

**TSWV VİRÜSÜNE DAYANIKLI YERLİ PEMBE
DOMATES ÇEŞİTLERİNİN MOLEKÜLER
İŞARETLEYİCİLER KULLANILARAK
GELİŞTİRİLMESİ**

Abdullah ERTEKİN



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TSWV VİRÜSÜNE DAYANIKLI YERLİ PEMBE DOMATES ÇEŞİTLERİNİN
MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLER KULLANILARAK GELİŞTİRİLMESİ**

Abdullah ERTEKİN
Orcid no: 0000-0002-0408-1018

PROF. DR. AHMET İPEK
Orcid no: 0000-0002-9136-3186
DANIŞMAN

YÜKSEK LİSANS
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

BURSA – 2020
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Abdullah ERTEKİN tarafından hazırlanan "Yerli Pembe Domates Bitkisinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün (TSWV) Moleküler İşaretleyici Yardımı İle Hastalık Dayanımın Belirlenmesi ve Mekanik İnokulasyon Yöntemi İle Doğrulanması" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Ahmet İPEK

Başkan: Prof. Dr. Ahmet İPEK

0000-0002-9136-3186

Bursa Uludağ Üniversitesi,

Ziraat Fakültesi,

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Nuray AKBUDAK

0000-0003-2669-5667

Bursa Uludağ Üniversitesi,

Ziraat Fakültesi,

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Üye: Dr. ögr. Üye Kenan SÖNMEZ

0000-0003-4040-4555

Osmangazi Üniversitesi,

Ziraat Fakültesi,

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

İmza

İmza

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN
Enstitü Müdürü

25/06/2020

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

25/06/2020

Abdullah ERTEKİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TSWV VİRÜSÜNE DAYANIKLI YERLİ PEMBE DOMATES ÇEŞİTLERİNİN MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLER KULLANILARAK GELİŞTİRİLMESİ

ABDULLAH ERTEKİN

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet İPEK

Domates dünyada en çok üretimi yapılan sebze türüdür. Dünyada ve ülkemizde domates üretimini sınırlandıran hastalıkların başında virüs hastalıkları gelmektedir. Virüs hastalıkları içerisinde de domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) ilk sırada yer almaktadır. TSWV virüsü domatesin meyve yapısında meydana getirdiği deformasyonlar nedeniyle kalite ve verimin düşmesine neden olmaktadır. Bu virüs hastalığı ile mücadele etmenin en etkin yöntemi, hastalığa karşı dayanıklı çeşit kullanmaktır. TSWV'ye karşı bilinen dayanıklılık geni baskın bir gen olan Sw-5 genidir. Bu Yüksek Lisans Tez çalışmasının amacı TSWV'ye dayanıklı yeni yerli pembe domates çeşitlerinin geliştirilmesidir. Çalışmada TSWV'ye dayanıklı 2 adet kırmızı domates hattı ve bu hastalığa karşı hassas, uzun yıllardır ticari olarak kullanılan "Nazlı F1" pembe domates çeşidi bitki materyali olarak kullanılmıştır. Hassas ebeveyn ile genetik olarak dayanıklı olduğu bilinen ıslah hatları ile yapılan melezler 6 dönem kendilenmiş ve mekanik inokulasyon yöntemi ile testlenmiştir. Moleküler testleme yöntemi sadece F2 ve F6 kademesindeki bitkilerde uygulanmıştır. Moleküler testlemede Sw-5 geni ile bağlantılı 2 adet SCAR (NCSw-003, NCSw-012) moleküler işaretleyici kullanılmıştır. Yapılan testlemeler sonucunda moleküler işaretleyicinin dayanıklı allelini taşıyan pembe domateslerin, aynı zamanda mekanik inokulasyon yöntemi ile de dayanıklı olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, Sw-5 geni ile bağlantılı moleküler işaretleyiciyi taşıyan domatesler TSWV'ye dayanıklı olduğu gözlemlenmiş fakat bu moleküler işaretleyiciyi taşımayan domates bitkilerinin ise TSWV'ye karşı hassas olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada TSWV'ye dayanıklı domates hatlarının geliştirilmesinde moleküler işaretleyicilerin başarı ile kullanılabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sw-5, SCAR, TSWV, Pembe domates, PCR,
2020, vii + 63 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

DEVELOPMENT OF LOCAL PINK TOMATO VARIETIES RESISTANT TO TSWV USING MOLECULAR MARKERS

Abdullah ERTEKİN

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof.Dr. Ahmet İPEK

Tomato is the most produced vegetable type in the World. Virus diseases are the leading diseases that limit tomato production in the world and in our country. Tomato spotted wilt virus comes first among these diseases. TSWV causes a decrease in quality and yield due to deformations in fruit structures. Chemical and biological control methods are insufficient in the fight against TSWV. The most effective method to combat this virus is to use disease-resistant varieties. The known gene for resistance against TSWV is the Sw-5 gene, a dominant gene. The aim of this Master's Thesis study is to develop new varieties of domestic pink tomatoes that are resistant to TSWV. In the study, two red tomato lines resistant to TSWV and “Nazlı F1” pink tomato variety, which has been used for many years, are used as plant materials. Hybrids made with breeding lines known to be genetically resistant with the sensitive parent were self-pollinated for 6 generations and tested by mechanical inoculation method. Molecular testing method was applied only in plants at the F2 and F6 stage. Two SCAR molecular markers (NCSw-003, NCSw-012) associated with the Sw-5 gene were used in molecular testing. Pink tomatoes carrying the resistant allele of the molecular marker were also found to be resistant by mechanical inoculation method. As a result, tomatoes carrying the molecular marker associated with the Sw-5 gene were observed to be resistant to TSWV, but tomato plants that did not carry this molecular marker were found to be sensitive to TSWV. In this study, it has been demonstrated that molecular markers can be used successfully in the development of TSWV resistant pink tomato lines.

Key words: Sw-5, SCAR, TSWV, Pink Tomato, PCR,
2020, vii + 63 pages.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışma sürecimde, değerli bilgi birikimini benimle paylaşan, zengin bakış açısıyla beni aydınlatan, çalışmam sürecince bana karşı sabrı ve güler yüzünü esirgemeyen, her konuda yardımcı olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet İPEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışma sürecimde imkan ve olanakları ile desteklerini esirgemeyen Dikmen Tarım Ürünleri ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmamda farklı bakış açısı ve deneyimleri ile beni yönlendiren Marfid Üretim müdürü Serdar DİKMEN'e teşekkürlerimi sunuyorum.

İş hayatım süresince ve laboratuvar çalışmalarımda yardım ve desteklerini esirgemeyen Zir. Müh. Çağın Deniz DİKMEN'e teşekkür ediyorum.

Arazi çalışmalarım ve iş hayatım sürecinde desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Zir. Müh. Selçuk ÇETİNKAYA, Zir. Müh. Rıdvan UYAR, Zir. Müh. Şahan TEZCAN ve Zir. Müh. Salih Uzay DİKMEN'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Yüksek lisans çalışma sürecim ve tez yazım sürecimde yanımda olan Zir. Müh. Emirhan AKÇİN'e teşekkür ediyorum.

Yaşamım boyunca maddi ve manevi her konuda yanımda olan, bana güvenen, desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen başta babam Osman ERTEKİN, annem Ganimet ERTEKİN, kardeşim Asuman ERTEKİN ve ablam Emine TOPAK'a sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

ABDULLAH ERTEKİN

25/06/2020

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	7
2.1. Domateste Hastalık Yapan Virüsler.....	7
2.2. TSWV Belirtileri.....	7
2.3. Virüsün Taşınma Yolları.....	8
2.4. Virüs Morfolojisi ve Genom yapısı.....	9
2.5. Virüs Konukçuları.....	9
2.6. Hastalıkla Mücadele.....	10
2.7. Hastalığın Bulunuşu ve Yayılışı.....	10
2.8. Moleküler İşaretleyiciler.....	11
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	23
3.1. Materyal.....	23
3.2. Yöntem.....	24
3.2.1. Domates bitkilerinin yetiştirilmesi.....	24
3.2.2. Dayanıklılık Islahı.....	24
3.2.3. TSWV hastalık testlemesi.....	25
3.2.4. Mekanik inokülasyon.....	27
3.3. Moleküler Analizler.....	30
3.3.1. DNA izolasyonu.....	30
3.3.2. SCAR analizi.....	32
3.3.3. Primerler.....	32
3.3.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	33
3.3.5. Agaroz jel elektroforezi.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Serolojik Testleme.....	35
4.2. DNA İzolasyonu.....	39
4.3. PCR Analizi Sonuçları.....	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	43
KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	50

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

+ ∞
°C
H₂O

Açıklama

Sonsuz
Santigrat derece
Su

Kısaltmalar

µl
ALFP
AMV
bp
BWYV
CAPS
cDNA
cm
CMV
CTAB
dk
DNA
dNTP
ELISA
FAO
g
GRSV
hz
ISSR
kb
LMV
M
MAS
mg
MİLBVV
ml
MYS
ng
P_(F)
P_(R)
PCR
pH
PVX
PVY
QTL
RAMP

Açıklama

Mikrolitre
Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
Alfalfa mosaic virus
Base pair
Beet western yellow virus
Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
Komplementer DNA
Santimetre
Cucumber mosaic virus
Cetyl Trimethylammonium Bromide
Dakika
Deoksiribo Nükleik Asit
Deoksinükleotidtrifosfat
Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
Food And Agriculture Organization
Gravite (Santrifüj Kuvveti)
Groundnut ringspot tospovirus
Hertz
Basit Sekans Tekrarlamalı Arası Polimorfizmi
Kilo baz çifti
Lettuca mosaic virus
Molarite
Marker assisted selection
Miligram
Mirafiori lettuca bigvein virus
Mililitre
İşaretleyici yardımcı seleksiyon
Nanogram
İleri Primer
Geri Primer
Polymerase Chain Reaction
Power of hydrogen
Potato X virus
Potato Y virus
Kantitatif karakter lokusu
Rasgele Çoğaltılmış Mikroselit Polimorfizmi

RAPD	Rasgele oğaltılmış Polimorfik DNA
RNA	Ribo Nükleik Asit
RT-PCR	Reverse Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SCAR	Sekansı Karakterize Edilmiş oğaltılmış Bölgeler
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi
SSCP	Tek İplik Konformasyon Polimorfizmi
SSR	Basit Dizi Tekrarı
Taq	Termo stabil polimeraz enzimi
TBE	Tris Boric Asit EDTA
TBRV	Tomato black ring virus
TCSV	Tomato chlorotic spot tospovirus
TMV	Tobacco mosaic virus
TOCV	Tomato chlorosis ring virus
ToMV	Tomato mosaic virus
TRAP	Hedef Bölge ođaltma Polimorfizmi
TRSV	Tomato ring spot virus
TSWV	Tomato spotted wilt virus
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TYLCV	Tomato yellow leaf curl virus
U	nite

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. A) TSWV' nin yaprakta oluşturduğu semptomlar B) TSWV' nin domates meyvesine verdiği zararlar gösterilmektedir.....	8
Şekil 3.1. "Nazlı F1" hibrit çeşitinin bitki ve meyve yapısı.....	23
Şekil 3.2. "Nazlı F1" pembe domates çeşidine, 281.6.A ve 283.1.1 numaralı kırmızı domates hatlarından TSWV' ye karşı hastalık dayanımın aktarılması ve saf hatların elde edilmesi gösterilmiştir.....	25
Şekil 3.3. A) TSWV ile bulaşık yaprak örneği ve B) Hastalıklı yaprak örneklerinin parçalayıcı torba içine alınması.....	26
Şekil 3.4. A) Özü çıkartılan virüslü yaprak örneğinin Bioreba TSWV Agristrip test kiti ile testinden görüntü ve B) Yaprak örneği testleme sonucu çift çizgi vererek TSWV ile bulaşık olduğu (pozitif) tespit edilmiştir. Tek kırmızı çizgi sonucun negatif olduğunu gösterirken çift kırmızı çizgi sonucun pozitif olduğunu göstermektedir.....	27
Şekil 3.5. A) Ezilerek özü çıkarılan yaprak örnekleri ve B) Testleme sonucu tek çizgi (Negatif) vererek TSWV ile bulaşık olmadığını göstermektedir.....	27
Şekil 3.6. A) TSWV ile bulaşık olduğu tespit edilen yaprak özütü, karborandum, silisyum ve fosfat tampon çözeltisi karıştırılarak hazırlanan inokulum sölüsyonu ve B) Virüsün bulaştırılması için pamuk yardımı ile arazide bulunan domateslerin genç yapraklarının alt ve üst yüzeylerine sürülmüştür.....	28
Şekil 3.7. "Nazlı F1" X 281.6.A (F6) melezlerinde virüs bulaştırma.....	28
Şekil 3.8. "Nazlı F1" pembe domatesine melez yapılan TWSV dayanımı olduğu bilinen kırmızı domates hattı 281.6.A. e virüs bulaştırma.....	29
Şekil 3.9. "Nazlı F1" X 283.1.1 (F6) melezine ait virüs bulaştırma.....	29
Şekil 3.10. Kırmızı domates hattı olan 283.1.1 numaralı hatta virüs bulaştırma.....	30
Şekil 4.1. TSWV' ye karşı hassas olduğu bilinen "Alsancak F1" çeşidinin ve yapraklarındaki hastalık semptomları.....	36
Şekil 4.2. Nazlı F1 X 281.6.A (F6) melezinde hastalık semptomları gözlemlenmemiştir.....	36
Şekil 4.3. 281.6.A Domates ıslah hattında hastalık semptomları gözlemlenmemiştir...37	37
Şekil 4.4. Nazlı F1 X 283.1.1 (F6) melezi hastalık semptomları gözlemlenmemiştir...37	37
Şekil 4.5. 283.1.1 Domates ıslah hattı hastalık semptomları gözlemlenmemiştir.....38	38
Şekil 4.6. "Nazlı F1" pembe domatesin yapraklarındaki TSWV deformasyonları ve meyvesinde zarar şekli gösterilmiştir.....	38
Şekil 4.7. Ncsw-003 moleküler işaretleyicisine ait jel görüntüsü.....	40
Şekil 4.8. Ncsw-012 moleküler işaretleyicisine ait görüntüsü.....	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Dünya yaş sebze üretim miktarı (ton).....	2
Çizelge 1.2. Domates meyvesindeki kuru madde bileşenleri ve yüzdeleri.....	3
Çizelge 1.3. Türkiye domates toplam üretim miktarları	4
Çizelge 1.4. Türkiye örtü altı domates üretim miktarları.....	4
Çizelge 2.1. DNA işaretleyicilerinin sınıflandırılması.....	12
Çizelge 3.1. DNA izolasyonu için kullanılan bitki materyali	31
Çizelge 3.2. Primer dizisi	33
Çizelge 3.3. PCR reaksiyonunun bileşenleri.....	33
Çizelge 3.4. Sıcaklık döngü koşulları (PCR)	34
Çizelge 4.1. Domates izolasyon sonucu.....	39

1. GİRİŞ

İnsanoğlunun var oluşundan beri temel ihtiyaçların başında besin maddeleri gelmektedir. Gün geçtikçe artmakta olan nüfusla orantılı olarak tarım arazilerindeki azalışla birlikte gıda sıkıntısı giderek artmaktadır. Tarım arazilerin azalışı ile birim alandan alınan verimi arttırmak adına birçok çalışma yapılmaktadır. Türkiye tarım arazisi bakımından potansiyeli yüksek bir ülkedir. Ekolojik ve coğrafik konumundan dolayı birçok bitki türünün gen merkezi konumundadır. Türkiye’de ve Dünyada sebze grupları içerisinde domates ekonomik değeri ile ilk sırada yer almaktadır.

Domates (*Solanum lycopersicum*), patlıcangiller (*Solanaceae*) familyasından olup, meyvesi yenen sebzeler grubunda yer alan bir bitki türüdür. Tropik bölgelerde çok yıllık olmasına rağmen diğer bölgelerde tek yıllık olarak yetiştiriciliği yapılan bir sebzedir (Özdoğan ve Seferoğlu 2015). Domates biyolojik olarak kendisine döllen bir sebze türüdür ancak %1-5 oranında yabancı döllenme de görülebilmektedir. Kromozom sayısı $2n=24$ ’dür (Keskin 2014). Besleyiciliği ve lezzetli oluşundan dolayı dünyanın birçok yerinde en çok üretilen ve tüketilen sebze türü olarak yerini almıştır (Ertürk ve Çirka 2015). Domates yetiştiriciliği yapılan bölgelerde üreticiler bakımından önemli bir gelir kaynağıdır.

Domates dünyada en fazla üretimi yapılan sebzelerin başında gelmektedir (Çizelge 1.1). Türkiye, domateste dünyada en fazla üretim yapan dördüncü ülke olarak yerini almaktadır. FAO verilerine göre 1,1 milyar ton olan toplam sebze üretiminde domates 162 milyon ton ile büyük bir paya sahiptir. 2016 yılı itibari ile dünya yaş sebze üretiminde ilk dört sırayı alan ülkeler; Çin, Hindistan, ABD ve Türkiye’dir. Ülkemiz ise 12,1 milyon tonluk domates üretimi ile Çin, Hindistan ve ABD’den sonra dünya domates üretiminde 4. sırada yer almakta ve ülkemiz sebze üretimindeki payı yaklaşık %40’ı bulmaktadır (Kılıç ve ark. 2017).

Çizelge 1.1. Dünya yaş sebze üretim miktarı (ton) (Anonim 2019)

	2014	2015	2016	2017	2018
Domates	174 787 530	176 823 434	178 158 747	180 945 772	182 256 458
Kuru Soğan	89 157 147	91 457 876	94 838 690	97 484 228	96 773 819
Hıyar ve Kornişonlar	76 111 305	78 037 657	79 844 838	77 896 545	75 219 440
Lahana	70 690 783	70 190 424	69 790 058	70 452 635	69 381 555
Pathcan	49 997 219	50 560 709	51 302 856	52 489 150	54 077 210

Ülkemizin sebze üretimi düzenli olarak artış göstermektedir. Son yıllarda örtü altı sebze yetiştiriciliğine olan yönelim, ülkemizin domates üretimindeki artışında önemli bir pay sahibidir. Örtü altı yetiştiriciliği ile birlikte domates üretimi neredeyse tüm yıla yayılmıştır. Türkiye’de taze tüketim için domates üretimi açıkta ve seralarda, sanayide hammadde olarak kullanılan domates ise açıkta yapılmaktadır (Arıkbay 1996). Taze olarak tüketildiği gibi salça, domates suyu, konserve, kurutulularak, turşu, reçel ve ketçap şeklinde değerlendirilmektedir (Turhan ve Şeniz 2009). Domates vitamin ve mineral maddelerce zengindir. Domates bitkisi sıcak ve ılıman iklim sebzesidir.

Genel olarak yetiştiricilik periyodu boyunca ideal ortalama sıcaklık isteği 20-25⁰C arasındadır. Bu sıcaklık değerleri altında ve üzerinde seyreden hava sıcaklıklarında verimlilik azalmaktadır. 10⁰C’nin altındaki sıcaklıklarda çiçek oluşumu üzerine olumsuz etki etmekte ve gece donlarından olumsuz etkilenmektedir. 30⁰C üzerindeki hava sıcaklıklarında çiçeklenme görülmekte; ancak döllenme gerçekleşmemektedir. Döllenme olmadan gelişen meyveler tohum bağlamamakta ve verim önemli ölçüde düşmektedir. Domates sıcaklığı sevdiği kadar ışığı da seven bir sebze türüdür. Çiçeklenme için günlük en az 6 saat ışıklanmaya ihtiyaç duyan domates az ışık yoğunluğuna karşı duyarlıdır. Özellikle kış aylarında ışık ve sıcaklık değerlerindeki azalış ürün miktarlarında da azalışa sebep olmaktadır. Döllenmenin sağlıklı bir şekilde gerçekleşebilmesi için domates %70-80 oranında oransal hava nemine ihtiyaç duymaktadır (Ata 2015).

Domates, kumlu topraklardan ağır killi topraklara kadar her tip toprakta yetiştirilse de en iyi sonucu derin, geçirgen, su tutma kapasitesi yüksek, humus ve besin maddelerince

zengin tınlı topraklarda vermektir. Domates meyvesinin büyük bir kısmını su (%93-95) oluşturmaktadır. Kalan %5-7 oranında ise organik bileşikler, organik asitler, alkolde çözünemeyen katı maddeler, karatenoidler ve lipitler oluşturmaktadır (Sönmez ve Ellialtıoğlu 2014). Domates meyvesindeki kuru madde içerikleri ve yüzdeleri Çizelge 1.2' de verilmiştir.

Çizelge 1.2. Domates meyvesindeki kuru madde bileşenleri ve yüzdeleri (Sönmez ve Ellialtıoğlu 2014)

Meyve İçeriđi	%	Meyve İçeriđi	%
Fruktoz	25	Selüloz	6
Glukoz	22	Hemiselüloz	4
Sakkaroz	1	Mineraller	8
Sitrik Asit	9	Yađlar	2
Malik Asit	4	Askorbik Asit	0.5
Protein	8	Renk Maddeleri	0.4
Dikarboksilik Amino Asit	2	Uçucu Bileşikler	0.1
Pektinler	7	Diđerleri(Amino Asit, Vitaminler, Polifenoller)	1

Domatesin anavatanı Orta ve Güney Amerika olup kültür bitkisi olarak kullanımı Peru kıyılarında başlamıştır (Günay 1992). Domates anavatanı olan Peru, Bolivya ve Ekvatordan 16. Yüzyılda Avrupa'ya getirilmiştir. Türkiye'ye girişı ise Adana üzerinden yaklaşık 100 ila 150 yıl önce olmuş ve günümüzde Anadolu da yaygın olarak yetiştirilmekte ve tüketilmektedir (Yazgan ve Fidan 1996).

Çizelge 1.3'de verilen TÜİK verilerine göre 2018 yılında 12 150 000 ton domates üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu üretimin 8 414 920 tonu sofralık olarak tüketilmiş, 3 735 085 tonu salçalık üretiminde kullanılmıştır. 2019 yılında 12 814 990 ton domates üretiminin 8 836 055 tonu sofralık tüketilmiş ve 4 005 935 tonu salçalık üretiminde değerlendirilmiştir. Çizelge 1.4'de verilen TÜİK verilerine göre örtü altında gerçekleştirilen domates üretimi 2004 yılında üretim miktarı 1 960 185 ton (Anonim 2004) iken 2019 yılında örtü altında

domates üretim miktarı 4 083 681 milyon tona ulaşmıştır. Aradan geçen 15 yıllık süreçte örtü altı üretim miktarı yaklaşık olarak 2 kat arttığı görülmektedir.

Çizelge 1.3. Türkiye domates toplam üretim miktarları (Anonim 2020a)

Yıllar	Üretim Miktarı (Ton)
2015	12 615 000
2016	12 600 000
2017	12 750 000
2018	12 150 000
2019	12 814 990

Çizelge 1.4. Türkiye örtü altı domates üretim miktarları (Anonim 2020b)

Yıllar	Örtü altı Üretim Miktarı (Ton)
2015	3 394 447
2016	3 614 522
2017	3 829 831
2018	3 888 555
2019	4 083 681

Domates yetiştiriciliğinde, fide döneminden itibaren hasada kadar geçen süre zarfında fungal, bakteriyel ve virüs hastalıkları son derece önemli kayıplara neden olmaktadır. Fungus ve bakteriyel hastalıklara karşı kültürel, mekanik ve kimyasal mücadele yöntemleri geliştirilmiştir. Ancak virüslerin neden olduğu hastalıklara karşı henüz herhangi bir kimyasal mücadele yöntemi bulunmamaktadır (Valizadeh ve ark. 2011).

Özellikle domates yetiştiriciliğinde önemli kayıplara neden olan *Tomato spotted wilt virus*'ü (TSWV) bir tospovirus'tür. Geniş bir konukçu aralığına sahip olan TSWV özellikle kültür bitkileri ve süs bitkilerinde salgın yaparak büyük oranlarda verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadır (Adkins 2000). TSWV ilk olarak Avustralya da tespit edilmiştir. Günümüzde ise bu virüs, Avrupa ve dünya çapında çok büyük ekonomik kayıplara yol açan bir salgın hastalığa neden olmaktadır. TSWV' den kaynaklı verim kayıplarının oransal değerleri %30'dan başlayarak %100'e kadar ulaşabilmektedir. TSWV' nin zarar yaptığı diğer sebze türleri patlıcan, marul, fasulye, biber, tütün, enginar, papaya, patates, yerfıstığı ve kereviz olup ve bu türlerde de önemli kayıplara neden olduğu bildirilmiştir (Şevik 2011).

Bitkilerde viral hastalıklara karşı mücadele oldukça zordur. Günümüzde en güvenilir ve başarılı yöntemlerden birisi hastalığa karşı dirençli veya tolerant çeşitler kullanmaktır. Tospo virüslerde dayanıklılık sağlayan genler *S. lycopersicum*'un çeşitlerinde ve *S. habrochaites*, *S. peruvianum*, *S. chilense* ve *S. pimpinellifolium* dâhil olmak üzere yabani olan domates çeşitlerinde bulunmuştur (Oğuz ve ark. 2009). TSWV hastalığına karşı bilinen en güvenilir dayanıklılık kaynağı ise Sw-5 geninin sağladığı dayanıklılık olduğu tespit edilmiştir.

Bugüne kadar yapılan araştırmalar sonucunda TSWV' ye karşı dayanıklılık sağlayan 5 baskın (Sw-1a,Sw-1b,Sw-5,Sw-6 ve Sw-7) ve 3 resesif (Sw-2,Sw-3,Sw-4) gen tespit edilmiştir (Panthee, ve ark. 1953). Sw-5 geni ilk olarak *L. peruvianum* da tanımlanan dayanıklılık genidir. Sw-5 genini taşıyan bitkiler, virüsün sistematik yayılımını kısıtlayabilmektedir (Dianese ve ark. 2010). TSWV için Sw-5 geninin, domatesin 9. kromozomunun üzerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Sw-5 geni 5 alleli (Sw-5a, Sw-5b, Sw-5c,Sw-5d,Sw-5e) vardır. Bu 5 allellerden TSWV virüsüne karşı dayanıklılık için Sw-5b allelli kullanılmaktadır (Panthee ve Ibrahim 2013). Sw-5 gen kümesinin potansiyel olarak mikrobiyal ürünleri tanıyabilen ve bitki hücresi bağışıklığına yol açan sinyal yollarını aktive edebilen protein reseptörlerini kodladığı belirlenmiştir. Domates genomunda birkaç Sw-5 homoloğu bulunmaktadır. Sw-5b homoloğu bunlardan sadece bir tanesidir ve geniş bir yelpazede (Trips-iletimli) ortofotovirüslere karşı işlevselliği nedeniyle yoğun bir şekilde çalışılmıştır.

Ülkemizde önemli bir pazarı bulunan hibrit pembe domatesler genellikle yerel popülasyonlar kullanılarak ıslah edilmiştir ve TSWV virüsüne karşı hassastır. Pembe domates ıslahında moleküler yöntemler ile TSWV virüsüne dayanıklılık sağlayan genlerin aktarılması önem arz etmektedir. Bu yüksek lisans tez çalışmasının amacı, TSWV virüsüne dayanıklılık sağlayan Sw-5 genin Sw-5b allelinin kırmızı domates çeşidinden pembe domates çeşidine hem moleküler işaretleyici hem de inokulasyon yöntemi kullanarak aktarmaktadır.

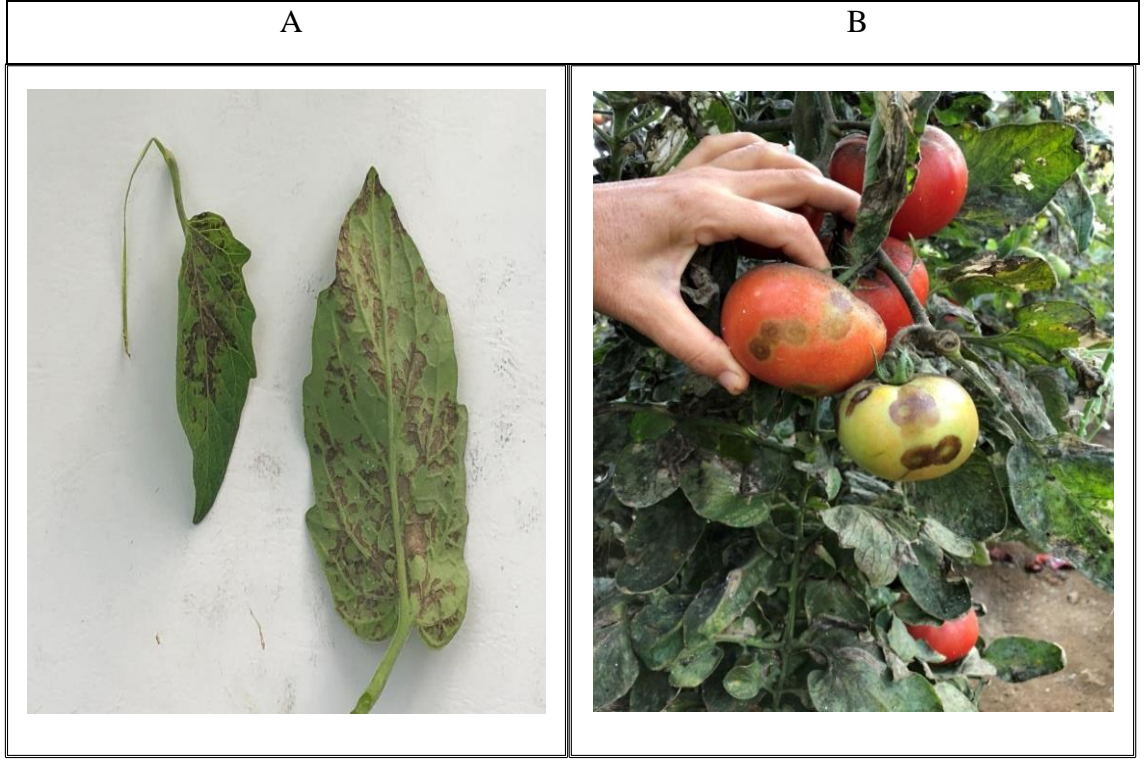
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Domateste Hastalık Yapan Virüsler

Domates dünyada ve ülkemizde en çok üretimi yapılan sebze türüdür. Domates üretiminde hastalık ve zararlıların önemli ekonomik kayıplara yol açtığı bilinmektedir. Hastalıkların oluşturduğu ekonomik kayıpların başında viral hastalıkların geldiği bilinmektedir. Virüs hastalıklarının oluşturdukları zararlar bölgesel, mevsimsel ve üründen ürüne değişiklik göstermektedir. Son yıllarda domateste görülen viral hastalıklarda artışlar gözlemlenmektedir (Şevik 2011). Ülkemizin değişik bölgelerinde domates bitkilerinde farklı virüs türlerinin enfeksiyon oluşturduğu tespit edilmiştir. Domates üretiminin yapıldığı alanlarda ürün kayıplarına sebebiyet veren virüslerin başında *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Potato Y Virus* (PVY), *Potato X Virus* (PVX), *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Tomato ring spot virus* (TRSV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tomato black ring virus* (TBRV), *Tomato chlorosis virus* (TOCV) rapor edilmiştir (Valizadeh ve ark. 2011; Kılıç ve ark. 2017).

2.2. TSWV Belirtileri

Domateste TSWV' nin neden olduğu hastalığın belirtileri, oldukça çeşitlilik göstermektedir. Belirtiler konukçu bitkiye, yılın zamanına ve çevresel koşullara göre değişmektedir (Soler et al., 1998). TSWV' nin domates bitkisinde ilk görünür belirtileri, genç yapraklarda küçük kahverengimsi-siyah çok sayıda dairesel küçük lekelerdir (Şekil 2.1.A). Bu hastalık etmeni bitki bünyesinde yapraklarda kıvrıcıklık, solgunluk ve bodurluk gibi belirtiler oluşturur. Hastalık ilerledikçe yaprakların büyüme uçları ölebilir. Gövde ve yaprak sapı boyunca genellikle koyu, parlak çizgiler görülür. Meyvede genellikle karakteristik yeşil, sarı ve kırmızı hafif iç içe geçmiş halkalar görülür (Şekil 2.1.B). Bu virüs domates meyvesinde deformasyona neden olarak kalite, verim ve pazar değerinin azalmasına yol açmaktadır (Şevik 2015).



Şekil 2.1. A) TSWV' nin yaprakta oluşturduğu semptomlar **B)** TSWV' nin domates meyvesine verdiği zararlar gösterilmektedir.

2.3. Virüsün Taşınma Yolları

Ülkemizde TSWV ilk olarak marul bitkisi üzerinde tespit edilmiştir (Tekinel ve ark. 1969). TSWV dünyada yaygın olan bir virüstür (Colariccio et al., 2004). Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virüs*, TSWV) *hysanoptera* takımı *Thripidae* familyası içinde yer alan 3 cinse (*Thrips*, *Frankliniella*, *Scirtothrips*) ait 9 trips türü ile sirkülatif olarak ve yayılarak (vektörün hücrelerinde çoğalarak) taşınmaktadır. Bu 9 tür trips arasında özellikle virüsün yayılmasında etkili olan tripsler *F. Occidentalis* (batı çiçek tripsi), *F. scultzei* *Thripstabaci'dir* (Nagata et al., 2000; Şevik 2008). TSWV' nin birçok ülkede domates dışında da farklı bitki türlerinde zarar yaptığı gözlemlenmiştir. Bölgelere, iklim şartları ve çevresel etmenlere bağlı olarak TSWV' nin en önemli vektörü Flower Thrips (*Frankniell aoccidentalis*) olarak bildirilmiştir (Adkins 2000). Thripidae familyasına ait olan trips vektörleri ile yayılmasından dolayı geniş bir alana yayılmış ve konukçuların fazla oluşundan dolayı da dünya üzerinde önemli bir virüstür. Birçok vektör-virüs birliği gibi, tripsler TSWV ilişkisi de çok spesifiktir. Üretim alanlarında önemli ekonomik kayıplara sebebiyet vermiştir (Akcura ve Şevik 2005).

2.4. Virüs Morfolojisi ve Genom yapısı

Virüslerin genel olarak yapısı nükleik asit, protein, zar (peplos), lipid ve khodan oluşmaktadır. Virüs yapısında nükleik asitin görevi genel karakterlerin taşıyıcılığı rolüne sahiptir. Proteinlerin virüs bünyesindeki genel görevleri, çoğunlukla nükleik asidi saran kılıfta, zarflı (zarlı) virüslerin zarında fonksiyonel enzimler veya yapısal olarak bulunmaktadır. Proteinler, nükleik asidi korumak, virüs simetrisini belirlemek ve hücreye girişinde görev almaktadır. TSWV' nin virionlarının, diğer bitki virüsleri ile karşılaştırıldığında daha karmaşık bir yapıda olduğu göze çarpmaktadır. Bu yapısı diğer virüslerden ayrılan en tipik özelliğidir (De Haan et al., 1990). Virionlar dış görünüşleri ile küremsi yapıları andırmakla beraber yaklaşık olarak 80-110 nm çapındadır. Virionlar iki adet viral glikoprotein olan G1 ve G2'den oluşan yüzey çıkıntılarına sahiptir. TSWV partikülü %5 nükleik asit (RNA), %70 protein, %20 lipid ve %5 karbonhidrat içermektedir. Viral yüzey (kabuk) üzerinde 3 viral RNA bulunmaktadır ve her biri boyut olarak bir birinden farklılık göstermektedir. Büyük (L), orta (M), küçük (S) olarak isimlendirilmiştir (Adkins 2000). RNA segmentlerinden birisi negatif poloritede (negatif duyarlı 3'→5') diğer ikisi ambisense (hem 5'→3' hem de 3'→5' özelliği) özellik taşır. Kabuk içinde bulunan glikoproteinler virionları olgunlaşmasını sağlamakla beraber tripslerin TSWV' yi tanınmasında görev alır (Pappu ve ark. 2009).

2.5. Virüs Konukçuları

Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün (TSWV) geniş bir konukçu aralığına sahip oluşu epideminin yoğun bir şekilde gerçekleşmesine neden olmaktadır. Tek ve çift çenekli bitkilerde 80'ni aşkın familya ve 700'den farklı bitki türünün bulunduğu çok geniş bir konukçu aralığına sahiptir (Gordillo et al.,2008). Tropik ve subtropik bölgelerde süs bitkilerinde, yabancı otlarda ve kültür bitkilerinde yoğun bir epidemi oluşturmaktadır (Oğuz ve ark. 2009; Wilson et al., 2000). Sebze grupları içerisinde *Solanacea* familyası virüsün ana konukçularını barındırmakla beraber 100'ün üzerindeki türde hastalığa yol açmaktadır. Virüsün hastalık oluşturduğu bitkilerin başında domates ve marul bitkileri gelmektedir. Bununla birlikte patlıcan, enginar, hıyar, kavun, karpuz, yarfıstığı, soya,

tütün ve patates gibi tarımsal önemi yüksek bitkilerde de hastalık görülmektedir (Şevik 2011; Rosello ve ark., 1996).

2.6. Hastalıkla Mücadele

Domates lekeli solgunluk virüsü ile doğrudan kimyasal mücadele yöntemi mevcut değildir. Kimyasal mücadele yöntemi tripsler için kullanılabilir bir yöntem olmakla beraber birçok trips türü kimyasal ilaçlara karşı bağışıklık kazanmıştır (Oğuz ve ark. 2009). Tercih edilmesi gereken kimyasal ilaçlar daha çok tripslerin beslenmesini bozabilecek ilaçlardır. Kimyasal mücadele tek başına kesin çözüm değildir. Kimyasal mücadelenin yanında kültürel önemler alarak virüsün yayılışını sınırlamak mümkün olabilmektedir. Özellikle seralarda tripslere karşı feromon tuzaklar kurulmalı, tripslerin giremeyeceği şekilde tüller çekilmelidir (Şevik 2008). Bunlara ek olarak virüse konukçuluk edebilecek yabancı ot ve süs bitkileri yetiştiricilik yapılacak alanlardan uzaklaştırılmalıdır. Hastalıklı bitkiler sökülerek yetiştirme alanının dışına çıkartılmalı ve yakılarak imha edilmelidir. Domates lekeli solgunluk virüsüne karşı günümüzde en etkili mücadele yöntemi olarak genetik dayanıklılık yöntemi ön plana çıkmaktadır (Şevik 2015). Biyolojik mücadelede predatör akar *Neoseiulus cucumeri* ile birlikte '*Orius laevigatus*' ve '*Amblyseius swirskii*' tripsler ile mücadelede avcı böcek türleri arasında başarı oranı yüksek olmaları nedeni ile ön plana çıkmaktadır (Arthurs ve ark. 2009; Şevik 2015).

2.7. Hastalığın Bulunuşu ve Yayılışı

Tospoviridae familyasına ait olan domates lekeli solgunluk virüsü(TSWV) ilk olarak 1915 yılında Avustralya'da Brittlebank tarafından domates bitkisi üzerinde tespit edilmiştir (Brittlebank 1919). Son yıllarda ülkemizde ve dünya genelinde çok büyük ekonomik zararlar oluşturan domates lekeli solgunluk virüsü Avustralya'da tespit edilmiş olsa da dünyanın birçok bölgesinde çok sık görülmeye başlanmış ve Kuzey ve Güney Amerika, Avrupa ve Asya kıtalarına yayıldığı bildirilmiştir (Adkins et al., 2005). Türkiye'de TSWV için farklı bölgelerde birçok çalışma yapılmıştır. Ülkemizde "TSWV sebze grupları içerisinde ilk olarak marulda Tekinel ve Ark (1969) tarafından rapor edilmiştir"(Sertkaya 2015). Ülkemizde domates üzerinde TSWV' nin varlığı ilk olarak

1995 yılında Mersin’de rapor edilmiştir. Dünya ve ülkemizde birçok ekonomik kayıplara neden olan domates lekeli solgunluk virüsü karantina patojeni olarak düzenlenmesi için önerilen EPPO A₁ zararlı listesine eklenmiştir (Oğuz ve ark. 2009). Domates lekeli solgunluk virüsü dışında domateste önemli kayıplara neden olan domates kloroz virüsü (*Tomato chlorosis virus*), domates enfeksiyöz kloroz virüsü (*Tomato infectious chlorosis virus*), domates ringspot virüsü (*Tomato ring spot virus*) ve domates sarı yaprak kıvrıcılığı da (*Tomato yellow leaf curl virus*) EPPO A₂ listesinde bulunan diğer virüsler olarak yer almaktadır (Anonim 2020c).

2.8. Moleküler İşaretleyiciler

Bitki ıslahının temeli ekonomik değere sahip bitki tür ve çeşitlerinin genetik yapısında (genetik ve sitogenetik esaslara dayalı) değişiklikler meydana getirerek yetiştirici ve tüketici istekleri doğrultusunda daha kaliteli, yüksek verimli, hastalık ve zararlılara dayanıklı çeşitleri planlı ve programlı olarak geliştirmektir (Yorgancılar 2015). Geleneksel bitki ıslahı tek başına bu konuda her zaman yeterli olmamakta ve uzun zaman alan bir yöntemdir. Buna ek olarak, geleneksel bitki ıslahı çevre şartlarından çok etkilenmektedir. Bitki ıslahçıları bu sebeplerden dolayı farklı arayışlar ve yöntemler içerisine girmişlerdir. Son yıllarda bitki ıslahçıları moleküler işaretleyici teknolojisinin bitki ıslahında daha güvenilir ve kesin sonuçlar vermesinden dolayı moleküler yöntemlere yönelmişlerdir (Budak ve ark. 2004).

Moleküler bitki ıslahı gen ya da gen bölgelerine bağlantı gösteren moleküler işaretleyicilerin bitki ıslahında kullanılmasını kapsamaktadır. Günümüzde moleküler ıslah çalışmalarının temelini oluşturan moleküler işaretleyicilere dayalı seçim (MAS) uygulamaları kısa sürede hastalıklara dayanıklı, yüksek kalite ve verim özelliklerine sahip bitki çeşitlerinin geliştirilmesine olanak vermektedir. Ülkemizde yeni çeşit geliştirme çalışmalarının etkin bir şekilde yapılabilmesi için moleküler işaretleyici teknolojisinin, geleneksel bitki ıslahına entegre edilmesi kaçınılmaz olmuştur. Moleküler işaretleyiciler genel tanımı ile bireyler arasındaki DNA farklılıklarını ortaya koyan yöntemlerdir (Karp ve ark., 2012; Yorgancılar 2015).

Bitki Islahı Seleksiyonunda Kullanılan Moleküler İşaretleyiciler;

- Morfolojik İşaretleyiciler
- Biyokimyasal İşaretleyiciler
- DNA İşaretleyicileri

DNA işaretleyicileri farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyan işaretleyicilerdir (Gülşen ve Mutlu, 2005). DNA işaretleyicilerinin sınıflandırılması Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. DNA işaretleyicilerinin sınıflandırılması (Vardar ve ark. 2010)

DNA İşaretleyicileri	
Nükleotid Dizisine Spesifik Olmayanlar	Sekansa Spesifik Olanlar
Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD)	Basit Dizi Tekrarı (SSR)
Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (ALFP)	Basit Sekans Tekrarlamaları Arası Polimorfizm (ISSR)
	Sekansı Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler (SCAR)
	Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik Diziler (CAPS)
	Rastgele Çoğaltılmış Mikroselit Polimorfizmi (RAMP)
	Sekansa Bağlı Çoğaltılmış Polimorfizmi
	Hedef Bölge Çoğaltma Polimorfizmi (TRAP)
	Tek İplik Konformasyon Polimorfizmi (SSCP)
	Tek Nükleotit Polimorfizmi (SNP)

Bitki ıslahında moleküler işaretleyici destekli seçim (MAS), spesifik genlere, allellere veya çoklu kombinasyonlara bağlı genetik işaretleyicileri tanımlayarak hastalık direncinin seçiminde, yaygın ve başarılı bir biçimde kullanılmıştır. Bu yüzden moleküler işaretleyicilere dayalı seçimde özellikle eşbaskın (homozigot ve heterozigot bireyleri ayırabilen moleküler işaretleyiciler) işaretleyiciler tercih edilmektedir. Özellikle CAPS (Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik Diziler) ve SCAR (Sekansı Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler) işaretleyicileri ön plandadır. SCAR ve CAPS işaretleyicileri özellikle domates için pek çok araştırmacı tarafından hastalık ve zararlılara dayanıklılık için ıslah programlarında yoğun olarak tercih edilen işaretleyiciler arasında yer almaktadır (Pınar ve ark. 2013; Gülşen ve Mutlu, 2005).

Bozdoğan (2009), 2007 ve 2009 yılları arasında Antalya merkez, Serik ve Kumluca ilçelerinde yetiştiriciliği yapılan domates, biber ve marul sebzelerinden aldığı yaprak örneklerinin sonucunda Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) saptamıştır. Arazilerde şüpheli görülen bitkilerden alınan yaprak örnekleri ELISA yöntemi ile test edilmiş ve hastalık oranı saptanmıştır. Sürveyler sırasında toplanan örneklerde toplam hastalık oranını %88.25 olarak tespit etmiştir. ELISA testi sonucunda virüs ile bulaşık olduğunu tespit ettiği marul, domates ve biberi sırası ile A₁, S₁ ve K₁ şeklinde kodlayarak mekanik inokulasyon ve RT-PCR çalışmalarında kullanmıştır. Mekanik inokulasyon sonrasında A₁ izolatu, indikatör bitkiler üzerinde 7-10 gün arasında, S₁ ve K₁ izolatları 20-24 gün arasında hastalık simptomları görülmüştür. Yapılan çalışmada ortaya çıkan sonuç A₁ izolatının patojenitesinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur.

Turhan ve Korkmaz (2006), Çanakkale ilinde 2003 ve 2004 yılları arasında açıkta üretimi yapılan domates bitkilerinden, Domates Lekeli Solgunluk Virüsü' nün (TSWV) varlığının belirlenmesi için şüphelenilen bitkilerden yaprak örneği almıştır. Alınan yaprak örnekleri ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Toplam da 99,5 ha alandan TSWV simptomlarına benzer simptom oluşturan ve TSWV olduğundan şüphelenilen bitkilerden toplamda 200 örnek testlenmiştir. ELISA yönteminde virüs ile bulaşık çıkan bitki örnekleri DTBIA yöntemi ile de testlenmiştir ve her iki yöntemi birbiri ile kıyaslama imkanı oluşturmuştur. İki testleme sonucunda da 9 örnek infekteli olarak bulunmuştur.

Bulaşık olan örneklerden alınan virüsün, mekanik inokulasyon yöntemi ile indikatör bitkilere aktarılması sağlanmıştır.

Kılıç ve ark.'ın (2017), Isparta ve Burdur illerinde domates üretim alanlarında gerçekleştirmiş olduğu araştırmalarda TSWV ile enfekteli 15 adet bitki örneği tespit etmiştir. 2014 yılında gerçekleştirilen çalışmalarda Isparta ilinden 44 ve Burdur ilinden 34 bitki yaprak örneği olarak toplamda 78 örnekte DAS-ELISA yöntemi ile yaptığı testleme sonucunda Domates Lekeli Solgunluk Virüsü' nün (TSWV) varlığına rastlanmamıştır. RT-PCR (Test Transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile TSWV ait RdRp genleri çoğaltılarak elde edilen sonuçlarda 78 adet örnekten 15 adedi TSWV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda RT-PCR yönteminin DAS-ELISA yöntemine göre daha hassas sonuç verdiğini ortaya koymuştur.

Geyik (2017), Marmara bölgesinde yapmış olduğu surveyde virüs hastalıklarının domates üretim alanlarında ürün ve kalite kaybına neden olduğunu tespit etmiştir. Marmara bölgesinde gerçekleştirmiş olduğu çalışmasında domates üretim alanlarında hangi virüslerin zarar oluşturduğunu tespit etmiştir. Çalışmasını domates üretiminin yoğun olarak yapıldığı Bursa ve Yalova illerinde yoğunlaştırmıştır. Domates üretim alanlarında yapraklarda oluşan sararma, nekroz, mozaik ve şekil bozukluğu gördüğü bitkilerden toplamda 94 adet yaprak örneği almıştır. Toplanan yaprak örneklerinde Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV), Hıyar mozaik virüsü (CMV) ve Domates mozaik virüsü (ToMV) DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Yapılan testleme sonucunda 19 adet yaprak örneğinde (%20.21) CMV, 21 adedinde (% 22.34) ToMV ve 2 adedinde (% 2.13) TSWV bulunduğu saptanmıştır.

Fidan ve ark.(2016) yaptıkları araştırmada Antalya'da yetiştirilen Flamingo (*Anthurium scherzerianum*) bitkisi üzerinde TSWV' nin varlığını tespit etmiştir. 2015 yılında Flamingo bitkisi üzerinde virüs benzeri nekrotik, sarımsı ve koyu kahverengi lekeler olduğu gözlemlenmiştir. DAS-ELISA yöntemi ile yapılan testlemeler sonucunda pozitif çıkan örnekler, yapraklardan izole edilen toplam RNA'lar kullanılarak yapılan RT-PCR yöntemi ile sonuçların doğrulanması gerçekleştirilmiştir. RT-PCR analizinde primer çifti olarak, TSWV L1F ve TSWV L2R kullanılmıştır. RT-PCR sonuçları %2'lik agaroz jelde 276 bp de cDNA bandı gözlemlenmiştir. RT- PCR ürünlerinin direkt sekanslaması ve

yapılan BLAST sonucunda biber TSWV izolatları ile %96-99 oranında benzerlik gösterdiği tespit etmiştir. *Anthurium* bitkisi ve biber bitki izolatları arasındaki benzerlik oranının yüksek oluşu ile türler arasında kontrolsüz yayılmanın ispatını gerçekleştirmiştir.

Oğuz ve ark.(2009) Antalya bölgesinde gerçekleştirdiği çalışmalarda domates üretim alanlarında son zamanlarda önemli verim ve ekonomik kayıplara yol açan TSWV üzerine çalışma yürütmüşlerdir. TSWV ye karşı en etkin yöntem olan genetik dayanıklılık yöntemi üzerinde çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Bu virüse karşı elde edilmiş olan dayanıklılık geninin tek ve baskın bir gen olan Sw-5 geni olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada 5 farklı domates genotipini mekanik inokulasyon yöntemi kullanarak test etmişlerdir. Mekanik inokulasyonu Antalya-Çamköy yöresinden temin ettikleri TSWV izolatı ile gerçekleştirmişlerdir. Testlemede daha önceden Sw-5 geni bulundurduğu bilenen LA 3667 domates çeşidini kullanmışlardır. Kullanılan diğer materyaller ise Çeşit-1, Çeşit-2, Hat-1 ve Hat-2'dir. Antalya-Çamköy yöresinden elde edilen izolatla testlemeler yapıldıktan sonra LA 3667 ve Çeşit-1 dayanıklı olarak bulunmuştur ve Çeşit-2, Hat-1 ve Hat-2'nin ise hassas olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda geliştirilecek çeşitlerde gen kaynağı olarak Sw-5 geni bulunduran çeşitlerin kullanılabilceğini tespit etmişlerdir.

Sertkaya (2015), Hatay ilinde marul ve ıspanak sebzeleri üzerinde çalışmalarını gerçekleştirmiştir. Marul ve ıspanak bitkileri üzerinde morfolojik olarak olağandışı semptomlar görmüştür. Yapraklarda sararmalar, nekrotik lekeler, yaprak damarları arasında genişlemeler, bitkilerde bodurlaşma gibi semptomlar gözlemlenmiştir. Her iki sebze grubundan alınan yaprak örnekleri biyolojik (mekanik inokulasyon) ve serolojik (DAS-ELISA) yöntemler ile testlenmiştir. Testlemelerde kontrol edilen virüs hastalıkları; *Alfalfa mosaic virüs* (AMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Beet western yellows virus* (BWYV), *Mirafiori Lettuce bigvein virus* (MiLBVV), *Lettuce mosaic virus* (LMV), *Tobacco mosaic tobamo virus* (TMV), *Tobacco ring spot virüs* (TRSV) ve *Tomato spotted wilt virus* (TSWV)' dür. Maruldan 53 adet ve ıspanaktan 18 adet olmak üzere toplam 71 adet yaprak örneği alınmıştır. Testlemelerin sonucuna göre marul ve ıspanak bitkilerinden alınan örneklerde sırası ile %67.9 ve %38.8 oranında virüs enfeksiyonu saptanmıştır. Marul örneklerinde LMV (%47.1), MiLBVV (%11.3), TSWV (%5.6) ve CMV (%3.7), ıspanak örneklerinde CMV (%16.6), TSWV (%11.1), LMV(%11.1)

virüsleri tespit edilmiştir. Bu çıkan sonuçlarda Hatay ilinde yetiştirilen ıspanak bitkilerinde ilk defa TSWV ve LMV belirlenmesi dikkat çekmiştir.

Yardımcı ve Kılıç'ın (2009), bazı sebze türlerinde TSWV' nin varlığını belirlemek amacıyla gerçekleştirdikleri bir çalışmadır. Türkiye'de Batı Akdeniz bölgesinde 2006 ve 2007 yılları arasında yaptığı araştırmada domates, biber, patates, marul, kabak ve hıyar sebzelerinde TSWV semptomları gösteren bitkilerden yaprak örnekleri toplamıştır. 12 lokasyondan toplam 337 numune toplanmış ve DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. 213 domates, 67 biber, 18 patates, 15 marul, 12 salatalık ve 12 kabak bitkisinden toplanan numuneler testlenmiştir. Testleme sonucunda 157 örnekte TSWV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Sırası ile biber, marul, domates ve kabak da % 67,16, 66,66, 46,94 ve % 16,66 olarak tespit edilmiştir. TSWV daha önce ülkenin diğer bölgelerinde tespit edilmekle birlikte, ilk kez Türkiye'nin en önemli sebze yetiştirme bölgesi olan Batı Akdeniz bölgesindeki domates, biber, marul ve kabak yetiştirme alanlarında tespit edilmiştir.

Di Rienzo ve ark. (2018), domates ve enginar bitkilerinde Sw-5 geni üzerinde çalışmalarını yürütmüşlerdir. TSWV dayanımı Sw-5 olarak adlandırılan baskın tek bir gen tarafından kontrol edilmektedir. Domateste Sw-5 dayanıklılık genini kıran mutantların (SRB) varlığı bildirilmiştir. Custom TaqMan™ SNP genotipleme ve yüksek çözünürlüklü erime (HMR) deneyleri gibi 2 farklı PCR yöntemine dayalı allel ayırma tekniği geliştirme üzerine çalışmalarını yönlendirmişlerdir. Hem Sw-5 hem de Sw-5 olmayan ticari domates örnekleri 2015 ve 2016 yıllarında 2 yıl peş peşe farklı alanlarda enfekte olmuş materyalleri toplamışlardır. Üç farklı melez ve çeşitten domates üretim yılının arkasından gelen kış döneminde yaprak örnekleri toplanmıştır. TSWV enfeksiyonu başlangıçta ters transkripsiyon PCR ile değerlendirilmiştir. Avirulent (Sw-5 bulaşıcı olmayan), SNI ve SRB biyotipleri arasında ayırım yapabilme açısından karşılaştırılmıştır. Toplanan örnekler viral NSm genine karşılık gelen cDNA fragmanı, RT-PCR ile çoğaltılmış ve sekans ile Gerçek Zamanlı PCR bazlı metotlar (yani, HRM ve TaqManprobları) arasındaki tutarlılığı test etmek için sekanslanmıştır. Direnci kıran fenotipten sorumlu olan sadece bir SNP olup, SRB izolatlarının NSm gen sekansında tespit edilmiştir. Sw-5'e dirençli domates hibritleri, SRB izolatları ile yalnızca enfeksiyonlara bürünür, Sw-5 olmayan domates hibritleri ve enginarın ise her iki

biyotipin enfeksiyonunu barındırdığı ortaya konmuştur. TaqMan testlerinin daha hassas (TSWV tespit eşiği 50–70 RNA kopya aralığında) ve HRM'den daha güvenilir olduğunu tespit etmişlerdir.

Zhang Zhenkia ve ark. (2016), TSWV'nin dünya üzerinde önemli birçok bitki türünde ekonomik kayıplara yol açtığını bildirmişlerdir. TSWV'nin Çin'de farklı konukçulara bulaştığı bildirilmiştir. Zhenkia Zhang ve ark. farklı konukçulardan TSWV izolatları klonlayarak Çin ve dünyadaki farklı TSWV izolatları arasında çeşitliliği ve değişimi incelemek adına çalışmalarını yürütmüşlerdir. Çin'de farklı konukçulara ait (tütün, kırmızıbiber ve yeşilbiber) TSWV izolatının tam uzunluktaki genomunu (L, S, M segmentleri) çoğaltmak adına RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. TSWV izolatları arasındaki nükleik asit ve aminoasit sekansları DNAMAN ile analizleri gerçekleştirilmiştir. Çin'den alınan 3 örnek (tütün, kırmızıbiber ve yeşilbiber) için tüm genom dizileri belirlenmiştir. Mevcut izolatlarla beraber 29 RNA L, 62 RNA M ve 66 RNA S için moleküler çeşitlilik, filogenetik ve rekombinasyon olayları için analizleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda özellikle tüm TSWV genomunda M ve S RNA'larının A-U bakımından zengin intergenik bölgeyi (IGR) içeren genomik büyüklükte önemli değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur. Dünyadaki TSWV izolatları filogenetik analizler sonucunda 3'lü RNA genomunun evriminde yeniden değerlendirme yapıldığına dair kanıtlar ortaya koymuştur. Dünya genelinde TSWV izolatları arasında bölgesel tercihleri olan belirgin rekombinasyon olayları tespit edilmiştir. Benzer rekombinasyon olaylarına sahip TSWV izolatları, genellikle filogenetik ağaçlarda daha yakın ilişkilere sahiptir. Bu çalışmanın ve daha önce bildirilen üç TSWV izolatıda dahil olmak üzere beş Çin TSWV izolatının tümü, moleküler çeşitlilik ve filogenetik analize dayalı farklı kökenlere sahip iki gruba ayrılabilirdiği ifade edilmiştir. Gelişimleri sırasında hem yeniden değerlendirme hem de yeniden birleşme rol oynamıştır. Bu sonuçlar, rekombinasyonun çok- taraflı RNA virüslerinin, hatta negatif-duyarlı RNA virüslerinin gelişiminde önemli bir mekanizma olabileceğini göstermektedir.

Kamberoğlu ve Alan (2011) marul bitkisi üzerinde TSWV görülme sıklığını araştırmak amacıyla 2007 ve 2008 yılları arasında Adana ve Mersin illerinde inceleme yapmışlardır. Adana ve Mersin illerinde toplamda 31 tarlada 400.000 den fazla bitki alanı incelenmiştir. Tesadüfen seçilen arazilerden virüs benzeri semptomlar gösteren 336 marul bitkisinden

yaprak örneği alınmıştır. Yaprak örnekleri DAS-ELISA yöntemi ile testlenmiştir. Sonuçları pozitif çıkan örnekler RT-PCR yöntemi kullanılarak doğrulanmıştır. RT-PCR çalışmaları için enfekte olmuş marul bitkilerinden alınan TSWV izolatları kullanılarak serada yetiştirilen *Nicotiana rustica* bitkisine bulaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Dört adet virüs ile bulaşık bitki ve 4 adet kontrol bitkisi olacak şekilde mekanik inokulasyon işlemi yapılmıştır. Mekanik inokulasyon işlemini takiben haftalık periyotlar ile gözlemler yapılmıştır. Bulaştırma yapılan bitkiler DAS-ELISA ile TSWV enfeksiyonu için test edilmiştir. TSWV' nin bir bölümü olan S RNA, RT-PCR için DAS-ELISA yönteminden pozitif çıkan numunelerde TSWV enfeksiyonunun varlığını doğrulamak için semptomatik bitkilerden elde edilen toplam RNA ekstratları kullanılarak virüse özel olan CP5-BAM ve CP3-Pst primerleri ile çoğaltılmıştır. RT-PCR sonuçları, DAS-ELISA sonuçları ile tam uyumlu sonuç vermektedir. TSWV enfeksiyonu, Adana illindeki 2 köyde, 2 tarlada tespit edilmiştir. Mersin iline ait marul örneklerinde herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Adana ilinde marulda TSWV görülme sıklığı %1,5 olarak bulunmuştur. Toplamda toplanan örneklerde ise %1,2 olarak bulunmuştur. Çalışmanın yapıldığı marul alanlarında TSWV oranı düşük olarak tespit edilmiştir. Oranın düşük olmasının gerekçeleri arasında TSWV vektörünün düşük popülasyonu, bölgedeki marullarda kış ve erken ilkbahar döneminden kaynaklı olduğunu düşünülmektedir. Adana bölgesinde marulun yanı sıra domates ve biberde de thrips ve TSWV görülme sıklığı yüksek olmadığı tespit edilmiştir. Thrips popülasyonları sıcaklık artışına bağlı olarak artmaya başladığından dolayı virüs daha yaygın hale gelmiştir.

Padmanabhan ve ark. (2019) yaptıkları çalışmalarda Sw-7 gen bölgesi üzerinde çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. TSWV dahil olmak üzere herhangi bir hastalığa karşı koymanın en kolay ve ekonomik yöntemin genetik dayanıklılık olduğunu söylemektedirler. Genetik dayanım çalışmaları adına, geleneksel ıslah da gen kaynaklarını yetiştirip seçme ile başlar. Özellikle dayanıklı yabani bireyler seçilir ve geri melezleme yöntemi ile kültür çeşidine istenilen genler toplanır. TSWV ye karşı bilinen ve çalışılan ilk direnç kaynağı *S. pimpinellifolium* olduğu bildirilmiştir. Yıllar boyunca Sw-1a ve Sw-1b TSWV ye karşı baskın genler olarak bilinmekteydi. TSWV ye karşı 3 resesif gen (Sw-2, Sw-3, Sw-4) ve 3 baskın gen (Sw-5, Sw-6, Sw-7) tespit edilmiştir. Sw-5 gen bölgesi şuanda dünya üzerinde ticari domates çeşitlerinde TSWV' ye karşı

kullanılan birincil gen kaynağı olarak bilinmektedir. Sw-5 gen bölgesi üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda TCSV ve GRSV ye karşı direnç gösterdiği tespit edildiği bildirilmiştir. Ne yazık ki ABD kıtası da dahil olmak üzere Sw-5 dayanımının kırıldığı tespit edilmiştir. Sw-5 dayanımını kıran TSWV izolatlarının dizileme karşılaştırmaları sonucunda; virüsün bu yeteneğinin, 118(C118Y) pozisyonundaki C amino asitinin Y aminoasitlerine ve 120(T120N) pozisyonundaki T aminoasitinin N aminoasitlerine değişiminden kaynaklandığı tespit edilmiştir. NSm proteini, hücreden hücreye hareket, tübül oluşumu, semptomoloji, konak aralığı tayini ve TSWV N proteini ile etkileşiminden sorumludur. Bütün bu gözlemler bir araya getirildiğinde Sw-5 yerine veya bununla birlikte diğer TSWV direnç lokuslarını kullanmak gerekmektedir. TSWV için Sw-6 direnç lokusu, tripsinokülasyonu altında kısmi bir direnç sağlaması ile birlikte ve Sw-5 ten daha dar bir TSWV izolat aralığına karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Alternatif olarak Sw-7 lokusunun, Sw-5 direnç lokusunu kıranlar da dahil olmak üzere TSWV izolatlarına karşı direnç gösterdiği rapor edilmiştir.

Panthee ve Ibrahim (2013), dünya çapında domateste büyük zarar oluşturan TSWV ye karşı çalışmalarını yürütmüşlerdir. TSWV ye karşı direnç geninin Sw-5 geni olduğunu belirtmişlerdir. Arazi koşullarında TSWV ye karşı direncin taranmasının ve fenotipe dayalı dirençli domateslerin geliştirilmesinin sadece zaman alıcı olmadığını, aynı zamanda sonuçsuz kalabileceğini belirtmişlerdir. Moleküler işaretleyici destekli seçilimin (MAS) bu konuda sorunların çözülmesinde ve çok sayıda bağımsız üreme hattın taranmasını kolaylaştıracağını ve yardımcı olacağını belirtmişlerdir. Moleküler işaretleyicilerin kullanımının güvenilir oluşu, kolay oluşu ve yüksek oranda tekrarlana bilmelerinden dolayı avantajlı olduğunu söylemişlerdir. Yaptıkları çalışmada TSWV' ye karşı dirençli ve duyarlı genotipleri belirlemek adına dört PCR bazlı işaretleyicileri başarı ile kullanmışlardır. Kullanılan işaretleyicilerin 2 tanesi Sekansı Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler (SCAR) ve 2 tanesi Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik Diziler (CAPS) işaretleyicisidir. SCAR primerleri NCSw-003, NCSw-012 ve CAPS primerleri NCSw-007 ve NCSw-011 kullanılmıştır. Bu yeni işaretleyiciler ile TSWV direncini arttırmayı amaçlarken domates ıslah programları için daha yararlı olacağını belirtmişlerdir. Hedefleri çok sayıda genotipin tarama maliyetini azaltma bilmek adına SCAR işaretleyicilerini tanımlamak olduğunu ifade etmişlerdir. SCAR işaretleyicileri

herhangi bir kesim enzimi kullanmadan TSWV' ye dirençli genotipleri belirlemek için doğrudan kullanılabilir. Her biri aynı gen sekansından olmasına rağmen, farklı PCR bazlı işaretleyicilerin boyutlarının farklı olduğunu söylemektedirler. Sw-5 lokusunda en az beş allelin olduğu belirtilmiştir (Sw-5a, Sw-5b, Sw-5c, Sw-5d, Sw-5e). Bu dört moleküler işaretleyicinin hepsinin Sw-5 lokusu ile ilişkisi olduğu tespit edilmiştir. NCSw-012 primerinin Sw-5b için spesifik ve NCSw-011 primerinin Sw-5a için spesifik olduğunu ifade edilmiştir. Sw-5b'nin domatest TSWV' ye direnç göstermeye yeterli olduğunu bildirmişlerdir. NCSw-012 primerinin ıslah hatlarının taranması ve TSWV direncinin sağlanması için daha güvenilir bir işaretleyici olduğunu ortaya koymuşlardır.

Pınar ve ark., (2013), domates ıslahında klasik yöntemlerle birlikte moleküler işaretleyicilerin kullanımının son yıllarda giderek arttığını belirtmişlerdir. Bu amaçla QTL (kantitatif özellik lokusu) ve tek genle kontrol edilen streslere dayanıklılık için moleküler işaretleyiciler geliştirilmiştir. Bu çalışmada özellikle domatest hastalık ve zararlılar için geliştirilmiş olan moleküler işaretleyicilerin, işaretleyici yardımcı seleksiyon (MYS) ile domates ıslah materyallerini test ederek, ıslah programında kullanılarak yardımcı olmasını hedeflemişlerdir. Özellikle domates üretim alanlarında sorun yaşanan Tütün mozaik virüsü (TMV), Domates mozaik virüsü (ToMV), Domates sarı yaprak kıvrıcıklığı virüsü (TYLCV), Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV), *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Verticillium dahliae* ve nematod (*Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne incognita* ve *Meloidogyne javanica*) gibi hastalık ve zararlılara karşı geliştirilmiş dayanıklılık işaretleyicilerinin testlemesini gerçekleştirmişlerdir. Sözü edilen hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık sağlayan Mi1.2, Ty-1, Ty-3a, Sw-5, I1, I2 ve Ve genleri için geliştirilmiş olan işaretleyicilerin MYS için kullanım potansiyelini belirlemişlerdir. Nematod, *Verticillium dahlia*, TSWV ve TYLCV gibi hastalık ve zararlılara dayanıklılık belirtilmiş 2 adet ticari F1 domates çeşidinin kendilenmesi ile elde edilen 92 adet F2 popülasyonunu kullanmışlardır. F2 popülasyonu tohum ekimleri yapılarak fide üretimine gitmişlerdir. Fideler 2 gerçek yapraklı aşamaya geldikten sonra taze sürgünlerden yaprak örneği alınarak CTAB izolasyon metoduna göre DNA izolasyonlarını gerçekleştirmişlerdir. Söz konusu nematod, *Verticillium dahlia*, TSWV ve TYLCV hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık mekanizmasını incelemek adına SCAR ve CAPS işaretleyicilerini test etmişlerdir. Nematod dayanımı için Mi1.2 geni ile ilişkili olarak

geliştirilen Pmi ve Mi23 SCAR işaretleyicileri ile dayanıklılık testlemesi yapılmıştır. Mi23 işaretleyicisi için yapılan testleme sonucunda 25 adet homozigot dayanıklı (380 bp), 19 homozigot hassas (430 bp) ve 48 adet heterozigot dayanıklı (380-430 bp) bant görüntüsü elde edilmiştir. F2 bitkilerin PCR taramaları, geleneksel olarak yaptıkları dayanıklılık testleri ile moleküler çalışmaların birbirini desteklediğini rapor etmişlerdir. Verticillium solgunluğuna dayanıklılık kontrolü gerçekleştirmek adına Ve geni ile ilişkili 3 adet işaretleyici (VVF2, Ve1YP-F, Ve2 SNP 2827) kullanmışlardır. Ve2 SNP 2827 işaretleyicisi 92 adet F2 popülasyonu taraması sonucunda 21 adet dayanıklı (242 bp), 49 adet hassas (131 bp) bant görüntüsü elde etmişlerdir. Diğer 2 işaretleyicide benzer sonuçlar vermişlerdir. F2 popülasyonunda TSWV dayanımını kontrol etmek amacıyla Sw-5 geni ile ilişkilendirilmiş olan Sw-5.2 SCAR işaretleyicisi ile test etmişlerdir. 26 adet dayanıklı (550 bp), 23 adet hassas (500 bp) ve 43 adet heterozigot dayanıklı (500-550 bp) bant görüntüsü elde etmişlerdir. TYLCV için dayanıklılık sağlayan 4 genden 2 si olan Ty-1 ve Ty-3a allelleriyle ilişkili olarak geliştirilen 2 adet (Ty-1 için JB-1 ve Ty-3a için P6-25) işaretleyici kullanmışlardır. JB-1 CAPS işaretleyicisi ile homozigot dayanıklı bant elde edememişlerdir. 64 adet heterozigot dayanıklı (500-400 bp), 26 adedinde ise hassas bant (400 bp) görüntüsü elde etmişlerdir. Ty-3a geniyle ilişkili P6-25 işaretleyicisi ile 24 adet homozigot dayanıklı, 50 adet heterozigot dayanıklı ve 18 adet hassas bant görüntüsü elde etmişlerdir (Tüm bant görüntüleri için PCR ürünleri %2' lik agaroz jelde 110 V 3,5 saat süreyle agaroz jel elektroforezinde yürütmüşlerdir. Jel Etidium bromid çözeltisinde boyandıktan sonra UV görüntüleme cihazında görüntüleme yapmışlardır). Söz konusu hastalık ve zararlılara karşı moleküler işaretleyici kullanımın, klasik testlemeyi desteklediği ve alternatifi olabileceğini belirtmişlerdir.

Panthee ve Foolad (2012), moleküler işaretleyicileri domateste tarımsal açıdan önemli birçok genin ve QTL' lerin tanımlanması ve haritalanmasında kullanmışlardır. Domates yetiştirme programlarında ne ölçüde moleküler işaretleyicilerin kullanıldığı açıkça belirtilmemiştir. Teorik olarak işaretleyici kullanımı, işaretleyici destekli seleksiyon ıslahı vasıtası ile bazı özelliklerin iyileştirmesi için yararlı olacağı savunulmuştur. İşaretleyiciler literatürde bildirilen domates yetiştiriciliğinde kolayca uygulanabilir, basit özellikler için bile genellikle ek çabalara ihtiyaç vardır. İşaretleyicileri iyileştirmek ve geliştirmek gerekmektedir. Bu çalışmada domateste TSWV' ye karşı 8 dirençli gen

tanımlandığı belirtilmiştir. Bunlardan 5 baskın (Sw-1a, Sw-1b, Sw-5, Sw-6, Sw-7) ve 3 resesif (Sw-2, Sw-3 ve Sw-4) gen olduğu belirtilmiştir. Bu 8 direnç geninden Sw-5 geni hiçbir ırka spesifik olmadığından en etkili direnç geni olduğu bildirilmiştir. TSWV direncini ve işaretleyicileri test etmek adına yetiştirilen domates bitkilerinden DNA izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Standart bir CTAB protokolü kullanılarak izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Yaprak örnekleri 3 haftalık bitkilerin genç yapraklarından alınarak DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA konsantrasyonu 20 ng/ µl olarak ayarlamışlardır. PCR ürünleri %1,5' luk agaroz jel üzerinde doğrudan yürütme (ayırma) işlemi gerçekleştirmişlerdir. Etidyum bromür boyamasıyla DNA bantları UV ışık altında görüntülenmiştir. Çalışmada 5 işaretleyici arasında, Sw5b-LRR hem bir SCAR hem de bir CAPS işaretleyicisi olarak incelenmiştir. Zup641, SCR001, SCR002 ve SCAR-421 SCAR işaretleyicisi olarak incelemiştir. Tüm işaretleyiciler literatürde belirtilen DNA fragmanlarını başarıyla büyütür. Bu işaretleyiciler test edilirken kullanılan genotipler NC123S, NC84173 ve Crista dır. CAPS işaretleyicisi Sw5b-LRR için NC123S homozigot dayanıklı, NC84173 homozigot duyarlı ve Crista heterozigot dayanıklı genotiplerinde 300 bp'lik bir DNA parçası gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde 2 baskın SCAR işaretleyicisinde SCR001 ve SCR002 nin her biri için homozigot ve heterozigot genotiplerden 400 bp lik bir DNA fragmanı belirlenmiştir. Bu belirtilen işaretleyicilerin dışında ek olarak G5(RAPD), K16(RAPD), S12(RAPD) ve P#72(RAPD) dahil olmak üzere Sw-5 ile ilişkili olduğu bildirilen birkaç RAPD işaretleyicisini incelemiştir. Ancak hiçbir PCR amplifikasyonu olmadığı için bunların hiçbirinin bilgilendirici olmadığını belirtmişlerdir. Mevcut işaretleyicilerin çoğunun, ıslah çizgileri, üreme çizgileri ve popülasyonlarda polimorfizmin varlığı açısından daha da rafineri edilmesi veya incelenmesi gerektiği sonucuna ulaşmışlardır. Bununla birlikte, domates sekanslamada son gelişmelerle birlikte, domates yetiştiriciliğinde MAS kullanımını hızlandırmak için daha bilgilendirici işaretleyiciler geliştirmenin, giderek daha da mümkün hale gelmekte olduğunu belirtilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal



Şekil 3.1 “Nazlı F1” hibrit çeşitinin bitki ve meyve yapısı

“Nazlı F1” Dikmen Tarıma ait yerel popülasyonlardan geliştirilmiş bir pembe domates çeşididir (Şekil 3.1.). “Nazlı F1” çeşidinin 2016 yılı bahar ayı içerisinde çiftçi boyutlarında denemeleri kurulmuştur. Marmara bölgesinde kurulan denemeler de “Nazlı F1” domates çeşidinin TSWV virüsüne karşı hassas olduğu gözlemlenmiştir. “Nazlı F1” bitkilerinden alınan yaprak örnekleri Dikmen Tarım Moleküler Biyoloji Laboratuvarın da moleküler olarak test edilmiş ve bu çeşidin virüse karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Böylece “Nazlı F1” kalite değerleri ve verimi yüksek bir pembe domates çeşidi olmasına rağmen TSWV’ye karşı hassas olduğu belirlenmiştir. 281.6.A ve 283.1.1 Dikmen Tarıma ait kırmızı domates hatlarıdır ve TSWV virüsüne dayanıklıdır. Kombinasyon yeteneğini belirlemek için 2 farklı (281.6.A, 283.1.1) kırmızı domates hattı kullanılmıştır. Bu çalışmada, dayanıklılık geninin “Nazlı F1” aktarılmasında donör ebeveyn olarak kullanılmışlardır. “Alsancak F1” üretici ve tüketicilerin meyve boyutu, şekli ve rengi sebebiyle en çok tercih ettiği kırmızı domates çeşitidir. Ancak çeşidin TSWV’ye karşı hassas olduğu tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında “Nazlı F1” çeşidi ile birlikte “Alsancak F1” çeşidi duyarlı kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

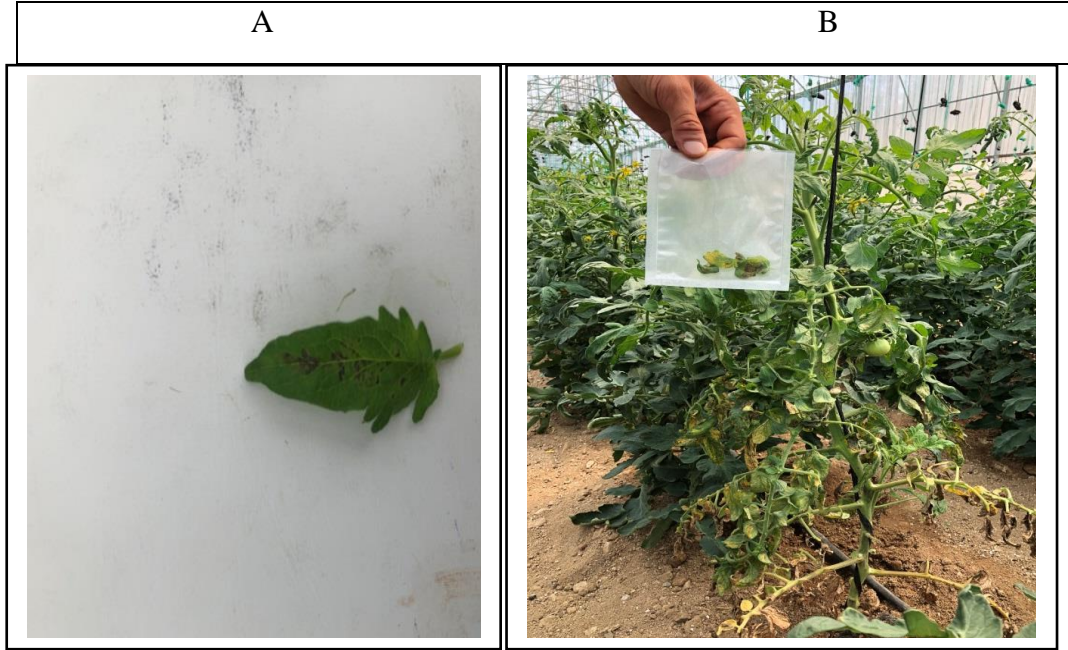
3.2.1. Domates bitkilerinin yetiştirilmesi

Bu Yüksek Lisans çalışmasında kullanılan domates hat ve çeşitlerinin tohumlarının 3:3:1 oranında torf, perlit ve vermikulit karışımı içeren viyollere ekimi yapılmıştır. Çimlenme odasına alınan viyoller yaklaşık olarak 23-25⁰C’de 3-4 gün içerisinde çimlenme gerçekleştirilmiştir. Çimlenme işlemi gerçekleşmesi ile birlikte domatesler bakım işlemleri için seraya çıkartılmışlardır. Şaşırtma yapılıncaya kadar geçen sürede sulama, gübreleme ve ilaçlama gibi kültürel işlemler yapılmıştır.

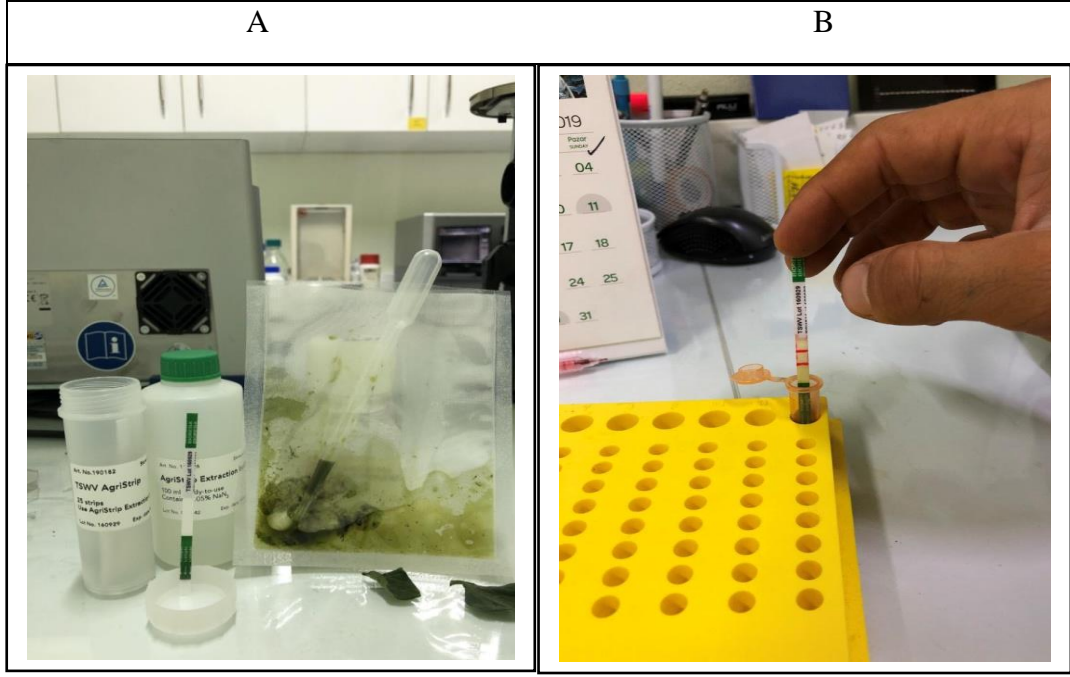
3.2.2 Dayanıklılık Islahı

Dayanıklılık geni melezleme yöntemiyle “Nazlı F1” pembe domates çeşidine aktarılmıştır. Seleksiyon moleküler işaretleyiciler yardımı ile yapılmıştır. Şekil 3.2’ de gösterildiği gibi F2, F3, F4 ve F5 popülasyonlarında açılımlar gözlenmiştir. Bu popülasyonlar içerisinde seçilen pembe domates hatlarının, Dikmen Tarım moleküler biyoloji laboratuvarında moleküler analizleri gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda dayanıklı olduğu tespit edilen pembe domates hatları seçilmiştir. Bir sonraki sene dayanıklılık genini taşıdığı tespit edilen pembe domates hatları ile devam edilmiştir. Burada homozigotlaşmayı sağlamak amacıyla kendileme yapılarak saf hatların elde edilmesi sağlanmıştır. Yılda 2 generasyon olmak şartı ile kendilemeler 3 yıl boyunca yapılmış ve F6 generasyonu elde edilmiştir. F6 generasyonundaki pembe domatesler moleküler işaretleyicilerle taranmıştır. İlk generasyonlarda heterozigotluk fazladır. Ancak generasyonlar ilerledikçe homozigotluk oranı artacaktır. Bu nedenle F6 generasyonundaki pembe domateslerde Sw-5 genin homozigot olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Mekanik inokulasyon yönteminde ve moleküler analizlerde kullanılmak üzere hassas olduğu firma tarafından beyan edilen “Alsancak F1” domates çeşidi negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

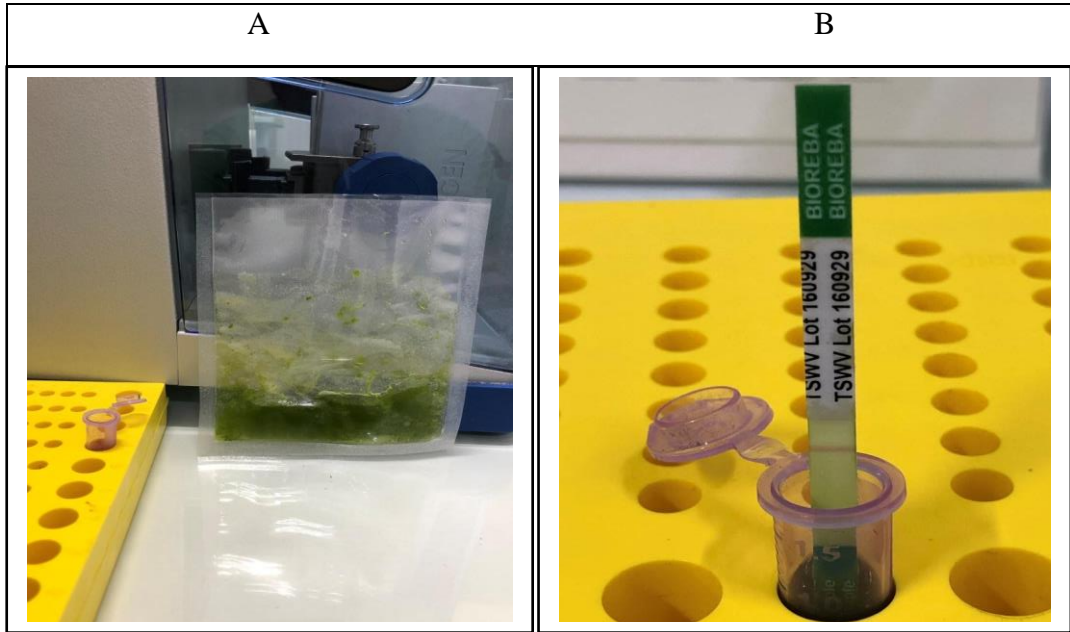
bitkiden alınan hastalıklı yaprak örnekleri (Şekil 3.3.A, Şekil 3.3.B), parçalayıcı torba içerisinde ezilerek içerisinde 1:5 oranında pH:7 olan 0.01 M Fosfat tamponu ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} / \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) ilave edilmiş ve içerisinde karborandum tozu ve silisyum oksit (Şekil 3.6.A) karıştırılarak solüsyon hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan TSWV inokulum solüsyonu pamuk yardımı ile domates yapraklarının alt ve üst yüzeylerine sürülmüştür (Şekil 3.6.B). Domatesler üzerinde bulaştırma işlemi Şekil 3.7, Şekil 3.8, Şekil 3.9, Şekil 3.10'da gösterilmiştir. Bu işlemleri takiben 3-5 dk sonra inokulum fazlasını uzaklaştırmak için su püskürtülmüştür. İnokulasyon işlemi 10 gün sonra tekrar edilmiştir. Bulaştırma işlemi bittikten yaklaşık 15-20 gün sonra bitkilerde hastalık kontrolleri gerçekleştirilmiştir (Oğuz ve ark. 2009; Çelik ve ark. 2010). Hastalıklı bitkilerden alınan yaprak örnekleri Agristrip extraction tamponu içerisinde (sodyum azid-0.05% NaN_3) ile Şekil 3.4.A ve şekil 3.5.A da görüldüğü gibi parçalayıcı torba içerisinde ezilmiştir. Yaprak özü içindeki virüsün varlığı/yokluğu kit yardımı ile saptanmıştır.



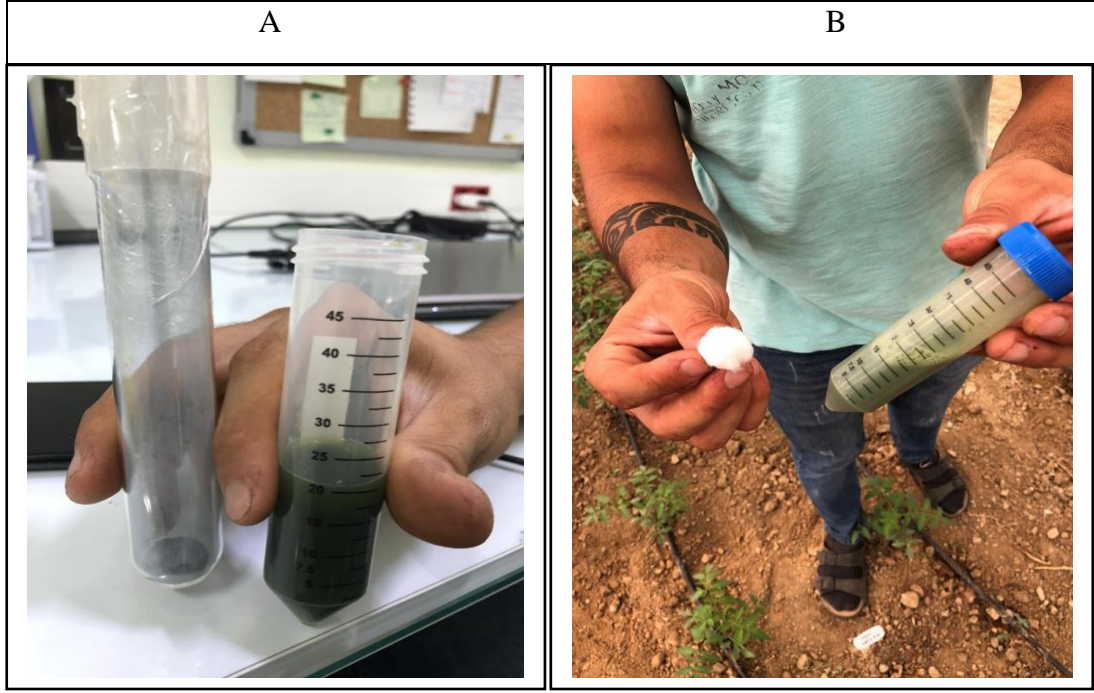
Şekil 3.3. A) TSWV ile bulaşık yaprak örneği ve B) Hastalıklı yaprak örneklerinin parçalayıcı torba içine alınması



Şekil 3.4. A) Özü çıkartılan virüslü yaprak örneğinin Bioreba TSWV Agristrip test kiti ile testinden görüntü ve B) Yaprak örneği testleme sonucu çift çizgi vererek TSWV ile bulaşık olduğu (pozitif) tespit edilmiştir. Tek kırmızı çizgi sonucun negatif olduğunu gösterirken çift kırmızı çizgi sonucun pozitif olduğunu göstermektedir.



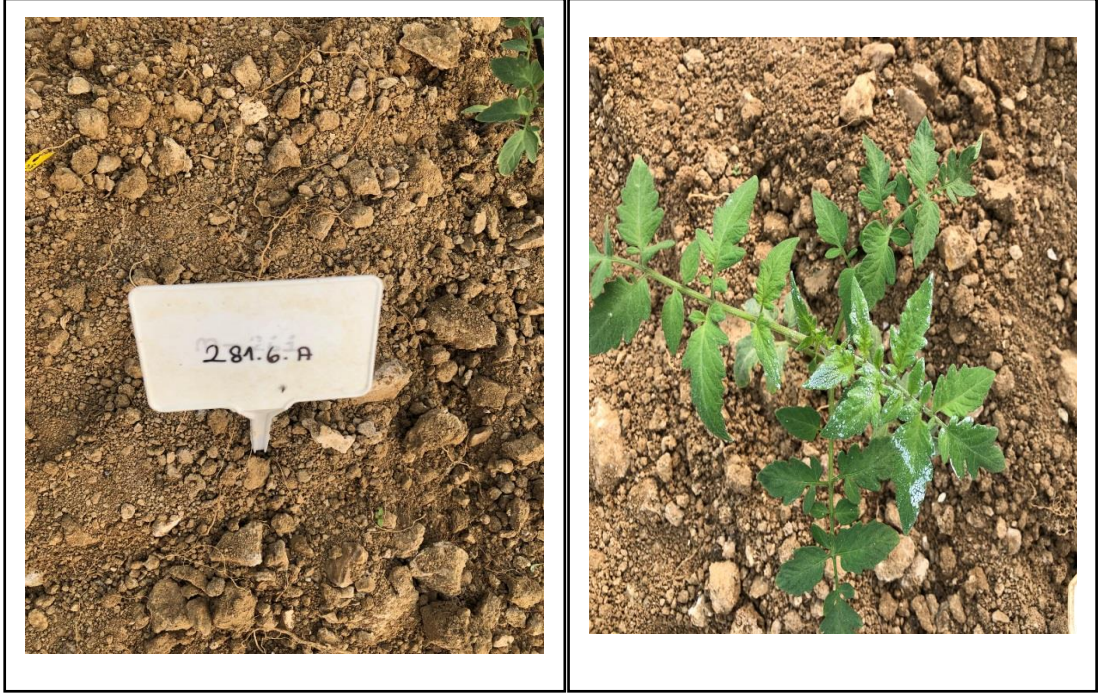
Şekil 3.5. A) Ezilerek özü çıkarılan yaprak örnekleri ve B) Testleme sonucu tek çizgi (Negatif) vererek TSWV ile bulaşık olmadığını göstermektedir.



Şekil 3.6. A) TSWV ile bulaşık olduğu tespit edilen yaprak özütü, karborandum, silisyum ve fosfat tampon çözeltisi karıştırılarak hazırlanan inokulum sölüsyonu ve **B)** Virüsün bulaştırılması için pamuk yardımı ile arazide bulunan domateslerin genç yapraklarının alt ve üst yüzeylerine sürülmüştür.



Şekil 3.7. “Nazlı F1” X 281.6.A (F6) melezlerinde virüs bulaştırma



Şekil 3.8. “Nazlı F1” Pembe domatesine melez yapılan TWSV dayanımı olduğu bilinen kırmızı domates hattı 281.6.A. e virüs bulaştırma



Şekil 3.9. “Nazlı F1” X 283.1.1 (F6) melezine ait virüs bulaştırma



Şekil 3.10. Kırmızı domates hattı olan 283.1.1 numaralı hatta virüs bulaştırma

3.3. Moleküler Analizler

DNA izolasyonu için alınacak yaprak örnekleri sabahın erken saatlerinde domates bitkisi üzerindeki en genç ve taze yapraklardan alınmıştır. Toplanan yaprak örnekleri DNA izolasyonu işlemi gerçekleşinceye kadar buz üzerinde muhafaza edilmiştir.

3.3.1. DNA izolasyonu

TSWV'nin PCR analizlerinde kullanılan bitki materyalleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. DNA izolasyonu için kullanılan bitki materyali

NO	KOD	KAYNAK
1	Nazlı F1	Dikmen Tarım
2	Nazlı F1 X 281.6.A (F2)	Dikmen Tarım
3	Nazlı F1 X 283.1.1 (F2)	Dikmen Tarım
4	281.6.A	Dikmen Tarım
5	283.1.1	Dikmen Tarım
6	Alsancak F1	Yüksel Tohum
7	Nazlı F1 X 281.6.A (F6)	Dikmen Tarım
8	Nazlı F1 X 283.1.1 (F6)	Dikmen Tarım

PCR çalışmalarında kullanılmak üzere alınan yaprak örneklerinden DNA izolasyonu, Thermo Gene Jet DNA İzolasyon kitin kullanılarak yapılmıştır. Thermo Gene Jet DNA İzolasyon kitin protokolü;

1. 2 ml'lik mikro santrifüj tüplere 100 mg yaprak örneği konulmuş ve üzerine 350µl Lysis buffer A eklenmiştir.
2. Lysis buffer A içindeki yaprak örnekleri thissuelyser cihazı kullanılarak parçalanmıştır.
3. 50 µl Lysis buffer B ve 20 µl RNase A eklenmiş ve tüpler 1dk vorteksle karıştırılmıştır.
4. Örnekler 10dk 65°C de su banyosunda inkübe edilmiştir. İnkübasyon esnasında örnekler ara ara el yardımı ile karıştırılmıştır.
5. 130 µl Presipitation solüsyonu eklenmiş ve vorteks ile karıştırılmış ve 5dk buz üzerinde inkübe edilmiştir.
6. 5dk 20000 g de santrifüj edilmiştir.
7. Süpernantant (yaklaşık 450-550 µl) yeni 2 ml'lik mikro santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 400 µl plant DNA binding solüsyonu ve 400µl %96'lık etanol eklenmiş ve karıştırılmıştır.
8. Hazırlanan karışımdan (600-700 µl) spin kolona eklenmiştir.

9. 1dk 6000 g de santrifüj edilmiş ve kolonun altındaki sıvı dökülmüştür. Geriye kalan karışım kolona eklenerek tekrar 1dk 6000 g de tekrar santrifüj edilmiştir. Kolonun altında kalan sıvılar yine dökülmüştür.
10. 500 µl Washbuffer1 kolon üzerine eklenmiş ve 1dk 8000 g de santrifüj edilmiştir. Kolonun altında toplanan sıvı dökülmüştür.
11. 500 µl Washbuffer2 kolona eklenmiş ve 3dk 20000 g de santrifüj edilmiştir. Sonrasında boş kolon 1dk 20000 g de santrifüj edilmiştir.
12. Kolonlar 1.5 ml'lik yeni steril mikro santrifüj tüplerine aktarılmıştır.
13. 100 µl Elution buffer kolona eklenmiştir ve oda sıcaklığında 2dk inkübe edilmiştir.
14. 1dk 8000 g de santrifüj edildikten sonra, 1.5 ml'lik yeni steril mikro santrifüj tüplerde biriken DNA, PCR işleminde kullanıncaya -20°C de saklanmıştır.

DNA konsantrasyonu ve kalitesi BioSpec-nano Life Science Spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. PCR çalışmalarında kullanılmak üzere DNA konsantrasyonu 20 ng/ul DNA olacak şekilde steril saf su ile sulandırılmıştır.

3.3.2. SCAR analizi

Bu tez çalışmasında kullanılan bitki materyallerinde TSWV hastalığına karşı dayanıklılık sağlayan Sw-5 geninin bulup bulunmadığı SCAR (Sekansı karakterize edilmiş çoğaltılmış bölgeler) moleküler işaretleyicisi kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.3. Primerler

Sw-5 lokusuna özel sekanslara dayanarak geliştirilen 2 PCR analizine dayalı moleküler işaretleyici kullanılmıştır. Bunlar NCSw-003 ve NCSw-012 (Panthee, D. R. ve Ibrahim, R. 2013) moleküler işaretleyicileridir. NCSw-003 eşbaskın moleküler işaretleyici, NCSw-012 ise baskın bir moleküler işaretleyicidir. Bu moleküler işaretleyicilerin primerlerinin nükleotid dizileri çizelge 3.2.' de verilmiştir.

Çizelge 3.2. NCSw-003 ve NCSw-012 moleküler işaretleyicilerine ait primerlerin nükleotid dizileri (Panthee ve Ibrahem 2013)

İşaretleyici Tipi	İşaretleyici Adı	İleri Primer (P _F)	Geri Primer (P _R)	Dayanıklı Bant Boyutu	Duyarlı Bant Boyutu
SCAR	NCSw-003	'TCTCGTTATCCA ATTTCACC'	'GCAATTTTGTTT CTTGGTCT'	680 bp	600 bp
SCAR	NCSw-012	'ATGGTCAACTCG ATCAGAAC'	'TTTGGTGAG GATCTGATTTC'	-----	1000 bp

3.3.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Domates bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin her biri NCSw-003 ve NCSw-012 moleküler işaretleyicilerinin primer çiftleri kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır. SCAR moleküler işaretleyicisini çoğaltmada kullanılan PCR reaksiyonunun bileşenleri Çizelge 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. PCR reaksiyonunun bileşenleri

PCR Bileşenleri	Miktar (µL)
H ₂ O	11,5
10X Tampon Çözeltisi	2,3
dNTP (1 mM)	2
İleri primer (F) (10 µM)	1
Geri primer (R) (10 µM)	1
Taq DNA polimeraz (5U/ µl)	0,20
DNA (20 ng/ µl)	2
TOPLAM	20

Her iki SCAR moleküler işaretleyicisini çoğaltmada kullanılan PCR sıcaklık döngü ve basamakları Çizelge 3.4.'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Sıcaklık döngü koşulları (PCR)

Basamak No.	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)
1	92	3:00
2	92	0:30
3	52	1:00
4	72	0:30
5	72	8:00
6	4	+∞

Çizelge 3.4.'de verilen PCR 2 ile 4 numara arasındaki basamaklar 35 defa tekrarlanmıştır.

3.3.5. Agaroz jel elektroforezi

PCR işleminden sonra 20 µl PCR ürününe 2 µl 10X yükleme tamponu Bromophenol mavisi solüsyonu (0.25 g bromophenol mavisi 6 ml, %50 gliserol 4 ml deiyonize su, ph 8) ilave edilmiştir. Oluşan 22 µl karışımdan 8 µl alınarak 1X TBE tampon çözeltisi (10X TBE: litrede Tris 110g, Borik asit 50 gr, 0.5 M EDTA 4 ml pH 8.0) içerisine yerleştirilen %1,5'lük agaroz jele yüklenmiştir. 120 volt (5 volt/cm) elektrik voltajı altında yaklaşık 135 dakika yürütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ayrıştırılan DNA parçaları görüntüleme cihazında ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir. Görüntülenen DNA parçalarının büyüklüklerini belirlemek için 100 bp'lik ve 1 kb'lik DNA büyüklük işaretleyicisi (Thermo Scientific) kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1.Serolojik Testleme

Mekanik inokulasyon yönteminde bulaştırma işlemi gerçekleştirilip, değerlendirmeler yapıldıktan sonra; 6 farklı genotipten toplanan yaprak örnekleri Bioreba TSWV Agristrip kiti ile TSWV'nin varlığı/yokluğu testlenmiştir. Yapılan testlemeler sonucunda ‘‘Nazlı F1’’ ve ‘‘Alsancak F1’’ ticari domates çeşitleri pozitif sonuç vererek virüs ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. 281.6.A ve 283.1.1 domates hatlarının testleme sonuçları negatif çıkmıştır ve virüsle bulaşık olmadığı belirlenmiştir. Nazlı F1 X 281.6.A (F6) ve Nazlı F1 X 283.1.1 (F6) melezleri ile yapılan testlemelerin de sonuçları negatif çıkmıştır. Mekanik inokulasyon işleminden sonra 281.6.A (Şekil 4.3), 283.1.1 (Şekil 4.5), ‘‘Nazlı F1’’ X 281.6.A (F6) (Şekil 4.2) ve ‘‘Nazlı F1’’ X 283.1.1 (F6) (Şekil 4.4) bitkilerinde herhangi bir hastalık semptomlarına rastlanmamıştır. Buna karşın hassas çeşitler olan ‘‘Alsancak F1’’ ve ‘‘Nazlı F1’’ TSWV hastalığının semptomları gözlemlenmiştir. ‘‘Nazlı F1’’ bitkisinin yaprak ve meyvesinde meydana gelen deformasyonlar görülmüştür (Şekil 4.6). ‘‘Alsancak F1’’ çeşidinin bitkisinde de genç yapraklarda küçük kahverengimsi, çok sayıda dairesel lekeler ve ilerleyen dönemlerinde yapraklarda kıvrırcıklaşma belirtileri gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. TSWV' ye karşı hassas olduğu bilinen “Alsancak F1”çeşidinin ve yapraklarındaki hastalık simptomları.



Şekil 4.2. Nazlı F1 X 281.6.A (F6) melezinde hastalık semptomları gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.3. 281.6.A Domates ıslah hattında hastalık semptomları gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.4. Nazlı F1 X 283.1.1 (F6) melezi hastalık semptomları gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.5. 283.1.1 Domates ıslah hattı hastalık semptomları gözlemlenmemiştir



Şekil 4.6. “Nazlı F1” pembe domatesin yapraklarındaki TSWV deformasyonları ve meyvesinde zarar şekli gösterilmiştir.

4.2. DNA İzolasyonu

Tez çalışmasında kullanılan domates çeşit ve ıslah hatlarının yapraklarından elde edilen DNA örneklerinin miktarı ve saflık değerleri Çizelge 4.1 de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflık değerleri

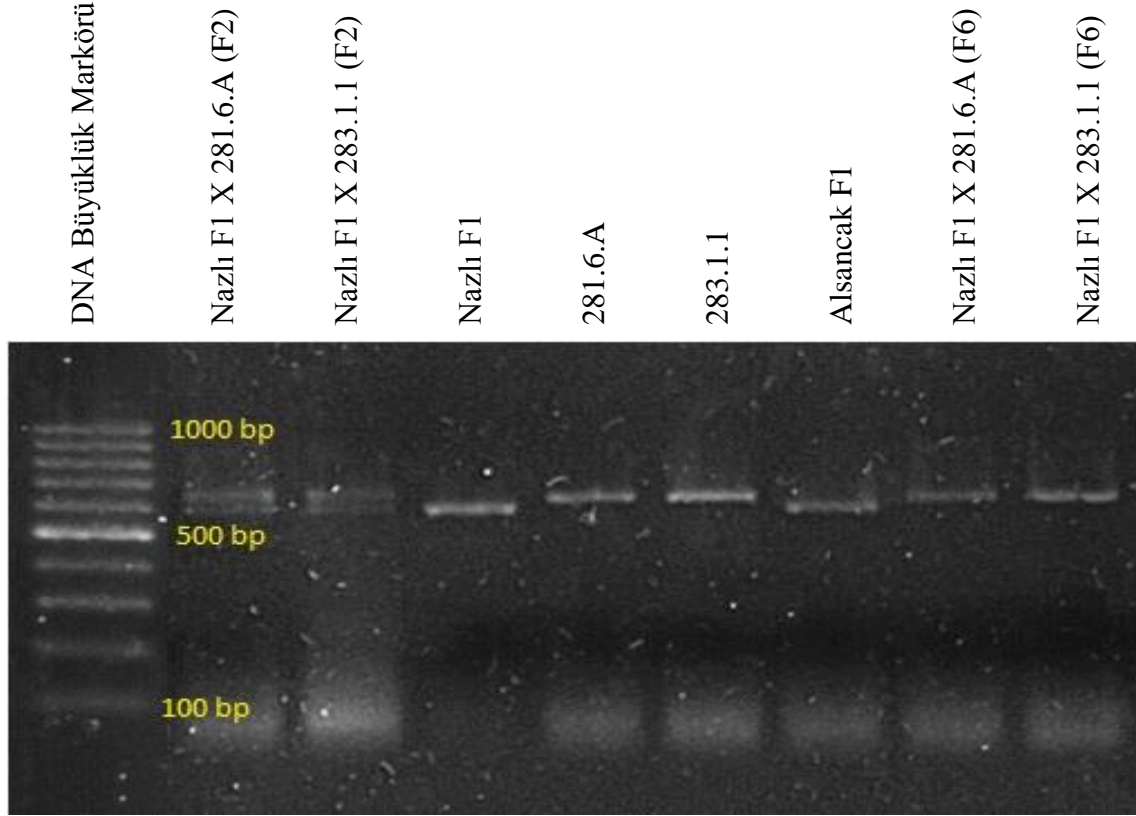
NO	Genotip	DNA miktarı (ng/μl)	Saflık ($A_{260/280}$)
1	Nazlı F1	87,81	1,91
2	Nazlı F1 X281.6.A (F2)	67,30	2,00
3	Nazlı F1 X283.1.1 (F2)	75,27	2,06
4	281.6.A	74,67	2,05
5	283.1.1	111,65	2,00
6	Nazlı F1 X281.6.A (F6)	63,14	2,10
7	Nazlı F1 X283.1.1 (F6)	84,32	2,0
8	Alsancak F1	44,2	1,88

PCR analizinin başarılı olması için izole edilen DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflık değerleri çok önemlidir. PCR analizi için yaprak örneklerinden elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonu 20 ng/ul olması gereklidir. Elde edilen DNA örneklerinin tamamının 20 ng/ul yukarı olduğu Çizelge 4.1 de görülmektedir. Bütün DNA örneklerinin konsantrasyonu PCR analizlerinde kullanılabilmesi için su ile 20 ng/ul olacak şekilde seyreltilmiştir.

Nükleik asit (DNA, RNA) örnekleri 260 nm dalga boyundaki (A_{260}) ışığı soğururlar. 280 nm dalga boyu (A_{280}) genellikle aminoasit ve fenolik bileşikler tarafından soğurulur. Bu 2 dalga boyunun absorbansları oranı ($260/280$) “saflık” derecesini vermektedir. Beklenen saflık dereceleri DNA için 1,8; RNA için ise yaklaşık 2,0 olarak kabul edilir. Bu tez çalışmasında elde edilen en düşük DNA saflık derecesi 1,88 ve en yüksek saflık derecesi 2,10 dur. DNA örneklerinin saflığı PCR çalışması için yeterli olduğu tespit edilmiştir (Kahraman 2008; Rittman ve ark. 2012).

4.3. PCR Analizi Sonuçları

PCR döngüsü tamamlandıktan sonra elde edilen PCR ürünleri elektroforez yöntemi ile analiz edilerek görüntülenmiştir. Çalışmada kullanılan 8 domates örneğine ait agaroz jel görüntüleri Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de verilmiştir.

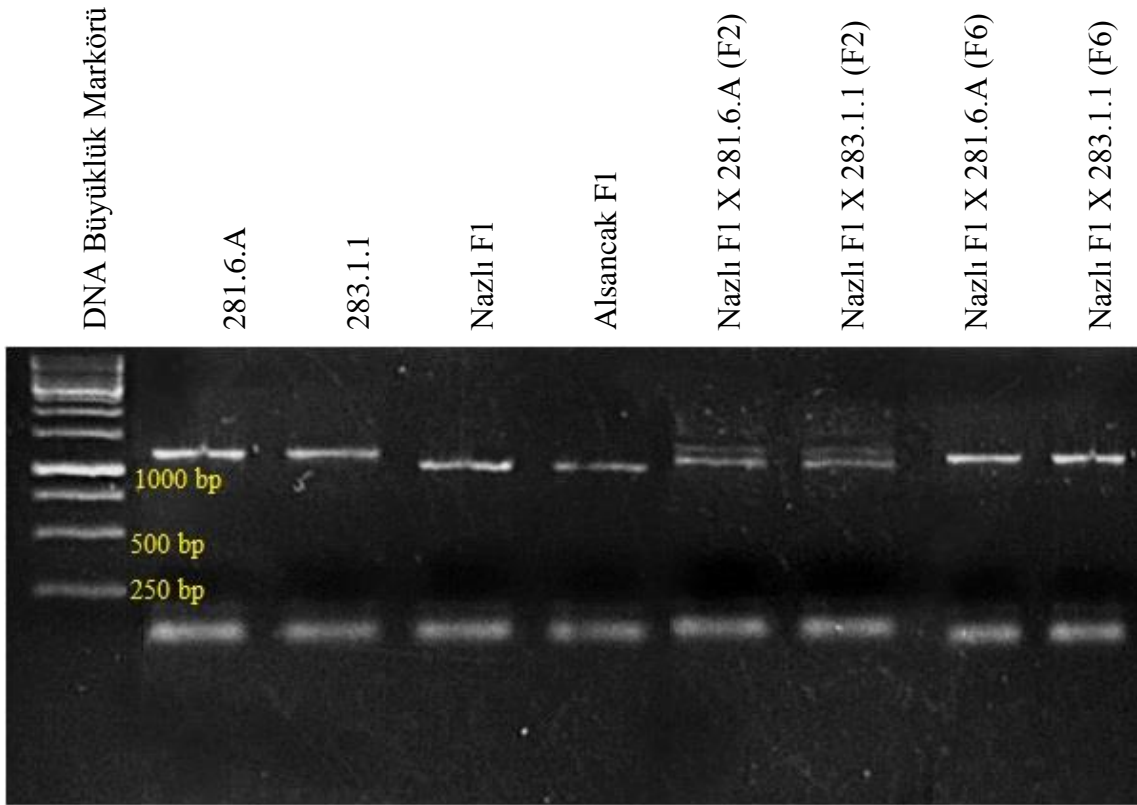


Şekil 4.7. Ncsw-003 moleküler işaretleyicisine ait jel görüntüsü. 100 bp DNA büyüklük markörü kullanılmıştır.

Bu tez çalışmada kullanılan tüm domates bitkilerinden elde edilen DNA örnekleri ve SCAR moleküler işaretleyicisine ait spesifik primerler kullanılarak PCR yapılmıştır. Literatürde yapılan çalışmalarda (Panthee ve Ibrahim 2013) NCSw-003 primeri için Sw-5 gen bölgesine sahip olan bitkilerde 680 bp büyüklüğünde DNA parçası çoğalttığı, çekinik Sw-5 (sw-5) gen bölgesine sahip olan bitkilerde 600 bp büyüklüğünde DNA parçası çoğalttığı bilgisini vermişlerdir. PCR analizi NCSw-003 moleküler işaretleyicisinin primerleri ile Nazlı F1 X 281.6.A (F2) ve Nazlı F1 X 283.1.1 (F2)

melezlerine ait DNA örnekleri ile her iki DNA parçasını da (600-680 bp) çoğaltmış ve bu bitkilerin Sw-5 dayanıklılık genini heterozigot olarak taşıdığı anlaşılmıştır.

281.6.A ve 283.1.1 hatlarına ve Nazlı F1 X 281.6.A (F6) ve Nazlı F1 X 283.1.1 (F6) melezlerine ait DNA örneklerinde ise sadece 680 bp büyüklüğünde DNA parçası çoğaltıldığı için homozigot dayanıklı olduğu belirlenmiştir. “Nazlı F1” ve “Alsancak F1” çeşitlerine ait DNA örneklerinde ise sadece 600 bp büyüklüğünde DNA parçası çoğaltıldığı için çekinik sw-5 genini homozigot olarak taşıdığı için bu çeşitlerin TSWV hastalığına duyarlı olduğu görülmüştür.



Şekil 4.8. Ncsw-012 moleküler işaretleyicisine ait görüntüsü (1 kb DNA ladder kullanılmıştır.)

NCSw-012 moleküler işaretleyicisi Sw-5 geninin dominant allelini taşımayan bitkiler DNA örnekleri ile 1000 bp büyüklüğündeki DNA parçasını çoğalttığı bilgisi verilmiştir. (Panthee ve Ibrahim 2013). NCSw-012 moleküler işaretleyicisi “Nazlı F1” ve “Alsancak F1” DNA örnekleri 1000 bp büyüklüğünde DNA parçası çoğalttığı için

duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Nazlı F1 X 281.6.A (F2) ve Nazlı F1 X 283.1.1 (F2) genotiplerine ait DNA örnekleri çift bant görüntüsü vermiştir. Nazlı F1 X 281.6.A (F2) ve Nazlı F1 X 283.1.1 (F2) genotipleri tezin referans kaynağında belirtilen bant görüntüsünü vermiştir (Panthee ve Ibrahim 2013). Dominat bir moleküler işaretleyici olan NCSw-012 primeri için 281.6.A ve 283.1.1 hatları ve Nazlı F1 X 281.6.A (F6) ve Nazlı F1 X 283.1.1 (F6) melezleri hakkında dayanıklı veya duyarlı olduğuna dair kesin bir yorum yapılamamaktadır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde artan nüfus ile birlikte besine olan ihtiyaç da giderek artmaktadır. Tarımsal alanlarda üretimi engelleyen birçok faktör mevcuttur. Ülkemizde en çok üretimi yapılan sebze olarak domates önemli bir konumdadır. Ülkemiz domates üretim alanlarında en fazla zarar yapan virüs zararlarının başında domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) gelmektedir. Birçok kültür bitkisinin, süs bitkilerinin ve yabancı otların konukçuluk yapması ve çok kolay taşınıyor olmasından dolayı büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Virüsler ile doğrudan kimyasal mücadele yöntemi günümüzde mevcut değildir. Ancak virüslerin taşıyıcısı olan vektörlerle kimyasal mücadele yöntemi uygulanabilmektedir. Kimyasal mücadele tek başına zor ve pahalı bir mücadele yöntemidir. Son yıllarda ülkemiz ve dünyada TSWV üzerine yapılan araştırmalarda artış olduğu görülmektedir. TSWV ile mücadele de tek başına bir yöntemle mücadele etmenin mümkün olmadığı ortaya koyulmuştur. Birçok mücadele yönteminin bir arada entegre olarak kullanılması ekonomik zarar seviyesinde önemli düşüşler sağlamaktadır. TSWV ye karşı en ekonomik ve başarılı yöntemin ise dayanıklı çeşitlerin kullanılması olduğu ifade edilmiştir.

“Nazlı F1” pembe domates çeşidinin TSWV’ ye hassas olduğu mekanik inokulasyon, serolojik testleme ve moleküler işaretleyici yardımıyla tespit edilmiştir. 281.6.A ve 283.1.1 ıslah hatları ile “Nazlı F1” ticari çeşidinin melezlenmesi ile Sw-5 geninin “Nazlı F1” çeşidine aktarılması ve TSWV’ye dayanıklı pembe domates çeşitlerinin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Yapılan melezlerden tohumlar alınmıştır. Bu tohumlardan elde edilen fidelerden yaprak örneği olarak moleküler laboratuvarında TSWV’ye karşı dayanıklılık sağlayan Sw-5 geninin hangi mezlere aktarıldığı hem serolojik hem de moleküler işaretleyiciler ile tespit edilmiştir. Heterozigot olarak elde edilen bireylerin kendileme yöntemi ile saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. F6 popülasyondaki pembe domateslerden alınan yaprak örnekleri moleküler işaretleyiciler ile taranmıştır. Tarama sonucunda Sw-5 geninin aktarıldığı homozigot, dayanıklı pembe domates hatları tespit edilmiştir. Moleküler işaretleyicileri taşıyan hatların yapılan serolojik testlemeler sonucunda da dayanıklı olduğu gözlemlenmiştir. Mekanik inokulasyon ve serolojik testleme yöntemi de moleküler işaretleyici ile tarama sonuçlarını destekler niteliktedir. Aynı zamanda SCAR moleküler işaretleyicisi ve serolojik testlemeler klasik ıslah

metotlarına göre, ıslah hatlarının taranmasında sürecin kılalacağını ve iş gücünün azaltılabileceğini göstermiştir.

Bu tez çalışmasında pembe domateste Sw-5 geni taşıyan melez ve hatların tespiti gerçekleştirilmiştir. TSWV' ye karşı dayanıklılık sağlayan Sw-5 geninin 8 farklı çeşit ve genotipte var olup olmadığı SCAR işaretleyicisi yöntemi ile 2 farklı primer kullanarak tespit edilmiştir. Ncsw-003 primeri ile yapılan tarama sonucunda 6 dayanıklı ve 2 hassas birey tespit edilmiştir. Ncsw-012 moleküler işaretleyicisi hassas ve dayanıklı bitkileri ayırt edememiştir. Bu moleküler işaretleyicisinin tez konusu bitki materyallerinde çalışmadığı tespit edilmiştir. Yapılan tüm moleküler çalışmalar mekanik inokulasyon ve serolojik testleme yöntemi ile test edilip güvenilirliği test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar moleküler tarama sonuçlarını desteklemiş ve güvenilirliğini ortaya koymuştur.

Tez çalışmasının referans kaynağı olan Panthee ve Ibrahim (2013), yaptıkları çalışmada domates genotipleri 2 SCAR ve 2 CAPS işaretleyicisi ile TSWV dayanıklılığını test etmiştir. SCAR işaretleyicisi için NCSw-003 (eşbaskın) ve NSCw-012 (baskın) primerleri CAPS işaretleyicisi için NCSw-007 (eşbaskın) ve NCSw-011 (eşbaskın) primerleri ile taraması gerçekleştirilmiştir. NCSw-003 primeri için 10 homozigot, 8 duyarlı ve ticari bir çeşit olan "Crista" heterozigot dayanım göstermiştir. NCSw-012 8 genotip hassas bant boyutu verirken ticari çeşit olan "Crista" çift bant görüntüsü vermiş ve dayanıklı olduğunu belirtilmiştir. NCSw-007 primeri için 9 adet dayanıklı, 8 adet hassas bant görüntüsü verirken ticari çeşit "Crista" çift bant görüntüsü vermiştir. NCSw-011 9 adet heterozigot, 8 adet hassas bant görüntüsü elde edilmiştir. "Crista" ticari çeşiti 3 farklı bant görüntüsü vermiştir. Dört moleküler işaretleyicisinin hepsinin Sw-5 lokusu ile ilişkili olduğunu bulurken NCSw-012 Sw-5b için spesifik ve NCSw-011 Sw-5a için spesifik olduğunu belirtmişlerdir. Sw-5b' nin domateste TSWV' ye direnç kazandırmak için yeterli olduğu yaptıkları çalışmalarda belirtmişlerdir. NCSw-012 ıslah hatlarının taranması ve bunun sağlanması için güvenilir bir işaretleyici olduğunu belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise kullanılan SCAR moleküler işaretleyicileri ile yapılan testleme sonuçlarında homozigot ve heterozigot bireyler ayrımları yapılarak Panthee ve Ibrahim (2013) yaptığı çalışma ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ncsw-003 (eşbaskın) primeri ile 4 homozigot dayanıklı, 2 heterozigot dayanıklı ve 2 hassas birey tespit edilmiştir. Ncsw-012 primeri (baskın) bağlanması bölgesinin olmadığı için belirleyici bir referans

primer olmadığı anlaşılmıştır. Panthe ve Ibrahem çalışmasında ticari çeşit olan ‘‘Crista’’ ya benzer bant görüntüsü Nazlı F1 X 281.6.A (F2) ve Nazlı F1 X 283.1.1 (F2) bireylerinde tespit edilmiştir.

Koca (2012), yüksek lisans tez çalışmasında 3 (Sw-5-2, CT220 ve Sw-5a-e) farklı işaretleyici kullanarak 71 adet domates genotipinde Sw-5 genin varlığı/yokluğunu taramıştır. Sw-5-2 işaretleyicisi ile taranan genotiplerde 15 dayanıklı birey tespit edilmiştir. CT220 işaretleyicisi ile yapılan tarama sonucunda 46 dayanıklı birey tespit edilmiştir. Sw-5a-e işaretleyicisi ile yapılan taramalar sonucunda ise 65 adet dayanıklı birey olduğunu tespit etmiştir. Kullanılan işaretleyicilerin gene spesifik olmasıyla ilişkisi olacağı ve taranması yapılan domates hatlarında dayanıklı birey sayısında azalma olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle tek işaretleyici ile taramanın doğru sonuçlar vermeyeceği taramanın birden fazla işaretleyici ile yapılmasının daha sağlıklı ve güvenilir sonuçlar vereceğini göstermiştir. Bu yüksek lisans tez çalışmasında yapılan taramalarda kullanılan NCSw-003 SCAR işaretleyicisi hastalık dayanımının aktarıldığını ve bir birleri ile örtüşen sonuçlar verdiğini ortaya konmuştur. Aynı zamanda hastalık dayanım geninin (Sw-5) bireylere aktarılması hastalığa karşı direncinin test edilmesi adına mekanik inokulasyon yöntemi ile desteklenmiştir. Bu sayede aktarılan genin çalışma durumu ve güvenilirliği test edilmiştir.

Tamamlanan bu tez çalışması kapsamında TSWV hastalığına dayanıklı ve hassas domates çeşit ve ıslah hatları başarı ile hem serolojik hem de moleküler işaretleyiciler ile belirlenebilmiştir. Moleküler işaretleyici ve serolojik testleme ile dayanıklı olduğu tespit edilen domates çeşit ve ıslah hatları hastalık bulaştırma sonrasında hastalık belirtileri göstermemiştir. Elde edilen bulgular TSWV hastalığına dayanıklı yeni hibrit domates çeşitlerinin geliştirilmesinde dayanıklı ebeveyn hatların seçimi noktasında ıslahçılara katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Adkins, S., (2000).** Tomato spotted wilt virus—positive steps towards negative success. *Molecular Plant Pathology*, 1(3): 151-157.
- Adkins, S., Zitter, T., Momol, T., 2005.** Tospovirüsler (Aile Bunyaviridae, Cins Tospovirüs). *EDIS*, 2005 (12).
- Akcura, C., Küçük, M. A., 2005.** Tospovirüslerin Tripsler ile Taşınma Mekanizmaları. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(2): 214-220.
- Anonim, 2004.** Türkiye İstatistik Kurumu, Türkiye Örtü Altı Domates Üretim Miktarı <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr-> (Erişim Tarihi: 22.05.2020)
- Anonim, 2019.** Gıda Ve Tarım Örgütü (GTÖ; Food and Agriculture Organization, FAO). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (Erişim Tarihi: 17.03.2020)
- Anonim, 2020a.** Türkiye İstatistik Kurumu, Türkiye’ de Domates Üretim istatistikleri <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr-> (Erişim Tarihi: 05.04.2020)
- Anonim, 2020b.** Türkiye İstatistik Kurumu, Türkiye Örtü Altı Domates Üretim Miktarı <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr-> (Erişim Tarihi: 05.04.2020)
- Anonim, 2020c.** Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Örgütü, 2019 EPPO A2 List of Pests Recommended For Regulation As Quarantine Pests. https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A2_list (Erişim Tarihi: 01.03.2020)
- Arıkbay, C., 1996.** Türkiye’nin İşlenmiş Domates Dışsatımı: Durum Değerlendirmesi ve Avrupa Topluluğu’na Tam Üyeliğin Olası Etkileri. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, 243s.
- Arthurs, S., McKenzie, C. L., Chen, J., Dogramaci, M., Brennan, M., Houben, K., Osborne, L., 2009.** Evaluation of *Neoseiulus cucumeris* and *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) as biological control agents of chilli thrips, *Scirtothrips dorsalis* (Thysanoptera: Thripidae) on pepper. *Biological control*, 49(1): 91-96.
- Ata, A., 2015.** Örtü altı domates yetiştiriciliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Erdemli-Mersin.
- Bozdoğan, V., 2009.** Antalya ilinde domates, biber ve marul yetiştirilen alanlarda Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV)’nün saptanması. *Çukurova Üniversitesi*.
- Brittlebank, C. C., 1919.** Tomato diseases. Journal of the department of Agriculture in Victoria., (17): 1348-1352

Budak, H., Bölek, Y., Dokuyucu, T., Akkaya, A., 2004. Potential uses of molecular markers in crop improvement. *KSU Journal of science and Engineering*, 7(1): 75-79.

Colariccio, A., Eiras, M., Chaves, A. L., Harakava, R., Chagas, C. M., 2004. Tomato chlorotic spot virus in hydroponically-grown lettuce in São Paulo State, Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 29(3): 307-311.

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.

De Haan, P., Wagemakers, L., Peters, D., Goldbach, R., 1990. The S RNA segment of tomato spotted wilt virus has an ambisense character. *Journal of General Virology*, 71(5): 1001-1007.

Di Rienzo, V., Bubici, G., Montemurro, C., Cillo, F., 2018. Rapid identification of tomato Sw-5 resistance-breaking isolates of Tomato spotted wilt virus using high resolution melting and TaqMan SNP Genotyping assays as allelic discrimination techniques. *PloS one*, 13(4).

Dianese, E. C., de Fonseca, M. E. N., Goldbach, R., Kormelink, R., Inoue-Nagata, A. K., Resende, R. O., Boiteux, L. S., 2010. Development of a locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the Sw-5 (Tospovirus resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions. *Molecular Breeding*, 25(1): 133.

Ertürk, Y., Çirka, M., 2015. Türkiye Ve Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi (KDAB)' nde Domates Üretimi Ve Pazarlaması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(1): 84-97.

Fidan, H., Koç, G., Topçu, T., 2016. Anthurium sp.'de Tomato spotted wilt virus (TSWV) enfeksiyonu ve moleküler karakterizasyonu. *Alatarım*, 15(2): 28-36.

Finlay, K. W., 1953. Inheritance of spotted wilt resistance in the tomato II. Five genes controlling spotted wilt resistance in four tomato types. *Australian journal of biological sciences*, 6(2): 153-163.

Geyik, S., 2017. Marmara bölgesindeki domates üretim alanlarında virüs hastalıklarının saptanması üzerine araştırmalar (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).

Gordillo, L. F., Stevens, M. R., Millard, M. A., Geary, B., 2008. Screening two *Lycopersicon peruvianum* collections for resistance to Tomato spotted wilt virus. *Plant disease*, 92(5): 694-704.

Gülşen, O., Mutlu, N., 2005. Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. *alatarım*, 4(2): 27-37.

Günay, A., 1992, Özel Sebze Yetiştiriciliği, Cilt 4. Çağ Matbaası, Ankara.

Kahraman, A., 2008. Konya bölgesinde yetiştirilen bodur kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) popülasyonlarının genetik farklılıklarının ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)

Kamberoglu, M. A., Bilge, A., 2011. Occurrence of Tomato spotted wilt virus in lettuce in Cukurova region of Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13(3).

Karp, A., Ingram, D. S., Isaac, P. G. (Eds.), 2012. *Molecular tools for screening biodiversity: plants and animals*. Springer Science & Business Media.

Keskin, L., 2014. Bazı domates (*Solanum lycopersicum*) genotiplerinin melezlenmesi, ebeveyn ve melezlerin morfolojik karakterizasyonu (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

Kılıç, H. Ç., Isparta, L., Yardımcı, N., Doğan, K., 2017. Isparta ve Burdur İlleri Üretim Alanlarında Yetiştirilen Domateslerde Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Tanılanması. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(1): 34-39.

Koca, G., 2012. Farklı domates çeşitlerinde domates lekeli solgunluk virüsüne (tomato spotted wilt virüs) dayanıklılık geninin markör destekli seleksiyon yöntemiyle belirlenmesi. (Doctoral dissertation, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü)

Nagata, T., Inoue-Nagata, A. K., Prins, M., Goldbach, R., Peters, D., 2000. Impeded thrips transmission of defective Tomato spotted wilt virus isolates. *Phytopathology*, 90(5): 454-459.

Oğuz, A., Ellialtıoğlu, Ş., Çelik, N., Zengin, S., 2009. Bazı domates hatlarının domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV =Tomato Spotted Wilt Virus)'ne karşı reaksiyonlarının mekanik inokulasyon yöntemi ile belirlenmesi. *Derim*, 26(1): 40-50

Özdoğan, N., Seferoğlu, S., 2015. Aşağı Büyük Menderes Havzasında Sanayi Domatesi Yetiştiriciliği Yapılan Arazilerin Toprak Özellikleri. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(2): 109-115.

Padmanabhan, C., Ma, Q., Shekasteband, R., Stewart, K. S., Hutton, S. F., Scott, J. W., Ling, K. S., 2019. Comprehensive transcriptome analysis and functional characterization of PR-5 for its involvement in tomato Sw-7 resistance to tomato spotted wilt tospovirus. *Scientific reports*, 9(1): 1-17.

Panthee, D. R., Foolad, M. R., 2012. Retracted article: a reexamination of molecular markers for use in marker-assisted breeding in tomato. *Euphytica*, 184(2): 165-179.,

Panthee, D. R., Ibrahim, R., 2013. New molecular markers associated with the Sw-5 gene conferring resistance to tomato spotted wilt virus in tomato. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 88(2): 129-134.

Pappu, H. R., Jones, R. A. C., Jain, R. K., 2009. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: successes achieved and challenges ahead. *Virus research*, 141(2): 219-236.

Pınar, H., Ata, A., Keleş, D., Mutlu, N., Ünlü, M., 2013. Domateste Bazı Hastalık ve Zararlılara Dayanıklı Hat ve Çeşit Geliştirmede Moleküler Markörlerin Kullanımı. *Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Adına Sahibi*, 10.

Rittman, M., Hoffman, S. V., E., Hicks, M. R., Finkenstadt, B., Rodger, A., 2012. Probing the structure of long DNA molecules in solution using synchrotron radiation linear dichroism. *Physical Chemistry chemical physics*, 14(1): 353-366.

Rosello, S., Díez M.J., Nuez F., 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. The Tomato spotted wilt virus -a review. *Scienta Horticulturae*, (67): 117-150.

Sertkaya, G., 2015. Hatay İli Marul ve Ispanak Alanlarında Bazı Virüslerin Araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1): 7-12.

Soler, S., Díez, M. J., Nuez, F., 1998. Effect of temperature regime and growth stage interaction on pattern of virus presence in TSWV-resistant accessions of *Capsicum chinense*. *Plant disease*, 82(11): 1199-1204.

Sönmez, K., Ellialtıoğlu, Ş., 2014. Domates, karotenoidler ve bunları etkileyen faktörler üzerine bir inceleme. *Derim*, 31(2): 107-130.

Şevik, M. A., 2008. Thrips (Thripidae: Thysanoptera) türleri ile taşınan bitki virüsleri, *Derim*, 25(1): 1-11.

Şevik, M. A., 2011. Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'nün Tarımsal ürünlerde meydana getirdiği ekonomik kayıplar. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 15(1): 35-42.

Şevik, M. A., 2015. Sebze Üretimini Tehdit Eden Viral Hastalık Etmeni: Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus–TSWV) Iğdır Üni. *Fen Bilimleri Enst. Dergisi Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech*, 5(2): 17-23.

Tekinel, N., Dolar, M.S., Sađsöz, S., Salcan, Y., 1969. Mersin bölgesinde ekonomik bakımdan önemli bazı sebzelerin virüsleri üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 9(1): 7-49.

Turhan, A., Şeniz, V., 2009. Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Domates Gen Kaynaklarının Verim, Meyve Ve Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 23(50): 52-59.

Turhan, P., Korkmaz, S., 2006. Çanakkale ilinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün serolojik ve biyolojik yöntemlerle saptanması. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(2): 130-136.

Valizadeh, M., Valizadeh, J., Jafari, M., 2011. Identification, distribution and incidence of important tomato and cucurbits viruses in Southeast of Iran. *Am. J. Plant Physiol*, (6): 242-251.

Vardar Kanlıtepe, Ç., Aras, S., Cansaran Duman, D., 2010. Bitki Islahında Moleküler Belirteçlerin Kullanımı ve Gen Aktarımı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67(1): 33-43.

Wilson, C. R., Wilson, A. J., Pethybridge, S. J., 2000. First report of Tomato spotted wilt virus in common agapanthus. *Plant disease*, 84(4): 491-491.

Yardımcı, N., Çulal-Kılıç, H., 2009. Tomato spotted wilt virus in vegetable growing areas in the west mediterranean region of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8(18): 4539-4541.

Yazgan, A., Fidan, S., 1996. Tokat koşullarına uygun Kiraz domates (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiforme*) çeşitlerinin belirlenmesi. *GAP*, (1): 7-10.

Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu, M.T., 2015. Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2): 1-12.

Zhang, Z., Wang, D., Yu, C., Wang, Z., Dong, J., Shi, K., Yuan, X., 2016. Identification of three new isolates of Tomato spotted wilt virus from different hosts in China: molecular diversity, phylogenetic and recombination analyses. *Virology journal*, 13(1): 8.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Abdullah ERTEKİN
Doğum Yeri ve Tarihi : Kayseri-07.06.1994
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise :Çağlayan Lisesi, Antalya - 2011
Lisans :Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Bölümü - 2017
Yüksek Lisans :Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü-2020

Çalıştığı Kurum/Kurumlar :Dikmen Tarım Ürünleri San. Tic. Ltd. Şti. 2017 -
2020
Marfid Tarım Ürünleri San. Tic. Ltd. Şti. 2020-

İletişim (e-posta) : ertekinaabdullah@gmail.com