

**BİBERDE TSWV DAYANIMININ YERLİ KAPYA BİBER
ÇEŞİTLERİNE MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLER
KULLANILARAK AKTARILMASI**

Onur ÇOBAN



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBERDE TSWV DAYANIMININ YERLİ KAPYA BİBER ÇEŞİTLERİNE
MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLER KULLANILARAK AKTARILMASI**

Onur ÇOBAN
0000-0003-3282-5325

Prof. Dr. Ahmet İPEK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2021
Her Hakkı Saklıdır

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 yararlanılması 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.

16/02/2021

Onur ÇOBAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİBERDE TSWV DAYANIMININ YERLİ KAPYA BİBER ÇEŞİTLERİNE MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLER KULLANILARAK AKTARILMASI

Onur ÇOBAN

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet İPEK

Ülkemizde yoğun bir şekilde üretimi ve tüketimi yapılan biber tiplerinin başında kapyalı biberi gelmektedir. Taze tüketimin yanı sıra, sanayi alanında da çok fazla kullanım alanları bulunmaktadır. Son dönemlerde kapyalı biber üretimini etkileyen faktörlerin başında tomato spotted wilt virüsü (TSWV) hastalığı gelmektedir. TSWV hastalığının kimyasal mücadelesi bulunmamasından dolayı, üretimlerde verim kayıplarına sebep olarak, tarımda büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. TSWV hastalığı ile en etkin mücadele yöntemlerinin başında, bu hastalığa dayanıklı çeşitlerin kullanılması gelmektedir. Bu çalışmada, yerel kapyalı biber çeşidine (Ata-16) TSWV ye dayanıklı olduğu bilinen ticari olarak satışı yapılan kapyalı biber çeşidinden (Nr-07), moleküler markör yöntemleri kullanılarak TSWV dayanıklılık geninin aktarılmasını sağlayarak, üretimde hem ekonomik kayıpları en aza indirmek, hem de yerel kapyalı biber çeşidimizin yok olmasının önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Buna ek olarak, bu tez sonucunda elde edilen bitkisel materyaller (TSWV) hastalığına dayanıklı yeni kapyalı biber çeşitlerinin geliştirilmesi için gen kaynağı olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: TSWV, Kapyalı biber, Moleküler işaretleyici

2021, vii + 41 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

TRANSFER OF TSWV RESISTANT TO LOCAL PEPPER VARIETIES USING MOLECULAR MARKERS

Onur ÇOBAN

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

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet İPEK

A Capia pepper is one of the important types of pepper varieties that are produced and consumed extensively in our country. In addition to fresh consumption, there are many areas of use in industry. In recent years, TSWV disease of Tomato spotted wilt virus (TSWV) disease is the leading factor affecting capia pepper production. Due to the lack of chemical control of TSWV Tomato spotted wilt virus disease, it causes great economic losses in agriculture by causing yield losses in production. One of the most effective methods of combating TSWV disease is the use of resistant varieties. In this study, by using molecular marker methods to transfer the TSWV resistance gene from the commercially sold capia pepper variety (Nr-07), which is known to be TSWV resistant to the local capia pepper variety (Ata-16), It was aimed to both minimize economic losses and to prevent the extinction of our local capia pepper variety. In addition, the plant materials obtained from this thesis can be a gene source for the development of new capia pepper varieties resistant to (TSWV) disease.

Key words: TSWV, Capia pepper, Molekular markırs

2021, vii + 41 pages.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini bana aktaran ve bitirme tezim süreci boyunca desteği ile her zaman yanımda olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet İPEK hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca ve tez çalışmam süresince yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen başta ablam Demet ÇOBAN olmak üzere, tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Onur ÇOBAN
16/02/2021

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	8
2.1. Virüslerin Morfolojik Yapısı.....	8
2.2. Virüslerin Belirtileri.....	8
2.3. Virüslerin Yayılma Yolları.....	9
2.4. Virüslerle Mücadele Yöntemi.....	10
2.5. Virüslerin Bulunuşu ve Yayılışı.....	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1 Biber Bitkilerinin Yetiştirilmesi.....	16
3.2.2 Mekanik İnokulasyon.....	17
3.2.3 DNA İzolasyonu.....	17
3.2.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	21
3.2.5 PCR ile Çoğaltılan DNA Parçasının <i>TaqI</i> Enzimi ile Kesilmesi.....	21
3.2.6 Agaroz Jel Elektroforezi.....	22
4. BULGULAR.....	24
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	33
KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	41

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
cm	Santimetre
dk	Dakika
da	Dekar
ha	Hektar
%	Yüzde oranı
g	Gram
L	Litre
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
U	Ünite

Kısaltmalar	Açıklama
RFLP	Kesilmiş Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış DNA Farklılıkları
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Farklılığı
SNP	Tek Nükleotit Farklılıkları
SRAP	Sekansa Dayalı Çoğaltılmış DNA Farklılıkları
BATEM	Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü
CAPS	Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
DAS	Double Antibody Sandwich
CTAB	Cetyl Trimethylammonium Bromide
CAPS	Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
FAO	Food and Agriculture Organization
TUIK	Türkiye İstatistik Kurumu
TSWV	Tomato spotted wilt virüs
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	Ribo Nükleik Asit
TBE	Tris Boric Asit EDTA
GM1	Geri Melez 1
AW1	Wash buffer 1
AW2	Wash buffer 2
AE buffer	Elution buffer
Pr	Geri melez
Pf	İleri melez
dNTP	Deoksinükleotidtrifosfat
Taq	Termo stabil polimeraz enzimi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. TSWV'nin biber yaprağındaki simptomları.....	8
Şekil.2.2. TSWV'nin meyve üzerindeki simptomları.....	9
Şekil 3.1. Ata-16 kapyalı biber çeşidine, Nr-07 nolu kapyalı biber hattından TSWV hastalık geninin aktarılması şeması.....	16
Şekil 3.2. Saksılara dikilmiş bitkilerin en uç kısımlarındaki genç yapraklardan alınan numuneler.....	18
Şekil 3.3. Saksılara dikilmiş olduğumuz bitkilerin en uç kısımlarındaki genç yapraklardan alınan numunelerin plietilen tüplerin içerisine toplanması.....	18
Şekil 3.4. Polietilen tüpler içerisine konan yaprak numunelerinin liyofilizatör cihazında kurutulmaları.....	19
Şekil 3.5. Elektroferez tepsisindeki kaşıma elektrik akımı (120 volt) uygulanarak (yaklaşık 120 dk.) elektroferezin yürütülmesi.....	22
Şekil 3.6. Elektrik akımı işlemi tamamlandıktan sonra elektroferez tepsisinden çıkarılan jel, UV görüntüleme kutusunun içerisine alınarak DNA'nın görüntülenmesi.....	23
Şekil 4.1. Siyah zemin üzerinde, çiçeklerden alınan polen tozları.....	24
Şekil 4.2. Melezleme yapmak için en uygun çiçek tomurcukları.....	25
Şekil 4.3. TSWV hastalığına dayanıklılık genini taşıyan F1 bitkilerinin belirlenmesi. A) Moury ve ark. (2000) tarafından geliştirilen primerler kullanılarak çoğaltılmış DNA parçasının agaroz jel görüntüsü. B) Çoğaltılan DNA örneklerinin <i>TagI</i> enzimi ile kesildikten sonraki agaroz jel görüntüsü.....	26
Şekil 4.4. GM1-003 ve GM1-004 nolu genotipler.....	28
Şekil 4.5. GM1-008 ve GM1-022 nolu genotipler.....	29
Şekil 4.6. GM1-025 ve GM1-026 nolu genotipler.....	29
Şekil 4.7. GM1-008 ve GM1-022 nolu genotiplerin fide aşamasındaki yaprakların şekli.....	30
Şekil 4.8. TSWV hastalığına dayanıklılık genini taşıyan GM1 bitkilerinin belirlenmesi. A) Moury ve ark. (2000) tarafından geliştirilen primerler kullanılarak çoğaltılmış DNA parçasının agaroz jel görüntüsü. B) Çoğaltılan DNA örneklerinin <i>TagI</i> enzimi ile kesildikten sonraki agaroz jel görüntüsü.....	31
Şekil 4.9. Nr-07 süs biber tipi.....	32
Şekil 4.10. Nr-07 mazamort biber tipi.....	32
Şekil 4.11. Nr-07 balık biber tipi.....	32
Şekil 4.12. Nr-07 kardola biber tipi.....	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Dünya'daki biber üretim miktarı ve alanı	2
Çizelge 1.2. Dünya'da yoğun biber üretimi yapan ülkelerin üretim miktarları.....	2
Çizelge 1.3. Türkiye'de üretimi yapılan biber çeşitlerinin, yıllara göre üretim miktarları.	3
Çizelge 1.4. Türkiye'de üretimi yapılan biber çeşitlerinin, yıllara göre üretim alanları ...	4
Çizelge 1.5. Ülkemizde yoğun kopya biber üretimi yapılan iller	4
Çizelge 3.1. Termal döngü cihazı koşulları.....	21
Çizelge 4.1. Elde edilen TSWV' ye dayanıklı kopya biber hatlarının meyve özellikleri..	27
Çizelge 4.2. Elde edilen TSWV' ye dayanıklı kopya biber hatlarının bitki özellikleri....	28

1. GİRİŞ

1492 yılında Cristof Colomb ve arkadaşlarının Amerika'yı keşfetmesi ile birlikte, burada bitkilerin üzerindeki meyvelerin tadının çok acı olduğu bir türün yetiştirildiğini görmüşlerdir. Güney Hindistan'da karabiber yetiştiriciliğinin yoğun olmasından dolayı Cristof Colomb ve arkadaşları ilk olarak buldukları bölgenin Güney Hindistan olduğunu düşünmüşlerdir. Fakat araştırmacıların 500 yıl süre içerisinde yapmış oldukları araştırmalar ve elde ettikleri yeni veriler neticesinde Cristof Colomb ve arkadaşlarının keşfettikleri yerin Amerika Kıtası olduğunu, buldukların bitkisinin ise sos yapımında yoğun olarak kullanılan ve geniş alanlarda üretimi yapılan acı biber olduğunu keşfetmişlerdir. Böylece Cristof Colomb ve arkadaşları, Amerika Kıtası ile birlikte biberi de bulmuşlardır. Amerika'nın keşfi ile birlikte dünyada biber ekilişinin yayıldığı görülmektedir (Eşiyok 2006).

Biberin anavatanının, Amerika kıtasının Orta ve Güney bölgesi olduğu bilinmektedir (Verit ve ark. 2001, Ahmed 2013). Bolivya'nın, acı biberin anavatanı olduğu bildirilmektedir (McLeod ve ark. 1983, Pickersgill 1984). Biberin ticari olarak yetiştiriciliği 1600'lü yıllarda başlayıp, zaman içerisinde tüketimi hızlı bir şekilde artış göstermiştir (Dewitt ve ark. 1990). Kappa biberi Güney Amerika, Kosta Rika, Peru, Bolivya, Meksika ve tüm Güney Avrupa ülkelerinde yoğun bir şekilde üretimi yapılmaktadır (Kumari 2012). Ülkemize girişi ise 16 yy.'ın ortalarında Avrupalılar ile yapmış olduğumuz ticaretler sonucunda giriş yaptığı ve zamanla tüm Anadolu'ya yayıldığı belirtilmektedir (Vural ve ark. 2000).

Biber, *Solanales* takımı, domates ve patlıcan gibi sebze türlerini de içinde barındıran *Solanaceae* (Patlıcangiller) familyasından, *Capsicum* cinsi içerisinde yer alan bir sebze türüdür. Biber sıcak iklim bitkisidir. Bu sebepten dolayı tropik iklimlerde çok yıllık, ılıman iklimlerde ise tek yıllık bir sebze türüdür (Aybak 2002, Pernezny ve ark. 2003).

Kappa biberi (*Capsicum annuum* L.), bir diğer adı ile 'yağlık biber' olarak ta tanımlanmaktadır. İlk zamanlar taze tüketim olarak salça yapımında kullanıldığı gibi, gelişen teknolojinin ve insanoğlunun tüketim alışkanlıklarının değişmesi sonucu, endüstriyel sektörde hazır gıda olarak, dondurulmuş gıda, acı sos, turşu, baharat ve

konserve içerisine közlenmiş şekilde de tüketiminin yaygın olarak arttığı görülmektedir (Özdikmenli ve ark. 2013).

Dünya'daki biber üretimine baktığımızda, hazır gıda tüketiminin artması ile birlikte, endüstriyel alanda da biber ihtiyacının arttığı öngörülmektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nun verilerine göre dünyadaki biber üretim alanı 2015 yılında 1.879.989 ha iken, 2018 yılında 1.990.423 ha yükseldiği görülmektedir (Çizelge 1.1). Biberin dünyadaki üretim miktarlarına baktığımızda ise Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nun verilerine göre 2015 yılında 33.189.148 ton iken, 2018 yılında bu oran yaklaşık olarak %10 artış ile birlikte 36.771.482 tona ulaşmıştır (FAO, 2020).

Çizelge 1.1. Dünya'daki biber üretim miktarı ve alanı

YILLAR	ÜRETİM MİKTARI (Ton)	ÜRETİM ALANI (Ha)
2015	33.189.148	1.879.989
2016	34.567.250	1.931.365
2017	35.988.989	1.962.491
2018	36.771.482	1.990.423

FAO 2018 yılı verilerine göre, dünyadaki biber üretiminin yaklaşık olarak % 50'si, 18.214.018 ton ile Çin'de gerçekleştirilmiştir. 2. sıra da 3.379.289 ton ile Meksika, 3. sıra da ise 2.554.974 ton ile Türkiye yer almaktadır (Çizelge1.2).

Çizelge 1. 2. Dünya'da yoğun biber üretimi yapan ülkelerin üretim miktarları

ÜLKELER	ÜRETİM MİKTARI (Ton)
Çin	18.214.018
Meksika	3.379.289
Türkiye	2.554.974
Endonezya	2.542.358
İspanya	1.275.457

Türkiye’de birçok biber çeşidinin üretimi (macar biberi, süs biberi, california wonder, jalopen vs.) yapılırsa da, en yoğun olarak kapyra, sivri, dolma ve çarliston çeşitlerinin üretimi yapılmaktadır. Türkiye’deki biber üretiminin yoğun bir şekilde yapıldığı bölgeler Ege, Marmara, Karadeniz, Güney ve Güneydoğu Anadolu bölgeleridir. Ege, Marmara ve Karadeniz bölgelerinde üretilen biber genellikle taze tüketim için ve endüstriyel amaçlı (közleme, salça vs.) kullanılmaktadır. Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde üretilen biberler ise, acı sos, toz ve pul biber yapımında kullanılmaktadır.

Türkiye İstatistik Kurumu (TUIK) 2019 verilerine göre, Ülkemizde en yoğun üretimi yapılan biber çeşidi %47 lik oranı ile kapyra biber ilk sırada bulunmaktadır. Bunu sırası ile %34 oranı ile sivri, %14 oranı ile dolma ve %5 oranı ile çarliston biberi takip etmektedir (Çizelge 1.3).

Çizelge 1. 3. Türkiye’de üretimi yapılan biber çeşitlerinin, yıllara göre üretim miktarları

YILLAR	KAPYA (ton)	SİVRİ (ton)	DOLMA (ton)	ÇARLISTON (ton)
2015	879.775	919.004	393.190	115.568
2016	957.030	967.466	418.435	114.891
2017	1.107,713	945.361	420.904	134.194
2018	1.128,060	930.349	397.175	99.390
2019	1.234.423	902.203	371.918	117.125

Kapyra biberi, taze tüketimin yanında, hazır gıdada da yoğun olarak kullanılmasından dolayı, diğer biber çeşitleri ile kıyasladığımızda en fazla ekim alanına sahip olduğu görülmektedir. Türkiye İstatistik Kurumu (TUIK) 2019 verilerine göre, Ülkemizdeki toplam biber ekim alanının %47’lik kısmını oluşturan kapyra biber üretimi ilk sırada yer almaktadır. Bunu sırası ile sivri biber (%35), dolma biberi (%15) ve çarliston biber (%3) takip ettiği görülmektedir (Çizelge 1.4).

Çizelge 1. 4. Türkiye’de üretimi yapılan biber çeşitlerinin, yıllara göre üretim alanları (da)

YILLAR	KAPYA	SİVRİ	DOLMA	ÇARLİSTON
2015	308.417	313.149	143.626	27.425
2016	325.584	147.145	316.716	26.187
2017	333.132	141.534	303.341	27.159
2018	346.248	131.351	290.885	18.040
2019	372.775	122.952	277.642	19.305

Ülkemizde illere göre kapyra biber üretimlerine baktığımızda ise, Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK) 2019 verilerine göre, Çanakkale ilimiz ülkemizdeki toplam kapyra üretim alanının %8,36’lık kısmını karşılayarak 66.277 da üretim alanı ile ilk sırada, 50.371 da üretim alanı ile Şanlıurfa ilimiz 2. sırada, 35.362 da üretim alanı ile Manisa ilimiz 3. sırada yer aldığı görülmektedir (Çizelge 1.5).

Çizelge 1. 5. Ülkemizde yoğun kapyra biber üretimi yapılan iller

İLLER	ÜRETİM ALANI (da)	ÜRETİM MİKTARI (ton)
Çanakkale	66.277	234.735
Şanlıurfa	50.371	134.896
Manisa	35.362	134.349
Samsun	30.375	76.063
Bursa	21.646	91.103
İzmir	20.484	56.678
Adana	19.180	105.668
Antalya	15.587	131.920

Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK) 2019 verilerine göre, Ülkemizdeki kapyra biber üretimin de elde edilen üretim miktarlarına baktığımızda ise, üretim alanında olduğu gibi elde edilen üretim miktarlarında da 234.735 ton ile Çanakkale ilimiz ilk sırada bulunmaktadır, 2. Sırada 134.896 ton ile Şanlıurfa ilimiz, 3. sırada ise 134.349 ton ile Manisa ilimizin yer aldığı görülmektedir (Çizelge 1.5).

Biberin ekonomik değeri kadar, bünyesinde barındırdığı besin maddeleri bakımından da önemli bir sebze türü olduğu görölmektedir. Bu besin değerleri oranı iklim, toprak, çeşit seçimi, sulama, gübreleme, bakım gibi faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Ancak biber genel olarak bünyesinde 340 mg/100 gr oranında C vitamini bulundurması ile meyveler arasında en yüksek oranda C vitaminine sahip olduğu görölmektedir (Govindarajan ve ark. 1986a). Bunun yanında A, E, B1, B2 ve B3 vitaminleri, P, S, Fe, Mg ve Ca mineralleri yönünden zengindir (Govindarajan ve ark. 1986b).

Bibere acılık tadını veren capsaicin (C₁₈H₂₇NO₃) maddesidir. Capsaicin, alkaloid bileşenli bir yapıya sahiptir. Tıpkı havuçta olduğu gibi, biberinde rengini veren alfa ve beta karotenleridir. Karetonoid pigmentler biberin renginin (sarı, turuncu, yeşil, kırmızı) belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu tip capsaicin ve renk pigmentleri olan karetonoidlerin biber meyvesindeki miktarı meyvenin olgunlaşma süresine göre farklılıklar gösterebilmektedir (Govindarajan 1986b).

Biberin son yıllarda üretim ve tüketiminin artmasının nedenlerinden biri de, insan sağlığına yapmış olduğu katkıya dayanmaktadır. Özellikle acı biberin bünyesinde bulunan capsaicin maddesi kanser hücrelerinin pasifleşmesine katkısı olduğu, biber çeşitleri içerisinde kapyta biberde bulunan lutein maddesinin gözlerde meydana gelebilecek hastalıkları azalmasını sağladığı, sindirim sistemini rahatlattığı, kalp ve damar hastalıklarına karşı olumlu yönde katkıda bulunduğu görölmektedir (Akıncı ve Akıncı, 1999, Kumar Shaha ve ark. 2013).

İklim, su, gübreleme, toprak yapısı, arazi yapısı vs. gibi etmenler hasat zamanında tarımsal ürünlerin verimini etkilediğı gibi, aynı zamanda da bitki patojenleri (virüs, bakteri ve fungus) de tarımsal ürünler üzerinde olumsuz etki yaratarak, çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır. Tarımsal ürünlerin ekonomik kayba uğramasına neden olan virüsler arasında ilk sıralarda yer alan Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV)'dür (Goldbach ve ark. 1994, Griep ve ark. 2000).

TSWV (Domates Lekeli Solgunluk Virüsü) hastalığı, bitki yetiştiriciliğı açısından çok önem teşkil etmektedir. Bunun en büyük nedenlerinden biri, kimyasal mücadelesinin

bulunmamasıdır. İster açık saha yetiştiriciliği olsun, isterse örtü altı yetiştiriciliği olsun, tohumdan hasada kadar geçen süre içerisinde bitkilerin vejetatif ve generatif kısımlarında istenmeyen deformasyonların görülmesine neden olabilmektedir (Anonim, 2006a).

Bitkideki belirtileri; bodurlaşma, yaprakların, meyvelerin ve gövdenin üzerinde mozaik şeklinde kahverengi halkalı lekeler, klorotik ve nekrotik lekeler ve sararmalar, yaprakların üzerinde bulunan damarlar arasında küçülmeler, meyvelerde şekil bozuklukları ve meyve üzerinde kahverengi lekeler şeklinde belirtiler oluşturduğu görülmektedir. TSWV hastalığının bitkiler arasında yayılmasında vektör böcekler önemli rol almaktadır. Bu vektör böceklerin başında da thrips yer almaktadır (Anonim, 2006b).

TSWV (Domates Lekeli Solgunluk Virüsü)'nin kültür bitkilerinde neden olduğu ürün kaybından kaynaklanan ekonomik kayıp miktarı, yetiştirilen ürüne (biber, domates, patlıcan, marul, kereviz vs.), bölge şartlarına (yayla, ova, ortamdaki nem vs.) ve mevsim şartlarına göre değişim gösterebilmektedir. Bundan dolayı tarımsal ürünlerin TSWV'nin etkisinden dolayı yaşanan ürün kayıplarından doğan ekonomik kayıp miktarının rakamsal değeri net bir şekilde belirtmek güç olmaktadır (Bos 1982, Strange ve Scott, 2005). Ancak TSWV'nin dünyada kültür bitkilerinde neden olduğu ekonomik kaybın miktarının 1 milyar doların üzerinde olduğu düşünülmektedir (Uhrig ve ark. 1999, Griep ve ark. 2000).

TSWV hastalığının kimyasal mücadelesinin olmamasından dolayı, kültürel mücadeleye önem verilmesi gerekmektedir. Kültürel mücadele olarak, açık saha ve örtü altı yetiştiricilikte, hava sirkülasyonunu sağlayan seranın pencerelerine ve kapı girişine, thrips vektörleri ve diğer böceklerin geçmesini engellemek için 0,2-0,3 mm genişliğinde tüllerin takılması, sarı ve lacivert feromon tuzakların asılması, alet ve ekipmanları kullanmaya başlamadan önce iyice dezenfekte edilmesi, hastalık görülen bitkiler kökü ile birlikte seranın dışına çıkarılarak imha edilmesi, yabancı otların sera içinde ve etrafında bulundurulmaması şeklinde önlemler alınabilmektedir. Fakat en önemli mücadele yöntemi TSWV'ye dayanıklı çeşitlerin tercih edilmesidir.

Bitki ıslahı çalışmalarında TSWV'ye dayanıklı biber çeşitleri elde etmek öncelikli hedeflerden biri olmalıdır. Islah çalışmalarına başlayabilmek için ilk adım olarak ıslahçının elinde bitkisel genetik kaynaklarının bulunması gerekmektedir. Artık yavaş yavaş yok olmaya başlayan atalarımızdan kalma yerel çeşitler, en iyi bitkisel genetik kaynak materyali olarak kullanılabilirlerdir.

Islah çalışmaları çok uzun yıllar almaktadır. Bu durum hem zaman kaybına, hem de maddi yönden bir kayba neden olmaktadır. Teknolojinin gelişmesi ile birlikte ıslahçılar, moleküler markır yöntemlerini kullanarak (RFLP, RAPD, AFLP, SNP, SRAP) ıslah çalışmalarında daha kısa sürede hedefe ulaşabilmektedirler. Bu durum daha kısa sürede ve daha düşük maliyetlerle piyasadaki çeşitliliğin artmasına ve yeni çeşitlerin daha kısa sürede daha ekonomik olarak elde edilmesini sağlamaktadır (Li ve Quiros, 2001).

Bu çalışmada, yerel kopya biber çeşitlerinin yok olmasının önüne geçmek amacı ile moleküler işaretleyiciler kullanarak, yerel kopya biber çeşidine TSWV dayanımı kazandırıp, hastalık dayanımını artırarak verim artışı sağlamak, böylece kaybolmaya yüz tutmuş yerel çeşitlerimizi tekrar tarıma kazandırmaktır. Aynı zamanda da bu çalışmalar sırasında elde edilecek yeni genotipleri, ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere gen havuzunda saklanması planlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Virüslerin Morfolojik Yapısı

Virüslerin yapısı nükleik asit, protein kılıfından meydana gelmektedir. Virüslerin karakterlerinin taşınmasında nükleik asitler görev almaktadır. Nükleik asitlerin dışında protein zar bulunmaktadır. Böylelikle protein zar, nükleik asitlerin korunmasında rol oynamaktadır. Virüsler canlı hücrelerde çoğalabilen nükleoproteinlerdir. Sadece canlı hücrelerde yaşayabilmektedirler. Bitkilerin bünyesine mekanik ya da böcek emgilerinin neden olduğu yaralardan girebilmektedirler. Virüsler yapısal olarak farklı şekillere sahiptirler. TMW çubuk şeklinde, CMW küresel şekline sahip virüslerdir. Eksiksiz yapıya sahip olan virüslere virion adı verilmektedir. Virion virüslerine örnek olarak TSWV gösterilebilmektedir. (De Haan ve ark. 1990).

2.2. Virüslerin Belirtileri

Virüsler, bitkilerin yaprak, gövde, kök, çiçek ve meyveler üzerinde farklı belirtilere neden olmaktadır. Yapraklar üzerinde görülen belirtiler, klorofil miktarlarında azalmasına sebep olmasından dolayı, yaprak renklerinin sarımsı renk almasına ve bazı durumlarda da bitkinin yaprak renginin kırmızımsı renk almasına, uçlarda kırılmalar, damarlarda bantlaşma, halkalı leke şeklinde, gövde üzerinde görülen belirtiler ise bodurlaşma, dal uçlarında yanma şeklinde kurumalar, meyveler üzerindeki belirtileri ise, şekil bozuklukları, siğil şeklinde kabarcıklar, dairesel lekeler şeklindedir (Soler ve ark. 1998).



Şekil 2.1. TSWV'nin biber yaprağındaki belirtileri (Çelik 2019)



Şekil 2.2. TSWV'nin meyve üzerindeki simptomları (Anonim 2021)

2.3. Virüslerin Yayılma Yolları

Virüslerin bitkilere taşınmasında birçok etken sebep olabilmektedir. Mekanik (rüzgarla, hayvanla, insanla, alet ekipmanla vs.), tohumla (tohum kabuğunda, tohumun endospermında, tohumun embriyosunda), toprakla (nematodla, fungusla), parazit bitkilerle (küsküt gibi tam parazit bitkiler), böceklerle (vektörler) ve akarlar yolu ile taşınabilmektedirler (Gordillo ve ark. 2008).

Tez konusu olan TSWV virüsü, genellikle thrips türleri aracılığı ile taşınmaktadır. Virüsün taşınmasında en etkin rol oynayan thrips türleri, *Thrips tabaci* ve *Frankliniella occidentalis* vektörleridir (Tunç ve Göçmen, 1995). Thripsler, yaprağın en üst ve en alt yapısını oluşturan epidermal dokusunda 15-30 dakika arasında beslenmesi durumunda, virüsü bünyesine alabilmektedir. Bu sürenin uzaması, virüsün taşınmasında daha etkin rol oynamaktadır (Wijkamp ve Peters, 1993). Virüsün yayılmasını sağlayan vektörler, larva döneminde ağız yolu ile aldıkları virüsleri orta bağırsak kısmında çoğaltarak, salgı kanallarına taşıyarak virüsü bulaştırmaktadırlar (German ve ark. 1992). Virüsü bünyesinde bulunduran vektörler, en fazla 1 ay süre içerisinde virüsü bulaştırma yeteneğine sahiptirler (Nagata ve ark. 2002).

2.4. Virüslerle Mücadele Yöntemi

Black ve ark. 1991, *Capsicum annum* L. türü içerisinde TSWV'ye dayanıklılık geni bulunmadığını, sadece *Capsicum* türleri içerisinde yer alan *Capsicum chinense* gibi bazı türlerinde dayanıklılık geni bulunduğunu belirtmişlerdir.

Cheng ve ark. 1989, PI-152225 ve PI-159236 numaralı *Capsicum chinense* türü içerisinde yer alan hatlar ile *Capsicum annum*'un uyumlu bir şekilde melezleme işleminin yapılabileceğini belirtmişlerdir.

Moury ve ark. 1998, homozigot gen kaynaklarının dayanım gücünün, heterozigot gen kaynaklarının dayanım gücüne göre daha yüksek olduğunu, bu yüzden yüksek sıcaklıklarda yapılan ıslah çalışmalarında sağlıklı sonuçlar elde etmek için homozigot gen kaynaklarının kullanılmasının daha sağlıklı olduğunu belirtmişlerdir.

2.5. Virüslerin Bulunuşu ve Yayılışı

Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV), dünyada ilk kez 1915 yılında Avustralya'da görülmüştür. Buradan da hızlı bir şekilde sıcak iklim kuşağı bölgelerine doğru yayılarak, dünya çapında bitki türleri için önemli bir hastalık teşkil eden virüs haline gelmiştir (Rosello ve ark. 1996).

İran'da TSWV virüsü ilk olarak patates, soya ve domates bitkilerinde ELİSA-DAS yöntemi uygulanarak 1999-2000'li yıllarda tespit edilmiştir (Golnaraghi 2001, Pourrahim ve ark. 2001).

Holcomp ve ark. 1999 yılında *Melampodium divaricatum* ve *Nicotiana bentamiana* bitkilerine dışarıdan mekanik yollarla TSWV inokulasyon çalışması yapmışlardır. Uygulama yapılan bitkilerde ilk simptom belirtileri, uygulama yapıldıktan 2 hafta sonra *Nicotiana bentamiana* da, 2 ay sonra da *Melampodium divaricatum* da TSWV belirtileri görülmeye başlanmıştır. *Melampodium divaricatum* bitkisinin simptom gösteren yapraklardan numune alınarak, ELISA yöntemi ile testleme yapılmıştır. Yapılan

testleme sonucunda TSWV olduğu saptanmıştır. Böylece 1999 yılında Güney Amerika'da ilk TSWV görüldüğü ispatlanmıştır.

Arjantin'de ilk TSWV *Lisiothus* bitkisinde görülmüştür. Simptom gösteren yapraklardan alınan numuneler ELISA testine tabii tutularak TSWV olduğu kanıtlanmıştır (Wolcan ve ark. 1996).

TSWV virüsü ABD'nin Georgia eyaletinde ilk kez hastalığın konukçusu olan tütünde 1986 yılında görüldüğü bildirilmiştir. TSWV tütün tarlalarının tamamında görülmesine rağmen, zarar kaybının %2'nin altında olduğu tespit edilmiştir (Culbreath ve ark. 1991).

Florida eyaletinde TSWV virüsünün ilk kez 2000 yılında DAS-ELİSA testi kullanılarak Habanero ve Tobasco biberlerinde tespit edilmiştir. Biberlerin yapraklarında simptom belirtilerinin görülmesi üzerine DAS-ELİSA yöntemi ile testleme yapılmış olup, testleme sonucunda da hastalık oranının Habanero da %1,5 oranında, Tobasco da ise %1 oranında olduğu bildirilmiştir (Momol 2000).

Graves ve ark. 2002 yılında Carolina eyaletinde 28 adet yıllık ve çok yıllık bitki türleri üzerinde en az 2 yıl üretim yapılmamış arazide yapmış oldukları çalışmada, TSWV vektörü olarak en yoğun tütün thripsine rastlandığını bildirmişlerdir.

Lousiniana eyaletinde TSWV ilk olarak 1972 yılında domates, tütün ve biber bitkilerinde görüldüğü bildirilmiştir (Black 1973, Greenogh ve ark. 1990). TSWV'nin bu ürünler üzerinde büyük ölçüde ekonomik kayıplar meydana getirdiği rapor edilmiştir (Bond ve ark. 1983).

Lousiana eyaletinde yapılan bir araştırmada, malçlama yönteminin, thriplerin popülasyonu üzerindeki etkileri ve buna bağlı olarak ta TSWV'nin yayılmasına etkileri üzerine bir çalışma yapılmıştır. Domates ve biberde yaptıkları uygulama da, arazinin rastgele bölümlerine alüminyum renkli plastik malç malzemesi ile siyah renkli plastik malç malzemesi sermişlerdir. Arazinin bir kısmına ise malç malzemesi sermemişlerdir ve thrips popülasyonunu ölçmek için sarı yapışkan tuzaklar yerleştirmişlerdir. Yapılan

çalışma sonucunda malçlama yapılan kısımların, malçlama yapılmayan kısma göre TSWV oranının ortalama %65, sarı tuzaklardaki thrips popülasyonunun da ortalama %35 oranında bir düşüşe neden olduğunu bildirmişlerdir (Greenogh ve ark. 1985).

Hausbeck ve ark. 1992 yılında Pennsylvani’da ticari olarak süs bitkileri üretimi yapılan seralarda, camgüzeli ve begonya da TSWV ile infekteli bitkilerin olduğunu tespit etmişlerdir.

Yudin ve ark. 1990 yılında üreticilerin ekonomik yönden kayıplarının minimum düzeyde olması için, TSWV ile mücadelenin erken dönemde mi yoksa thrips popülasyonunun çoğaldığı dönemde mi üreticilerin mücadeleye başlamaları gerektiği konusunda bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda TSWV ile mücadelenin thrips popülasyonu çoğalmadan önce, erken yapılan müdahalelerde, üreticilerin ekonomik kayıpların minimum seviyede olduğunu tespit etmişlerdir.

Mandal ve ark. 2002’nin yapmış olduğu çalışmada farklı yerfıstığı genotiplerinin düşük (<30) ve yüksek sıcaklıklarda (>30) mekanik inokulasyon yönteminde kullandıkları TSWV’nin gösterecekleri tepkilere bakmışlardır. Yüksek sıcaklıklarda C11-2-39 yerfıstığı genotipinin TSWV’ye direncinin en yüksek olduğunu ve yüksek sıcaklıklarda TSWV enfeksiyonunun da azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Tekinel ve ark. 1969 yılında Mersin ilinde farklı bitki türleri (marul, biber, fasulye, patlıcan) üzerinde yapmış oldukları hastalık etmenlerini belirleme çalışmalarında, marulda TSWV hastalığı olabilecek bulgular elde etmelerine rağmen, ülkemizde ilk kez 1980 li yılların ortalarında Çanakkale ilinde Azeri (1981) tarafından yapılan çalışmada tütün bitkisinde TSWV hastalığı tespit edilmiştir. Ülkemizin sahil kesimi olan Akdeniz Bölgesine ise TSWV hastalığı ilk olarak 1995 yılında giriş yaptığı görülmektedir (Güldür ve ark. 1995).

Çanakkale ilinde 2003 yılında başlatılıp ve 2 yıl süren çalışmada, yaklaşık olarak 1.000 dekarlık dikili domates alanlarından TSWV hastalığı simptomunun belirtisi olabilecek yapraklardan numune alınmıştır. Yaklaşık olarak 2 yıl içerisinde toplamda alınan 200

yaprak örneği, ELISA yöntemi kullanılarak yapılan testleme sonucunda, toplamda 9 bitkide hastalığın bulaşık olduğunu saptamışlardır (Turhan ve Korkmaz 2006).

Çelik ve ark. 2018’de yapmış oldukları çalışmada, Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV) ne dayanıklı sivri biber hatlarını geliştirmişlerdir. BATEM (Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü) den alınan TSWV’ye hassas hem açık saha hem de örtüaltı üretimine uygun serademre 8 (P1) adında sivri biber çeşidi ile TSWV’ye dayanıklı üç adet hibrit (P2, P3, P4) çeşidi materyal olarak kullanmışlardır.

Melezleme çalışmasında ise ana ebeveyn olarak P1, baba ebeveyn olarak ta P2, P3 ve P4 hibrit çeşitleri kullanılarak, 3 kombinasyon şeklinde melezleme yapmışlardır. Melezlemeden sonra elde edilen f1 tohumları fide haline getirilerek, genç yapraklardan numune alınarak mekanik inokulasyon yöntemlerinden biri olan ELISA testine tabii tutarak dayanım aktarılmış çeşitleri keşfetmişlerdir. ELISA testini uygularken kontrol çeşit olarak hastalığa hassas çeşit olan serademre 8 ve hastalığa dayanıklı olan PI 152225 genotipini kullanmışlardır. Yaptıkları ELISA testini doğrulamak için ise moleküler testlemeden faydalanmışlardır. CTAB yöntemini kullanarak, bitkilerin genç yapraklarından numune alınarak DNA izolasyonuna bakmışlardır (Doyle ve Doyle, 1990). Bu yöntemde CAPS primeri olan SCAC₅₆₈ primerini kullanmışlardır. SCAC₅₆₈ primeri Moury ve ark. 2000 tarafından bulunmuştur. Bu yöntemleri kullanarak elde ettikleri dayanıklı genotipleri seraya dikim yaparak seleksiyon yapmışlardır. Seleksiyonda genotiplerin morfolojik ve fenolojik karakteristik gözlemlerini yapmışlardır. Bu tip gözlemeleme yöntemine pedigri yöntemi denilmektedir (Kalloo 1988). Pedigri yöntemini kullanarak yapmış oldukları gözlem sonuçlarını bir çizelge haline getirerek istenilen özelliklere sahip üç yeni genotip bulmuşlardır. Buldukları üç yeni genotipi de yeni çeşitlerin ıslahında kullanılmak üzere özel sektörde bir tohum firması ile anlaşma imzalayarak, buldukları hatları kullanmalarına izin vermişlerdir.

Şimşek ve ark. 2015’de yapmış oldukları çalışmada, tospovirüs ve tobamovirüslere dayanıklı yeni dolmalık biber hat ve çeşitlerini geliştirmişlerdir. Materyal olarak 50 adet F6 genotipi ile ticari çeşitler olarak ta 8 adet TSWV (Domates Lekeli Solgunluk Virüsü) ye dayanıklı ve 4 adette TSW’ye dayanıklı çeşitleri kullanmışlardır. Dayanıklılık

testlemesini DNA izolasyon modifiye CTAB yöntemini kullanarak yapmışlardır (Doyle ve ark. 1990). Dayanıklılık testlemesinden sonra GM1F1 elde etmek için, dayanıklı olan saf biber hatları ile heterozigot hibrit (F1) biber çeşitlerini melezlemişlerdir. Elde edilen tohumları tekrar çimlendirilerek, moleküler markırları kullanarak dayanıklı olan allelleri tespit etmişlerdir. Tespit edilen dayanıklı genotipler ile hassas ebeveynler tekrar mezlenerek GM2F1'i elde etmişlerdir. GM2F1'i kendileyerek, GM2F2'yi elde etmişlerdir. Bu şekilde GM3F6 ve GM2F6 olana kadar kendileme işlemine devam etmişlerdir. F6 kademesindeki hatlardan L3 /L4 ve Tsw dayanımlarından en az ikisine sahip hatlar ile meyve şekli, bitki habitusu, verim vs. gibi üstün özelliklere sahip hatlar arasında melezleme yapmışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre F6 kademesinde 25 adet Tsw, 14 adet L3, 20 adet Tsw+L3, ve 13 adet L4 homozigot dayanıklılık allellerini taşıyan saf hatlar elde etmişlerdir. Bu hatlar arasındaki melezleme çalışmaları sonucunda yapılan kapsamlı gözlem neticesinde 4 adet F1 çeşit adayı bulmuşlardır. Bu bulmuş oldukları çeşitlerden birini, piyasada ticari olarak satılan 3 çeşit ile deneme parselleri kurup, iyi bir gözleme yaparak, yapılan gözlemleri de, tablo haline getirmişlerdir. Bu deneme sonucunda bir çeşidin denemede kullandıkları ticari 3 çeşitten daha üstün özelliklere sahip olduğunu saptamışlardır. Bunun neticesinde de bu çeşidi TTSM'ye başvurarak Armada F1 adında tescil ettirmişlerdir.

Brezilya'da biber üretimlerinde karşılaşılan TSWV sorunundan dolayı toplam üretim miktarının yaklaşık olarak %50'den fazla kayba neden olduğu tespit edilmiştir (Cupertino ve ark. 1984).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

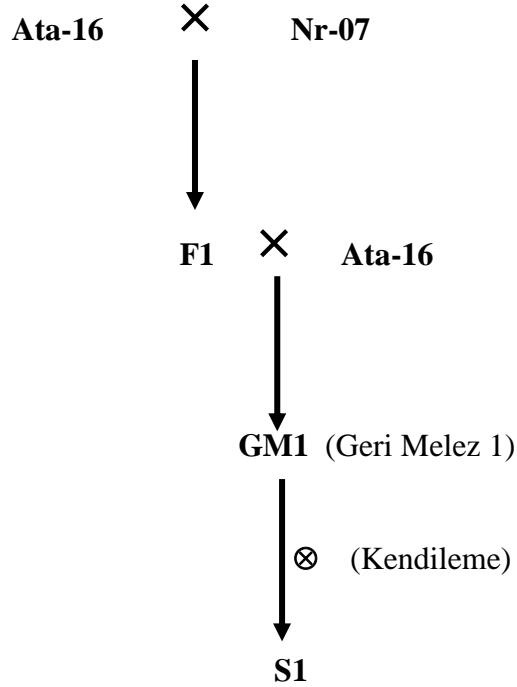
3.1 Materyal

Ata-16 nolu iki-üç loblu, geniş omuzlu, kalın etli ve uzun meyve yapısına sahip olan yerel kapyta biber çeşididir ve Marmara Bölgesinde farklı lokasyonlarda üretici arazilerinde üretimi gerçekleştirilmektedir. Yapılan gözlem sonuçlarında TSWV hastalığına duyarlı olduğu anlaşılmıştır. Farklı lokasyonlarda dikimi yapılan Ata-16 bitkisinden yaprak numuneleri alınıp, laboratuvar ortamında moleküler işaretleyiciler yöntemi kullanılarak yapılan testleme sonucunda, Ata-16 kapyta biber çeşidinin TSWV'ye hassas olduğu saptanmıştır. Ata-16 kapyta biber çeşidi, geniş ve kalın etli meyveye sahip olmasından dolayı sanayiciler için közlemeye çok uygun bir çeşittir. En büyük dezavantajı ise üretimde büyük kayıplara sebep olan TSWV hastalığına duyarlı olmasıdır. Tohum piyasasında ticari olarak satışı yapılan Nr-07 F1 kapyta biber çeşidinin TSWV'ye karşı dayanımı olduğu bilinmektedir. Geri melezleme yöntemi ile dayanıklılık geni Ata-16 kapyta biber çeşidine aktarılması için bu Yüksek Lisans Tezi gerçekleştirilmiştir.

Melezleme işlemini rahat bir şekilde gerçekleştirmek için, rüzgar olmayan ortam tercih edilmelidir. Bunun içinde en uygun ortam örtü altı (sera) koşullarıdır. Sera içerisinde rüzgar olmadığından dolayı, baba hattındaki çiçeklerden polen tozları daha sağlıklı şekilde alınıp, ana olarak kullanılan bitkinin dışıçık borusuna aktarılması (melezleme) işlemi daha rahat bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Kapalı ve kontrollü alan (sera) aynı zamanda yabancı tozlanma olasılığını da düşürmektedir.

Nr-07 (baba hat) ile Ata-16 (ana hat) arasında melezleme yapılmıştır (Şekil 3.1). Melezleme sonucu elde edilen F1 bitkilerden yaprak örnekleri alınarak hangi bitkilerin dayanıklılık genini taşıdığı tespit edilmiştir. Dayanıklılık genini taşıyan F1 bitkiler hassas ebeveyn ile tekrar mezlenerek Geri Melez 1 (GM1) bitkileri elde edilmiştir. GM1 tohumları fidelik ortamında çimlendirilerek fide haline getirilmiştir. Fidelerden alınan yaprak numuneleri laboratuvar ortamında moleküler işaretleyiciler yardımı ile hangi GM1 bitkisinin TSWV hastalığına dayanıklılık genini taşıdığı tespit edilmiştir. Dayanıklılık genini taşıdığı belirlenen bitkiler saksılara şaşırtılmış ve kendileme

yapılarak dayanıklılık genini homozigot olarak taşıyan bitkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Ata-16 kapy a biber çeşidine, Nr-07 nolu kapy a biber hattından TSWV hastalık geninin aktarılması şeması.

3.2 Yöntem

3.2.1 Biber Bitkilerinin Yetiştirilmesi

Denemede kullanılacak biber bitkilerini yetiştirmek için biber tohumlarının ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Torf-vermikulit-perlit şeklinde, 3:1:1 oranında toprak karışımı içeren 210'luk viyollerin içerisine, her bir göze 1 adet tohum gelecek şekilde tohum ekimi yapılmıştır. Tohum ekimi yapılan viyollerin üzeri vermikulit ile kapatılıp, üzerine can suyu verilerek, viyol çimlendirme odasına alınmıştır. Çimlendirme odasında viyoller 24 °C sıcaklık ve %90 nem bulunan ortamda 7 gün bekletilerek, tohumların çimlenmesi sağlanmıştır. Çimlenme odasından çıkarılan viyoller 18-20 °C sıcaklıktaki seraya alınarak, yaklaşık 40 gün gerekli bakımları (sulama-gübreleme-ilaçlama) yapılarak kapy a biber fideleri hazır hale getirilmiştir.

3.2.2. Mekanik İnokulasyon

Geri melez 1 kapy biber fidelerini mekanik inokulasyonda kullanmak üzere içerisinde 12 L torf, 4 L perlit ve 4 L kum karışımı bulunan 20 L hacimli saksılara dikimi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca kontrol çeşit olarak da, ticari olarak satışı yapılan postal kapy biber fidesi saksılara şaşırtılmıştır. Çevre arazilerinden TSWV ile bulaşık olduğu tahmin edilen biber bitkilerinden mekanik inokulasyonda kullanılmak üzere polietilen tüplerin içerisine alınan yaprak numuneleri, buz kutusunun içerisinde muhafaza edilerek laboratuvar ortamına getirilmiştir.

Virüs inokulumu, 1:4 oranında, pH'nın 7,0 olduğu, 0,01 M kadar fosfat buffer içeren karışımın içerisinde hastalık ile bulaşık yapraklar ezilerek özü çıkarıldıktan sonra, üzerine 600 mesh-karborandum tuzu ile silisyum oksit ilave edilerek hastalık inokulum solüsyonu hazırlanmıştır. Fidelerin dikiminden yaklaşık olarak 10 gün sonra, virüs inokulumunun bitkinin dokularına direkt etki etmesi amacı ile genç yaprakların üzeri bir jilet yardımıyla çizilerek küçük yara dokuları oluşturulmuştur. Virüs inokulumu yaprakların üzerinde bulunan bu yara dokularının üzerine pamuklu bir bez yardımı ile sürülmüştür. Bulaştırma işlemi tamamlandıktan 5 dakika sonra yaprakların üzerinde fazladan olan inokulumunu temizlemek amacı ile 2 L'lik üstten basınçlı el pompası ile yaprakların üzerine su püskürtülmüş ve fazladan bulunan inokulum solüsyonunun yaprak üzerinden uzaklaştırılması sağlanmıştır. Yaklaşık 7 gün sonra aynı işlem 2. kez tekrarlanmıştır. İnokulasyon yapıldıktan sonra bitkilerin genel bakımlarına (sulama-gübreleme-ilaçlama) devam edilmiştir. Yaklaşık olarak 12-18 gün gün sonra, virüs inokulumu ile bulaşık bitkilerden gözlemler alınmıştır.

3.2.3. DNA İzolasyonu

F1 ve GM1 biber bitkilerinin DNA örneklerini elde edebilmek için, saksılara dikmiş olduğumuz bitkilerin en uç kısımlarındaki genç yapraklardan alınan numuneler polietilen tüplerin içerisine toplanmış, buz üzerinde DNA izolasyonunun yapılacağı laboratuvara getirilmiştir (Şekil 3.2, Şekil 3.3). Soğuk zincirle laboratuvara getirilen yaprak örnekleri liyofilizatörde kurutulmuştur (Şekil 3.4).



Şekil 3.2. Saksılara dikilmiş bitkilerin en uç kısımlarındaki genç yapraklardan alınan numuneler.



Şekil 3.3. Saksılara dikmiş olduğumuz bitkilerin en uç kısımlarındaki genç yapraklardan alınan numunelerin polietilen tüplerin içerisine toplanması.



Şekil 3.4. Polietilen tüpler içerisine konan yaprak numuneleri liyofilizatör cihazında kurutulmaları

Kapya biber bitkilerinden alınan yaprak numunelerinin DNA izolasyonu için PCR yöntemi kullanılarak, Therme Gene Jet protokolü uygulanmıştır.

Küçük tüpler içerisine (2 ml'lik), yaklaşık olarak 100 mg kurutulmuş yaprak örneğinden koyarak, üzerine Lizis buffer A (350 μ l) ilave edilerek hücrelerin bu özel solüsyon içerisinde parçalanmaları sağlanmıştır. Parçalama sırasında bitki dokusunun çok küçük parçalara ayrılmasını sağlamak ve solüsyonun dibinde tortu oluşmasını önlemek için thissvelyser cihazı kullanılmıştır.

Purifikasyon (saflaştırma) işleminde tüpün içerisine RNA'nın parçalanmasında yardımcı olan RNase A enziminden 20 μ l ve bir miktar Lizis buffer B (50 μ l) ilave edilerek solüsyonun dairesel bir şekilde (girdap şeklinde) karışmasını sağlamak için vortex cihazından yararlanılmıştır. İnkubasyon işlemini gerçekleştirmek için solüsyon, yüksek sıcaklıkta (65°C) yaklaşık 12 dk. tutulmuştur.

Solüsyonun içine protein hücrelerini parçalamak için bir miktar presipitation solüsyonundan (120 µl) ilave edilerek, solüsyonun homojen bir şekilde karışmasını sağlamak için vortex cihazı ile karıştırılarak, inkubasyon işlemi için solüsyon buzun içerisinde yaklaşık 6 dk. bekletilmiştir. Daha önceden parçaladığımız hücre kalıntılarını solüsyondan ayırmak için, yaklaşık 6 dk. santrifüjleme işlemi yapılarak, hücre kalıntılarının solüsyonun alt kısmına tortu oluşturup çökmesi sağlanmıştır.

Santrifüjleme ve presipitation işlemleri yapıldıktan sonra solüsyonun üst kısmında kalan sıvı kısmı (süpernantant) yeni bir polietilen tüpün içerisine alınmıştır (350-400 µl). DNA zincirinin çift sarmal haline dönüşmesini engellemek için solüsyonun içerisine bir miktar DNA bindingsolition (400 µl) ve DNA'nın sulu solüsyonun dibine çökmesini sağlamak için %96'lık etanol alkol ilave edilerek solüsyon karıştırılmıştır. Elde edilen karışım (400-500 µl) spin kolona alınarak, DNA'nın kolon üzerine bağlanıp, saflığı yüksek bir izolasyon sağlanmıştır.

Kolonun içerisindeki istenmeyen hücre kalıntılarının solüsyonun dibine çökmesini sağlamak için 60 saniye santrifüjleyip (6000 g), dibe çöken kısım ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Bu işlem ikinci kez tekrar edilerek, kolonun dibinde kalan kalıntılar uzaklaştırılarak, saflaştırma izolasyonunun kalitesi yükseltilmiştir.

Kolonun içerisine, DNA'yı yıkamak amacı ile 500 µl AW1 (wash buffer 1) ilave edilip, yaklaşık olarak 60 saniye santrifüjlenerek (8000 g) kolonun dibinde kalan istenmeyen materyaller ortamdaki uzaklaştırılmıştır. DNA'yı ikinci kez yıkamak için kolonun içerisine 500 µl AW2 (wash buffer 2) ilave edilip, yaklaşık olarak 180 saniye santrifüjleme (20000 g) işlemi yapılmıştır. DNA'yı yıkama işlemi tamamlandıktan sonra kolon, yaklaşık olarak 60 saniye daha santrifüjlenmiştir (20000 g).

Santrifüjleme işlemleri tamamlandıktan sonra kolon, daha önceden steril edilmiş olan tüplerin (1,5 ml'lik) içerisine alınmıştır. Kolonun membranına yapışık olan DNA'yı tüpün içerisine akıtılabilmek için, içerisine 100 µl AE buffer (elution buffer) ilave edilip, 20 °C'de inkübe işlemi yapıp daha sonra da yaklaşık olarak 60 saniye boyunca santrifüjleyerek (8000 g), DNA'nın tüpün içerisine akması sağlanmıştır. Tüpün

içerisinde elde edilen DNA'nın bozulmadan bekletilebilmesi için tüpler -20 °C 'deki ortama alınmıştır.

3.2.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR yöntemi kullanılarak, yaprak örneklerinden elde edilen DNA numunelerinin her biri çoğaltılmıştır. PCR analizi biberde TSWV hastalığına dayanıklılık sağlayan gen ile bağlantılı moleküler işaretleyiciyi geliştiren Moury ve ark. (2000) tanımladığı yöntemle göre yapılmıştır. PCR analizi için SCAC₅₆₈ ileri ve geri primerleri kullanılmıştır. SCAC₅₆₈ F 5'-GTGCCAGAGGAGGATTTAT-3' ve SCAC₅₆₈ R 5-GCGAGGTGGACACTGATACT-3' primerlerinin nükleotid dizileridir.

Her bir PCR reaksiyonu 25 ng DNA, 200 uM dNTP karışımı, 0.3 uM ileri primer, 0.3 uM geri primeri, 1.5 mM MgCl₂ ve 1.25 U DNA polimeraz içermektedir. PCR reaksiyonları steril ddH₂O ile 25 uL'ye tamamlanmıştır. Reaksiyon karışımı buz üzerinde hazırlanmıştır. DNA'nın çoğaltılması için PCR reaksiyonu aşağıda verilen sıcaklık döngüsüne tabii tutulmuştur. Çizelge 3.1'de verilen PCR döngüsünde 2. 3. ve 4. basamaklar 45 defa tekrarlanmıştır.

Çizelge 3.1. Termal Döngü Cihazı Koşulları

BASAMAK NO	SICAKLIK (°C)	SÜRE (dk)
1.	94	2:00
2.	94	1:00
3.	60	1:00
4.	72	2:00
5.	72	10:00
6.	4	∞

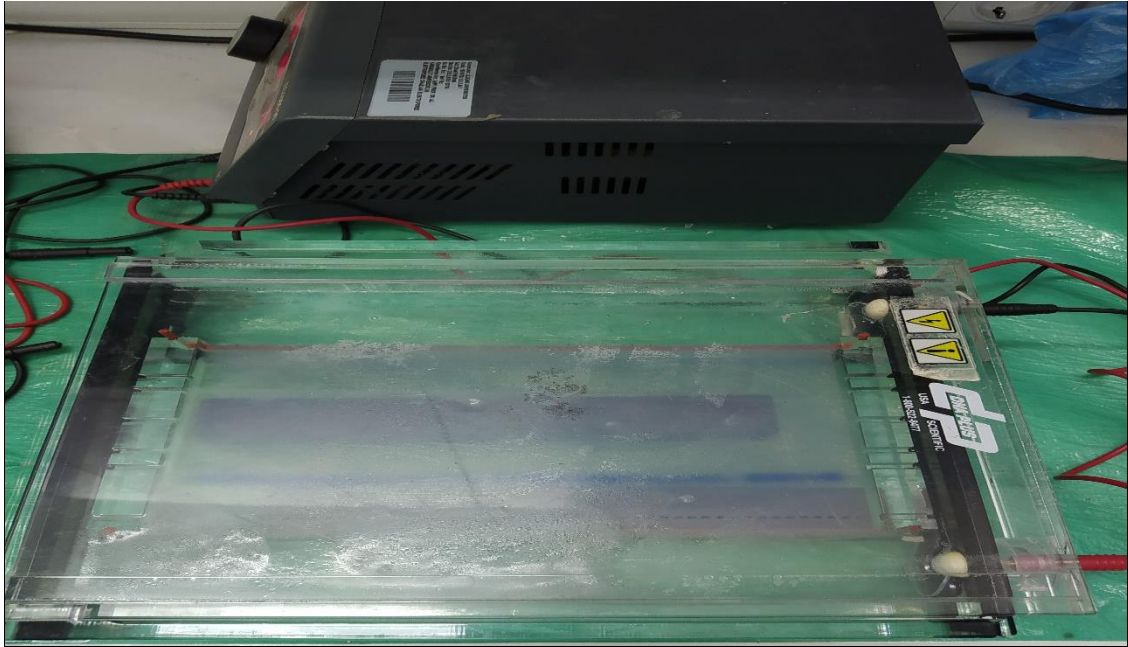
3.2.5 PCR ile Çoğaltılan DNA Parçasının TaqI Enzimi ile Kesilmesi

Polimorfizmi gözlemleyebilmek için PCR reaksiyonu ile çoğaltılan DNA parçası Moury ve ark. (2000) tarafından belirtildiği gibi *TaqI* enzimi ile aşağıda verilen reaksiyon karışımı kullanılarak kesilmiştir. Çoğaltılmış DNA parçasını içeren 10 µl PCR

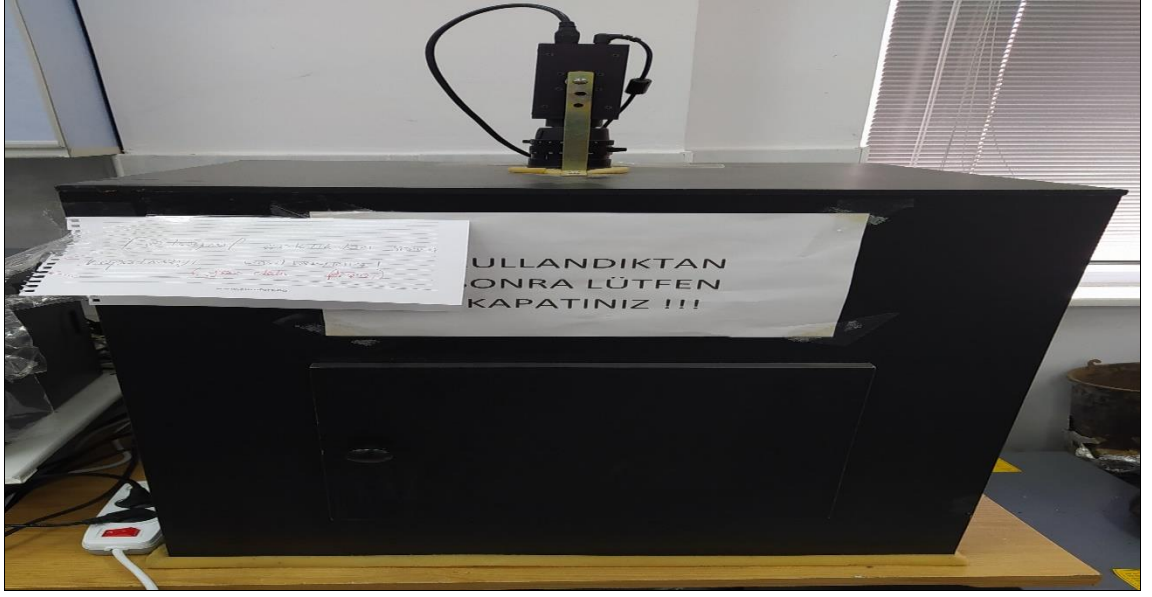
reaksiyonuna 18 µl sterile ddH₂O, 2 µl 10X reaksiyon tamponu ve 1 µl (10U) *TaqI* kesim enzimi eklenmiştir. Enzimin DNA parçasını kesebilmesi için reaksiyon karışımı 65°C de 3 saat tutulmuştur.

3.2.6 Agaroz Jel Elektroforezi

F1 ve GM1 bitkilerinin dayanıklılık genini taşıyıp taşımadığını gözlemlemek için *TaqI* enzimi ile kesilen DNA parçaları %2 agaroz jeli kullanılarak büyüklüğüne göre ayrıştırılmıştır. DNA kesimi tamamlandıktan sonra DNA'nın kesilmesi için hazırlanan reaksiyonların üzerine 3 µl yükleme tamponu (0.25 g bromophenol mavisi, 6 ml %50 gliserol, 4 ml ddH₂O, pH 8) eklenmiştir. Yükleme tamponu içeren 20 µl kesim enzimi reaksiyonu 1X TBE (10X TBE tamponun 1 litresinde; 110 g Tris-basic, 50 g Borik asit, 20 ml 0.5 M EDTA, pH 8.0) çözeltisi içerisindeki %2'lik agaroz jele yüklenmiştir. DNA'lar agaroz jel içerisinde 70 volt (5 volt/cm) uygulayarak 120 dk. yürütülmüştür (Şekil 3.5). Büyüklüğüne göre ayrıştırılan DNA parçaları ultraviyole ışık kullanılarak gözlemlenmiş ve fotoğrafı çekilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.5. Elektroferez tepsisindeki karışıma elektrik akımı (120 volt) uygulanarak (yaklaşık 120 dk.) elektroferezin yürütülmesi.



Şekil 3.6. Elektrik akımı işlemi tamamlandıktan sonra elektroforez tepsisinden çıkarılan jel, UV görüntüleme kutusunun içerisine alınarak DNA'nın görüntülenmesi.

4. BULGULAR

Sabah saatlerinde baba hattının (Nr-07) çiçeklerinden alınan polenlerin, melezleme işleminde başarı yüzdesinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4.1). Melezleme yapmaya en uygun çiçek, taç yaprak renginin yeşilden beyaza döndüğü ve taç yapraklarını açmaya yakın olduğu dönemde yapıldığında, başarı oranının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Melezleme işlemi yapıldıktan 3-4 gün sonra, dişicik borusunun hafif morumsu şeklinde renk değişimine uğraması ve dişi organın yumurtalık kısmının hafif şişmesi şeklinde belirtiler göstermesi, melezlemenin gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 4.1. Siyah zemin üzerinde, çiçeklerden alınan polen tozları

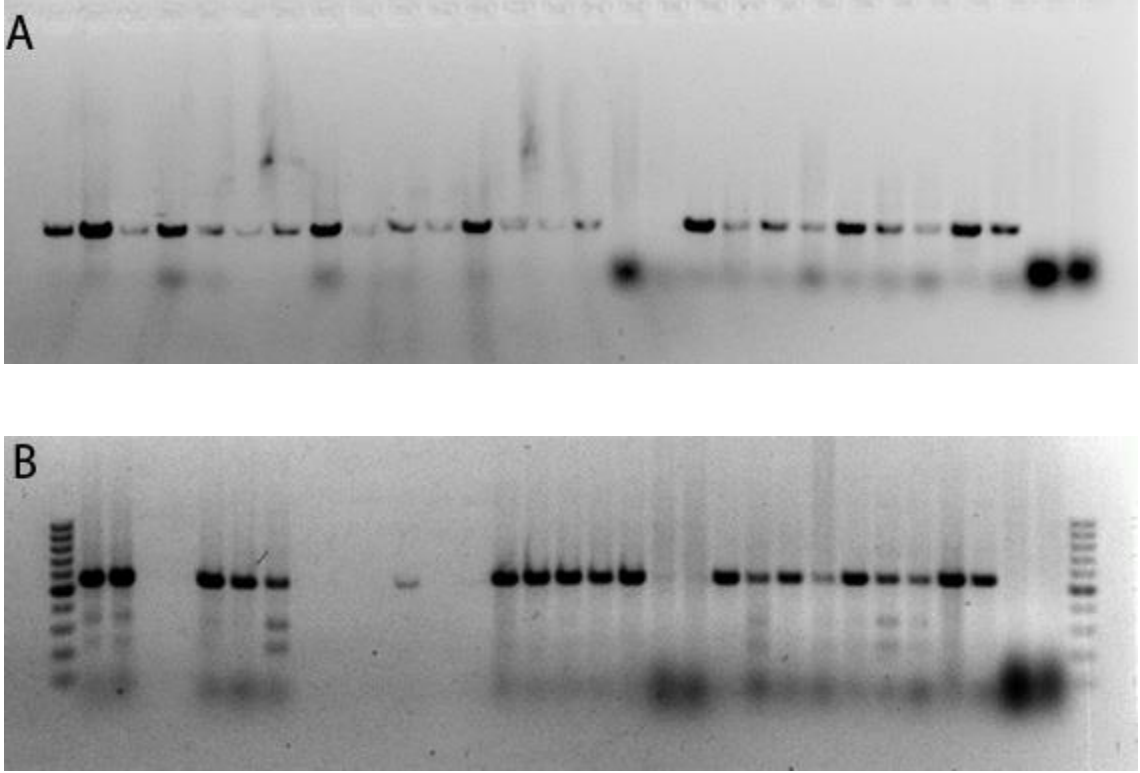


Şekil 4.2. Melezleme yapmak için en uygun çiçek tomurcukları

Yapılan gözlemler sonucunda, elde edilen 6 farklı F1 biber genotipinde herhangi bir hastalık simptomsu gözlemlenmemiştir. Kontrol çeşit olarak saksılara dikimini yaptığımız kapyta biber bitkilerinde yapılan gözlemler sonucunda ise, hastalığa hassas olduğu tespit edilmiştir. Bitkilerde bodurlaşma, yaprakların üzerinde halkalı siyah lekeler gibi hastalık simptomlarına rastlanmıştır.

SCAR yöntemi ile elde edilen 28 F1 genotipinin, TSWV hastalığına dayanıklılık durumlarına bakılmıştır. 6 farklı F1 bitkisinin TSWV hastalığına dayanıklılık geni taşıdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Moury ve ark. (2000) tarafından geliştirilen primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR analizinde 568 baz çifti (bç) büyüklüğünde sadece bir DNA parçası çoğaltılmıştır (Şekil 4.3A). F1 bitkilerin dayanıklılık genini taşıyıp taşımadığını belirlemek için çoğaltılan bu DNA parçası *TaqI* DNA kesim enzimi ile kesilmiştir (Şekil 4.3B). Dayanıklılık genini taşıyan bitkilerin çoğaltılan DNA parçası enzim ile kesilmiş ve 3 farklı DNA bandı gözlemlenmiştir. F1 bitkiler TSWV hastalığına dayanıklılık geninin hem hassas hem de dayanıklı allellerini heterozigot olarak taşımaktadır. Bu nedenle *TaqI* enzimi genin dayanıklı alleleline kesmekte ancak hassas alleleline kesmemektedir. Bu nedenle 3 farklı DNA bandına sahip olan tüm bitkiler geni heterozigot olarak taşımaktadır. Ancak dayanıklılık genini taşımayan bitkilerin

DNA örnekleri kullanılarak çoğaltılan DNA parçası *TaqI* enzimi tarafından kesilmediğinden sadece 1 DNA bandı gözlemlenmiştir (Şekil 4.3B).



Şekil 4.3. TSWV hastalığına dayanıklılık genini taşıyan F1 bitkilerinin belirlenmesi. A) Moury ve ark. (2000) tarafından geliştirilen primerler kullanılarak çoğaltılmış DNA parçasının agaroz jel görüntüsü. B) Çoğaltılan DNA örneklerinin *TaqI* enzimi ile kesildikten sonraki agaroz jel görüntüsü.

Dayanıklılık genini taşıdığını tespit ettiğimiz 6 farklı F1 bitkisi ana bitki olarak kullanılmış ve Ata-16 yerli kapyra biber çeşidi ile tekrar melezlenerek GM1 tohumları elde edilmiştir. Her bir melezlemeden elde edilen GM1 tohumlarından 15'er adet tohum, viyollere ekilmiştir. 003 nolu genotipten 11 tohum, 004 nolu genotipten 13 tohum, 008 nolu genotipten 15 tohum, 022 nolu genotipten 12 tohum, 025 nolu genotipten 15 tohum, 026 nolu genotipten 15 tohum çimlenmiş ve elde edilen fideler saksılara şaşırtılmıştır.

Elde edilen toplam 6 F1 bitkinin Ata-16 ile melezlemesinden elde edilen GM1 bitkileri kullanılarak her bir F1 bitkisinin meyve özellikleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Genotipler arası ortak özelliklere baktığımızda, hepsinin olgunlaşma öncesi meyve dış rengi kuyu yeşil, olgunlaşma sonrası meyve dış rengi parlak koyu kırmızı, meyve eti kalın ve meyve lop sayısı ise 3’lü ve 4’lü olduğu görülmüştür. Genotipler arası farklarda ise göze çarpan özellik olarak 026 nolu genotipin diğer genotiplere göre yaklaşık olarak 10 gün daha erkenci olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Elde edilen TSWV’ye dayanıklı kapyra biber hatlarının meyve özellikleri

F1 NO	TOPLAM SAYISI	BİTKİ BAŞINA MEYVE	HASAT SÜRESİ (gün)	HASAT RENGİ	MEYVE EN (cm)	MEYVE BOY (cm)	MEYVE LOP SAYISI
003	11	14-15	80-90	Kırmızı	5-6	16-17	3-4
004	13	10-13	80-90	Kırmızı	5-6	13-14	3-4
008	15	10-12	80-90	Kırmızı	4-5	16-18	3-4
022	12	8-10	80-90	Kırmızı	4-5	8-10	3-4
025	15	8-10	80-90	Kırmızı	6-7	16-17	3-4
026	15	12-14	70-75	Kırmızı	6-7	20-18	2-3

Elde edilen 6 farklı genotipin bitki yapısına baktığımızda ise, genel olarak bitki boyu uzun, sarkık çiçek yapısı, güçlü bitki şeklinde gözlem yapılmıştır (Çizelge 4.2). 022 nolu genotip, kısa meyve boyu ve zayıf bitki yapısı ile dikkat çekmiştir.

Çizelge 4.2. Elde edilen TSWV'ye dayanıklı kapyta biber hatlarının bitki özellikleri

GM1 NO	BİTKİ YAPISI	BÜYÜME GÜCÜ	BİTKİ BOYU	ÇİÇEK SAPININ DURUŞU
003	Yarı Dik	Güçlü	Uzun	Sarkık
004	Yarı Dik	Güçlü	Uzun	Sarkık
008	Yarı Dik	Orta	Orta	Sarkık
022	Yarı Dik	Zayıf	Kısa	Sarkık
025	Yarı Dik	Güçlü	Uzun	Sarkık
026	Yarı Dik	Güçlü	Uzun	Sarkık



Şekil 4.4. GM1-003 ve GM1-004 nolu genotipler



Şekil 4.5. GM1-008 ve GM1-022 nolu genotipler



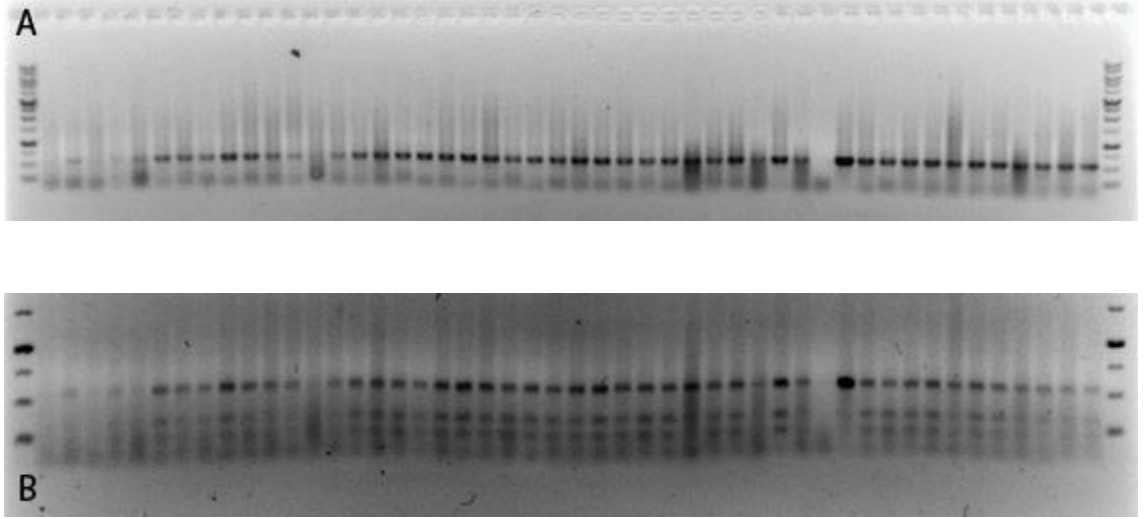
Şekil 4.6. GM1-025 ve GM1-026 nolu genotipler

Genotiplerin fide aşamasındaki durumlarına baktığımızda ise, Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi GM1-008 ve GM1-022 nolu genotiplerin bazı yapraklarında, 2 yaprak bitişik görümlü şekle sahip olduğu saptanmıştır. Bu tip yaprak şekli, genotiplerin genetik özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.7. GM1-008 ve GM1-022 nolu genotiplerin fide aşamasındaki yaprakların şekli

GM1 bitkilerinden hangisinin dayanıklılık genini taşıdığını belirlemek için moleküler işaretleyici analizi tekrar edilmiştir (Şekil 4.8). Şekil 4.8A'da görüldüğü gibi Moury ve ark. (2000) tarafından geliştirilen primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR analizinde 568 baz çifti (bp) büyüklüğünde sadece bir DNA parçası çoğaltılmıştır. PCR analizi ile çoğaltılan DNA parçaları *TaqI* enzimi ile kesildiğinde dayanıklılık genini taşıyan bitkilerde 3 farklı büyüklükteki DNA bandı gözlemlenmiştir. Bu 3 farklı büyüklükteki DNA bandını bulduran bitkiler dayanıklılık genini heterozigot olarak taşıdığından dayanıklı olan ve fenotipi kapyra biber çeşidinde aranan özelliklere sahip olan bitkiler kendilenmiştir. Kendilenmiş bitkiler arasında geni homozigot olarak taşıyan bitkiler belirlenecektir.



Şekil 4.8. TSWV hastalığına dayanıklılık genini taşıyan GM1 bitkilerinin belirlenmesi. A) Moury ve ark. (2000) tarafından geliştirilen primerler kullanılarak çoğaltılmış DNA parçasının agaroz jel görüntüsü. B) Çoğaltılan DNA örneklerinin *TaqI* enzimi ile kesildikten sonraki agaroz jel görüntüsü.

Ticari çeşit olan Nr-07 F1 kapyra biber çeşidini kendileme yaptığımızda, çok farklı genotipler elde edilmiştir. Bu genotiplerin bazıları meyve şekli yuvarlak ve acılık brixı çok yüksek olan süs biberi tipinde (Şekil 4.9), bazı genotiplerin meyve uç kısımları küt şeklinde, meyve duruşu yukarı yönde olan mazamort biber tipinde (Şekil 4.10), bazı genotiplerin meyve şekli hafif basık uç kısma doğru incelen balık biber tipinde (Şekil 4.11), bazı genotiplerin kardola biber tipinde (Şekil 4.12) olduğu gözlemlenmiştir. Nr-07 F1 kapyra biber çeşidinin tatlı olması, kendileme sonucunda elde edilen genotipler arasındaki acı biberin, acılık geninin resesif olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.9. Nr-07 süs biber tipi



Şekil 4.10. Nr-07 mazamort biber tipi



Şekil 4.11. Nr-07 balık biber tipi



Şekil 4.12. Nr-07 kardola biber tipi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünyada nüfusun artması, aynı zamanda da gıda tüketiminin artmasına sebep olmaktadır. Tüketim artışını karşılayabilmek için ise, tarımsal üretimin arttırılması gerekmektedir. Tarımda, üretimi etkileyen en büyük sorunların başında hastalık ile mücadele gelmektedir. Bazı hastalıkların mücadelesinde kimyasal yöntemler uygulayarak, hastalık ile mücadele edilebilmektedir. Fakat bazı hastalıkların kimyasal mücadelesi bulunmamaktadır. Bu tür hastalıkların başında da TSWV (Tomato Spotted Wild Virus) gelmektedir. TSWV hastalığı, tohum, fide, konukçu bitkiler (süs bitkileri vs.), vektörler vasıtasıyla kolaylıkla yayılabilmektedir. Bu durumun sonucunda da tarımsal üretimde çok fazla ekonomik kayıplara neden olmaktadır. TSWV hastalığı ile ilgili en iyi mücadele yöntemlerinden birisi, üretimde bu hastalığa dayanıklı çeşitler tercih edilmesidir. Son dönemlerde TSWV hastalığına dayanıklı çeşitler elde etme konusunda dünyada olduğu kadar, ülkemizde de çok fazla sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Bunun sonucunda da tarımsal üretimde ekonomik kayıplar minimuma indirilmiş olacaktır.

Bu çalışmada, yerel kapy biber çeşidine (Ata-16) son dönemlerde üretimde büyük ekonomik kayıplara neden olan TSWV hastalığına karşı dayanım kazandırarak, tarımsal üretimde uzun yıllar kullanılmasına olanak sağlayıp, yerel çeşitlerin yok olup gitmesinin önüne geçilmesi hedeflenmiştir. Ticari satışı yapılan Nr-07 kapy biber çeşidinin TSWV dayanımına sahip olduğu firması tarafından beyan edilmiştir. Ata-16 yerel kapy biber çeşidinin TSWV ye karşı dayanımının olmadığını laboratuvar şartlarında tespiti yapılmıştır. Bu iki kapy biber çeşitleri (Nr-07 ve Ata-16) arasında melezleme işlemi yapıp, F1 şeklinde genotipler elde edilmiştir. F1 genotiplerinin tohumları çimlendirilip, elde edilen fidelerden yaprak numuneleri alınıp, laboratuvar ortamında testlemesi yapıp TSWV ye dayanıklı olan genotipler tespit edilmiştir. Dayanıklı olan genotiplerin fideleri saksılara dikilerek, tekrar Ata-16 yerel kapy biber çeşidi ile melezleme yapıp geri melez 1 (GM1) genotipleri elde edilmiştir. Elde edilen GM1 genotiplerinin tohumları tekrardan çimlendirilip, elde edilen fidelerin yapraklarından numuneler alınıp laboratuvar ortamında testlemesi yapıp TSWV ye dayanıklı olan genotipler tespit edilmiştir. Elde edilen TSWV ye dayanıklı GM1 hererozigot genotiplerinin tohumları tekrardan fide haline getirilip, kendileme işlemi yapıp,

dayanıklı homozigot saf hatlar elde edilecektir. Elde edilen homozigot saf hatların hastalık dayanımı moleküler markör yardımı ile tespiti yapılacaktır.

Çelik ve ark. 2010 yılında biberde TSWV hastalığının yayılması ve dayanıklılık konusunda yapmış oldukları çalışmada, TSWV'nin tüm dünyada üretimde ekonomik yönden çok fazla kayıplara neden olduğunu, bitkiler üzerindeki belirtilerinin bodurlaşma, yapraklar üzerinde kahverengi dairesel lekeler ve meyvelerin üzerinde lekeler ve şekil bozukluklarının görülerek üretimde kayıplara sebebiyet verdiğini, ayrıca TSWV hastalığının teşhisinde en güvenilir etkin yöntemlerin mekanik inokulasyon, PCR ve DAS-ELISA yöntemleri olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada TSWV'nin biber üretiminde ekonomik kayıpların önüne geçmek için, bu hastalığa hassas olan Ata-16 yerel kapyaya biber çeşidine TSWV dayanıklılık geni aktararak, bu genin aktarıldığının tespiti için de güvenilir yöntemlerden biri olan mekanik inokulasyon ve PCR yöntemleri kullanılmıştır.

Çelik ve ark. 2018 yılında yapmış oldukları çalışmada, TSWV ye dayanıklı demre biber hatları geliştirmişlerdir. Ticari olarak satışı yapılan fakat dayanımı olmayan SD8 demre biber çeşidi ile testleme sonucunda dayanıklı olduğu tespit edilen 3 farklı demre biber çeşidini melezlemişlerdir. SD8 demre biber çeşidini ana hat olarak, diğer 3 çeşidi de baba hat olarak kullanmışlardır. İlk melezlemeden sonra elde edilen hibrit (F1) tohumlar beş kez kendileme yapılarak beşinci generasyona kadar ulaşmışlardır. Her kendilemeden sonra elde edilen generasyon teste tabii tutularak, dayanıklı bireyler tespit edilip, kendileme işlemine dayanıklı bireyler ile devam etmişlerdir. Bu işlemlerin sonucunda biber ıslahında kullanılacak 10 yeni hat elde etmişlerdir. Bu çalışmada TSWV ye dayanıklı ticari çeşit olan Nr-07 kapyaya biber çeşidi ile TSWV dayanımı olmayan yerel kapyaya biber çeşidi olan Ata-16 arasında geri melezleme yapılmıştır. Ana hat olarak Ata-16 çeşidi, baba hat olarak ta Nr-07 çeşidi kullanılmıştır. Melezleme işlemi yapıldıktan sonra her generasyon testlemeye tabii tutularak, dayanıklı olduğu tespit edilen genotipler kendilenmiştir. Sonuç olarak TSWV dayanımlı 6 farklı kapyaya biber hattı elde edilmiştir.

Başarılı şekilde sonuçlanan bu tez çalışmasında, elde edilen TSWV'ye dayanıklı yeni kapyra biber çeşidinin Türk tarımına önemli bir ekonomik katkı sağlayacağını ve yeni ebeveyn hatların, kapyra biber ıslah çalışmalarında ıslahçılara yardımcı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, S.M. 2013.** Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in the evaluation of genetic polymorphism of Egyptian *Capsicum* L. hybrids. *African Journal of Biotechnology*, 12 (7): 665-669.
- Akıncı, S., Akıncı, İ.E. 1999.** Kahramanmaraş Kırmızı Biber Yetiştiriciliğinin Sorunları. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Karşısında Kahramanmaraş Biberinin Sorunları ve Çözüm Önerileri Paneli, 6 Mart 1999, Kahramanmaraş.
- Anonim 2006a.** Zirai Mücadele Teknik Talimatı, Domates lekeli solgunluk virüsü s.1-2.
- Anonim 2006b.** Zirai Mücadele Teknik Talimatı, Domates lekeli solgunluk virüsü s. 3-4.
- Anonim 2021.** <https://plantpath.ifas.ufl.edu/u-scout/pepper/tomato-spotted-wilt.html> (Erişim tarihi: 29.01.2021).
- Aybak, H.Ç. 2002.** Biber Yetiştiriciliği Hasad Yayıncılık s. 155.
- Azeri, T. 1981.** Preliminary Report Of Tomato Spotted Wilt Virüs And Its Epidemy On Tobacco İn The Çanakkale Region Of Turkey. *Journal Turkish Phytopathology*, 10(2-3): 79-87.
- Black, L., Hobbs, H.A. and Gatti, J.M. Jr. 1991.** Tomato spotted wilt virüs resistance in capsicum chinense 'PI-1522252 and 'PI-159236'. *Plant Disease Journal*, 75 (8):863.
- Black, L.L. 1973.** Research on virüs diseases of peppers in Lousiana. Pages 12-13 in: Proc. 1st Natl. Pepper Conf. B. Villalon, ed. Pickle Packers Intl., St. Charles, IL.
- Bond, W.P., Whítam, H.K., and Black, L.L. 1983.** Indigeneus Weeds as Reservoirs of Tomato Spotted Wilt İn Locisiana. *Phytopathology*, 73:493.
- Bos L. 1982.** Crop losses caused by viruses, *Crop Protection*, 1(3): 263-282.
- Cheng, S. S., Green, S.K., Griggs, T.D., Mclean, B.T. 1989.** The use of Capsicum chinense as sweet pepper cultivars and Pepper Production in the Tropics. Proceedings of the international symposium on integrated management practices, Tainani Taiwan, 21-26. March 1988. AVRDC Publication No.89-317:55-62.
- Culbreath, A.K., Csines, A.S., Bertrant, P.F., Demski, J.W. 1991.** Tomato Spotted Wilt Virüs. Epidemic in Flue-Cured Tobacco in Georgia. *Plant Disease Journal*, 75: 483-485.
- Cupertina, F.P., Lin, M.T., Munoz, J.O. 1984.** Perdas na produgao do pimentae induzidas pelo virüs de vira-cabega do tomaterio. *Fitopatool. bras* 9: 397.

Çelik, İ., Özalp, R., Çelik, N., Polat, İ., Sülü, G. 2018. Domates Lekeli Solgunluk Virüsüne Dayanıklı Sivri Biber Hatlarının Geliştirilmesi, s. 27-36.

Çelik, İ., Özalp, R., Polat, İ. 2010. Biberde Domates Lekeli Solgunluk Virüs (Tomato Spotted Wilt Virus-TSWV) Hastalığı, Yayılışı ve Dayanıklılık Çalışmaları, VIII. Tarım Sempozyumu, s. 477-484.

Çelik, K. 2019. Bazı Biber Genotiplerinin Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV) ne Karşı Dayanıklılıklarının Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, KİYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Kilis.

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.

DeWitt, D., Gerlach, N. 1990. The whole chile pepper book. s. 110-125.

Doyle, J.J., Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.

Eşiyok, D. 2006. <http://www.dunyagida.com.tr/haber/biberin-anavatani-veyayilisi/2045> (Erişim tarihi: 09.03.2020).

FAO, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. <http://www.fao.org> (Erişim tarihi:20.06.2020).

German, T. L., Ullman, D. E., Moyer, J. W. 1992. Tospoviruses: Diagnosis, Molecular Biology, Phylogeny And Vector Relationships. *Annual Review of Phytopathology*. 30: 315-348.

Goldbach, R., D. Peters, 1994. Possible causes of the emergence of tospovirus diseases. *Contribution to journal*. 5: 113-120.

Golnaraghi, A.R. 2001. First Report of Tomato Spotted Wilt Virüs on Soybean in Iran. *Plant Disease Journal*, 85(12): 1290.

Gordillo, L.F. Stevens, M.R., Millard, M.A., Geary, B. 2008. Screening two *Lycopersicon Peruvianum* Collections For Resistance to Tomato Spotted Wilt Virüs, *Plant Disease Journal*, 92(5): 694-704.

Govindarajan, V.S. 1986a. Capsicum-Production, Technology, Chemistry, and Quality Part I. History, Botany, Cultivation and Primary Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 22: 109.

Govindarajan, V.S. 1986b. Capsicum-Production, Technology, Chemistry, and Quality Part III. Chemistry of the Color, Aroma, and Pungency Stimuli. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 24: 245.

- Graves, R.L., Walgenbach, J.F., Moyer, J.W., Kennedy, G.G. 2002.** The Role of Weed Hostr and Tobacco Thrips, *Frankliniella fusca*, in the Epidemiology of Tomato Spotted Wilt Virüs. *Plant Disease Journal*, 86: 573-582.
- Greenogh, D.R., Black, L.L., Story, R.N., Newson, L.D., Bond, W.P. 1985.** Occurance of *Frankliniella occidentalis* in Lousiana:A possible cause for the increased incidence of Tomato Spotted Wilt Virüs (Abstr.) *Phytapathology*, 75: 1362.
- Greenogh, D.R., Black, L.L., Story, R.N., Newson, L.D., Bond, W.P. 1990.** Occurance of *Frankliniella occidentalis* in Lousiana: A possible cause fort he increased incidence of Tomato Spotted Wilt Virüs (Abstr.), *Phytapathology*, 75: 1362.
- Griep, R.A., Prins, M., Van Twisk C., Keller J,H,G., Kerschbaumer R.J., Kormelink, R., Golbach R.W., Schots, A. 2000.** Application of Phage display in selecting Tomato spotted wilt virus - Specific single - Chain antibodies (scFvs) for sensetive diagnosis in ELISA., *Phytopathology* 90: 183-190.
- Güldür, M.E., Marchouks, M.G.M., Yurtmen, E., Yılmaz, M.A. 1995.** Mersin ve Çevresinde Yetiştirilen Domateslerde Zararlı Yen, Bir Virüs Tomato Spotted Wilt Virus. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 26-29 Eylül 1995, Adana, s. 303-306.
- Hausbeck, M.K., Welliver, R.A., Derr, M.A., Gilbow, F.E. 1992.** Tomato Spotted Wilt Virus Survey Among Greenhouse Ornamentals İn Pennsylvania. *Plant Disease Journal*, 76: 795-800.
- Holcomb, G.E., Valverde, R.A. 1999.** First Report of *Oidium* sp. Powdery Mildew and Tomato Spotted Wilt Virüs on *Melampodium divaricatum*. *Plant Disease Journal*, 84: 1152.
- Kaloo, G. 1988.** Breeding Methods in Vegetable Crops (chapter 3). In: Vegetable Breeding. Vol. I:75-104, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Kumar Shaha, R., Rahman, S., Asrul, A. 2013.** Bioactive compounds in chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) at various ripening (green, yellow and red) stage. *Annals of Biological Research*, 4(8): 27-34
- Kumari, S. 2012.** Influence of climate change in capsicum production. Vegetable production under changing climate scenario. 1-21 September. Nauri, Solan, s. 104-107.
- Li, G., Quiros, C.F. 2001.** Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *The oretical and Applied Genetics*, 103(2-3): 455-461.
- Mandal, B., Pappu, H.R., Culbreath, A.K., Holbrook, C.C., Garbet, D.W., Tood, J.W. 2002.** Differential Response of Selected Peanut (*Arachis hypogea*) Genatypes to Mechanical İnoculation by tomato Spotted Wilt Virüs. *Plant Disease Journal*, 86: 939-944.

Mcleod, M.J., Guttman, S.I., Eshbaugh, W.H., Rayle, R.E. 1983. An Electrophoretic Study of the Evolution in Capsicum (Solanaceae). *Evolution*, 37: 562-574.

Momol, M.T. 2000. First Report of Tomato Spotted Wilt Virus in Habanero and Tabasco Peppers in Florida. *Plant Disease Journal*, 84(10): 1154.

Moury B, Selassie-Gebre K, Marchoux G, Daubeze A.M., Palbix, A. 1998. High temperature effects on hypersensitive resistance to tomato spotted wilt tospovirus in pepper. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 489-498.

Moury, B., Pflieger, S., Blattes, A., Lefebvre, V., Palloix, A. 2000. A CAPS marker to assist selection of Tomato Spotted Wilt Virus resistance in pepper. *Genome*, 43(1): 137-142.

Nagata, T., Almedia, A.C.L., De Resende, R.O., De Avila, A.C. 2002. The Transmission specificity and efficiency of tospoviruses, Marulla R. Mound, L.A.(eds), Thrips and tospoviruses: Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera. Canberra, Australian National Insect Collection. s. 45-46.

Özdikmenli, S., Zorba, N. 2013. Traditional Red Roasted Pepper (TFP_1780) The 2nd International Symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus" 24-26 October 2013. Struga, Macedonia.

Pernezny, K., Roberts P.D., Murphy J.F. and Goldberg N.P. 2003. Compendium of pepper diseases, The American Phytopathological Society, 63.

Pickersgill, B. 1984. Migrations of chili peppers, *Capsicum* spp., in the Americas, p. 105-123.

Pourrahim, R., Farzadfar, Sh., Moini, A.A., Shahrafer, N., 2001. First Report of Tomato Spotted Wilt Virus on Potatoes in Iran. *Plant Disease Journal*, 85: 442.

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

Soler, S., Diez, 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 Journal*, 82(11): 1199-1204.

Strange R.N., Scott, P.R. 2005. Plant Disease: A Threat to Global Food Security. *Annual Review of Phytopathology*, 43: 83-116.

Şimşek, D. 2015. Moleküler İslah Yöntemleri Kullanılarak Tospovirus ve Tobamo Viruslere Dayanıklı Çarlı Biber (*Capsicum Annum* L.) Hat ve Çeşitlerinin Geliştirilmesi. *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi*, 1(1): 1-5.

Tekinel N., Dolar M.S., Nas Z.Y., Salcan Y. 1969. Çukurova Bölgesinde Sivri Biberlerdeki Mozaik Virüslerin Yağsız Sütle Önlenmesi Üzerinde Çalışmalar. Bitki koruma bülteni, s. 36-44.

TUIK 2020. Türkiye istatistik kurumu. <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim tarihi:23.03.2020).

Tunç, İ., Göçmen, H. 1995. Antalya’da bulunan iki sera zararlısı Polyphagotar latus (Banks) (acarina, Tarsonemidae) ve Frankliniella occidentalis (Pengande) (Thysanoptera, Tyripidae) üzerine notlar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 19: 101,10

Turhan, P., Korkmaz, S. 2006. Çanakkale İlinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün Serolojik Ve Biyolojik Yöntemlerle Saptanması. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(2): 130-136,

Uhrig, J.F., Soellick, T.R., Minke, C.J., Philipp, C., Kellmann, J.W., Schreier, P.H. 1999. Homotypic interaction and multimerization of nucleocapsid protein of Tomato spotted wilt tospovirus: Identification and characterization of two interacting domains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96: 55-60.

Verit, A., Yeni, E., Ünal, D. 2001. Tarihten Günümüz Ürolojisine Kırmızı Acı Biber. *Türk Üroloji Dergisi*, 27(4): 399-402.

Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ. 2000. Kültür sebzeleri sebze yetiştirme. Ege Üniversitesi, İzmir, s. 440.

Wijkamp, I., Peters, D. 1993. Determination of the median the latent period of two tospoviruses in frankliniella occidentalis using a novel leaf disk assay. *Phytopathology*, 82: 986-991.

Wolcan, S., Ronco, L., Dal Bo, E., Lori, G., Alppı, H. 1996. Disease on Lisianthus in Argentina. *Plant Disease Journal*, 80: 223.

Yudin, L.S., Tabashnik, B.E., Cho, J.J., Mitchell, W.C. 1990. Disease Prediction and Economic Models for Managing Tomato Spotted Wilt Virüs Disease in Lettuce. *Plant Disease Journal*, 74: 211-216.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Onur ÇOBAN
Doğum Yeri ve Tarihi : BURSA 03.02.1986
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu
Lise : Çınar Lisesi - 2003
Lisans : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi - 2008
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi - 2021

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Metgen Tohumculuk Ltd. Şti. – 2010

İletişim (e-posta) : 16onurcoban@gmail.com