



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİSEL ÜRETİM VE TEKNOLOJİLERİ ANABİLİM DALI



DOMATES KAHVERENGİ BURUŞUK MEYVE VİRÜSÜ (ToBRFV) HAREKET
PROTEİNİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

ALİ ENES ÖZDEMİR

OCAK 2025

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR UNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİSEL ÜRETİM VE TEKNOLOJİLERİ ANA BİLİM DALI

DOMATES KAHVERENGİ BURUŞUK MEYVE VİRÜSÜ (ToBRFV) HAREKET
PROTEİNİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

ALİ ENES ÖZDEMİR

Yüksek lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. Eminur ELÇİ

Ocak 2025

Doç. Dr. Eminur ELÇİ danışmanlığında Ali Enes ÖZDEMİR tarafından sunulan “Domates Kahverengi Buruşuk Meyve Virüsü (ToBRFV) Hareket Proteininin Moleküler Karakterizasyonu” başlıklı çalışma, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Ana bilim Dalı’nda jüri tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edildi.

Başkan : Doç. Dr. Eminur ELÇİ, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümü,
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Niğde, Türkiye

Üye : Prof. Dr. Halil TOKTAY, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri
Bölümü, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Niğde, Türkiye

Üye : Dr.Öğr. Üyesi Hakan ÇARPAR, Bitki Koruma Bölümü, Hatay
Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, Türkiye

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen yukarıda adı geçen jüri tarafından /.... /2025 tarihinde uygun bulunmuş ve /.... /2025 tarihli ve sayılı Yönetim Kurulu kararıyla onaylanmıştır)
//2025

Prof. Dr. Mustafa KARATEPE
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezi, bilgi ve yeteneklerimin en üst düzeyde olduğu ölçüde bağımsız olarak yazdığımı teyit ediyorum. Bu tezin içeriğı bilimsel ilkelere sıkı sıkıya bağılı kalmakta ve akademik standartlara uygundur. Araştırma süreci boyunca alınan her türlü yardımı ve kullanılan tüm dış kaynakları usulüne uygun olarak kabul ediyorum ve atfediyorum.

İmza

Ali Enes ÖZDEMİR

ÖZET

DOMATES KAHVERENGİ BURUŞUK MEYVE VİRÜSÜ (ToBRFV) HAREKET PROTEİNİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

ÖZDEMİR, Ali Enes

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Eminur ELÇİ

Ocak 2025, 43 sayfa

Domates kahverengi buruşuk meyve virüsü (Tomato brown rugose fruit virüs, ToBRFV; *genus Tobamovirus*) domates ve biber başta olmak üzere Solanaceae (patlıcangiller) familyasına ait itkilerde önemli bir tehdit oluşturmaktadır. ToBRFV dünya çapında hızla yayılmakta ve küresel domates üretimini tehdit etmektedir. Bu virüs, tarımsal faaliyetler sırasında mekanik olarak veya tohumlar yoluyla bulaşmaktadır. Bu nedenle, ToBRFV ve diğer tobamovirüsleri kontrol etmek için etkili ve dayanıklılık genlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmanın amacı, virüsün bulaşması, yayılması ve dayanıklılığında önemli bir gen bölgesi olan hareket proteininin (movement protein) moleküler yöntemler aracılığıyla karakterize edilmesidir. Bu çalışmada 2023 yılının yaz aylarında Isparta ili domates seralarından üreticilerin şikâyeti üzerine hastalık belirtileri gösteren domates fideleri toplanmış ve 14 farklı seradan alınan 5'er fide örneği (toplam 70 fide) virüs varlığı açısından test edilmiştir. Bitki yapraklarından nükleik asit izolasyonları yapılmış ve cDNA sentez edilmiştir. Virüse özgü hareket proteine ait primer dizileri kullanılarak PCR analizleri yapılmış ve elde edilen PCR bantları DNA dizi analizine tabii tutulmuştur. Ayrıca elde edilen nükleotid dizilerinin hizalanması CLUSTAL W ile gerçekleştirilmiş ve MEGA11 programı ile filogenetik ağaç oluşturmak için neighbor-joining yöntemi kullanılmıştır. Bulguların, hastalık ile mücadelede yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Domates, ToBRFV, Mp proteini, PCR, filogenetik

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV) MOVEMENT PROTEIN

ÖZDEMİR, Ali Enes

Niğde Ömer Halisdemir University

Institute of Science and Technology

Department of Plant Production and Technologies

Supervisor

: Assoc. Prof. Dr. Dr. Eminur ELÇİ

January 2025, 43 pages

Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV; genus Tobamovirus) poses a significant threat to plants belonging to the Solanaceae family, especially tomato and pepper. ToBRFV is rapidly spreading worldwide and threatens global tomato production. This virus is transmitted mechanically or via seeds during agricultural activities. Therefore, effective and resistance genes are needed to control ToBRFV and other tobamoviruses. The aim of this study is to characterize the movement protein, which is an important gene region in the transmission, spread and resistance of the virus, by molecular methods. In this study, tomato seedlings showing disease symptoms were collected from tomato greenhouses in Isparta province in the summer of 2023 upon the complaints of the producers and 5 seedling samples from 14 different greenhouses (70 seedlings in total) were tested for the presence of the virüs. Nucleic acid isolations were made from plant leaves and cDNA was synthesized. PCR analyses were performed using primer sequences of the virus-specific movement protein and the obtained PCR bands were subjected to DNA sequence analysis. In addition, alignment of the obtained nucleotide sequences was performed with CLUSTAL W and the neighbor-joining method was used to create a phylogenetic tree with the MEGA11 program. It is thought that the findings will guide the fight against the disease.

Keywords: tomato, ToBRFV, Mp protein, PCR, phylogenetic.

ÖN SÖZ

Araştırma yolculuğum boyunca verdiği destek, rehberlik ve danışmanlığı için değerli danışmanım Doç. Dr. Eminur ELÇİ'ye en derin şükranlarımı sunmak istiyorum. Uzmanlığı ve cesaretlendirmesi, bu çalışmanın yönünü ve mükemmelliğini şekillendirmede önemli bir rol oynadı.

Yoldaşlıkları ve sarsılmaz destekleri için öncelikle Boğazlıyan İlçe Tarım Müdürlüğü bünyesinde görev yapmakta olan sayın müdürüm Burhan KALE başta olmak üzere Burcu ERDOĞANYILMAZ ve tüm çalışma arkadaşlarıma ayrıca laboratuvar çalışmalarında bilgileriyle bana her türlü desteği sağlayan yüksek lisans arkadaşım Derya DEMİRALAN'a içten teşekkürlerimi iletiyorum. İlgi çekici tartışmalardan zor zamanlarda cesaretlendirici sözlere kadar, onların dostluğu akademik yolculuğuma özel bir boyut kattı.

Yolculuğumda bana rehberlik eden ışık olan, vazgeçmemem için beni her zaman motive eden değerli eşim Rumeysa ÖZDEMİR'e içten şükranlarımı sunuyorum. Bu zorlu yolculuk boyunca bana verdiği destek için sevgili annelerime ve babalarıma sarsılmaz destekleri, anlayışları ve cesaretlendirmeleri için derinden minnettarım. Onların sevgisi ve yeteneklerime olan inançları benim için sürekli bir motivasyon kaynağı oldu.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
MOLECULAR CHARACTERIZATION OF TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV) MOVEMENT PROTEIN	VI
İÇİNDEKİLER	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
SEMBOL VE KISALTMALAR.....	XI
BÖLÜM I.....	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM II	13
MATERYAL VE METOD	13
1.1 Virüs Kaynağı	13
1.2 Mekanik İnokulasyonlar	13
1.3 Moleküler Analizler	14
1.3.1 Toplam NA Ekstraksiyonu.....	14
1.4 cDNA Sentezi ve PCR Analizi.....	15
1.5 Nükleotid Dizi Analizleri.....	17
1.6 Filogenetik Analizler.....	17
BÖLÜM III	18
BULGULAR VE TARTIŞMA.....	18
3.1.Mekanik İnokulasyon Sonuçları	18
3.2. Total NA İzolasyonu Sonuçları	22
3.3. RT-PCR Analiz sonuçları	24
3.4. DNA Dizi Analizi Sonuçları	24
3.5. Filogenetik Analiz Sonuçları	25
BÖLÜM VI.....	30
SONUÇ	30
KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Domates kahverengi buruşuk meyve virüsü (ToBRFV) genom organizasyonunun ve ifade stratejisinin şematik gösterimi.....	4
Şekil 1. 2. Domates kahverengi buruşuk meyve virüsünün (ToBRFV) güncel küresel dağılımı (EPPO, 2022).	6
Şekil 1. 3. Korunmuş yetiştiricilikte domates üretim sürecinin temel patojen risk noktalarını gösteren şeması.	10
Şekil 2. 1. Numunenin havaneli ile homojenize edilmesi ve tüplere aktarılması.....	14
Şekil 3. 1. Mekanik inokulasyonlar ve sonrasında bitki görünümü	18
Şekil 3. 2. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus semptomları 1	19
Şekil 3. 3. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus semptomları 2	19
Şekil 3. 4. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus semptomları 3	20
Şekil 3. 5. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus semptomları 4	20
Şekil 3. 6. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus semptomları 5	21
Şekil 3. 7. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus semptomları 6	21
Şekil 3. 2. 1. İzole edilen bazı örneklerin total nükleik asit grafikleri, sırası ile Isparta 1 - 14, inokule bitki.	23
Şekil 3. 3. 1. RT- PCR analizi sonucu agaroz jel görüntüsü, M: Thermo scientific 1 kb plus DNA Ladder.....	24
Şekil 3. 4. 1. Isparta 7 numaralı virus izolatının BLASTn analiz sonucu (NCBI).....	25
Şekil 3. 5. 1. ToBRFV izolatlarının MP (movement protein) nükleotid dizilerinden MEGA11'de Komşu-Birleştirme yöntemi ile çıkarılan filogenetik ağacı. Bu çalışmadan elde edilen izolatlar sarı ile vurgulanmıştır. NGS1 izolatu iç kontrol izolatımızdır. İç düğümlerdeki sayılar, 1.000 tekrarlamaya dayalı bootstrap yüzdelerini göstermektedir. TMV izolatu dizileri dış grup taksonu olarak kullanılmıştır.....	27
Şekil 3. 5. 2. ToBRFV izolatlarının MP (movement protein) aminoasit dizilerinden MEGA11'de Komşu-Birleştirme yöntemi ile çıkarılan filogenetik ağacı. Bu çalışmadan elde edilen izolatlar sarı ile vurgulanmıştır. NGS1 izolatu iç kontrol izolatımızdır. İç düğümlerdeki sayılar, 1.000 tekrarlamaya dayalı bootstrap yüzdelerini göstermektedir. TMV izolatının aa dizileri dış grup taksonu olarak kullanılmıştır.	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. RT-PCR analizlerinde kullanılan karışım ve oranları.....	16
Çizelge 2.2. PCR analizlerinde kullanılan karışım ve oranları.....	16



SEMBOL VE KISALTMALAR

Semboller	Tanımlar
°C	Santigrat
µL	Mikro litre
Ng	Nano gram
mg/ L	Milligram per litre
Kısaltmalar	Tanımlar
RB	Dayanıklılık kırılması
RI	Dayanıklılık oluşturan
mRNA	Haberci (messenger) RNA
RNAi	Ribonükleik asit interferansı
RNA	Ribonükleik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
dsRNAs	Çift sarmallı RNA'lar
Bp	Baz çifti
µL	Mikrolitre
Ng	Nano gram
mg/ L	Milligram per litre
mM	Milli-molar
°C	Santigrat derece
EDTA	Etilendiamin triasetik asit

BÖLÜM I

GİRİŞ

Domates kahverengi buruşuk meyve virüsü (Tomato brown rugose fruit virüs: ToBRFV) özellikle domates başta olmak üzere Solanaceae (patlıcangiller) familyasına ait bitkilerde önemli bir tehdit oluşturan virüsdür. ToBRFV, 2014'ün sonlarında İsrail'de keşfedilmiştir. 2015 yılında İsrail'in domates yetiştirilen Melilot, Beit Ezra ve Aчитuv alanlarına yayılmıştır. İlk olarak 2016 yılında Ürdün'de rapor edilmiştir (Salem vd., 2016). Virüs İsrail'de bir yıl içerisinde neredeyse ülke çapında domates seralarına yayılmıştır. ToBRFV dünya çapında hızla yayılmakta ve küresel domates üretimini tehdit etmektedir (Van de Vossen vd., 2021). Bu virüs, tarımsal faaliyetler sırasında mekanik olarak veya tohum yoluyla bulaşmaktadır (Broadbent, 1976; Dombrovsky vd., 2017). Bu nedenle, ToBRFV ve diğer tobamovirüsleri kontrol etmek için etkili ve dayanıklılık genlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Tobamovirus cinsinin bir üyesi olan domates mozaik virüsü (ToMV), domates üretimi için bilinen önemli virüslerden biridir ancak ToMV enfeksiyonu, dayanıklılık geninin belirlenmesinden bu yana çalışmalar devam etmektedir. ToBRFV'nin çoğaldığı ancak hastalık belirtilerinin belirgin olmadığı ToBRFV'ye tolerans gösteren ve ToBRFV çoğalmasının baskılandığı ToBRFV'ye dayanıklı bazı domates çeşitleri bildirilmiştir (Zinger vd., 2021). Genetik analizler, tolerans özelliğinin tek bir çekinik gen tarafından kontrol edildiğini, dayanıklılığın ise en azından tolerans gösteren gen ve domates mozaik virüsü (ToMV) dayanıklılık geni Tm-1 yakınında veya yakınında bulunan başka bir gen tarafından kontrol edildiğini ortaya koymuştur (Zinger vd., 2021). Tm-2'nin ticari domates çeşitlerine aktarılması yapılmış olup (Pelham, 1966; Hall, 1980), ancak bununla birlikte, 2014 yılında Orta Doğu'da Tm-2'ye hassas olan yeni bir tobamovirüs olan domates kahverengi buruşuk meyve virüsü (ToBRFV) ortaya çıkmıştır (Salem vd., 2016; Luria vd., 2017).

Virüs enfeksiyon oluşturduğu domates bitkilerinde şiddetli belirtilere neden olur. Hastalık domates yapraklarında mozaikleşme, klorozis, benek şeklinde lekelenme ile ileri dönemlerde nekrotik dokular ve cüceliğe ve sonunda da bitki ölümüne neden olmaktadır.

Meyvelerde ise kahverengi lekeler ve buruşuk meyve oluşumu en temel belirtileri arasında yer almaktadır (Salem vd., 2016).

Virüsün ana vektörünün bombus arıları (*Bombus terrestris*) olduğu bildirilmiş olup bazı çalışmalarda polen yolu ile de taşınabileceği bildirilmiştir (Fidan, 2020). ToBRFV ile enfekteli bitkilerin tohumları, yaprakları, meyveleri gibi bitki kalıntıları ile kolaylıkla mekanik olarak taşınabilirler. Kontamine tarım aletleri, budama makasları gibi alet ve ekipmanlarla, ayakkabı-kıyafet gibi giysiler aracılığıyla temas durumunda bulaşabilmektedirler. Tobamovirüslerin stabil yapılarından dolayı genel olarak, herhangi bir konukçu bitki olmadan da kıyafetlerde, bitki artıklarında, besin solüsyonlarında, toprakta, taşıma materyallerinde uzun bir süre virülensliğini kaybetmeden kalabildiği bilinmektedir.

ToBRFV' nin, tohum yoluyla taşındığı bilinmekte olup kontamine tohumlar uzun mesafeli yayılmanın başlıca nedenidir (Dombrovsky A. ve Smith E., 2017). ToBRFV ile enfekte olmuş meyvelerden hasat edilen domates tohumlarının %100 oranında kontamine olduğu bilinmektedir. Ancak virüs yalnızca tohum kabuğunda (testa) tespit edilmektedir (Klap vd., 2020). ToBRFV ile enfekte olmuş domates tohumlarından fidelere virüs bulaşımı düşük bir oranda (0,08–2,8%) gerçekleşmekte, ancak bu aynı tarlada ve yeni yetiştirme alanlarında enfeksiyonları ve daha fazla yayılmayı başlatabilmektedir (Davino vd., 2020).

Yabancı otlar, ToBRFV'nin yayılmasına ve epidemiyolojisine önemli bir yer tutmakta ve domates bitkilerinde birincil enfeksiyonlar için rezervuar olarak yabancı otların risklerini değerlendirmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, ToBRFV'nin tohumlar aracılığıyla taşınımı *Solanum nigrum* bitkisinde düşük bir oranda (1,9 %) olduğu bulunmuştur (Salem vd., 2022). Virüsle enfekte olmuş bitkilerin çoğu açık alanda yetiştirilen ve ToBRFV ile yoğun şekilde enfekte olmuş domates bitkilerinden toplanmıştır. Bu, *S. nigrum* tohumlarının virüsün açık alanda yetiştirilen domateslerde yayılmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir; burada ikincil ToBRFV yayılma olasılığının seralarda yetiştirilen domateslere kıyasla çok daha az olduğu bildirilmiştir (Salem vd., 2023).

Eklembacaklı vektörler tarafından bulaşma henüz bilinmemekte olup, ancak yararlı polinatör *Bombus terrestris* yaban arıları ToBRFV'nin birincil inokulumunu taşıyabilmekte ve bu da cam/tül seralarda yetiştirilen domates bitkilerinde virüsün yayılmasına katkıda bulunmaktadır (Levitzky vd., 2019). Virüs, yaban arıları tarafından esas olarak çiçeklerin tozlaşması sırasında bulaşabilmekte, burada yaban arıları virüsü polen tanelerinden özsuyu kullanarak veya titreşimli gövdeleri aracılığıyla mekanik olarak aktararak bulaştırabilmektedir (Levitzky vd., 2019).

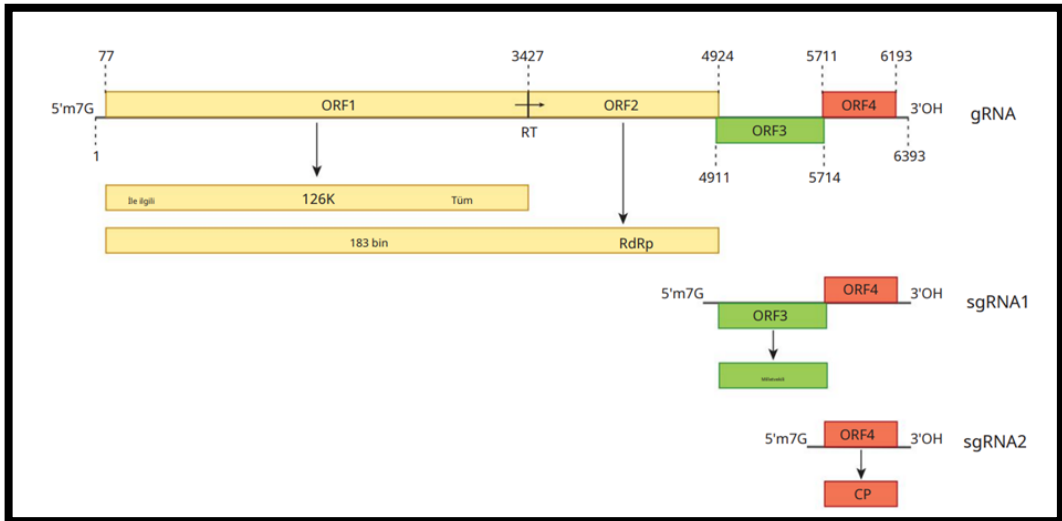
Avni ve diğerleri, 2022 yılında yaptığı çalışmada ToBRFV'nin domates üreme organlarında (yumurtalık, erkeklik organı, stilus, stigma) ve polen tanelerinde tespit edilebildiğini ancak ovüllerin içinde tespit edilemediğini ve polen yoluyla bulaşmadığını göstermiştir.

Deneysera koşullarında, ToBRFV ile enfekte olmuş sadece iki domates bitkisinin, enfeksiyonun seradaki (0,05 ha) hemen hemen tüm bitkilere hızla yayılması için yeterli olduğu gösterilmiştir; burada domates bitkilerinin %1,45'i, %80'i ve %100'e kadarı sırasıyla 1 ay, 4 ay ve 8 ay sonra (yetiştirme döneminin sonu) enfekte olmuştur (Panno S. ve diğerleri, 2020). González-Concha ve diğerleri (2021) tarafından yapılan başka bir çalışmada, ToBRFV'nin maksimum insidansına (%100), kültürel uygulamaların daha sık yapıldığı ve ToBRFV'nin mekanik olarak taşınmasının desteklendiği ticari sera koşullarında 4 ayda ulaşılmıştır. Her iki analiz çalışması, virüsün bitkiden bitkiye temas ve bitkilerle uğraşan işçiler tarafından kontaminasyon yoluyla hızla yayılmasının, kısa bir süre içinde tüm ürüne zarar verdiğini göstermektedir (González-Concha vd., 2021).

ToBRFV, virüsün dünyada ilk kez tespit edildiği zamanlarda henüz resmi olarak bildirilmediği Slovenya'daki atık suda yüksek kapasiteli dizileme (HTS) ile tespit edilmiş, bu da, fark edilmeden var olma olasılığı ve su aracılı bulaşma olasılığı hakkında endişelere yol açmıştır (Bacnik vd., 2020). Bir yıl sonra, ToBRFV, Orta Slovenya'da domates üretilen bir serada yetişen domates bitkilerinde tespit edilmiştir. Bu çalışma, arıtılmış suyun sulama için kullanılmasında potansiyel bir risk oluşturduğunu göstermektedir. Sulama suyu ToBRFV de dahil olmak üzere bitki virüslerinin bulaşma kaynağı olabilmekte; ancak, bulaşık suyun kullanımıyla ilişkili risklerden önce, sudaki

virüsün stabilitesi ve sulama suyundaki seyreltme ile enfeksiyon arasındaki ilişki hakkında daha fazla analize ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Bacnik vd., 2020).

ToBRFV, uzun ve simetrik çubuksu yapıda virion yapısına sahiptir ve diğer Tobamovirüslerle benzerlik göstermektedir. ToBRFV genomu da diğer tobamovirüslerinkine çok benzerdir. Bu virüslerin genomu, dört açık okuma çerçevesi (ORF) içeren yaklaşık 6.400 nükleotid uzunluğunda tek zincirli pozitif anlamlı bir RNA molekülünden oluşmaktadır (Şekil 1.1). Genomik RNA, CAA tekrarları açısından zengin kısa bir 5' çevrilmemiş bölge (UTR) ve psödoknotlara katlanabilen bir 3' UTR ile kapatılır ve bunu transfer RNA benzeri, amino asit olan bir yapı izlemektedir. İki 5' -terminal ORF doğrudan genomik RNA'dan çevrilir. ORF1, metiltransferaz ve helikaz alanları içeren 126 kDa'lık bir proteine (p126) çevrilir. ORF1 ve ORF2 arasındaki UAG durdurma kodonunun okunması, C-terminal ucunda RNA'ya bağımlı bir RNA polimeraz alanı içeren 183 kDa'lık bir proteinin (p183) ekspresyonuyla sonuçlanabilir (Şekil 1.1.). Her iki protein de replikasyon için gereklidir ve p126 ayrıca diğer tobamovirüslerde gösterildiği gibi bir susturma baskılayıcısı olarak işlev görmektedir (Ishibashi K, Ishikawa M., 2016). ORF3 ve ORF4, 3'- koterminale olan ve sırasıyla 30 kDa'lık bir hareket proteini (MP) ve 17,5 kDa'lık bir kılıf proteini (CP) kodlayan 5'- subgenomik RNA 1 ve 2' den çevrilir (Şekil 1.1.) (Salem vd., 2022).



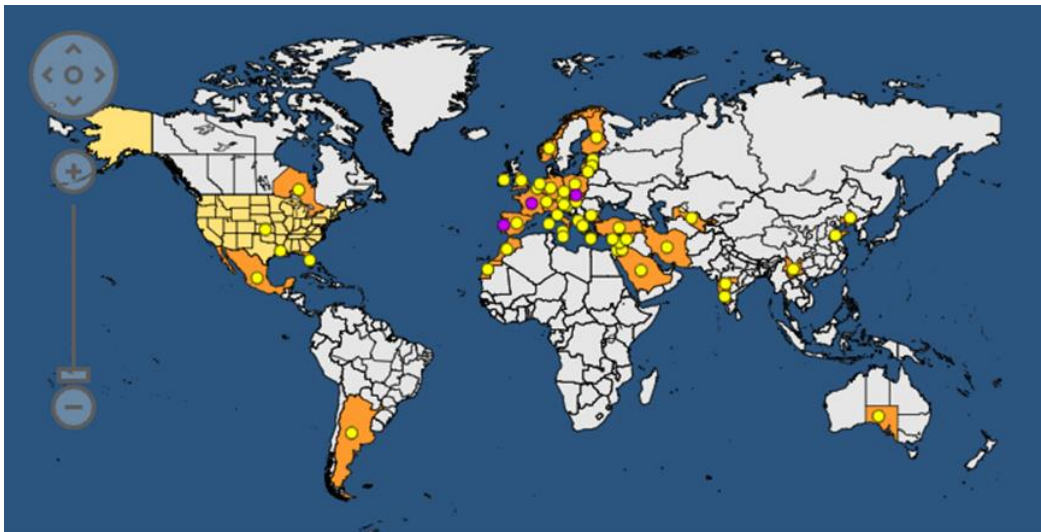
Şekil 1. 1. Domates kahverengi buruşuk meyve virüsü (ToBRFV) genom organizasyonunun ve ifade stratejisinin şematik gösterimi.

Tobamovirüslerin enfeksiyon döngüsünde en önemli proteinlerden biri hareket proteindir. Adından da anlaşılacağı gibi, bu protein virüsün bitki içerisinde hareket etmesini sağlar. Virüs, enfekte ettiği hücre içerisinde çoğaldıktan sonra komşu hücelere yayılmak zorundadır. Hareket proteinleri, virüs parçacıklarının veya viral genomların hücreler arası kanallardan (plasmodesmata) geçerek komşu hücelere taşınmasını kolaylaştırır. Ayrıca bitki hücrelerinin mikrotübüller ve aktin filamentleri ile etkileşime girerek virüsün hücre içindeki hareketini yönlendirir ve hızlandırır. Bazı hareket proteinleri, hücre duvarının geçirgenliğini artırarak virüsün hücreler arası geçişini kolaylaştırır. Hareket proteinleri, bitkinin savunma mekanizmalarını baskılayarak virüsün çoğalmasını ve yayılmasını sağlar. Hareket proteini sayesinde tobamovirüsler, enfekte ettikleri bitkinin tüm kısımlarına yayılarak sistemik bir enfeksiyona neden olurlar. Hareket proteininin etkinliği, hastalığın şiddeti ile doğrudan ilişkilidir. Daha etkin hareket proteinlerine sahip virüsler, daha hızlı ve daha geniş alanlara yayılarak bitkiye daha fazla zarar verir. Bununla birlikte, virüsün evrimi için önemli bir faktördür. Mutasyonlar sonucu oluşan yeni hareket proteinleri, virüse yeni konukçularına adapte olma ve daha etkili bir şekilde yayılma avantajı sağlamaktadır.

Nisan 2015'te, Jordan Vadisi'nde sera koşullarında yetiştirilen domates bitkileri (cv. Candela), hafif yaprak belirtileri ve meyvelerde güçlü kahverengi buruşukluk belirtileri göstermiş; bu da meyve pazarlanabilirliğini büyük ölçüde etkilemiştir (Salem vd., 2016). Bu çalışmada, belirtiler türüne ve hastalığın dağılımına dayanarak, o zamanda bilinmeyen virüs izole edilmiştir ve biyolojik analizler ve moleküler biyoloji testlerine dayanarak tanımlanmıştır ve Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi (ICTV) tarafından Tobamovirus cinsinin yeni bir üyesi, yani Domates kahverengi buruşuk meyve virüsü olarak adlandırılmıştır. Daha sonra, ToBRFV'ye yüksek dizi benzerliği olan bir virüs izolatu, 2014'te Güney İsrail'de başlayan ciddi bir salgında bildirilmiştir (Luria vd., 2017). Bir yıl içinde, ToBRFV İsrail içinde daha da yayılmaktadır ve tüm ülke genelindeki farklı yetiştirme alanlarında tespit edilmiştir. Ürdün ve İsrail'in komşu ülkelerinde ToBRFV'nin ortaya çıkışı, 2014/2015 kış yetiştirme sezonunda aynı zamana kadar izlenmiştir. Ancak, Ürdün'deki domates yetiştiricileri, yeni meyve belirtilerinin nedenini açıklayamadıkları için Nisan 2015'te yardım istediklerinde, belirtiler daha şiddetli ve belirgin olduğu bildirilmiştir.

Bu ilk bulguların ardından, ToBRFV 2018'de Meksika'daki fidanlıklarda yetiştirilen domates ve acı biber bitkilerinde tespit edilmiştir (Cambrón-Crisantos vd., 2018;2019). 2018'de ToBRFV, Güney Kaliforniya'daki bir serada aşılınmış domates bitkilerinde ve bir serada Meksika, Baja California'daki tesiste tespit edilmiştir (Ling vd., 2019), ancak virüs tüm enfekte bitkilerin yok edilmesiyle tamamen ortadan kaldırılmıştır. O zamandan beri, ToBRFV'nin domateste Filistin Devleti'nde (Alkowni vd., 2019), İtalya'da (Panno vd., 2019), Almanya'da (Menzel vd., 2019), Çin'de (Ma vd., 2021; Yan vd., 2019), Türkiye'de (Fidan vd., 2019), İngiltere'de (Skelton vd., 2022), Mısır'da (Amer ve Mahmoud, 2020) Yunanistan'da (Beris vd., 2020), Kanada'da (Sarkes vd., 2020), Hollanda'da (van de Vossen vd., 2020), İspanya'da (Alfaro-Fernández vd., 2021), Florida'da (Dey vd., 2021), Norveç'te (Hamborg, 2022), İran'da (Esmailzadeh ve Koolivand, 2022; Ghorbani, 2021), Suudi Arabistan'da (Sabra vd., 2021), Orta Slovenya'da (Vucurovic vd., 2022), Fransa'da (Skelton vd., 2022), Suriye'de (Hasan vd., 2022), İsviçre'de (Mahillon vd., 2022) ve Arnavutluk'ta (Orfanidou vd., 2022) bulunduğu bildirilmiştir (Şekil 1.2.).

Biber bitkilerinde virüs Ürdün'de (Salem vd., 2020), Türkiye'de (Fidan vd., 2021), İtalya'da (Panno vd., 2020), Suriye ve Lübnan'da (Abou Kubaa vd., 2022) ve İran'da (Esmailzadeh ve Koolivand, 2022) daha fazla bildirilmiştir.



Şekil 1. 2. Domates kahverengi buruşuk meyve virüsünün (ToBRFV) güncel küresel dağılımı (EPPO, 2022).

Virüs, Hindistan'dan Çek Cumhuriyeti'ne (EPPO 2021), Litvanya'dan Birleşik Krallık'a (EPPO 2022), Avustralya'dan İspanya'ya (EPPO 2021) ve Etiyopya'dan Hollanda'ya (EPPO 2021), ayrıca Tayvan'dan Çek Cumhuriyeti'ne (EPPO 2021), Tayland'dan İspanya'ya (EPPO 2021) ve Japonya'dan İspanya'ya (EPPO 2021) ithal edilen biber tohumlarında ve Hindistan'dan İtalya'ya (EPPO 2020,2021) ve Slovakya'dan Çek Cumhuriyeti'ne (EPPO 2021) ithal edilen domates ve biber tohumlarında da tespit edilmiştir. Bu, virüs henüz resmi olarak bildirilmemiş olsa bile ToBRFV'nin büyük olasılıkla bu ülkelerde (Japonya, Tayvan, Tayland, Peru, Hindistan, Litvanya, Etiyopya, Slovakya ve Avustralya) mevcut olduğunu göstermektedir. Virüs bazı ülkelerde tespit edilip ortadan kaldırılmış olsa da örneğin ToBRFV'nin ilk olarak Mart 2022'de Barzewo'da tespit edildiği ve ortadan kaldırıldığı Polonya'da tekrarlayan hastalık salgınları bildirilmiştir (EPPO 2020, 2021).

Bitkileri virüs enfeksiyonundan korumak için tanımlanan birçok dayanıklılık geni genetik olarak dominant yani baskındır. Örneğin, *Tm-2²* gibi çoğu, nükleotid bağlanma bölgesi-lösin açısından zengin tekrar proteinlerini kodlar (Kang vd., 2005; de Ronde vd., 2014). Bu baskın dayanıklılık gen ürünleri, konukçu savunma reaksiyonlarını ortaya çıkarmak için viral faktörleri tanır. Genel olarak, tanınmayı engelleyen viral mutasyonlar kolaylıkla meydana gelebilir ve viral uygunluğu etkilemezlerse dayanıklılık aşılır. Diğer virüs dayanıklılık genleri genetik olarak çekiniktir. Virüslerin etkin bir şekilde çoğalması için gerekli olan konukçu faktörleri kodlayan genlerin fonksiyon kaybı alellerini temsil ederler (Kang vd., 2005; Hashimoto vd., 2016). Bugüne kadar tanımlanan doğal resesif dayanıklılık genlerinin çoğu, ökaryotik translasyon başlatma faktörü 4E'yi (eIF4E) veya onun izoformu olan eIF(iso)4E'yi kodlayan genlerdir (Kang vd., 2005; Sanfaçon, 2015). eIF4E veya eIF (iso)4E genlerindeki mutasyonlar, spesifik virüs sınıflarına dayanıklılık kazandırır (Piron ve diğerleri, 2010; Chandrasekaran vd., 2016; Gauffier vd., 2016; Pyott vd., 2016). Virüs çoğalması için gerekli olan konukçu genlerin devre dışı bırakılması virüs dayanıklılığı sağlayabilir, ancak başarılı çalışmalar sınırlıdır (Chandrasekaran vd., 2016; Pyott vd., 2016; Gomez vd., 2019; Atarashi vd., 2020; Pramanik vd., 2021). Endojen genlerin fonksiyon kaybının da konukçu büyümesini ve gelişimini etkileyeceği bildirilmiştir (Gauffier vd., 2016).

Ishihawa ve diğeri tarafından 1991 yılında, *Arabidopsis thaliana* bitkisinden *TOBAMOVIRUS MULTIPLICATIONI* (*TOM1*) geni tanımlanmıştır (Ishikawa vd., 1991). *TOM1* proteini, tobamovirüslerin çoğalması için gereklidir ve tobamovirüs tarafından kodlanmış replikasyon proteinleri ile etkileşime giren yedi geçişli bir transmembran proteinini kodlar (Yamanaka vd., 2000). *TOM1* geni ve onun varsayılan paralogu *TOM3*'ündeki eşzamanlı fonksiyon kaybı mutasyonları, tobamovirüs çoğalmasının neredeyse tamamen inhibisyonu ile sonuçlanmıştır (Yamanaka vd., 2002). Buna ilaveten, *tom1 tom3* çift mutan ve *Arabidopsis*'teki bir başka varsayılan *TOM1* paralogu olan *TOM ÜÇ HOMOLOG1*'de ek bir T-DNA eklemesi olan üçlü mutant, bitki büyümesi ve gelişiminde önemli kusurlar göstermemiştir (Fujisaki ve diğeri, 2006). *TOM1*'in, tobamovirüs çoğalmasını desteklemekten başka işlevi bilinmemekle birlikte, çok sayıda bitki türünde *TOM1* homologları bulunmaktadır. Tütün (*Nicotiana tabacum*, *N. benthamiana*) ve domateste, *TOM1* homologlarının RNA interferansı (RNAi) ile susturulması, tobamovirüslerin çoğalmasını baskılamıştır (Asano vd., 2005; Chen vd., 2007; Ali vd., 2018). Fakat, RNAi bitkileri GDO mevzuatına girmektedir ve tarımda kullanımlarını engellemektedir (Ishikawa vd., 2022).

ToBRFV, tobamovirüslerin dayanıklılık geni *Tm-2²*'nin üstesinden gelmekte ve dünya çapında hızla yayılmaktadır. ToBRFV dayanıklılığı için genetik kaynaklara acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Buna örnek olarak, son yıllarda kümelenmiş düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarlar/CRISPR ilişkili protein 9 (CRISPR/Cas9) aracılı bir yöntemle tobamovirüslerin çoğalması için gerekli bir *Arabidopsis thaliana* bitkisi geni olan *TOBAMOVIRUS MULTIPLICATION1*'in (*TOM1*) dört domates (*Solanum lycopersicum*) homologunun mutajenezi ile domates bitkilerinde ToBRFV'ye karşı dayanıklılık elde edilmiştir. Dörtlü mutant bitkilerde, saptanabilir ToBRFV kılıf proteini (CP) birikimi büyüme veya meyve üretiminde bariz kusurlar göstermemiştir. Dört *TOM1*'den herhangi üçünün homologları bozulduğunda, ToBRFV CP birikiminin saptandığı ancak CP birikiminin büyük ölçüde azaldığı gözlenmiştir. ToBRFV CP birikiminin en güçlü şekilde baskılandığı üçlü mutantta, mutant bitkilerde daha verimli çoğalma yeteneğine sahip mutant virüsler ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, bu mutant virüsler, dörtlü mutant bitkileri enfekte edememiş, bu da dörtlü mutant bitkilerin oldukça dayanıklı olduğunu ortaya koymuştur. Dörtlü mutant bitkiler ayrıca diğer üç tobamovirüs türüne karşı dayanıklılık göstermiştir. Bu nedenle, ToBRFV dahil olmak üzere

tobamovirüslere karşı güçlü dayanıklı domates bitkileri, CRISPR/Cas9 aracılı multipleks genom düzenlemesi ile üretilebileceği bildirilmiştir. Genom tarafından düzenlenen bitkiler, ToBRFV'ye dayanıklı domates yetiştiriciliğini kolaylaştırabilecektir (Ishikawa vd., 2022).

Bir başka çalışmada ise, ToBRFV'nin domateste *Tm-2²* dayanıklılık geninin üstesinden gelme kabiliyetini test etmek için, ToMV'nin orijinal hareket proteini MP dizisinin MP^{ToBRFV} ile yer değiştirerek bu rekombinant virüsün *Tm-2²* dayanıklılık geni içeren bitkileri enfekte etmesi sağlanmıştır. Bu MP^{ToBRFV} klonu, daha sonra domates mozaik virüsü ToMV'ye hassas *Tm-2* alleli veya *Tm-2²* alleli için homozigot domates bitkilerini enfekte etmek için kullanılmıştır. Kantitatif ters transkripsiyon PCR (qRT-PCR) yöntemi kullanılarak inokule edilmiş ve sistemik yapraklarda viral RNA ölçülmüştür. Beklendiği gibi, ToMV'li *Tm-2* geni içeren bitkiler hem inokule edilmiş hem de sistemik yapraklarda ciddi viral belirtiler ve yüksek seviyelerde viral birikim ile sonuçlanırken, *Tm-2²* alleli içeren bitkilerin ToMV'ye karşı tamamen dayanıklı olduğu gözlenmiştir. Tam tersi olarak, ToMV MP^{ToBRFV} hem *Tm-2* hem de *Tm-2²* bitkilerinde belirtileri indüklemiştir ve her iki alleli barındıran bitkilerde de viral birikim saptanmıştır. Hem *Tm-2* hem de *Tm-2²* ToMV MP^{ToBRFV} grubunda belirtilerin, ToMV ile enfekte olmuş *Tm-2* bitkilerinininkinden daha hafif olduğu gözlenmiş olup, bu da MP^{ToBRFV}'nin ToMV patojenitesini azalttığını düşündürmüştür. Tütün mozaik virüsü (TMV) ve ToMV MP'lerinin MP^{ToBRFV} ile değiştirilmesi, her iki virüsün sistemik enfeksiyonunun zayıflamasına neden olmuştur. Hücreden hücreye hareket analizi, MP^{ToBRFV}'nin TMV MP'sine (MP^{TMV}) kıyasla daha az etkili bir şekilde hareket ettiğini göstermiştir. Bu bulgular, *Tm-2²*'nin üstesinden gelmenin zayıflatılmış MP işlevi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Hak ve Spiegelman, 2021). Bu çalışmalar, virüs ile mücadelede hareket proteini gen bölgesinin önemini ortaya koymaktadır.

Virüsün farklı ülkelere girişini önlemek için, düzenleyici önlemlerin uygulanması ve zararlı kontrolü karantinası gereklidir. ToBRFV, EPPO'nun karantina listesine dahil edilmiş olup 2020'de A2 patojeni olarak sınıflandırılmıştır. Virüs artık birçok bölgede karantina patojeni olarak kabul edilmektedir (EPPO 2022).

arıları tarafından gerçekleştirilir. 10 hektarlık bir serada birkaç kovan kutusu bulunur. (c) Personel ürün ve daha geniş üretim sahasında dolaşır. Yönetim personeli de dahil olmak üzere personel tesisler arasında hareket edebilmektedir. Giysiler virüs bulaşması için risk oluşturabilir. Ek olarak, birçok üretim sistemi radyo frekansı tanımlama (RFID) iş kayıt cihazları aracılığıyla kaydedilen "parça başı iş" (tamamlanan iş birimi başına ödeme) kullanır. Bu cihazlar işçilerle birlikte sahada dolaşır. (d) Çalışma günü boyunca personel yiyecek tüketir. Buna domates, biber veya genel perakende pazarından satın alınmış olabilecek diğer bilinen konakçılar dahil olabilmektedir. Meyveler perakende veya toptan pazarlar için hasat edilir, paketlenir ve gönderilmektedir: (a) Kasalar farklı üretim tesisleri arasında dolaşımda olabilir ve kirlenmiş bitki özsuyu kalıntıları taşıyabilir. Bu kasalar bir yıkama tesisinden geçebilir, ancak rutin hijyen prosedürlerinin bir parçası olarak etkili bir şekilde dezenfekte edilmezse su kirlenebilmektedir. (b) Personel, aynı yerde bulunuyorsa toplama ve paketleme tesisleri işlevleri arasında geçiş yapabilmektedir. Paketleme tesisleri, başka yerlerden toplanan meyveleri işliyor olabilir ve bu da bir kirlenme riski oluşturabilmektedir. (c) Meyveler perakende veya toptan pazarlara gönderilmektedir. Şekil, Birleşik Krallık Tarım ve Bahçecilik Geliştirme Kurulu'nun (AHDB) izniyle uyarlanmış Giysilerin dezenfeksiyonu başka bir zorluğu temsil eder, çünkü personelin korumalı bir ekim ortamında tam tulum giymesi pratik değildir (Şekil 1.3., adım 4 c ve adım 5 b). Bu nedenle, personelin serada çalışmak için özel giysiler giymesi yaygın bir uygulamadır.

Bu giysiler bitki özsuyu ile temasta olur ve ileri iletim için ToBRFV kaynağı olarak işlev görebilmektedir. Son zamanlarda yapılan bir araştırma, ev tipi çamaşır deterjanının giysileri etkili bir şekilde dezenfekte etmediğini, ancak deterjan solüsyonunun bulaşıcı virüsle aşırı derecede kirlenmesine yol açtığını göstermiştir. Uzman bahçe deterjanlarını işlenmemiş bir kontrole karşılaştırarak, Fadox H+, Menno Hortisept Clean Plus ve dezenfektan Menno Florades bulaşıcı virüsün varlığını %99,9'dan fazla azalttığı bildirilmektedir. (Ehlers vd., 2022). Ayakkabıların dezenfeksiyonu için ürünlerin etkinliği üzerine hem doğrudan dezenfeksiyon yaklaşımı olarak hem de dezenfektan ayak matı kullanımı yoluyla daha fazla çalışma yürütülmüştür (Ehlers vd., 2022)

Diğer önemli bir husus ise üretim alanında ToBRFV belirtisi gösteren bitkilerin dikkatlice sökülmesi ve yakılarak yok edilmesidir. Enfekteli bitkiler atık yakma yoluyla yok

edilmelidir. Kompostlama, virüsün güvenli bir şekilde etkisiz hale getirilmesi için yetersizdir. Enfekteli bitkiler üretim alanından çıkarılırken sağlıklı bitkilere temas ettirilmemelidir. Enfekteli bitkilerle temas halinde olan bombus arıları kolonilerinin (*Bombus terrestris*) değiştirilmesi gerekir. Ürünlerin paketlenmesine dikkat edilmeli, enfekte olmuş ürün paketlenme sisteminden geçirilmemelidir. İşçiler üretim alanı ile paketlenme alanı arasında hareket etmemeli, üretim alanında çalışan personel, etmenin belirtileri ve korunma önlemleri konusunda eğitilmelidir.

Entegre hastalık yönetimi (IDM) stratejileri, bitki sağlığı ve kültürel uygulamalar, konak direnci, biyolojik kontrol ve hatta mümkün olduğunda genetik mühendisliği dahil olmak üzere önlemlerin kombinasyonlarını kullanarak bitki hastalıklarını kontrol etmenin en iyi yolunu sağlar (Pandey vd., 2016). Hastalık kontrolü, hastalık döngüsünün farklı bileşenlerini ele alarak tamamlayıcı önlemlerle farklı cephelerde hareket edilirse geliştirilebilir ve daha verimli ve sürdürülebilir olabilir. Şu anda, IDM ToBRFV için öncelikle çeşitli bitki sağlığı kontrol önlemlerine güvenmektedir. Bununla birlikte, konak direnci, genetik mühendisliği ve biyolojik kontrol konusunda iyi bir araştırma ilerlemesi olmuştur ve bunları birleştiren stratejiler yakın gelecekte tarlalarda ToBRFV'ye karşı muhtemelen uygulanabilir olacaktır (Dombrovsky ve Smith, 2017)

Bu çalışmanın amacı, Tobamovirus cinsinin hızla yayılmakta olan bu ToBRFV virüsünün bulaşması, yayılması ve dayanıklılığında önemli bir gen bölgesi olan hareket proteininin (movement protein) moleküler yöntemler aracılığıyla karakterize edilmesidir. Bu amaçla, hastalıklı bitki temin edilerek sağlıklı fideler inokule edilmiştir. Bitkilerden nükleik asit izole edilerek virüsün hareket proteini nükleotid düzeyinde moleküler olarak karakterize edilmiştir.

BÖLÜM II

MATERYAL VE METOD

1.1 Virüs Kaynağı

Domates kahverengi rugose meyve virüsü (ToBRFV) kaynağı Isparta İlinde bulunan 14 farklı seralardan temin edilmiştir. Her bir seradan beşer adet bitki olmak üzere toplam olarak 70 bitki örneği temin edilmiş olup bu bitkiler şiddetli hastlık belirtisi içeren ve üreticilerin şikâyetleri üzerine toplanmıştır.

1.2 Mekanik İnokulasyonlar

Virus kaynağını çoğaltmak için mekanik inokulasyonlar yapılmıştır. Her bir serayı temsilen 14 adet hassas olduğu bilinen H2274 domates tohumları kullanılmış olup tohum ekimi, fide yetiştirme ve belirtileri gözlemlene işlemleri Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi'ndeki Bitki Virolojisi bitki yetiştirme odasında gerçekleştirilmiştir. Domateslerin 4-5 yapraklı olduğu zaman mekanik inokulasyonu yapılmıştır (Şekil 2.1.). Mekanik inokulasyonlar için, 0.199 g/l KH_2PO_4 , 1.14 g/l Na_2HPO_4 ve %0,1 Na_2SO_3 ve 1% PVP-40 içeren inokulasyon tampon çözeltisi (pH: 7.4) kullanılmıştır. Mekanik inokulasyon için fosfat solüsyonu içinde homojenize edilen virüs kaynağı yapraklara karborandum serpilmesi ile aşındırma sonucu yaprak yüzeyine sürülmüştür ve yarım saat sonra musluk suyu ile durulanmıştır. İnokulasyonu yapılan domates bitkileri, inokulasyondan bir ay sonra virüs enfeksiyonunu doğrulamak için PCR analizleri yapılmıştır.

1.3 Moleküler Analizler

1.3.1 Toplam NA Ekstraksiyonu

İnokulum kaynaklarındaki enfeksiyondan emin olabilmek için, toplam NA, üreticinin talimatlarını izleyerek domates yaprağı dokularından çıkarılmış ve saflaştırılmıştır. İnokule bitkiler ile inokulum kaynağını oluşturan bitkilerin (her bir seradan temin edilen beşer bitki karıştırılarak) yaprak dokularından NA ekstraksiyonu için hızlı ve etkili bir yöntem olan hızlı CTAB yöntemi (Gambino vd., 2008) kullanılmıştır. Aşamaları aşağıdaki gibidir:

- 1) 0,15 g numuneyi sıvı nitrojende homojenize edilmiştir.
- 2) 1 ml ekstraksiyon tamponu eklendi ve havaneli ile homojenize edilmiştir (Şekil 4).
- 3) 750 µl homojenatı yeni bir tüpe aktarın ve 65°C'de 15 dakika inkübe edilmiştir.
- 4) 750 µl fenol: kloroform: izoamil alkol (25:24:1 v/v) eklenmiştir.
- 5) 4 °C'de 5 dakika boyunca 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- 6) Üst faz alınmış ve eşit hacimde (600 µl) kloroform: izoamil alkol (24:1) eklenmiştir.
- 7) 4 °C'de 10 dakika boyunca 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.



Şekil 2. 1. Numunenin havaneli ile homojenize edilmesi ve tüplere aktarılması

- 8) Üst sıvı yeni tüpe aktarılmış ve eşit hacimde (600 µl) 3 M LiCl eklenmiştir.
- 9) Karışımı 30 dakika boyunca buz üzerinde inkübe edilmiştir.
- 10) 4 °C'de 25 dakika boyunca 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- 11) Peleti 500 µl SSTE tamponunda yeniden süspansiyon edilmiştir (tamponu 65 °C'de önceden ısıtılmıştır).
- 12) 500 µl (eşit hacimde) kloroform: izoamil alkol (24:1 v/v) eklenmiştir.
- 13) 4 °C'de 10 dakika boyunca 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- 14) Üst sıvı yeni tüpe aktarılmış ve 0,1 hacim (50 µl) Sodyum asetat NaOAc ve 0,7 hacim (350 µl) soğuk izopropanol eklenmiştir. (Şekil 4)
- 15) Hemen 15.000 rpm'de 4 °C'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.
- 16) Peleti 500 µl %70 EtOH ile yıkanmış ve 10.000 rpm'de 4 °C'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
- 17) Peleti kurutulmuştur.
- 18) RNA₂₀ µl DEPC suyunda tekrar süspansiyon edilmiştir.

CTAB Tamponu;

(2% CTAB, 2.5% PVP40, 2 M NaCl, 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 25mM EDTA pH 8.0)

(Kullanımdan hemen önce %2 β merkaptotanol eklenmiştir.)

SSTE Tamponu

(10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA pH 8.0, %1 SDS, 1 M NaCl)

Veya TE Tamponu + %1 SDS + 1 M NaCl

Toplam NA'ların verimi ve kalitesi, bir BioSpec spektrofotometre (Shimadzu, ABD) kullanılarak ölçülmüştür.

1.4 cDNA Sentezi ve PCR Analizi

İki aşamalı bir RT-PCR protokolü kullanılmıştır. Birinci iplikçik cDNA, cDNA Sentez Kiti talimatları için rastgele heksamer primerleri ve Superscript Choice Sistemi kullanılarak toplam RNA'ların Ters transkripsiyonuyla sentezlenmiştir. PCR, 2 µl cDNA, 0,5 µl 10mM dNTP, 1 µl 25 mM MgCl₂, 2,5 µl 5X PCR tampon çözeltisi ve virüse spesifik primerlerden 0,5 µl 10 µM ve 0.25 µl 5 birim /µl Taq DNA polimerazı ile yapılmıştır (Tablo 2.1.). PCR, aşağıdaki koşullar altında gerçekleştirilmiştir: 94 °C'de 5 dakika denatürasyon, 30 saniye boyunca 94 °C'de, 45 saniye boyunca 55 °C'de ve 1

dakika boyunca 72 °C’de 40 döngü ve 72 °C’de 10 dakika boyunca son bir uzama (Tablo 2.2). PCR ürünleri, %1,5 agarose jele yüklenip elektroforezde koşturulmuş ve bir UV-transillüminatör altında ethidium bromide ile uygulandıktan sonra UV ışığı altında incelenmiştir. ToBRFV MP geni için F- 5’-GATGGCTCTTGTTAAGGGTAAA-3’ and R- 5’-CCCATGCTGATGACAAAAAC-3’-858 bp primer çifti kullanılmıştır (Güller vd., 2023).

Çizelge 2.1. RT-PCR analizlerinde kullanılan karışım ve oranları

Adım 1	Σ12.5µl	Koşullar: Adım 1 (94°C 5 min., 20°C5 min) Adım 2 (42°C1 hour, 70°C 10 min)
RNA	5 µl	
Random hex.	1 µl	
dH2o	6.5 µl	
Adım 2	Σ7.5 µl	
5X RT buffer	5.5 µl	
RNase inhibitor	0.5 µl	
dNTPs	0.5 µl	
RTase	1 µl	

Çizelge 2.2. PCR analizlerinde kullanılan karışım ve oranları

PCR KARIŞIMI:	Σ=12µl	Σ=25µl	Σ=50µl
sdH ₂ O	6.5µl	16.8µl	35.5 µl
10X PCR Buffer	1.2µl	2.5 µl	5 µl
dNTPs (10mM)	0.25 µl	0.5 µl	1µl
MgCl ₂ (25mM)	1 µl	2 µl	3 µl
Primer R (10uM)	0.25 µl	0.5 µl	1 µl
Primer F (10uM)	0.25µl	0.5 µl	1µl
Taq DNA Polymerase (5u/µl)	0.1 µl	0.2 µl	0.5 µl
DNA	2µl	2µl	3µl

1.5 Nükleotid Dizi Analizleri

PCR ürünlerinin nükleotid dizi analizleri, BMLabosis Firması (Ankara, Türkiye) ABI 3730 Automated Genetic Analyzer cihazı ile doğrudan dizilenmiştir. Nükleotidleri belirlemek için BLASTn ve BLASTx modülleri kullanılmıştır.

1.6 Filogenetik Analizler

GenBank'ta (NCBI) depolanan farklı izolatların dizileri hem nükleotid hem de aminosit düzeyinde filogenetik analize alınmıştır. Nükleotid dizilerinin çoklu hizalaması CLUSTAL W ile gerçekleştirilmiş ve Molecular Evolutionary Genetics Analysis MEGA11 programı ile filogenetik ağaç oluşturmak için neighbor-joining yöntemi kullanılmıştır (Tamura vd., 2011). Filogenetik ağaçların her bir düğümünün sağlamlığı, 1000 bootstrap kopyasından değerlendirilmiştir.

BÖLÜM III

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmanın öncelikli amacı domates yetiştiriciliğinin yaygın olduğu, Isparta gibi Akdeniz ikliminin görüldüğü seralarda, ToBRFV'nin ülkemiz açısından araştırılmasıdır. Bunun için virüs belirtileri gösteren yaprak örnekleri sağlıklı fidelere inokule edilmiş ve bu fidelerdeki hastalık belirtileri gözlenmiştir. Virüs varlığını tespit edebilmek için yaprak örneklerinden nükleik asit izolasyonları yapılmış ve RT-PCR analizleri yapılmıştır. Virüsün hareket proteinine ait primerlerin kullanılmasıyla beklenen seviyede ampliconlar elde edilmiş ve nükleotid dizi analizlerine tabii tutulmuştur. Daha sonrasında bu diziler filogenetik analizlerde kullanılmıştır.

3.1. Mekanik İnokulasyon Sonuçları

Yapılan inokulasyonlar sonrasında virüs belirtilerinin çok hızlı görülmeye başladığı gözlenmiştir. İnokulasyondan 5-7 gün sonra ilk belirtiler oluşmuştur (Şekil 3.1.). Belirtiler arasında en yaygın olanlar mozaikleşmeler olup yaprak kıvrıcıklığı ve sarı benekler de yaygın olarak gözlenmiştir. (Şekil 3.1.)



Şekil 3. 1. Mekanik inokulasyonlar ve sonrasında bitki görünümü



Şekil 3. 2. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus belirtileri 1



Şekil 3. 3. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus belirtileri 2



Şekil 3. 4. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus belirtileri 3



Şekil 3. 5. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus belirtileri 4



Şekil 3. 6. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus belirtileri 5



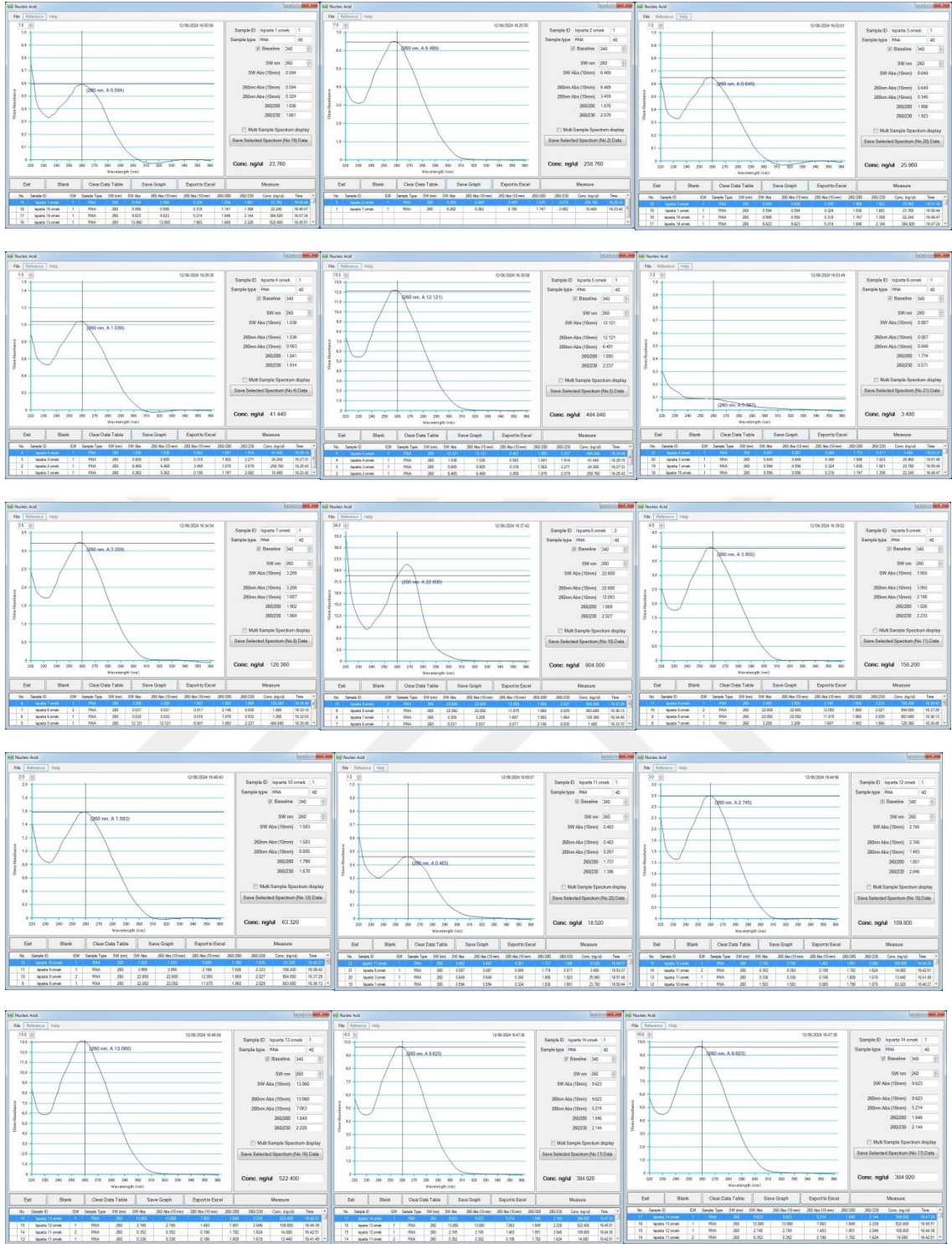
Şekil 3. 7. İnokulasyonlar sonucu oluşan en yaygın virus belirtileri 6

Simptom gelişimleri bir ay boyunca gözlenmiştir. Virus simptomları yedinci gün, onuncu gün belirti vermiştir ve on beş, yirmi, yirmi beş ve otuz günün simptom gelişimleri incelenmiştir ve şiddetli virüs simptomları kaydedilmiştir (Şekil 3.2., 3.3., 3.4., 3.5., 3.6., 3.7.). Yapraklarda şiddetli belirtiler örneğin yapraklarda mozaikleşme ve sarı renkte benek oluşumları ve kıvrırcıkanmalar yaygındır.

3.2. Total NA İzolasyonu Sonuçları

CTAB yöntemine göre yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen nükleik asitlerin kalite değerleri nanodrop spektrofotometre cihazı aracılığıyla ölçülmüş olup 230/260 optik okuma değerleri elde edilmiştir. Bu değerlerin 1.5 ila 2-2 ng/ul arası olduğu tespit edilmiş olup bu değerlerin PCR analizleri için uygun kalitede olduğu görülmüştür (Şekil 7).

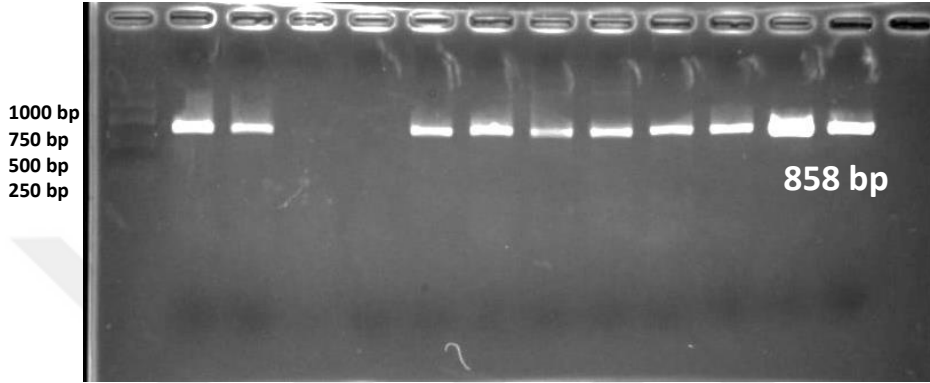
Optimum RNA saflığı 260/280 oranının yaklaşık 2,0 ve 260/230 oranının 2,0 ile 2,2 arasında olmasıyla gösterilir. pH bu oranları etkileyebilirken, yukarıdaki değerler 1.8 genellikle kabul edilebilir olarak değerlendirilmektedir.



Şekil 3. 2. 1. İzole edilen bazı örneklerin total nükleik asit grafikleri, sırası ile Isparta 1 - 14, inokule bitki.

3.3. RT-PCR Analiz sonuçları

Yapraklardan izole edilen virüs RNA'larının iki aşamalı cDNA sentezi yapıp MP genine özgü primer çiftlerinin kullanılması ile ToBRFV'nin kısmi nükleotid dizileri çoğaltılmıştır. Testlenen tüm izolatlar beklenildiği gibi 858 bp'lik bant göstermiştir (Şekil 3.3.1.).



Şekil 3. 3. 1. RT- PCR analizi sonucu agaroz jel görüntüsü, M: Thermo scientific 1 kb plus DNA Ladder

3.4. DNA Dizi Analizi Sonuçları

Elde edilen PCR ürünleri DNA dizi analizine alınmış olup 858 bp büyüklüğünde nükleotid dizileri elde edilmiştir. Bu dizilerin BLASTn analizleri yapılmış olup örneklerimizin Gen Bankasına kayıtlı örneklerle kıyaslandığında yaklaşık olarak %98 ila 99,5 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Job Title		Filter Results																																																																																																
Job Title	I7-ToBRFV_MP_F	Organism	only top 20 will appear <input type="checkbox"/> exclude																																																																																															
RID	RK40BYJD016 Search expires on 01-06 02:46 am Download All	Type common name, binomial, taxid or group name																																																																																																
Program	BLASTN Citation	<input type="text"/>																																																																																																
Database	core_nt See details	+ Add organism																																																																																																
Query ID	lcl Query_6506941	Percent Identity	E value																																																																																															
Description	I7-ToBRFV_MP_F	<input type="text"/> to <input type="text"/>	<input type="text"/> to <input type="text"/>																																																																																															
Molecule type	dna	Query Coverage	<input type="text"/> to <input type="text"/>																																																																																															
Query Length	881	<input type="text"/>																																																																																																
Other reports	Distance tree of results MSA viewer	<input type="button" value="Filter"/> <input type="button" value="Reset"/>																																																																																																
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy </div>																																																																																																		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100 </div>																																																																																																		
<input checked="" type="checkbox"/> select all 100 sequences selected																																																																																																		
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Description</th> <th>GenBank</th> <th>Graphics</th> <th>Distance tree of results</th> <th>MSA Viewer</th> </tr> <tr> <th></th> <th>Scientific Name</th> <th>Max Score</th> <th>Total Score</th> <th>Query Cover</th> <th>E value</th> <th>Per Ident</th> <th>Acc. Len</th> <th>Accession</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.NFPO:NL.41833738.complete.genome</td> <td>Tomato.brown.ru...</td> <td>983</td> <td>983</td> <td>61%</td> <td>0.0</td> <td>99.45%</td> <td>6317</td> <td>PP099923.1</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.39563433_3.partial.genome</td> <td>Tomato.brown.ru...</td> <td>983</td> <td>983</td> <td>61%</td> <td>0.0</td> <td>99.45%</td> <td>6376</td> <td>MW314123.1</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.39563361_B.complete.genome</td> <td>Tomato.brown.ru...</td> <td>983</td> <td>983</td> <td>61%</td> <td>0.0</td> <td>99.45%</td> <td>6321</td> <td>MN882043.1</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.39563361_A.complete.genome</td> <td>Tomato.brown.ru...</td> <td>983</td> <td>983</td> <td>61%</td> <td>0.0</td> <td>99.45%</td> <td>6302</td> <td>MN882042.1</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.TBREV.P12.3G.complete.genome</td> <td>Tomato.brown.ru...</td> <td>983</td> <td>983</td> <td>61%</td> <td>0.0</td> <td>99.45%</td> <td>6390</td> <td>MK133093.1</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.36364500_1.complete.genome</td> <td>Tomato.brown.ru...</td> <td>983</td> <td>983</td> <td>61%</td> <td>0.0</td> <td>99.45%</td> <td>6369</td> <td>OM615233.1</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.NFPO:NL.38926108.complete.genome</td> <td>Tomato.brown.ru...</td> <td>983</td> <td>983</td> <td>61%</td> <td>0.0</td> <td>99.45%</td> <td>6363</td> <td>PP099898.1</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.Tom1-jo.complete.genome</td> <td>Tomato.brown.ru...</td> <td>983</td> <td>983</td> <td>61%</td> <td>0.0</td> <td>99.45%</td> <td>6393</td> <td>NC_028478.1</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.36688436_1.partial.genome</td> <td>Tomato.brown.ru...</td> <td>983</td> <td>983</td> <td>61%</td> <td>0.0</td> <td>99.45%</td> <td>6376</td> <td>MW314104.1</td> </tr> </tbody> </table>				Description	GenBank	Graphics	Distance tree of results	MSA Viewer		Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession	<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.NFPO:NL.41833738.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6317	PP099923.1	<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.39563433_3.partial.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6376	MW314123.1	<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.39563361_B.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6321	MN882043.1	<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.39563361_A.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6302	MN882042.1	<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.TBREV.P12.3G.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6390	MK133093.1	<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.36364500_1.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6369	OM615233.1	<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.NFPO:NL.38926108.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6363	PP099898.1	<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.Tom1-jo.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6393	NC_028478.1	<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.36688436_1.partial.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6376	MW314104.1
Description	GenBank	Graphics	Distance tree of results	MSA Viewer																																																																																														
	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession																																																																																										
<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.NFPO:NL.41833738.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6317	PP099923.1																																																																																										
<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.39563433_3.partial.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6376	MW314123.1																																																																																										
<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.39563361_B.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6321	MN882043.1																																																																																										
<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.39563361_A.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6302	MN882042.1																																																																																										
<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.TBREV.P12.3G.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6390	MK133093.1																																																																																										
<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.36364500_1.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6369	OM615233.1																																																																																										
<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.NFPO:NL.38926108.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6363	PP099898.1																																																																																										
<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.Tom1-jo.complete.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6393	NC_028478.1																																																																																										
<input checked="" type="checkbox"/> Tomato.brown.rugose.fruit.virus.isolate.36688436_1.partial.genome	Tomato.brown.ru...	983	983	61%	0.0	99.45%	6376	MW314104.1																																																																																										

Şekil 3. 4. 1. Isparta 7 numaralı virus izolatının BLASTn analiz sonucu (NCBI)

3.5. Filogenetik Analiz Sonuçları

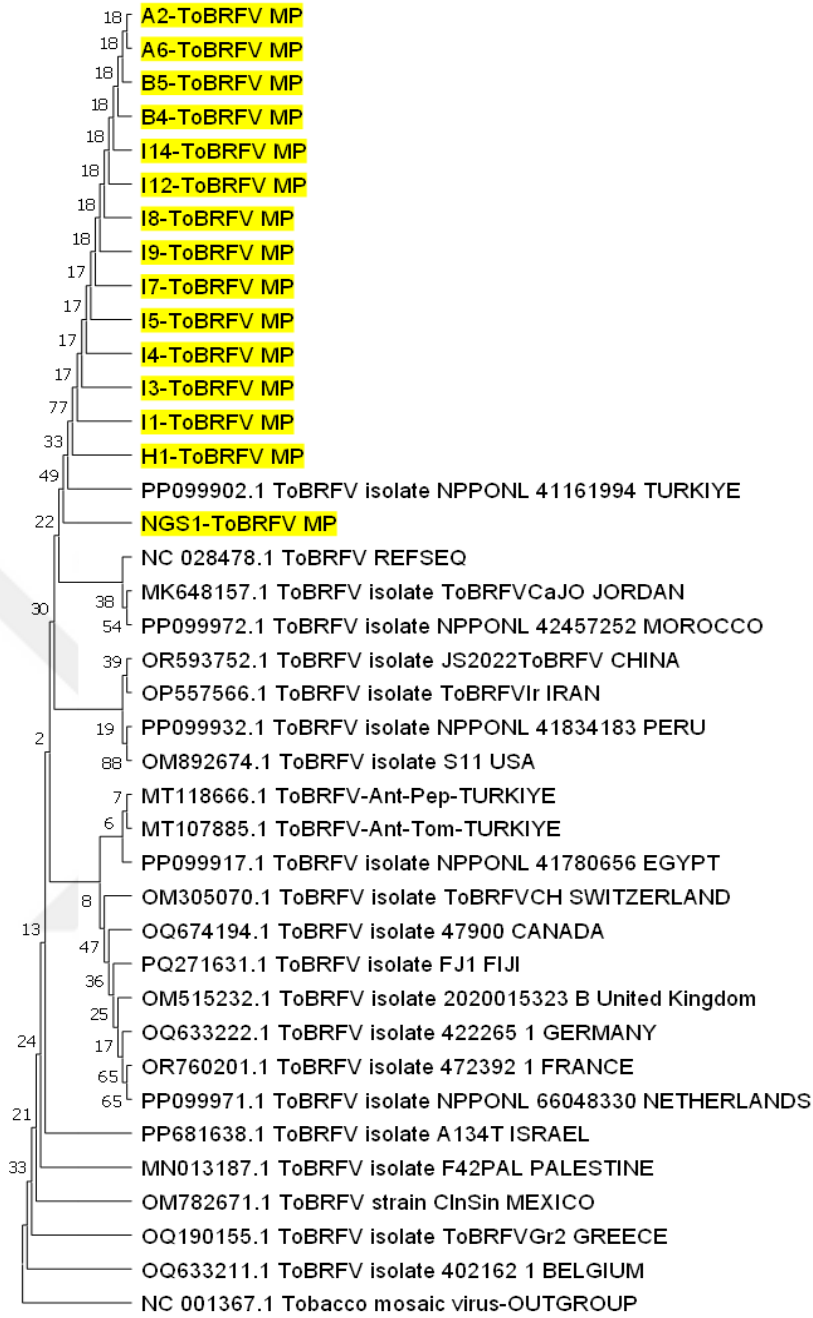
Nükleotid ve amino asit dizilerinin tanımlanması ve hizalanması, virüslerin genetik çeşitliliğini analiz etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Nyalugwe vd., 2015; Farzadfar ve Pourrahim, 2017). Isparta ToBRFV izolatının MP gen bölgesinin nükleotid ve amino asit dizileri, maksimum olabilirlik analizi kullanılarak NCBI veri tabanında halihazırda bulunan diğer gen dizileri ile filogenetik ilişkileri açısından karşılaştırılmış ve değerlendirilmiştir. Isparta ToBRFV izolatlarının genetik yapısı mevcut literatürle örtüşmekte, ancak aynı zamanda yeni bilgiler de ortaya koymaktadır.

Kullandığımız Komşu Birleştirme Yönteminde kümelenme temelli algoritmada olduğu gibi taksonların kökten eşit uzaklıkta olduğu varsayılmaz. Yöntemimiz oldukça verimlidir ve geniş çapta verileri ve veri topluluklarını analiz etmeye yardımcı olur. Dış grup takson olarak incelenen organizma grubu TMV ise, evrimsel ilişkileri belirlerken daha uzaktan ilişkili olan ve referans grubu olarak kullanılan organizmalardır ve dış grup, iç grup için bir karşılaştırma noktası olarak kullanılır ve özel olarak da filogeninin kökünün olmasını sağlar.

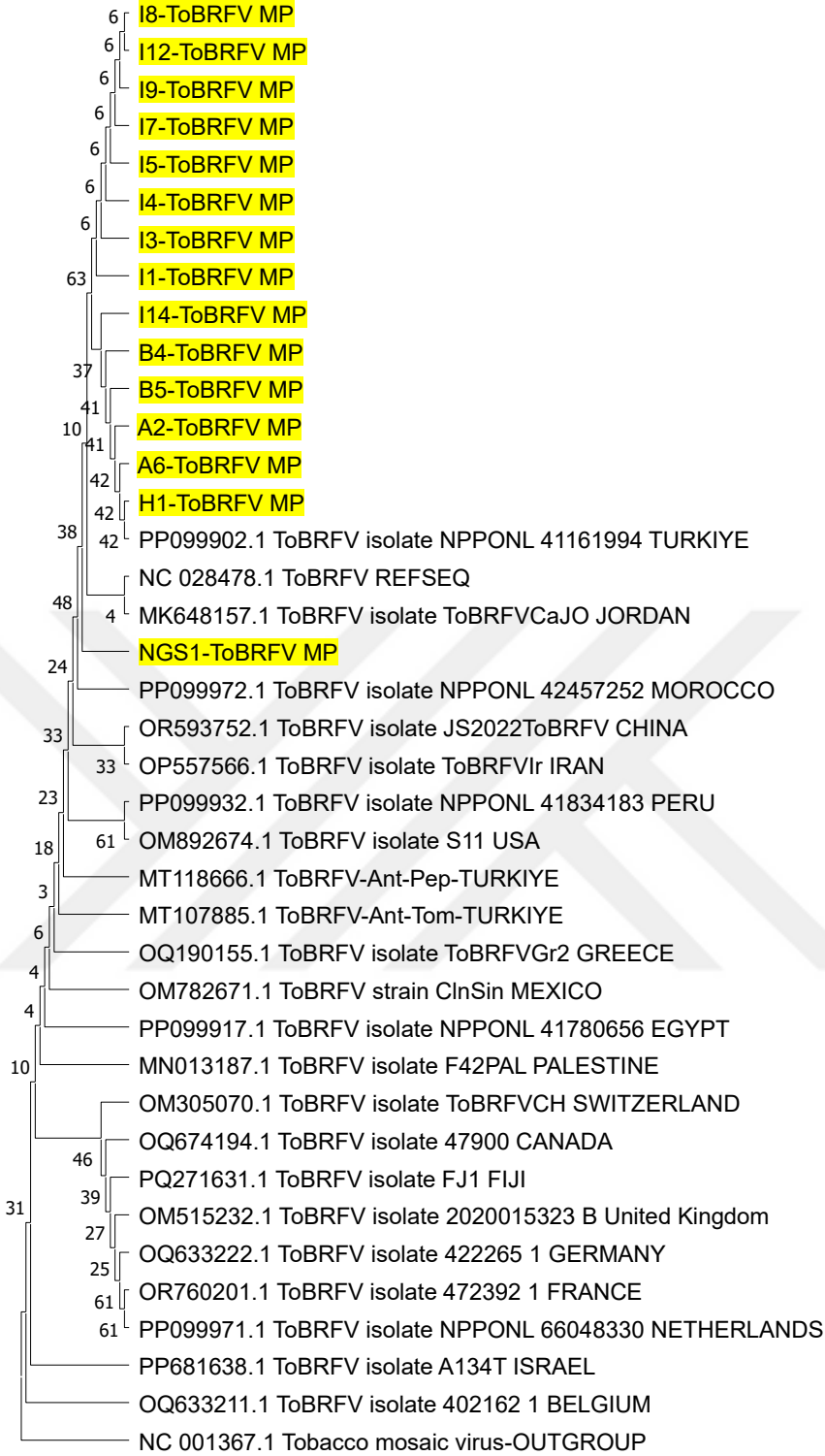
Nükleotid dizileri ile oluşturulan MP gen bölgesi ağacında, Isparta izolatlarının birbiri ile çok benzer olduğu ve bu izolatların GenBankasına kayıtlı olan PP099902.1 numaralı

NPPLONL41161994 nolu Türkiye izolatu ile yüksek oranda homoloji gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 3.5.1.). Ayrıca Türkiye’den izole edilen Antalya örneklerinin de bizim izolatlarımız ile yakın bir dalda kümelendiği tespit edilmiştir (MT107885.1 ToBRFV-Ant-Tom-TURKIYE ile biberden izole edilen MT118666.1 ToBRFV-Ant-Pep-TURKIYE izolatu). Kontrol grubu olarak kullanılan Tütün mozaik virüsü ise beklendiği gibi en uzak dalda yer almaktadır.

Virüsün nükleotid dizilerinin aminoasite çevrilmesi ile oluşturulan ağaç nükleotid ağacı ile benzer sonuçlar vermiş olup farklı olarak MK648157.1 ToBRFV isolate ToBRFVCaJO JORDAN kodlu Ürdün izolatu da bizim örneklerimizle aynı grupta kümelmiştir (Şekil 3.5.2.). Tobamovirüslerin stabil yapısı dikkate alındığında bu sonuçların beklenildiği gibi olduğu düşünülmektedir.



Şekil 3. 5. 1. ToBRFV izolatlarının MP (movement protein) nükleotid dizilerinden MEGA11'de Komşu-Birleştirme yöntemi ile çıkarılan filogenetik ağacı. Bu çalışmadan elde edilen izolatlar sarı ile vurgulanmıştır. NGS1 izolatu iç kontrol izolatımızdır. İç düğümlerdeki sayılar, 1.000 tekrarlamaya dayalı bootstrap yüzdelerini göstermektedir. TMV izolatu dizileri dış grup taksonu olarak kullanılmıştır.



Şekil 3. 5. 2. ToBRFV izolatlarının MP (movement protein) aminoasit dizilerinden MEGA11'de Komşu-Birleştirme yöntemi ile çıkarılan filogenetik ağacı. Bu çalışmadan elde edilen izolatlar sarı ile vurgulanmıştır. NGS1 izolatu iç kontrol izolatımızdır. İç düğümlerdeki sayılar, 1.000 tekrarlamaya dayalı bootstrap yüzdelerini göstermektedir.

TMV izolatının aa dizileri dış grup taksonu olarak kullanılmıştır.

Tüm elde edilen verilere dayanılarak; domates buruşuk meyve virüsünün hareket proteini moleküler karakterizasyonu yapılmış olup virüsün bu genindeki varyasyon moleküler olarak belirlenmiştir. Isparta ToBRFV izolatlarının genetik yapısı analiz edilmiş olup GenBankasındaki mevcut dizilerle yüksek oranda homoloji gösterdiği tespit edilmiştir. Tobamovirüs enfeksiyon döngüsü için çok önemli olan bu hareket proteininin komşu hücrelere geçişi kolaylaştırdığı gibi bitkinin savunma mekanizmasını da baskılayarak virüsün yayılımını ve çoğalmasını sağladığı bilinmektedir. Bu nedenle, elde edilen verilerle MP geninin çok fazla varyasyon içermediği ve taşınma kaynaklı mücadele yöntemlerine yardımcı olacağı düşünülmektedir.

ToBRFV tarımsal faaliyetler sırasında mekanik veya tohum yoluyla bulaşmaktadır. Bundan dolayı ToBRFV ve diğer tobamovirüsleri kontrol etmek için etkili ve dayanıklılık genlere ihtiyaç olduğu saptanmıştır. Bu dayanıklılık genlerin ve bitkilerin CRISPR\Cas9 en kısa en doğru genom düzenleme aracı ile üretilebileceği düşünülmekte olup bu yöntem ile ToBRFV dayanıklı domates yetiştiriciliği kolaylaşacağı düşünülmektedir.

BÖLÜM VI

SONUÇ

ToBRFV, domates bitkilerinin en yıkıcı viral hastalıklarından biridir. EPPO karantina listesinde yer alıp dünyada domates yetiştiriciliği yapılan ülkelerde hızla yayılmakta ve çok acil önlemler alınması gerekmektedir. Çalışmamızda virüsün yayılmasında en önemli etken olan virüsün hareket proteini incelenmiş ve moleküler olarak karakterize edilmiştir. Bu sonuçlara göre, virüs enfeksiyonunun bulaşmasını veya yayılmasını önlemek hastalıkla mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi için çok önemlidir. Dayanıklılık kaynaklarının tespit edilerek dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi önerilmektedir.

Virüsün farklı ülkelere girişi önlenmesi için zararlı karantina kontrolü yapılması gerekir. ToBRFV, EPPO'nun karantina listesine dahil etmiştir ve virüs artık birçok bölgede karantina patojeni olarak kabul edilmektedir. Ülkemizde de düzenleyici önlemler uygulanmalı ve karantina kontrolü sağlanması gerekmektedir.

Son olarak ToBRFV belirtisi gösterilen bitkilerin dikkatlice sökerek ve yakılarak yok edilmesi gerekmektedir. Enfekteli bitkilerin üretim alanlarındaki bombus arıları kolonileri değişmesi gerekmektedir. Giysilerde bitki özsuğu ile temasta olacağı için ToBRFV olarak işlev görebilir ve dezenfekteye çok dikkat etmek gerekmektedir. Üretim paketlenmesine dikkat etmeli ve çalışan personellerin korunma önlemleri konusunda eğitilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Abou Kubaa, R., Choueiri, E., Heinoun, K., Cillo, F., & Saponari, M., “First report of tomato brown rugose fruit virus infecting sweet pepper in Syria and Lebanon”, *Journal of Plant Pathology*, 104(1), 425-425, 2022.

Alfaro-Fernández, A., Castillo, P., Sanahuja, E., Rodríguez-Salido, M. C., & Font, M. I., “First report of Tomato brown rugose fruit virus in tomato in Spain”, *Plant Disease*, 105(2), 515-515, 2021.

Ali, M. E., Ishii, Y., Taniguchi, J. I., Waliullah, S., Kobayashi, K., Yaeno, T., & Nishiguchi, M., “Conferring virus resistance in tomato by independent RNA silencing of three tomato homologs of Arabidopsis TOM1”, *Archives of virology*, 163, 1357-1362, 2018.

Alkowni, R., Alabdallah, O., & Fadda, Z., “Molecular identification of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Palestine”, *Journal of Plant Pathology*, 101, 719-723, 2019.

Amer, M. A., & Mahmoud, S. Y., “First report of tomato brown rugose fruit virus on tomato in Egypt”, *New Disease Reports*, 41(1), 2020.

Asano, M., Satoh, R., Mochizuki, A., Tsuda, S., Yamanaka, T., Nishiguchi, M., & Ishikawa, M., “Tobamovirus-resistant tobacco generated by RNA interference directed against host genes”, *FEBS letters*, 579(20), 4479-4484, 2005.

Atarashi, H., Jayasinghe, W. H., Kwon, J., Kim, H., Taninaka, Y., Igarashi, M., & Nakahara, K. S., “Artificially edited alleles of the eukaryotic translation initiation factor 4E1 gene differentially reduce susceptibility to cucumber mosaic virus and potato virus Y in tomato”, *Frontiers in microbiology*, 11, 564310, 2020.

Avni, B., Gelbart, D., Sufrin-Ringwald, T., Zemach, H., Belausov, E., Kamenetsky-Goldstein, R., & Lapidot, M., “ToBRFV infects the reproductive tissues of tomato plants but is not transmitted to the progenies by pollination”, *Cells*, 11(18), 2864, 2022.

Bačnik, K., Kutnjak, D., Pecman, A., Mehle, N., Žnidarič, M. T., Aguirre, I. G., & Ravnikar, M., “Viromics and infectivity analysis reveal the release of infective plant viruses from wastewater into the environment”, *Water research*, 177, 115628, 2020.

Beris, D., Malandraki, I., Kektsidou, O., Theologidis, I., Vassilakos, N., & Varveri, C., “First report of tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Greece”, *Plant Disease*, 104(7), 2035, 2020.

Broadbent, L., “Epidemiology and control of tomato mosaic virus”, *Annual review of Phytopathology*, 14(1), 75-96, 1976.

Camacho-Beltrán, E., Pérez-Villarreal, A., Leyva-López, N. E., Rodríguez-Negrete, E. A., Cenicerós-Ojeda, E. A., & Méndez-Lozano, J., “Occurrence of Tomato brown rugose fruit virus Infecting Tomato Crops in Mexico”, *Plant Disease*, 103(6), 1440-1440, 2019.

Cambrón-Crisantos, J. M., Rodríguez-Mendoza, J., Valencia-Luna, J. B., Alcasio Rangel, S., García-Ávila, C. D. J., López-Buenfil, J. A., & Ochoa-Martínez, D. L., “First report of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in Michoacan, Mexico”, *Revista mexicana de fitopatología*, 37(1), 185-192, 2019.

Caruso, A. G., Bertacca, S., Parrella, G., Rizzo, R., Davino, S., & Panno, S., “Tomato brown rugose fruit virus: A pathogen that is changing the tomato production worldwide”, *Annals of Applied Biology*, 181(3), 258-274, 2022.

Chandrasekaran, J., Brumin, M., Wolf, D., Leibman, D., Klap, C., Pearlsman, M., & Gal-On, A., “Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology”, *Molecular plant pathology*, 17(7), 1140-1153, 2016.

Chen, B., Jiang, J. H., & Zhou, X. P., “A TOM1 homologue is required for multiplication of Tobacco mosaic virus in *Nicotiana benthamiana*”, *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 8(4), 256-259, 2007.

Davino, S., Caruso, A. G., Bertacca, S., Barone, S., & Panno, S., “Tomato brown rugose fruit virus: Seed transmission rate and efficacy of different seed disinfection treatments”, *Plants*, 9(11), 1615, 2020.

de Ronde, D., Butterbach, P., & Kormelink, R., “Dominant resistance against plant viruses”, *Frontiers in plant science*, 5, 307, 2014.

Dey, K. K., Velez-Climent, M., Soria, P., Batuman, O., Mavrodieva, V., Wei, G., & McVay, J., “First report of Tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Florida, USA”, *New Disease Reports*, 44(1), 2021.

Dombrovsky, A., & Smith, E., “Seed transmission of Tobamoviruses: Aspects of global disease distribution”, *Adv. Seed Biol*, 12, 233-260, 2017.

Dombrovsky, A., Tran-Nguyen, L. T., & Jones, R. A., “Cucumber green mottle mosaic virus: rapidly increasing global distribution, etiology, epidemiology, and management”, *Annual review of phytopathology*, 55(1), 231-256, 2017.

Ehlers, J., Nourinejhad Zarghani, S., Kroschewski, B., Büttner, C., & Bandte, M., “Cleaning of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) from Contaminated Clothing of Greenhouse Employees”, *Horticulturae*, 8(8), 751, 2022.

Ehlers, J., Nourinejhad Zarghani, S., Kroschewski, B., Büttner, C., & Bandte, M., “Decontamination of tomato brown rugose fruit virus-contaminated shoe soles under practical conditions”, *Horticulturae*, 8(12), 1210, 2022.

EPPO., “EPPO report on notifications of non-compliance”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-6746>, 2020.

EPPO., “Eradication of tomato brown rugose fruit virus in Poland”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-6878>, 2020.

EPPO., “First report of tomato brown rugose fruit virus in Cyprus”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-6851>, 2020.

EPPO., “First report of tomato brown rugose fruit virus in Poland”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-6800>, 2020.

EPPO., “Tomato brown rugose fruit virus does not occur in Egypt”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-6803>, 2020.

EPPO., “EPPO report on notifications of non-compliance”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-6970>, 2021.

EPPO., “EPPO report on notifications of non-compliance”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-7016>, 2021.

EPPO., “EPPO report on notifications of non-compliance”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-7109>, 2021.

EPPO., “Update on the situation of tomato brown rugose fruit virus in Poland”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-7026>, 2021.

EPPO., “EPPO report on notifications of non-compliance”, *Eur. Mediterr. Plant Prot. Organ.*, Paris. <https://gd.eppo.int/reporting/article-7329>, 2022.

EPPO., “Tomato brown rugose fruit virus (TOBRFV) datasheet”, *EPPO Global Database*, <https://gd.eppo.int/taxon/TOBRFV/datasheet>, 2022.

Esmailzadeh F, Koolivand D., “First report of tomato brown rugose fruit virus infecting bell pepper in Iran”, *J. Plant Pathol.* 104(2):893, 2022.

Esmailzadeh, F., & Koolivand, D., “Occurrence of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Iran”, *Journal of Plant Pathology*, 104(1), 457-457, 2022.

Fausser, F., Schiml, S., & Puchta, H., “Both CRISPR/C as-based nucleases and nickases can be used efficiently for genome engineering in *Arabidopsis thaliana*”, *The Plant Journal*, 79(2), 348-359, 2014.

Felsenstein J., “Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap”, *Evolution*, 39:783-791, 1985.

Fidan, H., Sarikaya, P., & Calis, O., “First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato in Turkey”, *New Dis. Rep.*, 39(18), 2044-0588, 2019.

Fidan, H., Sarikaya, P., Yildiz, K., Topkaya, B., Erkis, G., & Calis, O., “Robust molecular detection of the new Tomato brown rugose fruit virus in infected tomato and pepper plants from Turkey”, *Journal of Integrative Agriculture*, 20(8), 2170-2179, 2021.

Fidan, H., “Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV): Güncel durumu ve geleceği”, *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33(1), 43-49, 2020.

Fujisaki, K., Ravelo, G. B., Naito, S., & Ishikawa, M., “Involvement of THH1, an *Arabidopsis thaliana* homologue of the TOM1 gene, in tobamovirus multiplication”, *Journal of general virology*, 87(8), 2397-2401, 2006.

Gauffier, C., Lebaron, C., Moretti, A., Constant, C., Moquet, F., Bonnet, G., ... & Gallois, J. L., “A TILLING approach to generate broad-spectrum resistance to potyviruses in tomato is hampered by eIF4E gene redundancy”, *The Plant Journal*, 85(6), 717-729, 2016.

Genda, Y., Kanda, A., Hamada, H., Sato, K., Ohnishi, J., & Tsuda, S., “Two Amino Acid Substitutions in the Coat Protein of Pepper mild mottle virus Are Responsible for Overcoming the L4 Gene-Mediated Resistance in *Capsicum* spp.”, *Phytopathology*, 97(7), 787-793, 2007.

Ghorbani, A., Rostami, M., Seifi, S., & Izadpanah, K., “First report of Tomato brown rugose fruit virus in greenhouse tomato in Iran”, *New Disease Reports*, 44(2), e12040, 2021.

Gomez, M. A., Lin, Z. D., Moll, T., Chauhan, R. D., Hayden, L., Renninger, K., ... & Bart, R. S., “Simultaneous CRISPR/Cas9-mediated editing of cassava eIF 4E isoforms nCBP-1 and nCBP-2 reduces cassava brown streak disease symptom severity and incidence”, *Plant biotechnology journal*, 17(2), 421-434, 2019.

González-Concha, L. F., Ramírez-Gil, J. G., García-Estrada, R. S., Rebollar-Alviter, Á., & Tovar-Pedraza, J. M., “Spatiotemporal analyses of tomato brown rugose fruit virus in commercial tomato greenhouses”, *Agronomy*, 11(7), 1268, 2021.

Hak, H., & Spiegelman, Z., “The Tomato brown rugose fruit virus movement protein overcomes Tm-2² resistance in tomato while attenuating viral transport”, *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 34(9), 1024-1032, 2021.

Hall, T. J., “Resistance at the Tm-2 locus in the tomato to tomato mosaic virus”, *Euphytica*, 29, 189-197, 1980.

Hamborg, Z., & Blystad, D. R., “First report of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Norway”, *Plant Disease*, 106(7), 2004, 2022.

Hasan, Z. M., Salem, N. M., Ismail, I. D., Akel, E. H., & Ahmad, A. Y., “First report of Tomato brown rugose fruit virus on greenhouse tomato in Syria”, *Plant Disease*, 106(2), 772, 2022.

Hashimoto, M., Neriya, Y., Yamaji, Y., & Namba, S., “Recessive resistance to plant viruses: potential resistance genes beyond translation initiation factors”, *Frontiers in microbiology*, 7, 1695, 2016.

Ishibashi, K., & Ishikawa, M., “Replication of tobamovirus RNA”, *Annual Review of Phytopathology*, 54(1), 55-78, 2016.

Ishikawa, M., Obata, F., Kumagai, T., & Ohno, T., “Isolation of mutants of *Arabidopsis thaliana* in which accumulation of tobacco mosaic virus coat protein is reduced to low levels”, *Molecular and General Genetics MGG*, 230, 33-38, 1991.

Kang, B. C., Yeam, I., & Jahn, M. M., “Genetics of plant virus resistance”, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43(1), 581-621, 2005.

Klap, C., Luria, N., Smith, E., Bakelman, E., Belausov, E., Laskar, O., & Dombrovsky, A., “The potential risk of plant-virus disease initiation by infected tomatoes”, *Plants*, 9(5), 623, 2020.

Klap, C., Luria, N., Smith, E., Hadad, L., Bakelman, E., Sela, N., & Dombrovsky, A., “Tomato brown rugose fruit virus contributes to enhanced pepino mosaic virus titers in tomato plants”, *Viruses*, 12(8), 879, 2020.

Lei, Y., Lu, L., Liu, H. Y., Li, S., Xing, F., & Chen, L. L., “CRISPR-P: a web tool for synthetic single-guide RNA design of CRISPR-system in plants”, *Molecular plant*, 7(9), 1494-1496, 2014.

Levitzky, N., Smith, E., Lachman, O., Luria, N., Mizrahi, Y., Bakelman, H., & Dombrovsky, A., “The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of Tomato brown rugose fruit virus contributing to disease spread in tomatoes”, *PloS one*, 14(1), e0210871, 2019.

Ling, K. S., Tian, T., Gurung, S., Salati, R., & Gilliard, A., “First report of tomato brown rugose fruit virus infecting greenhouse tomato in the United States”, *Plant Disease*, 103(6), 1439, 2019.

Luria, N., Smith, E., Reingold, V., Bekelman, I., Lapidot, M., Levin, I., & Dombrovsky, A., “A new Israeli Tobamovirus isolate infects tomato plants harboring Tm-2² resistance genes”, *PloS one*, 12(1), e0170429, 2017.

Ma, Z., Zhang, H., Ding, M., Zhang, Z., Yang, X., & Zhou, X., “Molecular characterization and pathogenicity of an infectious cDNA clone of tomato brown rugose fruit virus”, *Phytopathology Research*, 3, 1-10, 2021.

Mahillon, M., Kellenberger, I., Dubuis, N., Brodard, J., Bunter, M., Weibel, J., & Schumpp, O., “First report of Tomato brown rugose fruit virus in tomato in Switzerland”, *New Disease Reports*, 45(1), e12065, 2022.

Menzel, W., Knierim, D., Winter, S., Hamacher, J., & Heupel, M., “First report of tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Germany”, *New Dis. Rep.*, 39(1), 2044-0588, 2019.

Nishikiori, M., Mori, M., Dohi, K., Okamura, H., Katoh, E., Naito, S., & Ishikawa, M., “A host small GTP-binding protein ARL8 plays crucial roles in tobamovirus RNA replication”, *PLoS pathogens*, 7(12), e1002409, 2011.

Nourinejhad Zarghani, S., Monavari, M., Ehlers, J., Hamacher, J., Büttner, C., & Bandte, M., “Comparison of models for quantification of tomato brown rugose fruit virus based on a bioassay using a local lesion host”, *Plants*, 11(24), 3443, 2022.

Orfanidou, C. G., Cara, M., Merkuri, J., Papadimitriou, K., Katis, N. I., & Maliogka, V. I., “First report of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Albania”, *Journal of Plant Pathology*, 104(2), 855-855, 2022.

Panno, S., Caruso, A. G., Barone, S., Lo Bosco, G., Rangel, E. A., & Davino, S., “Spread of tomato brown rugose fruit virus in Sicily and evaluation of the spatiotemporal dispersion in experimental conditions”, *Agronomy*, 10(6), 834, 2020.

Panno S, Caruso AG, Blanco G, Davino S., “First report of tomato brown rugose fruit virus infecting sweet pepper in Italy”, *New Dis. Rep.*, 41(1):20, 2020.

Panno, S., Caruso, A. G., & Davino, S., “First report of tomato brown rugose fruit virus on tomato crops in Italy”, *Plant Disease*, 103(6), 1443-1443, 2019.

Pelham, J., “Resistance in tomato to tobacco mosaic virus”, *Euphytica*, 15(2), 258-267, 1966.

Piron, F., Nicolai, M., Minoia, S., Piednoir, E., Moretti, A., Salgues, A., & Bendahmane, A., “An induced mutation in tomato eIF4E leads to immunity to two potyviruses”, *PloS one*, 5(6), e11313, 2010.

Pramanik, D., Shelake, R. M., Park, J., Kim, M. J., Hwang, I., Park, Y., & Kim, J. Y., “CRISPR/Cas9-mediated generation of pathogen-resistant tomato against tomato yellow leaf curl virus and powdery mildew”, *International journal of molecular sciences*, 22(4), 1878, 2021.

Pyott, D. E., Sheehan, E., & Molnar, A., “Engineering of CRISPR/Cas9-mediated potyvirus resistance in transgene-free Arabidopsis plants”, *Molecular plant pathology*, 17(8), 1276-1288, 2016.

Ritter, A., Iñigo, S., Fernández-Calvo, P., Heyndrickx, K. S., Dhondt, S., Shi, H., & Goossens, A., “The transcriptional repressor complex FRS7-FRS12 regulates flowering time and growth in Arabidopsis”, *Nature communications*, 8(1), 15235, 2017.

Sabra, A., Al-Saleh, M. A., Al-Shahwan, I. M., & Amer, M. A., “First report of Tomato brown rugose fruit virus infecting tomato crop in Saudi Arabia”, *Plant Dis*, 106(4), 1310, 2021.

Saitou, N., & Nei, M., “The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees”, *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425, 1987.

Salem, N. M., Abumuslem, M., Turina, M., Samarah, N., Sulaiman, A., Abu-Irmaileh, B., & Ata, Y., “New weed hosts for tomato brown rugose fruit virus in wild Mediterranean vegetation”, *Plants*, 11(17), 2287, 2022.

Salem, N., Mansour, A., Ciuffo, M., Falk, B. W., & Turina, M., “A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan”, *Archives of virology*, 161, 503-506, 2016.

Salem, N. M., Cao, M. J., Odeh, S., Turina, M., & Tahzima, R., “First report of tobacco mild green mosaic virus and tomato brown rugose fruit virus infecting *Capsicum annuum* in Jordan”, *Plant Disease*, 104(2), 601, 2020.

Salem, N. M., Sulaiman, A., Samarah, N., Turina, M., & Vallino, M., “Localization and mechanical transmission of tomato brown rugose fruit virus in tomato seeds”, *Plant Disease*, 106(1), 275-281, 2022.

Salem, N. M., Jewehan, A., Aranda, M. A., & Fox, A., “Tomato brown rugose fruit virus pandemic”, *Annual review of phytopathology*, 61(1), 137-164, 2023.

Sanfaçon, H., “Plant translation factors and virus resistance”, *Viruses*, 7(7), 3392-3419, 2015.

Sarkes, A., Fu, H., Feindel, D., Harding, M., & Feng, J., “Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)”, *PLoS One*, 15(6), e0230403, 2020.

Skelton, A., Gentit, P., Porcher, L., Visage, M., Fowkes, A., Adams, I. P., & Fox, A., “First report of Tomato brown rugose fruit virus in tomato in France”, *New Disease Reports*, 45(1), 2022.

Sun, H. J., Uchii, S., Watanabe, S., & Ezura, H., “A highly efficient transformation protocol for Micro-Tom, a model cultivar for tomato functional genomics”, *Plant and Cell Physiology*, 47(3), 426-431, 2006.

Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S., “MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11”, *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027, 2021.

van de Vossenbergh, B. T., Dawood, T., Woźny, M., & Botermans, M., “First expansion of the public Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) Nextstrain build; inclusion of new genomic and epidemiological data”, *PhytoFrontiers*TM, 1(4), 359-363, 2021.

Van De Vossenbergh, B. T., Visser, M., Bruinsma, M., Koenraadt, H. M., Westenberg, M., & Botermans, M., “Real-time tracking of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) outbreaks in the Netherlands using Nextstrain”, *PLoS One*, 15(10), e0234671, 2020.

Vučurović, A., Brodarič, J., Jakomin, T., Pecman, A., Beloglavec, A. B., & Mehle, N., “First report of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Slovenia”, *New Disease Reports*, 45(2), 2022.

WGPU., <https://news.wgcu.org/2019-10-10/virus-found-in-mexican-tomatoes-worries-floridaagriculture-officials>, 2019.

WUSF Public Media, “Virus found in Mexican tomatoes worries Florida agriculture officials. WGPU”, 2019.

Yamanaka, T., Imai, T., Satoh, R., Kawashima, A., Takahashi, M., Tomita, K., & Ishikawa, M., “Complete inhibition of tobamovirus multiplication by simultaneous mutations in two homologous host genes”, *Journal of virology*, 76(5), 2491-2497, 2002.

Yamanaka, T., Ohta, T., Takahashi, M., Meshi, T., Schmidt, R., Dean, C., & Ishikawa, M., “TOM1, an Arabidopsis gene required for efficient multiplication of a tobamovirus, encodes a putative transmembrane protein”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(18), 10107-10112, 2000.

Yan, Z. Y., Ma, H. Y., Han, S. L., Geng, C., Tian, Y. P., & Li, X. D., “First report of tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in China”, *Plant Disease*, 103(11), 2973-2973, 2019.

Zuckerandl, E., & Pauling, L., “Evolutionary divergence and convergence in proteins. In *Evolving genes and proteins* (pp. 97-166)”, *Academic press.*, 1965.



ÖZGEÇMİŞ

Ben Ali Enes ÖZDEMİR. yılında doğdum. İlkokul ve ortaokulu İlköğretim Okulunda okudum. Lise eğitimim Anadolu Lisesinde tamamladım. 2014-2016 yılları arasında Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Sosyal Hizmetler Bölümünden mezun oldum. DGS sınavını kazanarak Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Sosyoloji eğitimini 2 yıl daha alarak 2019 yılında mezun oldum. 2014-2019 yılları arasında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümünde Ziraat Mühendisliği eğitimimi %100 İngilizce olarak tamamladım. 2021-2025 yılları arasında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitkisel Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümünde Tezli Yüksek Lisans (Türkçe) olarak bitirdim. 2022 yılında T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı bünyesinde hizmet vermekte olan İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğüne Ziraat Mühendisi olarak atandım. Halen çalışmaya devam etmekteyim.

