ve GRC43 isimli erişim numaraları sırasıyla AB252117 ve AP017756 olan

Yunanistan izolatları, Asian-BR grubunda; CH6 ve HRD isimli erişim numaraları sırasıyla AB179888 ve AB093627 olan Çin izolatları, TUR77, TUR10 ve TUR9 isimli erişim numaraları sırasıyla AP017884, AP017864 ve AB362513 olan Türkiye izolatları, world-B grubunda; CZE5 isimli AB188916 erişim numaralı Çek Cumhuriyeti izolatı, RUS1 isimli AB093606 erişim numaralı Rusya izolatı, DNK3 isimli AB701703 erişim numaralı Danimarka izolatı, TUR20 isimli AP017867 erişim numaralı Türkiye izolatı, AUST21 isimli AB989637 erişim numaralı Avustralya izolatı, CAR37A ve CAR51 isimli erişim numaraları sırasıyla DQ648591 ve HQ637383 olan Polonya izolatları, BZ1 isimli AB093611 erişim numaralı Brezilya izolatı, GRC39 isimli AP017840 erişim numaralı Yunanistan izolatı, VIET80 ve VIET58 isimli erişim numaraları sırasıyla AB747293 ve AB747288 olan Vietnam izolatları, BJ-B01 isimli KC119185 erişim numaralı Çin izolatı, Iranian grubunda ise IRNMB6, IRNRkaraj, IRNRN6, IRNRaNi3, IRNKhCa, IRNTOFS3, IRNTKE ve IRNTOFS6 isimli erişim numaraları sırasıyla AP017773, AP017784, AP017785, AP017780, AP017770, AP017800, AP017797 ve AP017801 olan İran izolatları bulunmaktadır.

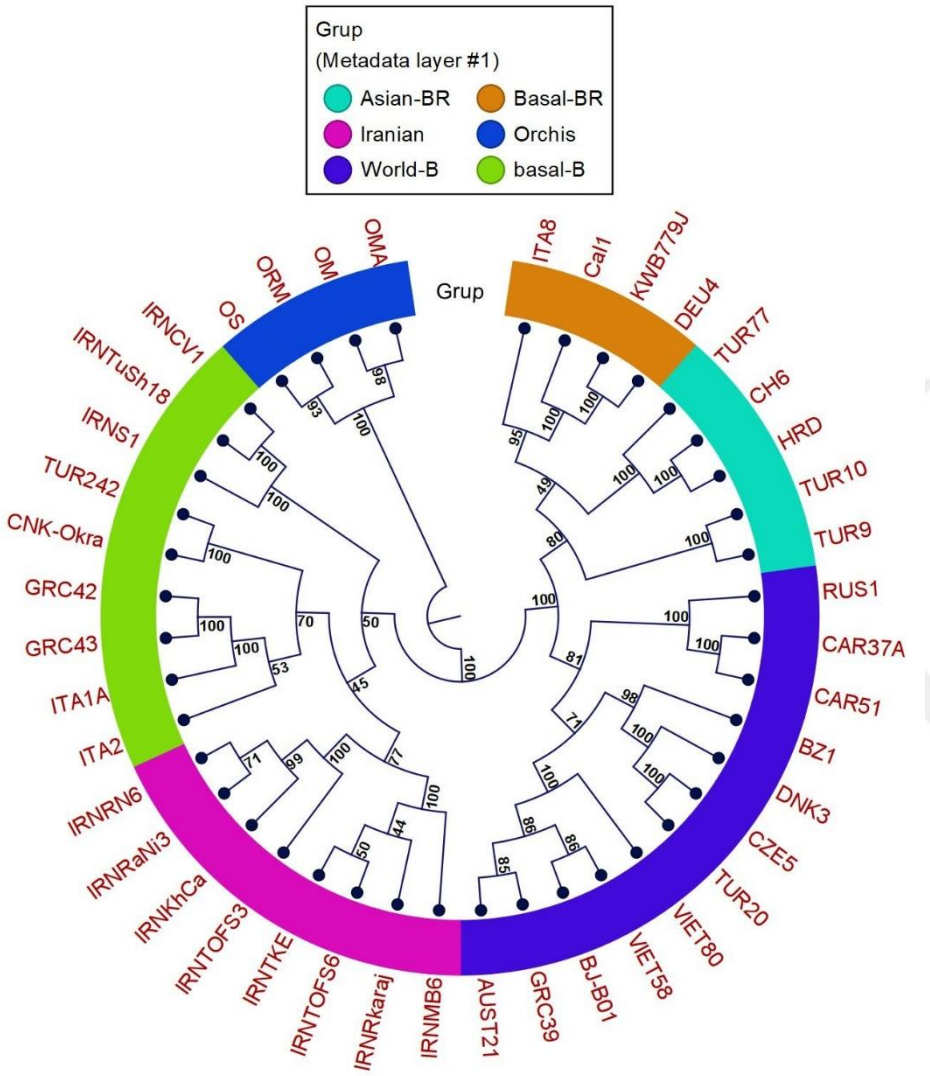
Hindistan'da yapılan bir çalışmada Parmar, vd., (2017: 1), Hint TuMV izolatlarının CP geninin nükleotit ve amino asit sekanslarına dayalı filogenetik analizleri sonucunda basal-BR grubuna ait olduğunu bildirmişlerdir. Çin'de gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise TuMV-ZH1 olarak adlandırdıkları izolatın filogenetik analizi sonucunda world-B grubuna dahil olduğunu belirtmişlerdir (Zheng, vd., 2017).

Bu bağlamda gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular ile bu çalışmada bizim elde ettiğimiz bulgular sonucunda farklı filogenetik gruplara ait izolat varlıkları sıklıkla tespit edilmiştir.

4.4.5. HC-Pro Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile HC-Pro geninin nükleotit dizilimlerine dayalı genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. World-B grubu 12 izolat, Asian-BR grubu 5 izolat, Iranian grubu 8 izolat, Orchis grubu 4 izolat,

basal-BR grubu 4 izolat ve basal-B grubu ise 9 izolattan oluşmaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 35).



Şekil 35. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının HC-Pro geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

HC-Pro geninin nükleotit dizilimlerine göre oluşturulan filogenetik soy ağacı detaylı olarak incelendiğinde, world-B grubunda; GRC39 isimli AP017840 erişim numaralı Yunanistan izolatı, BJ-B01 isimli KC119185 erişim numaralı Çin izolatı, RUS1 isimli AB093606 erişim numaralı Rusya izolatı, BZ1 isimli AB093611 erişim numaralı Brezilya izolatı, DNK3 isimli AB701703 erişim numaralı Danimarka izolatı, CAR51 ve CAR37A isimli erişim numaraları sırasıyla HQ637383 ve DQ648591 olan Polonya izolatları, VIET58

ve VIET80 isimli erişim numaraları sırasıyla AB747288 ve AB747293 olan Vietnam izolatları, AUST21 isimli AB989637 erişim numaralı Avustralya izolatı, TUR20 isimli AP017867 erişim numaralı Türkiye izolatı, CZE5 isimli AB188916 erişim numaralı Çek Cumhuriyeti izolatı, Iranian grubunda; IRNTOFS3, IRNTOFS6, IRNMB6, IRNRN6, IRNTKE, IRNRkaraj, IRNRaNi3 ve IRNKhCa isimli erişim numaraları sırasıyla AP017800, AP017801, AP017773, AP017785, AP017797, AP017784, AP017780 ve AP017770 olan İran izolatları, Orchis grubunda; OMA, OM, OS ve ORM isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701693, AB701692 olan Almanya izolatları, Asian-BR grubunda; TUR9, TUR77 ve TUR10 isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB362513, AP017884, AP017864 olan Türkiye izolatları, HRD ve CH6 isimli erişim numaraları sırasıyla AB093627 ve AB179888 olan Çin izolatları, basal-BR grubunda; DEU4 isimli AB701701 erişim numaralı Almanya izolatı, ITA8 ve Cal1 isimli erişim numaraları sırasıyla AB701725 ve AB076518 olan İtalya izolatları, KWB779J isimli AB252125 erişim numaralı Japonya izolatı, basal-B grubunda ise GRC43 ve GRC42 isimli AP017756 ve AB252117 erişim numaralı Yunanistan izolatları, IRNTush18, IRNCV1 ve IRNS1 isimli erişim numaraları sırasıyla AP017808, AP017752 ve AP017788 olan İran izolatları, ITA1A ve ITA2 isimli AB701720 ve AB701721 erişim numaralı İtalya izolatları, TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı bulunmaktadır.

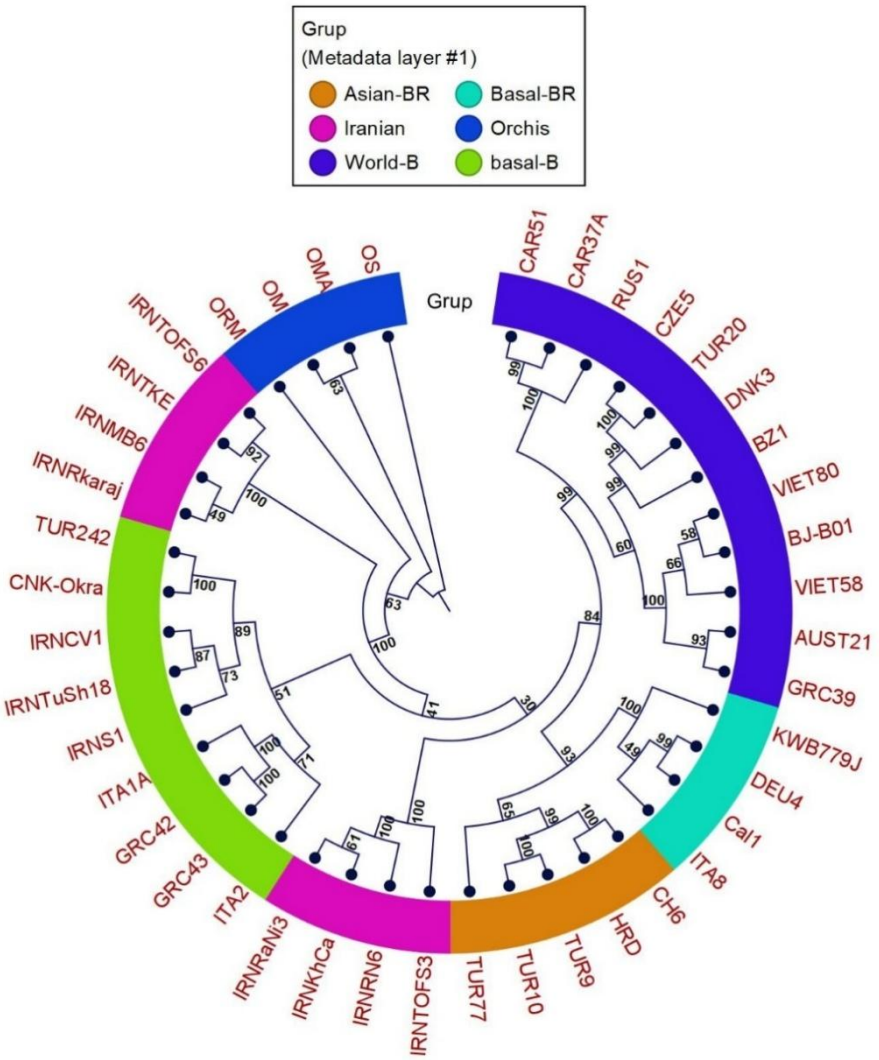
Han, vd., (2016: 592), tarafından Kore'de şalgam mozaik virüsü'nün dağılımını ve değişkenliğini araştırmak için turp yetiştiriciliği yapılan alanlarda ülke çapında bir araştırma gerçekleştirmişlerdir. TuMV izolatlarının HC-Pro genine dayalı gerçekleştirilen filogenetik analizleri sonucunda izolatların basal-BR grubu içinde yer aldığını tespit etmişlerdir.

Kozubek, vd., (2007: 302) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada da; CAR37A olarak adlandırdıkları izolatın HC-Pro geninin nükleotit sekanslarına dayalı filogenetik analiz sonucuna göre world-B grubuna ait olduğunu belirtmişlerdir.

Bu bağlamda gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular ile bu çalışmada bizim elde ettiğimiz bulgular sonucunda farklı filogenetik gruplara ait izolat varlıkları sıklıkla tespit edilmiştir.

4.4.6. NIa-Pro Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

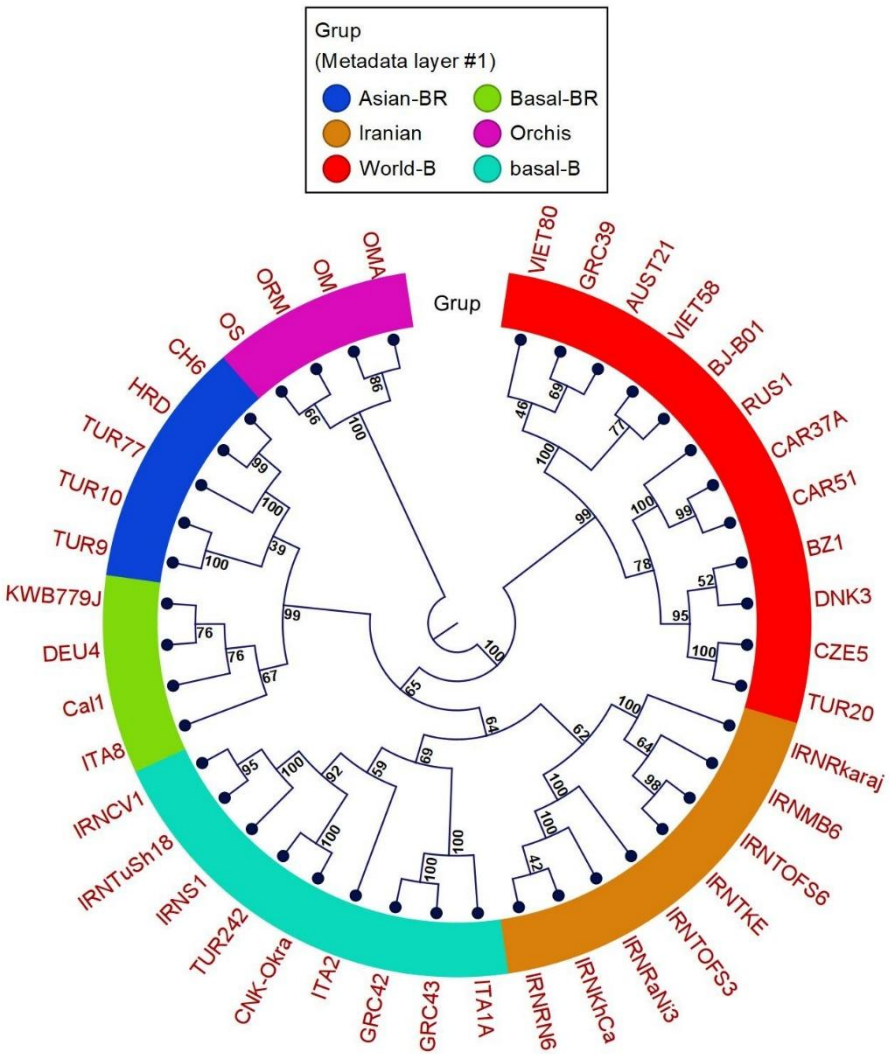
CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile NIa-Pro geninin nükleotit dizilimlerine dayalı genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Orchis grubunda 4 izolat, basal-B grubunda 9 izolat, Asian-BR grubunda 5 izolat, basal-BR grubunda 4 izolat, Iranian grubunda 8 izolat ve world-B grubunda ise 12 izolat bulunmaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 36).



Şekil 36. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının NIa-Pro geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

4.4.7. NIa-VPg Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

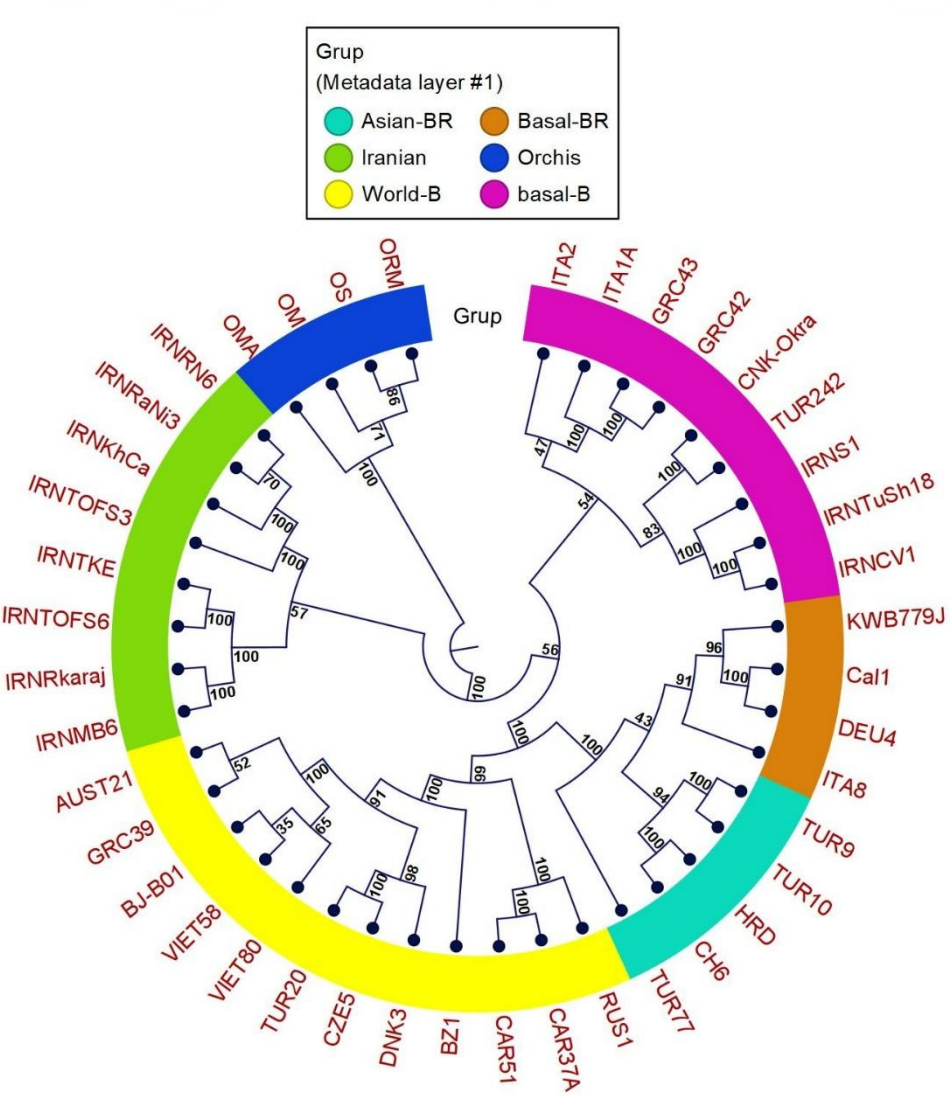
CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile NIa-VPg geninin nükleotit dizilimlerine dayalı genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Asian-BR grubu 5 izolat, Iranian grubu 8 izolat, world-B grubu 12 izolat, Orchis grubu 4 izolat, basal-BR grubu 4 izolat ve basal-B grubu ise 9 izolattan oluşmaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 37).



Şekil 37. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının NIa-VPg geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

4.4.8. NIb Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

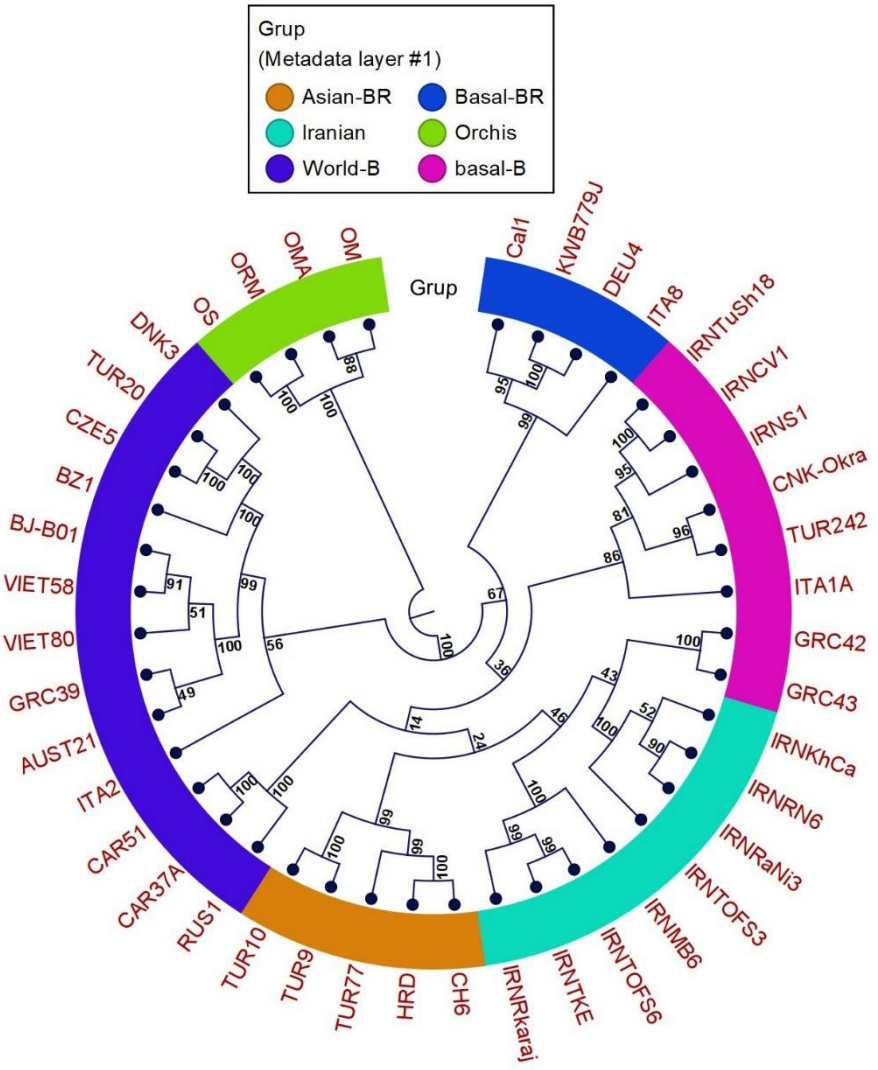
CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile NIb geninin nükleotit dizilimlerine dayalı genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Basal-B grubu 9 izolat, world-B grubu 12 izolat, Asian-BR grubu 5 izolat, basal-BR grubu 4 izolat, Orchis grubu 4 izolat ve Iranian grubu ise 8 izolattan oluşmaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 38).



Şekil 38. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının NIb geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

4.4.9. P1 Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

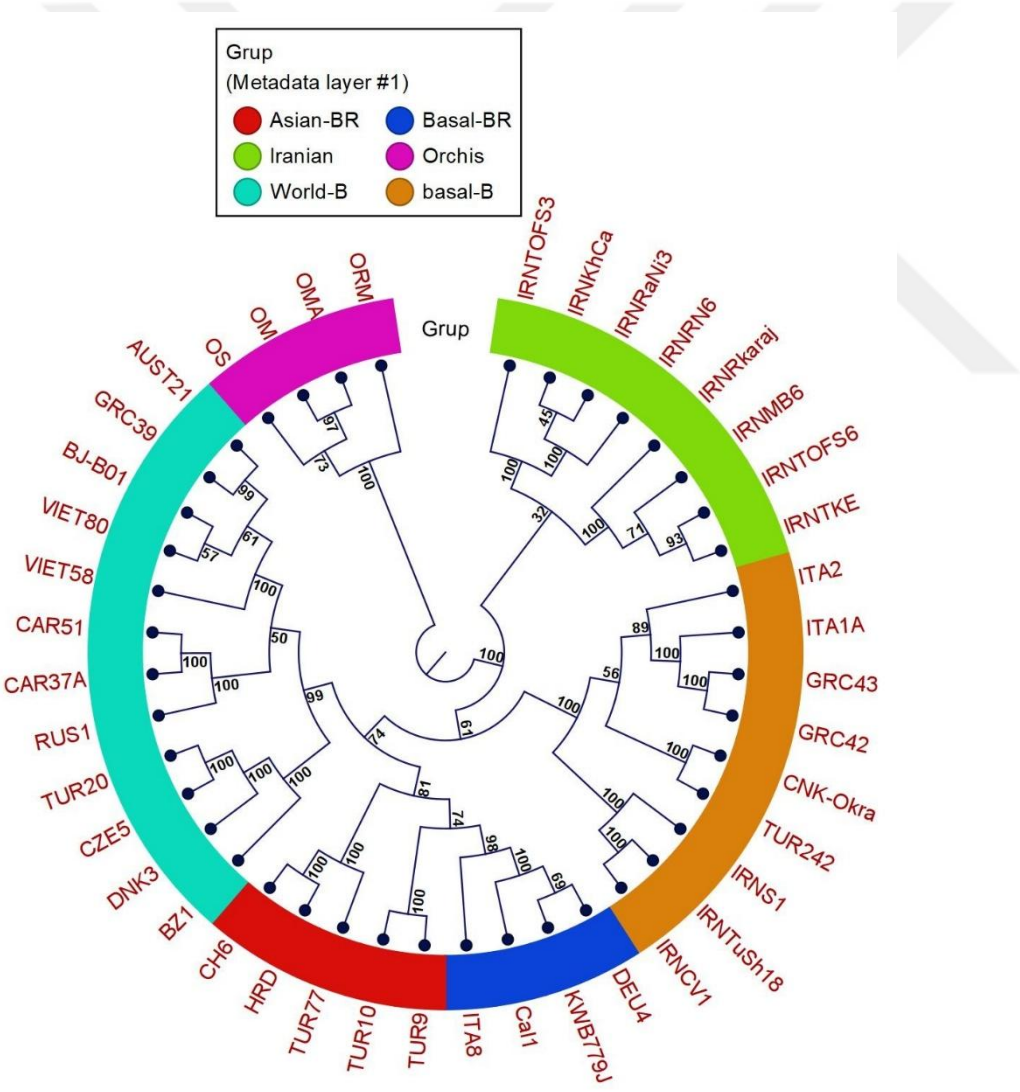
CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile P1 geninin nükleotit dizilimlerine dayalı genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Iranian grubunda 8 izolat, Asian-BR grubunda 5 izolat, Orchis grubunda 4 izolat, world-B grubunda 12 izolat, basal-B grubunda 9 izolat ve basal-BR grubunda ise 4 izolat bulunmaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 39).



Şekil 39. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının P1 geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

4.4.10. P3 Geni Filogenetik Analiz Sonuçları

CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile P3 geninin nükleotit dizilimlerine dayalı genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacının 6 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Basal-B grubu 9 izolat, Orchis grubu 4 izolat, basal-BR grubu 4 izolat, Asian-BR grubu 5 izolat, world-B grubu 12 izolat ve Iranian grubunda ise 8 izolat bulunmaktadır. CNKOkra TuMV izolatının ise basal-B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir (Şekil 40).



Şekil 40. CNKOkra şalgam mozaik virüs izolatının P3 geninin nükleotit dizilimleri kullanılarak neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ VE ÖNERİLER

NIb+CP genlerinin RT-PCR analizleri TuMV ile enfektekli olduğu bilinen 6 örnek üzerinden yürütülmüştür. TuMV NIb+CP genine karşılık gelen 1178 bç büyüklüğünde band oluşmuştur. NIb+CP gen bölgeleri PCR yöntemi ile amplifiye edilen izolatlar içerisinden seçilen üç izolatın hizmet alımı ile sekans dizileri belirlenmiştir. Sekans dizileri elde edilen TuMV izolatlarının nükleotit ve amino asit dizileri kendi içlerinde ve dünyadaki diğer TuMV izolatları ile benzerlik ve filogenetik açıdan karşılaştırılarak tüm genom dizisi belirlenecek bir adet TuMV izolatının seçimi için RT-PCR çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Gen bankasında bulunan dünya TuMV izolatlarının NIb+CP genlerinin nükleotit ve amino asit dizileri kullanılarak CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatlarının NIb+CP genlerinin nükleotit ve amino asit dizilimleri karşılaştırılarak bu izolatların kendi içlerinde ve dünyadaki diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları ortaya konmuştur. Gerçekleştirilen karşılaştırmalar sonucunda CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatlarının kendi içlerinde %99'un üzerinde benzerlik göstermişlerdir. Bu izolatların dünyadaki diğer TuMV izolatları ile %80-94 nükleotit ve %90-99 arasında amino asit benzerliği gösterdikleri belirlenmiştir. Nükleotit temelli benzerlik oranlarına bakılacak olursa en yüksek benzerliği %94 oranında TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %80 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 olan Almanya izolatları ile gösterdikleri ortaya konmuştur. CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatlarının amino asit temelli benzerlik oranlarına bakılacak olursa en yüksek benzerliği %99 oranında TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %90 oranında OMA, OM isimli erişim numaraları sırasıyla AB701691 ve AB701690 olan Almanya izolatları ile gösterdikleri tespit edilmiştir.

Yapılan filogenetik analizler sonucunda ise CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatlarının NIb+CP geninin nükleotit dizilimlerine göre basal-B grubuna dahil oldukları belirlenmiştir. Oluşturulan bu filogenetik ağaçta CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatları ile TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı, IRNCV1, IRNTuSh18, IRNS isimli ve erişim numaraları sırasıyla AP017752, AP017808, AP017788

olan İran izolatları, ITA2, ITA1A isimli erişim numaraları sırasıyla AB701721, AB701720 olan İtalya izolatları ve GRC42, GRC43 isimli ve erişim numaraları sırasıyla AB252117, AP017756 olan Yunanistan izolatları olduğu belirlenmiştir.

Çalışmanın 2. aşamasında ise seçilen CNKOkra TuMV izolatının tüm genom dizilimi, korunmuş bölgelerine özgün 5 primer çifti ile Sheychenko, vd., (2018)'nin belirttiği şekilde bazı modifikasyonlar gerçekleştirilerek ortaya çıkarılmıştır. Tüm genom çalışmaları kapsamında seçilen CNKOkra TuMV izolatına yapılan RT-PCR çalışması sonuçlarında istenilen band büyüklüklerinin elde edildiği tespit edilmiştir. Elde edilen CNKOkra TuMV tüm genom sekans dizileri, benzerlik ve filogenetik ilişkilerinin ortaya çıkarılmasında kullanılmıştır. Gen bankasında bulunan dünya TuMV izolatlarının tüm genom nükleotit ve amino asit dizileri kullanılarak CNKOkra izolatının tüm genom nükleotit ve amino asit dizilimleri karşılaştırılarak bu izolatın dünyadaki diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları belirlenmiştir. CNKOkra izolatının dünyadaki diğer TuMV izolatları ile %77-93 nükleotit ve %86-98 arasında amino asit benzerliği gösterdiği ortaya konmuştur. Nükleotit düzeyinde benzerlik oranlarına bakılacak olursa en yüksek benzerliği %93 oranında TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %77 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 erişim numaralı Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir. CNKOkra izolatının amino asit temelli benzerlik oranlarına bakılacak olursa en yüksek benzerliği %98 oranında TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile gösterirken, en düşük benzerliği ise %86 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 erişim numaralı Almanya izolatları ile gösterdiği tespit edilmiştir.

Yapılan filogenetik analizler sonucunda ise CNKOkra izolatının tüm genom nükleotit dizilimlerine göre basal-B grubuna ait olduğu belirlenmiştir. Oluşturulan bu filogenetik ağaçta CNKOkra izolatı ile IRNCV1, IRNS1 ve IRNTuSh18 isimli erişim numaraları sırasıyla AP017752, AP017788 ve AP017808 olan İran izolatları, GRC42 ve GRC43 isimli erişim numaraları ise AB252117 ve AP017756 olan Yunanistan izolatları, ITA1A ve ITA2 isimli erişim numaraları ise AB701720 ve AB701721 olan İtalya izolatları ve TUR242 isimli AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı olduğu belirlenmiştir.

Virüs hastalıklarına karşı etkili kimyasal bir mücadele yöntemi bulunmamaktadır. Bu yüzden virüs hastalıkları fungus ve bakteri gibi hastalık etmenlerine göre bazen daha yıkıcı olabilmektedir. Bu nedenle bitkilere virüs bulaştırılmamaya çaba gösterilmelidir. Bu bağlamda dayanıklı çeşitlerin kullanılması, böceklerle mücadele edilmesi ve koruyucu önlemlere önem verilmesi virüs hastalıklarına karşı yapılacak olan basit, etkili ve ucuz mücadele yöntemlerini oluşturmaktadır. Bitki virüs hastalıklarının mücadelesinde ilk önce virüsün tanılanması gerekmektedir. Bu yüzden viral hastalıklarının mücadelesinde erken tanı ve teşhis yapmak çok önemlidir.

TuMV'nin en önemli konukçuları kolza, marul, aspir, Çin lahanası, karnabahar, lahana, enginar, yer fıstığı, hardal, su teresi, turp, tütün ve birçok yabancı ottur. TuMV çok geniş bir konukçu dizisine sahiptir ve dünyada konukçusu olduğu bitkilerin yetiştirildiği bölgelerde ekonomik düzeyde zarara neden olmaktadır. Bu nedenle virüsün yayılmasını engelleyecek gerekli önlemelerin alınması sağlanmalıdır. Bununla birlikte bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda moleküler karakterizasyon çalışmalarının TuMV'nin diğer konukçularında da belirlenmesi ve dayanıklılık ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmesi gerekmektedir.

Yüksek lisans tezi kapsamında gerçekleştirilen bu çalışma ile dünyada ilk kez bamyayı enfekte eden TuMV izolatının tüm genom dizisi belirlenerek, tüm genom dizilimine dayalı moleküler karakterizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Ayrıca ülkemizde bugüne kadar bamya bitkisinde fitopatolojik açıdan gerçekleştirilmiş sadece bir çalışma mevcuttur. Sözü edilen çalışmada TuMV enfeksiyonunun bamyada tespit edildiği çalışmadır. Bu bağlamda gerçekleştirilen bu çalışma bamya bitkisinde fitopatolojik açıdan özgün bir çalışma olması bakımından da büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKÇA

Adachi, S., Honma, T., Yasaka, R., Ohshima, K. ve Tokuda, M. (2018). *Effects of infection by Turnip mosaic virus on the population growth of generalist and specialist aphid vectors on turnip plants*. Plos one, 13(7), e0200784.

Akbay, C., Candemir, S. ve Orhan, E. (2005). *Türkiye'de yaş meyve ve sebze ürünleri üretim ve pazarlaması*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi, 8(2), 96-107.

Al-Saleh, M. A., Al-Shahwan, I. M., Amer, M. A. ve Abdalla, O. A. (2009). *Etiology of a mosaic disease of radish and lettuce and sequencing of the coat protein gene of the causal agent in Saudi Arabia*. Int. J. Virol, 5, 131-142.

Anonim, 2018. Dünya Bamya istatistikleri. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize (Erişim tarihi: 14.10.2020)

Asare-Bediako, E., Van der Puije, G. C., Taah, K. J., Abole, E. A. ve Baidoo, A. (2014). *Prevalence of okra mosaic and leaf curl diseases and Podagrica spp. damage of okra (Albelmoschus esculentus) plants*. International Journal of Current Research and Academic Review, 2(6), 260-271.

Chung, B. N., San Choi, K., Ahn, J. J., Joa, J. H., Do, K. S. ve Park, K. S. (2015). *Effects of temperature on systemic infection and symptom expression of Turnip mosaic virus in Chinese cabbage (Brassica campestris)*. The plant pathology journal, 31(4), 363.

Edwardson, J. R. ve Christie, R. G. (1991). *The Potyvirus Group*. Florida Agricultural Experiment Station Monograph 16, vols. I-IV. University of Florida, Gainesville.

Erkan, S., Gümüş, M., Paylan, İ. C., Duman, İ.ve ERGÜN, M. (2013). *İzmir ili ve çevresindeki bazı kışlık sebzelerde görülen viral etmenlerin saptanması*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 50(3), 311-322.

Farzadfar, S., Ohshima, K., Pourrahim, R., Golnaraghi, A. R., Jalali, S. ve Ahoonmanesh, A. (2005). *Occurrence of Turnip mosaic virus on ornamental crops in Iran*. Plant Pathology, 54(2).

Farzadfar, S., Tomitaka, Y., Ikematsu, M., Golnaraghi, A. R., Pourrahim, R. ve Ohshima, K. (2009). *Molecular characterisation of Turnip mosaic virus isolates from Brassicaceae weeds*. European journal of plant pathology, 124(1), 45.

Gera, A., Lampel, M., Cohen, J. ve Rosner, A. (2001). *Okra (Hibiscus esculentus)—a new host of Turnip mosaic virus in Israel*. Plant Disease, 85 (3), 336.

Gera, A., Lesemann, D. E., Cohen, J., Franck, A., Levy, S. ve Salomon, R. (1997). *The natural occurrence of turnip mosaic potyvirus in Allium ampeloprasum.* Journal of Phytopathology, 145(7), 289-293.

Güngör, M., Uzunbacak, H., Yılmaz, N. D. K. ve Şevik, M. A. (2017). *Samsun ili ıspanak üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi*. Anadolu Tarim Bilimleri Dergisi, 32(2), 164.

Han, J. Y., Chung, J., Kim, J., Seo, E. Y., Kilcrease, J. P., Bauchan, G. R. ve Lim, H. S. (2016). *Comparison of helper component-protease RNA silencing suppression activity, subcellular localization, and aggregation of three Korean isolates of Turnip mosaic virus*. Virus genes, 52(4), 592-596.

Hughes, S. L., Hunter, P. J., Sharpe, A. G., Kearsey, M. J., Lydiate, D. J. ve Walsh, J. A. (2003). *Genetic mapping of the novel Turnip mosaic virus resistance gene TuRB03 in Brassica napus*. Theoretical and Applied Genetics, 107(7), 1169-1173.

Jinliang, L., Xiaoqing, Y., Yanping, T., Jie, D., Xiaoping, Z., Xiangdong, L. ve Dunyu, Y. (2006). *Molecular characterization and coat protein gene expression of a turnip mosaic virus isolate from radish in Weifang*. Acta Horticulturae Sinica, 33(1), 84.

Karanfil, A. ve Korkmaz, S. (2016). *Çanakkale ili kanola (Brassica napus L.) üretim alanlarında Şalgam mozaik virüsü (Turnip mosaic virus; TuMV) enfeksiyonunun tanılanması ve karakterizasyonu*. Bitki Koruma Bülteni, 56(2).

Karanfil, A. ve Korkmaz, S. (2019). *Detection and molecular characterization of Turnip mosaic virus infecting okra in Turkey*. Bitki Koruma Bülteni, 59(3), 79-87.

Karanfil, A. ve Korkmaz, S. (2020). *Çanakkale ve Tekirdağ İlleri Kanola Üretim Alanlarında Önemli Virüs Hastalıklarının Tanılanması ve Karakterizasyonu*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 57(1), 53-62.

Kim, I. H., Ju, H. K., Gong, J., Han, J. Y., Seo, E. Y., Cho, S. W. ve Lim, H. S. (2019). *A turnip mosaic virus determinant of systemic necrosis in nicotiana benthamiana and a novel resistance-breaking determinant in Chinese cabbage identified from chimeric infectious clones*. Phytopathology, 109(9), 1638-1647.

Korkmaz, S. ve Çevik, B. (2009). Ülkemiz Şalgam Mozaik Virüsü İzolatlarının Tanılanması ve Moleküler Karakterizasyon, *Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi,* Van, Türkiye, 141.

Korkmaz, S., Cevik, B., Karanfil, A., Onder, S. ve Ohshima, K. (2020). *Phylogenetic relationships and genetic structure of populations of turnip mosaic virus in Turkey*. European Journal of Plant Pathology, 156(2), 559-569.

Korkmaz, S., Onder, S., Tomitaka, Y. ve Ohshima, K. (2007). *First report of Turnip mosaic virus on Brassicaceae crops in Turkey*. Plant Pathology, 56(4).

Korkmaz, S., Tomitaka, Y., Onder, S. ve Ohshima, K. (2008). *Occurrence and molecular characterization of Turkish isolates of Turnip mosaic virus*. Plant Pathology, 57(6), 1155-1162.

Kozubek, E., Irzykowski, W. ve Lehmann, P. (2007). *Genetic and molecular variability of a Turnip mosaic virus population from horseradish (Cochlearia armoracia L.)*. Journal of applied genetics, 48(3), 295-306.

Kumar, A., Kumar, P. ve Nadendla, R. (2013). *A review on: Abelmoschus esculentus (okra)*. International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences, 3(4), 129-132.

Kumar, M., Shamim, M., Ranjan, T., Kumar, S., Om, H., Kumar, R. R. ve Kumar, P. (2016). *A Review on: Diseases of the "Okra"(Abelmoschus esculentus) and its present scenario*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 5(4), 345-349.

Lamont, W. J. (1999). *Okra—A versatile vegetable crop*. HortTechnology, 9(2), 179-184.

Lehmann, P., Jenner, C. E., Kozubek, E., Greenland, A. J. ve Walsh, J. A. (2003). *Coat protein-mediated resistance to Turnip mosaic virus in oilseed rape (Brassica napus)*. Molecular Breeding, 11(2), 83-94.

Li, G., Lv, H., Zhang, S., Zhang, S., Li, F., Zhang, H. ve Sun, R. (2019). *TuMV management for brassica crops through host resistance: retrospect and prospects*. Plant Pathology, 68(6), 1035-1044.

Li, R., Mock, R., Huang, Q., Abad, J., Hartung, J. ve Kinard G. (2008). *A Reliable and in Expensive Method of Nucleic Acid Extraction for the PCR-Based Detection of Diverse Plant Pathogens.* Journal of Virological Methods, 154 (1-2): 48-55.

Martín, S., ve Elena, S. F. (2009). *Application of game theory to the interaction between plant viruses during mixed infections*. Journal of general virology, 90(11), 2815-2820.

Maskell, L. C., Raybould, A. F., Cooper, J. I., Edwards, M. L. ve Gray, A. J. (1999). *Effects of turnip mosaic virus and turnip yellow mosaic virus on the survival, growth and reproduction of wild cabbage (Brassica oleracea)*. Annals of Applied Biology, 135(1), 401-407.

Muhire, B.M., Varsani, A. ve Martin, D.P. (2014). *SDT: A Virus Classification Tool Based on Pairwise Sequence Alignment and Identity Calculation*. Plos One, 9: 0108277.

Ohshima, K., Yamaguchi, Y., Hirota, R., Hamamoto, T., Tomimura, K., Tan, Z. Y., Sano, T., Azuhata, F., Walsh, J. A., Fletcher, J., Chen, J. S., Gera, A. ve Gibbs, A. (2002). *Molecular Evolution of Turnip mosaic virus: Evidence of Host Adaptation, Genetic Recombination and Geographical Spread*. Journal of General Virology, 83, 1511-21.

Parmar, N., Thakur, A. K., Kumar, P., Thakur, P. D. ve Bhardwaj, S. V. (2017). *Molecular characterization of Turnip mosaic potyvirus (TuMV)-infecting radish (Raphanus sativus L.) crop in India*. 3 Biotech, 7(6), 382.

Provvidenti, R., Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J. ve Watson, L. (1996). *Turnip mosaic potyvirus, Viruses of Plants*. CAB International, Wallingford, UK, Pp: 1340-43.

Ribeiro-Junior, M. R., Baldini, L. F. S., Nozaki, D. N., Cruciol, G. C. D., Pantoja, K. F. C., Marchi, B. R. ve Krause-Sakate, R. (2018). *Biological and molecular characterization of a basal-Brassica/Raphanus Turnip mosaic virus isolate from Eruca sativa*. Tropical Plant Pathology, 43(4), 371-375.

Riechmann, J. L., Lain, S. ve García, J. A. (1992). *Highlights and prospects of potyvirus molecular biology*. Journal of General Virology, *73*(1), 1-16.

Sebze Ürünleri Üretim Miktarları, (2019). Ankara: Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK).

Sevik, M. A. (2016). *Viruses infecting brassica crops in the Black Sea region of Turkey*. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science, 66(7), 553-557.

Sevik, M. A. (2019). *Viruses infecting cool season crops in the northern Turkey*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 91(3).

Shevchenko, O., Yasaka, R., Tymchyshyn, O., Shevchenko, T. ve Ohshima, K. (2018). *First evidence of the occurrence of Turnip mosaic virus in Ukraine and molecular characterization of its isolate*. Journal of Phytopathology, 166(6), 429-437.

Singh, R., Banerjee, A., Sharma, S. K., Bhagawati, R., Baruah, S. ve Ngachan, S. V. (2015). *First report of Turnip mosaic virus occurrence in cole crops (Brssica spp) from Arunachal Pradesh, India*. Virus Disease, 26(3), 211-213.

Urcuqui-Inchima, S., Haenni, A. L. ve Bernardi, F. (2001). *Potyvirus proteins: a wealth of functions*. Virus research, 74(1/2), 157-175.

Valouzi, H., Golnaraghi, A., Abedini-Aminabad, L. ve Diyanat, M. (2017). *Serological and molecular identification of Turnip mosaic virus in some wild plants in Iran*. Australasian Plant Disease Notes, 12(1), 3.

Walsh, J. A. ve Jenner, C. E. (2002). T*urnip mosaic virus and the quest for durable resistance*. Molecular plant pathology, 3(5), 289-300.

Wang, H. Y., Liu, J. L., Gao, R., Chen, J., Shao, Y. H. ve Li, X. D. (2009). *Complete genomic sequence analyses of Turnip mosaic virus basal-BR isolates from China*. Virus Genes, 38(3), 421-428.

Yadav, Y., Maurya, P. K., Devi, A. P., Jamir, I., Bhattacharjee, T., Banerjee, S. ve Chattopadhyay, A. (2018). *Enation leaf curl virus (ELCV): A real threat in major okra production belts of India: A review*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7(2), 3795-3802.

Yasaka, R., Fukagawa, H., Ikematsu, M., Soda, H., Korkmaz, S., Golnaraghi, A. ve Ohshima, K. (2017). *The timescale of emergence and spread of turnip mosaic potyvirus*. Scientific reports, 7(1), 1-14.

Yunzhi, S., Lingling, L. ve Changxiang, Z. (2005). *Cloning and sequence analysis of coat protein genes of Turnip mosaic virus isolates obtained from Shandong*. Scientia Agricultura Sinica.

Zhang, C., Zhao, Y., Yang, D., Sun, H., Xu, Z. ve Xie, Y. (2014). *Cloning and sequence analysis of coat protein genes of Turnip mosaic virus isolates from different hosts*. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 30(1), 37-41.

Zheng, G. H., Peng, D. W., Tong, Q. X., Zheng, Z. Z. ve Ming, Y. L. (2017). *Occurrence of turnip mosaic virus in Phalaenopsis sp. in China*. Journal of Plant Pathology, 99(3), 703-706.

Zubareva, I. A., Vinogradova, S. V., Gribova, T. N., Monakhos, S. G., Skryabin, K. G. ve Ignatov, A. N. (2013). *Genetic diversity of turnip mosaic virus and the mechanism of its transmission by Brassica seeds*. In Doklady. Biochemistry and Biophysics (Vol. 450, No. 1, p. 119). Springer Nature BV.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

İsim SOYİSİM :
Doğum Yeri :
Doğum Tarihi :

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi :
Yüksek Lisans Öğrenimi :

Bildiği Yabancı Diller :

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar

1) SCI
2) Diğer

b) Bildiriler

1) Uluslararası
2) Ulusal

c) Katıldığı Projeler

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:

İLETİŞİM

E-posta Adresi :
ORCID :