



T.C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NİTELİKLİ BİBER ISLAH HATLARININ GENETİK VE
BAZI VİRÜS HASTALIKLARINA DAYANIKLILIK
YÖNÜNDEN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

CEYLAN ÖZLEM OKAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ORDU 2019

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**NİTELİKLİ BİBER ISLAH HATLARININ GENETİK VE BAZI
VİRÜS HASTALIKLARINA DAYANIKLILIK YÖNÜNDEN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

CEYLAN ÖZLEM OKAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2019

TEZ ONAY

Ceylan Özlem OKAY tarafından hazırlanan “**NİTELİKLİ BİBER ISLAH HATLARININ GENETİK VE BAZI VİRÜS HASTALIKLARINA DAYANIKLILIK YÖNÜNDEN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 22.02.2019 tarihinde yapılmış ve jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ercan EKBIÇ

Jüri Üyeleri

İmza

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Ercan EKBIÇ
Bahçe Bitkileri Bölümü / Ordu Üniversitesi



Üye
Doç. Dr. Atnan UĞUR
Bahçe Bitkileri Bölümü / Ordu Üniversitesi



Üye
Dr. Öğr. Üyesi Harun ÖZER
Bahçe Bitkileri Bölümü / Ondokuz Mayıs
Üniversitesi



05 / 03 / 2019 tarihinde enstitüye teslim edilen bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 02 / 03 / 2019 tarih ve 2019.. / 120 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



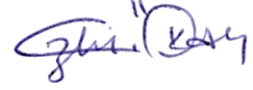
Enstitü Müdürü
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Sami GÜLER



TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Ceylan Özlem OKAY



Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün BY-1733 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

NİTELİKLİ BİBER ISLAH HATLARININ GENETİK VE BAZI VİRÜS HASTALIKLARINA DAYANIKLILIK YÖNÜNDEN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

CEYLAN ÖZLEM OKAY

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ 39 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ ERCAN EKBIÇ)

Bu çalışma 2017-2018 yıllarında Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji laboratuvarında yürütülmüştür. Denemede kullanılan 35 adet kendilenmiş ve saflaştırılmış nitelikli biber ıslah hatları ile 3 adet ticari biber çeşidi Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünden temin edilmiştir. Çalışmada 19 adet SRAP primer kombinasyonu kullanılarak biber hatlarının genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Ayrıca biber ıslah hatlarında moleküler markırlar yardımıyla PVY, TSWV ve PMMoV'ne dayanıklılık taramaları yapılmıştır. Üç burun biber tipine sahip G13 ıslah hattı her üç hastalığa da dayanıklı çıkmıştır. 19 SRAP markırı toplam 85 allel üretmiş ve bunların 56'sı biber hatları arasında polimorfizm göstermiştir. Primer kombinasyonu başına ortalama polimorfik allel sayısı 2.94 olarak tespit edilmiştir. Primer kombinasyonlarının ortalama polimorfizm bilgi içeriği değerleri 0.17 ile 0.98 arasında değişmiş ortalama 0.58 bulunmuştur. ME01+EM02 ile ME18+EM11 primer kombinasyonlarından en yüksek polimorfik allel sayıları (6 allel) elde edilmiştir. ME04+EM08 primer kombinasyonunun polimorfizm bilgi içeriği değeri de 0.98 olarak belirlenmiştir. SRAP markırları verilerine dayalı oluşturulan dendrogramda biber ıslah hatları 5 ana gruba ayrılmıştır. Biber hatlarının benzerlik indeks değerleri 0.35 ile 0.97 arasında değişmiştir. Korelasyon matrisinin dendrograma yansımaları gösteren mantel test değeri $r = 0.90$ olarak hesaplanmıştır. Temel bileşen eksenlerinden ilk 4'ü biber hatları arasındaki toplam varyasyonun % 84.9'unu açıklamıştır.

Anahtar Kelimeler: *C. annuum*, SRAP, PCA, Karakterizasyon, Polimorfizm.

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF ELITE PEPPER BREEDING LINES FOR GENETICS AND RESISTANCE TO SOME VIRUS DISEASES

CEYLAN ÖZLEM OKAY

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

HORTICULTURE

TYPE OF THE THESIS, 39 p.

(SUPERVISOR: DR. ÖĞR. ÜYESİ ERCAN EKBİÇ)

This study was conducted in biotechnology laboratory of Ordu University Agricultural Faculty Department of Horticulture during 2017-2018. Thirty-five pepper breeding lines and 3 commercial pepper varieties were kindly provided from Blacksea Agricultural Research Institute. Total 19 SRAP primer combinations were used to genetically characterization of pepper breeding lines. Additionally those lines were screened by molecular markers for PVY, TSWV and PMMoV. The line G13 (üçburun pepper type) was found to be resistance for 3 of the viruses. 19 SRAP primer combinations produced total 85 alleles and 56 alleles were polymorphic for tested pepper lines. Average polymorphic allele number per primer combinations were 2.94. PIC of the primer combinations were ranged between 0.17 and 0.98 and mean value was calculated as 0.58. The primer combinations ME01+EM02 and ME18+EM11 gave the highest polymorphic allele numbers (6 alleles). The highest PIC value 0.98 was obtained from the ME04+EM08 primer combination. Dendrogram, drawn by SRAP marker data, separated the pepper lines into five groups. Similarity index values of pepper lines were changed between 0.35 and 0.97. Mantel test value, represent for correlation matrix in dendrogram, was calculated as $r = 0.90$. The first 4 axis of the PCA was expalned 84.9 % of total variation among the elite pepper breeding lines.

Keywords: *C. annuum*, SRAP, PCA, Characterization, Polymorphism.

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, alıőmanın yűrűtűlmesi ve yazımı esnasında maddi ve manevi hibir desteęi esirgemeyen, gűstermiő olduęu sabır ve hoőgűrűsűnden dolayı danıőman hocam Sayın Dr. Őęr. Ŭyesi Ercan EKBİÇ'e,

Tez çalıőmamın tűm aőamalarında manevi desteklerini esirgemeyen Sayın hocam Doç. Dr. Atnan UęUR'a,

Araőtırma materyallerinin toplanmasında yardımcı olan Karadeniz Tarımsal Araőtırma Enstitűsű'nden Zir. Műh. Hayati KAR'a,

Manevi desteęiyle hep yanımda olan abim Őęr. Gűrevlisi Suat OKAY'a,

Çalıőma sűresince yardımlarını benden esirgemeyen, Zir. Yűk. Műh. Gűlbahar CEVAHİR'e, Zir. Yűk. Műh. Yadięar AKIN'a, Zir. Műh. Nuray KAPLAN'a, Sezen CEBECİ'ye, Zir. Műh. Cenk ÇELİKBAŐ'a, Zir. Yűk. Műh. Muhammed YILDIZ'a, Zir. Yűk. Műh. Umut ATEŐ'e ve Zir. Műh. Ufuk UÇAN'a,

Son olarakta maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ilgilerini her an űzerimde hissettięim babam Ahmet OKAY, annem Muazzez OKAY ve ablam Arzu OKAY'a sonsuz teőekkűr ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	II
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
ŞEKİL LİSTESİ	VII
ÇİZELGE LİSTESİ	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM	13
3.1 Materyal.....	13
3.1.1 Bitkisel Materyal.....	13
3.2 Yöntem.....	14
3.2.1 Moleküler Karakterizasyon.....	14
3.2.1.1 DNA İzolasyonu.....	14
3.2.1.2 Araştırmada Kullanılan SRAP Primerleri.....	15
3.2.1.3 SRAP PCR Analizleri.....	16
3.2.1.4 PCR Koşulları.....	17
3.2.1.5 Virüs Hastalıklarına Dayanıklılık.....	17
3.2.1.6 Elektroforez.....	19
3.2.1.7 Görüntüleme.....	19
3.2.1.8 SRAP Markırlarının Değerlendirilmesi.....	20
3.2.1.9 Kümeleme Analizi.....	20
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	21
4.1 Biber Hatlarının PVY, TSWV ve PMMoV Hastalıklarına Dayanıklılık Durumları.....	21
4.2 Biber Genotiplerinin Moleküler Karakterizasyonu.....	23
4.2.1 DNA Bant Profilleri.....	23
4.2.2 Biber Genotip ve Çeşitleri Arasındaki Genetik İlişkiler.....	25
4.2.2.1 Temel Bileşen Analizi (PCA).....	25
4.2.2.2 Biber Islah Hatlarının Genetik Benzerlikleri.....	26
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	31
6. KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	39

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1 İzolasyon Protokolü	14
Şekil 3.2 100 bp DNA Ladder Baz Çifti Ağırlıkları	19
Şekil 4.1 PVY'ne Dayanıklı Genotiplerin Bant Profilleri	22
Şekil 4.2 TSWV'ne Dayanıklı Genotiplerin Bant Profilleri	22
Şekil 4.3 PMMoV'ne Dayanıklı Genotiplerin Bant Profilleri	22
Şekil 4.4 SRAP Verilerinden Elde Edilen Biber Genotip ve Çeşitlerine Ait Dendrogram.....	29
Şekil 4.5 SRAP Verileri ile Oluşturulan Dağılım Grafiği	30



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 2016 Yılı Dünya Taze Biber Üretim ve Alan Değerleri.....	1
Çizelge 3.1 Çalışmada Kullanılan Genotipler ve Kodları	13
Çizelge 3.2 Araştırmada Kullanılan SRAP Primerleri	16
Çizelge 3.3 SRAP PCR Reaksiyon Protokolü	16
Çizelge 3.4 PCR Koşulları.....	17
Çizelge 3.5 Virüslere Dayanıklılık Testlerinde Kullanılan Primerler	17
Çizelge 3.6 PVY Dayanıklılık Taraması İçin PCR Protokolü.....	18
Çizelge 3.7 TSWV Dayanıklılık Taraması İçin PCR Protokolü.....	18
Çizelge 3.8 PMMoV Dayanıklılık Taraması İçin PCR Protokolü.....	19
Çizelge 4.1 Biber Islah Hatlarının Virüs Hastalıklarına Dayanıklılıkları.....	21
Çizelge 4.2 SRAP Primerlerinin Biberde Oluşturdukları Allel Sayıları ve Polimorfizm Bilgi İçerikleri	23
Çizelge 4.3 SRAP Markırlarına Dayalı Temel Bileşen Analizi	26
Çizelge 4.4 Biber Genotipleri Arasındaki Korelasyon Matrisi.....	28

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
bç	: Baz Çifti
cm	: Santimetre
CTAB	: Hexadecyl-trimethyl-ammonium bromide
da	: Dekar
dk.	: Dakika
DNA	: Deoxyribo nucleic acid
EDTA	: Ethylenediamine-tetraacetic-acid
ETOH	: Etanol
F	: İleri primeri
g	: Gram
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
Kg	: Kilogram
l	: Litre
µl	: Mikro litre
MAS	: Moleküler Markırlı Seleksiyon
NaAC	: Sodyum Asetat
M	: 100 bp DNA Ladder
ng	: Nanogram
NaCl	: Sodyum Klorür
PBİ	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
PCA	: Principal Component Analysis
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PMMoV	: Biber Hafif Leke Virüsü
PVY	: Patates Y Virüsü
R	: Geri Primeri
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA
rpm	: Dakikada Devir Sayısı
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Region
UPGMA	: Aritmetik Ortalama Kullanılarak Ağırlıksız Gruplama Yöntemi
SRAP	: Sequence-related amplified polymorphism
TAE	: Tris (asetat) EDTA (buffer)
TE	: Tris EDTA (buffer)
TSWV	: Domates Lekeli Solgunluk Virüsü

1. GİRİŞ

Biber dünyada ve ülkemizde değişik şekillerde yoğun olarak tüketilen önemli bir sebze türüdür. Biberin *Solanaceae* familyasının *Capsicum* cinsi içinde tropik ve subtropik bölgelerde yetişen yaklaşık 20-30 türü bulunmaktadır (Greenleaf, 1986). Bunlardan 5 tür (*C. annuum*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. pubescens*, *C. chinense*) ekonomik olarak kültüre alınmıştır. İslah programlarında en çok tercih edilen ticari tür *Capsicum annuum*'dur (Bosland ve Votava, 2005). Biber $2n= 2x = 24$ kromozomludur (Greenleaf, 1986). Biberin diploid genom büyüklüğü yaklaşık 1.25×10^9 baz çiftidir (Andrew ve ark., 1996).

Genelde ılıman iklimlerde yetişen biberin kökeninin 7000 yıl önceye dayandığı ve anavatanının Orta ve Güney Amerika olduğu bilinmektedir (Verit ve ark., 2001; Ahmed, 2013). Biberin Türkiye'ye girişi 16. yüzyılda olmuştur. Ticari etkileşimler sonucu Avrupalılar tarafından İstanbul'a getirilen biber, zamanla tüm Anadolu'ya yayılmıştır (Vural ve ark., 2000).

Biber dünyada hemen her yerde yetiştirilmektedir. Önemli biber üreticisi ülkeler Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1 2016 Yılı Dünya Taze Biber Üretim ve Alan Değerleri

ÜLKELER	ALAN (ha)	ÜRETİM (ton)
Çin	753.040	17.458.282
Meksika	170.135	2.737.028
Türkiye	89.032	2.457.822
Endonezya	260.222	1.961.598
İspanya	17.823	1.082.690
Amerika Birleşik D.	26.830	921.150
Nijerya	96.965	746.157
Mısır	41.303	637.760
Cezayir	2.251	596.670
DÜNYA	1.938.788	34.497.462

Kaynak: FAO 2018

Çizelge 1.1'de görüldüğü gibi 2016 yılında dünyada biber üretimi 1.938.788 ha alanda toplam 34.497.462 ton olarak gerçekleşmiştir. Ülkeler bazında Çin 17.458.282 ton'luk üretimle birinci sırada yer alırken bunu sırasıyla; Meksika, Türkiye, Endonezya ve diğer ülkeler takip etmektedir. Türkiye 89.032 ha üretim alanı ile dünya toplam biber üretim alanlarının % 4.6'sını, 2.457.822 tonluk üretim

değeri ile de dünya biber üretiminin % 7.1'ini gerçekleştirmiştir. Türkiye'nin her bölgesinde az veya çok biber yetiştiriciliği yapılmaktadır.

Biber toplam ekiliş alanı, üretimi ve ticareti açısından yaş sebze grubunun en önemli ürünlerinden birisini oluşturmaktadır. Türkiye'nin il bazında biber üretim değerlerine baktığımızda salçalık -kapy biberde Çanakkale (222.363 ton), dolmalık biberde Antalya (87.982 ton), sivri biberde Mersin (264.836 ton), çarliston biberde Antalya (74.014 ton) 1. sırada yer almaktadır. Örtü altı biber üretim değerlerine baktığımızda cam sera ve plastik serada biber üretiminde Antalya 1. sırada, alçak tünelde salçalık ve sivri biber üretiminde Adana, dolmalık ve çarliston biber üretiminde Antalya 1. sıradadır. Yüksek tünel biber üretiminde ise salçalık biberde Antalya, dolmalık ve sivri biberde Mersin, çarliston biberde Samsun 1. sırada yer almaktadır (TÜİK, 2017).

Sebze türlerinde çeşit dinamiği tüketici tercihleri doğrultusunda oldukça yüksektir. Majör sebze türlerinde her yıl çok fazla miktarda çeşit geliştirilmektedir. Biyotik (Sánchez-Solana ve ark., 2016) ve abiyotik stres (Korkmaz ve Durmaz, 2017) koşullarına dayanıklılık, kalite (Yeşil ve Ertunç, 2012), verimlilik önemli ıslah amaçlarıdır. Çeşit geliştirme süreci her ne kadar uzun yıllar alsada son 25-30 yılda teknolojinin gelişmesiyle birlikte moleküler teknikler ıslah programlarının süresini kısaltmıştır. Moleküler yöntemler ile ıslahçılar ellerindeki genetik materyalleri hızlı bir şekilde karakterize edebilmekte (Eserkaya Güleç ve ark., 2010; Bozokalfa ve ark., 2017; Gupta ve ark., 1994), istenilen karakterlere ait genler ile bağlantılı olan markırlar geliştirebilmekte (Gülşen ve ark., 2005; Li ve Quiros, 2001), geliştirilmiş markırlar yardımı ile seleksiyon yapabilmekte (Filiz Koç, 2011; Eserkaya Güleç ve ark., 2010) ve türlerin genom haritalarını çıkarabilmektedirler (Milligan ve ark, 1998; Rossi, 1998). RFLP (Kesilmiş Çoğaltılmış Polimorfik DNA), RAPD (Rasgele Çoğaltılmış DNA Farklılıkları), AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Farklılığı), mikrosatellit markırları, SNP (Tek Nükleotit Farklılıkları) ve SRAP (Sekansa Dayalı Çoğaltılmış DNA Farklılıkları) bitki ıslahında kullanılan başlıca moleküler yöntemlerdir (Li ve Quiros, 2001). Gelişmiş DNA temelli bu yöntemlerin ıslahta kullanılabilirliği ile birlikte klasik ıslah sürecinde ıslahçının karşısına çıkan

sorunların üstesinden kolayca gelinebilmekte ve yeni bir çeşidin geliştirilebilmesi için uzun yıllar beklenmesine gerek kalmamaktadır (Palmer, 1992).

Çeşit geliştirme ıslahının ilk ayağı bitkisel genetik kaynak zenginliğidir. Bitki genetik kaynakları yerel genotipler, bunların yabancı akraba türleri, eski çeşitler ve genetik özellikleri tam olarak belirlenmiş hatlardan oluşmaktadır. Bitki ıslahı ve yeni çeşit geliştirme çalışmalarında taşıdığı önem nedeniyle incelenen bitki türüne ilişkin yerel populasyonların ve ıslah hatlarının hem morfolojik hem de DNA seviyesinde tanımlanması ve bu verilere dayalı akrabalık derecelerinin ortaya koyulması özellikle hibrit çeşit geliştirme açısından büyük bir önem taşımaktadır.

Tüm dünyada üretim ve tüketim açısından önemli bir yer teşkil eden biberin yetiştiriciliğinde hastalık ve zararlılar ciddi bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Biber yetiştiriciliğinde her yıl ciddi ürün kayıplarına neden olan ve üretimi azaltan 506 hastalık, zararlı ve yabancı ot bulunmaktadır. Bu etmenlerden bazıları virüsler, bakteriler, funguslar ve nematodlardır (Agrios, 1988).

Açıkta ve örtü altı sebze yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı alanlarda, fide döneminden hasada kadar geçen gelişme döneminde ortaya çıkan bu hastalık etmenleri, bitkilerin yapraklarında, gövde veya meyveleri üzerinde halkalı lekeler, klorotik ve nekrotik alanlar, mozaik, sararma, damar bantlaşması, küçülme, yağ lekeli görünümüne alanlar, öz boşalması, çürüklük ve genel olarak bitki boyunda kısalma, gibi semptomlara neden olmaktadır. Bu patojenler arasında viral etmenler, bitkiden bitkiye vektör böceklerle taşınabilmeleri, çok kısa bir sürede geniş alanlara yayılabilmeleri, mekanik olarak bulaşabilmeleri ve özellikle direkt bir kimyasal mücadele yönteminin bulunmaması nedenleri ile ayrı bir öneme sahiptir. Bu durum bitkilerde ürün kaybına, kalite bozulmalarına, bazen de üretimin terk edilmesine neden olabilmektedir. Virüsün saptanması, tanımlanması, özelliklerinin ortaya konularak taşınma yollarının belirlenmesi, bu viral etmenlere karşı yapılacak mücadele yöntemlerinin ve uygulamaların esasını oluşturmaktadır. Virüs hastalıkları ile en iyi mücadele eğer var ise dayanıklı çeşit kullanılmasıdır. Bu da dayanıklı çeşit ıslahının önemini ortaya koymaktadır.

Söz konusu hastalıklara karşı dayanıklılık için klasik testleme yöntemleri kullanıldığında, etmenle inokülasyon, ortam koşulları ve etmenin agresifliğine bağlı

olarak inokulasyondan belli bir süre sonra bitkideki hastalık belirtilerine göre dayanıklılık değerlendirmeleri yapılmaktadır. Bu yöntem hem zaman alıcıdır hem de testlemede pek çok faktöre (inokulasyon yöntemi, etmen, ortam koşulları) bağlı olarak belirtilerde değişiklik göstermesi güvenilirliği etkilemektedir. Ayrıca aynı bitkide birçok hastalık testlemesinin aynı anda yapılamaması ıslah sürecini daha da uzatarak birçok hastalığa dayanıklı hat ve çeşidin geliştirilmesini güçleştirmektedir. Islah programlarında moleküler markır yardımcı seleksiyon (MAS) metotlarının gelişmesiyle, minimum zaman ve maddi girdisiyle maksimum güvenilir bilgi edinilmektedir (Kellerhals ve ark., 2008). Böylelikle üstün genotiplerin bulunduğu bir popülasyon elde edilmektedir (Milligan ve ark, 1998). Bugün istenilen genotiplerin seçimi DNA seviyesinde yapılabilmekte arazide ya da sera denemelerinde uzun yıllar süren aşamalara gerek kalmamaktadır.

Majör sebze türlerinde her yıl ıslahçı kurum ve kuruluşlar tarafından piyasaya yeni çeşitler çıkarılmaktadır. Islahçı kurum ve kuruluşların varlıklarını devam ettirebilmeleri bu çeşit dinamiğine uyum sağlamaları ile mümkündür. Bu yüzden ıslahçıların ellerindeki genetik kaynağın zenginliği ve niteliği çok önemlidir. Yürütölen bu çalışmada Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü bünyesinde bulunan biber ıslah hatlarının genetik karakterizasyonu ile PVY (Patates Y virüsü), PMMoV (Biber hafif leke virüsü) ve TSWV (Domates benekli solgunluk virüsü)'ne dayanıklılık yönünden moleküler markırlar ile taranması amaç edinilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Moleküler Çalışmalar

Sitthiwong ve ark., (2005) Tayland'dan 10 biber (*Capsicum annuum* L.) genotipinin genetik karakterizasyonunu RAPD markırları ile test etmişlerdir. Çalışmada 12 RAPD primeri kullanılmıştır. Araştırmacılar denemeye konu olan 10 biber genotipi arasındaki benzerlik katsayısının 0.209 ile 0.891 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Çalışma sonucu elde edilen dendrogramın iki ana gruba ayrıldığını bildirmişlerdir. RAPD markırlarına dayalı olarak elde edilen kümelemenin, farklı biber genotiplerinin morfolojik özellikleri ile tutarlı bulunduğu rapor edilmiştir.

Kwon ve ark., (2005) yaptıkları çalışmada SSR markırlarını kullanarak bazı biber (*Capsicum annuum* L.) çeşitlerini tanımlamayı ve morfolojik özelliklerinin homojenliğini ve kararlılığını karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmada otuz altı biber genotipi kullanılmış, 27 SSR primeri 89 polimorfik bant üretmiştir. Araştırmacılar incelenen biber genotiplerinin benzerlik değerlerinin 0.65-1.00 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Kullanılan SSR primerlerinin PBI değerlerinin 0.03 ile 0.877 arasında değiştiği ve ortalama PBI değerinin de 0.529 olduğu belirlenmiştir.

Chen ve ark., (2007) 15 biber genotipinin karakterizasyonunda RAPD ve ISSR markırlarını kullanmışlardır. Çalışmada test edilen 23 RAPD primeri toplam 209 bant ve 16 ISSR primeri de 94 bant vermiştir. Primer başına ortalama bant sayısı RAPD primerleri için 9.09 iken ISSR primerlerinde bu değer 5.88 olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar biber genetik kaynaklarında ISSR primerlerinin RAPD primerlerinden daha fazla genetik farklılık yakaladığını ve genetik farklılıkları belirleme çalışmalarında ISSR markırlarının RAPD markırlarından daha uygun ve daha güvenilir olduğunu bildirmişlerdir.

Costa ve ark., (2009) biber genotiplerinde morfolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmasını yürütmüşlerdir. Biber genotiplerinin 52 adedi moleküler karakterizasyonuna alınmış ve 8 adet RAPD primeri kullanılmıştır. RAPD primerlerinden elde edilen veriler ile oluşturulan dendrogramda genotipler % 50 benzerlik indeksi ile 2 ana gruba ayrılmış ve ilk grupta 3 alt küme oluşmuştur. Araştırmacılar genetik kaynakların karakterizasyonunda morfolojik veriler ile RAPD

markırlarının tamamlayıcı olduğunu ve bu gibi diversifikasyon çalışmalarında farklı tekniklerin kullanılmasının önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Xiaohua ve ark., (2010) biberde genetik karakterizasyon için RSAP, SRAP ve SSR markır sistemlerini karşılaştırmışlardır. Çalışmada 10 biber ıslah hattı bitkisel materyal olarak kullanılmıştır. Biber hatlarının genetik karakterizasyonunda 41 RSAP primer kombinasyonu, 23 SRAP primer kombinasyonu ve 23 SSR primeri test edilmiştir. Test edilen markır sistemlerinden RSAP 538 polimorfik bant, SRAP 230 polimorfik bant ve SSR primerleri 21 polimorfik bant vermiştir. Primerlerin polimorfizm oranları RSAP, SRAP ve SSR markır sistemlerinde sırasıyla % 25.4, % 29.64 ve % 51.2 olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar lokus başına bant sayıları bakımından RSAP primer kombinasyonunda ortalama 51.7 bant, SRAP primerlerinde 64 ve SSR markırlarında 1.78 adet bant elde edildiğini rapor etmişlerdir. Biber hatları arasındaki genetik uzaklık aralığı 0.171-0.789 olarak tespit edilmiştir.

Xu ve ark., (2011) biber genetik kaynaklarının moleküler karakterizasyonunda SRAP markırlarını kullanmışlardır. Araştırmacılar 72 biber genetik materyalin karakterizasyonunda 17 SRAP primerini test etmişlerdir. SRAP primer kombinasyonları toplam 182 bant oluşturmuş ve bunların 118'i polimorfik bant olarak belirlenmiştir. Biber genotipleri arasındaki benzerlik katsayısı 0.56 ile 0.91 arasında değişmiştir. SRAP verilerinden oluşturulan kümeleme analizinde 72 biber genotipi 8 gruba ayrılmıştır. Araştırmacılar morfolojik verilere dayalı yapılan karakterizasyon ile SRAP markırlarına dayalı karakterizasyon arasında farklılıkların olduğunu ve SRAP markırlarının kullanılması ile genetik karakterizasyonun daha etkili ve stabil olduğunu vurgulamışlardır.

Liu Zhiain ve ark., (2011) yürüttükleri çalışmada SRAP markırlarını kullanarak biber (*Capsicum* spp.) gen kaynakları arasındaki genetik çeşitliliği morfolojik ve moleküler olarak araştırmışlardır. Morfolojik özellikler kullanılarak yapılan karakterizasyon çalışmasında biber genotipleri 4 gruba ayrılmış ve aralarındaki benzerlik indeks değeri 0.69 bulunmuştur. Araştırmacılar biber genotiplerinin moleküler karakterizasyonunda 17 SRAP primeri kombinasyonu kullanmışlardır. Kullanılan 17 SRAP primer kombinasyonunun toplam 182 bant verdiği ve bunların

118'inin biber genotipleri arasında polimorfizm gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca moleküler karakterizasyonda biber genotipleri arasındaki benzerlik indeksi değerlerinin 0.56 ile 0.91 arasında değiştiği ve genotiplerin de 8 grup oluşturduğu rapor edilmiştir.

Wu ve ark., (2012) biberde genetik uzaklık ve heterozis arasındaki korelasyonların belirlenmesi üzerine çalışmışlardır. Çalışmada 5 baba ebeveyn, 6 ana ebeveyn ve bunlardan yarı diallel metoduyla elde edilen 25 F1 hibrit test edilmiştir. Ebeveyn hatları arasındaki genetik uzaklıkların belirlenmesinde SRAP markırları kullanılmıştır. Araştırmacılar ebeveyn hatlar arasındaki genetik uzaklık değerinin artmasına bağlı olarak verimde heterozis etkisinin arttığını bildirmişlerdir.

Villela ve ark., (2014) yaptıkları çalışmada Brezilyanın farklı bölgelerinde yetiştirilen *Capsicum baccatum* türüne ait 20 adet biber yerel genotipini SSR markırları ile taramışlardır. Araştırmacılar 8 SSR primerinin genotipler arasında toplam 43 polimorfik bant verdiğini ve primer başına ortalama 5 bant elde edildiğini bildirmişlerdir. Kullanılan primerlerin PBİ değerlerinin 0.54 ile 1.00 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Dhaliwal ve ark., (2014) biberde SSR markırları ile genetik karakterizasyon çalışmasını yürütmüşlerdir. Denemede toplam 64 biber genotipi 50 SSR primeri ile taranmıştır. Kullanılan 50 SSR primerinden 27 tanesi polimorfik bantlar vermiştir. 27 primer toplam 75 bant (ortalama 2.78) oluşturmuştur. Bu primerlerin polimorfizm bilgi içerik (PBİ) değerleri de 0.39 ile 0.78 (ortalama 0.59) arasında değişmiştir. SSR markırları ile karakterize edilen biber gen kaynağı 9 kümede gruplandırılmıştır. Araştırmacılar kullanılan SSR primerlerinin biber genotiplerini ayırmada etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Torres ve ark., (2014) yürüttükleri çalışmada *Capsicum annuum* ve *Capsicum pubescens* biber türlerinde ISSR ve SSR markırlarını kullanarak intraspesifik ayırmaya yapmışlardır. Araştırmacılar çalışmada 8 adet ISSR primeri kullanarak toplam 38 bant elde etmişlerdir. ISSR markırları kullanılarak elde edilen bant sayıları 15 ila 23 arasında değişiklik göstermiş olup, iki markırdan da polimorfik veri sağlanmıştır. ISSR için PBİ değeri 0.77 bulunmuştur. Her iki türde de SSR markırları kullanılarak tanımlanan sonuçlarda markır başına bant sayısı, 1 ila 10 arasında

değişmiştir. SSR için ortalama PBI değeri 0.5 bulunmuştur. Her iki tekniğin de test edilen iki *Capsicum* türünü ayırt etmede etkili olduğu bildirilmiştir.

Tsaballa ve ark., (2015) yapmış oldukları çalışmada Yunanistan'dan toplanmış 30 yerel biber genotipi ile bir ticari çeşidi ISSR, SCoT ve EST-SSR markırları ile karakterize etmişlerdir. Çalışmada ISSR ve SCoT tekniklerinin denemeye alınan genotipleri iyi bir şekilde ayırladığını bildirmişlerdir.

Zhang ve ark., (2016) yürüttükleri çalışmada Çin'in 31 farklı bölgesindeki biber genetik kaynaklarından 372 adet yerel çeşit ve genotipin SSR markırları ile taranarak çeşitler arasındaki genetik ilişkiyi ortaya koymayı amaçlamışlardır. Çalışmada 28 SSR primeri kullanılarak toplam 363 polimorfik bant üretilmiştir. Araştırmacılar biber genotipleri arasındaki benzerlik katsayılarını 0.09 ile 0.92 arasında, primerlerin PBI değerlerinin ise 0.08 ile 0.092 arasında olduğunu tespit etmiştir.

Bhatt ve ark., (2017) kimyon genotiplerinin moleküler karakterizasyonunda SRAP markırlarını kullanmışlardır. Araştırmacılar, 2 ileri (Me01 ve Me02) ve 6 geri (Em01, Em02, Em03, Em04, Em05 ve Em06) olmak üzere toplam 12 SRAP primer kombinasyonu ile kimyon genotiplerini ayırlamaya çalışmışlardır. Kullanılan primer kombinasyonlarında toplam 65 bant elde edilmiş ve bunlardan 60'nın polimorfik olduğu bildirilmiştir. Primer kombinasyonlarının bireysel olarak oluşturdukları toplam bant sayısı 3 ile 14 arasında değişir iken polimorfik bant sayıları da 1 ile 13 arasında değişmiştir. Me01+Em05 primer kombinasyonu toplamda en yüksek bant sayısını vermiştir (14 bant). Elde edilen bu bantlardan 11'i polimorfik olarak gözlenmiştir. Bunu toplamda 13 bant veren Me01+Em01 primer kombinasyonu takip etmiştir. Ayrıca bu primer kombinasyonunda elde edilen bütün bantlar kimyon genotipleri arasında polimorfik olarak gözlemlenmiştir. Primer kombinasyonlarının polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) 0.14 ile 0.51 arasında değişmiştir. En yüksek PBI değeri (0.51) Me02+Em06 primer kombinasyonundan elde edilmiştir.

Bozokalfa ve ark., (2017) biber genotiplerinin genetik karakterizasyonunda SRAP markırlarını kullanmışlardır. Araştırmacılar çalışmada 33 primer kombinasyonunu test etmişler ve bunlardan 23'ünün biber çeşit ve genotipleri arasında polimorfizm oluşturduğunu belirlemişlerdir. Polimorfik olarak belirlenen 23 primer

kombinasyonu toplamda 202 adet polimorfik bant oluşturmuştur. Temel bileşen analizinin ilk 9 ekseni genotipler arasındaki toplam varyansın % 85.18'ini açıklamıştır. Yapılan kümeleme analizinde kofenetik korelasyon katsayısının $r=0.85$ olduğu ve bu değer biber genotipleri arasındaki benzerlik katsayılarını önemli derecede etkilediği bildirilmiştir. Araştırmacılar oluşturulan dendrogramda biber genotipleri arasında % 64'lük bir benzerlik katsayısının genotipleri 4 ana gruba ayırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca SRAP markırları ile oluşturulan benzerlik indeksine göre birbirine en yakın olan genotipler arasındaki benzerlik indeks oranının % 93 olduğu tespit edilmiştir.

Sharmin ve ark., (2018) 20 adet yerel biber genotiplerinin karakterizasyonunda SSR primerlerini kullanmışlardır. Çalışmada kullanılan 5 adet polimorfik SSR primeri toplam 10 bant vermiştir. Primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) 0.225 ile 0.50 arasında değişirken ortalama oranı ise 0.371 olarak tespit edilmiştir. En yüksek PBI değeri CAMS-806 primerinden elde edilirken bunu 0.489 değer ile GPMS-161 SSR primeri takip etmiştir. SSR markırlarına dayalı verilerden oluşturulan benzerlik indeksi ilişim matrisi değerleri 0.000 ile 1.000 arasında değişmiştir. Kümeleme analizinde 20 adet biber genotipi 2 ana gruba ayrılmıştır. Araştırmacılar SSR markırlarının biber genotiplerini ayırmada etkili olduğunu vurgulamışlardır.

2.2 Virüs Çalışmaları

Ekbiç (1998), biberde PVY'ye dayanıklılık özelliği için Bulk Segregant Analizi ile RAPD işaretleyicilerin belirlenmesi amacıyla KM1 ile SCM 334 melezlemesinden elde edilen F₂ ve GM1 popülasyonu kullanmıştır. Araştırmacı çalışma sonucunda, PVY'nin değişik ırklarına dayanıklılık sağlayan Pvr4 genine ait bir moleküler işaretleyici elde edemediklerini ancak, SCM 334'ün sahip olduğu Pvr4 geninin PVY'ye karşı monogenik bir dayanıklılık sağladığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara dayalı olarak dayanıklılık ıslahında geri melezleme yöntemi ile bu dayanıklılığın aktarılabileceğini bildirmiştir.

Arnedo-Andrés ve ark., (2002) biberde PVY' ne dayanıklılık sağlayan Pvr4 lokusuna bağlı RAPD ve SCAR markırları geliştirmişlerdir. PVY'ne dayanıklı SCM-334 ile hassas YoloWonder biber genotipleri resiprokal olarak melezlenmiş oluşan F₁ bireyleri kendilenerek 110 adet F₂ bireyi oluşturulmuştur. F₂ bireyleri de kendilenerek her biri yaklaşık 25-30 bitkiden oluşan toplam 96 F₃ hattı elde edilmiştir. Bununla birlikte F₁ bitkilerinin ebeveyn hatlarla melezlenmesi ile BC1 popülasyonları da oluşturulmuştur. Oluşturulan popülasyonlar mekanik inokülasyon ile virüse dayanıklılık yönünden taranarak fenotipte dayanıklı ve duyarlı bireyler belirlenmiştir. Bulksegregant analizi (BSA) ile toplam 800 RAPD primeri test edilmiştir. Primer başına ortalama bant sayısı 6 ile 7 arasında çıkmıştır. Test edilen primerlerden 2 tanesi DNA bulk'ları arasında polimorfik olarak belirlenmiştir. Bulk'ları oluşturan bireyler polimorfik bant oluşturan primerler ile test edildiğinde bu primerlerden biri duyarlı genotiplerden oluşan 11 bitki içerisinde sadece 1 tanesinde bant oluşturduğu için bu primer iptal edilmiş ve sadece UBC19 primeri *Pvr4* lokusuna bağlı markır olarak kaydedilmiştir. Polimorfik olarak elde edilen UBC19₁₄₃₂ primerinin polimorfik bandından oluşturulan SCUBC19 SCAR markırının genomda bulunduğu yer ve/veya çok büyük olmasından dolayı seleksiyonda yanlış pozitifler verdiği bildirilmiştir.

Arlı-Sökmen ve ark., (2005) Samsun ilinde yaptıkları çalışmalarda biberde zarar yapan virüslerin belirlenmesinde (AMV, CMV, PVY, ToMV, TMV, TSWV) DAS-ELISA yöntemini kullanmışlardır. Bu virüslerin kimliğini belirlemek için tarlada yetişen biberlerden toplam 313 örnek toplanmıştır. Test edilen 313 bitkinin 42'si iki

kat enfekte olmuştur. Araştırmacılar bitki örneklerinin % 15.4'ünün TMV+PVY ile bulaşık olduğunu bildirmişlerdir. Bu aynı zamanda Türkiye'deki biber tarlalarında AMV'nin ilk raporu olarak kabul edilmiştir.

Matsunaga ve ark., (2003) *Capsicum* türlerinde biber hafif leke virüsüne (PMMoV) dayanıklılık sağlayan L4 lokusu için seleksiyonda kullanılacak markırlar geliştirmek için çalışmışlardır. Çalışmada dayanıklı genitörler ile hassas çeşit melezlemesinden elde edilen F2 açılım popülasyonunu mekanik olarak testlemişler ve fenotipine göre dayanıklı ve hassas iki DNA grubu (Bulk Segregant) oluşturmuşlardır. Araştırmacılar L4 allelinin varlığını gösteren markırları belirlemek amacı ile 172 adet 10 bazlık RAPD primeri ile 344 adet 12 bazlık primerler olmak üzere toplam 516 primeri test etmişlerdir. Denemede sadece bir RAPD primeri (WA31) 1500 bp uzunluğunda L⁴ lokusunun varlığını gösteren bir bant vermiştir. Araştırmacılar bu bandı jelden ekstrakte ederek sekanslamışlar ve buradan 1500 bp ağırlığında tek bant veren ve dayanıklılığı gösteren bir SCAR markırını oluşturmuşlardır. Yapılan analizler ile bu markırın gene olan uzaklığının 1.5 cM'dan daha yakın olduğu hesaplanmıştır.

Demir (2005), Kahramanmaraş ve ilçelerinden topladığı 171 biber örneğini CMV, AMV, PVX, PVY, PMMoV ve TEV için DAS-ELISA yöntemi ile testlemiş ve örneklerin % 52.6'sının bir veya daha fazla virüsle enfekteli olduğunu bildirmiştir. Toplanan örneklerde PMMoV'nin enfeksiyon oranı ise % 8.2 olarak belirlenmiştir.

Moodley ve ark., (2015) 6 adet hibrit biber çeşidini PVY'ne dayanıklılık için hem klasik inokülasyon hem de ARMS-PCR (Tetra-primer amplification refractory mutation system polymerase chain reaction) tekniğini kullanarak test etmişlerdir. Test edilen 6 F1 hibrit çeşitte Patates Y Virüsüne dayanıklılık kontrolünde rol oynayan *pvr2*⁺ lokusunun genotipini ortaya çıkarmışlardır. Araştırmacılar hassas olan tüm çeşitlerin *pvr2*⁺ alleleline sahip olduğunu ve bu allelin varlığının virüse hassaslıkta baskın olduğunu bildirmişlerdir.

Salamon ve ark., (2016) biberde TSWV'ne dayanıklı hibrit geliştirmek amacı ile dayanıklı bireylerin seleksiyonunda *Tsw* genine bağlı SCAR markır sistemini kullanmışlardır. Araştırmacılar bir acı biber çeşit ile bir tatlı biber çeşidini TSWV'ne dayanıklı melezinden (P.I. 159236) çekilen TSR hattı ile çaprazlamışlardır. F1, F2 ve

BC1 bireyleri virülensi yüksek TSWV-P0 izolatu ile mekanik olarak bulaştırılmıştır ve dayanıklı bireyler fenotipte belirlenmiştir. Fenotipte dayanıklı olan bireyler SCAR T12 markırı ile testlenmiş, F1 ve BC1 popülasyonlarından DH bitkiler çekilmiştir. DH bitkilerden *Tsw* genini taşıyanlar SCAR markırı yardımı ile belirlenmiştir.

Çelik ve ark., (2017) biber ıslah hatlarını moleküler markırlar yardımı ile TSWV'ne dayanıklılık yönünden test etmişlerdir. Çalışma 2010-2014 yılları arasında Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde yürütölmüştür. Dayanıklılık kaynağı olarak 3 dayanıklı genitör kullanılmış ve genitörler açık tozlanan Serademre 8 çeşidi ile melezlenmiş ve sonra açılım popülasyonları (F2-F5) oluşturulmuştur. Moleküler testlemeler sadece F1 ve F5 kademesindeki bitkilere mekanik inokülasyonun doğrulanması amacı ile uygulanmıştır. Araştırmacılar dayanıklılığın DNA düzeyinde belirlenmesinde SCAC₅₆₈ markırını kullanmışlardır. Bu markırın TSWV'ne dayanıklılıkta seleksiyon amacıyla etkili bir şekilde kullanılabileceğı görölmüştür.

Karataş ve ark., (2017) baharat yapımına uygun olan 43 kırmızı biber hattının Patates Y virüsü (PVY)'nin (0), (1), ve (1,2) patotiplerine reaksiyonlarını araştırmışlardır. Çalışmada PVY'nin, LYE84 (0), CAA16 (1) ve SON41P (1,2) izolatları *Nicotiana tabacum* L. " Samsun " tütün çeşidi üzerinde çoğaltımı yapılmış ve virüsün varlığı PVY poliklonal antiserum kullanılarak DAS-ELISA testi ile doğrulanmıştır. PVY (0) patotipi, bitki yapraklarında mozaik, PVY (1) patotipi, yaprak yüzeyinde deformasyon, yapraklarda ie kıvrılma, bitki gövdesinde şekil bozukluğu ve meyvede şeritler halinde renk açılması simptomları oluşturmuştur. PVY (1,2) patotipi, yaprak damarı çevresinde nekrozlar oluşturmuştur. Üç kırmızı biber hattında PVY patotiplerinden kaynaklı simptom meydana gelmediğini bildirmişlerdir. Denemelere dahil edilen 43 hattın iki tanesinde (62, 63), PVY patotiplerinin çoğalması ve yayılmasının düşük seviyelerde olduğu sonucu elde edilmiştir. Serolojik testlerden alınan sonuçlara göre, bu üç hattın, PVY'nin üç patotipine de dayanıklı hatlar olduğu bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Bitkisel Materyal

Denemede Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen 35 adet biber ıslah hattı ve 3 adet ticari biber çeşidi olmak üzere toplam 38 biber hat ve çeşidi bitkisel materyal olarak kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Çalışmada Kullanılan Genotipler ve Kodları

Hat/Çeşit	Kod	Meyve Tipi
209-1	G01	Kıl biber
3YM-4-1	G02	Kıl biber
86-1	G03	Kıl biber
1YM-2-1-2	G04	Kıl biber
S5-1-2-3	G05	Kıl biber
ÇY-1	G06	Kıl biber
8YM-9-5	G07	Kıl biber
14YM-13-2	G08	Kıl biber
19YM-4-1	G09	Kıl biber
9YM-6-3	G10	Kıl biber
15-H-3-1	G11	Üç burun
17-H-2-4	G12	Üç burun
37-H-D-6	G13	Üç burun
DM-4	G14	Sivri biber
DM-3	G15	Sivri biber
DM-1	G16	Kapya
43H-7	G17	Kapya
65YM-6	G18	Kapya
39H-16	G19	Kapya
68H-12	G20	Kapya
145-2	G21	Üç burun
SE-15	G22	Kapya
SN-3	G23	Kapya
74-3-1	G24	Kapya
ÇTK	G25	Kıl biber
173	G26	Kıl biber
19-H-1-2	G27	Kıl biber
38-H-9	G28	Üç burun
BS-5-4-1	G29	Sivri biber
BS-11-2-2-1	G30	Kıl biber
5-H-2	G31	Sivri biber
68-H-1	G32	Üç burun
13-H-1	G33	Sivri biber
6H-7-2	G34	Sivri biber
23H-10-1	G35	Sivri biber
Seyrek	G36	Kıl biber
Burkalem	G37	Kıl biber
BTK	G38	Kıl biber

3.2 Yöntem

3.2.1 Moleküler Karakterizasyon

3.2.1.1 DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu Haymes (1996)'nın geliştirdiği miniprep DNA izolasyon yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 İzolasyon Protokolü

3.2.1.1.1 Kullanılan Kimyasal ve Çözeltiler

1. Ethanol-Acetate Çözeltisi

96 ml ETOH

4 ml 3 M NaAC (pH 5.2)

2. İzolasyon Tamponu:

100 mM tris-HCl (pH 8.0)

1.4 M NaCl

20 mM EDTA

% 2 CTAB (hexadecyl-trimethyl-ammonium bromide)

% 0.4 β -mercaptoethanol

3. TE Çözeltisi:

10 mM tris

1 mM EDTA (pH 8)

4. Kloroform / İzoamil alkol Çözeltisi (24/1)

240 ml kloroform

10 ml izoamil alkol

İzolasyon Protokolü:

1. 50-80 mg (genç yapraklardan 3-4 tane) taze bitki yaprakları alınarak 1.5 ml eppendorf tüplere konulmuştur.
2. Örnekler mikro havaneli yardımı ile tüplerin içerisinde iyice ezilmiştir.
3. Tüplere 500 µl izolasyon tamponu (extraction buffer) eklenerek yavaşça iyi bir şekilde karıştırılmıştır.
4. Örnekler su banyosunda 30 dakika süreyle 65°C'de inkübasyona tabi tutulmuştur.
5. Tüplere 150 µl chloroform/isoamyl alcohol çözeltisi eklenerek karıştırılmıştır.
6. Örnekler 3 dk süreyle 14000 rpm koşullarında santrifüj edilmiştir.
7. Santrifüj işleminden sonra tüplerin üst kısmında kalan sıvı 1.5 ml'lik temiz eppendorf tüplere aktarılmıştır.
8. Üzerine 600 µl etanol-asetat çözeltisi eklenerek DNA çöktürülmüştür.
9. Örnekler 14000 devirde 3 dk süre ile santrifüj edilmiş ve üstteki sıvı dökülerek DNA'nın tüplerin tabanında toplanması sağlanmıştır.
10. 300 µl % 70 ETOH eklenerek tekrar 3 dk süreyle 10000 rpm koşullarında santrifüj edilmiş ve böylece DNA'ların yıkanması sağlanmıştır.
11. Üst sıvısı dökülen tüpler başaşağı tutularak oda sıcaklığında yaklaşık olarak 1 saat süreyle bekletilerek DNA dışındaki sıvılar uzaklaştırılmış ve üzerine 200 µl TE çözeltisi eklenip vortex ile çözdürülmüştür.

3.2.1.2 Araştırmada Kullanılan SRAP Primerleri

Çalışmada çizelge 3.2'de verilen SRAP primerleri kullanılmıştır. Uygun primer çiftinin belirlenmesi amacı ile bitkisel materyaller arasından birbirlerinden farklı

olduğu düşünülen 6 biber hattı kullanılarak ileri ve geri primer çiftleri ile (20 ileri x 15 geri) toplam 300 primer kombinasyonu taranarak polimorfizm gösteren primer kombinasyonları belirlenmiştir. Altı biber hattı arasında polimorfik olarak belirlenen ve tekrarlanabilir bantlar veren primer kombinasyonları deneme materyalini oluşturan 38 biber hat ve çeşitlerinin moleküler karakterizasyonunda kullanılmıştır.

Çizelge 3.2 Araştırmada Kullanılan SRAP Primerleri

İleri (Forward) Primeri		Geri (Reverse) Primeri	
ME01	TGAGTCCAAACCGGATA	EM02	GACTGCGTACGAATTTGC
ME02	TGAGTCCAAACCGGAGC	EM03	GACTGCGTACGAATTGAC
ME03	TGAGTCCAAACCGGAAT	EM04	GACTGCGTACGAATTTGA
ME04	TGAGTCCAAACCGGACC	EM05	GACTGCGTACGAATTAAC
ME05	TGAGTCCAAACCGGAAG	EM06	GACTGCGTACGAATTGCA
ME06	TGAGTCCAAACCGGTAA	EM07	GACTGCGTACGAATTCAA
ME07	TGAGTCCAAACCGGTCC	EM08	GACTGCGTACGAATTCTG
ME09	TGAGTCCAAACCGGAGG	EM09	GACTGCGTACGAATTCAG
ME10	TGAGTCCAAACCGGAAA	EM10	GACTGCGTACGAATTTAG
ME12	TGAGTCCAAACCGGTAG	EM11	GACTGCGTACGAATTCCA
ME14	TGAGTCCAAACCGGTCT	EM12	GACTGCGTACGAATTCTT
ME16	TGAGTCCAAACCGGGCC	EM13	GACTGCGTACGAATTCTC
ME17	TGAGTCCAAACCGGGCG	EM14	GACTGCGTACGAATTCGC
ME18	TGAGTCCAAACCGGGCT	EM15	GACTGCGTACGAATTCTA
ME19	TGAGTCCAAACCGGGTA	EM16	GACTGCGTACGAATTCTG
ME21	TGAGTCCAAACCGGTCA		
ME23	TGAGTCCAAACCGGGGT		
ME24	TGAGTCCAAACCGGTTG		
ME25	TGAGTCCAAACCGGAGA		
ME26	TGAGTCCAAACCGGACT		

3.2.1.3 SRAP PCR Analizleri

PCR reaksiyonları için Çizelge 3.3’de gösterilen karışım ve miktarlar hazırlanmıştır. Çizelge 3.3’te belirtilen karışımların aynısı virüs hastalıklarına dayanıklı hatların belirlenmesinde de kullanılmıştır.

Çizelge 3.3 SRAP PCR Reaksiyon Protokolü

İçindekiler	Hacim
PCR Master Mix (Dreamtaq Green Master Mix)	7.5 µl
İleri primer (10 pmol)	1 µl
Geri primer (10 pmol)	1 µl
H ₂ O (çift destile)	2.5 µl
Genomik DNA (10 ng/µl)	3 µl
TOPLAM	15 µl

SRAP PCR reaksiyonları Yıldız ve ark. (2011)’nin kavunda kullandıkları protokole göre yürütülmüştür (Çizelge 3.3).

3.2.1.4 PCR Koşulları

PCR koşulları Çizelge 3.4’te verilmiştir.

Çizelge 3.4 PCR Koşulları

Sıcaklık	Süre		Döngü Sayısı
94°C	2 dak	ön denatürasyon	1
94°C	60 s	denatürasyon	
35°C	60 s	yapışma	5
72°C	60 s	Uzama	
94°C	60 s	denatürasyon	
50°C	60 s	yapışma	35
72°C	60 s	Uzama	
72°C	5 dak	Uzama	1

3.2.1.5 Virüs Hastalıklarına Dayanıklılık

Virüslere dayanıklılık belirlemede kullanılan markır ve primerler Çizelge 3.5’te verilmiştir.

Çizelge 3.5 Virüslere Dayanıklılık Testlerinde Kullanılan Primerler

Virüs	Markır		Primerler	Referanslar
<u>PVY</u>	CSO	F	CGAAGAGAGAAGGTC	CARANTA ve ark. (1999)
		R	TCAGGGTAGGTTATT	
<u>PMMoV</u>	AP-7/AP-8	F	CGTACTGTGGCTCAAACTC	MATSUNAGA ve ark.(2003)
		R	ATTCGCACCGTTTAGCCCGT	
<u>TSWV</u>	SCAC ₅₆₈	F	GTGCCAGAGGAGGATTTAT	Moury ve ark. (2000)
		R	GCGAGGTGGACACTGATACT	

Çalışmada kullanılan biber hat ve çeşitlerinin Patates Y Virüsü (PVY), biber hafif leke virüsü (PMMoV) ve domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)’ne karşı testlenmesinde daha önceki çalışmalarda geliştirilen moleküler markırlardan yararlanılmıştır. PVY için Caranta ve ark. (1999)’nın geliştirdikleri ve *Pvr4* lokusuna bağlı CSO markır, TSWV için Moury ve ark. (2000)’nin geliştirdikleri SCAC markır ve PMMoV için Matsunaga ve ark. (2003)’nin geliştirdikleri *L4* lokusuna bağlı AP-7/AP-8 markırları kullanılmıştır.

a. PVY Dayanıklılık Taraması

PVY dayanıklılık taraması için kullanılan PCR protokolü Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.6 PVY Dayanıklılık Taraması İçin PCR Protokolü

Sıcaklık	Süre		Döngü sayısı
94°C	3 dak	ön denatürasyon	1
94°C	30 s	denatürasyon	
54°C	30 s	yapışma	35
72°C	60 s	Uzama	
72°C	7 dak	Uzama	1

Kesme işlemi 10 µl PCR ürünü + 18 µl deiyonize H₂O + 2 µl enzim tamponu + 0.1 µl AlwNI enzim karışımının 37 °C’de 1 saat 45 dakika inkübe edilmesi suretiyle firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işleminden sonra elde edilen jel görüntülerinde 458 bp ağırlığında bant oluşturan hatlar dayanıklı olarak kaydedilmiştir.

b. TSWV Dayanıklılık Taraması

TSWV dayanıklılık taraması için kullanılan PCR protokolü Çizelge 3.7’de verilmiştir.

Çizelge 3.7 TSWV Dayanıklılık Taraması İçin PCR Protokolü

Sıcaklık	Süre		Döngü sayısı
94°C	3 dak	ön denatürasyon	1
94°C	30 s	denatürasyon	
54°C	30 s	Yapışma	35
72°C	60 s	Uzama	
72°C	7 dak	Uzama	1

Kesme işlemi 10 µl PCR ürünü +18 µl deiyonize H₂O+2 µl enzim tampon +01 µl XbaI enzim karışımının 37 °C’de 1 saat 45 dakika inkübe edilmesi suretiyle firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işleminden sonra elde edilen jel görüntülerinde 568 bp ağırlığında bant oluşturan hatlar dayanıklı olarak kaydedilmiştir.

c. PMMoV Dayanıklılık Taraması

PMMoV dayanıklılık taraması için kullanılan PCR protokolü Çizelge 3.8’de verilmiştir.

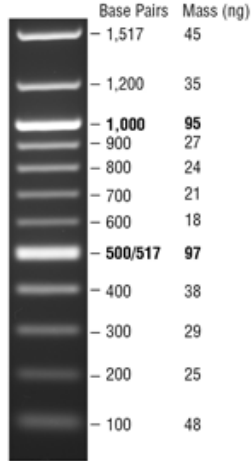
Çizelge 3.8 PMMoV Dayanıklılık Taraması İçin PCR Protokolü

Sıcaklık	Süre		Döngü Sayısı
94°C	3 dak	ön denatürasyon	1
94°C	30 s	denatürasyon	
56°C	30 s	Yapışma	35
72°C	60 s	Uzama	
72°C	7 dak	Uzama	1

Elde edilen PCR ürünleri elektroforezde koşturulmuş ve görüntüleme sisteminde jel görüntülerinin fotoğrafları çekilmiştir. Jel görüntülerinde 1400 bp ağırlığında bant veren hatlar dayanıklı olarak kaydedilmiştir.

3.2.1.6 Elektroforez

SRAP markırları ve hastalık testlemesi için yürütülen PCR çalışmalarından elde edilen ürünler, içerisinde 1x TAE tampon çözeltisi bulunan elektroforez tankında % 3'lük yüksek çözünürlüklü agaroz jele yüklenerek 100 V ve 300 mA akımda koşturulmuştur. Agaroz jel üzerinde ayrılan bantların ağırlıklarının tahmini amacıyla jele en az 1 sıra 100 bp (New England Biolabs Inc.; Şekil 3.2) marker DNA (ladder) yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 4 saat süre ile devam ettirilmiştir.



Şekil 3.2 100 bp DNA Ladder Baz Çifti Ağırlıkları

3.2.1.7 Görüntüleme

Elektroforez işleminden sonra jel 20 dakika süre ile ethidium bromide çözeltisinde bekletilmiş daha sonra UV transilluminatörde (INGENIUS, Syngene) görüntülenmiştir.

3.2.1.8 SRAP Markırlarının Değerlendirilmesi

Her bir primer çifti için her genotipe ait bant profilleri var (1) veya yok (0) şeklinde skorlanmıştır. Her bir SRAP primer kombinasyonunun oluşturdukları toplam bant sayıları ve polimorfik bant sayıları hesaplanmıştır. Primer kombinasyonlarının çalışmada kullanılan biber hatlarını ayırmadaki başarısının göstergesi olan polimorfizm bilgi içeriği (PIC) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$PIC_j = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

İ= j'inci primerin i'inci alleli

n= j'inci primerin allel sayısı

p= allel frekansı

3.2.1.9 Kümeleme Analizi

Biber gen havuzundaki hat ve çeşitlerin genetik olarak benzerliklerinin ortaya konması amacıyla Jackard benzerlik indeksine göre NTSYS-pc paket programı (Rholf, 1993) yardımıyla DICE (Dice, 1943) modülünde UPGMA (unweighted-pair group method with arithmetic average) metodu kullanılarak kümeleme analizi yapılmış ve korelasyon matrisi oluşturulmuştur.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

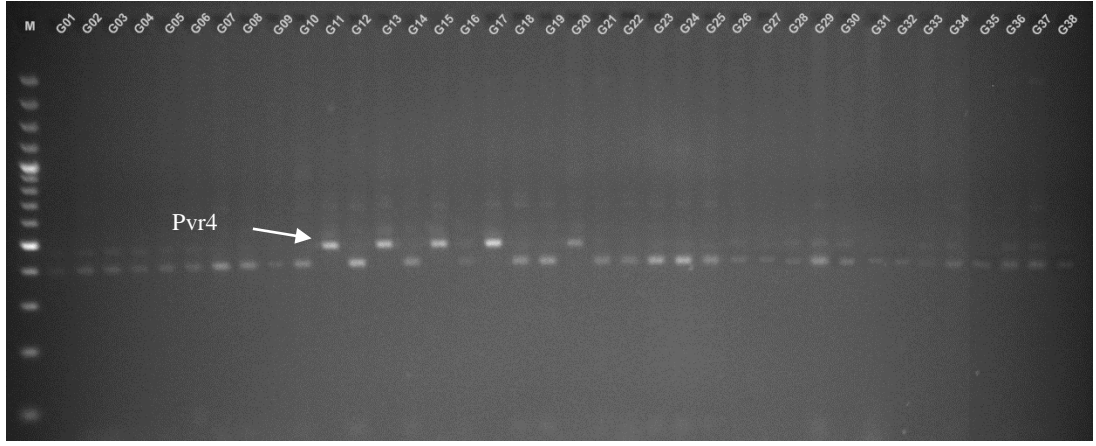
4.1 Biber Hatlarının PVY, TSWV ve PMMoV Hastalıklarına Dayanıklılık Durumları

Çalışmada kullandığımız 35 adet biber ıslah hattı ile 3 adet ticari biber çeşidinin PVY, TSWV ve PMMoV hastalıklarına dayanıklılıklarının belirlenmesinde önceki çalışmalarda belirlenen moleküler markırlardan faydalanılmıştır. Biber hatlarının markırlar yardımı ile seleksiyon sonucu sözü edilen virüs hastalıklarına dayanıklılık durumları Çizelge 4.1’de ve jel görüntüleri Şekil 4.1, Şekil 4.2, ve Şekil 4.3’te verilmiştir.

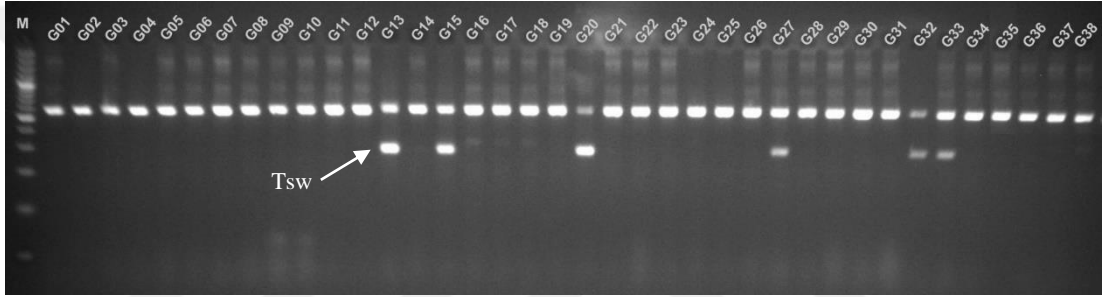
Çizelge 4.1 Biber Islah Hatlarının Virüs Hastalıklarına Dayanıklılıkları

Hat/Cesit	Tip	PVY	TSWV	PMMoV
G01	Kıl biber	S	S	S
G02	Kıl biber	S	S	S
G03	Kıl biber	S	S	S
G04	Kıl biber	S	S	S
G05	Kıl biber	S	S	S
G06	Kıl biber	S	S	S
G07	Kıl biber	S	S	S
G08	Kıl biber	S	S	S
G09	Kıl biber	S	S	S
G10	Kıl biber	S	S	S
G11	Üç burun	R	S	S
G12	Üç burun	S	S	S
G13	Üç burun	R	R	R
G14	Sivri biber	S	S	S
G15	Sivri biber	R	R	S
G16	Kapya	S	S	S
G17	Kapya	R	S	S
G18	Kapya	S	S	S
G19	Kapya	S	S	S
G20	Kapya	R	R	S
G21	Üç burun	S	S	S
G22	Kapya	S	S	S
G23	Kapya	S	S	S
G24	Kapya	S	S	S
G25	Kıl biber	S	S	S
G26	Kıl biber	S	S	S
G27	Kıl biber	S	R	S
G28	Üç burun	S	S	S
G29	Sivri biber	S	S	S
G30	Kıl biber	S	S	S
G31	Sivri biber	S	S	S
G32	Üç burun	S	R	S
G33	Sivri biber	S	R	S
G34	Sivri biber	S	S	S
G35	Sivri biber	S	S	S
G36	Kıl biber	S	S	S
G37	Kıl biber	S	S	S
G38	Kıl biber	S	S	S

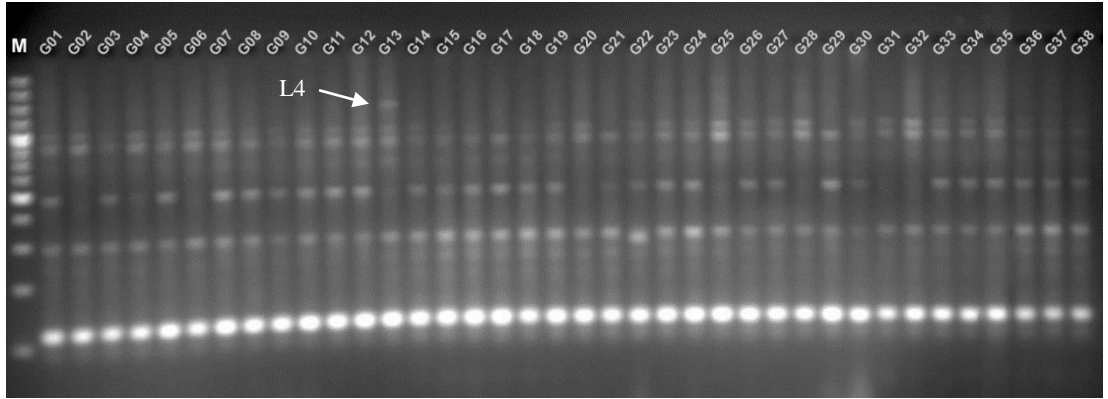
R: Dayanıkl; S: Hassas



Şekil 4.1 PVY'ne Dayanıklı Genotiplerin Bant Profilleri
M: 100 bp DNA ladder



Şekil 4.2 TSWV'ne Dayanıklı Genotiplerin Bant Profilleri
M: 100 bp DNA ladder



Şekil 4.3 PMMoV'ne Dayanıklı Genotiplerin Bant Profilleri
M: 100 bp DNA ladder

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi 5 biber ıslah hattının [(G11 ve G13 (üç burun); G15 (sivri biber); G17 (kıl biber) ve G20 (kapyra)] PVY'ne dayanıklılık sağlayan *Pvr4* genini, 6 biber hatının [G13 ve G32 (üç burun); G15 ve G33 (sivri biber); G20 (kapyra); G27 (kıl biber)] TSWV'ne dayanıklılık sağlayan *Tsw* genini ve sadece G13 hattının da PMMoV'ne dayanıklılık sağlayan *L4* genini taşıdığı tespit edilmiştir. Buradan da anlaşıldığı gibi G11 ve G17 hatları sadece PVY'ne, G27, G32 ve G33

sadece TSWV'ne dayanıklı olarak belirlenirken üç burun meyve tipli G13 ıslah hattı da PVY, TSWV ve PMMoV hastalıklarının üçüne birden dayanıklı çıkmıştır. Virüslere dayanıklı hatların belirlenmesinde kullandığımız markırlar Türkiye'de virüs hastalıklarına dayanıklılık çalışmalarında (Özkaynak ve ark., 2014; Çelik ve ark., 2017) da başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

4.2 Biber Genotiplerinin Moleküler Karakterizasyonu

4.2.1 DNA Bant Profilleri

Biber hat ve çeşitleri arasında polimorfik olan SRAP primer kombinasyonlarının belirlenmesi çalışmasında toplam 19 primer kombinasyonu 6 biber genotipi arasında polimorfik olarak gözlemlenmiştir. Polimorfik olarak belirlenen 19 SRAP primer kombinasyonu denemeye konu 38 hat ve çeşidin moleküler karakterizasyonunda kullanılmış ve elde edilen bulgular Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 SRAP Primerlerinin Biberde Oluşturdukları Allel Sayıları ve Polimorfizm Bilgi İçerikleri

Primer Adı	Toplam Band Sayı	Polimorfik Band Sayısı	Polimorfizm Oranı (%)	Ort. PBI Değerleri
ME01+EM02	8	6	75.0	0.67
ME03+EM02	4	2	50.0	0.62
ME14+EM02	2	2	100.0	0.74
ME18+EM02	6	4	66.7	0.96
ME18+EM03	2	1	50.0	0.20
ME03+EM04	3	2	66.7	0.52
ME10+EM04	5	2	40.0	0.17
ME12+EM04	2	1	50.0	0.78
ME01+EM05	5	2	40.0	0.78
ME04+EM05	4	2	50.0	0.18
ME05+EM05	4	4	100.0	0.60
ME21+EM05	6	3	50.0	0.85
ME04+EM08	6	4	66.7	0.98
ME02+EM10	5	5	100.0	0.52
ME09+EM10	5	3	60.0	0.32
ME12+EM10	4	4	100.0	0.35
ME17+EM10	3	2	66.7	0.66
ME14+EM11	4	1	25.0	0.75
ME18+EM11	7	6	85.7	0.43
TOPLAM	85	56	-	-
ORTALAMA	4.47	2.94	65.39	0.58

SRAP primer kombinasyonları 38 biber hat ve çeşitlerinde toplam 85 bant oluşturmuştur. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi primer kombinasyonu başına düşen toplam bant sayısı 2 ile 8 arasında değişmiş ve primer kombinasyonu başına ortalama

bant sayısı da 4.47 olarak bulunmuştur. En yüksek bant sayısı (8 bant) ME01+EM02 primerinden elde edilmiştir. ME14+EM02, ME18+EM03 ve ME12+EM04 primer kombinasyonları ise primer başına en düşük (2 bant) bant veren primer kombinasyonları olmuşlardır. SRAP primerlerinden elde edilen 85 bandın 56'sı biber hat ve çeşitleri arasında polimorfik olarak gözlemlenmiştir. Primer kombinasyonlarının polimorfik bant sayıları 1 ile 6 arasında değişmiştir. Primer kombinasyonu başına düşen ortalama polimorfik bant sayısı ise 2.94 olarak hesaplanmıştır. En yüksek polimorfik bant sayısı (6 bant) ME01+EM02 primer kombinasyonundan elde edilmiştir. En düşük polimorfik bant sayısı (1 bant) ise ME14+EM11 primer kombinasyonundan elde edilmiştir.

Primer kombinasyonlarının polimorfizm oranı incelendiğinde ME14+EM02 (%100), ME05+EM05 (% 100), ME02+EM10 (%100) ve ME12+EM10 (% 100) primer kombinasyonlarından elde edilen bantların tamamının polimorfik olduğu belirlenmiştir. En düşük polimorfizm oranı (%25) ise ME14+EM11 primer kombinasyonundan elde edilmiştir. Primer kombinasyonlarının ortalama polimorfizm oranı 65.39 olarak hesaplanmıştır. Primer kombinasyonlarının polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) değerlerinin 0.17 ile 0.98 arasında değişiklik gösterdiği gözlemlenmiştir. Primerlerin ortalama PBİ değeri de 0.58 olarak bulunmuştur. En yüksek PBİ değeri 0.98 değeri ile ME04+EM08 primer kombinasyonundan elde edilirken, ME10+EM04 primer kombinasyonu da 0.17 ile en düşük PBİ değerini vermiştir. Göçmen, (2006) 16 biber genotipinde yaptığı karakterizasyon çalışmasında kullandığı 30 SRAP primer kombinasyonunun toplam 155 polimorfik bant verdiğini bildirmiştir. Biber genotiplerinin karakterizasyonu için SRAP markırlarının kullanıldığı bir diğer çalışmada (Keleş, 2007) 8 SRAP primer kombinasyonunun 67 polimorfik bant verdiği rapor edilmiştir.

Yu ve ark., (2008) *C. annuum* türüne ait elit biber ıslah hatlarının genetik karakterizasyonunda 27 SRAP primer kombinasyonunun 317 polimorfik bant verdiğini rapor etmişlerdir. Xiaohua ve ark., (2010) sivri biber ıslah hatlarında 23 SRAP markırının toplam 776 bant verdiğinin ve bunlardan 230 bandın (% 29.64) polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar primer kombinasyonu başına ortalama bant sayısının 34, polimorfik bant sayısının da 10 olduğunu rapor etmişlerdir. XianSong ve ark., (2011) *Capsicum* türlerine ait 72 biber genotipini

SRAP markırları ile ayırlamışlardır. Araştırmacılar kullanılan 17 SRAP marker kombinasyonunun toplam 182 bant verdiğini ve bunların 118'inin (% 64.8) polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. XueJun ve ark., (2012) *C. frutescens* türüne ait biber genotiplerinde yürüttüğü genetik karakterizasyon çalışmasında 15 SRAP primer kombinasyonunun toplam 321 band verdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar primer başına ortalama bant sayısının 21.4 ve primerlerin ortalama polimorfizm oranlarının % 72.9 olduğunu bildirmişlerdir. Adalı (2017), *C. annuum* türüne ait bazı Maraş biberi genotiplerinde yaptığı çalışmada kullanılan 18 adet SRAP markır kombinasyonunun toplam 90 adet polimorfik bant verdiğini bildirmiştir. Araştırmacının kullandığı primer kombinasyonlarının polimorfizm bilgi içerik değerleride 0.09 ile 0.99 arasında değişmiştir. Bozokalfa ve ark., (2017) 94 yerel biber genotipinin karakterizasyon çalışmalarında kullandıkları 23 SRAP primer kombinasyonunun toplam 202 adet polimorfik bant verdiğini bildirmişlerdir.

Literatür bildirişlerinden de anlaşıldığı gibi biberin genetik karakterizasyonunda kullanılan SRAP markırlarının genotip ve hatları ayırladığı, elde edilen polimorfik bant sayılarının ve kullanılan primer kombinasyonu sayılarının farklı olduğu açıktır. Primer kombinasyonlarının ürettikleri polimorfik bant sayıları karakterize edilen genetik havuzun genetik tabanının genişliği ile kullanılan jel sistemine göre değiştiği söylenebilir. Çözünürlüğü yüksek olan poliakrilamid jel kullanıldığında primer başına daha fazla allel görüntülenebilmektedir.

4.2.2 Biber Genotip ve Çeşitleri Arasındaki Genetik İlişkiler

4.2.2.1 Temel Bileşen Analizi (PCA)

SRAP markırları ile elde edilen 56 polimorfik allelin biber hat ve çeşitleri arasındaki varyasyona katkısını belirlemek amacıyla PCA (Principal Component Analysis) yapılmıştır (Çizelge 4.3). Özdeğerleri 1'in üzerinde olan toplam 4 PC eksenini gözlemlenmiştir. PC1 eksenini 38 biber hat ve çeşitleri arasındaki toplam varyasyonun % 74.67'sini açıklarken, özdeğerleri 1'in üzerinde olan ilk 4 PC eksenini de toplam varyasyonun % 84.88'ini temsil etmiştir.

Çizelge 4.3 SRAP Markırlarına Dayalı Temel Bileşen Analizi

PC Eksenleri	Özdeğerler	Varyasyon	Toplam Varyasyon
1	28.37	74.67	74.67
2	1.62	4.28	78.96
3	1.14	3.00	81.97
4	1.10	2.90	84.88

Nas (2016), SRAP markırlarına dayalı temel bileşen analizinde çarliston biber genotipleri arasındaki toplam varyasyonun % 77.21'ini ilk 3 PC ekseninin ve dolma biber genotipleri arasındaki toplam varyasyonun % 87.04'ünü de ilk 5 PC ekseninin açıkladığını bildirmiştir. Bozokalfa ve ark., (2017) SRAP markırları ile biberde yürüttükleri çalışmada özdeğeri 1'in üzerinde olan toplam 9 PC eksenini olduğunu ve bunların genotipler arasındaki toplam varyasyonun % 85.18'ini temsil ettiğini bildirmişlerdir. Lİ, (2001) temel bileşen analizine dayalı olarak yapılan faktör analiz sonucuna göre öz değeri 1'in üzerinde olan 9 faktör grubunun oluştuğunu ve bu grupların toplam varyasyonun % 85'ini temsil ettiğini bildirmiştir. Yağcıoğlu ve ark., (2016) SRAP markırları ile temel bileşen eksenlerinin ilk 3'ünde karpuz genotipleri arasındaki toplam varyasyonun % 92'sinin açıklandığını bildirmişlerdir. Tamamladığımız çalışmada kullandığımız SRAP primer kombinasyonlarının biber ıslah hatları arasındaki genetik varyasyonun ortaya konmasında başarılı olduğu kanısına varılmıştır.

4.2.2.2 Biber Islah Hatlarının Genetik Benzerlikleri

SRAP markır analizinden elde edilen veriler ile oluşturulan dendrogram Şekil 4.4'de verilmiştir. Markır verilerine dayalı genetik ilişkilerin gösterildiği korelasyon matrisi ile bu ilişkinin görsel ifadesi olan dendrogramın uyumluluğunu gösteren kofenetik korelasyon değeri $r=0.90$ olarak hesaplanmıştır. Bu değer genotipler arasındaki benzerliklerin dendrogramda iyi bir şekilde ifade edildiğini ve SRAP primerleri ile yapılan bu diversifikasyon çalışmasının güvenilir sonuçlar verdiğini göstermektedir. Hazarika ve Neog, (2014) *Capsicum chinense* biber genotiplerinde ISSR markırları ile yaptıkları moleküler karakterizasyon çalışmasında kofenetik korelasyon değerinin düşük (0.34) çıktığını bildirmişlerdir. Campos ve ark., (2016) farklı biber türlerinin ISSR markırları ile karakterizasyonunda oluşturulan dendrogramın kofenetik korelasyon değerini 0.81 olarak hesaplamışlardır. Aynı araştırmacılar morfolojik ve

agronomik verilerin kullanılması ile oluşturulan dendrogramların kofenetik korelasyon değerlerinin de 0.21 olduğunu bildirmişlerdir. Nas (2016), 50 SRAP primer kombinasyonu ile 35 Charleston biberinin ve 24 SRAP primer kombinasyonu ile de 44 dolma biber hatlarının kümelemesinde elde edilen kofenetik korelasyon değerlerinin sırasıyla 0.81 ve 0.67 olduğunu rapor etmiştir. Bozkalfa ve ark., (2017) biber hatlarının SRAP markırları ile genetik olarak gruplandırılmasında kofenetik korelasyon değerinin 0.85 olarak hesaplandığını bildirmişlerdir.

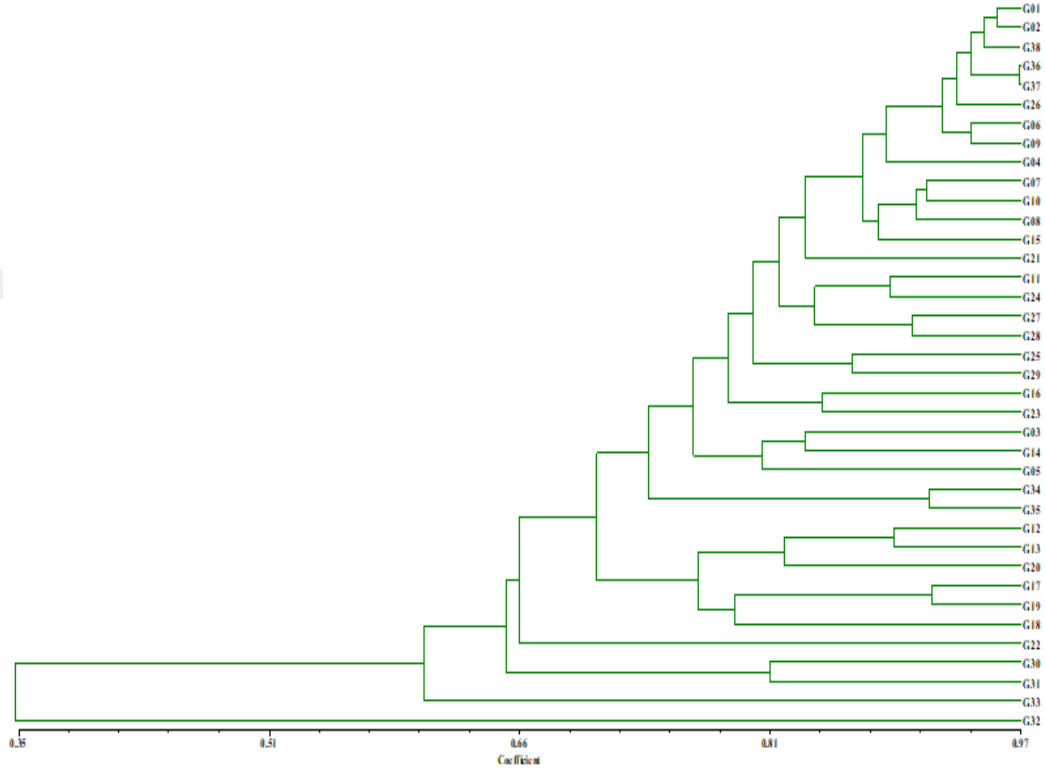
Çalışmamızda biber genotipleri dendrogramda 5 ana grupta kümelenmiştir. G32 (üç burun), G33 (sivri biber) ve G22 (kapy) biber hatları tek olarak sırasıyla 1., 2., ve 4. grupta yer almışlardır. G30 (kıl biber) ve G31 (sivri biber) hatları da 3. grupta yer almıştır. Biber hatlarının 5. ana grupta yoğunlaştığı görülmektedir (33 biber hattı). Bu grup 2 alt kümeye ayrılabilir. Beşinci grubun ilk alt kümesinde 6 biber hattı (G12 ve G13= üç burun; G17, G18, G19 ve G20 = kapy) toplanmıştır. İkinci alt kümede ise toplam 27 hat yer almıştır. Bu hatların 16'sı kıl biber (G01, G02, G03, G04, G05, G06, G07, G08, G09, G10, G25, G26, G27, G36, G37 ve G38), 5'i sivri biber (G14, G15, G29, G34 ve G35), 3'ü kapy (G16, G23 ve G24) ve 3'ü de üç burun (G11, G21 ve G28) biber tipleridir. Korelasyon matrisi değerlerine göre Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi kıl biber tipi olan Seyrek (G36) ve Burkalem (G37) ticari biber çeşitleri arasındaki korelasyon değeri en yüksek çıkmıştır. Bir başka deyişle incelenen biberler içerisinde genetik olarak birbirlerine en çok benzeyen bu iki ticari biber çeşidi olmuştur. Ayrıca G37 ile G02, G38 ile G01 ve G38 ile G37 arasındaki benzerlik katsayıları da yüksek çıkmıştır. Biberler arasındaki en düşük benzerlik G18 ve G32 biber hatları arasında bulunmuş ve dolayısı ile bu iki biber hattı incelenen biberler arasında genetik olarak birbirlerine en uzak genotipler olarak belirlenmiştir. Bu hatları sırasıyla genetik uzaklığı fazla olan ve benzerlik katsayıları düşük olan G32 ile G19 ve G32 ile G17 genotipleri takip etmiştir.

Çizelge 4.4 Biber Genotipleri Arasındaki Korelasyon Matrisi

	G01	G02	G03	G04	G05	G06	G07	G08	G09	G10	G11	G12	G13	G14	G15	G16	G17	G18	G19	G20	G21	G22	G23	G24	G25	G26	G27	G28	G29	G30	G31	G32	G33	G34	G35	G36	G37	G38			
G01	1.00																																								
G02	0.96	1.00																																							
G03	0.81	0.82	1.00																																						
G04	0.92	0.90	0.80	1.00																																					
G05	0.76	0.74	0.79	0.76	1.00																																				
G06	0.94	0.95	0.77	0.92	0.75	1.00																																			
G07	0.87	0.88	0.84	0.88	0.84	0.90	1.00																																		
G08	0.88	0.90	0.84	0.89	0.82	0.88	0.90	1.00																																	
G09	0.94	0.93	0.77	0.89	0.79	0.94	0.87	0.91	1.00																																
G10	0.87	0.91	0.84	0.89	0.77	0.92	0.91	0.91	0.87	1.00																															
G11	0.85	0.83	0.77	0.79	0.72	0.84	0.83	0.85	0.85	0.87	1.00																														
G12	0.73	0.74	0.71	0.70	0.64	0.72	0.72	0.76	0.73	0.74	0.84	1.00																													
G13	0.79	0.80	0.74	0.76	0.67	0.78	0.81	0.82	0.79	0.82	0.84	0.89	1.00																												
G14	0.79	0.77	0.84	0.81	0.83	0.81	0.84	0.82	0.79	0.82	0.75	0.66	0.69	1.00																											
G15	0.86	0.84	0.81	0.83	0.79	0.89	0.91	0.86	0.86	0.88	0.82	0.74	0.76	0.87	1.00																										
G16	0.77	0.78	0.75	0.71	0.71	0.77	0.80	0.81	0.78	0.79	0.79	0.76	0.79	0.67	0.82	1.00																									
G17	0.69	0.70	0.79	0.64	0.70	0.68	0.74	0.77	0.68	0.76	0.74	0.76	0.82	0.67	0.75	0.77	1.00																								
G18	0.67	0.68	0.69	0.68	0.62	0.66	0.69	0.73	0.67	0.70	0.73	0.79	0.83	0.56	0.66	0.74	0.77	1.00																							
G19	0.65	0.66	0.75	0.60	0.67	0.63	0.70	0.74	0.65	0.72	0.71	0.77	0.80	0.62	0.75	0.78	0.92	0.81	1.00																						
G20	0.71	0.72	0.61	0.67	0.51	0.73	0.67	0.68	0.71	0.72	0.74	0.79	0.85	0.59	0.68	0.68	0.74	0.70	0.71	1.00																					
G21	0.81	0.86	0.71	0.83	0.71	0.87	0.83	0.81	0.81	0.83	0.75	0.72	0.75	0.67	0.79	0.77	0.63	0.79	0.66	0.69	1.00																				
G22	0.64	0.65	0.71	0.72	0.56	0.63	0.63	0.64	0.64	0.64	0.64	0.71	0.71	0.60	0.67	0.64	0.64	0.75	0.68	0.68	0.65	1.00																			
G23	0.81	0.79	0.71	0.75	0.75	0.81	0.81	0.82	0.85	0.80	0.83	0.68	0.77	0.73	0.85	0.85	0.71	0.70	0.70	0.67	0.74	0.71	1.00																		
G24	0.81	0.79	0.79	0.76	0.73	0.79	0.78	0.85	0.85	0.81	0.89	0.75	0.81	0.72	0.77	0.79	0.73	0.75	0.73	0.70	0.78	0.63	0.83	1.00																	
G25	0.87	0.85	0.73	0.88	0.72	0.90	0.83	0.78	0.84	0.82	0.78	0.72	0.78	0.74	0.85	0.74	0.68	0.66	0.63	0.73	0.86	0.67	0.77	0.75	1.00																
G26	0.91	0.95	0.76	0.88	0.71	0.94	0.86	0.88	0.86	0.91	0.89	0.78	0.72	0.75	0.77	0.85	0.77	0.63	0.64	0.64	0.71	0.87	0.64	0.75	0.75	0.83	1.00														
G27	0.84	0.86	0.85	0.85	0.79	0.85	0.88	0.86	0.86	0.87	0.84	0.69	0.75	0.79	0.90	0.79	0.75	0.64	0.72	0.66	0.75	0.73	0.83	0.80	0.81	0.81	1.00														
G28	0.82	0.83	0.75	0.83	0.72	0.84	0.87	0.82	0.82	0.86	0.90	0.75	0.84	0.71	0.83	0.79	0.76	0.75	0.73	0.73	0.76	0.69	0.80	0.84	0.79	0.77	0.90	1.00													
G29	0.81	0.82	0.75	0.75	0.78	0.81	0.78	0.73	0.76	0.80	0.74	0.69	0.74	0.77	0.79	0.75	0.70	0.61	0.69	0.69	0.77	0.65	0.77	0.71	0.87	0.79	0.79	0.74	1.00												
G30	0.74	0.79	0.70	0.76	0.80	0.80	0.83	0.84	0.77	0.85	0.77	0.65	0.68	0.76	0.75	0.75	0.64	0.63	0.61	0.54	0.76	0.52	0.73	0.74	0.70	0.79	0.81	0.80	0.73	1.00											
G31	0.60	0.64	0.53	0.59	0.68	0.65	0.68	0.67	0.60	0.68	0.57	0.47	0.50	0.67	0.63	0.60	0.45	0.36	0.43	0.37	0.59	0.35	0.59	0.53	0.55	0.67	0.60	0.57	0.65	0.81	1.00										
G32	0.37	0.38	0.33	0.36	0.30	0.39	0.38	0.39	0.37	0.40	0.41	0.37	0.32	0.39	0.40	0.31	0.21	0.12	0.17	0.41	0.32	0.27	0.37	0.29	0.33	0.40	0.37	0.31	0.29	0.34	0.38	1.00									
G33	0.60	0.61	0.54	0.57	0.55	0.62	0.65	0.60	0.60	0.66	0.70	0.61	0.64	0.60	0.66	0.63	0.50	0.50	0.53	0.67	0.57	0.50	0.62	0.63	0.59	0.60	0.63	0.68	0.61	0.59	0.59	0.59	1.00								
G34	0.73	0.78	0.74	0.78	0.73	0.79	0.83	0.80	0.77	0.85	0.79	0.66	0.70	0.74	0.76	0.74	0.70	0.67	0.65	0.72	0.76	0.63	0.70	0.77	0.72	0.79	0.79	0.83	0.72	0.80	0.59	0.33	0.66	1.00							
G35	0.65	0.71	0.71	0.72	0.73	0.72	0.80	0.78	0.69	0.79	0.73	0.57	0.62	0.68	0.72	0.72	0.68	0.64	0.58	0.60	0.72	0.54	0.68	0.73	0.63	0.70	0.76	0.78	0.61	0.76	0.52	0.36	0.51	0.91	1.00						
G36	0.91	0.95	0.80	0.85	0.72	0.91	0.84	0.85	0.88	0.86	0.81	0.78	0.78	0.75	0.86	0.76	0.68	0.69	0.67	0.73	0.87	0.70	0.77	0.78	0.87	0.94	0.84	0.78	0.83	0.73	0.58	0.39	0.59	0.75	0.67	1.00					
G37	0.94	0.96	0.81	0.86	0.73	0.91	0.87	0.88	0.91	0.87	0.85	0.79	0.82	0.75	0.86	0.80	0.69	0.73	0.68	0.74	0.88	0.68	0.81	0.81	0.84	0.94	0.81	0.79	0.81	0.74	0.60	0.37	0.60	0.75	0.68	0.97	1.00				
G38	0.96	0.94	0.79	0.87	0.71	0.92	0.85	0.87	0.93	0.85	0.86	0.77	0.80	0.77	0.88	0.81	0.70	0.71	0.69	0.75	0.83	0.65	0.79	0.82	0.82	0.92	0.83	0.83	0.76	0.72	0.57	0.38	0.65	0.77	0.69	0.92	0.96	1.00			

SRAP verileri ile oluşturulan dağılım grafiğinde de Şekil 4.5’de kıl biber hatlarının bir yerde kümelendiği görülmüştür. Kıl biber hatları ile sivri biber hatları birbirlerine daha yakın gözlemlenirken kapyra tipi ve üç burun biber hatları da birbirlerine yakın çıkmıştır. Göçmen (2006), 31 SRAP primer kombinasyonunun amplifikasyonunda 16 biber genotipi arasındaki benzerlik indeksi değerlerinin 0.29 ile 1.00 arasında değiştiğini rapor etmiştir. Nas (2016), SRAP markırları ile yürüttüğü çalışmada Charleston biber hatları arasındaki genetik benzerlik katsayılarının 0.62 ile 0.98 arasında, dolma biber hatları arasındaki genetik benzerlik katsayılarının da 0.54 ile 1.00 arasında değişim gösterdiğini bildirmiştir. Adalı (2017) ise 18 adet SRAP

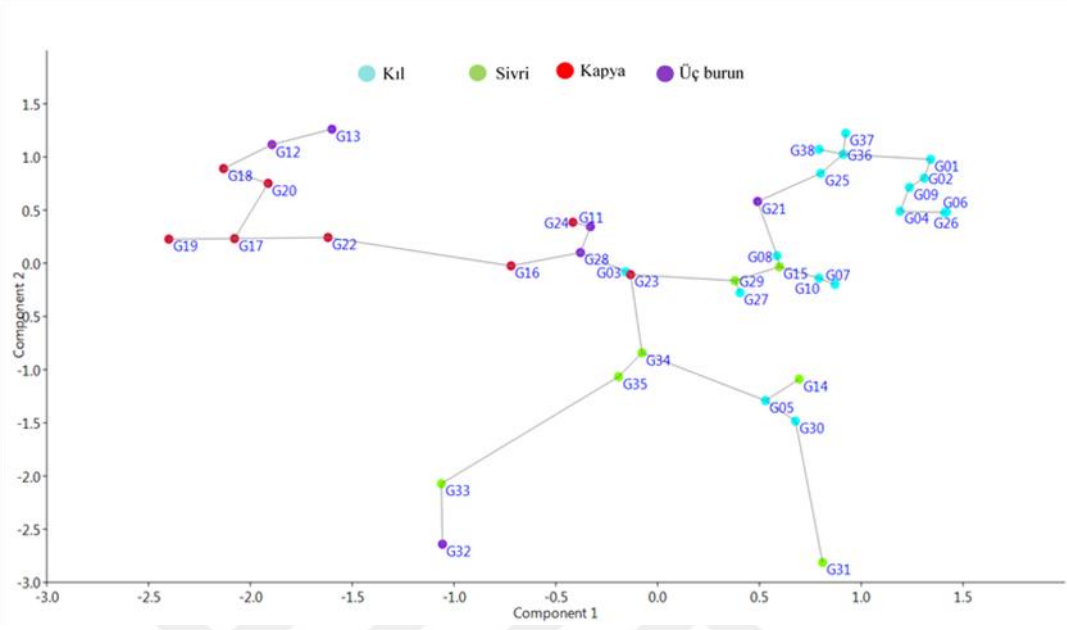
primer kombinasyonu ile biber genotipleri arasındaki genetik benzerlik oranının 0.24 ile 0.72 arasında değiştiğini bildirmiştir. Bozokalfa ve ark., (2017) toplam 94 yerel biber genotipinde yürüttükleri karakterizasyon çalışmalarında biber genotipleri arasındaki genetik benzerlik katsayılarının 0.62 ile 0.94 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir.



Şekil 4.4 SRAP Verilerinden Elde Edilen Biber Genotip ve Çeşitlerine Ait Dendrogram

Genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanılan gen havuzunun niteliği çeşit/genotip/hatlar arasındaki benzerlik katsayılarının değişiminde en önemli faktördür. Genetik tabanı geniş olan yani içinde farklı biber türlerini de içeren veya meyve tipi yönünden farklı genotipleri barındıran biber genetik kaynaklarının karakterizasyonunda benzerlik katsayıları arasındaki yelpaze çok geniş olmaktadır. Yürüttüğümüz bu çalışmada kullandığımız biber ıslah hatları kıl biber, sivri biber, kapyra ve üç burun meyve tiplerine sahip hatlardır. Dolayısı ile SRAP markırları ile oluşturulan dendrogramda biber hatlarının benzerlik indeks değerleri 0.35 ile 0.97 arasında değişim göstermiştir. Yukarıda bazı çalışmalarda görüldüğü gibi meyve tipi

aynı olan bir populasyonun karakterizasyonunda bu değerler birbirlerine daha da yaklaşmıştır.



Şekil 4.5 SRAP Verileri ile Oluşturulan Dağılım Grafiği

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yürütülen bu çalışmada Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Sebzeçilik biriminin biber ıslah genetik kaynağından alınan 35 adet elit biber ıslah hattı ile 3 adet ticari kıl biber çeşidi kullanılmıştır. Çalışmaya konu biberlerden 17'si kıl biber, 8'i kapyra biber, 7'si sivri biber ve 6'sı da üç burun tipi biberlerdir.

Biber hatları arasındaki genetik benzerlikler SRAP markırları yardımı ile belirlenmiştir. Bununla birlikte ıslah hatları PVY, TSWV ve PMMoV'ne dayanıklılık sağlayan sırasıyla Pvr4, Tsw ve L4 genleri yönünden önceki çalışmalarda geliştirilen markırlar yardımı ile taranmıştır. Denemeye alınan biber hatlarından sadece 1'inin (G13) L4 genini taşıdığı ve PMMoV'ne dayanıklı olduğu gözlemlenirken, 5'inin (G11, G13, G15, G17 ve G20) Pvr4 ve 6'sının (G13, G15, G20, G27, G32 ve G33) da Tsw genini taşıdığı ve sırasıyla PVY ve TSWV'ne dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Üç burun tipi biber ıslah hattı G13'ün Pvr4, Tsw ve L4 genlerini taşıdığı ve her üç virüs hastalığına da dayanıklı olduğu görülmüştür. Böylece G13 hattının üç burun tipi biber ıslahı çalışmalarında kullanılabilir önemli bir materyal olduğu ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte G13'ün özellikle PVY, TSWV ve PMMoV hastalıklarına dayanıklı biber ıslah çalışmalarında da genitör olarak kullanılabilir nitelikte önemli bir kaynak olduğu anlaşılmıştır. Markırlar yardımı ile test edilen virüs hastalıklarına dayanıklı çıkan diğer biber hatlarının da sözü edilen virüs hastalıklarına dayanıklı biber çeşidi geliştirme çalışmalarında kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır.

Biber ıslah hatları arasındaki genetik benzerliklerin ortaya konmasında 19 SRAP primer kombinasyonu biber hatları arasında polimorfizm göstermiştir. SRAP markırları yardımı ile yapılan karakterizasyonda toplam 85 allel tespit edilmiş, bunların 56'sı polimorfik olarak kaydedilmiştir. Çalışmada kullanılan primer kombinasyonu başına ortalama polimorfik allel sayısı 2.94 olarak hesaplanmıştır. Primer kombinasyonlarının ortalama polimorfizm oranı 65.39 çıkmıştır. Ayrıca primer kombinasyonlarının ortalama PBI değeri de 0.58 olarak belirlenmiştir.

Temel bileşen analizlerinden elde edilen bulgular ilk 4 eksen ile biber hatları arasındaki toplam varyasyonun % 84.9'u açıklanmıştır. Bu değer biber ıslah hatlarının ayrılmasının başarılı olduğunu göstermektedir.

SRAP markır analizi verileri kullanılarak biber ıslah hatları arasındaki genetik ilişkiler ortaya konulmuştur. Elde edilen korelasyon matrisinden oluşturulan dendrogramda biber ıslah hatları ayrımlanmıştır. Oluşturulan dendrogram ylık oranda ($r=0.90$) korelasyon matrisini temsil etmiştir. Dendrogramda biber hatları arasındaki benzerlik katsayıları 0.35 ile 0.97 (ortalama 0.66) arasında çıkmıştır.

Tamamlanan bu çalışma kapsamında denemeye alınan elit biber ıslah hatlarının genetik benzerlikleri ile PVY, TSWV ve PMMoV hastalıklarına dayanıklılık durumları başarılı bir şekilde ortaya konmuştur. Elde edilen bulgular yeni hibrit biber çeşitlerinin geliştirilmesinde ebeveyn hatların seçimi noktasında ıslahılara katkılar sağlayacaktır. Örneğin TSWV'ne dayanıklı hibrit kıl biber geliştirmek isteyen ıslahı incelenen kıl biberleri arasında sözü edilen hastalığa dayanıklı ve heterozis etkisi (gen rekombinasyonu) nedeniyle de birbirine genetik olarak daha uzak olan kıl biber hatlarını seçecektir.

6. KAYNAKLAR

- Adalı, S. (2017). Bazı Maraş biberi ileri hatlarının moleküler karakterizasyonu. Yüksek lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş.
- Agrios, G. N. (1988). Plant Pathology 3rd (ed) Academic Press. San Diego.
- Ahmed, S. M. (2013). Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in the evaluation of genetic polymorphism of Egyptian *Capsicum* L. hybrids. *African Journal of Biotechnology*, 12 (7), 665-669.
- Andrews, J. (1999). Pepper trail: history & recipes from around the World. Denton: University of North Texas Press, 261 pp.
- Arlı-Sokmen, M., Mennan, H., Sevik, M. A., & Ecevit, O. (2005). Occurrence of viruses in field-grown pepper crops and some of their reservoir weed hosts in Samsun, Turkey. *Phytoparasitica*, 33(4), 347-358.
- Arnedo-Andrés, M., Gil-Ortega, R., Luis-Arteaga, M., & Hormaza, J. (2002). Development of RAPD and SCAR markers linked to the Pvr4 locus for resistance to PVY in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 105(6-7), 1067-1074.
- Bhatt, J., Kumar, S., Patel, S., & Solanki, R. (2017). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers based genetic diversity analysis of cumin genotypes. *Annals of Agrarian Science*. 15, 434-438.
- Bosland ve Votava (2005). Genetic diversity of chile (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.) landraces from northern New Mexico, Colorado, and Mexico. *Economic Botany*, 59(1), 8-17.
- Bozokalfa, M. K., Aşcıoğlu, T. K., & Eşiyok, D. (2017). Biber genotiplerinin genetik çeşitliliklerinin SRAP markörleri kullanılarak belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 32(3), 321.
- Bozokalfa, M. K., & Eşiyok, D. (2010). Biber (*Capsicum annuum* L.) aksesyonlarında genetik çeşitliliğin agronomik özellikler ile belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 47(2), 123-134.
- Campos, A. L., Marostega, T. N., Cabral, N. S. S., Araújo, K. L., Serafim, M. E., Seabra-Júnior, S., & Neves, L. G. (2016). Morphoagronomic and molecular profiling of *Capsicum* spp from southwest Mato Grosso, Brazil. *Genetics and molecular research: GMR*, 15(3).
- Caranta, C., Thabuis, A., & Palloix, A. (1999). Development of a CAPS marker for the Pvr4 locus: a tool for pyramiding potyvirus resistance genes in pepper. *Genome*, 42(6), 1111-1116.
- Chen, X. J., Zhou, K. H., Zong, H. X., & Fang, R. (2012). Genetic diversity of *Capsicum frutescens* in China as revealed by SRAP and SSR markers. *Acta Botanica Boreali Occidentalia Sinica*, 32(11), 2201-2205.
- Chen, X., Cheng, Z., Chen, J., Lou, Q., & Geng, H. (2007). Genetic diversity of pepper germplasm with RAPD, ISSR and phenotypic data. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 27(4), 662-670.

- Costa, F. R. D., Pereira, T. N. S., Sudré, C. P., & Rodrigues, R. (2009). Marcadores RAPD e caracteres morfoagronômicos na determinação da diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões. *Ciência Rural*, 39(3), 696-704.
- Çelik, N., Özalp, R., & Göçmen, M. (2012). Antalya ilinde örtüaltı biber yetiştiriciliğinde Patates Y virüsü (PVY) patotiplerinin belirlenmesi ve bazı biber çeşitlerinin PVY'ye karşı reaksiyonları. *Bitki Koruma Bülteni* 52(3), 235-246.
- Çelik, N., Özalp, R., & Çelik, İ. (2010). Bazı biber hat ve çeşitlerinin tobacco mosaic tobamovirus (TMV)'e dayanıklılığının mekanik inokulasyon ve elisa testleri ile belirlenmesi. *Derim*, 27(2), 1-9.
- Davis, G. L., McMullen, M. D., Baysdorfer, C., Musket, T., Grant, D., Staebell, M., & Houchins, K. (1999). A maize map standard with sequenced core markers, grass genome reference points and 932 expressed sequence tagged sites (ESTs) in a 1736-locus map. *Genetics*, 152 (3), 1137-1172.
- Demir, M. (2005). Determination of viruses transmitted with aphids red pepper producing in Kahramanmaraş.
- Dhaliwal, M. S., Yadav, A., & Jindal, S. K. (2014). Molecular characterization and diversity analysis in chilli pepper using simple sequence repeats (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 13 (31).
- Dice, L. R. (1943). The biotic provinces of North America. The biotic provinces of North America.
- Du, X., Wang, D., & Gong, Z. (2010). Comparison of RSAP, SRAP and SSR markers for genetic analysis in hot pepper. *Indian Journal of Horticulture*, 67(4), 505-512..
- Ekbiç, E. (1998). Biberlerde Patates Y Virüsüne (PVY) dayanıklılık özelliği için Bulk Segregant Analizi Tekniği (BSA) ile RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Marker'larının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana.
- FAO, (2017). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/statistics/en> (Erişim 06.12.2018)
- Filiz, E., & Koç, İ. (2011). Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, (2).
- Geleta, L. F., Labuschagne, M. T., & Viljoen, C. D. (2005). Genetic variability in pepper (*Capsicum annuum* L.) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. *Biodiversity & Conservation*, 4 (10), 2361-2375.
- Göçmen, M. (2006). Biberlerde *Phytophthora capsici*'ye Karşı Dayanıklılıkta Genotip X İzolat İnteraksiyonu ve Farklı Dayanıklılık Kaynaklarının Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Greenleaf, W. H. (1986). Pepper breeding. *Breeding Vegetable Crop*, 67-134.

- Gupta, M., Chyi, Y. S., Romero-Severson, J., & Owen, J. L. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 89 (7-8), 998-1006.
- Güleç, T. E., Yıldırım, A., & Sönmezoğlu, Ö. A. (2010). Bitkilerde Markör Destekli Seleksiyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 67-79.
- Gülşen, O., & Mutlu, N. (2005). Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. *Alatarım*, 4(2), 27-37.
- Haymes, K. M. (1996). Mini-Prep Method Suitable for a Plant Breeding Program. *Plant Molecular Biology Reporter*, 14(3), pages 280-284.
- Hazarika, R., & Neog, B. (2014). Investigation of intraspecific diversity in *Capsicum chinense* using morphological and molecular markers. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 74(3), 392-395.
- Ibarra-Torres, P., Valadez-Moctezuma, E., Pérez-Grajales M., Rodríguez-Campos, J., & Eugenia Jaramillo-Flores, M.E. (2015). Inter- and Intraspecific Differentiation of *Capsicum annuum* and *Capsicum pubescens* Using ISSR and SSR Markers. *Scientia Horticulturae*, 181, 137-146.
- Karataş, K., Arpacı, B. B., Buzkan, N., & Tekik, A. G., (2017). Bazı Kırmızı Biber Hatlarının Patates Y Virüs (Potato Virus Y, Pvy) Patotiplerine Reaksiyonları. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34(2), 65-73.
- Keleş, D. (2007). Farklı biber tiplerinin karakterizasyonu ve düşük sıcaklığa toleransı. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana (Basılmamış).
- Kellerhals, M., Patocchi, A., Duffy, B., & Frey, J. (2008). Modern approaches for breeding high quality apples with durable resistance to scab, powdery mildew and fire blight. In Ecofruit-13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing: Proceedings to the Conference from 18th February to 20th February 2008 at Weinsberg/Germany (pp. 226-231).
- Korkmaz, H., & Durmaz, A. (2017). Responses of Plants to Abiotic Stress Factors (Bitkilerin Abiyotik Stres Faktörlerine Verdiği Cevaplar). *GUFBED*, 7(2), 192-207.
- Kwon, Y. S., Lee, J. M., Yi, G. B., Yi, S. I., Kim, K. M., Soh, E. H., & Kim, B. D. (2005). Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Molecules & Cells (Springer Science & Business Media BV)*, 19(3):428-35.
- Li, G., & Quiros, C. F. (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theoretical and Applied Genetics*, 103 (2-3), 455-461.
- Lidong, W., Yanquan, L., & Ying, L. (2012). Analysis on correlation between genetic distance of pepper parents and heterosis of yield with SRAP molecular marker. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University*.

- Matsunaga, H., Saito, T., Hirai, M., Nunome, T., & Yoshida, T. (2003). DNA markers linked to Pepper mild mottle virus (PMMoV) resistant locus (L4) in *Capsicum*. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 72(3), 218-220.
- Milligan, S. B., Bodeau, J., Yaghoobi, J., Kaloshian, I., Zabel, P., & Williamson, V. M. (1998). The root knot nematode resistance gene Mi from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. *The Plant Cell*, 10(8), 1307-1319.
- Minamiyama, Y., Tsuru, M., & Hirai, M. (2006). An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. *Molecular Breeding*, 18(2), 157-169.
- Moodley, V., Naidoo, R., & Gubba, A. (2015). Screening of pepper (*Capsicum annuum* L.) lines for resistance to an isolate of Potato virus Y (PVY) occurring in KwaZulu-Natal (KZN), Republic of South Africa. *Crop Protection*, 68, 36-40.
- Moury, B., Pflieger, S., Blattes, A., Lefebvre, V., & Palloix, A. (2000). A CAPS marker to assist selection of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in pepper. *Genome*, 43(1), 137-142.
- Nas, Y. 2016. Biber Hatlarında Moleküler Markörlerle Genetik İlişkilerin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Bornova-İZMİR
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 106(949), 283-292.
- Özkaynak, E., Devran, Z., Kahveci, E., Doğanlar, S., Başköylü, B., Doğan, F., İşleyen, M., Yüksel A., & Yüksel, M. (2014). Pyramiding multiple genes for resistance to PVY, TSWV and PMMoV in pepper using molecular markers. *European Journal of Horticultural Science*, 79(4), 233-239.
- Palmer, J. D. (1992). Mitochondrial DNA in plant systematics: applications and limitations. In *Molecular systematics of plants*. Springer, Boston, MA. pp. 36-49.
- Ren, Y., Zhang, Y. D., Yin, J. M., & Wang, D. Y. (2008). Parent grouping of 31 elite inbred lines in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Yi chuan= Hereditas*, 30(2), 237-245.
- Rohlf, F. J., 1998, State University Of New York, Stony Brook, Newyork
- Rossi, M., Goggin, F. L., Milligan, S. B., Kaloshian, I., Ullman, D. E., & Williamson, V. M. (1998). The nematode resistance gene Mi of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(17), 9750-9754.
- Salamon, P., Mitykó, J., Kaló, P., & Szabó, Z. (2016). Symptoms caused by Tomato spotted wilt virüs (TSWV) in pepper (*Capsicum* spp.) and marker assistekkd selection of TSWV resistant pepper lines forhy brid constructions. *Proceedings XVI. Eucarpia Capsicumand Egg plant Meeting, Kecskemét, Hungary, 12-14. Sept. 2016: 69-75.*


- Sánchez-Solana, F., Ros, C., Lacasa, C. M., Palloix, A., & Lacasa, A. (2016). Nematode quantitative resistance conferred by the pepper genetic background presents additive effects and is stable against different isolates of *Meloidogyne incognita*. *Plant Pathology*, 65(4), 673-681.
- Sharmin, A., Hoque, M. E., Haque, M. M., & Khatun, F. (2018). Molecular Diversity Analysis of Some Chilli (*Capsicum* spp.) Genotypes Using SSR Markers. *American Journal of Plant Sciences*, 9(3), 368-379.
- Sitthiwong, K., Matsui, T., Sukprakarn, S., Okuda, N., Kosugi, Y. (2005). Classification of pepper (*Capsicum annuum* L.) accessions by RAPD analysis. *Biotechnology*, 4(4), 305-309.
- Şimşek, D. (2015). Moleküler İslah Yöntemleri Kullanılarak Tospovirus ve Tobamo Viruslere Dayanıklı Çarlı Biber (*Capsicum Annum* L.) Hat ve Çeşitlerinin Geliştirilmesi. *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi*, 1(1), 1-5.
- TÜİK, (2017). Türkiye İstatistik Kurumu. <http://tuik.gov.tr> (Erişim 13. 12. 2018)
- Tsaballa, A., Ganopoulos, I., Timplalex, A., Alik, X., Bosmalı, I., Irini, N. O., & Madesis, P. (2015). Molecular characterization of Greek pepper (*Capsicum annuum* L) landraces with neutral (ISSR) and gene-based (SCoT and EST-SSR) molecular markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 59, 256-263.
- Verit A., Yeni E., & Ünal D. (2001). Tarihten Günümüz Ürolojisine Kırmızı Acı Biber. *Türk Üroloji Dergisi*, 27(4), 399-402.
- Villela, J. C. B., Barbieri, R. L., Castro, C. M., Neitzke, R. S., de Vasconcelos, C. S., Carbonari, T., & Priori, D. (2014). Caracterização molecular de variedades crioulas de pimentas (*Capsicum baccatum*) com marcadores microssatélites. *Horticultura Brasileira*, 32(2).
- Vural, H., Eşiyok, D., & Duman, İ. (2000). Kültür sebzeleri Sebze yetiştirme. Ege Üniversitesi, İzmir.440s.
- Xu, X. S., Liu, Z. Q., Lin, X. D., Mou, S. L., Guan, D. Y., & He, S. L. (2011). Genetic diversity and relationship analysis of pepper germplasm resources based on phenotype traits and SRAP molecular markers. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 40(1):48-53.
- Xiaohua, D., Deyuan, W., & Zhenhui, G. (2010). Comparison of RSAP, SRAP and SSR markers for genetic analysis in hot pepper. *Indian Journal of Horticulture*, 67(4), 505-512.
- XueJun, C., KunHua, Z., HongXia, Z., & Rong, F. (2012). Genetic diversity of *Capsicum frutescens* in China as revealed by SRAP and SSR markers. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 32(11), 2201-2205 ref.22.
- Yağcıoğlu, M., Gülşen, O., Solmaz, İ., Yetişir, H., & Sarı, N. (2016). Genetic analyses of Turkish watermelons based on SRAP markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40, 613-620.
- Yeşil, S., & Ertunç, F., (2012). Bitki Virüsleriyle Mücadelede Yeni Stratejiler: Virüs Enfeksiyonlarına ve Vektörlerine Karşı Dayanıklılığın Geliştirilmesi. *İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(4), 19-28.

- Yıldız, M., Ekbiç, E., Keleş, D., Şensoy, S., & Abak, K., (2011). Use of ISSR, SRAP, and RAPD markers to assess genetic diversity in Turkish melons. *Scientia Horticulturae*, 130, 349-353.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., & Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, (4), 1-12.
- Yu, R., YinDong, Z., JunMei, Y., & Yuan, W. D. (2008). Parent Grouping of 31 Elite İnbred Lines in Hot Pepper. *Hereditas* (Beijing) 30(2), 237-245.
- Zhang, X. M., Zhang, Z. H., Gu, X. Z., Mao, S. L., Li, X. X., Chadœuf, J., & Zhang, B. X. (2016). Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp.) germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(9), 1991-2001.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Ceylan Özlem OKAY
Doğum Yeri	Diyarbakır
Doğum Tarihi	03.01.1992
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05534429101
E-Posta Adresi	cozlemm.okay@gmail.com



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Fakülte	Ziraat Fakültesi
Bölümü	Bahçe Bitkileri
Mezuniyet Yılı	22.05.2016
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.