

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TÜRKİYE'DE RHIZOMANIA İLE BULAŞIK TOPRAK ÖRNEKLERİNDE
DAYANIKLILIK KIRICI *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV)
VARYANTLARININ SEROLOJİK, BİYOLOJİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Hüseyin UZUNBACAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TÜRKİYE’DE RHIZOMANIA İLE BULAŞIK TOPRAK ÖRNEKLERİNDE
DAYANIKLILIK KIRICI *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV)
VARYANTLARININ SEROLOJİK, BİYOLOJİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Hüseyin UZUNBACAK

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

SAMSUN

2019

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Hüseyin UZUNBACAK tarafından hazırlanan " Türkiye’de Rhizomania ile Bulaşık Toprak Örneklerinde Dayanıklılık Kırıcı *Beet Necrotic Yellow Vein Virus* (BNYVV) Varyantlarının Serolojik, Biyolojik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması " adlı tez çalışması .../.../2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Mehmet Ali ŞEVİK
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Handan ALTINOK
Erciyes Üniversitesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum/...../2019

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak yazdığım bu tez içindeki bütün bilgilerinin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

.../.../2019

Hüseyin UZUNBACAK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TÜRKİYE'DE RHIZOMANIA İLE BULAŞIK TOPRAK ÖRNEKLERİNDE DAYANIKLILIK KIRICI *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) VARYANTLARININ SEROLOJİK, BİYOLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Hüseyin UZUNBACAK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ

Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), tüm Dünya'da şeker pancarının ekonomik açıdan en önemli hastalıklarından biri olan rhizomania'ya neden olmaktadır. BNYVV plasmodiophorid vektör *Polymyxa betae* Keskin tarafından taşınmaktadır. Hastalığın kontrolü, dayanıklı pancar çeşitlerinin yetiştiriciliği ile olmaktadır. Bu çalışmada, 29 ilden alınan BNYVV ile bulaşık 233 toprak örneğinde BNYVV izolatlarının dayanıklılık kırma durumları araştırılmıştır. BNYVV'ye dayanıklı şeker pancarı çeşitleri (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) tuzak bitki testi tekniğine göre BNYVV ile bulaşık topraklarda yetiştirilmiş ve virüs enfeksiyonu hastalık simptomsu ve DAS-ELISA testine göre değerlendirilmiştir. Testlenen toprak örneklerinden %51.9'u *Rz1+Rz2* genlerini içeren, %18.9'u da *Rz1+C48+minör genleri* taşıyan şeker pancarı çeşitlerinin köklerinde enfeksiyon oluşturmuştur. Elde edilen sonuçlar, dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının, Türkiye'deki şeker pancarı üretim alanlarında oldukça yaygın olduğunu ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen ve coğrafik orjinlerine göre seçilen, 14 adet dayanıklılık kıran (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*-dayanıklılığını kıran) ve beş adet dayanıklılık-kırmayan BNYVV izolatının p25 gen bölgesi RT-PCR ile çoğaltılmış ve kısmi nükleotit sekans verileri elde edilmiştir. Dayanıklılık kıran ve kırmayan BNYVV Türk izolatları arasındaki benzerlik, nükleotit ve amino asit düzeyinde sırasıyla, % 98-100 ve % 96-100 olarak saptanmıştır. Nükleotit dizilimi ve filogenetik analizler ise, Türk izolatlarının p25'inin I. Grupta yer aldığını göstermiştir. Ayrıca, patojenitede etkin olduğu bilinen, p25 proteininin 67-70. pozisyonlarındaki amino asit dizileri belirlenmiştir. Dayanıklılık kıran izolatlar, p25 kod bölgesinde yedi çeşit motif (ACHG, AHHG, VHHG, ASHG, AFHG, AYHG ve D-HG/-DHG) içerirken, dayanıklılık kırmayan izolatlar, ACHG, AHHG ve ALHG motiflerini içermiştir. Ayrıca, dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarında RNA-5'in varlığı, p26 bölgesine spesifik primer kullanılarak RT-PCR ile araştırılmıştır. Testlenen örneklerin %70'inin RNA-5 segmentini içerdiği tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları, Türkiye'deki BNYVV izolatlarının farklı genetik profile ve patojeniteye sahip olduğunu ve dayanıklılık kırılma durumunun ne 67.70. pozisyonlarda yer alan amino asit dizileri, ne de RNA-5'in bulunma durumu ile doğrudan ilişkili olmadığını ortaya koymuştur. İlave olarak, dayanıklılık kıran 10 BNYVV izolatı seçilmiş ve 11 farklı bitki türü kullanılarak konukçu reaksiyonu çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Konukçu reaksiyonu çalışmaları, BNYVV izolatları arasında oldukça fazla biyolojik değişkenlik olduğunu göstermiştir. Beş bitki türündeki pozitif reaksiyona göre, altı farklı BNYVV popülasyonu tespit edilmiştir. Bu popülasyonlardan biri, normalde BNYVV'nin mekanik inokulasyonu sonrası lokal lezyon oluşturduğu *Chenopodium quinoa*'da sistemik enfeksiyona neden olmuştur.

Temmuz 2019, 154 sayfa

Anahtar Kelimeler: Şeker pancarı, BNYVV, Dayanıklılık kırılması, *Rz1+Rz2*, *Rz1+C48+minör genler*, P25, RNA-5

ABSTRACT

Master's Thesis

INVESTIGATION OF RESISTANCE-BREAKING *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) VARIANTS ON SOIL SAMPLES CONTAMINATED WITH RHIZOMANIA BY USING SEROLOGICAL, BIOLOGICAL AND MOLECULAR METHODS.

Hüseyin UZUNBACAK

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Natural and Applied Science's
Department of Plant Protect

Supervisor: Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ

Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) causes rhizomania, one of the most economically important diseases of sugar beet worldwide. BNYVV is transmitted by the plasmodiophorid vector *Polymyxa betae* Keskin. The disease control depends on the use of resistant beet cultivars. In this study, a total of 233 BNYVV-infested soil samples taken from 29 provinces were investigated for resistance-breaking properties of BNYVV isolates. BNYVV resistant sugar beet cultivars (including *Rz1+Rz2* and *Rz1+C48+minor genes*) were grown in the BNYVV-infested soils by the bait plant technique, and virus infection was evaluated based on disease symptom and DAS-ELISA test. Of the soil samples tested, 51.9% produced infection in the roots of sugar beet cultivar (cv.) containing the *Rz1+Rz2* and 18.9% in cv. carrying the *Rz1+C48+minor genes*. Our results revealed that resistance-breaking BNYVV isolates were highly common in sugar beet production areas in Turkey. Besides this, the p25 gene region of 14 resistance-breaking (*Rz1+Rz2* and *Rz1+C48+minor genes*-resistance-breaking) and five non-resistance-breaking BNYVV isolates obtained from sugar beet growing areas of Turkey and selected according to their geographic were amplified by RT-PCR and the partial nucleotide sequences obtained. Similarity between resistance breaking and non-resistance breaking BNYVV Turkish isolates were 98-100% and 96-100% nucleotide and amino acid level, respectively. Nucleotide sequencing and phylogenetic analyses showed that p25 of Turkish isolates were clustered in Group I. Also, amino acid sequences at 67-70. positions of the p25 protein, which is known to be effective in pathogenicity, were identified. Resistance-breaking isolates consisted of seven types of motifs (ACHG, AHHG, VHHG, ASHG, AFHG, AYHG and D-HG/-DHG) while non-resistance-breaking isolates had ACHG, AHHG and ALHG motifs in p25 coding region. Also, the presence of BNYVV RNA-5 component was investigated by RT-PCR using the primers specific for p26 coding region in resistance-breaking BNYVV isolates. Of the samples tested 70% were found to contain RNA-5 segment. The results of the study revealed that BNYVV isolates in Turkey have different genetic profile and pathogenicity, and neither amino acid residues at positions 67-70 nor RNA-5 segment seems to be directly associated with resistance-breaking. Additionally, ten of the resistance-breaking BNYVV isolates were selected and used in host reaction studies using eleven different plant species. Host reaction studies demonstrated the presence of wide biological variability in BNYVV isolates. Six BNYVV populations differed from the others with respect to positive reaction in five plant species, and one of them was able to move systemically through *Chenopodium quinoa*, which normally response to BNYVV resulting in local lesion after mechanical inoculation.

July 2019, 154 pages

Keywords: Sugar beet, BNYVV, Resistance-breaking, *Rz1+Rz2*, *Rz1+C48+minor genes*, P25, RNA-5

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübesini hiçbir zaman benden esirgemeyen Danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Miray SÖKMEN'e sonsuz teşekkür ederim.

Manevi desteklerinden dolayı hayat arkadaşım Enise UZUNBACAĞ'a ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

Tez yazım aşamasında ve laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Doktora öğrencisi Ebru ERKAN'a, Araş. Gör. Elif YILDIRIM'a, Yüksek Lisans Öğrencisi Murat GÜNGÖR'e ve Yüksek Lisans Öğrencisi Selvi YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, PYO.ZRT.1904.13.036 nolu Bilimsel Araştırma Projesi olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

2019, Samsun

Hüseyin UZUNBACAĞ

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
2.1. Hastalığın İlk Tespiti	6
2.2. Virüsün Morfolojisi, Taksonomisi ve Genomik Özellikleri	7
2.3. Streyn Tipleri.....	10
2.4. Coğrafik Dağılımı.....	13
2.5. Simptomatoloji ve Konukçu Çevresi	13
2.6. Zararı ve Ekonomik Önemi	14
2.7. Vektör <i>Polymyxa betae</i>	15
2.8. Hastalığın Kontrolü	15
2.9. Dayanıklılık Kırılması	17
2.10. Türkiye’de Yürütülen Çalışmalar	19
2.11. Yurtdışında Yürütülen Bazı Çalışmalar	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Şeker Pancarı Tohumları	24
3.1.2. Toprak Örnekleri.....	24
3.1.3. Antiserum.....	32
3.1.4. Mikropleytlar	32
3.1.5. Primerler	32
3.1.6. Test Bitkileri	32
3.2. Yöntem	33
3.2.1. Tuzak Bitki Testi Yöntemi	33
3.2.2. ELISA Testi	35
3.2.3. Moleküler Çalışmalar	36

3.2.3.1. BNYVV İzolatlarının Seçimi	36
3.2.3.2. RNA Ekstraksiyonu	37
3.2.3.3. RT-PCR Yöntemi ile P25 Proteininin Çoğaltımı.....	38
3.2.3.4. RT-PCR Yöntemi ile P26 Proteininin Çoğaltımı.....	39
3.2.3.5. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi.....	39
3.2.3.6. Jelden PCR Ürünlerinin Ekstraksiyonu	40
3.2.3.7. BNYVV İzolatlarının P25 Genine Ait Bölgenin Nükleotit Dizilerinin Elde Edilmesi	41
3.2.3.8. BNYVV İzolatlarının P25 Genine Göre Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması.....	41
3.2.4. Biyolojik Çalışmalar	42
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	45
4.1. Bulgular	45
4.1.1. Türkiye Şeker Pancarı Üretim Alanlarında Dayanıklılık Kırıcı BNYVV Varyantlarının Araştırılması ve Yaygınlık Durumlarının Belirlenmesi.....	45
4.1.2. Farklı Genotiplerde BNYVV Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	61
4.1.3. Moleküler Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular.....	61
4.1.3.1. BNYVV İzolatlarının P25 Gen Bölgesinin RT-PCR Yöntemi ile Çoğaltılması	61
4.1.3.2. Farklı Genotiplerden İzole Edilen P25 Bölgesi'nin Baz Dizilerinin Elde Edilmesi	69
4.1.3.3. BNYVV İzolatlarının P25 Genine Göre Filogenetik Analizi.....	80
4.1.3.4. Farklı Genotiplerden Elde Edilen BNYVV İzolatlarının Tetrat Motiflerinin Belirlenmesi	82
4.1.3.5. Farklı Genotiplerden Elde Edilen BNYVV İzolatlarının P25 Proteinini Sekans Analiz Sonuçlarının İrdelenmesi	85
4.1.3.6. P26 Protein Gen Bölgesinin Çoğaltılması	88
4.1.4. Biyolojik Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular	90
4.1.4.1. <i>Rz1</i> Dayanıklılığını Kırıcı BNYVV İzolatlarının Mekanik İnokulasyon Çalışması Sonuçları	93
4.1.4.2. <i>Rz1+Rz2</i> Dayanıklılığını Kırıcı BNYVV İzolatının Mekanik İnokulasyon Çalışması Sonuçları	96
4.1.4.3. <i>Rz1</i> ve <i>Rz1+Rz2</i> Dayanıklılığını Kırıcı BNYVV İzolatının Mekanik İnokulasyon Çalışmaları Sonuçları.....	98
4.1.4.4. <i>Rz1+Rz2</i> ve <i>Rz1+C48+minör genlerin</i> Dayanıklılığını Kırıcı BNYVV İzolatının Mekanik İnokulasyon Çalışmaları Sonuçları	98

4.1.4.5. <i>Rz1, Rz1+Rz2 ve Rz1+C48+minör genlerin Dayanıklılığını Kırın</i> <i>BNYVV İzolatının Mekanik İnokulasyon Çalışmaları Sonuçları</i>	99
4.2. Tartışma	105
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	115
KAYNAKLAR	117
EKLER	131
EK 1. Türk izolatlarına ait RNA-3 segmentinin p25 bölgesini içeren kısmi baz dizilerinin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile nükleotit düzeyinde karşılaştırılması	132
EK 2. Türk izolatlarına ait p25 proteininin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile amino asit düzeyinde karşılaştırılması	149
EK 3. ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler	153
EK 4. Hoagland Solüsyonu	154
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR

SİMGELER

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
bp	Baz çifti
cM	Centimorgan
da	Dekar
dk	Dakika
g	Gram
ha	Hektar
kb	Kilobaz
kda	Kilodalton
kg	Kilogram
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimol
nm	Nanometre
pH	Acidity/Basicity of aqueous solution
rpm	Revolutions per minute
sn	Saniye

KISALTMALAR

A	Alanin
aa	Amino asit
ANB	Italian Sugar Beet Growers Association
BBSV	Beet black scorch virüs
BNYVV	Beet necrotic yellow vein virüs
BSBMV	Beet soilborne mosaic virüs
BSBV	Beet soilborne virüs
BtMV	Beet mosaic virüs
BWYV	Beet western yellows virüs
BVQ	Beet virüs Q
BYV	Beet yellows virüs
C	Sistein
CP	Coat protein (Kılıf proteini)
D	Aspartat
DAS-ELISA	Double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay
dsRNA	Double stranded RNA
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
FAO	Food and Agriculture Organization
G	Glisin
H	Histidin
HB	Hafif bombe
HEL	Helikaz
I	İzolösün
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
K	Kloroz
KLL	Klorotik lokal leke
L	Lokal enfeksiyon

L	Lösin
LSCS	Low sugar content syndrome
M	Metiyonin
ML	Maxium Likelihood
MTR	Metil transferaz
N	Asparajin
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NJ	Neighbor-joining
NLL	Nekrotik lokal leke
nt	Nükleotit
ORF	Open reading frame
P	Prolin
PBS	Fosfat Tamponu Salin
POL	Polimeraz
PRO	Proteaz
PTGS	Post transcriptional gene silencing
PVP	Polyvinylpyrrolidone
RB	Resistance breaking
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
RNA	Ribonükleik asit
RT-PCR	Reverse transcriptase polymerase chain reaction
<i>Rz1; Rz2; Rz3; Rz4; Rz5</i>	Rhizomania dayanıklılık genleri
S	Sistemik enfeksiyon
S	Serin
T	Timin
TGB	Triple gene block (üçlü gen bloğu)
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
USDA-ARS	National Center for Genetic Resources Preservation
WB	Wild beet (yabani pancar)

V

Valin

Y

Tirozin

YD

Yaprak deformasyonu

ZM

Zayıf mozayik



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. LSCS hastalığının şeker pancarı yumrularında oluşturduğu belirtiler	6
Şekil 2.2. BNYVV partiküllerinin elektron mikroskop görünümü	7
Şekil 2.3. BNYVV'nin genom organizasyonu ve proteinlerin fonksiyonları	8
Şekil 2.4. Rhizomania hastalığına karşı günümüzde kullanılan dayanıklılık genleri ve üzerinde çalışmaların devam ettiği dayanıklılık genleri	17
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan toprak örneklerinin temin edildiği iller ..	25
Şekil 3.2. Kum üzerinde ön çimlendirme yapıldıktan sonra bardaklara şaşırtılan şeker pancarı fideleri	34
Şekil 3.3. Tuzak bitki testi yöntemi uygulanan şeker pancarı bitkilerinin genel görünüşleri	34
Şekil 3.4. Tuzak bitkilerin hasat edilmesi	35
Şekil 3.5. DAS-ELISA yöntemi	36
Şekil 3.6. Agaroz jelin hazırlanması	40
Şekil 3.7. Plastik kaplarda yetiştirilen indikatör bitkilerin görünümü	43
Şekil 3.8. Plastik bardaklara şaşırtılan farklı indikatör bitkilerin genel görünüşleri	43
Şekil 3.9. İndikatör bitkilere BNYVV izolatlarının mekaniksel inokulasyon aşamaları	44
Şekil 4.1. Tuzak bitki testi yöntemine göre iklim odasında yetiştirilen şeker pancarı bitkilerinin genel görünüşü	45
Şekil 4.2. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında $Rz1+Rz2$ dayanıklılığını kıran BNYVV popülasyonlarının dağılımı	58
Şekil 4.3. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında $Rz1+C48+minör$ genler dayanıklılığını kıran BNYVV popülasyonlarının dağılımı	59

Şekil 4.4.	BNYVV ile bulaşık topraklarda yetişen farklı şeker pancarı genotiplerinin ortalama ELISA absorban değerleri	61
Şekil 4.5.	P25 geninin moleküler karakterizasyonu çalışmalarında kullanılan BNYVV izolatlarının seçildiği iller	62
Şekil 4.6.	Dayanıklılık kıramayan BNYVV izolatlarının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum <i>Taq</i> DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu	63
Şekil 4.7.	Dayanıklılık kıramayan BNYVV izolatlarının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum <i>Taq</i> DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu	63
Şekil 4.8.	Dayanıklılık kıramayan BNYVV izolatının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum <i>Taq</i> DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu	64
Şekil 4.9.	<i>Rz1+C48+minör genleri</i> içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum <i>Taq</i> DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu	65
Şekil 4.10.	<i>Rz1+C48+minör genleri</i> içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin PCR yöntemi (Q5 High-Fidelity DNA Polymerase enzimi) ile çoğaltılması	66
Şekil 4.11.	<i>Rz1+Rz2</i> genlerini içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum <i>Taq</i> DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu	66
Şekil 4.12.	<i>Rz1+Rz2 genlerini</i> içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin PCR yöntemi (Q5 High-Fidelity DNA Polymerase enzimi) ile amplifikasyonu	67
Şekil 4.13.	<i>Rz1+Rz2</i> genlerini içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin PCR yöntemi (Q5 High-Fidelity DNA Polymerase enzimi) ile amplifikasyonu	68
Şekil 4.14.	Baz dizisi analizleri için 614 no'lu izolatın jelden ekstraksiyon sonrası agaroz jelde oluşturdukları DNA fragmenti	68

Şekil 4.15.	Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BNYVV izolatlarının ve GenBank (NCBI) veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının p25 bölgelerine ait nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç	81
Şekil 4.16.	Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen farklı tetrat motiflerine sahip BNYVV izolatlarının coğrafik orjinlerine göre dağılımları	84
Şekil 4.17.	P26 geninin RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi	88
Şekil 4.18.	P26 geninin RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi	89
Şekil 4.19.	Biyolojik çalışmalarda kullanılan BNYVV izolatlarının orjinleri (A), farklı genotiplerde dayanıklılık kırma durumları ile bazı moleküler özellikleri	90
Şekil 4.20.	ELZG-40 izolatının <i>N. benthamiana</i> bitkisinde inokuleli yaprakta oluşturduğu kloroz (A) ve bu bitkinin genel görünümü (B)	94
Şekil 4.21.	ELZG-40 izolatının <i>N. rustica</i> bitkisinde virüs inokuleli yaprakta oluşturduğu hafif kloroz (A) ve bu bitkide oluşturduğu sistemik enfeksiyon (B)	94
Şekil 4.22.	AKSY-542 izolatının <i>N. benthamiana</i> bitkisine ait inokuleli yaprakta sebep olduğu yaprakta deformasyon ve klorotik lokal lezyon (A) ve bu bitkinin genel görünümü (B)	95
Şekil 4.23.	<i>N. rustica</i> bitkisinde AKSY-542 izolatının inokuleli yaprakta sebep olduğu kloroz + zayıf mozayik (A) ve bu bitkinin genel görünümü (B)	95
Şekil 4.24.	<i>C. quinoa</i> bitkisinde KNYA-386 izolatının semptom sergilemeden oluşturduğu sistemik enfeksiyon. (A: inokuleli yaprak; B: bitkinin genel görünümü)	97
Şekil 4.25.	<i>N. benthamiana</i> bitkisinde KNYA-386 izolatının inokuleli yapraklarda oluşturduğu kloroz (A), kloroz+klorotik leke (B) ve bitkinin genel görünümü (C)	97
Şekil 4.26.	<i>N. rustica</i> bitkisinde KNYA-386 izolatının neden olduğu sistemik enfeksiyon (A) ve inokuleli yaprakta gözlenen kloroz semptomu-ELISA sonucu negatif (B)	98
Şekil 4.27.	KNYA-418 izolatının <i>N. rustica</i> bitkisinde virüs inokulasyonu yapılan (A) ve yapılmayan yapraklarının (B) genel görünüşleri	101

Şekil 4.28.	<i>B. maritima</i> bitkisinde KAST-281 izolatının simptomsuz olarak oluşturduğu ELISA ile teyit edilen sistemik enfeksiyon (A) ve bu izolatın bitkinin inokuleli yaprağında neden olduğu damarlarda belirginleşme- ELISA sonucu negatif (B)	101
Şekil 4.29.	<i>N. rustica</i> bitkisinde KAST-281 izolatının virüs-inokuleli yaprakta meydana getirdiği hafif kloroz (A) ve bitkinin genel görünümü (B)	101
Şekil 4.30.	YZGT-312 izolatının <i>S. oleraceae</i> cv. Rick Zwan bitkisinde neden olduğu sistemik enfeksiyonun görünümü	102
Şekil 4.31.	YZGT-312 izolatının <i>S. oleraceae</i> cv. Nebraska bitkisinde neden olduğu sistemik enfeksiyon	102



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 1.1. Dünya şeker pancarı ekim alanı, üretim miktarı ve verim değerleri	2
Çizelge 1.2. Türkiye’de yıllara göre şeker pancarı ekim alanı, üretim miktarı ve verim değerleri	2
Çizelge 1.3. Türkiye’de illere göre şeker pancarı üretim alanları, üretim miktarları ve verim değerleri	3
Çizelge 2.1. BNYVV streyn tipleri ve bu streynlerin coğrafik dağılımları	12
Çizelge 2.2. Kronolojik olarak rhizomania hastalığının belirlendiği ülkeler	13
Çizelge 3.1. Tuzak bitki testi çalışmalarında kullanılan toprak örneklerinin temin edildiği il, ilçe, köyler ile toprak örneklerine ait numaralar	26
Çizelge 3.2. RT-PCR çalışmalarında kullanılan primerler ve baz dizileri .	32
Çizelge 3.3. Biyolojik çalışmalarda kullanılan test bitkileri ve temin edildiği yerler	33
Çizelge 3.4. Moleküler çalışmalarda kullanılan toprak örneklerinin orjinleri, içerdikleri BNYVV izolatlarının farklı genotiplerde enfeksiyon oluşturma durumları ile bu izolatların elde edildiği genotipler	37
Çizelge 3.5. Biyolojik çalışmalar için seçilen BNYVV izolatlarının orjinleri ve patojenik özellikleri	42
Çizelge 4.1. <i>Rz1+Rz2</i> ve <i>Rz1+C48+minör genler</i> içeren şeker pancarı çeşitleri kullanılarak gerçekleştirilen tuzak bitki testi sonucunda yetiştirilen bitkilere ait ortalama bitki ve kök ağırlıkları, masroskobik gözlem sonuçları ve ELISA absorbans değerleri	46
Çizelge 4.2. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BNYVV izolatlarının farklı genotiplerde (<i>Rz1+Rz2</i> ve <i>Rz1+C48+minör genler</i>) dayanıklılık kırma durumlarının illere göre dağılımları	60
Çizelge 4.3. Türkiye’nin farklı bölgelerinden elde edilen dayanıklılık kıran ve kıramayan BNYVV izolatlarına ait p25 proteininin birbirleri ve Dünya’daki bazı BNYVV izolatları ile nükleotit düzeyinde karşılaştırılması	70

Çizelge 4.4.	Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen dayanıklılık kıran ve kıramayan BNYVV izolatlarına ait p25 proteininin nükleotit düzeyinde göstermiş oldukları benzerlik oranları ...	74
Çizelge 4.5.	Farklı genotiplerden elde edilen p25 geninde delesyon içeren KNYA-418 izolatının delesyon içermeyen (Acces No: AY772230) BNYVV izolatına ait nükleotit dizilerinin karşılaştırması	75
Çizelge 4.6.	Türk BNYVV izolatlarının kısmi dizi analizi yapılan RNA-3 segmentinin Dünya izolatları ile benzerlik oranları	76
Çizelge 4.7.	Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen dayanıklılık kıran ve kıramayan BNYVV izolatlarına ait p25 proteininin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile amino asit düzeyinde karşılaştırılması	78
Çizelge 4.8.	Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen dayanıklılık kıran ve kıramayan BNYVV izolatlarına ait p25 proteininin amino asit düzeyinde göstermiş oldukları benzerlik oranları .	79
Çizelge 4.9.	Filogenetik analizde kullanılan BNYVV izolatları	80
Çizelge 4.10.	Farklı şeker pancarı genotiplerinden izole edilen BNYVV izolatlarının p25 proteininin 67-70. pozisyonunda yer alan amino asitlerinde belirlenen tetrat motifleri	83
Çizelge 4.11.	Farklı şeker pancarı genotiplerinden izole edilen BNYVV izolatlarının p25 proteininin 67-70. pozisyonunda yer alan amino asitlerinde belirlenen tetrat motifleri	85
Çizelge 4.12.	Hassas (<i>rz1</i>) ve dayanıklı şeker pancarı genotiplerinde (<i>Rz1+Rz2</i> ve <i>Rz1+C48+minör genler</i>) BNYVV izolatlarının p25 proteininde belirlenen polimorfik bölgeler .	87
Çizelge 4.13.	Dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının orjini, dayanıklılık kırdıkları genotip, p25 tetrat motifleri ve RNA-5'in bulunma durumu	89
Çizelge 4.14.	Farklı genotiplerde dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının test bitkilerine inokulasyon sayıları ve ELISA ile pozitif olarak belirlenen tekerrür sayıları	92
Çizelge 4.15.	<i>Rz1</i> dayanıklılığını kıran BNYVV izolatlarının indikatör bitkilerde oluşturduğu semptomlar ve ELISA testi sonuçları .	93
Çizelge 4.16.	<i>Rz1+Rz2</i> dayanıklılığını kıran KNYA-386 izolatının indikatör bitkilerde oluşturduğu semptomlar ve ELISA testi sonuçları	96

Çizelge 4.17. <i>Rz1</i> , <i>Rz1+Rz2</i> ve <i>Rz1+C48+minör genler</i> dayanıklılığını kıran BNYVV izolatlarının indikatör bitkilerde oluşturduğu simptomlar ve ELISA testi sonuçları	100
Çizelge 4.18. Test bitkilerinde farklı genotiplerde dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının oluşturduğu simptomlar	104



1. GİRİŞ

Şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.), Amaranthaceae familyasında yer alan (Monteiro vd, 2013) iki yıllık bir bitki olup, birinci yıl toprak altında gövdesini oluşturmakta, ikinci yıl ise sapa kalkarak çiçek açıp, tohum vermektedir (Elçi vd, 1994).

Şeker pancarı yüzyıllar boyunca sebze olarak kullanılmış, ancak 1747 yılında Berlinli bilim insanı Andreas Marggraf tarafından ıslah edilerek şeker üretimi çalışmalarına başlanılmıştır. O yıllarda pancar kökünden %0.5-1.5 oranında şeker elde edilirken, günümüzde yapılan çalışmalarla şeker oranı %14-25'e kadar yükselmiştir. Şeker pancarı bitkisinin bazı yabancı türlerinin kökeninin Anadolu olmasından dolayı ülkemiz şeker pancarı tarımına çok elverişlidir. Ülkemizde, ilk şeker fabrikası, Uşak'ta Nuri Şeker öncülüğünde başlayan çalışmalar neticesinde 17.12.1926 yılında açılmıştır. Eşzamanlı olarak başlayan diğer çalışma ise Alpullu'da daha erken zamanda sonuca ulaşmış ve fabrika 26.11.1926'da faaliyete geçerek ilk Türk şekerini üretmiştir. Otuzlu yılların başlarına kadar bu iki fabrika ile ülke ihtiyacı karşılanırken, bu dönemde Eskişehir ve Turhal Şeker Fabrikaları kurulmuştur (Anonim, 2019).

Ülkemizde şeker pancarı tarımı; Doğu Karadeniz, Ege ve Akdeniz'in sahil şeridi ve Güney Doğu Anadolu Bölgesi dışındaki tüm bölgelerde yapılmaktadır. Bu bitki yurdumuzda şeker sanayinin hammaddesi olarak yetiştirilmekle birlikte; yan ürünleri olan baş, yaprak ve küspe hayvan yemi olarak, melas ise kimya sanayisinde kullanılması nedeni ile ülke ekonomisi için büyük önem taşımaktadır (Şiray, 1990).

Türkiye şeker pancarı üretiminde Rusya, Fransa, Almanya ve Amerika'nın ardından 5. sırada yer almaktadır. Dünya pancar üretimi 301.015.000 ton olup, Türkiye 20.828.000 ton ile bu üretimin %6.91'ini karşılamaktadır. Dünya genelinde şeker pancarı üretimi 48.940.260 da alanda yapılmaktadır. Ülkemiz 3.388.260 da'lık üretim alanı ile dünya toplam üretim alanının %6.92'sini oluşturmaktadır (Anonim, 2017) (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Dünya şeker pancarı ekim alanı, üretim miktarı ve verim değerleri (Anonim, 2017)

ÜLKE ADI	ÜRETİM (1000 ton)	EKİM ALANI (ha)	VERİM (ton/da)
RUSYA	51.933	1.174.719	4,42
FRANSA	34.381	387.878	8,86
ALMANYA	34.059	406.700	8,37
AMERİKA	32.046	450.870	7,10
TÜRKİYE	20.828	338.826	6,14
POLONYA	15.732	231.716	6,78
MISIR	12.106	236.732	5,11
ÇİN	9.384	174.000	5,39
DÜNYA	301.015	4.894.026	6,15

Türkiye İstatistik Kurumu 2018 yılı verilerine göre, ülkemizde şeker pancarı yaklaşık 3.071.534 da ekim alanı ve 18.900.000 ton üretim miktarı ile önemli kültür bitkileri arasında yer almaktadır. Ortalama pancar verimi ise 6.15 ton/da olarak tespit edilmiştir. 2018 yılında şeker pancarı üretim alanları ve üretim miktarlarında bir önceki yıla göre düşüş gözlenmektedir (Anonim, 2018) (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Türkiye’de yıllara göre şeker pancarı ekim alanı, üretim miktarı ve verim değerleri (Anonim, 2018)

YILLAR	ÜRETİM (ton)	EKİM ALANI (da)	VERİM (kg/da)
2006	14.452.162	3.256.995	4.437
2007	12.414.715	3.002.421	4.135
2008	15.488.332	3.219.806	4.810
2009	17.274.674	3.244.428	5.324
2010	17.942.112	3.291.669	5.451
2011	16.126.489	2.972.648	5.425
2012	14.919.940	2.806.945	5.315
2013	16.488.590	2.913.282	5.660
2014	16.743.045	2.887.851	5.798
2015	16.022.783	2.744.873	5.837
2016	19.592.731	3.224.477	6.076
2017	21.149.020	3.392.742	6.230
2018	18.900.000	3.071.534	6.150

Ülkemizde şeker pancarı üretiminin yapıldığı iller sıralamasında 772.028 da ekim alanı ve 5.536.267 ton üretim ile ilk sırayı Konya ilinin aldığı ve bunu Yozgat ve Kayseri illerinin izlediği görülmektedir (Anonim, 2018) (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Türkiye’de illere göre şeker pancarı üretim alanları, üretim miktarları ve verim değerleri (Anonim, 2018)

İller	Ekilen Alan (da)	Hasat Edilen Alan (da)	Üretim (ton)	Verim (kg/da)
Konya	772.028	772.028	5.536.267	7.171
Yozgat	304.900	304.900	1.760.587	5.774
Kayseri	186.865	186.854	1.023.245	5.476
Eskişehir	158.752	158.752	958.965	6.041
Aksaray	156.341	156.341	1.081.513	6.918
Afyon	130.484	130.484	843.917	6.468
Sivas	112.064	112.064	560.852	5.005
Tokat	102.987	102.783	582.657	5.669
Karaman	97.064	96.972	663.313	6.840
Ankara	88.819	88.819	533.508	6.007
Muş	85.763	85.763	351.144	4.094
Erzincan	84.218	84.218	444.227	5.275
Amasya	76.014	76.014	421.331	5.543
Kahramanmaraş	71.103	71.103	503.948	7.088
Nevşehir	59.168	59.168	367.008	6.203
Kütahya	56.387	55.875	329.185	5.891
Çorum	55.241	55.241	283.068	5.124
Kırşehir	52.977	52.977	342.580	6.467
Denizli	48.228	48.228	264.111	5.476
Burdur	38.531	38.531	198.846	5.161
Bitlis	34.537	34.537	151.035	4.373
Kastamonu	31.448	31.448	138.641	4.409
Bursa	29.656	29.656	240.501	8.110
Isparta	24.911	24.911	136.716	5.488
Malatya	22.913	22.913	179.954	7.854
Ağrı	21.867	21.867	71.795	3.283
Elazığ	19.373	19.363	106.990	5.525
Antalya	18.624	18.624	108.944	5.850
Niğde	14.439	14.439	97.605	6.760
Samsun	14.275	14.275	65.798	4.609
Uşak	13.337	13.337	76.082	5.705
Kırıkkale	11.664	11.664	58.378	5.005
Gaziantep	10.418	10.418	87.469	8.396
Erzurum	10.017	10.017	42.401	4.233
Van	8.509	8.473	37.501	4.426
Adapazarı	6.846	6.845	37.668	5.503
Bayburt	6.447	6.447	36.967	5.734
Adana	6.140	6.140	25.531	4.158
Balıkesir	5.372	5.372	36.982	6.884
Edirne	4.419	4.419	27.476	6.218

Çizelge 1.3. (Devam)

İller	Ekilen Alan (da)	Hasat Edilen Alan (da)	Üretim (ton)	Verim (kg/da)
Gümüşhane	4.042	4.042	15.451	3.823
Kırklareli	3.270	3.270	17.751	5.428
Tekirdağ	2.257	2.257	11.708	5.187
Çankırı	2.154	2.154	11.238	5.217
Iğdır	1.426	1.426	5.218	3.659
Manisa	1.228	1.228	5.868	4.779
Şanlıurfa	866	866	4.137	4.777
Bilecik	778	778	3.517	4.521
Kars	773	772	1.841	2.385
İstanbul	409	409	3.521	8.609
Bingöl	409	409	1.760	4.303
Muğla	358	358	1.711	4.779
Adıyaman	221	221	832	3.765
Bolu	176	176	648	3.682
Düzce	21	21	93	4.429
Çanakkale	-	-	-	-
TOPLAM	3.071.534	3.070.667	18.900.000	6.150

(■) : Bu çalışmada toprak örnekleri alınan illeri ifade etmektedir.

(-) : Üretim istatistiği bulunmamaktadır.

Şeker pancarı üretiminde verimi olumsuz etkileyen sebepler arasında hastalıklar önemli bir yere sahiptir. Dünya’da pancarda verimi olumsuz etkileyen, fungal, bakteriyel ve viral olmak üzere toplam 82 hastalıktan 51’i ülkemizde sorun oluşturmaktadır (Özgür, 2003). Günümüzde hem ülkemizde, hem de Dünya’da toprak kaynaklı bu virüs hastalıkları pancar üretimini tehdit etmektedir. Bu hastalıklar arasında *Polymyxa betae* Keskin ile taşınan “rhizomania” olarak da adlandırılan hastalık, *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV; Şeker pancarı nekrotik sarı damar virüsü) tarafından oluşturulmaktadır. Bunun dışında, aynı vektör tarafından taşınan *Beet soil-borne virus* (BSBV; Şeker pancarı toprak kökenli virüsü), *Beet virus Q* (BVQ; Şeker pancarı Q virüsü) ve *Beet soil-borne mosaic virus* (BSBMV; Şeker pancarı toprak kökenli mozaik virüsü)’un da şeker pancarında enfeksiyon gerçekleştirdiği bilinmektedir (Meunier vd, 2003). Bu virüsler içerisinde Dünya’da ve ülkemizde şeker pancarı üretim alanlarında sıklıkla rastlanan, en tahripkar virüs BNYVV’dir. Virüs hastalıklarının pratikte kontrolünde kimyasal mücadelenin olmaması, dayanıklı çeşit kullanımını ön plana çıkarmaktadır. Nitekim, BNYVV’nin ilk teşhisinden birkaç yıl sonra 1993 yılından itibaren kısmen ve yıllar itibarıyla artarak, 2008 yılından beri Türkiye’deki şeker pancarı üretim alanlarının

tamamında, bu hastalığa karşı dayanıklı (*Rz1* geni içeren) şeker pancarı çeşitlerinin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ancak, bazı ülkelerde son yıllarda yeni oluşan BNYVV varyantları tarafından *Rz1* dayanıklılık genine sahip çeşitlerde bu dayanıklılığın kırıldığı rapor edilmiştir (Liu vd, 2005; Koenig vd, 2005; Rush vd, 2006; Kutluk Yılmaz vd, 2010).

Bu tez çalışması ile elde edilmesi planlanan temel amaçlar aşağıdaki şekildedir:

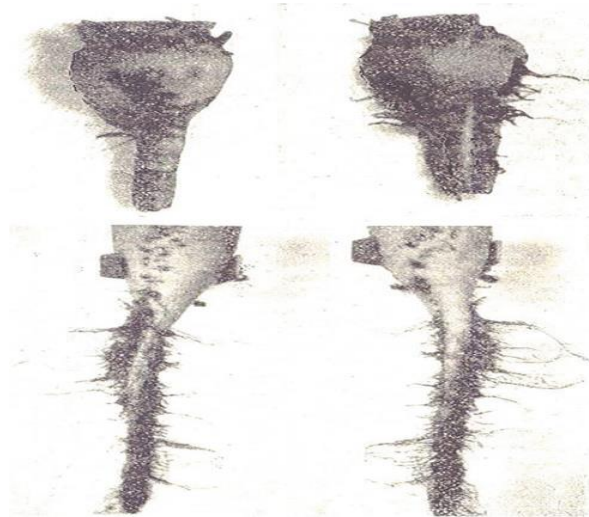
- (i) Türkiye’de BNYVV ile bulaşık şeker pancarı üretim alanlarına ait toprak örneklerinde farklı dayanıklılık genlerini (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) içeren şeker pancarı çeşitlerinde, dayanıklılık kırıcı BNYVV varyantlarının araştırılması ve yayılış alanlarının saptanarak haritalarının çıkarılması,
- (ii) Türkiye’nin farklı bölgelerini yansıtacak şekilde dayanıklılık kıran (6 adet) ve kırmayan (4 adet) BNYVV izolatları arasından seçilen 10 örnekte BNYVV’nin patojenitesinde ve dolayısı ile dayanıklılık kırılmasında etkili olan RNA-3 üzerinde yer alan p25 proteininin 67-70. Pozisyonlarda yer alan amino asit (aa.) tetra motiflerinin sekans analizi yapılarak belirlenmesi,
- (iii) BNYVV RNA-5’i üzerinde yer alan ve yine patojenitede etkin rol oynayan p26 protein genine spesifik primerler kullanılarak RT-PCR çalışmaları ile seçilen 10 örnek içerisinde RNA-5’e sahip BNYVV izolatlarının bulunup bulunmadığının araştırılması,
- (iv) Farklı genlerde dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının; biyolojik çalışmalar ile farklı konukçularda patojenite durumlarının incelenmesi.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Toprak kökenli virüs hastalıkları şeker pancarı üretiminde verimi sınırlayan etmenler arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Bu hastalıklar içerisinde; *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV; Şeker pancarı nekrotik sarı damar virüsü)'un neden olduğu rhizomania hastalığı büyük önem taşımaktadır.

2.1. Hastalığın İlk Tespiti

İtalya'da, 1950'li yıllarda volkanik alanlara yakın bölgelerde (Padua, Vicenza ve Rovigo) yetiştirilen pancarların şeker içeriğinde büyük oranda azalma olduğu rapor edilmiştir (Dona Dalle Rose, 1954; Dona Dalle Rose, 1956). Bu durum; "low sugar content syndrome (LSCS)" (düşük şeker sendromu) veya "soil sickness (SS)" (toprak hastalığı) olarak adlandırılmış olup muhtemelen rhizomania hastalığının ilk raporu olarak tahmin edilmektedir (Şekil 2.1). Bu raporda; özellikle yağışlı mevsimleri takiben kök veriminde azalma ve lateral köklerde artış olduğu belirtilmiştir (Piolanti vd, 1957). Ancak, LSCS'nin şeker içeriği üzerine etkisi, 1957 yılında kurulan üç tarla denemesi ile ortaya konulabilmiştir. İtalyan Şeker Pancarı Yetiştiricileri Derneği (ANB) tarafından gerçekleştirilen ilk incelemelerde, hastalığın Po vadisinin kuzey kesiminde mevcut olduğu belirtilmiş olup (Bongiovanni, 1960), dört yıl sonra yürütülen bir diğer araştırma ile de LSCS'nin şeker pancarı üretim alanlarının %5'ine karşılık gelen 10.000 ha alana yayıldığı rapor edilmiştir (Bongiovanni, 1964).

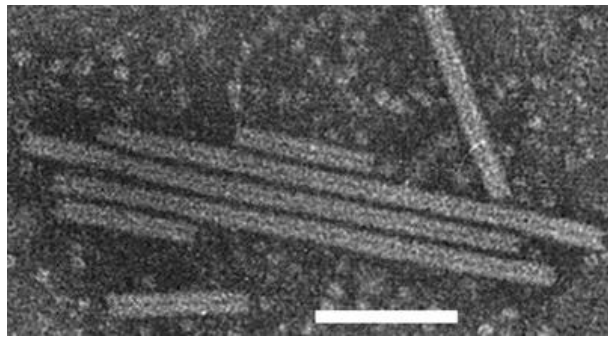


Şekil 2.1. LSCS hastalığının şeker pancarı yumrularında oluşturduğu belirtiler (Donà dalle Rose, 1951)

Canova (1959), LSCS'nin simptomlarını açık bir şekilde tanımlamış, kuzey İtalya'da özellikle drenaj sorunu olan topraklarda gözlemlenen anormallikleri teyit etmiş ve bu hastalığa anormal kök gelişimine yol açtığı için kök azmanlığı anlamına gelen "rizomania" adını vermiştir. Bu tarihten sonra, hastalığın adı, İngilizce versiyonu olan "rhizomania" olarak kabul edilmiştir. Daha sonra, Tamada vd (1971), hastalıklı şeker pancarlarında, *P. betae* ve çubuk şeklinde bir virüsün varlığını tespit etmişlerdir. Genç şeker pancarı bitkileri bu virüs ile inokule edilerek, tipik rhizomania belirtileri elde edilmiş ve böylece hastalığın viral etiolojisi teyit edilmiştir (Tamada, 1975; Fujisawa ve Sugimoto, 1976). Rhizomania belirtisi gösteren şeker pancarı bitkisinin yapraklarından izole edilen çubuk şekilli virüs partikülleri daha önce saptanan diğer virüslerden farklı olduğu için; bu virüs '*Beet necrotic yellow vein virus*' (BNYVV; Şeker pancarı nekrotik sarı damar virüsü) olarak isimlendirilmiştir (Tamada ve Baba, 1973).

2.2. Virüsün Morfolojisi, Taksonomisi ve Genomik Özellikleri

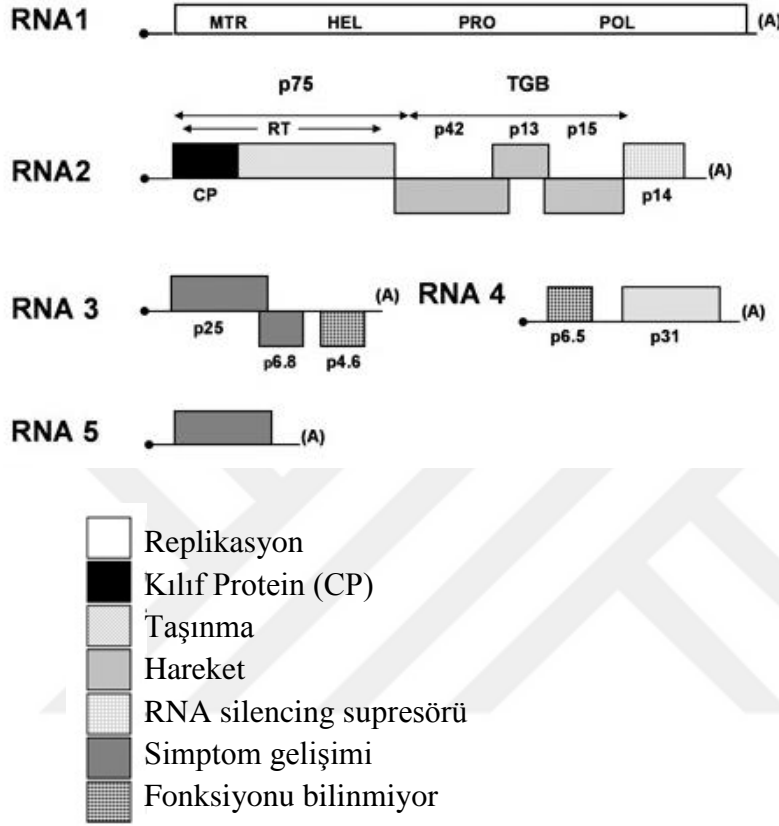
BNYVV 20 nm çapında dört ya da beş adet düz çubuk şeklinde, pozitif sense tek sarmal RNA partiküllerinden oluşmaktadır (Putz, 1977; Tamada vd, 1989) (Şekil 2.2). Virüs ilk olarak *Furovirus* cinsi içerisine dahil edilmiş olup, 1997 yılında ise International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) tarafından *Benyvirus* cinsi içerisine alınmıştır (Pferdmenges, 2007). Son olarak, Gilmer (2017) BNYVV'nin Benyviridae familyasına ait *Benyvirus* cinsinin bir üyesi olduğunu bildirmiştir.



Şekil 2.2. BNYVV partiküllerinin elektron mikroskop görünümü (Bar 100 nm'ye ifade etmektedir) (Tamada, 2002)

Doğal olarak enfeksiyona yakalanmış şeker pancarı köklerinde BNYVV'nin RNA'larından RNA-1, RNA-2, RNA-3 ve RNA-4'ün bulunduğu saptanmıştır (Koenig vd, 1986). RNA-1; poly A-kuyruğu hariç, 6.746 nükleotit uzunluğunda olup replikasyonla ilgili tek bir ORF (Open reading frame: açık okuma çerçevesi)

içermekte ve 237 kDa'luk bir polipeptidi kodlamaktadır (Von Regenmortel vd, 2000). Bu polipeptid'den metil transferaz (MTR), helikaz (HEL), proteaz (PRO) ve RNA bağımlı RNA polimeraz (POL) kodlanmaktadır (Şekil 2.3). Bu proteinler virüs replikasyonunda rol oynamaktadır (Bouzoubaa vd, 1987).



Şekil 2.3. BNYVV'nin genom organizasyonu ve proteinlerin fonksiyonları (CP: coat protein; HEL: helicase; MTR: methyltransferase; POL: polymerase; PRO: protease; RT: read-through protein) (McGrann vd, 2009)

RNA-2, poly A-kuyruğu hariç 4.612 nükleotit uzunluğunda olup, altı adet ORF içermektedir (Bouzoubaa vd, 1986) (Şekil 2.3). Bu ORF'lerden ilk ikisi kılıf protein readthrough bölgesini oluşturmakta (p21 ve p75) ve bu bölge virüs partiküllerinin bir arada tutulması ve vektör ile taşınma ile ilgili genleri içermektedir. RNA-2'nin merkezinde yer alan üçlü gen bloğu bölgesi (TGB) (p42, p13 ve p15) ise virüs partiküllerinin hücreden hücreye taşınmasında görev almaktadır. Bu proteinler, viral RNA'ların hücreden hücreye taşınmasını kolaylaştırmak için birbirleriyle etkileşime girmekte olup (Gilmer vd, 1992) bunlardan p42 proteini, viral RNA'ları birbirlerine bağlamakta (Bleykasten vd, 1996); p13 ve p15 proteinleri ise viral RNA'ları hücreden hücreye taşımak için plasmodesmatanın geçirgenliğini değiştirmektedir

(Lauber vd, 1998). RNA-2 üzerinde yer alan son ORF ise, RNA'nın sessizleştirilmesini (RNA silencing) baskılayan p14 proteinini kodlamaktadır (Dunoyer vd, 2002) (Şekil 2.3).

RNA-3, poly A-kuyruğu hariç 1.775 nükleotitten oluşmakta ve bu segmentten üç ORF kodlanmaktadır. İlk ORF'den, virüsün patojenitesi ve simptom oluşumunda etkin p25 (25 kDa) proteini, 2. ORF'den yine virüsün patojenitesi ve uzun mesafelere taşınmasından sorumlu N proteini (6.8 kDa) ve son ORF'den ise p4.6 (4.6 kDa) proteinini kodlanmaktadır (Bouzoubaa vd, 1985; Tamada vd, 1989; Jupin vd, 1992) (Şekil 2.3). N proteinin nekrotik lezyon oluşumuna da sebep olduğu belirtilmektedir (Koenig, 2008). Ayrıca, RNA-3'ün virüsün kök dokuları içerisinde yayılma ve çoğalmasında da rol oynadığı bildirilmiştir (Tamada vd, 1990; Jupin vd, 1991; Koenig vd, 1991). P25 proteini, şeker pancarı köklerinde, *Chenopodium quinoa* ve *Tetragonia expansa* gibi indikatör bitkilerin yapraklarında simptom oluşumuna da neden olmaktadır (Tamada vd, 1989; Jupin vd, 1992; Pferdmenges, 2007). Aynı zamanda, p25'in simptom şiddeti ile ilgili en önemli protein olduğu düşünülmektedir. Jupin vd (1992), mutasyona uğramış veya silinmiş p25 proteinine sahip BNYVV mutantlarının *C. quinoa* ve *T. expansa* bitkilerinin yapraklarına mekaniksel inokulasyonu sonrasında; yabancı tip BNYVV izolatlarına kıyasla daha hafif simptom oluşumuna neden olduklarını bildirmişlerdir. Immune-gold elektron mikroskop tekniği ile p25'in enfekteli hücrelerin hem çekirdeği, hem de sitoplazmasında lokalize olduğu belirlenmiştir (Haeberle ve Stussi-Garaud, 1995). Ayrıca, 169, 172, 175 ve 178. pozisyonlarda valin aa.'nin bulunmasının nükleositoplazmik hareket için gerekli olduğu saptanmıştır. Bu hareket yeteneğinden yoksun olan mutantların, *C. quinoa* bitkisinde klorotik lezyonlara neden olamadığı da vurgulanmıştır (Koenig, 2008). Hastalık belirtilerinin gözlenebilmesi için çekirdek içerisinde p25 proteininin bulunması gerekmektedir. P25 proteinin, özellikle 67-70. pozisyonlarda yer alan ve tetrat olarak adlandırılan aa.'ler yüksek oranda değişkenlik göstermekle birlikte, en fazla farklılığa rastlanan aa.'in ise 68. aa. olduğu bildirilmektedir. Bu varyasyonlar, farklı izolatların patojenitesini etkilemekte ve farklı tip izolatların ayırt edilmesine olanak sağlamaktadır (Schirmer vd, 2005; Rush vd, 2006).

RNA-4, 1.431 nükleotit uzunluğunda olup p31 proteinini (31 kDa) kodlamaktadır (Bouzoubaa vd, 1985) (Şekil 2.3). Bu proteinin, vektör tarafından

virüsün taşınmasından (Lemaire vd, 1988), şeker köklerinde post transcriptional gene silencing (PTGS)'in bastırılmasından (Rahim vd, 2007) ve aynı zamanda patojeniteden sorumlu olduğu bildirilmektedir (Bouzoubaa vd, 1985; Tamada vd, 1989; Rahim vd, 2007).

RNA-5, RNA-3 tarafından kodlanan 25 kDa'luk proteine benzeyen 26 kDa'luk bir proteini kodlayan tek bir açık okuma parçası (p26 proteini) içermektedir (Bouzoubaa vd, 1985; Kiguchi vd, 1996; Koenig vd, 1997) (Şekil 2.3). RNA-5'in virüsü daha agresif hale getirdiği ve simptom oluşumunun şiddetini artırdığı belirtilmiştir (Tamada vd, 1996). RNA-5, Fransa (Koenig vd, 1997b), Kazakistan (Koenig ve Lennefors, 2000), İngiltere (Harju vd, 2002; Ward vd, 2007), Çin (Koenig vd, 2008), Japonya (Tamada vd, 1989; Tamada vd, 1996; Tamada vd, 1989; Kiguchi vd, 1996; Miyanishi vd, 1999) ve Almanya (Koenig vd, 2008)'da tek bir tarlada tespit edilmekle beraber; Kutluk Yılmaz vd (2016), Türkiye'nin farklı şeker pancarı üretim alanlarından izole edilen 85 adet BNYVV izolatının %62,4'ünün RNA-5 içerdiğini bildirmişlerdir.

2.3. Streyn Tipleri

İlk olarak; Avrupa'daki BNYVV izolatlarının RFLP, SSCP ve baz dizisi analizleri ile A, B ve P-tip olmak üzere 3 streyn grubuna ayrıldığı rapor edilmiştir (Kruse vd, 1994; Koenig vd, 1995). Bu streynler, serolojik yöntemlerle birbirlerinden ayırt edilememektedir (Schirmer vd, 2005). A- ve B-tip streynler dört RNA segmentinden oluşurken, P-tip streyn ise beş RNA segmentini içermektedir (Koenig vd, 1997b). Daha sonra, Schirmer vd (2005); BNYVV RNA-5 içeren P-tip streynin Avrupa (P-tip streyn) ve Asya (J-tip streyn) olmak üzere 2 alt gruba ayrıldığını, p26 proteini üzerindeki nükleotit dizi analizlerindeki farklılıklar ile belirlemişlerdir. Böylece; BNYVV'nin streyn sayısı dörde ulaşmıştır (A, B, P ve J). A-tip streyn tüm Avrupa (Schirmer vd, 2005), Orta Doğu (Mehrvar vd, 2009) ve Amerika (Schirmer vd, 2005)'da yaygın olarak görülürken; B-tip ise Almanya ve Fransa başta olmak üzere, İsviçre'nin bazı bölgeleri, Belçika, Avusturya, Çekya (Koenig ve Lennefors, 2000; Schirmer vd, 2005; Koenig vd, 2008), Japonya (Miyanishi vd, 1999) ve Çin (Li vd, 2008)'de tespit edilmiştir. Türkiye'de de yapılan araştırmalarla şeker pancarı üretim alanlarında A-tip streynin varlığı rapor edilmiştir (Kruse vd, 1994; Kutluk Yılmaz vd, 2007; Kutluk Yılmaz vd, 2010). Diğer bir streyn grubu P-tipi ise, ilk kez 1970

yıllarında Fransa’da küçük bölgelerde (Pithiviers) tespit edildikten sonra; Kazakistan (Koenig ve Lennefors, 2000), İngiltere (Ward vd, 2007) ve İran’da (Mehrvar vd, 2009) saptanmıştır. P- tipi BNYVV izolatlarının, A- ve B-tiplerine göre, şeker pancarında ürün kaybını azaltmak amacıyla yetiştirilen dayanıklı çeşitlerde daha yüksek konsantrasyona ulaştıkları belirtilmektedir (Tamada vd, 1996; Heijbroek vd, 1999). J-tip streyn grubu ise; Asya’da Çin ve Japonya’da oldukça yaygın olarak görülmektedir (Schirmer vd, 2005). Buna ilave olarak; Almanya’da da tek bir pancar tarlasında varlığı tespit edilmiştir (Koenig vd, 2008). Kutluk Yılmaz vd (2014), Türkiye’de BNYVV tespit edilen 29 ilin 25’inde RNA-5 segmentinin yaygın olarak (%61.6) bulunduğunu saptamışlardır. Ayrıca; Iğdır, Edirne, Ankara ve Konya illerine ait 4 BNYVV izolatının p26 genini içeren RNA-5 segmentinin kısmi baz dizisi analizi gerçekleştirilmiş ve filogenetik analizler sonucunda ise, Türkiye izolatlarının Çin ve Japonya izolatlarının bulunduğu J-tip streyn grubu içerisinde yer aldığı bildirilmiştir (Kutluk Yılmaz vd, 2014; Kutluk Yılmaz vd, 2016a).

Diğer taraftan, yapılan bazı araştırmalara göre; BNYVV’nin bu dört ana streyn grubuna ilave olarak yeni streynlerin olabileceğine dair bulgular rapor edilmiştir. Lemaire vd (2003), 2001 yılında Fransa’nın Pithiviers bölgesinde özellikle ‘Holly’ genotipini içeren (*Rz1* dayanıklılık geni) tolerant çeşitlerde şiddetli BNYVV belirtilerini rapor etmiş ve bölgede RNA-5 içermeyen P-tip benzeri (P-type like-RNA-5) yeni izolatların varlığını bildirmişlerdir. Bu P-tip benzeri izolatların sadece 4 temel genomik RNA içermekle birlikte, semptom oluşumu ile ilgili olarak izolatların çoğunun p25 proteini 67-70. aa. pozisyonlarında ‘AHHG’, ‘AFHR’ tetrat motiflerine sahip olduğu ve ‘AYHR’ tetrat motifi içeren A- ve B-tipi izolatlar ile karşılaştırıldığında, bu izolatların daha patojenik oldukları belirlenmiştir (Lemaire vd, 2003). Bunu takiben, Amerika (Liu ve Lewellen, 2007) ve İran (Mehrvar vd, 2009)’da RNA-5 içermeyen, fakat P-tipi p25 tetrat motifine (SYHG) sahip yeni BNYVV izolatları da rapor edilmiştir. Daha sonraki yıllarda ise, Peltier vd (2008), 4 genomik RNA içeren A-tip streyn’de ‘AYPR’ şeklindeki p25 tetrat motifi belirlemiş ve bunu yeni bir BNYVV streyni olarak bildirmişlerdir.

Son yıllarda; BNYVV streynlerindeki bu kompleks durumu net bir şekilde açıklığa kavuşturmak amacıyla; önce Schirmer vd (2005), çoğunluğu Avrupa’dan elde edilen BNYVV izolatlarının CP (RNA-2), p25 (RNA-3) ve p26 (RNA-5) genine göre analiz etmişlerdir. Daha sonra; Chiba vd (2011) ise, çoğunluğunu Asya

izolatlarının oluşturduğu, BNYVV izolatlarının bu genlere ilave olarak p31 (RNA-4) genini de detaylı olarak irdelemişlerdir. Bu çalışmalar sonucunda; BNYVV izolatlarının CP genine göre iki (A-tip ve B-tip), p25 genine göre üç (p25-I, p25-II ve p25-III), p31 genine göre dört (p31-I, p31-II, p31-III ve p-31 IV) ve p26 genine göre üç (p26-I, p26-II ve p26-III) gruba ayrıldığını bildirmişlerdir (Schirmer vd, 2005; Chiba vd, 2011). Ana proteinler esas alınarak (CP, p25 ve p31) (reassortant'lar hariç) birlikte analiz edildiklerinde ise, BNYVV izolatlarının 4 ayrı klada (A-I, A-II, A-III ve B) ayrıldığı gözlenmiştir. Bu gruplandırmada; A-I'de Çin-H ve Çin-Y streynleri, A-II'de Fransa-P (P-tip), Japon-D, Japon-O, Çin-B ve Çin-L streynleri, A-III'de İtalyan (Avrupa A tip) streyni ve B'de Çin-X ile Alman (B tip) streynlerinin yer aldığı bildirilmiştir (Chiba vd, 2011; Zhuo vd, 2015). Böylelikle; son olarak BNYVV'nin streyn sayısı 10'a yükselmiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. BNYVV streyn tipleri ve bu streynlerin coğrafik dağılımları (Chiba vd, 2011; Zhuo vd, 2015)

Original tip	Streyn	CP	p25	p31	RNA-5*	Coğrafik Dağılım
A-I	Çin-H	A ya da B	I	I	+	Çin, Japonya, İngiltere
A-I	Çin-Y	A ya da B	I	I	+	Çin
A-II	Fransa-P (P tip)	A	II	II	+	Fransa, Kazakistan, İngiltere, İran
A-II	Japon-D	A	II	II	+	Japonya
A-II	Japon-O	A	II	I ya da II	+	Japonya
A-II	Çin-B	A ya da B	II	II	+	Çin, Almanya
A-II	Çin-L	B	II	I	+	Çin
A-III	İtalya (Avrupa A tip)	A	I	III	-	Avrupa, Amerika, Orta Doğu
B	Çin-X	A	III	I ya da III	+	Çin
B	Almanya (B tip)	B	III	IV	-	Almanya, Fransa, Belçika, Avusturya, İsviçre, Çekya, Çin

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

Chiba vd (2011), BNYVV'nin yayılma rotası ve evrimsel tarihini açıklamak amacıyla yürüttükleri araştırma sonucunda; BNYVV'nin öncelikle A ve B-tip streyn olarak ayrıldığını ve sonradan A-tip popülasyonların bazılarının RNA-5 genom parçasını kaybettiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, Chiba vd (2011), rhizomania problemi yaşanan Dünya'nın farklı bölgelerinden topladıkları toprak örnekleri ile yürüttükleri araştırma sonucunda; BNYVV'nin orjininin Doğu Asya olduğunu ve en büyük genetik farklılığın ise Japon ve Çin izolatlarında olduğunu bildirmişlerdir.

2.4. Coğrafi Dağılımı

BNYVV 1953 yılında ilk olarak İtalya’da rapor edilmesini takiben; Japonya, Fransa (Putz ve Vuittenez, 1974), Almanya (Hamdorf vd, 1977), Yunanistan (Kouyeas, 1979)’da virüsün varlığı belirlenmiştir. Daha sonra; Avrupa’daki birçok şeker pancarı üretim alanının bu virüs ile bulaşık olduğu bildirilmiştir. 1978 yılında Çin’de (Gao vd, 1983; Li vd, 2008) ve 1983’de ise ABD’de California’da ilk tespitini takip eden altı yıl içerisinde 35.000 ha alana yayıldığı bildirilmiştir (Duffus vd, 1984; Harveson vd, 1996). Ülkemizde ise, BNYVV’nin varlığı ilk olarak; Amasya Şeker Fabrikası'nın Erbaa ve Taşova bölgeleri ile Alpullu Şeker Fabrikası'nın Keşan ve Uzunköprü bölgelerinde 1987 yılında tespit edilmiştir (Koch, 1987). Rhizomania hastalığının rapor edildiği ülkelerin kronolojik sıralaması Çizelge 2.2’de verilmiştir (Asher, 1993; Rush vd, 2006; McGrann vd, 2009).

Çizelge 2.2. Kronolojik olarak rhizomania hastalığının belirlendiği ülkeler

ÜLKE	YIL	ÜLKE	YIL
İtalya	1953	İsviçre	1983
Japonya	1965	Belçika	1984
Hırvatistan	1971	UK	1987
Fransa	1971	TÜRKİYE	1987
Yunanistan	1972	İspanya	1988
Almanya	1974	İsveç	1997
Çekya	1978	Suriye	1998
Çin	1978	Slovenya	1999
Slovakya	1978	Danimarka	2000
Avusturya	1979	Şili	2001
Kazakistan	1979	Polonya	2002
Romanya	1979	Litvanya	2002
Rusya	1979	Kanada	2002
Ukrayna	1979	Mısır	2003
USA	1981	İran	2004
Macaristan	1982	Fas	2005
Bulgaristan	1983	Brezilya (kırmızı pancar)	2015
Hollanda	1983	Güney Afrika (kırmızı pancar)	2015

2.5. Simptomatoloji ve Konukçu Çevresi

Hastalık BNYVV’ye hassas şeker pancarı çeşidi ekimi yapılan alanlarda yer yer renk açılımı gösteren bitki toplulukları şeklinde görülmektedir. Bu alanlarda enfekteli bitkilerin yapraklarının rengi fıstık yeşili bir renge dönüşmekte ve aşırı yan kök gelişiminden dolayı köklerde sakallanma oluşmaktadır. Ancak, aşırı azot uygulanan

veya yetersiz sulanan alanlarda bu belirti tam olarak gözlenememektedir (Özgür, 2003). İlerleyen zamanlarda renk açılmaları nekrotik alanlara dönüşebilmektedir (Whitney ve Duffus, 1991).

Doğada, BNYVV, şeker pancarı (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*), yemlik pancar, pazı (*Beta vulgaris* var. *cicla*) ve ıspanağı (*Spinacia oleracea*) enfekte edebilmektedir. BNYVV dar bir konukçu çevresine sahip olmakla birlikte; Chenopodiaceae familyasına ait çoğu bitki türü, Aizoaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae ve Solanaceae familyasından birkaç bitki türüne, bitki özsuyunun inokulasyonu yolu ile taşınabilmektedir (Tamada ve Baba, 1973; Kuszala ve Putz, 1977; Horvath, 1994; Hugo vd, 1996). Bu bitkilerin çoğu vektör *P. betae*'nin da konukçularıdır (Abe ve Tamada, 1986; Abe ve Ui, 1986; Barr ve Asher, 1992; 1996; Hugo vd, 1996). BNYVV, bu konukçu bitkilerin inokulasyon yapılan yaprakları ile sınırlı olmakla birlikte; *Beta macrocarpa*, *Beta vulgaris* subsp. *maritima* M8, *S. oleracea* ve *Nicotiana benthamiana*'da sistemik olarak yayılabilmektedir (Tamada, 1975; 2002; 2007). BNYVV'nin sadece RNA-1 ve RNA-2'i virüsün lokal lezyon konukçularında replikasyonuna ve *N. benthamiana* ya da *S. oleracea* gibi sistemik konukçularında vasküler taşınmasında yeterli olmaktadır (Lauber vd, 1998a; Lauber vd, 1998b; Andika vd, 2005). RNA-3 tarafından kodlanan p25 proteini doğal konukçularda klasik rhizomania semptomlarının oluşumu ve lokal konukçularının yapraklarında lokal lezyon fenotipinin oluşumu için gereklidir. RNA-3 üzerinde yer alan N proteini ise nekrotik semptom oluşumunda etkili olmaktadır (Chiba vd, 2008; Jupin vd, 1992). RNA-3'ün core (çekirdek) bölgesi (1033 nt.-1257 nt.leri arasındaki bölge) ise *B. macrocarpa*'da BNYVV'nin vasküler taşınmasında rol oynamaktadır (Lauber vd, 1998b).

2.6. Zararı ve Ekonomik Önemi

Rhizomania, şeker pancarı üretimini tehdit eden en tahripkar hastalık olarak belirtilmektedir (Scholten ve Lange, 2000). BNYVV ile bulaşık olan ve olmayan alanlarda yapılan denemelerle, yaprak alanı endeksinde %24, kuru madde miktarında ise %57 oranında kayıp oluşturduğu gözlenmiştir (Rezaei vd, 2014). Almanya'da şeker veriminde yaklaşık olarak %15'lik düşüş 5.5 M\$'lık bir ekonomik zarara neden olmuştur (Schäufele, 1983). Winner (1984), hastalığın yoğun olarak görüldüğü alanlarda şeker pancarında verim kaybının %30'dan fazla olduğunu belirtmiştir.

Whitney ve Duffus (1995) ise verim kaybının %100'e kadar olabileceğini bildirmişlerdir. Özgür (1995), BNYVV'nin şiddetli enfeksiyonlarında ancak 400-500 kg kadar kök verimi alınabileceğini vurgulamıştır.

2.7. Vektör *Polymyxa betae*

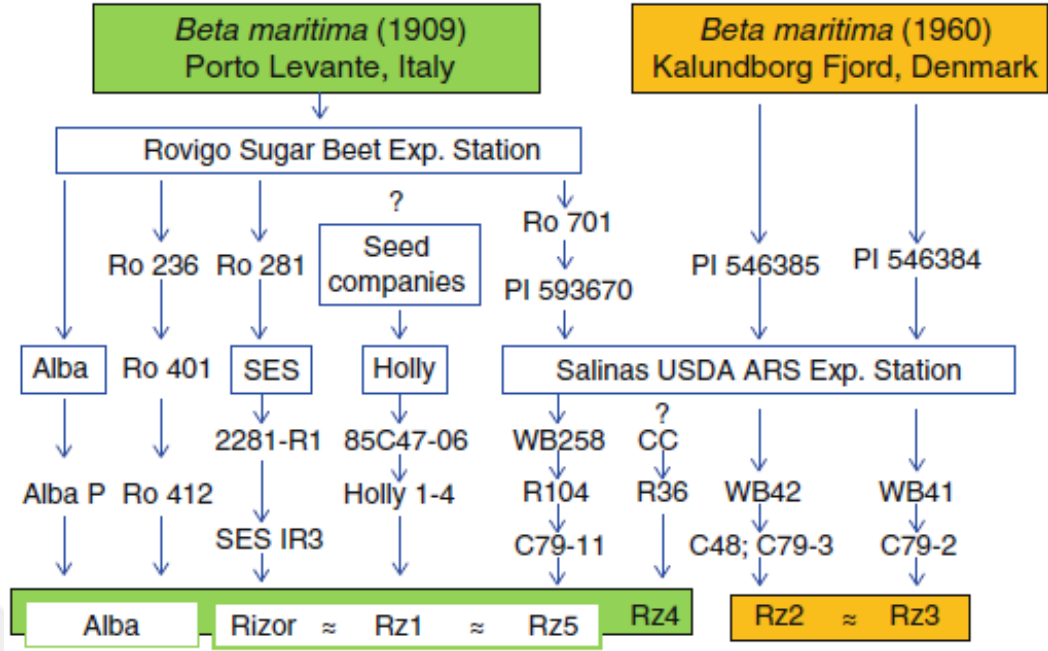
P. betae, *Plasmodiophoromycetes* sınıfının bir üyesi olup ilk olarak Dr. Bahattin Keskin tarafından teşhis edilmiş ve *P. betae* Keskin olarak adlandırılmıştır (Keskin, 1964). Özellikle Chenopodiaceae, Amaranthaceae ve Portulacaceae familyalarına ait bitki türlerinin köklerinde endoparazit olarak yaşamaktadır. Ancak yakın zamana kadar funguslar alemi içerisinde yer alan *P. betae*, son taksonomik gruplandırma ile ayrı bir alem (Protozoa) içerisine yerleştirilmiştir (Kirk vd, 2001). Toprak kökenli protozoa, dünyada geniş bir alana yayılmış olup, Avrupa (Canova, 1966), Asya (D'ambra ve Mutto, 1977) ve Kuzey Amerika (Falk ve Duffus, 1977)'da belirlenmiştir. Payne ve Asher (1990), *P. betae*'nin şeker pancarı tarımı yapılan neredeyse bütün alanlarda bulunduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalar ile bu protozoa'nın BNYVV (Ivanoviç, 1983), BSBV ve BVQ'da taşıdığı tespit edilmiştir (Meunier vd, 2003).

P. betae tarafından taşınan tüm virüsler (Rysanek vd, 1992; Campbell, 1996; Verchot-Lubicz vd, 2007), vektörün sitoplazmasında bulunmakta (Hebrard vd, 1999) ve sonuç olarak, bu virüs hastalıklarının biyolojik döngüsü, vektörün biyolojik döngüsüne bağlı olmaktadır. BNYVV, topraktaki *P. betae* dinlenme sporlarının yaklaşık olarak %10-20'si tarafından taşınmaktadır (Tuitert, 1990; Mc Grann vd, 2009). Vektör için en uygun şartlar, uygun konukçunun bulunması, topraktaki serbest su varlığı ve 10°C ile 30°C arasındaki sıcaklık dereceleri olarak belirtilmektedir (Legreve vd, 2002).

2.8. Hastalığın Kontrolü

BNYVV'nin vektörün kalın duvarlı kışlama sporlarında (sistosori) toprakta en az 15 yıl süre ile canlı kalması sebebi ile (Abe ve Tamada, 1986; Duffus, 1991; Rush ve Heidel, 1995), hastalık ile mücadelede en etkili kontrol dayanıklı çeşitlerin yetiştiriciliğinin yapılması ile olmaktadır (Lewellen, 1995). Ülkemizde de tüm şeker pancarı üretim alanlarında, yüksek verim ve kalitesinden dolayı dayanıklı çeşitlerin yetiştiriciliği yapılmaktadır.

Rhizomania'a karşı dayanıklılık çalışmaları 1970'lerde İtalya'da başlatılmış ve ilk multigenik dayanıklılık kaynağı Muneratti germplasmına ait şeker pancarı atası olarak kabul edilen *B. maritima*'dan türetilmiş ve 'Alba tipi dayanıklılık' olarak tanımlanmıştır (Biancardi vd, 2002) (Şekil 2.4). Rhizomania'nın ABD'de saptanmasının hemen ardından, Salinas (Kalifornia)'da USDA-ARS tarafından BNYVV'ye dayanıklı çeşit geliştirmek amacıyla ıslah çalışmalarına başlanılmıştır. 'Holly' dayanıklılığı veya 'Holly' gen 1983 yılında A. W. Erichsen tarafından Holly Şeker Şirketi üretim programında saptanmış ve kısmi dominant dayanıklılık genini içeren Holly kaynağı *Rz1* olarak adlandırılmıştır (Lewellen vd, 1987; Scholten vd, 1996; Pelsy ve Merdinoğlu, 1996) (Şekil 2.4). Hastalığa karşı yüksek dayanıklılık gösteren ilk çeşit İtalyan gen kaynaklarından geliştirilen 'Rizor' olmuştur (De Biaggi, 1987). 2002 yıllarında şeker pancarı üretimi yapılan alanlarda *Rz1* en önemli BNYVV dayanıklılık geni olarak kabul edilmiştir (Biancardi vd, 2002). Ancak, zamanla mutasyona uğrayan BNYVV varyantları tarafından Amerika (Liu vd, 2005; Rush vd, 2006) ve İspanya (Koenig vd, 2005)'da *Rz1* dayanıklılık genine sahip çeşitlerde dayanıklılığın kırıldığı rapor edilmiştir. Bunun üzerine, şeker pancarında ilave gen kaynakları araştırma çalışmaları genişletilmiştir. Yeni dayanıklılık geni yabani şeker pancarlarında (Danimarka orjinli; WB 42) belirlenmiş ve C48 olarak adlandırılmıştır. *B. maritima*'dan elde edilen Holly geni ile birlikte C48 genini taşıyan genotipin, mutasyona uğramış hastalığa karşı mümkün olan en iyi korumayı sağlayan gen olduğu belirtilmiştir. Rhizomania hastalığına karşı dayanıklılığı sağlayan C 48 geninin mekanizması Holly genine benzemekte ve şeker pancarı kök dokusunda BNYVV'nin birikimini sınırlandırmaktadır. Scholten (1994; 1999), *Rz1*'den 25-30 centiMorgan (cM) uzaklıkta kromozom 3 üzerinde farklılaşma tespit etmiş ve bu dayanıklılık genini *Rz2* olarak adlandırılmıştır. Daha sonra Gidner vd (2005), WB 41 içinde bir başka ilave ana dayanıklılık geninin (*Rz3*) varlığını belirlemiştir. Hibrid R36 kaynağından *Rz4* (Grimmer vd, 2008), WB258 kaynağından ise *Rz5* dayanıklılık genleri saptanmıştır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Rhizomania hastalığına karşı günümüzde kullanılan dayanıklılık genleri (Alba, Rizor, Holly, *Rz2*) ve üzerinde çalışmaların devam ettiği dayanıklılık genleri (*Rz3*, *Rz4* ve *Rz5*) (Panella, L. W. ve Biancardi, E.)

■: Dayanıklılık orjinleri (*Beta maritima*, 1909), ■: Dayanıklılık orjinleri (*Beta maritima*, 1960)

BNYVV genellikle bitkinin kök bölgesi ile sınırlı bir etmendir. Her ne kadar mekanizma tam olarak bilinmese de dayanıklı şeker pancarı varyetelerinde virüs çoğalması sınırlandırılmakta ve virüs kökte sınırlı kalmaktadır (Giunchedi vd, 1987; 1988; Poggi-Pollini ve Giunchedi, 1989; Paul vd, 1992; Scholten vd, 1994; Tuitert vd, 1994; Tamada vd, 1999).

2.9. Dayanıklılık Kırılması

Günümüzde Dünya’da ve Türkiye’de BNYVV ile bulaşık alanlarda yetiştirilen ticari şeker pancarı çeşitleri genellikle ‘Holly’ dayanıklılık geni (*Rz1*) içermekte ve şeker pancarlarında şiddetli simptom oluşumunu ve virüsün çoğalmasını inhibe edebilmektedirler. Bir bölgede rhizomania hastalığı belirlendikten sonra viruliferous dinlenme sporlarının (sistosori) fazla çoğalmasını önlemek amacıyla dayanıklı çeşitler kullanıldığında, o bölgedeki viruliferous populasyon düşük seviyede kalmakta; ancak bölgedeki virüs mutasyona uğrayarak yeni bir ırk/varyant geliştirdiğinden dolayı dayanıklı çeşit hastalığın gelişimini önleyememektedir (Rush, 2003). Nitekim; Amerika (Liu vd, 2005; Rush vd, 2006), İspanya (Koenig vd,

2005), Almanya, İngiltere, Hollanda (Bornemann vd, 2015) ve son olarak da Türkiye (Kutluk Yılmaz vd, 2018)'de yeni oluşan BNYVV varyantları tarafından *Rz1* dayanıklılık genine sahip ticari çeşitlerde bu dayanıklılığın kırıldığı tespit edilmiştir.

Şeker pancarında BNYVV dayanıklılık kırılmasının, özellikle RNA-3'ün p25 proteini üzerindeki 67-70. pozisyonlarda yer alan aa.'lerde meydana gelen mutasyonlarla ilgili olduğu ifade edilmektedir (Liu vd, 2005; 2007; Acosta-Leal vd, 2007a ; 2008; Pferdmenges vd, 2008; 2009a). Chiba vd (2002), p25 proteinin hassas şeker pancarı çeşitlerinin patojenitesinde önemli rol oynadığını ve 68. aa.'deki farklılığın virüs dayanıklılığının avirülans faktörünün kaybolmasına yol açtığını belirtmişlerdir. Özellikle 67. aa.'te Valin (V) ve 68. aa.'te Leucine (L) bulunan BNYVV izolatlarının diğer izolatlara göre daha agresif oldukları belirtilmektedir (Schirmer vd, 2005; Rush vd, 2006). Ayrıca, p25 protein geninin 135. aa.'inde de büyük oranda varyasyonların olduğu bildirilmiştir (Rush vd, 2006). Bornemann ve Varrelmann (2013), RNA-5 içeren BNYVV izolatları ile dört RNA'lı A-tip BNYVV popülasyonlarının *Rz1* dayanıklılığını kırdığını bildirmişlerdir. Bornemann vd (2015) ise, AYPR tetrat motifine sahip BNYVV varyantlarının İngiltere, Almanya ve Hollanda'da tolerant çeşitlerde şiddetli BNYVV belirtilerine neden olup, *Rz1* dayanıklılığını kırdığını saptamışlardır. Öte yandan, Heijbroek vd (1999) ve Tamada vd (1989) 5. RNA segmentini içeren BNYVV streynlerinin *Rz1* dayanıklılık geni içeren çeşitlerde bile virüsün agresifliğini arttırdığını bildirmişler ve bunun muhtemelen p25 ve p26 genleri arasındaki sinerjizimden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Liu ve Lewellen (2007), dayanıklılık kıramayan izolatlarda P25 proteininin 67 ve 68. aa.'lerinde 'AC' dizisinin korunmasına karşın, dayanıklılık kıran izolatlarda bu bölgede 'AF', 'AL', 'SY', 'VC', 'VL' ve 'AC' şeklinde değişiklikler olduğunu bildirmişlerdir. Farklı coğrafik bölgelerde 4 RNA segmentine sahip dayanıklılık kıran izolatlarda genellikle 'VCHG', 'VLHG' ve 'AYPR' tetrat kompozisyonları yaygın olarak tespit edilmiştir (Liu ve Lewellen, 2007; Liu vd, 2005; Pferdmenges vd, 2008).

Diğer taraftan, Liu ve Lewellen (2007), A.B.D.'de dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının moleküler karakterizasyonu ve dağılımı üzerinde yaptıkları araştırmada, dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 ve kılıf proteinin aa. dizilerinin, dayanıklılık kırmayan BNYVV izolatları ile yüksek oranda benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir (sırası ile; %99.9 ve %98).

2.10. Türkiye’de Yürütülen Çalışmalar

Ülkemizde BNYVV’nin varlığı ilk kez 1987 yılında Dr. Koch tarafından Amasya Şeker Fabrikası’nın Erbaa ve Taşova bölgeleri ile Alpullu Şeker Fabrikası’nın Keşan ve Uzunköprü bölgelerinde tespit edilmiştir. Vardar ve Erkan (1992), Türkiye’nin çeşitli bölgelerinden elde ettikleri şeker pancarı örneklerinin bir kısmında DAS-ELISA yöntemi ile BNYVV’nin varlığını tespit etmişlerdir. Erdiller ve Özgür (1994), Adapazarı, Ankara, Eskişehir, Kastamonu ve Turhal bölgelerindeki alanlarda ELISA testlemesi ile rhizomania bulaşıklılığını saptamışlardır. Kıymaz ve Ertunç (1996), Ankara’da şeker pancarı üretimi yapılan alanlardan 1992 yılında topladıkları enfekteli yaprak örneklerinin bitki özsuvarını mekaniksel inokulasyon yöntemi ile indikatör bitkilere bulaştırmaları sonucu gözlenen semptomlar ve serolojik test sonuçları ile BNYVV’yi tespit etmişlerdir. 1998 yılında hastalığın toplam 320.120 da ekim alanına yayıldığı belirlenmiştir (Özgür ve Kaya, 1998). Özer ve Ertunç (2005) ise Amasya Şeker Fabrikası şeker pancarı üretim alanlarından alınan örneklerle uygulanan ELISA testi sonucu; bitki örneklerinin %10.92’sinin BNYVV ile enfekteli olduğunu belirlerken, toprak örneklerinin ise %26’sının bu virüs ile bulaşık olduğunu vurgulamışlardır. 2004 ve 2005 yılları Samsun, Amasya, Çorum, Tokat, Yozgat, Çankırı ve Kastamonu illerine ait 510 farklı toprak örneğinde tuzak bitki testi sonucu yetiştirilen şeker pancarı bitkilerinde yapılan ELISA testleri sonuçlarına göre; bu örneklerin %7.45’inin BNYVV, %24.12’sinin diğer bir toprak kökenli virüs olan BSBV ve %22.94’ünün ise her iki virüs (BNYVV+BSBV) ile karışık enfekteli olduğu tespit edilmiştir (Kutluk Yılmaz ve Arlı Sökmen, 2010). Kaya (2009) ise, üç yıllık münavebe uygulamasına göre; 1996-1998, 1999-2001 ve 2002-2004 yıllarında olmak üzere, üçer yıllık üç dönem halinde 17 şeker fabrikasınının 102 bölgesinin şeker pancarı ekim alanlarında yürüttüğü survey çalışmaları sonucunda, topladığı şeker pancarı köklerine ELISA testi uygulayarak BNYVV’nin yaygınlığını belirlemiştir. Buna göre, 1996-1998 döneminde 4 fabrikada (Ağrı, Ankara, Eskişehir, Iğın) toplam %19.30 (46.200 ha), 1999-2001 döneminde 9 fabrikada (bir önceki döneme ilaveten Ereğli, Kırşehir, Malatya, Susurluk, Uşak) %31.42 (94.140 ha) ve 2002-2004 döneminde ise 15 fabrikada (daha önceki dönemlere ilave olarak Çarşamba, Afyon, Bor, Burdur, Elazığ, Elbistan, Kütahya, Yozgat) %48.66 (203.640 ha) oranında alanın rhizomania hastalığı ile bulaşık olduğunu tespit etmiştir. Böylece, Türkiye’de bu hastalık ile bulaşık üretim alanına sahip şeker fabrikası sayısı 23’e

ulaşmıştır. Yardımcı ve Kılıç (2011), 2006-2007 yıllarında göller bölgesine ait şeker pancarı üretim alanlarından alınan 203 farklı toprak örneğinde tuzak bitki testi ile yetiştirilen şeker pancarlarına uyguladıkları ELISA testleri sonucunda, bu örneklerin %41.87'sinin BNYVV ile enfekteli olduğunu tespit etmişlerdir. Yardımcı vd (2012), Eskişehir ili şeker pancarı üretim alanlarında 2010 yılında yürüttükleri sürvey çalışmaları ile; sararma, solgunluk, mozayik ve nekroz gibi simptomlar gözlenen bitkilerden 94 adet yaprak örneği almışlardır. Uyguladıkları ELISA testi sonucunda; bu örneklerin %4.26'sının BNYVV, %12.77'sinin BNYVV+ *Beet mosaic virus* (BtMV), %1.06 BNYVV+ *Beet yellows virus* (BYV) ile bulaşık olduğunu belirlemişlerdir. Kutluk Yılmaz vd (2014), Türkiye'de 32 ili kapsayan şeker pancarı üretim alanlarından topladıkları 632 toprak örneğinin tuzak bitki testi sonrası ELISA ile testlenmesi sonucunda; bu örneklerin 164'ünde en yaygın olarak BNYVV+BSBV (%26.1) ikili enfeksiyonun olduğunu belirlemişlerdir. Bunu sırası ile %23.7 oran ile BSBV enfeksiyonu (149 adet) ve %12 ile BNYVV enfeksiyonu (76 adet) izlemiştir. Bu çalışma sonucunda BSBV enfeksiyonu toplam 313 adet (%49.8) örnekte belirlenirken, BNYVV ise 240 adet (%38) örnekte tespit edilmiştir. Özdemir H (2014) ise, 2013 yılında Trakya Bölgesi şeker pancarı üretim alanlarına ait Edirne (Uzunköprü, Havsa ilçeleri), Kırklareli (Babaeski, Pehlivan köy, Lüleburgaz ilçeleri) ve Tekirdağ (Merkez ve Hayrabolu ilçeleri) illerinden topladığı 126 yaprak örneğini BNYVV, *Beet western yellows virus* (BWYV) ve BYV için DAS-ELISA yöntemi ile test etmiştir. ELISA testi sonuçlarına göre; tek enfeksiyon halinde BNYVV'nin %19.84, diğer virüsler ile karışık enfeksiyonlar halinde %38.09 oranında bulunduğunu bildirmiştir.

Kaya ve Gürel (2012), BNYVV enfeksiyonunun yoğun olarak tespit edildiği Şeker Enstitüsü Eskişehir Deneme İstasyonu ve hastalığın daha önce görülmediği Konya (İlgin ilçesi) ve Erzurum (Hasankale ilçesi) Deneme İstasyonlarına ait üç farklı lokasyonda dayanıklı (Valentina, Esprenza, Felicita, Leila ve Visa) ve hassas (Kasandra, Arosa, Hülya, Verity) şeker pancarı çeşitlerinin yetiştiriciliğini yaparak, bu çeşitlerin verim ve kalite durumlarını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda; BNYVV ile bulaşık Eskişehir ilinde, dayanıklı çeşitlerin enfeksiyon oranının hassas çeşitlere göre 2-3 kat daha düşük olduğu tespit edilmiştir. BNYVV ile bulaşık olmayan Ilgın'da dayanıklı çeşitlerin kök ve şeker veriminin hassas çeşitlere kıyasla %3 oranında daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Virüs ile bulaşık olmayan diğer ilçe

Hasankale’de ise hassas çeşitlerin dayanıklı çeşitlerden %2 oranında daha iyi şeker verimine sahip olduğu saptanmıştır.

Kutluk Yılmaz vd (2012), Orta Karadeniz Bölgesi şeker pancarı üretimi yapılan alanlarda ‘ACHG’, ‘AHHG’, ‘VCHG’ ve ‘AHAG’ motiflerini içeren dört farklı BNYVV populasyonunun varlığını belirlemişlerdir. Ayrıca bu motiflerden ‘VCHG’nin rhizomania’ya dayanıklı çeşit cv. Leila’da dayanıklılığın kırılmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Daha sonra yürütülen bir diğer araştırmada ise; Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında ‘ACHG’, ‘AHHG’, ‘ALHG’, ‘AFHG’, ‘VCHG’, ‘VHHG’, ‘ASHG’, ‘A-HG ya da AH-G’, ‘AAHG’ ve ‘ACHE’ motiflerini içeren 10 farklı BNYVV populasyonunun bulunduğu saptanmıştır (Kutluk Yılmaz vd, 2014).

Çulal Kılıç vd (2014), 2011 yılında Isparta ili şeker pancarı üretim alanlarından toprak örnekleri toplamışlar ve daha sonra bu topraklarda dokuz hafta süre ile BNYVV’ye hassas cv. Kasandra şeker pancarlarını yetiştirmişlerdir. Bu çalışmada; 108 örnekten 53’ünde BNYVV’ye özgü dsRNA profilleri gözlenmiştir. 28 örnekte RNA-1+2+3+4, 9 örnekte RNA 3, 7 örnekte RNA-1+2+3, 9 örnekte RNA-1+3 gözlenirken, analiz edilen örneklerde RNA-5 tanımlanmamıştır.

Kutluk Yılmaz (2016), Amasya, Çankırı, Çorum, Kastamonu, Samsun, Tokat illerine ait 20 adet BNYVV izolatlarının streyn tiplerini tespit etmek amacıyla gerçekleştirdiği RFLP analizi sonucunda; iki izolatın A-tip bant profiline tamamen uymamasına rağmen, bölgedeki izolatların A-tip streyn olduğunu saptamıştır.

Kutluk Yılmaz vd (2018), Konya ve Aksaray illerinde 2010-2011 yıllarında gerçekleştirdikleri sürveylerde, *Rz1* dayanıklılık genini içeren şeker pancarı alanlarında, rhizomania benzeri belirtiler gözlemişlerdir. Bu alanlardan alınan yedi farklı toprak örneğini, tuzak bitki testi ve moleküler çalışmalarda kullanmışlardır. BNYVV’nin patojenitesinde etkili olduğu bilinen p25 protein bölgesi, gen spesifik primerler kullanılarak çoğaltmış ve bu bölgenin kısmi baz dizileri elde etmişlerdir. P25 proteininin 67-70. aa. pozisyonlarını içeren bölgede ‘ACHG’ ve ‘VHHG’ aa. motiflerini içeren iki farklı BNYVV populasyonunun bulunduğunu ve ayrıca, 3 örnekte 67. (-DHG) ya da 68. (D-HG) pozisyonda tek bir aa.’i etkileyen ancak p25’in okuma çerçevesinde değişikliğine sebep olmayan 3 nükleotitlik silinmenin olduğunu belirlemişlerdir. Bu sıra dışı formu; hem A-tip, hem de RNA-5 içeren J-tip BNYVV

izolatlarında saptamışlardır. Ayrıca, bu mutant BNYVV popülasyonlarının farklı şeker pancarı genotiplerindeki [*rz1*, *Rz1*, *Rz1+RzR2*, *Rz1+Rz2*] patojenisitesi kontrollü şartlarda tuzak bitki ve ELISA testleri ile araştırmışlardır. İlginç bir şekilde, mutant ‘D-HG’ ya da ‘-DHG’ motifine sahip J-tip-RNA-5 içeren BNYVV izolatının tüm şeker pancarı genotiplerini enfekte edebildiği; ancak, mutant, diğer iki BNYVV popülasyonunun (A-tip karakterde) *Rz1* ve *Rz1+RzRM2* bitkilerini enfekte ettiği ve dayanıklılığı kırdığını saptamışlardır. Elde edilen bu sonuç; delesyonlu BNYVV mutantlarının, delesyon içermeyen izolatlar kadar agresif olduğunu göstermiştir. Takiben, benzer şekilde, Kutluk Yılmaz ve Kaya (2018) Ankara şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen bir BNYVV izolatında da 67. (-FHG) ya da 68. (F-HG) pozisyonda tek bir aa.’i etkileyen 3 nükleotitlik silinmenin olduğu tespit etmişlerdir. Üstelik, bu BNYVV izolatının da oldukça agresif olduğunu ve dayanıklı şeker pancarı genotiplerinin (*Rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+Rz3*) hiçbirisinin virüsü kontrol etme potansiyeline sahip olmadığını saptamışlardır.

2.11. Yurtdışında Yürütülen Bazı Çalışmalar

Tamada vd (2002), dünyanın çeşitli bölgelerinden 59 BNYVV izolatının p25 bölgesi baz dizisi analizlerine göre 8 gruba ayrıldığını ve incelenen bir Türk izolatının da Dünya’da çok yaygın olan İtalyan grubuna girdiğini bildirmişlerdir. Schirmer vd (2005), 11 şeker pancarı üreten ülkeye ait 78 BNYVV izolatının p25 proteini baz dizisi analizi sonuçlarına göre izolatları p25-I, p25-II ve p25-III olarak 3 gruba ayırmışlardır. Bunlardan p25-I, A-tip CP baz dizisine sahip olup yüksek derecede değişken p25 varyantlarını içermektedir. Bu grup içerisinde yer alan; Fransa, İspanya ve Amerika’ya ait 11 örnekten 8’inde, 67 ile 70. aa.’lerde ‘AHHG’ ve ‘ACHG’ tetrat motifleri belirlenmiştir. Benzer şekilde; Tokat iline ait altı Türk izolatında da ‘AHHG’ ve ‘ACHG’ motiflerine rastlanmıştır (Kutluk Yılmaz vd, 2007). Koenig vd (2005) ise, BNYVV A tipinde RNA-3 p25 bölgesinin 67-70. aa.’lerini içeren tetratlardaki değişik aa. dizilerine göre 8 farklı grup belirlemiştir. Buna göre; ‘ALHG’ (İsveç, Hollanda, Fransa, İtalya, Yunanistan), ‘AHHG’ (İsviçre, İtalya, İran), ‘ACHG’ (İtalya, İspanya), ‘AFHG’ (Çek Cumhuriyeti), ‘AYHG’ (Çek Cumhuriyeti, Slovakya), ‘SYHG’ (Kazakistan, Fransa-Pithiviers), ‘VCHG’ (İspanya) ve ‘VLHG’ (Amerika) tetrat motiflerini saptamışlardır. Bu çalışmada, BNYVV B-tipi streyninin p25 bölgesine ait 67-70. aa.’lerindeki tetrat motiflerinde ise sadece 2

tip varyant (AYHR ve AHHR) olduğu bildirilmiştir. Koenig vd (2008), bu konu ile ilgili diğer araştırmalarında, Almanya ve komşu ÷lkelerden alınan şeker pancarı örneklerinde çeşitli BNYVV genotiplerinin dağılımlarını belirlemişlerdir. BNYVV A-tipi izolatlarının RNA-3 p25 proteininin 67-70. aa. dizilerinin incelenmesi sonucunda, ‘AFHG’ (İsviçre ve Çek Cumhuriyeti), ‘ACHG’ (Bulgaristan, İtalya, İspanya, İsviçre), ‘AHHG’ (Fransa, İtalya, İsveç, İsviçre) ya da ‘ALHG’ (Fransa, İtalya, Macaristan, İspanya, İsviçre) tetratlarının yanı sıra, ‘AYHR’ (Avusturya ve Slovakya) ve İspanya’nın ufak bir alanında *RzI* dayanıklılığını kıran ‘VCHG’ tetratlı p25 proteinini belirlemişlerdir. Mehrvar vd (2009) ise, İran’da BNYVV enfeksiyonu belirlenen 288 örneğin bir çoğunun A-tipi streyn olduğunu bildirmekle birlikte, RNA-3’ün p25 bölgesinin baz dizisi analizi sonucunda 67-70. aa.’lerde büyük varyasyonların olduğunu ve 9 farklı varyantın bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bu bölgede belirlenen motifler; ‘ACHG’, ‘AHHG’, ‘AYHG’, ‘ALHG’, ‘AFHG’, ‘AFHR’, ‘AHYG’, ‘VLHG’ ve ‘VHHG’dir. Bu farklı tetrat varyantlarından en yaygın olanlarının ise ‘ACHG’, ‘AHHG’ ve ‘AYHG’ olduğunu bildirmişlerdir. BNYVV pozitif olan örneklerin 23’ünün ise önceden sadece Fransa, Kazakistan ve son olarak İngiltere’de tespit edilen P-tipi benzeri streyn olduğunu saptamışlardır. Ancak, şaşırtıcı olan bu örneklerin hiçbirinin diğer ÷lkelerdeki P-tipi BNYVV izolatlarında olduğu gibi, İran’da belirlenen P-tipi benzeri izolatların 5. RNA segmetini içermemesidir. Ancak, diğer P-tipi streyn olan BNYVV örneklerindeki gibi İran P-tipinin de p25 bölgesinde 67-70. aa. dizisinde ‘SYHG’ tetrat motifini içermesi İran’daki streynin BNYVV P tipi benzeri streyn olarak adlandırılmasına sebep olmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

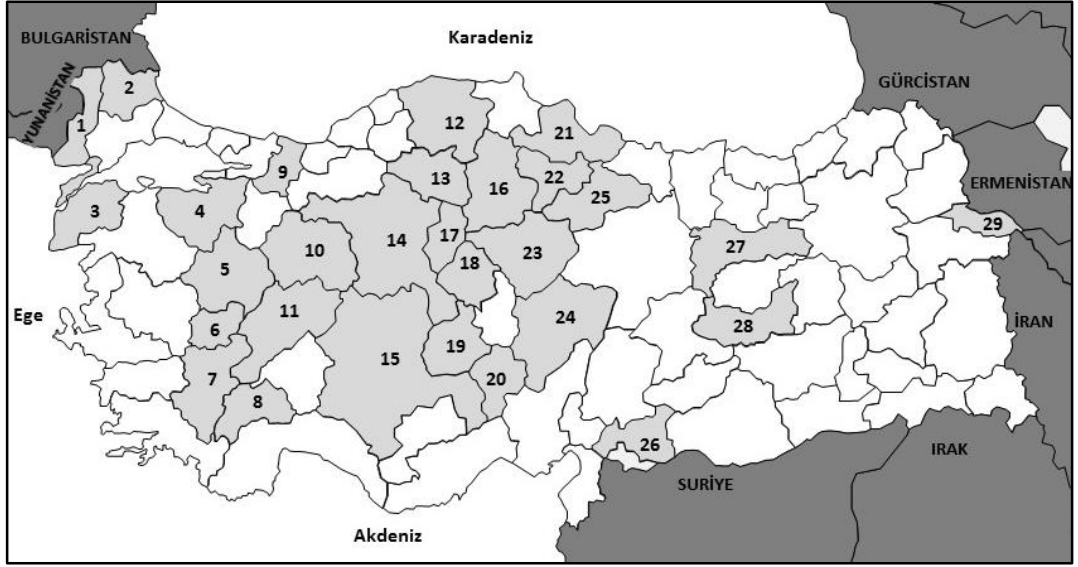
3.1. Materyal

3.1.1. Şeker Pancarı Tohumları

Bu çalışmada kullanılan BNYVV'ye hassas (*rz1*) ve dayanıklı (*Rz1+R2* ve *Rz1+C48+minör genler*) ticari şeker pancarı çeşitleri Türkiye Şeker Fabrikaları A. Ş. Şeker Enstitüsü (Ankara)'nden temin edilmiştir. Çifte dayanıklı çeşitlerden ilki *Rz1* (Holly dayanıklılığı) ve *Rz2* (*B. maritima* orjinli) genlerini içerirken, diğeri ise C48 ve *Rz1* genlerine ilave olarak minör genleri de içermektedir.

3.1.2. Toprak Örnekleri

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde muhafaza edilen BNYVV ile bulaşık 233 adet toprak örneği bu çalışmanın ana materyalini oluşturmuştur. BNYVV ile bulaşık bu topraklar 2014 yılında tamamlanan 110 O 188 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında Türkiye'nin farklı lokasyonlarına ait şeker pancarı üretim alanlarından toplanmıştır. Bu toprak örneklerinin temin edildiği iller (Şekil 3.1), lokasyonları ve toprak örnek numaraları Çizelge 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan toprak örneklerinin temin edildiği iller (gri renkle gösterilmiştir) 1: Edirne, 2: Kırklareli, 3: Çanakkale, 4: Bursa, 5: Kütahya, 6: Uşak, 7: Denizli, 8: Burdur, 9: Adapazarı, 10: Eskişehir, 11: Afyon, 12: Kastamonu, 13: Çankırı, 14: Ankara, 15: Konya, 16: Çorum, 17: Kırıkkale, 18: Kırşehir, 19: Aksaray, 20: Niğde, 21: Samsun, 22: Amasya, 23: Yozgat, 24: Kayseri, 25: Tokat, 26: Gaziantep, 27: Erzincan, 28: Elazığ, 29: Iğdır.

Çizelge 3.1. Tuzak bitki testi çalışmalarında kullanılan toprak örneklerinin temin edildiği il, ilçe, köyler ile toprak örneklerine ait numaralar

Örnek No	İl	İlçe	Köy
289	ADAPAZARI	Erenler	Bekirpaşa
290			Epçeller
291			Merkez
294		Merkez	Budaklar
303		Pamukova	Fevziye
Toplam		3	5
272	AFYON	Bolvadin	Merkez
267			Çobanlar
268			Merkez
259		Dinar	İshaklı
275		Emirdağ	Sığırcık
274			Veysel
273			Yenikapı
248		Sandıklı	Başagaç
252			Koçhisar
249			Merkez
264		Şuhut	Merkez
Toplam		6	11
549	AKSARAY	Eskil	Eşmekeye
564			Merkez
581			Yenikent
542		Sultanhanı	Merkez
543			Merkez
Toplam		3	5
91	AMASYA	Göynücek	İlisu
89			Karaşar
92			Senemoğlu
83		Gümüşhacıköy	Hamamözü
77		Merkez	İlyasköy
85			Kavakçayırı
84		Suluova	Dereköy
76		Taşova	Dört Yol
82			Dört Yol
75			Elmalı
81			Karabük
80			Mülkbükü
Toplam		5	12
617	ANKARA	Ayaş	Mucar
620			Sinanlı
624			Sinanlı
629		Çubuk	Güldartı
590		Etimesgut	Merkez
631			Merkez

Çizelge 3.1. (devam)

Örnek No	İl	İlçe	Köy	
195	ANKARA	Polatlı	Beylikköprü	
614			Beylikköprü	
196			Kıranharman	
197			Kıranharman Çiftliği	
194			Tozlu	
625			Şereflikoçhisar	Türbe
189			Temelli	Bacıköy
190			Bacıköy	
191			Bacıköy	
Toplam				6
164	BURDUR	Göhlisar	Hisarardı	
165		Karamanlı	Kılavuzlar	
168		Merkez	Merkez	
169		Merkez		
Toplam		3	4	
144	BURSA	Karacabey	Sazlıca	
141		Mustafakemalpaşa	Azatlı	
148		Yenişehir	Çardak	
Toplam		3	3	
150	ÇANAKKALE	Biga	Sarıkaya	
Toplam		1	1	
74	ÇANKIRI	Kızılırmak	Kıyıkavurgalı	
Toplam		1	1	
66	ÇORUM	İskilip	Yalakçayı	
64			Laçın	
65			Çamlıca	
68			Osmancık	Güvercinlik
69			Merkez	
70			Merkez	
71			Merkez	
72			Ören	
63			Sungurlu	Çavuşlu
Toplam				4
583	DENİZLİ	Çivril	Beydilli	
600			Beydilli	
608			Beydilli	
596			Yeni	
Toplam		1	4	
132	EDİRNE	İpsala	Balabancık	
133			İbriktepe	
123			Merkez	Bosna
125			Bosna	
124			Karaağaç	
Toplam		2	5	

Çizelge 3.1. (devam)

Örnek No	İl	İlçe	Köy	
38	ELAZIĞ	Kovancılar Merkez	Yazıbaşı	
40			Bahçekapı	
44			Yedigöze	
42			Yenice	
45			Yünlüce	
Toplam		2	5	
47	ERZİNCAN	Merkez	Merkez	
49			Merkez	
52			Merkez	
50			Soğukoluk	
Toplam		1	4	
213	ESKİŞEHİR	Alpu	Bahçecik	
212			Karakamış	
215			Merkez	
216			Merkez	
219			Merkez	
217			Osmaniye	
218			Osmaniye	
222			Beylikova	Akköprü
221				Merkez
226			Çifteler	Abbas Halim Paşa
220				Merkez
223		Merkez		
224		Merkez		
225		Merkez		
211		Merkez	Karacahöyük	
210			Karahöyük	
609			Merkez	
206			Muttalip	
209			Yassıhöyük	
199		Sivrihisar	İlören	
201			İlören	
202			İlören	
203			İlören	
Toplam			5	23
27	GAZİANTEP	İshaliye	Örtülü	
26		Nurdağı	Toplanmalar	
Toplam		2	2	
6	IĞDIR	Aralık	Ortaköy	
4			Karakoyunlu	
5			Gacer	
1			Gacer	
9			Taşburun	
7		Zülfikar		
3		Merkez	Enginalan	
8			Enginalan	
2			Meekli	

Çizelge 3.1. (devam)

Örnek No	İl	İlçe	Köy
22	IĞDIR	Tuzluca	Ağbey
21			Gaziler
Toplam		4	11
281	KASTAMONU	Taşköprü	A.Çayırak
277			Ethem
278			Ethem
280			Merkez
286			Oğul
Toplam		1	5
524	KAYSERİ	Merkez	Mahzemin
525			Mahzemin
527			Mahzemin
508			Sarıoğlan
Toplam		2	4
606	KIRIKKALE	Ballıseyh	Beyovası
594			Merkez
Toplam		1	2
134	KIRKLARELİ	Babaeski	B.Madıra
136			Taşagıl
139		Lüleburgaz	Ahmetbey
138			Ceylan
140			Evrensekiz
Toplam		2	5
486	KIRŞEHİR	Kaman	Hanyeri
492		Merkez	Dedeli
489			Değirmenkaşı
490			Ulupınar
493		Mucur	Merkez
Toplam		3	5
434	KONYA	Altınekin	Merkez
440			Merkez
442			Merkez
372		Çeltik	Hacıosmanoğlu
373			Hacıosmanoğlu
368			Merkez
369			Merkez
449		Cihanbeyli	Merkez
418			Çumra
419			Güvercinlik
420			Güvercinlik
422			Güvercinlik
416			Fethiye
424			Karkın
426			Karkın
187		Ereğli	Kamışlı

Çizelge 3.1. (devam)

Örnek No	İl	İlçe	Köy
388	KONYA	Karapınar	Kazanhöyüğü
389			Kazanhöyüğü
386			Merkez
410		Merkez	Kaşınhanı
431			Sazlıpınar
445		Selçuklu	Yazıbelen
446			Yazıbelen
362		Yunak	Hacıfakılı
361			Karayayla
364			Odabaşı
358			Saray
359			Saray
Toplam		9	28
238	KÜTAHYA	Altıntaş	Gecek
234			Aslanapa
585		Gediz	Ilıcasu
227			Merkez
228		Simav	İnköy
229			İnköy
586			Beciler
595			Beciler
604			Beciler
622			Beciler
602	Gümele		
Toplam		5	11
182	NİĞDE	Bor	Merkez
178			Merkez
176		Merkez	Çarıklı
175			Değirmenli
181			Edikli
179			Karaltı
180			Ovacık
Toplam		2	7
55	SAMSUN	Bafra	Çetinkaya
53			Karpuzlu
54			Yağmurca
58		Havza	Dereköy
60			Merkez
62		Kavak	Duman
59			Vezirköprü
61			Y.Narlı
Toplam		4	8

Çizelge 3.1. (devam)

Örnek No	İl	İlçe	Köy		
93	TOKAT	Erbaa	Bölücek		
94			Çalkara		
95			Çalkara		
96			Çalkara		
99			Çalkara		
101			Çalkara		
102			Çalkara		
103			Çalkara		
104			Çalkara		
97			Merkez	Merkez	
98				Tepekışla	
120			Merkez	Çamlıbel	
108				Niksar	
105			Pazar	Haydarbey	
106				Köseoğlu	
112				Beşevler	
113			Turhal	Dereköy	
114	Dereköy				
109	Necip				
111	Tatlıcak				
119	Zile	Tatlıcak			
115		Merkez			
117		Yeniköy			
Toplam		6	23		
588	UŞAK	Merkez	Muharremşah		
Toplam		1	1		
312	YOZGAT	Akdağ Madeni	Dolak		
316			Melikli		
350			Boğazlıyan	Çalapverdi	
351				Çalapverdi	
347			Merkez	Merkez	
352				Merkez	
308				Çekerek	
332			Sarıkaya	A.Sarıkaya	
341			Şefaati	Merkez	
337			Yenifakılı	Paşaköy	
338				Paşaköy	
342				Tahiroğlu	
353				Bektaşlı	
355			Merkez		
Toplam				6	14
Genel Toplam			29	94	233

3.1.3. Antiserum

Tez çalışmasında yurt içindeki firmadan temin edilen BNYVV'ye spesifik poliklonal antiserum (Bioreba) kullanılmıştır.

3.1.4. Mikropleytlar

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

3.1.5. Primerler

Bu tez çalışmasında, daha önce İontek firması (İstanbul) tarafından sentezlenen BNYVV RNA-3 tarafından kodlanan p25 proteini ve RNA-5 tarafından kodlanan p26 proteini gen bölgelerine spesifik forward ve reverse primerler kullanılmıştır. Bu primerler ve baz dizileri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. RT-PCR çalışmalarında kullanılan primerler ve baz dizileri

Primer Adı	Nükleotit dizilimi	Hedef RNA ve bölgesi	Literatür
F 29	TTAATCCAAGTACCTCGTCT	RNA-3, p25	Acosta-Leal vd, 2008
R 30	TTGAAATTGTGATAACTCTAA		
BN5/F1	GTTTTTCCGCTCGCACAAGCG	RNA-5, p26	Schirmer vd, 2005
BN5/R1	CGAGCCCGTAAACACCGCATA		

3.1.6. Test Bitkileri

BNYVV izolatlarının konukçu reaksiyonlarının tespit edilmesi amacıyla yapılan mekaniksel inokulasyon çalışmalarında, farklı familyalara ait çeşitli test bitkileri kullanılmıştır. Bu test bitkileri Çizelge 3.3'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. Biyolojik çalışmalarda kullanılan test bitkileri ve temin edildiği yerler

Botanik Adı	Temin Edilen Yer
<i>Beta vulgaris</i> cv. Kasandra (şeker pancarı)	A
<i>Beta maritima</i>	B
<i>Beta macrocarpa</i>	B
<i>Chenopodium quinoa</i>	B
<i>Chenopodium murale</i>	B
<i>Nicotiana benthamiana</i>	B
<i>Nicotiana rustica</i>	C
<i>N. clevelandii</i>	B
<i>Spinacia oleraceae</i> cv. Rick zwan	B
<i>Spinacia oleraceae</i> cv. Nebraska	B
<i>Patellifolia patellaris</i>	B

A: Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Şeker Enstitüsü.

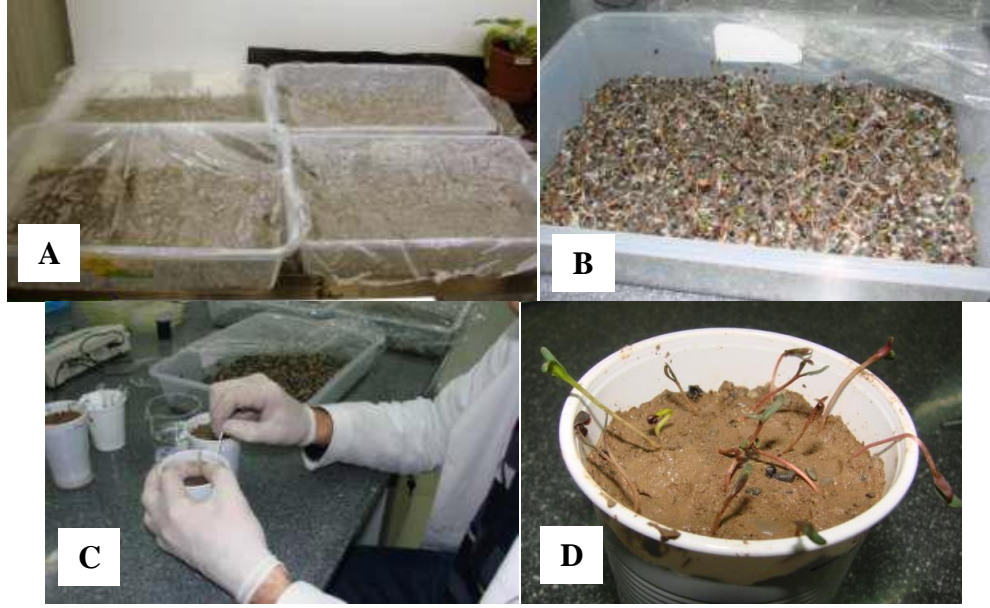
B: USDA/ARS National Center for Genetic Resources Preservation 1111 South Mason St. Fort Collins CO 80521-4500, USA.

C: OMU, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Viroloji Laboratuvarı tohum stokları

3.2. Yöntem

3.2.1. Tuzak Bitki Testi Yöntemi

Çizelge 3.1’de belirtilen toprak örneklerinin herbiri 1:1 oranında steril kum ile karıştırılarak plastik bardaklara konulmuş ve her birine 10’ar adet BNYVV’e karşı *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* dayanıklılık genleri içeren şeker pancarı tohumları ekilmiştir. Ancak, bazı toprak örneklerinin bulunduğu bardaklardaki şeker pancarları fideleri, kullanılan tohumlar toprak kökenli funguslara karşı ilaçlı olmadığından çıkıştan bir müddet sonra kök çürüklüğünden ölmüştür. Bazı bardaklarda ise üniform bitki çıkışı olmadığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle, geniş plastik kaplar içerisinde ıslatılmış steril kum üzerine şeker pancarı tohumları serpilerek, plastik kapların üstü naylon poşetler ile kapatılmış ve iklim odasında 5-6 gün süre ile inkübe edilmiştir. Bu şekilde ön çimlenmesi gerçekleştirilen şeker pancarı fideleri, arzu edilen bitki çıkışlarının olmadığı her bir bardağa 10’ar adet olacak şekilde kürdan yardımı ile delikler açılarak şaşırtılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Kum üzerinde ön çimlendirme yapıldıktan sonra bardaklara şaşırtılan şeker pancarı fideleri (A, B, C ve D)



Şekil 3.3. Tuzak bitki testi yöntemi uygulanan şeker pancarı bitkilerinin genel görünüşleri

Bardaklar, 25°C gündüz ve 20°C gece sıcaklığı koşullarını içeren iklim odasına yerleştirilerek (Şekil 3.3) iki günde bir sulanmış ve haftada bir kez Hoagland besin solüsyonu (EK 4) verilmiştir. Her bir bardak 8 haftalık yetiştirme periyodundan sonra hasat edilerek, bitki kökleri musluk suyunda yıkanarak topraktan arındırılmıştır (Şekil 3.4). Bu bitkilere ait semptomlar kayıt edildikten sonra, bitkilerin kök bölgeleri alınarak ELISA testi çalışmalarında kullanılmak üzere her biri ayrı torbalarda etiketlenerek -80°C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.



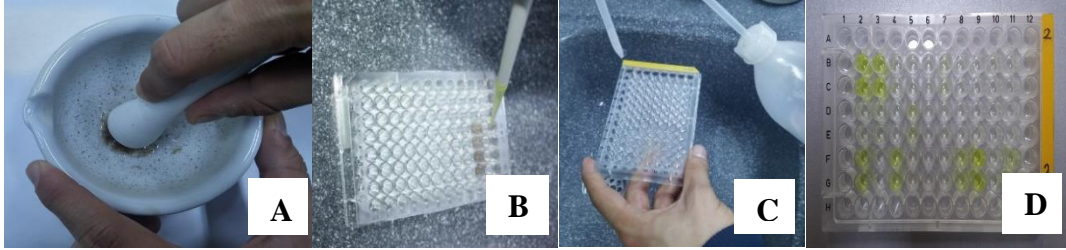
Şekil 3.4. Tuzak bitkilerin hasat edilmesi (A, B ve C)

3.2.2. ELISA Testi

Tuzak bitki testi yöntemine göre yetiştirilen farklı bölgelere ve 2 farklı genotipe ($Rz1+Rz2$ ve $Rz1+C48+minör\ genler$ içeren) ait kök örnekleri BNYVV'ye spesifik antiserum kullanılarak ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (DAS-ELISA) yöntemi Clark ve Adams (1977) ve antiserumun temin edildiği firmanın (Bioreba) açıklamaları göz önüne alınarak uygulanmıştır.

Kaplama tampon çözeltisinde (EK 3) 1: 200 oranında sulandırılarak hazırlanan antiserumdan 100 µl her bir mikroyeçit çukuruna konulmuş ve 5 saat boyunca 30°C sıcaklıktaki inkübatörde bırakılmıştır. Daha sonra mikroyeçitler 3 defa yıkama tampon çözeltisi (EK 3) ile yıkanmıştır. 1/10 oranında örnek tampon çözeltisi (EK 3) ilave edilerek porselen havan içerisinde ezilen (Şekil 3.5A) şeker pancarı kökleri 100 µl olacak şekilde bu mikroyeçitlerin çukurlarına ilave edilmiştir (Şekil 3.5B). Her örnek 2 mikroyeçit çukurunda test edilmiştir. Ayrıca, iki çukura BNYVV ile enfekteli olduğu bilinen örnek (pozitif kontrol), iki çukura da sağlıklı örnekten (negatif kontrol) yerleştirilmiştir. Bir gece +4°C'de buzdolabında muhafaza edilen

mikropleyter, yıkama tampon çözeltisi ile 3 defa yıkanmıştır (Şekil 3.5C). Daha sonra konjugat tampon çözeltisinde (EK 3) 1/200 oranında sulandırılan konjugat'tan 100 µl mikropleyterin her bir çukuruna ilave edilip 30°C'sıcaklıktaki inkübatörde 4 saat bekletilmiştir.



Şekil 3.5. DAS-ELISA yöntemi

Tekrar yıkama tampon çözeltisi ile mikropleyter çukurları 3 kez yıkandıktan sonra substrat tampon çözeltisi (EK 3) içerisinde 1 gr/ml olacak şekilde hazırlanan substrattan (p-nitrofenil fosfat, Sigma) mikropleyter çukurlarına 100'er µl ilave edilmiştir. Mikropleyterler substrat inkübasyonu için oda sıcaklığında toplam 120 dakika inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.5D). ELISA absorbans değerlerine ait sonuçlar ELISA mikropleyter okuyucusunda (Tecan Spectra II) 405 nm dalga boyunda, substrat ilavesinden 60 dk sonra 1. okuma ve 120 dk sonra 2. okuma alınmasıyla elde edilmiştir. Negatif kontrollerin absorbans değerlerinden 3 katı ve daha fazla değer veren örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Liu vd, 2005).

3.2.3. Moleküler Çalışmalar

3.2.3.1. BNYVV İzolatlarının Seçimi

Coğrafik orjinleri ve içerdiği izolatın farklı genotiplerde (*rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) enfeksiyon oluşturma durumu göz önüne alınarak toplam 19 adet BNYVV ile bulaşık toprak örneği seçilmiştir. Toprak örneklerinin orjinleri, içerdikleri BNYVV izolatlarının farklı genotiplerde enfeksiyon oluşturma durumları ile bu izolatların elde edildiği genotipler Çizelge 3.4'de verilmiştir. RNA ekstraksiyon çalışmalarında taze bitkiye ihtiyaç duyulduğundan, öncelikle, seçilen toprak örneklerinde Yöntem 3.2.1'de belirtildiği şekilde farklı genotipe ait şeker pancarları 6 hafta süre ile yetiştirilmiştir. Daha sonra bu bitkilerin kökleri RNA ekstraksiyonu çalışmasında kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Moleküler çalışmalarda kullanılan toprak örneklerinin orjinleri, içerdikleri BNYVV izolatlarının farklı genotiplerde enfeksiyon oluşturma durumları ile bu izolatların elde edildiği genotipler

Örnek No	Orjin	Farklı Genotiplerde Enfeksiyon Oluşturma Durumu	İzole Edildiği Genotip
2	Merkez/Iğdır	<i>rz1 (1), Rz1+Rz2 (2), Rz1+C48+minör genler (3)</i>	1, 2, 3
45	Merkez/Elazığ	<i>rz1, Rz1+Rz2, Rz1+C48+minör genler</i>	1, 2, 3
210	Merkez/Eskişehir	<i>rz1, Rz1+Rz2, Rz1+C48+minör genler</i>	1, 2, 3
281	Taşköprü/Kastamonu	<i>rz1, Rz1+Rz2, Rz1+C48+minör genler</i>	1, 2, 3
312	Akdağ Made./Yozgat	<i>rz1, Rz1+Rz2, Rz1+C48+minör genler</i>	1, 2, 3
359	Yunak/Konya	<i>rz1, Rz1+Rz2, Rz1+C48+minör genler</i>	1, 2, 3
386	Karapınar/Konya	<i>rz1, Rz1+Rz2</i>	1, 2
418	Çumra/Konya	<i>rz1, Rz1+Rz2, Rz1+C48+minör genler</i>	1, 2, 3
604	Simav/Kütahya	<i>rz1, Rz1+Rz2, Rz1+C48+minör genler</i>	1, 2, 3
614	Polatlı/Ankara	<i>rz1, Rz1+Rz2, Rz1+C48+minör genler</i>	1, 2, 3
44	Merkez/Elazığ	<i>rz1</i>	1
133	İpsala/Edirne	<i>rz1</i>	1
134	Babaeski/Kırklareli	<i>rz1</i>	1
136	Babaeski/Kırklareli	<i>rz1</i>	1
141	Mustafakemalpaşa/Bursa	<i>rz1</i>	1
164	Göhlisar/Burdur	<i>rz1</i>	1
175	Merkez/Niğde	<i>rz1</i>	1
259	Dinar/Afyonkarahisar	<i>rz1</i>	1
431	Merkez/Konya	<i>rz1</i>	1

3.2.3.2. RNA Ekstraksiyonu

Toplam 38 adet örnekten toplam RNA'lar RNeasy ekstraksiyon kiti (Qiagen) kullanılarak, kit protokolüne göre aşağıdaki şekilde ekstrakte edilmiştir. BNYVV ile enfekteli ve sağlıklı şeker pancarı köklerinden 0.1 gr alınarak steril havan ve havan eli yardımıyla sıvı nitrojen içerisinde toz haline gelinceye kadar ezilmiştir. Daha sonra bu örneklerin üzerine 600 µl RLT buffer ve 6 µl β-mercaptoethanol ilave edilerek vorteks ile karıştırıldıktan sonra, üzerine leylak rengi kolon yerleştirilen Eppendorf tüplere transfer edilmiştir. Bu karışım 13.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilip, santrifüj sonrası üstte kalan süpernatant kısım alınarak temiz tüpe aktarılmıştır. Üzerine 260 µl EtOH (%96-100) ilave edildikten sonra pembe kolonların bulunduğu Eppendorf tüplere karışım nakledilmiştir. Tüpler tekrar 15 saniye 10.000 rpm'de santrifüj edilerek tüpe geçen süpernatant döküldükten sonra, aynı kolona 700 µl RW1 buffer ilavesi yapılarak 15 saniye 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Tekrar tüpe geçen sıvı kısım atılarak pembe kolon yeni Eppendorf tüpe yerleştirilmiş ve kolon üzerine 500 µl RPE buffer ilave edildikten sonra 10.000 rpm'de 15 saniye santrifüj edilmiştir. Süpernatantın tüpten uzaklaştırılmasından sonra, aynı kolon aynı tüpe yerleştirilerek tekrar 500 µl RPE buffer ilave edilerek ve

10.000 rpm 2 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Son olarak, bu kolonları 1.5 ml'lik Eppendorf tüplere transfer ettikten sonra, kolon üzerine 30 µl RNase enzimi içermeyen su ilave edilerek tüpler -80°C'deki derin dondurucu içerisinde moleküler çalışmalar yapılncaya kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.3.3. RT-PCR Yöntemi ile P25 Proteininin Çoğaltımı

BNYVV'nin patojenitesinde etkin olan ve RNA-3 tarafından kodlanan p25 proteinine ait bölgenin çoğaltılmasında Acosta-Leal vd (2008)'nin belirttikleri F29 (5'-TTAATCCAAGTACCTCGTCT-3') ve R30 (5'-TTGAAATTGTGATAACTCTAA-3') primerleri kullanılmıştır. Bu çalışmada RT-PCR çalışmaları tek ve iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir.

Tek Aşamalı RT-PCR

Tek aşamalı RT-PCR, Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase kiti (Invitrogen) protokolleri takip edilerek uygulanmıştır. RT-PCR reaksiyonu, 3 µl total RNA, 25 µl 2X reaction mix, her bir primerden 1 µl (10 µm) ve 1 µl enzimden (RT/Platinum *Taq* mix) oluşturulmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase içermeyen su ile 50 µl'ye tamamlanmıştır. Bu kit ile gerçekleştirilen amplifikasyonlar 50°C'de 30 dk, 94°C'de 2 dk, 35 döngü olacak şekilde 94°C'de 15 sn, 50°C'de 30 sn ve 72°C'de 1 dk ve 1 döngü 72°C'de 7 dk ile tamamlanmıştır.

İki Aşamalı RT-PCR

Bu çalışmada, RT basamağında Omniscript Reverse Transcription kit (Qiagen) kullanılmış (Acosta-Leal vd, 2008) ve kit protokolü takip edilerek çalışmalar gerçekleştirilmiştir. İlk olarak steril Eppendorf tüpüne 2 µl RNA ilave edilerek 65°C'de 5 dk su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra, tüpler buz içerisinde kısa bir süre bekletilmiştir. Takiben RNA üzerine, 1 µl 10X Buffer RT, 2 µl 5 mM dNTP, 2 µl 10 mM reverse primer (R30), 1 µl RNase inhibitör (10 U/µl), 1 µl Omniscript RT Enzimi ve 10 µl RNase-free su ilave edilerek karışmaları sağlanmış ve sonrasında 37°C'de 1 saat PCR Thermocycler'da inkübasyona bırakılmıştır.

PCR çalışmalarında 3'→5' eksonükleaz (proofreading) aktivitesine sahip DNA polimeraz enzimini içeren kit kullanılmıştır. Bu enzimin tercih edilme sebebi *Taq* polimeraz enzimine göre PCR işlemi sırasında daha düşük hata oranına sahip

olmasıdır. PCR aşaması, Thermo Scientific firmasının (Q5 High-Fidelity DNA Polymerase) enzimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve PCR reaksiyonu; 10 µl Q5 Buffer, 1 µl 10 mM dNTPs, her bir primerden (10 µM) 2.5 µl, 2 µl cDNA ve 0.5 µl enzimden (Q5 DNA polymerase) oluşturulmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase içermeyen su ile 50 µl'ye tamamlanmıştır. Amplifikasyonlar thermocycler'de, 35 döngü olacak şekilde 98°C'de 30 sn başlangıç denatürasyon basamağından sonra, 98°C'de 10 sn, 54°C'de 30 sn, 72°C'de 45 sn ve 1 döngü 72°C'de 2 dakika ile tamamlanmıştır.

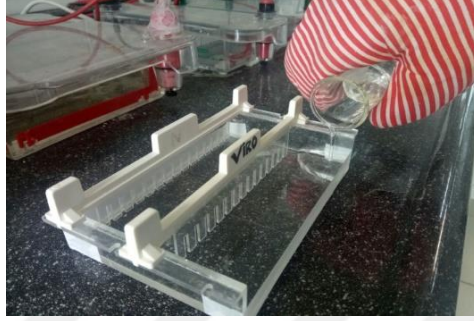
3.2.3.4. RT-PCR Yöntemi ile P26 Proteininin Çoğaltımı

Moleküler çalışmalar için seçilen ve farklı genotiplerde dayanıklılık kıran 10 BNYVV izolatında BNYVV RNA-5'inin bulunma durumu araştırılmıştır (Çizelge 3.4). BNYVV'nin patojenitesinde etkin olan RNA-5 tarafından kodlanan p26 protein genine ait bölgenin çoğaltılmasında RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler BN5/F1 (5'-GTTTTTCCGCTCGCACAAGCG-3') ve BN5/R1 (5'-CGAGCCCGTAAACACCGCATA-3') (Schirmer vd, 2005) İontek (İstanbul) firması tarafından sentezlenmiştir. Tek aşamalı RT-PCR, Superscript III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq DNA Polymerase kiti (Invitrogen) protokolleri takip edilerek uygulanmıştır. Reaksiyon 12.5 µl 2X Reaksiyon karışımı, her bir primerden 0.5 µl (son konsantrasyon: 10 µM), 1 µl Superscript III RT/Platinum Taq Mix ve 1 µl RNA'dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır. Amplifikasyonlar Bio-Rad MJ Mini PCR Thermocycler'da, 55°C'de 30 dk, 94°C'de 2 dk, 40 döngü olacak şekilde 94°C'de 15 sn, 59°C'de 30 sn ve 68°C'de 1 dk ve 1 döngü 68°C'de 5 dk ile tamamlanmıştır.

3.2.3.5. Agaroz Jel Elektrophorez Yöntemi

PCR sonrası oluşan DNA fragmentlerinin analizi amacıyla %1'lik agaroz jel kullanılmıştır. 0.1 g agaroz (Merck, Almanya) 100 ml'lik 1 X TBE tampon çözeltisi (89 mM Tris, 89 mM Borik asit ve 2 mM EDTA) içerisinde karıştırıldıktan sonra mikro dalga fırın içerisinde erimesi sağlanmıştır. Karışım ılıdıktan sonra içerisine 5 µl (10 mg/ml) ethidium bromür ilave edilerek jel yatay elektrophorez tabağına dökülmüştür (Şekil 3.6). Jel tamamen katılaştıktan sonra içerisinde 1 X TBE tampon çözeltisi bulunan elektrophorez cihazının tankına yerleştirilmiştir (Şekil 3.6).

PCR tüpleri içerisindeki DNA örneklerinden 8 µl alınarak 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak jeldeki hücelere yerleştirilmiştir. İlk hücreye bantların moleküler büyüklüğünü belirlemek için 7 µl markör konulduktan sonra, diğer hücelere örnekler yerleştirilerek 90 mA sürekli akımda 1 saat süre ile elektroforeze tabi tutulmuştur. Jeldeki PCR fragmentleri jel görüntüleme cihazında (Biorad) incelenmiş ve jelde oluşan bantların görüntüleri fotoğraflanmıştır.



Şekil 3.6. Agaroz jelin hazırlanması

3.2.3.6. Jelden PCR Ürünlerinin Ekstraksiyonu

Bu çalışmada bir örnekte (614 no'lu) jelden p25 genine spesifik PCR ürünü Qiagen Gel Extraction Kit protokolü takip edilerek izole edilmiştir. İlk olarak jel üzerindeki bantlar UV jel görüntüleme cihazı üzerinde steril bir bistirü yardımıyla kesilip mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Daha sonra firmanın açıklamaları dikkate alınarak PCR ürünü aşağıdaki basamaklar izlenerek saflaştırılmıştır.

- 1) Eppendorf tüpün ağırlığı hassas terazi ile tartılmıştır.
- 2) Kesilen jel parçası Eppendorf tüp içerisine konularak tartım işlemi gerçekleştirilmiştir. Tüpün darası çıkarıldıktan sonra elde edilen miktarın 3 katı kadar (1: 3 oranında) buffer QG ilave edilmiştir.
- 3) Jel tamamen çözülünceye kadar 50°C'deki su banyosunda 10 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur.
- 4) Jel tamamen çözüldükten sonra karışımın renginin sarılığı kontrol edilmiştir.
- 5) Jelin ağırlığı kadar isoproponal ilave edilerek koleksiyon tüpüne yerleştirilmiş kolona örnek aktarılmıştır. Daha sonra 1 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.

6) Tüpün içerisindeki sıvı boşaltılarak aynı tüpe kolon tekrar yerleştirilmiştir. Kolona 500 µl buffer QG ilave edilerek 13.000 rpm'de 1 dakika süre ile santrifüj edilmiştir.

7) Sonra kolonun altındaki tüpe dolan sıvı kısım dökülerek, kolon tekrar koleksiyon tüpü üzerine yerleştirilerek kolona 750 µl buffer PE ilave edilmiştir. 2-3 dakika beklendikten sonra 1 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.

8) Tüpe geçen sıvı tekrar döküldükten sonra boş kolon 13.000 rpm'de 1 dakika süre ile tekrar santrifüj işlemine tabi tutulmuştur.

9) Son olarak 1.5 ml'lik steril Eppendorf tüp üzerine yerleştirilen kolona 40 µl RNase enzimi içermeyen su ilave edilerek 1 dakika 13.000 rpm'de santrifüj gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen örnek sekans analizi yapılmaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.2.3.7. BNYVV İzolatlarının P25 Genine Ait Bölgenin Nükleotit Dizilerinin Elde Edilmesi

Farklı şeker pancarı genotiplerinden (*rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genleri* içeren) elde edilen toplam 19 BNYVV izolatının p25 proteinine ait PCR ürünlerinin direkt sekans analizleri; 40 µl PCR ürünü ve p25 proteinine spesifik primerler (10 pmol/ µl) kullanılarak Sanger metodu ile Genoks ve BM firmaları (Ankara) tarafından yapılmıştır. Sekans analizi sonrasında 'Codon Code Aligner' programı kullanılarak BNYVV izolatlarına ait her iki yönde (forward ve reverse) elde edilen ham sekans verileri hizalanmış, düzgün okunan kısımlar alınarak konsensus diziler elde edilmiştir. Daha sonra, p25 bölgesinin aa. dizileri elde edilerek, patojenitede etkili olduğu bilinen 67.-70. pozisyonadaki tetrat motifleri belirlenmiştir.

3.2.3.8. BNYVV İzolatlarının P25 Genine Göre Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması

Dayanıklılık kıran ve kırmayan BNYVV izolatlarının p25 bölgesine ait konsensus dizileri ile GenBankası (NCBI: National Center for Biotechnology Information) internet kaynağından (www.ncbi.nlm.nih.gov) indirilen BNYVV streynlerine ait nükleotit dizileri Clustal W (Thompson vd, 1994) programı kullanılarak çoklu dizi hizalaması yapılmıştır. Daha sonra, Mega 7 yazılımında (Kumar vd, 2016) yer alan

Tamura-Nei modeli (Tamura ve Nei, 1993) kullanılarak izolatların genetik uzaklıkları belirlenmiş ve Maximum Likelihood (ML) algoritmasına göre (Felsenstein, 1981) filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenetik analizde 25 farklı BNYVV izolatına ait sekans verileri kullanılmış ve 660 nükleotit pozisyonu analizde kullanılmıştır. Bootstrap değeri olarak 1000 alınmıştır.

3.2.4. Biyolojik Çalışmalar

Çalışmanın bu kısmında, farklı genotiplerde (*rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının Çizelge 3.3’de belirtilen farklı bitki türlerinde meydana getirdiği reaksiyonlara göre izolatlar arasında biyolojik olarak farklılık olup olmadığı incelenmiştir. Biyolojik çalışmalar için seçilen BNYVV izolatlarının orjinleri, *rz1* genotipinde belirlenen tetrat motifleri ve dayanıklılığı kırdığı genler Çizelge 3.5’de verilmiştir.

Çizelge 3.5. Biyolojik çalışmalar için seçilen BNYVV izolatlarının orjinleri ve patojenik özellikleri

Örnek No	İzolat Adı	Orjin	<i>rz1</i> Genotipinde Belirlenen Tetrat Motif	Dayanıklılığın Kırdığı Genler
40 542	ELZG-40 AKSY-542	Bahçekapı/Merkez/Elazığ Sultanhanı/Aksaray	ALHG D-HG/-DHG	<i>Rz1</i>
386	KNYA-386	Merkez/Karapınar/Konya	AHHG	<i>Rz1</i> , <i>Rz1+Rz2</i>
525	KYSR-525	Mahzemin/Merkez/Kayseri	AHHG	<i>Rz1+Rz2</i> , <i>Rz1+C48+minör genler</i>
604 210 312 281 418 614	KTHY-604 ESKR-210 YZGT-312 KAST-281 KNYA-418 ANKR-614	Beciler/Simav/Kütahya Karahöyük/Merkez/Eskişehir Dolak/Akdağ Madeni/Yozgat A.Çayırıcık/Taşköprü/Kastamonu Güvercinlik/Çumra/Konya Beylikköprü/Polatlı/Ankara	AHHG ACHG AYHG* AHHG D-HG/-DHG AHHG	<i>Rz1</i> , <i>Rz1+Rz2</i> , <i>Rz1+C48+minör genler</i>

*Bu örnekte belirlenen tetrat motif *Rz1+Rz2* genotipindeki bitkilerden elde edilmiştir

Bu amaçla, test bitkilerinin tohumları torf içeren plastik kaplara ekilmiştir (Şekil 3.7). Bitkiler uygun inokulasyon dönemine geldiğinde, torf dolu plastik bardaklara şaşırtılarak, 25°C’de iklim odasında inkübe edilmiştir (Şekil 3.8). Fungal hastalık ve böcek zararlarından korumak için bitkiler rutin olarak kontrol edilmiş, zaman zaman yaprak biti ve beyaz sineklere karşı ilaçlama yapılmıştır.



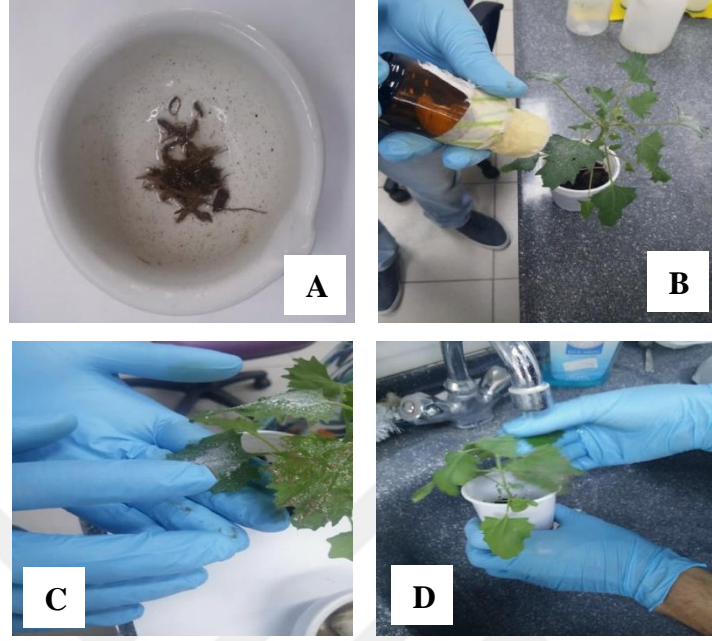
Şekil 3.7. Plastik kaplarda yetiştirilen indikatör bitkilerin görünümü (A ve B)



Şekil 3.8. Plastik bardaklara şaşırtılan farklı indikatör bitkilerin genel görünümleri

Seçilen BNYVV izolatlarını içeren toprak örneklerinde yöntem 3.2.1’de açıklandığı gibi tuzak bitki testi yöntemine göre BNYVV’ye hassas şeker pancarları (cv. Kasandra) yetiştirilmiştir. Bu enfekteli bitkilerden alınan kök örnekleri, 1gr kök örneği/5 ml tampon çözelti olacak şekilde steril havanda homojenize edilmiştir (Şekil 3.9A). Tampon çözelti olarak %1 oranında 2-mercaptoethanol içeren 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH: 7.0) kullanılmıştır (Tamada ve Baba, 1973; Liu vd, 2005). Elde edilen enfekteli bitki özsuları, 400 mesh’lik karborandum tozu ile tozlanmış (Şekil 3.9B) ve Çizelge 3.3’de verilen test bitkilerinin yapraklarına inokule edilmiştir (Şekil 3.9C). İnokule edilen bitkilerin yaprakları musluk suyu altında yıkanmış (Şekil 3.9D) ve daha sonra bitkiler iklim odasına yerleştirilmiştir. Her bir uygulama için 1 adet kontrol bitki bırakılmış ve bu bitkiler sadece tampon çözelti ile inokule edilmiştir. Bitkilerde oluşan belirtiler rutin olarak 1 ay boyunca izlenmiş ve bu sürede oluşan belirtiler kayıt edilmiştir. Belirtili ve belirtilsüz tüm bitkiler, belirtilerin BNYVV enfeksiyonundan kaynaklandığını teyit etmek ve de bu bitkilerde

oluşabilecek latent enfeksiyonlar açısından incelenmek amacıyla yöntem 3.2.2’de belirtildiği gibi ELISA yöntemiyle test edilmiştir.



şekil 3.9. İndikatör bitkilere BNYVV izolatlarının mekaniksel inokulasyon aşamaları (A, B, C ve D)

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Türkiye Şeker Pancarı Üretim Alanlarında Dayanıklılık Kırıcı BNYVV Varyantlarının Araştırılması ve Yaygınlık Durumlarının Belirlenmesi

Bu çalışmada, daha önce yürütülen bir çalışma ile BNYVV bulaşık olduğu bilinen 29 ile ait 233 adet toprak örnekleri kullanılmıştır. *Rz1+Rz2* genlerini içeren çeşit ile yürütülen denemede 233 toprak örneğinin tamamı kullanılmasına rağmen, *Rz1+C48+minör genler* içeren şeker pancarı çeşidi ile yürütülen denemede ise 27 örneğe ait yeterli toprak numunesi bulunmadığından çalışmalara dahil edilememiş ve incelenen örnek sayısı 206 ile sınırlı kalmıştır. Sonuç olarak, 233 farklı toprak örneğinde *Rz1+Rz2*, 206 toprak örneğinde ise *Rz1+C48+minör genler* içeren şeker pancarı çeşitleri tuzak bitki testi yöntemine göre sekiz hafta süre ile yetiştirilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Tuzak bitki testi yöntemine göre iklim odasında yetiştirilen şeker pancarı bitkilerinin genel görünümü

Tuzak bitki testi sonucunda elde edilen her iki genotipe ait kök örneklerinin tamamı BNYVV'ye spesifik antiserum kullanılarak ELISA ile test edilmiştir. Tuzak bitki testi yöntemine göre yetiştirilen bitkilere ait ortalama bitki ve kök ağırlıkları ile bu bitkilerde kayıt edilen makroskobik gözlemler ve elde edilen ELISA absorbans değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren şeker pancarı çeşitleri kullanılarak gerçekleştirilen tuzak bitki testi sonucunda yetiştirilen bitkilere ait ortalama bitki ve kök ağırlıkları, masroskobik gözlem sonuçları ve ELISA absorbands değerleri

İl	İlçe	Örnek No	<i>Rz1+Rz2</i>				<i>Rz1+C48+minör genler</i>			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri
ADAPAZARI	Erenler	289	0.449	0.047	YD	0.706 (+)	1.991	0.159	N	0.109 (-)
		290	0.716	0.043	HK, KÇ	3.691 (+)	1.448	0.089	N	0.157 (-)
	291	0.781	0.138	N	0.230 (-)	1.028	0.042	N	0.091 (-)	
	Merkez	294	0.489	0.035	N	3.436 (+)	TE	TE	TE	TE
	Pamukova	303	0.298	0.026	HK	2.643 (+)	1.135	0.072	N	0.122 (-)
Toplam	3	5				4* (%80)			0* (%0)	
AFYON	Bolvadin	272	0.548	0.052	N	0.120 (-)	0.868	0.073	N	0.111 (-)
		267	0.141	0.022	HK, KÇ	1.137 (+)	TE	TE	TE	TE
	Çobanlar	268	0.365	0.041	N	3.547 (+)	TE	TE	TE	TE
		Dinar	259	0.226	0.026	HK	0.334 (-)	0.819	0.018	N
	Emirdağ	275	0.507	0.070	HK	1.731 (+)	1.765	0.097	N	0.105 (-)
		274	0.191	0.030	N	0.266 (-)	TE	TE	TE	TE
	Sandıklı	273	0.340	0.075	N	0.169 (-)	1.694	0.064	N	0.097 (-)
		248	0.338	0.047	KÇ	2.158 (+)	1.323	0.169	N	0.102 (-)
		252	0.221	0.029	HK	2.155 (+)	1.643	0.078	HK	0.172 (-)
		249	0.241	0.049	HK	2.637 (+)	2.489	0.134	KÇ	0.112 (-)
Şuhut	264	0.458	0.072	N	0.163 (-)	1.977	0.091	HK	0.090 (-)	
Toplam	6	11				6 (%54.5)			0 (%0)	
AKSARAY	Eskil	549	0.405	0.027	N	0.116 (-)	1.100	0.122	N	0.121 (-)
		564	0.382	0.050	N	0.339 (-)	0.682	0.021	N	0.113 (-)
	581	0.257	0.037	N	2.871 (+)	2.104	0.185	N	0.136 (-)	
	Sultanhanı	542	0.542	0.086	N	0.201 (-)	1.448	0.123	N	0.197 (-)
		543	0.374	0.087	N	0.213 (-)	1.356	0.155	N	0.109 (-)
Toplam	3	5				1 (%20)			0 (%0)	

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	Rz1+Rz2				Rz1+C48+minör genler			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri
AMASYA	Göynücek	91	0.294	0.030	N	0.385 (-)	1.324	0.128	N	0.103 (-)
		89	0.288	0.039	N	0.169 (-)	1.331	0.108	N	0.111 (-)
		92	0.251	0.060	HK	3.576 (+)	1.102	0.285	N	0.106 (-)
	Gümüşhacıköy Merkez	83	0.693	0.135	N	0.134 (-)	2.880	0.494	N	0.092 (-)
		77	0.222	0.032	N	0.200 (-)	1.592	0.086	N	0.137 (-)
	Suluova Taşova	85	0.467	0.080	N	0.203 (-)	1.221	0.362	HK	0.091 (-)
		84	1.246	0.039	N	0.128 (-)	TE	TE	TE	TE
		76	0.324	0.056	HK	2.131 (+)	1.551	0.114	N	0.156 (-)
		82	0.233	0.033	N	0.234 (-)	2.910	0.160	N	0.115 (-)
		75	0.256	0.027	HK	3.625 (+)	1.283	0.142	N	0.056 (-)
	81	0.200	0.021	NL, K	2.377 (+)	1.302	0.038	HK, KÇ	1.188 (+)	
	80	0.414	0.088	N	0.200 (-)	1.709	0.064	N	0.114 (-)	
Toplam	5	12	4 (%33.3)				1 (%9.1)			
ANKARA	Ayaş	617	0.167	0.011	KÇ	3.700 (+)	1.061	0.046	HK, KÇ	1.116 (+)
		620	0.182	0.026	K, KÇ	1.212 (+)	1.996	0.225	YD	3.570 (+)
		624	0.148	0.013	K, KÇ	2.156 (+)	1.341	0.124	N	0.141 (-)
	Çubuk Etimesgut	629	0.158	0.034	HK	0.774 (+)	0.866	0.105	N	0.111 (-)
		590	0.335	0.031	N	3.542 (+)	TE	TE	TE	TE
		631	0.318	0.018	BC	0.201 (-)	1.137	0.250	BC	0.237 (-)

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	Rz1+Rz2				Rz1+C48+minör genler			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri
ANKARA	Polatlı	195	0.398	0.081	N	0.201 (-)	0.370	0.106	N	0.239 (-)
		614	0.409	0.077	HK	2.797 (+)	2.673	0.128	N	1.610 (+)
		196	0.262	0.039	HK, KÇ	1.942 (+)	2.445	0.256	BC	0.106 (-)
		197	0.470	0.068	K	2.597 (+)	1.790	0.091	N	0.139 (-)
	Şereflikoçhisar Temelli	194	0.271	0.049	KÇ	2.817 (+)	2.314	0.047	N	0.087 (-)
		625	0.587	0.054	N	0.180 (-)	1.685	0.048	N	0.115 (-)
		189	0.271	0.044	HK	0.203 (-)	1.711	0.084	N	0.091 (-)
		190	0.290	0.039	HK	3.296 (+)	1.160	0.199	N	0.105 (-)
	191	0.140	0.017	HK	0.446 (-)	0.143	0.041	N	0.100 (-)	
Toplam	6	15				10 (%66.7)			3 (%21.4)	
BURDUR	Göhlisar Karamanlı Merkez	164	0.304	0.039	N	0.192 (-)	3.183	0.127	N	0.097 (-)
		165	0.235	0.040	N	2.388 (+)	0.859	0.117	N	0.126 (-)
		168	0.328	0.028	N	0.261 (-)	1.042	0.039	N	0.100 (-)
		169	0.311	0.045	HK	0.147 (-)	TE	TE	TE	TE
Toplam	3	4				1 (%25)			0 (%0)	
BURSA	Karacabey M.Kemalpaşa Yenişehir	144	0.287	0.076	HK	2.474 (+)	0.942	0.026	HK	0.111 (-)
		141	0.367	0.036	SY	0.240 (-)	1.404	0.056	SY	0.098 (-)
		148	0.167	0.029	HK	3.041 (+)	1.182	0.091	SY	0.110 (-)
Toplam	3	3				2 (%66.7)			0 (%0)	
ÇANAKKALE	Biga	150	0.342	0.035	N	0.397 (-)	TE	TE	TE	TE
Toplam	1	1				0 (%0)				TE
ÇANKIRI	Kızılırmak	74	0.282	0.028	BC	0.500 (-)	1.810	0.130	N	0.120 (-)
Toplam	1	1				0 (%0)				0 (%0)
ÇORUM	İskilp Laçın	66	0.303	0.025	N	0.372 (-)	1.436	0.084	N	0.120 (-)
		64	0.425	0.066	HK	0.903 (+)	1.181	0.156	N	0.112 (-)
		65	0.402	0.067	KÇ	3.577 (+)	1.235	0.274	N	0.117 (-)

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	Rz1+Rz2				Rz1+C48+minör genler			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri
ÇORUM	Osmancık	68	0.249	0.037	HK, KÇ	3.288 (+)	0.846	0.043	HK	0.116 (-)
		69	0.162	0.006	N	0.126 (-)	1.831	0.120	N	0.121 (-)
		70	1.780	0.043	HK	0.462 (+)	1.214	0.196	N	0.123 (-)
		71	0.218	0.034	HK	1.551 (+)	1.440	0.121	N	0.111 (-)
		72	0.156	0.018	HK	0.635 (+)	3.054	0.209	N	0.098 (-)
	Sungurlu	63	0.288	0.032	N	0.419 (-)	2.162	0.091	N	0.097 (-)
Toplam	4	9				6 (%66.7)			0 (%0)	
DENİZLİ	Çivril	583	0.347	0.048	HK, KÇ	1.652 (+)	TE	TE	TE	TE
		600	0.440	0.079	N	0.125 (-)	1.404	0.068	N	0.098 (-)
		608	0.684	0.125	BC	1.068 (+)	1.635	0.107	N	0.124 (-)
		596	0.133	0.022	HK	0.406 (-)	TE	TE	TE	TE
Toplam	1	4				2 (%50)			0 (%0)	
EDİRNE	İpsala	132	0.262	0.031	HK	1.933 (+)	0.098	0.010	BC	0.250 (-)
		133	0.337	0.047	N	0.215 (-)	2.265	0.114	N	0.116 (-)
	Merkez	123	0.243	0.026	HK, KÇ	3.434 (+)	1.046	0.148	N	0.267 (-)
		125	0.161	0.026	KÇ	2.148 (+)	1.057	0.141	HK, KÇ	3.411 (+)
		124	0.145	0.021	HK	3.568 (+)	2.391	0.126	N	0.129 (-)
Toplam	2	5				4 (%80)			1 (%20)	
ELAZİĞ	Kovancılar	38	0.231	0.042	N	0.157 (-)	1.562	0.043	N	0.092 (-)
		40	0.237	0.048	HK	0.168 (-)	1.105	0.039	HK	0.100 (-)
	Merkez	44	0.167	0.026	N	0.266 (-)	1.297	0.034	N	0.102 (-)
		42	0.113	0.014	N	0.125 (-)	2.397	0.157	N	0.106 (-)
		45	0.167	0.036	HK, KÇ	1.664 (+)	1.599	0.164	HK, KÇ	0.996 (+)
Toplam	2	5				1 (%20)			1 (%20)	

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	Rz1+Rz2				Rz1+C48+minör genler				
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri	
ERZİNCAN	Merkez	47	0.135	0.027	BC, HK	0.686 (+)	3.980	0.331	N	0.559 (+)	
		49	0.257	0.042	HK	1.700 (+)	1.704	0.112	N	0.290 (-)	
		52	0.384	0.063	K	1.661 (+)	1.628	0.100	HK	0.578 (+)	
		50	0.162	0.028	HK	2.241 (+)	1.240	0.052	N	0.355 (+)	
Toplam	1	4				4 (%100)				3 (%75)	
ESKİŞEHİR	Alpu	213	0.282	0.046	HK, BC	1.723 (+)	1.233	0.030	N	0.313 (+)	
		212	0.256	0.056	N	0.214 (-)	TE	TE	TE	TE	
		215	0.275	0.024	N	0.243 (-)	1.662	0.055	N	0.124 (-)	
		216	0.170	0.023	HK	3.476 (+)	0.991	0.017	HK	0.091 (-)	
		219	1.109	0.073	N	0.481 (+)	2.459	0.200	N	0.103 (-)	
		217	0.226	0.023	BC	0.578 (+)	0.937	0.044	HK	0.398 (+)	
		218	0.490	0.052	HK, KÇ	3.261 (+)	1.606	0.048	N	0.092 (-)	
		222	0.334	0.043	N	0.192 (-)	1.223	0.030	N	0.095 (-)	
	Beylikova	221	0.810	0.137	N	0.155 (-)	2.348	0.269	N	0.132 (-)	
		Çifteler	226	0.387	0.107	BC	0.222 (-)	0.310	0.017	BC	0.093 (-)
	220		1.004	0.125	N	0.256 (-)	1.132	0.149	N	0.100 (-)	
	223		0.442	0.177	HK	3.680 (+)	1.549	0.149	KÇ	0.105 (-)	
	224		0.316	0.057	N	0.205 (-)	0.805	0.047	N	0.098 (-)	
	225		0.325	0.029	KÇ	0.645 (+)	1.479	0.170	N	0.130 (-)	
	Merkez		211	0.703	0.071	HK	1.729 (+)	0.937	0.230	HK, KÇ	0.715 (+)
			210	0.263	0.041	K	2.848 (+)	3.009	0.178	HK	0.853 (+)
609			0.288	0.029	HK, KÇ	1.675 (+)	0.827	0.068	BC	0.099 (-)	
206		0.186	0.021	N	0.188 (-)	TE	TE	TE	TE		
209		0.127	0.028	HK	0.162 (-)	1.079	0.114	N	0.108 (-)		

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	Rz1+Rz2				Rz1+C48+minör genler			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri
ESKİŞEHİR	Sivrihisar	199	0.246	0.044	N	0.260 (-)	1.302	0.105	N	0.120 (-)
		201	0.386	0.075	HK	3.486 (+)	1.302	0.211	KÇ	0.100 (-)
		202	0.509	0.097	N	0.176 (-)	1.938	0.133	N	0.115 (-)
		203	0.293	0.038	N	0.134 (-)	0.848	0.030	N	0.091 (-)
	Toplam	5	23			11 (%47.8)				4 (%19)
GAZİANTEP	İshaliye	27	0.373	0.057	N	0.199 (-)	1.471	0.259	N	0.150 (-)
	Nurdağı	26	0.239	0.043	HK	3.530 (+)	1.756	0.144	KÇ	3.511 (+)
	Toplam	2	2			1 (%50)				1 (%50)
IĞDIR	Aralık	6	0.162	0.026	N	0.127 (-)	1.648	0.178	BC	0.111 (-)
		4	0.113	0.025	N	0.132 (-)	1.836	0.159	N	0.108 (-)
	Karakoyunlu	5	0.333	0.031	HK	2.362 (+)	1.640	0.058	N	0.148 (-)
		1	0.451	0.066	HK, KÇ	3.066 (+)	0.937	0.034	HK	0.310 (+)
		9	2.404	0.299	HK	3.572 (+)	1.111	0.156	N	1.050 (+)
	Merkez	7	0.221	0.034	KÇ	3.151 (+)	1.226	0.117	HK	2.294 (+)
		3	0.118	0.017	HK, BC	3.468 (+)	1.026	0.040	HK	0.277 (+)
		8	0.411	0.054	KÇ	3.455 (+)	1.262	0.113	KÇ	2.794 (+)
		2	0.189	0.035	HK	3.313 (+)	0.777	0.103	HK	3.089 (+)
	Tuzluca	22	0.202	0.031	HK, KÇ	3.505 (+)	TE	TE	TE	TE
		21	0.133	0.023	HK, BC	1.942 (+)	1.310	0.059	HK	1.890 (+)
Toplam	4	11			9 (%81.9)				7 (%70)	

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	Rz1+Rz2				Rz1+C48+minör genler			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri
KASTAMONU	Taşköprü	281	0.555	0.069	HK	3.408 (+)	0.966	0.126	HK	0.315 (+)
		277	0.155	0.032	KÇ	0.132 (-)	TE	TE	TE	TE
		278	0.283	0.043	HK, KÇ	0.660 (+)	2.920	0.194	KÇ	0.115 (-)
		280	0.943	0.017	N	0.177 (-)	1.616	0.113	N	0.109 (-)
		286	0.303	0.048	N	0.353 (-)	1.154	0.062	N	0.089 (-)
Toplam	1	5				2 (%40)			1 (%25)	
KAYSERİ	Merkez	524	0.143	0.026	N	0.237 (-)	1.268	0.163	N	0.780 (+)
		525	0.200	0.038	K, KÇ	3.104 (+)	0.670	0.029	N	0.204 (-)
		527	0.179	0.017	HK	3.583 (+)	0.918	0.067	KÇ	0.915 (+)
	Sarıoğlan	508	0.195	0.026	N	0.228 (-)	0.960	0.146	N	0.114 (-)
Toplam	2	4				2 (%50)			2 (%50)	
KIRIKKALE	Ballıseyh	606	0.194	0.012	N	0.219 (-)	1.142	0.421	N	0.110 (-)
		594	0.441	0.063	K, YD	3.590 (+)	2.465	0.133	N	0.147 (-)
Toplam	1	2				1 (%50)			0 (%0)	
KIRKLARELİ	Babaeski	134	0.210	0.038	HK	0.252 (-)	1.950	0.098	N	0.217 (-)
		136	0.552	0.050	N	0.186 (-)	1.224	0.020	N	0.114 (-)
	Lüleburgaz	139	0.209	0.023	HK	1.329 (+)	2.366	0.258	N	0.112 (-)
		138	0.306	0.032	HK	3.713 (+)	1.011	0.030	N	0.132 (-)
		140	0.323	0.036	N	0.148 (-)	2.391	0.228	BC	0.108 (-)
Toplam	2	5				2 (%40)			0 (%0)	

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	Rz1+Rz2				Rz1+C48+minör genler				
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri	
KIRŞEHİR	Kaman	486	0.484	0.038	N	0.230 (-)	0.954	0.211	N	0.138 (-)	
	Merkez	492	0.263	0.066	HK	2.866 (+)	1.380	0.123	KÇ	0.886 (+)	
		489	0.472	0.042	YD, KÇ	3.597 (+)	1.560	0.041	N	0.091 (-)	
		490	0.473	0.088	N	0.164 (-)	1.231	0.125	N	0.102 (-)	
	Mucur	493	0.345	0.066	K, KÇ	2.303 (+)	1.021	0.136	N	0.096 (-)	
Toplam	3	5				3 (%60)				1 (%20)	
KONYA	Altınekin	434	2.297	0.227	HK	2.861 (+)	TE	TE	TE	TE	
		440	0.381	0.079	HK, YD	1.443 (+)	TE	TE	TE	TE	
		442	0.343	0.059	YD	3.219 (+)	1.135	0.036	N	0.107 (-)	
	Çeltik	372	0.268	0.027	HK, KÇ	1.841 (+)	2.392	0.091	N	0.187 (-)	
		373	0.248	0.043	HK	1.561 (+)	1.327	0.071	N	0.099 (-)	
		368	0.231	0.052	N	0.180 (-)	0.948	0.040	N	0.554 (+)	
		369	0.353	0.077	HK	3.633 (+)	0.891	0.033	HK, BC	0.320 (+)	
	Cihanbeyli	449	0.400	0.058	HK, KÇ	1.750 (+)	1.529	0.190	N	0.116 (-)	
		Çumra	418	0.189	0.024	HK	2.051 (+)	2.303	0.129	KÇ	2.475 (+)
			419	0.540	0.096	YD	3.310 (+)	1.500	0.119	HK	2.237 (+)
	Ereğli	Karapınar	420	0.235	0.047	BC	3.727 (+)	2.712	0.114	N	0.137 (-)
			422	0.433	0.062	KÇ, HK	3.562 (+)	3.441	0.405	N	0.161 (-)
			416	0.243	0.019	N	3.709 (+)	4.390	0.260	N	0.228 (-)
			424	0.314	0.054	N	0.221 (-)	2.499	0.150	N	0.096 (-)
		Ereğli	426	0.299	0.031	HK	3.651 (+)	2.383	0.131	HK	0.631 (+)
			187	0.268	0.026	N	0.220 (-)	0.982	0.055	N	0.111 (-)
			Karapınar	388	0.224	0.029	N	0.483 (-)	2.063	0.121	N
389				0.279	0.049	N	0.720 (+)	1.530	0.076	N	0.160 (-)
		386	2.326	0.185	HK	3.144 (+)	1.208	0.084	KÇ	0.206 (-)	

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	Rz1+Rz2				Rz1+C48+minör genler			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbens değeri
KONYA	Merkez	410	0.209	0.036	HK	1.395 (+)	1.225	0.112	HK, BC	0.390 (+)
		431	0.177	0.033	N	0.178 (-)	1.995	0.177	N	0.152 (-)
	Selçuklu	445	0.196	0.034	HK	2.132 (+)	1.457	0.101	N	0.490 (+)
		446	0.181	0.027	HK	1.253 (+)	0.947	0.096	N	0.238 (-)
	Yunak	362	0.158	0.031	HK	0.810 (+)	1.339	0.123	BC	0.212 (-)
		361	0.374	0.053	N	3.933 (+)	1.160	0.051	N	0.108 (-)
		364	0.552	0.112	HK	2.514 (+)	1.009	0.153	HK, KÇ	1.077 (+)
		358	0.200	0.035	HK	0.195 (-)	1.078	0.026	N	0.114 (-)
		359	0.213	0.037	K	3.403 (+)	1.174	0.134	KÇ	3.659 (+)
Toplam	9	28							22(%78.6)	9 (%34.6)
KÜTAHYA	Altıntaş	238	0.178	0.019	N	0.215 (-)	4.910	0.249	N	0.098 (-)
	Aslanapa	234	0.227	0.027	N	0.203 (-)	1.054	0.015	N	0.107 (-)
	Gediz	585	0.439	0.114	HK	2.487 (+)	TE	TE	TE	TE
	Merkez	227	0.763	0.161	N	0.160 (-)	1.803	0.030	N	0.096 (-)
		228	0.176	0.021	N	0.168 (-)	0.647	0.029	BC	0.093 (-)
	Simav	229	0.502	0.072	N	0.198 (-)	1.606	0.134	N	0.108 (-)
		586	0.462	0.083	HK, KÇ	1.532 (+)	0.819	0.035	N	0.157 (-)
		595	0.121	0.026	N	0.270 (-)	3.838	0.273	N	0.132 (-)
		604	0.469	0.111	KÇ	2.737 (+)	0.639	0.026	BC	0.408 (+)
		622	0.125	0.019	HK	2.206 (+)	TE	TE	TE	TE
602	0.306	0.063	HK	1.334 (+)	1.051	0.042	N	0.110 (-)		
Toplam	5	11							5 (%45.5)	1 (%11.1)

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	Rz1+Rz2				Rz1+C48+minör genler			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri
NİĞDE	Bor Merkez	182	0.342	0.049	KÇ	0.190 (-)	1.306	0.016	N	0.093 (-)
		178	0.620	0.113	HK	0.150 (-)	0.792	0.157	BC	0.088 (-)
	176	0.317	0.032	N	0.207 (-)	1.026	0.053	N	0.092 (-)	
	175	0.426	0.083	N	0.209 (-)	1.360	0.215	N	0.096 (-)	
	181	0.356	0.052	BC	0.177 (-)	1.592	0.087	N	0.108 (-)	
	179	0.567	0.099	N	0.128 (-)	1.253	0.052	N	0.088 (-)	
	180	0.281	0.037	N	0.151 (-)	2.857	0.120	N	0.095 (-)	
Toplam	2	7				0 (%0)			0 (%0)	
SAMSUN	Bafra	55	0.368	0.052	HK	0.248 (-)	1.363	0.033	N	0.093 (-)
		53	0.240	0.026	N	0.579 (+)	2.542	0.119	N	0.116 (-)
		54	0.205	0.031	N	0.403 (-)	1.325	0.083	N	0.092 (-)
	Havza	58	0.297	0.062	N	0.178 (-)	TE	TE	TE	TE
		60	0.589	0.102	N	0.183 (-)	0.773	0.089	N	0.100 (-)
	Kavak Vezirköprü	62	0.112	0.016	N	0.243 (-)	TE	TE	TE	TE
		59	0.361	0.060	N	0.141 (-)	1.541	0.158	N	0.122 (-)
61	0.219	0.028	HK	0.107 (-)	TE	TE	TE	TE		
Toplam	4	8				1 (%12.5)			0 (%0)	
TOKAT	Erbaa	93	0.192	0.023	N	0.220 (-)	1.688	0.113	N	0.100 (-)
		94	0.203	0.023	BC	0.281 (-)	1.193	0.088	N	0.107 (-)
		95	0.301	0.041	N	0.108 (-)	1.224	0.048	N	0.094 (-)
		96	0.250	0.023	HK	0.398 (-)	TE	TE	TE	TE
		99	0.280	0.054	HK	3.322 (+)	1.584	0.064	N	0.103 (-)
		101	1.730	0.072	KÇ	2.795 (+)	1.700	0.188	BC	0.108 (-)
		102	0.392	0.068	N	0.615 (-)	0.978	0.019	N	0.088 (-)
		103	0.265	0.035	HK, KÇ	3.450 (+)	2.794	0.200	KÇ	0.113 (-)
		104	0.209	0.061	K	3.840 (+)	TE	TE	TE	TE

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	<i>Rz1+Rz2</i>				<i>Rz1+C48+minör genler</i>			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbands değeri
TOKAT	Erbaa	97	0.425	0.090	N	0.179 (-)	TE	TE	TE	TE
		98	0.253	0.047	K	1.645 (+)	1.867	0.127	N	0.143 (-)
	Merkez	120	0.283	0.046	N	0.217 (-)	2.267	0.098	N	0.121 (-)
		Niksar	108	0.379	0.041	N	0.520 (-)	1.216	0.147	N
	105		0.165	0.032	N	0.213 (-)	1.268	0.167	N	0.104 (-)
	106		0.181	0.027	HK	2.527 (+)	0.812	0.096	N	0.102 (-)
	Pazar	112	0.136	0.032	N	0.344 (-)	1.046	0.040	N	0.103 (-)
		113	1.032	0.041	N	0.396 (+)	4.565	0.502	KÇ, BC	0.110 (-)
		114	0.166	0.035	HK, BC	0.728 (+)	1.104	0.020	N	0.119 (-)
	Turhal	109	0.886	0.028	N	0.109 (-)	1.475	0.140	N	0.116 (-)
		111	0.425	0.224	HK	1.332 (+)	1.399	0.172	KÇ	0.115 (-)
		119	0.367	0.057	N	0.197 (-)	1.712	0.228	N	0.120 (-)
	Zile	115	0.624	0.047	HK	1.161 (+)	1.860	0.129	N	0.122 (-)
		117	0.267	0.033	N	0.188 (-)	1.400	0.133	N	0.147 (-)
Toplam	6	23				10(%43.5)			0 (%0)	
UŞAK	Merkez	588	0.465	0.089	N	0.122 (-)	TE	TE	TE	TE
Toplam	1	1				0 (%0)			TE	
YOZGAT	Akdağ Madeni	312	0.312	0.062	N	0.963 (+)	1.698	0.087	N	0.508 (+)
		316	0.150	0.031	N	0.202 (-)	1.426	0.064	N	0.109 (-)
	Boğazlıyan	350	0.209	0.046	K	0.308 (-)	1.220	0.052	HK	0.281 (+)
		351	0.270	0.027	YD	2.529 (+)	2.024	0.195	N	0.122 (-)
	Çekerek	347	0.307	0.053	N	0.133 (-)	TE	TE	TE	TE
		352	0.407	0.076	HK	2.291 (+)	0.852	0.017	N	0.181 (-)
	Sarıkaya	308	0.283	0.034	N	0.221 (-)	2.711	0.229	N	0.112 (-)
		332	0.433	0.040	N	0.206 (-)	2.970	0.178	N	0.100 (-)

Çizelge 4.1. (devam)

İl	İlçe	Örnek No	<i>Rz1+Rz2</i>				<i>Rz1+C48+minör genler</i>			
			Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbans değeri	Bitki Ağırlığı (g)	Kök Ağırlığı (g)	Makroskobik Gözlem	ELISA absorbans değeri
YOZGAT	Şefaati	341	0.249	0.060	K	3.655 (+)	0.712	0.016	HK	0.824 (+)
		337	0.154	0.034	KÇ, BC	0.737 (+)	TE	TE	TE	TE
		338	0.308	0.069	HK	2.002 (+)	1.292	0.037	HK, BC	0.628 (+)
	Yenifakılı	342	0.339	0.045	HK	3.147 (+)	1.400	0.018	N	0.112 (-)
		353	0.212	0.031	N	0.234 (-)	1.235	0.356	N	0.107 (-)
		355	0.160	0.025	N	0.200 (-)	0.706	0.092	N	0.199 (-)
Toplam	6	14			7 (%50)				4 (%33.3)	
Genel Toplam	94	233			233/121 (%51.9)				206/39 (%18.9)	

TE :Yeterli kök oluşumu olmadığı ya da yeterli toprak örneği kalmadığı için tuzak bitki testi gerçekleştirilmediğinden ELISA ile test edilemedi.

(+) : ELISA testlemelerinde pozitif sonuç veren örnekleri belirtmektedir.

(-) : ELISA testlemelerinde negatif sonuç veren örnekleri belirtmektedir.

* : Pozitif örnek sayısını belirtmektedir.

N: Normal, HK: Hafif kloroz, K: Kloroz, KÇ: Kök çürüklüğü, BC: Bitkide cüceleşme, YD: Yaprak deformasyonu, NL: Nekrotik leke

Bu çalışma sonucunda; $Rz1+Rz2$ dayanıklılık geni içeren şeker pancarı çeşidinde, incelenen 233 toprak örneğinin 121'inde (%51.9) BNYVV izolatları tarafından $Rz1+Rz2$ genlerinin dayanıklılığının kırıldığı saptanmıştır (Çizelge 4.1). İl genelinde dayanıklılık kırılma durumu incelendiğinde; incelenen örneklerin tümünde dayanıklılığın kırıldığı tek il Erzincan olarak belirlenmiş, kırılmayan iller ise Çankırı, Niğde, Çanakkale ve Uşak illeri olmuştur (Çizelge 4.2, Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında $Rz1+Rz2$ dayanıklılığını kıran BNYVV populasyonlarının dağılımı (mavi renk ile gösterilen iller dayanıklılığın kırıldığı, yeşil renkle belirtilenler ise bu dayanıklılığın kırılmadığı alanları ifade etmektedir)

Diğer bir genotip olan, $Rz1+C48+minör$ genleri içeren şeker pancarı çeşidinde ise, incelenen 206 örneğin, 39'unda (%18.9) BNYVV izolatları tarafından bu dayanıklılığın kırıldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). $Rz1+C48+minör$ genler dayanıklılığının en yüksek oranda kırıldığı il Erzincan (%75) olarak belirlenirken; Samsun, Çorum, Tokat, Çankırı, Kırklareli, Bursa, Burdur, Niğde, Afyon, Adapazarı, Kırıkkale, Aksaray ve Denizli illerinde ise bu dayanıklılığın kırılmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.3). Diğer taraftan, 36 BNYVV izolatu tarafından; hem $Rz1+Rz2$, hem de $Rz1+C48+minör$ genler dayanıklılığının kırıldığı saptanmıştır (Çizelge 4.1).



Şekil 4.3. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında $Rz1+C48+minör$ genler dayanıklılığını kıran BNYVV populasyonlarının dağılımı (pembe renk ile gösterilen iller dayanıklılığın kırıldığı, yeşil renkle belirtilenler ise bu dayanıklılığın kırılmadığını ifade etmektedir)

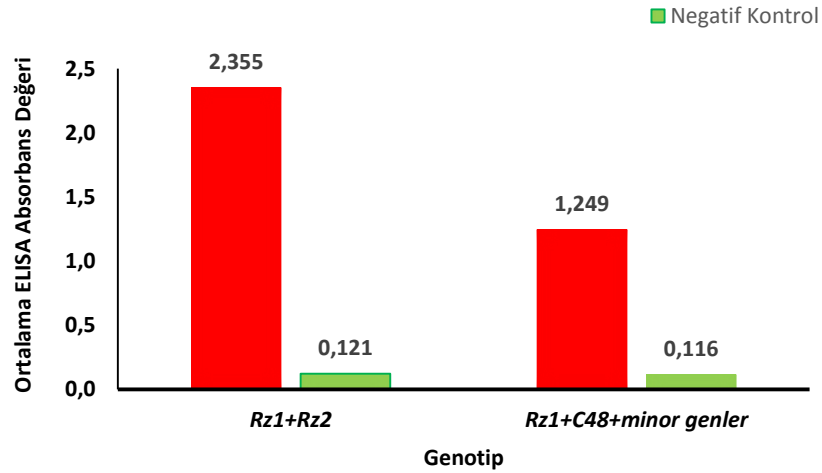
Çizelge 4.2. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BNYVV izolatlarının farklı genotiplerde (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) dayanıklılık kırma durumlarının illere göre dağılımları

İller	<i>Rz1+Rz2</i>			<i>Rz1+C48+minör genler</i>		
	Testlenen Örnek Sayısı	Dayanıklılık Kıran Örn. Sayısı	Dayanıklılık Kırılma Oranı (%)	Testlenen Örnek Sayısı	Dayanıklılık Kıran Örn. Sayısı	Dayanıklılık Kırılma Oranı (%)
Adapazarı	5	4	80.0	4	0	0
Afyon	11	6	54.5	8	0	0
Aksaray	5	1	20.0	5	0	0
Amasya	12	4	33.3	11	1	9.1
Ankara	15	10	66.7	14	3	21.4
Burdur	4	1	25.0	3	0	0
Bursa	3	2	66.7	3	0	0
Çanakkale	1	0	0	TE	TE	TE
Çankırı	1	0	0	1	0	0
Çorum	9	6	66.7	9	0	0
Denizli	4	2	50.0	2	0	0
Edirne	5	4	80.0	5	1	20.0
Elazığ	5	1	20.0	5	1	20.0
Erzincan	4	4	100	4	3	75.0
Eskişehir	23	11	47.8	21	4	19.0
Gaziantep	2	1	50.0	2	1	50.0
Iğdır	11	9	81.8	10	7	70.0
Kastamonu	5	2	40.0	4	1	25.0
Kayseri	4	2	50.0	4	2	50.0
Kırıkkale	2	1	50.0	2	0	0
Kırklareli	5	2	40.0	5	0	0
Kırşehir	5	3	60.0	5	1	20.0
Konya	28	22	78.6	26	9	34.6
Kütahya	11	5	45.5	9	1	11.1
Niğde	7	0	0	7	0	0
Samsun	8	1	12.5	5	0	0
Tokat	23	10	43.5	20	0	0
Uşak	1	0	0	TE	TE	TE
Yozgat	14	7	50.0	12	4	33.3
Toplam	233	121	51.9	206	39	18.9

(Pembe renk ile gösterilen alanlar testlenen örneklerin tamamında dayanıklılığın kırıldığını, yeşil alanlar ise testlenen örneklerin hiçbirinde dayanıklılığın kırılmadığını ifade etmektedir)

4.1.2. Farklı Genotiplerde BNYVV Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Her iki genotipte elde edilen ortalama ELISA absorbands değerleri kıyaslandığında; *Rz1+Rz2* genlerini içeren çeşitte ortalama absorbands değeri 2.355 iken, *Rz1+C48+minör genleri* içeren çeşitte BNYVV konsantrasyonunun daha düşük olduğu (1.249) dikkat çekmiştir (Şekil 4.4).

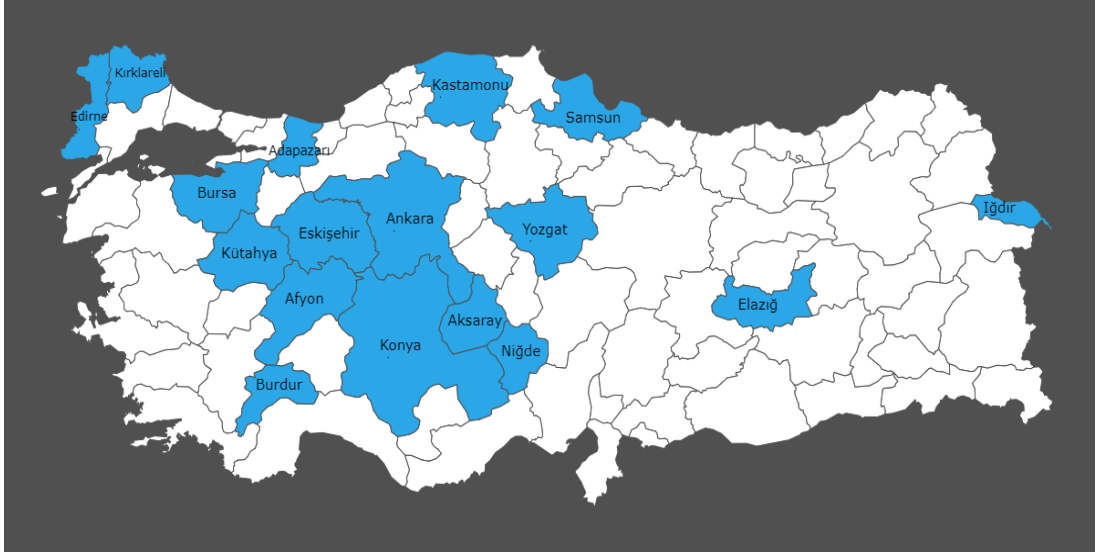


Şekil 4.4. BNYVV ile bulaşık topraklarda yetişen farklı şeker pancarı genotiplerinin ortalama ELISA absorbands değerleri

4.1.3. Moleküler Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

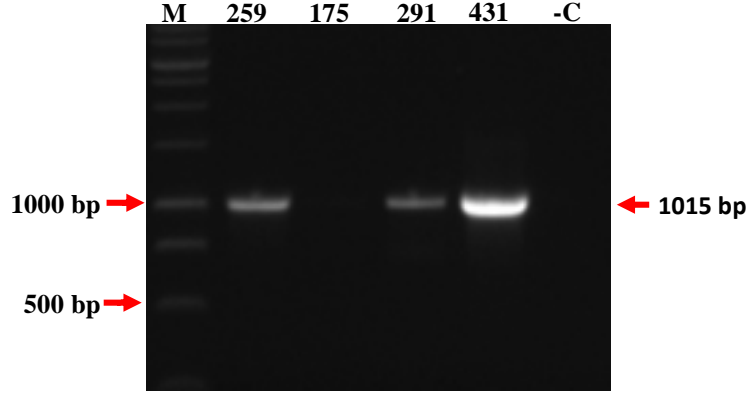
4.1.3.1. BNYVV İzolatlarının P25 Gen Bölgesinin RT-PCR Yöntemi ile Çoğaltılması

Bu çalışmada, Türkiye'nin farklı bölgelerine ait dayanıklılık kıran ve kırmayan BNYVV izolatları (Şekil 4.5) ile enfekteli farklı genotipe ait bitkilerin (*rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) (Çizelge 3.4) köklerinden toplam RNA izolasyonları Yöntem 3.2.3.2'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

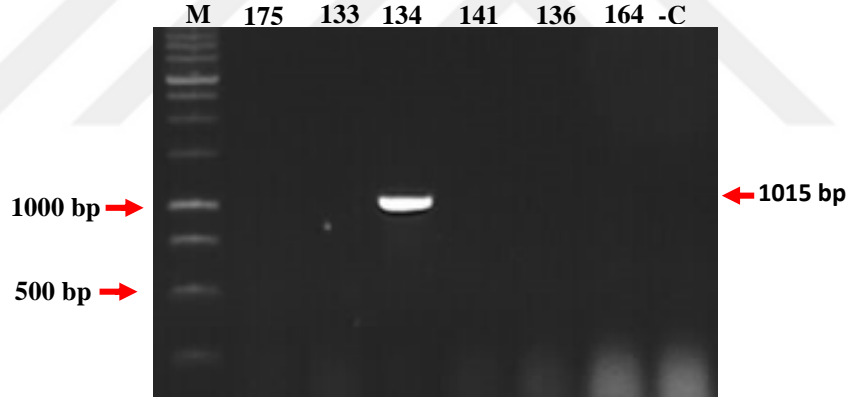


Şekil 4.5. P25 geninin moleküler karakterizasyonu çalışmalarında kullanılan BNYVV izolatlarının seçildiği iller

Bu amaçla, RNA-3 üzerinde yer alan p25 geninin çoğaltılmasında tek aşamalı olarak uygulanan RT-PCR çalışmalarında, Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase kiti (Invitrogen) kullanılmıştır. RT-PCR reaksiyonu; 3 µl total RNA (10 pg-1 µg), 25 µl 2xreaction mix, her bir primerden (10 µM) 1 µl, 0.5 µl MgSO₄ (50 mM) ve 1 µl enzimden (RT/Platinum *Taq* mix) oluşturulmuştur. Toplam reaksiyon hacmi 18.5 µl RNase içermeyen su ile 50 µl'ye tamamlanmıştır. Bu kit ile gerçekleştirilen amplifikasyonlar 50°C'de 30 dk, 94°C'de 2 dk, 34 döngü olacak şekilde 94°C'de 15 sn, 50°C'de 30 sn ve 72°C'de 1 dk ve 1 döngü 72°C'de 7 dk ile tamamlanmıştır. PCR ürünlerinin jel görüntüleme cihazında incelenmesi sonucunda; Elazığ, Kırklareli, Afyonkarahisar, Adapazarı ve Konya ili şeker pancarı üretim alanlarına ait dayanıklılık kıramayan beş BNYVV izolatında (44, 134, 259, 291 ve 431 no'lu) bu bölgeye spesifik 1.015 bp büyüklüğünde bant elde edilmiştir (Şekil 4.6; 4.7; 4.8). Ancak, incelenen diğer örneklerde (175, 133, 141, 136 ve 164 no'lu) ürün elde edilememiştir (Şekil 4.6; 4.7). Böylelikle, BNYVV dayanıklılığını kıramayan izolatlar için projede hedeflenen sayı dört olmakla birlikte, farklı lokasyonlara ait, dayanıklılık kıramayan beş BNYVV izolatının p25 geninin çoğaltılması sağlanmıştır.



Şekil 4.6. Dayanıklılık kıramayan BNYVV izolatlarının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu [M: 1 kb DNA Ladder (Promega), 259: Dinar-Afyonkarahisar, 175: Merkez-Niğde, 291: Erenler-Adapazarı, 431: Merkez-Konya, -C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



Şekil 4.7. Dayanıklılık kıramayan BNYVV izolatlarının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu [M: 1 kb DNA Ladder (Promega), 175: Merkez-Niğde, 133: İpsala-Edirne, 134: Babaesk-Kırklareli, 141: Mustafakemalpaşa-Bursa, 136: Babaeski-Kırklareli, 164: Gölhisar-Burdur, -C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

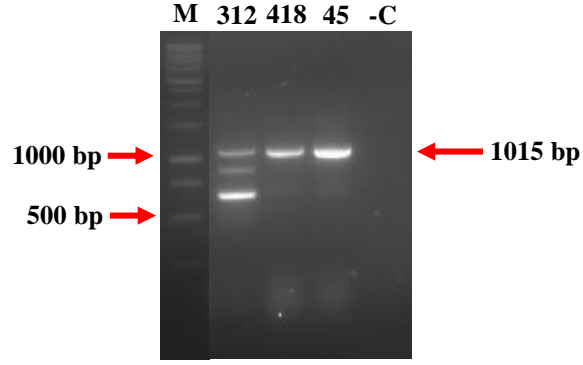


Şekil 4.8. Dayanıklılık kıramayan BNYVV izolatının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu [M: 100 bp DNA Ladder (Promega), 44: Merkez-Elazığ]

Proje metninde; Türkiye'nin farklı bölgelerini yansıtacak şekilde seçilen dayanıklılık kıran 6 BNYVV izolatının p25 proteininin baz dizisi analizlerinin elde edilmesi hedeflenmişti. Ancak, iki farklı genotip ile yürütülen tuzak bitki testi çalışmaları ve sonrasında uygulanan ELISA testlemeleri sonucunda, ülkemiz şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BNYVV izolatlarının incelenen her iki genotipte de dayanıklılığı kırabildiği tespit edilmiştir. Bu sebeple; elde edilen bu veriler doğrultusunda, dayanıklılık kıran BNYVV izolatları ile ilgili olan çalışmada daha detaylı verilere ulaşabilmek amacı ile bazı değişikliklere gidilmiştir. Bu amaçla; farklı bölgelere ait şeker pancarı üretim alanlarından seçilen 10 toprak örneğinde (2, 45, 210, 281, 312, 359, 386, 418, 604 ve 614 no'lu) her iki genotipe (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genleri* içeren) ait şeker pancarları ayrı ayrı sekiz hafta süre ile yetiştirilmiş ve daha sonra her iki genotipten de RNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve bu izolatların p25 proteini çoğaltılmaya çalışılmıştır. Böylelikle; BNYVV izolatlarının patojenitesinde etkin olan p25 gen bölgesinde, genotipe bağlı herhangi bir varyasyonun oluşup oluşmadığı irdelenmeye çalışılmıştır.

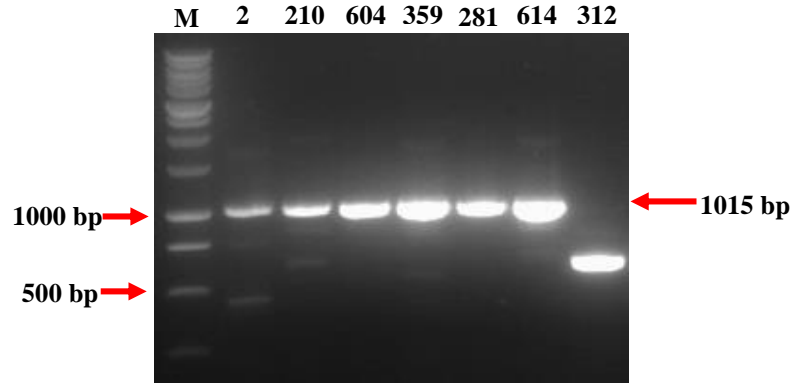
Bu amaçla, dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarında, öncelikle tek aşamalı olarak Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase kiti (Invitrogen) kullanılarak RT-PCR çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ancak, *Rz1+C48+minör genler* içeren çeşitten elde edilen RNA'lar ile incelenen 10 örneğin sadece ikisinde (45 ve 418 no'lu) p25 bölgesine spesifik 1015 bp büyüklükte tek bir bant elde edilebilmiştir (Şekil 4.9). Daha sonra, RT-PCR reaksiyonlarında inhibitörlerin etkisini indirmek amacıyla örneklerde RNA'nın seyreltilmesi yoluna

da gidilmiş (1/5, 1/10 ve 1/20), ancak incelenen örneklerin hiçbirisinde bu bölgeye spesifik bant elde edilememiştir.



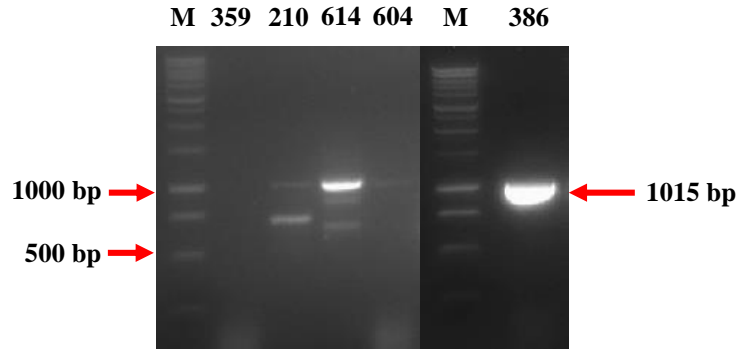
Şekil 4.9. *Rz1+C48+minör genleri* içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu [M: 1 kb DNA Ladder (Promega), 312: Akdağ Madeni-Yozgat, 418: Çumra-Konya, 45: Merkez-Elazığ *Rz1+C48+minör genleri* içeren şeker pancarı kök örneklerinden elde edilen RNA'lar, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

Bu sebeple, kit değişikliği yoluna gidilmiştir. Öncelikle, 7 örnekte [2, 210, 281, 312, 359, 604, 614] Omniscript Reverse Transcription kit (Qiagen) ile cDNA sentezi, kit protokolü takip edilerek gerçekleştirilmiştir. PCR aşaması, Thermo Scientific firmasının Q5 High-Fidelity DNA Polymerase kiti protokolüne bağlı kalınmak suretiyle uygulanmıştır. PCR ürünlerinin jel görüntüleme cihazında incelenmesi sonucunda; *Rz1+C48+minör genleri* içeren çeşitte dayanıklılık kıran Iğdır, Eskişehir, Kütahya, Konya, Kastamonu ve Ankara illeri şeker pancarı üretim alanlarına ait altı BNYVV izolatında (2, 210, 604, 359, 281 ve 614 no'lu) bu bölgeye spesifik 1.015 bp büyüklüğünde bant elde edilmiştir. Ancak, Yozgat iline ait 312 no'lu örnekte non-spesifik bant oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.10). Daha sonra, 312 no'lu örnekte non-spesifik bantı gidermek amacıyla yürütülen PCR çalışmasında cDNA'nın seyreltilmesi yoluna gidilmiş (1/10 ve 1/20), ancak p25 bölgesine spesifik 1015 bp büyüklüğünde ürün elde edilememiştir.



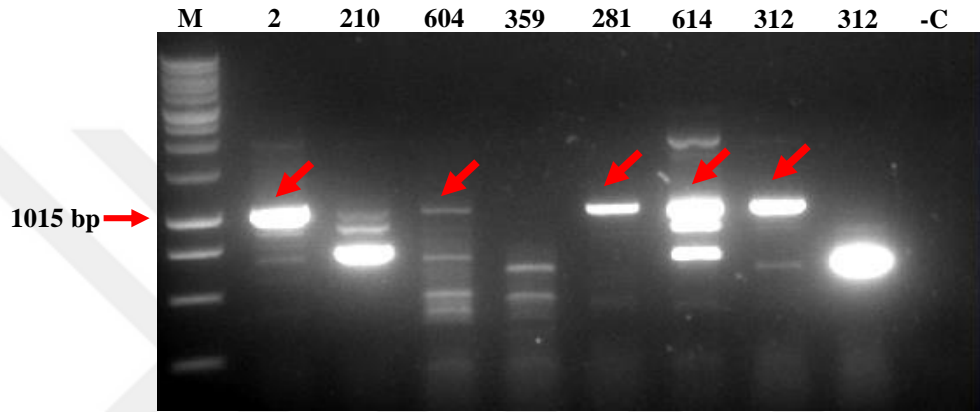
Şekil 4.10. *Rz1+C48+minör genleri* içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin PCR yöntemi (Q5 High-Fidelity DNA Polymerase enzimi) ile çoğaltılması [M: 1 kb DNA Ladder (Promega), 2: Merkez-Iğdır, 210: Merkez-Eskişehir, 604: Simav-Kütahya, 359: Yunak-Konya, 281: Taşköprü-Kastamonu, 614: Polatlı-Ankara, 312: Akdağ Madeni-Yozgat]

Rz1+Rz2'de dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarında da, öncelikle tek aşamalı olarak Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase kiti (Invitrogen) kullanılarak p25 gen bölgesi çoğaltılmaya çalışılmıştır. Ancak, incelenen örneklerden 386 no'lu ve zayıf olmakla birlikte 604 no'lu örnekte p25 bölgesine spesifik 1015 bp büyüklükte zayıf bir bant elde edilebilmiştir (Şekil 4.11). Diğer örneklerden; 210 ve 614 no'lu örneklerde ise bölgeye spesifik bant ile birlikte spesifik olmayan bantlarında varlığı dikkat çekmiştir. 359 no'lu örnekte ise herhangi bir bant oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.11).

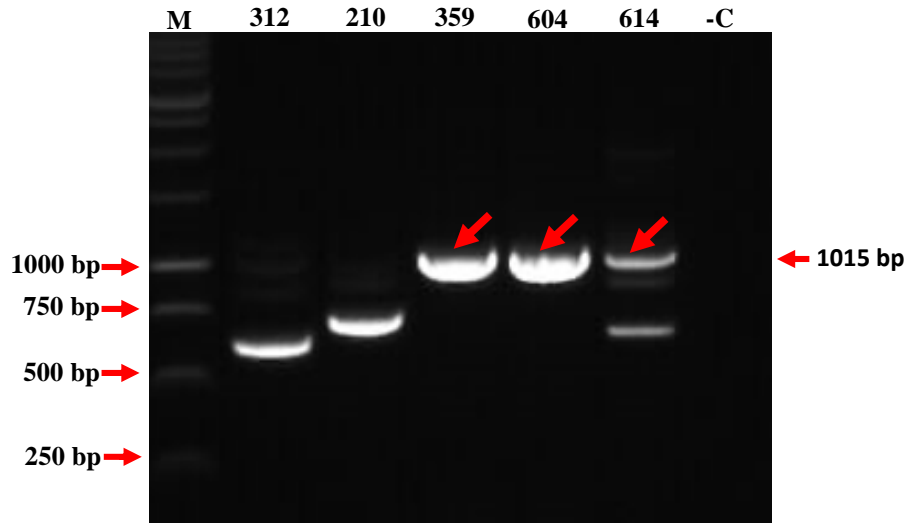


Şekil 4.11. *Rz1+Rz2* genlerini içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin RT-PCR yöntemi (Superscript I One-Step RT-PCR System with Platinum *Taq* DNA Polymerase enzimi, Invitrogen) ile amplifikasyonu [M: 1 kb DNA Ladder (Promega), 359: Yunak-Konya, 210: Merkez-Eskişehir, 614: Polatlı-Ankara, 604: Simav-Kütahya, 386: Karapınar-Konya *Rz1+Rz2* dayanıklılık geni içeren şeker pancarı köklerinden elde edilen RNA'lar]

İstenilen kalitede spesifik ürün elde edilemediği için bu genotip ile de yürütülen çalışmalarda da kullanılan kit değiştirilmiştir. Örneklerde öncelikle, Omniscript Reverse Transcription kit (Qiagen) ile cDNA sentezi, kit protokolü takip edilerek gerçekleştirilmiştir. PCR aşaması, Thermo Scientific firmasının Q5 High-Fidelity DNA Polymerase kiti protokolüne bağlı kalınmak suretiyle uygulanmıştır. Daha sonra gerçekleştirilen PCR çalışmaları ile 2, 281, 312, 359 ve 604 no'lu örneklerde 1015 bp büyüklüğünde bölgeye spesifik ürün elde edilmiş olup incelenen diğer örneklerde çoklu bant oluşumu görülmüştür (Şekil 4.12 ve Şekil 4.13).

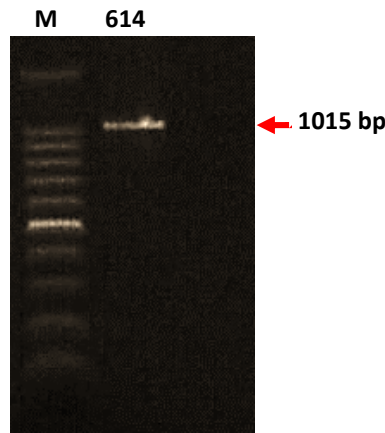


Şekil 4.12. *Rz1+Rz2* genlerini içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin PCR yöntemi (Q5 High-Fidelity DNA Polymerase enzimi) ile amplifikasyonu [M: 1 kb DNA Ladder (Promega), 2: Merkez-Iğdır, 210: Merkez-Eskişehir, 604: Simav-Kütahya, 359: Yunak-Konya, 281: Taşköprü-Kastamonu, 614: Polatlı-Ankara, 312: Akdağ Madeni-Yozgat, -C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



Şekil 4.13. *Rz1+Rz2* genlerini içeren genotipte dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 geninin PCR yöntemi (Q5 High-Fidelity DNA Polymerase enzimi) ile amplifikasyonu [M: 1 kb DNA Ladder (Promega), 312: Akdağ Madeni-Yozgat, 210: Merkez-Eskişehir, 359: Yunak-Konya, , 604: Simav-Kütahya, 614: Polatlı-Ankara, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

Sekans analizi için 614 no'lu örnekte non-spesifik bantları uzaklaştırmak amacıyla; p25 genini içeren amplifikasyon ürünleri agaroz jele yüklenmiştir. Daha sonra, 1015 bp moleküler büyüklüğünde oluşan DNA bantları UV ışık altında jelden kesildikten sonra jel ekstraksiyon kiti (Qiagen) kullanılarak izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Baz dizisi analizleri için 614 no'lu izolatın jelden ekstraksiyon sonrası agaroz jelde oluşturdukları DNA fragmenti [M: 1 kb DNA Ladder, 614: Polatlı-Ankara] (jеле 4 µl ürün yüklenmiştir)

4.1.3.2. Farklı Genotiplerden İzole Edilen P25 Bölgesi'nin Baz Dizilerinin Elde Edilmesi

Son yıllarda varyasyonların belirlendiği BNYVV RNA-3'ün baz dizisi analizleri üzerinde yapılan çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Özellikle, RNA-3 üzerinde bulunan p25 protein bölgesinin BNYVV tarafından oluşturulan ürün kayıpları ve rhizomania simptomlarından sorumlu olduğu ve baz dizisinde virüsün coğrafik orijinine bağlı olarak büyük farklılıkların olduğu belirtilmektedir (Koenig vd, 1989; Tamada vd, 1999). Bu amaçla; bu çalışmada *Rz1+Rz2* genotipinden elde edilen yedi (IGDR-2, KAST-281, YZGT-312, KNYA-359, KNYA-386, KTHY-604 ve ANKR-614), *Rz1+C48+minör genleri* içeren genotipten (IGDR-2, ELZG-45, ESKR-210, KAST-281, KNYA-359, KNYA-418, KTHY-604 ve ANKR-614) sekiz ve dayanıklılık kırmayan ise beş adet BNYVV izolatına (ELZG-44, KRKL-134, AFYN-259, ADPZ-291 ve KNYA-431) ait PCR ürünleri (40 µl) p25 proteinine spesifik primerler (10 pmol/ µl) ile her iki yönde baz dizilişlerinin gerçekleştirilmesi için Genoks ve BM firmalarına (Ankara) gönderilmiştir. Sonuçta, projede hedeflenen sayı dayanıklılık kıran izolatlarda altı adet olmasına rağmen, toplam 14 BNYVV izolatında; dayanıklılık kırmayanlarda ise projedeki sayı dört olarak belirtilmesine rağmen, beş BNYVV izolatının her iki yönde baz dizilişleri Sanger Teknolojisine göre elde edilmiştir. Ancak, ELZG-45 izolatında ise, istenilen kalitede sekans sonucu sağlanamamıştır (Çizelge 4.3, EK 1).

Sekans analiz sonuçları 'Codon Code Aligner' (5.0.1) programında hizalanmış ve dizilerin düzgün okunan bölümlerindeki her iki yöndeki okumaya ait konsensus sağlanan baz dizileri elde edilmiştir. Bu izolatlarda sekans analizi yapılan bölgenin uzunluğu yaklaşık 948-978 baz kadar olup, p25 proteinin tamamını içermektedir. Bununla birlikte; *Rz1+Rz2* genotipinden izole edilen Iğdır iline ait IGDR-2 izolatının p25 proteininin 203. pozisyonunda yer alan tek bir nükleotidde polimorfizm olduğu (SNP) belirlenmiş olup (forward okumada 'C', reverse okumada 'T' şeklinde), bu durumun 68. pozisyonda yer alan aa.'de değişikliğe neden olduğu (S-serin yerine F-fenilalanin) olduğu saptanmıştır. Elde edilen sekans sonucu; *Rz1+Rz2* genotipinden izole edilen IGDR-2 izolatının iki farklı BNYVV popülasyonundan oluştuğunu göstermiş ve bu popülasyonlar metin içerisinde 2-1 ve 2-2 olarak ifade edilmiştir (Çizelge 4.3, EK 1).

Çizelge 4.3. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen dayanıklılık kıran ve kıramayan BNYVV izolatlarına ait p25 proteininin birbirleri ve Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile nükleotit düzeyinde karşılaştırılması

İzolat No/ Genbank Kayıt No	İzolat Adı	İzole Edildiği Genotip	Orjin	P25 Grubu	P25 Gen Bölgesi Nükleotit Pozisyonları																	
					2 5 8	2 8 5	3 7 9	3 9 5	4 0 0	4 0 7	4 1 1	4 2 0	4 2 8	4 3 5	4 6 2	4 8 2	5 0 6	5 1 6	5 1 7	5 1 8	5 1 9	5 2 0
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdır		T	A	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	T	C
2	IGDR-2-1	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		T	A	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	T	C
2	IGDR-2-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		T	A	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	T	T
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		T	G	T	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	T	G
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		T	G	C	T	T	C	C	A	G	C	A	T	A	G	C	T	C	A
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	T	G
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		T	G	C	C	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	T	T	C	A
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		T	G	C	C	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	T	T	C	A
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	C	A
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	T	T	C	A
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		C	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	C	A
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		C	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	C	A
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	C	A
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	C	A
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		T	G	C	T	C	C	C	G	G	A	A	T	A	G	C	T	T	A
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	C	T
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	C	A
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	T	G
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	C	A
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		T	G	C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	C	A
AB563046	CH4		Çin	I			C	T	T	C	C	A	G	A	A	T	A	G	C	T	T	G
AB207807	FP		Fransa	II			C	T	C	T	C	A	A	A	T	T	A	T	C	T	T	A
AB563081	GM		Almanya	III			C	T	T	C	A	A	A	A	T	C	T	G	C	T	T	A

Çizelge 4.3. (devam)

İzolat No/ Genbank Kayıt No	İzolat Adı	İzole Edildiği Genotip	Orjin	P25 Grubu	P25 Gen Bölgesi Nükleotit Pozisyonları																	
					5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7	
					2	2	3	6	7	7	2	2	2	6	6	7	7	0	0	1	4	6
2	IGDR-2	<i>RzI+C48+mg</i>	İğdır		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	A	A	C	T
2	IGDR-2-1	<i>RzI+Rz2</i>	İğdır		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	A	C	T
2	IGDR-2-2	<i>RzI+Rz2</i>	İğdır		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	A	C	T
210	ESKR-210	<i>RzI+C48+mg</i>	Eskişehir		A	G	T	T	G	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
281	KAST-281	<i>RzI+C48+mg</i>	Kastamonu		A	G	T	T	C	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
281	KAST-281	<i>RzI+Rz2</i>	Kastamonu		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
359	KNYA-359	<i>RzI+C48+mg</i>	Konya		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
359	KNYA-359	<i>RzI+Rz2</i>	Konya		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
386	KNYA-386	<i>RzI+Rz2</i>	Konya		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
418	KNYA-418	<i>RzI+C48+mg</i>	Konya		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
604	KTHY-604	<i>RzI+C48+mg</i>	Kütahya		A	G	T	C	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
604	KTHY-604	<i>RzI+Rz2</i>	Kütahya		A	G	T	C	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
614	ANKR-614	<i>RzI+C48+mg</i>	Ankara		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
614	ANKR-614	<i>RzI+Rz2</i>	Ankara		G	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
312	YZGT-312	<i>RzI+Rz2</i>	Yozgat		A	G	T	T	T	C	T	G	G	C	T	A	T	T	C	T	C	T
44	ELZĞ-44	<i>rzI</i>	Elazığ		A	G	T	T	T	C	T	A	A	C	T	A	T	C	C	T	C	T
134	KRKL-134	<i>rzI</i>	Kırklareli		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
259	AFYN-259	<i>rzI</i>	Afyon		A	G	C	T	T	C	T	G	A	C	A	A	T	T	C	T	C	T
291	ADPZ-291	<i>rzI</i>	Adapazarı		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
431	KNYA-431	<i>rzI</i>	Konya		A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	C	T	C	T
AB563046	CH4		Çin	I	A	G	T	T	T	C	T	G	A	C	T	A	T	T	A	T	C	T
AB207807	FP		Fransa	II	A	G	T	T	T	C	C	G	A	C	T	A	T	T	A	A	T	C
AB563081	GM		Almanya	III	A	A	T	T	T	T	T	G	G	T	T	C	C	T	G	A	T	T

Çizelge 4.3. (devam)

İzolat No/ Genbank Kayıt No	İzolat Adı	İzole Edildiği Genotip	Orjin	P25 Grubu	P25 Gen Bölgesi Nükleotit Pozisyonları											
					7 7 0	7 8 8	8 0 4	8 0 6	8 3 5	8 4 1	8 5 2	8 6 7	8 7 5	8 9 1	9 0 8	9 3 4
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	Iğdır		T	C	T	A	G	T	A	T	C	G	A	T
2	IGDR-2-1	<i>Rz1+Rz2</i>	Iğdır		T	A	T	A	G	T	A	T	C	G	A	T
2	IGDR-2-2	<i>Rz1+Rz2</i>	Iğdır		T	A	T	A	G	T	A	T	C	G	A	T
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	C
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		C	A	C	A	G	T	A	T	C	G	A	T
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		C	A	C	A	T	T	A	T	C	G	A	T
AB563046	CH4		Çin	I	T	A	C	A	G	C	A	T	C	G	A	T
AB207807	FP		Fransa	II	T	A	T	A	G	T	A	C	C	G	C	T
AB563081	GM		Almanya	III	T	A	C	C	G	T	C	T	T	A	A	T

Daha sonra, BNYVV izolatlarına ait bu konsensus diziler birbirleri ile ve NCBI (National Center for Biotechnology Information)'dan indirilen diğer BNYVV izolatlarına ait sekans verileri ile BLASTP yapılarak analiz edilmiştir.

İzolatların kendi aralarındaki genetik benzerliklerinin incelenmesi amacıyla NCBI'daki BLAST algoritması kullanılmıştır. Bu çalışmada elde edilen farklı genotiplerde ($Rz1+Rz2$ ve $Rz1+C48+minör\ genler$) dayanıklılık kıran 14 ve dayanıklılık kıramayan 5 Türk BNYVV izolatının p25 genini içeren RNA-3 segmentinin nükleotit düzeyinde birbirleri ile yüksek oranda benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (%98-%100) (Çizelge 4.4). Nitekim; ilginç olarak, dayanıklılık kıramayan KRKL-134 ($rz1$) ve ADPZ-291 ($rz1$) izolatlarının, dayanıklılık kıran ANKR-614 ($Rz2+C48+minör\ genler$) ve KNYA-386 ($Rz1+Rz2$) izolatları ile nükleotit düzeyinde %100 benzer oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen dayanıklılık kıran ve kıramayan BNYVV izolatlarına ait p25 proteininin nükleotit düzeyinde göstermiş oldukları benzerlik oranları

İzolat Adı	İzole Edildiği Genotip		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Dayanıklılık Kıran																						
IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	1	*	99	99	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98
IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	2	99	*	99	99	98	99	99	99	99	98	99	99	99	98	98	98	99	98	99	99
IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	3	99	99	*	99	98	99	98	98	99	98	99	99	99	98	98	98	99	98	99	99
ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	4	98	99	99	*	99	99	99	99	99	98	99	99	99	99	99	98	99	99	99	99
KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	5	98	98	98	99	*	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	98	99	99
KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	6	98	99	99	99	99	*	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	7	98	99	98	99	99	99	*	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99	98	99	99
KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	8	98	99	98	99	99	99	100	*	99	99	99	99	99	99	99	99	99	98	99	99
KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	9	98	99	99	99	99	99	99	*	99	99	99	100	99	99	99	99	100	99	100	99
KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	10	98	98	98	98	99	99	99	99	99	*	99	99	99	98	98	99	98	99	99	99
KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	11	98	99	99	99	99	99	99	99	99	*	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99
KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	12	98	99	99	99	99	99	99	99	99	100	*	99	99	99	99	99	99	99	99	99
ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	13	98	99	99	99	99	99	99	99	100	99	99	*	99	99	99	99	100	99	100	99
ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	14	98	98	98	99	99	99	99	99	99	99	99	99	*	99	99	99	98	99	99	99
YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	15	98	98	98	99	99	99	99	99	99	98	99	99	99	99	*	98	99	98	99	99
Dayanıklılık Kırmayan																						
ELZĞ-44	<i>rz1</i>	16	98	98	98	98	99	99	99	99	99	98	99	99	99	98	*	99	98	99	99	99
KRKL-134	<i>rz1</i>	17	98	99	99	99	99	99	99	99	100	99	99	99	100	99	99	99	*	99	100	99
AFYN-259	<i>rz1</i>	18	98	98	98	99	98	99	98	98	99	98	99	99	99	98	98	98	99	*	99	99
ADPZ-291	<i>rz1</i>	19	98	99	99	99	99	99	99	99	100	99	99	99	100	99	99	99	100	99	*	99
KNYA-431	<i>rz1</i>	20	98	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	*

Türk BNYVV izolatlarının p25 gen bölgesi incelendiğinde ise; bu bölgenin KNYA-418 izolatı hariç, diğer 18 izolatta 660 bazdan oluştuğu (Çizelge 4.5), ilginç olarak; *RzI+C48+minör genler* içeren genotipten izole edilen KNYA-418 izolatında ise; p25 bölgesinin 199-201. pozisyonlarında yer alan 3 nükleotitte silinmenin olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5, EK 1). Bu izolattaki silinmenin 67. (-D) ya da 68. (D-) pozisyonda yer alan tek bir aa.'i etkilediği; ancak p25'in okuma çerçevesinde değişikliğine sebep olmayan 3 nükleotitlik bir silinmenin olduğu belirlenmiştir. Nitekim; daha önce yürütülen bir çalışmada, aynı izolatın *rzI* bitkilerinden elde edilen sekans verilerinde de (KU726554) benzer silinmenin olduğu rapor edilmiştir (Kutluk Yılmaz vd, 2018). KNYA-418 izolatına ait her iki genotipten (*rzI* ve *RzI+C48+minör genler* içeren) elde edilen nükleotit dizileri karşılaştırılmış ve 3 bazda saptanan delesyonun aynı pozisyonda olduğu dikkat çekmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Farklı genotiplerden elde edilen p25 geninde delesyon içeren KNYA-418 izolatının delesyon içermeyen (Acces No: AY772230) BNYVV izolatına ait nükleotit dizilerinin karşılaştırması

İzolat Adı	Nükleotit Dizisi
KU726554 (<i>rzI</i>)	gaaaccacaataaggccatgatca- -cacaataatc
KNYA-418 (<i>RzI+C48+mg</i>)	gaaaccacaataaggccatgatca- -cacaataatc
AY772230 (delesyonsuz izolat)	gaaaccacaataaggccatgatgagcacacaataatc

İncelenen BNYVV Türk izolatlarının nükleotit düzeyinde Dünya izolatları ile benzerlik oranları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Buna göre; Türk izolatlarının en yüksek benzerliği (%98.94-%100); İspanya, İran, ABD ve Türkiye'den elde edilen izolatlar ile gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek benzerlik ise %100 oran ile, *Rz1+Rz2* genotipinden izole edilen KAST-281 izolatu ve İspanya'ya ait S11a izolatları arasında tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Türk BNYVV izolatlarının kısmi dizi analizi yapılan RNA-3 segmentinin Dünya izolatları ile benzerlik oranları

İzolat Adı	İzole Edildiği Şeker Pancarı Genotipi	GenBank Kayıt No	İzolat Adı	Ülke	Query Cover	Benzerlik Oranı (%)
IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	AY823274	S11a	İspanya	100	98.94
IGDR-2-1	<i>Rz1+Rz2</i>	AY823274	S11a	İspanya	100	99.39
IGDR-2-2	<i>Rz1+Rz2</i>	EU480541	Roc (Roc12 haplotip)	ABD	100	99.39
ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	AY772233	T19	Türkiye	100	99.70
		AY823274	S11a	İspanya	100	99.70
KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	FJ230958	Ir12	İran	100	99.55
		EU480541	Roc (Roc12 haplotip)	ABD	100	99.55
		EU480535	Roc (Roc04 haplotip)	ABD	100	99.55
		EU480532	Roc (Roc01 haplotip)	ABD	100	99.55
KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	AY823274	S11a	İspanya	100	100
KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg,</i>	FJ230958	Ir12	İran	100	99.85
	<i>Rz1+Rz2</i>					
KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	FJ230958	Ir12	İran	100	99.85
ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	EU480541	Roc (Roc12 haplotip)	ABD	100	99.85
KRKL-134	<i>rz1</i>	EU480535	Roc (Roc04 haplotip)	ABD	100	99.85
ADPZ-291	<i>rz1</i>	EU480532	Roc (Roc01 haplotip)	ABD	100	99.85
KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	FJ230958	Ir12	İran	100	99.39
		FJ230958	Ir12	İran	100	99.70
		EU480541	Roc (Roc12 haplotip)	ABD	100	99.70
		EU480535	Roc (Roc04 haplotip)	ABD	100	99.70
KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	EU480532	Roc (Roc01 haplotip)	ABD	100	99.70
		FJ230958	Ir12	İran	100	99.54
		EU480541	Roc (Roc12 haplotip)	ABD	100	99.54
ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	EU480535	Roc (Roc04 haplotip)	ABD	100	99.54
		EU480532	Roc (Roc01 haplotip)	ABD	100	99.54
		EU480532	Roc (Roc01 haplotip)	ABD	100	99.54
YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	AY823274	S11a	İspanya	100	99.39
ELZG-44	<i>rz1</i>	EU480541	Roc (Roc12 haplotip)	ABD	100	99.55
		EU480535	Roc (Roc04 haplotip)	ABD	100	99.55
		EU480532	Roc (Roc01 haplotip)	ABD	100	99.55
AFYN-259	<i>rz1</i>	AY823274	S11a	İspanya	100	99.39
		FJ230958	Ir12	İran	100	99.70
KNYA-431	<i>rz1</i>	EU480541	Roc (Roc12 haplotip)	ABD	100	99.70
		EU480535	Roc (Roc04 haplotip)	ABD	100	99.70
		EU480532	Roc (Roc01 haplotip)	ABD	100	99.70

Farklı şeker pancarı genotiplerinden elde edilen Türk BNYVV izolatlarının p25 proteinine ait aa.'ler incelendiğinde; Konya ilinin Çumra ilçesine ait KNYA-418 izolatı hariç, diğerlerinin p25 gen bölgesinin stop kodon hariç 219 aa.'i kodladığı saptanmıştır. Bu izolattaki silinmenin p25'in okuma çerçevesinde değişikliğine sebep olmayan 3 nükleotitlik bir silinme olduğu ve 67. (-D) ya da 68. (D-) pozisyonda tek bir aa.'i etkilediği belirlenmiştir. Ancak, bu silinmenin olduğu pozisyonun 67. aa. pozisyonu mu, yoksa 68. pozisyonda mı olduğu tespit edilememiştir. Dolayısıyla, diğer izolatlardan farklı olarak bu izolatta p25 geninin 218 aa.'i içerdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.7; EK 2).

İzolatların kendi aralarındaki aa. benzerliklerini incelemek amacıyla NCBI'daki BLASTp analizi kullanılmıştır (Çizelge 4.8). Buna göre; Türk izolatlarının aa. düzeyinde birbirleri ile oldukça yüksek oranda (%96-100) benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Dayanıklılık kıramayan KRKL-134 (*rz1*), ADPZ-291 (*rz1*) ve KNYA-431 izolatlarının; dayanıklılık kıran KNYA-386 (*Rz1+Rz2*), KTHY-604 (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) ve ANKR-614 (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) izolatları ile aa. düzeyinde %100 benzer oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.7. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen dayanıklılık kıran ve kıramayan BNYVV izolatlarına ait p25 proteininin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile amino asit düzeyinde karşılaştırılması

İzolat No/ Genbank Kayıt No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	P25 Gen Bölgesi Amino Asit Pozisyonları																
				2 1	2 8	3 5	4 0	4 9	6 7	6 8	7 0	1 1	1 2	1 3	1 6	1 7	1 9	1 9	2 1	2 1
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdır	T	I	I	N	T	A	S	G	N	N	I	S	N	V	T	P	D
2	IGDR-2-1	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır	T	I	I	N	T	A	S	G	N	H	I	S	N	V	T	A	D
2	IGDR-2-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır	T	I	I	N	T	A	F	G	N	H	I	S	N	V	T	A	D
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir	M	I	I	N	T	A	C	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu	T	I	I	D	T	A	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu	T	I	I	N	T	A	C	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya	T	I	I	N	T	V	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	T	I	I	N	T	V	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	T	I	I	N	T	A	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya	T	I	I	N	T	/D	/D	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya	T	I	I	N	T	A	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya	T	I	I	N	T	A	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara	T	I	I	N	T	A	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara	T	I	I	N	T	A	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat	T	T	V	N	T	A	Y	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ	T	I	I	N	T	A	L	G	N	H	L	P	N	V	T	A	G
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli	T	I	I	N	T	A	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon	T	I	I	N	T	A	C	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı	T	I	I	N	T	A	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya	T	I	I	N	T	A	H	G	N	H	L	P	N	V	T	A	D
BAJ23766	CH4		Çin (I. grup)	T	I	I	N	T	A	C	G	N	N	L	P	N	V	T	A	D
BAD91210	FP		Fransa (II. grup)	T	T	I	N	S	S	Y	G	N	N	I	S	N	V	A	A	D
BAJ23801	GM		Almanya (III. Grup)	T	I	I	N	S	A	Y	R	T	D	I	P	D	I	T	A	D

Çizelge 4.8. Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen dayanıklılık kıran ve kıramayan BNYVV izolatlarına ait p25 proteininin amino asit düzeyinde göstermiş oldukları benzerlik oranları

İzolat Adı	İzole Edildiği Genotip		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Dayanıklılık Kıran																						
IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	1	*	99	98	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	96	97	97	97	97	97
IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	2	99	*	99	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	97	98	98	98	98	98
IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	3	98	99	*	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	97	98	98	98	98	98
ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	4	97	98	98	*	98	99	98	98	99	98	99	99	99	99	98	99	99	99	99	99
KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	5	97	98	98	98	*	99	99	99	99	98	99	99	99	99	98	99	99	98	99	99
KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	6	97	98	98	99	99	*	99	99	99	99	99	99	99	99	98	99	99	99	99	99
KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	7	97	98	98	98	99	99	*	100	99	99	99	99	99	99	98	99	99	98	99	99
KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	8	97	98	98	98	99	99	100	*	99	99	99	99	99	99	98	99	99	98	99	99
KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	9	97	98	98	99	99	99	99	99	*	99	100	100	100	100	98	99	100	99	100	100
KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	10	97	98	98	98	98	99	99	99	99	*	99	99	99	99	98	99	99	98	99	99
KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	11	97	98	98	99	99	99	99	99	100	99	*	100	100	100	98	99	100	99	100	100
KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	12	97	98	98	99	99	99	99	99	100	99	100	*	100	100	98	99	100	99	100	100
ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	13	97	98	98	99	99	99	99	99	100	99	100	100	*	100	98	99	100	99	100	100
ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	14	97	98	98	99	99	99	99	99	100	99	100	100	100	*	98	99	100	99	100	100
YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	15	96	97	97	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	*	98	98	98	98	98
Dayanıklılık Kırmayan																						
ELZĞ-44	<i>rz1</i>	16	97	98	98	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	98	*	99	99	99	99
KRKL-134	<i>rz1</i>	17	97	98	98	99	99	99	99	99	100	99	100	100	100	100	98	99	*	99	100	100
AFYN-259	<i>rz1</i>	18	97	98	98	99	98	99	98	98	99	98	99	99	99	99	98	99	99	*	99	99
ADPZ-291	<i>rz1</i>	19	97	98	98	99	99	99	99	99	100	99	100	100	100	100	98	99	100	99	*	100
KNYA-431	<i>rz1</i>	20	97	98	98	99	99	99	99	99	100	99	100	100	100	100	98	99	100	99	100	*

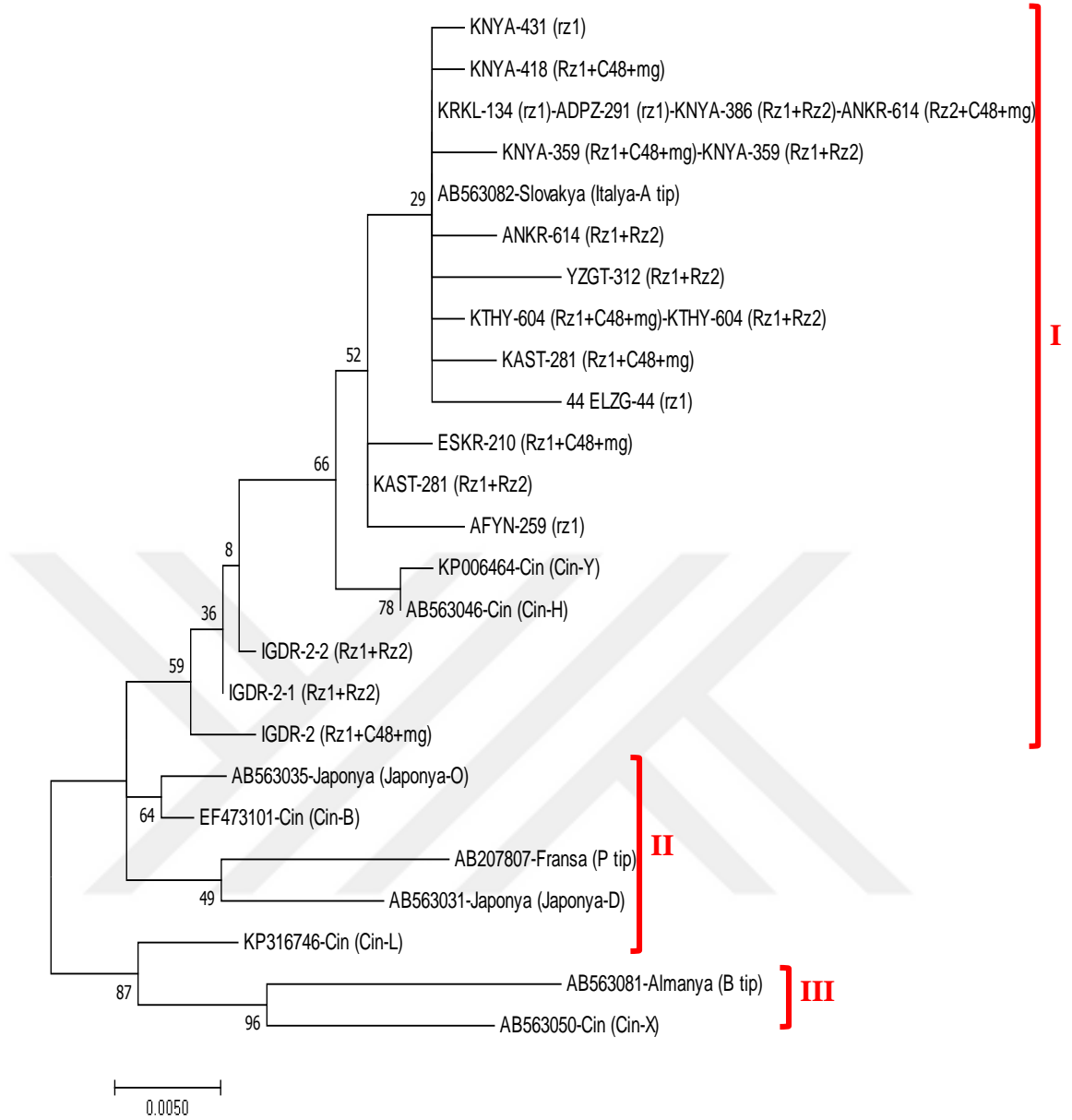
4.1.3.3. BNYVV İzolatlarının P25 Genine Göre Filogenetik Analizi

Sekans analizi sonrasında dayanıklılık kıran ve kırmayan Türk BNYVV izolatlarının NCBI veri tabanında kayıtlı bulunan 10 BNYVV streynine ait izolatlar ile filogenetik ilişkisi araştırılmıştır. Öncelikle Clustal W yöntemi kullanılarak p25 gen bölgelerine ait (660 baz) nükleotit dizileri hizalanmıştır. Clustal W analizi ve filogenetik analizlerde kullanılan BNYVV izolatlarına ait bilgiler, Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Filogenetik analizde kullanılan BNYVV izolatları

GenBank Kayıt No	İzolat Adı	Streyn Tipi	Ülke	Filogenetik Ağaç Grup No
AB563082	SLN1	İtalya (=Avrupa A tip)	Slovakya	I
AB563046	CH4	Çin-H	Çin	
KP006464	IMHHP25-1	Çin-Y	Çin	
AB563035	SH1	Japonya-O	Japonya	II
EF473101	Har4	Çin-B	Çin	
AB207807	FP	Fransa-P (=P tip)	Fransa	
AB563031	T101	Japonya-D	Japonya	
KP316746	LYP25-1	Çin-L	Çin	
AB563081	GM	Almanya (=B tip)	Almanya	III
AB563050	CW1	Çin-X	Çin	

Daha sonra Mega 7 yazılımında (Kumar vd, 2016) yer alan Tamura-Nei modeli (Tamura ve Nei, 1993) kullanılarak genetik uzaklıklar belirlenmiş ve Maximum Likelihood (ML) algoritmasına göre filogenetik ağaç oluşturulmuştur. BNYVV izolatlarına ait ML dendrogramı incelendiğinde, BNYVV izolatlarının p25 genine göre 3 ayrı gruba ayrıldığı gözlenmiştir (Şekil 4.15). Şekil 4.15 ve Çizelge 4.9 birlikte değerlendirildiğinde; farklı genotiplerden elde edilen dayanıklılık kıran ve kırmayan BNYVV Türk izolatlarının dendrogramda Avrupa A tip, Çin-H ve Çin-Y streynlerinin bulunduğu Grup I içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Dolayısıyla; bu çalışma ile incelenen Türk izolatlarının p25 genine göre I. grup’ta bulunduğu ortaya konulmuştur. Dendrogramda Grup II olarak işaretlenen alt dal, BNYVV’nin Japonya-O, Çin-B, Fransa-P, Japonya-D ve Çin-L streynleri ile ilişkili izolatlarından oluşmuştur. Almanya ve Çin-X streynleri ise Grup III olarak gösterilen ayrı alt dala ayrılmışlardır (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BNYVV izolatlarının ve GenBank (NCBI) veri tabanında kayıtlı bazı BNYVV izolatlarının p25 bölgelerine ait nükleotit dizileri esas alınarak oluşturulan filogenetik ağaç. Filogenetik analizde, MEGA7 yazılımında yer alan Maximum Likelihood (ML) yöntemi kullanılmıştır. Dendogramda bootstrap (seç-bağla tahmin testi) değerleri, dallarda % olarak gösterilmiştir. Ölçek, aynı pozisyon için baz değişim miktarını (0.05) göstermektedir. Referans izolatlarına ait bilgiler Çizelge 4.10'da yer almaktadır.

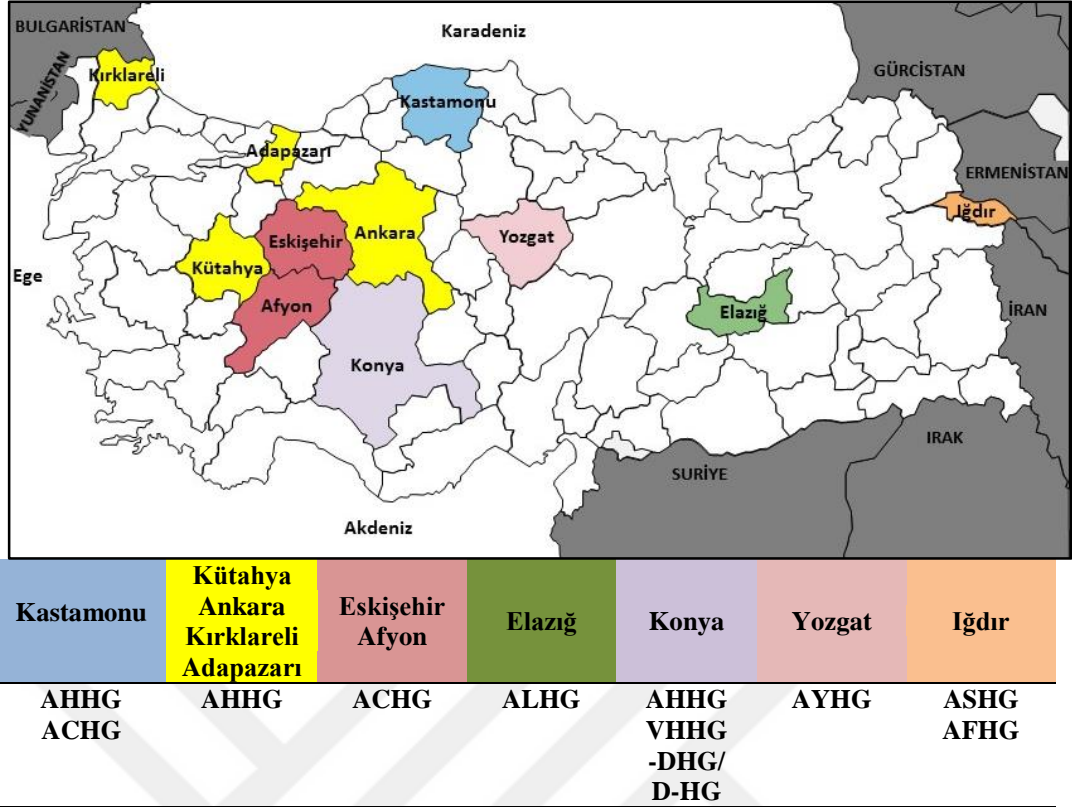
4.1.3.4. Farklı Genotiplerden Elde Edilen BNYVV İzolatlarının Tetrat Motiflerinin Belirlenmesi

Farklı literatürlerde, BNYVV RNA-3'ü üzerinde yer alan p25 proteinin, virüsün patojenitesinde etkin olduğu, özellikle 67-70. pozisyonlardaki aa. dizilerinin (tetrat motif) dayanıklılık kırılması ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Koenig vd, 2008; Schirmer vd, 2005; Bornemann ve Varrelmann, 2013). Bu çalışmada, farklı genotiplerden (*rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) elde edilen dayanıklılık kıran ve kırmayan BNYVV izolatlarının, p25 geninin sekans analizleri sonrası belirlenen tetrat motifleri Çizelge 4.10 ve bu izolatların coğrafik orjinlerine göre dağılımları ise Şekil 4.16'da verilmiştir. Buna göre; dayanıklılık kıran ve kırmayan BNYVV izolatlarında en sıklıkla rastlanılan tetrat motif 'AHHG' olarak belirlenmiştir. Dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarında saptanan diğer tetrat motifler 'ASHG', 'ACHG', 'AYHG', 'VHHG', 'D-HG ya da -DHG' ve 'AFHG' şeklindedir. Dayanıklılık kırmayan BNYVV populasyonlarında ise, 'AHHG'ye ilaveten 'ACHG' ve 'ALHG' tetrat motiflerinin varlığı da tespit edilmiştir (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.16). Ülkemiz şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen 'AHHG' ve 'ACHG' tetratlı BNYVV izolatlarının, bazılarının her iki genotipte (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) de dayanıklılığı kırarken, bazılarının bu dayanıklılığı kırmaması dikkat çekmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Farklı şeker pancarı genotiplerinden izole edilen BNYVV izolatlarının p25 proteininin 67-70. pozisyonunda yer alan amino asitlerinde belirlenen tetrat motifleri

İzolot Adı	Orjin	Genotip	P25 Tetrat Motifleri (67-70. aa.)			
			67*	68	69	70
Dayanıklılık Kıran BNYVV İzolatları						
IGDR-2		<i>Rz1+C48+mg</i>	A	S	H	G
IGDR-2-1	Iğdır	<i>Rz1+Rz2</i>	A	S	H	G
IGDR-2-2		<i>Rz1+Rz2</i>	A	F	H	G
ESKR-210	Eskişehir	<i>Rz1+C48+mg</i>	A	C	H	G
KAST-281	Kastamonu	<i>Rz1+C48+mg</i>	A	H	H	G
KAST-281		<i>Rz1+Rz2</i>	A	C	H	G
YZGT-312	Yozgat	<i>Rz1+Rz2</i>	A	Y	H	G
KNYA-359		<i>Rz1+C48+mg</i>	V	H	H	G
KNYA-359	Konya	<i>Rz1+Rz2</i>	V	H	H	G
KNYA-386		<i>Rz1+Rz2</i>	A	H	H	G
KNYA-418		<i>Rz1+C48+mg</i>	D/-	-D	H	G
KTHY-604	Kütahya	<i>Rz1+C48+mg</i>	A	H	H	G
KTHY-604		<i>Rz1+Rz2</i>	A	H	H	G
ANKR-614	Ankara	<i>Rz1+C48+mg</i>	A	H	H	G
ANKR-614		<i>Rz1+Rz2</i>	A	H	H	G
Dayanıklılık Kıramayan BNYVV İzolatları						
ELZG-44	Elazığ	<i>rz1</i>	A	L	H	G
KRKL-134	Kırklareli	<i>rz1</i>	A	H	H	G
AFYN-259	Afyonkarahisar	<i>rz1</i>	A	C	H	G
ADPZ-291	Adapazarı	<i>rz1</i>	A	H	H	G
KNYA-431	Konya	<i>rz1</i>	A	H	H	G

* A: Alanin, C: Sistein, H: Histidin, G: Glisin, V: Valin, D: Aspartat, Y: Trozin, S: Serin, F: Fenilalanin



Şekil 4.16. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen farklı tetra motiflerine sahip BNYVV izolatlarının coğrafik orjinlerine göre dağılımları

Bu çalışmada; beş farklı lokasyona ait (Iğdır, Kastamonu, Konya, Kütahya ve Ankara) BNYVV izolatlarının dayanıklı her iki genotipte de ($Rz1+Rz2$ ve $Rz1+C48+minör$ genler içeren) ayrı ayrı p25 proteinine ait sekans sonuçları elde edilmiştir. Ayrıca, bir diğer araştırma kapsamında bu beş izolatin $rz1$ genotipine ait dizi analizleri de daha önceden elde edilmişti (1100188 nolu proje verileri). Elde edilen bu sonuçlar toplu olarak birlikte değerlendirildiğinde; Iğdır ve Kastamonu illerine ait iki BNYVV izolatının (IGDR-2 ve KAST-281) $Rz1+Rz2$ genlerini içeren şeker pancarı çeşidinde tetra motiflerinde bir değişim olduğu dikkat çekmiştir. Nitekim, IGDR-2 izolatının hassas ($rz1$) ve $Rz1+C48+minör$ genler içeren genotiplerden elde edilen tetra 'ASHG' iken, $Rz1+Rz2$ genini içeren genotipte tetra motifte 'ASHG/AFHG' şeklinde değişim olduğu saptanmıştır. KAST-281 izolatının ise, diğer genotiplerde belirlenen tetra motifi 'AHHG' iken, $Rz1+Rz2$ genotipinden elde edilen BNYVV izolatının tetra 'ACHG' şeklinde olmuştur. İncelenen diğer üç izolatin (KNYA-359-VHHG, KTHY-604-AHHG ve ANKR-614-AHHG) ise, genotip değişimine paralel olarak tetra motiflerinde herhangi bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Farklı şeker pancarı genotiplerinden izole edilen BNYVV izolatlarının p25 proteinin 67-70. pozisyonunda yer alan amino asitlerinde belirlenen tetrat motifleri

İçerdiği Gen/ Genler	IGDR-2	KAST-281	KNYA-359	KTHY-604	ANKR-614
<i>rz1</i> **	ASHG*	AHHG	VHHG	AHHG	AHHG
<i>Rz1+Rz2</i>	ASHG/AFHG	ACHG	VHHG	AHHG	AHHG
<i>Rz1+C48+mg</i>	ASHG	AHHG	VHHG	AHHG	AHHG

* A: Alanin, C: Sistein, H: Histidin, G: Glisin, V: Valin, S: Serin

** Daha önce yürütülen çalışmadan (110O188 no'lu TÜBİTAK Projesi) elde edilen sekans verisi

4.1.3.5. Farklı Genotiplerden Elde Edilen BNYVV İzolatlarının P25 Proteinini Sekans Analiz Sonuçlarının İrdelenmesi

-Hassas Genotipten (*rz1*) Elde Edilen BNYVV İzolatları

BNYVV'ye hassas genotipten (*rz1*) izole edilen farklı coğrafik lokasyonlara ait (Elazığ, Afyonkarahisar, Kırklareli, Adapazarı ve Konya) dayanıklılık kırmayan beş BNYVV izolatının dizi analizleri sonucu; izolatlar arasında patojenitede etkin p25 bölgesinde çok sayıda noktada aa. varyasyonu olmadığı, sadece iki noktada değişiklik olduğu belirlenmiştir. Bu değişikliğin ise; beş izolatta da ortak olarak olduğu tek nokta, 'hipervariable bölge' olarak adlandırılan (67.-70. aa.) bölge sınırları içerisinde yer alan 68. aa. pozisyonunda olduğu dikkat çekmiştir. Bu pozisyonda en fazla rastlanılan aa. 'Histidin' (H) (3 izolatta) iken; bunu birer izolatta belirlenen 'Sistein' (C) ve 'Lösin' (L) aa.'leri izlemiştir Dolayısı ile; bu çeşitte en yaygın tetrat motif 'AHHG' (%60) iken, belirlenen diğer tetratlar "ACHG" ve 'ALHG' şeklinde olmuştur. P25'in 211. pozisyonundaki aa.'de saptanan varyasyon ise Elazığ iline ait tek bir izolatta (ELZG-44) tespit edilmiştir (D yerine G), (Çizelge 4.12).

-Dayanıklı Genotiplerden (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) Elde Edilen BNYVV İzolatları

Rz1+Rz2 genlerini içeren genotipten elde edilen farklı coğrafik lokasyonlara ait (Iğdır, Kastamonu, Konya, Kütahya, Ankara ve Yozgat) dayanıklılık kıran yedi BNYVV izolatının dizi analizi sonucu; izolatlar arasında p25 bölgesinde altı noktada aa. varyasyonu belirlenmiştir. Ayrıca, Iğdır iline ait bir örnekte (IGDR-2), 68. pozisyonda yer alan aa.'de; forward yöndeki okumada 'S', reverse yöndeki okumada ise 'F' aa.'inin yer aldığı, dolayısıyla bu örnekte 2 farklı BNYVV populasyonun

varlığı dikkat çekmiştir. Bu genotipten elde edilen BNYVV izolatlarında, aşırı değişken bölge (67.-70. aa.)’de 67 ve 68. pozisyonlarda yer alan ilk iki aa.’de varyasyon saptanmış olup diğer iki aa. (69.-70.)’de herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir. İzolatlar arasında en fazla varyasyonun belirlendiği nokta 68. aa. olup bu noktada en sıklıkla rastlanılan aa. Histidin (H) olmuş (%50), diğer örneklerde ise 3 farklı aa.’in (Sistein: C, Serin: S ve Trozin: Y) bulunduğu saptanmıştır. 67. pozisyonda ise en sıklıkla rastlanan aa. ‘Alanin’ (A) (%87.5) iken; diğeri ise ‘Valin’ (V) (%12.5) olarak belirlenmiştir. İlave olarak; 28, 35, 132 ve 163. pozisyonlarda; hassas genotip ile kıyaslandığında varyasyonların olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak; *Rz1+Rz2* bitkilerinden elde edilen BNYVV izolatlarının p25 proteininde hassas genotip ile kıyaslandığında daha fazla varyasyonun olduğu dikkat çekmiştir. *Rz1+Rz2* tuzak bitkilerinde belirlenen dominant tetrat motif ise; ‘AHHG’ (%50) iken, diğer izolatlarda ‘VCHG’, ‘ASHG’ ve ‘AYHG’ tetratlarının yer aldığı saptanmıştır (Çizelge 4.12).

Rz1+C48+minör genler içeren genotipten izole edilen (Iğdır, Eskişehir, Kastamonu, Konya, Kütahya ve Ankara illerine ait) yedi BNYVV izolatının dizi analizi sonucunda ise; p25 proteininde sekiz pozisyonda yer alan aa.’de varyasyon olduğu tespit edilmiştir. Bu genotipe ait BNYVV izolatlarında da diğer dayanıklı genotipte (*Rz1+Rz2*) olduğu gibi ‘hipervariable bölge’de sadece 67 ve 68. pozisyonlarda bulunan aa.’lerde varyasyon gözlenmiş olup, son 2 aa. (69.-70.)’de herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir. En fazla varyasyon ise 68. aa.’de saptanmış olup; izolatların çoğunda (%57.1) bu pozisyonda Histidin aa.’i bulunurken, geri kalanında 3 farklı aa.’in (C, S ve D: Aspartat/-) yer aldığı saptanmıştır. Bir diğer yüksek varyasyonun gözlendiği nokta 67. pozisyonadaki aa. olup, bu pozisyonda en sıklıkla belirlenen aa. ‘A’ (%71.4) iken; diğerleri ise ‘V’ (%14.3) ve ‘D/-’ (%14.3) olarak saptanmıştır. Ek olarak; 21., 40., 129., 132. ve 163. pozisyonlarda; hassas genotip ile kıyaslandığında varyasyonların olduğu tespit edilmiştir. Hassas (*rz1*) ve diğer dayanıklı genotip (*Rz1+Rz2*) izolatları ile kıyaslandığında; bu genotipten elde edilen BNYVV izolatlarının daha fazla noktada aa. varyasyonu olduğu dikkat çekmiştir. *Rz1+C48+minör genler* içeren tuzak bitkilerde belirlenen dominant tetrat motif; ‘AHHG’ (%57.1) iken, diğer izolatlarda ‘ACHG’, ‘ASHG’ ve ‘D-HG/ -DHG’ tetratlarının varlığı saptanmıştır (Çizelge 4.12).

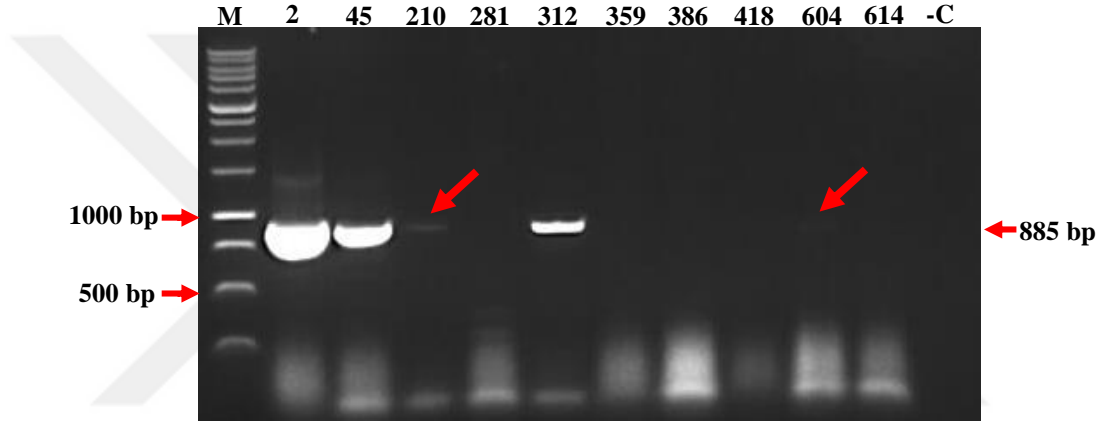
Çizelge 4.12. Hassas (*rz1*) ve dayanıklı şeker pancarı genotiplerinde (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) BNYVV izolatlarının p25 proteininde belirlenen polimorfik bölgeler

aa pozisyonları	21	28	35	40	67	68	129	132	163	211	
<i>rz1</i>	Yaygın aa	-	-	-	-	H (60.0)	-	-	-	D (80.0)	
	Diğer 1	-	-	-	-	C (20.0)	-	-	-	G (20.0)	
	Diğer 2	-	-	-	-	L (20.0)	-	-	-	-	
<i>Rz1+Rz2</i>	Yaygın aa	-	I (87.5)	I (87.5)	-	A (87.5)	H (50.0)	-	L (87.5)	P (87.5)	-
	Diğer 1	-	T (12.5)	V (12.5)	-	V (12.5)	C (12.5)	-	I (12.5)	S (12.5)	-
	Diğer 2	-	-	-	-	-	S (12.5)	-	-	-	-
	Diğer 3	-	-	-	-	-	Y (12.5)	-	-	-	-
<i>Rz1+C48+mg</i>	Yaygın AA	T* (85.7)	-	-	N (85.7)	A (71.4)	H (57.1)	H (85.7)	L (85.7)	P (85.7)	A (85.7)
	Diğer 1	M (14.3)	-	-	D (14.3)	V (14.3)	C (14.3)	N (14.3)	I (14.3)	S (14.3)	P (14.3)
	Diğer 2	-	-	-	-	D/- (14.3)	S (14.3)	-	-	-	-
	Diğer 3	-	-	-	-	-	D/- (14.3)	-	-	-	-

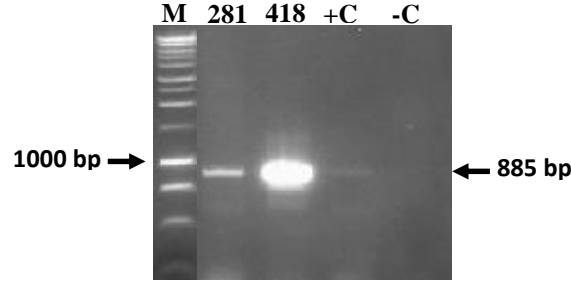
*H: Histidin, T: Timin, M: Metiyonin, I: İzolösin, V: Valin, N: Asparajin, D: Aspartat, A: Alanin, S: Serin, C: Sistein, L: Lösin, P: Prolin, G: Glisin, Y: Tirozin

4.1.3.6. P26 Protein Gen Bölgesinin Çoğaltılması

BNYVV'nin patojenitesi ve simptom oluşumunda rol oynayan ve RNA-5 üzerinde yer alan p26 protein genine spesifik primerler (Schirmer vd, 2005) kullanılarak, farklı genotiplerde dayanıklılık kıran 10 BNYVV izolatu tek aşamalı RT-PCR yöntemi ile analiz edilmiştir. PCR ürünlerinin jel görüntüleme cihazında incelenmesi sonucunda; Iğdır, Elazığ, Eskişehir, Kastamonu, Yozgat, Konya ve Kütahya illerine ait yedi örnekte bu bölgeye spesifik 885 bp büyüklüğünde bant elde edilmiştir (Şekil 4.17 ve 4.18). Konya iline ait iki örnek (359 ve 386 no'lu) ile Ankara iline ait (614 no'lu) bir örnekte ise istenilen büyüklükte bant oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. P26 geninin RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 1 kb DNA Ladder (Promega), 2: Merkez-Iğdır, 45: Merkez-Elazığ, 210: Merkez-Eskişehir, 281: Taşköprü-Kastamonu, 312: Akdağ Madeni-Yozgat, 359: Yunak-Konya, 386: Karapınar-Konya, 418: Çumra-Konya, 604: Simav-Kütahya, 614: Polatlı-Ankara, - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]



Şekil 4.18. P26 geninin RT-PCR yöntemi ile belirlenmesi [M: 1 kb DNA Ladder (Promega), 281: Taşköprü-Kastamonu, 418: Çumra-Konya, + C: Pozitif kontrol (Pithiviers-Fransa'ya ait BNYVV RNA-5 içeren P-tip streyn ile enfekteli şeker pancarı kökünden elde edilen RNA), - C: Negatif kontrol (sağlıklı şeker pancarı kökünden elde edilen RNA)]

Sonuç olarak; farklı genotiplerde dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının %70'inin RNA-5 içerdiği saptanmıştır. Enteresan olarak, aynı tetrat motife (AHHG) sahip iki izolattan; KTHY-604 izolatının RNA-5 içerdiği, ANKR-614'ün ise bu segmente sahip olmadığı belirlenmiş olmakla birlikte, her iki izolatında iki farklı genotipte (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) de dayanıklılığı kırabildiği tespit edilmiştir. Diğer taraftan, RNA-5 içermeyen 'AHHG' tetratlı KNYA-386 izolatının sadece *Rz1+Rz2* genlerini içeren genotipte dayanıklılığı kırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, RNA-5 içermemesine rağmen 'VHHG' tetrat motifine sahip KNYA-359 izolatının her iki genotip de dayanıklılık kırması dikkat çekmiştir (Çizelge 4.13). Elde edilen bu sonuçlar; Türkiye şeker pancarı üretim alanlarına ait BNYVV izolatlarının dayanıklılık kırma durumlarının; ne p25 tetrat motifi (67-70. aa.), ne de RNA-5'in bulunma durumu ile doğrudan ilişkili olmadığını göstermiştir.

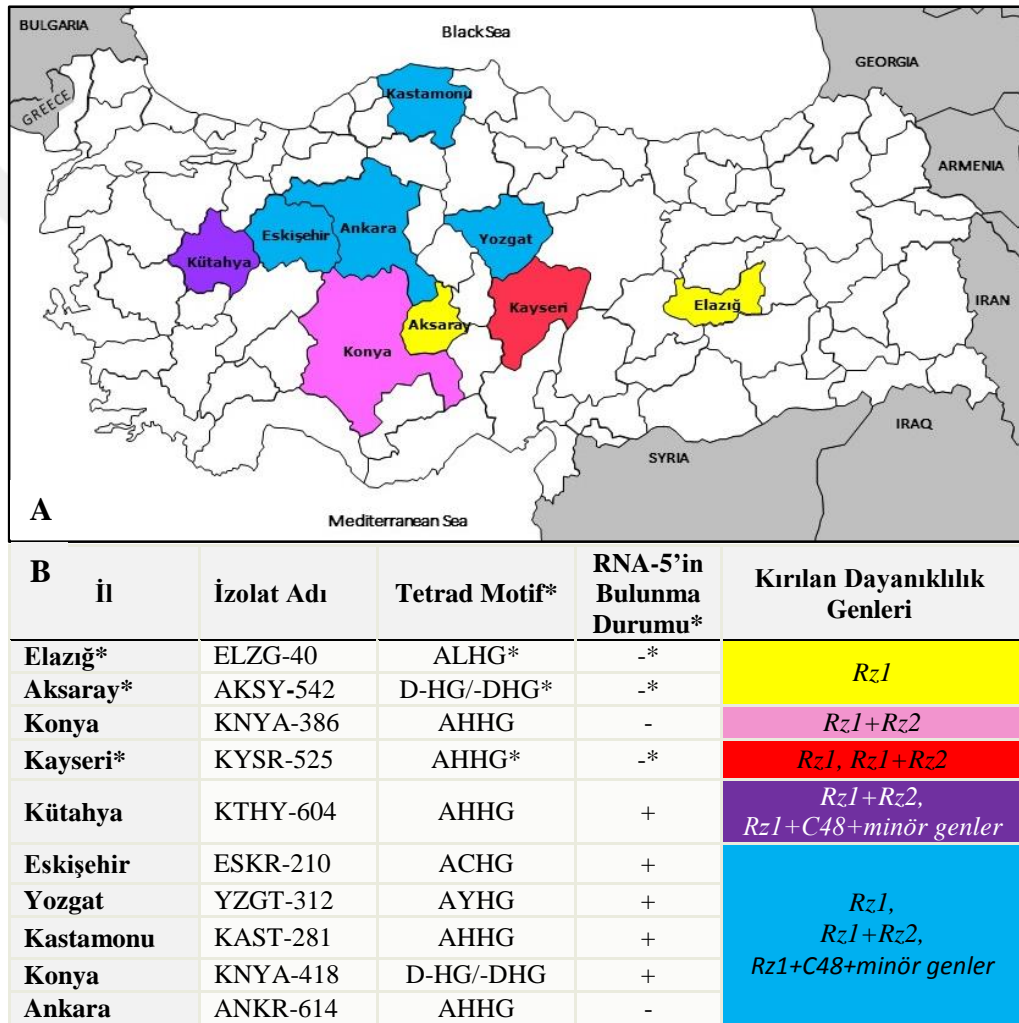
Çizelge 4.13. Dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının orjini, dayanıklılık kırdıkları genotip, p25 tetrat motifleri ve RNA-5'in bulunma durumu

Örn. No	İzolat Adı	Orjin	Dayanıklılık Kırdığı Genotip*	Tetrat Motif (67-70. aa.)*	RNA-5'in Bulunma Durumu
2	IGDR-2	Merkez/Iğdır	1, 2	ASHG ² /AFHG ^{1,2}	+
45	ELZG-45	Merkez/Elazığ	1, 2	-	+
210	ESKR-210	Merkez/Eskişehir	1, 2	ACHG ²	+
281	KAST-281	Taşköprü/Kastamonu	1, 2	ACHG ¹ /AHHG ²	+
312	YZGT-312	Akdağ Madeni/Yozgat	1, 2	AYHG ¹	+
359	KNYA-359	Yunak/Konya	1, 2	VHHG ^{1,2}	-
386	KNYA-386	Karapınar/Konya	1	AHHG ¹	-
418	KNYA-418	Çumra/Konya	1, 2	D-HG/-DHG ²	+
604	KTHY-604	Simav/Kütahya	1, 2	AHHG ^{1,2}	+
614	ANKR-614	Polatlı/Ankara	1, 2	AHHG ^{1,2}	-
TOPLAM		10			7

*1: *Rz1+Rz2*, 2: *Rz1+C48+minör genler*, -: tetrat motif tespit edilemedi.

4.1.4. Biyolojik Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

Bu tez çalışması ($Rz1+Rz2$ ve $Rz1+C48+minör$ genler’inde yürütülen patojenite denemeleri) ve daha önce yürütülen çalışmalar ile ($Rz1$ ’de yürütülen patojenite denemeleri-TOVAG 110O188 no’lu proje) farklı genotiplerde dayanıklılık kırıdığı bilinen, farklı coğrafik lokasyonlara ait 10 BNYVV izolatının patojenitelerindeki farklılıklar mekaniksel inokulasyon çalışmaları ile de irdelenmeye çalışılmıştır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Biyolojik çalışmalarda kullanılan BNYVV izolatlarının orjinleri (A), farklı genotiplerde dayanıklılık kırma durumları ile bazı moleküler özellikleri (B) (*İzolatlara ait veriler 110O188 no’lu proje kesin sonuç raporundan alınmıştır)

Bu amaçla; BNYVV ile bulaşık topraklarda rhizomania’ya hassas şeker pancarları ($rz1$ -cv. Kasandra) 6 hafta süre ile yetiştirilmiş ve bu süre dolduğunda hasat edilerek elde edilen köklerin bir kısmı BNYVV’nin varlığını teyit etmek

amacıyla ELISA testi çalışmalarında kullanılmıştır. Köklerin kalan kısmı -20°C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Daha sonra, bu kök örnekleri seçilen BNYVV izolatlarının konukçu çevresine göre biyolojik ayırım çalışmalarında kullanılmıştır.

Test bitkilerinin reaksiyonları ve konukçu çevrelerinin belirlenmesi amacıyla BNYVV izolatları bir dizi test bitkisine Yöntem 3.2.4'de belirtildiği şekilde inokule edilmiştir. İnokulasyonu takiben 1-4 hafta içerisinde, test bitkilerinde oluşan belirtiler kayıt edilmiş ve fotoğrafları çekilmiştir (Çizelge 4.15; 4.16; 4.17; 4.18). Bu belirtilerin BNYVV enfeksiyonundan kaynaklandığını teyit etmek amacıyla; her bir test bitkisinin virüs inokule edilen ve edilmeyen 1'er yaprağı alınarak ELISA ile test edilmiştir (Çizelge 4.14).

Bu çalışmada kullanılan 10 BNYVV izolatının toplam 514 adet indikatör bitkisine mekaniksel inokulasyonları sonucunda; ELISA testi ile sadece 21 bitkide BNYVV enfeksiyonu tespit edilmiştir (Çizelge 4.14). Elde edilen sonuçlara göre; bu bitkilerden *C. quinoa*, *B. maritima*, *S. oleraceae* cv. Rick Zwan ve *S. oleraceae* cv. Nebraska'da sistemik enfeksiyon gözlenirken, *N. benthamiana*'da lokal enfeksiyon saptanmıştır; *N. rustica* bitkisinde ise hem sistemik, hem de lokal enfeksiyon belirlenmiştir (Çizelge 4.15; 4.16). *B. vulgaris* cv. Kasandra, *N. clelandii*, *C. murale*, *B. macrocarpa* ve *P. patellaris*'de ELISA testi ile BNYVV'nin varlığı tespit edilememiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Farklı genotiplerde dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının test bitkilerine inokulasyon sayıları ve ELISA ile pozitif olarak belirlenen tekerrür sayıları

İndikatör Bitkiler	Farklı Genotiplerde Dayanıklılık Kıran BNYVV İzolatları									
	<i>Rz1</i>		<i>Rz1+Rz2</i>	<i>Rz1,</i> <i>Rz1+Rz2</i>	<i>Rz1+Rz2,</i> <i>Rz1+C48+minör</i> <i>genler</i>	<i>Rz1,</i> <i>Rz1+Rz2</i> <i>Rz1+C48+minör genler</i>				
	ELZG-40	AKSY-542	KNYA-386	KYSR-525	KTHY-604	KNYA-418	KAST-281	YZGT-312	ESKR-210	ANKR-614
<i>Beta vulgaris</i> cv. Kasandra	0*/6**	0/2	0/6	0/4	0/3	0/4	0/3	0/6	0/4	0/3
<i>B. maritima</i>	0/6	0/4	0/6	0/6	0/2	0/5	1/3	0/5	0/3	0/3
<i>B. macrocarpa</i>	0/3	0/4	0/3	0/3	0/3	0/6	0/3	0/4	0/4	0/3
<i>Chenopodium quinoa</i>	0/9	0/10	1/13	0/5	0/3	0/13	0/10	0/6	0/8	0/5
<i>C. murale</i>	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/3	0/2
<i>Nicotiana benthamiana</i>	1/8	1/2	3/10	0/4	0/4	0/12	0/8	0/3	0/7	0/4
<i>N. rustica</i>	3/12	1/2	2/9	0/7	0/6	3/13	2/4	0/4	0/6	0/5
<i>N. clevelandii</i>	0/4	0/3	0/5	0/5	0/3	0/5	0/3	0/3	0/4	0/3
<i>S. oleraceae</i> cv. Rick Zwan	0/7	0/3	0/4	0/10	0/7	0/4	0/3	1/4	0/5	0/5
<i>S. oleraceae</i> cv. Nebraska	0/8	0/3	0/3	0/8	0/7	0/4	0/2	2/5	0/4	0/5
<i>Patella patellaris</i>	0/3	0/2	0/2	0/2	0/2	0/3	0/2	0/2	0/4	0/2
Toplam	4/68	2/35	6/63	0/56	0/42	3/71	3/43	3/44	0/52	0/40
Genel Toplam	21/514									

*: ELISA ile pozitif olarak belirlenen tekerrür sayıları; **: BNYVV izolatının test bitkisine inokulasyon sayıları

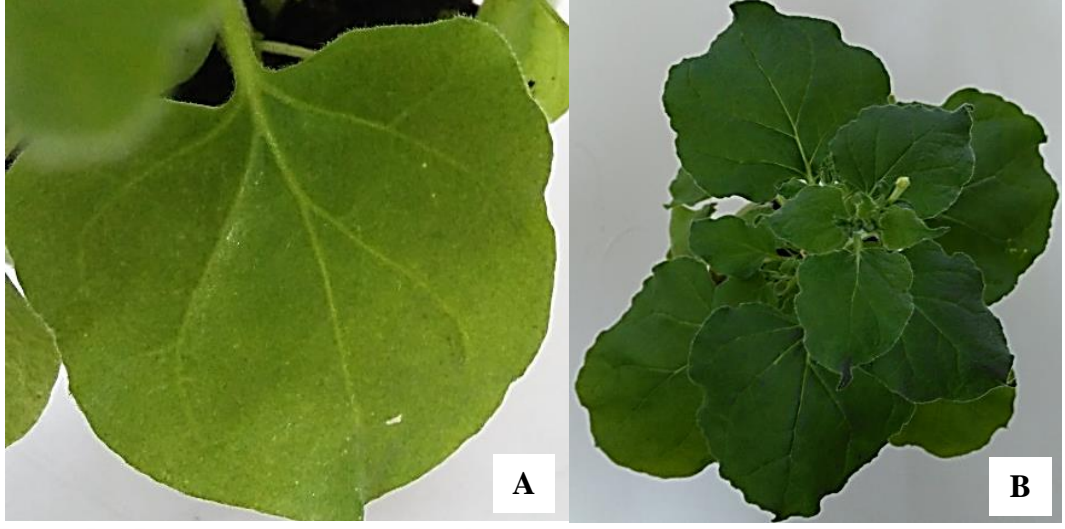
4.1.4.1. Rz1 Dayanıklılığını Kıran BNYVV İzolatlarının Mekanik İnokulasyon Çalışması Sonuçları

Araştırmanın bu kısmında; Rz1 dayanıklılığını kıran iki BNYVV izolatu (ELZG-40 ve AKSY-542) ile çalışmalar yürütülmüştür. ELZG-40 izolatu ile yürütülen biyolojik çalışmalar sonucunda; *N. benthamiana* bitkisinde, 8 tekerrürün 1'inde virüs inokuleli yapraklarda kloroz simptomsu gözlenmiş ve bu yaprakta BNYVV enfeksiyonu ELISA testi ile de teyit edilmiştir (Çizelge 4.14 ve 4.15; Şekil 4.20A). Aynı izolatu *N. rustica*'ya inokulasyonu sonucunda ise; 12 tekerrürün 3'ünde inokuleli yapraklarda kloroz oluşumu, bu bitkilerin üst yapraklarında ise hafif bombe oluşumu dikkat çekmiştir. Bu bitkilerin virüs inokule edilen ve edilmeyen yaprakları ELISA ile testlenmiş ve bu yapraklarda BNYVV enfeksiyonu tespit edilmiştir (Çizelge 4.14 ve 4.15; Şekil 4.21).

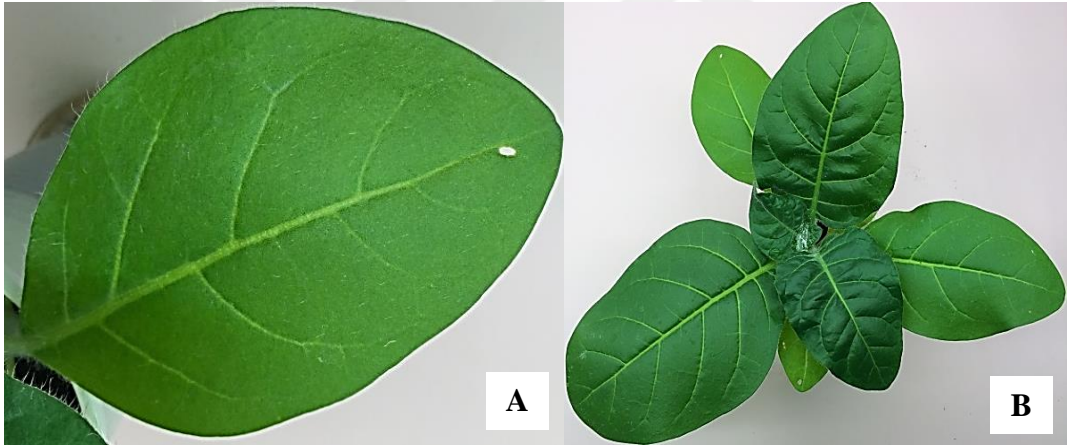
Çizelge 4.15. Rz1 dayanıklılığını kıran BNYVV izolatlarının indikatör bitkilerde oluşturduğu simptomsu ve ELISA testi sonuçları

İndikatör Bitkiler	Rz1 Dayanıklılığını Kıran BNYVV İZOLATLARI							
	ELZG-40				AKSY-542			
	L	ELISA	S	ELISA	L	ELISA	S	ELISA
<i>B. vulgaris</i> cv. Kasandra	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. maritima</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. quinoa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. benthamiana</i>	K	+	-	-	KLL, YD	+	-	-
<i>B. macrocarpa</i>	-	-	-	-	NLL	-	-	-
<i>N. rustica</i>	K	+	HB	+	K, ZM	+	-	-
<i>N. clevelandii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. oleraceae</i> cv. Rick Zwan	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. oleraceae</i> cv. Nebraska	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. patellaris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. murale</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

L: Lokal enfeksiyon; S: Sistemik enfeksiyon; (+): ELISA testi pozitif; (-): ELISA testi negatif; -: Simptom yok; K: Kloroz; HB: Hafif bombe; KLL: Klorotik lokal leke; YD: Yaprak deformasyonu; ZM: Zayıf mozayik; NLL: Nekrotik lokal leke

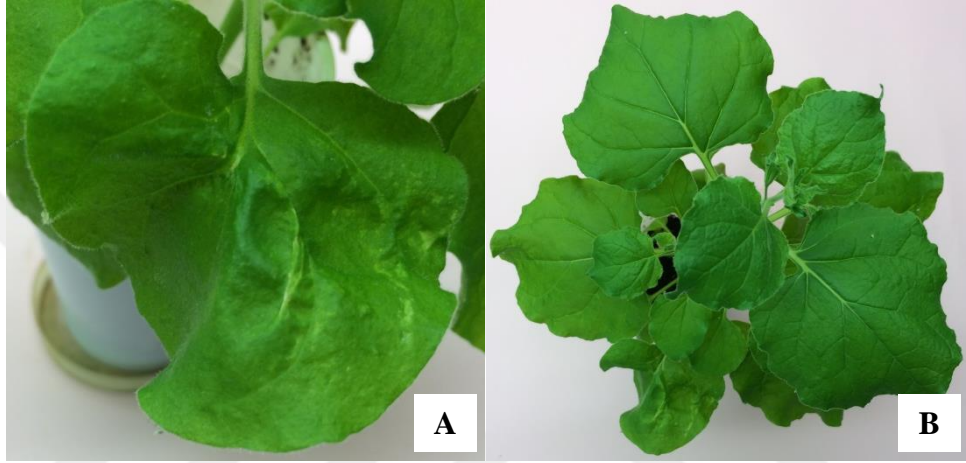


Şekil 4.20. ELZG-40 izolatının *N. benthamiana* bitkisinde inokuleli yaprakta oluşturduğu kloroz (A) ve bu bitkinin genel görünümü (B)

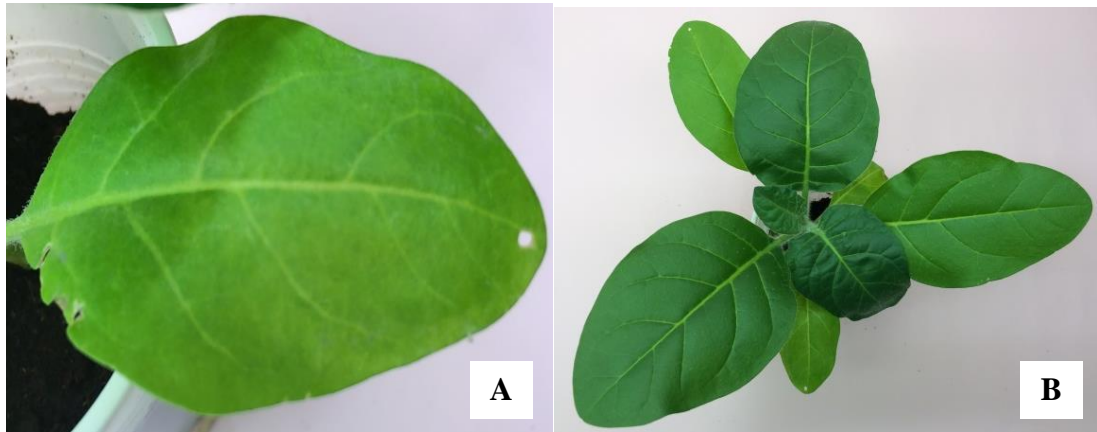


Şekil 4.21. ELZG-40 izolatının *N. rustica* bitkisinde virüs inokuleli yaprakta oluşturduğu hafif kloroz (A) ve bu bitkide oluşturduğu sistemik enfeksiyon (B)

Rz1 dayanıklılığını kıran bir diğer izolat olan AKSY-542 no'lu izolat ile yürütülen çalışmalarda ise, bu izolat bazı indikatör bitkilerin virüs inokule edilen yapraklarında belirti oluşmuştur. Bu bitkilerden (2 tekerrürün 1'inde); *N. benthamiana*'da klorotik lokal lezyon (Şekil 4.22), *N. rustica*'da kloroz ve zayıf mozayik (Şekil 4.23), *B. macrocarpa*'da ise nekrotik lokal lezyon oluşumu belirlenmiştir. Virüs inokule edilen ve edilmeyen yaprakların ELISA ile testlenmesi sonucunda; *N. benthamiana* ve *N. rustica*'da BNYVV'nin varlığı saptanmıştır (Çizelge 4.14 ve 4.15).



Şekil 4.22. AKSY-542 izolatının *N. benthamiana* bitkisine ait inokuleli yaprakta sebep olduğu yaprakta deformasyon ve klorotik lokal lezyon (A) ve bu bitkinin genel görünümü (B)



Şekil 4.23. *N. rustica* bitkisinde AKSY-542 izolatının inokuleli yaprakta sebep olduğu kloroz + zayıf mozayik (A) ve bu bitkinin genel görünümü (B)

İnokulasyon yapılan diğer test bitkilerinde ise gerek simptomatolojik olarak; gerekse ELISA ile virüs enfeksiyonu tespit edilememiştir (Çizelge 4.14 ve 4.15).

4.1.4.2. R_{z1}+R_{z2} Dayanıklılığını Kıran BNYVV İzolatının Mekanik İnokulasyon Çalışması Sonuçları

R_{z1}+R_{z2} dayanıklılığını kıran KNYA-386 izolatu, mekanik inokulasyon sonrası; *C. quinoa* ve *N. rustica* 'da sistemik enfeksiyon oluşturduğu, *N. benthamiana*'da ise lokal enfeksiyona neden olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar ELISA testi ile de doğrulanmıştır (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. R_{z1}+R_{z2} dayanıklılığını kıran KNYA-386 izolatuının indikatör bitkilerde oluşturduğu simptomlar ve ELISA testi sonuçları

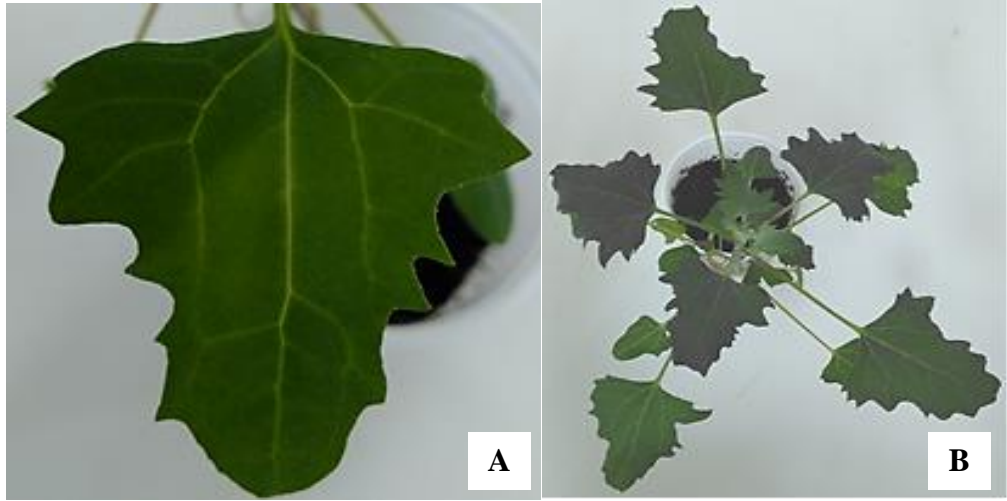
İndikatör Bitkiler	R _{z1} +R _{z2} -DK BNYVV İzolatı			
	KNYA-386			
	L*	ELISA**	S	ELISA
<i>B. vulgaris</i> cv. Kasandra	-	-	-	-
<i>B. maritima</i>	-	-	-	-
<i>B. macrocarpa</i>	-	-	-	-
<i>C. quinoa</i>	-	-	-	+
<i>N. benthamiana</i>	K, KLL***	+	-	-
<i>N. rustica</i>	K	-	-	+
<i>N. clevelandii</i>	-	-	-	-
<i>S. oleraceae</i> cv. Rick Zwan	-	-	-	-
<i>S. oleraceae</i> cv. Nebraska	-	-	-	-
<i>P. patellaris</i>	-	-	-	-
<i>C. murale</i>	-	-	-	-

* L: Lokal enfeksiyon; S: Sistemik enfeksiyon;

**+ : ELISA testi sonucu pozitif; - : ELISA testi negatif;

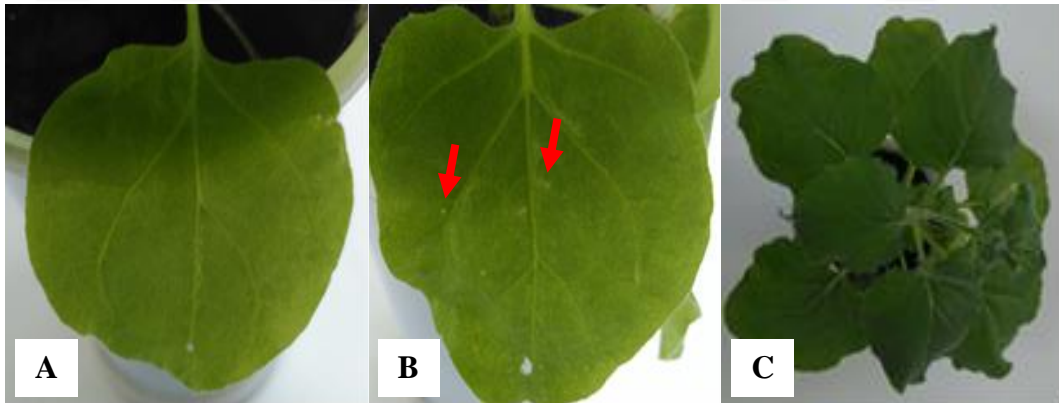
***- : Simptom yok; K: Kloroz; KLL: Klorotik lokal lezyon

KNYA-386 izolatu ile yürütölen biyolojik çalışmalarda; *C. quinoa*'da gerçekleştirilen 13 farklı inokulasyonun sadece 1 tekerrüründe, virüs inokule edilen ve edilmeyen yapraklarda belirgin bir simptom gözlenmemesine rağmen, bu örneğin ELISA ile testlenmesi sonucu inokulesiz yapraklarda BNYVV enfeksiyonu belirlenmiştir. Dolayısı ile bu bitkide sistemik enfeksiyon oluşturduğu saptanmıştır (Çizelge 4.14 ve 4.16; Şekil 4.24). Nitekim; *C. quinoa* BNYVV'nin lokal lezyon konukçusu olup (Gilmer vd, 2016), bugüne kadar BNYVV'nin bu bitkide sistemik enfeksiyon oluşturduğuna dair bir kayıt bulunmamaktadır.



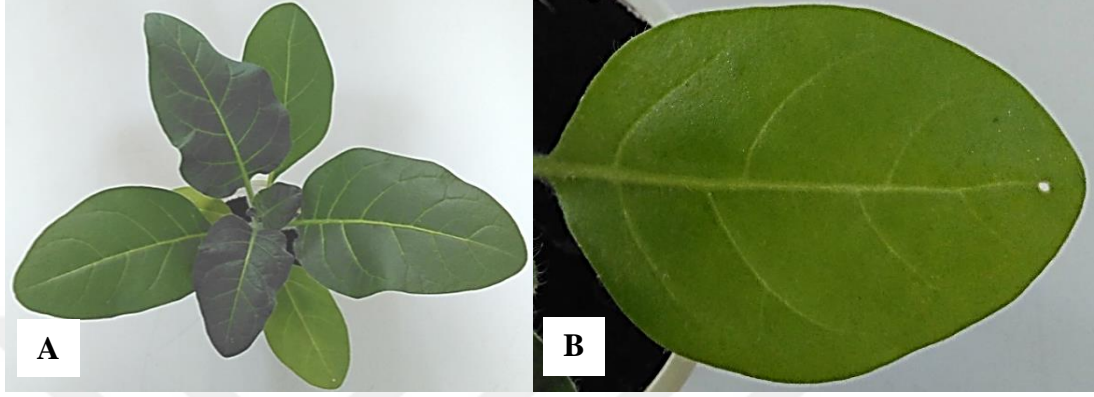
Şekil 4.24. *C. quinoa* bitkisinde KNYA-386 izolatının semptom sergilemeden oluşturduğu sistemik enfeksiyon. (A: inokuleli yaprak; B: bitkinin genel görünümü)

Rz1+Rz2 dayanıklılığını kıran bu izolatın *N. benthamiana*'ya yapılan inokulasyonlarında; 10 tekrerin 3'ünde virüs inokule edilen yapraklarda kloroz (2 adet) ve kloroz+klorotik lokal lezyon (1 adet) belirtileri kayıt edilmiş ve bu yaprakların ELISA ile testlenmesi sonucunda BNYVV enfeksiyonu belirlenmiştir (Çizelge 4.14 ve 4.16; Şekil 4.25).



Şekil 4.25. *N. benthamiana* bitkisinde KNYA-386 izolatının inokuleli yapraklarda oluşturduğu kloroz (A), kloroz+klorotik leke (B) ve bitkinin genel görünümü (C)

Bu izolatın, *N. rustica*'da inokuleli ve inokulesiz yapraklarda bariz bir belirti oluşturmamasına rağmen, uygulanan 9 tekerrürün 2'sinde sistemik enfeksiyona neden olduğu ELISA testi ile doğrulanmıştır (Çizelge 4.14 ve 4.16). Tekerrürlerin 1'inde inokuleli yaprakta kloroz simptomsu gözlenmiş, ancak ELISA testi negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.16; Şekil 4.26).



Şekil 4.26. *N. rustica* bitkisinde KNYA-386 izolatının neden olduğu sistemik enfeksiyon (A) ve inokuleli yaprakta gözlenen kloroz simptomsu-ELISA sonucu negatif (B)

4.1.4.3. *Rz1* ve *Rz1+Rz2* Dayanıklılığını Kıran BNYVV İzolatının Mekanik İnokulasyon Çalışmaları Sonuçları

Rz1 ve *Rz1+R2* dayanıklılığını kıran KYSR-525 izolatı ile yürütülen biyolojik çalışmalar sonucunda; testlenen indikatör bitkilerin hiçbirisinde lokal ve sistemik belirti gözlenmemiş ve yapılan ELISA testi sonuçları da negatif çıkmıştır (Çizelge 4.14).

4.1.4.4. *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genlerin* Dayanıklılığını Kıran BNYVV İzolatının Mekanik İnokulasyon Çalışmaları Sonuçları

Rz1+Rz2 ve *Rz1+C48+minör genler* dayanıklılığını kıran KTHY-604 izolatı ile yapılan mekaniksel inokulasyon çalışmaları sonucunda; test edilen 11 farklı indikatör bitkinin incelenen 42'sinde lokal ve sistemik belirti gözlenmemiş ve bu bitkilerin virüs inokule edilen ve edilmeyen yapraklarına uygulanan ELISA testi sonuçları da negatif çıkmıştır (Çizelge 4.14).

4.1.4.5. *Rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genlerin* Dayanıklılığını Kırın BNYVV İzolatının Mekanik İnokulasyon Çalışmaları Sonuçları

Çalışmanın bu kısmında, *Rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* dayanıklılığını kırın beş BNYVV izolatı (KNYA-418, KAST-281, YZGT-312, ESKR-210 ve ANKR-614) ile biyolojik çalışmalar yürütülmüştür. Bu izolatlardan, KNYA-418 izolatı *B. macrocarpa*'da virüs inokule edilen yapraklarda klorotik lokal leke, *N. rustica*'da hafif kloroz belirtileri oluşturmasına rağmen (Şekil 4.27A), inokuleli yapraklara uygulanan ELISA testi sonucu negatif çıkmıştır. Ancak, *N. rustica* bitkisinin üst yapraklarında belirgin bir BNYVV simptomu gözlenmemesine rağmen, virüs inokule edilmeyen yapraklara ELISA testi uygulanmış ve BNYVV enfeksiyonu tespit edilmiştir (Çizelge 4.14 ve 4.17, Şekil 4.27B).

KAST-281 izolatının *B. maritima* bitkisine inokulasyonu sonucunda, inokuleli yapraklarda damarlarda belirginleşmeye neden olmuş, fakat ELISA ile virüsün varlığı teyit edilememiştir. Bununla birlikte; simptom gözlenmeyen üst yapraklara uygulanan ELISA testi sonucu pozitif çıkmıştır (Çizelge 4.14 ve 4.17; Şekil 4.28). Aynı izolatın, *N. rustica*'ya inokulasyonu ile uygulanan 4 tekerrürün 2'sinde inokuleli yapraklarda hafif kloroza neden olmuş ve bu yapraklarda BNYVV'nin varlığı ELISA testi ile de doğrulanmıştır (Çizelge 4.14 ve 4.17; Şekil 4.29).

Çizelge 4.17. *Rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* dayanıklılığını kıran BNYVV izolatlarının indikatör bitkilerde oluşturduğu semptomlar ve ELISA testi sonuçları

İndikatör Bitkiler	<i>Rz1</i> , <i>Rz1+Rz2</i> ve <i>Rz1+C48+minör genler</i> Dayanıklılığını Kıran BNYVV İzolatları																			
	KNYA-418				KAST-281				YZGT-312				ESKR-210				ANKR-614			
	L*	E**	S	E	L	E	S	E	L	E	S	E	L	E	S	E	L	E	S	E
<i>B. vulgaris</i> cv. Kasandra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. maritima</i>	-	-	-	-	DB	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. quinoa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. macrocarpa</i>	KLL***	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. benthamiana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. rustica</i>	HK	-	-	+	HK	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. clevelandii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. oleraceae</i> cv. Rick Zwan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	YB	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. oleraceae</i> cv. Nebraska	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	YB	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. patellaris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. murale</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

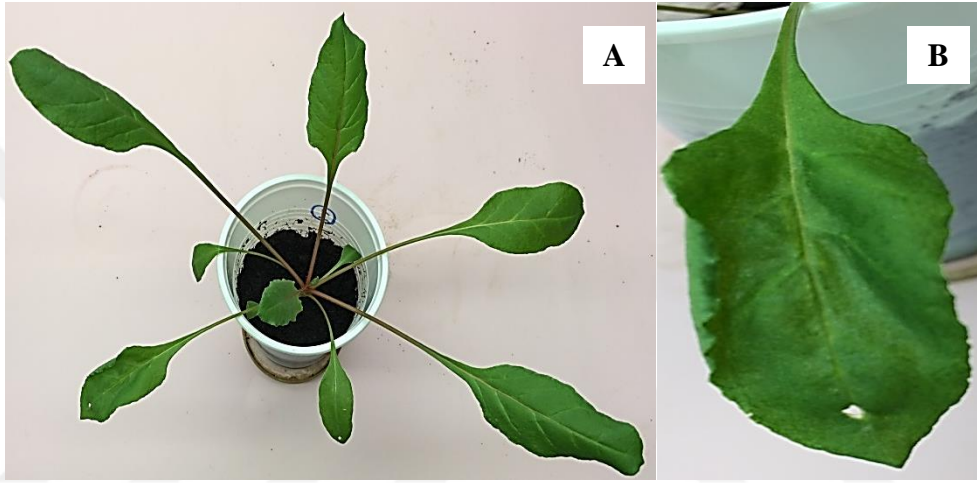
* L: Lokal enfeksiyon; S: Sistemik enfeksiyon;

**E: ELISA, : ELISA testi sonucu pozitif + (pembe renk ile gösterilmiştir); - : ELISA testi negatif (yeşil renk ile gösterilmiştir)

***- : Semptom yok; K: Kloroz; KLL: Klorotik lokal lezyon; HK: Hafif kloroz; DB: Damarda belirginleşme; YB: Yapraklarda bombe



Şekil 4.27. KNYA-418 izolatının *N. rustica* bitkisinde virüs inokulasyonu yapılan (A) ve yapılmayan yapraklarının (B) genel görünüşleri



Şekil 4.28. *B. maritima* bitkisinde KAST-281 izolatının simptomsuz olarak oluşturduğu ELISA ile teyit edilen sistemik enfeksiyon (A) ve bu izolatın bitkinin inokuleli yaprağında neden olduğu damarlarda belirginleşme- ELISA sonucu negatif (B)



Şekil 4.29. *N. rustica* bitkisinde KAST-281 izolatının virüs-inokuleli yaprakta meydana getirdiği hafif kloroz (A) ve bitkinin genel görünümü (B)

YZGT-312 izolatu ise; ispanak çeşitlerinden Rick Zwan ve Nebraska bitkilerinde virüs inokule edilmeyen yapraklarda ters kaşık şeklinde belirti oluşturmuş, bu yapraklarda virüsün varlığı ELISA testi ile de teyit edilmiştir (Çizelge 4.17; Şekil 4.30 ve 4.31). Çizelge 4.17’de belirtilen diğer test bitkilerinde ise BNYVV enfeksiyonu tespit edilmemiştir.



Şekil 4.30. YZGT-312 izolatının *S. oleraceae* cv. Rick Zwan bitkisinde neden olduğu sistemik enfeksiyonun görünümü



Şekil 4.31. YZGT-312 izolatının *S. oleraceae* cv. Nebraska bitkisinde neden olduğu sistemik enfeksiyon

210 ve 614 no’lu izolatlar ile yapılan inokulasyon çalışmaları neticesinde indikatör bitkilerde lokal ve sistemik olarak simptom gözlenmemiş ve ELISA sonuçları negatif çıkmıştır (Çizelge 4.17).

Biyolojik çalışmalar sonucunda elde edilen veriler, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen ve farklı genotiplerde dayanıklılık kıran BNYVV

izolatlarının patojenitelerindeki farklılıkların bu çalışmalar ile net olarak ortaya konulamayacağını göstermiştir. Nitekim; ESKR-210, KYSR-525, KTHY-604 ve ANKR-614 izolatları ile yürütülen çalışmalarda toplam 190 adet bitkiye virüs inokulasyonu yapılmış, fakat bu bitkilerde BNYVV enfeksiyonu gerek simptomatolojik, gerekse ELISA testi ile tespit edilememiştir (Çizelge 4.14).

Diğer taraftan, farklı lokasyonlardan seçilen BNYVV izolatları arasında konukçu reaksiyonuna göre büyük varyasyonun olduğu dikkat çekmiştir. Beş farklı indikatör bitkide (*N. benthamiana*, *N. rustica*, *C. quinoa*, *B. maritima* ve *S. oleracea*) simptom oluşumuna göre; BNYVV izolatlarının 6 farklı grup içerisinde toplandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.18). Buna göre; Grup I ve II'de yer alan BNYVV izolatları RNA-5 içermemekle birlikte; sırasıyla *Rz1* ve *Rz1/Rz1+Rz2* genlerinde dayanıklılığı kırarken, Grup III, IV ve V'de yer alan izolatlar ise *Rz1*, *Rz1+Rz2*, *Rz1+C48+minör genler* içeren bitkilerde dayanıklılığı kırmıştır. Bununla birlikte, ilginç bir şekilde, Grup VI; RNA-5 içeren (ESKR-210 ve KTHY-604) ve içermeyen BNYVV izolatlarından (KYSR-525 ve ANKR-614) oluşmuş olup *Rz1*, *Rz1+Rz2*, *Rz1+C48+minör genler* içeren farklı genotiplerde dayanıklılığı kırmasına rağmen, test bitkinin hiçbirinde enfeksiyon oluşturamamıştır (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Test bitkilerinde farklı genotiplerde dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının oluşturduğu belirtiler

Grup No	İzolat Adı	İndikatör Bitkiler																			
		<i>N. benthamiana</i>				<i>N. rustica</i>				<i>C. quinoa</i>				<i>B. maritima</i>				<i>S. oleracea</i>			
		L*	E***	S**	E	L	E	S	E	L	E	S	E	L	E	S	E	L	E	S	E
I	ELZG-40, AKSY-542	K ^a	+	SY	-	K	+	SY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	KNYA-386	KL	+	SY	-	K	-	SY	+	SY	-	SY	+	-	-	-	-	-	-	-	-
III	KNYA-418	-	-	-	-	HK	-	SY	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	KAST-281	-	-	-	-	HK	+	SY	-	-	-	-	-	YD	-	SY	+	-	-	-	-
V	YZGT-312	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SY	-	YD	+
VI	ESKR-210, KYSR-525, KTHY-604, ANKR-614	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*L: Lokal enfeksiyon, **: Sistemik enfeksiyon, E: ELISA testi sonucu (+: pozitif, -: negatif)

^a: Simptom tipleri: K: Kloroz, KL: Klorotik leke, YD: Yapraklarda deformasyon, HK: Hafif Kloroz, SY: belirti yok

4.2. Tartışma

Yürütülen bu çalışma ile, Türkiye’de BNYVV ile enfekteli şeker pancarı üretim alanlarına ait toprak örneklerinde *Rz1+ Rz2* ve *Rz1+C48+minör genleri* içeren şeker pancarı çeşitleri kullanılarak, dayanıklılık kırıcı BNYVV varyantlarının araştırılması ve yayılış alanlarının saptanarak haritalarının çıkarılması amaçlanmıştır. Ayrıca, Türkiye’nin farklı bölgelerine ait şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen ve tuzak bitki testi sonucu farklı genotiplerin (*rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) köklerinden izole edilen, dayanıklılık kıran 14 ve dayanıklılık kıramayan beş BNYVV izolatının, virüsün patojenitesinde etkin olan RNA-3’ünün p25 proteinini içeren kısmi sekans analizleri gerçekleştirilerek, bu proteinin 67-70. pozisyonlarındaki aa. tetra motifleri belirlenmiştir. Dayanıklılık kıran 10 BNYVV izolatının; patojenitede etkin bir diğer segment olan RNA-5’i içerip içermediğinin belirlenmesi amacı ile de bu izolatlar RT-PCR ile analiz edilmiştir. İlave olarak, dayanıklılık kıran izolatların patojenitelerindeki farklılıklar biyolojik testler yardımı ile de irdelenmeye çalışılmıştır.

Virüs hastalıklarının kontrolünde kimyasal mücadelenin mümkün olmaması, bu hastalıkların kontrolünde dayanıklı çeşit kullanımını ön plana çıkarmaktadır. BNYVV’nin vektör *P. betae*’nin kışlama sporlarında toprakta en az 15 yıl canlı kalması (Abe ve Tamada, 1986; Duffus, 1991; Rush ve Heidel, 1995) nedeniyle rhizomania hastalığının en etkili kontrolü dayanıklı çeşitlerin yetiştiriciliğinin yapılması yolu ile olmaktadır (Lewellen, 1995). Günümüzde, Dünya’da ve ülkemizde ticari olarak yetiştirilen rhizomania’ya dayanıklı şeker pancarı çeşitlerinin büyük bir kısmı *Rz1* genini içermektedir (Asher, 1993). Daha sonra, *Rz1* genine ilave olarak, *Rz2*, *Rz3*, *Rz4* ve *Rz5* dayanıklılık genleri de belirlenmiştir (Grimmer vd, 2007; McGrann vd, 2009).

Bir alanda rhizomania tespit edildikten sonra viruliferous dinlenme sporlarının (sistosori) fazla çoğalmasını engellemek amacıyla dayanıklı çeşitler ekildiğinde, o alandaki viruliferous populasyon düşük düzeyde kalmakta; ancak bölgedeki virüs mutasyona uğrayarak yeni bir ırk/varyant geliştirdiğinden dolayı dayanıklı çeşit artık hastalığın kontrolünü sağlayamamaktadır (Rush, 2003). Nitekim; Amerika (Liu vd, 2005; Rush vd, 2006), İspanya (Koenig vd, 2005), Almanya, İngiltere, Hollanda (Bornemann vd, 2015) ve son olarak da Türkiye (Kutluk Yılmaz vd, 2018)’de yeni oluşan BNYVV varyantları tarafından *Rz1* dayanıklılık genine sahip ticari çeşitlerde

bu dayanıklılığın kırıldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada; Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen farklı BNYVV izolatlarının rhizomania'ya dayanıklı farklı genotiplerde ($Rz1+Rz2$ ve $Rz1+C48+minör\ genler$) dayanıklılık kırma durumları araştırılmıştır. Bu amaçla; Kutluk Yılmaz vd (2016)'nin daha önce yürüttükleri bir çalışma ile şeker pancarı üretim alanlarından topladıkları toprak örnekleri içerisinde BNYVV ile bulaşık olduğu bilinen 29 ile ait 233 toprak örneği seçilmiş ve tuzak bitki testi çalışmalarında kullanılmıştır. Her iki genotipe ait sonuçlar kıyaslandığında; $Rz1+Rz2$ genlerini içeren genotipte dayanıklılık kırılma oranı %51.9 oran ile, diğer dayanıklılık genlerini içeren genotipe ($Rz1+C48+minör\ genler$) oranla daha yüksek olduğu (%18.9) tespit edilmiştir (Çizelge 4.1; 4.2). Lennefors (2006), sera ve tarla denemelerinde, Holly ($Rz1$) ile C48 genini birlikte içeren çeşit ile sadece $Rz1$ genini taşıyan çeşidi karşılaştırdığında, $Rz1+C48+minör\ genlerini$ içeren çeşidin BNYVV konsantrasyonunun önemli oranda daha düşük olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, $Rz1+C48+minör\ genleri$ içeren genotipin ortalama ELISA absorbans değerinin (1.249), $Rz1+Rz2$ genlerini içeren genotipten (2.355) daha düşük olduğunu göstermiştir (Şekil 4.4). Diğer taraftan; Kutluk Yılmaz vd (2018); Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen ve ELISA ile BNYVV pozitif olarak belirlenen 235 toprak örneğinde rhizomania'ya dayanıklı Esperanza ($Rz1$) çeşidi yetiştirmiş ve sonrasında uygulanan ELISA testlemeleri ile; örneklerin %57.4'ünde BNYVV izolatları tarafından $Rz1$ dayanıklılığının kırıldığını bildirmişlerdir. Türkiye'deki BNYVV izolatları tarafından farklı genotiplerde belirlenen yüksek dayanıklılık kırılma durumunun aksine; Weiland vd (2019) ise Amerika'da North Dakota ve Minnesota şeker pancarı üretim alanlarına ait BNYVV ile bulaşık toprak örnekleri ile yürüttükleri tuzak bitki testi çalışmaları ile; BNYVV izolatları tarafından oluşturulan hastalık oranının $Rz1$ 'de %4.2, $Rz2$ 'de %1 ve $Rz1+Rz2$ 'de ise %0.8 olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma ile, Türkiye'deki BNYVV izolatları tarafından, şeker pancarı üretim alanlarında son yıllarda yetiştiriciliğine başlanan $Rz1+Rz2$ genotipinde oldukça yüksek oranda (%51.9) dayanıklılığın kırıldığı ortaya konulmuştur. Ayrıca, henüz ticari olarak ülkemizde yetiştiriciliği yapılmayan $Rz1+C48+minör\ genleri$ içeren şeker pancarı çeşidinde bile önemli oranda (%18.9) BNYVV dayanıklılığının kırıldığı saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar, Türkiye'deki BNYVV popülasyonlarının virülensinin oldukça yüksek olduğunu ve ileriki yıllarda artık bu dayanıklı çeşitlerin kullanımı ile BNYVV'nin kontrol altına

alamayacağını işaret etmektedir. Bu durumda, ülkemizde rhizomania nedeni ile verimde oluşan kayıplardan dolayı şeker pancarı tarımı ekonomik olarak gerçekleştirilemeyecektir. Dünya’da ve özellikle ülkemizde yürütülecek olan BNYVV’ye karşı dayanıklılık ıslahı çalışmalarında; farklı gen kaynaklarının ıslah çalışmalarına dahil edilmesinin gerekliliği anlaşılmıştır.

Son yıllarda varyasyonların belirlendiği BNYVV RNA-3’ün baz dizisi analizleri üzerinde yapılan çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Özellikle, RNA-3 üzerinde bulunan p25 protein bölgesinin BNYVV tarafından oluşturulan ürün kayıpları ve rhizomania simptomlarından sorumlu olduğu ve baz dizisinde virüsün coğrafik orijinine bağlı olarak büyük farklılıkların olduğu belirtilmektedir (Koenig vd, 1989; Tamada vd, 1999). Yürütülen bu çalışmada, farklı genotiplerde (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genleri* içeren) dayanıklılık kıran toplam 14 adet ve kıramayan (*rz1*) beş BNYVV izolatlarının p25 bölgesini de içine alacak şekilde RNA-3 genom segmentinin kısmi baz dizisi analizleri gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.3, EK 1). Sonrasında yapılan Blast analizi ile, Türkiye’de önemli şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BNYVV izolatlarının nükleotit düzeyinde Dünya izolatları ile en yüksek benzerliği %98.94-100 arasındaki oranlar ile; İspanya, İran, ABD ve Türkiye’den elde edilen izolatlar ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Doğada BNYVV taşınması sadece vektör *P. betae* tarafından gerçekleştirilmekte ve viruliferous *P. betae*’nin dinlenme sporları ise toprak materyali ile bir yerden bir yere transfer olmaktadır. Komşu ülke İran’dan bitki materyali alış-verişi, araba lastikleri, ayakkabılar ve hayvanlara bulaşarak ya da iklimsel olaylar vasıtası ile kolaylıkla ülkeye bulaşabilmesi mümkün olmakla birlikte; bu çalışmada incelenen BNYVV izolatlarının ABD ile yüksek oranda benzerlik göstermesi dikkat çekmiştir. Elde edilen bu sonuç; bazı araştırmacıların belirttiklerinin aksine (Koenig vd, 1989; Tamada vd, 1999) virüsün coğrafik orijinine bağlı olarak baz dizisinde büyük bir farklılığın olmadığını göstermiştir.

BNYVV izolatlarının p25 genine göre yapılan gruplandırmasında; p25-I’de Çin-H, Çin-Y ve İtalyan (Avrupa A tip) streyleri, p25-II’de Fransa-P (P-tip), Japon-D, Japon-O, Çin-B ve Çin-L streynleri, p25-III’de ise Çin-X ve Alman (B-tip) streynlerinin yer aldığı belirtilmektedir (Chiba vd, 2011; Zhuo vd, 2015). Bu çalışmada, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BNYVV izolatlarının p25 genine göre oluşturulan ML dendrogramı incelendiğinde; p25-I

grubu içinde yer aldığı tespit edilmiştir. IGDR-2 hariç, diğer izolatların tümü İtalyan (Avrupa A-tip) streyi ile ilişkili alt dalda yer almışlar; farklı genotiplerden elde edilen IGDR-2 izolatları ise Çin-H ve Çin-Y streynleri ile yakın ilişkili olarak belirlenmiştir (Şekil 4.15).

Farklı genotiplerden (*rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler*) elde edilen BNYVV izolatlarının p25 bölgesi aa. dizileri incelendiğinde ise; en az oranda genetik farklılığın *rz1* genotipinden elde edilen BNYVV izolatlarında olduğu dikkat çekmiştir (Çizelge 4.12). Bu çalışmada elde edilen verilerin aksine, Weiland vd (2019) ise, North Dakota ve Minnesota (A.B.D) şeker pancarı üretim alanlarına ait BNYVV ile bulaşık toprak örnekleri ile yürüttükleri tuzak bitki testi sonrası, farklı genotiplerden (*rz1*, *Rz1*, *Rz2* ve *Rz1+Rz2*) elde ettikleri izolatlar ile yürüttükleri benzer araştırmada, en fazla aa. varyasyonunun hassas (*rz1*) genotipte, diğer genotiplerde ise daha düşük oranlarda değişiklik olduğunu bildirmişlerdir. Öte yandan, Liu ve Lewellen (2007), A.B.D.'de dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının moleküler karakterizasyonu ve dağılımı üzerinde yaptıkları araştırmada, dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının p25 ve kılıf proteinin aa. dizilerinin, dayanıklılık kırmayan BNYVV izolatları ile yüksek oranda benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir (sırası ile; %99.9 ve %98). Bu çalışmada ise; dayanıklılık kıran ve kırmayan BNYVV Türk izolatlarının p25 proteinlerinin nükleotit düzeyinde %98-100 ve aa. düzeyinde ise %96-100 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.8).

Birçok çalışmada şeker pancarında virüse karşı dayanıklılık kırılımının, RNA-3'ün p25 bölgesindeki 67-70. aa.'lerle ilgili olduğu ve belirli aa. dizilerinin izolatların agresifliğini arttırdığı belirtilmektedir (Koenig vd, 2008; Schirmer vd, 2005; Bornemann ve Varrelmann, 2013). Özellikle 67. aa.'te Valin (V) ve 68. aa.'te Lösin (L) bulunan bazı izolatların daha agresif oldukları ileri sürülmektedir (Schirmer vd, 2005; Rush vd, 2006). Bornemann vd (2015) ise, AYPR tetrat motifine sahip BNYVV varyantlarının İngiltere, Almanya ve Hollanda'da tolerant çeşitlerde şiddetli BNYVV semptomlarına neden olup, *Rz1* dayanıklılığını kırdığını saptamışlardır. Liu ve Lewellen (2007), p25 proteininin 67 ve 68. aa.'lerinde dayanıklılık kırmayan izolatlarda 'AC' dizisinin korunmasına karşın, dayanıklılık kıran izolatlarda bu bölgede AF, AL, SY, VC, VL ve AC şeklinde değişikliklerin olduğunu saptamışlardır. Yürütülen bu çalışmada, 'AC', 'AH', 'VH' ve '-D ya da

D-' tipi dizilişlerin belirlendiği örneklerin, hem *Rz1+Rz2* genotipinde, hem de *Rz1+C48+minör genler* içeren genotipte dayanıklılığı kırıdığı saptanmıştır. Ayrıca; 'AS' tipi dizilişe sahip BNYVV izolatının *Rz1+C48+minör genler* içeren genotipte; 'AS+AF' ve 'AY' tipi dizilişe sahip BNYVV izolatlarının ise *Rz1+Rz2* genotipine sahip çeşitte dayanıklılık kırıkları belirlenmiştir. İlginç olarak; 1 örnekte (KNYA-418) 67. (-DHG) ya da 68. (D-HG) pozisyonda tek bir aa.'i etkileyen ancak p25'in okuma çerçevesinde değişikliğine sebep olmayan 3 nükleotitlik silinmenin olduğu belirlenmiştir. Bu sıra dışı forma sahip BNYVV izolatının; hem *Rz1+Rz2*, hem de *Rz1+C48+minör genler* içeren genotiplerde dayanıklılığı kırıdığı saptanmıştır. Nitekim; daha önce aynı izolat ile yürütülen bir diğer çalışmada; KNYA-418 izolatının *Rz1* genini içeren çeşitte de dayanıklılığı kırıdığı tespit edilmiştir (Kutluk Yılmaz vd, 2018). Halbuki, doğal konukçularda klasik rhizomania semptomlarının oluşması için RNA-3 tarafından kodlanan p25 proteinine ihtiyaç duyulmaktadır (Chiba vd, 2008). Tamada vd (1999), BNYVV'nin p25 proteininin C-terminal kısmına doğru 94 veya 121 amino asidi kodlayan bölgelerin silinmesi durumunda, duyarlı ve dayanıklı şeker pancarı bitkilerinde rhizomania hastalığına yol açmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamız, Kutluk Yılmaz vd (2018)'in belirttikleri gibi; patojenite faktörü olarak bilinen p25 proteininin önemli pozisyonlarından birinde (67-70. aa.'ler) doğal olarak tek bir aa.'te oluşan silinmenin BNYVV'nin virülensi üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığını göstermiştir.

Chiba vd (2011) ise yaptıkları bir çalışmada; Japon, Çin, İtalyan, Fransız, Alman, Macar, Slovak, İspanyol ve Türk BNYVV izolatlarında p25 tetra motifleri ile dayanıklılık kırılma durumu arasındaki ilişki üzerinde durmuşlardır. Bu çalışma sonuçlarına göre; özellikle 68. ve 67 ile 68. pozisyonlarda yer alan aa.'lerin dayanıklılık kırılması ile ilgili olduğunu ve dayanıklılık kırılma olasılığının küçükten büyüğe sıralanacak olursa F (68. aa.-Fenilalanin) < Y (68. aa.-Tirozin) < C (68. aa.-Sistein) = L (68. aa.-Lösin) = H (68. aa.-Histidin) < Q (68. aa.-Glutamin) < VC (67-68. aa.-Valin-Sistein) şeklinde olduğunu belirlemişlerdir. Bununla birlikte, İtalyan izolatlarında 'C' ve 'H' aa.'lerine sahip BNYVV varyantlarının *Rz1* dayanıklılığını kırıdığı, aynı aa.'lere sahip Çin izolatlarının ise bu dayanıklılığı kıramadığını saptamışlardır (Chiba vd, 2011). Yürütülen bu çalışmada; farklı genotiplerde dayanıklılık kırılan Türk izolatlarında 68. pozisyonda en sıklıkla rastlanılan aa. 'H' olarak belirlenmiş olup, buna ilave olarak 'S', 'C', 'Y' ve 'F' aa.'leri de

belirlenmiştir. Ayrıca, iki izolatta (KNYA-359 ve KNYA-418) ise, 67 ile 68. pozisyonlarda 'VH' ve 'D- ya da -D' aa.'leri saptanmıştır. Dayanıklılık kıramayan izolatlarda 68. pozisyonda saptanan aa.'ler ise 'H' (en sıklıkla rastlanılan), 'C' ve 'L' şeklinde olmuştur (Çizelge 4.12). Elde edilen bu sonuçlar, Türk BNYVV izolatlarının genetik yapıları ve patojenitelerinin Dünya izolatları ile tam olarak uyum göstermediğini ortaya koymuştur. Öte yandan, Rush vd (2006) ise; 67.-70. aa.'lerdeki tetrat motifine ilave olarak, p25 protein geninin 135. aa.'inde de büyük oranda varyasyonların oluştuğunu bildirilmişlerdir. Bu çalışmada, incelenen BNYVV izolatlarında bu pozisyonda herhangi bir varyasyon tespit edilmemiştir (Çizelge 4.7; EK 2).

Son yıllarda yürütülen çalışmalarda; toprakta uzun yıllar kalan BNYVV popülasyonlarını (quasispecies) oluşturan bireylerdeki varyasyonlar üzerine yoğunlaşmıştır. Bornemann ve Varrelmann (2013), 4 genomik RNA'ya sahip (RNA-1-4) A-tip streyn tipinde olan Wild tip (WT) ve dayanıklılık kıran (RB) BNYVV popülasyonlarında yer alan bireylerin p25 üzerindeki hipervariable bölgeye ait aa.'lerini (67.-70.) deep sequencing yöntemi ile analiz etmişlerdir. Buna göre; hassas şeker pancarı yetiştirilmesi sonrası 'ACHG' tetrat motifi belirlenen WT popülasyonlarındaki bireylerin %45.1'inin 'ACHG', %32.05'inin 'ALHG', %11.7'sinin dayanıklılık kırılması ile ilişkili tetrat olan 'VCHG', %1.02'sinin 'TCHG' ve %0.72'sinin ise 'AHHG' motifine sahip olduğu belirlenmiştir. 'VCHG' motifine sahip dayanıklılık kıran popülasyonlarda ise, bu popülasyonun %97.34'ünün yine 'VCHG' motifine sahip bireylerden oluştuğu saptanmıştır. Aynı çalışmada, aynı toprak örneklerinde hassas çeşidi takiben, dayanıklı çeşit yetiştirildiğinde (*Rz1* geni içeren) ise dayanıklılık kıran 'VCHG' varyantının inokulumunun %11.7'den %68.49'a yükseldiği; 'ACHG' motifine sahip olan bireylerin ise %45.1'den %20.97'e düştüğü tespit edilmiştir. Bu durum ise, yetiştirilen şeker pancarı genotipine bağlı olarak bir bölgedeki BNYVV popülasyonlarının çeşidi enfekte etmek amacı ile çok kısa sürede avirülans genlerinde değişim oluşturarak oldukça patojenik varyantlar oluşturabildiğini göstermiştir. Bu çalışmada; 5 farklı lokasyona ait (Iğdır, Kastamonu, Kütahya, Konya ve Ankara) BNYVV ile bulaşık aynı toprak örnekleri kullanılarak iki farklı genotipe sahip şeker pancarları (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) yetiştirilmiş ve sonrasında BNYVV izolatlarının sekans analizleri

gerçekleştirilmiştir. Daha önce yürütülen bir çalışma (1100188 no'lu TÜBİTAK Projesi Kesin Sonuç Raporu, 2014) ile; bu toprak örneklerindeki BNYVV izolatlarının hassas şeker pancarına (*rz1*) ait p25 bölgesi sekans verileri elimizde mevcut idi. Yürütülen bu çalışma ve önceki çalışma verileri birlikte değerlendirildiğinde; Iğdır iline ait IGDR-2 izolatının *rz1* genotipinde 'ASHG', *Rz1+Rz2*'de 'ASHG+AFHG', *Rz1+C48+minör genler* içeren genotipten elde edilen popülasyonunda ise 'ASHG' tetrat motifi belirlenmiştir. Kastamonu iline ait bir diğer izolatın (KAST-281) ise *rz1*'de 'AHHG', *Rz1+Rz2*'de 'ACHG', *Rz1+C48+minör genler* içeren genotipte enfeksiyon oluşturan BNYVV popülasyonunda ise 'AHHG' tetrati saptanmıştır. Bu çalışmada, Bornemann ve Varrelmann (2013)'ın belirttikleri gibi aynı toprak örneğinde hassas çeşidi takiben, dayanıklı çeşit yetiştirilmemiş olmasına rağmen; incelenen iki izolatta genotip değiştiğinde bu genotipi enfekte etmek için mevcut BNYVV popülasyonunun tetrat motifinde değişiklik oluşturduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte; yürütülen çalışmada diğer üç izolatta (KNYA-359, KTHY-604 ve ANKR-614), genotip değişimine bağlı olarak tetrat motiflerinde değişimin olmadığı görülmüştür. Bu üç izolatın, incelenen genotiplerin tamamında (*rz1*, *Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) belirlenen tetrat motifleri; VHHG (KNYA-359) ve AHHG (KTHY-604 ve ANKR-614) şeklinde olmuştur. Elde edilen bu sonuç, BNYVV izolatlarının patojenitelerinin daha iyi anlaşılabilmesi için, genomun p25 ile birlikte diğer segmentlerinin de daha detaylı olarak incelenmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Ayrıca, bu çalışmada dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarında BNYVV'nin 5. segmentinin bulunma durumu da araştırılmıştır. Nitekim, RNA-5'in BNYVV'nin şeker pancarında simptom gelişiminin şiddetini arttırdığı ve virüsü daha agresif hale getirdiği rapor edilmiştir (Tamada vd, 1996). Bornemann ve Varrelmann (2013), RNA-5 içeren BNYVV izolatları ile dört RNA'lı A-tip BNYVV popülasyonlarının *Rz1* dayanıklılığını kırdığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte; RNA-5 içeren BNYVV izolatları Avrupa'da, Fransa (Schirmer vd, 2005), İngiltere (Ward vd, 2007) ve Almanya (Koenig vd, 2008)'da sınırlı bir alanda saptanmıştır. Ayrıca, Kazakistan (Koenig ve Lennefors, 2000) ve İran (Nassaj-Hosseini vd, 2013)'da da az sayıda örnekte RNA-5 belirlenmiştir. Üstelik, son yıllarda, Dünya'da sadece Fransa (Lemaire vd, 2003), Amerika (Liu ve Lewellen, 2007) ve İran (Mehrvar vd, 2009)'da RNA-5 içermeyen fakat P-tipi p25 tetrat motifine (SYHG) sahip BNYVV izolatları

da rapor edilmiştir. Diğer taraftan, Asya'da özellikle Çin ve Japonya'da RNA-5 segmenti içeren izolatlar BNYVV ile bulaşık alanlarda yaygın olarak bulunmaktadır (Miyanihi vd, 1999; Koenig ve Lennefors, 2000; Li vd, 2008). Son olarak, Türkiye'de de RNA-5'in varlığı (J-tip) ve şeker pancarı üretim alanlarında oldukça yaygın olduğu rapor edilmiştir (Kutluk Yılmaz vd, 2016). Bu çalışmada, Türkiye'nin farklı şeker pancarı üretim alanlarından izole edilen ve farklı genotiplerde dayanıklılık kıran 10 BNYVV izolatının RT-PCR yöntemi ile test edilmesi sonucunda, örneklerin %70 (7 adet)'inin RNA-5 içerdiği tespit edilmiş olmakla birlikte, diğer %30'unda da bu 5. RNA segmentinin bulunmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.13). Elde edilen bu sonuç, farklı genotiplerde BNYVV izolatları tarafından dayanıklılık kırılmasında RNA-5'in doğrudan ilişkili olmadığını göstermiştir. Bulgularımıza benzer şekilde, ABD'de de bazı BNYVV izolatlarının *Rz1* dayanıklılığını kırmasına rağmen, RNA-5 segmentini içermediği görülmüştür (Liu vd, 2005). Kutluk Yılmaz vd (2018)'de Türkiye şeker pancarı üretim alanlarına ait BNYVV izolatları ile yürüttükleri bir çalışmada *Rz1*'de dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının ancak %46.1'inin, *Rz1+Rz2*'de dayanıklılık kıranların %44.1'inin ve *Rz1+C48+minör genler* içeren genotipte ise %59.3'ünün RNA-5 içerdiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, Türkiye'ye ait BNYVV izolatlarında RNA-5'in bulunma durumunun dayanıklılık kırılması ile direkt olarak ilişkili olmadığını vurgulamışlardır (Kutluk Yılmaz vd, 2018). Öte yandan, çeşitli araştırmacılar tarafından RNA-5 içeren BNYVV izolatlarının, genellikle şeker pancarında ürün kaybını azaltmak amacıyla yetiştirilen dayanıklı çeşitleri enfekte ettiğinde A ve B tipi izolatlarına göre daha yüksek virüs konsantrasyonuna sahip olduğu belirtilmektedir (Tamada vd, 1996; Heijbroek vd, 1999). Ayrıca, RNA-5 içeren izolatların virülesliğinin daha yüksek olduğu bilindiğinden (Tamada vd, 1996), Türk izolatlarında oldukça yaygın RNA-5'in bulunma durumu ülkemiz şeker pancarı üretim alanlarının büyük bir risk altında olduğuna işaret etmektedir.

Bu çalışmada incelenen Türk izolatları BNYVV'nin patojenite faktörleri olarak bilinen p25 ve p26 proteinleri bakımından birlikte değerlendirildiğinde; enteresan olarak, aynı tetrat motife (AHHG) sahip iki izolattan; KTHY-604 izolatının RNA-5 içerdiği, ANKR-614'ün ise bu segmente sahip olmadığı belirlenmiş olmakla birlikte, her iki izolatın da farklı genotiplerde (*Rz1+Rz2* ve *Rz1+C48+minör genler* içeren) dayanıklılığı kırabildiği saptanmıştır. Diğer taraftan, RNA-5 içermeyen 'AHHG'

tetratlı KNYA-386 izolatının sadece *Rz1+Rz2* genlerini içeren genotipte dayanıklılığı kırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, RNA-5 içermemesine rağmen ‘VHHG’ tetrat motifine sahip KNYA-359 izolatının her iki genotip de dayanıklılık kırması dikkat çekmiştir (Çizelge 4.13). Elde edilen bu sonuçlar; Türkiye şeker pancarı üretim alanlarına ait BNYVV izolatlarının dayanıklılık kırma durumlarının; ne p25 tetrat motifi (67-70. aa.), ne de RNA-5’in bulunma durumu ile doğrudan ilişkili olmadığını göstermiştir. BNYVV izolatlarının patojenitelerinin anlaşılabilmesi için, genomun diğer segmentlerinin de daha detaylı olarak incelenmesinin gerekliliği anlaşılmıştır.

Bu tez çalışmasında, farklı genotiplerde dayanıklılık kıran BNYVV izolatlarının patojenitelerindeki farklılıklar konukçu reaksiyonlarına göre biyolojik testler yardımı ile de irdelenmeye çalışılmıştır. Ancak, biyolojik çalışmalar sonucunda test bitkilerinde gözlemlenen belirtiler, Dünya’da yapılan çalışmalarla farklılık göstermiştir. Mekaniksel inokulasyon yöntemiyle test bitkilerine inokule edilen 10 BNYVV izolatından ESKR-210, KYSR-525, KTHY-604 ve ANKR-614 izolatlarının hiç bir test bitkisinde enfeksiyon oluşturmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.14). Bununla birlikte, BNYVV’nin *C. quinoa*’da inokulasyondan 5-7 gün sonra klorotik veya nekrotik lezyonlara sebep olduğu ve bu bitkide sistemik enfeksiyon oluşturmadığı belirtilmektedir (Tamada ve Baba, 1973). Ayrıca, Liu vd (2005) Amerika’da dayanıklılık kıran ve kıramayan BNYVV izolatlarının *C. quinoa*’da klorotik lokal lezyona sebep olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada, sadece Konya ilinden elde edilen KNYA-386 izolatının (*Rz1+Rz2*’de dayanıklılık kıran ve RNA-5 içermeyen) 13 tekerrürün 1’inde *C. quinoa*’da semptom oluşturmaksızın, sistemik enfeksiyona neden olduğu görülmüştür. Sonuçlar ELISA testi ile de teyit edilmiştir (Şekil 4.24; Çizelge 4.14; 4.16). Bu sonuçlara göre, *C. quinoa* literatürlerde BNYVV’nin lokal lezyon konukçusu olarak belirtilse de; bu virüsün bazı izolatlarının *C. quinoa*’da sistemik enfeksiyona da neden olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Ayrıca, *N. benthamiana* bitkisinde BNYVV’nin şiddetli veya zayıf belirtilere sebep olan sistemik enfeksiyona neden olmaktadır (Andika vd, 2005). Tamada (1975), BNYVV’nin ıspanak, *B. vulgaris* spp. *maritima*’nın bazı aksesyonları, *B. macrocarpa* ve *N. benthamiana*’da sistemik enfeksiyon oluşturduğunu bildirmiştir. Ancak, bu tez çalışmasında, sadece ELZG-40, KNYA-386 ve AKSY-542 izolatları *N. benthamiana*’da lokal enfeksiyona neden olurlarken, diğer izolatlar ise bu bitkide enfeksiyon oluşturmamıştır (Çizelge 4.14; 4.15; 4.16).

Daha önce yapılan çalışmalarda *N. benthamiana*'da yapraklarda kıvrılma ve cüceleşme gibi belirtilerin RNA-4 tarafından kodlanan p31 proteini ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. RNA-3 ise bu şiddetli belirtiler ile ilişkilendirilmemiştir (Rahim vd, 2007). Virüsler genellikle farklı koşullara uyum sağlayabilmek için, replikasyonda rol oynayan bazı gerekli RNA'ları tercih ederken, gerek duymadıkları diğer RNA'ların tamamını veya bir kısmını elemine etmektedirler. Örnek olarak, BNYVV-O11 izolatının RNA-3'ü *N. benthamiana* bitkilerinde genellikle spanton olarak elemine olmaktadır (Rahim vd, 2007). RNA-5 ise çoğu naturel izolatlarda mevcut bulunmamaktadır (Rush, 2003). Çin izolatları ile yürütülen bir çalışmada bazı konukçularda BNYVV'nin patojenitesini arttıran RNA-5'in en azından *N. benthamiana*'da sistemik enfeksiyon için essential bir faktör olmadığı belirtilmiştir (Wang vd, 2011). Diğer taraftan, *Rz1* dayanıklılığını kıran ve RNA-5 içeren izolatlardan biri olan sadece YZGT-312 izolatı literatürlerde belirtildiği üzere sistemik enfeksiyona neden olurken diğer izolatlarda ıspanakta herhangi bir enfeksiyona yol açmamıştır (Çizelge 4.14; 4.17; Şekil 4.30; 4.31). Benzer şekilde, Liu vd (2005)'de dayanıklılık kıran bazı Amerikan izolatlarının *N. benthamiana* ve ıspanakta enfeksiyon oluşturmadığı ve bu indikatör bitkilerin o izolatların konukçusu olmadığını vurgulamışlardır.

Bu çalışmada, *N. rustica* bitkisinde KAST-281 ve AKSY-542 izolatları lokal, KNYA-386 ve KNYA-418 izolatları sistemik, ELZG-40 izolatı ise hem lokal hem de sistemik enfeksiyonlara neden olmuştur (Çizelge 4.15; 4.16; 4.17). Ayrıca, bu sonuçlar ELISA testi ile de teyit edilmiştir (Çizelge 4.14). Elde edilen bu sonuç; şu ana kadar literatürlerde belirtilmemesine rağmen, *N. rustica*'nın da çalışmalarda BNYVV'nin lokal ve sistemik konukçusu olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hem Dünya’da hem de ülkemizde toprak kökenli virüsler şeker pancarı üretimini tehdit etmektedir. Verimi olumsuz etkileyen toprak kökenli virüsler arasında *Beet necrotic yellow vein virüs* (BNYVV) tarafından oluşturulan ve rhizomania olarak da adlandırılan hastalık büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda, yeni oluşan BNYVV varyantları tarafından Dünya’da ve ülkemizde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan *Rz1* dayanıklılık genine sahip ticari çeşitlerde bu dayanıklılığın kırıldığı belirlenmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında, ülkemiz şeker pancarı üretim alanlarında son birkaç yıl önce bazı lokasyonlarda yetiştirilmeye başlanan *Rz1+Rz2* genotipi ile henüz yetiştiriciliği yapılmayan *Rz1+C48+minör genler* içeren genotipte, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen BNYVV izolatlarının dayanıklılık kırma durumu iklim odası şartlarında araştırılmıştır. *Rz1+Rz2* genotipinde %51.9 gibi yüksek bir oranda dayanıklılığın kırıldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte ülkemizde henüz ticari olarak yetiştiriciliği yapılmayan *Rz1+C48+minör genleri* içeren şeker pancarı çeşidinde bile önemli oranda (%18.9) BNYVV dayanıklılığının kırıldığı saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar, Türkiye’deki BNYVV popülasyonlarının virülensinin oldukça yüksek olduğunu ve ileriki yıllarda artık bu dayanıklı çeşitlerin kullanımı (*Rz1* ve *Rz1+Rz2*) ile BNYVV’nin kontrol altına alamayacağını işaret etmektedir. Bu durumda, ülkemizde rhizomania nedeni ile verimde oluşan kayıplardan dolayı şeker pancarı tarımı ekonomik olarak gerçekleştirilemeyecektir. Dünya’da ve özellikle ülkemizde yürütülecek olan BNYVV’ye karşı dayanıklılık ıslahı çalışmalarında; farklı gen kaynaklarının ıslah çalışmalarına dahil edilmesinin gerekliliği anlaşılmıştır.

Bu çalışmada, BNYVV’nin farklı genotiplerde dayanıklılık kıran (14 adet) ve kırmayan (5 adet) izolatlar, moleküler olarak incelenmiştir. Bu izolatların virüsün patojenitesinde etkin p25 proteinini içeren RNA-3 kısmi baz dizisi analizleri elde edilmiş ve sonrasında p25’in 67-70’inci pozisyonlarında yer alan aa.’ler tespit edilmiştir. Ayrıca farklı genotiplerde dayanıklılık kıran bu izolatların 10’unda patojenite de etkin bir diğer segment olan RNA-5’in bulunma durumu da incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar; Türkiye şeker pancarı üretim alanlarına ait

BNYVV izolatlarının dayanıklılık kırma durumlarının; ne p25 tetrat motifi (67-70. aa.), ne de RNA-5'in bulunma durumu ile doğrudan ilişkili olmadığını göstermiştir.

Bu tezde, dayanıklılık kıran 10 adet BNYVV izolatının patojenitelerindeki farklılıklar konukçu reaksiyonlarına göre biyolojik testler yardımı ile de irdelenmeye çalışılmıştır. Ancak, yürütülen çalışmalara tamamiyle paralel sonuçlar elde edilememiştir. Nitekim, BNYVV izolatlarının hiçbirisi inokule edilen *B. macrocarpa*, *Beta vulgaris* cv. Kasandra, *C. murale*, *N. clevelandii* ve *P. patellaris* test bitkilerinde tipik BNYVV semptomları oluşturmamıştır. Bununla birlikte, KNYA-386 izolatının (*Rz1+Rz2*'de dayanıklılık kıran) *C. quinoa*'da sistemik enfeksiyona neden olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur. Sonuç olarak; bu tez çalışması ile Türkiye'ye ait BNYVV izolatlarının konukçuları ve bu konukçularda meydana getirdiği reaksiyonların Dünya izolatlarından farklı olduğu tespit edilmiştir. Ancak, indikatör bitki tohumlarının yeterli olmaması ve ekimi yapılan tohumların yeterince çimlenmemesi sebebiyle istenilen sayıda inokulasyon gerçekleştirilememiştir. Bu nedenle, BNYVV'nin konukçu çevresi ve patojenitesinin daha iyi anlaşılabilmesi için bu konunun detaylı olarak araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abe, H. and Tamada, T. 1986. Association of *Beet necrotic yellow vein virus* with isolates of *Polymyxa betae* Keskin. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 52: 235-247.
- Abe, H. and Ui, T. 1986. Host range of *Polymyxa betae* Keskin strains in rhizomania-infested soils of sugar beet fields in Japan. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 52: 394-403.
- Acosta-Leal, R. and rush, C. M. 2007a. Mutations associated with resistance-breaking isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* and their allelic discrimination using taqman technologies. *Phytopathology*, 97(3): 325-330.
- Acosta-Leal, R., Fawley, M. W. and Rush, C. M. 2008. Changes in the intra isolate genetic structure of *Beet necrotic yellow vein virus* populations associated with plant resistance breakdown. *Virology*, 376, 60-68.
- Andika, I. B., Kondo, H. and Tamada, T. 2005. "Evidence that RNA-silencing-mediated resistance to *Beet necrotic yellow vein virus* is less effective in roots than in leaves". *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18: 194-204.
- Anonim, 2017. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistical Database. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim Tarihi: 01.04.2019).
- Anonim, 2018. TÜİK Bitkisel Üretim İstatistikleri. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 (Erişim Tarihi: 03.06.2019).
- Anonim, 2019. TÜRKŞEKER. Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Tarihçe. <https://www.turkseker.gov.tr/tarihce.aspx> (Erişim tarihi: 05.02.2019).
- Asher, M. J. C. 1993. Rhizomania. In: Cooke DA, Scott RK (eds) *The sugar beet crop: science into practice*. Chapman & Hall, London UK, 311-346.
- Barr, K. J. and Asher, M. J. C. 1992. The host range of *Polymyxa betae* in Britain. *Plant Pathology*, 41: 64-68.
- Barr, K. J. and Asher, M. J. C. 1996. Studies on the life-cycle of *Polymyxa betae* in sugar beet roots. *Mycological Research*, 100: 203-208.
- Bianchardi, E., Lewellen, R.T., Biaggi, M., Erichsen, A.W. and Stevanato, P. 2002. The origin of Rhizomania resistance in sugar beet. *Euphytica*, 127: 383-397.
- Bleykasten, C., Gilmer, D., Guilley, H., Richards, K.E. and Jonard, G. 1996. *Beet necrotic yellow vein virus* 42 kDa triple gene block protein binds nucleic acid in vitro. *Journal of General Virology*, 77: 889-897.
- Bongiovanni, G. C. 1960. L'anguillula e la rizomania della barbabietola. *Informatore Fitopatologico*, 2: 391-397.
- Bongiovanni, G. C. 1964. La diffusione della rizomania in Italia. *Informatore Fitopatologico*, 10: 263-265.

- Bornemann, K. and Varrelmann, M. 2013. Effect of sugar beet genotype on the *Beet necrotic yellow vein virus* p25 pathogenicity factor and evidence for a fitness penalty in resistance-breaking strains. *Molecular Plant Pathology*, 14: 356-364.
- Bornemann, K., Hanse, B., Varrelmann, M. and Stevens, M. 2015. Occurrence of resistance-breaking strains of *Beet necrotic yellow vein virus* in sugar beet in northwestern Europe and identification of a new variant of the viral pathogenicity factor p25. *Plant Pathology*, 64: 25-34.
- Bouzoubaa, S., Guilley, H., Jonard, G., Richards, K., and Putz, C. 1985. Nucleotide Sequence Analysis of RNA-3 and RNA-4 of *Beet Necrotic Yellow Vein Virus*, Isolates F2 and G1. *Journal of General Virology*, 66, 53-1564.
- Bouzoubaa, S., Ziegler, V., Beck, D., Guilley, H., Richards, K. and Jonard, G. 1986. Nucleotide sequence of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA-2. *Journal of General Virology*, 67, 1689-1700.
- Bouzoubaa, S., Quillet, L., Guilley, H., Jonard, G. T. and Richards, K. 1987. Nucleotide sequence of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA-1. *Journal of General Virology*, 68, 615-626.
- Campbell, R. N. 1996. Fungal transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology*, 34: 87-108.
- Canova, A. 1959. Appunti di patologia della barbabietola. *Informatore Fitopatologico*, 9: 390-396.
- Canova A. 1966. Ricerche Virologiche Della Bietola. *Annali Accademia Nazionale de Agricoltura*, 72, 37-46.
- Chiba, S., Miyanishi, M. and Tamada, T. 2002. Single amino acid changes in the p25 protein of *Beet necrotic yellow vein virus* determine resistance responses of *Beta vulgaris* spp. *maritima*. Proceedings 5th Symposium of the International Working Group of Plant Viruses Fungal Vectors, 22-25 July, In: Rush, C. M., Merz, U., eds., 5-8, Zurich, Switzerland.
- Chiba, S., Miyanishi, M., Andika, I. B., Kondo, H. and Tamada, T. 2008. Identification of amino acids of the *Beet necrotic yellow vein virus* p25 protein required for induction of the resistance response in leaves of *Beta vulgaris* plants. *Journal of General Virology*, 89: 1314-1323.
- Chiba, S., Kondo, H., Miyanishi, M., Andika, I. B., Han, C. G. and Tamada, T. 2011. The evolutionary history of *Beet necrotic yellow vein virus* deduced from genetic variation, geographical origin and spread, and the breaking of host resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24: 207-221.
- Clark, M. and Adams, A. M. 1977. Characteristics of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.

- Çulal Kılıç, H., Yardımcı, N. and Ürgen, G. 2014. Detection of *Beet necrotic yellow vein virus* by double stranded RNA analysis. *International Journal of Biology*, 6:1, 95-101. Doi:10.5539/ijb.v6n1p95
- D'Ambra, V. and Mutto, S. 1977. The ultrastructure of *Polymyxa betae* zoospore exit tube differentiation. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 55, 831-839.
- Dijkstra, J. and De Jager, C. P. 1998. Practical Plant Virology. Protocols and Exercises. Department of Virology Wageningen Agricultural University. Binnenhaven 11 The Netherlands. Springer Lab Manual.
- De Biaggi, M. 1987. Methodes de selection-un cas concret. Proceedings International Institute for Beet Research (IIRB) 50th Winter Congress, Vol: II, 157-163, Brussels, Belgium.
- Donà Dalle Rose, A. 1954. Gravi sintomi di stanchezza dei bietolai. *Annali Stazione Sperimentale Bieticoltura*, Rovigo Italy, 36: 1-7.
- Donà Dalle Rose, A. 1956. Relazione sull'attività scientifica nel decennio. *Stazione Sperimentale Bieticoltura*, 1947-1956, Rovigo Italy.
- Duffus, J. E., Whitney, E. D., Larsen, R. C., Liu, H. Y. and Lewellen, R. T. 1984. First report in Western hemisphere of rhizomania of sugar beet caused by *Beet necrotic yellow vein virus*. *Plant Disease*, 68:251.
- Duffus, J. E. 1991. Rhizomania, *Compendium of Beet Diseases and Insects*. Edited by E.D. Whitney and C.E. Duffus, 29-30. Aps Press. 76.
- Dunoyer, P., Pfeffer, S., Fritsch, C., Hemmer, O., Voinnet, O. and Richards, K. E. 2002. Identification, subcellular localization and some properties of a cysteine-rich suppressor of gene silencing encoded by *Peanut clump virus*. *The Plant Journal*, 29, 555-567.
- Elçi, Ş., Geçit, H. H. ve Kolsarıcı, Ö. 1994. *Tarla Bitkileri*, Ankara Üniversitesi Yayınları, Ankara, 1, 55-161.
- Erdiller, G. and Özgür, O. E. 1994. Rhizomania diseases of sugar beet in Türkiye. 9th congress of the Mediterranean Phytopathology Union, 18-24 September, 3-6, Kuşadası-Aydın,
- Falk, B. W. and Duffus, J. E. 1979. The first report of *Polymyxa betae* in the Western Hemisphere, *Plant Disease Reporter*, 61, 492-494.
- Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17:6, 368-376.
- Fujisawa, I. and Sugimoto, T. 1976. Transmission of *Beet necrotic yellow vein virus* by *Polymyxa betae*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 43: 583-586.

- Gao, J., Deng, F., Zhai, H. and Liang, X. 1983. The occurrence of sugar beet rhizomania caused by *Beet necrotic yellow vein virus* in China. *Acta Phytopathologica Sinica*, 13: 1-4.
- Gidner, S., Lennefors, B. L., Nilsson, N. O., Bensefelt, J., Johansson, E., Gyllenspetz, U. and Kraft, T. 2005. QTL mapping of BNYVV resistance from the WB41 source in sugar beet. *Genome*, 48: 279-285.
- Gilmer, D., Bouzoubaa, S., Hehn, A., Guilley, H., Richards, K. and Jonard, G. 1992. Efficient cell-to-cell movement of *Beet necrotic yellow vein virus* requires 3' proximal genes located on RNA 2. *Virology*, 189, 40-47.
- Gilmer, D., Flobinus, A., Hleibieh, K., Klein, E., Ratti, C. and Bouzoubaa, S. 2016. A viral RNA silencing suppressor and promotes efficient systemic host infection. *Viruses*, 8, 272. Doi: 10.3390/v8100272.
- Gilmer, D. and Ratti, C. 2017 ICTV Report Consortium. ICTV virus taxonomy profile: Benyviridae. *Journal of General Virology*, <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000864>
- Grimmer, M. K., Trybush, S., Hanley, S., Francis, S. A., Karp, A. and Asher, M. J. C. 2007. An anchored linkage map for sugar beet based on AFLP, SNP and RAPD markers and QTL mapping of a new source of resistance to *Beet necrotic yellow vein virus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 114, 1151-1160.
- Grimmer, M. K., Kraft, T., Francis, S. A. and Asher, M. J. C. 2008. QTL mapping of BNYVV resistance from the WB258 source in sugar beet. *Plant breeding*, 127: 650-652.
- Giunchedi, L., De Biaggi, M. and Poggi-Pollini, C. 1987. Correlation between tolerance and *Beet necrotic yellow vein virus* in sugar-beet genotypes. *Phytopathologia Mediterranea*, 26:23-28.
- Giunchedi, L. and Poggi-Pollini, C. 1988. Immunogold-silver localization of *Beet necrotic yellow vein virus* antigen in susceptible and moderately resistant sugar-beets. *Phytopathologia Mediterranea*, 27: 1-6.
- Haeberle, A. M. and Stussi-Garaud, C. 1995. In situ localization of the non-structural protein p25 encoded by *Beet necrotic yellow vein virus* RNA 3. *Journal of General Virology*, 76, 643-650.
- Hamdorf, G., Lesemann D. E. and Weidemann H. L. (1977) Untersuchungen über die Rizomania-Krankheit an Zuckerrüben in der Bundesrepublik Deutschland. *Journal of Phytopathology*, 90: 97-103.
- Harju, V. A., Mumford, R. A., Blockley, A., Boonham, N., Clovert, G. R. G., Weekes, R. and Henry, C. M. 2002. Occurrence in the United Kingdom of *Beet necrotic yellow vein virus* isolates which contain RNA 5. *Plant Pathology*, 51, 811.

- Harveson, R. M., Rush, C. M. and Wheeler, T. A. 1996. The spread of *Beet necrotic yellow vein virus* from point source inoculations as influenced by irrigation and tillage. *Phytopathology*, 86: 1242-1247.
- Hébrard, E., Froissart, R., Louis, C. and Blanc, S. 1999. Les modes de transmission des virus phytopathogènes par vecteurs. *Virologie*, 3 (1): 35-48.
- Heijbroek, W., Musters, P. M. S. and Schoone, A. H. L. 1999. Variation in pathogenicity and multiplication of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in relation to the resistance of sugar-beet cultivars. *European Journal of Plant Pathology*, 105, 397-405.
- Horváth, J. 1994. *Beet necrotic yellow vein furovirus* 1. New hosts. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 29: 109-118.
- Hugo, S. A., Henry, C. M. and Harju, V. 1996. The role of alternative hosts of *Polymyxa betae* in transmission of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in England. *Plant Pathology*, 45: 662-666.
- Ivanović, M. 1983. Viruses of sugarbeet associated with *Polymyxa betae*. Ann. Rep. Rothamsted Exp. St. 1982, 189-190.
- Jupin, I., Tamada T. and Richards, K. 1991. Pathogenesis of *Beet necrotic yellow vein virus*. *Seminars in Virology*, 2, 121-9.
- Jupin, I., Guilley, H., Richards, K. E. and Jonard, G. 1992. Two proteins encoded by *Beet necrotic yellow vein virus* RNA 3 influence symptom phenotype on leaves. *The EMBO Journal*, 11, 479-488.
- Kaya, R. 2009. Distribution of rhizomania disease in sugar beet growing areas of Turkey, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15 (4), 332-340.
- Kaya, R., ve Gürel, S. 2012. Türkiye’de değişik ekolojilerde Rhizomania hastalığına dayanıklı ve duyarlı şeker pancarı çeşitlerinin verim ve kalite performansı. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(3): 144-151.
- Keskin, B. 1964. *Polymyxa betae* n.sp. ein parasit in den wurzein von *Beta vulgaris* Tournefort, besonders während den jugendent wicklung den zuckerrübe. *Archives of Microbiology*, 49: 348-374.
- Kıymaz, B. and Ertunç, F. 1996. Research on the detection of virus diseases in sugar beet in Ankara. *Journal of Turkish Phytopathology*, 25 (1-2): 55-63.
- Kiguchi, T., Saito, M. and Tamada, T. 1996. Nucleotide sequence analysis of RNA 5 of five isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* and identity of a deletion mutant, *Journal of General Virology*, 77, 575-80.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F. and David, J. C. 2001. Ainsworth and Bisby’s Dictionary of the Fungi. 9th Edition, CABI Bioscience, UK, 624.

- Koch, F. 1987. Bericht über eine in verschiedene zuckerrübenanbauggebiete der Turkseker in Anatolien und Thrazien zum stadium von wurzelerkrankungen. KWS Kleinwanzlebener Saatzucht, AG, Einbeck, Germany.
- Koenig, R., Burgermeister, W., Weich, H., Sebald, W. and Kothe, C. 1986. Uniform RNA patterns of *Beet necrotic yellow vein virus* in sugarbeet roots, but not in leaves from several plant species. *Journal of General Virology*, 67: 2043-2046.
- Koenig, R. and Burgermeister, W. 1989. Mechanical inoculation of sugar beet roots with isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* having different RNA compositions. *Journal of Phytopathology*, 124: 249-255.
- Koenig, R., Jarausch, W., Li, Y., Commandeur, U., Burgermeister, W., Gehrke, M. and Luddecke, P. 1991. Effect of recombinant *Beet necrotic yellow vein virus* with different RNA compositions on mechanically inoculated sugarbeets. *Journal of General Virology*, 72, 2243-6.
- Koenig, R., Lüddecke, P. and Haerberle, A. M. 1995. Detection of *Beet necrotic yellow vein virus strains*, variants and mixed infections by examining single-strand conformation polymorphisms of immunocapture RT-PCR products. *Journal of General Virology*, 76, 2051-2055.
- Koenig, R., Haerberlé, A. M. and Commandeur, U., 1997b. Detection and characterization of a distinct type of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA 5 in a sugar beet growing area in Europe. *Archives of Virology*, 142, 1499-1504.
- Koenig, R. and Lennefors, B. L. 2000. Molecular analyses of European A, B and P type sources of *Beet necrotic yellow vein virus* and detection of the rare P type in Kazakhstan. *Archives of Virology*, 145, 1561-70.
- Koenig, R., Büttner, G., Pferdmeiges, F., Herrenschwand, W., Deml, G. and Varrelman, M. 2005. Distribution of various types of *Beet necrotic yellow vein virus* in Europe and abroad. 6th Symposium of the International Working Group of Plant Viruses Fungal Vectors, 5-7 September 2005, In: Rush C. M., ed. Proc., 5-9, Bologna, Italy.
- Koenig, R., 2008. *Benyvirus* A2 - Mahy, Brian W.J., in: Regenmortel, M.H.V.V. (Ed.), *Encyclopedia of Virology* (Third Edition). Academic Press, Oxford, 308-314.
- Koenig, R., Kastirr, U., Holtschulte, B., Deml, G. and Varrelmann, M. 2008. Distribution of various types and p25 subtypes of *Beet necrotic yellow vein virus* in Germany and other European countries, *Archives of Virology*, 153, 2139-2144.
- Kouyeas, H. 1979. The rhizomania of sugar beet. *Ann Inst Phytopathol*, 12: 151-153.
- Kruse, M., Koenig, R., Hoffman, A., Kaufmann, A., Commandeur, U., Solevye, A. G., Savenkov, I. and Burgermeister, W. 1994. Restriction fragment length polymorphism analysis of reverse transcription-PCR products reveals the existence of two major strain groups of *Beet necrotic yellow vein virus*. *Journal of General Virology*, 75, 1835-42.

- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870-1874.
- Kuszala, M. and Putz, C. 1977. Rhizomania of sugar beet in Alsace. Host range and biological properties of *Beet necrotic yellow vein virus*. *Annals of the Phytopathological*, 9: 435-446.
- Kutluk Yılmaz, N. D., Meunier, A., Schmit, J. F., Stas, A. and Bragard, C. 2007. Partial nucleotide sequence analysis of Turkish isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) RNA-3. *Plant Pathology*, 56, 311-316.
- Kutluk Yılmaz, N. D. and Sokmen, M. 2010. Occurrences of sugar beet soilborne viruses transmitted by *Polymyxa betae* Keskin in Northern and Central Parts of Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 92(2), 507-510.
- Kutluk Yılmaz, N. D., Arlı Sokmen, M., Kaya, R., Toksoz, Y., Tunali, B., Erkan, E. and Sevik, M. A. 2012. Resistance-Breaking Isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) Collected from Sugar Beet Fields in the Northern, Eastern and Central Parts of Turkey. 10th Conference of the European Foundation for Plant Pathology-IPM 2.0 Towards future-proof crop protection in Europe, 1-5 October, 39, Wageningen, Netherlands.
- Kutluk Yılmaz, N. D., Sökmen, M., Şevik, M. A., Tunali, B. and Kaya, R. 2014. Türkiye’de Şeker Pancarı Üretim Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV)’ün Moleküler ve Patojenik Varyantlarının ve *Beet black scorch virus* (BBSV)’ün Araştırılması, TOGTAG- 110 O 188 no’lu proje kesin sonuç raporu.
- Kutluk Yılmaz, N. D. 2016. Identification of strain types of some *Beet necrotic yellow vein virus* isolates determined in Northern and Central Parts of Turkey. *Eurasian Journal of Soil Science*, 5:3, 241-248.
- Kutluk Yılmaz, N. D., Arlı Sokmen, M., Kaya, R., Sevik, M. A., Tunali, B. and Demirtas, S. 2016a. The widespread occurrences of *Beet soilborne virus* and RNA-5 containing *Beet necrotic yellow vein virus* isolates in sugar beet production areas in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 144: 443-455.
- Kutluk Yılmaz, N. D., Arlı Sokmen, M. And Kaya, R. 2018. P25 pathogenicity factor deletion mutants of *Beet necrotic yellow vein virus* occurring in sugar beet fields in Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125: 89-98.
- Kutluk Yılmaz, N. D. ve Kaya, R. 2018. Ankara ili şeker pancarı alanından elde edilen ve p25 proteininde tek amino asitlik silinmeye sahip *Beet necrotic yellow vein virus* izolatının patojenitesinin araştırılması. Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 14-17 Kasım, Özet Bildiri Kitabı, 208, Muğla, Türkiye.

- Lauber, E., Bleykasten-Grosshans, C., Erhardt, M., Bouzoubaa, S., Jonard, G., Richards, K. E. and Guilley, H. 1998a. Cell-to-cell movement of *Beet necrotic yellow vein virus*: I. Heterologous complementation experiments provide evidence for specific interactions among the triple gene block proteins. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11: 618-625.
- Lauber, E., Guilley, H., Tamada, T., Richards, K. E. and Jonard, G. 1998b. Vascular movement of *Beet necrotic yellow vein virus* in *Beta macrocarpa* is probably dependent on an RNA 3 sequence domain rather than a gene product. *Journal of General Virology*, 79: 385-393.
- Legrève, A., Delfosse, P. and Maraite, H. 2002. Phylogenetic analysis of *Polymyxa* species based on nuclear 5,8S and internal transcribed spacers ribosomal DNA sequences. *Mycological Research*, 106 (2): 138-147.
- Lemaire, O., Merdinoglu, D., Valentin, P., Putz, C., Ziegler-Graff, V., Guilley, H., Jonard, G. and Richards, K. 1988. Effect of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA composition on transmission by *Polymyxa betae*. *Virology*, 162: 232-235.
- Lemaire, O., Beuve, M., Weber, C., Schirmer, A., Link, D., Meunier, A., Bragard, C. and Gilmer, D. 2003. Etiology and molecular epidemiology of a severe rhizomania disease occurring in confined locations in Europe: hypothesis for the implication of the RNA-3 and/or -5 of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV)-P pathotype. Proceedings of the 1st joint IIRB-ASSBT Congress, 27 February-1 March, 303-18, San Antonio, USA.
- Lennefors, B. L. 2006. Molecular Breeding for Resistance to Rhizomania in Sugar Beets. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, 41, Uppsala.
- Lewellen, R. T., Skoyen, I. O. and Erichsen, A. W. 1987. Breeding sugar beet for resistance to rhizomania: Evaluation of host-plant reactions and selection for and inheritance of resistance. Proceedings 50th IIRB winter congress, Vol. II: 139-156, Brussels, Belgium.
- Lewellen, R. T. 1995. Registration of sugarbeet germplasm lines with multiple disease resistance: C39, C39R, C39R-6, C-47, C-93, and C-94. *Crop Science*, 35: 2 (13): 597-598.
- Liu, H. Y., Sears, J. L. and Lewellen, R. T. 2005. Occurrence of resistance-breaking *Beet necrotic yellow vein virus* of sugar beet. *Plant Disease*, 89, 464-468.
- Liu, H. Y. and Lewellen, R. T. 2007. Distribution and molecular characterization of resistance breaking isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* in the United States. *Plant Disease*, 91, 847-851.
- Li, M., Liu, T., Wang, B., Han, C. G., Li, D. W. and Yu, J. L. 2008. Phylogenetic analysis of *Beet necrotic yellow vein virus* isolates from China, *Virus Genes*, 36, 429-432.

- McGrann, G. R., Grimmer, M. K., Mutasa-Gottgens, E. S. and Stevens, M. 2009. Progress towards the understanding and control of sugar beet rhizomania disease. *Molecular Plant Pathology*, 10: 129-141.
- Mehrvar, M., Valizadeh, J., Koenig, R. and Bragard, C. G. 2009. Iranian *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV): pronounced diversity of the p25 coding region in A-type BNYVV and identification of P-type BNYVV lacking a fifth RNA species. *Archives of Virology*, 154: 501-506.
- Meunier, A., Schmit, J. F., Stas, A., Kutluk, N. and Bragard, C. 2003. Multiplex reverse transcription for simultaneous detection of *Beet necrotic yellow vein virus*, *Beet soilborne virus* and *Beet virus Q* and their vector *Polymyxa betae* Keskin on sugar beet. *Applied and Environmental Microbiology*, 2356-2360.
- Miyanishi, M., Kusume, T., Saito, M. and Tamada, T. 1999. Evidence for three groups of sequence variants of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA 5. *Archives of Virology*, 144, 879-892.
- Monteiro, F., Romeiras, M. M., Batista, D. and Duarte, M. C. 2013. Biodiversity assessment of sugar beet species and its wild relatives: linking ecological data with new genetic approaches. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 21-34. doi:10.4236/ajps.2013.48A003
- Nassaj Hosseini, S. M., Shams-Bakhsh, M., Mehrvar, M. and Salmanian, A. H. 2013. Evolutionary characterization and genetic structure of Iranian isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* population based on p25 protein. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15, 829-842.
- Özdemir, H. 2014. Trakya Bölgesi şeker pancarı üretim alanlarında *Beet Necrotic Yellow Vein Virus* (BNYVV), *Beet Western Yellows Virus* (BWYV) ve *Beet Yellows Virus* (BYV) hastalıklarının saptanması üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, 42, Tekirdağ.
- Özer, G. and Ertunç, F. 2005. Detection of rhizomania disease in sugar beet plantations of Amasya Sugar Refinery. *Journal of Agricultural Sciences*, 11 (3), 339-343.
- Özgür, O. E. 1995. Türkiye Şeker Pancarı Hastalıkları. Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Genel Müdürlüğü, Yayın No: 218, Ankara, 33-47.
- Özgür, O. E. ve Kaya, R. 1998. Önemli Şeker Pancarı Hastalıkları. Türkiye Şeker Fabrikaları A. Ş. Şeker Enstitüsü, Tarımsal Araştırma Bölümü, Fitopatoloji Şube Notları, Ankara, 30.
- Özgür, O. E. 2003. Türkiye Şeker Pancarı Hastalıkları. Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Genel Müdürlüğü. Yayın No: 219, Ankara, 192.
- Panella, L. W. and Biancardi, E. 2016. Genetic Resistances. Biancardi, E. and Tamada, T. (eds.). Rhizomania. Springer, 195-220.

- Paul, H., Henken, B. and Alderlieste, M. F. J. 1992. A greenhouse test for screening sugar-beet (*Beta vulgaris*) for resistance to *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV). *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 98: 65-75.
- Payne, P. A. and Asher, M. J. C. 1990. The incidence of *Polymyxa betae* and other fungal root parasites sugar beet in Britain. *Plant Pathology*, 39: 443-451.
- Pelsy, F. and Merdinoglu, D. 1996. Identification and mapping of random amplified polymorphic DNA markers linked to a rhizomania resistance gene in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) by bulked segregant analysis. *Plant Breeding*, 115, 371-377.
- Peltier, C., Hleibieh, K., Thiel, H., Klein, E., Bragard, C. and Gilmer, D. 2008. Molecular biology of the *Beet necrotic yellow vein virus*. *Plant Virology*, 2, 14-24.
- Pferdmenges, F. 2007. Occurrence, spread and pathogenicity of different *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) isolates. Doctoral Thesis, Der Georg-August-Universität, 110, Göttingen.
- Pferdmenges, F., Korf, H. and Varrelmann, M. 2008. Breaking of *Beet necrotic yellow vein virus* resistance in sugar beet is independent of virus and vector inoculum densities. *European Journal of Plant Pathology*, 2008; Doi: 10.1007/s10658-008-9408-9.
- Pferdmenges, F., Korf, H. and Varrelman, M. 2009a. Identification of rhizomania-infected soil in Europe able to overcome *Rz1* resistance in sugar beet and comparison with other resistance-breaking soils from different geographic origins. *European Journal of Plant Pathology*, 124 (1): 31-43.
- Piolanti, G., Lanzoni, L. and Bongiovanni, G. C. 1957. Osservazioni sul fenomeno dei bassi titoli in alcune province venete. *Giornale del Bieticoltore*, 2: 12.
- Poggi-Pollini, C. and Giunchedi, L. 1989. Comparative histopathology of sugar beets that are susceptible and partially resistant to rhizomania. *Phytopathologia Mediterranea*, 28: 16-21.
- Putz, C. and Vuittenez, A. 1974. Observation des particules virales chez des betteraves presentant, en Alsace, des symptomes de 'Rhizomanie'. *Ann Phytopathol*, 6: 129-138.
- Putz, C. 1977. Composition and structure of *Beet necrotic yellow vein virus*. *Journal of General Virology*, 35, 397-401.
- Rahim, M. D., Andika, I. B., Han, C., Kondo, H. and Tamada, T. 2007. RNA4-encoded p31 of *Beet necrotic yellow vein virus* is involved in efficient vector transmission, symptom severity and silencing suppression in roots. *Journal of General Virology*, 88, 1611-1619.
- Rezaei, J., Bannayan, M., Nezami, A., Mehrvar, M. and Mahmoodi, B. 2014. Growth analysis of rhizomania infected and healthy sugar beet. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 17: 59-69.

- Rush, C. M. and Heidel, G. B. 1995. Furovirus diseases of sugar beets in the United States. *Plant Disease*, 79 (9): 868-875.
- Rush, C. M. 2003. Ecology and epidemiology of benyviruses and plasmodiophorid vectors. *Annual Review of Phytopathology*, 41, 567-592.
- Rush, C. M., Liu, H. Y., Lewellen, R. T. and Acosta-Leal R. 2006. The continuing saga of rhizomania of sugar beets in the United States. *Plant Disease*, 90 (1): 4-15.
- Rysanek, P., Stocky, G., Haerberle, A. M. and Putz, C. 1992. Immunogold labeling of *Beet necrotic yellow vein virus* particles inside its fungal vector, *Polymyxa betae* Keskin. *Agronomie*, 12: 651-659.
- Schäufele, W. R. 1983. Die Viröse Wurzelbärtigkeit (Rhizomania) der Zuckerrübe – Eine ernste Gefahr für den Rübenbau. *Gesunde Pflanzen*, 35: 269-271.
- Schirmer, A., Link, D., Cognat, V., Beuve, M., Meunier, A., Bragard, C., Gilmer, D. and Lemaire, O. 2005. Phylogenetic analysis of isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* collected worldwide. *Journal of General Virology*, 86, 2897-911.
- Scholten, O. E., Paul, H., Peter, D., Van Lent, J. W. and Goldbach, R. W. 1994. In situ localisation of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in rootlets of susceptible and resistant beet plants. *Archives of Virology*, 136: 349-361.
- Scholten, O. E., Jansen, R. C., Keizer, L. C. P., De Bock T. S. M. and Lange, W. 1996. Major genes for resistance to *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in *Beta vulgaris*. *Euphytica*, 91, 331-339.
- Scholten, O. E., De Bock, T. S. M., Klein-Lankhorst, R. M. and Lange, W. 1999. Inheritance of resistance to *Beet necrotic yellow vein virus* in *Beta vulgaris* conferred by a second gene for resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 740-746.
- Scholten, O. E. and Lange, W. 2000 Breeding for resistance to rhizomania in sugar beet: a review. *Euphytica*, 112: 219-231.
- Şiray, A. 1990. Şeker pancarı tarımı. Pankobirlik Yayınları, No: 2, Ankara, 128.
- Tamada, T., Baba, T. and Abe, H. 1971. A virus isolated from sugar beet showing Rizomania like symptoms and its transmission in soil. *Proceedings of the Sugar Beet Research Association of Japon*, 13: 179-186.
- Tamada, T. and Baba, T. 1973. *Beet necrotic yellow vein virus* from "Rhizomania" Affected Sugar Beet in Japan. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 39: 325-352.
- Tamada, T. 1975. *Beet necrotic yellow vein virus*. CMI/ABB. *Descriptions of Plant Viruses*, 144.

- Tamada, T., Shirako, Y., Abe, H., Saito, M., Kiguchi, T. and Harada, T. 1989. Production and pathogenicity of isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* with different numbers of RNA components. *Journal of General Virology*, 70, 3399-3409.
- Tamada, T., Saito, M., Kiguchi, T. and Kusume, T. 1990. Effect of Isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* with different of RNA components on the development of rhizomania symptoms. 1st Proceedings Symposium International Working Group Plant Viruses Fungal Vectors, 21-24 August, 41-44, Braunschweig, Germany.
- Tamada, T., Kusume, T., Uchino, H., Kiguchi, T. and Saito, M. 1996. Evidence that *Beet necrotic yellow vein virus* RNA 5 is involved in symptom development of sugar beet roots. Proceedings 3rd Symposium International Working Group Plant Viruses Fungal Vectors, 6-7 August, 49-52, Dundee, Scotland.
- Tamada, T. 1999. Benyviruses. In: Encyclopedia of Virology. Second Edition. R. G. Webster and A. Granoff, eds. Academic Press, London, 154-160.
- Tamada, T., Uchino, H., Kusume, T. and Saito, M. 1999. RNA 3 deletion mutants of *Beet necrotic yellow vein virus* do not cause rhizomania in sugar beets. *Phytopathology*, 89, 1000-1006.
- Tamada, T. 2002. *Beet necrotic yellow vein virus*. CMI/AAB description of plant viruses. Association of Applied Biologists. Wellesbourne UK. <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=391>
- Tamada, T., Miyanishi, M., Kondo, H., Chiba, H. and Han, G. 2002. Pathogenicity and molecular variability of *Beet necrotic yellow vein virus* isolates from Europe, Japan, China and The United States. In: Rush, C. M., Merz, U., eds. 5th Symposium International Working Group Plant Viruses Fungal Vectors, 22-25 July, 13-16, Zurich, Switzerland.
- Tamada, T. 2007. Susceptibility and resistance of *Beta vulgaris* subsp. *maritima* to foliar rub-inoculation with *Beet necrotic yellow vein virus*. *Journal of General Plant Pathology*, 73: 76-80.
- Tamura, K. and Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10: 512-526.
- Thompson, J. D, Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-80.
- Tuitert, G. 1990. Assessment of the inoculum potential of *Polymyxa betae* and *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) in soil using the most probable number method. *Netherland Journal of Plant Pathology*, 96: 331-341.

- Tuitert, G., Vanoorschot, P. and Heijbroek, W. 1994. Effect of sugar-beet cultivars with different levels of resistance to *Beet necrotic yellow vein virus* on transmission of virus by *Polymyxa betae*. *European Journal of Plant Pathology*, 100: 201-220.
- Wang, Y., Fan, H., Wang, X. B., Li, M., Han, C. and Yu, J. 2011. Detection and characterization of spontaneous internal deletion mutants of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA-3 from systemic host *Nicotiana benthamiana*. *Virology Journal*, 8: 335.
- Ward, L., Koenig, R., Budge, G., Garrido, C., McGrath, C., Stubbley, H. and Boonham, N. 2007. Occurrence of two different types of RNA-5-containing *Beet necrotic yellow vein virus* in the UK. *Archives of Virology*, 152: 59-73.
- Weiland, J. J., Bornemann, K., Neubauer J., Khan, M. F. and Bolton, M. 2019. Prevalence and Distribution of *Beet necrotic yellow vein virus* strains in North Dakota and Minnesota. American Physical Society Publications, doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-19-0360-RE>
- Whitney, E. D. and Duffus, J. E. 1991. Rhizomania (*Beet necrotic yellow vein virus*). Compendium of Beet Diseases and Insects, APS Pres, 76, USA.
- Whitney, E. D. and Duffus, J. E. 1995. Rhizomania (*Beet necrotic yellow vein virus*). Compendium of Beet Diseases and Insects. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 29-30.
- Winner, C. 1984. Viröse Wurzelbartigkeit (Rizomania) der Beta-Rübe als Herausforderung Für Forschung und Resistenzzüchtung. *Zuckerindustrie*, 109, 113-120.
- Vardar, B. and Erkan S. 1992. The first studies on the detection of *Beet necrotic yellow vein virus* in sugar beet Turkiye. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 21 (2-3), 71-9.
- Verchot Lubicz, J., Rush, C., Payton, M. and Colberg, T. 2007. *Beet necrotic yellow vein virus* accumulates inside resting spores and zoosporangia of its vector *Polymyxa betae* BNYVV infects *P. betae* . *Virology Journal*, 4:37.
- Von Regenmortel, M. H. V., Fauquet, C. M., Bishop, D. H. L., Carstens, E. B., Estes, M. K., Maniloff, J., Mayo, M. A., McGeoch, D. J., Pringle, C. R. and Wickner, R. B. 2000. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses, 7th Report of the International on Taxonomy of Viruses, Academic Press, 904-922.
- Yardımcı, N. and Çulal Kılıç, H. 2011. Identification of *Beet necrotic yellow vein virus* in lakes district: A major beet growing area in Turkey. *Indian Journal of Virology*, 22 (2), 127-130.
- Yardımcı, N., Çulal Kılıç, H. ve Ürgen, G. 2012. Eskişehir ili şeker pancarı üretim alanlarında görülen bazı virüs hastalıklarının DAS-ELISA yöntemiyle belirlenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 7(1), 42-50.

Zhuo, N., Jiang, N., Zhang, C., Zhang, Z. Y., Zhang, G. Z., Han, C. G. and Wang, Y. 2015. Genetic diversity and population structure of *Beet necrotic yellow vein virus* in China. *Virus Research*, 205: 54-62.



EKLER

EK 1. Türk izolatlarına ait RNA-3 segmentinin p25 bölgesini içeren kısmi baz dizilerinin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile nükleotit düzeyinde karşılaştırılması

EK 2. Türk izolatlarına ait p25 proteininin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile amino asit düzeyinde karşılaştırılması

EK 3. ELISA Testinde Kullanılan Tampon çözeltiler

EK 4. Hoagland Solüsyonu



EK 1. Türk izolatlarına ait RNA-3 segmentinin p25 bölgesini içeren kısmi baz dizilerinin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile nükleotit düzeyinde karşılaştırılması

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No	Baz No
Dayanıklılık Kıranlar						
2	IGDR-2	<i>RzI+C48+mg</i>	Iğdır	1	AGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
2	IGDR-F-2	<i>RzI+Rz2</i>	Iğdır	1	AATGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
2	IGDR-R-2	<i>RzI+Rz2</i>	Iğdır	1	AATGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
210	ESKR-210	<i>RzI+C48+mg</i>	Eskişehir	1	TGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
281	KAST-281	<i>RzI+C48+mg</i>	Kastamonu	1	AAATTGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
281	KAST-281	<i>RzI+Rz2</i>	Kastamonu	1	AAATTGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
359	KNYA-359	<i>RzI+C48+mg</i>	Konya	1	AAATTGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
359	KNYA-359	<i>RzI+Rz2</i>	Konya	1	AGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
386	KNYA-386	<i>RzI+Rz2</i>	Konya	1		60
418	KNYA-418	<i>RzI+C48+mg</i>	Konya	1	TGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
604	KTHY-604	<i>RzI+C48+mg</i>	Kütahya	1	AAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
604	KTHY-604	<i>RzI+Rz2</i>	Kütahya	1	AAATTGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
614	ANKR-614	<i>RzI+C48+mg</i>	Ankara	1	AATGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
614	ANKR-614	<i>RzI+Rz2</i>	Ankara	1	GTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
312	YZGT-312	<i>RzI+Rz2</i>	Yozgat	1	AATTGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
44	ELZĞ-44	<i>rzI</i>	Elazığ	1	AAATTGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
134	KRKL-134	<i>rzI</i>	Kırklareli	1	AAATTGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
259	AFYN-259	<i>rzI</i>	Afyon	1	GTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
291	ADPZ-291	<i>rzI</i>	Adapazarı	1	AAATTGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
431	KNYA-431	<i>rzI</i>	Konya	1	AAATTGAGTGTCAAGTGAATAAGCATAGTGACCCCATCGTTTCAGGGTAGTTGACGGCTA	60
AB563046	CH4		Çin	I		60
AB207807	FP		Fransa	II		60
AB563081	GM		Almanya	III		60

EK 1. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No	Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdır		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		61	TTAATAGACATATTACAAACGCTTCTCTTTATTTATCACCAACATGGGATGTAATGTTTA 120
AB563046	CH4		Çin	I	61	120
AB207807	FP		Fransa	II	61	120
AB563081	GM		Almanya	III	61	120

EK 1. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		121	TGCCTGAGCCTACGGCCGCATTGTAAAATTAGTGGTTTTGAATTTCTATTCTTCGGAATA	180
AB563046	CH4		Çin	I	121		180
AB207807	FP		Fransa	II	121		180
AB563081	GM		Almanya	III	121		180

EK 1. (Devam)

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No	Baz No	
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		181	TACAAGGTTTAAAAAGACCAGCATTGGGTTAAAAATTTTTAAACCTTACTATCTTAACT	240
AB563046	CH4		Çin	I	181		240
AB207807	FP		Fransa	II	181		240
AB563081	GM		Almanya	III	181		240

EK 1. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No		Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTATTGTGTTTCTGATC	300
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTATTGTGTTTCTGATC	300
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTATTGTGTTTCTGATC	300
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		241	AGTAACTCGAACTCGATTCATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		241	AGTAACTCGAACTCGATTCATATTCAGATTTTAAATATCGAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		241	AGTAACTCGAACTCGATTTATATTCAGATTTTAAATATCAAGTTGTTGTGTTTCTGATC	300
AB563046	CH4		Çin	I	241		300
AB207807	FP		Fransa	II	241		300
AB563081	GM		Almanya	III	241		300

EK 1. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No		Baz No
Dayanıklılık Kıranlar							
Start Codon							
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		301	ATCATTAAGTGACCGTC ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
AB563046	CH4		Çin	I	301	ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
AB207807	FP		Fransa	II	301	ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360
AB563081	GM		Almanya	III	301	ATG GGTGATATATTAGGCGCAGTTTATGATTTAGGGCACAGAC	360

EK 1. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No		Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	Iğdır		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	Iğdır		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	Iğdır		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
AB563046	CH4		Çin	I	361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
AB207807	FP		Fransa	II	361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420
AB563081	GM		Almanya	III	361	CTTACCTAGCACGGCGTACGGTTTATGAGGATCGTTTGATICTTAGCACACATGGTAATA	420

EK 1. (Devam)

İzolasyon No/ Genbank Acces. No	İzolasyon Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdır		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
AB563046	CH4		Çin	I	421	TCTGTCGGGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
AB207807	FP		Fransa	II	421	TCTGTCGAGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480
AB563081	GM		Almanya	III	421	TCTGTCGAGCTATTAACTTGTTAACTCACGATAATCGTACTACACTGGTGTATCACAATA	480

EK 1. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No		Baz No
Dayanıklılık Kıranlar							
Değişken Bölge							
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
AB563046	CH4		Çin	I	481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
AB207807	FP		Fransa	II	481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540
AB563081	GM		Almanya	III	481	ATACTAAACGCATAAGGTTTCGTGGATTATTGTGTGCTTCATGGGCCTTATTGTGGGT	540

EK 1. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No	Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
AB563046	CH4		Çin	I	541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
AB207807	FP		Fransa	II	541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600
AB563081	GM		Almanya	III	541	TTCGTGCCTTATGTAGAGTAATGTTATGTTCTCTACCTCGTTTGTGTGACATCCCTATCA 600

EK 1. (Devam)

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	P25 grubu	Baz No		Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTACAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
AB563046	CH4		Çin	I	601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
AB207807	FP		Fransa	II	601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660
AB563081	GM		Almanya	III	601	ATGGATCTCGCGACTTTGTTGCAGATCCTACCAGACTCGACAGCTCTGTTAATGAGTTGC	660

EK 1. (Devam)

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No		Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
AB563046	CH4		Çin	I	661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
AB207807	FP		Fransa	II	661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720
AB563081	GM		Almanya	III	661	TGGTTTCTAATGGTCTCGTCATCCACTATGATCGTGTTCAATGTTCCCATACACACTG	720

EK 1. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No		Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdır		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
AB563046	CH4		Çin	I	721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
AB207807	FP		Fransa	II	721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780
AB563081	GM		Almanya	III	721	ATGGTTTGAAGTTGTAGATTTCACGACTGTCTTTCGTGGTCC	780

EK 1. (Devam)

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No		Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		781	CTAATGCACAAATTTCCCTCGGTCACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGTCACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGTCACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
AB563046	CH4		Çin	I	781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCAACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
AB207807	FP		Fransa	II	781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGTCACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840
AB563081	GM		Almanya	III	781	CTAATGCAACAAATTTCCCTCGGCCGACCACAACCGATCAGGTTTACATGGTGTGTTGG	840

EK 1. (Devam)

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No		Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdir		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
AB563046	CH4		Çin	I	841	CAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
AB207807	FP		Fransa	II	841	TAAACACGGTTAATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900
AB563081	GM		Almanya	III	841	TAAACACGGTTGATTGTGTGTTACGTTTTGAGTCCGAACTTACAGTGTGGGTTCACTCTG	900

EK 1. (Devam)

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No	Baz No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	Iğdır		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	Iğdır		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	Iğdır		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
AB563046	CH4		Çin	I	901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
AB207807	FP		Fransa	II	901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960
AB563081	GM		Almanya	III	901	GTTTGTATACAGGTGATGTTTTAGATGTGGATAATAATGTTATTCAAGCCCCTGACGGTG 960

EK 1. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	P25 Grubu	Baz No	Baz No
Stop Codon						
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+mg</i>	İğdır		961	TTGATGATGATGATTAG 978
2	IGDR-F-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		961	TTGATGATGATGATTAG 978
2	IGDR-R-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdır		961	TTGATGATGATGATTAG 978
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+mg</i>	Eskişehir		961	TTGATGATGATGATTAG 978
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kastamonu		961	TTGATGATGATGATTAG 978
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu		961	TTGATGATGATGATTAG 978
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		961	TTGATGATGATGATTAG 978
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		961	TTGATGATGATGATTAG 978
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya		961	TTGATGATGATGATTAG 978
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+mg</i>	Konya		961	TTGATGATGATGATTAG 978
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+mg</i>	Kütahya		961	TTGATGATGATGATTAG 978
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya		961	TTGATGATGATGATTAG 978
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+mg</i>	Ankara		961	TTGATGATGATGATTAG 978
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara		961	TTGATGATGATGATTAG 978
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat		961	TTGATGATGATGATTAG 978
44	ELZÇ-44	<i>rz1</i>	Elazığ		961	TTGATGATGATGGTTAG 978
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli		961	TTGATGATGATGATTAG 978
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon		961	TTGATGATGATGATTAG 978
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı		961	TTGATGATGATGATTAG 978
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya		961	TTGATGATGATGATTAG 978
AB563046	CH4		Çin	I	961	TTGATGATGATGATTAG 978
AB207807	FP		Fransa	II	961	TTGATGATGATGATTAG 978
AB563081	GM		Almanya	III	961	TTGATGATGATGATTAG 978

EK 2. Türk izolatlarına ait p25 proteininin Dünya'daki bazı BNYVV izolatları ile amino asit düzeyinde karşılaştırılması

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	aa. No		21	28	35	40	49	57	62	aa. No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	İğdir	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
2	IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
2	IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Eskişehir	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Kastamonu	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Konya	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Konya	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Kütahya	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Ankara	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
44	ELZÇ-44	<i>rz1</i>	Elazığ	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
BAJ23766	CH4		Çin	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
BAD91210	FP		Fransa	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62
BAJ23801	GM		Almanya	1	MGDILGAVYDLGHRPYLARR	VYEDRLI	LSTHGN	I	CRAINLL	LLTHDNRT	TLVYHNNT	KRIRFR	62

EK 2. (Devam)

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	aa. No	aa. No
				67 70	118
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	İğdir	63	GLLCA S HG P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
2	IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir	63	GLLCA S HG P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
2	IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir	63	GLLCA F HG P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Eskişehir	63	GLLCA C HG P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Kastamonu	63	GLLCA A H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu	63	GLLCA C HG P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Konya	63	GLLCA V H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	63	GLLCA V H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	63	GLLCA A H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Konya	63	GLLCA D H G YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Kütahya	63	GLLCA A H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya	63	GLLCA A H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Ankara	63	GLLCA A H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara	63	GLLCA A H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat	63	GLLCA A Y H G YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ	63	GLLCA L H G YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli	63	GLLCA A H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon	63	GLLCA C H G Y R GFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı	63	GLLCA A H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya	63	GLLCA A H H G P YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
BAJ23766	CH4		Çin	63	GLLCA C H G YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
BAD91210	FP		Fransa	63	GLLCA S Y H G YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S N G L 120
BAJ23801	GM		Almanya	63	GLLCA A Y H R YCGFRALCRV M LC S LPRLCDIPINGSRDFVADPTRL D SSV N ELLV S T G L 120

EK 2. (Devam)

İzolat No/ Genbank Acces. No	İzolat Adı	Genotip	Orjin	aa. No	129	132	146	163	169	178	179	aa. No
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	İğdir	121	VIHYDRVH	NVPL	HTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
2	IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir	121	VIHYDRVHHVPL		HTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
2	IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir	121	VIHYDRVHHVPL		HTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Eskişehir	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Kastamonu	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Konya	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Konya	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Kütahya	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Ankara	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya	121	VIHYDRVHHVPL		LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
BAJ23766	CH4		Çin	121	VIHYDRVH	NVPL	LHTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLANTVNC				180
BAD91210	FP		Fransa	121	VIHYDRVH	NVPL	HTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180
BAJ23801	GM		Almanya	121	VIHYDRVH	DVPL	HTDGFEVVDFTTVFRGPGNFLLPNATNFPR	STTTDQVYMVCLVNTVNC				180

EK 2. (Devam)

İzolot No/ Genbank Acces. No	İzolot Adı	Genotip	Orjin	aa. No	192	198	211	219	aa. No	
2	IGDR-2	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	İğdir	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
2	IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
2	IGDR-2	<i>Rz1+Rz2</i>	İğdir	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
210	ESKR-210	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Eskişehir	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
281	KAST-281	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Kastamonu	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
281	KAST-281	<i>Rz1+Rz2</i>	Kastamonu	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
359	KNYA-359	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Konya	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
359	KNYA-359	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
386	KNYA-386	<i>Rz1+Rz2</i>	Konya	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
418	KNYA-418	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Konya	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
604	KTHY-604	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Kütahya	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
604	KTHY-604	<i>Rz1+Rz2</i>	Kütahya	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
614	ANKR-614	<i>Rz1+C48+minör gen</i>	Ankara	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
614	ANKR-614	<i>Rz1+Rz2</i>	Ankara	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
312	YZGT-312	<i>Rz1+Rz2</i>	Yozgat	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
44	ELZĞ-44	<i>rz1</i>	Elazığ	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
134	KRKL-134	<i>rz1</i>	Kırklareli	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
259	AFYN-259	<i>rz1</i>	Afyon	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
291	ADPZ-291	<i>rz1</i>	Adapazarı	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
431	KNYA-431	<i>rz1</i>	Konya	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
BAJ23766	CH4		Çin	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
BAD91210	FP		Fransa	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219
BAJ23801	GM		Almanya	181	VLRFESELT	VVHSGLY	TGDVLDVDN	NVIQ	APDGVDDDD	219

EK 3. ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

-Fosfat Tamponu Salin (PBS) (pH= 7.4)

8.0 g NaCl, 0.2 g KHPO₄, 0.2 g KCl, 0.2 g NaN₃, 2.9 g Na₂HPO₄

Bu kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı 0.1 M NaOH veya 0.1 M HCL ile ayarlanıp 4°C'de muhafaza edilmiştir.

-Kaplama Tampon Çözeltisi (pH= 9.6)

1.59 g Na₂CO₃, 2.93 g NaHCO₃, 0.2 g NaN₃

Yukarıda belirtilen kimyasallar 1 litre saf suda eritildikten sonra pH'sı ayarlanmış ve 4°C'de muhafaza edilmiştir. Her kullanımdan önce pH kontrolü yapılmıştır.

-Yıkama Tampon Çözeltisi

1 lt PBS'e 0.5 ml Tween-20 eklenilip karıştırılmıştır.

-Ekstraksiyon Tampon Çözeltisi

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

-Konjugat Tampon Çözeltisi

Ekstraksiyon tampon çözeltisi, aynı zamanda konjugat tampon çözeltisi olarak da kullanılmıştır.

-Substrat Tampon Çözeltisi

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

EK 4. Hoagland Solüsyonu

Tuzak bitki testi çalışmaları sırasında şeker pancarı bitkilerinin sulanması amacıyla kullanılan Hoagland besin solüsyonu A, B ve C olmak üzere üç stok solüsyondan oluşmaktadır (Dijkstra ve De Jager, 1998).

-A Solüsyonu

5.06 g KNO_3 , 1.36 g KH_2PO_4 , 4.93 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 12.40 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve 5.85 g NaCl maddeleri 1 litre saf suda eritilmiştir.

-B Solüsyonu

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

-C Solüsyonu

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

Hoagland besin solüsyonunun hazırlanması için A solüsyonundan 600 ml, B ve C solüsyonlarından 15'er ml alınmış ve bu üç solüsyonun karışımı saf su kullanılarak 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Hüseyin UZUNBACAK
Doğum Yeri : Vezirköprü/Samsun
Doğum Tarihi : 05.05.1988
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Vezirköprü Anadolu Lisesi (2006)
Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2008-2012)
Yüksek Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı (2012-2019)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Bafra Tahıl Üreticileri Tarımsal Birliği-Tarım Danışmanı (2015-2017)
Türkiye Tarım Kredi Kooperatifleri Samsun Bölge Birliği Müdürlüğü (2017-Halen)

Yayınlar

Kutluk Yılmaz, N. D., Arlı-Sökmen, M., Kaya, R., Uzunbacak, H., 2016. Türkiye’de şeker pancarı alanlarından izole edilen *Beet necrotic yellow vein virus* ’ün p25 proteinindeki tek amino asitlik silinmenin patojenitedeki etkisi. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. 5-8 Eylül 2016, Konya. s.716. (Özet)

Kutluk Yılmaz, N. D., Arlı-Sökmen, M., Kaya, R., Uzunbacak, H., 2016. Türkiye şeker pancarı üretim alanlarında dayanıklılık kıran *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) izolatlarının dağılımı. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. 5-8 Eylül 2016, Konya. s.682. (Özet)

Güngör, M., Uzunbacak, H., Kutluk Yılmaz, N. D., Şevik, M. A., 2016. Samsun ilinde ıspanakta enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. 5-8 Eylül 2016, Konya. s.699. (Özet)

Güngör, M., Uzunbacak, H., Kutluk Yılmaz, N. D., Şevik, M. A., 2017. Samsun ili ıspanak üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi/ Anadolu J. Agr. Sci., 32: 164-168. (Uluslararası Hakemli)

Uzunbacak, H., Kutluk Yılmaz, N. D., Arlı-Sökmen, M., 2018. Molecular and Host Reaction Studies On Resistance-Breaking *Beet necrotic yellow vein virus* Isolates in Turkey. IX. International Agriculture Symposium'AGROSYM 2018'. 4-7 October 2018, Jahorina-Bosnia and Herzegovina. (Abst.)

Kutluk Yılmaz, N. D., Uzunbacak, H., Arlı-Sokmen, M., Kaya, R., 2018. Distribution of Resistance-Breaking Isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* differing in virulence in Sugar Beet Fields in Turkey. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science, 68 (6): 546-554. (SCI)

