



Türkiye’de Şeker Pancarı Üretim Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan Beet Necrotic Yellow Vein Virus İzolatlarının P31 Geninin Moleküler Karakterizasyonu

Molecular Characterization of P31 Gene of Beet
Necrotic Yellow Vein Virus Isolates in Sugar Beet
Production Areas of Turkey

Murat GÜNGÖR¹, Ebru ERKAN², Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ³

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kurupelit, Samsun
• mrtgnr55@gmail.com • ORCID > 0000-0001-8206-7716

²Zirai Karantina Müdürlüğü, Antalya
• ebezya@gmail.com • ORCID > 0000-0001-7710-8042

³Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kurupelit, Samsun
• nazlik@omu.edu.tr • ORCID > 0000-0001-7331-9109

Makale Bilgisi / Article Information

Makale Türü / Article Types: Araştırma Makalesi / Research Article

Geliş Tarihi / Received: 03 Ocak / January 2022

Kabul Tarihi / Accepted: 20 Nisan / April 2022

Yıl / Year: 2022 | **Cilt – Volume:** 37 | **Sayı – Issue:** 3 | **Sayfa / Pages:** 505-524

Atıf/Cite as: Güngör, M., Alaya, F., Erkan, E., Şahin, M., Yılmaz, Kutluk, D. N. "Türkiye’de Şeker Pancarı Üretim Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan Beet Necrotic Yellow Vein Virus İzolatlarının P31 Geninin Moleküler Karakterizasyonu" Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 37(3), Ekim 2022: 505-524.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ

Yazar Notu / Author Note: Bu çalışma, Yüksek Lisans ve doktora tezlerinin bir parçasını içermektedir.

TÜRKİYE'DE ŞEKER PANCARI ÜRETİM ALANLARINDA ENFEKSİYON OLUŞTURAN BEET NECROTIC YELLOW VEIN VİRUS İZOLATLARININ P31 GENİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

ÖZ:

Vektör *Polymyxa betae* ile taşınan ve “rhizomania” olarak da adlandırılan hastalığa yol açan Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), Türkiye’de ve dünyada şeker pancarı üretim alanlarında sıklıkla rastlanan en tahripkar virüs hastalığıdır. Bu çalışmada, Türkiye’nin farklı coğrafik bölgelerinden elde edilen BNYVV izolatlarının, p31 geninin moleküler olarak karakterize edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, BNYVV ile bulaşık olduğu bilinen 17 toprak örneği kullanılmıştır. Özellikle, tuzak bitki testi yöntemine göre BNYVV izolatlarının yeniden çoğaltımı sağlanmıştır.

BNYVV RNA-4’ü tarafından kodlanan p31 proteini, virüsün vektörle etkili olarak taşınması ve virülensi ile ilişkilidir. Bu çalışmada, 12 farklı izolata p31 gen bölgesinin nükleotit dizileri elde edilmiştir. Bu izolatların dünya izolatları ile BLAST analizi ve elde edilen filogenetik ağaç, izolatları; Grup II ve Grup III olmak üzere iki farklı p31 grubuna ayrılmıştır. Grup II’de IGR-6, IGR-9 ve ERC-52 izolatları yer almış, Kas2 izolatu (Kazakistan) ile yüksek nükleotit benzerliğine (% 99.76-% 99.88) sahip olduğu belirlenmiştir. GZP-27, ELZ-44, SMS-61, EDR-125, BRS-148, CNK-150, KAS-281, KYS-524 ve ANK-617 izolatları ise Grup III’de yer almış, IV4 izolatu (İtalya) ile en yüksek benzerlik (% 99.88-% 100) göstermişlerdir. Yürütülen bu çalışma sonucunda, BNYVV izolatlarının p31 genom bölgesine göre genetik ilişkileri ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: BNYVV, *P. betae*, Rhizomania, RNA-4, Sekans Analizi.



MOLECULAR CHARACTERIZATION OF P31 GENE OF BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS ISOLATES IN SUGAR BEET PRODUCTION AREAS OF TURKEY

ABSTRACT

Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV), which is known as “the agent of rhizomania disease” and transmitted by *Polymyxa betae*, is the most destructive and prevalent virus species in sugar beet fields in Turkey and in the world. The objective of this study was to molecularly characterize BNYVV isolates, obtained from different geographical locations of Turkey, based the p31 gene of them. For this purpose, 17 soil samples known to be infested with BNYVV were used. Firstly, BNYVV was propagated as bait plant technique.

P31 protein encoded by BNYVV RNA-4 is associated with efficient vector transmission and virulence. In this study, nucleotide sequences of p31 coding region of 12 different isolates were obtained. The BLAST and phylogenetic analysis divided BNYVV isolates into two different p31 groups as Group II and Group III. The Group II consisted of IGR-6, IGR-9 and ERC-52 isolates and found to have high nucleotide identity with Kas2 isolate (99.76%-99.88%). Also, GZP-27, ELZ-44, SMS-61, EDR-125, BRS-148, CNK-150, KAS-281, KYS-524 and ANK-617 which were divided into Group III had the highest similarity (99.88%-100%) with IV4 isolate (Italy). As a result of this study, genetic relationship among BNYVV isolates according to the p31 genome region were revealed.

Keywords: BNYVV, *P. betae*, Rhizomania, RNA-4, Sequencing.



1. GİRİŞ

Şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.)'nda rhizomania hastalığına Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV; Şeker pancarı nekrotik sarı damar virüsü) neden olmakta (Tamada ve Baba, 1973) ve virüs protozoa vektör *Polymyxa betae* Keskin tarafından taşınmaktadır (Keskin, 1964). Hastalık BNYVV'ye hassas şeker pancarı çeşitlerinin ekiminin yapıldığı tarlalarda yer yer renk açılımı gösteren bitki adacıkları şeklinde göze çarpmaktadır. Bu alanlarda enfekteli bitkilerin yapraklarının rengi açılarak fıstık yeşili bir renk almakta ve aşırı yan kök gelişiminden dolayı köklerde sakallanma oluşmaktadır (Özgür, 2003).

Günümüzde rhizomania, şeker pancarı üretimini tehdit eden en tahripkar hastalık olarak bilinmektedir (Scholten ve Lange, 2000). Nitekim dünya genelinde yetiştirilen şeker pancarının yaklaşık yarısının bu hastalıktan etkilendiği ve pancar üretiminin ise her yıl % 10'luk kayba (yılda yaklaşık 3.6 milyon ton) uğradığı tahmin edilmektedir (Biancardi ve Lewellen, 2016). Özellikle erken dönemde oluşan enfeksiyonlarda, pancar kök verimi ve şeker içeriğinde önemli kayıplar oluşmakta; pancardan elde edilen özsuynun fabrikada işlenmesi de olumsuz yönde etkilenmektedir (Dehnen-Schmutz ve ark., 2020). Hastalığın etkisi ile taze kök ağırlığında % 50, şeker oranında ise % 50-60 ve hatta % 80'e varan oranlarda kayıplar oluşabilmektedir (Asher ve Henry, 1993).

BNYVV, *Benyviridae* familyasının, *Benyvirus* cinsinin bir üyesi olup (Gilmer ve Ratti, 2017) dört ya da beş adet rijit çubuk şeklinde, pozitif sens tek sarmal RNA partiküllerinden oluşmaktadır (Tamada ve ark., 1989). RNA-1 ve RNA-2; replikasyon, viral partiküllerinin bir arada tutulması, hücreden hücreye hareket ve antiviral RNA susturmanın (RNA silencing) baskılanması ile ilgili gen bölgelerini içermektedir (Bouzoubaa ve ark., 1986; Gilmer ve ark., 1992, 2017). RNA-3, şe-

ker pancarında rizomania kök simptomlarının şiddetini belirlerken (Schirmer ve ark., 2005; Tamada ve ark., 1999), RNA-4 ise vektörle taşınmada görev almaktadır (Tamada ve Abe, 1989). Ayrıca, bu segmentin *Nicotiana benthamiana* L. bitkilerinde şiddetli simptom oluşumu (Rahim ve ark., 2007) ve RNA-4'den sentezlenen p31 proteininin ise şeker pancarı köklerinde post transcriptional gene silencing (PTGS)'in baskılanması ile BNYVV'nin virülensinden de sorumlu olduğu bildirilmiştir (Tamada ve Abe, 1989; Tamada ve ark., 1990; Rahim ve ark., 2007). RNA-5 ise şeker pancarı köklerinde oluşan simptomların daha şiddetli hale gelmesi ile ilişkilendirilmektedir (Tamada, 2016).

1990'lı yıllarda, BNYVV izolatları, RNA-2 tarafından kodlanan kılıf protein (KP) genine göre A- ve B-tip olmak üzere iki streyn grubuna ayrılmakta idi (Kruse ve ark., 1994). Bu iki streyn tipi içerisinde yer alan izolatlar dört RNA segmenti içeriyordu. Takiben, ek olarak RNA-5 segmentini içeren, P-tip streyn; başta Fransa (Koenig ve ark., 1997) olmak üzere, Kazakistan (Koenig ve Lennefors, 2000), İngiltere (Ward ve ark., 2007), Almanya (Koenig ve ark., 2008) ve İran (Mehrvar ve ark., 2009)'da rapor edilmiş ve bu streyn tipinin A-tip streyn ile yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir (Miyanishi ve ark., 1999). A-tip BNYVV izolatları dünyada yaygın olarak görülürken (Schirmer ve ark., 2005), B-tip streyn ise Avrupada sınırlı alanlarda (Koenig ve ark., 2008), Japonya (Miyanishi ve ark., 1999) ve Çin (Li ve ark., 2008)'de kayıt edilmiştir. Daha sonra, KP, p25 ve p31 genlerine dayalı filogenetik analizler, dünya çapında BNYVV izolatlarının en az dört orijinal soydan (A-I, A-II, A-III ve B) türeyen, 10 farklı streyn tipinden oluştuğunu göstermiştir. Bu gruplandırmaya göre; her bir streyn içerisindeki BNYVV izolatları coğrafik orjinlerine göre net olarak ayrılmıştır. Örneğin, A-III soyuna ait İtalyan streyni Avrupa, Orta Doğu ve ABD'de saptanmış; B soyundan olan Alman streyni ise; Almanya, Fransa, Belçika, Avusturya, İsviçre, Çekya ve Çin'de ise sınırlı alanlarda tespit edilmiştir. Bu iki streyn tipi de 5. RNA segmentini içermemektedir. A-I ya da A-II soyuna ait olan diğer sekiz streyn (Japon-D, Japon-O, Fransa-P, Çin-B, Çin-H, Çin-Y, Çin-L ve Çin-X) ise, birkaç istisna dışında, Japonya, Fransa ve Çin'den izole edilmişlerdir. Bu streyn grupları içerisinde yer alan birçok izolatin RNA-5'i içerdiği bildirilmiştir (Koenig ve Lennefors, 2000; Chiba ve ark., 2011; Zhuo ve ark., 2015; Tamada ve ark., 2016).

Ülkemizde BNYVV'nin varlığı ilk kez 1987 yılında Amasya Şeker Fabrikası'nın Erbaa ve Taşova bölgeleri ile Alpullu Şeker Fabrikası'nın Keşan ve Uzunköprü bölgelerinde kayıt edilmiştir (Koch, 1987). Daha sonra, yürütülen çalışmalarla Türkiye şeker pancarı üretim alanlarının büyük bir kısmının BNYVV ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Özer ve Ertunç, 2005; Kaya, 2009; Kutluk Yılmaz ve ark., 2010, 2016a; Yardımcı ve Çulal Kılıç, 2011; Özdemir, 2014).

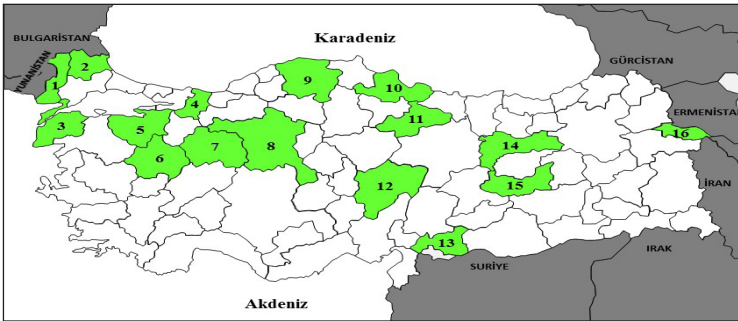
Şu ana kadar gerçekleştirilen çalışmalarla, Türkiye'ye ait bazı BNYVV izolatlarının KP, p25 ve p26 genlerinin moleküler karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir

ve ülkemiz pancar üretim alanlarında A-tip streyn ile Japon ve Çin izolatlarına benzer RNA-5 içeren BNYVV izolatlarının (J-tip) varlığı saptanmıştır (Kruse ve ark., 1994; Kutluk Yılmaz ve ark., 2007, 2016a, 2016b; Özmen ve ark., 2020). Bu çalışmada, BNYVV'nin son taksonomik sınıflandırılması temel alınarak, Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden elde edilen BNYVV izolatlarının, virüsün vektör *P. betae* ile etkin olarak taşınmasında rol oynayan RNA-4 tarafından kodlanan p31 geninin moleküler olarak karakterize edilmesi ve p31 genine göre buldukları grup/grupların ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Toprak Örnekleri

Daha önce yürütülen bir çalışma ile, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarına ait incelenen toprak örneklerinin % 38'inin (240 adet) BNYVV ile bulaşık olduğu saptanmıştır (Kutluk Yılmaz ve ark., 2016a). Bir önceki çalışma ile BNYVV ile bulaşık olarak belirlenen örnekler içerisinde, coğrafik orjinlerine göre seçilen 17 toprak örneği (15'i yüksek lisans, 2'si doktora tez çalışmasına ait) bu çalışmanın ana materyalini oluşturmuştur (Şekil 1, Çizelge 1).



Şekil 1. Çalışmada kullanılan toprak örneklerinin temin edildiği iller. Yeşil renkli ve numaralı alanlar örneklerin temin edildiği illeri göstermektedir. 1: Kırklareli, 2: Edirne, 3: Çanakkale, 4: Bursa, 5: Adapazarı, 6: Kütahya, 7: Eskişehir, 8: Kastamonu, 9: Ankara, 10: Samsun, 11: Tokat, 12: Kayseri, 13: Gaziantep, 14: Erzincan, 15: Elazığ, 16: Iğdır

Figure 1. The provinces where soil samples used in the study were provided. The green colored and numbered areas show the provinces where the samples were obtained. 1: Kırklareli, 2: Edirne, 3: Canakkale, 4: Bursa, 5: Adapazari, 6: Kutahya, 7: Eskisehir, 8: Kastamonu, 9: Ankara, 10: Samsun, 11: Tokat, 12: Kayseri, 13: Gaziantep, 14: Erzincan, 15: Elazig, 16: Igdır

2.2. Şeker Pancarı Tohumları

Bu çalışmada, rhizomania'ya hassas cv. Ansa (*rz1*) şeker pancarı tohumu kullanılmıştır. Bu çeşidin tohumları Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Şeker Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

2.3. Tuzak Bitki Testi Yöntemi

Coğrafik orjinlerine göre seçilen 17 BNYVV ile bulaşık toprak örneği tuzak bitki testi çalışmalarında kullanılmıştır (Şekil 1, Çizelge 1). Ayrıca, BNYVV ve diğer toprak kökenli virüsler (BSBV ve BVQ) ile bulaşık olmadığı bilinen, bir toprak örneği (Kutluk Yılmaz ve ark., 2016a) de negatif kontrol olarak denemelere dahil edilmiştir. Bu topraklar 1: 1 oranında steril kum ile karıştırılmıştır. Daha sonra, bu toprak-kum karışımları plastik saksılara konularak, her birine 10'ar adet BNYVV'e hassas (cv. Ansa) şeker pancarı tohumları ekilmiştir. Her toprak örneği için 2'şer tekerrür uygulanmıştır. Saksılar iklim odasına yerleştirilip 14 saat fotoperiyotta, 20°C (gece) ve 25°C (gündüz) sıcaklıklarda tutularak, haftada bir kez Hoagland besin solüsyonu ile sulanmıştır. Altı haftalık yetiştirme periyodundan sonra bitkiler hasat edilerek, bitki kökleri musluk suyunda yıkanarak topraktan arındırılmıştır (Meunier ve ark., 2003). Daha sonra, bu bitkilerin kök bölgeleri alınmış; ELISA testi ve RNA izolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere ayrı ayrı etiketlenerek -80°C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

2.4. Serolojik Çalışmalar

Tuzak bitki testi sonucu elde edilen şeker pancarı kök örneklerinin bir kısmı Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (DAS-ELISA) testi çalışmalarında kullanılmıştır. DAS-ELISA yöntemi antiserumun temin edildiği firmanın (Bioreba, İsviçre) açıklamaları göz önüne alınarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ELISA mikropleyt okuyucusunda (Tecan Spectra II, Avusturya) 405 nm dalga boyunda absorban değerlerinin alınmasıyla elde edilmiştir. Negatif kontrollerin absorban değerlerinden iki katı ve daha fazla değer veren örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Meunier ve ark., 2003).

2.5. Reverse-Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

BNYVV ile enfekteli (17 adet) ve sağlıklı bitkilerin köklerinden toplam RNA'lar RNeasy RNA İzolasyon Kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak firmanın önerilerine göre izole edilmiştir. BNYVV'nin vektörle taşınmasında etkin RNA-4 tarafından kodlanan p31 proteinine ait bölgenin çoğaltılmasında, Chiba ve ark. (2011)'nin belirttikleri RT-4F (*CAGTCTATCAGTAAGGGGTAG*) ve RT-4R (*GAGCCCGT-TAATACAATTATAC*) primerleri kullanılmıştır. Kullanılan spesifik primerlerden beklenen bant büyüklüğü 977 bp'dir. Tek aşamalı RT-PCR, Superscript I One-Step

RT-PCR System with Platinum Taq DNA Polymerase kiti (Invitrogen, ABD) protokolü takip edilerek uygulanmıştır. RT-PCR reaksiyonu; 3 µ total RNA (10 pg-1 µg), 25 µl 2x reaction 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. Amplifikasyonlar, Bio-Rad MJ Mini PCR Thermocycler'da, 50°C'de 30', 94°C'de 2', 35 döngü olacak şekilde 94°C'de 15", 50°C'de 30" ve 72°C'de 60" ve 1 döngü 72°C'de 7' ile tamamlanmıştır.

PCR ürünleri TBE tampon çözeltisinde hazırlanan % 1'lik agaroz jelde (0.5 µg/ml etidium bromür içeren) 90 mA sürekli akımda elektroforez yöntemi ile analiz edilmiştir. Jeldeki PCR fragmentlerinin analizi ise GelDoc 2000 (Biorad, ABD) görüntüleme sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve jelde oluşan bantların fotoğrafları çekilmiştir.

2.6. Nükleotit Dizi Analizi Ve Beet Necrotic Yellow Vein Virus İzolatlarının Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması

Çoğaltımı sağlanan BNYVV izolatlarına ait PCR ürünlerinden 40'ar µl, önerilen konsantrasyonda hazırlanan (5 pmol) primerler ile birlikte Genoks firmasına (Ankara) gönderilerek, Sanger Dizileme Yöntemi ile sekans analizleri gerçekleştirilmiştir. Sekans analizi sonrasında, MEGA 7 programında (Kumar ve ark., 2016) Clustal W (Thompson ve ark., 1994) yöntemi kullanılarak BNYVV izolatlarına ait her iki yönde (ileri ve geri) elde edilen ham sekans verileri hizalanmış, düzgün okunan kısımlar alınarak konsensus diziler elde edilmiştir. Daha sonra, BNYVV izolatlarına ait bu konsensus diziler; hem kendi aralarında, hem de GenBank'dan indirilen Dünya'daki diğer BNYVV izolatlarına ait sekans verileri ile BLAST analizine tabi tutularak genetik benzerlik veya farklılıkları ortaya konulmuştur. Ayrıca, bu çalışmaya ait BNYVV izolatlarının ve NCBI'dan indirilen referans izolatların nükleotit dizilerinin Clustal W programı kullanılarak çoklu dizi hizalaması yapılmıştır. Takiben, Mega 7 yazılımında 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 54 farklı BNYVV izolatına ait sekans verisi kullanılmıştır (Çizelge 6). Bootstrap değeri olarak 1.000 alınmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, öncelikle Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından coğrafik orjinlerine göre seçilen 17 toprak örneğinde, BNYVV'e hassas Ansa çeşidi tuzak bitki testi yöntemine göre altı hafta süre ile yetiştirilerek, BNYVV izolatlarının yeniden çoğaltımı sağlanmıştır. Takiben, tuzak bitki kök örnekleri BNYVV'ye spesifik anti-serum kullanılarak DAS-ELISA ile test edilmiştir.

Böylelikle, seçilen toprak örneklerinin tamamının BNYVV ile bulaşık olduğu teyit edilmiştir (Çizelge 1). Nitekim, toprak kökenli virüsler toprakta üniform bir dağılım göstermemektedirler (Rush, 2003).

Çizelge 1. Ülkemiz şeker pancarı üretim alanlarında Beet necrotic yellow vein virus'un DAS-ELISA testi ile bulunma durumu ve p31 geninin RT-PCR yöntemi ile araştırılması

Table 1. Presence of Beet necrotic yellow vein virus in sugar beet production areas of Turkey by DAS-ELISA test and investigation of p31 gene by RT-PCR method

Orjin (köy, ilçe, il)	İzolat Adı	Ortalama ELISA Absorbans Değeri*	P31
			RT-PCR**
Ortaköy, Aralık, Iğdır	IGR-6	0.241 (+)	+
Taşburun, Karakoyunlu, Iğdır	IGR-9	2.230 (+)	+
Örtülü, İslahiye, Gaziantep	GZP-27	0.361 (+)	+
Yedigöze, Merkez, Elazığ	ELZ-44	2.926 (+)	+
Merkez, Merkez, Erzincan	ERC-52	2.221 (+)	+
Yukarı Narlı, Vezirköprü, Samsun	SMS-61	2.743 (+)	+
Köseoğlu, Pazar, Tokat	TKT-106	0.544 (+)	-
Bosna, Merkez, Edirne	EDR-125	3.507 (+)	+
Büyük Mandıra, Babaeski, Kırklareli	KRL-134	3.326 (+)	-
Çardak, Yenişehir, Bursa	BRS-148	3.363 (+)	+
Sarıkaya, Biga, Çanakkale	CNK-150	2.669 (+)	+
Merkez, Çifteler, Eskişehir	ESK-225	2.360 (+)	-
Aşağı Çayırıcık, Taşköprü, Kastamonu	KAS-281	2.757 (+)	+
Merkez, Erenler, Adapazarı	ADP-291	0.361 (+)	-
Mahzemin, Merkez, Kayseri	KYS-524	3.193 (+)	+
Gümel, Simav, Kütahya	KTY-602	3.354 (+)	-
Mucar, Ayaş, Ankara	ANK-617	3.508 (+)	+
Sağlıklı Kontrol		0.102 (-)	-

*: Tuzak bitki testi sonrasında uygulanan ELISA testinde 2 h'lik substrat inkubasyonu sonucu elde edilen ELISA değeri ortalamaları; + = negatif kontrolün 2 katından fazla olan ELISA absorbans değerlerini, - : negatif kontrolün 2 katından daha az olan ELISA absorbans değerini ifade etmektedir.

** : RT-PCR testi sonuçları. + : pozitif, - : negatif

Doğada BNYVV'nin taşınması, vektör *P. betae*'nin zoosporları vasıtası ile gerçekleşmektedir (Wang ve ark., 2011). Son yıllarda yürütülen çalışmalar BNYVV'nin vektörle taşınmasında bazı viral proteinlerin özel rollerinin olduğunu ortaya koymuştur. Nitekim, BNYVV'nin vektörle etkili olarak taşınmasında RNA-4 tarafından sentezlenen p31 proteinin önemli işlevi olduğu bildirilmektedir (Tamada ve Abe, 1989; Rahim ve ark., 2007). Bu çalışmada, p31 genine spesifik primerler kullanılarak, cv. Ansa'nın köklerinden izole edilen 17 BNYVV izolatu RT-PCR yöntemi ile analiz edilmiştir. PCR ürünlerinin jel görüntüleme cihazında incelenmesi sonucunda, bu örneklerin 12'sinde bu bölgeye spesifik 997 bp büyüklüğünde bant elde edilmiştir. Ancak, Tokat, Kırklareli, Eskişehir, Adapazarı ve Kütahya illerinden elde edilen diğer 5 örnekte ise, RT-PCR çalışmaları tekrarlanmasına rağmen, p31 genom bölgesi çoğaltılamamıştır (Çizelge 1).

İlave olarak, BNYVV Kılıf Protein+Readthrough (KP+RT) bölgesinin vektörle taşınmada etkin olduğu ve bu bölgenin C-terminal kısmında delesyon (silinme) oluşması durumunda BNYVV'nin taşınmadığı bildirilmiştir. Ayrıca, RT bölgesinin 553.-556. pozisyonlarında yer alan amino asit (aa)'lerde 'KTER' motifinin bulunması durumunda vektörle taşınmanın gerçekleştiği, 'ATAR' motifi olduğunda ise bu taşınmanın bloke edildiği belirtilmiştir (Tamada ve ark., 1996). Bu çalışmada, tuzak bitki testi ile elde edilen bitki köklerine BNYVV'ye spesifik antiserum ile uygulanan DAS-ELISA testi sonucunda, incelenen örneklerin tamamında virüs enfeksiyonunun olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). Dolayısıyla, tüm örneklerde *invitro* koşullarda BNYVV'nin vektör *P. betae* ile hassas şeker pancarı bitkilerine taşındığı belirlenmiştir.

Daha sonra, Iğdır (IGR-6 ve IGR-9), Gaziantep (GZP-27), Elazığ (ELZ-44), Erzin (ERC-52), Samsun (SMS-61), Edirne (EDR-125), Bursa (BRS-148), Kayseri (KYS-524), Çanakkale (CNK-150), Kastamonu (KAS-281) ve Ankara (ANK-617) illeri şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen, 12 BNYVV izolatının p31 genine ait PCR ürünlerinin nükleotid dizileri elde edilmiş ve bu diziler OM032581-OM032592 numaraları altında GenBank'a kayıt edilmiştir (Çizelge 6). Böylece, NCBI'da Türk izolatlarına ait p31 geni ile ilgili ilk veri tabanı oluşturulmuştur. Bu çalışmada, incelenen izolatlarda sekans analizi yapılan bölgenin uzunluğu 849 baz kadar olup, p31 genom bölgesinin tamamını içermektedir. İzolatların kendi aralarındaki ve dünya izolatları ile genetik benzerliklerinin incelenmesi amacıyla NCBI'daki BLASTn ve BLASTp algoritmaları kullanılmıştır.

Bu çalışmada elde edilen BNYVV izolatları, p31 gen bölgesi bakımından BLASTn analizi ile birbirleriyle nükleotid düzeyinde kıyaslandığında; SMS-61, EDR-125, BRS-148 ve KYS-524 izolatlarının % 100 benzer oldukları belirlenmiştir. GZP-27, ELZ-44, CNK-150, KAS-281 ve ANK-617 izolatlarının ise nükleotid düzeyinde birbirleriyle yüksek oranda benzerlik gösterdiği (% 99.76-% 99.88) saptanmıştır.

Diğer taraftan, Iğdır (IGR-6 ve IGR-9) ve Erzincan illerine ait (ERC-52) üç BNYVV izolatının ise, diğer incelenen dokuz izolattan nükleotit düzeyinde oldukça farklılık sergilediği ve en az genetik benzerliğe sahip oldukları tespit edilmiştir (% 97.88-% 98.12) (Çizelge 2). Farklı coğrafik alanlardan elde edilen 12 BNYVV izolatının p31 gen bölgesinde farklılık belirlenen nükleotit pozisyonları Çizelge 5’de gösterilmiştir. Buna göre, IGR-6, IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının oldukça fazla sayıda nükleotitte (17 adet) diğer dokuz izolattan farklılık sergilediği görülmüştür (Çizelge 3).

Çizelge 2. Ülkemiz Beet necrotic yellow vein virus izolatlarına ait p31 geninin nükleotit düzeyinde göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)

Table 2. Similarity rates of p31 gene of Turkish Beet necrotic yellow vein virus isolates at the nucleotide level (%)

İzolat	Orjin	No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
IGR-6	Iğdır	1	*	99.88	97.88	98.12	99.88	98.00	98.00	98.00	97.88	97.88	98.00	97.88
IGR-9	Iğdır	2	99.88	*	97.76	98.00	100	97.88	97.88	97.88	97.76	97.76	97.88	97.76
GZN-27	Gaziantep	3	97.88	97.76	*	99.76	97.76	99.88	99.88	99.88	99.76	99.76	99.88	99.76
ELZ-44	Elazığ	4	98.12	98.00	99.76	*	98.00	99.88	99.88	99.88	99.76	99.76	99.88	99.76
ERC-52	Erzincan	5	99.88	100	97.76	98.00	*	97.88	97.88	97.88	97.76	97.76	97.88	97.76
SMS-61	Samsun	6	98.00	97.88	99.88	99.88	97.88	*	100	100	99.88	99.88	100	99.88
EDR-125	Edirne	7	98.00	97.88	99.88	99.88	97.88	100	*	100	99.88	99.88	100	99.88
BRS-148	Bursa	8	98.00	97.88	99.88	99.88	97.88	100	100	*	99.88	99.88	100	99.88
CNK-150	Çanakkale	9	97.88	97.76	99.76	99.76	97.76	99.88	99.88	99.88	*	99.76	99.88	99.76
KAS-281	Kastamonu	10	97.88	97.76	99.76	99.76	97.76	99.88	99.88	99.88	99.76	*	99.88	99.76
KYS-524	Kayseri	11	98.00	97.88	99.88	99.88	97.88	100	100	100	99.88	99.88	*	99.88
ANK-617	Ankara	12	97.88	97.76	99.76	99.76	97.76	99.88	99.88	99.88	99.76	99.76	99.88	*

Çizelge 3. Türkiye’ye ait Beet necrotic yellow vein virus p31 gen kaynaklarının (IGR-6: OM032581, IGR-9: OM032582, ERC-52: OM032583, GZP-27: OM032584, ELZ-44: OM032585, SMS- 61: OM032586, EDR-125: OM032587, BRS-148: OM032588, KYS-524: OM032589, CNK-150: OM032590, KAS-281: OM032591, ANK-617: OM032592), Japonya (SH1: AB563099, T101: AB563093), Çin (Chan1: EF473118, CX1: AB563118), Kazakistan (Kas2: AF197554), İtalya (I12: AF197552, IV4: FM210681), İspanya (SPC: AB563041), Almanya (GM: AB563136) izolatları ile nükleotit dizi hizalamaları. Hizalamalar yalnızca çeşitli BNYVV kaynaklarının farklılaşmasına yol açan konumlardaki nükleotitleri göstermektedir

Çalışmada elde edilen BNYVV izolatları BLASTn analizine göre Dünya izolatları ile karşılaştırıldığında; Türk izolatlarının farklı iki gruba ayrıldığı saptanmıştır. İlk grupta yer alan IGR-6 izolatı % 99.76 oran ile, IGR-9 ve ERC-52 izolatları ise % 99.88 oranında Kazakistan'a ait Kas2 ve Kas3 izolatlarıyla en yüksek genetik benzerliğe sahip olduğu belirlenmiştir. İkinci grupta yer alan; GZP-27, ELZ-44, CNK-150 ve KAS-281 izolatlarının en yüksek benzerliği % 99.88 oran ile İtalyan izolatları (IV4 ve I12) ile gösterdikleri saptanmıştır. Üstelik, II. grup içerisinde bulunan diğer izolatların (SMS-61, EDR-125, BRS-148 ve KYS-524) ise İtalya şeker pancarı üretim alanlarından izole edilen IV4 ve I12 izolatları ile nükleotit düzeyinde % 100 benzer oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 3). Yakın zamanda ülkemizde yürütülen bir diğer araştırmada, pancar üretim alanlarında yeni BNYVV varyantlarının varlığı bildirilmiştir (Özmen ve ark., 2020). Bahsedilen bu araştırmada, Türkiye'nin farklı bölgelerine ait incelenen BNYVV izolatlarının, RNA-1 ve RNA-4'ünün, A-, B- ve P-streyn tipleri ya da bunların karışımlarından türediği belirtilmiştir. Ayrıca, RNA-4 (p31) dizilerinin matris analizlerine göre, bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer şekilde, ülkemiz BNYVV izolatlarının İtalyan I12 (AF197552; A-tip) izolatı ile yüksek oranda benzerlik gösterdikleri vurgulanmakla birlikte; B-tip Fransız F2 izolatı (M36896) ile de benzer ya da tamamen aynı oldukları ifade edilmiştir (Özmen ve ark., 2020).

Türkiye'ye ait BNYVV izolatlarının birbirleriyle yapılan BLASTp analizine göre ise; GZP-27, SMS-61, EDR-125, BRS-148, KAS-281 ve KYS-524 izolatlarının aa düzeyinde % 100 benzer oldukları saptanmıştır. ELZ-44, CNK-150 ve ANK-617 izolatları ise kendi aralarında % 99.29 oranında benzer bulunmuştur.

Diğer taraftan, IGR-6, IGR-9 ve ERC-52 izolatları ise kendi aralarında % 100 benzer olmakla birlikte, diğer izolatlarla benzerlik oranlarının ise % 97.16- % 97.12 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4). Bu izolatların, diğer incelenen dokuz izolatın aa bakımından yedi pozisyonda farklılık sergilediği görülmüştür (Çizelge 5). Bu çalışmaya ait BNYVV izolatları Dünya izolatları ile BLASTp yöntemi ile karşılaştırıldığında aa bakımından da iki ayrı grupta toplanmışlardır. IGR-6, IGR-9 ve ERC-52 izolatları Kazakistan'a ait Kas2 izolatı ile; GZP-27, SMS-61, EDR-125, BRS-148, KAS-281 ve KYS-524 izolatları ise İtalya'ya ait I12 izolatı ile % 100 benzer bulunmuştur. Ayrıca, ELZ-44, CNK-150 ve ANK-617 izolatları ise İtalyan izolatı I12 ile % 99.65 oran ile en yüksek genetik benzerliği göstermişlerdir (Çizelge 5).

Çizelge 4. Beet necrotic yellow vein virus izolatlarına ait p31 geninin amino asit düzeyinde göstermiş oldukları benzerlik oranları (%)

Table 4. Similarity rates of p31 gene of Beet necrotic yellow vein virus isolates at the amino acid level (%)

İzolat	Orjin	No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
IGR-6	İğdir	1	*	100	97.52	97.87	100	97.52	97.52	97.52	97.16	97.52	97.52	97.16
IGR-9	İğdir	2	100	*	97.52	97.87	100	97.52	97.52	97.52	97.16	97.52	97.52	97.16
GZP-27	Gaziantep	3	97.52	97.52	*	99.65	97.52	100	100	100	99.65	100	100	99.65
ELZ-44	Elazığ	4	97.87	97.87	99.65	*	97.87	99.65	99.65	99.65	99.29	99.65	99.65	99.29
ERC-52	Erzincan	5	100	100	97.52	97.87	*	97.52	97.52	97.52	97.16	97.52	97.52	97.16
SMS-61	Samsun	6	97.52	97.52	100	99.65	97.52	*	100	100	99.65	100	100	99.65
EDR-125	Edirne	7	97.52	97.52	100	99.65	97.52	100	*	100	99.65	100	100	99.65
BRS-148	Bursa	8	97.52	97.52	100	99.65	97.52	100	100	*	99.65	100	100	99.65
CNK-150	Çanakkale	9	97.16	97.16	99.65	99.29	97.16	99.65	99.65	99.65	*	99.65	99.65	99.29
KAS-281	Kastamonu	10	97.52	97.52	100	99.65	97.52	100	100	100	99.65	*	100	99.65
KYS-524	Kayseri	11	97.52	97.52	100	99.65	97.52	100	100	100	99.65	100	*	99.65
ANK-617	Ankara	12	97.16	97.16	99.65	99.29	97.16	99.65	99.65	99.65	99.29	99.65	99.65	*

Çizelge 5. Türkiye'ye ait Beet necrotic yellow vein virus p31 gen kaynaklarının (IGR-6, IGR-9, ERC-52, GZP-27, ELZ-44, SMS- 61, EDR-125, BRS-148, KYS-524, CNK-150, KAS-281 and ANK-617 izolatları), Japonya (SH1 ve T101 izolatları), Çin (Chan1 ve CX1 izolatları), Kazakistan (Kas2 izolatu), İtalya (I12 ve IV4 izolatları), İspanya (SPC izolatu), Almanya (GM izolatu) izolatları ile amino asit dizilerinin karşılaştırılması. Hizalamalar yalnızca çeşitli BNYVV kaynaklarının farklılaşmasına yol açan konumlardaki amino asitleri göstermektedir

Table 5. Comparison of amino acid sequences of Beet necrotic yellow vein virus p31 gene sources from Turkey (IGR-6, IGR-9, ERC-52, GZP-27, ELZ-44, SMS-61, EDR-125, BRS-148, KYS-524, CNK-150, KAS-281 and ANK-617 isolates), Japan (SH1 and T101 isolates), China (Chan1 and CX1 isolates), Kazakhstan (Kas2 isolate), Italy (I12 and IV4 isolates), İspanya (SPC isolate), Almanya (GM isolate). The alignments shows only the amino acid in those positions which allow a differentiation of various BNYVV sources

İzolat	Orjin	p31 Grup	Amino Asit Pozisyon Numarası																				
			4	14	56	68	85	105	132	133	140	141	143	144	147	153	170	172	185	198	207	237	238
SH1	Japonya	I	G	P	I	I	V	V	T	N	A	I	N	G	R	I	D	E	C	F	F	D	D
Chan1	Çin	I	M
T101	Japonya	II	I	V	H	.	M	D	R	K	.	E	D	H
Kas2	Kazakistan	II	I	V	H	.	M	D	R	K	.	E	D	H
IGR-6, IGR-9, ERC-52	İğdir, Erzincan	II	I	V	H	.	M	D	R	K	.	E	D	H
I12, IV4	İtalya	III	.	L	T	.	.	.	V	H	.	M	.	R	K	M	E	D	H	I	S	.	.
SPC	İspanya	III	E	L	T	.	.	.	V	H	.	M	.	R	K	M	E	D	H	I	S	.	.
ELZ-44	Elazığ	III	.	L	T	.	.	.	V	H	.	M	.	R	K	M	E	D	H	.	S	.	.
GZP-27, SMS-61, EDR-125, BRS-148, KAS-281, KYS-524	Gaziantep, Samsun, Edirne, Bursa, Kastamonu, Kayseri	III	.	L	T	.	.	.	V	H	.	M	.	R	K	M	E	D	H	I	S	.	.
CNK-150	Çanakkale	III	.	L	T	.	.	.	V	H	.	M	.	R	K	M	E	D	H	I	S	V	.
ANK-617	Ankara	III	.	L	T	.	.	.	V	H	V	M	.	R	K	M	E	D	H	I	S	.	.
GM	Almanya	IV	.	.	T	V	A	.	I	.	.	M	.	R	K	.	.	.	H	.	S	.	A
CX1	Çin	IV	.	.	T	V	A	.	I	.	.	M	.	R	K	.	.	.	H	.	S	.	A

Son yıllarda, BNYVV'nin KP, p25 ve p31 genleri ile ilgili yürütülen filogenetik çalışmalar, BNYVV izolatlarının dört orijinal soya (A-I, A-II, A-III ve B) ait, 10 farklı streyn tipinden oluştuğunu göstermiştir (Chiba ve ark., 2011; Zhuo ve ark., 2015). Chiba ve ark. (2011), çoğunluğunu Asya izolatlarının oluşturduğu 73 BNYVV izolatının üç gen bölgesini (KP, p25 ve p31) detaylı olarak incelemişler ve BNYVV izolatlarının p31 genine göre dört (I, II, III ve IV) gruba ayrıldıklarını bildirmişlerdir. Yürütülen bu çalışmada, farklı p31 gruplarını yansıtacak şekilde seçilerek NCBI'dan indirilen 42 ve bu çalışma ile elde edilen 12 BNYVV izolatlarına ait p31 gen bölgesi sekans verileri Clustal W yöntemi kullanılarak hizalanmıştır. Clustal W ve filogenetik analizlerde kullanılan BNYVV izolatlarına ait bilgiler Çizelge 6'da verilmiştir.

Bu çalışmada; BNYVV izolatlarına ait ML dendogramı incelendiğinde, Türkiye'ye ait BNYVV izolatlarının iki farklı dalda toplandıkları görülmektedir (Şekil 2). Buna göre; GZP-27, ELZ-44, SMS-61, EDR-125, BRS-148, CNK-150, KAS-281, KYS-524 ve ANK-617 izolatının; İtalya'ya ait IV4, IV1, I12 ve IP7, İspanya'ya ait SPC, Fransa'ya ait FAH, Slovakya'ya ait SLN1 ve SLP2, ABD'ye ait USTH ve USM, Japonya'ya ait S42 ve Brezilya'ya ait Brazilian izolatları ile birlikte aynı dalda buldukları ve p31 genine göre 'Grup III' içerisinde yer aldıkları belirlenmiştir (Şekil 2, Çizelge 6). Bu grup içerisinde, İtalyan streyn grubuna dair BNYVV izolatlarının tamamı ile Çin-X streynine ait bazı izolatların yer aldıkları rapor edilmiştir. Üstelik, İtalyan streyninin, BNYVV'nin A-III soyundan türeyen tek streyn grubu olduğu bilinmektedir (Chiba ve ark., 2011; Zhuo ve ark., 2015; Tamada ve ark., 2016). Diğer taraftan, IGR-6, IGR-9 ve ERC-52 izolatlarının ise, Kazak (Kas2 ve Kas3), Japon (T101 ve O11), Çin (Bao ve Har4), Fransız (FP ve FC), Alman (OW1), İran (IR-GR1) ve İngiliz (UK-MH) izolatları birlikte 'Grup II' içerisinde yer almışlardır (Şekil 2, Çizelge 5, 6). Grup II'de; Fransa-P, Japon-D, Çin-B streynleri ile birlikte, Japon-O streynine ait bazı izolatların buldukları ve bu dört streynin BNYVV'nin A-II soyundan türeyen streynler oldukları belirtilmiştir (Chiba ve ark., 2011; Zhuo ve ark., 2015; Tamada ve ark., 2016). P31 genine göre elde edilen bu bulgular, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarına ait BNYVV izolatlarının orjinlerinde farklılık (A-II ve A-III) olabileceğine işaret etmiştir. Ancak, Türk izolatlarının orjinlerinin net olarak ortaya konulabilmesi için BNYVV'nin diğer genom segmentlerinin de dizi analizlerinin gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

Öte yandan, ML dendogramında; Çin izolatlarının büyük bir kısmı ile iki Japon (SH1 ve H45) ve bir İngiliz (UK-FF) izolatı ayrı bir dala ayrılarak, 'Grup I' içerisinde toplanmışlardır. 'Grup IV'de ise, Almanya (GM), Çin (CX1) ve Fransa'ya (FAO) ait BNYVV izolatlarının buldukları belirlenmiştir (Şekil 2, Çizelge 5, 6).

Çizelge 6. Filogenetik analizde kullanılan Beet necrotic yellow vein virus izolatları

Table 6. Beet necrotic yellow vein virus isolates used in phylogenetic analysis

Ülke	Lokasyon	İzolat	GenBank Kayıt No	p31 Grubu	Literatür
Türkiye	Aralık, Iğdır	IGR-6	OM032581	II	Bu çalışma
	Karakoyunlu, Iğdır	IGR-9	OM032582	II	Bu çalışma
	İslahiye, Gaziantep	GZP-27	OM032584	III	Bu çalışma
	Merkez, Elazığ	ELZ-44	OM032585	III	Bu çalışma
	Merkez, Erzincan	ERC-52	OM032583	II	Bu çalışma
	Vezirköprü, Samsun	SMS-61	OM032586	III	Bu çalışma
	Merkez, Edirne	EDR-125	OM032587	III	Bu çalışma
	Yenişehir, Bursa	BRS-148	OM032588	III	Bu çalışma
	Biga, Çanakkale	CNK-150	OM032590	III	Bu çalışma
	Taşköprü, Kastamonu	KAS-281	OM032591	III	Bu çalışma
	Merkez, Kayseri	KYS-524	OM032589	III	Bu çalışma
	Ayaş, Ankara	ANK-617	OM032592	III	Bu çalışma
Japonya	Shimizu	SH1	AB563099	I	Miyanishi ve ark. (1999)
	Toya	T101	AB563093	II	Miyanishi ve ark. (1999)
	Obihiro	O11	AB563098	II	Chiba ve ark. (2008)
	Shari	S42	AB563103	III	Chiba ve ark. (2011)
	Higashimokoto	H45	AB563108	I	Chiba ve ark. (2011)
	Makkari	M87	AB563100	II	Chiba ve ark. (2011)
Çin	Hohhot	CH4	AB563111	I	Chiba ve ark. (2011)
	Hohhot	CH7	AB563113	I	Chiba ve ark. (2011)
	Hohhot	Hoh1	EF473113	I	Li ve ark. (2008)
	Shiheji	CX1	AB563118	IV	Chiba ve ark. (2011)
	Harbin	Cha	AB563122	I	Chiba ve ark. (2011)
	Bautou	Bao	EF473115	II	Li ve ark. (2008)
	Harbin	Har4	EF473112	II	Li ve ark. (2008)
	Hohhot	IMHHP31-1	KP006471	I	Zhuo ve ark. (2015)
	Shihezi	LYP31-1	KP316875	I	Zhuo ve ark. (2015)
	Qiqihar	YAP31-1	KP316867	I	Zhuo ve ark. (2015)
	Changji	Chan1	EF473118	I	Li ve ark. (2008)
	Changji	Chan2	EF473119	I	Li ve ark. (2008)
Wuwei	CW1	AB563114	I	Chiba ve ark. (2011)	

Iran	Bilinmiyor	IR-GR1	FM210681	II	Mehrvar ve ark. (2009)
Kazakistan	Bilinmiyor	KAS2	AF197554	II	Koenig ve Lennefors (2000)
	Bilinmiyor	KAS3	AF197557	II	Koenig ve Lennefors (2000)
Almanya	Saxony-Anhalt	OW1	EU864119	II	Koenig ve ark. (2008)
	Mooz	GM	AB563136	IV	Chiba ve ark. (2011)
Italy	Veneto	IV4	FM210681	III	Chiba ve ark. (2008)
	Veneto	IV1	AB563123	III	Chiba ve ark. (2011)
	Bilinmiyor	I12	AF197552	III	Koenig ve Lennefors (2000)
	Puglia	IP7	AB563126	III	Chiba ve ark. (2008)
Fransa	Corbeille	FC	AB563128	II	Miyanishi ve ark. (1999)
	Obernai	FAO	AB563130	IV	Chiba ve ark. (2011)
	Pithiviers	FP	AB563127	II	Miyanishi ve ark. (1999)
	Hungerer	FAH	AB563132	III	Chiba ve ark. (2011)
Slovakya	Novy Zivot	SLN1	AB563137	III	Chiba ve ark. (2011)
	Podolia	SLP2	AB563138	III	Chiba ve ark. (2011)
Macaristan	Meggyeshaza	HUM1	AB563119	III	Chiba ve ark. (2011)
	Tompaladony	HUT4	AB563140	III	Chiba ve ark. (2011)
İspanya	Ciudad Real	SPC	AB563041	III	Chiba ve ark. (2011)
İngiltere	Norfolk	UK-FF	DQ440514	I	Ward ve ark. (2007)
	Norfolk	UK-MH	DQ440515	II	Ward ve ark. (2007)
ABD	Howard	USTH	AB563142	III	Chiba ve ark. (2008)
	Roshfield	USM	AB563143	III	Chiba ve ark. (2011)
Brezilya	Bilinmiyor	Brazilian	MH106729	III	Camelo-Garcia ve ark. (2019)

4. SONUÇ

Yürütülen bu çalışma sonucunda, Türkiye şeker pancarı üretim alanlarından elde edilen 12 BNYVV izolatının vektör *P. betae* ile taşınmada etkin olan p31 genom bölgesinin nükleotit dizileri elde edilmiş ve bu diziler GenBank'a kayıt edilerek, Türk izolatlarına ait ilk veri tabanı oluşturulmuştur. Dünya izolatları ile BLASTn analizi ve elde edilen filogenetik ağaç, Türkiye'ye ait BNYVV izolatlarının p31 genine göre iki farklı gruba ayrıldıklarını göstermiştir. Buna göre; İğdır (IGR-6 ve IGR-9) ve Erzincan (ERC-52) illerinden elde edilen izolatların, Fransız-P, Japon-D ve Çin-B streynleri ile Japon-O streynine ait bazı BNYVVV izolatlarının bulunduğu Grup II içerisinde; diğer izolatların (GZP-27, ELZ-44, SMS-61, EDR-125, BRS-148, CNK-150, KAS-281, KYS-524 ve ANK-617) ise bazı Çin-X ve çoğunluğunu İtalyan streyn grubuna dair BNYVV izolatlarının oluşturdukları Grup III'de yer aldıkları belirlenmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Etik

Bu çalışma etik kurul onayı gerektirmez.

Yazar Katkı Oranları

Çalışmanın Tasarlanması: MG (%50), EE (%25), NDKY (%25)

Veri Toplanması: MG (%30), EE (%20), NDKY (%50)

Veri Analizi: MG (%30), EE (%20), NDKY (%50)

Makalenin Yazımı: MG (%40), EE (%20), NDKY (%40)

Makalenin Gönderimi ve Revizyonu: MG (%5), EE (%50), NDKY (%45)

Teşekkür

Bu çalışmanın bir parçası, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi (PYO.ZRT.1904.12.015) tarafından desteklenmiş olup, çalışmada kullanılan toprak örnekleri TÜBİTAK (TOVAG: 110O188) projesi kapsamında toplanmıştır.

KAYNAKLAR

- Asher, M.J.C., Henry, C.M., 1993. Research to contain beet Rhizomania in the UK. In: Ebbels, D. (Ed.). Plant Health and the European Single Market. British Crop Protection UK. pp.111-122.
- Biancardi, E., Lewellen, R. T., 2016. Introduction. In: Biancardi, E., Tamada, T. (Eds.). Rhizomania. Springer International Publishing Switzerland. pp. 3-28.
- Bouzoubaa, S., Ziegler, V., Beck, D., Guilley, H., Richards, K., Jonard, G., 1986. Nucleotide sequence of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA-2. Journal of General Virology, 67, 1689-1700. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-67-8-1689>
- Camelo-García, V.M., Edwards Molina, J.P., Nagata, T., Rezende, J.A.M., Silva, J.M.F., 2019. Effect of rhizomania on red table-beet biomass production and molecular characterization of an isolate of *Beet necrotic yellow vein virus* from Brazil. European Journal of Plant Pathology, 154, 1021-1028. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01722-1>
- Chiba, S., Miyaniishi, M., Andika, I.B., Kondo, H., Tamada, T., 2008. Identification of amino acids of *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. doi: 10.1099/vir.0.83624-0.
- Chiba, S., Kondo, H., Miyaniishi, M., Andika, I.B., Han, C., Tamada, T., 2011. The evolutionary history of *Beet necrotic yellow vein virus* deduced from genetic variation, geographic origin and spread, and the breaking of host resistance. Molecular Plant Microbe Interactions, 24 (2): 207-218. doi: 10.1094/MPMI-10-10-0241
- Dehnen-Schmutz, K., Di Serio, F., Gonthier, P., Jacques, M.A., Miret, J.A.J., Justesen, A.F., Macleod, A., Magnusson, C.S., Milonas, P., Navas-Cortes, J.A., Parnell, S., Potting, R., Reignault, P.L., Thulke, H., Van der Werf, W., Civera, A.V., Yuen, J., Zappalà, L., Candresse, T., Chatzivassiliou, E., Winter, S., Maiorano, A., Delbianco, A., Bragard, C., 2020. Pest categorization of beet necrotic yellow vein virus. EFSA Journal, 18 (12): 6360. doi:10.2903/j.efsa.2020.6360

- Felsenstein, J., 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17 (6): 368-376. <https://doi.org/10.1007/BF01734359>
- Gilmer, D., Bouzoubaa, S., Hehn, A., Guillely, H., Richards, K., 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. doi: 10.1016/0042-6822(92)90679-j
- Gilmer, D., Ratti, C., ICTV Report Consortium, 2017. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Benyviridae*. *Journal of General Virology*, 98 (7): 1571-1572. doi:10.1099/jgv.0.000864
- Kaya, R., 2009. Distribution of rhizomania disease in sugar beet growing areas of Turkey. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15 (4): 332-340. doi: 10.7161/anajas.2012.273.144
- Keskin, B., 1964. *Polymyxa betae* n.sp. ein parasit in den wurzein von *Beta vulgaris* Tournefort, besonders während den jugendentwicklung den zuckerrübe. *Archives of Microbiology*, 49: 348-374. doi: 10.1007/BF00406857
- Koch, F., 1987. Bericht über eine in verschiedene zuckerrübenanbauggebiete der Turkseker in Anatolien und Thrazien zum stadium von wurzelerkrankungen. KWS Kleinwanzlebener Saatzeit, AG, Einbeck, Germany.
- Koenig, R., Haeblerle, A.M., Commandeur, U., 1997. Detection and characterization of a distinct type of *Beet necrotic yellow vein virus* RNA-5 in sugar beet growing area in Europe. *Archives of Virology*, 142:1499-1504. doi: 10.1007/s007050050176
- Koenig, R., Lennefers, 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- 1570. doi: 10.1007/s007050070076
- Koenig, R., Kastir, U., Holtschulte, B., Deml, G., 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. doi: 10.1007/s00705-008-0234-3
- Kruse, M., Koenig, R., Hoffman, A., Kaufmann, A., Commandeur, U., Soleyevyev, A.G., Savenkov, I., 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: 1835-1842. doi: 10.1099/0022-1317-75-8-1835.
- Kutluk Yılmaz, N.D., Meunier, A., Schmit, J.F., Stas, A., Bragard, C., 2007. Partial nucleotide sequence analysis of Turkish isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) RNA-3. *Plant Pathology*, 56: 311-316. doi: 10.1111/j.1365-3059.2006.01493.x
- Kutluk Yılmaz, N.D., Arlı Sokmen, M., 2010. Occurrence of soilborne sugar beet viruses transmitted by *Polymyxa betae* northern and central parts of Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 92 (2): 497-500. doi: http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v92i2.196
- Kutluk Yılmaz N.D., Arlı-Sokmen, M., Kaya, R., Sevik M. A., Tunalı, B., Demirtas, S., 2016a. The widespread occurrences of *Beet soil borne virus* and RNA-5 containing *Beet necrotic yellow vein virus* isolates in sugar beet production areas in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 144 (2): 443-455. doi:10.1007/s10658-015-0780-y
- Kutluk Yılmaz, N.D., 2016b. 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. doi: 10.18393/EJSS.2016.3.241-248
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054
- Li, M., Liu, T., Wang, B., Han, C.G., Li, D.W., Yu, J.L., 2008. Phylogenetic analysis of *Beet necrotic yellow vein virus* isolates from China. *Virus Genes*, 36: 429-432. doi: 10.1007/s11262-008-0202-8.
- Mehrvan, M., Valizadeh, J., Koenig, R., 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. doi: 10.1007/s00705-009-0322-z
- Meunier, A., Schmit, J.F., Stas, A., Kutluk, N., 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. doi: 10.1128/AEM.69.4.2356-2360.2003.
- Miyanishi, M., Kusume, T., Saito, M., Tamada, T., 1999. Evidence for three groups of sequence variants of beet necrotic yellow vein virus RNA 5. *Archives of Virology*, 144: 879-892. <https://doi.org/10.1007/s007050050553>

- Özer, G., Ertunç F., 2005. Detection of rhizomania disease in sugar beet plantations of Amasya sugar refinery. *Journal of Agricultural Sciences*, 11 (3): 339-343.
- Özdemir, H., 2014. Trakya Bölgesi şeker pancarı üretim alanlarında *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV), *Beet western yellows virus* (BWYV) ve *Beet yellows virus* (BYV) hastalıklarının saptanması üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 42s, Tekirdağ.
- Özgür, O.E., 2003. Türkiye Şeker Pancarı Hastalıkları. Türkiye Şeker Fabrikaları A. Ş. Genel Müdürlüğü Yayınları, 192s, Ankara.
- Özmen, C.Y., Khabbazi, S.D., Khabbazi, A.D., Gürel, S., Kaya, R., Oğuz, M.Ç., Turan, F., Rezaei, F., Kibar, U., Ergül, A., 2020. Genome composition analysis of multipartite BNYVV reveals the occurrence of genetic re-assortment in the isolates of Asia Minor and Thrace. *Nature Scientific Reports*, 10, 4129. doi: 10.1038/s41598-020-61091-2
- Rahim, M.D., Andika, I.B., Han, C., Kondo, H., Tamada, T., 2007. RNA4-encoded P31 of *Beet necrotic yellow vein virus* is involved in efficient vector transmission, symptom severity and silencing suppression in roots. *Journal of General Virology*, 88: 1611-1619. doi: 10.1099/vir.0.82720-0
- Rush C.M., 2003. Ecology and Epidemiology of Benyviruses and Plasmodiophorid Vectors. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41, 567-92.
- Schirmer, A., Link, D., Cognat, V., Moury, B., Beuve, M., Meunier, A., Bragard, C., Gilmer, D., Lemaire, O., 2005. Phylogenetic analysis of isolates of *Beet necrotic yellow vein virus* collected worldwide. *Journal of General Virology*, 86: 2897-2911. doi:10.1099/vir.0.81167-0
- Scholten, O.E., Lange, W., 2000. Breeding for resistance to rhizomania in sugar beet: a review. *Euphytica*, 112: 219-231. doi: 10.1023/A:1003988003165
- Tamada, T., Baba, T., 1973. Beet necrotic yellow vein virus from rhizomania affected sugar beet in Japan. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 39: 325-332.
- Tamada, T., Abe, H., 1989. Evidence that beet necrotic yellow vein virus RNA-4 is essential for efficient transmission by the fungus *Polymyxa betae*. *Journal of General Virology*, 70: 3391-3398. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-70-12-3391>
- Tamada, T., Abe, H., Saito, M., Kiguchi, T., 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. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-70-12-3399>
- Tamada, T., Saito, M., Kiguchi, T., Kusume, T., 1990. Effect of isolates of Beet necrotic yellow vein virus with different of RNA components on the development of rhizomania symptoms. *Proc. 1st Symp. Int. Work. Group. Plant Viruses Fungal Vectors*, 41-44, 21-24 Ağustos, Braunschweig, Germany.
- Tamada, T., Kusume, T., Uchino, H., Kiguchi, T., Saito, M., 1996. Evidence that Beet necrotic yellow vein virus RNA 5 is involved in symptom development of sugar beet roots. *Proc. 3rd Symp. Int. Work. Group Plant Viruses Fungal Vectors*, 49-52, 6-7 Ağustos, Dundee, Scotland.
- Tamada, T., Uchino, H., Kusume, T., Saito, M., 1999. RNA-3 deletion mutants of beet necrotic yellow vein virus do not cause rhizomania disease in sugar beets. *Phytopathology*, 89: 1000-1006. <https://doi.org/10.1094/phyto.1999.89.11.100>
- Tamada, T., 2016. General features of Beet necrotic yellow vein virus. In: Biancardi, E., Tamada, T. (Eds.). *Rhizomania*. Springer International Publishing Switzerland. pp. 55-83.
- Tamada, T., Kondo, H., Chiba, S., 2016. Genetic diversity of Beet necrotic yellow vein virus. In: Biancardi, E., Tamada, T. (Eds.). *Rhizomania*. Springer International Publishing Switzerland. pp. 109-131.
- Tamura, K., 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. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., 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: 4673-4680. doi: 10.1093/nar/22.22.4673
- Yardımcı, N., 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. doi: [10.1007/s13337-011-0047-y](https://doi.org/10.1007/s13337-011-0047-y)
- Wang, Y., Fan, H., Wang, X-B., Li, M., Li, D., Yu, J., 2011. Detection and characterization of spontaneous internal deletion mutants of Beet necrotic yellow vein virus RNA3 from systemic host *Nicotiana benthamiana*. *Virology Journal*, 8: 335. doi: 10.1186/1743-422X-8-335

- Ward, L., Koenig, R., Budge, G., Garrido, C., McGrath, C., Stubbey, H., 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. doi: 10.1007/s00705-006-0832-x
- Zhuo, N., Jiang, N., Zhang, C., Zhang, Z.Y., Zhang, G.Z., Han, C.G., Wang, Y., 2015. Genetic diversity and population structure of Beet necrotic yellow vein virus in China. *Virus Research*, 205: 54-62. doi: 10.1016/j.virusres.2015.05.009