

# Bitki Virüslerine Dayanıklılıkta Ökaryotik Translasyon Başlatma Faktörü (eIF4)

## *Eukaryotic Translation Initiation Factor (eIF4) in Resistance to Plant Viruses*

Nihan Güneş\*<sup>ORCID</sup>

\* Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, İzmir, Türkiye

**Atf/Cite as:** Güneş N. Bitki virüslerine dayanıklılıkta ökaryotik translasyon başlatma faktörü (eIF4). Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(2):79-91.

### Öz

Bitki virüslerinin neden olduğu ciddi ekonomik sorunlar göz önüne alındığında, bitki ıslahında virüs hastalıklarına dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi kritik bir öneme sahiptir. Hastalık, bitki ve patojen arasındaki uyumlu bir etkileşimden kaynaklanmaktadır. Zorunlu hücre içi parazitler olan bitki virüsleri, konukçu bitkinin hücre ortamıyla sıkı bir ilişki içindedir ve tamamen ona bağımlıdır. Bu bağımlılık, viral nükleik asitlerin ve proteinlerin konukçu faktörleri de dahil olmak üzere bitki kaynaklarını normal işlevlerinden uzaklaştırmasını gerektirmektedir. Bitki virüsleri, viral RNA'lerinin translasyonu için bitki translasyon faktörlerini kullanmanın yanı sıra replikasyonlarını düzenlemek için de bu faktörleri kullanmaktadır. Aynı zamanda, bitki translasyon faktörleri virüslerin lokal ve sistemik hareketlerine katkı sağlamaktadır. Virüslerin bitkinin konukçu faktörlerine olan bağımlılığı, bitkilerde keşfedilen birçok doğal resesif dayanıklılık geninin translasyon başlatma faktörü eIF4 gen familyasına ait genlerinin mutasyonlarıyla ilişkilendirilmesini anlaşılır kılmaktadır. Bu genlerin belirli bir mutasyonu veya baskılanması, bitki sağlığını engellemeden virüse karşı dayanıklılık sağlamaktadır. Bitki virüslerine karşı doğal dayanıklılığın gelişimini kontrol eden mekanizmaları ve bu dayanıklılık yanıtına karşı virulent izolatların ortaya çıkışını anlamak, geniş spektrumlu ve sürekli dayanıklılığa sahip yeni dayanıklılık kaynaklarının seçiminde faydalı olacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Ökaryotik translasyon başlatma faktörleri, Resesif dayanıklılık, Bitki-virüs etkileşimi, Virüs dayanıklılığı

### ABSTRACT

Considering the serious economic problems caused by plant viruses, the development of virus-resistant plants is highly critical in plant breeding. The disease arises from a compatible interaction between the plant and the pathogen. Plant viruses, which are obligatory intracellular parasites, are closely associated with the cellular environment of the host plant and are entirely dependent on it. This dependence requires viral nucleic acids and proteins to deprive plant resources, including host factors, from their normal function. Plant viruses not only utilize plant translation factors for the translation of their viral RNAs but also manipulate these factors for their replication. Additionally, plant translation factors contribute to the local and systemic movements of viruses. The dependence of viruses on the host factors of the plant explains the association of mutations in genes belonging to the translation initiation factor eIF4 gene family, including many naturally occurring recessive resistance genes identified in plants. Specific mutations or suppression of these genes provide resistance against viruses without compromising plant health. Understanding the mechanisms that control the development of natural resistance against plant viruses and the emergence of virulent isolates in response to this resistance will be beneficial in the selection of new sources of broad-spectrum and durable resistance.

**Keywords:** Eukaryotic translation initiation factors, Recessive resistance, Plant-virus interactions, Virus resistance

**Alındığı tarih / Received:**

13.07.2023 / 13.July.2023

**Kabul tarihi / Accepted:**

15.03.2024 / 15.March.2024

**Yayın tarihi / Publication date:**

14.06.2024 / 14.June.2024

**ORCID Kayıtları**

N. Güneş 0000-0002-6608-4871

✉ nihangunes07@gmail.com

## GİRİŞ

Bitkisel üretim açısından tehdit oluşturan bitki virüs hastalıklarıyla mücadele için en etkili ve sürdürülebilir stratejilerden biri, genetik dayanıklılığın kültür bitkilerine aktarılmasıdır. Bitkilerde viral enfeksiyonlara karşı önemli koruma sağlayan dayanıklılık genleri, altında yatan moleküler mekanizmalar ile yakından ilişkili olarak dominant veya resesif kalıtım göstermektedir<sup>(1)</sup>. Patojene dayanıklılık sağlayan dominant genler, melezlemede dominant şekilde davranmakta olup genellikle hipersensitif reaksiyonu tetikleyerek, patojene özgü bileşenlerin tanınmasını takiben bir dizi sinyal olayıyla dayanıklılık sağlamaktadır. Resesif dayanıklılık genleri ise virüs yaşam döngüsünde önemli olan konukçu faktörlerinin kaybı veya mutasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Fungal ve bakteriyel patojenlere karşı dayanıklılığa kıyasla virüslere karşı dayanıklılıkta daha yaygın olduğu görülen resesif genler tanımlanmaktadır<sup>(2)</sup>.

Kılıf proteini, hareket proteini, replikasyon enzimi gibi bir dizi temel proteini kodlayan bitki virüsleri, genellikle on binlerce protein kodlayan konukçularına göre genetik açıdan daha yoksundur. Bu nedenle, viral enfeksiyonun başarısı, virüs ve konukçu genomu tarafından kodlanan proteinlerin karmaşık etkileşimine dayanmaktadır<sup>(3)</sup>. Sınırlı sayıda protein kodladığı için enfeksiyon döngüsünün her aşaması için konukçu faktörlerine bağımlı olan viral etmenler, bitkiyi kendi avantajları doğrultusunda yönlendirmektedir. Konukçu faktörleri bitkide gerçekleşen viral enfeksiyonun çoğu aşamasında kullandıkları için konukçu faktörlerinin belirlenmesi ve etkileri uzun süredir önemli bir araştırma alanı olarak kabul edilmiştir<sup>(4-7)</sup>.

Obligat parazit olan viral etmenler söz konusu olduğunda, tek bir konukçu faktörünün yokluğu ya da yetersizliği, patojenin konukçuda çoğalmasını ve sistemik olarak yayılmasını engelleyebilmektedir. Konukçu faktörlerini kodlayan genlerde oluşan mutasyonlar virüsün bu faktörlerden yararlanmasını engellediği için resesif dayanıklılık olarak

adlandırılan genetik dayanıklılığı sağlamaktadır. Bu mekanizma, bitkide konukçu faktörlerindeki polimorfizmden dolayı duyarlılığın kaybedilmesiyle ilişkilendirilmektedir. Bitki virologları ve ıslahçılar açısından zorluk ise, bitkide duyarlılığa ve viral hastalık belirtilerine katkıda bulunan konukçu faktörlerini tanımlamaktır<sup>(8,9)</sup>.

Birçok bitkide bulunan ve virüsler tarafından manipüle edilen önemli resesif dayanıklılık genleri, eIF4F, eIF4A ve DEAD-box RNA helikazlarını içermektedir. Bugüne kadar gerçekleştirilen çalışmalarda, özellikle eIF4F kompleksine ait konukçu faktörlerinin viral enfeksiyonlarda rol oynadığı belirlenmiştir. Bitkilerde eIF4F'nin eIF(iso)4F isimli izoformu bulunmaktadır ve eIF4F kompleksi, eIF4E (eIF4E1, eIF4E2) ve eIF4G'den oluşurken, eIF(iso)4F kompleksi ise eIF(iso)4E ve eIF(iso)4G'yi içermektedir<sup>(10)</sup>. Agronomik açıdan önemli translasyon başlatma faktörlerini (eIF4) kodlayan genlerin allelleri, kültüre alınan bitkilerde ve yabani formlarında tespit edilmiştir. Kültür bitkilerinin yabani akrabaları, bu tür dayanıklılıklar için ana kaynak olarak görülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, ökaryotik translasyon başlatma faktörlerindeki mutasyonların, hem monokot ve hem de dikot bitkilerde çeşitli RNA virüslerine karşı dayanıklılık sağladığını göstermiştir. Bu durum, virüslere karşı doğal dayanıklılık gösteren yeni bir gen sınıfının (eIF4E) tanımlanmasına yol açmıştır. Dayanıklılık çalışmaları özellikle, *Potyvirdae* familyasına ait viral etmenler ile VPg proteini ile eIF4E1, eIF4E2 ve/veya eIF(iso)4E arasındaki etkileşime odaklanmaktadır<sup>(11,12)</sup>.

Bitki virüslerine karşı yeni dayanıklılık kaynaklarını geliştirme çalışmaları, doğal olarak var olan resesif dayanıklılık genlerinin özelliklerini belirlemeye ve bu genlerin kullanımı için stratejiler üretmeye odaklanmaktadır. Translasyon faktörlerini mutasyona uğratma (mutant), ilgili gen ifadesinin susturulması veya genin aşırı ifade ettirilmesi vb. yöntemler kullanılarak kültür bitkilerinde dayanıklılık çalışmaları hız kazanarak devam etmektedir. Bu durum, virüslerin translasyonunu veya onların translasyon başlatma faktörleriyle etkileşimini engellemeyi,

bitkilerde virüslerin kontrolü için umut verici bir yol olduğu fikrini pekiştirmektedir. Bu çalışmada, bitki virüsleri ile translasyon başlatma faktörleri arasındaki etkileşimlerdeki son ilerlemeler, bu faktörlerin manipülasyonuna dayanan çeşitli dayanıklılık mekanizmalarının kullanımı, bu genlere karşılık virulent virüs izolatlarının ortaya çıkması ve virüslere karşı kalıcı dayanıklılık genleri için olası stratejiler tartışılacaktır.

## Ökaryotik Translasyon Başlatma Faktörü

Virüs hastalıklarına dayanıklılıkla ilişkilendirilen birçok ökaryotik translasyon başlatma faktörü (eIFler) (Tablo 1), protein sentezinin kritik bir adımı olan ökaryotik hücrede mRNA'dan protein sentezinin başlatılması aşamasında gereklidir. Ökaryotik mRNA'lardan protein sentezi, mRNA'nın 5' ucundaki

**Tablo 1. Virüslere karşı dayanıklılıkta rol oynayan eIF4 translasyon faktörleri**

Bitki türü	Translasyon faktörü	Dayanıklılık nedeni	Viral etmen	Literatür
<i>Solanum lycopersicum</i>	eIF4E1	Uyarılmış mutasyon (mutant bitki)	PVY, PepMoV	(13)
<i>Solanum lycopersicum</i>	eIF4E1, eIF4E2	RNAi	PVY, TEV, PepMoV, ERV, PepSMV, PepYMV, PVV	(7)
<i>Solanum habrochaites</i>	eIF4E1	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>pot-1</i> (nokta mutasyonu)	PVY, TEV	(14)
<i>Solanum pimpinellifolium</i>	eIF4E1	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>pot-1</i> (nokta mutasyonu)	PVY	(8)
<i>Capsicum annuum</i>	eIF4E	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>pvr2</i> (nokta mutasyonu)	PVY, TEV	(15,16)
<i>Capsicum annuum</i>	eIF4E, eIF(iso)4E	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>pvr6</i> (nükleotit silinmesi)	PVMV	(17)
<i>Solanum tuberosum</i>	eIF4E	Yabani domates <i>pot1-eIF4E</i> allelinin aşırı ifadesi	PVY	(18)
<i>Solanum tuberosum</i>	eIF4E1	RNAi ve yabani patates eIF4E1 allelinin ( <i>Eva1</i> ) aşırı ifadesi	PVY	(19)
<i>Nicotiana tabacum</i>	eIF4E1, eIF(iso)4E	Nokta mutasyonu	PVY	(20)
<i>Nicotiana tabacum</i>	eIF4E	Doğal resesif dayanıklılık geni va (nokta mutasyonu)	PVY, PVMV	(21)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	eIF4E	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>bc-3</i> (nokta mutasyonu)	bean common mosaic virus (BCMV), CIYVV	(22,23)
<i>Pisum sativum</i>	eIF4E	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>sbm1</i> (nokta mutasyonu)	PsBMV	(11)
<i>Cucumis melo</i>	eIF4E	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>nsv</i> (noktas mutasyonu)	MNSV	(24)
<i>Lactuca sativa</i>	eIF4E	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>mo1</i> (nokta mutasyonu)	LMV	(25)
<i>Brassica rapa</i> var. <i>pekinensis</i>	eIF(iso)4E	Splicing mutant	TuMV	(26)
<i>Brassica juncea</i>	eIF2Bβ	RNAi	TuMV	(27)
<i>Prunus domestica</i>	eIF(iso)4E	RNAi	PPV	(28)
<i>Hordeum vulgare</i>	eIF4E	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>rym4/rym5</i> (nokta mutasyonu)	barley yellow mosaic bymovirus (BaYMV), barley mild mosaic bymovirus (BaMMV)	(12)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	eIF(iso)4E	RNAi	TuMV, LMV	(4)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	eIF4E, eIF(iso)4E	nokta mutasyonu, RNAi	CIYVV	(29)
<i>Oryza sativa</i>	eIF(iso)4G1	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>rymv-1</i> (nokta mutasyonu)	RYMV	(30)
<i>Oryza sativa</i>	eIF4G	Doğal resesif dayanıklılık geni <i>tsv1</i> (nokta mutasyonu)	RTSV	(31)

kep yapısına ökaryotik translasyon başlatma faktörü 4E (eIF4E)'nin bağlanmasıyla başlamaktadır. Aynı zamanda 3' polyA kuyruğu, polyA-bağlayıcı proteini (PABP) ile olan etkileşime girerek protein sentezine katkı sağlamaktadır. Ardından eIF4G proteini, hem eIF4E'ye hem de PABP'ye bağlanmaktadır. eIF4E ve eIF4G arasındaki sıkı ilişki, eIF4F kompleksini oluşturmaktadır. eIF4G ayrıca, eIF4A, DEAD-box ATPaz ve ATP bağımlı RNA helikazı ile etkileşime girmektedir<sup>(10)</sup>.

### Solanaceae familyası-potyvirus etkileşiminde eIF4 kompleksi

Translasyon başlatma faktörlerinin özellikle *Potyviridae* familyasına ait potyviruslere karşı dayanıklılıkla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Örneğin, domates, patates, biber ve tütün bitkilerinde potyviruslere karşı doğal dayanıklılığın eIF4E proteinlerinin aminoasit dizilerindeki değişimine dayandığı bulunmuştur<sup>(3)</sup>.

Domates genotiplerinde, potato virus Y (PVY) ve tobacco etch virus (TEV)'e karşı dayanıklılık sağlayan eIF4E ile aynı genomik bölgede haritalanan *pot-1* lokusunun, eIF4E proteinini kodladığı belirlenmiştir. Domateste potyvirus duyarlılığında rol alan eIF4E homologları (eIF4E1 ve eIF4E2) ile isoform eIF(iso)4E başlatma faktörleri tespit edilmiştir. *Solanum lycopersicum* M82 genotipinde, 3. kromozomda bulunan *eIF4E1*, 696 baz çiftinden oluşan bir diziye sahiptir ve 231 amino asit kodlamaktadır. eIF4E2 2. ve eIF(iso)4E ise 9. kromozomda bulunmaktadır ve sırasıyla 663 ve 603 baz çifti uzunluğunda gen dizilerine sahiptir. Ayrıca, 10. kromozomda bulunup 672 baz çiftlik dizi kodlayan kepe bağlanan yeni protein olarak isimlendirilen *nCBP* geni karakterize edilmiştir<sup>(8)</sup>. PVY ve TEV'e duyarlı ve dayanıklı 8 farklı domates genotipinde *eIF4E1* cDNA'larındaki polimorfizm araştırılmıştır. Duyarlı *Solanum habrochaites* genotipleri (PI134417, LA1777, PI129157 ve PI390660) ile dayanıklı *S. habrochaites* PI247087 genotipi (*pot-1* alleleline sahip) arasında 48 (L→F), 68 (N →K), 77 (A→ D) ve 109 (M→I) noktalarında aminoasit değişimi belirlenmiştir. Duyarlı *S. lycopersicum* (Mospomorist, Ferum ve Levovil) genotipleri kendi içinde benzer amino asit

dizisine sahipken duyarlı *S. habrochaites* genotipleri ile aralarında 69, 85, 123 ve 224 noktalarında aminoasit farklılığı tespit edilmiştir. Bu farklılık aynı zamanda dayanıklı *S. habrochaites* genotipinde de tespit edildiği için domates türlerinin ayırımına özgü bir farklılık olarak değerlendirilmiştir<sup>(14)</sup>. Domates bitkisinde (*S. lycopersicum*), eIF4E ve eIF4G proteinlerindeki mutasyonların potyviruslere karşı dayanıklılık sağlayıp sağlamadığı PVY-LYE90, PVY-LYE84, TEV-HAT ve pepper mottle virus (PepMoV)-Texas izolatları kullanılarak araştırılmıştır. TILLING (Targeting Induced Local Lesions In Genomes) yöntemi kullanılarak eIF4E1, eIF4E2, eIF(iso)4E, eIF4G ve eIF(iso)4G genlerinde mutasyonlar oluşturularak mutant domates bitkileri elde edilmiştir. eIF4E1 dizisinde 7 nokta mutasyonu, eIF4E2 dizisinde 2 nokta mutasyonu, eIF(iso)4E dizisinde 14 nokta mutasyonu, eIF4G dizisinde 43 nokta mutasyonu ve eIF(iso)4G dizisinde 16 nokta mutasyonu meydana gelmiştir. Sonuçlar, sadece eIF4E1 mutasyonuna sahip bitkilerin potyviruslere karşı dayanıklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. eIF4E1-mutant bitkiler, PVY-LYE90 ve PepMoV-Texas izolatlarına karşı dayanıklılık sağlarken, TEV etmenine karşı duyarlılık göstermiştir. Ancak, PVY-LYE84 ve TEV-HAT izolatlarına karşı duyarlılık göstermiştir. eIF4E2, eIF(iso)4E, eIF4G ve eIF(iso)4G mutasyonuna sahip bitkiler ise potyviruslere karşı duyarlı bulunmuştur<sup>(13)</sup>. *S. lycopersicum* ve *Solanum pimpinellifolium* türlerine ait 20 farklı domates genotipinde eIF4E1, eIF4E2, eIF(iso)4E ve nCBP dizilerindeki polimorfizm araştırılmıştır. eIF4E1 dizisinde yüksek düzeyde polimorfizm belirlenirken eIF4E2, eIF(iso)4E ve nCBP dizilerinde amino asit değişimi belirlenmemiştir. *S. pimpinellifolium* LA0411 genotipinde iki amino asit değişimi tespit edilmiştir. Bu değişimlerden biri, eIF4E1 dizisinin II bölgesinde 112 konumunda gerçekleşmiştir ve aspartik asit glisine dönüşmüştür. EIF4E2 ve eIF(iso)4E dizilerinde ise nükleotit polimorfizmi belirlenmezken nCBP dizilerinde amino asit değişimine neden olmayan iki sessiz mutasyon bulunmuştur. Bu sessiz mutasyonlardan biri, dizilenen tüm *S. pimpinellifolium* genotiplerinde tespit edilmiştir. *S. pimpinellifolium* LA0411 genotipi, PVY-LYE90, PVY-N605 ve PVY-SON41g izolatları inokule edilerek dayanıklılık gösterip göstermediği araştırılmıştır. Dayanıklılık, inokulasyondan 21 gün sonra sistemik yapraklarda ELISA ile değerlendirilmiştir. Çalışmada,

duyarlı *S. lycopersicum* M82 genotipi pozitif kontrol olarak kullanılırken eIF4E1-pot1 alleleline sahip dayanıklı *S. habrochaites* PI24 genotipi negatif kontrol olarak kullanılmıştır. LA0411 genotipi, PVY-LYE90 ve PVY-N605 izolatlarına dayanıklılık gösterirken PVY-SON41g izolatına karşı duyarlı bulunmuştur<sup>(8)</sup>. Duyarlı domates bitkilerinde, RNAi teknolojisi kullanılarak eIF4E genlerinin ifadesi baskılanmıştır. PVY, TEV, PepMoV, ecuadorian rocotto virus (ERV), pepper severe mosaic virus (PepSMV), pepper yellow mosaic virus (PepYMV) ve potato virus V (PVV) olmak üzere yedi farklı potyvirus'e karşı dayanıklılık-duyarlılık ilişkisi araştırılmıştır. İki domates genotipinde hem *eIF4E1* hem de *eIF4E2* susturulurken, diğer iki domates genotipinde sadece *eIF(iso)4E* baskılanmıştır. Duyarlı domates genotipleri, hem eIF4E1 hem de eIF4E2'nin ifadesi baskılandığında potyviruslere karşı dayanıklılık gösterirken, sadece eIF(iso)4E susturulduğunda potyviruslere duyarlılık göstermiştir. eIF4E1 ve eIF4E2'nin aynı anda baskılandığı durumda PVY'ye karşı dayanıklılık sağlandığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, eIF4E1 ve eIF4E2'nin potyvirus dayanıklılığında rol aldığını göstermektedir. Ayrıca, duyarlı genotiplerde eIF4E1 ve eIF4E2 veya eIF(iso)4E'nin ifadesi baskılandığında bitkiler hala tomato spotted wilt virus (TSWV), alfalfa mosaic virus (AMV), cucumber mosaic virus (CMV) ve tobacco mosaic virus (TMV)'ye karşı duyarlılık göstermiştir. Bu durum, domateste eIF4E kaynaklı dayanıklılığın potyviruslere özgü olduğunu göstermektedir<sup>(7)</sup>.

Genetik haritalama verilerine göre, *pot-1* ve *pvr2* domates ve biber genomlarında aynı gen sırasında yer almaktadır. Biberde, PVY'ye dayanıklılıkta rol oynayan resesif dayanıklılık geni *pvr2* lokusunun eIF4E'yi kodladığı gösterilmiştir. PVY'ye duyarlı *Capsicum annuum* L. çeşitlerinin eIF4E protein dizileri aynıdır. Ancak, PVY-dayanıklı Yolo Y (YY) (*pvr21*) ve FloridaVR2 (F) (*pvr22*) çeşitlerinin eIF4E dizilerinden iki amino asit düzeyinde farklılık bulunmaktadır. Duyarlı Yolo Wonder (YW) çeşidinin eIF4E geninin dayanıklı Yolo Y (YY) genotipindeki ifadesi, PVY etmenine karşı duyarlı hale gelmesine neden olmuştur<sup>(16)</sup>. 25 farklı *C. annuum* genotipinde *pvr2* aracılı eIF4E kodlayan dizilerdeki çeşitlilik araştırılmıştır. Kodlama yapan bölgeler, 687 baz çifti uzunluğunda olup 228 amino asitlik protein kodlamaktadır. 10 allelde, ekzon 1,

ekzon 2 ve ekzon 4 bölgelerinde 9 polimorfizm tespit edilmiştir. Ekzon 1'de 196 ve 236 nükleotitleri arasında 6 nokta mutasyonu, ekzon 2'de 319 ve 325 konumlarında 2 nokta mutasyonu ve ekzon 4'de 614 konumlarında 1 nokta mutasyonu tespit edilmiştir. Tüm nokta mutasyonları eIF4E proteinlerinde amino asit değişimine neden olmuştur. PVY ve TEV'e duyarlı genotiplerde amino asit değişimi gözlenmezken, dayanıklı genotiplerde amino asit değişimleri tespit edilmiştir. Değişime sahip olmayan genotipler, çalışmadaki tüm PVY ve TEV izolatlarına duyarlı bulunmuştur. Amino asit değişiminin konumları değişebilirken, değişime sahip genotipler PVY-LYE84 izolatlarına dayanıklı iken tüm TEV izolatlarına duyarlı bulunmuştur. Sadece iki genotip, TEV-HAT izolatına dayanıklı bulunmuştur. Bazıları PVY-SON41 izolatına duyarlı iken bazıları dayanıklı bulunmuştur<sup>(15)</sup>.

Biber bitkisinde pepper veinal mottle virus (PVMV) etmenine dayanıklılıkta rol oynayan resesif dayanıklılık geni *pvr6*'nın eIF(iso)4E ile aynı genomik bölgede haritalandığı ve eIF(iso)4E'yi kodladığı gösterilmiştir. *pvr6* genine sahip PVMV-dayanıklı biber genotiplerinde, eIF(iso)4E dizisinde 82 nükleotitlik bir silinme (delesyon bölgesi) tespit edilmiştir. PVMV'ye dayanıklı genotiplerde PVMV'ye duyarlı genotiplerin eIF(iso)4E ve eIF4E proteinleri ayrı ayrı ifade edildiğinde dayanıklılık kaybına neden olmuştur. eIF(iso)4E ve eIF4E, biber bitkisinde PVMV enfeksiyonu için duyarlılık faktörleri olduğu ve dayanıklılığın her iki proteinde gerçekleşen mutasyonlardan kaynaklandığı gösterilmiştir. PVMV, biberi enfekte etmek için ya eIF(iso)4E ya da eIF4E faktörlerini kullanmaktadır. Bu nedenle, diğer birçok potyvirus etmeninin spesifik olarak bir eIF4E izoformuna ihtiyaç duymasına karşın, PVMV biber enfeksiyonu için hem eIF4E hem de eIF(iso)4E'yi kullanmaktadır<sup>(17)</sup>.

Tütünün (*Nicotiana tabacum* L.) eIF4E1 dizisindeki mutasyonları, PVY karşı dayanıklılık sağlarken, PVY'nin dayanıklılığı kıran izolatları dünya çapında tütün üretimini tehdit etmektedir. Bu nedenle, eIF4E1 geni PVY enfeksiyonu için gerekli olduğu halde, dayanıklılığı kıran izolatın enfeksiyonu için eIF(iso)4E geninin gerekli olduğu belirlenmiştir<sup>(20)</sup>.



Yabani patates türleri olan *Solanum chacoense*, *Solanum demissum* ve *Solanum tuberosum* genotiplerinde eIF4E1 geni dizilenmiş olup *Eva1* olarak adlandırılmıştır. *Eva1* proteinin, kültüre alınmış patates (*Solanum tuberosum* L.) homologuyla karşılaştırıldığında on farklı amino asit değişikliği içerdiği ve VPg'ye bağlanmadığı belirlenmiştir. *Eva1* cDNA'sının eIF4E1 geni susturulmuş *S. tuberosum* bitkilerinde (transgenik) aşırı ifadesinin, PVY karşı dayanıklılık sağladığı görülmüştür. Ayrıca, *Eva1*'in gen kaynaklarının patatesle eşeyssel olarak uyumlu olduğu gözlenmiştir, bu nedenle burada sunulan moleküler stratejilerin intragenik patates çeşitlerinin geliştirilmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir<sup>(19)</sup>.

PVY etmenine karşı dayanıklılık elde etmek için yabani domates bitkisinde (*Solanum habrochaites*) bulunan eIF4E ile ilişkili *pot-1* geni, PVY'ye hassas olan patates çeşitlerine (Russet Norkotah, Silverton Russet ve Classic Russet) ve Michigan State Üniversitesi İslah hattına (MSE149-5Y) aktarılmıştır. Transgenik ve transgenik olmayan patates bitkileri, serada ve tarla denemelerinde PVY<sup>o</sup>, PVY<sup>N:O</sup> ve PVY<sup>NTN</sup> ırklarına karşı dayanıklılığı test etmek için ELISA ile taranmıştır. Transgenik Classic Russet ve MSE149-5Y bitkileri, hem sera hem de tarla koşullarında yaprak ve yumru testi sonuçlarına göre tüm PVY ırklarına karşı dayanıklılık göstermiştir. Ancak, transgenik Silverton Russet ve Russet Norkotah bitkilerinin yaprakları PVY'ye karşı orta derecede duyarlılık göstermişken, yumrulara enfeksiyon seviyeleri artmıştır. Bu bulgular, domates *pot-1* geninin PVY'ye duyarlı patates çeşitlerine aktarılmasının, PVY dayanıklılığı geliştirmek için kullanışlı bir araç olabileceğini önermektedir<sup>(18)</sup>.

Patates bitkisinde (*S. tuberosum*), domateste olduğu gibi, eIF4E gen ailesi eIF4E1 eIF4E2, eIF(iso)4E ve nCBP'den oluşmaktadır. PVY etmenine dayanıklılık sağlayan dominant *Ny* genine sahip patates Desirée çeşidinde CRISPR-Cas9 yöntemiyle eIF4E1 duyarlılık geni inaktif hale (knockout:KO) getirilmiştir. KO sadece eIF4E1 genine özgü olup, eIF4E2 paralogunda herhangi bir mutasyon tespit edilmemiştir. KO sonucunda eIF4E ailesinin gen ifadesi seviyeleri analiz edildiğinde, eIF4E1'in diğer aile üyelerinin gen ifadesini değiştirmediği belirlenmiştir. eIF4E1-

KO hatları, PVY<sup>NTN</sup> izolatu ile inokule edildiğinde, viral yükün azaldığı ve virüs belirtilerinin iyileşme gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum, eIF4E1 geninin çoğalma için gerekli olduğunu, ancak zorunlu olmadığını göstermektedir. Dolayısıyla, eIF4E1 geninin düzenlemesinin, Desirée gibi yaygın kullanılan patates çeşitlerinin PVY dayanıklılık spektrumunu genişletmek için kullanışlı olacağı düşünülmektedir<sup>(6)</sup>.

### Potyvirus cinsine ait virüslere dayanıklılıkta *eIF4* gen familyası

Prunus türlerinde plum pox virus (PPV) etmenine karşı dayanıklılık geliştirilmesi için erikte (*Prunus domestica* L.) eIF4E ve eIF(iso)4E genlerinin ifadesi baskılanmıştır. Ardından, bitkiler PPV-D ırkıyla enfekte edilmiştir ve dayanıklılık, viral RNA konsantrasyonunun ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. eIF(iso)4E geni susturulan bitkilerin %82'si PPV'ye dayanıklı bulunurken, eIF4E geni susturulan bitkiler PPV etmenine dayanıklılık göstermemiştir. Bu bulgular, eIF(iso)4E'nin erikte PPV enfeksiyonunda rol oynadığını ve eIF(iso)4E ifadesinin susturulmasının Prunus türlerinde PPV etmenine karşı dayanıklılığa yol açabileceğini göstermektedir<sup>(28)</sup>. Marul bitkisinde (*Lactuca sativa* L.), *mo1* geni tarafından kodlanan eIF4E, lettuce mosaic virus (LMV)'ye karşı resesif dayanıklılık sağlamaktadır. LMV etmenine duyarlı, toleran ve dayanıklı farklı marul genotiplerinin eIF4E ve eIF(iso)4E cDNA'ları klonlanıp dizilenmiştir. eIF(iso)4E dizileri monomorfizm gösterirken, eIF4E dizileri nokta mutasyonu varyasyonuna sahip üç tipe ayrılmıştır. Bulgular, eIF4E'nin marulda LMV enfeksiyonunda rol oynadığını ancak eIF(iso)4E varyasyonlarının LMV yanıtında doğrudan bir rol oynamadığını belirtmiştir<sup>(25)</sup>. Bezelye bitkisinde, *sbm1* geni tarafından kodlanan eIF4E, pea seedborne mosaic virus (PsBMV) etmeninin enfeksiyonuna karşı duyarlılık faktörüdür. Etmene dayanıklı ve duyarlı bezelye çeşitlerinin eIF4E dizilerinde farklılığa yol açan mutasyonlar olduğu görülmüştür<sup>(32)</sup>. CRISPR/Cas9 teknolojisi ile *Cucumis sativus*'ta *eIF4E* geninin farklı konumları hedeflenerek watermelon mosaic virus (WMV), papaya ringspot virus (PRSV) ve zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) etmenlerine karşı dayanıklı mutant çeşitler geliştirilmiştir. Çalışmada, G27 ve G247 hatlarında sırasıyla birinci

ve üçüncü eksonları hedefleyen özgül gRNA1 ve gRNA2 kullanılarak eIF4E geninin farklı konumları hedeflenmiştir<sup>(33)</sup>.

eIF(iso)4E mRNA'sından yoksun mutant *Arabidopsis thaliana* bitkisinin turnip mosaik virus (TuMV) ve LMV olmak üzere iki potyvirus'e karşı dayanıklı olduğu, ancak Nepovirus olan tomato black ring virus (TBRV) ve cucumovirus olan CMV etmenlerine karşı duyarlı olduğu bulunmuştur<sup>(4)</sup>. eIF4E ve eIF(iso)4E genlerinde mutasyonlara sahip *A. thaliana* bitkilerinin, clover yellow vein virus (CIYVV) etmenine karşı duyarlılığı test edilmiştir. eIF(iso)4E içermeyen mutant bitkilerde, hem inokule edilen hem de üst yapraklarda CIYVV birikimi saptanırken eIF4E içermeyen mutant bitkilerde saptanmamıştır. Buna karşın turnip mosaik virus (TuMV) etmeni eIF(iso)4E içermeyen mutant bitkilerde çoğalmamışken, eIF4E içermeyen mutant bitkilerde çoğalmıştır. Bu sonuçlar, eIF4E familyasına ait genlerin potyvirus enfeksiyonunda seçici bir rol oynadığını ortaya koymaktadır<sup>(29)</sup>.

eIF4G geninin, eIF4E'den daha az olsa da birkaç virüs için önemli olduğu bulunmuştur. eIF4G isoformlarında mutasyona sahip *A. thaliana* bitkileriyle gerçekleştirilen çalışmada, eIF4G faktörlerinin potyvirus enfeksiyonu için vazgeçilmez olduğu gösterilmiştir. *Arabidopsis* bitkilerinde eIF(iso)4G1'in plum pox potyvirus (PPV) ve LMV enfeksiyonu için gerekli oluşu belirlenirken eIF4G1 ve eIF(iso)4G2 döngü ile ilişkili bulunmamıştır. CIYVV etmenine karşı ise eIF(iso)4G1 geni inaktif edilmiş (KO) edilmiş mutant *A. thaliana* bitkileri duyarlı bulunurken eIF4G1 geni inaktif edilmiş mutant bitkiler ise dayanıklı bulunmuştur. eIF4G1, eIF(iso)4G1 ve eIF(iso)4G2 genlerinin hepsinin TuMV enfeksiyonu için gerekli oluşu belirlenmiştir<sup>(9)</sup>.

Farklı *Brassica rapa* hatlarında, eIF(iso)4E'nin üç kopyası belirlenmiştir. *B. rapa* subsp. *trilocularis* bitkisinde, TuMV'nin eIF(iso)4E kopyalarını kullanma yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Dayanıklılık, bu genin birden fazla kopyasının varlığıyla karmaşık hale gelmektedir. Dayanıklı *B. rapa* var. *pekinensis* bitkilerinde TuMV, eIF(iso)4E kopyalarını kullanmamıştır. Farklı eIF(iso)4E kopyaları, dayanıklı hatlardan alınıp eIF(iso)4E'si inaktif edilmiş (knock out)

*A. thaliana* bitkilerine aktarıldığında ise TuMV birden fazla kopyayı kullanabilmiştir. Bu durum, TuMV'nin *B. rapa* bitkisinde birden fazla eIF(iso)4E kopyasına erişemediğini ve dayanıklılığın geniş spektrumlu olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, dayanıklılığın kalıcı olabileceğini göstermektedir<sup>(26)</sup>. Hardal otu bitkisinin (*Brassica juncea*) farklı genotiplerinde, TuMV etmenine karşı resesif dayanıklılık geni olan 2B-beta (eIF2B $\beta$ ) tespit edilmiştir. TuMV-duyarlı hardal otu bitkilerinde eIF2B $\beta$  geninin susturulması ve TuMV-dayanıklı hardal otu bitkilerinde TuMV-duyarlı hardal otu bitkilerine ait eIF2B $\beta$  geninin ifade edilmesi çalışmaları sonucu bu dayanıklılık mekanizmasını doğrulamıştır. eIF2B $\beta$ 'nin N terminal bölgesindeki aminoasit dizisindeki değişiminin (A120G) TuMV dayanıklılığında sorumlu olduğu belirlenmiştir<sup>(27)</sup>.

#### eIF4 proteinlerini sadece potyvirusler mi kullanır?

Potyvirusler dışında, eIF4E'nin bir duyarlılık faktörü olarak tanımlandığı birkaç viral etmen daha bulunmaktadır. CMV (*Cucumovirus* cinsi, *Bromoviridae* familyası) etmeninin enfeksiyon için eIF4E'yi kullandığı *Arabidopsis*'te belirlenmiştir. eIF4E1 geninde 99. konumda bulunan triptofan amino asidi anlamsız bir kodona dönüştürülen mutant *Arabidopsis* bitkilerinde CMV etmeninin hücreden hücreye hareketinde gerekli olan 3a proteininin birikimi %20 oranında azalmıştır. Bu sonuç, mutasyonun 3a proteininin birikimini etkilediğini ancak CMV RNA3 birikimini etkilemediğini, mutasyonların CMV RNA3'ün translasyonunu veya 3a proteininin stabilitesini etkilediğini düşündürmektedir<sup>(34)</sup>.

*Solanum lycopersicum* cv. Zhongshu çeşitinin eIF(iso)4E dizisi klonlanıp dizilendiğinde 603 nükleotit uzunluğunda olup 200 amino asit kodladığı belirlenmiştir. CMV'ye dayanıklı ve duyarlı domates çeşitlerinde eIF(iso)4E'nin dizisi karşılaştırıldığında ise amino asit değişiminin (K102R) domates bitkisinde dayanıklılık için olası bir moleküler temel sağlayabileceği belirtilmiştir<sup>(35)</sup>.

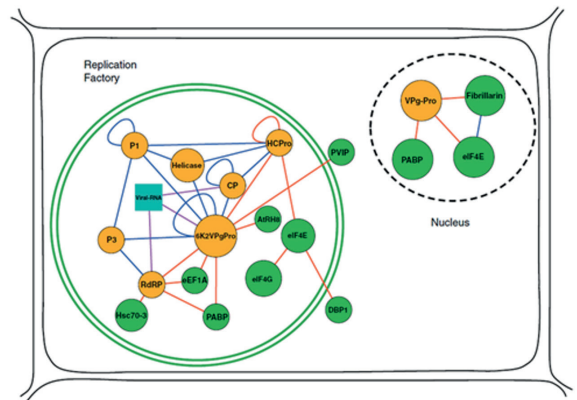
Rice yellow mottle virus (RYMV, *Sobemovirus* cinsi, *Solemoviridae* familyası) etmenine karşı *Oryza sativa* cv. Gigante çeşidinde *rymv-1* ile bağlantılı eIF(iso)4G1

geni dayanıklılık sağlamaktadır. Dayanıklı ve duyarlı çeşitler analiz edildiğinde eIF(iso)4G1 geninin orta bölgesinde amino asit değişimi (E321K) veya kısa amino asit silinmeleri (R R D 322-324) belirlenmiştir<sup>(30,36)</sup>. Çeltikte rice tungro disease (RTD) hastalığıricetungrosphericalvirus(RTSV)vericetungro bacilliform virus (*Tungrovirus* cinsi, *Caulimoviridae* familyası) etmenlerinin neden olduğu bir hastalıktır. RTSV dayanıklılığında çeltikte 7. kromozomda bulunan *tsv1* ile bağlantılı eIF4G resesif dayanıklılık geninin rol oynadığı bulunmuştur. Dayanıklı ve duyarlı genotiplerin dizileri karşılaştırıldığında RTSV dayanıklılığına eIF4G dizisindeki 1060. kodondaki (GTT→GCT) nokta mutasyonunun neden olduğu amino asit değişiminin (V1060A) veya silinmenin neden olduğu bulunmuştur<sup>(31)</sup>. Melon necrotic virus (MNSV, *Carmovirus* cinsi, *Tombusviridae* familyası) etmenine karşı kavun *nsv1* ile bağlantılı eIF4E aleli doğal dayanıklılık kaynağıdır. Protein dizisindeki tek bir amino asit değişikliği (H228L), MNSV'ye karşı dayanıklılık sağlamaktadır<sup>(24)</sup>.

Cassava (*Manihot esculenta*) tropik bir bitki olup Doğu Afrika'da cassava brown streak virus (CBSV) ve ugandan cassava brown streak virus (UCBSV) etmenlerinin (*Ipomovirus* cinsi, *Potyviriidae* familyası) neden olduğu cassava kahverengi çizgi hastalığından (CBSD) şiddetli şekilde etkilenmektedir. Her iki etmen de pozitif sense RNA'ya sahip olup eIF4E'ye bağlanan VPg proteinini içermektedir. eIF4E gen familyasının CBSD'ye karşı dayanıklılıktaki rolünü belirlemek amacıyla cassava bitkisinin beş eIF4E transkripti klonlanarak dizilenmiştir. Dizi analizleri, cassava eIF4E ailesinin bir tane eIF4E, iki tane eIF(iso)4E ve iki ayrı yeni kepe bağlanan protein içerdiğini göstermiştir. CBSD'ye karşı tolerant ve duyarlı olan 14 cassava genotipi için beş eIF4E geni yeni nesil dizileme yöntemi ile dizilenmiştir ve birçok nokta mutasyonu tespit edilmiştir. Nokta mutasyonlarının çoğu intronlarda ve ekzonların kodlama yapmayan bölgelerinde bulunmuştur. eIF4E genlerindeki amino asit değişimleri ile CBSD duyarlılığı arasında anlamlı bir bağlantılı bulunmamıştır. Ancak, iki gendeki iki nokta mutasyonunun CBSD'ye karşı yanıtta kısmen ilişkili olduğu ama doğrudan bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. *eIF4E* genleri arasındaki bölgede meydana gelen nokta mutasyonlarının CBSD yanıtında önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir<sup>(37)</sup>.

### eIF4 dayanıklılığına karşı viral etmenlerin avirülenslik faktörü

Dayanıklı bitki elde etmek için yapılan bitki ıslahı çalışmaları açısından, dayanıklılığın kırılmasının ardında yatan mekanizmayı anlamak önemlidir. Virülenslik, bir patojenin konukçu bitkinin dayanıklılığını kirmasını sağlayan genetik yeteneğidir ve dayanıklılığın kırılması, virüsün avirülensliğinin virülensliğe evrilmesiyle ilişkilidir<sup>(38)</sup>. Tam genom dizilemesi, mutagenез ve kimeralarla gerçekleştirilen çalışmalar eIF4 dayanıklılık genlerine adaptasyonla ilişkilendirilebilecek mutasyonları açığa çıkarmıştır ve dayanıklılığı kıran virulent virüs izolatları tanımlanmıştır. Bazı bitki virüslerinde, genom bağlantılı virüs proteini (VPg) olarak bilinen bir protein bulunmaktadır. VPg, hem virüs hem de konukçu proteinine bağlanma yeteneğine sahiptir (Şekil 1). Bu nedenle, potyvirus etmenlerinin VPg proteini, birçok proteinle etkileşimde bulunabilmektedir ve özellikle konukçu faktörleriyle etkileşime girmektedir. Çoğu durumda, virülensliğe neden olan mutasyonlarının *Potyviriidae* familyasına ait çeşitli virüslerin VPg proteini üzerinde bulunduğu belirlenmiştir<sup>(12)</sup>. Potyviruslerde viral enfeksiyon için eIF4 ve VPg proteinleri arasındaki etkileşim gereklidir. eIF4E veya eIF4G familyasında meydana gelen mutasyonlar VPg bağlanmasını engelleyerek viral döngüyü önleyip dayanıklılığa neden olmaktadır. Meydana gelen amino asit değişiklikleri, potyviruslere karşı



Şekil 1. Potyvirus VPg etkileşim haritası. Turuncu olarak tasvir edilen daireler virüs proteinlerini, yeşil olarak tasvir edilenler ise bitki proteinlerini temsil etmektedir<sup>(3)</sup>.



resesif dayanıklılık ile sonuçlanmaktadır. VPg merkez bölgesindeki amino asit değişimi ise eIF4 tarafından kontrol edilen resesif dayanıklılığın kırılmasından sorumludur<sup>(15,16,39)</sup>.

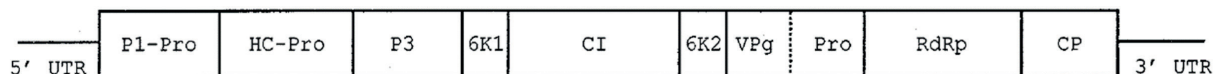
eIF4E ile ilişkili domates *pot-1* ve biber *pvr2* resesif dayanıklılık genleri, PVY etmenine dayanıklılık sağlamaktadır. Bu dayanıklılıklara karşı virüslüğü farklı olan iki PVY izolatının enfeksiyöz cDNA klonlarıyla kimera oluşturulmuştur. Bu izolatın VPg bölgesinin orta kısmında bir amino asit değişiminin (R119H), *pot-1* dayanıklılığına karşı virüslükte rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca, VPg'nin aynı bölgesinde beş amino asit farklılığı (S101G, K105R, M115P, R119Y ve N123S), *pvr2* dayanıklılığına karşı virüslüğü etkilemiştir. Çalışma, PVY etmeninin VPg dizisinde meydana gelen mutasyonların eIF4E dayanıklılığının kısa süreli olabileceğini ortaya koymaktadır<sup>(39)</sup>. *S. lycopersicum* M82 genotipinde duyarlılığa neden olan PVY-N605 izolatının VPg bölgesinde amino asit değişimi gözlenmezken, izolatın dayanıklı *S. pimpinellifolium* LA0411 genotipine inokule edildiğinde enfeksiyona neden olduğu belirlenmiştir. Dayanıklılığı kıran varyant incelendiğinde, VPg bölgesinde amino asit değişimi tespit edilmiştir. 115 konumunda lösin amino asitinin serin amino asitine (L115S) ve 139 konumunda isolösinin valine (I139V) dönüştüğü belirlenmiştir. Dayanıklılığı kıran izolat tekrar *S. pimpinellifolium* LA0411 bitkilerine inokule edildiğinde enfekte olan bitki sayısının %62'den %93'e yükseldiği belirlenmiştir<sup>(8)</sup>. Biber bitkisinde virüslent TEV-CAA10 izolatı ile virüslent olmayan TEV-HAT izolatının VPg amino asit dizileri arasında 13 amino asitlik fark bulunmaktadır. Amino asit değişimlerinin dört tanesi (I111L, E112L, P113H, S115D) *pvr2*-eIF4E dayanıklılığını kırmakla ilişkili olduğu bilinen VPg proteinin merkez bölgesinde yer almaktadır<sup>(15)</sup>.

Farklı PVY izolatlarının VPg proteinlerinin eIF4E ile etkileşimlerinin farklı olduğu görülmüştür. eIF(iso)4E ve VPg proteinleri arasında etkileşim görülmezken, eIF4E1 proteinlerinin test edilen tüm VPg proteinleriyle etkileşime girdiği görülmüştür. eIF4E1

proteini, PVY-LYE84 ve PVY-LYE90 izolatlarından elde edilen VPg ile etkileşime geçmiştir. eIF4E2 proteini ise PVY-LYE84 izolatından elde edilen VPg ile etkileşime girmişken PVY-LYE90 izolatına ait VPg proteini ile etkileşime geçmemiştir. Bu durum, sadece eIF4E1 ile etkileşime giren ve eIF4E1 veya eIF4E2 ile etkileşime geçenler olmak üzere iki tip VPg olarak tanımlanmıştır<sup>(7)</sup>. PPV-VPg ve erik eIF(iso)4E arasındaki fiziksel etkileşim olduğu belirlenmiş olup PPV-VPg ve eIF4E proteinleri arasında etkileşim gözlenmemiştir<sup>(28)</sup>.

Tütün bitkisinde (*Nicotiana tabacum* L.) eIF4E2-S ve eIF4E2-T genleri ya da eIF(iso)4E-S ve eIF(iso)4E-T genleri susturulmuştur. VPg dizisinde mutasyona sahip dayanıklılığı kıran PVY izolatına karşı eIF(iso)4E-S ve eIF(iso)4E-T transkript seviyeleri düşen transgenik bitkilerin duyarlılığı azalmıştır. eIF(iso)4E-S dizisindeki mutasyon PVY izolatına karşı duyarlılıkta etki etmezken eIF(iso)4E-T dizisindeki mutasyon dayanıklılığı kıran PVY izolatına karşı duyarlılığı azaltmıştır. Dayanıklılığı kıran izolatın VPg proteini fiziksel olarak eIF(iso)4E-T proteini ile etkileşime girerken dayanıklılığı kırmayan izolatın VPg proteini eIF(iso)4E-T ile etkileşime geçmemiştir. PVY enfeksiyonu için eIF4E1-S gerekli iken dayanıklılığı kıran izolatın için eIF(iso)4E-T gereklidir. Tütün ıslah çalışmalarında dayanıklılığı kıran PVY izolatın karşı eIF(iso)4E-T mutantlarının kullanılmasının yararlı olacağı belirtilmiştir<sup>(20)</sup>.

Burley tütün çeşitlerinde, *va1* ile bağlantılı eIF4E geni tobacco vein mottling virus (TVMV) ve diğer potyvirus etmenlerine karşı dayanıklılık sağlamaktadır. Bu dayanıklılığı kıran TVMV izolatının VPg dizisinin dayanıklılığı kırmada rol oynadığı belirlenmiştir. Bu bölgede, dayanıklılığı kıran ve kırmayan izolatlar arasında amino asit düzeyinde (M1927I, S1928C, P1929S, R1932K, N1933S, A1999S) farklılık tespit edilmiştir<sup>(40)</sup>. Patatete (*Solanum commersonii*) Potyvirus cinsine ait olan potato virus A (PVA) etmenine spesifik dayanıklılık, VPg proteininde tek amino asit değişiminden (H118Y) dolayı kırılmıştır<sup>(41)</sup>.



Şekil 2. PSbMV genomunun temsili gösterimi<sup>(5)</sup>.

Bezelye bitkisinde *sbm-1* aracılı eIF4E dayanıklılığın kırılmasında, PSbMV Vpg dizisinin sorumlu olduğu bulunmuştur<sup>(5,11)</sup>. *A. thaliana* bitkisinde TuMV etmeninin VPg proteininin (Şekil 2) 62.-70. aminoasitlerini içeren bölgesinin eIF(iso)4E ile etkileşimde önemli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, VPg'nin eIF(iso)4E'ye bağlanarak translasyonu başlatmayı inhibe ettiği gösterilmiştir<sup>(42)</sup>.

Bununla birlikte *Potyviridae* familyası dışındaki virüslere karşı resesif dayanıklılığa sahip bitkilerde de VPg'nin bir virülens faktörü olduğu örneğin rice yellow mottle virus (*Sobemovirus* cinsi, *Solemoviridae* familyası) etmeninde belirlenmiştir. *Oryza sativa* cv. Gigante çeşidinin RYMV'e karşı dayanıklılık sağlayan *rymv-1* geninde (resesif) dayanıklılığı kıran RYMV VPg dizisinde mutasyon (G1729T) tespit edilmiştir. RYMV VPg proteini ile çeltik eIF(iso)4G1'in arasında doğrudan bir etkileşim belirlenmiştir<sup>(36)</sup>. eIF(iso)4G1 geninin mutasyona uğratılması (E309K), VPg ile etkileşimi güçlü bir şekilde azaltarak dayanıklılık sağlamıştır<sup>(43)</sup>.

Ökaryotik translasyon başlatma faktörü eIF4 proteinlerindeki amino asit değişimleri, bir dizi bitki türünde potyviruslere karşı dayanıklılık oluşturmaktadır. Viral genoma bağlı proteinin (VPg) merkezi bölgesindeki amino asit değişiklikleri, virüslerin eIF4 aracılı dayanıklılığını aşma yeteneğinden sorumludur. Önemli bir gözlem, eIF4 ve VPg proteinleri arasındaki fiziksel etkileşimin viral enfeksiyon için gerekliliğidir ve dayanıklılığı sağlayan eIF4 genlerindeki mutasyonlar, VPg bağlanmasını engelleyerek viral döngüyü inhibe etmektedir. Tüm bu sonuçlar, eIF4 gen familyası ve viral VPg arasında evrimsel bir yarış olduğunu desteklemektedir. Buna karşın, potyvirus olan LMV etmeninde, dayanıklılığı kıran belirleyicilerin silindirik inklüzyonun C-terminal bölgesindeki mutasyonlarla ilişkili olduğu bulunmuştur. CI proteinindeki mutasyonların, marul bitkisinde *mo1* ile bağlantılı eIF4E dayanıklılığını kırdığı gösterilmiştir<sup>(44)</sup>. MNSV genomunda, diğer çoğu virüsten farklı olarak kavunda *nsv1* ile bağlantılı eIF4E genine karşı avirülenslik faktörünün VPg mutasyonları ile bağlantılı değil, 3' UTR dizisindeki mutasyonlardan kaynaklandığı belirlenmiştir<sup>(24)</sup>. Bu bulgular, bitki virüslerinin eIF4 izoformlarıyla

etkileşiminin karmaşık olduğunu ve virulent virüsün genomunun farklı bölgelerindeki mutasyonlarla dayanıklılığın aşılabileceğini göstermektedir.

## SONUÇ

Doğal resesif dayanıklılık genlerinin karakterize edilmesi, bitki viral RNA'leri ile translasyon başlatma faktörleri arasındaki etkileşimlerin belirlenmesini sağlamıştır. Virüs enfeksiyonunda eIF4 proteinlerinin gerekliliği virüse özgü olmakla birlikte viral etmen genin bir veya birden fazla izoformunu kullanabilmektedir. Ayrıca virüslerin farklı eIF4 proteinleri arasındaki tercihi, konukçuya göre değişebilmektedir. Belirlenen resesif dayanıklılık genlerinin yanı sıra, tarım ürünlerinde veya yabani bitki türlerinde doğal veya yapay mutasyona uğramış eIF4 izoformlarının mutagenез ve yeni nesil dizileme gibi teknikler kullanılarak taranmasıyla yeni dayanıklılık kaynaklarının bulunabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, virulent izolatların ortaya çıkmasını kontrol eden seleksiyon baskısı hakkında daha fazla bilgi edinilmiştir. Resesif dayanıklılık genlerine dayalı direncin genellikle dominant dayanıklılık genlerine göre daha uzun süreli olduğu tahmin edilmektedir ancak bu genlerin sadece viral RNA'ların yararına olmadığı evrimsel süreçte bitki yararına da korunmuş bir işlevi olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Bir resesif dayanıklılık geninin (ilgili genin mutasyonunun) bitki ıslahında kullanılabilir olması için birkaç özelliğin dikkate alınması gerekmektedir. İlk olarak, ilgili konukçu faktörünün işlev kaybının bitkide gelişme geriliği, verim kaybı gibi istenmeyen yan etkilere neden olup olmadığı belirlenmelidir. Ayrıca bitkide diğer abiyotik/biyotik streslere karşı duyarlılığa neden olup olmadığının araştırılması gerekmektedir. Bu kriterler sağlandığında son soru ise dayanıklılık geninin yeni viral izolatlar karşısında dayanıklı olup olmayacağıdır. Virülenslik için gereken mutasyon sayısı ne kadar fazlaysa, dayanıklılığın o kadar kalıcı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, dayanıklılığın kırılmasına karşı dayanıklılık faktörlerinin sayısı ne kadar çok olursa patojen genomunda gereken virülenslik mutasyonlarının sayısı da o kadar artacaktır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, dayanıklılığın ilgili dayanıklılık geni ile beraber kullanılan konukçunun genetik arka planına da bağlı olduğu gösterilmiştir.

Resesif genleri doğası nedeniyle ıslah sürecinde hız ve kolaylık açısından bazı zorlukları beraberinde getirirse de ilgili çalışmaların artması, genom dizileme teknolojilerine artan erişim ve yeni hassas genom düzenleme araçları, transkripsiyon başlatma faktörlerini kullanarak bitki virüslerine karşı mücadeleyi destekleyecektir.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansman:** Yoktur/bildirilmemiştir.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Funding:** None/not declared.

## KAYNAKLAR

- Oliveira RM, Dianese EC, Lima MF, Resende RO, Inoue-Nagata AK, Boiteux LS. Sources of resistance to potato virus Y and pepper yellow mosaic virus in *Solanum* (section *Lycopersicon*) germplasm. *Eur J Plant Pathol*. 2018;150(3):691-9. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1317-3>
- Robaglia C, Caranta C. Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection. *Trends Plant Sci*. 2006;11(1):40-5. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.11.004>
- Jiang J, Laliberte JF. The genome-linked protein VPg of plant viruses—a protein with many partners. *Curr Opin Virol*. 2011;1(5):347-54. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.09.010>
- Duprat A, Caranta C, Revers F, Menand B, Browning KS, Robaglia C. The Arabidopsis eukaryotic initiation factor (iso)4E is dispensable for plant growth but required for susceptibility to potyviruses. *Plant J*. 2002;32(6):927-34. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2002.01481.x>
- Keller KE, Johansen IE, Martin RR, Hampton RO. Potyvirus genome-linked protein (VPg) determines pea seed-borne mosaic virus pathotype-specific virulence in *Pisum sativum*. *Mol Plant Microbe Interact*. 1998;11(2):124-30. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.2.124>
- Lucioli A, Tavazza R, Baima S, Fatyol K, Burgyan J, Tavazza M. CRISPR-Cas9 targeting of the *eIF4E1* gene extends the potato virus Y resistance spectrum of the *Solanum tuberosum* L. cv. Desiree. *Front Microbiol*. 2022;13:873930. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.873930>
- Mazier M, Flamain F, Nicolai M, Sarnette V, Caranta C. Knock-down of both *eIF4E1* and *eIF4E2* genes confers broad-spectrum resistance against potyviruses in tomato. *PLoS One*. 2011;6(12):e29595. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029595>
- Lebaron C, Rosado A, Sauvage C, et al. A new eIF4E1 allele characterized by RNAseq data mining is associated with resistance to potato virus Y in tomato albeit with a low durability. *J Gen Virol*. 2016;97(11):3063-72. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000609>
- Nicaise V, Gallois JL, Chafiai F, et al. Coordinated and selective recruitment of eIF4E and eIF4G factors for potyvirus infection in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*. 2007;581(5):1041-6. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.02.007>
- Sanfacon H. Plant translation factors and virus resistance. *Viruses*. 2015;7(7):3392-419. <https://doi.org/10.3390/v7072778>
- Ashby JA, Stevenson CE, Jarvis GE, Lawson DM, Maule AJ. Structure-based mutational analysis of eIF4E in relation to sbm1 resistance to pea seed-borne mosaic virus in pea. *PLoS One*. 2011;6(1):e15873. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015873>
- Kanyuka K, Druka A, Caldwell DG, et al. Evidence that the recessive bymovirus resistance locus rym4 in barley corresponds to the eukaryotic translation initiation factor 4E gene. *Mol Plant Pathol*. 2005;6(4):449-58. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00294.x>
- Piron F, Nicolai M, Minoia S, et al. An induced mutation in tomato eIF4E leads to immunity to two potyviruses. *PLoS One*. 2010;5(6):e11313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011313>
- Ruffel S, Gallois JL, Lesage ML, Caranta C. The recessive potyvirus resistance gene *pot-1* is the tomato orthologue of the pepper *pvr2-eIF4E* gene. *Mol Genet Genomics*. 2005;274(4):346-53. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0003-x>
- Charron C, Nicolai M, Gallois JL, et al. Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant eIF4E and potyviral VPg. *Plant J*. 2008;54(1):56-68. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313x.2008.03407.x>
- Ruffel S, Dussault MH, Palloix A, et al. A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E). *Plant J*. 2002;32(6):1067-75. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2002.01499.x>
- Ruffel S, Gallois JL, Moury B, Robaglia C, Palloix A, Caranta C. Simultaneous mutations in translation initiation factors eIF4E and eIF(iso)4E are required to prevent pepper vein mottle virus infection of pepper. *J Gen Virol*. 2006;87(Pt 7):2089-98. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81817-0>

18. Zhang C, Zarka KA, Zarka DG, Whitworth JL, Douches DS. Expression of the tomato *pot-1* gene confers potato virus Y (PVY) resistance in susceptible potato varieties. *Am J Potato Res.* 2021;98:42-50. <https://doi.org/10.1007/s12230-020-09815-y>
19. Duan H, Richael C, Rommens CM. Overexpression of the wild potato eIF4E-1 variant Eva1 elicits Potato virus Y resistance in plants silenced for native eIF4E-1. *Transgenic Res.* 2012;21(5):929-38. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9576-9>
20. Takakura Y, Udagawa H, Shinjo A, Koga K. Mutation of a *Nicotiana tabacum* L. eukaryotic translation-initiation factor gene reduces susceptibility to a resistance-breaking strain of Potato virus Y. *Mol Plant Pathol.* 2018;19(9):2124-33. <https://doi.org/10.1111/mpp.12686>
21. Julio E, Cotucheau J, Decorps C, Volpatti R, Sentenac C, Candresse T, Dorlhac de Borne F. A eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) is responsible for the “va” tobacco recessive resistance to potyviruses. *Plant Mol Biol Rep.* 2015;33:609-23. <https://doi.org/10.1007/s11105-014-0775-4>
22. Hart JP, Griffiths PD. A series of eIF4E alleles at the Bc-3 locus are associated with recessive resistance to clover yellow vein virus in common bean. *Theor Appl Genet.* 2013;126(11):2849-63. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2176-8>
23. Naderpour M, Lund OS, Larsen R, Johansen E. Potyviral resistance derived from cultivars of *Phaseolus vulgaris* carrying bc-3 is associated with the homozygotic presence of a mutated eIF4E allele. *Mol Plant Pathol.* 2010;11(2):255-63. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00602.x>
24. Nieto C, Morales M, Orjeda G, et al. An eIF4E allele confers resistance to an uncapped and non-polyadenylated RNA virus in melon. *Plant J.* 2006;48(3):452-62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02885.x>
25. Nicaise V, German-Retana S, Sanjuan R, et al. The eukaryotic translation initiation factor 4E controls lettuce susceptibility to the potyvirus lettuce mosaic virus. *Plant Physiol.* 2003;132(3):1272-82. <https://doi.org/10.1104/pp.102.017855>
26. Nellist CF, Qian W, Jenner CE, et al. Multiple copies of eukaryotic translation initiation factors in *Brassica rapa* facilitate redundancy, enabling diversification through variation in splicing and broad-spectrum virus resistance. *Plant J.* 2014;77(2):261-8. <https://doi.org/10.1111/tpj.12389>
27. Shopan J, Mou H, Zhang L, et al. Eukaryotic translation initiation factor 2B-beta (*eIF2Bbeta*), a new class of plant virus resistance gene. *Plant J.* 2017;90(5):929-40. <https://doi.org/10.1111/tpj.13519>
28. Wang X, Kohalmi SE, Svircev A, Wang A, Sanfacon H, Tian L. Silencing of the host factor *eIF(iso)4E* gene confers plum pox virus resistance in plum. *PLoS One.* 2013;8(1):e50627. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050627>
29. Sato M, Nakahara K, Yoshii M, Ishikawa M, Uyeda I. Selective involvement of members of the eukaryotic initiation factor 4E family in the infection of *Arabidopsis thaliana* by potyviruses. *FEBS Lett.* 2005;579(5):1167-71. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.12.086>
30. Albar L, Bangratz-Reyser M, Hebrard E, Ndjiondjop MN, Jones M, Ghesquiere A. Mutations in the eIF(iso)4G translation initiation factor confer high resistance of rice to rice yellow mottle virus. *Plant J.* 2006;47(3):417-26. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02792.x>
31. Lee JH, Muhsin M, Atienza GA, et al. Single nucleotide polymorphisms in a gene for translation initiation factor (eIF4G) of rice (*Oryza sativa*) associated with resistance to rice tungro spherical virus. *Mol Plant Microbe Interact.* 2010;23(1):29-38. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-1-0029>
32. Gao Z, Johansen E, Evers S, Thomas CL, Noel Ellis TH, Maule AJ. The potyvirus recessive resistance gene, *sbm1*, identifies a novel role for translation initiation factor eIF4E in cell-to-cell trafficking. *Plant J.* 2004;40(3):376-85. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02215.x>
33. Fidan H, Calis O, Ari E, et al. Knockout of *eIF4E* using CRISPR/Cas9 for large-scale production of resistant cucumber cultivar against WMV, ZYMV, and PRSV. *Front Plant Sci.* 2023;14:1143813. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1143813>
34. Yoshii M, Nishikiori M, Tomita K, et al. The *Arabidopsis* cucumovirus multiplication 1 and 2 loci encode translation initiation factors 4E and 4G. *J Virol.* 2004;78(12):6102-11. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.12.6102-6111.2004>
35. Zhang YY, Qi MF, Sun J, et al. Molecular cloning and characterization of a gene encoding eukaryotic initiation factor iso4E in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant Mol Biol Rep.* 2009;27(3):400-6. <https://doi.org/10.1007/s11105-009-0090-7>
36. Hebrard E, Pinel-Galzi A, Bersoult A, Sire C, Fargette D. Emergence of a resistance-breaking isolate of rice yellow mottle virus during serial inoculations is due to a single substitution in the genome-linked viral protein VPg. *J Gen Virol.* 2006;87(Pt 5):1369-73. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81659-0>
37. Shi S, Zhang X, Mandel MA, et al. Variations of five eIF4E genes across cassava accessions exhibiting tolerant and susceptible responses to cassava brown streak disease. *PLoS One.* 2017;12(8):e0181998. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181998>

38. Ayme V, Souche S, Caranta C, et al. Different mutations in the genome-linked protein VPg of potato virus Y confer virulence on the pvr2(3) resistance in pepper. *Mol Plant Microbe Interact.* 2006;19(5):557-63. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0557>
39. Moury B, Morel C, Johansen E, et al. Mutations in potato virus Y genome-linked protein determine virulence toward recessive resistances in *Capsicum annuum* and *Lycopersicon hirsutum*. *Mol Plant Microbe Interact.* 2004;17(3):322-9. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.3.322>
40. Nicolas O, Dunnington SW, Gotow LF, Pirone TP, Hellmann GM. Variations in the VPg protein allow a potyvirus to overcome va gene resistance in tobacco. *Virology.* 1997;237(2):452-9. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8780>
41. Rajamaki ML, Valkonen JP. Viral genome-linked protein (VPg) controls accumulation and phloem-loading of a potyvirus in inoculated potato leaves. *Mol Plant Microbe Interact.* 2002;15(2):138-49. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.2.138>
42. Miyoshi H, Okade H, Muto S, et al. Turnip mosaic virus VPg interacts with *Arabidopsis thaliana* eIF(iso)4E and inhibits in vitro translation. *Biochimie.* 2008;90(10):1427-34. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2008.03.013>
43. Hebrard E, Poulicard N, Gerard C, et al. Direct interaction between the rice yellow mottle virus (RYMV) VPg and the central domain of the rice eIF(iso)4G1 factor correlates with rice susceptibility and RYMV virulence. *Mol Plant Microbe Interact.* 2010;23(11):1506-13. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-10-0073>
44. Sorel M, Svanella-Dumas L, Candresse T, et al. Key mutations in the cylindrical inclusion involved in lettuce mosaic virus adaptation to eIF4E-mediated resistance in lettuce. *Mol Plant Microbe Interact.* 2014;27(9):1014-24. <https://doi.org/10.1094/MPMI-04-14-0111-R>