



Araştırma Makalesi

Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamya İzolatının Tüm Genom Analizi

Gözde DEMİR¹, Savaş KORKMAZ^{1*}

ÖZ

Turnip mosaic virus (TuMV) dünyada konukçusu olduğu bitkilerin yetiştirildiği bölgelerde ekonomik düzeyde zarara neden olmaktadır. Dünyada son yıllarda yapılan bir çalışmada virüsün Brassicaceae familyasındaki bitkilerin dışında bamyayı da enfekte ettiği belirlenmiştir. Bu çalışma kapsamında bamyayı enfekte eden bir TuMV izolatının tüm genom dizi analizi yapılmıştır. Genom dizilimi belirlenen bamya TuMV izolatının diğer ülkelerdeki izolatlar ile karşılaştırılması sonucunda nükleotit düzeyinde %77-93, amino asit düzeyinde ise %89-97 oranında benzerliklere sahip olduğu bulunmuştur. Filogenetik analizler sonucunda ise bamya TuMV izolatının basal-B filogenetik grubunda yer aldığı görülmüştür. Bu çalışma ile ülkemizde ilk defa bamyayı enfekte eden bir TuMV izolatının genom düzeyinde moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: RT-PCR, benzerlik, filogenetik

The Complete Genome of Turkish Turnip Mosaic Virus Isolate Infecting Okra

ABSTRACT

Turnip mosaic virus (TuMV) causes economic damage to its hosts worldwide. In recent studies conducted in the world, it was determined that the TuMV infects okra besides the plants in Brassicaceae family. In this study, the complete genome sequence analysis of a TuMV isolate infecting okra was performed. The multiple sequence comparisons with world isolates showed that the okra isolate had 77–93% and 89–97% similarities at the nucleotide and amino acid levels, respectively. Moreover, it was found that the okra TuMV isolate was included in the basal-B phylogenetic group. With this study, the molecular characterization of a TuMV isolate infecting okra in Turkey was carried out for the first time at the complete genome level.

Keywords: RT-PCR, similarity, phylogenetic

ORCID ID (Yazar sırasına göre)

0000-0002-1377-4350, 0000-0001-8227-3800

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 29.04.2021

Kabul Tarihi: 22.06.2021

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 17100 Çanakkale, Türkiye

E-posta: skorkmaz@comu.edu.tr

Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamyaya İzolatının Tüm Genom Analizi

Giriş

Ülkemizin bulunduğu özel coğrafi konumu, farklı iklimlerin görülmesi ve verimli geniş tarım arazilerine sahip olması nedeniyle çeşitli tarım ürünleri yetiştirilmektedir. Bu çeşitlilik sebze yetiştiriciliğinde de önemli bir yere sahiptir (Akbaş ve ark., 2005). Ülkemizde sebze yetiştiriciliği gitgide artmakta olup, üretim son yıllarda neredeyse %4 artarak yaklaşık 30 milyon tonu aşmıştır (TÜİK, 2019).

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

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

Dünyada gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda da birçok farklı konukçu ve ülkelerden TuMV enfeksiyonunun varlığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2017; Shevchenko ve ark., 2018). Ülkemizde de TuMV enfeksiyonu farklı konukçularda tespit edilmiştir (Gökdağ ve ark., 2016; Karanfil ve Korkmaz, 2016, 2020; Korkmaz ve Karanfil, 2017, Korkmaz ve ark., 2020). Ancak dünyada gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda bamyaya bitkisinde TuMV varlığı ilk kez 2001 yılında İsrail'den ve 2019 yılında da ülkemizden bildirilmiştir (Gera ve ark., 2001; Karanfil ve Korkmaz, 2019). Bitki virüs hastalıklarının genetik çeşitliliğinin

belirlenmesinde çok önemli bir yer tutan tüm genom analizleri ise bamyaya bitkisinde şimdiye kadar gerçekleştirilmemiştir. Bu bağlamda bu çalışma kapsamında dünyada ilk kez bamyaya enfekte eden TuMV izolatının tüm genom dizilerinin belirlenerek genbankasında bulunan diğer izolatlar ile göstermiş olduğu filogenetik ilişkiler ve benzerlik sonuçları belirlenmiştir.

Materyal ve Metot

Bu çalışma temel olarak 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada Karanfil ve Korkmaz (2019)'ın Manisa ve İzmir illerinden topladıkları TuMV ile enfekteli olduğu daha önceden tespit edilen bamyaya bitkileri içerisinde araştırmacıların sekanslama çalışmalarına dahil etmedikleri toplam 6 izolat seçilmiştir. Seçilen bu izolatlarda total nükleik asit izalasyonu yapılarak, izolatların Nib+CP (Nuclear Inclusion b +Coat Protein) genleri RT-PCR yöntemi ile çoğaltılmış ve daha sonra sekanslanarak sahip oldukları gen dizimleri çıkarılmıştır. İkinci aşamada dizilemesi yapılan izolatların diğer ülke izolatları ile göstermiş oldukları benzerlik ve filogenetik ilişkilerine göre aralarından bir izolat seçilmiştir. Çalışmanın son aşamasında ise seçilen bu izolatın tüm genom analizi için 5 farklı primer çifti ile bamyaya TuMV izolatının tüm genomu çoğaltılmış ve daha sonra sekanslanarak sahip olduğu gen dizimleri ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen TuMV tüm genom dizimleri kullanılarak bamyaya TuMV izolatının diğer ülkelerdeki TuMV izolatları ile göstermiş olduğu sekans benzerlikleri ve farklılıklarının yanında filogenetik ve evrimsel ilişkileri de ortaya konmuştur.

Virüs İzolatu

Çalışma kapsamında kullanılan bamyaya TuMV izolatları Karanfil ve Korkmaz (2019)'ın Manisa ve İzmir illerinde bamyaya üretim alanlarından topladıkları TuMV ile enfekteli olduğu daha önceden tespit edilen izolatlar arasından tesadüfi olarak seçilmiştir.

Total Nükleik Asit İzalasyonu

TuMV ile enfekteli olduğu daha önceden bilinerek seçilen örnekten toplam nükleik asit

Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamya İzolatının Tüm Genom Analizi

(TNA) izolasyonu Li ve ark. (2008) ve Karanfil (2020)'nin önerileri doğrultusunda CTAB metodu ile 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TNA'ların kalitesi agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildikten sonra, kullanılmaya kadar -80°C'de saklanmıştır.

Komplimentar DNA'ların Sentezlenmesi

Bir RNA virüsü olan TuMV 3' ucunun sonunda poly A kuyruğuna sahiptir. Bu sebeple komplimentar DNA (cDNA)'lar random primer ile elde edilebileceği gibi, oligodT primerler yardımıyla da sentezlenebilmektedir. Bu çalışma kapsamında cDNA'ların eldesinde her iki primerde kullanılmıştır. Nib+CP gen bölgesine göre gerçekleştirilen benzerlik ve filogenetik analizlerde random primer ile elde edilen cDNA'lar kullanılmıştır. Tüm genom analizleri için gerçekleştirilen PCR çalışmalarında ise 3' ucuna yakın bölgenin PCR ile çoğaltılmasında

oligodT ile elde edilen cDNA'lar kullanılırken, ara ve 5' ucuna yakın bölgeler için random primer ile elde edilen cDNA'lar kullanılmıştır. cDNA'ların sentezinde fermantas (Litvanya) firmasından sağlanan kitler kullanılmıştır.

PCR Çalışmaları

Gerçekleştirilen PCR çalışmaları Nib+CP gen bölgesi için Karanfil ve Korkmaz (2019)'un belirttiği PCR koşulları ve primer çifti kullanılarak, tüm genom analizleri için ise Shevchenko ve ark. (2018)'nin belirttiği PCR koşulları ve 5 farklı primer çifti kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 1). Tüm genom analizlerinde kullanılan TuMV izolatı Nib+CP gen dizilimleri göre gerçekleştirilen benzerlik ve filogenetik analiz sonuçlarına göre seçilmiştir. PCR reaksiyonlarında Takara (Japonya) firmasından sağlanan PCR mastermiks kullanılarak ve MJ Mini (Bio-Rad, ABD) PCR cihazında gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. PCR çalışmalarında kullanılan primer çiftleri

Primer kodu	Sekans (5'-3')	Ürün büyüklüğü (bp)
Nib+CP gen bölgesi primer için primer çifti		
TUNIP17P	TGG TTY ATG TCG CAC CAA GG	1178
CP8M	TCC GTG TTC TCT ACC GTT GT	
Tüm genom dizilimlerinin belirlenmesi için primer çiftleri		
Tu5T4P	AAAAATATAAAACTCAACATAACAT	3230
TuP3OP1M	CGCTGTATCTGCCGCCTAAATC	
TuKA1HC11P	TTCATATGGGGTGAGAGAGG	
Tu596K17M	TCTGCGTCAAACATCATGAG	1898
TuP3OP1P	CARAT CTTGACGAAGCATGGA	3008
TuVPG8M	TCAA ATCCATACATGTTGATGAA	
Tu59CI9P	GTGCTTGARGGAGCRAAGTC	
TuNI B14M	ACYGTGTGCTTYGTCACAAG	1691
Tu59NIA3P	GCAARCTAATMTCAGACCTYG	2621
Tu3T9M	GGGG CGCCGCT15	

Sekanslama ve Biyoinformatik Analizler

TuMV izolatlarının Nib+CP gen dizilimleri çift yönlü olarak sanger sekanslama metodu ile BM Labosis firmasından hizmet alımı alınarak gerçekleştirilmiştir. Seçilen TuMV izolatının tüm genom dizilimine ait veriler ise yeni nesil dizileme (NGS) metodu temelli olarak amplikon dizileme hizmeti ile FicusBio firmasından hizmet alımı alınarak gerçekleştirilmiştir. Biyoinformatik analizlerde CLC Main

Workbench, CLC Genomic bench, MEGAX ve SDT programlarından yararlanılmıştır (Muhire ve ark., 2014). Ayrıca bu çalışmalarda kullanılan diğer ülkelerdeki TuMV izolatlarına ait veriler Çizelge 2'de verilmiştir. Seçilen izolatların diğer ülkelerdeki TuMV izolatları ile göstermiş oldukları benzerlik oranları nükleotit ve amino asit düzeyinde yüzde olarak belirlenmiştir. Ayrıca filogenetik analizler ile de bamya TuMV izolatının ait olduğu grup belirlenmiştir.

Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamya İzolatının Tüm Genom Analizi

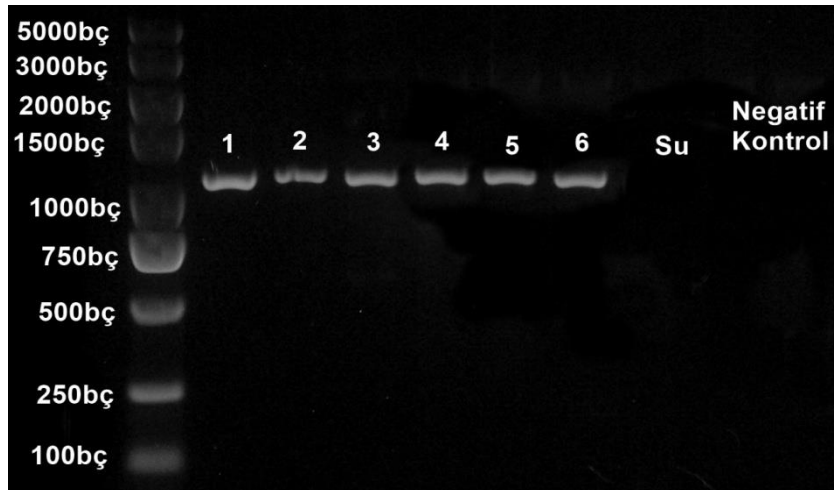
Çizelge 2. Benzerlik ve filogenetik analizlerde kullanılan diğer ülkelerdeki turnip mosaic virus izolatlarının isimleri ve erişim numaraları

İzolat	Erişim Numarası	İzolat	Erişim Numarası	İzolat	Erişim Numarası
GRC42	AB252117	OMA	AB701691	IRNTOFS3	AP017800
GRC43	AP017756	OM	AB701690	IRNCV1	AP017752
GRC39	AP017840	ORM	AB701692	IRNTuSh18	AP017808
ITA1A	AB701720	OS	AB701693	IRNS1	AP017788
ITA8	AB189014	DEU4	AB701701	IRNRN6	AP017785
Cal1	AB093601	HRD	AB093627	IRNRaNi3	AP017780
ITA2	AB701721	CH6	AB179888	IRNKhCa	AP017770
TUR242	AP017815	BJ-B01	KC119185	KWB779J	AB252125
TUR10	AP017864	IRNTKE	AP017797	AUST21	AB989637
TUR9	AB362513	IRNRkaraj	AP017784	VIET58	AB747288
TUR77	AP017884	IRNMB6	AP017773	VIET80	AB747293
TUR20	AP017867	IRNTOFS6	AP017801	CZE5	AB188916
BZ1	AB093611	RUS1	AB093606	DNK3	AB701703
CAR37A	DQ648591	CAR51	HQ637383		

Sonuçlar ve Tartışma

Çalışma kapsamında total nükleik asit izolasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Nib+CP genlerinin RT-PCR analizleri için TuMV ile enfekteli olduğu bilinen 6 örnek üzerinden çalışmalar yürütülmüş ve 6 izolatın Nib+CP gen bölgeleri spesifik primer

çiftleri ile çoğaltılmıştır. TuMV Nib+CP genine karşılık gelen 1178 bp büyüklüğünde bant oluşumu seçilen tüm örneklerde gözlenmiştir. Su örneği ve negatif kontrolde ise herhangi bir bant oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 1).



Şekil 1. RT-PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmesi sonucunda oluşan bant görüntüleri (M:100-5000 bp marker; 1, 2, 3, 4, 5, 6: Turnip mosaic virus ile enfekteli izolatlara ait numaralar)

Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamyaya İzolatının Tüm Genom Analizi

Nib+CP gen bölgeleri PCR yöntemi ile çoğaltılan 6 izolat içerisinde seçilen üç izolatın DNA dizilimleri her iki yönden olacak şekilde belirlenmiştir. DNA dizileri elde edilen TuMV izolatlarının (1: CNKOkraa, 2: CNKOkrab ve 3: CNKOkrac) nükleotit ve amino asit dizileri kendi içlerinde ve diğer ülkelerdeki TuMV izolatları ile benzerlik ve filogenetik açıdan karşılaştırılarak tüm genom dizisi belirlenecek bir adet TuMV izolatının seçimi yapılmıştır.

TuMV bamyaya izolatının nükleotit ve amino asit temelli kendi içlerinde ve diğer ülkelerdeki TuMV izolatları ile gösterdiği benzerlik oranları gerçekleştirilen çoklu dizi analizleri sonucunda belirlenmiştir.

CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac TuMV izolatlarının nükleotit ve amino asit temelli kendi içlerinde sırasıyla %98 ve %99'un üzerinde benzerlik gösterdikleri belirlenmiştir.

Karanfil ve Korkmaz (2016), yaptıkları çalışmada CKO1 Türk izolatının nükleik asit dizilimlerine göre gen bankasındaki diğer TuMV izolatları ile karşılaştırmışlardır. Karşılaştırmaları sonucunda CKO1 izolatının nükleotit seviyesinde %88-93 benzerlik aralığına sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Korkmaz ve ark. (2020), tarafından ülkemizde gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, Türk TuMV izolatlarının Nib+CP geninin nükleotit ve amino asit bazlı çoklu dizi karşılaştırması sonucunda Türk TuMV izolatların diğer ülkelerdeki TuMV izolatları ile %83-100 nükleotit ve %90-100 arasında amino asit seviyesinde benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlarla daha önceden yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar birbirini destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

TuMV izolatlarının filogenetik soy ağacının saptanması için gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatlarının diğer ülkelerdeki TuMV izolatları ile genetik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla Nib+CP geninin nükleotit düzeyinde filogenetik ilişkileri araştırılmıştır.

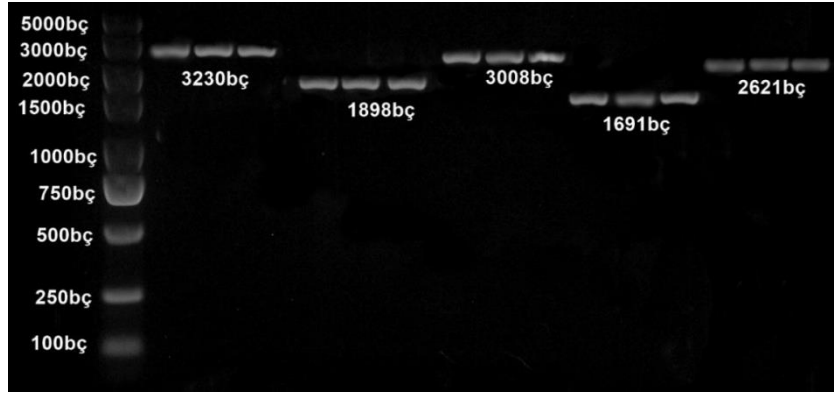
Gerçekleştirilen filogenetik analizler sonucunda CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac TuMV izolatlarının hepsinin basal-B grubuna dahil olduğu bulunmuştur. Karanfil ve Korkmaz (2016), ülkemizde ilk kez bamyada TuMV enfeksiyonunu bildirdikleri çalışmalarında da TuMV izolatlarının basal-B filogenetik grubuna ait olduklarını bildirmişlerdir.

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen ilk aşama olan CP+Nib genine göre yapılan benzerlik çalışmaları CNKOkraa, CNKOkrab ve CNKOkrac izolatları üzerinden yürütülerek sonlandırılmıştır. İkinci aşama için bu 3 izolat birbirleri ile %99'un üzerinde bir benzerlik gösterdikleri için bundan sonraki benzerlik ve filogenetik çalışmaları için CNKOkrab izolatı seçilerek CNKOkra olarak isimlendirilmiştir. Tüm çalışmalar CNKOkra üzerinden yürütülmüştür.

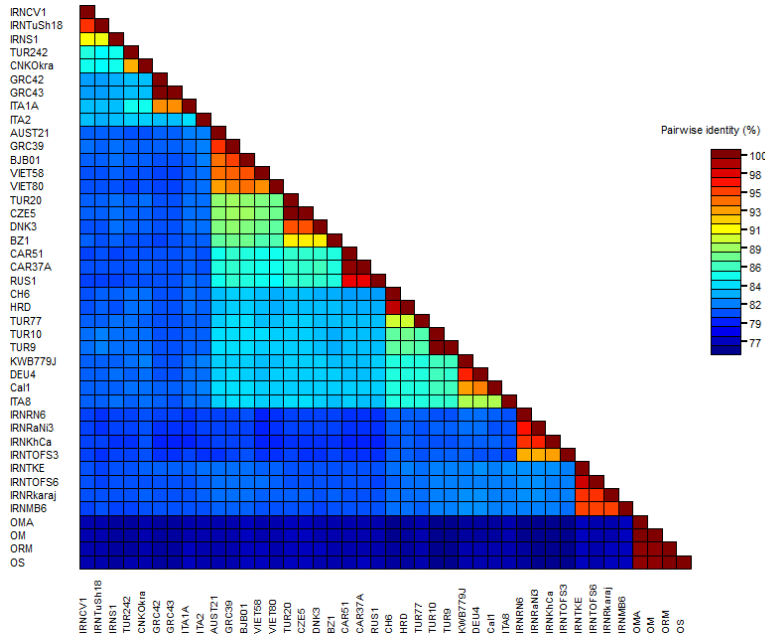
Tüm genom çalışmaları kapsamında seçilen bir adet TuMV izolatına yapılan RT-PCR çalışması sonuçlarında istenilen bant büyüklüklerinin elde edildiği görülmüştür. Tu5T4P ve TuP3OP1M için 3230 bp uzunluğunda, TuKA1HC11P ve Tu596K17M için 1898 bp uzunluğunda, TuP3OP1P ve TuVPG8M için 3008 bp uzunluğunda, Tu59CI9P ve TuNI B14M için 1691 bp uzunluğunda ve Tu59NIA3P ve Tu3T9M için 2621 bp uzunluğunda TuMV tüm genomuna ait istenilen bant uzunlukları elde edilmiştir (Şekil 2).

Çalışma kapsamında seçilen CNKOkra izolatının diğer ülkelerdeki TuMV izolatları ile benzerlik ilişkileri araştırıldığında, nükleotit temelli gerçekleştirilen benzerlik analizi sonucuna göre tüm izolatlar dikkate alındığında %77-93 arasında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. CNKOkra izolatı TUR242 isimli ve AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %93 oranında en yüksek benzerliği gösterirken, en düşük benzerliği ise %77 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 erişim numaralı Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 3).

Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamyı İzolatının Tüm Genom Analizi



Şekil 2. Tüm genom kapsamında yapılan RT-PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmesi sonucunda oluşan bant görüntüleri



Şekil 3. Bamyı turnip mosaic virus izolatlarının tüm genom nükleotid dizilimlerine göre diğer ülkelerdeki izolatlar ile gösterdiği benzerlik oranları

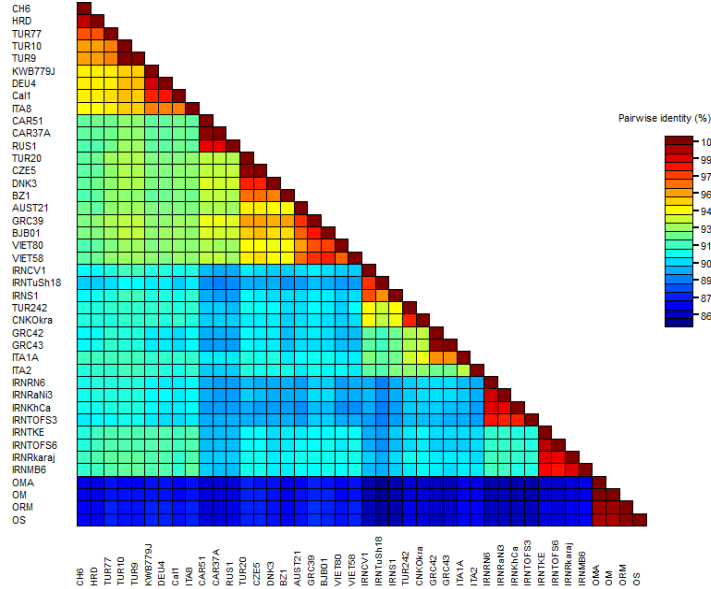
Amino asit düzeyinde tüm genom dizilimlerine göre CNKOkra izolatının gen bankasında bulunan diğer TuMV izolatları ile benzerlik oranları karşılaştırıldığında ise izolatların %86-98 arasında bir benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. CNKOkra izolatı TUR242 isimli ve AP017815 erişim numaralı Türkiye izolatı ile %98 oranında benzerlik gösterirken, en düşük benzerliği ise %86 oranında OMA, OM, ORM ve OS isimli AB701691, AB701690, AB701692 ve AB701693 erişim numaralı Almanya izolatları ile gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4).

Kozubek ve ark. (2007) yaptıkları bir çalışmada *Cochlearia armoracia* bitkisinden elde ettikleri 2 izolatın tüm genom dizilerini ortaya çıkararak bu dizilerin karşılaştırmalarını yapmışlardır. CAR37 ve CAR37A izolatlarının tüm genom karşılaştırmaları sonucunda %86 nükleotid ve %94 amino asit seviyesinde benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Wang ve ark. (2009), tarafından Çin’de gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise WFLB06 ve TANX2 TuMV izolatlarının tüm genom dizilerini belirleyerek karşılaştırmalarını yapmışlardır. Tüm genom dizi

Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamyaya İzolatının Tüm Genom Analizi

karşılaştırmaları sonucunda izolatların %90,98 nükleotit ve %97,22 amino asit düzeyinde benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Gerçekleştirilen bu çalışmalar kapsamında elde edilen bulgular ile bu çalışmada elde edilen bulgular birbiriyle paralellik göstermektedir.



Şekil 4. Bamyaya turnip mosaic virus izolatlarının tüm genom amino asit dizilimlerine göre diğer ülkelerdeki izolatlar ile gösterdiği benzerlik oranları

Bamyaya TuMV izolatının farklı gen bölgelerine göre diğer ülkelerdeki izolatlar ile nükleotit ve amino asit düzeyindeki benzerlik oranları da incelendiğinde bamyaya Türk izolatının genel olarak diğer tüm izolatlar ile nükleotit düzeyinde en düşük %72, en yüksek ise %96 benzerlik gösterdiği görülmüştür. Amino asit düzeyinde ise en düşük %76, en yüksek ise %96 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 3).

Bamyaya TuMV izolatının tüm genom düzeyinde filogenetik ilişkilerin belirlenmesi amacı ile nükleotit düzeyinde filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik soy ağacı literatüre paralel olarak 6 ana gruba ayrıldığı

belirlenmiştir (Yasaka ve ark., 2017). Orchis grubunda 4 izolat, Iranian grubunda 8 izolat, Asian-BR grubunda 5 izolat, basal-BR grubunda 4 izolat, world-B grubunda 12 izolat, basal-B grubunda ise 9 izolat bulunmaktadır. Bamyaya TuMV izolatının da tüm genom nükleotit dizilimleri (Şekil 5) ve sahip olduğu gen bölgelerinin tamamına göre basal-B grubunda olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca basal-B grubunda bulunan bamyaya izolatının bu gruptaki diğer TuMV izolatları ile de göstermiş oldukları benzerlik oranlarının diğer gruplara göre kısmen daha yüksek olması da filogenetik ağaçlardaki grupları doğrulamaktadır (Çizelge 2).

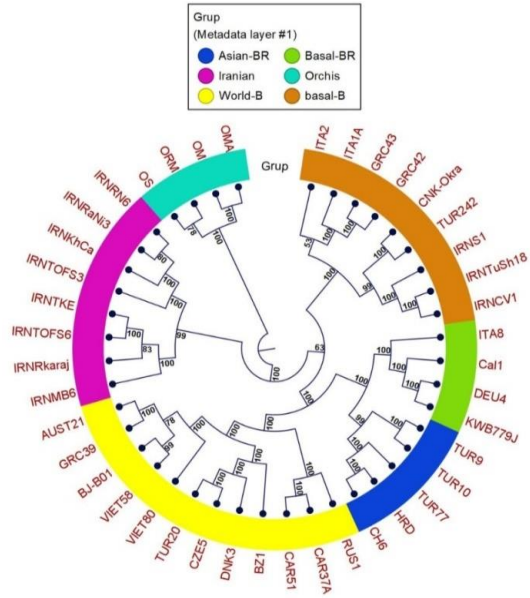
Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamyaya İzolatının Tüm Genom Analizi

Çizelge 3. Türk bamyaya turnip mosaic virus izolatının farklı gen bölgelerine göre diğer ülkelerdeki izolatlar ile nükleotit ve amino asit düzeyinde göstermiş olduğu benzerlik oranları

Genom Bölgesi	Benzerlik Oranı (%)							
	Tüm İzolatlar Göre				basal-B Grubuna Göre			
	Nükleotit		Amino asit		Nükleotit		Amino asit	
	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.
P1	91	72	91	67	91	76	91	76
HC-Pro	94	77	98	91	94	82	98	96
P3	96	72	98	72	96	82	98	85
6K1	93	78	98	92	93	80	98	98
CI	94	78	99	92	94	85	99	97
6K2	87	72	96	74	87	79	96	85
VPG	95	76	98	83	95	82	98	92
NIa	96	76	100	91	96	83	100	98
NIb	89	78	98	91	89	83	98	95
CP	95	83	98	90	95	90	98	92

Farzadfar ve ark. (2009), İran'da yaptıkları çalışmada *Rapistrum rugosum* ve *Sisymbrium loeselii* bitkilerinden elde ettikleri IRNTRa6 ve IRNSS5 izolatlarının genomik RNA'larının tam uzunluktaki dizilerini belirlemişlerdir. Elde ettikleri bu dizilerin filogenetik analizi sonucunda bu iki izolatın basal-B grubunda yer aldığını saptamışlardır. Kim ve ark. (2019) Kore'de gerçekleştirilen başka bir çalışmada da; KIH1 ve HJY1 Kore izolatlarının tam nükleotit dizilerine dayalı gerçekleştirilen filogenetik analizleri sonucunda izolatların genetik ilişkilerini belirlemişlerdir. KIH1 ve HJY1 izolatlarının ve NCBI'da bulunan 38 TuMV izolatları ile karşılaştırılması sonucunda Japonya ve İtalya izolatları ile basal-B grubuna dahil olduğunu belirtmişlerdir. Ülkemizde gerçekleştirilen bir çalışmada Korkmaz ve ark. (2008), biyolojik olarak farklı iki izolatın, TUR1 ve TUR9'un genomik RNA'larının tam uzunluktaki sekanslarını belirlemişlerdir. Elde ettikleri bu dizilerin filogenetik analizi sonucunda, TUR1 ve TUR9 izolatlarının sırasıyla world-B ve Asya-BR gruplarına dahil olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar ile de

TuMV izolatlarının konukçu ve coğrafik orijinden bağımsız olarak filogenetik gruplarının değiştiği öne çıkmaktadır. Bu bağlamda elde edilen sonuçlar birbirini destekler niteliktedir.



Şekil 5. Bamyaya turnip mosaic virus izolatının tüm genomunun nükleotit dizilimleri kullanılarak Neighbor joining (NJ) yöntemi ile oluşturulan filogenetik soy ağacı

Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamyaya İzolatının Tüm Genom Analizi

Gerçekleştirilen bu çalışma kapsamında dünyada ilk kez bamyayı enfekte eden TuMV izolatının tüm genom dizilimleri belirlenmiştir. Bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda moleküler karakterizasyon çalışmalarının TuMV'nin diğer konukçularında da belirlenmesi ve dayanıklılık ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmesi gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma birinci yazarın yüksek lisans tezinden üretilmiş olup, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FYL-2019-3061.

Kaynaklar

- Akbay, C., Candemir, S., Orhan, E. (2005) Türkiye'de yaş meyve ve sebze ürünleri üretim ve pazarlaması. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi* 8 (2): 96-107.
- Asare-Bediako, E., Van der Puije, G.C., Taah, K.J., Abole, E.A., Baidoo, A. (2014) Prevalence of okra mosaic and leaf curl diseases and *Podagrica* spp. damage of okra (*Albelmoschus esculentus*) plants. *International Journal of Current Research and Academic Review* 2 (6): 260-271.
- Farzadfar, S., Tomitaka, Y., Ikematsu, M., Golnaraghi, A. R., Pourrahim, R., Ohshima, K. (2009) Molecular characterisation of turnip mosaic virus isolates from brassicaceae weeds. *European Journal of Plant Pathology* 124 (1): 45-55.
- Gera, A., Lampel M., Cohen, J., Rosner, A. (2001) Okra (*Hibiscus esculentus*)—a new host of turnip mosaic virus in Israel. *Plant Disease* 85 (3): 336.
- Gökdağ, S., Karanfil, A., Korkmaz, S. (2016) Çanakkale ili ıspanak alanlarındaki şalgam mozaik virüsü ve hıyar mozaik virüsü varlığının belirlenmesi. *Bahçe*, özel sayı 2: 166-170.
- Karanfil, A. (2020) Researching of usability of different total nucleic acid isolation

- methods in detection of potyvirus infections by RT-PCR. *International Van Conference on Applied Sciences* 43.
- Karanfil, A., Korkmaz, S. (2019) Bamyaya bitkisinde şalgam mozaik virüsü (turnip mosaic virus)'nün tespiti ve moleküler karakterizasyonu. *Bitki Koruma Bülteni* 59 (3): 79-87.
- Karanfil, A., Korkmaz, S. (2016) Çanakkale ili kanola (*Brassica napus* L.) üretim alanlarında şalgam mozaik virüsü (turnip mosaic virus; TuMV) enfeksiyonunun tanınması ve karakterizasyonu. *Bitki Koruma Bülteni* 56 (2): 185-197.
- Karanfil, A., Korkmaz, S. (2020) Çanakkale ve Tekirdağ illeri kanola üretim alanlarında önemli virüs hastalıklarının tanınması ve karakterizasyonu. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 57 (1): 53-62.
- Kim, I. H., Ju, H.K., Gong, J., Han, J. Y., Seo, E.Y., Cho, S.W., Lim, H.S. (2019) A turnip mosaic virus determinant of systemic necrosis in *Nicotiana benthamiana* and a novel resistance-breaking determinant in Chinese cabbage identified from chimeric infectious clones. *Phytopathology* 109 (9): 1638-1647.
- Korkmaz, S., Karanfil A. (2017) Detection of turnip mosaic virus from brassica plants by serological and molecular methods in Çanakkale, Turkey. *2nd International Balkan Agriculture Congress*, 60.
- Korkmaz, S, Tomitaka, Y., Onder, S., Ohshima, K. (2008) Occurrence and molecular characterization of Turkish isolates of Turnip mosaic virus. *Plant Pathology* 57 (6): 1155-1162.
- Korkmaz, S., Cevik, B., Karanfil, A., Onder, S., Ohshima, K. (2020) Phylogenetic relationships and genetic structure of populations of turnip mosaic virus in Turkey. *European Journal of Plant Pathology* 156 (2): 559-569.
- Kozubek, E., Irzykowski, W., Lehmann, P. (2007) Genetic and molecular variability of a turnip mosaic virus population from horseradish (*Cochlearia armoracia* L.).

Ülkemiz Turnip Mosaic Virus Bamya İzolatının Tüm Genom Analizi

- Journal of Applied Genetics* 48 (3): 295-306.
- Lamont, W.J. (1999) Okra-A versatile vegetable crop. *HortTechnology* 9 (2): 179-184.
- Li, R., Mock, R., Huang, Q., Abad, J., Hartung, J., Kinard, G. (2008) A reliable and inexpensive method of nucleic acid extraction for the PCR-based detection of diverse plant pathogens. *Journal of Virological Methods* 154 (1-2): 48-55.
- Muhire, B.M., Varsani, A., Martin, D.P. (2014) SDT: A virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PLoS One*, 9: 0108277.
- Ohshima, K., Yamaguchi, Y., Hirota, R., Hamamoto, T., Tomimura, K., Tan, Z.Y., Sano, T., Azuhata, F., Walsh, J.A., Fletcher, J., Chen, J.S., Gera, A., Gibbs, A. (2002) Molecular evolution of turnip mosaic virus: evidence of host adaptation, genetic recombination and geographical spread, *Journal of General Virology*, 83 (6): 1511-21.
- Provvidenti, R., Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L. (1996) Turnip mosaic potyvirus, *Viruses of Plants*, CAB International, Wallingford, UK.
- Shevchenko, O., Yasaka, R., Tymchyshyn, O., Shevchenko, T., ve Ohshima, K. (2018) First evidence of the occurrence of Turnip mosaic virus in Ukraine and molecular characterization of its isolate. *Journal of Phytopathology* 166 (6): 429-437.
- Wang, H.Y., Liu, J.L., Gao, R., Chen, J., Shao, Y.H., Li, X.D. (2009) Complete genomic sequence analyses of Turnip mosaic virus basal-BR isolates from China. *Virus Genes* 38 (3): 421-428.
- Yasaka, R., Fukagawa, H., Ikematsu, M., Soda, H., Korkmaz, S., Golnaraghi, A., Ohshima, K. (2017) The timescale of emergence and spread of turnip mosaic potyvirus. *Scientific Reports* 7 (1): 1-14.
- Zheng, G.H., Peng, D.W., Tong, Q.X., Zheng, Z.Z., Ming, Y.L. (2017) Occurrence of turnip mosaic virus in *Phalaenopsis* sp. in China. *Journal of Plant Pathology* 99 (3): 703-706.