



Araştırma Makalesi

Balikesir ve Uşak İlleri Tütün Ekim Alanlarında Potyvirus İzolatlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu

Filiz RANDA-ZELYÜT^{1*}, Ali KARANFİL², Savaş KORKMAZ²

ÖZ

Tütünlerde enfeksiyona neden olan çok sayıda viral etmen mevcuttur. Bunlar arasında potyvirusler oldukça yaygın olup, tütünlerde enfeksiyonlar meydana getiren en önemli üyelerinden bir tanesi de *Potato virus Y* (PVY)'dir. Ülkemizde ise potyvirus ve PVY izolatlarının tütün üretim alanlarındaki enfeksiyonuna yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Gerçekleştirilen bu çalışma kapsamında Balıkesir ve Uşak illeri tütün üretim alanlarından semptomatik olan 71 bitkiden örnek alınmıştır. Alınan örnekler potyvirus dejenere primerleri kullanılarak RT-PCR yöntemi ile testlenmiştir. Testlemeler sonucunda 10 örnekte potyvirus enfeksiyonu tespit edilmiştir. Elde edilen potyvirus izolatlarının tür düzeyinde tanılanması amacı ile yapılan dizileme çalışmaları sonucunda 9 PVY izolatı belirlenmiştir. Bir izolat ise tam olarak tür düzeyinde tanılanamamakla birlikte *Leek yellow stripe virus* (LYSV) izolatları ile %75'e kadar varan oranda benzerlik göstermiştir. PVY İzolatlarının benzerlik analizleri sonucunda genel olarak kendi içlerinde yüksek oranda dizi homolojisi gösterdiği belirlenmiştir. Filogenetik analizler sonucunda 7 izolat N streynleri ile kümelenirken, 2 izolatın rekombinasyon göstermeyen izolatların dışında kaldığı saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Tütün, RT-PCR, PVY, potyvirus

Determination and Characterization of Potyvirus Isolates in Tobacco-Growing Areas of Balıkesir and Uşak Provinces in Turkey

ABSTRACT

Infection in tobacco plants is caused by a variety of viral agents. Potyviruses are prevalent among them, and the *Potato virus Y* (PVY) is one of the most important members that causes infections in tobacco. Studies on potyvirus and PVY infection in tobacco-growing areas in Turkey are very limited. A total of 71 symptomatic samples were collected from tobacco-cultivating areas in the Balıkesir and Uşak provinces for this research. The samples were tested using potyvirus universal primers by RT-PCR technique. 10 samples were found to be infected with the potyvirus. 9 PVY isolates were identified as a consequence of sequencing studies conducted for the species-level identification of the obtained potyvirus isolates. Despite the fact that remaining one could not be identified at the species level, it resembled *Leek yellow stripe virus* isolates by up to 75%. PVY isolates were determined to have a high level of sequence homology within themselves. Phylogenetic analysis revealed that 7 isolates clustered with N strains, while 2 isolates were divided from non-recombinant isolates.

Keywords: Tobacco, RT-PCR, PVY, potyvirus

ORCID ID (Yazar Sırasına göre)

0000-0002-1366-4389, 0000-0002-4503-6344, 0000-0001-8227-3800

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 21.04.2022

Kabul Tarihi: 28.06.2022

¹Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bilecik

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Çanakkale

*E-posta: filizrandazelyut@yahoo.com

Balıkesir ve Uşak İlleri Tütün Ekim Alanlarında Potyvirus İzolatlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu

Giriş

Solanaceae familyası üyelerinden biri olan tütün (*Nicotiana tabacum* L.) Türkiye’de katma değeri en yüksek tarımsal ürünler arasında yer almaktadır. İnsan sağlığına olan olumsuz etkileri ile sıklıkla gündeme gelmesinin yanı sıra, kırsal alanlarda oluşturduğu tarım istihdamı ile de ülke ekonomisine önemli katkılar sunmakta ve stratejik bir ürün olma özelliğini devam ettirmektedir (Özkul ve Sarı, 2008). Dünyada şark tütünü olarak bilinen Türk tütünü sahip olduğu kalitesiyle tüm dünyada harmanlanmış sigaraların içinde bulundurulması gereken bir bileşen haline almıştır (Daşdemir, 2006). İklim toleransı yüksek olduğu için Türkiye’nin hemen hemen her bölgesinde yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Bununla birlikte, ülkede tütün üretiminin yaklaşık olarak %65’i Ege ve Marmara bölgelerinde yapılmaktadır (TÜİK, 2020). Bu bölgeler içerisinde özellikle üretim açısından Balıkesir ve Uşak illeri önemini korumaktadır. Dünyada gerçekleştirilen çalışmalardan tütün üretimini sınırlandıran, verim ve kalite kaybına neden olan en önemli hastalık etmenlerinin virüsler olduğu bildirilmiştir (Shew ve Lucas, 1991). Virüs hastalıkları ile ilgili olarak gerçekleştirilen çalışmalar neticesinde tütün üretim alanlarında enfeksiyonu en sık görülen etmenlerin çoğunlukla tobamovirus, cucumovirus, orthospovirus ve potyvirus cinslerine ait üyelerin olduğu bildirilmiştir (Chatzivassiliou ve ark., 2004). Bu cinsler içerisinde özellikle potyvirusler önemli bir yer tutmaktadır.

Bitkileri enfekte eden virüs familyaları içerisinde Potyviridae familyası çok fazla sayıda tür içerdiğinden dolayı en geniş grubu oluşturmaktadır (Ohshima ve ark., 2002). Bu familyanın en önemli cinslerinden olan potyviruslerin ise son kayıtlara göre monokotiledon ve dikotiledon yabancı ve kültür bitkilerini enfekte eden 167 türü içerdiği bildirilmiştir (Nigam ve ark. 2019). Cinsin tipik taksonomik genomik özelliği olarak bükülebilir-ipliksi partikülleri genellikle poly-A kuyruğu hariç yaklaşık 10.000 nükleotit uzunluğunda pozitif-polariteli tek iplikçik [(+) ssRNA] genomundan oluşmaktadır (Gibbs ve ark., 2020). Bu genom oldukça korunmuş bir

organizasyon ve yapısal proteinlere sahip olmakla birlikte genellikle P1 (replikasyon modilatörü, translasyon), HC-Pro (yardımcı proteinaz bileşeni, afitlerle taşınma, susturma-baskılama), P3 (virüs replikasyonu ve taşınma), P3N-PIPO (hücreden-hücreye taşınma), 6K1 (replikasyon veziküllerinin oluşumu), sitoplazmik inclusion proteini-CI (virüsün hareketi ve replikasyonu ile ilgili helikaz), 6K2 (replikasyon veziküllerinin oluşumu), genoma bağlı protein VPg (translasyon, taşınma ve replikasyon), NIa-Pro (polyprotein prosesi), N1b (RNA-bağlı RNA polimeraz) ve CP (örtü proteini) proteinlerini kodlamaktadır (White, 2015; Cui ve Wang 2016). Genellikle üyelerin yaprak bitleri ile taşınmasının yanı sıra bazılarının üretim materyalleri aracılığıyla da taşınabildiği bilinmektedir (Sastri, 2013).

Türkiye için büyük öneme sahip tütün bitkisinin sosyolojik ve ekonomik önemine dair gerçekleştirilmiş çok sayıda araştırma mevcuttur. Ancak, ülkemiz tütün üretim alanlarında bitki viral enfeksiyonları ile ilgili gerçekleştirilmiş çalışmalar oldukça sınırlıdır (Erdem, 2010; Günay ve Usta, 2020). Gerçekleştirilen bu çalışmalar ise genellikle *Tobacco mosaic virus* (TMV) ve *Cucumber mosaic virus* (CMV) etmenleri üzerine gerçekleştirilen araştırmalardır (Çulal-Kılıç ve ark., 2017; Günay ve Usta, 2020; Karanfil ve ark., 2020; Tohumcu ve ark., 2021). Bu tobamovirus ve cucumovirus etmenleri dışında potyviruslerle ilgili olarak Hatay ilinde tütün üretim alanlarında *Patato virus Y* (PVY) etmeninin tespiti ve enfeksiyon oranının belirlenmesine yönelik sadece bir çalışma bildirilmiştir (Sertkaya ve ark. 2017).

Tütün üretim alanlarında sıklıkla viral enfeksiyonlarla ilişkili olan PVY genellikle Solanaceae familyası üyelerini enfekte etmektedir. Bilinen en yaygın konukçuları ise patates, domates, biber ve tütündür (Blanchard ve ark., 2008). Etmen ilk kez 1930 yılında tanımlanmıştır (Bawden, 1936). Gerçekleştirilen son çalışmalar kapsamında PVY izolatlarının tüm genom sekans dizilimlerine göre 5 farklı filo-grupta kümelendiği (N, C, O, R1 ve R2), ancak izolatların yarısının N, C ve O filo-gruplarında dağılım gösterdiği belirtilmiştir (Gibbs ve ark.,

Balıkesir ve Uşak İlleri Tütün Ekim Alanlarında Potyvirus İzolatlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu

2017). Bununla birlikte izolatların nükleotid dizi özelliklerine göre, rekombinasyon ve biyolojik özelliklerine göre de farklı filo-gruplar oluşturduğu çok sayıda çalışmadan bildirilmiştir (Akinyemi ve ark., 2016; Gibbs ve ark., 2017; Della Bartola ve ark., 2020).

Ülkemiz tütün üretim alanlarında enfeksiyonlara neden olan PVY izolatlarının ise genetik özelliklerine yönelik yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla ülkemizin iki önemli tütün üretim alanında potyvirus enfeksiyonunun durumu ve bu enfeksiyonlara neden olan potyvirus türlerinin belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonuna yönelik olarak bu çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda bu çalışmanın ana konusunu Balıkesir ve Uşak illeri tütün üretim alanlarında potyvirus enfeksiyonlarının konvansiyonel moleküler teknikler ile tespiti ve elde edilen izolatların tür düzeyinde tanımlanarak genetik çeşitliliğinin belirlenmesi oluşturmaktadır.

Materyal ve Yöntem

Örneklerin Toplanması

Arazi çalışmaları Batı Anadolu bölgesi tütün üretim alanlarında bulunan Balıkesir ve Uşak illerinde 2020 yılı üretim sezonu içerisinde gerçekleştirilmiştir. Tütün üretim alanlarının

seçimi tesadüfi olarak yapılmıştır. Örnekler yalnızca virüs ve virüs benzeri semptom gösteren bitkilerden alınmıştır. Aynı tütün tarlasından en fazla 3 örnek alınmıştır.

Potyvirus Enfeksiyonunun Belirlenmesi

Toplanan örneklerde potyvirus enfeksiyonu RT-PCR (Ters Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu) testleri ile araştırılmıştır. Potyvirus enfeksiyonlarının belirlenmesinde cins düzeyinde potyvirus spesifik universal primer çifti kullanılmıştır (Çizelge 1). Bu amaçla ilk olarak toplanan örneklerden Li ve ark. (2008)'in belirttiği modifiye CTAB metodu ile toplam nükleik asit (TNA) izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TNA'lar kullanılarak RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit ile random hexamer primer (5'-NNNNNN-3') ile cDNA kütüphaneleri oluşturulmuştur (Thermo Scientific, ABD). Oluşturulan bu cDNA kütüphaneleri kullanılarak 2X Emerald PCR Master Mix (Takara, Japon) ve Tablo 1'deki primer çifti kullanılarak amplifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonuçları %1,5'lik EtBr ile boyanmış agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiştir.

Çizelge 1. Potyvirus enfeksiyonlarının belirlenmesinde kullanılan primer çifti

Kod	Primer Dizisi (5'-3')	Ürün Büyüklüğü	Kaynak
Nİb2F	GTITGYGTIGAYGAYTTYAAAYAA	350 bp	Zheng ve ark., 2010
Nİb3R	TCIACIACIGTIGAIGGYTGNC		

Potyvirus Enfeksiyonunun

Karakterizasyonu

Virüs tanılama çalışmaları sonucu elde edilen tüm potyvirus izolatları, tür düzeyinde belirlenmesi amacı ile çift yönlü olacak şekilde dizileme işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla potyviruslerin saptanması amacıyla yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen ampikonlar kullanılmıştır. Sekanslama çalışmaları hizmet alımı yolu ile ticari olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ham dizi verileri CLC Main Workbench V.20.3 yazılımında birleştirildikten sonra BlastN (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) analizi

ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. Elde edilen konsensüs diziler gen bankasına kayıt edilerek erişim numaraları alınmıştır (Çizelge 2).

Ayrıca ilgili virüs için hedef gen bölgesine karşılık gelen dünya izolatları GenBankası'ndan elde edilerek (Çizelge 3), dizi benzerlik ve evrimsel analizlerde kullanılmıştır. Benzerlik analizlerinde Sequence Demarcation Tool V.1.2 (Muhire ve ark. 2014), filogenetik analizlerde ise Mega X yazılımları kullanılmıştır (Kumar ve ark., 2018).

Balıkesir ve Uşak İlleri Tütün Ekim Alanlarında Potyvirus İzolatlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu

Çizelge 2. Bu çalışma kapsamında elde edilen Potato virus Y izolatlarına ait bilgiler

İzolat	Elde Edildiği İl	Elde Edildiği Bölge	Erişim Numarası
BAL-1	Balıkesir	Marmara	OK149266
BAL-2	Balıkesir	Marmara	OK149267
BAL-4	Balıkesir	Marmara	OK149268
BAL-5	Balıkesir	Marmara	OK149269
BAL-11	Balıkesir	Marmara	OK149270
BAL-12	Balıkesir	Marmara	OK149271
BAL-19	Balıkesir	Marmara	OK149272
USA-47	Uşak	Ege	OK149273
USA-45	Uşak	Ege	OK149274

Çizelge 3. Gen bankasından alınan Potato virus Y izolatlarına ait bilgiler

İzolat	Konukçu	Ülke	Eişim Numarası	Streyn
SY-III-L4	-	Suriye	AB461454	PVY ^N
Egypt	Patates	Mısır	AF522296	PVY ^N
MN	-	-	AF463399	PVY ^C
SON41	Köpek üzümü	Fransa	AJ439544	PVY ^C
PO26	Patates	İrlanda	MT264731	PVY ^O
PVYOUK	Patates	Finlandiya	JX424837	PVY ^O
OH	Patates	Japonya	AB714134	PVY ^O
DEL3	Patates	Avustralya	KP691325	PVY ^O

Bulgular ve Tartışma

Gerçekleştirilen arazi çalışmaları kapsamında Balıkesir ve Uşak illeri tütün üretim alanlarından tipik virüs ve virüs-benzeri simptom gösteren toplam 71 bitkiden örnek

alınmıştır. Alınan örneklerin hepsinde hafif ve/veya yoğun şekilde mozaik belirtiler gözlenmiştir (Şekil 1). Bu belirtilerin yanında oldukça az sayıda bitkide bodurluk belirtileri görülmüştür.



Şekil 1. Araziden toplanılan ve Potato virus Y ile enfekteli bulunan tütün bitkilerinde gözlenen mozaik belirtiler

Balıkesir ve Uşak İlleri Tütün Ekim Alanlarında Potyvirus İzolatlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu

Gerçekleştirilen virüs tanılama çalışmaları sonucunda 10 bitkide potyvirus enfeksiyonu tespit edilmiştir. Balıkesir ilinden toplanılan 34 örneğin 7 tanesinde, Uşak ilinden toplanılan 37 örneğin ise 2 tanesinde potyvirus enfeksiyonu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre; Balıkesir

ilinden alınan örneklerde enfeksiyon oranı %23,52 olarak tespit edilirken, Uşak ilinden alınan örneklerde %5,40 olarak tespit edilmiştir. Her iki il için alınan toplam örneklerde ise enfeksiyon oranı %14,08 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4).

Çizelge 4. Çalışma kapsamında toplanan ve enfekteli örnek sayıları ile enfeksiyon oranları

İller	Enfekteli Örnek/Toplanan Örnek	Toplanan Örneklerdeki Enfeksiyon Oranı
Balıkesir	8/34	%23.52
Uşak	2/37	%5.40
Toplam	10/71	%14.08

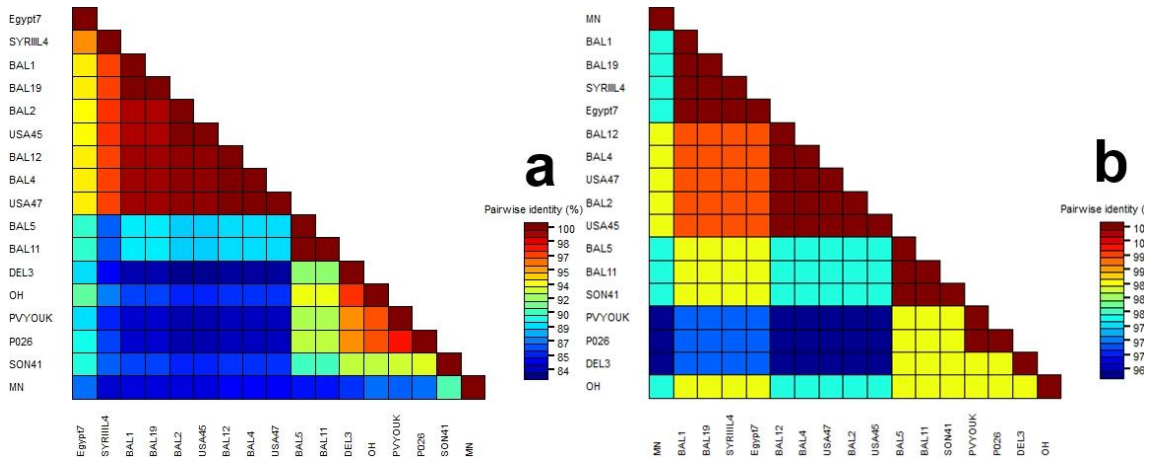
Toplanılan örneklerin tamamının virüs ve virüs benzeri patojenlerin neden olduğu semptomları göstermesine rağmen enfeksiyon oranının sadece % 14,08 oranında gerçekleşmesi olasılıkla örneklerin tütünlerde enfeksiyon meydana getiren diğer virüsler ile enfekteli olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim ülkemizde daha önce gerçekleştirilen farklı çalışmalarda tütünlerde enfeksiyon meydana getiren TMV (Çulal-Kılıç ve ark., 2017; Günay ve Usta, 2020), *Tobacco mild green mosaic virus* (Karanfil ve ark., 2020) ve CMV (Usta ve ark., 2020) gibi önemli bazı viral enfeksiyonların toplanılan bu örneklerde de bulunma ihtimalini güçlendirmektedir.

Moleküler çalışmalar ile tespit edilen potyviruslerin tür düzeyinde belirlenmesi amacı ile dizileme çalışmalarını takiben yapılan BlastN analizleri sonucu elde edilen 9 potyvirus izolatının PVY olduğu belirlenmiştir. Geri kalan bir izolatın ise başka bir potyvirus olan *Leek yellow stripe virus* (LYSV) izolatları ile %75 oranında dizi homolojisi gösterdiği görülmüştür. Bu sonuçlara göre Balıkesir ve Uşak illeri tütün üretim alanlarında mozaik semptomlar ve bodurluğa neden olan enfeksiyonlarının potyvirus cinsi üyelerinden PVY türü ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Çin’de gerçekleştirilen benzer bir çalışmada ise tütün üretim alanlarından PVY izolatlarının elde edildiğinin bildirilmesi bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar ile kısmen doğrulanmaktadır (Tian ve ark., 2011).

LYSV izolatları ile %75 oranında benzerlik gösteren tütün izolatının ise tam olarak LYSV ya da başka bir virüs türü olduğu kesinleştirilemediğinden gen bankasına kaydı gerçekleştirilmemiştir. Bu bağlamda elde edilen bu izolatın dünya için yeni bir virüs türü olabilme ihtimalinden dolayı, potyvirus taksonomisinde tür tanılama kriteri olarak kullanılan en azından tam CP genini içerecek şekilde moleküler amplifikasyonu ile belirlenmesi gerektiğine inanılmaktadır (Adams ve ark., 2005, 2017; King ve ark., 2011).

Elde edilen PVY izolatlarının ilgili gen bölgesi kullanılarak gerçekleştirilen benzerlik analizleri sonucunda ise izolatların kendi içlerinde nükleotid düzeyinde %89-99, aminoasit düzeyinde ise %97-100 arasında dizi homolojisine sahip olduğu belirlenmiştir. Dünya izolatları ile gerçekleştirilen sekans benzerlik analizleri sonucunda ise nükleotid düzeyinde %84-99, aminoasit düzeyinde ise %96-100 oranında benzerlikler tespit edilmiştir (Şekil 2). PVY izolatlarının moleküler evrimsel ilişkilerinin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilen analizler sonucunda ise 7 izolatın (BAL-1, BAL-2, BAL-4, BAL-12, BAL-19, USA-45, and USA-47) N streyni ile ilişkili olduğu bulunurken, 2 izolat (BAL-5, and BAL-11) ise bilinen rekombinant olmayan streynlerinin dışında, sadece kendilerinden oluşan ayrı bir küme oluşturduğunu bulunmuştur (Şekil 3).

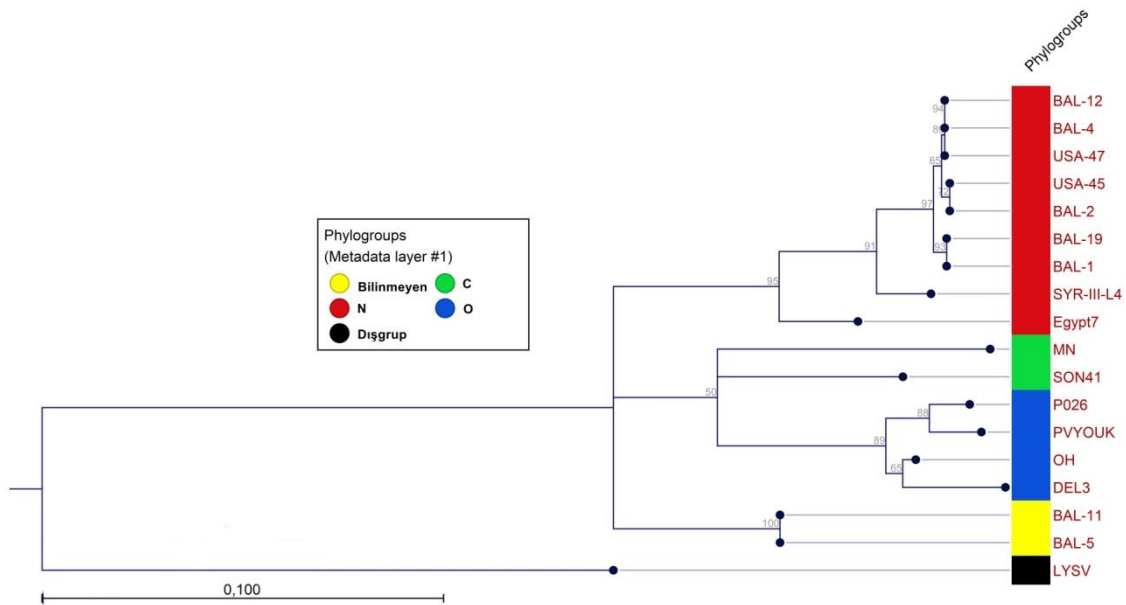
Balikesir ve Uşak İlleri Tütün Ekim Alanlarında Potyvirus İzolatlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu



Şekil 2. Tütün Patato virus Y izolatlarının kendi içlerinde ve dünya izolatları ile nükleotit (a) ve amino asit (b) düzeyinde göstermiş oldukları sekans benzerlik diagramları

Tütün PVY izolatlarının dünya izolatları ile olan sekans benzerlik ve filogenetik ilişkileri incelendiğinde BAL-5 ve BAL-11 izolatlarının diğer Türk izolatlarından daha farklı genetik çeşitliliğe sahip olduğu ve bilinen rekombinant olmayan streynleri ile ilişkili olmadığı belirlenmiştir. Buna göre bu izolatların daha

büyük gen bölgelerinin dizileri çıkarılarak ve moleküler karakterizasyon çalışmaları yapılarak rekombinasyon durumları araştırılmalıdır. Nitekim Gibbs ve ark. (2017) birçok PVY izolatının gruplar içi ve gruplar arası rekombinant bölgelere sahip olduğunu bildirmiştir.



Şekil 3. Tütün Patato virus Y izolatlarının filogenetik ilişkileri

Çalışma kapsamında elde edilen birçok izolatın N grubunda bulunması, arazi çalışması ve virüs tanımlama çalışmalarına göre PVY ile enfekteli olarak bulunan örneklerdeki semptomatoloji ile de uyumlu olduğu görülmüştür. PVY^N

izolatlarının özellikle patates bitkilerinde dayanıklılık genlerini kırarak önemli ürün kayıplarına neden olduğu rapor edilirken, bu izolatların genellikle tütünlerde ciddi ekonomik kayıplara neden olmadığı bildirilmesi de

Balıkesir ve Uşak İlleri Tütün Ekim Alanlarında Potyvirus İzolatlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu

elde edilen sonuçları desteklemektedir (Singh ve ark., 2008). Ayrıca özellikle PVY^N izolatlarının dünya çapında yayılım göstermesi de çalışma sonucunu destekleyen diğer bir olgudur (Ogawa ve ark., 2008; Gibbs ve ark., 2017).

Sonuç ve Öneriler

Bundan sonra gerçekleştirilecek olan çalışmalarda PVY izolatlarının en azından CP geninin tamamı düzeyinde moleküler olarak karakterize edilmesinin yanı sıra farklı tütün çeşitlerinde izolatların neden olduğu belirtiler, bitki fizyolojisindeki değişiklikler ve muhtemel verim kayıplarının belirlenmesine yönelik olması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışma kapsamında LYSV izolatları ile %75'e varan benzerlik gösteren potyvirus izolatlarında potyvirus taksonomi kriterleri dikkate alınarak karakterize edilmesinin önemli olduğuna inanılmaktadır.

Kaynaklar

Adams, M., Antoniw, J., Fauquet, C. (2005) Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. *Adv Virol* 150:459–479.

Adams, M. J., Lefkowitz, E. J., King, A. M., Harrach, B., Harrison, R. L., Knowles, N. J., Kropinski, A. M., Krupovic, M., Kuhn, J. H., Mushegian, A. R. (2017) Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Adv Virol* 162:2505–2538.

Akinyemi, I. A., Wang, F., Zhou, B., Qi, S., Wu, Q. (2016) Ecogenomic survey of plant viruses infecting tobacco by next generation sequencing. *Virology Journal* 13:1-12.

Bawden, F. C. (1936) The viruses causing top necrosis (acroncrosis) of the potato. *Annals of Applied Biology* 23:487-497.

Blanchard, A., Rolland, M., Lacroix, C., Kerlan, C., Jacquot, E. (2008) Potato virus Y: a century of evolution. *Virology* 7:21-32.

Chatzivassiliou, E. K., Efthimiou, K., Drossos, E., Papadopoulou, A., Poimenidis, G., Katis, N. I. (2004) A survey of tobacco

viruses in tobacco crops and native flora in Greece. *European Journal of Plant Pathology* 110:1011-1023.

Cui, H., Wang, A. (2016) Plum pox virus 6K1 protein is required for viral replication and targets the viral replication complex at the early stage of infection. *J Virol* 90:5119–5131.

Çulal-Kılıç, H., Çıkrıkçı, M. O., Yardımcı, N. (2017) Determination of tobacco mosaic virus in tobacco fields in Denizli province, Turkey. *Scientific Papers-Series A-Agronomy* 60:215-219.

Daşdemir, S. (2006) Kimi Tütün Çeşitlerinin Yetiştirilebilmesine Uygun Ekim Alanlarının Uzaktan Algılama Tekniği Kullanılarak Belirlenmesi ve Bunların Coğrafi Bilgi Sistemi Yazılımları Ortamında Sorgulanması Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi.

Della Bartola, M., Byrne, S., Mullins, E. (2020) Characterization of potato virus Y isolates and assessment of nanopore sequencing to detect and genotype potato viruses. *Viruses* 12:478.

Erdem, N. (2010) Samsun ilinde tütün (*Nicotiana tabacum* L.) yetiştirilen alanlarda enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi.

Gibbs, A. J., Hajizadeh, M., Ohshima, K., Jones, R. A. (2020) The Potyviruses: An evolutionary synthesis is emerging. *Viruses* 12:132.

Gibbs, A. J., Ohshima, K., Yasaka, R., Mohammadi, M., Gibbs, M. J., Jones, R. A. (2017) The phylogenetics of the global population of potato virus Y and its necrogenic recombinants. *Virus Evolution* 3:vex002.

Gunay, A., Usta, M. (2020) First investigation of five tobacco viruses using pcr based methods in tobacco plants grown in Adiyaman, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 29:11624-11632.

Karanfil, A., Sarı, M., Korkmaz, S. (2020) First report of tobacco mild green mosaic virus in Turkey. *Journal of Plant Pathology* 102:547-547.

Balıkesir ve Uşak İlleri Tütün Ekim Alanlarında Potyvirus İzolatlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu

- King, A. M., Lefkowitz, E., Adams, M. J., Carstens, E. B. (2011) Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- Li, R., Mock, R., Huang, Q., Abad, J., Hartung, J., Kinard, G. (2008) A reliable and inexpensive method of nucleic acid extraction for the PCR-based detection of diverse plant pathogens. *Journal of Virological Methods* 154:48-55.
- Muhire, B. M., Varsani, A., Martin, D. P. (2014) SDT: A virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PLoS One* 9:0108277.
- Nigam, D., LaTourrette, K., Souza, P. F. N., Garcia-Ruiz, H. (2019) Genome- Wide Variation in Potyviruses. *Front Plant Sci* 10:1439.
- Ogawa, T., Tomitaka, Y., Nakagawa, A., Ohshima, K. (2008) Genetic structure of a population of Potato virus Y inducing potato tuber necrotic ringspot disease in Japan; comparison with North American and European populations. *Virus Res* 131:199-212.
- Ohshima, K., Yamaguchi, Y., Hirota, R., Hamamoto, T., Tomimura, K., Tan, Z., Sano, T., Azuhata, F., Walsh, J.A., Fletcher, J., Chen, J., Gera, A., Gibbs, A. (2002) Molecular evolution of Turnip mosaic virus: evidence of host adaptation, genetic recombination and geographical spread. *Journal of General Virology* 83:1511-1521.
- Özkul, İ., Sarı, Y. (2008) Türkiye’de tütün sektörünün durumu, sorunları ve çözüm önerileri. 2. *Ulusal İktisat Kongresi* 1-22.
- Sastry, K. S. (2013) Virus transmission. In *Seed-borne plant virus diseases* (pp. 75-83). Springer, India.
- Sertkaya, G., Çarpar, H., Sertkaya, E. (2017) Detection of Virus Diseases in Tobacco (*Nicotiana tabacum*) Fields of Hatay-Turkey. *Abstract Proceeding Book of ICAFOF Conference* 1237.
- Shew, D., Lucas, G. B. (1991) *Compendium of Tobacco Diseases*. APS Press, St Paul, USA
- Singh, R. P., Valkonen, J. P. T., Gray, S. M., Boonham, N., Jones, R. A. C., Kerlan, C., Schubert, J. (2008) The naming of Potato virus Y strains infecting potato. *Arch Virol* 153:1-13.
- Tian, Y. P., Liu, J. L., Zhang, C. L., Liu, Y. Y., Wang, B., Li, X. D., Guo, Z. K., Valkonen, J. P. T. (2011) Genetic diversity of Potato virus Y infecting tobacco crops in China. *Phytopathology* 101:377-387.
- Tohumcu, E., Birişik, N., Sağlam, H. N., Kamberoğlu, M., Yaşar, Y. (2021) Adıyaman İli ve Çevresinde Tütün Ekim Alanlarında Virüs Hastalıklarının Tespiti ve 10 Yıllık Epidemiyolojik Durumunun Değerlendirilmesi. *ADYUTAYAM Dergisi* 9:90-100.
- TÜİK (2020) <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>
- Usta, M., Güller, A., Günay, A. (2020) The molecular characterization of the coat protein sequence and differentiation of CMV-subgroup I on tobacco from native flora in Turkey. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 48:523-534.
- White, K. A. (2015) The polymerase slips and PIPO exists. *EMBO Rep* 16:885-886.
- Zheng, L., Rodoni, B.C., Gibbs, M.J., Gibbs, A.J. (2010) A novel pair of universal primers for the detection of potyviruses. *Plant Pathol* 59:211-220.