

**KİLİS 7 ARALIK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI GELİŞİM DÖNEMLERİNDEKİ BİBER BİTKİLERİNDE TÛTÛN  
YANIKLIK VİRÛSÛNÛN YOĞUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI**

**GÛLENDAM DİLARA TÛRKTUNĐ**

**DANIŞMAN: Yrd. DoÇ. Dr. BEKİR BÛLENT ARPACI**

**YÛKSEK LİSANS TEZİ  
BAHĐE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**EYLÛL 2015**

**KİLİS**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Yrd. Doç. Dr. Bekir Bülent ARPACI danışmanlığında, GÜLENDAM DİLARA TÜRKTUNÇ tarafından hazırlanan “Farklı Gelişim Dönemlerindeki Biber Bitkilerinde Tütün Yanıklık Virüsünün Yoğunluğunun Araştırılması” adlı tez çalışması 14/09/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı, Adı Soyadı (Kurumu)	İmza
Başkan		
Üye		
Üye		

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ...../...../201... tarih ve ...../..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Tez No: .....

Bu tez çalışması .....tarafından desteklemiştir.

Yrd. Doç. Dr. Nail İLHAN  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### FARKLI GELİŞİM DÖNEMLERİNDEKİ BİBER BİTKİLERİNDE TÜTÜN YANIKLIK VİRÜSÜNÜN YOĞUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

**Gülendam Dilara TÜRKTUNÇ**

Kilis 7 Aralık Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Bekir Bülent ARPACI**

YIL: 2015 Sayfa: 32

Bu çalışmada KM2-11, CM334 ve Sena genotiplerinden geliştirilen 22, KM2-11, PM217 (67) ve Sena genotiplerinden geliştirilen 21 hattın tütün yanıklık virüsüne tepkileri araştırılmıştır. Hatay (774 nolu izolat) ve Antalya (1002 nolu izolat) illerinden toplanan TEV izolatlarının W4, Florida VR2, Yolo Y, Yolo Wonder biber çeşitlerinde fide, meyve tutumu ve olgunlaşma döneminde meydana getirdiği değişimler izlenmiştir. Yolo Wonder, *pvr2*<sup>+</sup>; Yolo Y, *pvr2*<sup>1</sup>; Florida VR2, *pvr2*<sup>2</sup>; W4 *pvr2*<sup>3</sup> allerini bulduran genotiplerin tamamı 774 numaralı TEV izolatına dayanıklılık gösteremezken *pvr2*<sup>2</sup> alleleline sahip Florida VR2 1002 numaralı TEV izolatına dayanıklılık göstermiştir. Geliştirilen 43 hat içerisinde 4 numaralı hat her iki TEV izolatına dayanmış diğer hat ve çeşitlerin tamamı hastalanmıştır. Farklı gelişim dönemlerinde TEV bulaştırılan W4, Florida VR2, Yolo Y, Yolo Wonder biber çeşitlerinde TEV'nün farklı biber gelişim dönemlerindeki multiplikasyonları arasında farklılık görülmemiştir.

**Anahtar Kelimeler :** Tütün yanıklık virüsü, Biber, Dayanıklılık

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### INVESTIGATION OF TOBACCO ETCH VIRUS MULTIPLICATION AT DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES IN PEPPER

**Gülendam Dilara TÜRKTUNÇ**

Kilis 7 Aralık University  
The Institute for Studies in Sciences and Engineering  
Department of Horticulture

**Supervisor: Assist. Prof. Dr. Bekir Bülent ARPACI**

Year: 2015    Page: 32

In this study response of 22 lines developed from KM2-11, CM334 genotypes and 21 lines developed from, KM2-11, PM217 (67), Sena to Tobacco etch virus were investigated. Changes caused by TEV isolates collected from Hatay (774 numbered isolates) and Antalya (1002 numbered isolates) on seedling, fruit set and ripening stages of W4, Florida VR2, Yolo Y Yolo Wonder of pepper varieties were observed. Yolo Wonder, *pvr2*<sup>+</sup>; Yolo Y, *pvr2*<sup>1</sup>; Florida VR2, *pvr2*<sup>2</sup>; W4 *pvr2*<sup>3</sup> genotypes containing alleles did not resist 774 TEV isolate, but the Florida VR2 containing resistance *pvr2*<sup>2</sup> allele showed resistance to 1002 TEV isolate. All of the developed 43 lines and varieties did not resist both TEV isolates except line 4. TEV infected at different developmental stages of W4, Florida VR2, Y Yolo, Yolo Wonder were not differed according to the TEV multiplication in different developmental stages of pepper.

**Key Words :** Tobacco Etch Virus, Pepper, Resistance

## TEŞEKKÜR

Bana bu araştırma konusunu veren ve Yüksek Lisans programı süresince yardımlarını benden esirgemeyen, alışmalarım esnasında her türlü desteğini aldığım, her türlü özveriye gösteren değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Bekir Bülent ARPACI' ya, teőekkürlerimi sunarım.

Mekanik inokülasyonlar ve ELISA testi çalışmalarında bana yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Bekir Bülent ARPACI' ya teőekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans tez jürisinde yer olan hocalarıma tezimin biçimlenmesinde ve değerlendirilmesinde verdikleri olumlu katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Gülendam Dilara TÜRKTUNÇ  
KİLİS, EYLÜL 2015

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>SAYFA</b>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
2.1. Yaprak Bitleri ile Taşınımı.....	8
2.2. Kontrol Yöntemleri.....	9
2.3. TEV'in Bitkide Belirtisi ve Dayanımlı Türler.....	9
2.4. Tek iplikli ( Pozitif Duyarlı ssRNA Virüsleri ) RNA Virüslerinin Özellikleri.....	9
2.5. Resesif Dayanımlılık Genleri.....	10
3. MATERYAL ve METOT.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. Bitkisel Materyal.....	13
3.1.2. Viral Materyal.....	15
3.2. Metot.....	15
3.2.1. Fidelerin Yetiştirilmesi.....	15
3.2.2. TEV İzolatlarının Kontrolü.....	15
3.2.3. TEV İzolatlarının Çoğaltılması.....	15
3.2.4. Mekanik İnokülasyon.....	16
3.2.5. Farklı gelişme dönemlerinde biberlerin TEV izolatlarına tepkisi.....	17
3.2.6. Serolojik Testler.....	17
3.2.6.1. Test Örneklerinin Hazırlanması.....	18
3.2.6.2. DAS-ELISA Testinin Uygulanması.....	18
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	20
4.1. Semptomatolojik Gözlemler.....	20
4.1.1. TEV izolatlarının tütün bitkisinde oluşturduğu semptomlar	20
4.1.2. TEV izolatlarının biber bitkisinde oluşturduğu semptomlar	20
4.2. Serolojik Testler.....	21
4.2.1. İndikatör bitkilerin ve geliştirilen populasyonların TEV'ne tepkileri	21
4.2.2. TEV izolatlarının biberlerin farklı gelişme dönemlerinde multiplikasyonu .....	23
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	25
6. KAYNAKLAR.....	26
7. EKLER.....	31
8. ÖZGEÇMİŞ.....	33

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMV:	Alfalfa mosaic virus (Yonca mozaik virüsü)
CMV:	Cucumber mosaic virus (Hıyar mozaik virüsü)
CM344:	Criollo de Morelos 334
CAPS	Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
DAS:	Double Antibody Sandwich
ELISA:	Enzim ilintili immün test
eIF4E:	Ökaryotik translasyon başlangıç faktörü 4E
EMS:	Etil metan sülfat
FAO:	Gıda ve Tarım Örgütü
GM:	Geriye melez
ha	Hektar
k:	kilo
kb:	Kilobaz
LMV:	Letuce mosaic virus (Marul mozaik virüsü)
Kn	Kontrol
M:	Molar
MAS:	Marker Assisted Selection ( Markırlara dayalı seleksiyon)
mg:	Miligram
ml:	Mililitre
mRNA:	Mesajcı RNA
nm:	Nano metre
O.D. <sub>405</sub> :	405 nm okuma değeri
PeVeMoV	Pepper veinal mottle virus(Biber damar beneklenme virüsü)
PLRV:	Potato leafroll virus (Patates yaprak kıvrıcıklığı virüsü)
PMMoV:	Pepper mild mottle virus (Biber hafif benek virüsü)
PSbMV:	Pea seed_borne mosaic virus ( Bezelye seed_borne mozaik virüsü)
PVA:	Potato virüs A (Patates A virüsü)
PVM:	Potato virüs M (Patates M virüsü)
<i>Pvr</i> :	Potyvirüslere dayanıklılık lokusu
PVX:	Potato virus X (Patates X virüsü)
PVBV:	Biber çizgili damar Virüsü

PVY:	Potato virus Y (Patates Y virüsü )
R:	Dayanıklı
RNA:	Ribonükleik asit
S:	Hassas
SD8:	Serademre 8
SHV:	Caribbean Red
TEV:	Tobacco etch virus (Tütün yanıklık virüsü)
TMV:	Tobacco mosaic virus (Tütün mozaik virüsü)
ToMV:	Tomato mosaic virus (Domates mozaik virüsü)
TSWV:	Domates lekeli solgunluk virüsü
TuMV:	Turnip mosaic virus (Şalgam mozaik virüsü)
TÜİK:	Türkiye İstatistik Kurumu
µl:	Mikrolitre
VPg:	Viral protein kodlayan bölge
W/V:	Ağırlık/Hacim



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Adı	SAYFA
Şekil 1. KM2-11 x CM334 (81) ile Sena genotiplerinden geliştirilen populasyonun ıslah şeması.....	14
Şekil 2. KM2-11 x PM217 (67) ile Sena genotiplerinden geliştirilen populasyonun ıslah şeması.....	14
Şekil 3. Biber ve tütün bitkilerine mekanik inokülasyonun yapılışı.....	17
Şekil 4. TEV'nün tütün bitkisinde meydana getirdiği belirtiler.....	20
Şekil 5. TEV'nün biber bitkisinde meydana getirdiği belirtiler.....	21
Şekil 6. Farklı gelişme dönemlerindeki biber genotiplerine bulaştırılan TEV izolatlarının ELISA okuma değerleri (O.D. 405 nm).....	23
Şekil 7. Farklı gelişme dönemlerinde TEV izolatları inoküle edilen biber bitkileri.....	24

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge Adı	SAYFA
Çizelge 1. Türkiye’de üretilen biber çeşitlerinin üretim.....	3
Çizelge 2. Kırmızıbiberin bileşimi.....	4
Çizelge 3. İndikatör biber genotiplerinin TEV inokülasyonları sonucu gösterdikleri ELISA okuma değerleri (405 nm).....	21
Çizelge 4. Geliştirilen biber populasyonlarının TEV inokülasyonları sonucu gösterdikleri ELISA okuma değerleri (405 nm).....	22

## 1.GİRİŞ

Anayurdu Güney Amerika'dan dünyaya yayılan biber (*Capsicum annuum*) dünya genelinde olduğu gibi ülkemizin pek çok bölgesinde de yetiştirilmektedir. Biber ülkemizde Erzurum-Kars gibi yüksek ve soğuk yaylalar hariç özellikle batı ve güney sahil şeridinde yoğun olarak yetiştirilmektedir. Kahramanmaraş, Gaziantep, Adana, Şanlıurfa illerinde yoğun olarak yetiştirilen biber bölge insanı için önemli bir geçim kaynağı olmaktadır. Biberin önemi meyvelerinin farklı şekillerde kullanılmasından dolayıdır. Biber meyveleri ham, olgunlaşmış olarak tüketiminin yanısıra pul biber, salça, kurutmalık olarak da kullanılmaktadır.

Biberin insan beslenmesinde kullanımının yaklaşık 7 bin yıl önceye uzandığı, yetiştiriciliğinin ise 5 bin yıldan beri yapıldığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. (Heiser, 1973). Pickersgill (1969), arkeolojik bulgular ışığında biberin anavatanının Amerika kıtası olduğunu ve *Capsicum baccatum* L. türünün ilk kez M.Ö 2000 yıllarında Peru'da yetiştirilmeye başlandığını bildirmiştir. Aztek, Maya ve İnka yerli halkları üzerinde mistik ve ruhani bir etkisi olan biber, uzun yıllar tanrının bir hediyesi olarak kabul görmüştür (Bosland ve Votava, 1999).

Solanaceae familyasına dahil olan *Capsicum* cinsi içerisinde yaklaşık 30 türden bahsedilmektedir. Ancak temel olarak *Capsicum annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., ve *C. pubescens* Ruiz & Pav. olmak üzere 5 tür kültüre alınmıştır.

Biber dünyada en çok ticareti yapılan baharatın üretiminde kullanılan bir sebzedir. Türkiye'nin biber üretiminin yaklaşık %10'u, baharat kırmızıbiber üretmek amacı ile gerçekleştirilmektedir. Türkiye'de yıllık üretilen pul ve toz biber miktarı 15 000 tondur. Kırmızıbiber ağırlıklı olarak, Şanlıurfa, Gaziantep, Kilis ve Kahramanmaraş illerinde üretilmektedir. Bu bölgenin kırmızıbiberleri acı tiplerden oluşmaktadır. Dünyanın toplam taze biber üretimi 30 milyon ton, kurutulmuş biber üretimi ise 3 milyon tondur. Karabiber üretimi ise 400 bin ton olup bu değer kurutulmuş biber üretiminin onda biri kadardır. Dünyada en çok biber üretimi yapan ülke, 15 milyon ton üretim değeri ile Çin'dir. Türkiye ise 2 milyon ton biber üretimi ile Meksika'nın ardından 2. sırada yer almaktadır.

Kurutulmuş kırmızıbiber üretiminde ise, 1.500.000 ton ile Hindistan ilk sırada yer alırken, bu ülkeyi sırasıyla 280.000 ve 200.000 ton üretim ile Çin ve Pakistan izlemektedir. Türkiye 15000 ton kırmızıbiber üretimiyle, Nepal'in ardından 24. Sırada yer almaktadır.. ABD'nin kuru biber üretim değerleri ise FAO istatistiklerinde yer almamaktadır. Önemli baharatlık biber üretici ülkelerin başında gelen Hindistan 2000 yılında 900 bin ton olan üretimini %50 oranında arttırarak 2014 yılında 1 milyon 500 bin tona çıkarmıştır. Çin, Pakistan ve Tayland bu süreç içerisinde üretim miktarını korumuştur. Peru da üretimini arttıran ülkeler arsındadır. Bu ülke 2000 yılı başlarında 60 bin ton üretimini 170 bin tona çıkarmıştır. Türkiye ise 20 bin ton olan üretimini 15 bin tona düşürmüştür (Çizelge 1.).

Dünya kırmızıbiber ticaret hacmi 2 milyar dolardır. Bu miktarın 980 milyon doları ihracat geri kalanı ise ithalat kısmını oluşturmaktadır. Dünyanın en çok baharatlık biber ihracatı yapan ülkesi Hindistan'dır. Hindistan 2014 yılında 270 bin ton kırmızıbiber satarak 340 milyon dolar gelir elde etmiştir. Bu değerlere bakıldığında Dünya kırmızıbiber ihracatının %40' a yakınına Hindistan'ın sahip olduğu söylenebilir. Hindistan'ın kırmızıbiber dışsatım fiyatı kilogram başına 1,28 Amerikan dolarıdır. Bununla birlikte ithalatı yok denecek kadar azdır. Diğer önemli ihracatçı olan Çin ise kilogramı 2,58 dolardan 75 bin ton kırmızıbiber satarak 200 bin dolar gelir elde etmiştir. ABD ise en fazla kırmızıbiber dışalımını yapan ülkedir ve 2014 yılında 100 bin ton kırmızıbiber için 220 bin Amerikan Doları ödemiştir. ABD kırmızıbiberi alım fiyatı ortalama 2,13 dolar/kg'dır. Almanya önemli kırmızıbiber üreten bir ülke olmamasına rağmen kırmızıbiberi en yüksek değerden satan ülkedir. Almanya 20 bin ton kırmızıbiber alıp 5000 ton kırmızıbiber satışı gerçekleştirmiştir. Tayland önemli bir kırmızıbiber üreticisi olmasına rağmen 140 bin ton üretiminin üzerine 40 bin ton daha kırmızıbiber ithal etmiştir. Bangladeş'te de benzer durum söz konusudur. 110 bin ton kırmızıbiber üreten Bangladeş 28 bin ton daha kırmızıbiber ithal etmiştir.

Türkiye kırmızıbiber ihracat miktarları 2000-2014 yılları arasında, 1093 ton ile 2206 ton arasında değişim göstermiştir. Ülkemiz 2000 yılında 1400 ton kırmızıbiber ihraç etmiş, buna karşılık döviz girdisi 5.3 milyon dolar olmuştur. 2006 yılında ise 1100 ton kırmızıbibere karşılık 2.5 milyon \$ gelir elde etmiştir (TUİK, 2009). 2010 yılında ise 900 ton kırmızıbiber ihraç ederek 3 milyon \$ döviz girdisi sağlamıştır.

Çizelge 1. Türkiye’de üretilen biber çeşitlerinin üretim miktarları (TUIK, 2014)

<b>Meyvesi için yetiştirilen sebzeler, 1999-2014</b>				
<b>Vegetables cultivated for their fruits, 1999-2014</b>				
<b>(Ton - Tonne)</b>				
<b>Biber - Pepper</b>				
	<b>Salçalık, kapy</b>	<b>Dolmalık</b>	<b>Sivri</b>	<b>Çarliston</b>
	<b>For processed, capia</b>	<b>Bell</b>	<b>Green</b>	<b>Banana</b>
<b>1999</b>	-	393 000	1 069 000	-
<b>2000</b>	-	390 000	1 090 000	-
<b>2001</b>	-	410 000	1 150 000	-
<b>2002</b>	-	410 000	1 340 000	-
<b>2003</b>	-	420 000	1 370 000	-
<b>2004</b>	615 000	375 000	710 000	-
<b>2005</b>	685 000	400 000	744 000	-
<b>2006</b>	673 981	392 617	775 577	-
<b>2007</b>	674 788	357 246	725 192	-
<b>2008</b>	690 531	371 050	734 596	-
<b>2009</b>	700 038	384 273	752 692	-
<b>2010</b>	782 173	387 626	816 901	-
<b>2011</b>	730 493	364 930	879 846	-
<b>2012</b>	748 422	383 213	910 725	-
<b>2013</b>	814 372	398 470	946 506	-
<b>2014</b>	829 809	391 009	907 126	104 364

Türkiye’de biber üretimi çoğunlukla Gaziantep, Şanlıurfa, Kilis, Kahramanmaraş ve Hatay illerinde gerçekleştirilmektedir. Bu illerin dışında Aydın, Afyon, Diyarbakır, Bursa, Muğla, Manisa ve Kütahya illerinde de üretim gerçekleştirilmekle birlikte, bu illerin toplam üretim alanı 3.845 dekar ve üretimi 648 tondur. Türkiye’de 2010 yılında, yaklaşık 97.000 dekarlık alanda, 174.000 ton kırmızıbiber üretimi gerçekleşmiştir (TUIK, 2012).

### **Besin Değeri ve Sağlığa Etkisi**

Baharat olarak yetiştirilen biberlerde temel kalite kriterleri, renk ve acılıktır. Acılık hissine neden olan maddeler de kapsaisinoidlerdir. Bu madde grubunun biberdeki göreceli çokluğu kaliteyi simgeler. Toplam kapsaisinoidler, kapsaisin ile birlikte kimyasal yapıları birbirine çok benzeyen dört farklı alkoloidi (dihidro kapsaisin, nor-dihidro-kapsaisin, homo-hidro-kapsaisin, homo-kapsaisin) daha içermektedir (Greenleaf, 1986).

Çizelge 2. Kırmızıbiberin Bileşimi (100 g. Meyve)

Kimyasal Bileşimi	Vitaminler		Mineraller		
Nem (g)	6,20	Tiamin (mg)	0,52	Kalsiyum (g)	0,10
Enerji (cal)	420,00	Riboflavin (mg)	0,93	Fosfor (g)	0,32
Protein (g)	16,00	Niasin (mg)	13,60	Sodyum (g)	0,01
Yağ (g)	15,50	Askorbik asit (mg)	29,40	Potasyum (g)	2,10
Toplam Karbonhidrat (g)	54,30	Vitamin A (IU)	3,530	Demir (mg)	9,90
Lif Karbonhidrat (g)	26,00				
Toplam Kül (g)	8,00				

Kapsaisin, mide suyu ve tükürük oluşumunu artırır. Sindirimi kolaylaştırır. Romatizma, mafsallık ve diş ağrılarını azaltır; krampları giderir. Kolera ve gut hastalıkları başta olmak üzere birçok hastalığa iyi gelir. Kanseri riskini azaltır ve kanser tedavisinde kullanılır. Terlemeyi artırır, serinlik verir (sıcak iklimlerde kullanılmasının nedeni budur). Öksürük ve boğaz ağrılarını gidermede (gargara olarak) etkilidir. Sinir hastalıklarında doğal yatıştırıcıdır. Vücuttaki aşırı yağ ve kolesterol birikiminin önlenmesini sağlar. Antibakteriyel etkisi ile hastalıkların önlenmesinde etkilidir (Abak, 1997; Akıncı ve Akıncı, 1999). Türkiye’de üretimi yapılan Sena kırmızıbiber çeşidinin sindirim sisteminde hastalık yapan birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Topak ve ark., 2008).

ASTA (Amerikan Baharat Ticareti Derneği) tarafından da acılık için, Scoville Heat Unit tercih edilmektedir (ASTA, 1985). Biber genotiplerinde acılığın 0 SHU (Sweet Italian) ile 445.000 SHU (Carribbean Red) arasında değiştiğini bildirmektedirler (Everhart ve ark., 2009). Günümüzde dünyanın en acı biberi 1.001.304 SHU acılık değeri ile Bhut Jolokia’dır. Kahramanmaraş kırmızıbiberinin acılık değerlerinin 7.000 ile 48.000 SHU arasında değiştiği belirlenmiştir (Arpacı ve ark., 2008).

Kırmızıbiberlerde kalite açısından önemli bir başka madde grubu da karotenoidlerdir. Başta antioksidan nitelikleri olmak üzere çeşitli yararları bilinen karotenoidler, biber meyvelerine renk kazandırmaktadırlar. Biber meyvelerine yeşil rengi klorofil (a ve b); sarı ve turuncu rengi lutein, zeaxanthin, violaxanthin, antheraxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin ve  $\beta$ -carotene; kırmızı rengi de sadece biberde bulunan capsanthin, capsorubin ve cryptocapsin pigmentleri kazandırmaktadır (Bosland ve Votava, 1999). Bu özellikleri

nedeniyle biber gıda sanayinde doğal renk maddesi olarak da kullanılmakta ve giderek önem kazanmaktadır. Govinda ve ark., (1999), Hindistan orijinli bazı çeşitlerin ASTA değerlerinin 76-95 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Kahramanmaraş kırmızıbiberinde ise ASTA değerleri 32-155 arasında değişmektedir (Arpacı ve ark., 2014).

Virüs enfeksiyonları biber yetiştiriciliğini sınırlayan önemli bir faktördür. Türkiye’de de biber tarımının yapıldığı birçok yerde, çeşitli virüslerin enfeksiyonları rapor edilmiştir (Arlı-Sökmen ve ark. 2005; Buzkan ve ark., 2006, 2013). Bunlar içerisinde bitkide zarar etkisi yüksek olan *Tütün yanıklık virus (Tobacco etch virus, TEV)*, (*Potyvirus*) bugüne kadar ABD, Meksika, Sudan, Nijerya, Venezuela, Çin’de bildirilmişken (Green ve Kim, 1991), Akdeniz havzasında sadece Türkiye’de Güneydoğu Anadolu ve Doğu Akdeniz bölgeleri’ndeki alanlarda rapor edilmiştir (Buzkan ve ark., 2006; Moury ve Verdin, 2012). TEV’ün zarar etkisi, virüsün ırkına, bitkinin genetik yapısına ve bitkinin başka virüslerle bulaşık olup olmadığına göre değişiklikler göstermektedir. Bu zararın %70 ürün kaybına sebep olabilecek düzeylere ulaştığı bildirilmiştir (Green ve Kim, 1991).

Biber yetiştirilen yerlerde özellikle açık arazilerde virüs enfeksiyonları yaygın olarak tespit edilmiştir. ve ark., (2006), yaygın biber yetiştiriciliği yapılan Güneydoğu (Şanlıurfa, Gaziantep) ve Doğu Akdeniz (Kahramanmaraş, Hatay) bölgelerinde biberde yaprakbitleriyle taşınan virüs enfeksiyonlarını tespit etmek amacıyla çalışma yapmışlardır. Toplanan örnekler *Hıyar mozaik virüsü (CMV)*, *Yonca mozaik virüsü (AMV)*, *Patates X virüsü (PVX)*, *Patates Y virüsü (PVY)*, *Biber hafif benek virüsü (PepMoV)* ve *Tütün yanıklık virüsü (TEV)* için analiz edilmişler ve örneklerin % 64,8’inin bir veya daha fazla virüsle enfekteli olduğu belirlenmiştir. Biber yetiştiriciliğinde PVY ve TEV’nün enfeksiyonlarının kontrolü, biber genetik kaynaklarında mevcut olan ve çok geniş kapsamlı çalışılmakta olan genetik dayanıklılığın sağlanmasıyla mümkündür. PVY ve TEV, bitki virüs alemi içerisinde en geniş familya olan *Potyvirdae* familyasında *Potyvirus* cinsinde yer almaktadır. Virüsler perzistent olmayan yolla yaprakbitleriyle taşınmaktadır. PVY, yaygın olarak patateslerde enfeksiyon yapmakla birlikte biber, domates ve tütünlerde ekonomik zararı yüksek enfeksiyonlara neden olurken TEV, biberin yanı sıra tütün ve domateslere de hastalık

yapmaktadır. Biberde en yaygın dayanıklılık kaynağı, resesif dayanıklılık genlerinin (*pvr*) farklı lokuslarında allellerde meydana gelen geniş farklılıklar PVY'nün farklı izolatlarıyla TEV'ne karşı en etkili kontrol mekanizmasını sağlamaktadır (Robaglia ve Caranta, 2006; Charron ve ark., 2008).

Son yıllarda artarak etkisi devam eden Tütün Yanıklık Virüsüne (TEV – *Tobacco Etch Virus*) dünya genelinde ve Türkiye' de sıklıkla rastlanılmaktadır. Bu virüsün bitkiye zarar vermesi sonucunda ekonomik kayıplar gözlemlenmektedir. TEV'e bağlı zarar sonucu verim %70'e kadar düşmektedir. Yüksek seviyede verim kaybına uğratan ve ekonomik zarar veren bu virüse karşı dayanıklı biber türlerinin tespit edilmesi ve farklı gelişim dönemlerindeki akümülyasyonunun belirlenmesi bu tezde amaçlanmıştır.



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tütün etch potivirüsü (TEV) Amerika Birleşik Devletleri'ndeki biberlere (*Capsicum spp*) en çok zarar veren virüslerden biridir. Florida, Georgia, Louisina, Teksas, Kalifornia ve Illionis'te TEV varlığı rapor edilmiştir. Batı yarımkürede TEV varlığı bildiren başka bölgeler arasında Kanada, El Salvador ve Puerto Rico da vardır. Verim düşüşleri %70'e kadar rapor edilmiştir(Padgett ve ark., 1990.)

Kaliforniya'da *Datura spp.*, biber ve domatesten TEV izolatları toplandığı bir çalışmada PI 264281, Agronomico 8, Ac. 2110 (PI 342947), PI 152225 ve PI 159236 toplanan TEV izolatlarına dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. PI 152225 Greenleaf (1986), tarafından TEV-dayanıklı olarak tanımlanmıştır. Ayrıca Nagai ve Smith (1968), TEV'in Kaliforniya izolatlarını, PI 342947, Agronomico 8, Avelar ve Yolo Y genotipleri kullanarak test etmiş ve izolatlar arasında, dört genotipi enfekte etme yeteneklerine dayanarak, beş farklı reaksiyon tipi bulmuştur. PI 342947 genotiplerin en geniş direnç aralığını göstermiştir.

Zitter, (1972) Florida izolatlarını kullanarak, TEV'e dirençli olduğu bildirilen biber genotiplerini inoküle etmiştir. TEV'in yaygın izolatlarının (TEV-C) sadece bir genotipi (Yolo Y) enfekte edebildiğini bildirmiştir. Agresif olarak belirlediği üç izolatı TEV-S olarak tanımlamış bu izolatların 12 genotipi (PI 264281, SC 46252, 23-1-7 X Yolo Y, Avelar, Agronomico 8, Ambato Immune, PI 349247, PI 152936, Ac. 2207 ve PI 281367) enfekte ettiğini saptamıştır. PI 152225'in üç izolata karşı dayanıklılık gösterdiğini belirtmiştir.

Zitter ve Cook, (1973) Avelar tarafından sergilenen biber hafif beneklilik potivirüsü (PepMoV) toleransının TEV ve PVY virüsüne dayanıklılığı kontrol eden genlerin aynı resesif gen tarafından kontrol edildiğini saptamıştır. Cook ve ark. (1976), Florida VR2 ve Delray Bell çeşitlerinde TEV dayanıklılığının bulunduğunu bildirmiştir.

Barrios ve ark. (1971) *Capsicum frutescens* hattı LP-1'de TEV dayanıklılığı için dominant bir genin varlığından bahsetmiştir. Sowell ve Demski (1977), serada ve açık alanda TEV izolatlarına karşı çeşitli *Capsicum spp.* genotiplerini test etmiş ve PI 152225, Agronomico

8, PI 342947 (Ac. 2120) ve PI 410407 (Avelar)'nin oldukça etmene dayanıklı olduğunu saptamışlardır. Casta Dura (PI 342949) genotipinin serada dayanıklılık gösterdiğini ancak açık alanda etmene dayanıklı olmadığı bildirmişlerdir.

Kuhn ve ark., (1989) PI 264281 genotipinden geliştirilen GA-C44-V22 hattının TEV'e oldukça dayanıklı olduğunu, FL-XVR-2-25, Tambel-2 ve Asgrow-XPH-5021 orta düzeyde dayanıklılık gösterdiğini belirlemişlerdir.

## **2.1. Yaprak Bitleri ile Taşınımı**

TEV 20'den fazla familyaya dahil 150'den fazla bitki türünü hastalandırmaktadır (Edwardson ve Christie, 1997). On iki yaprakbiti türü TEV vektörleri olarak tespit edilmiştir (Eckel ve Lampert 1993). Bu türlerin beşi, *A. gossypii* (Lairdand Dickson 1963), *A. craccivona* Koch (Herold 1970), *A. spiraecola* Patch (Lairdand Dickson 1963), *Lipaphis erysimi* Hille Ris Lambers (Eckel ve Lampert 1993) ve *M. persicae* (Laird ve Dickson 1963), Jamaika'da biber üretim alanlarında belirlenmiştir.

TEV yayılmasının jeoistatistiksel analizi, etmenin biber üretim alanında birincil enfeksiyonlar civarında kümelenmiş olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, tarlada ikincil yayılmalar bu virüsün epidemiyolojisinde önemli bulunmuştur. Alandaki TEV yaygınlığının yaprak biti uçuş aktivitesi ile birlikte arttığı gözlenmiştir. Yaprak bitleri ile mücadelenin geciktirilmesinin TEV belirtilerin ortaya çıkmasına neden olduğu belirlenmiştir (McDonald, 2001)

Biber tarlasında TEV'in yayılma hızı ve şekli, vektörlerinin varlığı ve davranışı ile uygun TEV inokulum kaynağına bağlıdır (Irwin ve Ruesink 1986). Vektörler ilk olarak TEV taşıyan bitkiler üzerinde beslenmeli virüsün yayılması için daha sonra enfekte olmamış biber bitkilerine geçmelidir. Biber yetiştirme sezonu boyunca etmenin yaygın olması durumunda az sayıdaki vektör bile başarıyla TEV'i yayabilir (Raccah, 1983).

## 2.2. Kontrol Yöntemleri

TEV ve PVY biberlerde hastalık yapan önemli virüslerdendir. TEV biberlerde PVY virüsüne nazaran daha şiddetli seyretmektedir. Yaprak damarlarına kırışma, sararma ve beneklenme yukarı doğru yaprak kıvrılması ve deforme olmuş küçük yapraklar şeklinde belirtiler göstermektedir. Ayrıca bitkilerin erken bir dönemde enfekte olmaları durumunda bodurluk ve düşük verim görülmektedir.

Kontrolünde yaprakbiti popülasyonunun düşük seviyelerde tutulması amaçlamalıdır. \* Fiderleri böcek geçirmez koşullarda büyütülmesi

\* Dimethoate ve Admire gibi insektisitlerle tuzak veya bariyer ürün kullanımı

\* Yaprak bitlerini caydırmak için plastik malç kullanılması ve

\*Yabancı otlarla mücadele gibi yöntemlerle yaprakbiti popülasyonu düşük seviyede tutulabilmektedir.

## 2.3. TEV'in Bitkide Belirtisi ve Dayanıklı Türler

Virüs biberde klorotik beneklenme ve nekroza neden olur. Bütün damar uzunluğu boyunca damar aralarında bantlaşma başka bir tipik semptomdur. Tabasko (*C. frutescens*) çeşidi TEV bulaşımı sonucu öldüğünden bu çeşit TEV'i diğer potivirüslerden ayırmak için kullanılır. Tohum ile yayılım bildirilmemiştir.

## 2.4. Tek iplikli ( Pozitif Duyarlı ssRNA Virüsleri ) RNA Virüslerinin Özellikleri

**Tütün Yanıklık Virüsü (TEV=Tabaco Echt Virüs)** tek iplikli RNA virüsüdür. Bu familyada bulunan virüsler kıvrımlı-ipliksi partiküllü (680-900 nm) ve genomları (+) ssRNA (9.7 kb)'dır (Astier ve ark., 2001). Pozitif RNA virüsleri bütün virüs türlerinin yaklaşık 1/3 ünü oluştururlar ve çok sayıda önemli patojeni kapsarlar (Ahlquist, ve ark., 2003). ssRNA virüslerin genom büyüklüğü, RNA'nın kırılmaya karşı duyarlı olması nedeniyle sınırlıdır. Tek zincirli RNA genomlarının büyüklüğü yaklaşık olarak 4000 nükleotid (nt) (carmovirus) ile 20000 nükleotid (closterovirus) arasında değişir. Çoğu (+)

ssRNA virüsler 4 ile 7 arasında değişen protein kodlar, ancak bazı closterovirusler 12 protein kodlayabilirler. Bu virüslerin bazı ortak özellikleri;

1. Herhangi viral proteini kapsamayan (+) ss viral RNA, duyarlı konukçuya inokule edildiğinde enfeksiyonu başlatır.
2. Genomun 5'- ve 3' – ucundaki translayonu yapılmayan bölge herhangi bir protein kodlanmaz. Bu bölge ribozom ve replikaz enzimini tanıma, sentezlenen virüs bileşenlerinin birleşmesi için sinyaller oluşturma gibi virüsün çoğalmasıyla ilişkilidir.
3. (+) ss RNA virüslerin her iki ucuda özelleşmiş yapıdadır. Genomun 3' ucunda ise Poly-A veya tRNA benzeri yapı bulunmaktadır. Bu yapılar viral RNA'nın konukçuyu tanımasında ve mRNA olarak görev yapmasında sinyal görevi yaparlar (Kim, 2006).

## 2.5. Resesif Dayanıklılık Genleri

Biberdeki *pvr2* lokusu, potivirüs cinsine ait virüslere karşı direnç kazandıran bir ökaryotik translyasyon başlatma faktörü 4E (eIF4E) genini kodlar. EIF4E geni beş ekson ve dört introndan oluşur (Ruffel ve ark, 2004 )

Bitki-virüs etkileşimlerinde translyasyon başlatma faktörü 4E'nin virüs yaşam döngüsündeki yeri ilk olarak tütün etch virüsünün (TEV), şalgam mozaik virüsü (TuMV) ve marul mozaik virüsü (LMV) gibi potivirüs cinsi virüslerin mutant *Arabidopsis thaliana* bitkileri ile etkileşimi ile saptanmıştır (Duprat ve ark., 2002;. Lellis ve ark., 2002). Benzer bir bulgu, son zamanlarda cucumoviruslerde, 3a proteini için rapor edilmiştir (Yoshii ve ark., 2004). Buna paralel olarak potivirüs cinsinden virüs kontrol eden doğal olarak meydana gelen resesif direnç genlerinin bu eIF4E alellerini kodladığı belirlenmiştir (Ruffel ve ark, 2002; Nicaise ve ark., 2003). Potivirüs yaşam döngüsünün eIF4E rolü henüz tam olarak belirlenmemiştir. Potiviral RNA'nın 5' ucuna kovalent olarak bağlantılı küçük bir polipeptid olan viral genom-bağlı proteine (VPg) bağlanma yeteneğinde olduğu düşünülmektedir (Leonard ve ark., 2000; Schaad ve ark., 2000). Patates virüsü Y (PVY) ve TEV karşıtı resesif direnç kazandıran biber gelen *pvr2* lokusu, eIF4E'ü kodlamaktadır. Virüs duyarlı ve virüs dayanıklı alleller arasında sadece bir kaç amino asit (aa) farklılığı görülmektedir (Ruffel ve ark., 2002).

Potivirüslerde virülensliğe Viral Protein Genom (VPg) neden olmaktadır. Bu genom duyarlı pvr1<sup>+</sup> alleli ile güçlü bir etkileşime girmektedir. pvr1, pvr1<sup>1</sup> ve pvr1<sup>2</sup> genlerini bulduran biber genotiplerinde ise TEV izolatlarının VPg bölgelerinin konukçu ile bağlantı kurmadığı tespit edilmiştir. Maya ikili hibrid sisteminin kullanıldığı invitro ve in vivo'daki potivirüs dayanıklılığı için etmendeki VPg ile konukçudaki eIF4E paralogunun arasında karşılıklı etkileşimin kesintiye uğraması gereklidir (Kang ve ark., 2005).

eIF4E proteinleri potivirüslere direnç veya duyarlılığın temel determinantlarıdır. Potivirüslere dayanıklılık genlerinin yarısından fazlası resesiftir. Bununla birlikte, başka bitki virüslerine dayanıklılıkta resesif dayanıklılık genlerinin oranı % 20'dir. Potivirüsler 5' ucuna bağlı bir viral protein genom (VPg) olarak adlandırılmış bir kısım ve 3' ucunda bir poli (A) kuyruk bulunan tek şeritli bir pozitif RNA'ya sahiptir.

Resesif direncin moleküler yapısının açıklanmasında maya ikili-hibrit ve in vitro bağlanma çalışmalarında çok sayıda potivirüsün VPg'sinin ökaryotik transkripsiyon başlatma faktörü 4E (eIF4E) ya da bunun bir izoformu [eIF(iso)4E] ile etkileşimleri kullanılmaktadır. Patates Y virüsü (PVY) ve tütün yanıklık virüsü (TEV) karşısında biber (*Capsicum annuum*) pvr2 dayanıklılık geninin bir eIF4E genine karşılık geldiği gösterilmiştir. Buna paralel olarak, Arabidopsis'te, TEV duyarlılığı etkileyen ve etil metan sülfonatin (EMS) indüklediği mutasyonların genetik bir taraması, eIF(iso)4E proteinin tanımlanmasına yol açmış, ve aynı genin bir transpozonu şalgam mozaik virüsü (TuMV) ve Marul mozaik virüsünde (LMV) duyarlılığa neden olduğu belirlenmiştir.

Potivirüslere karşı dayanıklılıkta eIF4E'nin oynadığı rol, marulda LMV dayanımını sağlayan *mol* geninin, bezelyede *Bezelye seed-borne mozaik virüsü* (PSbMV) dayanıklılığında rol oynayan *sbm 1* geninin ve domateste PVY ve TEV dayanıklılıkta *pot-1* geninin eIF4E homologlarındaki mutasyonlara karşılık geldiğinin keşfedilmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu genler viral akümüülasyonun kısıtlanması, viral akümüülasyonun azaltılması veya hücreden hücreye hareketin kısıtlanması şeklinde işlev yaparlar. Tüm durumlarda dayanıklılık, resesif dayanıklılık alelleri tarafından kodlanan eIF4E

proteinlerindeki amino asit değişimlerinden kaynaklanmaktadır. Bu değişikliklerin çoğu koruyucu olmayan amino asit sübsitasyonlarına karşılık gelir.

Biberde, PVY ve TEV dayanıklılığı tek bir eIF4E geninin (pvr2 lokusu) mutasyonuna bağlıyken, biber veinal benek virüsü (PVMV) dayanıklılığı hem pvr2 lokusunu hem de prv6 lokusunu gerektirir. Bu nedenle, bazı potivirüslerin kendi replikasyon döngüsü gerçekleştirmek için belirli bir eIF4E izoformu gerektirmelerine rağmen, bazıları içense birden fazlası gerekebilir.

Potyvirüslere dayanıklılıkta dominant dayanıklılık genleri de bulunmaktadır. Ancak resesif dayanıklılık genleri dayanıklılığın sürdürülebilmesi bakımından daha önemlidir. Biberde yer alan dayanıklılık alelleri tarafından kodlanan eIF4E proteinleri TEV izolatlarından VPg'a bağlamakta başarısız olurken duyarlılık alleli tarafından kodlanan proteinler güçlü etkileşimde bulunmaktadır. Bununla birlikte eIF4E-VPg etkileşimi viral enfektivitenin tek belirleyicisi değildir. Benzer şekilde, bezelyede PSbMV, sbm1 duyarlılık alleli tarafından kodlanan eIF4E ile VPg arasında bir etkileşim mevcuttur.

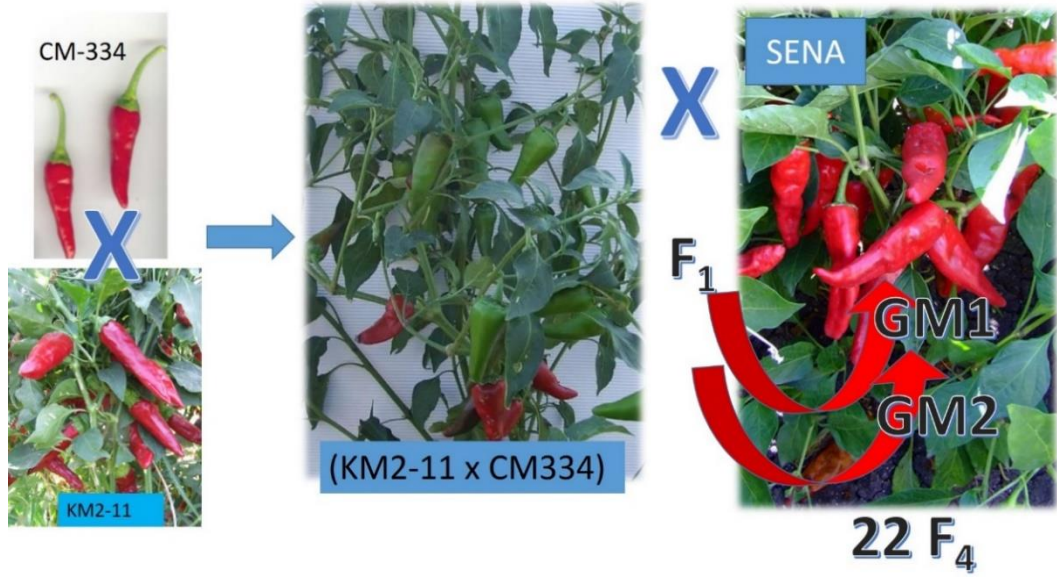
### **3. MATERİYAL ve METOT**

#### **3.1. Materyal**

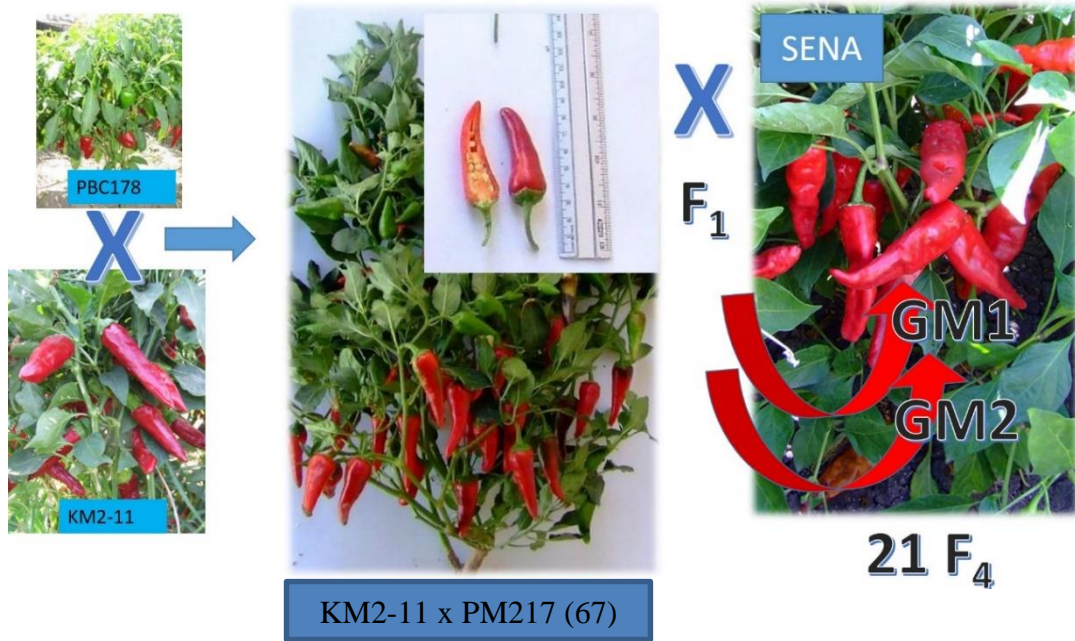
##### **3.1.1. Bitkisel Materyal**

Çalışmada geliştirilen iki populasyon, Sena, Charleston biber çeşitleri, 46 numaralı hat ve farklı pvr allelleri içeren Yolo Y (PM162), Yolo Wonder (PM031), Florida VR2 (PM604), W4 genotipleri ile Samsun tütün çeşidi bitkisel material olarak kullanılmıştır. Geliştirilen populasyonlardan birincisi; Kahramanmaraş kırmızıbiber populasyonundan selekte edilen KM2-11 ile CM334'ün melezlenmesi ve 3 kez kendilenmesi sonucu geliştirilen 81 numaralı hattın Sena kırmızıbiber çeşidi ile melezlenip 2 kez Sena ile geriye melezlenmesi ve 4 generasyon kendilenmesi ile oluşturulmuştur. Bu populasyonda 22 hat geliştirilmiştir (Şekil 1).

Geliştirilen populasyonlardan ikincisi ise; KM2-11 ile PM217 (67)'nin melezlenmesi ve 3 kez kendilenmesi sonucu geliştirilen 67 numaralı hattın Sena kırmızıbiber çeşidi ile melezlenip 2 kez Sena ile geriye melezlenmesi ve 4 generasyon kendilenmesi ile oluşturulmuştur. Bu populasyonda 21 hat geliştirilmiştir (Şekil 2).



Şekil 1. KM2-11 x CM334 (81) ile Sena genotiplerinden geliştirilen populasyonun ıslah şeması



Şekil 2. KM2-11 x PM217 (67) ile Sena genotiplerinden geliştirilen populasyonun ıslah şeması

Çalışmada Yolo Y (PM162), Yolo Wonder (PM031), Florida VR2 (PM604), ve W4 biber genotipleri TEV izolatlarını kontrol etmek amacı ile kullanılmıştır. Bu genotiplerden; Yolo Wonder, *pvr2*<sup>+</sup>; Yolo Y, *pvr2*<sup>1</sup>; Florida VR2, *pvr2*<sup>2</sup>; W4 *pvr2*<sup>3</sup> allerine sahiptir.



Mekanik inokülasyonlarda kullanılan TEV izolatları, *Nicotiana tabacum* L. " Samsun" tütün bitkisinde çoğaltılmıştır.

### **3.1.2. Viral Materyal**

Çalışmada Tütün Yanıklık Virüsü'nün Hatay ve Antalya illerinden toplanan 774 ve 1002 numaralı izolatları kullanılmıştır. ELISA testi için gerekli olan antiserumlar ve diğer malzemeler üretici firmadan (AGDİA) temin edilmiştir.

## **3.2. Metod**

### **3.2.1.Fidelerin Yetiştirilmesi**

Tez çalışmasında kullanılan biber hatlarının tohumları 3:1 v/v torf: perlit ortamına ekilip, iklim odasında (24°C sıcaklık, 16 saat fotoperiyot, %60 oransal nem, 3000 lux ışık yoğunluğu) tutulmuştur. Her hat ve kontrol bitkilerinden 27 adet olmak üzere toplamda 1215 adet fide yetiştirilmiştir. Yolo Wonder (PM 031), Yolo Y (PM 162), Florida VR2 (PM 604), ve W4 biber genotiplerinin her biri için 36 adet olmak üzere toplam 144 adet fide yetiştirilmiştir.

### **3.2.2.TEV İzolatlarının Kontrolü**

Yolo Wonder, Yolo Y, Florida VR2 ve W4 biber genotipleri, TEV izolatlarının ile ayrı ayrı, her genotip için 10 adet fideye inokule edilmiştir. Bitkiler iki günde bir kontrol edilerek semptomlar gözlenerek kayıt altına alınmıştır.

### **3.2.3. TEV İzolatlarının Çoğaltılması**

Semptomatolojik ve serolojik olarak kontrol edilen Yolo Wonder biber genotipinde bulunan Tütün bitkisinde TEV izolatları, *Nicotianatabacum* L. " Samsun " tütün bitkisine mekanik inokülasyon yapılmıştır. İzolatların oluşturdukları semptomlar kayıt altına alınmıştır. İzolatların yayılmasını ve taşınmasını önlemek için vektörlere (örneğin afidler) karşı düzenli olarak ilaçlama yapılarak mekanik önlemler alınmıştır.

Tütün bitkisinde çoğaltılan izolatlar, TEV-spesifik poliklonal antiserum ile Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) testi ile kontrol edildikten sonra biber hatlarına mekanik inokulasyon yapılmıştır. Mekanik inokülasyonlarda, pH:7 olan 0.03M Fosfat buffer ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ), Silisyum oksit, 600 mesh-karborandum ve aktif kömür tozu kullanılmıştır. İzolatların saklanması sırasında Bos ve Benetti (1979) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır.

#### **3.2.4. Mekanik İnokülasyon**

Biber fidelerinin ilk gerçek yaprakların çıktığı dönemde mekanik inokülasyon biberin kotiledon yapraklarına yapılmıştır. İnokülasyon Moury ve ark. (2004)'nın belirttiği protokole uyularak yapılmıştır. Steril porselen havan içerisinde yaprak örneğinin 4 hacim 0.03 M fosfat tamponu (pH 7.0) ve %2 (ağırlık/hacim) DIECA, 200 mg/ml aktif kömür ve 200 mg/ml karborandum ile ezilerek inokulum hazırlanmıştır. Hazırlanan inokulum bitkilerin kotiledon yapraklarına sürülmüştür. Her biber fidesine ayrı ayrı inokülasyon yapılırken sterilizasyona önem verilmiştir. İnokule edilen bitkilerin yaprakları üç dakika beklendikten sonra musluk suyu ile yıkanmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Biber ve tütün bitkilerine mekanik inokülasyonun yapılışı

### 3.2.5. Farklı gelişme dönemlerinde biberlerin TEV izolatlarına tepkisi

Yolo Y (PM162), Yolo Wonder (PM031), Florida VR2 (PM604), ve W4 biber genotiplerine iki farklı TEV izolatı fide, meyve tutumu ve olgunlaşma dönemlerinde mekanik olarak inoküle edilmiştir. Bu genotiplerden; Yolo Wonder, *pvr2*<sup>+</sup>; Yolo Y, *pvr2*<sup>1</sup>; Florida VR2, *pvr2*<sup>2</sup>; W4 *pvr2*<sup>3</sup> allerine sahiptir. ELISA testleri inokülasyonu takip eden 20. Günde yapılmıştır.

### 3.2.6. Serolojik Testler

Biber fidelerinden örnekler alınarak; örneklerde TEV izolatlarının enfeksiyonları, TEV-spesifik poliklonal antiserum ile DAS-ELISA testi uygulanmış ve 405 nm dalga boyunda elde edilen okuma değerlerine göre analiz edilmiştir (Legnani ve ark., 1995).

### **3.2.6.1. Test Örneklerinin Hazırlanması**

Mekanik inokülasyondan 3, 4 ve 7. haftalarda biber fidelerinden örnekler alınarak, plastik torbalar içerisine konulmuş ve üzerine hat ve izolat numarası yazılarak ELISA testi yapılana kadar +4°C'de saklanmıştır. Dördüncü haftada; ilk ELISA testi sonucunda negatif değer veren ve ikinci kez mekanik inokülasyon yapılan, semptom göstermeyen bitkilerden örnekler alınmıştır.

Yapılan semptomatolojik ve serolojik çalışmalardan sonra, 10 adet hat seçilmiş ve bu hatlarla ikinci kez deneme kurulmuştur. Her hattın her izolat için 9 adet fide yetiştirilmiş ve ilk gerçek yapraklarının çıktığı dönemde kotiledon yapraklarına mekanik inokülasyon yapılmıştır. Mekanik inokülasyondan 3., 6., ve 7. haftalarda hatlardan her izolat için, 5 adet bitkiden örnekler alınarak plastik torbalar içerisine konulmuş ve üzerine; hat, izolat ve bitki numarası yazılarak ELISA testi yapılana kadar +4°C'de saklanmıştır.

### **3.2.6.2. DAS-ELISA Testinin Uygulanması**

Mekanik inokülasyon ile TEV izolatlarının bulaştırıldığı biber bitkilerinin ELISA okumaları inokülasyonu takip eden 30. Günde gerçekleştirilmiştir.

ELISA plakaları, TEV poliklonal antiserumun üreticisi olan firmanın önerdiği seyreltme oranında (1:200) kaplama tamponu (Ek 1.) ile seyreltilerek ve 100µl/çukur olacak şekilde kaplanmıştır. TEV poliklonal antiserumla kaplanan plakalar 37°C'de 2 saat süreyle, nem çemberi oluşturulmuş saklama kaplarında bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda plakalar yıkama tamponuyla (Ek 4.) 3 dk. ara ile 3 kez yıkanmış ve kurulanmıştır.

Yaprak örnekleri (100mg) ezme tamponu (Ek 2.) kullanılarak, (1:10, ağırlık/hacim) ezilmiş ve kullanılıncaya kadar buzda bekletilmiştir.

Ezme tamponuyla hazırlanmış örnekler iki tekerrürlü ve 100 µl/çukur olacak şekilde plakalara konulmuştur. Plakalar +4°C'de bir gece (16 saat) bekletilmiştir. Plakalar yıkama tamponuyla ve 3 dk. ara ile 3 kez yıkanarak kurulanmıştır.

Antiserum+enzim konjugasyonu üretici firmanın tavsiye ettiği oranlarda (1:200), konjugat tamponu (Ek 3.) içinde seyreltilmiş ve 100 µl/çukur olacak şekilde çukurlara konulmuştur. Plakalar 37°C'de 2 saat süreyle nem çemberi oluşturulmuş ve saklama kaplarında bekletilmiştir.

Plakalar yıkama tamponuyla, 3 kez, 3 dk. ara ile yıkanmış ve kurulanmıştır. *p*-nitrophenly phosphate 1 mg/ml olacak şekilde substrat tamponu (Ek 5.) içinde hazırlanmış ve 100 µl/çukur olacak şekilde çukurlara konulmuştur. Plakalar ışıkalmayacak şekilde saklama kabında, oda sıcaklığında bekletilerek çukurlardaki renkdeğişimi izlenmiştir. Pozitif kontrollerde renk değişimin gözleendiği ilk 30 dk. ve 60.dk. süre aralıklarında 405 nm dalga boyunda, ELISA plaka okuyucusunda okumaları yapılmıştır. Negatif kontrollerden 405 nm dalga boyunda elde edilen değerlerin üç katından fazla olanlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Semptomatolojik Gözlemler

Tütün yanıklık virüsü belirtileri bitkilere mekanik inokülasyonu takip eden onuncu günden itibaren gözlenmeye başlamıştır. Bitkilerde erken dönemdeki ve geç dönemdeki belirtiler farklılık göstermiştir.

#### 4.1.1. TEV izolatlarının tütün bitkisinde oluşturduğu semptomlar

Tütün yanıklık virüsü izolatları tütün bitkisinde genç dönemde yaprak damar aralarında renk açılmaları şeklinde kendini gösterirken yaşlı yapraklarda nekrotik çöküntüler (etch) meydana getirmiştir. Yaprak damarlarında da renk açılmalarına rastlanılmıştır (Şekil 4).



**Şekil 4.** TEV'nün tütün bitkisinde meydana getirdiği belirtiler: genç yaprak-sağda, yaşlı yaprak-solda

#### 4.1.2. TEV izolatlarının biber bitkisinde oluşturduğu semptomlar

TEV izolatları biber yapraklarında mozaik, bantlaşma, deformasyonlar ve nekrozlara sebep olmamıştır. Damar aralarında renk açılmaları şeklinde kendini gösteren belirtiler ilerleyen dönemlerde nekrozlara dönüşmemiştir. Damarlarda renk açılmalarına da sebep

olan izolatlar daha çok tütün bitkilerinde genç dönemde görülen belirtilere benzer semptomlar göstermişlerdir.



Şekil 5. TEV'nün biber bitkisinde meydana getirdiği belirtiler

## 4.2. Serolojik Testler

### 4.2.1. İndikatör bitkilerin ve geliştirilen populasyonların TEV'ne tepkileri

TEV izolatların mekanik inokülasyonu sonrası 30. Günde yapılan yapılan ELISA testi sonuçları Çizelge 3. ve Çizelge 4.'te verilmiştir. Çizelge 3. İncelendiğinde pvr lokusu içeren hiçbir genotipin 774 numaralı TEV izolatına dayanıklılık göstermediği görülmektedir. TEV'nün 1002 numaralı izolatına ise sadece pvr<sup>2</sup> allelini bulunduran Florida VR2'nin dayanım gösterdiği görülmüştür (Çizelge 3).

**Çizelge 3.** İndikatör biber genotiplerinin TEV inokülasyonları sonucu gösterdikleri ELISA okuma değerleri (405 nm)

Genotipler	İZOLATLAR	
	1002	774
W4 pvr 2 <sup>3</sup>	1,573	2,103
Florida VR2 pvr 2 <sup>2</sup>	0,026	1,989
Yolo Y pvr 2 <sup>1</sup>	1,716	1,861
Yolo Wonder pvr 2 <sup>+</sup>	1,909	1,795

Çizelge 4.'te ise KM2-11, CM334 ve Sena ile oluşturulan 22 hat; KM2-11, PM217 (67) ve Sena ile oluşturulan 21 hat ile Sena, Çarliston çeşitlerinin yanısıra 46 numaralı hattın ELISA sonuçları yer almaktadır.

**Çizelge 4.** Geliştirilen biber populasyonlarının TEV inokülasyonları sonucu gösterdikleri ELISA okuma değerleri (405 nm)

HATLAR	İZOLATLAR		HATLAR	İZOLATLAR		HATLAR	İZOLATLAR	
	1002	774		1002	774		1002	774
1	1,865	1,603	38	1,786	1,829	68	1,790	2,009
2	1,926	1,995	41	1,704	2,012	69	2,007	2,009
3	2,002	1,835	43	1,868	1,795	70	1,981	2,085
4	0,066	0,023	45	1,713	2,006	71	1,926	1,832
6	1,783	2,006	46	1,975	1,931	73	1,797	1,912
8	1,984	1,386	47	2,004	1,921	74	1,789	2,006
11	1,978	1,992	48	1,693	1,861	75	1,787	1,835
15	1,787	1,392	50	1,658	1,786	76	1,461	2,082
16	1,925	1,014	51	1,787	2,012	77	1,877	1,805
23	2,009	2,085	54	1,929	1,795	H46	1,787	1,789
25	1,981	1,722	55	1,786	1,870	SENA	1,865	2,009
27	1,792	1,800	58	2,007	1,835	Çarliston	1,787	1,867
28	1,909	1,864	59	1,934	1,861	Kontrol (-)	0,011	0,016
30	1,871	2,012	61	2,007	1,792	Kontrl (+)	0,459	0,624
32	1,868	2,009	62	0,038	1,933	Kontrl (+)	0,485	0,521
33	1,784	1,934	63	0,014	2,012			
37	2,007	2,003	64	1,981	1,789			

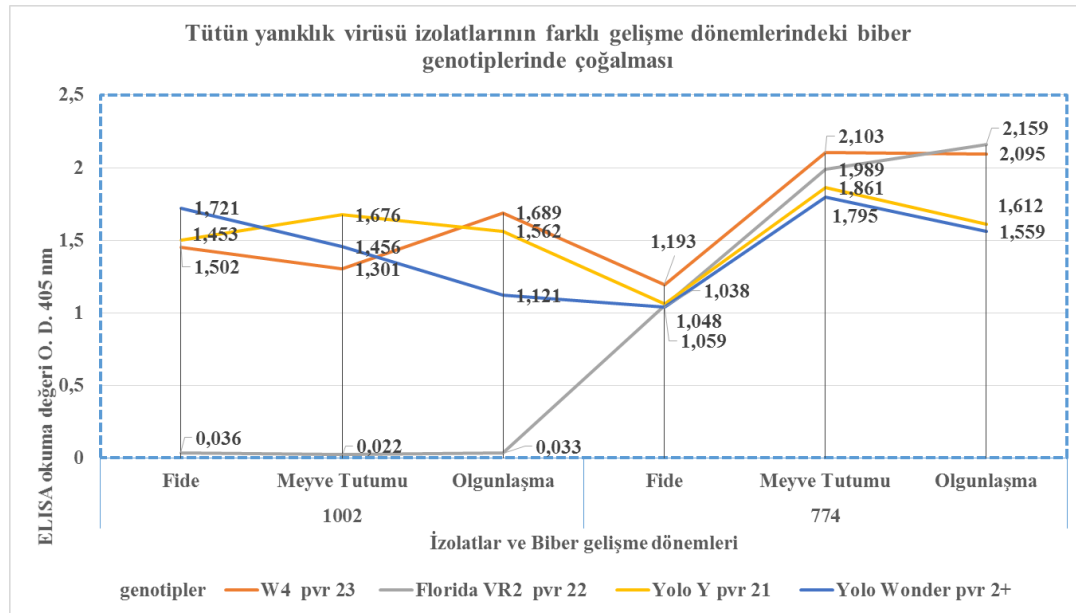
Sonuçlar incelendiğinde 4 numaralı hatlar dışında bütün genotiplerin her iki TEV izolatına multiplikasyonuna duyarlı olduğu görülmektedir. Negatif kontrolün 3 katı olan eşik değerinin altında kalan ELISA okuma değerleri ile bu hattın Tütün Yanıklık Virüsünün multiplikasyonuna dayanıklılık gösterdiği belirlenmiştir. Çizelge 4'te yer alan Florida VR2 ile karşılaştırıldığında bu genotipin pvr2<sup>2</sup> alleinden başka dayanıklılık lokuslarına sahip olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte 61 ve 62 numaralı hatlar Florida VR2 ile benzer bir şekilde 1002 numaralı TEV izolatına dayanıklılık gösterirken 774 numaralı TEV izolatının multiplikasyonuna engel olamamışlardır. Bununla birlikte



Lafforgue ve ark. (2011) Tütün Yanıklık Virüsü izolatlarının multiplikasyonu ile virüllensikleri arasında negatif bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Ancak etmenin konukçuda çoğalamaması dayanıklılık olarak nitelendirilebileceğinden multiplikasyona izin vermeyen hatların etmene dayanıklılık gösterdiği söylenebilir. Robaglia ve Caranta (2006), biberlerde pvr lokusunda meydana gelen mutasyonun biberlere TEV dayanıklılığı sağladığını ve bu dayanıklılığın virüsün replikasyonunu engellemek şeklinde kendini gösterdiğini bildirmişlerdir.

#### 4.2.2. TEV izolatlarının biberlerin farklı gelişme dönemlerinde multiplikasyonu

Yolo Y (PM162), Yolo Wonder (PM031), Florida VR2 (PM604), ve W4 biber genotiplerine fide, meyve tutumu ve olgunlaşma dönemlerinde inoküle edilen iki farklı TEV izolatının bulaşımı takip eden 20. Günde gösterdikleri ELISA okumalarına ait değerler Şekil 6'da verilmiştir. Şekil 6 incelendiğinde 774 numaralı izolatın bütün genotiplerde yüksek O. D. değerine sahip olduğu her üç gelişim dönemindeki biber genotiplerinin tamamında çoğaldığı anlaşılmaktadır. Bununla birlikte 1002 numaralı izolat 774 numaralı izolata göre genotiplerde daha az multiple olmuş ancak biber gelişim dönemlerine göre genotiplerde herhangi bir farklılık oluşturmamıştır. Bu izolat pvr2<sup>2</sup> alleline sahip Florida VR2 biber çeşidinde her üç gelişim dönemindeki inokülasyonda da düşük değerler göstermiştir.



**Şekil 6.** Farklı gelişme dönemlerindeki biber genotiplerine bulaştırılan TEV izolatlarının ELISA okuma değerleri (O.D. 405 nm)

Yao ve ark. (2013) *Arabidopsis thaliana* bitkisinde Kolza Mozaik Virüsü'nün akümülyasyonunun bitki yaşının ilerlemesi ile birlikte arttığını bildirmiştir. Wintermantel, ve Kaffka (2006) şeker pancarında Şeker Pancarı Kıvrıcıklık Virüsü'nün erken dönemlerde enfeksiyonunun dayanıklı genotiplerde dahi etkili olduğunu bitki yaşının ilerlemesi ile dayanıklı çeşitlerde etmenin etki yapmadığını bildirmişlerdir. Garcia-Ruiz ve Murphy (2001) ise biberlerde CMV akümülyasyonunun bitki yaşı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Levy ve Lapidot (2008). Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsünün (TYLCV=tomato yellow leaf curl virüs) 14, 28 ve 45 günlük dayanıklı ve duyarlı domates bitkilerinde bitki yaşı ile semptom yoğunluğu arasında bir ilişki bulamamışlar ancak bitkinin etmenle bulaştırıldığı yaş ile verim arasında oldukça önemli bir ilişki bulunduğunu sonucuna ulaşmışlardır.



**Şekil 7.** Farklı gelişme dönemlerinde TEV izolatları inoküle edilen biber bitkileri

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

TEV (Tabacco Etch Virus ) inoküle edilen biber genotiplerinin ELISA okumalarına göre W4, Florida VR2, Yolo Y, Yolo Wonder ‘dan sadece Florida VR2 biber genotipi 1002 numaralı TEV izolatına karşı dayanıklılık göstermiştir.

CM334 ve PM217 genotiplerinden geliştirilen hatlar arasında 4 numaralı hat 1002 ve 774 olmak üzere her iki TEV izolatına karşı dayanım sağlamıştır. 61 ve 62 numaralı hatlar ise 1002 numaralı TEV izolatına dayanıklılık gösterirken 774 numaralı TEV izolatına dayanıklılık sergileyememiştir.

Tütün yanıklık virüsü biberin her gelişme aşamasında bitki bünyesinde multiple olmuş, dayanıklılık ile bitki gelişim dönemi arasında herhangi bir ilişkiye rastlanmamıştır.

Virüslerin ülkemizde ve dünyadaki yayılımları ve varlıkları, zararı konukçu-virüs-vektör-çevre ilişkisi içerisinde değişmekte, bu nedenle virüslerin neden olduğu verim kaybı ve kalite kaybı yıldan yıla, bölgeden bölgeye ve mevsimden mevsime değişmektedir. Virüslerin zararını en aza indirebilmek için patojen; biyolojik, serolojik ve moleküler testlemelerle teşhis edilmelidir. Virüsün teşhisi yapıldıktan sonra diğer alanlara yayılmasını önlemeye yönelik tedbirler alınmalıdır. Virüslerelere karşı direk kimyasal mücadele etkili değildir. Bundan dolayı virüsün yayılmasına neden olan vektörlere karşı kültürel, mekanik ve kimyasal mücadele uygulanmalıdır. TEV’nün yayılması böylece önlenebilir. Biber, patates ve domates gibi, TEV’nün önemli konukçusu olan kültür bitkilerinde virüsün karşılıklı taşınmasını önlemek için açık alanlarda, yan yana yetiştirilmemelidir. TEV’nün taşınmasında, yaprak bitlerinin etkili olduğu düşünülerek mesafeler bırakılmalıdır. TEV ile enfekte olmuş bitkiler yakılarak ve diğer yöntemlerle imha edilmelidir. Seralara her türlü vektörün girişini önlemek amacıyla, pencere ve havalandırma boşlukları tülbentle kapatılmalıdır, seranın giriş çıkış kapıları çift kapı olmalıdır. Bazı yabancı otların, vektörlerin ve virüslerin konukçusu olması nedeniyle, yabancı ot mücadelesine önem verilmelidir. Virüsün varlığının testler ve gözlemler sonucuyla tespit edilen alanlarda kullanılan arım alet makinaları diğer alanlarda kullanılmamalıdır.

## 6. KAYNAKLAR

Abak, K., (1997). Özel Sebzeçilik Ders Notları (Yayınlanmamış).

Adrian, S. (2006) Genetic Characterisation and Biocontrol of Tobacco Etch Virus Infecting Peppers (*Capsicum chinense* var. *JAKQ*) in Jamaica

Ahlquist,P (2003)., A.O. Noueiry, W. –M Lee,D.B. Kushner, ve B.T. Dye, 2003. Host factors in positive-strand RNA virus genome replication. *Journal of Virology*,77 (15) 8181-8186

Akıncı, S., Akıncı, İ., E., (1999). Kahramanmaraş Kırmızı Biber Yetiştiriciliğinin Sorunları. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Karşısında Kahramanmaraş Biberinin Sorunları ve Çözüm Önerileri.- Kahramanmaraş.

Arli-Sokmen, M., Mennan, H., Sevik, M. A., and 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.

Arpacı, B. B., Balıkçı, T. ve Abak, K. (2008). Kahramanmaraş Biberi Islahı ve Geliştirilen Biber Hatlarının Bitki Özellikleri ile Verim ve Kaliteleri VII. Sebze Tarımı Sempozyumu. Yalova

Arpacı B.B., Balıkçı, T., Gezginç, Y. and Yaralı, F. (2014) Morphological Characteristics and Quality Values of Kahramanmaras Red Pepper Population. 49th Croatian & 9th International Symposium on Agriculture, 16-21 Şubat 2014, Croatia. P: 47 (Abstract)

ASTA. (1985). Official analytical methods of the American Spice Trade Association. 3rd ed. Amer. Spice Trade Assn., Englewood Cliffs, N.J.

Astier, S., Albouy, J., Maury, Y., and Lecoq, H. (2001). Principles of plant virology: genome, pathogenicity, virus ecology. Institut National de la Recherche Agronomique.

Barrios, E. P., H. I. Mosokar, and L. L. Black(1971). "Inheritance of resistance to tobacco etch and cucumber mosaic viruses in *Capsicum frutescens*." *Phytopathology*.

Bosland, P. W. and Votava, E. J. (1999). Peppers: Vegetable and Spice Capsicums. *CAB International*, Wallingford, UK, 204 pp.

Bos, L., and Benetti, M. P. (1979). Direct electron microscopy and serology with plant viruses in leaf material dried and stored over calciumchloride. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 85(6), 241-251.

Buzkan, N., Demir, M., Öztekin, V., Mart, C., Çağlar, B. K., and Yılmaz, M. A. (2006). Evaluation of the status of capsicum viruses in the main growing regions of Turkey. *EPPO Bulletin*, 36(1), 15-19.

Buzkan, N., Arpacı, B. B., Simon, V., Fakhfakh, H., and Moury, B. (2013). High prevalence of poleroviruses in field-grown pepper in Turkey and Tunisia.*Archives of virology*, 158(4), 881-885.

- Charron, C., Nicolai, M., Gallois, J. L., Robaglia, C., Moury, B., Palloix, A., & Caranta, C. (2008). Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant eIF4E and potyviral VPg. *The Plant Journal*, 54(1), 56-68.
- Duprat, A., Caranta, C., Revers, F., Menand, B., Browning, K. S., and Robaglia, C. (2002). The Arabidopsis eukaryotic initiation factor (iso) 4E is dispensable for plant growth but required for susceptibility to potyviruses. *The Plant Journal*, 32(6), 927-934.
- Eckel, R.V.W., and E.P. Lampert. (1993). Spatial and temporal analysis of tobacco etch virus distribution and its relationship to aphid (Homoptera: Aphididae) vectors in flue-cured tobacco. *J. Econ. Entomol.* 86:1534-1545.
- Edwardson, J. R., and R.G. Christie. (1997). Viruses infecting solanaceous crops, University of Florida Extension Station, IFAS.
- Everhart, E., Haynes, C. and Jauron, R. (2009). Peppers. PM 1888 ISU. Extension.
- Fraser, R.S.S. (1986) Genes for resistance to plant viruses. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 3, 257-294
- Garcia-Ruiz, H. and Murphy, J. F. (2001). Age-related Resistance in Bell Pepper to Cucumber mosaic virus. *Annals of applied biology*, 139(3), 307-317.
- Green, S. K., and Kim, J. S. (1991). Characteristics and control of viruses infecting peppers: a literature review (No. 91). Asian Vegetable Research and Development Center.
- Greenleaf W. H. (1953). Effects of Tobacco Etch Virus on Peppers (*Capsicum* sp. ). *Phytopathology* 43:564-570.
- Greenleaf, W. H. (1986). Pepper breeding. *Breeding Vegetable Crops*. CAP International. The Cambridge Uni., pres, UK, 76-82.
- Hanson, B. L., and Huber, K. M. (1999). U.S. Patent No. 5,974,398. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Heiser, B. (1973). *Seed to Civilization. The story of man's food*. Freeman. San Francisco/Reading. 243 pp.
- Herold, F. (1970). Tobacco etch virus in Venezuela. *Plant Dis. Rep.* 54:344
- Herold, J. and Andino, R. (2001) Poliovirus RNA replication requires genome circularization through a protein-protein bridge. *Mol Cell.* 7, 581-591
- Irwin, M. E., and W. G. Ruesink. (1986). Vector intensity: a product of propensity and activity. pp. 13-33. In: G.D. McLean, R. G. Garret and W.G. Ruensink (Eds.) *Plant Virus Epidemics: monitoring, modelling and outbreaks*. Sydney, Academic Press.

- Kang, B. C., Yeam, I., Frantz, J. D., Murphy, J. F., and Jahn, M. M. (2005). The *pvr1* locus in *Capsicum* encodes a translation initiation factor eIF4E that interacts with Tobacco etch virus VPg. *The Plant Journal*, 42(3), 392-405.
- Kim, K-H., (2006). Replication and Gene Expression of Plant RNA Viruses. In *Handbook of Plant Virology*, 53-73. J.A. Khan ve J. Dijkstra Edit.. Food Product Pres, New York.
- Kuhn, C. W., Nutter Jr, F. W., and Padgett, G. B. (1989). Multiple levels of resistance to tobacco etch virus in pepper. *Phytopathology*, 79(7), 814-818
- Lafforgue, G., Martínez, F., Sardanyés, J., De la Iglesia, F., Niu, Q. W., Lin, S. S. and Elena, S. F. (2011). Tempo and mode of plant RNA virus escape from RNA interference-mediated resistance. *Journal of virology*, 85(19), 9686-9695.
- Laird, E.F. Jr., and R.C. Dickson. (1963). Tobacco etch virus and potato virus Y in pepper, their host plants and insect vectors in Southern California. *Phytopathology* 53:48-52.
- Legnani, Grazi, G. L., Mazziotti, C., Jovine, E., Miniero, R., Gallucci, A., and Gozzetti, G. (1995). The role of tumor markers in the diagnosis of hepatocellular carcinoma, with special reference to the des-gamma-carboxy prothrombin. *Liver Transplantation and Surgery*, 1(4), 249-255.
- Lellis, A. D., Kasschau, K. D., Whitham, S. A., & Carrington, J. C. (2002). Loss-of-susceptibility mutants of *Arabidopsis thaliana* reveal an essential role for eIF (iso) 4E during potyvirus infection. *Current Biology*, 12(12), 1046-1051.
- Levy, D. and Lapidot, M. (2008). Effect of plant age at inoculation on expression of genetic resistance to tomato yellow leaf curl virus. *Archives of virology*, 153(1), 171-179.
- McDonald, S. A., & Shillcock, R. C. (2001). Rethinking the word frequency effect: The neglected role of distributional information in lexical processing. *Language and Speech*, 44(3), 295-322.
- Moury, B., Morel, C., Johansen, E., Guilbaud, L., Souche, S., Ayme, V., and Jacquemond, M. (2004). Mutations in Potato virus Y genome-linked protein determine virulence toward recessive resistances in *Capsicum annuum* and *Lycopersicon hirsutum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17(3), 322-329.
- Moury, B., and Verdin, E. (2012). Viruses of pepper crops in the Mediterranean basin: a remarkable stasis. *Adv. Virus Res*, 84, 127-162.
- Nagai, H., and Smith, P. G. (1968). Reaction of Pepper varieties to naturally occurring viruses in California. *Plant Disease Reporter*, 52 (12), 928-930.
- Nicaise, V., German-Retana, S., Sanjuán, R., Dubrana, M. P., Mazier, M., Maisonneuve, B., and LeGall, O. (2003). The eukaryotic translation initiation factor 4E controls lettuce susceptibility to the potyvirus Lettuce mosaic virus. *Plant Physiology*, 132(3), 1272-1282.

- Padgett, G. B., Nutter Jr, F. W., Kuhn, C. W., and All, J. N. (1990). Quantification of disease resistance that reduces the rate of tobacco etch virus epidemics in bell pepper. *Phytopathology*, 80(5), 451-455.
- Pickersgill, B. (1969). The archaeological record of chili peppers (*Capsicum* spp.) and the sequence of plant domestication in Peru. *American Antiquity*, 54-61.
- Racah, B., Antignus, Y. and Cohen-Braun, M. (1983, August). Effect of a combination of a mineral oil and a pyrethroid on the transmission of CMV in laboratory and on the natural infection of MDMV in a cornfield. In *Proceedings of the 4th International Congress on Phytopathology*, Melbourne (p. 231).
- Robaglia, C., and Caranta, C. (2006). Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection. *Trends in plant science*, 11(1), 40-45.
- Ruffel, S., Dussault, M. H., Palloix, A., Moury, B., Bendahmane, A., Robaglia, C., and Caranta, C. (2002). A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E). *The Plant Journal*, 32(6), 1067-1075.
- Ruffel, S., Asnaghi, C., Roques, D., Kaye, C., Hoarau, J. Y., Telismart, H., ... & D'Hont, A. (2004). Targeted mapping of a sugarcane rust resistance gene (*Bru1*) using bulked segregant analysis and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(4), 759-764.
- Saltz, Le'onard. B., Cox, J. V., Blanke, C., Rosen, L. S., Fehrenbacher, L., Moore, M. J., and Miller, L. L. (2000). Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *New England Journal of Medicine*, 343(13), 905-914.
- Schaad, M. C., Anderberg, R. J., and Carrington, J. C. (2000). Strain-specific interaction of the tobacco etch virus NIa protein with the translation initiation factor eIF4E in the yeast two-hybrid system. *Virology*, 273(2), 300-306.
- Sowell, G., and Demski, J. W. (1977). Resistance of plant introductions of pepper to tobacco mosaic virus. *Plant Dis. Rep.*, 2, 146-148.
- Topak, H., Erbil, N. ve Dıgrak, M.(2008) Doğu Akdeniz ve Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde Yetiştirilen Biberlerin (*Capsicum annuum* L.) Antimikrobiyal Aktivitesinin Araştırılması Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi 257-264, 20(2).
- TUİK, 2009. [http://www.tuik.gov.tr/AltKategori.do?ust\\_id=13](http://www.tuik.gov.tr/AltKategori.do?ust_id=13) 21.10.2014
- TUİK, 2012. <http://www.tuik.gov.tr/01.08.2012>
- TUİK, 2014. [http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab\\_id=62](http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=62) 21.10.2014
- Wintermantel, W. M., and Kaffka, S. R. (2006). Sugar beet performance with curly top is related to virus accumulation and age at infection. *Plant disease*, 90(5), 657-662.

Yao, Y., Kathiria, P., and Kovalchuk, I. (2013). A systemic increase in the recombination frequency upon local infection of *Arabidopsis thaliana* plants with oilseed rape mosaic virus depends on plant age, the initial inoculum concentration and the time for virus replication. *Frontiers in plant science*, 4.

Yoshii, M., Nishikiori, M., Tomita, K., Yoshioka, N., Kozuka, R., Naito, S., & Ishikawa, M. (2004). The *Arabidopsis* cucumovirus multiplication 1 and 2 loci encode translation initiation factors 4E and 4G. *Journal of Virology*, 78(12), 6102-6111.

Zitter, Thomas A. (1972): "Naturally occurring pepper virus strains in South Florida." *Plant Disease Reporter* 56.7 586-590.

Zitter, T. A. and Cook, A. A. (1973). Inheritance of tolerance to a pepper virus in Florida. *Phytopathology*.



## 7. EKLER

### ELİSA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

#### Ek 1. Kaplama Tampon Çözeltisi (Coating Buffer) pH 9.6 1000ml

Kimyasal	Miktar
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1.59 gr
NaHCO <sub>3</sub>	2.93 gr
NaN <sub>3</sub>	0.2 gr

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı 9.6'a ayarlanmış ve 4 °C' de saklanmıştır.

#### Ek 2. Fosfat Tampon Çözeltisi (Phosphate Buffered Saline, PBS), pH 7.4, 1000ml

Kimyasal	Miktar
NaCl	8.0 gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.24 gr
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.44 gr
KCl	0.2 gr

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı 7.4'e ayarlanmış ve 4°C' de saklanmıştır.

#### Ek 3. Konjugat Tampon Çözeltisi (Enzyme Conjugate Buffer) pH 7.4 1000ml

Kimyasal	Miktar
PBS	1 lt
PVP	20 gr
Ovalbumin	% 2
Tween 20	0.5 ml

1 litre PBS içerisine 20 gr PVP, 2 gr ovalbümin eklendikten sonra pH ayarlandı ve 0.5 ml

tween 20 ilave edilerek hazırlanmıştır.

#### **Ek 4. Yıkama Tampon Çözeltisi (Washing Buffer) pH 7.4 1000ml**

<b>Kimyasal</b>	<b>Miktar</b>
-----------------	---------------

PBS	1 lt
-----	------

Tween 20	0.5 ml
----------	--------

1 litre PBS içerisine 0.5 ml tween 20 eklenerek hazırlanmıştır.

#### **Ek 5. Substrate Buffer pH 9.8 1000ml (Substrat Tampon Çözeltisi)**

<b>Kimyasal</b>	<b>Miktar</b>
-----------------	---------------

Diethanolamine	97 ml
----------------	-------

NaN <sub>3</sub>	0.2 gr
------------------	--------

800 ml saf su içerisine, 97 ml diethanolamine ve 0.2 gr NaN<sub>3</sub> ilave edildikten sonra pH 9.8'e ayarlanıp, 1 litreye tamamlanmış ve 4 °C' de saklanmıştır.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı: Gülendam Dilara TÜRKTUNÇ

Doğum Yeri: Kilis/Merkez

Doğum Tarihi:06.05.1989

E-Posta:dilaragulkoroglu@hotmail.com

Yabancı Dil: İngilizce

### **Eğitim Durumu**

Orta Öğretim: Kilis Lisesi/Süper Lise

Lisans: Harran Üniversitesi, 2012, Şanlıurfa

Yüksek Lisans: Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Kilis