

Ülkemiz Tütün Üretim Alanlarında Cucumber mosaik virus (CMV) Enfeksiyonunun Belirlenmesi ve Türk CMV izolatlarının Popülasyon Yapısı

Ali KARANFİL^{1*}, Filiz RANDA-ZELYÜT², Savaş KORKMAZ¹

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

²Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bilecik

*Sorumlu Yazar: ali.karanfil@hotmail.com

Geliş Tarihi: 25.04.2023 Düzeltme Geliş Tarihi: 22.05.2023 Kabul Tarihi: 22.05.2023

ÖZ

Cucumber mosaic virus (CMV) bitki virüs hastalıkları arasında muhtemelen en fazla konukçu genişliğine sahip bir viral hastalık etmenidir. CMV enfeksiyonu Türkiye’de birçok farklı bitki türünde tespit edilmiştir. Etmenin Türkiye’deki konukçu aralığı oldukça fazla olmasına rağmen, Türkiye tütün üretim alanlarının çok büyük bir kısmını oluşturan Marmara ve Ege Bölgeleri tütün üretim alanlarındaki enfeksiyonu ve Türk CMV izolatlarının popülasyon yapıları ile ilgili yapılmış detaylı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma kapsamında belirtilen alanlardan 300 semptomatik tütün bitkisi toplanmış ve 12 tanesinin CMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçla CMV’nin tütün üretim alanlarında ana viral patojen olmadığı görülmüştür. Türk CMV izolatlarının moleküler karakterizasyonu amacı ile yürütülen sekans ve biyoinformatik analizler sonucunda izolatların birbirleri ile nükleotit ve aminoasit düzeyinde %91-100 arasında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Filogenetik analizler ile Türk CMV izolatlarının Ia ve Ib olmak üzere iki altgruba dağılım gösterdiği görülmüştür. Bu altgruplardan Ib’de bulunan CMV izolatlarının Ia’ya göre genetik açıdan oldukça polimorfik olduğu belirlenmiştir. Ayrıca konukçu ve coğrafik orijinin Türk CMV izolatlarının filogenetik ilişkilerinde rol oynamadığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Fitopatojen, Biyoinformatik, CMV

Prevalence of Cucumber mosaic virus (CMV) Isolates Infecting Tobacco Plants in Turkey and Population Structure of Turkish CMV Isolates

ABSTRACT

Cucumber mosaic virus (CMV) is most likely the plant virus species with the broadest host range. In Turkey, different plant species have been identified to be affected by CMV. Although the host range of the agent is relatively common in Turkey, there are no thorough investigations on the infection and population structure of Turkish CMV isolates infecting tobacco plants in the Marmara and Aegean regions, which constitute a significant portion of Turkey’s tobacco production areas. 300 symptomatic tobacco plants from the targeted locations were collected for this purpose, and 12 of them were found positive for CMV infection. This result indicates that CMV is not the predominant viral pathogen in tobacco-producing areas. The sequencing and bioinformatic analysis carried out for the isolates revealed nucleotide and amino acid similarity between 91 and 100% for Turkish CMV isolates. Phylogenetic analysis showed that Turkish CMV isolates were divided into two subgroups, Ia and Ib. It has been revealed that CMV isolates from one of these subgroups, Ib, are significantly more genetically polymorphic than those from Ia. Furthermore, it was found that neither the origin of the host nor the location had any effect on the phylogenetic relationships of Turkish CMV isolates.

Key words: Phytopathogen, Bioinformatics, CMV

GİRİŞ

Cucumber mosaic virus (CMV) Bromoviridae familyasından *Cucumovirus* cinsine ait bir türdür. CMV dünya çapında dağılım göstermektedir ve bilinen en fazla konukçu genişliğine sahip bitki virüs türüdür. Monokotiledon, dikotiledon, otsu bitkiler, çalılar ve ağaçlardan oluşan 1000'den fazla bitki türünde enfeksiyon meydana getirebilmektedir. CMV'nin tohumla ve 60'dan fazla yaprak biti ile non-persistent olarak taşındığı bilinmektedir (Jacquemon, 2012).

CMV, (+)ssRNA genomuna sahiptir ve virionları izometrik şekillidir. CMV'nin sahip olduğu bu genom 3 parçalıdır. Toplam uzunluğu yaklaşık olarak 8700 nükleotitten oluşmaktadır ve 5 açık okuma bölgesine sahiptir. Bitki virüslerinin moleküler karakterizasyonlarında yaygın olarak kullanılan kılıf protein geni ise RNA3 genom segmentinde kodlanmaktadır (Palukaitis and Garcia-Arenal, 2003).

CMV popülasyonlarının I ve II olarak iki alt gruba ayrıldığı bildirilmiştir. Bunlardan birincisinin kendi içinde tekrardan Ia ve Ib olmak üzere alt gruplara ayrıldığı da bilinmektedir (Roossinck, 2001).

CMV'nin en önemli konukçuları arasında Solanaceae, Cucurbitaceae ve Brassicaceae familyası üyeleri yer almaktadır (Jacquemon, 2012). Türkiye'de gerçekleştirilen birçok çalışmada CMV enfeksiyonu farklı konukçularda ve bölgelerde tespit edilmiştir (Karanfil ve Korkmaz, 2021; Karanfil, 2021). Ancak Türkiye'de Solanaceae familyası üyelerinde etmenin enfeksiyonu ile ilgili olarak gerçekleştirilen çalışmalar ağırlıklı olarak domates bitkileri üzerinden yürütülmüştür (Karanfil, 2021), Türkiye tarımında önemli bir yer tutan tütün bitkilerinde etmenle ilgili gerçekleştirilmiş sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (Usta et al., 2020). Türkiye'de tütün üretim alanlarının %65'ten fazlasına sahip olan Marmara ve Ege bölgesindeki tütün üretim alanlarında etmenin enfeksiyonunun belirlenmesine yönelik gerçekleştirilmiş bir çalışma bulunmamaktadır.

Ayrıca Türkiye'de ekonomik olarak önemli birçok tarım ürünüde etmenin varlığının saptanmasına yönelik gerçekleştirilen çalışmalar, CMV izolatlarının sekans benzerlik ve filogenetik olarak ait oldukları grupların tespiti yönünde yürütülmüştür (Ergün ve ark., 2013; Usta ve ark., 2020; Akdura ve Culal-Kılıç, 2022). Dolayısıyla bu çalışmalar Türk CMV izolatlarının popülasyon yapılarının genetik çeşitliliğini tam anlamıyla yansıtmamaktadır. Türk CMV izolatlarının detaylı genetik çeşitlilik analizlerinin yapılmasının etmenin ülke içindeki yayılımı ve evrimsel süreçlerinin modellenmesine önemli katkılar sunacağı düşünülmektedir.

Bu amaçla tobacco mild green mosaic virus (TMGMV) ile ilgili olarak gerçekleştirilen 1190625 numaralı TÜBİTAK-TOVAG projesi kapsamında Türkiye tütün üretim alanlarının büyük bir kısmını oluşturan Marmara ve Ege bölgelerinden toplanılan örnekler kullanılmıştır. Elde edilen izolatların CP genlerinin sekans dizilimleri belirlenmiş ve genbankasında bulunan diğer Türk izolatları da çalışmaya katılarak Türk CMV izolatlarının popülasyon yapıları detaylı olarak araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Arazi Çalışmaları

Gerçekleştirilen arazi çalışmaları 1190625 numaralı proje kapsamında TMGMV'nin genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacı ile yürütülen proje kapsamında çalışılmıştır. Arazi çalışmaları Türkiye'nin Marmara ve Ege bölgeleri tütün üretim alanlarında 2019-2020 yıllarında yapılmıştır. Bu bağlamda toplam 7 ilde (Çanakkale, Balıkesir, İzmir, Manisa, Uşak, Aydın ve Denizli) arazi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Örnekleme yapılan tarlalar tesadüfi olarak seçilmiş ve virüs ve benzeri semptom gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır.

Virüs Tanılama Çalışmaları

Toplanılan örneklerdeki CMV enfeksiyonu reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) testleri ile belirlenmiştir. Bu amaçla ilk olarak toplanılan örneklerden Li et al. (2008)'in belirttiği şekilde total nükleik asit (TNA) izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TNA'ların kaliteleri %1.5'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildikten sonra kullanılıncaya kadar -80°C'de saklanmıştır. Elde edilen TNA'lar kullanılarak RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit ile random hexamer primer ile cDNA kütüphaneleri oluşturulmuştur (Thermo Scientific, ABD). Oluşturulan bu cDNA kütüphaneleri kalıp olarak kullanılarak 2X Emerald PCR Master Mix (Takara, Japon) ve CMV'nin CP genine spesifik bir primer çifti kullanılarak PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir (Karanfil, 2021). PCR sonuçları %1.5'lik EtBr ile boyanmış agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiştir.

Biyoinformatik Analizler

CMV ile enfekteli bulunan izolatlar içerisinde elde edildikleri coğrafik orijinler temel alınarak her bir ilden en az bir izolat olacak şekilde toplamda 10 izolat (OK149244-OK149253) ileri biyoinformatik analizlerin gerçekleştirilmesi amacı ile seçilmiştir. Bu amaçla virüs tanılama çalışmaları sonucunda elde edilen CMV izolatlarının CP geninin 638 bp'lik kısmını içeren PCR ürünleri çift yönlü olacak şekilde hizmet alımı ile sekanslanmıştır. Elde edilen ham sekans verileri CLC Main Workbench V.20.3 paket programında

birleştirildikten sonra BlastN analizi ile de CMV'ye ait olup olmadıkları tekrar kontrol edilmiştir. NCBI veri tabanından Türkiye orijinli olup CMV CP geninin en az ilgili 638 bp'lik kısmına gelen tüm izolatlar çekilerek Türk CMV popülasyonunun genetik çeşitliliği araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan diğer Türk izolatlarına filogenetik ağaçta erişim numarası, izolat kodu ve konukçu olacak şekilde yer verilmiştir.

Bu amaçla ilk olarak Sequence Demarcation Tool V.1.2 (Muhire ve ark. 2014) program kullanılarak izolatların sekans benzerlik oranları ClustalW dizilemesi yapıldıktan sonra nükleotid ve amino asit düzeyinde belirlenmiştir. İzolatların ait oldukları filogrupların belirlenmesinde ise Mega X (Kumar ve ark., 2018) ve CLC Main Workbench V.20.3 paket programları kullanılmıştır. Filogenetik ağaçlarda ClustalW dizilemesini takiben Maximum Likelihood algoritması seçilerek 1000 tekrarlı bootstrap analizi ile belirlenmiştir. Ayrıca filogenetik ağaçlarda tomato aspermy virus (TAV) dış grup olarak kullanılmıştır. Filogenetik ağaçta oluşan gruplara göre izolatların grup içi ve arası genetik uzaklıkları ise MegaX programında belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2018). Ayrıca dünyanın farklı yerlerinden elde edilen ve grupları bilinen bazı CMV izolatları filogenetik çalışmalara referans olarak eklenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Filogenetik ve Structure analizlerinde referans olarak kullanılan cucumber mosaic virus izolatları

İzolat	Orijin	Grup	Erişim Numarası
LBO	Hollanda		AJ304397
Hnt	Çin		KC407999
Xb	Çin	II	AF268598
Palampur	Hindistan		HE583224
MT	Japonya		AB189917
IRN-REY4	İran		LC066467
IRN-REY10	İran	Ib	LC066473
Ixora	ABD		U20219
CTL	Çin		EF213025
RP46	Güney Kore	Ia	KC527770
Ly2	Güney Kore		AJ296154

Türk CMV izolatlarının popülasyon farklılaşma yapılarını ortaya çıkarmak için CMV'nin CP genine göre model tabanlı kümeleme yöntemi ve Bayesian algoritması (MCMC: Markov Chain Monte Carlo) kullanılarak olasılıksal modeller oluşturmak için STRUCTURE 2.3.4 yazılımı kullanılmıştır (Pritchard ve ark 2000). Küme sayısını seçmek için popülasyon yapısının en iyi temsilci tahminlerine göre, 1 ila 10 (K=1-10 üç tekrarlı) ve 100.000 adımlık bir yanma süresinden sonra 100.000 MCMC tekrarı ile analizler uygulanmıştır. Ayrıca, Structure Harvester v0.6.94 çevrimiçi yazılımındaki Evanno ve Delta K yöntemleri, mevcut olması en olası genetik küme sayısını (K) değerlendirmek için kullanılmıştır (Evanno ve ark 2005).

BÜLGULAR ve TARTIŞMA

Gerçekleştirilen arazi çalışmaları kapsamında 300 virüs ve virüs benzeri semptom gösteren bütün bitkilerinden örnekler alınmıştır. Alınan örneklerin testlenmesi sonucunda 12 bitkinin CMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. En yüksek enfeksiyon oranı %35 ile Çanakkale ilinde tespit edilmiştir. Bununla birlikte İzmir, Aydın ve Denizli illerinde ise CMV enfeksiyonu tespit edilmiştir. Örnekleme yapılan diğer illerde ise CMV enfeksiyon oranı Balıkesir için %2,63, Manisa için %4,68 ve Uşak için %2,43 olarak belirlenmiştir (Çizelge 2).

Gerçekleştirilen arazi ve virüs tanılama çalışmaları sonucunda toplanılan örneklerin hepsinin virüs ve virüs-benzeri semptom taşımasına rağmen sadece %4'ünde CMV enfeksiyonu tespit edilmiştir. Fakat bu örneklerin çok büyük bir kısmının tobamovirusler ile enfekteli olduğu bulunmuştur (Karanfil ve ark., 2023). Bu bağlamda Batı-Anadolu bölgesi bütün üretim alanlarında CMV'nin minör patojenlerden bir tanesi olduğu görülmüştür. Daha önce gerçekleştirilen çalışmalar ile de bu bölgede ana viral patojenin TMGMV olduğu belirlenmiştir (Karanfil ve ark., 2023). Bu bağlamda bütünlerde enfeksiyon meydana getiren diğer minör virüs ve virüs-benzeri patojenler olan potato virus Y (PVY), tobacco mosaic virus (TMV), tomato mosaic virus (ToMV) ve fitoplazmalara ek olarak CMV'de eklenmiştir (Usta ve ark., 2020; Günay ve Usta, 2020; Randa-Zelyüt ve ark., 2022, b; Karanfil ve ark., 2023).

Çizelge 2. Cucumber mosaik virus ile enfekteli olan izolat sayıları ve toplanılan örneklerdeki enfeksiyon oranları

İl	CMV ile Enfekteli Örnek Sayısı	Toplanılan Örnek Sayısı	Toplanılan Örneklerdeki CMV Enfeksiyon Oranı (%)
Çanakkale	7	20	35.00
Balıkesir	1	38	2.63
İzmir	-	35	-
Manisa	3	64	4.68
Uşak	1	41	2.43
Aydın	-	40	-
Denizli	-	62	-
Toplam	12	300	4.00

Toplanılan örnek sayıları ve enfeksiyon oranlarına paralel olarak CMV ile enfekteli en fazla örnek 7 izolat ile Çanakkale ilinden elde edilirken, Manisa ilinden 3, Balıkesir ve Uşak illerinden ise 1 izolat elde edilmiştir. Enfekteli örneklerde görülen en tipik simptom tipi ise yapraklarda görülen yoğun mozaik belirtilerdir (Şekil 1).



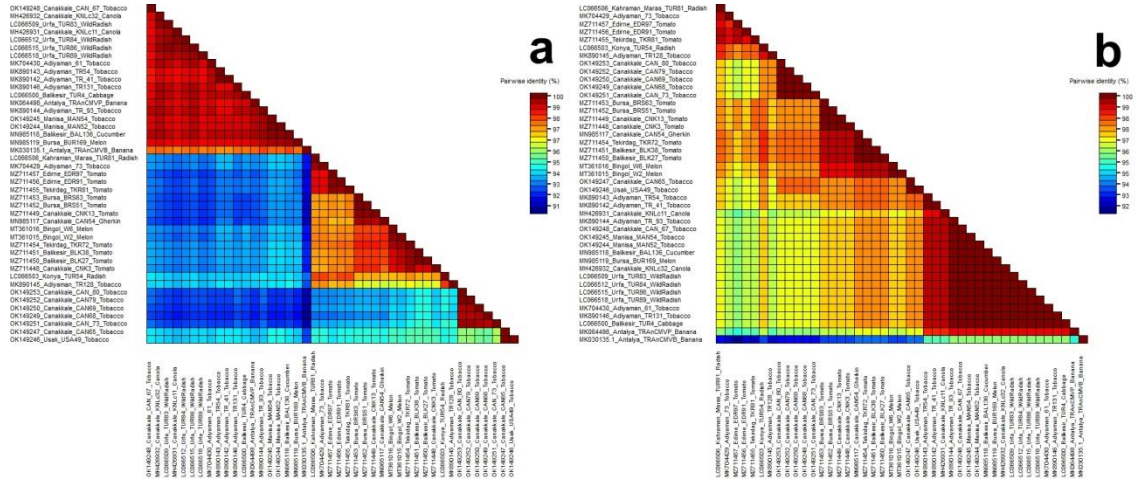
Şekil 1. Cucumber mosaik virus ile enfekteli olduğu tespit edilen tütün bitkisinin yapraklarındaki mozaik belirtiler

CMV ile enfekteli bitkilerde görülen mozaik belirtiler ise tipik olarak bitki virüslerinin neden olduğu en yaygın simptom tiplerinden biri olduğu için direkt olarak bu simptomlara neden olan viral etmenin CMV olduğu düşünülmemelidir. Nitekim, tütünlerde enfeksiyonlara neden olan tobamovirus ve potyvirus türlerinin de bu tür belirtilere neden olduğu bilinmektedir (Usta ve ark., 2020; Randa-Zelyüt ve ark., 2022; Karanfil ve ark., 2023). Bu bağlamda tütün virüslerinin birçoğu için simptom-patojen etkileşimi hakkında kesin yargılara varılmaması gerektiği düşünülmektedir.

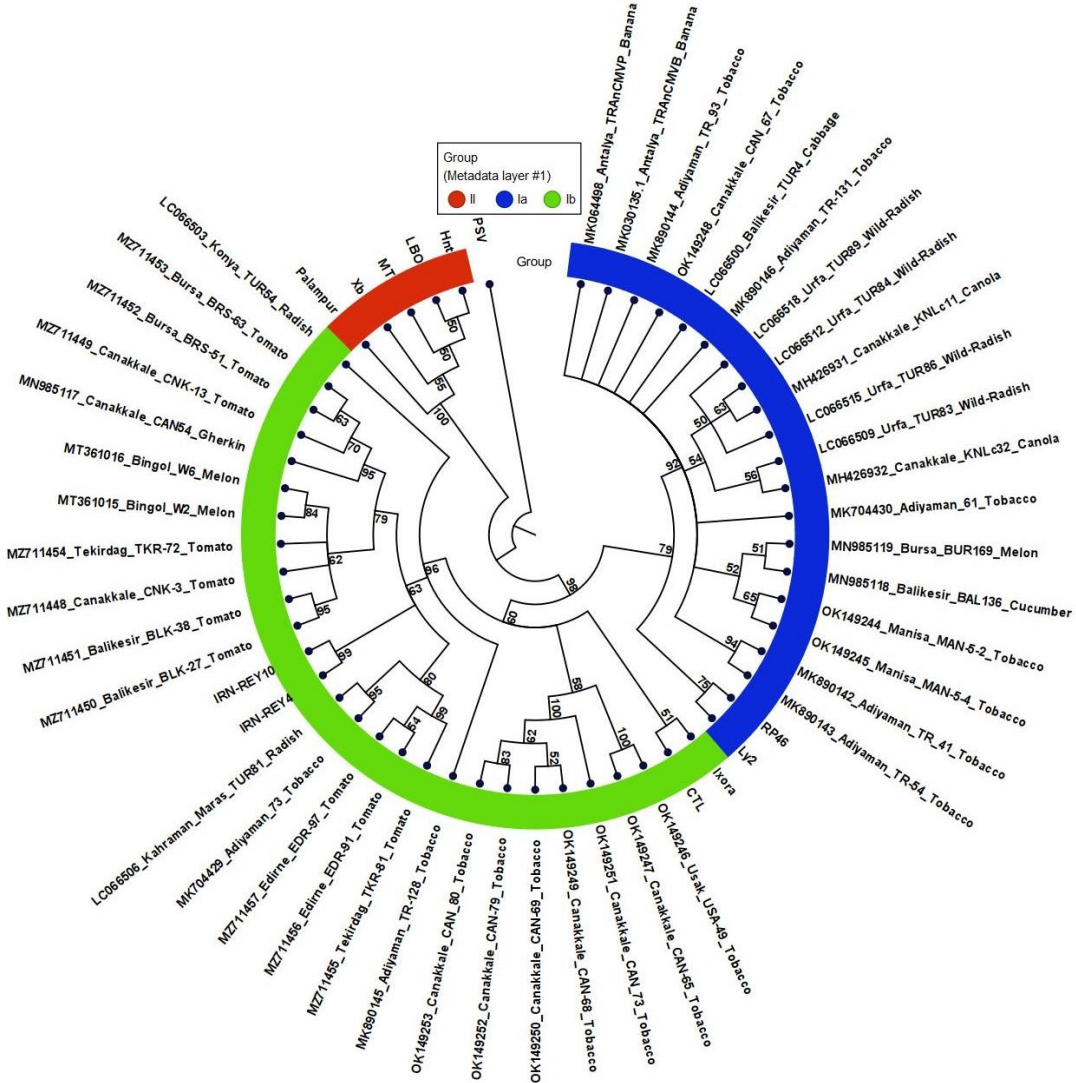
Tütün üretim alanlarından ve genbankasında Türkiye orijinli olarak bulunan farklı konukçulardan CMV izolatlarının moleküler karakterizasyonu amacı ile gerçekleştirilen benzerlik analizleri sonucunda ise Türk CMV izolatlarının nt düzeyinde birbirleri ile %91-100, amino asit düzeyinde ise %92-100 arasında benzerlik gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 2).

CMV izolatlarının filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilen analizler sonucunda ise Türk CMV izolatlarının Ia ve Ib altgruplarına dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Altgrup II'de kullanılan gen bölgesi ve büyüklüğüne göre Türk CMV izolatının yer almadığı görülmüştür (Şekil 3).

Filogenetik ağaçta oluşan gruplara göre izolatların genetik uzaklıkları hesaplandığında overall mean distance 0.049 ± 0.006 olarak hesaplanmıştır. Grup içi izolatların uzaklıkları Ia grubu için 0.008 ± 0.002 olarak hesaplanırken, Ib için 0.038 ± 0.009 olarak hesaplanmıştır. Ia ve Ib grupları arası genetik uzaklık ise 0.071 ± 0.009 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 2. Türk cucumber mosaik virus izolatlarının nükleotid (a) ve amino asit (b) düzeyinde birbirleri ile göstermiş oldukları sekans benzerlik oranları

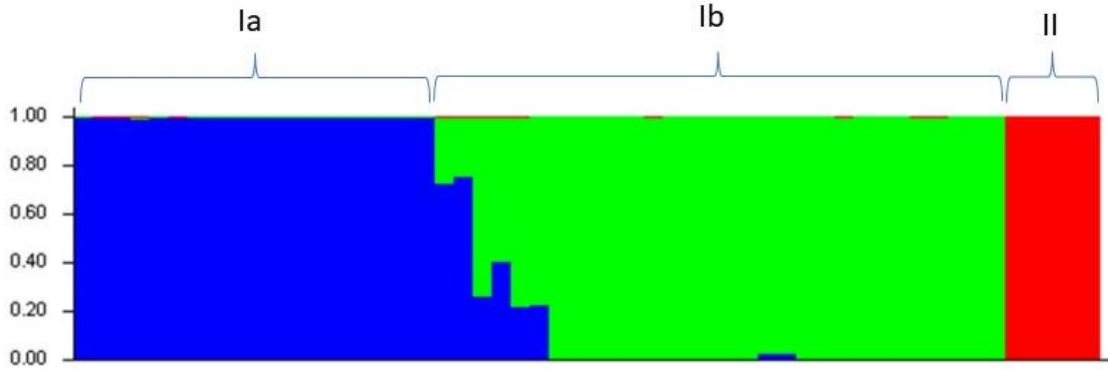


Şekil 3. Türk cucumber mosaik virus izolatlarının filogenetik ilişkileri

CMV izolatların biyoinformatik analizleri incelendiğinde ise Ia ve Ib izolatlarının gruplararası genetik uzaklık değerlerinin grup içi genetik uzaklık değerlerinden oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu bağlamda elde edilen genetik uzaklık değerleri oluşan filogrupları desteklemektedir (Zhu ve ark., 2016). Türk CMV izolatlarının Ia ve Ib gruplarına dağılım göstermesi ise ülkemizde bugüne kadar yapılan birçok çalışma ile

paralellik göstermektedir (Güller ve Usta, 2020; Karanfil, 2021). Ayrıca genel olarak yapılan biyoinformatik analizlere dayanarak grup Ib izolatlarının Ia izolatlarına göre daha çok genetik çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç filogenetik analizlerde de Ib izolatlarının kendi içlerinde altgruplar oluşturması ve genetik uzaklık hesaplamalarında Ib izolatlarının birbirleri ile daha fazla genetik uzaklığa sahip olması ile doğrulanmaktadır.

Structure analizleri sonucunda Delta K (ΔK) değerleri Structure Harvester yazılımında en uygun $\Delta K=3$ olarak belirlenmiştir. Yani filogenetik analizlerde kullanılan Türk izolatlarının ve diğer referans izolatların 3 ayrı alt popülasyonda kümelendiği bu analizler sonucunda ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca ülkemizin farklı bölgelerinden ve farklı tarım ürünlerinden elde edilen CMV CP gen izolatlarının 2 ayrı alt popülasyondan türediği tekrar doğrulanmıştır (Şekil 4).



Şekil 4. Cucumber mosaik virus izolatlarının structure analizi ile elde edilen popülasyon yapısını simgeleyen grafiği

Türk CMV izolatlarının structure analizi ile değerlendirilmesi sonucunda da filogenetik ağaçta olduğu gibi iki baskın renk oluşumu gözlenmiştir. Türk izolatlarından hiçbirisi grup II izolatları ile ilişkili bulunmamıştır. Ia izolatlarının tek bir renkten oluştuğu bu bağlamda Ia popülasyonundaki izolatların oldukça birbirleri ile homolog oldukları görülürken, Ib'nin ise iki renkten oluştuğu ve birbirleri ile daha heterelog izolatlardan oluşan bir popülasyon oluştuğu görülmektedir. Ayrıca structure analizine göre Ia izolatlarından Ib izolatlarına göre bir genetik göç olduğu da görülmektedir. Bu sebeple ayrıca izolatların rekombinasyon durumlarının da gelecek çalışmalarda belirlenmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Gerçekleştirilen bu çalışma ile ülkemiz tütün üretim alanlarının büyük bir kısmında CMV'nin minör bir patojen olduğu tespit edilmiştir. Tütünlerde enfeksiyon meydana getiren CMV izolatlarının Ia ve Ib altgruplarında dağılım gösterdiği belirlenirken, ülkemiz CMV izolatlarının filogenetik gruplarında konukçunun rol oynamadığı belirlenmiştir.

Teşekkür: Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FHD-2020-3318 proje kodu ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Akdura, N. ve Culal-Kilic, H. 2022. Molecular characterizations of cucumber mosaic virus and tomato mosaic virus isolates in Hakkari Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 31 (8B): 8993-9004.
- Ergün, M., Erkan, S., ve Can Paylan, İ. 2013. Cucumber mosaic virus in globe artichoke in Turkey. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 35 (4): 514-517.
- Evanno, G., Regnaut, S., ve Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14 (8): 2611–2620.
- Gunay, A. ve Usta, M. (2020). First investigation of five tobacco viruses using pcr based methods in tobacco plants grown in Adiyaman, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 29 (12): 11624-11632.

- Güller, A. ve Usta M. 2020. Occurrence of Cucumber mosaic cucumovirus and Watermelon mosaic potyvirus on Melon exhibiting viral symptoms in Bingöl province of Turkey and Their Phylogenetic Affinities. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7 (4): 948-958.
- Jacquemond, M. 2012. Cucumber mosaic virus. *Advances in Virus Research*, 84: 439-504.
- Karanfil, A. 2021. Prevalence and molecular characterization of Cucumber mosaic virus isolates infecting tomato plants in Marmara region of Turkey. *Plant Protection Bulletin*, 61 (4): 19-25.
- Karanfil, A. ve Korkmaz, S. 2021. Güney Marmara Bölgesi kabakgil üretim alanlarında cucumber mosaic virus enfeksiyonunun tespiti ve kılıf protein gen diziliminin filogenetik analizi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 58 (2): 239-246.
- Karanfil, A., Randa-Zelyüt, F. ve Korkmaz, S. 2023. Population structure and genetic diversity of tobacco mild green mosaic virus variants in Western Anatolia of Turkey. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102008.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. ve Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35 (6): 1547.
- Muhire, B. M., Varsani, A. ve Martin, D. P. 2014. SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PLoS One*, 9 (9): e108277.
- Palukaitis, P., ve García-Arenal, F. 2003. Cucumoviruses. *Advances in virus research*, 62: 241-323.
- Pritchard, J.K., Stephens, P. ve Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959
- Randa-Zelyüt, F., Karanfil, A. ve Korkmaz, S. 2022. Balıkesir ve Uşak İlleri Tütün Ekim Alanlarında Potyvirus İzolatlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 37 (1): 96-103.
- Roossinck, M. J. 2001. Cucumber mosaic virus, a model for RNA virus evolution. *Molecular Plant Pathology*, 2 (2): 59-63.
- Usta, M., Güller, A. ve 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.
- Zhu, F., Sun, Y., Wang, Y., Pan, H., Wang, F., Zhang, X., ve ark. 2016. Molecular characterization of the complete genome of three basal-BR isolates of turnip mosaic virus infecting *Raphanus sativus* in China. *International Journal of Molecular Sciences*, 17 (6): 888.