

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**HİBRİT BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA BİYOLOJİK TEST VE
MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİ YARDIMIYLA HAT VE ADAY HİBRİTLERİN
GELİŞTİRİLMESİ**

Ramazan ÖZALP

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**HİBRİT BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA BİYOLOJİK TEST VE
MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİ YARDIMIYLA HAT VE ADAY HİBRİTLERİN
GELİŞTİRİLMESİ**

Ramazan ÖZALP

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2019

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİBRİT BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA BİYOLOJİK TEST VE
MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİ YARDIMIYLA HAT VE ADAY HİBRİTLERİN
GELİŞTİRİLMESİ**

**Ramazan ÖZALP
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**Bu tez
Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından
2013.03.0121.006 nolu proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2019

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİBRİT BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA BİYOLOJİK TEST VE
MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİ YARDIMIYLA HAT VE ADAY HİBRİTLERİN
GELİŞTİRİLMESİ

Ramazan ÖZALP
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 17/07/2019 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / ~~Oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

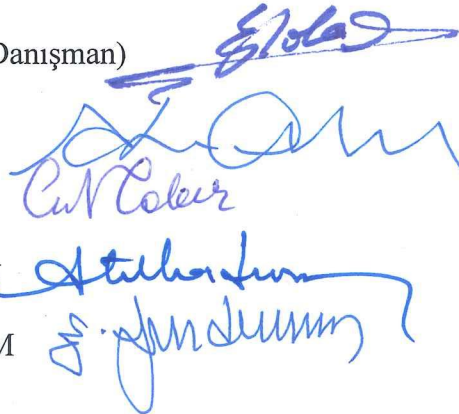
Prof. Dr. Ersin POLAT (Danışman)

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Cengiz TOKER

Prof. Dr. Atilla DURSUN

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM



ÖZET

HİBRİT BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA BİYOLOJİK TEST VE MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİ YARDIMIYLA HAT VE ADAY HİBRİTLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Ramazan ÖZALP

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ersin POLAT

Temmuz 2019; 125 sayfa

Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus=TSWV*), biber yetiştiriciliğinde zarar veren önemli virüs hastalıkları arasında yer almaktadır. Kimyasal mücadelesi bulunmayan bu hastalığa karşı en etkili yöntem dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesidir. TSWV, biberde *Capsicum chinense* orijinli tek dominant *Tsw* geni ile kontrol edilmektedir. Bu tez çalışmasında; biyolojik (klasik) ve moleküler test (markır yardımcı seleksiyon-MAS) yöntemleri uygulanarak TSWV'e dayanıklı (*Tsw* geni içeren) hat ve aday hibritlerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM), Sebzeçilik ve Süs Bitkileri Bölümü Aşağı Kocayatak araştırma seraları/kompartmanları ve Moleküler Biyoloji Bölümü laboratuvarlarında 2012-2017 yıllarında yürütülmüştür.

Materyal olarak; heterezigot dayanıklı ve hassas 34 ticari çeşit ve 33 adet BATEM ıslah hatları kullanılmıştır. Dayanıklı kontrol materyali olarak PI152225, hassas kontrol olarak da Serademre 8 çeşidi kullanılmıştır. Sivri, çarliston, kapyra ve dolma olmak üzere dört farklı meyve tipinde; çeşit X çeşit, çeşit X hat ve hat X hat melezlemeleri ile 139 melez popülasyonu oluşturulmuştur. Seçilen F₅ kademe hatlarda erken generasyon melezlemeleri yapılarak 27 aday hibrit geliştirilmiştir. F₂, F₄ ve F₆ kademe kombinasyon açılım hatlarında Pedigri yöntemi ile seleksiyon yapılarak, hatlar, aday hibritler ve ticari çeşitlerde, biyolojik ve moleküler markır-ışaretleyici yardımcı (co-dominant CAPS markır) test yöntemleri uygulanmış ve TSWV'e karşı dayanıklılık durumları tespit edilmiştir. Kullanılan izolat DAS-ELISA yöntemiyle doğrulanmıştır. Gen havuzu oluşturulması, melezlemeler, hatlarda seleksiyon ve kademe ilerlemesi uygulamaları, sera ve kompartmanlarda, moleküler test çalışmaları ise moleküler biyoloji laboratuvarında yapılmıştır. Geliştirilen aday hibritlerde şahit çeşitler ile verim performans testi yürütülmüş ve üstün olanlar belirlenmiştir.

Kombinasyon açılımlarının F₂, F₄, F₆ kademelerinde ve aday hibritlerde toplamda 437 genotipte biyolojik, 346 genotipte moleküler testleme yapılmıştır. Biyolojik test sonuçlarına göre; 182 dayanıklı, 255 hassas belirlenmiş, dayanıklılık oranı % 42 olmuştur. Moleküler test sonuçlarına göre (346 genotipte); 150 homozigot-RR, 83 heterezigot-Rr ve 113 hassas-rr tespit edilmiş, dayanıklı oranı % 67 bulunmuştur. Moleküler testleme sonuçlarına göre sivri tipte 59, çarlistonda 24, kapyrada 101 ve dolmada 49 genotip geliştirilmiştir. Toplam 217 genotipte karşılıklı olarak TSWV'e karşı biyolojik ve moleküler test yapılmış olup sonuçların birbiriyle

uyum oranı % 79 bulunmuştur. Moleküler testleme yapılan 12 ticari çeşit heterozigot dayanıklı bulunmuştur. Sonuç olarak; TSWV için her iki yöntem birlikte değerlendirilerek homozigot-RR, heterozigot-Rr dayanıklı ve hassas-rr hatlar ve aday hibritler geliştirilmiştir. TSWV dayanıklılığı için yapılan *Tsw* geni taramalarında, moleküler ve biyolojik testleme sonuçlarının kısmen farklı olduğu görülmüştür.

Ülkemizde TSWV dayanıklılığını kıran (Resistance breaking-RB) izolatın varlığı, biber yetiştiriciliğini önemli düzeyde etkilemiş ve en önemli sorun haline gelmiştir. Özellikle taşıyıcısı olan trips (*Frankliniella occidentalis*) zararlısı ile mücadele oldukça zor ve pahalıdır. Geline nokta ıslah çalışmalarında kullanılacak yeni dayanıklılık kaynaklarının belirlenmesine ve bunlarla bağlantılı moleküler işaretleyicilerin geliştirilmesine çok ciddi ihtiyaç duyulmaktadır. Moleküler işaretleyici yardımcı seleksiyonun, ıslah çalışmalarında başarıyla uygulandığı görülmüş olsa da, çalışılan konuya göre biyolojik testlemeler ile birlikte yürütülmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Gelecekte, TSWV konusunda RB izolat dayanıklılığı tespit edilecek olan yeni genitörler ile tez çalışmasında yürütülen dayanıklılık ıslahı yöntemi uygulanarak, dayanıklı yeni hat ve çeşitlerin geliştirilmesi mümkün olacaktır.

ANAHTAR KELİMELER: Biber (*C. annuum* L.), Biyolojik-klasik testleme, Dayanıklılık ıslahı, Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV), Moleküler işaretleyici yardımcı seleksiyon, *Tsw* geni, Virüs dayanıklılık,

JÜRİ: Prof. Dr. Ersin POLAT

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Cengiz TOKER

Prof. Dr. Atilla DURSUN

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM

ABSTRACT

IMPROVEMENT OF INBRED LINES AND CANDIDATE HYBRIDS WITH BIOLOGICAL TEST AND MOLECULAR MARKER ASSISTED SELECTION IN HYBRID PEPPER (*Capsicum annuum* L.) BREEDING

Ramazan ÖZALP

PhD Thesis in Horticultural Department

Supervisor: Prof. Dr. Ersin POLAT

July 2019; 125 pages

Tomato spotted wilt virus (TSWV) has become widespread and has started to cause too much damage. The most effective method against this disease without chemical prevention is the development of resistant varieties. The *Tsw* single dominant gene originating from *Capsicum chinense* is resistance source available for commercial breeding of pepper against TSWV. In this thesis; biological (classical) and marker assisted selection-MAS (molecular test) methods are applied to develop TSWV resistant (containing *Tsw* gene) lines and candidate hybrids. The study was carried out in the Aşağı Kocayatak research greenhouses / compartments at Department of Vegetable and Ornamental Plants and Molecular Biology Department laboratories of Batı Akdeniz Agricultural Research Institute (BATEM) in 2012-2017.

As a material; 34 commercial varieties and 33 BATEM breeding lines were used. PI152225 was used as a resistant control material and Serademre 8 was used as a susceptible control. 139 hybrid populations of variety X variety, variety X line and line X line have been formed in four different fruit types including long, charleston (banana), capia and bell. In the selected F₅ stage lines, combination tests were performed and 27 candidate hybrids were developed. Resistance to TSWV were determined by applying biological and molecular marker (co-dominant CAPS marker) methods in F₂, F₄ and F₆ stage segregation lines during line selection by Pedigri method with candidate hybrids and commercial varieties. The TSWV isolate was confirmed by DAS-ELISA method. In the developed candidate hybrids, the performance tests were performed the superior ones were determined. The study was designed and applied for the resistant varieties breeding.

Biological testing of 437 genotypes and molecular testing of 346 genotypes were carried out in F₂, F₄, F₆ stages of combination segregation lines and candidate hybrids. According to the results of the biological test; 182 resistant and 255 susceptible genotypes were determined with a resistance rate of 42%. According to molecular test results; 150 homozygous-RR, 83 heterozygous-Rr and 113 susceptible-rr genotypes were determined and the resistance rate was found to be 67%. According to the molecular results, 59 genotypes were developed in long type, 24 in charleston, 101 in capia and 49 in bell type. A total of 217 genotypes were mutually biologically and molecularly tested against to TSWV and the results were found to be harmony rate 79 %. In other words, 21% different results were obtained. 12 commercial varieties were

found to be resistant heterozygous in molecular testing. As a result; homozygous-RR, heterozygous-Rr resistant and sensitive-rr lines and candidate hybrids for TSWV were developed by using both methods. TSWV resistance was found to be partially different from the molecular and classical test results.

In our country, the presence of the resistance breaking isolate of TSWV has significantly affected on pepper cultivation and has become the most important problem. Especially, it is very difficult and expensive to combat a transmitter pests. At this point, there is a great need for the determination of new sources of resistance to be used in breeding studies and the development of related molecular markers. Although molecular marker-assisted selection has been successfully applied in breeding studies, it has been seen that it should be carried out together with biological tests. In the future, it will be possible to develop resistant new lines and varieties by using the new TSWV resistance resorces to be determined and the resistance breeding method applied in the thesis study.

KEYWORDS: Bilogical- classical testing, Molecular marker assisted selection, Pepper (*C. annuum* L.), Resistance breeding, Tomato spotted wilt virus (TSWV), *Tsw* gene, Virus resistance,

COMMITTEE: Prof. Dr. Ersin POLAT

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Cengiz TOKER

Prof. Dr. Atilla DURSUN

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM

ÖNSÖZ

Ülkemiz tarımı açısından stratejik önemi bulunan tohumluk ihtiyacının karşılanması, dışa bağımlılık ve döviz kaybının önlenmesi, özellikle bütün dünyada ve ülkemizde önemli bir sorun haline gelmiş olan hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi için Ar-Ge çalışmalarının desteklenmesi ve kaliteli-dayanıklı yerli hibrit çeşitlerimizin sayısının artırılması gerekmektedir. Biber yetiştiriciliği konusunda en önemli virüs hastalığı olan Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) dayanıklılığı bu nedenle tez konusu olarak belirlenmiş ve çalışma yürütülmüştür. Tez çalışma konusunun önemi, dayanıklılığı kıran izolatin ülkemizde de yaygın hale gelmesi ve yeni dayanıklılık kaynaklarına ihtiyaç duyulması nedeniyle artarak devam etmektedir. Çalışma, hastalıklara dayanıklı hibrit çeşit ıslahı konusunda örnek olacak şekilde tasarlanmış ve uygulanmıştır. Doktora eğitimimde tez danışmanlığımı yürüten, çalışmalarımı yönlendiren, her türlü yardım ve desteği veren danışman hocam sayın Prof. Dr. Ersin POLAT' a (*Ak. Ü. Z. F.*) sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Doktora tez çalışmam süresince, Enstitümüzde devam eden ve proje imkanlarından yararlandığım “Biber Islahı Programları için Nitelikli Genitörlerin (yarıyol materyali) Geliştirilmesi ve Tohum Teknolojisi Projesi” (TAGEM/BBAD/10/A09/P01/02 nolu) ile ilişkili olarak bağlı bulunduğumuz Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)’ne ve bu süreçte tamamlanmış olan “Türkiye F1 Hibrit Sebze Çeşit ve Nitelikli Hat Geliştirme Projesi” (KAMAG-109G029 nolu) ile ilişkili olarak TÜBİTAK’a, arazi ve işçilik imkanlarından yararlanılmasına izin veren BATEM idarecilerine teşekkür ederim. Doktora tez öneri aşamasında çalışma kapsamının belirlenmesinde katkı sağlayan değerli Tez izleme komitesi ve jüri üyesi hocalarım sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS ve sayın Prof. Dr. Cengiz TOKER’e teşekkürü borç bilirim.

Mesai ve ekip arkadaşlarımdan, moleküler test çalışmalarında proje başından sonuna kadar desteğini ve yardımını her zaman gördüğüm Doç. Dr. İlknur POLAT’a, aynı şekilde klasik (biyolojik) testlemelerde izolat hazırlama, inokulasyon işlemi ve hastalık gözlemlerinde yardımını esirgemeyen Zir. Yük. Müh. Nejla ÇELİK’e, arazide ıslah çalışmaları ve istatistik analizlerde yardımcı olan Zir. Yük. Müh. İbrahim ÇELİK’e, ayrıca moleküler çalışmalarda destek olan biyolog Görkem SÜLÜ ile biyolojik inokulasyon çalışmalarında destek veren Zir. Yük. Müh. Bengi TOPKAYA’ya ve görev yaptığım Sebzecilik ve Süs Bitkileri Bölümü’ndeki mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince beni anlayışla karşılayan ve destekleyen, büyük bir sabır ve özveri gösteren sevgili eşim Öğrt. Nurdan ÖZALP, oğlum Bekir Kemal ÖZALP, kızım Cemile Özge ÖZALP ile annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	vi
AKADEMİK BEYAN.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	4
2.1. Biber ile İlgili Genel Bilgiler.....	4
2.2. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV) ile İlgili Bilgiler.....	9
2.2.1. Hastalığın tanımı ve ülkemizdeki yayılışı.....	9
2.2.2. Hastalığın belirtileri.....	20
2.2.3. Hastalığın vektörü batı çiçek tripsi- <i>F. Occidentalis</i> (Pergande) ile ilgili bilgiler.....	21
2.2.4. TSWV Hastalığının mücadelesi.....	27
2.3. TSWV Hastalığına Karşı Dayanıklılığın Kalıtımı ve Dayanıklılık Çalışmaları.....	28
2.4. Markır Yardımlı Seleksiyon (MAS) ve Biberde dayanıklılık ile İlgili Moleküler Çalışmalar.....	32
3. MATERYAL VE METOT.....	43
3.1. Materyal.....	43
3.2. Metot.....	44
3.2.1. Araştırmada kullanılan deneme alanları ile ilgili bilgiler.....	44
3.2.2. Çalışma alanlarına ilişkin iklimsel veriler ve fiziksel- kimyasal analiz sonuçları.....	44
3.2.2.1. Sera ve kompartman alanlarına ait sıcaklık ve oransal nem değerleri.....	44
3.2.2.2. Denemede uygulanan gübreleme programı.....	47
3.2.2.3. Denemede kullanılan sulama sistemi ve su analiz sonucu.....	48
3.2.3. Yetiştiricilik işlemleri.....	49
3.2.3.1. Tohum ekimi ve fidelerin yetiştirilmesi.....	49

3.2.3.2. Deneme alanının dikim için hazırlanması ve fidelerin dikilmesi.....	49
3.2.3.3. Yetiştiricilik süresince uygulanan kültürel işlemler	50
3.2.4. Farklı biber meyve tiplerinde gen havuzu oluşturulması ve başlangıç materyallerinde TSWV dayanıklılığının belirlenmesi.....	50
3.2.5. Farklı biber meyve tiplerinde melezleme yoluyla TSWV dayanıklılığının aktarıldığı populasyon oluşturulması (Birinci dönem-2012 ilkbahar).....	51
3.2.5.1. Farklı biber meyve tiplerinde gen havuzu oluşturulması için bitkilerin yetiştirilmesi	51
3.2.5.2. Farklı biber meyve tiplerinde TSWV dayanıklılığı melezleme çalışmaları.....	51
3.2.5.3. Farklı biber meyve tiplerinde hibrit tohumların elde edilmesi	53
3.2.6. Farklı biber meyve tiplerine hat seleksiyonu kademe ilerlemesinin sağlanması (pedigri).....	54
3.2.6.1. Farklı biber meyve tiplerinde hibritlere (F ₁ kademe) ait bitkilerde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (İkinci dönem-2012 sonbahar).....	54
3.2.6.2. Farklı biber meyve tiplerinde F ₂ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Üçüncü dönem-2013 ilkbahar)	55
3.2.6.3. Farklı biber meyve tiplerinde F ₃ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Dördüncü dönem-2013 sonbahar)	55
3.2.6.4. Farklı biber meyve tiplerinde F ₄ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Beşinci dönem-2014 ilkbahar).....	56
3.2.6.5. Farklı biber meyve tiplerinde F ₅ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Altıncı dönem-2014 sonbahar)	56
3.2.6.6. Farklı biber meyve tiplerinde F ₆ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Yedinci dönem-2015 ilkbahar)	56
3.2.7. TSWV Dayanıklılığının biyolojik test yöntemi (mekanik inokulasyon) ile belirlenmesi.....	56

3.2.7.1. TSWV dayanıklılığının biyolojik testleme yöntemi (mekanik inokulasyon) ile belirlenmesi	56
3.2.7.2. Das-Elisa test yöntemi	58
3.2.8. TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla (marker assisted selection-MAS) belirlenmesi (moleküler yöntem)	59
3.2.8.1. Bitkilerde DNA izolasyonu.....	59
3.2.8.2. PCR Reaksiyon ve amplifikasyon koşulları	60
3.2.8.3. Moleküler test sonuçlarının değerlendirilmesi.....	61
3.2.9. TSWV dayanıklılığında biyolojik ve moleküler test sonuçlarının karşılaştırılması	63
3.2.10. TSWV 'e dayanıklı aday hibritlerin elde edilmesi ve verim denemesinin yürütülmesi.....	63
3.2.10.1. Farklı biber meyve tiplerinde dayanıklı aday hibritlerin elde edilmesi (Altıncı dönem-2014 sonbahar).....	63
3.2.10.2. Farklı biber meyve tiplerinde aday hibritlerde ilkbahar dönemi verim denemelerinin kurulması ve istatistiki analizler (Yedinci dönem-2015 ilkbahar).....	63
4. BULGULAR.....	65
4.1. Farklı Biber Meyve Tiplerinde TSWV Dayanıklılığının Biyolojik Testleme Sonuçları	65
4.1.1. Farklı biber meyve tiplerinde F ₂ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının biyolojik testleme sonuçları	65
4.1.2. Farklı biber meyve tiplerinde F ₄ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının biyolojik testleme sonuçları.....	66
4.1.3. Farklı biber meyve tiplerinde F ₆ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının biyolojik testleme sonuçları.....	68
4.1.4. Farklı biber meyve tiplerinde TSWV dayanıklılığı için biyolojik testleme sonuçlarının genel değerlendirmesi	72
4.2. Farklı Biber Meyve Tiplerinde TSWV Dayanıklılığının Moleküler İşaretleyici Yardımıyla Belirlenmesine İlişkin Sonuçlar	72

4.2.1. Farklı biber meyve tiplerinde F ₂ kademe bitkileri TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar.....	74
4.2.2. Farklı biber meyve tiplerinde F ₄ kademe bitkileri TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar.....	75
4.2.3. Farklı biber meyve tiplerinde F ₆ kademe bitkileri TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar.....	78
4.2.4. Farklı biber meyve tiplerinde aday hibritlerde TSWV dayanıklılığının biyolojik test ve moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar	81
4.2.5. Farklı biber meyve tiplerinde bazı ticari çeşitlerin TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar.....	82
4.2.6. Farklı biber meyve tiplerinde hatlar ve aday hibritlerde TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçların genel değerlendirmesi.....	82
4.3. TSWV Dayanıklılığında Biyolojik ve Moleküler Test Sonuçlarının Karşılaştırılması	83
4.4. Farklı Biber Meyve Tiplerinde TSWV 'e Dayanıklı Aday Hibritlerin Elde Edilmesi ve Verim Denemesine İlişkin Sonuçlar	84
5. TARTIŞMA	89
5.1. TSWV Dayanıklılığının Biyolojik Testlemesi (Klasik Yöntem).....	89
5.2. TSWV Dayanıklılığının Moleküler İşaretleyici Yardımıyla Belirlenmesi (Moleküler testleme).....	91
6. SONUÇLAR	95
7. KAYNAKLAR	97
8. EKLER.....	113
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Hibrit Biber (*Capsicum annuum* L.) Islahında Biyolojik Test ve Moleküler İşaretleyici Yardımıyla Hat ve Aday Hibritlerin Geliştirilmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

17/07/2019

Ramazan ÖZALP



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

- bç : Baz çifti
kb : Kilobaz (nükleikasitlerde 1000 nükleotide eşdeğer uzunluk birimi)
M : Molar
Mg : Miligram
Ml : Mililitre (1 ml=1000 µl)
mM : Milimolar
µl : Mikrolitre
ng : Nanogram
Rpm : Dakikadaki devir sayısı
Taq : Termo stabil polimeraz enzimi

Kısaltmalar

- AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphisms
AMV : Alfalfa mosaic alfamovirus- Kaba yonca mozayik virüsü
CAPS : Cleaved Amplified Polymorphic Sequence-Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
cDNA : Komplementer Deoksiribonükleikasit
CMV : Cucumber mosaic cucumovirus- Cucumber mosaic virus- Hıyar mozayik virüsü
CTAB : Hekzadesiltrimetilamonyumbromid
DAS-ELISA : Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
DNA : Deoksiribonükleikasit
dATP : Deoksiadenozintrifosfat
dNTP : Deoksinükleotidtrifosfat
HR : Hypersensitive response- yüksek duyarlılık reaksiyonu
MAS : Marker Assisted Selection-İşaretleyici yardımcı seleksiyon
NSs : Yapısal olmayan protein (Non-structural protein)
PCR : Polymerase chain reaction-Polimeraz zincir reaksiyonu
PMMoV : Pepper mild mottle tobamovirus - Biber hafif benek virüsü

PVX : Potato X potexvirus
PVY : Potato Y potyvirus, Potato virus Y
RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA
RB isolate : Dayanıklılığı kıran izolat (Resistance breaking)
RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA : Ribonükleik asit
RT : Reverse Transcriptase
RT-PCR : Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction - Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SNPs : Single Nucleotide Polymorphisms
SNVs : Tek nükleotid varyant
SSR : Simple Sequence Repeats
TE : Tris-Edta buffer
TEV : Tobacco etch potyvirus
TMV : Tobacco mosaic virus- Tütün mozayik virüsü
ToMV : Tomato mosaic virus-Domates mozayik virüs
TSWV : Tomato spotted wilt virus-Domates lekeli solgunluk virüsü
WFT : Western flower thrips-Batı çiçek tripsi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. a) TSWV yapısı-1; b) TSWV yapısı-2; c) TSWV yapısı-3	12
Şekil 2.2. TSWV'nin bitkide ve meyvede belirtileri (orijinal resimler: R. Özalp)	21
Şekil 2.3. a) Batı çiçek thrips larva; b) Batı çiçek thrips ergin (Musa Kırışık); c); d) Batı çiçek thripsinin hayat döngüsü	23
Şekil 3.1. Batem Sebzeçilik ve Süs Bitkileri Bölümü araştırma seraları	44
Şekil 3.2. a) 14 Nolu sera; b) 11 Nolu sera; c) 20 Nolu sera; d) 18 Nolu sera görünümü	45
Şekil 3.3. a) Tohum ekim işlemi; b) Şaşırtma işlemi; c) Dikime hazır fideler.....	49
Şekil 3.4. a) Fideler; b) Dikim; c) İp atma; d) Malçlama (Sera 28/2).....	50
Şekil 3.5. a) Tül izolasyonu; b) Melezleme (emaskülasyon); c) Melezleme (tozlama- polen verme)	52
Şekil 3.6. a) Sivri biber; b) Charleston biber; c) Kapya biber; d) Dolma biber melezlemeleri	52
Şekil 3.7. a) Bitki izolasyonu; b) Tohum çıkarma; c) Tohum kurutma	55
Şekil 3.8. Biyolojik testleme aşamaları (Kompartman); a) Fide dikim; b) Fide sulama; c) Biyolojik test malzemeleri; d) İnokulum hazırlama; e) Mekanik inokulasyon işlemi; f) Su ile yıkama; g) İnokulasyon yapılmış yapraklar; h) Hassas bitki; ı) Dayanıklı bitki.....	57
Şekil 3.9. DNA izolasyon aşamaları (Moleküler biyoloji laboratuvarı).....	60
Şekil 3.10. a) Kesim işlemi; b) Jel yürütme; c) Görüntüleme (Moleküler biyoloji lab.)	61
Şekil 3.11. <i>Tsw</i> genine bağlı kodominant CAPS SCAC568 işaretleyici açılımı M: size marker (Polat vd. 2016).....	62
Şekil 3.12. PCR ürününün spesifik enzim TaqI ile kesim görüntüsü M: size marker, S: hassas, R: dayanıklı (Polat vd. 2016)	62
Şekil 3.13. PCR ürününün spesifik enzim XbaI ile kesim görüntüsü M: size marker, S: hassas, R: dayanıklı (Polat vd. 2016)	62
Şekil 4.1. a) PI152225-Dayanıklı kontrol, SD8-Serademre 8 hassas kontrol, V23-hat ; b) Dayanıklı ve hassas bitki görüntüleri (T26-Hassas).....	65

Şekil 4.2. Biyolojik testleme sonunda bitki görünüşleri	67
Şekil 4.3. a) MS1-1 dayanıklı; b) MS8-1 dayanıklı; c) MK39/1-2; d) MD15/3-1 hassas	70
Şekil 4.4. a) PI15225 dayanıklı genotip; b); c); d) TSWV dayanıklılığı kıran izolat (RB) belirtileri.....	71
Şekil 4.5. TSWV dayanıklılığını belirlemek için elde edilen PCR ürününün kesim öncesi jel-elektroforez görüntüsü	73
Şekil 4.6. TSWV dayanıklılığı için PCR ürünlerinin TaqI ve XbaI enzimleri ile kesim jel-elektroforez görüntüleri, M:100 bç'lik DNA merdiveni (S:hassas, R: dayanıklı, HR: heterozigot dayanıklı).....	73
Şekil 4.7. Moleküler biyoloji laboratuvarı çalışma alanı görüntüsü.....	74
Şekil 4.8. TSWV dayanıklılığı için PCR ürünlerinin TaqI ve XbaI enzimleri ile kesim jel-elektroforez görüntüleri (M:100 bç'lik DNA merdiveni, S:hassas, R: dayanıklı).....	77
Şekil 4.9. F ₆ kademesindeki sivri ve çarliston hatlara ait meyve resimleri	79
Şekil 4.10. F ₆ kademesindeki kapyra ve dolma hatlara ait meyve resimleri.....	80
Şekil 4.11. Aday hibritlerde biyolojik test sonucuna ait görüntü: SH25 dayanıklı.....	82
Şekil 4.12. Sivri ve çarliston hibritler ile kontrol çeşitlere ait meyve resimleri	87
Şekil 4.13. Kapyra ve dolma hibritler ile kontrol çeşitlere ait meyve resimleri	88

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye 2015-2018 yıllarına ait toplam biber üretim ve örtü altı biber üretim miktarı ile üretim alanları (ton, da)(TÜİK 2019).....	4
Çizelge 2.2. <i>F. occidentalis</i> 'in toplandığı bazı yabancı ot türleri (Atakan ve Uygur 2004).....	24
Çizelge 3.1. Farklı biber meyve tiplerinde melezleme programına alınan ticari çeşitler ve hatların oluşturduğu genotipler	43
Çizelge 3.2. Generasyon kademeleri, yetiştirme dönemleri ve çalışmada kullanılan sera alanları	45
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan sera alanlarına ait sıcaklık ve oransal nem değerleri	46
Çizelge 3.4. 2015 İlkbahar dönemi 9 nolu kompartmana ait sıcaklık ve oransal nem değerleri	46
Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan sera alanlarındaki toprak örneklerine ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları-1.....	47
Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan sera alanlarındaki toprak örneklerine ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları-2.....	47
Çizelge 3.7. Çalışmada kullanılan sera alanlarında bitkilere uygulanan kimyasal gübreleme programı tavsiyesi	48
Çizelge 3.8. Çalışmada kullanılan sera alanlarında bitkilere uygulanan mikro besin element miktarları (g/ da /10 gün)	48
Çizelge 3.9. Deneme alanı su analiz sonucu.....	49
Çizelge 3.10. Farklı biber meyve tiplerine göre elde edilen melez kombinasyon sayıları	53
Çizelge 3.11. Farklı biber meyve tiplerinde melezleme programı ile elde edilen kombinasyonlar-I (Komb: kombinasyon, MS: sivri hibritler, MÇ: çarliston hibritler).....	53
Çizelge 3.12. Farklı biber meyve tiplerinde melezleme programı ile elde edilen kombinasyonlar-II (Komb: kombinasyon, MK: kapyra hibritler, MD: dolma hibritler).....	54
Çizelge 3.13. TSWV ile bulaşık bazı biber örneklerinin DAS-ELISA analizi sonucu elde edilen absorpsiyon değerleri	59

Çizelge 3.14. CAPS analizde kullanılan PCR bileşenleri	60
Çizelge 3.15. CAPS analizlerinde kullanılan PCR döngüsü	61
Çizelge 3.16. Kesim enzimi TaqI ve XbaI'a göre bantların değerlendirilmesi (Moury vd. 2000).....	62
Çizelge 3.17. Farklı meyve tiplerinde yürütülen aday hibritler melezleme programı (2014 sonbahar).....	63
Çizelge 4.1. Farklı biber meyve tiplerinde F ₂ kademe bitkilerinde biyolojik testleme sonuçları (MS:sivri, MÇ:çarliston, MK:kapya, MD:dolma, Dyn:dayanıklı, Has:hassas, K: kontrol)	66
Çizelge 4.2. Sivri ve çarliston kombinasyonlara ait F ₄ kademe bitkileri biyolojik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas)	67
Çizelge 4.3. Kappa kombinasyonlara ait F ₄ kademe bitkileri klasik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas, K: kontrol).....	68
Çizelge 4.4. Dolma kombinasyonlara ait F ₄ kademe bitkileri biyolojik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas, K: kontrol)	68
Çizelge 4.5. Sivri ve çarliston kombinasyonlara ait F ₆ kademe bitkileri biyolojik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas, K: kontrol)	69
Çizelge 4.6. Kappa kombinasyonlara ait F ₆ kademe bitkileri biyolojik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas, K: kontrol).....	70
Çizelge 4.7. Dolma kombinasyonlara ait F ₆ kademe bitkileri biyolojik Testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas).....	71
Çizelge 4.8. Farklı biber meyve tiplerinde biyolojik testlemelere ait genel sonuçlar (F ₂ : 58, F ₄ : 172, F ₆ : 186, Aday hibrit: 21, Dyn: dayanıklı, Has: hassas).....	72
Çizelge 4.9. Örneklerin TSWV dayanıklılığı için TaqI ve XbaI spesifik enzim kesim sonuçlarına göre değerlendirilmesi (Kontroller:21=Serademre 8, 22= PI152225, S:hassas, R: dayanıklı).....	74
Çizelge 4.10. Farklı biber meyve tiplerinde F ₂ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesi sonuçları (Mol: moleküler test, RR: homozigot dayanıklı, Rr: heterozigot dayanıklı, rr: hassas).....	75

Çizelge 4.11. Farklı biber meyve tiplerinde F ₄ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesi sonuçları (Mol: moleküler test, RR: homozigot dayanıklı, Rr: heterozigot dayanıklı, rr: hassas).....	76
Çizelge 4.12. Örneklerin TSWV dayanıklılığı için TaqI ve XbaI spesifik enzim kesim sonuçlarına göre değerlendirilmesi (Kontroller: 19= PI152225, 20=Serademre 8, S:hassas, R: dayanıklı)	77
Çizelge 4.13. Farklı biber meyve tiplerinde F ₆ kademe bitkilerde TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesi sonuçları (Mol: moleküler test, RR: homozigot dayanıklı, Rr: heterozigot dayanıklı, rr:hassas).....	78
Çizelge 4.14. Farklı biber meyve tiplerinde aday hibritlerin ve ebeveynlerin TSWV dayanıklılığı için moleküler ve biyolojik testleme sonuçlarının karşılaştırılması (Mol: moleküler test, Bio: biyolojik test, +;uyumlu olan, -; farklı olan).....	81
Çizelge 4.15. Bazı ticari çeşitlerin TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar.....	83
Çizelge 4.16. Farklı biber meyve tiplerinde hatlar ve aday hibritlerde TSWV dayanıklılığı moleküler testlemelere ilişkin sonuçların genel değerlendirmesi (F ₂ :135, F ₄ :89, F ₆ :101, Aday hibrit: 21, RR: homozigot dayanıklı, Rr: heterozigot dayanıklı, rr:hassas).....	83
Çizelge 4.17. Farklı biber meyve tiplerinde elde edilen aday hibrit kombinasyonları	84
Çizelge 4.18. Sivri ve çarliston hibritlerin verim ve meyve sayısına ilişkin analiz sonuçları	85
Çizelge 4.19. Kapyra ve dolma hibritlerin verim ve meyve sayısına ilişkin analiz sonuçları.....	86

1. GİRİŞ

Biber (*C. annuum* L.), *Solanaceae* (Patlıcangiller) familyasının *Capsicum* cinsine bağlı bir türü olup bütün dünyada ve ülkemizde yaygın olarak üretimi yapılmaktadır (Bosland ve Votova 2000; Onus 2001). Bitkisel üretimdeki viral hastalıklar, böcek vektörlerinin küresel ısınmaya daha iyi adapte olmalarının bir sonucu olarak giderek artan bir problem haline gelmiştir (Hazell 2010). Tospovirüsler yeryüzünde çoğu bitki türünde zarar ve verim kaybına neden olan önemli patolojik tehdit olarak karşımıza çıkmaktadırlar (German vd. 1992). Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus=TSWV*) dünya çapında *Solanaceous* ürünlerinde çok ciddi verim düşüşüne neden olmaktadır. TSWV'nin etkili kontrolü, hem virüs hem de thrips vektörlerinin geniş konukçu yelpazesi, birkaç thrips türü tarafından taşınarak infekte edilmesi, thripsleri kimyasal kontrolünde düşük verim ve thripslerde insektisit direncinin hızlı bir şekilde kazanılması nedeniyle de çok zordur (Boiteux vd. 1993). Dayanıklı çeşitlerin ıslahı, bitkileri virüs hastalıklarından korumak için en etkili ve güvenilir yaklaşım olarak kabul edilir (Boiteux 1995; Margaria vd. 2007; Şevik 2011, 2015; Kim vd. 2017; Çelik vd. 2018). Dayanıklı çeşitlerin kullanımı, bu hastalığı kontrol etmenin yanında, insektisitler yoluyla çevreye verilen zararı azaltmanın en etkili yoludur (Boiteux 1995). Yeni sebze çeşitlerinin geliştirilmesinde en önemli amaçların başında hastalıklara dayanıklılık gelmektedir. Özellikle, virüs hastalıklarının kimyasal mücadelesinin olmaması nedeniyle dayanıklı çeşit geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Ülkemizde son zamanlarda biber yetiştiriciliğinde TSWV yaygın hale gelmiş ve biber yetiştiriciliğinde diğer virüs hastalıklarına kıyasla çok daha fazla zarar vermeye başlamıştır. Mücadele için en etkili yöntem bu hastalığa dayanıklı çeşitlerin üretilmesidir. Günümüzde bazı ticari çeşitlerde dominant *Tsw* geninin sağladığı yüksek duyarlılık dayanıklılığı (hypersensitive resistance-HR) bulunmaktadır. *Tsw* geni *Capsicum chinense* türünden olan PI152225 ve PI159236 aksesyonlardan hatlara aktarılmıştır (Black vd. 1991; Boiteux vd. 1994). Bu geni tanımlamak için de moleküler markırlar geliştirilerek *Capsicum annuum*'da 10. kromozomda haritalanmıştır (Moury vd. 2000; Jahn vd. 2000). Yeni çeşitlerin geliştirilmesinde bu hastalığa karşı dayanıklılık en önemli ıslah amaçlarından birisi haline gelmiştir. Dayanıklılığı kontrol eden *Tsw* geninin aktarıldığı ticari çeşitlerin çoğunluğu yabancı orijinlidir. Özellikle, dayanıklı yerli çeşit sayısı oldukça azdır. Dayanıklı yerli çeşitlerin geliştirilmesi bakımından ciddi ihtiyaç bulunmaktadır. Bu nedenle, Tospovirüslere dayanıklılık genlerinin ıslahçılar tarafından yeni bitki çeşitlerine kazandırılması için sürekli olarak arayış devam etmektedir. Domateste *Sw-5* geni *Lycopersicon peruvianum*'dan diğer domateslere aktarılmıştır (Oğuz vd. 2009).

TSWV dayanıklılığında, *Tsw* geni tarafından sağlanan dayanıklılığın yüksek (28-33 °C) sıcaklıklarda kırılması ve bitki yaşına bağlı olması (genç bitkiler daha hassas-2-4 yapraklı aşama) dezavantajdır (Roggero 1996, 2002a; Moury vd. 1998; Yang vd. 2012, de Ronde vd. 2019). Dünyanın farklı bölgelerinde, dominant *Tsw* geni taşıyan bitkilerde dayanıklılığı kıran TSWV ırk/ırklarının sistemik olarak enfeksiyon oluşturduğu rapor edilmiştir (Boiteux ve Nagata 1993; Boiteux vd. 1993; Hobbs vd. 1994; Moury vd. 1997; Roggero vd. 1999, 2002b; Margaria vd. 2004; Sharman ve Persley 2006; Mun vd. 2008; Gabor vd. 2012; Batuman vd. 2017). Ülkemizde de ilk defa 2013 yılında yapılan çalışma ile Deligöz vd. (2014) tarafından rapor edilmiştir.

Daha sonra yapılan çalışmalarda da domatesten alınan virüs örneklerinde mutasyon nedeniyle oluşan yeni dayanıklılık kıran virüsün varlığı Fidan ve Sarı (2019) tarafından rapor edilmiştir. *Tsw* geninin sağladığı dayanıklılığı kıran bu izolatlar nedeniyle hastalık etmeni virüse karşı yeni dayanıklılık kaynaklarının araştırılması gerekliliği ortaya çıkmıştır (Tentchev vd. 2011; Deligöz vd. 2014; Fidan vd. 2016).

TSWV dayanıklılığını kıran izolatin ortaya çıkmasından sonra TSWV hastalığına karşı yeni dayanıklılık kaynağı araştırmaları devam etmektedir. Bu çalışmalar önce *C. chinense* (Hoang vd. 2013), sonra da *C. baccatum* (Solar vd. 2015) türlerinde dayanıklılık görüldüğü rapor edilmiştir. Ancak, henüz kültür formuna aktarılarak ticari olarak kullanılan yeni bir dayanıklılık gen varlığı ile ilgili bilgiye rastlanmamıştır.

Çalışmanın başlatıldığı 2012 yılında ülkemizde dayanıklılığı kıran (resistance breaking-RB) izolat varlığı rapor edilmemiştir. Ancak, o dönemde olduğu gibi günümüzde de TSWV konusunda dayanıklılık çalışmaları önemini artırarak sürdürmektedir. Dayanıklılığı kıran izolatin incelenmesi ve sonrasında yeni dayanıklılık kaynakları tespit edilinceye kadar pazardaki ihtiyacı karşılamak için mevcut gen kaynakları kullanılarak dayanıklı hat ve çeşit geliştirilmesi gerekmektedir. Arazi şartlarında halen *Tsw* geninin varlığı hassas olan bitkilere nazaran avantaj sağlamak ve üreticiler tarafından talep görmektedir. Değişim gösteren hastalık ırkları nedeniyle yeni dayanıklılık kaynaklarının bulunması ve kültür formlarına aktarılması en önemli konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Hat ve çeşit geliştirme çalışmalarında dayanıklılık kaynağı olarak ticari çeşitlerin kullanımı doğal olarak başvuru bir yöntem haline gelmiştir. Özel araştırma kuruluşlarının sıklıkla uyguladığı bilinen bu yöntem hat ve çeşit geliştirme konusunda uygulanan çok sayıda çalışma ile de teyit edilmiştir (Kim vd. 2008; Pınar vd. 2013; Polat ve Özalp 2014; Şimşek 2014; İlbi vd. 2014; Şimşek vd. 2015; Zengin 2016; Çelik vd. 2018; İkten 2019). Ticari çeşitler kültür formları özelliği ve melezlemeler ile istenmeyen özelliklerin aktarılmaması sayesinde ıslahta önemli avantaj sağlamaktadır.

Yeni çeşitlerin ıslahında, hedeflenen özellikteki hat ve çeşitlere ulaşılmasında moleküler işaretleyicilerden yararlanılması avantaj sağlamak ve doğru sonuç vermektir. Tarımsal olarak önemli çok sayıda bitki türü için moleküler işaretleyici haritaları oluşturulmuştur. MAS uygulamaları ticari çeşit geliştirme çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, günümüzde istenen seviyeye ulaşmış değildir (Devran 2003; Vardar-Kanlıtepe vd. 2010; Filiz ve Koç 2011). Moleküler markörler morfolojik ve biyokimyasal markörlere göre birçok avantajlara sahiptirler. Genoma bağlı olduklarından güvenilirlerdir. Tekrarlanabilir ve laboratuvarlar arasında standardize edilebilirler. Birden fazla lokus taranabilmektedir. Çevre koşullarından etkilenmemektedirler. Dominant ve kodominant özellik göstermektedirler. Bütün dokularda tanımlanabilmektedirler. Öldürücü etkiye sahip değildir (Devran 2003). Moleküler markör tipi çok önemlidir. Markör yardımcı seleksiyonda özellikle eşbaskın (kodominant) markörler kullanılmaktadır. Homozigot ve heterozigot bireyler ayrılabilirdiği için MAS programları çoğunlukla kodominant SCAR ve CAPS markörler kullanılmaktadır (Collard ve Mackill 2008). Bu çalışmada da ülkemizde çok yaygın olmayan ancak giderek artış gösteren işaretleyici yardımcı seleksiyondan yararlanılmıştır.

Patojenler doğal yaşam sürecinde hayatını devam ettirmek isterler ve bitkileri tamamıyla istila edebilmek için konukçunun potansiyel dayanıklılık mekanizmasını kırmaya çalışırlar. Değişik nedenlerle yeni bir ırkını oluşturabilirler. İslahçının piyasaya sürdüğü dayanıklı çeşitler bir süre sonra patojenler tarafından aşılabilir (Tör 1998). Geleneksel ıslah yöntemlerinin yanı sıra, moleküler yardımcı seleksiyonun kullanımı, hastalığa karşı dayanıklılık geninin varlığının tespiti için hem pratik hem de daha kısa zaman alması bakımından inokulasyon yöntemine göre çok avantajlıdır. Ancak, hastalığa dayanıklı olduğu düşünülen bitkinin hastalık etmeni virüs ile testlenmesi ıslah çalışmalarında mutlaka gerçekleştirilmesi gereken bir adımdır. Doğru sonuç veren ve kolay uygulanabilir inokulasyon yöntemi, moleküler yöntemlerle yürütülen çalışmaların paralelinde bulunması gereklidir (Oğuz 2010). TSWV'e dayanıklı çeşitlerin de bazen bu hastalığa yakalandığının görülmesi, yeni bir ırkın ortaya çıktığını ya da dayanıklı hibrit tohum üretimlerinde hata yapıldığını akla getirmektedir. Bu durum, bitki ıslahında MAS yanında mutlaka yeni ortaya çıkan-güncel patojen izolatları ile biyolojik testlemelerin de yapılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle, klasik testlemelerin de gerçekleştirilmesi gerekir.

Ülkemizde özellikle dayanıklılık ıslahı konusunda yapılan çalışmalar kısmen kamu araştırma enstitülerince ve az sayıda özel sektör tarafından yapılmaktadır. Biberde virüs dayanıklılık çalışmalarına, özellikle TSWV dayanıklılığı çalışmalarına önemli ölçüde ihtiyaç duyulmaktadır. Yurt dışında yapılan çalışmalarda çoğunlukla TSWV dayanıklılığının belirlenmesi ve TSWV dayanıklılığının yabancı özellikler taşıyan *C. chinense* türünün kullanılarak elde edilmesi yönünde olduğu görülmüştür. Yapılan yayınlarda hat ve çeşit geliştirilerek üretimde kullanıldığına dair bilgiler sınırlıdır. Yabancı ıslah şirketlerinin yeni dayanıklılığı kıran izolat arayışı ve bunlara dayanıklı yeni çeşit geliştirme çabaları bilinmektedir. Ancak, bu çalışmalara ait yayın bulunmamaktadır. Yerli firmalarca pazara çıkartılan bir veya birkaç dayanıklı yerli çeşit rekabet için yeterli olmayıp, çok sayıda ve tüm meyve tiplerinde dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu çalışma farklı meyve tiplerini kapsamaya ve elde edilen sonuçların hat ve çeşit geliştirmede kullanılması bakımından örnek teşkil etmektedir.

Bu çalışmanın amacı; biberde farklı meyve tiplerinde, güncel pazar taleplerine uygun, moleküler işaretleyici yardımıyla seleksiyon [(Marker Assisted Selection-MAS)(Moury vd. 2000)] ve biyolojik (mekanik inokulasyon) testleme yöntemleri uygulanarak TSWV dayanıklılığı (*Tsw* geni içeren) bulunan hat ve aday hibritlerin geliştirilmesidir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Biber ile İlgili Genel Bilgiler

Biber; *Solanaceae* familyasının *Capsicum* cinsine bağlı olup, 30 kadar tür içermektedir. Bunlardan 5 tür kültüre alınmış olup, en fazla üretimi yapılanlar *Capsicum annuum* L. ve *Capsicum frutescens* L. türleridir. *Capsicum* L. türleri tüm tropik ve subtropik iklimlerde yetiştirilebildikleri gibi pek çok ılıman iklim kuşağında da açık ve örtüaltı yetiştiriciliğinin önemli ürünlerini oluştururlar (Onus 2001). Günümüzde bu cinse bağlı tür sayısının 40'a ulaştığı kabul edilmektedir (Anonymous 2019a).

Dünya biber üretimi 2017 yılında 1,987,059 ha alanda 36,092,631 ton olarak gerçekleşmiştir. Ülkemiz 2017 yılında 2,608,172 ton ile dünya biber üretiminde Çin (17,795,349) ve Meksika'dan (3,296,875) sonra % 7.2 pay ile üçüncü sırada gelmektedir. Türkiye'yi sırasıyla, Endonezya (2,359,441), İspanya (1,277,908), A.B.D (962,679) ve Nijerya (748,559) takip etmektedir (Anonymous 2019b).

Ülkemizde 2018 yılında biber üretimi 786,524 da alanda, 2,554,974 ton olarak gerçekleşmiş ve bu üretimin 689,169 tonu 82,435 da örtüaltı üretiminden elde edilmiştir. Meyve tiplerine göre; sivri 930,149 ton, salçalık-kapya 1,128,060 ton, dolmalık 397,175 ton ve çarliston 99,390 ton üretilmiştir. Açık alandaki üretimin payı (miktarı 1,865,805 ton) % 73, örtüaltı payı % 27 olmuştur. Açık alanda en fazla salçalık-kapya biber üretilirken, örtüaltı yetiştiriciliğinde sivri biber üretilmektedir. Meyve tiplerine göre örtüaltı üretim alanları; sivri 51,847 da, salçalık-kapya 12,752 da, dolmalık 10,992 da ve çarliston 6,844 da olmak üzere toplam 82,435 da olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 2.1). Toplam biber üretiminde 2017 yılına göre % 2 oranında azalış, örtüaltı üretimde de % 2.1 oranında azalış görülmüştür. Meyvesi yenen sebzelere göre (toplam 23,863,190 ton) toplam üretimde biber miktarı yaklaşık % 10.7, örtüaltı üretimde ise 9.2 paya sahip olmuştur (Anonim 2019a).

Çizelge 2.1. Türkiye 2015-2018 yıllarına ait toplam biber üretim ve örtü altı biber üretim miktarı ile üretim alanları (ton, da)(TÜİK 2019)

Meyve tipi		Toplam Biber Üretimi ve Üretim Alanı (Ton, Da)				Örtüaltı Biber Üretimi ve Üretim Alanı (Ton, Da)			
		2015	2016	2017	2018	2015	2016	2017	2018
Dolma	ton	393.109	418.435	420.904	397.175	94.598	103.413	100.514	100.253
	da	143.626	147.145	141.534	131.351	11.801	12.206	11.135	10.992
Kapya	ton	879.775	957.030	1.107.713	1.128.060	20.605	31.028	128.974	136.242
	da	308.417	325.584	333.132	346.248	1.983	3.029	12.282	12.752
Sivri	ton	919.004	967.466	945.361	930.349	385.548	414.058	394.756	382.029
	da	313.149	316.716	303.341	290.885	51.804	53.857	52.596	51.847
Çarlis-ton	ton	115.568	114.891	134.194	99.390	47.909	52.883	80.049	70.645
	da	27.425	26.187	27.159	18.040	5.183	5.537	7.913	6.844
Toplam	ton	2.307.456	2.457.822	2.608.172	2.554.974	548.660	601.382	704.293	689.169
	da	792.617	815.632	805.166	786.524	70.771	74.629	83.926	82.435

Bölgelerimize göre biber üretiminde, Akdeniz Bölgesi ilk sırayı almaktadır. Akdeniz Bölgesi özellikle Antalya (Kumluca ve Demre), Mersin (Kazanlı) ve Hatay bölgelerinde kış döneminde de yapılabilen yoğun örtüaltı biber üretimi, üretimin hem taze tüketim hem de ihracat şansı olması nedeniyle öne çıkmaktadır. Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgelerinde ise çoğunlukla açıkta yetiştiricilik yapılmakta ve taze tüketimin yanında salçalık, turşuluk, kurutmalık ve közlemelik gibi sanayi amaçlarına da hizmet etmektedir. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde de geleneksel kurutmalık pul ve toz biber (Urfa İsoot biberi) yetiştiriciliği yoğun olarak yapılmaktadır. Orta ve Doğu Anadolu Bölgelerinde iklim şartları nedeniyle açıkta ve yaz aylarında yapılabilen üretimin miktarı oldukça düşüktür (Özalp vd. 2011).

Ülkemizde yaş sebze olarak biber ihracatı; 2016 yılında 98,6 bin ton miktar ve değeri 90,9 milyon ABD doları; 2017 yılında 95,9 bin ton ve değeri 96,9 milyon ABD doları; 2018 yılında ise ihracat miktarı 128,8 bin ton ve ihracat değeri 118,7 milyon ABD doları olarak gerçekleşmiştir. Yaş sebze ihracatı içerisindeki payı miktarda % 10, parasal değerinde ise % 20 olmuştur. İhracat geliri bakımından domatesten sonra ikinci sırada gelmektedir. İhraç edilen biber miktarı toplam biber üretiminin 2016 yılında % 4.3' ü, 2017 yılında % 3.7'si ve 2018 yılında % 5.04'üne karşılık gelmiştir (Anonim 2019b). Biber meyve tiplerine göre en fazla dolmalık ve sivri biber ihraç edilmektedir.

Biber üretimi için ihtiyaç duyulan tohumluk hem yurt içi üretim hem de ithalat yoluyla karşılanmaktadır. 2013 yılında toplam 51 380 kg tohumluk üretilmiştir. Üretilen biber tohumluğunun çok büyük bir kısmı standart tohumluktan oluşurken, hibrit çeşitlere ait tohumluğun miktarı azdır. 2013 Yılı biber tohumluk ithalatı 1 029 kg, parasal değeri de 8,923,951 ABD doları olarak gerçekleşmiştir. 2013 Yılı biber tohumluk ihracatı da 1 593 kg ve parasal değeri de 1,100,631 ABD doları olarak gerçekleşmiştir (Özalp vd. 2014). 2017 yılında ihracatımız 4 303 kg olurken, ithalatımız 2 497 kg olup, miktar bazında ihracatımız ithalata göre % 72 oranında fazla gerçekleşmiştir. Ancak, parasal değer olarak baktığımızda ihracattan 1.2 milyon dolar gelir elde ederken, ithalata 13.4 milyon dolar döviz ödenmiştir (Atalık 2018). İthal edilen biber tohumluk parasal değerinin 2013 yılına göre yaklaşık % 51 arttığı görülmektedir.

Biber, domates, patlıcan, patates, tütün ve petunyanın da içinde bulunduğu çok geniş tropikal bir familya olan *Solanaceae* (patlıcangiller) familyası içindedir. Taksonomik olarak biber; *Plantae* (alem), *Magnoliophyta* (bölüm), *Magnoliopsida* (sınıf), *Solanales* (takım), *Solanaceae* (familya- patlıcangiller), *Capsicum* (cins) içerisinde bulunmaktadır. Bu cins içerisinde 30 türün bulunduğu bildirilmiştir. *Capsicum annuum* L. türü de bunlardan birisidir (Bosland ve Votava 2000). *C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. chinense* Jacq., *C. baccatum* L. ve *C. pubescens* Ruiz and Pavon olmak üzere beş ana türün yetiştiriciliği yapılmaktadır (Wang and Bosland 2006). Sebzeler, *Spermatophyta* grubunun *Angiospermae* alt grubuna dahildir ve biber türü bu grubun çift çenekliler (*Dicotyledoneae*) kısmındaki *Solanaceae* familyasına aittir. (Vural vd. 2000). Tüm *Capsicum* türleri diploid olup temel kromozom sayısı $n=12$ ($2n=24$)'dir. Triploid ve tetraploid olan yabancı biberler de mevcuttur (Pickersgill 1977; Wang and Bosland 2006). Ancak, bunların *Capsicum* cinsinden olup olmadığı tartışmalıdır (Onus 2001).

Biber, ılık iklimlerde tek yıllık, tropik iklimlerde çok yıllık kültür bitkisi olarak bilinir. Bazı araştırmacılar, kültür çeşitlerinin *Capsicum annuum* türüne ait olduğunu ve bu grupta yabancı formlarının bulunmadığını iddia ederken, bazı araştırmacılar da *Capsicum* cinsinin iki ana tür grubu olduğunu ve bunlardan *Capsicum annuum* türünün tek yıllık, *Capsicum frutescens* türünün ise çok yıllık olduğunu, ayrıca her iki tür içinde de şekil ve renk bakımından çok değişik tipte biberlerin yer aldığını bildirmektedirler (Vural vd. 2000).

Bağcı tarafından yapılan sınıflandırmada biberler, dolmalık biberler, uzun sivri biberler, domates biberleri ve süs biberleri olarak gruplandırılmıştır. L.H. Bailey tarafından yapılan sınıflandırmada meyve tiplerine göre varyeteler aşağıdaki şekilde isimlendirilmiştir: *Capsicum annuum* var. *longum* ; uzun sivri biberler grubu, çarliston tip bu gruptadır. *Capsicum annuum* var. *cerasiforme*; kiraz biberleridir (Arnavut biberi). *Capsicum annuum* var. *conoides*; meyveler konik veya uzunca silindir şeklindedir. *Capsicum annuum* var. *fasciculatum*; kırmızı salkımlı, demet halinde biberlerdir. *Capsicum annuum* var. *grossum*; dolmalık biberler grubudur (Vural vd. 2000).

Biber, yetiştirme mevsimlerine göre sıcak iklim sebzesi, kültürlerine (yetiştirme sistemlerine) göre *Solanaceae* familyası sebzesi, yenilen kısımlarına göre meyvesi yenen sebzeler grubundan kabul edilmektedir. Çiçek biyolojisine göre erselik (hermafrodit) çiçekli sebzeler grubunda, döllenme biyolojisine göre de az oranda yabancı döllenmiş sebzeler grubunda kabul edilmektedir (Vural vd. 2000). Biberler içerdiği kapsisin (capsaicin) alkaloidinin miktarına göre tatlı biberler ve acı biberler diye genel olarak iki sınıfa ayrılır.

Biberin anavatanının Meksika ve Orta Amerika olarak bildirilmektedir. Kaşif Columbus tarafından Güney Avrupa'ya getirilmiş ve oradan da Ortadoğu, Afrika ve Asya'ya yayılmıştır (Andrews 1984; Wien 1997).

Botanikçiler biberin anavatanının tropikal Amerika olduğunu ve buradan dünyaya yayıldığını kabul etmektedirler. Kristof Columbus 1492 yılında Amerika'yı keşfettiği zaman Meksika, Şili ve Peru dolaylarında yaşayan Kızılderililerin biber yetiştirdiğinin bilindiği aktarılmaktadır. Kültür bitkilerinde araştırma yapan Alphonse de Candolle biberin anavatanının merkez olarak Brezilya olduğunu, Orta Amerika'yı kapsayan bir alandan sözü edildiğini, buradaki biberlerin *Capsicum annuum* ve *Capsicum frutescens* ve bunların muhtelif alt varyetelerinden oluştuğunu bildirmektedir. Biber, Amerika'dan Avrupa'ya ilk olarak 1493 yılında İspanya'ya, 1548 yılında İngiltere'ye ve 1578 yıllarında Orta Avrupa ve diğer Avrupa ülkelerine girmiştir. Osmanlı İmparatorluğu döneminde, 16. Yüzyıl içerisinde önce İstanbul'a sonra diğer bölgelerimize yayılmıştır (Günay 1992; Sevgican 1999; Vural vd. 2000).

Sebzelerin insan beslenmesindeki önemi vitaminlerin keşfinden sonra daha iyi anlaşılmıştır. Sebzeler dengeli beslenmenin önemli unsurlarından birisini oluşturmaktadır. 100 gr taze biberde 1.5 g protein, 5.4 g karbonhidrat, 1 g yağ, 38 kalori, 338 IU A vitamini, 0.053 IU B₁ vitamini (thiamin), 0.035 IU B₂ vitamini (riboflavin), 111.4 mg askorbik asit (C vitamini), 0.0363 mg niacin, 4 mg Ca, 15 mg P ve 0.88 mg Fe bulunmaktadır (Vural vd. 2000). Biberin insan beslenmesindeki değeri özellikle C vitamininden kaynaklanmaktadır. Vitamin C zenginliği bakımından kırmızı taze biber ve kıvırcık lahanadan sonra gelen yeşil biber 38 sebze türü arasında 3. sırayı

almaktadır. Biberin 100 g'ında 530 IU vitamin A, 0.06 mg vitamin B₁, 0.02 mg vitamin B₂, 0.31 mg vitamin B₆ ve 160 mg vitamin C vardır. Sebzelede ender bulunan P vitamini de bulunmaktadır. Acılığa da neden olan alkaloidin adı capsaicin'dir (Sevgican 1999).

Biber antioksidant özellikteki capsaicin alkaloidini içermektedir. Sindirimi kolaylaştırır. İştah açıcı özelliği yanında capsaicin sindirim sistemini de dezenfekte eder ve ayrıca pleuritis ve Angina pectoris'e karşı ilaç olarak kullanılmaktadır. Romatizmalı hastalara iyi gelen capsicumlu plaster, capsicumlu pamuk, capsicumlu pomad ve capsolin gibi ilaçların yapımında kullanılmaktadır. Capsaicin zona hastalığının neden olduğu ağrıları dindirmek için yapılan kremlerde de kullanılmaktadır. Biberler sinir ve sindirim sistemine, kızıl hastalığına, deniz tutmasına da iyi gelmektedir. Kırmızı biberde bulunan lutein yaşlılığa bağlı göz hastalıkları riskini azaltmaktadır. Sinir, mide ve salgı bezlerinin çalışmasında faydalı olur. İdar söktürür. Adale ağrıları ve romatizma çeşitli ilaçlara dahil edilmektedir. P vitamini kan dolaşımını uyarır ve kan basıncını ayarlar. C vitamini yönünden çok zengindir (Günay 1992).

Kök yapısı, çimlenmeyle birlikte 10-15 cm derinliğe inen kazık kök ve bu kazık kök üzerinde 5-10 adet oluşan yan köklerden oluşur. Bitki bol görünümlü narin bir saçak köke sahiptir. Köklerin % 70'i toprağın üst 10-30 cm'lik kısmında dağılır. Kalan kısmı 50 cm'e bazen 100 cm'ye kadar inebilir. Yanlara dağılım 40-60 cm arasında değişir (Günay 1992; Sevgican 1999).

Gövde yapısı, dik olarak büyüyen ve başlangıçta otsu, giderek odunsu bir yapı gösterir ve çabuk kırılan gevrek bir yapıya sahiptir. Gövde boğum ve boğum aralarından oluşur. Bitki 150 cm'ye kadar uzayabilir. Gövdenin kesiti dört, beş bazen çokköşeli olabilir. Kendi haline bırakılırsa 2-4 ana dal oluşturur. Gövde dallanması 2-3. boğumdan sonra başlar. Yan dallar üzerindeki yaprakların koltuklarından ikincil sürgünler çıkar (Günay 1992; Sevgican 1999; Vural vd. 2000). Antosiyanin oluşumu, gövdede, meyvelerde ve özellikle boğumlarda mor renkli görünüme neden olur (Özalp vd. 2006).

Yapraklar, uzun ve ovaldır. Yaprakların üst yüzleri parlak, alt yüzleri mattır. Dolmalık çeşitlerin yaprakları daha büyük ve geniştir. Yaprak uçları genellikle sivri yapıdadır. Açık yeşilden koyu yeşile kadar renk değişimi görülebilir (Günay 1992; Sevgican 1999).

Çiçekler, biyolojik bakımdan erseliktir. Bir çiçekte 5 çanak, 5 taç yaprağı, 5 erkek ve 1 dişi organ vardır. Yaprak koltuklarında bulunur. Taç yaprak ve erkek organların 6-7'li olduğuna da rastlanılabilir. Dişi organ 3-5 karpellidir. Çoğunlukla beyaz olan çiçekler genelde yaprak koltuklarında 1, bazen 2-3'lü çiçek kümesi halinde görülür. Çiçek tozları çiçekler açtıktan kısa bir süre sonra canlılıklarını yitirirler. Erselik çiçek yapısına karşın % 3-30 arasında yabancı tozlanma görülür. Bu durum, erkek ve dişi organın farklı zamanlarda olgunlaşmasından kaynaklanır (Günay 1992; Sevgican 1999). Çiçeklerde bol nektar bulunur. Ayrıca, yabancı tozlanmada böcekler ve arılar da rol oynar. Rüzgarla tozlaşma azdır. Biber polenleri ağır ve yapışkan olduğundan ancak 1 m'ye kadar mesafe kat eder. Polenler fazla yayılamaz. Partenokarp (döllenen olmadan) meyve oluşabilir (Vural vd. 2000).

Biberde kendine döllemenin yanısıra % 30 yabancı dölleme de olabilmektedir. Taç yapraklar açıldıktan yaklaşık 1.5-2 saat sonra anterler patlar ve polenler serbest kalır. Çiçeklerin en iyi polen kabul etme durumu çiçeklerin açık olduğu zamandır. Yüksek sıcaklık polen tüpünün gelişmesini olumlu yönde etkilemekte ve tohum sayısını artırmaktadır. Polen tüpü tozlanmadan 48 - 60 saat sonra gelişmektedir (Bayraktar 1981).

Kültür formu biberlerde ise stigma ile anterler aynı seviyede bulunurlar ve bu durum bir anlamda kendine tozlaşmayı zorunlu kılar. Yabancı tozlaşma oranı türler arasında hatta aynı türün içinde bile farklılık gösterir. Örneğin *C. annuum* üzerinde yapılan bir çalışmada yabancı tozlaşma oranının % 12-70 oranında değiştiği bulunmuştur (Onus 2001).

Meyveler, farklı meyve tiplerine sahiptir. İnce uzun, konik, dolmalık, kiraz ve domates şeklinde olabilir. Meyve et kalınlıkları ve renkleri bakımından oldukça fazla çeşitlilik gösterirler. Meyve et rengi sarı ve beyazdan yeşil, koyu yeşile kadar değişebildiği gibi olgunlaşma ile de renk değişimi (beyaz, sarı, turuncu, kırmızı, mor) görülebilir. Tatlı, az acı veya çok acı olabilir. Meyve et kalınlığı 1-2 mm ile 4-6 mm arasında görülebilmektedir. Meyve tiplerine göre değişik çap ve boy uzunlukları oluşmaktadır (Günay 1992; Vural vd. 2000).

Tohumların 1 g'daki sayısı 150-180 adet arasında değişir. 1000 dane ağırlığı 5-6 g'dır. Tohumlar uzun süre saklanamaz, canlılığını 3-5 sene sürdürebilir. Biber tohumları domatese göre daha geniş, oval, sarımsak parlak renkte, tohum kenarları kalkık ve orta kısmı basıktır. Tohumluk üretiminde 1 dekardan alınan tohum miktarı sivri biberlerde 15-25 kg, dolma biberlerde 12.5-20 kg civarındadır (Günay 1992; Sevgican 1999; Vural vd. 2000).

Biber ılık ve sıcak iklim sebzesidir. Fide döneminde ortam sıcaklığı gece gündüz olmak üzere 18-23 °C olabilir. Dikimden sonra sera sıcaklığı gündüz 24-25 °C, gece 20-21 °C arasında tutulabilir. Gece sıcaklıklarının 12 °C'nin altına düşmesi istenmez. Güneşli günlerde gündüz sıcaklığı 30 °C' ye ulaştığında havalanma yapılır. 45 °C' de büyüme tamamen durur. Sıcaklığın yüksek olduğu durumlarda gölgeleme yapılır (Sevgican 1999). 0 °C ve altındaki sıcaklıklarda bitkilerde ölüm meydana gelir, 8 °C'nin altındaki sıcaklıklarda çiçek tomurcuklarının oluşumu durur. 35 °C'nin üstündeki sıcaklıklarda bitki gelişmesi ve büyümesi çok yavaşlar ve yüksek sıcaklıklar meyvelerde acılaşmaya neden olur (Günay 1992; Vural vd. 2000).

Biberlerin gün uzunluğuna karşı nötr oldukları, buna karşın ışık şiddetinden kısmen hoşlandıkları görülür. Işık şiddetinin artması meyve tutumunu artırır. Hava oransal nem isteği % 70-75 civarındadır. Nem oranı ile bitkinin gelişmesi arasında önemli bir ilişki vardır. Toprakta da % 65-70 nem bulunmalıdır. Kökleri fazla suya hassastır. Suyun yeterli ve düzenli verilmesi gerekir, bu nedenle damla sulamaya iyi cevap verir. İdeal sera toprağı olarak bilinen tınlı toprak uygundur. Toprak pH'nın 6.0-6.5 arasında olmasını ister. Kökleri narin yapıda olduğu için ağır killi, havasız ve su tutan topraklarda iyi gelişmez (Günay 1992; Sevgican 1999; Vural vd. 2000). Elektriksel iletkenlik EC biberi yakından ilgilendirir, çünkü biber, tuza hassas bitkiler grubundandır. Biberde 2 EC değeri % 10, 3 EC değeri % 25 verim azalmasına sebep olur (Kaygısız 1997).

Tohumlar 8 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda çimlenebilirse de en iyi çimlenmeyi 21-28 °C'ler arasında gösterir. Optimum çimlenme sıcaklığı 24 °C'dir. Biber tohumları dormant değildir, dinlenme devresi geçirmez (Günay 1992; Sevgican 1999; Vural vd. 2000).

Capsicum L. türleri tüm tropik ve subtropik iklimlerde yetiştirilebildikleri gibi pek çok ılıman iklim kuşağında da açık ve örtüaltı yetiştiriciliğinin önemli ürünlerini oluştururlar. Acı meyveli biberler taze veya kurutulmuş baharat olarak kullanılırken tatlı meyveli biberler sebze olarak değerlendirilirler. Günümüzde *C. annuum* L., gerek sebze gerekse baharat olarak yeryüzünde ticari olarak en fazla yetiştirilen ve en fazla bilinen tür olarak karşımıza çıkmaktadır. "Tabasco" biberi ise *C. frutescens* L. türünün iri meyveli kültür formudur. Diğer kültür türleri olan *C. chinense* Jacq., *C. baccatum* L., and *C. pubescens* R&P Güney Amerika'da yaygın olarak yetiştirilmelerine rağmen diğer ülkelerde fazla tanınmazlar. *C.annuum*'un sebze formu ticari olarak en değerli tür olduğundan dolayı sitolojik ve genetik çalışmalarla birlikte en fazla ıslah çalışmaları bu tür üzerinde yoğunlaşmıştır. Buna karşın "paprika, cayenne, chili biberleri" gibi baharat olarak kullanılanlar üzerinde ise yöresel önemlerinin bulunduğu bölgeler dışında pek fazla çalışma yapılmamıştır. *Capsicum* cinsi içerisinde son zamanlarda yapılmış bir sınıflandırma olmamakla birlikte kültür formları ve bunların yabani akrabaları "gerçek chili" biberleri olarak isimlendirilirler. Gerçek biberler beyaz ve mor çiçekli türler olmak üzere 2 gruba ayrılırlar. Beyaz çiçekli türler arasında yer alan *C. annuum*, *C. chinense* ve *C. frutescens* birbirlerine oldukça yakın akraba grubunu oluştururlar ve *C. annuum* kompleksi olarak isimlendirilirler. *C. praetermissum* ise *C. chacoense* ve Galapagos adalarına endemik olan *C. galapogoense*'de yine beyaz çiçekli grupta yer almakla birlikte, bu türlerin kültür formları ile olan ilişkileri henüz tam olarak aydınlanamamıştır. Mor çiçekli grubun başında ise yabani formu bilinmeyen *C. pubescens* gelmektedir. Diğer iki tür olan *C. cardenasii* ve *C. eximium* türü olarak tanımlanan *C. tovarii*'de yine mor çiçekli grup içerisinde yer alır. Ancak bu türün izoenzimik ve melezlenebilme kabiliyeti ile ilgili olarak bu grubun içerisinde yer alan diğer türlerden farklı olduğu tespit edilmiştir (Onus 2001).

2.2. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV) ile İlgili Bilgiler

2.2.1. Hastalığın tanımı ve ülkemizdeki yayılışı

Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*-TSWV), *Orthospovirus* cins, *Bunyaviridae* familyası, *Tospovirus* cinsi içinde yer almaktadır (Uhrig vd. 1999; Sharman ve Persley 2006; Şevik 2015). Kültür bitkilerinde en fazla ekonomik öneme sahip ilk 10 virüs arasında 2. sırada bulunmaktadır (Roggero vd. 2002; Scholthof vd. 2011; Şevik 2015). TSWV, 100 familyadan 1000'den fazla bitki türünü enfekte etmektedir. Sebzeler ve süs bitkilerinde önemli zarara neden olmakla birlikte; domates, biber, patlıcan, marul, fasulye, enginar, kereviz ve tütünde ciddi düzeyde, % 30- 100 oranlarda ekonomik kayıplara neden olmaktadır. En geniş konukçu dizinine sahip virüstdür (German vd. 1992; Rosello vd. 1996; Adkins 2000; Parrella vd. 2003; Arli-Sokmen vd. 2005; Sharman ve Persley 2006; Şevik 2011, 2015; Çandar ve Gümüş 2012). *Bunyaviridae* familyası içinde yer alan 5 cins (Bunyavirus, Phylebovirus, Nairovirus, Hantavirus ve Tospovirus) içinden sadece *Tospovirus* cinsi bitkilerde enfeksiyon oluşturan virüsleri kapsamaktadır. Dünya üzerinde en az 15 tospovirüs türü en az 10 trips türü tarafından bitkilere taşınırlar (Çandar ve Gümüş 2012; Atakan vd.

2013). TSWV, 11 trips türü ile sirkülatif ve propagatif olarak (vektör hücresinde çoğalarak) taşınmaktadır. Taşınma hem ikinci dönem larva hem de ergin dönemde gerçekleşmektedir (Adkins 2000; Sharman ve Persley 2006; Şevik 2008, 2015; Çandar ve Gümüş 2012).

F. occidentalis Pergande (batı çiçek tripsi), *T. tabaci* Lindeman (soğan tripsi), *T. setotus* Moulton (soya fasülyesi tripsi), *T. palmi* Karny (kavun tripsi), *F. fusca* Hinds (tütün tripsi), *F. intonsa* Trybom (çiçek tripsi) *F. schultzei* Trybom (pamuk tripsi), *F. bispinosa* Morgan (florida çiçek tripsi), *Scirtothrips dorsalis* Hood (biber tripsi) ve *Tenothrips frici* türleri ile etkin olarak taşınabilmektedir. Aşılama yoluyla da bulaşmaktadır (Cho vd. 1982; German vd. 1992; Rosello vd. 1996; Kazinczi vd. 2007; Şevik 2011). TSWV' nin en önemli vektörü bölgelere göre değişmekle birlikte, Western Flower Thrips (*Frankniella occidentalis* Pergande) olarak bildirilmiştir (Ullman vd. 1992; Rosello vd. 1996; Adkins 2000; Roggero vd. 2002; Sharman ve Persley 2006; Scholthof vd. 2011; Çandar ve Gümüş 2012; Whitfield vd. 2015; Campbell vd. 2017). Beslenerek virüsü bünyesine alması *T. tabaci* türünde sadece 15 dakikalık beslenme sürecinde gerçekleşmekte, beslenme süresi uzadıkça virüs taşınması daha etkili olmaktadır (Şevik 2008). Zarflı yapıdaki TSWV, 70-110 nm çapında küresel partiküllerden oluşmakta ve düz tek sarmal RNA genomu içermektedir (Anonim 2006). Dünya üzerinde biber ve domateste ekonomik öneme sahip en yaygın virüs hastalığıdır (Atakan vd. 2013). Bu hastalık, Ziraî Karantina Yönetmeliğinin dış karantina, Ek 2-B; bazı bitki veya bitkisel ürünlerde bulunması ithale mani teşkil eden, Türkiye'de sınırlı olarak bulunan zararlı organizmalar kısmındaki viruslerden birisi olarak kabul edilmiştir (Anonim 2010). TSWV' nin yaygınlığı ile thrips sayısı arasında önemli bir ilişki tespit edildiği bildirilmiştir. Ayrıca aylık yağış, sıcaklık, minimum sıcaklık ve maximum sıcaklıkların da TSWV' nin yoğunluğu için önemli olduğu bildirilmiştir (Cho vd. 1987).

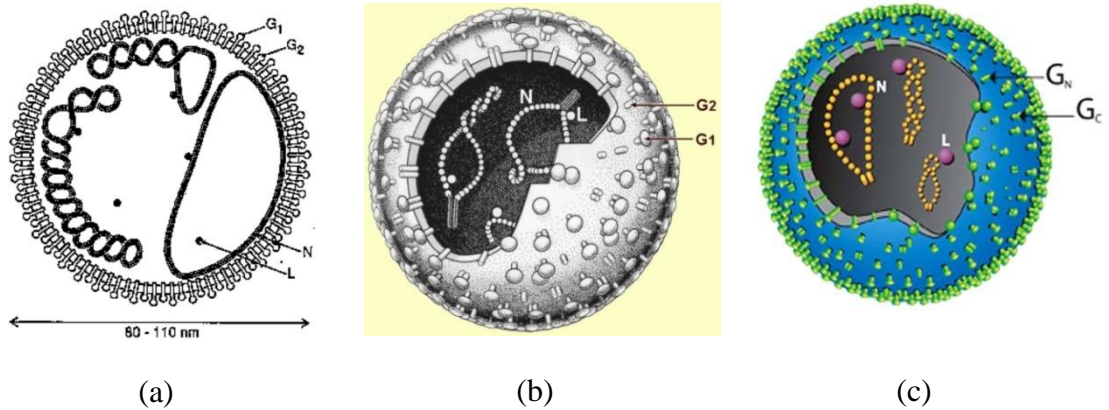
Bitkilerde enfeksiyon oluşturan yaklaşık 11,000 hastalık etmeni (bakteri, fungus, virüs) bulunmaktadır. Bu etmenler arasında bitki patojeni virüsler önemli bir yer tutmaktadır. Virüs hastalıkları kültür bitkilerini değişik oranlarda etkileyerek ürün kayıplarına neden olmaktadır. Bu kayıplar, yıldan yıla, mevsimden mevsime, bölgeden bölgeye, üründen ürüne değişiklik göstermektedir. Tahmini olarak, dünyada her yıl virüs hastalıklarından 60 milyar dolar ürün kaybı oluşmaktadır (Şevik 2011). TSWV'nün varlığı ve zararı ile ilgili hem ülkemizde hem de farklı ülkelerde pek çok çalışma yapılmış ve farklı zamanlarda bildirimlerde bulunulmuştur. Bu virüsün 1980'lerde dünyada her yıl bir milyar dolardan fazla zarara neden olduğu tahmin edilmektedir (Uhrig vd. 1999; Parrella vd. 2003; Scholthof vd. 2011; Çandar ve Gümüş 2012; Şevik 2015). Verim kayıplarının ortaya çıkmasında ise virüsün bitkiden bitkiye taşınması ve taşınma şekli büyük önem taşımaktadır (Çandar ve Gümüş 2012). Kanada'da 1989 yılında TSWV'nün domates ve biberde % 100 ürün kaybına ve Avustralya'da 2007 yılında en fazla ürün kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Şevik 2011). Hastalık ilk olarak 1906 da görülse de, 1919 yılında Güney Avustralya'da domateste tespit edilmiştir. O dönemde "spotted wilt of tomato" olarak anılmıştır (Brittlebank 1919). 1930 Yılında Samuel tarafından "Tomato spotted wilt virus" olarak adlandırılmıştır (Rosello vd. 1996). Bu tarihten sonra dünyanın pek çok ülkesine yayılarak ciddi ürün kayıplarına neden olmuştur (German vd. 1992). İzmir'de 1963 yılında sebze alanlarında çok yaygın şekilde virüs hastalıklarına rastlanmış, yapılan surveyde biberde TSWV'e rastlanmamıştır (Özalp 1964). Ülkemizde TSWV ilk olarak

marul bitkisinde tespit edilmiş (Tekinel vd. 1969), daha sonra Azeri (1981) tarafından Çanakkale’de tütün yetiştirilen alanlarda, sonrasında Balıkesir, Manisa, Uşak, Samsun’da görülmüştür. Domateste, hastalık önce Muğla ilinde, seralarda yetiştirilen domates bitkilerinde yapılan ELISA testi ile görülmüş (Fidan 1993), sonrasında İzmir ve Manisa’da (tütün) zarara neden olduğu bildirilmiştir (Azeri 1994). Palloix vd. (1994) tarafından Demre’den Adana’ya kadar biber üretimi yapılan plastik tünel ve cam seralar ile kurutmalık biber üretilen Kahramanmaraş ve Karaisalı bölgelerinde yapılan virüs tespit çalışmasında TSWV rapor edilmemiştir. Akdeniz Bölgesinde TSWV ilk olarak 1995 yılında İçel ilinde domates bitkilerinde tespit edilmiş (Güldür vd. 1995), Şanlıurfa (GAP bölgesinde) ilinde domateste 1997 yılında (Güldür 1997), biberde; İçel ilinde 1999 yılında (Yurtmen vd. 1999), Samsun’da 1998-1999 yılında (Arli-Sokmen vd. 2005) ve 2002 yılında Batı Akdeniz Bölgesinde Antalya ili Elmalı ilçesi Eskihisar ve Yılmazlı Köyleri domates ve biber alanları, Isparta ili Uluborlu Merkez ve Atabey ilçesi Seniçbey Köyü domates alanlarında tespit edildiği bildirilmiştir (Yılmaz 2002). Çanakkale’de 2003-2004 yıllarında domates üretilen alanlardan toplanan 200 örnekten 9’unda TSWV tespit edilmiştir (Turhan ve Korkmaz 2006). Adana ve Mersin’de 2005-2006 yıllarında (Küçük 2006), Batı Akdeniz’de 2006-2007 yıllarında (Yardımcı ve Kılıç 2009), Antalya ili merkez ve Kumluca ilçesinde 2007-2009 yıllarında domates (%81), biber (%92) ve marul (%93) alanlarında toplamda % 88 oranında (Bozdoğan 2009, Bozdoğan ve Kamberoğlu 2015), Antalya il ve ilçelerinde biber üretim alanlarında 2007-2010 yıllarında yapılan başka bir çalışmada da % 45 oranında TSWV varlığı tespit edilmiş, en çok görülen hastalık olduğu bildirilmiştir (Çelik vd. 2012). Samsun’da 2008 yılında beş ilçede domates, biber ve tütün alanlarında örnekler toplanmış, biber örneklerinin % 25’i bulaşık tespit edilmiştir (Yıldırım 2010). Yine Samsun’da 2011-2012 yıllarında domates ve biberde görülmüştür (Şevik ve Arli-Sökmen 2016). Doğu Akdeniz bölgesinde 2007-2010 yılları arasında marulda (Alan 2012), patlıcanda da Kamberoğlu vd. (2009) tarafından varlığı rapor edilmiştir. Isparta, Burdur ve Denizli illerinde 2012-2013 yıllarında biberde (Çulal Kılıç vd. 2017a) ayrıca domateste Isparta ve Burdur illerinde 2014 yılında RT-PCR yöntemiyle tanılanmış, Burdur için ilk kez rapor edilmiştir (Çulal Kılıç vd. 2017b). 2014 yılında Amasya, Samsun ve Tokat illerinde domates alanlarında toplanan örneklerin % 16.1’i TSWV ile enfekteli bulunmuştur (Şin 2015). 2013-2015 Yıllarında Hatay’da biber alanlarında yapılan çalışmada da tespit edilmiştir (Özdağ ve Sertkaya 2017). Fidan vd. (2016) tarafından, süs bitkisi *Anthurium scherzerianum* bitkilerinde 2015 yılında yapılan çalışma ile tespit edilmiştir. Ankara, Bartın ve Zonguldak illerinde 2015-2016 yıllarında yapılan çalışmada açık tarla ve örtüaltı domates, biber ve patlıcan alanlarında TSWV enfeksiyonu görülmüş, dayanıklı olduğu bilinen bazı domates çeşitlerinde de enfeksiyona raslandığı bildirilmiştir (Değirmenci vd. 2016). 2015 Yılında, Antalya’nın Kumluca, Demre, Serik ve Aksu ilçelerinde örtüaltı ve açık tarla biber alanlarında yapılan çalışmada da Tsw geni taşıyan ticari biber çeşitlerinde virüs benzeri belirtiler bulunmuştur (Güneş ve Gümüş 2016).

TSWV dayanıklılığını kıran izolatların varlığı ülkemiz dışında yapılan çalışmalarda farklı zamanlarda tespit edilmişti. Bunların bazıları; Brezilya’da (Boiteux ve Nagata 1993), Louisiana-ABD’de (Hobbs vd. 1994), İtalya’da (Roggero vd. 1999, 2002b), Avustralya’da (Thomas-Caroll ve Jones 2003, Sharman ve Persley 2006), İspanya’da (Margaria vd. 2004), Kore’de (Mun vd. 2008, Hoang vd. 2013), Macaristan’da (Gabor vd. 2012), Arjantin’de (Ferrand vd. 2015), Çin’de (Jiang vd.

2017) rapor edilmiştir. Ülkemizde de ilk defa 2013 yılında yapılan çalışma ile Deligöz vd. (2014) tarafından rapor edilmiştir. Biberde tek nokta mutasyonu nedeniyle oluştuğu bildirilmiştir (Alması vd. 2017). Kaliforniya’da domateste (Batuman vd. 2017), virüs replikasyonu sırasındaki yüksek mutasyon nedeniyle, direnç kıran (RB) izolatların ortaya çıkması oldukça sık görülmektedir. RB izolatları domateslerde tarif edilmiştir. Direnç kırılmasından sorumlu mutasyonlar da NSm proteininde tanımlanmıştır. Y118 ve N120 amino asit kalıntıları dayanıklılığın kırılmasında kritik öneme sahiptir (Peiró vd. 2014). Daha sonra ülkemizde yapılan çalışmalarda da domatesten alınan virüs örneklerinde mutasyon nedeniyle oluşan yeni dayanıklılık kıran virüsün varlığı Fidan ve Sarı (2019) tarafından rapor edilmiştir.

TSWV, 70-110 (80-120) nm çapında lipit membran içeren küresel partiküllere sahiptir. TSWV partikülü %5 nükleik asit (RNA), %70 protein, %20 yağ ve %5 karbonhidrattan oluşur. Bir iç nükleokapsid proteini (N), iki zar glikoproteinleri (G1 ve G2) ve büyük bir protein (L) yapısını oluşturur. Virüsün genomu tek sarmallı düz yapılı üç ayrı RNA’dan oluşur. Büyük yapılı RNA (L-RNA, yaklaşık 8.9 kb) RNA’ya bağlı RNA polimeraz enzimini kodlamaktadır. Orta büyüklükteki RNA (M-RNA, yaklaşık 5.4 kb) ve küçük RNA (S-RNA, yaklaşık 2.9 kb)’nın her biri ambisense yapıda iki protein kodlar ve bu proteinler virüsün kılıf proteininin oluşmasında ve hücreler arasında kısa ve uzun mesafeli taşınmalarda rol alırlar. Virus, bitkilerin birbirine teması veya polenle taşınmaz. (Rosello vd. 1996, Adkins 2000, Yılmaz 2002, Kim vd. 2004, Sharman ve Persley 2006, Kazinczi vd. 2007, Şevik 2011, 2015, Anonim 2018)(Şekil 2.1a, b, c). Bazı bitki tohumlarında tohum kabuğunda az oranda taşınmaktadır. Bu nedenle, tohumla taşınma önemli görülmemektedir. Domates tohumunda % 1 oranda taşındığı bildirilse de tohumla taşınıp taşınmadığı tam olarak belirlenememiştir (Şevik 2015).



Şekil 2.1.a) TSWV yapısı-1 (<http://prgdb.org/prgdb/pathogens/30>); **b)** TSWV yapısı-2 (<http://www.dpvweb.net/dpv/showfig.php?dpvno=412&figno=04>); **c)** TSWV yapısı-3 (1-s2.0-S0042682215001622-gr2_lrg-crop 1, Whitfield vd. 2015)

Virüs sadece hücre zarını geçmek kaydıyla vücut boşluğu veya fungal hücreler içinde internal olarak taşınıyorsa sirkülatif taşınma (persistent olarak), vektörün içinde çoğalması durumu da propagatif olarak adlandırılmaktadır. Sirkülatif virüslerin taşınma döngüsü; (a) virüsün enfekteli bitkilerden beslenme yoluyla vektörün ağız boşluğu ve

arka veya orta bağırsak (rektum)'lara alınımı, (b) virüsün vektörün midesine geçişi, (c) lagün (haemocoel) veya diğer dokularda tutulma (birikme), (d) virüsün tükürük bezlerine geçiş ve sonra, (e) konukçu bitkilerin iç dokularına (çoğunlukla floem) maksiller stiletlerdeki tükürük kanalları vasıtasıyla geçişi olmak üzere beş evrede gerçekleşir. Bitki virüslerinin çoğu (%88) bir konukçudan diğerine taşınmada arthropod vektörleri araç olarak kullanılmaktadır (Çandar ve Gümüş 2012).

Virüs, enfekte olmuş bitkilerin floem ve parankima hücreleri yoluyla bitki bünyesinde yayılır ve hücrelerin stoplazmasında çoğalır. Virüsün çevreye yayılması thrips populasyonunun artmasıyla ilişkilidir (Yılmaz 2002). Bu virüs polifag olup, çok geniş bir otsu bitki grubunu hastalandırabilmektedir. Domates, biber, marul, tütün, yerfıstığı ve çeşitli süs bitkileri bu virüsün önemli konukçularındandır. Toplam olarak 34 dikotiledon ve 7 monokotiledon sınıflarına dahil 271 bitki türünde zararlıdır. *Asteraceae*, *Fabaceae* ve *Solanaceae* familyalarına dahil konukçular ise 100'den fazla türden oluşmaktadır. Bu arada, yabancı otlar da bu virüsün konukçularından olup özellikle epidemiyolojide önemli rol oynarlar. Çünkü, yabancı otlar virüse konukçuluk etmenin yanında virüsü taşıyan trips vektörlere de konukçuluk etmektedir. Mevsim sonunda tripsler tekrar yabancı otlara geçiş yapmaktadır (Şevik 2015).

Virüsün hastalandırdığı diğer bitkiler arasında enginar (*Cynara scolymus*), patlıcan (*Solanum melongena*), hindiba (*Cichorium* spp.), kabakgiller (hıyar, kavun ve karpuz), bakla (*Vicia faba*), ve patates (*Solanum tuberosum*)'de yer almaktadır. Her ne kadar nohut (*Cicer arietinum*) ve mercimekte (*Lens culinaris*) zarar oluşturduğu Brezilya'da bildirilmiş olsa da Akdeniz ülkelerinde henüz varlığı belirlenmemiştir. Süs bitkileri arasında ise, başlıca konukçuları; *Alstroemeria*, *Anemone*, *Araceae*, *Aster*, *begonya*, *Bouvardia*, *Calceolaria*, *Callistephus*, *Celosia*, *Cestrum*, *Columnea*, *Cyclamen*, *Dahlia*, *Dendranthema x grandiflorum*, *Eustoma*, *Fatsia japonica*, *Gazania*, *Gerbera*, *Gladiolus*, *Hydrangea*, *Impatiens*, *Iris*, *Kalanchoe*, *Leucanthemum*, *Limonium*, *Pelargonium*, *Ranunculus*, *Saintpaulia*, *Senecio cruentus*, *Sinningia*, *Tagetes*, *Verbena*, *Vinca* ve *Zinnia*'dır Yabancı otlardan konukçuları olarak; *Amaranthus* spp., *Conyza bonariensis*, *Galinsoga* spp., *Polygonum lapathifolium*, *Portulaca oleracea*, *Senecio vulgaris*, *Solanum nigrum*, *Sonchus* spp., *Stellaria media*, *Taraxacum officinale* yer almaktadır (Anonim 2006, 2018). TSWV, *Cucumis sativus*, *Gomphrena globosa*, *Nicotiana clevelandii*, *N. tabacum*, *N. glutinosa*, *N. rustica* ve *Petunia hybrida* gibi indikatör bitkiler üzerinde mekanik inokulasyon yöntemi ile tespit edilebilmektedir. TSWV'nin saptanması amacıyla uygulanan bu yöntemle ilaveten, daha sonra TSWV'ye spesifik antiserumların üretilmesi ile ELISA tekniği ve en son olarak da PCR ve hibridizasyon teknikleri yoğun bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Mumford vd. 1994).

Arli-Sökmen vd. (2005), Samsunda Bafra, Çarşamba ve Tekkeköy bölgelerindeki virüs hastalıklarını tanımlamak için biber üretilen alanlardan 1998-1999 yıllarında toplam 313 örnek toplamışlardır. Yapılan testlerde altı farklı virüs tespit etmişler ve 1998 yılında, Bafra-Çarşamba bölgesinden toplanan 222 örnekte TSWV frekansı % 2.2 oranında, 1999 yılında Tekkeköy'den toplanan 91 örnekte TSWV frekansı % 9.2 olarak tespit etmişlerdir. *TMV* (*Tobacco mosaic virus*- % 41.5), *PVY* (*Potato virus Y*- % 20.5) ve TSWV'nin diğer üç virüse göre (Alfalfa mosaic virus-AVM, Cucumber mosaic virus-CMV, Tomato mosaic virus-ToMV) daha önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Adana ve Mersin illerinde, 2005- 2006 yılları arasında yürütülen çalışmada, domates ve biberlerde zarara neden olan Domates lekeli solgunluk virüsü' nün saflaştırılması, biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanısının yapılması amacıyla, araziden toplanan ve virüslü olduğundan şüphelenilen bitkiler, ELISA yöntemi ile testlenmiş ve toplanan örneklerde hastalık oranı % 45 olarak belirlenmiştir. E8, D2, M5 kodlu izolatlar ile aşılı indikatör bitkilerde 5-15 gün içerisinde simptom gözlenirken, T1 izolatının 30-60 gün gibi bir sürede simptom çıkışına neden olduğunu bildirilmiştir. TSWV' nin saflaştırılması amacıyla kullanılan PEG çöktürme ve kolon kromatografisi yöntemlerinin başarılı olmadığı ortaya konulmuştur. Saflaştırılan TSWV vironlarının SDS-PAGE yönteminde dört, agarose jel elektroforez' de ise, tek band verdiği belirtilmiştir. TSWV ile infekteli test bitkilerinden total RNA ekstraksiyonu yapılarak, RT- PCR yönteminde kullanılmış ve PCR ürünleri agarose jel elektroforez ile testlenip beklenen band büyüklükleri gözlenmiştir (Küçük 2006).

Özaslan vd. (2006) tarafından Güneydoğu Anadolu Projesi kapsamında (GAP), Gaziantep bölgesinde görülen virüs hastalıklarının tespiti için Nurdağı ve İslahiye biber üretim alanlarından Ekim (2001) ayında bitki örnekleri toplanmıştır. Biyolojik ve serolojik (DAS-ELISA) incelemelerden sonra; alanlara göre sırasıyla, % 25 ve % 37 oranlarında CMV, % 19 ve % 22 oranlarında TMV hastalıkları ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, Gaziantep bölgesi biber üretim alanlarında henüz TSWV ve PMMV hastalıklarına rastlanmadığı bildirilmiştir.

Kahramanmaraş ili Merkez, Türkoğlu ve Pazarcık ilçe ve köylerindeki 27 kırmızı biber üretim alanında, yaprakbitleri ile taşınan altı virüs hastalığının yoğunluk, şiddet ve yayılım oranlarını tespit etmek amacıyla 2004 yılında çalışma yapılmıştır. Toplanan 171 örnek DAS-ELISA yöntemi ile Hıyar Mozayik Virüsü (CMV), Alfalfa Mozayik Virüsü (AMV), Patates X Virüsü (PVX), Patates Y Virüsü (PVY), Biber Hafif Benek Virüsü (PMMoV) ve Tütün Yanıklık Virüsü (TEV) için testlenmiştir. Örneklerin %52.6'sının bir veya daha fazla virüsle infekteli olduğu tespit edilmiş olup, en fazla infeksiyon AMV (%35.7) tarafından oluşturulduğu ve sırasıyla TEV (%21.6), PVY (%21.1), PVX (%17.5), PMMoV (%8.2) ve CMV (%4.6) izlediği bildirilmiştir. Araştırmacı tarafından AMV ve PMMoV Kahramanmaraş'ta ilk kez bu çalışmayla tespit edildiği bildirilmektedir (Demir 2005).

Balcı (2005) tarafından yapılan çalışmada; domates ve biber populasyonları hıyar mozayik virüsü (CMV)'ne karşı dayanıklı hatları ve dayanıklılığın genetik kontrolünü belirlemek için fenotipik ve genotipik olarak karakterize edilmiştir. Her iki türün bitkilerinde CMV mekanik olarak inoküle edilmiştir. Bitkiler görsel olarak ve ELISA yöntemiyle değerlendirilmiştir. Virüs sadece inoküle edilen yapraklarda belirlenmiş, inoküle edilmeyen yapraklarda rastlanmadığı bildirilmiştir. Araştırmacı, bu nedenle CMV dayanıklılığının immunité olmayıp, gerçek dayanıklılık olduğu sonucuna varmıştır.

Güneydoğu Anadolu ve Doğu Akdeniz Bölgesinde (Hatay, Şanlıurfa, Kahramanmaraş, Gaziantep) biber üretimi yapılan alanlarda 2004 yılında virüs hastalıklarının belirlenmesi için yapılan çalışmada; 50 üretim alanından 515 biber örneği toplanmış ve DAS-ELISA testine tabi tutulmuştur. İncelenen örenlerden 334'ü virüs enfekteli bulunmuştur. Çalışma sonucunda; *Potato Y potyvirus* (PVY) % 26.4,

Potato X potexvirus (PVX) % 25.8, *Alfalfa mosaic alfamovirus* (AMV) % 25.2, *Tobacco etch potyvirus* (TEV) % 23, *Pepper mild mottle tobamovirus* (PMMoV) % 9.1 ve *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) % 8.3 oranlarında tespit edilmişlerdir. Bu çalışmayla, AMV ilk defa rapor edilmiştir. Test yapılan Kahramanmaraş, Gaziantep, Şanlıurfa ve Hatay için PMMoV’de diğer bir yeni virüs olmuştur (Buzkan vd. 2006).

TSWV için hızlı ve etkili bir yöntem olan inokulasyon tekniklerinden spreyleme ve CO₂ tozu serpen atomizer kullanılarak, enfekteli bitki parçaları fosfat tamponu içinde ezilmiş ve 320 karborandum tozu serpilmiş yapraklar üzerine spreyle edilmiş bildirilmiştir. Çalışmada, 1.1 basınçla spreyleme yapıldığı, mekanik inokulasyonda tütün (*Nicotiana tabacum*), yerfıstığı (*Arachis hypogaea*), domates (*Lycopersicon esculentum*) bitkileri konukçu olarak başarıyla kullanıldığı, % 75 ile 100 arasında sistemik enfeksiyon gerçekleştiği bildirilmiştir. Çalışma sonucunda, TSWV ile enfekte edilen normal mekanik inokulasyona oranla % 50 oranda daha hızlı olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak bu inokulasyon yöntemi ile daha çok sayıda bitki ile daha hızlı çalışma imkanı bulunduğu, özellikle virüslere dayanıklı çeşitlerin tesbitinde bu yöntemin kolaylıkla kullanılabilmesi bildirilmiştir (Mandal vd. 2008).

Yardımcı ve Kılıç (2009) tarafından Batı Akdeniz Bölgesinde 2006 ve 2007 yılları sebze yetiştiriciliği döneminde Domates lekeli solgunluk virüsünün (TSWV) varlığının saptanması amacıyla bir çalışma yürütülmüştür. Sebze alanlarından tipik TSWV semptomlarını gösteren domates, biber, patates, marul, kabak ve hıyar yaprakları toplanmıştır. On iki lokasyondan toplam 337 örnek toplanmış ve antikor kullanılarak DAS-ELISA ile test edilmiştir. ELISA testlerinin sonuçlarına göre, 157 örneğin TSWV tarafından enfekte olduğu görülmüştür. Örneklerde TSWV görülme sıklığı % 46.58'dir. Örnekler arasında, biber, marul, domates ve kabakta TSWV enfeksiyonu oranı sırasıyla 67.16, 66.66, 46.94 ve 16.66 olarak tespit edilmiştir. İki yıl boyunca, bitki yetiştirme alanlarında thripsin yoğun olarak bulunduğu gözlenmiş ve lokasyonlardan toplanmıştır. Thrips, *Frankliniella occidentalis* Pergande olarak tanımlanmıştır. TSWV inoküle edilen pozitif bitkilerden *Catharanthus roseus* üzerinde sistemik mozaik ve yaprak deformasyonu, *Pelargonium zonale* üzerinde ciddi bodurlaşma ve ölüm, *Nicotiana glutinosa* ve *Nicotiana tabacum* White Burley'de damar sararması, mozaik, nekrotik lokal lezyonlar ve yaprak deformasyonunu görülmüştür. Sonuç olarak, Batı Akdeniz Bölgesi'ndeki sebze yetiştirme bölgelerinde TSWV varlığı tespit edilmiştir.

Bozdoğan (2009), tarafından Antalya ili Merkez (Aksu, Kurşunlu, Çamköy, Altınova), Serik (Merkez, Çakallık) ve Kumluca (Merkez, Mavikent, Beykonak) ilçelerinde yetiştirilen örtüaltı domates, biber ve marul alanlarında Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'nin saptanması ve yaygınlığının ortaya koyulması amacıyla 2007- 2009 yılları arasında çalışma yürütülmüştür. Toplanan 526 örnek ELISA yöntemi ile testlenmiş 526 örnekte tespit edilmiş, hastalık oranı % 88.25 olarak belirlenmiştir. Biberde, 69 seradan 345 örnek alınmış, 316 örnekte (% 91.59) TSWV'nin varlığı saptanmıştır. Kumluca ilçesinde ise biberde % 95.55 oranında hastalık tespit edilmiştir. Araştırmacı, marul bitkisinden toplanan A1 izolatının daha yüksek patojeniteye sahip olduğu sonucuna varmıştır. Araştırmacı, çalışmanın TSWV konusunda Antalya ilinde yapılan ilk çalışma olduğunu rapor etmiştir.

Buzkan ve Yüzer (2009) tarafından 2006-2007 yıllarında Kahramanmaraş kırmızı biberlerinde tohumla taşınan virüslerin moleküler tanısı amacıyla, 125 farklı

üründen alınan tohumlarda altı virüsün AMV (Alfaalfa mosaic virüs–Kaba yonca mozayik virüsü), CMV (Cucumber mosaic virus- Hıyar mozayik virüsü), TMV (Tobacco mosaic virus- Tütün mozayik virüsü), ToMV (Tomato mosaic virus-Domates mozayik virüs), TSWV (Tomato spotted wilt virus-Domates lekeli solgunluk virüsü), ve PMMoV (Pepper mild mottle virus- Biber hafif benek virüsü) RT-PCR (Polymerase chain reaction-Polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemiyle tanıları yapılmıştır. Analiz sonunda biber tohum örneklerinde CMV haricinde hiçbir virüsün enfeksiyonu PCR yöntemiyle tespit edilememiştir. Bir biber örneğinden alınan cDNA’larda (complementary DNA) CMV enfeksiyonunu ifade edecek 513 bp büyüklüğünde band gözlenmiştir. Biber fidelerinden izole edilen TNA’lardan (Toplam nükleik asit) hazırlanan cDNA’ların virüs spesifik primer dizinleriyle RT-PCR analizleri, Kahramanmaraş’ta yetiştirilen biber kültüründe tohumla taşınma riski olan virüs enfeksiyonlarının olmadığı bildirilmiştir.

Yakın zamana kadar viral ajanlarının tanıları, küçük bir oranda virüs partikülleri kullanmak suretiyle yapılan virüs protein kılıfına dayalı serolojik testlerle yapılmaktaydı. Ancak, virüs nükleik asitinin özelliklerine dayalı tekniklerin geliştirilmesi ve genetik bilginin artmasıyla birlikte moleküler yöntemler de virüslerin erken ve hassas teşhislerinde kullanılmaya başlanmış, serolojik yöntemleri destekler ve daha hassas yöntemler olarak uygulanmaktadır (Buzkan ve Yüzer, 2009).

Samsun’da 2004 yılında Ondokuz Mayıs Ün. Ziraat Fakültesi’nde domates lekeli soldunluk virüsünün domates verimine etkisi araştırılmıştır. TSWV, domates veriminde % 42.1, pazarlanabilir meyve miktarında % 95.5 oranda azalmaya neden olmuştur. Domates bitkilerinde TSWV enfeksiyonu nedeniyle sırasıyla meyve ağırlığında % 26.61, meyve sayısında % 20.18, genişliğinde % 10.94 ve meyve uzunluğunda % 11.93 azalma olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar tarafından bu çalışmada, domateste TSWV’ye bağlı verim kaybının tahminen Samsun’da yaklaşık 0.9 milyon dolar olduğu rapor edilmiştir (Şevik ve Arli-Sokmen 2012).

Doğu Akdeniz Bölgesi’nde 2007-2010 yılları arasında yapılan çalışmada, yetiştirilen bazı kışlık sebzelerde (marul, ıspanak, lahana, karnabahar, turp) TSWV’nin de olduğu 12 virüs hastalığının saptanması ve yaygınlığının belirlenmesi amacıyla doktora tez çalışması yürütülmüştür. ELISA yöntemi ile testlemede 3 marul bitkisinde TSWV tespit edilmiştir. RT-PCR çalışmalarında TSWV izolatu Yunanistan, Sırbistan, G. Kore izolatları ile % 96 oranında benzerlik saptanmıştır (Alan 2012).

Adana, Mersin, Antalya, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa illerinde, 2009-2010 yıllarında biberde *L3* dayanıklılık genini kıran Biber hafif benek virüsü’nün (PMMoV) yaygınlığının saptanması ve moleküler karakterizasyonu için yürütülen çalışmada 3000 adet biber örneği toplanmıştır. Bunlardan 27 örneğin bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Reverse Transcriptase Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) çalışmalarında 836 bp bandı elde edilmiştir. PZR ürünleri Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) çalışmasında; *Eco* RI enzimi ile kesilerek 260 bp ve 570 bp olarak 2 band halinde görüntü alınmıştır. Bu sonuç, PMMoV izolatlarının biberdeki *L3* dayanıklılık genini kırabildiğini göstermiştir. Biber örnekleri, PMF1, PMF2 ve PMR1 primerleri kullanılarak *L3* dayanıklılık genine karşı testlenmiş ve PMF1/PMR1 primer çiftinin sonucu olarak 283 bp DNA bandı elde edilmiştir. Sonuç olarak, testlenen biberlerin PMMoV’üne karşı duyarlı olduğu bildirilmiştir (Çağlar vd. 2011). Elde

edilen sonuçlar Türkiye'de mevcut PMMoV izolatları üzerine ilk moleküler bilgi olarak rapor edilmiştir (Çağlar vd. 2013).

Araştırmalarda, biberlerde zarar meydana getiren 43 farklı virüs olduğunu ve bunlardan *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV)'ün Türkiye'de biber yetiştirilen alanlarda en çok rastlanan virüs olduğu, bunu sırasıyla *Potato Y potyvirus* (PVY), *Tobacco etch potyvirus* (TEV), *Tobacco mosaic tobamovirus* (TMV) ve *Pepper mild mottle tobamovirus* (PMMV)'ün takip ettiği bildirilmiştir (Ekbiç vd. 1997).

Bitkisel üretimde önemli yer tutan sebze tohumlarında bulunan virüslerin saptanması ve yaygınlığının belirlenmesi için yapılan çalışmada; çeşitli kuruluş ve üreticilerden 325 tohum örneği toplanmıştır. Biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemlerle incelenen örneklerde sebze türlerine göre etmenlerin bulunma oranı % 0 ile % 65 arasında değiştiği tespit edilmiştir. En yüksek etmen oranı % 69 ile biber tohumlarında belirlenirken, patlıcan, bakla ve ıspanak tohumlarında etmen bulunmadığı rapor bildirilmiştir (Paylan ve Erkan 2013).

Bazı biber hat ve çeşitlerinin *Tobacco mosaic tobamovirus* (TMV)'e dayanıklılıklarının mekanik inokulasyon ve elisa testleri ile belirlenmesi amacıyla Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde 2005-2009 yılları arasında bir çalışma yürütülmüştür. "Türkiye F1 Hibrit Sebze Çeşitlerinin Geliştirilmesi ve Tohumluk Üretiminde Kamu- Özel Sektör İşbirliği Projesi" kapsamındaki bu çalışmada; sonbahar ve ilkbahar dönemlerinde, Enstitü gen havuzunda bulunan 156 adet biber hattı ile 36 adet özel sektöre ait çeşit TMV etmenine karşı testlenmiştir. Saksılara ikişer adet dikilen biber fideleri 2-4 yapraklı döneme gelince hazırlanan virüs inokulumu bitkilerin yapraklarına mekanik inokulasyon yöntemine göre inokule edilmiştir. Bitkiler haftalık olarak gözlenmiş ve oluşan belirtiler kaydedilmiştir. İnokulasyondan 4-6 hafta sonra gözlem sonuçları değerlendirilmiştir. Çalışmalar sonucunda, Enstitüye ait 15 adet hat ile özel sektöre ait 2 adet çeşit dayanıklı olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar tarafından virüs hastalıklarına karşı dayanıklılık çalışmalarının yeni bir konu olması ve bitkilerdeki mevcut dayanıklılığın ortaya konulmasında kullanılan klasik testleme yöntemlerinden olan "Mekanik İnokulasyon Yöntemi" nin güvenilir sonuçlar vermesi yanında kolay uygulanabilir bir yöntem olduğu ortaya konulmuştur (Çelik vd. 2010).

Çelik vd. (2012) tarafından 2007-2010 yıllarında yürütülen çalışmada Antalya ili ve ilçelerinde örtüaltı biber üretim alanlarında Patates Y virüsü (*Potato Y Potyvirus*=PVY)'nün yaygınlığı, yaygın patotipi ve bölgede yetiştiriciliği yapılan ticari biber çeşitlerinin PVY'ye karşı reaksiyonları araştırılmıştır. 2007-2008 yıllarında toplanan 274 örnek DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi ile analiz edilmiş ve 229 örneğin virüs ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerde, TMV 40, TSWV 95, CMV 36, PMMV 21, PVY+CMV 8, PVY+TSWV 8 ve PVY-0 21 olarak tespit edilmiştir. Yapılan inceleme sonunda, PVY-0, PVY-1, PVY-1,2 patotiplerden PVY-0 olduğu tespit edilmiştir. Testlemeye alınan 30 ticari çeşitten sadece birinde PVY'ye ait belirti görülmemiştir. PVY tespiti için yapılan çalışmada ilginç bir şekilde toplam 103 örnekte (% 45) TSWV varlığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar, Antalya ili örtüaltı biber alanlarından 2007 sonbahar döneminde toplanan örneklerde, en fazla TSWV'ye rastlandığını, bunu sırasıyla CMV, TMV, PVY ve PMMV'ün izlediğini bildirmişlerdir. Çok az sayıda örnekte de karışık enfeksiyonlar tespit edilmiştir. Değişik araştırmacılar Türkiye'de biber yetiştirilen alanlarda CMV'nin

en çok rastlanan virüs olduğunu ve bunu sırasıyla PVY, TEV, TMV, AMV, *Potato X potexvirus* (PVX) ve PMMV'nin izlediğini bildirmişlerdir (Ekbiç vd. 1997, Buzkan vd. 2006). Araştırmacılar, virüs hastalıklarının sağlıklı bitkilere infeksiyonunda özellikle vektörlerin oldukça önemli olduğunu, thripslerin bitkilerde hızlı hareket etmesi ve zor fark edilmesi nedeniyle ilaçlamaların zamanında yapılamaması ve çok sayıda konukçu bitkisinin bulunması sonucu olarak, özellikle TSWV'ye seralarda daha fazla rastlandığı kanısına varmışlardır.

TSWV virüsüne karşı dayanıklılığı kıran (üstesinden gelen) izolatin tespiti ile ilgili İtalya'nın kuzeybatısında Albenga'da 1998 yılında çalışma yürütülmüştür. Bu bölge, 1992'den beri biberlerde şiddetli TSWV infeksiyonunun görüldüğü bir bölgedir. TSWV'e karşı hipersensitiv reaksiyon (HR) dayanıklılık *C. chinense* türü olan PI 152225 genotipinden *C. annuum* türüne aktarılmıştı. Araştırmacılarca yapılan gözlemlerde, Ağustos ayında biberlerin % 50'sinde TSWV belirtileri görülmüştür. Dayanıklı olan hibrit biber çeşidinde 2 bitki dışında bitkiler sağlıklı kalmıştır. Enfekte olan bu iki bitkiden izole edilen tospovirüsler (P164/6 ve P166 kod nolu) *Nicotiana benthamiana*'ya aktarılmıştır. İzolat, Hassas çeşit, *C. annuum* cv. Quadrato d'Asti bitkilerinin tamamında TSWV belirtileri görülmüştür. Bununla birlikte P164 / 6 izolatu, PI152225 ve PI159236 bitkilerini sistemik olarak enfekte ettiği bildirilmiştir. *C. chinense* tarafından verilen yanıt, sadece lokal lezyonlara neden olan tipik TSWV'nin neden olduğu durumdan farklı bulunmuştur. Araştırmacılar, tipik TSWV'den farklı olarak bu izolatların, HR dayanıklılığı olan PI 152225 ve PI159236 bitkilerinde infeksiyona neden olduğunun ilk raporu olarak bildirmişlerdir (Roggero vd. 1999).

Deligöz vd. (2014)'nin ülkemizde 2013 yılında Samsun'da yaptıkları çalışmada; serada yetiştirilen dayanıklı ticari tatlı biber çeşidinin TSWV ile bulaşık olduğunun görülmesinden sonra toplanan biber örneklerinde de TSWV hastalığının olduğu DAS-ELISA yöntemiyle tespit edilmiştir. *C. chinense* aksesyonu olan dayanıklı PI 159236 ve hassas *C. annuum* cv. Yolo Wonder kontrol bitkileri ile 10 farklı ticari dayanıklı biber çeşidi klasik olarak testlenmiştir. Dayanıklı ticari çeşitler ve dayanıklı kontrolde sistemik belirtiler tespit edilmiştir. Kullanılan SC3-RB izolatu ile İtalya ve İspanya orijinli izolatların homolog dizileri % 99 ve %97 oranında eşleşme göstermiştir. Sonuçta; SC3-RB izolatının, tarla ve laboratuvar koşullarında tatlı biber üzerindeki *Tsw* dayanıklılık genini kırabildiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar, bu raporun Türkiye'de tatlı biberde dayanıklılığı kıran TSWV ırkı/izolatının varlığına dair ilk rapor olduğunu bildirmişlerdir.

Şevik ve Arli-Sokmen (2016), Samsun'da, Solanaceae ve Cucurbitaceae familyalarına ait farklı bitki türlerinde tospovirüslerin görülme sıklığını ve yayılma oranını belirlemek için 2011-2012 yetiştirme sezonunda araştırmalar yapmışlardır. Beş lokasyondan toplam 985 yaprak numunesi toplanmış ve domates lekeli solgunluk virüs (TSWV)'ünün de olduğu dört virüs DAS-ELISA testleri ile araştırılmıştır. TSWV sadece domates ve biber bitkilerinde tespit edilmiş olup, diğer virüsler bulunmamıştır. TSWV'nin örneklerde görülme oranlarının sırasıyla 2011 ve 2012'de % 9.91 ve % 8.09 olduğu bildirilmiştir.

Fidan vd. (2016), araştırmacıların bildirdiğine göre, Antalya'da yetiştirilen *Anthurium* sp.'de (*Anthurium scherzerianum*- Flamingo çiçeği) bitkilerinin yapraklarında, sistemik klorotik mozaik ve düzensiz sarımsı koyu kahverengi nekrotik

lekeler gözlenmiştir. Tanılama için yaprak, DAS-ELISA tekniğine göre TSWV (*Tomato Spotted Wilt Virus*)’de olduğu çok sayıda virüs için testlenmiştir. DAS-ELISA sonuçları pozitif örneklerden ekstrakte edilen toplam RNA’ların RTPCR’da kullanılmasıyla doğrulanmıştır. RT-PCR, sense TSWV L1F ve antisense primerlerine TSWV L2R göre düzenlenmiştir. RT-PCR sonucu kılıf proteinine ait 276 bp cDNA bantları %2’lik agaroz jelde gözlenmiştir. RT-PCR ürünlerinin direkt sekanslaması ve yapılan BLAST sonucunda biber TSWV izolatları (KM407603.1) ile % 96-99 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. *Anthurium* bitkisinde TSWV enfeksiyonu serolojik ve moleküler olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma, TSWV’nin *Anthurium* bitkisinde ülkemizde ilk kaydı olup aynı zamanda etmenin enfekteli sebzelerden geçtiği yani; türler arasında kontrolsüz yayıldığına kanıtı olarak rapor edilmiştir.

Hibrit dolma biber ıslah çalışmalarında kullanılan ıslah hatlarında virüs dayanıklılığının belirlenmesi için Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü (ABKMAE)’nde (Yalova) çalışma yapılmıştır. Tüm biber tiplerinden alınan örnekler *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV) ve *Potato virus Y* (PVY)’ ye karşı tepkileri DASELISA (Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked Immunesorbent Assay) yöntemine göre testlenmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak; çalışılan tüm hatların *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV) ve *Potato virus Y* (PVY)’ ye karşı hassas olduğunu, sadece 196 hattının *Cucumber mosaic virus* (CMV)’ne karşı tolerant olabileceğini bildirmişlerdir (Başay ve Uzunoğlu 2016).

Güneş ve Gümüş (2016), tarafından 2015 Yılında Antalya’da (Kumluca, Demre, Serik, Aksu) yapılan çalışmada 148 biber örneğinde % 7.34 CMV ve % 35.81 oranında TSWV saptanmıştır. TSWV izolatının, İtalya ve İspanya’da biber bitkilerinde Tsw dayanıklılığı kıran izolatlar ile % 92-97 değişen oranda benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Macaristan’da 2012 yılından itibaren güneydoğu bölgesinde yoğun olarak TSWV’nin dayanıklılığı kıran izolatlarına rastlanmıştır. Sonrasında bitki testlemesi, serolojik ve RT-PCR metotları ile bu konuda araştırmalar yürütülmüştür. İspanya, kuzey İtalya, Brezilya, Macaristan ve Sicilya kaynaklı dayanıklılığı kıran ve yabancı tip TSWV izolatlarında yapılan filogenetik analiz sonuçlarının dayanıklılık kıran TSWV RB izolatlarının lokal olarak geliştiği tezini desteklediğini, bitki üretim materyallerinin dünya üzerinde ticaretinin ve taşınmasının ise bu ırkların yayılmasına katkı sağlamadığı sonucuna varmışlardır. Farklı RB ırklarının yerel WT ırkları ile yakın ilişkiye sahip olduğunu ve farklı coğrafik kökenlerden olan RB izolatlarının tüm NSs (yapısal olmayan protein) genlerinde korunmuş bir mutasyon olmadığını belirlemişlerdir. RB izolatlarının ayrı ayrı coğrafi bölgelere göre ve RB mekanizmasına göre evrimleştiği sonucuna varmışlardır. Macaristan RB izolatı ile 7 farklı Capsicum türüne ait 89 aksesyon testlenmiş, sadece 4 *C. baccatum* var. *pendulum* aksesyonu HR (yüksek direnç reaksiyonu) benzeri tepki verdiği ifade edilmiştir (Almásı vd. 2015, 2016).

Almásı vd. (2017), araştırmacıların TSWV-RB dayanıklılığı kıran izolat üzerinde yaptıkları çalışmalarda NSs’lerde sadece iki amino asit (104, 461) yerdeğişimi-ikamesi belirlenmiştir. NSs’lerin ve bunların nokta mutant varyantları testlerinde Tsw aracılı aşırı duyarlı (HR) tepkiler ve RNA susturucu baskılayıcı (RSS) aktivitesini tetikleme kabiliyetini incelemişlerdir. Nekroz indüksiyonu veya kaybından sorumlu 104 (T-A) konumunda tek bir amino asit değişikliği tespit edilmiştir. Ancak, iki ebeveyn ırkın RSS aktivitesinde önemli bir fark tespit edilmemiştir. RB ırkının infekte edici S RNA transkripti ve WT-T104A nokta mutant ile dirençli biber çeşidinde WT ırkının

bulaşmasında başarılı olunmuştur. Araştırmacılar, bu çalışmanın tek bir amino asit değişikliğinin bir RB dayanıklılık kıran fenotipi oluşturabileceğine dair doğrudan kanıt sağladığını bildirmişlerdir.

Ülkemizde son zamanlarda yapılan bir çalışmada Fidan ve Sarı (2019), domateste TSWV izolatu üzerinde, virüs genomundaki dayanıklılığı kıran genetik mutasyonların nedenini moleküler karakterizasyon ile incelemişlerdir. Domateste Sw-5 geni TSWV'e karşı dayanıklılık sağlamaktadır. Dayanıklı materyal olarak *Solanum peruvianum* PI126944 ve dört ticari melez çeşit ile hassas kontrol kullanılmıştır. Üç parçalı segmentli bir yapıda oluşan TSWV genomunda large-8913 nt, medium-4752 ve small-2924 nt uzunluğundaki bölgeler RT-PCR tekniği ile çoğaltılmış sekans dizileri üzerinde protein sentezi yapan bölgeler belirlenmiş, aminoasit ve protein düzeyinde farklılıklar ortaya konulmuştur. TSWVAntRB izolatının medium segmentine ait nükleotid, aminoasit ve protein düzeyinde yapılan eşleştirmelerde bu izolatın hücreden hücreye hareket geni (non-structural protein-NSm) yapısal olmayan NSm protein alanındaki bölgede C118Y noktasında meydana gelen nokta mutasyonu nedeniyle dayanıklılığın ortadan kalktığı ifade edilmiştir. Ayrıca medium ve small segmenti ile yapılan gen dizi karşılaştırmalarında bölgemizdeki izolatın İspanya'da dayanıklılığı kıran izolatlar ile % 99 oranında benzer bulunduğu belirlenmiştir. Yapılan filogenetik analizler sonucu TSWVAntRB izolatının İspanya'da dayanıklılığı kıran izolat ile aynı kökenden geldiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, C118Y mutasyonu Sw-5 geninin sağladığı direnci kırmış olduğundan bu izolata karşı yeni dayanıklılık kaynağına ihtiyaç duyulduğunu vurgulamışlardır.

2.2.2. Hastalığın belirtileri

TSWV enfeksiyonu sonucunda oluşan belirtiler; bitki türü, çeşidi, yaşı, gelişme dönemi (fide, çiçeklenme, meyve dönemi), beslenme ve ekolojik şartlara (sıcaklık, ışık vs.) bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Biberde TSWV belirtileri; bitkinin tümünde genel bir bodurlaşma ve sararma (kloroz), solgunlukla birlikte en tipik belirtisidir. Yapraklarda, klorotik çizgili lekeler ya da nekrotik noktalı mozaik şekiller-lekeler (yaprak deformasyonu) dikkat çeker. Nekrotik çizgiler, uç sürgünlere kadar yayılacak şekilde tüm gövdede oluşur (Fidan 1993; Soler vd. 1998; Suzuki vd. 2003; Kim vd. 2004; Bag vd. 2012). Olgun meyvede konsantrik sarı halkalı noktalar veya nekrotik çizgiler, deformasyon gözlenir. Şiddetli enfeksiyonlarda bitkiyi tamamen öldürebilir (Güldür vd. 1995; Kim vd. 2004; Arlı-Sokmen vd. 2005; Turhan ve Korkmaz 2006; Yardımcı ve Kılıç 2009; Bozdoğan 2009; Scholthof vd. 2011; Şevik 2011, 2015; Atakan vd. 2013; Anonim 2006, 2016).

Fide-geçen bitki aşamasında üst kısımda genç tepe sürgünlerinde sararma başlar, sonra geriye doğru bodurluk ve bitki ölümü görülür. Hasta genç bitkilerde tepe kısmının dik büyüme yerine yana doğru eğilme-bükülme görülür, sonrasında gelişemez ve ölür. Yetişkin bitkilerde ileriki aşamalarda, yapraklarda ve meyvelerde halka şekilli, düzensiz içi içe geçmiş halkalar şeklindeki lekeler tipik belirtidir. Rengi solmuş ve kahverengileşmiş damarlar görülür. Olgun meyvelerde açık kırmızı veya sarı alanlar görülür (Şekil 2.2).

Hastalık belirtilerini çiçeklerde de görmek mümkündür. Çiçeklerde yine iç içe geçmiş düzensiz halkalı lekeler, bu lekeler arasında farklı renk oluşumları ve nekrozlar,

hastalığın şiddetli olduğu durumlarda da kuruyup dökülmeler şeklinde kendini gösterir. Meyvelerde; normalden daha küçük meyve oluşumu şeklinde ortaya çıkar. Hastalığa erken dönemde yakalanmış bitkiler ya hiç meyve bağlamaz veya meyveler oluşsa bile çok küçük ve şekli bozuk olur. Hastalık doğrudan meyveleri etkilediği için ürünün pazar değerini çok düşürür (Yılmaz 2002).



Şekil 2.2. TSWV'nin bitkide ve meyvede belirtileri (Orijinal resimler: R. Özalp)

Yapılan bir çalışmada, verim azalmasının domates bitkilerinin enfekte olduğu dönemlere bağlı olarak değiştiğini, eğer erken dönemlerde bulaşma gerçekleşiyorsa bitki başına daha az meyve alındığı rapor edilmiştir (Gitaitis vd. 1998).

2.2.3. Hastalığın vektörü batı çiçek tripsi- *F. Occidentalis* (Pergande) ile ilgili bilgiler

Virüs vektörü trips türleri *Arthropoda* şubesi, *Insecta* sınıfı, *Thysanoptera* (Kırpık Kanatlılar) takımı içindeki *Thripidae* familyasına aittir. Bu familyadan 5 cinse ait thrips türleri (*Thrips*, *Frankliniella*, *Scirtothrips*, *Cerotothripoides*, *Microcephalothrips*) çok sayıda bitki virüsünü taşımaktadırlar. *Frankliniella* cinsi 180 türe sahip olup, ikinci geniş cins olarak kabul edilmektedir (Şevik 2008). *Frankliniella* ve *Thrips* cinslerine bağlı türler (*Tysanoptera*: *Thripidae*) tarımsal ürünlerin birçoğunda beslenmenin yanı sıra bazı virüs hastalıklarının taşıyıcısı olarak büyük oranlarda ekonomik kayıplara neden olurlar. Bu türler içerisinde özellikle *Frankliniella occidentalis* Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*=TSWV)'nün vektörü olması nedeniyle özel bir öneme sahiptir. Hem larva hem de ergin dönemlerinde zarar oluşturur. (Tunç ve Göçmen 1994, 1995; Atakan ve Uygur 2004; Dağlı ve Tunç 2006; Arli-Sokmen vd. 2005; Sharman ve Persley 2006; Şevik 2008; Pappu vd. 2009; Scholthof vd. 2011; Whitfield vd. 2015; Campbell vd. 2017). *F. occidentalis* ve *T. tabaci* (Lindeman) domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'nün önemli vektörlerdir (Cho vd. 1987; Uygun vd. 2002; Birişik vd. 2015).

Batı çiçek tripsi olarak bilinen ve dünyanın bir çok bölgesinde çok sayıda kültür bitkisinde sorun olan *Frankliniella occidentalis* (Pergande) ülkemizde ilk olarak 1993 yılında Akdeniz bölgesinde sebze ve süs bitkilerinde saptanmış (Tunç ve Göçmen 1994) ve sonra hızlı bir şekilde bir yıl içinde Doğu Akdeniz Bölgesi'ne yayılmıştır (Atakan ve Uygur 2004). Akdeniz bölgesi'nin kıyı ve iç bölgelerinde ve pamuk tarlalarında ana trips olmuştur (Atakan ve Uygur 2005). TSWV'nin taşıyıcısı 9 thrips türü içinde en etkili olan *Frankliniella occidentalis* (Western Flower Thrips= WFT-Batı çiçek tripsi) biber, domates, krizantem ve marulda zarar vermektedir (Arli-Sokmen vd. 2005; Şevik 2008). Ülkemizde tüm bölgelerde yaygın olarak saptanmıştır. Polifag bir tür olup, çok geniş bir konukçu dizisine sahiptir (Uygun vd. 2002; Tunç ve Göçmen 2006). Bu zararlı, Zirai Karantina Yönetmeliğinin dış karantina, Ek:1-B Türkiye'de sınırlı olarak bulunan ve ithale mani teşkil eden zararlı organizmalar kısmındaki böceklerden birisi olarak kabul edilmiştir (Anonim 2010).

Tripslerin vücudu uzunca oval, dar ve yassıdır. Rengi açık sarıdan kahverengiye kadar değişir. Kanatları sarımsı veya sarımsı-gri renktedir. Antenleri 7 segmentlidir. Dişilerin boyu 0.9-1 mm arasındadır. Erkeklerin boyu daha kısadır. Yumurtamsı beyaz renkli ve ovaldir. Kışı ergin halde toprakta, bitki artıkları arasında geçirir. Sıcak bölgelerde tüm mevsimlerde aktif olup, üremelerini sürdürerek zarar yaparlar. Çok hareketli böceklerdir. Dişi yumurtalarını teker teker bitki (yaprak) dokusu içine bırakır. Bir dişinin 80 kadar yumurta bıraktığı saptanmıştır. Partenogenetik olarak çoğalabildiklerinden erkek birey olmaması üremelerini engellemez. Yaz aylarında yumurtalar 4-7 günde açılır ve yumurtadan çıkan larvalar kısa bir süre sonra beslenmeye başlarlar. Larva, ergine benzer ancak kanatları gelişmemiştir. İki nimf, prepupa ve pupa döneminden sonra ergin duruma geçerler. Bir dölünü 26 °C'de 18 günde tamamlar. Ergin dişilerin ömrü bir ay kadar sürer. Seralarda uygun koşullarda yılda 10 döl, en fazla 15 döl verirler. Hem larva hem de ergin dönemlerinde zarar oluşturur. Ergin ve larvalar yaprakların alt yüzünde birlikte bulunurlar (Uygun vd. 2002; Birişik vd. 2015; Anonim 2016). Thripsler rahatsız edildiklerinde zıplayabilme ve uçabilme kabiliyetine sahiptirler. Sıcaklık arttıkça ömür kısalır. Birçok türde üreme, dölleme olmadan devam eder ve çıkan böcekler erkek bireyler olurlar. Thripslerin çoğalması genellikle yumurta ile olur fakat bazı türlerde canlı doğurmada mevcuttur. Thripslerin populasyonları ilkbahar ve yaz aylarında artar, sonbahar ve kış aylarında azalır. Uzun süre devam eden nemli havalar thrips populasyonlarının düşmesine sebep olur (Yılmaz 2002) (Şekil 2.3a, b, c, d).

Tripslerin ergin ve larvaları bitkilerin yaprak, sap ve meyvelerin epidermis tabakasını ağız parçaları ile yırtıp zedeler ve çıkan özsuyu emerek beslenirler. Bu bölgelerdeki hücreler ölür ve yaprakta boşalmış hücre boşluklarının hava ile dolmasıyla beyaz gümüşü renkte lekeler oluşur. Klorofilin yapısını bozarlar. Yapraklar gevrekleşir, kenarı kıvrılır, kırmızımsı yeşil bir renk alır. Bu nedenle, thripsler bitkilerin yaprak, çiçek, sürgün ve meyvelerinde deformasyonlara sebep olur. Dışkılarıyla yaprak altında siyah lekeler meydana getirir (Şevik 2008; Birişik vd. 2015). Sadece larva dönemindeki thripsler virüsü bünyesine alabilir, fakat hem larva hem de ergin thripsler etmeni taşıyabilme kabiliyetindedir. Virüs bünyeye alındıktan sonra ömür boyu thripsin bünyesinde kalır fakat yumurta yoluyla yavruya geçmez. Virüs, thripsin vücudunda çoğalır ve dolaşım sisteminde serbestçe hareket edebilir. Virüsün bir başka bitkiye taşınabilmesi için, vücudunda TSWV taşıyan thripsin en az 15 dakika konukçu bitki

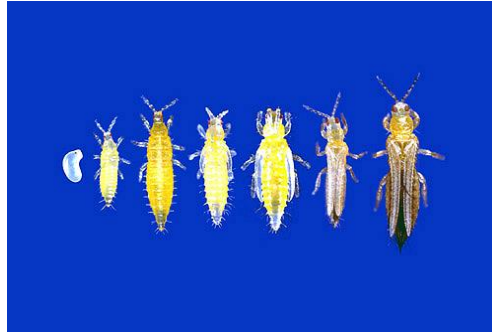
üzerinde beslenmesi gerekir (Yılmaz 2002). Trips bünyesine alınan virüs, türe bağlı olarak 3-10 gün arası bir latent periyoda sahiptir. Trips virüsü aldıktan sonra, en çok 22-30 gün süresince hastalığı taşıyabilme özelliğindedir. Vektör, yaşamı boyunca virüsü yumurtalarına aktarmadan bünyesinde bulundurmaktadır (Anonim 2006, 2018). TSWV virüslerle propagatif bir şekilde taşınır. Bununla birlikte, böcek içinde virüs enfeksiyonunun taşınması tam olarak anlaşılmamıştır. Birincil tükürük bezleri (PSG) ve tübüler tükürük bezleri (TSG) bu konuda rol oynamaktadır (Montero-Astua vd. 2016).



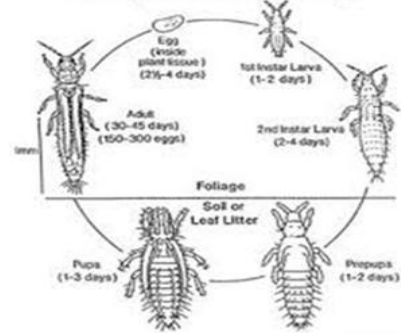
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 2.3. a) Batı çiçek thrips'i larva (<https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN108900.pdf> erişim t: 06.06.2019); **b)** Batı çiçek thrips'i ergin (Musa Kırışık); **c); d)** Batı çiçek thrips'inin hayat döngüsü (http://www.pestnet.org/fact_sheets/western_flower_thrips_183.htm erişim t: 07.06.2019)

Geniş bir konukçu listesine sahip olup, başta kanola, lahana, karnabahar, kavun, karpuz, kabak, hıyar, fasülye, bezelye, bakla, börülce, bamya, yerfıstığı, soğan, sarımsak, pırasa, pamuk, soya, biber, patlıcan, domates, patates ve tütün olmak üzere pek çok kültür bitkisinde zararlıdır (Uygun vd. 2002).

Thripsler için kültürel tedbir olarak zararlı ile bulaşık bitki artıkları imha edilmelidir. Toprak işlemesi ve yabancı ot mücadelesi yapılmalıdır. Fideliklerde ve tarlada ayrı ayrı mücadele yapılmalıdır. Fidelikler çoğu zaman bulaşma kaynağını oluşturduğu için fidelerin temiz olması gerekir. Fidelikler kuru bırakılmamalıdır. Hasattan sonra toprak üzerinde kalan bitki artıkları ve yabancı otlar imha edilmelidir. Seraların havalandırma açıklıkları küçük delikli tül ile kapatılmalıdır. Alüminyum folyo ile malçlama yapmak zararlı bulaşmasını engellemektedir. Zararlıının yoğun olduğu

yerlerde erken ekimden kaçınılmalıdır. Su stresi bitkileri zararlıya karşı daha duyarlı hale getirdiğinden yeterli sulama yapılmalıdır. Soya fasülyesi gibi tuzak bitki yetiştirmek suretiyle zararlının ürüne ulaşmasında etkili sonuç alınabilir (Birişik vd. 2015).

Zararlı ve hastalıklar ile mücadele genellikle sentetik kimyasal ilaçlar ile yapılıyor olsa da son on yıldır biyolojik mücadele çalışmaları bazı sebzelerde, özellikle biberde hız kazanmıştır. Antalya'nın Demre gibi bazı bölgelerinde başta Batı çiçek thrips'i olmak üzere zararlıların mücadelesi biyolojik ajanlarla yapılmaktadır (Kırışik ve Erler 2017). Bazı tıbbi ve aromatik bitkiler içerdikleri kimyasal maddelerle bazı zararlı böceklere karşı kaçırıcı, engelleyici ve toksik etki göstermesi nedeniyle zararlıların mücadelesinde kullanıldıkları bilinmektedir (Atakan ve Pehlivan 2019).

Adana'da, bazı trips türleri ve predatörlerinin yabancı otlar üzerinde mevsimsel yoğunluklarının tespit edilmesi amacıyla 2001-2002 yıllarında yapılan çalışmada, *F. occidentalis* 2001 yılında kış ve ilkbahar aylarında az sayıda, ağustos ve eylül ayında ise yüksek sayıda toplanmıştır. 2002 Yılında mayıs ayında sayıları artmış, sonraları azalmış, ancak eylül ayında yeniden yükselmiştir. Bu zararlı, 47 yabancı ot türünün 43'ünden toplanarak en fazla bulunan trips olmuştur (Çizelge 2.2). 2002 Yılında nisan-mayıs ayında % 60, haziran-eylül döneminde % 70 bulunma oranları ile en yaygın tür olmuştur. Çiçekleri bol ve sarı renkli yabancı otlarda daha fazla görüldüğü gözlenmiştir. Bahar aylarında çok sayıda yabancı ot türü üzerinde saptandığı için TSWV hastalığını yabancı otlardan kültür bitkilerine taşıma olasılığının yüksek olduğu bildirilmiştir (Atakan ve Uygur 2004).

Avustralya'nın Bowen bölgesinde 2016 yılında yapılan çalışmada thrips 12 yabancı ot çiçeğinde tespit edilmiştir. En fazla *Tribulus terrestris* ve *Passiflora foetida* yabancı otlarında görüldüğü bildirilmiştir. Aynı çalışmada, *Stachytarpheta jamaicensis* (yılan otu) bitkisinde TSWV yüksek seviyede bulunmuştur (Campbell vd. 2017).

Çizelge 2.2. *F. occidentalis*'in toplandığı bazı yabancı ot türleri (Atakan ve Uygur 2004)

Tür İsmi	Türkçe İsmi	Tür İsmi	Türkçe İsmi
<i>Ammi visnaga</i> L. Lam	Kürdan otu	<i>Isatistinctoria</i> L	Yabani çivit otu
<i>Amaranthus albus</i> L	Kızılbaşak	<i>Lamium amplexicaule</i> L	Ballıbaba
<i>Anthemis arvensis</i> L	Tarla köpek papatyası	<i>Matuo sylvestris</i> L	Yabani ebegümece
<i>Calendula arvensis</i> L	Portakal nergisi	<i>Mentha aquatica</i> L	Su nanesi
<i>Cardaria draba</i> L Desv	Yabani tere	<i>Portulaca o/eracea</i> L	Semiz otu
<i>Chenopodium album</i> L	Sirken	<i>Raphanus raphanistrum</i> L	Yabani turp
<i>Cyperus rotundus</i> L	Topalak	<i>Reseda lutea</i> L	Muhabbet çiçeği
<i>Erodium moschatum</i> L	Sapsız dönbara	<i>Sinapis arvensis</i> L	Yabani hardal
<i>Fumaria officinalis</i> L	Hakiki şahtere	<i>Trifolium repens</i> L	Ak üçgül
<i>Hypericum perforatum</i> L	Sarı kantaron	<i>Vida sativa</i> L	Adi fiğ

Atakan ve Uygur (2005), Akdeniz Bölgesi'nde *Frankliniella occidentalis* (Pergande), Thrips tabaci (Lindeman) ve *Frankliniella intonsa* (Trybom) (Thysan.

Thripidae) üç türü üzerinde yaptıkları araştırmada 2002-2003 yılları kış ve bahar dönemlerinde konukçu yabancı otlar üzerindeki varlıklarını incelemişlerdir. Toplanan thripsler % 77 oranında yetişkin olmakla birlikte *Frankliniella occidentalis* 49 yabancı ot türünden 43'ünde bulunmasıyla en fazla toplanan tür olmuştur. Bununla birlikte *F. occidentalis* sebze yetiştirilen alanlarda bulunan yabancı otlarda % 80 oranında toplanmasıyla baskın thrips özelliği göstermiştir. Bahar dönemi gözlemlerde de sırasıyla % 60 ve % 62 oranlar ile baskın olduğu rapor edilmiştir.

Atakan vd. (2013) tarafından Çukurova Bölgesi'nde TSWV epidemiyolojisinde *Frankliniella occidentalis* ve yabancı otların rolü araştırılmıştır. Çalışma 2004-2006 yıllarında Mersin'in Yeşiltepe ve Kazanlı bölgelerinde yürütülmüştür. Yüksek plastik tünel ve kafes deneylerinde yabancı ot türü olarak *Ranunculus muricatus*, *Melilotus officinalis*, *Sinapis arvensis* ve *Portulaca oleracea* kullanılmıştır. *F. occidentalis* ve thrips larvalarının yetişkinleri *S. arvensis* üzerinde diğerlerinden daha fazla bulunmuştur. Yabancı otlarda TSWV insidansı % 5 ile % 25 arasında değişmiştir. Biberde plastik tünel ve kafeslerde yapılan denemelerde *F. occidentalis* tarafından yabancı otlardan TSWV'nin taşınma hızı % 33 ile % 83 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Birçok ülkede *F. Occidentalis* mücadelesinin insektisidlere dayalı olduğu bildirilmektedir. Bununla beraber bu türle kimyasal mücadelenin başarı şansı oldukça düşüktür. Yumurtanın bitki dokusu içinde olması, larva ve erginlerin çiçeklerin iç kısımlarında ve pupanın toprak veya bitki üzerinde korunan noktalarda bulunması bu türü insektisid uygulamalarından korumaktadır. Zararının zorluk çıkaran biyolojisine ilave olarak birçok popülasyonunun farklı gruplardan çok sayıda insektiside direnç geliştirmiş olması kimyasallarla mücadelede başarıyı daha da zorlaştırmaktadır (Dağlı ve Tunç 2006).

Dağlı ve Tunç (2006) tarafından yapılan bir çalışmada laboratuvar testleriyle *Frankliniella occidentalis* (Pergande)'in 5 farklı gruptan insektisid; abamectin, cypermethrin, endosulfan, malathion ve methomyl'e karşı davranışsal tepkileri ile bu ilaçların yaprak dokularına nüfuzlarına ve kalıntı etki sürelerine bağlı olarak etkinlikleri araştırılmıştır. Tümü ilaçlı disklerde elde edilen ölüm oranları %100'e yaklaşırken yarısı ilaçlı yaprak disklerinde elde edilen ölüm oranları; methomyl, abamectin, malathion, endosulfan ve cypermethrin için sırasıyla %100, %87, %82, %37 ve %32 olmuştur. Davranışsal tepkilerle ilgili bu sonuçlara göre *F. occidentalis*'in cypermethrin ve endosulfan uygulanan alanlardan davranışsal olarak sakındığını (davranışsal direnç) belirlemişlerdir. Yapılan çalışma sonunda; methomyl ve abamectin gibi sistemik ve translaminar insektisidlerin uygulanma aralıkları düzenlenmek suretiyle diğer 3 sınıf insektiside oranla daha başarılı olabileceği sonucuna varmışlardır.

Batı çiçek tripsinin insektisitlere karşı direnç kazanmasıyla ilgili olarak yapılan bir araştırmada; Avustralya popülasyonlarında, 2003-2006 yıllarında 16 farklı kimyasal ile yürütülmüş olan çalışma sonucunda abamectin, acephate, chlorpyrifos, dichlorvos, endosulfan, fipronil, malathion, methidathion, methiocarb ve methomyl kimyasallarına karşı düşük seviyede direnç tespit edilmiştir. Ancak endişe verici şekilde, α -cypermethrin (25x) ve spinosad (87x) kimyasallarına karşı yüksek düzeyde direnç tespit edildiği bildirilmiştir. Spinosad kimyasal maddesinin batı çiçek trips kontrolü için en fazla kullanılan tescilli ürün olması nedeniyle, bu durumun zararlıyı kontrol stratejisini ciddi şekilde tehlikeye attığı ifade edilmiştir (Herron ve James 2007).

Frankliniella occidentalis (Pergande) türünde, Antalya-Kumluca ilçesi biber seralarından alınan Antalya 2015 popülasyonunda acrinathrin ve spinosad'a karşı duyarlılık düzeyleri araştırılmıştır. Yaprak daldırma yöntemi kullanılan çalışmada ergin dişi thripsler 2 gün boyunca ilaç kalıntılarına maruz bırakılmıştır. Spinosad tavsiye dozunda (96 mg/l etkili madde) ve bunun 1/10 katında hassas popülasyonda % 100 ölüm görülürken, aynı dozlarla Antalya 2015 popülasyonunda % 30 ve % 2 düzeyinde ölüm görülmüştür. Bu sonuç; popülasyonun spinosad'a karşı önemli düzeyde dirençli olduğunu göstermektedir. Achrinathrin tavsiye dozunda (60 mg e.m./l) ise aynı popülasyonda % 88 oranda ölüm görülmüştür. İlerleyen süreçte *Frankliniella occidentalis* popülasyonlarının acrinathrin'e de direnç kazanabileceği öngörülmektedir (Dağlı 2016).

Tripslerin doğada zaman zaman popülasyonunu baskı altında tutan doğal düşmanları vardır. Ülkemizde avcı olarak *Aelothrips* spp. (Thysanoptera: Aelothripidae), *Chrysoperla curnea* Steph. (Neuroptera: Chrysopidae), *Daraeocoris* spp. (Hemiptera: Miridae), *Nabis* spp. (Hemiptera: Nabidae) ve *Orius* spp. (Hemiptera: Anthocoridae) ile parazitoiti olarak *Thripoctenus* spp. (Hymenoptera: Eulophidae)'nin varlığı tespit edilmiştir (Uygun vd. 2002). Doğal düşmanlardan özellikle *Orius* spp. Biyolojik mücadele açısından önemlidir. Küçük yapraklı bitkilerde bitki başına 10 trips ergin+larva, büyük yapraklı bitkilerde bitki başına 20 trips ergin+larva veya bir çiçekte 5 trips olduğunda kimyasal mücadele olarak bu zararlı için ruhsatlı ilaçlar önerilmektedir (Uygun vd. 2002; Anonim 2016). Tripslerin doğal düşmanı olarak birçok tür tespit edilmiştir. Bu türler içerisinde *Amblyseius cucumeris* (Oudemans) ve *A. swirskii* Athias-Henriot (Acarina: Phytoseiidae) daha çok thripsin larvaları ile *Orius* spp. (Hemiptera: Anthocoridae) ise thripsin erginleri ile beslenmektedirler. Özellikle, örtüaltı biber yetiştiriciliğinde ticari olarak kullanılmaktadırlar (Kırışık ve Erler 2017).

Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde, 2003-2005 yılları arasında batı çiçek thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande)'e karşı uygun avcı ve salım yoğunluğunun belirlenmesi için patlıcan serasında çalışma yürütülmüştür. *Orius niger* Wolff ve *O. laevigatus* Fieber avcıları yetiştirme dönemi başında salımı yapılmış olsa da thrips popülasyonunu baskılamada yetersiz kalmıştır. İkinci yıl bahar döneminde tekrar salımlar yapılmıştır. Sonuçlar *O. laevigatus*'un *Orius niger*'e göre daha etkili bir avcı olduğunu göstermiştir. Ekim ve mart aylarında 6 ergin/m² yoğunluğunda iki salımın zararlıyı kontrol ettiği bildirilmiştir (Keçeci ve Gürkan 2013).

Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerde thripslerle birlikte saptanan avcı böcek türleri üzerine, 2013-2014 yıllarında Adana'da yapılan bir çalışmada dokuz familyaya bağlı 13 bitki türü incelenmiştir. Çalışma sonunda 11 Thysanoptera türü tespit edilmiştir. Çoğunluğu Anthocoridae (Hemiptera) türleri olmak üzere 6 avcı böcek türü görülmüştür. Thrips türleri içinde en yaygın *Thrips tabaci* Lindeman (%34), avcı türlerden de *Orius niger* (Wolff) % 69, *Orius laevigatus* (Fieber) %24 ve *Orius majusculus* (Reuter) (Hemiptera takım/Anthocoridae familya) %1,5 oranlarında tespit edilmiştir. İncelenen bitki türleri arasında *Lantana camara* (Mine çalısı) bitkisinin çok sayıda zararlı ve faydalı türe konukçuluk ettiği görülmüştür. *Ocimum basilicum* zararlı thripsler için uzaklaştırıcı, *Orius* spp. için cezbedici etki göstermiştir. Avcı böcekler için banker olarak kullanılabilirliği düşünülmüştür (Atakan ve Pehlivan 2018).

2.2.4. TSWV Hastalığının mücadelesi

Bitki virüslerine karşı bilinen kontrol yöntemleri genellikle virüsten doğan kayıpları mümkün olduğunca en aza indirmek için virüsü üretim materyali veya alanından uzaklaştırmak ve vektörlerinin yayılmasını önlemekle sınırlı kalmaktadır. Vektörlerin kimyasallarla kontrol altına alınmasıyla bitki virüslerinin yayılması önlenmesine karşın, vektörlerin bu kimyasal maddelerden etkilenme oranlarındaki değişiklikler veya kimyasal uygulamalarında yapılan hatalardan dolayı ortaya çıkan dayanıklılık ve çevre problemleri gibi sorunlar bu yöntemin kullanımında büyük engeller olarak karşımıza çıkmaktadır (Çandar ve Gümüş 2012).

Bitkiler hastalığa yakalandıktan sonra hasta bitkileri tedavi etmek mümkün değildir. Taşıyıcısı olan thripsleri öldürerek virüsü kontrol altına almakta oldukça zor bir iştir. Hastalığın kontrolünde doğrudan kimyasal mücadele bulunmamaktadır. Oldukça sağlıklı görünen bitkilerden tohum alınmalıdır. Tohumla taşınmayan virüs hastalıklarında bile hasta bitkilerden alınan tohumların çimlenme güçlerinin düşük olduğu saptanmıştır. Bu nedenle, birden fazla yöntemin entegre olarak uygulanması gerekmektedir. Mücadele yöntemlerinin başında sağlıklı üretim materyali kullanılması ve hastalığa dayanıklı veya tolerant çeşitlerin yetiştirilmesi gelmektedir (Fletcher 1989; Boiteux 1995; Yılmaz 2002; Margaria vd. 2007; Scholthof vd. 2011; Şevik 2011, 2015; Kim vd. 2017; Campbell vd. 2017; Çelik vd. 2018).

Doğada TSWV'nin yayılmasında en önemli rolü trips vektörler üstlenmektedir. Bu amaçla virüs ile mücadelede, vektör trips türlerinin mücadelesi oldukça önem kazanmaktadır. Thripsle mücadele etmek oldukça zor olmakla birlikte yinede bazı insektisitleri kullanarak trips ve dolaylı olarak TSWV yoğunluğu bir miktar azaltılabilmektedir (Uygun vd. 2002; Şevik 2008; Campbell vd. 2017). Buna rağmen, thripslerin son yıllarda bazı insektisitlere karşı direnç kazandığı da bildirilmektedir (Dağlı 2016). Thrips ile mücadelede biyolojik mücadele ajanlarının kullanılmasının hız kazandığı bildirilmiştir (Kırışık ve Erler 2017).

Fidelikler, özellikle süs bitkileri ve yabancı otların bulunmadığı alanlarda kurulmalıdır. Hastalıklı bitki tespit edildiğinde, hemen sökülerek uzaklaştırılmalıdır. Duyarlı konukçular arasında yer alan süs bitkileri, bu tip seraların yakınında yetiştirilmemelidir. Seraların iç ve dış alanlarında yabancı otların yok edilmesi hem infeksiyon kaynağı olarak ve hem de trips popülasyonunu artırmaması açısından oldukça önemlidir. Mümkünse konukçusu olmayan bitkiler ile münavebe yapılmalıdır. Seralar, dikim sonrasında mümkün olduğunca sık kontrol edilmeli ve içeriye asılacak sarı yapışkan tuzaklar ile trips varlığı sık sık takip edilmelidir. Seraların tüm kapı ve havalandırma açıklıkları tripslerin giremeyeceği delik çapına (0.2-0.3 mm) sahip tüller ile kapatılmalıdır. Işığı yansıtan malçların kullanımı, tamamen yok etmese de trips popülasyonunu düşürmede faydalı olabilir (Anonim 2006; Şevik 2011, 2015). Biyolojik mücadele olarak; predatör akar *Neoseiulus cucumeri* ve predatör böcek *Orius spp.* türleri virüslere karşı başarılı şekilde kullanılmaktadır (Şevik 2015; Kırışık ve Erler 2017).

Batı çiçek thripsi (*Frankliniella occidentalis*) ile taşınan TSWV, kuzey Florida ve Güney Georgia' da domateslerde başlıca hastalıklardan birisi olduğu, vektörü olan Thrips kontrolünde kullanılan insektisitlerin hastalığın önlenmesinde etkili olmadığı,

ayrıca insektisitlerin entegre mücadelede kullanılmadığı belirtilmiştir. TSWV' nin önlenmesinde UV'yi yansıtan malç örtüler, (acibenzolar-methyl) actigard gibi malzemelerin kombine ve ayrı kullanılmasının etkili olduğu rapor edilmiştir (Momol vd. 2002).

2.3. TSWV Hastalığına Karşı Dayanıklılığın Kalıtımı ve Dayanıklılık Çalışmaları

TSWV hastalığına karşı hipersensitiv (aşırı duyarlılık) reaksiyon dayanıklılık tek dominant ve sembolü *Tsw* olan gen, *Capsicum chinense* Jacq. türüne ait "PI152225", "PI159236" (syn. "CNPH679"), "PI159234", "7204", Peruvian cv. "Panca" (syn. "CNPH275") aksesyonlardan elde edilmiştir (Black vd. 1991; Boiteux ve de Avila 1994; Hobbs vd. 1994; Nuez vd. 1994; Roggero vd. 1996; Moury vd. 1997, 1998, 2000; Jahn vd. 2000; Grube vd. 2000; Cebolla-Cornejo vd. 2003; Suzuki vd. 2003; Wang ve Bosland 2006; Lovato vd. 2008).

C. chinense türünden "PI152225" ve "PI159236" aksesyonlarındaki dayanıklılığın aynı *Tsw* geni tarafından kontrol edildiği belirlenmiştir (Boiteux 1995). *Capsicum chinense* türünde dayanıklı PI 159236 (CNPH679) ve *C. annuum* türünden hassas "Magda" (CNPH192) ebeveynlerin melezlenmesi ile TSWV izolatına dayanıklılık sağlanmıştır. TSWV'e karşı tek dominant *Tsw* geninin dayanıklılığı kontrol ettiği bulunmuştur (Boiteux ve de Avila 1994). *Tsw* geni 10. Kromozom üzerinde haritalanmıştır (Jahn vd. 2000). TSWV dayanıklılığını kıran izolatın ortaya çıkmasından sonra yeni gen tespit çalışmalarında önce *C. chinense* (Hoang vd. 2013), sonra da *C. baccatum* türlerinde dayanıklılık görüldüğü rapor edilmiştir (Solar vd. 2015).

Moleküler markörler çevre şartlarından etkilenmediklerinden ıslah çalışmalarında çok faydalı olabilmektedirler. Diğer taraftan, heterozigot bitkilerde resesif genlerin markörlerle takibi mümkündür. Seleksiyon ve gen kalıtımının takibinde moleküler markörlerin kullanımının en büyük avantajı şüphesiz doğal enfeksiyon veya olumsuz çevre şartlarının oluşturulmasına gerek kalmadan daha kesin sonuçların alınabilmesidir. Moury vd. (2000) TSWV hastalığı için *C. Chinense* türünden olan PI 152225 ve *C. Frutescens* türünden olan PI 195301 arasında türler arası melez popülasyonunu kullanarak *Tsw* genine bağlı dört adet RAPD (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA) markırı tespit etmişler ve bunlardan gene en yakın olanını, spesifik kodominant olan CAPS (Kesilmiş çoğaltılmış polimorfik diziler-Cleaved amplified polymorphic sequence) işaretleyici SCAC568'e dönüştürmüşlerdir. Bu işaretleyici, *Tsw* geni ile bağlantılı bulunarak (0.9 ± 0.6 cM) ıslah çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır. *Tsw* geni 10. Kromozomda haritalanmıştır (Moury vd. 2000; Jahn vd. 2000). Biberde *Tsw* geni ve domateste *Sw-5* gen arasındaki ilişki incelendiğinde fenotipik ve genotipik benzerlik olmasına rağmen, farklı viral gen ürünlerinin enfeksiyonu kontrol ettiğini ve bu lokusların yakın bir evrimsel atayı paylaşmadıkları bildirilmiştir (Jahn vd. 2000).

İtalya'da yapılan çalışmada biberde TSWV dayanıklılığı bulunan PI152225 genotipinde devam eden 30 °C ve üzerindeki yüksek sıcaklığın yüksek duyarlılık dayanıklılığını (hipersensitiv reaksiyon-HR) kırdığı bildirilmiştir. Bitkide bulunan dayanıklılığın (hipersensitiv reaksiyon-HR) sıcaklık ve fizyolojik bitki koşullarından etkilendiği bildirilmiştir (Roggero vd. 1996). "Olgun bitki direnci" nin de bitkilerin

gelişim evrelerinde sınırlı bir şekilde dayanıklılık sağlaması bitkilerin genel bir özelliği olabileceği ifade edilmiş, ancak mekanizmasının fazla tartışılmadığı ifade edilmiştir.

Moury vd. (1998) tarafından yapılan çalışmalarda TSWV dayanıklılığı ile sıcaklığın ilişkisi de araştırılmıştır. Genç bitki aşamasında yüksek sıcaklığın (32 °C) etkisinde kalan bitkilerin dayanıklılığının dengesiz hale geldiği tespit edilmiştir. Tamamı dayanıklı olan bitkiler yüksek sıcaklık şartlarında uzun süre bırakılınca düşük sıcaklıktaki (22 °C) bitkilere göre sistemik ve nekrotik belirtilerin yayıldığı belirlenmiştir. Yüksek sıcaklıkta genç bitkilerde dayanıklılık azalırken, daha yaşlı bitkilerde ise nadiren sistemik belirti geliştiği gözlenmiştir. Ayrıca, populasyon açılımlarında heterozigot *Tsw* lokus varlığında inokulasyon yapılan fidelerde sistemik nekrotik belirtilerin oluşma şansının arttığını belirtmişlerdir. Yüksek sıcaklık şartlarında homozigot dayanıklı çeşitlerin tercih edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. İklim şartları dikkate alınmaksızın alternatif olarak markır yardımcı seleksiyon yapılmasını tavsiye etmişlerdir. Başka bir çalışmada da klasik testleme ortamı olarak büyütme odasının 22 °C sıcaklık, 12 saat fotoperiyot ve % 60 nem şartları karşılması gerektiği ifade edilmiştir (Moury vd. 1997). Dayanıklılıkta homozigot ve heterozigot gen kalıtımı önemlidir. Homozigot genlere sahip olan hat ve çeşitler heterozigot olanlara kıyasla daha yüksek dayanım gücüne sahip olduğundan, yüksek sıcaklıklarda homozigot çeşitlerin yetiştirilmesi tercih edilmelidir.

Kim vd. (2008) araştırmacılar, Kore'de TSWV'ye dayanıklı çeşit geliştirmek için marker yardımcı ıslah programı oluşturmuşlar ve 6 dayanıklı, 11 hassas materyal kullanmışlardır. Dayanıklı materyal olarak *C. chinense* olan PI152225 ve PI159236 genotipleri kullanılmıştır. 5 RAPD ve 1 CAPS marker kullanılan çalışmada, CAPS marker SCAC₅₆₈ dışında hiçbir markır dayanıklı ve hassas arasında polimorfizm göstermemiştir. SCAC₅₆₈ Zeraim'in üç dayanıklı çeşidi ve hassas çeşitler arasında polimorfizm sağlamıştır. Zeraim'in Baltasar, Dalias, Fortunato ve Enza Zaden Şti.'nin Gandal, Jairan ve Telmo çeşitleri dayanıklı bulunmuştur. Bu çalışma ile SCAC₅₆₈ kullanılarak dayanıklı çeşit geliştirilebileceği bildirilmiştir.

Sıcaklığın TSWV dayanıklılığı ile ilişkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada de Ronde vd. (2019), *Tsw* bazlı dayanıklılığı sıcaklığa bağlı bir şekilde kıran yeni bir TSWV izolatu incelemişlerdir. *Capsicum chinense*'den domates lekeli soluk ortophotospovirus'e (TSWV) karşı tek baskın *Tsw* direnç geni sıcaklığa duyarlı, yani direnç 32 ° C'de veya üzerinde çalışmaz. Bu çalışma, T <28 ° C'de *Tsw* kaynaklı direnci başlatan ancak T ≥ 28 ° C'de bu direnci kıran yeni bir sıcaklığa duyarlı direnç kıran TSWV izolatu sınıfını açıkladığını bildirmişlerdir. Bu izolatlardan gelen NS'lerin genleri klonlanmış ve RNA susturma baskılayıcı (RSS) aktivitesi ve *C. chinense* ve *Capsicum annuum*'da (*Tsw* +) bir *Tsw* aracılı aşırı duyarlılık tepkisi (HR) başlatma kabiliyeti için analiz edildiği ifade edilmiştir. Bu çalışma ile yetiştiriciler ve yetiştiriciler için önemli olabilecek ve altta yatan mekanizmanın hala bilinmediği yeni bir direnç sınıfı TSWV izolatu olduğu rapor edilmiştir.

Yeni dayanıklı gen arayışı içindeki bazı araştırmacılar, Kore'de 2006 yılından beri seralarda yetiştirilen dolma biberlerde ciddi TSWV enfeksiyonu olduğunu, bu nedenle TSWV hastalığına karşı yeni bir dayanıklılık kaynağının tanımlanmasının gerekli olduğunu ifade etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, 6 *Capsicum* türünden (*C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum*, *C. pubescens*, *C. chacoense*) 517

aksesyon ve 30 ticari çeşitten oluşan germplasm koleksiyonu TSWV_{Pap} izolatına karşı test edilmiştir. Çalışmalar sonunda *C. chinense* türüne ait “AC09-207” aksesyonunda dayanıklılığı sağlayan tek baskın bir gen tespit edilmiştir. DAS-ELISA testi ile TSWV enfeksiyonu oluşmadığı doğrulanmıştır. Bu direnç geni bilinen diğer “PI152225”, “PI159236” ve “PI159234” dayanıklılık kaynakları ile karşılaştırılmıştır. Nekrotik belirti zamanı ve sayısı “PI152225” aksesyonuna benzerken diğerlerinden farklı bulunmuştur. Yeni dayanıklılık geni ve *Tsw* arasında allelizm testi de yapılmıştır. Kalıtım çalışmasında, *C. annuum* “Jeju” çeşidi türlerarası melezlemede hassas ebeveyn olarak kullanılmıştır. Bilinen üç dayanıklılık kaynağından türetilen F₁, F₂ ve geriye melez populasyonlarında rekombinasyon elde edilememiştir. Genetik analizde SCAC₅₆₈ markır (Moury vd. 2000) kullanılmıştır. Araştırmacılar, yeni dayanıklılık geni hakkında *Tsw* lokusunda farklı bir allel ya da *Tsw* genine sıkıca bağlı farklı bir dayanıklı gen (grubu) olabileceğini rapor etmişlerdir (Hoang vd. 2013).

Soler vd. (2015) tarafından İspanya- Valencia’da yeni dayanıklı gen bulunması amacıyla seçilen *C. baccatum* kaynaklı PIM26-1 aksesyonu ile *Tsw* geni bulunan PI159236 ve hassas Negral çeşidine TSWV yabani tip WT ve dayanıklılığı kıran TBR izolatları ile biyolojik testleme yapılmıştır. Hastalığa karşı direnç seviyesi, hayatta kalma seviyesi ve tolerans seviyeleri belirlenmiştir. Her üç materyal inokulasyondan itibaren 7, 14, 21 ve 28 gün sonra incelenmiştir. PIM26-1’de hastalığa karşı direnç Negral çeşidinden daha yüksek, dayanıklı PI159236 ile aynı seviyede bulunmuş, ancak PIM26-1 toleransının PI159236’dan yüksek olduğu görülmüştür. Bitkilerin hiçbirinde belirti gelişmemiştir. Araştırmacılar biber çalışmalarında yeni dayanıklı aksesyon PIM26-1’un dayanıklılığı kıran TSWV hastalığına karşı kullanılabilir iyi bir aday olduğu sonucuna varmışlardır. Ancak, daha sonra bu gen kaynağı kullanılarak geliştirilen dayanıklı çeşit bildirilmemiştir.

Tüm dünyada *Tsw* dayanıklılığını kıran TSWV hastalığına karşı yeni dayanıklı kaynak-gen çalışmaları hem kamu hem de özel sektör araştırmacıları tarafından sürdürülmektedir. Bilimsel alanda sonuçlarına yayın olarak rastlanmasa da bir grup araştırmacı tarafından özel sektör firması (NUNHEMS B.V.) adına TSWV dayanıklılığını kıran patotipe karşı dayanıklı genotip sağlandığı konusunda Amerika Birleşik Devletleri’nde patent işlemi yaptırılmıştır. Araştırmacılar tarafından dayanıklılığı kıran TSWV ırkı Ve427^{RB},na karşı dayanıklı *Capsicum annuum* türünde bitki geliştirildiği bildirilmiştir. Çalışmanın amacının, NSs proteinindeki mutasyonları içeren, *Tsw* dayanıklılığını kıran ırklara karşı, *Tsw* geninden farklı dayanıklılık geni içeren bitkileri elde etmek olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, hem *Tsw* genine sahip hem de dayanıklılığı kıran patotipe karşı dayanıklı olan bitki geliştirilmesi hedeflenmektedir. TSWV ırkı Ve427^{RB},na karşı dayanıklılık kaynağı olan genotip PA2638 (genetik orijini NCIMB 41963 aksesyonu) olarak bildirilmiştir. Ancak, bu genotipte bilinen *Tsw* geninin bulunmadığı moleküler yöntem ile doğrulanmıştır. Sonuç olarak, bu genotipin var olan tüm TSWV ırklarına dayanıklılık sağlaması için üzerinde ıslah çalışmaları yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Van Leeuwen vd. 2017).

Kore’de yapılan başka bir çalışmada araştırmacılar tarafından, Solanaceae türlerinde en yıkıcı virüs patojenleri olan potyviruslere ve TSWV’ye karşı iki direnç genleri, bağımsız segregasyon populasyonları kullanılarak genom destekli yaklaşımlarla klonlanmıştır. Genler iki farklı *Capsicum* türünden gelse de çalışma iki genin yapı bakımından çarpıcı şekilde benzer olduğunu ortaya koymuştur. Ortak bir ataya ait aynı

progenitör genden ayrıldıklarını fakat yapısal olarak alakasız viral efektörleri tanıdıkları görülmüştür. Bu sonuçlar, NLR genleri içerisinde dizi çeşitlendirmesi yoluyla spesifik efektör tanıma aktivitesinin kazanılmasına dair evrimsel kavrayışlar sağlamaktadır. Araştırmacılar, *Tsw* geninin konumunu daha kesin olarak belirlemek için, domates ve biber genlerinden elde edilen bilgileri kullanarak, *Tsw* bölgesinde yüksek yoğunluklu bir bağlantı haritası geliştirmişlerdir. Biberde karşılık gelen sekanslarını elde etmek için TG420 ile TG408 arasındaki *Tsw* sınırlayıcıları arasındaki domates sekansları kullanılmıştır. Genom bilgisinden türetilen moleküler markerler kullanılarak, *Tsw* bölgesi 2671-1 (0.35 cM) ve 1983-1 (0.23 cM) arasında sınırlandırılmıştır. Aday gen sekansları kullanılarak geliştirilen dört ek markör NB575m, NB309m, NB509m ve NB296m ile genetik analiz, *Tsw*'nin 7715-1 ve 1983-1 markörleri arasındaki aralıkta bulunduğunu doğruladığını bildirmişlerdir (Kim vd. 2017).

Viral patojenlerin bitkisel üretimde oluşturduğu tehdit, viral genomların dinamik doğasının ve vektör organizmaların küresel iklim değişikliğine adaptasyonunun bir sonucu olarak dünya çapında gelişen bir sorundur (Kim vd. 2017). Bitkiler yaşadıkları ortamda çeşitli hastalık ve zararlı etmenler (virüs, bakteri, fungus, nematod vb) tarafından saldırıya uğramaktadırlar. Bitki konukçusu olduğu hastalık ve zararlı etmenin hücre içine girmesini engelleyici veya hücre içine girmeyi başarmış etmenin çoğalması ve yayılmasını önleyebilecek kimyasal silahlara (antimikrobial bileşikler, enzimler, yapısal savunma engelleyicileri vb) sahiptirler. Bununla birlikte, bitkilerde en etkili savunma olayı, patojen tarafından üretilen avirülens (Avirulence, *Avr*) proteinleriyle bunlara karşılık gelen bitkilerdeki dayanıklılık (Resistance, *R*) genleridir. Dayanıklı genler, potene karşı dayanıklılığı kontrol eden en önemli yapısal proteinlerdir (Devran 2003). Savunma mekanizmalarından en çok görüleni aşırı duyarlılık reaksiyonları (hypersensitive response, HR)'dır. Bu reaksiyonda, virüsün ilk enfeksiyon yaptığı bölgenin etrafını saran hücrelerde programlı bir hücre ölümü görülür ve virüs yayılamayıp, inaktif olur. Bitkide de lokal lezyonlar ortaya çıkar. Bu HR cevabının ortaya çıkmasından önce virüs ve bitki arasında spesifik bir tanıma durumunun ortaya çıkması gerekir (Yeşil ve Ertunç 2012). Bu durum konukçu- patojen ilişkileri açısından incelendiğinde, patojenlerin *Avr* genlerinin ürünleri, konukçunun *R* geninin proteini tarafından tanınmaktadır. Sonra, bu *R* (Recognition) genleri (gene karşı gen) fosforilasyon yoluyla diğer genleri harekete geçirerek bitkideki tepki ve savunma mekanizmasını aktif hale getirmektedir (Agrios 1988; Tör 1998; Goldbach vd. 2003).

Bitki dokusu üzerine kitle halinde dahi yerleştirilmiş olsalar, virüsler, viroidler ve fitoplazmalar kendi kendilerine hücreye giriş yaparak asla bir enfeksiyonu başlatamazlar. Virüslerin konukçu bitkide enfeksiyonu başlatabilmeleri için mutlaka canlı hücre içerisine girmiş olmaları gerekir. Aksi takdirde hiçbir zaman hastalık yapma yeteneğine kavuşamazlar. Virüslerin ve viroidlerin tarla koşullarında büyük epidemilere neden olabilmeleri, virüslerin ancak çok etkili ve dinamik vektörlerinin varlığı ve taşınma yöntemlerinin şekli ile izah edilebilir. Bir virüs enfeksiyonunun epidemik boyutlara ulaşabilmesi için konukçu bitkinin duyarlı, patojenin saldırgan, vektörün etkin, çevre koşullarının ise hastalık lehine uygun olması gerekir. Bitkide enfeksiyon ortaya çıkmamış ise; Bağışıklık, Dayanıklılık, Tolerans ve Aşırı Duyarlılık gibi dört farklı olasılık karşımıza çıkmaktadır. Dayanıklılıkta; bitkinin bir hastalık etmeni ile karşılaşması durumunda, enfeksiyona karşı koyabilmesi ya da konukçu-patojen interaksiyonunun bitkinin yararına değişmesi gerekir. Dayanıklılık, bitkide kalıtsal bir

nitelik olmakla birlikte, bazen sonradan kazanılmış da olabilir. Kalıtsal dayanıklılık tek bir gen ile ya da çok sayıda gen ile yönetilir. Tek gene bağlı olduğunda bu tek gen ayrıntılı biçimde incelenip tanımlanabilir. Dayanıklılık, sadece konukçu bitkide bir dayanıklılık geninin bulunmasına bağlı olmayıp parazit mikroorganizmanın kalıtsal niteliklerine de bağlıdır. Temelde hastalığın durumunu, konukçu ile patojenin kalıtsal nitelikleri arasındaki ilişki belirlemektedir. Dayanıklılığın büyük çapta kalıtsal nitelikli oluşu ona aynı zamanda sürekli bir değişim özelliği de vermektedir. Konukçu bitkinin ve patojenin kalıtsal varyasyon kaynakları dayanıklı çeşitlerin zamanla bu niteliklerini yitirmelerine yol açmaktadır. Böylelikle, patojende yeni ırkların doğmasına yol açan olaylar, bir bitkinin belirli bir hastalığa uzun yıllar dayanıklı kalma olanağını ortadan kaldırmaktadır (İlbağı ve Çıtır 2006). Patojenler hayatını devam ettirmek isteyen ve bitkileri tamamıyla istila edebilmek için konukçunun potansiyel dayanıklılık mekanizmasını kırmaya çalışacaktır. Bunun için, ya yeni bir ırkını oluşturacak (mutasyon, rekombinasyon, heterosis veya paraseksüel döngü yollarıyla) ya da başka bir yolu deneyecektir. Bu durum doğal koşullarda sürekli devam etmektedir. İslahçının piyasaya sürdüğü dayanıklı çeşitler birkaç yıl içerisinde patojenler tarafından aşılmaktadır (Tör 1998).

Bitki virüsleri, dünyada tarımsal ürünlerde hastalık yapan patojenlerin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Virüsler, bitkilerde gelişmeyi engeller, kaliteyi bozar ve verimin düşmesine neden olarak zarar verir. Bitkilerde virüslere karşı dayanıklılığın birçok mekanizması bulunmaktadır. Bu mekanizmalar; yapısal, biyokimyasal ve genetik dayanıklılık mekanizmalarıdır. Özellikle, genetik dayanıklılık mekanizmaları hakkında çok sayıda araştırma yapılmıştır. Virüs hastalıklarıyla mücadelenin en etkin yolu dayanıklı çeşit oluşturmak ve kullanmaktır. Yapısal dayanıklılık; daha çok bitkinin fizyolojik olarak meydana getirdiği tepkileri ve olgun bitki dayanıklılığını içermektedir. Biyokimyasal dayanıklılık; enfeksiyon öncesi mevcut biyokimyasal maddeler ve enfeksiyon sonrası oluşan maddeler olmak üzere iki şekilde ortaya çıkmaktadır. Enfeksiyon öncesi; virüs biyosentezini engelleyen 2RIP (2 Ribozom inaktive edici protein), enfeksiyon sonrası; biyokimyasal moleküller, salisilik asit, reaktif hidrojen türevleri (ROS) ve nitrik oksit (NO)'tir. Bu moleküller dokularda dayanıklılığı başlatıcı dayanıklılık sinyallerini oluşturmaktadır. Genetik dayanıklılık; nesilden nesile aktarıldığı ve ıslah programlarında kullanılabilirdiği için önemlidir. Bitki virüslerine karşı dayanıklılık, yatay (horizontal) ve dikey (vertikal) dayanıklılık olmak üzere ikiye ayrılır. Yatay dayanıklılığa kantitatif dayanıklılık da denmekte ve çok genle idare edilen virüse özel olmayan dayanıklılıktır. Dikey dayanıklılık ise, tek gen aracılığıyla sağlanan dayanıklılıktır. Dayanıklılığı kontrol eden genler genetik yapısı bakımından dominant ve resesif özellik olarak sınıflandırılır (Çandar ve Erkan 2011).

2.4. Markır Yardımlı Seleksiyon (MAS) ve Biberde dayanıklılık ile İlgili Moleküler Çalışmalar

Biyoteknoloji, günümüzde en popüler ve yeniliklere açık bilimsel alanların başında gelmektedir. Bitki biyoteknolojisi de bu alanlardan biridir ve bu alanda kullanılan moleküler markör teknolojileri çok önemli bir biyoteknolojik araç olarak karşımıza çıkmaktadır. Moleküler markör ile genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilgili DNA parçası temsil edilmektedir. Polimer Zincir Reaksiyonunun (PCR) keşfinden sonra çok sayıda moleküler markör teknikleri geliştirilmiştir. Bu markör teknolojileri fiziksel haritalama, gen keşfi ve etiketleme, filogenetik çalışmalar,

evrimsel genetik ve genetik çeşitlilik çalışmaları gibi pek çok alanda etkin şekilde kullanılmaktadırlar. Germplazm kaynaklarının genetik çeşitlilik seviyesinin değerlendirilmesinde, elit genotiplerin korunması ve belirlenmesinde, özellikle de kültür bitkilerinin ıslahında moleküler markörlerin katkısı çok önemlidir. Moleküler markörler bitki biyoteknolojisi çalışmalarına çok önemli boyutlar kazandırmış, daha etkili ve hızlı bilimsel sonuçların alınmasına imkân sağlamıştır (Filiz ve Koç 2011).

Dayanıklılık ıslahının amacı üzerinde çalışılan hastalık veya zararlı etmene karşı dayanıklılığı sağlayan gen veya genleri belirlemek, bunları ıslah programında kullanarak dayanıklı bireyler elde etmektir. Islah programında en büyük zorluk ebeveynlerin (duyarlı ve dayanıklı bireyler) melezlenmeleri sonucu elde edilen dayanıklı bireylerin belirlenmesidir. Bu seçim işlemi geleneksel yöntemler ile yapıldığında zaman almakta, fazla iş gücü gerektirmekte ve oldukça güç olmaktadır. Ayrıca, aynı anda bir bitkiyi birden fazla patojenle testleme imkanı olmamaktadır. Bu olumsuzluklar moleküler markörlerin kullanılması ile aşılabilmektedir. Üzerinde çalışılan dayanıklı genle ilgili moleküler markör veya markörler oluşturulduğu zaman ıslahın her aşamasında dayanıklı ve duyarlı bitkiler birbirlerinden hızlı ve güvenli şekilde ayrılabilirdiğinden zaman ve işgücü kaybı azaltılmaktadır. Böylece, birden fazla dayanıklı geni kontrol etmek mümkün olmaktadır. Bununla birlikte markörler kullanılarak, dayanıklı genler klonlanarak izolasyonları yapılmaktadırlar. Bu dayanıklı genler, hassas bitkilere aktarılarak transgenik bitkiler elde edilmekte bu da ıslah programı kısaltmaktadır. Moleküler markörler, genomda herhangi bir gen bölgesi yada gen bölgesi ile ilişki DNA parçasıdır. Bu markörler, polimeraz zincir reaksiyonuna bağlı olmayanlar Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP) ve bağlı olanlar Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) ve Simple Sequence Repeats (SSR) olarak adlandırılmaktadır (Devran 2003).

Dayanıklılık ıslahında markır yardımcı seleksiyon; arzulanan karaktere bağlı moleküler işaretleyici kullanılarak ilgili bireylerin seçilmesidir. Tek gen (monogenic), birkaç gen (ologenic) ve çok gen tarafından kontrol edilen dayanıklılık ıslahı çalışmaları birbirlerinden farklılık göstermektedirler. Islah çalışmalarında (tek gen veya birkaç gen) elde edilen bireyler arasından dayanıklı olanları geleneksel testleme yöntemleri ile belirlemek güç olmakta ve çok zaman almaktadır. Bu durum birden fazla gen tarafından kontrol edilen dayanıklılık durumlarında daha da zor olmaktadır. Çünkü bunlar, birden fazla kantitatif karakterler (Quantitative Trait Loci, QTL) tarafından idare edilmektedir. Bu lokusların her birinin etki dereceleri fazla olmakta ve çevre şartlarından fazla etkilenmektedirler. Hem tek gen tarafından hem de birden fazla geni taşıyan bireyleri moleküler markörler kullanarak hızlı ve güvenli şekilde belirlemek mümkün olmaktadır. Böylece, dayanıklılık ıslahı çalışmaları daha hızlı ve güvenli şekilde yürütülmektedir (Devran 2003).

CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence-Kesilip/Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik Diziler) sekansa spesifik olan işaretleyicilerdendir (Vardar-Kanlıtepe vd. 2010). PCR temelli tekniklerden, PCR-RFLP olarak da bilinen CAPS uygun primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılmış DNA bölgelerinin restriksiyon enzimleriyle (endonükleaz) parçalanmasına dayanan ve sonucunda DNA parçacık uzunluk polimorfizminin elde edildiği bir tekniktir. DNA üzerinde meydana gelen SNP gibi tek nükleotid değişimleri ve eklenme-sililmeler (InDel) endonükleazların tanınma

bölgelerini değiştirerek farklı uzunlukta DNA parçalarının oluşmasına neden olmaktadır. Lokus-spesifik PCR ürünlerinin bir veya birden fazla endonükleazla parçalanmasıyla oluşan ürünlerin agaroz veya poliakrilamid jelde yürütülmesine dayanmaktadır. CAPS markörleri kodominant, lokus spesifiktir ve homozigot-heterozigot allel ayrımını rahatlıkla yapabilmektedir. CAPS metodunun avantajları arasında çok düşük miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulması, kodominant allel ayrımını yapabilmesi, basit ve ucuz olması sayılabilir. Bu nedenle, CAPS, gen haritalama çalışmalarında, moleküler tanımlama çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Filiz ve Koç 2011).

Moleküler sistematik çalışmalarında organizmalardan öncelikle DNA'nın izolasyonu gereklidir. Bitkilerde DNA'nın izolasyonunun başarıyla uygulanmasını sağlayan değişik yöntemler vardır. Ancak, her yöntem her bitki için saf DNA eldesi açısından uygun olmamaktadır. PCR ile çoğaltma işleminin devamında, elde edilen çoğaltma ürünü radyoaktif olmayan standart jel elektroforezinde yürütülür ve çoğaltma ürünleri bantlar halinde gözlemlenerek incelenir. Bantların varlığı veya yokluğuyla sonuçlar değerlendirilmektedir (Öz Aydın 2004).

Biberde bugüne kadar yapılan çalışmalarda çok sayıda hastalık ve zararlılara karşı moleküler markırlar geliştirilmiş ve ıslahta kullanılmaktadır. Antraknoz hastalığı için SCAR-Indel ve SSR-HpmsE032 markırları, *Phytophthora* dayanıklılığı için SRAP-Me6/M15 markırı, kök ur nematodları için (*Me1*, *Me3*, *Me4*, *Me7*, *Mech1*, *Mech2* kromozom 9 da bulunur) 375A VE 226B markırları ve 22 NB-LRR adayı, bakteriyel leke için PCR bazlı ko-dominant DNA markırı PR-Bs3, chili veinal mozayik virüsü için CAPS markır, *Tsw* dayanıklılık geni için SCAR T2 markır, Pvr4 için RAPD markırdan geliştirilen SCAR markır SCUBC191423, chili veinal benek virüsü (ChiVMV) için K5-HD6 RGAP markırı ve abiyotik streslerden sıcaklığa duyarlılıkta *Hsp-70u2* ve AG142 markırları, erkek kısırılığı *ms* için PmsM1-CAPS ve SCAR markıra dönüştürülen AGC/M-GTG bildirilmiştir (Haralayya ve Asha 2017, Silvar ve García-González 2017).

Dünyada PVY'nin, PVY0, PVY1 ve PVY1-2 olmak üzere üç ırkı bulunmaktadır. Ekbiç vd. (1997), yaptıkları çalışmada Türkiye'de PVY'nin 0 ve 1 patotiplerinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Antalya ili örtüaltı biber üretim alanlarında PVY'nin 0 ırkının varlığı tespit edilmiştir (Çelik vd. 2012). Bu ırkların tamamına SCM 334 biber genitöründe bulunan *Pvr4* geninin dayanıklılık sağladığı bildirilmiştir (Arnedo-Andrés vd. 2006; Caranta vd. 1999), 'Yolo Wonder' ve 'CM 334' melezlemesinden elde ettikleri F2 populasyonu üzerinde, *Pvr4* geniyle linkage oluşturabilmek amacıyla AFLP moleküler işaretleyicileri kullanmıştır. *Pvr4* genine en yakın bulunan AFLP işaretleyici, ıslah çalışmalarında MAS amaçlı kullanılabilirlik amacıyla kodominant CAPS moleküler işaretleyiciye dönüştürülmüştür.

Oğuz vd. (2009) tarafından, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde, domates türünde, domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'ne dayanıklılığı farklı 5 genotip pratik olarak kullanılabilir inokulasyon yöntemi ile testlenmiştir. Bu hastalığa karşı dayanıklılık, *Solanum peruvianum* türünden elde edilmiş dominant tek bir gen olan *Sw-5* geni ile idare edilmektedir. Testlemelerde dayanıklı materyal olarak, *Sw-5* geni ihtiva ettiği bilinen LA 3667 çeşidi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan diğer materyaller Çeşit-1 (dayanıklı ticari çeşit; FormulaF1), Çeşit -2 (hassas ticari çeşit; Batem Özçelik F1), Hat-1(BATEM-114) ve Hat-2 (BATEM-115)' dir. Virüsün

mekanik inokulasyonu sonucunda Çeşit-1 ve LA 3667, TSWV-15 izolatına karşı dayanıklı bulunmuş; Çeşit-2, Hat-1 ve Hat-2'nin ise hassas olduğu tespit edilmiştir. Antalya yöresinden izole edilen virüs izolatına karşı Sw-5 genini bulunduran domates çeşitlerinin dayanıklılık gösterdiği, geliştirilecek dayanıklı çeşitlerde gen kaynağı olarak Sw-5 genini bulunduran çeşitlerin kullanılabileceği bildirilmiştir. Bunun yanında, geleneksel ıslah yöntemlerinin yanı sıra, moleküler yardımcı seleksiyonun kullanımı, hastalığa karşı dayanıklılık geninin varlığının tespiti için hem pratik hem de daha kısa zaman alması bakımından inokulasyon yöntemine göre çok avantajlıdır. Ancak, hastalığa dayanıklı olduğu düşünülen bitkinin hastalık etmeni virüs ile testlenmesi ıslah çalışmalarında mutlaka gerçekleştirilmesi gereken bir adım olduğu ve moleküler yöntemlerle yürütülen çalışmaların paralelinde bulunması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Aynı araştırmacıya ait çalışmada; TSWV hastalığı için yapılan klasik ve moleküler testlemelerde toplam 88 domates genotipi kullanılmış, 76 yerel genotipin tamamı hassas bulunmuştur. Moleküler testlemede CAPS üretleyiciler; Sw-5b-LRR-F, Sw-5b-LRR-R, ZUP641 ve ZUP642 primerleri kullanılmıştır. Dayanıklı kontrollerde 300 bp görüntü elde edilmiştir. Klasik testleme sonuçlarının moleküler testlemeyi doğrular nitelikte olduğu ve çalışmada farklı bir dayanıklılık kaynağı bulunamadığı bildirilmiştir (Oğuz 2010).

Ülkemizde, Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu'nda, domateste yapılmış olan başka bir çalışmada da; nematod, *Verticillium* solgunluğu, *Fusarium* solgunluğu, Domates lekeli solgunluk virüsü ve Domates sarı yaprak kıvrıcıklığı virüsüne karşı dayanıklılık genlerinin varlığı SCAR ve CAPS markörleri ile test edilmiştir. Çalışmada dayanıklı oldukları beyan edilmiş iki adet F1 ticari çeşidin kendileme ile elde edilmiş 92 adet F2 popülasyonu yedi adet genle ilişkili geliştirilmiş 11 markör ile taranmıştır. Çalışma sonunda; nematoda dayanıklılıkta (*Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*) *Mi1-2* için *Mi-23* SCAR markörü, *Verticillium* solgunluğu (Ve2 SNP 2827) için *Ve2-2720F* SCAR markörü, *Fusarium* solgunluğu dayanımı sağlayan *I-1* geni için *At2-F3-R3* SCAR markörü, *I-2* geni için *TAO₉₀₁* CAPS markörü, *Ty-1* geni için *JB-1* CAPS markörü, *Ty-3a* geni için *P6-25* SCAR markörü, *Sw-5* geni için *Sw-5.2* SCAR markörünün kullanılabileceğini teyit etmişlerdir. Bu zararlı ve hastalıklara karşı hat ve çeşit geliştirmede ilgili moleküler markörlerin klasik testlemeye alternatif olarak düşünülebileceği sonucuna ulaşmışlardır (Pınar vd. 2013). Ancak, hastalık ve zararlı dayanıklılıklarında görülebilecek genetik değişiklikler göz ardı edilmeden güncel patojenler ile biyolojik test ile sonuçların doğrulanması daha doğru olacaktır.

Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde TÜBİTAK tarafından desteklenen proje kapsamında PVY'e dayanıklı sivri biber hatlarının geliştirilmesi amacıyla ıslah çalışması yürütülmüştür. PVY'nin, PVY0, PVY1 ve PVY1-2 olmak üzere üç ırkı mevcut olup, tümüne dayanıklılık yabancı SCM 334 biber genitöründe bulunan dominant *Pvr4* geni tarafından sağlanmaktadır. Bu çalışmada, SCM 334 biber genitörü kullanılarak Serademre 8 sivri biber çeşidine geri melezleme ile *Pvr4* geninin aktarılması amaçlanmıştır. Dayanıklı genotipin meyve şeklini düzeltmek için hassas genotip ile üç kez geri melezlenmiştir. Dayanıklı ve hassas bitkileri belirlemek amacıyla mekanik inokulasyon ve moleküler testlemeler yapılmıştır. Moleküler testlemelerde *Pvr4* geni ile bağlantılı ve bu gene oldukça yakın olan kodominant CAPS (cleaved

amplified polymorphic sequence) moleküler markırı kullanılmıştır. Moleküler çalışmalar sonucunda *Pvr4* geni bakımından heterozigot durumda bulunan bitkiler ve geriye melezleme çalışmalarında dayanıklı GMF1 bitkileri ana, SD8 bitkileri baba olarak kullanılmıştır. Her bir geriye melezleme generasyonunda fide aşamasında izole edilen DNA'lardan dayanıklı genotipler CAPS markırı ile taranmış, MAS ile dayanıklı genleri taşıyan bireyler seçilmiştir. Bu şekilde 3 geri melezleme yapılmış ve her melez sonrası mekanik inokulasyonla ve moleküler olarak testlemeler yapılmıştır. Üç geri melez döneminde mekanik testlemede dayanıklı bulunan bitkilerde yapılan moleküler testleme sonuçları sırasıyla % 81, % 87, ve % 87 oranlarında klasik testleme sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur. Çalışmada kullanılan Caranta vd. (1999) CAPS markırının, *Pvr4* genine yaklaşık olarak 2.1 cM mesafede olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmada markır-gen arasında geriye melezleme popülasyonlarında %13-18 arasında (13-18 cM) rekombinasyon gözlenmiştir. Mekanik inokulasyon ile testleme ile moleküler testleme sonuçları arasında ortaya çıkan farkın CAPS markırı ile gen arasındaki linkagi kırıldığını göstermektedir. Çalışma sonucunda, moleküler markırla yapılan seleksiyonların mutlaka mekanik inokulasyon testlemesi de yapılarak materyal seçiminin buna göre yapılması gerektiği kanısına varıldığı bildirilmiştir (Çelik vd. 2013a; Çelik vd. 2013b; Polat vd. 2014).

Ülkemizde özel sektör ve kamu araştırmacıları tarafından yürütülen bir çalışmada; biberde TSWV (*Tsw*) ve nematod (*Me1*, *Me3*, *Me7* ve *N*) için çoklu dayanıklılık çalışması yürütülmüş, materyaller moleküler markır ile taranmıştır. Çalışmada, 773 birey taranmış ve 455 homozigot dayanıklı, 117 heterozigot dayanıklı bulunmuştur. Tespit edilen hatların daha sonra tohum firmaları tarafından melezleme ve geriye melezleme programlarında değerlendirildiği bildirilmiştir (Kün vd. 2013). Özel sektör ile birlikte yürütülen ve aynı araştırmacıların sunduğu çalışmanın devamı olan raporda; moleküler markır yardımcı seleksiyon kullanılarak biberde birden fazla dayanıklılık sağlanması amaçlandığı bildirilmiştir. TSWV ve nematod yanında fungal hastalıklardan bakteriyel leke için *bs5* ve *bs6* genleri içinde tarama yapıldığı bildirilmiştir. Çalışmada, toplam 1049 biber hattı incelenmiş ve TSWV için 500 homozigot, 169 heterozigot dayanıklı hat, nematod için 67 homozigot ve 22 heterozigot dayanıklı hat, bakteriyel leke hastalığına 6 dayanıklı hat ve her üç patojene 4 dayanıklı hat belirlendiği bildirilmiştir (İlbi vd. 2014).

Polat ve Özalp (2014), Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde yapılan geniş kapsamlı biber ıslah çalışmalarında sivri, çarliston, kapyra ve dolma biber tiplerinde saf hatlar ve dayanıklı çeşitler arasında melezlemeler yapılarak TSWV'ye dayanıklı popülasyonlar oluşturulduğunu ve dayanıklı hatların belirlenmesi için markır yardımcı seleksiyondan yararlandıklarını bildirmişlerdir. Bu amaçla, *Tsw* geninin varlığı kodominant CAPS markıra dönüştürülen SCAC568+*Xba*I ve *Taq*I kullanılarak tespit edilmiştir. Materyal olarak 6 dayanıklı ve 5 hassas ıslah hattının da kullanıldığı çalışmada 420 birey testlenmiş ve 112 dayanıklı tespit edilmiştir. Araştırmacılar tarafından kademe ilerlemesinin sağlanması için ıslah programının devam ettirildiği bildirilmiştir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada; *Patates Y virüsü* (PVY), *Domates lekeli solgunluk virüsü* (TSWV) ve *Biber hafif benek virüsü* (PMMoV)'ne dayanıklı hat geliştirmek için çoklu dayanıklılık (pyramiding) kullanılmıştır. Bu çalışmada, bu virüslere karşı dayanıklılık genleri charleston biber hattı 'Y-CAR' hattına moleküler

işaretleyiciler ve biyolojik yöntemler kullanarak başarılı şekilde aktarılmıştır. Sonuç olarak, PVY, TSWV ve PMMoV'a karşı dirençli yeni bir hat geliştirilmiş ve ayrıca biberde çoklu virüs dayanıklılığın sağlanması için piramitleme stratejisinin uygulanabilir olduğunu göstermiştir. Bu gen, 'Mostar', 'Mertcan', 'Samuray' vb. gibi bazı biber çeşitlerine aktarılmıştır (Yuksel Tohum). PVY dayanıklılığı için markör ebeveyn hatlarında kullanılmış, optimizasyonu için de bazı ticari çeşitler kullanılmıştır. Ancak, moleküler işaretleyici sonuçları inokülasyon testlerinin sonuçlarıyla uygunluk göstermemiştir. Bu uyumsuzluğun markör ve *Pvr4* lokusu arasındaki rekombinasyona bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, bu markör ıslah hatlarının taranması için kullanılmamış, inokülasyon testi ile değerlendirilmiştir. PMMoV için *L4* geninin analizinde dominant işaretleyici kullanılmış ve moleküler ve biyolojik test sonuçları uygunluk göstermiştir. TSWV için yapılan dayanıklılık çalışmasının farklı aşamalarında hem moleküler işaretleyici hem de biyolojik inokülasyon testi yapılmış, sonuçların birbirleri ile uyumlu olduğu ifade edilmiştir. Çalışmanın sonunda, çarliston tipte çoklu virüs dayanıklılığı olan hatların geliştirildiği bildirilmiştir (Özkaynak vd. 2014).

Şimşek (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada; çarlı biberde virüs hastalıklarından biber hafif benek virüsü (*PMMoV*), tütün mozaik virüsü (*TMV*) ve domates lekeli solgunluk virüsü (*TSWV*)'ne dayanıklı hat ve çeşitlerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada bu hastalıkların dayanıklılığına bağlı olarak geliştirilmiş *L3*, *L4* ve *Tsw* alleleri ile ilişkili moleküler markırlardan yararlanılan çalışmada materyal olarak olarak 12 adet TSWV'ne ve 6 adet TMV ve benzeri (*PMMoV* gibi) dayanıklı F6 kademesinde biber genotipi ile bu ebeveynlerden elde edilen F1 hibritler kullanılmıştır. Dayanıklı saf biber hatları ile diğer dayanıklılığı taşıyan ticari F1 heterozigot çeşit ile melezleme yapılmıştır. Kendilenmiş hatlar hastalıklara karşı Antalya ve Kumluca'da bulunan çitçi şartlarında test edilmiştir. Markır yardımlı geriye melezleme ve/veya kendileme ile elde edilen 2400 adet dolmalık biber bitkisi spesifik markırlar ile testlenmiş ve hem dayanıklı hem de agronomik olarak üstün olan 45 adet hat (30 *Tsw* +15 *L3/L4*) ebeveyn olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada, F6 kademesinde 30 adet *Tsw*, 15 adet *L3+L4*, 20 adet *L3*, 16 adet *Tsw+L3*, ve 9 adet *L4* dayanıklılık allelerini taşıyan saf hatlar elde edilmiştir. Hatlar içerisinde her 3 dayanıklılık allelini taşıyacak şekilde 100 adet melez yapılmış ve bu melezler arasından 3 tanesi aday çeşit olarak belirlenmiştir. Adaylardan birisi Armina F1 ismiyle kayıt altına alınmıştır.

Özel sektör ve kamu araştırmacıları tarafından yürütülen bir çalışmada; dolmalık biberde birden fazla virüs hastalığına, biber hafif benek virüsü (*PMMoV*), tütün mozaik virüsü (*TMV*) ve domates lekeli solgunluk virüsü (*TSWV*)'ne dayanıklı hat ve çeşitlerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada bu hastalıkların dayanıklılığına bağlı olarak geliştirilmiş *L3*, *L4* ve *Tsw* alleleri ile ilişkili moleküler markırlardan yararlanılmıştır. Materyal olarak olarak 50 adet F6 kademesinde biber genetik materyali ile 8 adet TSWV'ne karşı dayanıklılık taşıyan ve 4 adet TMV ve benzeri (*PMMoV* gibi) virüslere dayanıklı ticari F1 biber hibritleri kullanılmıştır. TMV dayanımlarından (*L3/L4* alleleri) *L3* alleli için Tomita vd. (2008) tarafından belirlenen IH6-06, IH6-04 ve 189D23M SCAR markırları ve *L4* alleli için Yang vd. (2009) tarafından bildirilen 060I2END dominant SCAR markırı ve 087H3T7 co-dominant CAPS markırları, TSWV'ne karşı ise *Tsw* genine bağlı ve Moury vd. (2000) tarafından geliştirilen co-dominant CAPS markırı (SCAC568) kullanmışlardır. Dayanıklılık alleli taşıyan saf biber hatları ile diğer dayanıklılığı taşıyan ticari F1 heterozigot çeşitler ile melezleme

yapılmıştır (yalancı geriye melez-GM1F1). Kendilenmiş hatlar ilgili hastalıklara karşı Antalya ve Kumluca'da bulunan çitçi şartlarında test edilmişlerdir. Markır yardımı geriye melezleme ve/veya kendileme ile elde edilen 3890 adet dolmalık biber bitkisi söz konusu markırlarla testlenmiş ve hem dayanıklı hem de agronomik olarak üstün olan 72 adet hat ebeveyn olarak belirlenmiştir. Bulgulara göre F6 kademesinde 25 adet Tsw, 14 adet L3, 20 adet *Tsw+L3*, ve 13 adet *L4* homozigot dayanıklılık allelerini taşıyan saf hatlar elde edilmiştir. Hatlar içerisinde her 3 dayanıklılık allelini taşıyacak şekilde 78 adet melez yapılmış ve bu melezler arasından 1 tanesi aday çeşit olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, moleküler ve klasik ıslah yöntemleri birlikte kullanılarak biberde PMMoV, TMV ve TSWV gibi hastalıklara dayanıklı çeşit geliştirilebileceğini bildirmişlerdir (Şimşek vd. 2015).

Devran vd. (2015) araştırmacılar, biberde yeni nesil dizilimi (sekanslama) kullanarak *Pvr4* gene sıkı bağlanan moleküler işaretleyicilerin geliştirilmesi için bir çalışma yürütülmüştür. Moleküler marker yardımı seleksiyon için bilinen bir özelliğin yüksek polimorfik ve sıkı bağlanmış işaretleyicilerini tanımlamak zorunludur. Biberdeki Potyvirus dayanıklılığı 4 (*Pvr4*) lokusu, patates Y virüsü'nün üç patotipine ve biber benek virüsüne karşı dayanıklılık kazandırmaktadır. *Pvr4* ile sıkı bir şekilde bağlantılı moleküler işaretleyiciler geliştirmek için yeni nesil dizilimi-sıralama teknolojisi kullanılmıştır. PCR tabanlı işaretleyici geliştirmek ve *Pvr4*'ün haritalanması için domatesin 10. kromozomunda sentenik bir bölge kullanılmıştır. Daha sonra, biber genomik dizisi kullanılmış ve aralıkta 5000'den fazla tek nükleotid varyant (SNVs) tespit edilmiştir. Buna ek olarak, aralık içinde nükleotid bağlama yeri-lösin açısından zengin tekrar tipi hastalık dayanıklılık genlerini tespit etmişlerdir. Bu SNV'lerin birçoğu büyük ölçekli moleküler ıslah programları için istenen moleküler işaretleyicilere dönüştürüldüğü rapor edilmiştir.

Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde ıslah programlarında değerlendirilmek üzere TSWV'e dayanıklı sivri biber hatlarının geliştirilmesi amacıyla yapılan çalışmada homozigot ve heterozigot dayanıklı üç materyal TSWV-1, TSWV-2, TSWV-3 genotip ile hassas "Serademre 8" sivri biber çeşidi melezlenerek populasyon oluşturulmuştur. Dayanıklı bireylerin tespiti için hem mekanik inokulasyon hem de markır yardımı seleksiyondan (MAS-Moury vd. 2000) yararlanılmıştır. RAPD markırdan kodominant CAPS markıra dönüştürülen SCAC568 kullanılarak *Tsw* geninin varlığı tespit edilmiştir. Biyolojik test çalışmasında BATEM biber ıslah alanlarından elde edilen izolat kullanılmış ve TSWV enfeksiyonu DAS-ELISA yöntemiyle kontrol edilmiştir. Dayanıklı kontrol olarak PI 152225 genotipi, hassas kontrol olarak "Serademre 8" çeşidi kullanılmıştır. Her üç melez kombinasyonundan elde edilen F2 populasyonundan 247 bitki testlenmiştir. Moleküler test SCAC568+*Xba*I ve *Taq*I primer (F:GTGCCAGAGGAGGATTTAT, R:GCGAGGTGGACACTGATACT) kullanılmıştır. Testlemeler sonucunda bireyler homozigot dayanıklı, heterozigot dayanıklı ve hassas olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda 118 birey testlenmiş ve 568 bp band elde edilen 48 homozigot birey tespit edilmiştir. Araştırmacılar, oluşturulan populasyonlarda markır yardımı seleksiyon (SCAC568) kullanılarak dayanıklı bireylerin tespit edilmesinde ve homozigot- heterozigot dayanıklı ayrımının yapılmasında yöntemin başarılı şekilde uygulanabilir olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışma, Antalya'da yapılan International Symposium on Biotechnology and Other Omics in Vegetable Science (2012) da sunulmuş ve 2016 yılında yayımlanmıştır (Polat vd. 2016).

Macaristan'da son 20 yıldır üretilen biberlerde zorlu bir patojen olarak TSWV'nin görüldüğü ve ilk olarak konik beyaz Macar tip biberlerde ortaya çıktığı bildirilmektedir. TSWV'nin dayanıklılığı kıran izolatu da ilk olarak melanotik halkalı beyaz Macar tip meyvelerden izole edilmiştir. Araştırmacılar, yüksek düzeyde makroskopik belirtiler oluşturan TSWV enfeksiyonuna benzer en az 7 tospovirüs olmasından dolayı hastalığın “biber tospovirüs hastalığı” olarak isimlendirilmesini önermişlerdir. *C. chinense*'den sağlanan *Tsw* geninin başarılı şekilde çeşitlere aktarıldığı ancak, baharat olarak kullanılacak dayanıklı çeşit olmaması nedeniyle hassas “Kocseri” ve “PalF4” hatları ile *C. annuum* x *C. chinense* -PI 159236 populasyonundan elde edilen homozigot dayanıklı “TSR” hattını melezlemişlerdir. Dayanıklı bireylerin belirlenmesinde *Tsw* ile bağlantılı kodominant SCAR T2 markır Földi vd. 2010'e göre kullanılarak 30 dihaploid hat geliştirdiklerini ve bu hatların agronomik ve hibrit test değerlendirmesinin devam ettiğini bildirmişlerdir. Çalışma sırasında dayanıklı genotip tespiti için dayanıklılığı kıran TSWV-RB izolatu ile *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chachoense*, *C. chinense*, *C. eximium*, *C. frutescens*, *C. praetermissum* ve *C. pubescens* türleri test edilmiş, ancak dayanıklı genotip bulunmamıştır. Araştırmacılar, bitki materyallerinin ve böcek vektörlerinin hızlı bir şekilde küresel olarak yayılması nedeniyle “ekzotik” virüslerin ve yalancı rekombinant virüslerin ortaya çıkma riskinin arttığını bildirmişlerdir (Salamon vd. 2016).

Biberde kök ur nematotlarına (*Meloidogyne* spp.) dayanıklılık için geliştirilen moleküler işaretleyicilerin güvenilirliğinin değerlendirildiği bir çalışmada; 8 kontrol bitkisi ve 6 hat (*M. Incognita* race 2)' e karşı hem moleküler hem de klasik olarak testlenmiştir. Nematot dayanıklılığının kontrolünde rapor edilen en az on genin bulunduğu (*N*, *Me1*, *Me2*, *Me3*, *Me4*, *Me5*, *Me6*, *Me7*, *Mech1* ve *Mech2*) bildirilmiştir. *N* geni, *M. arenaria*, *N. incognita* ve *M. javanica* ' ya karşı genetik dayanıklılık sağlamaktadır. Araştırmacılar tarafından yapılan çalışmada, *N*-SCAR, SCAR_B94, SCAR_CD, SCAR_PM6a, SCAR_PM6b ve SCAR_PM54 işaretleyicileri kullanılmıştır. Sonuçta, SCAR_PM54 işaretleyicisinin klasik test ile oluşan gal skorlamasını doğru bir şekilde karşıladığı belirlenmiştir. Kontrollerde 4 hassas, 4 dayanıklı, hatlarda 1 hassas, 5 dayanıklı tespit edilmiştir. İşaretleyici ile yapılan test sonuçlarının doğrulanması için klasik testlemenin yapılması gerektiği ifade edilmiştir (Pınar vd. 2016).

Akdeniz Üniversitesi'nde TSWV dayanıklılığı için mevcut kullanılan moleküler yöntemlerin dezavantajlarının ortadan kaldırılması ve yeni markır geliştirilmesi için çalışma yürütülmüştür. F₄ kademesinde 96 biber bitkisi kullanılmıştır. Moury vd. (2000) tarafından geliştirilen SCAR markırı kullanılarak ilgili gen bölgesi çoğaltılmış ve iki ayrı CAPS aşamasından sonra bitkiler kodominant seviyede (RR, Rr, rr) TSWV dayanımları tespit edilmiştir. SCAC568 primerinin SRAP primerleri ile kombinasyonlar oluşturularak 58 primer kombinasyonu denemiştir. Çalışmanın ikinci kısmında 29 adet SSR primeri kullanılmıştır. Bulk segregasyon analizi ile polimorfik olduğu belirlenen primerler markır adayları olarak kabul edilmiştir. Hpmse031 SSR primerinden (Yi vd. 2006) elde edilen sonuçların mevcut moleküler testleme sonuçları ile tutarlılık gösterdiği görülmüş olup, TSWV dayanıklılığının moleküler testlemesinde yeni geliştirilen markır enzim kesim aşamasını ortadan kaldırdığı için işgücü, zaman ve maliyet açısından avantaj sağlayacağı rapor edilmiştir (Solak 2016).

Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde domateste yapılan çalışmada moleküler markör yardımcı seleksiyon ile domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV),

domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüsü (Tomato yellow leaf curl virus-TYLCV), kök ve kök boğazı çürüklüğü (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*-FORL) gibi viral ve fungal hastalıklar ve nematoda (*Meloidogyne incognita*) dayanıklı genotiplerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Ty-1, Ty-3a, Sw-5, Frl ve Mi genlerini heterozigot taşıyan ticari bir çeşit ile bu genler bakımından hassas 4 hat melezlenmiştir. F₁ ve F₂ aşamasında beş gen için moleküler tarama, F₃ generasyonunda üç hastalık için (TYLCV, TSWV, FORL) biyolojik testleme yapılmıştır. Ty-3a (Ty-1) ve Sw-5 genleri için markör sonuçları ile biyolojik test sonuçları uyumlu iken, Frl geni için bazı genotiplerde farklı olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, F₃ generasyonunda farklı dayanıklılıkları bulunan 95 adet genotip geliştirilerek Enstitü gen havuzuna kazandırıldığı bildirilmiştir (Zengin 2016).

Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde domateste yapılan çalışmada TSWV ve kök ur nematoduna karşı dayanıklı hat geliştirmek için Enstitü hattı M68 ile LA3667 ve LA2941 arasında melezlemeler yapılmıştır. TSWV için 150 F₂ bireyinde monogenik (1:2:1) açılımına göre 35 homozigot dayanıklı, 74 heterozigot dayanıklı ve 41 hassas birey tespit edilmiştir. TSWV ve nematod dayanıklılığı için oluşturulan diğer populasyonda 92 bitkide 9:3:3:1 açılımına uygun sonuç alınmıştır. Mi geni ve Sw-5 geni bakımından homozigot dayanıklı 5 birey tespit edilmiştir. F₄ kademesinde Sw-5 lokusu bakımından homozigot dayanıklı 3 hat ve hassas 2 hat biyolojik olarak testlenmiş, sonuçların moleküler ve biyolojik olarak birbiriyle uyumlu olduğu bildirilmiştir (Kahraman 2017).

Ülkemizde patlıcanda yapılan bir çalışmada; 77 genotip, Kök ve kök boğazı çürüklüğü (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*- FOM) dayanıklılığı ilgili gene 1.2 cM yakınlıkta olan SCAR426 markır ile taranmış, P11, P29, P49 ve P52 isimli dört genotipin heterozigot dayanıklı bulunduğu bildirilmiştir. Dayanıklı hatlar için agaroz jel görüntüsünde 426 bp, hassas 73 hat için 347 bp görüntüsü elde edilmiştir. Dayanıklı bulunan hatların klasik testleme ile doğrulandığı ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, Patates Y virüsü ve kök ur nematoduna (*Meloidogyne incognita*) karşı da klasik testleme yapılmış ve tüm hatlar virüse karşı hassas bulunurken, P29 ve P52 genotipleri kök kök ur nematoduna da dayanıklı bulunmuştur (Çolak-Ateş vd. 2018).

Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'sünde TSWV hastalığına dayanıklı sivri biber hatlarının geliştirilmesi için yürütülen araştırmada; dayanıklı üç genotip ile bu hastalığa hassas Serademre 8 çeşidi melezlenerek üç populasyon oluşturulmuştur. Populasyonlar beş dönem kendilenmiş ve biyolojik olarak testlenmiştir. Dayanıklı bireyler bir sonraki generasyona aktarılmışlardır. Biyolojik testleme her dönem yapılırken, moleküler testleme F₁ ve F₅ kademelerdeki bitkilerde uygulanmıştır. Moleküler testlerde *T_{sw}* geni ile bağlantılı CAPS moleküler işaretleyicisi SCAC₅₆₈ işaretleyicisi kullanılmıştır. Çalışma sonunda, sivri biber ıslah çalışmalarında kullanılabilir 10 adet hat geliştirilmiştir. Dayanıklı hatlardan bazıları ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere özel sektöre devredilmiştir (Çelik vd. 2018).

Domateste yapılan bir çalışmada da; Çukurova Üniversitesi (62 hat), Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (160 hat) ve Ayer Firmasına (196 hat) ait toplam 418 F₂ generasyon hatta kök ve kök boğazı çürüklüğü (FORL) ve domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüsü [*Tomato yellow leaf curl virus* –TYLCV-(TY1+TY3)] dayanıklılığı için moleküler ve klasik tarama yapılmıştır. Araştırmacılar FORL dayanıklılığı için

UBC194 RAPD (590 bp dayanıklı) ve SCAR_{Frl} (950 bp hassas, 1000 bp dayanıklı, 950-1000 bp heterezigot dayanıklı) primerlerini kullanmışlardır. TY1 için JB1F ve JB1R (400 bp hassas, 450 bp dayanıklı), TY3 için P6-25-F2 vd. P6-25-R5 (320 bp hassas, 650 bp dayanıklı) primerlerini kullanmışlardır. Aynı zamanda her iki hastalığa karşı klasik testlemeler yapılmıştır. Sonuçta, FORL' a karşı 102 genotip, TY3 ve TY1 lokuslarını içeren sırasıyla 46 ve 35 genotip belirlenmiştir. Batem'den 3, özel sektörden 4 genotipin aynı anda üç (FORL+TY1+TY3) geni içerdiği, Çukurova Üniversitesi'nden ise üç geni kapsayan genotip belirlenmediği bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışma sonunda hem biyolojik hem de moleküler testlerin birlikte kullanılmasıyla dayanıklı genotiplerin ticarileşmesi ve pazara sunulmasının daha hızlı gerçekleşebileceğini vurgulamışlardır. Moleküler işaretleyicilerin gelecekte klasik testlere alternatif olabileceğini ve dayanıklı ebeveyn seçimlerinin yapılabileceği yeni çalışmalara imkan sağlayacağı da bildirilmiştir (Colak Ates vd. 2019).

Akdeniz Üniversitesi'nde biberde TSWV dayanıklılığının moleküler yöntem ile belirlenmesi konusunda yapılan araştırmada, farklı iki genetik kaynaktan oluşturulmuş olan dayanıklı iki farklı F₂ popülasyondan elde edilen DNA ile SCAC568 primeri kullanılarak elde edilmiş PCR ürünleri ayrı ayrı hem XbaI hem de TaqI enzimi ile kesilerek sonuçlar karşılaştırılmıştır. Çalışmada, farklı dayanıklılık kaynaklarından geliştirilen bireylerde Tsw geninin belirlenmesi için SCAC568+XbaI markırı ile yapılan taramada, monogenik açılımın sağlanamadığı, heterezigot ve homozigot bireylerin kesin olarak ayırt edilmesinde sorun yaşandığı bildirilmiştir. Popülasyon 1'de XbaI ve TaqI kesim sonuçlarını birbiri ve Moury vd. 2000 sonuçları ile tam uyumlu bulmuşlardır. TaqI görüntüsünün değerlendirmesinde; homozigot-RR:568 bç tek bant, heterezigot-Rr: 568 bç dayanıklı allel, 230 ve 330 bç hassas allel olarak üç bant ve hassas-rr: 230 ve 330 bç hassas olmak üzere iki bant görüntüsü elde edilerek tespit edilmiştir. Ancak, XbaI enzimi ile yapılan kesim görüntüsünde popülasyon 1'de (RR: 280 bç, Rr: 280 bç+568 bç çift bant, rr: 568 bç tek bant) homozigot, heterezigot tespiti yapılabilirken, popülasyon 2'de sadece heterezigot ve hassas olarak belirlendiği, homozigot tespiti yapılamadığı ifade edilmiştir. Popülasyon 1'de F₂'de beklenen 1:2:1 açılımı elde edilmiş, popülasyon 2'den ise elde edilememiştir. Yalnızca dayanıklı ve hassas bireyler belirlenmiş, açılım oranı 3:1 olarak belirlenmiştir. Popülasyon 1 için kodominant özelliği gösterirken, popülasyon 2 için dominant markır özelliği göstermiştir. Bu sonuç SCAC568 markırının bazı biber genotiplerinde dominant davrandığını teyit etmiştir. TaqI kesiminde popülasyon II'de yalnızca dayanıklı varlığını ortaya koymuş, hassas bireylerin heterezigot dayanıklı olarak değerlendirileceği hatalı sonuçlar yol açabilecektir. Çalışma sonucunda araştırmacı, homozigot-heterezigot ayrımının yapılabilmesi için her iki enzim XbaI ve TaqI kesim görüntülerinin birlikte karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesinin gerekli olduğunu tekrar vurgulamıştır (İkten 2019).

Moodley vd. (2019)'nin bildirdiğine göre, Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada *patates Y virüsü* (PVY)'ne dayanıklı hat geliştirmek için markır yardımcı seleksiyondan (MAS) yararlanılmıştır. Çalışmada, PVY'ne dayanıklı (*pvr2*¹ ve *pvr2*²) yerel biber genotiplerine F1 ve F2 generasyonlarında *pvr2-elf4e* lokusunda dayanıklı hassas alleller için (*pvr2*⁺ / *pvr2*¹ / *pvr2*²) tetra-primer amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi-polimeraz zincir reaksiyonu (ARMS-PCR) yönteminin kullanıldığı belirtilmektedir. PVY-0 patotipine *pvr2*¹ alleli dayanıklılık sağlar, PVY-0,1 patotipine

de *pvr2²* alleli dayanıklılık sağlar, ancak her iki gen PVY-1,2 patotipine dayanıklılık sağlamaktadır. Çalışmada, T200A, G325A ve T236G primerleri kullanılmıştır. Kullanılan yöntem ile biber genotiplerinde homozigot ve heterozigot alleller tespit edilebilmektedir. Moleküler test sonrasında F2 bitkilerinde JVW-186 izolatu ile biyolojik test yapılmıştır. Çalışma sonunda, bu yöntem kullanılarak başarılı şekilde üreticiler için PVY'e dayanıklı çeşit geliştirilebileği rapor edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Hibrit biber üretiminde yaygın, pazar taleplerine uygun sivri, çarliston, kapy ve dolma meyve tiplerinde olmak üzere 4 farklı meyve tipinde TSWV dayanıklılığı olan ticari çeşitler ve Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM) hatları kullanılmıştır. Meyve tiplerine göre materyaller gruplandırılarak ayrı ayrı melezleme programları ve açılım hat seleksiyonu (pedigri) uygulanmıştır. Oluşturulan gen havuzundaki materyal listesi Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Farklı biber meyve tiplerinde melezleme programına alınan ticari çeşitler ve hatların oluşturduğu genotipler

No	Sivri	Kurum	No	Kapy	Kurum
1	S1	Ticari çeşit	25	K1	Ticari çeşit
2	S2	Ticari çeşit	26	K2	Ticari çeşit
3	S3	Ticari çeşit	27	K3	Ticari çeşit
4	S4	Ticari çeşit	28	K4	Ticari çeşit
5	S5	Ticari çeşit	29	K5	Ticari çeşit
6	S6	Ticari çeşit	30	K6	Ticari çeşit
7	S7	Ticari çeşit	31	K7	Ticari çeşit
8	S8	Ticari çeşit	32	K8	Ticari çeşit
9	S9	Ticari çeşit	33	TK2 hat	BATEM
10	S10	Ticari çeşit	34	TK1-2 hat	BATEM
11	TS1-3 hat	BATEM	35	TK7 hat	BATEM
12	TS2-1 hat	BATEM	62	TK10 hat	BATEM
13	TS24 hat	BATEM	63	TK11 hat	BATEM
48	TS8 hat	BATEM	64	TK16 hat	BATEM
49	TS9 hat	BATEM	65	TK29-1 hat	BATEM
50	TS12 hat	BATEM	66	TK33 hat	BATEM
51	TS13 hat	BATEM	67	TK35 hat	BATEM
52	TS21 hat	BATEM			
53	TS26-1 hat	BATEM			
54	TS27 hat	BATEM	No	Dolma	Kurum
55	TS28-2 hat	BATEM	36	D1	Ticari çeşit
56	TS31 hat	BATEM	37	D2	Ticari çeşit
57	TS37-1 hat	BATEM	38	D3	Ticari çeşit
58	TS40-3 hat	BATEM	39	D4	Ticari çeşit
59	TS43 hat	BATEM	40	D5	Ticari çeşit
60	TS45 hat	BATEM	41	D6	Ticari çeşit
61	TS56 hat	BATEM	42	D7	Ticari çeşit
No	Çarliston	Kurum	43	D8	Ticari çeşit
14	Ç1	Ticari çeşit	44	TD1-2 hat	BATEM
15	Ç2	Ticari çeşit	45	TD2-1 hat	BATEM
16	Ç3	Ticari çeşit	68	11-D5 hat	BATEM
17	Ç4	Ticari çeşit	69	11-D7 hat	BATEM
18	Ç5	Ticari çeşit			
19	Ç6	Ticari çeşit		Kontroller	
20	Ç7	Ticari çeşit	46	Serademre 8-SD8	BATEM-çeşit
21	Ç8	Ticari çeşit		Hassas kontrol	
22	TÇ2 hat	BATEM	47	PI152225	BATEM-aksesyon
23	TÇ1-2 hat	BATEM		Dayanıklı kontrol	
24	TÇ19 hat	BATEM			

Sivri tipte 10 ticari çeşit ve 17 hat, çarliston tipte 8 ticari çeşit ve 3 hat, kapyra tipte 8 ticari çeşit ve 9 hat, dolma tipte 8 ticari çeşit ve 4 hat (toplam 34 çeşit, 33 hat) kullanılarak melezleme çalışmaları yürütülmüştür. Melezleme için kullanılacak hat ve çeşitlerden 10'ar adet bitki dikilmiştir. Seleksiyon ve kademe ilerlemesi için her melez popülasyonunda en az 14'er (7+7 iki tekerrürlü olacak şekilde) bitki serada yetiştirilerek fenotipik gözlem ve seleksiyonu gerçekleştirilmiştir. Klasik ve moleküler testlemede kontrol bitki olarak hassas Serademre 8 (SD8) ve dayanıklı PI152225 aksasyonu kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Araştırmada kullanılan deneme alanları ile ilgili bilgiler

Bu araştırma, 2012-2015 yıllarında Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün Antalya-Alanya karayolunun 35 km mesafesindeki Serik ilçesi, Aşağı Kocayatak mevkiinde bulunan Sebzeçilik bölümündeki, $36^{\circ} 55' 46,30''$ N kuzey enlemi ve $30^{\circ} 58' 47,96''$ E doğu boylamı arasında bulunan cam ve plastik seralar ile testleme kompartmanlarında yürütülmüştür. Çalışma süresince kullanılan sera alanları Çizelge 3.2'de verilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. BATEM Sebzeçilik ve Süs Bitkileri Bölümü araştırma seraları

3.2.2. Çalışma alanlarına ilişkin iklimsel veriler ve fiziksel-kimyasal analiz sonuçları

3.2.2.1. Sera ve kompartman alanlarına ait sıcaklık ve oransal nem değerleri

Çalışmada TSWV dayanıklılığının aktarılması için melezleme çalışmalarının yapıldığı 2012 ilkbahar döneminden itibaren kullanılan seralarda ve TSWV için klasik testlemelerin yapıldığı gölgeleme ve havalandırma kontrollü cam kompartmanlarda düzenli olarak sera içi sıcaklık ve oransal nem değerleri elektronik veri kaydedici

HOB0 marka ölçüm cihazıyla tespit edilmiştir. Elde edilen veriler daha sonra bilgisayar ortamına aktarılarak ortalama, maksimum ve minimum değerlere ait çizelgeler oluşturulmuştur. Kullanılan seralara ait görüntüler Şekil 3. 2a, b, c, d’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Generasyon kademeleri, yetiştirme dönemleri ve çalışmada kullanılan sera alanları

Faaliyet	Yetiştirme Dönemi	Sera
Dayanıklılık melezlemeleri	1. Dönem 2012 İlkbahar	14 nolu plastik sera
F ₁ Kademede gözlem ve seleksiyon	2. Dönem 2012 Sonbahar	11 nolu plastik sera
F ₂ Kademede gözlem ve seleksiyon	3. Dönem 2013 İlkbahar	22 nolu plastik sera
F ₃ Kademede gözlem ve seleksiyon	4. Dönem 2013 Sonbahar	28/2 nolu cam sera
F ₄ Kademede gözlem ve seleksiyon	5. Dönem 2014 İlkbahar	21 nolu plastik sera
F ₅ Kademede gözlem ve seleksiyon	6. Dönem 2014 Sonbahar	35-36 nolu cam sera
F ₆ Kademede gözlem ve seleksiyon	7. Dönem 2015 İlkbahar	18-20 nolu plastik sera
Aday hibritlerde verim denemesi	7. Dönem 2015 İlkbahar	16 nolu plastik sera



(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 3.2. a) 14 Nolu sera; b) 11 Nolu sera; c) 20 Nolu sera; d) 18 Nolu sera görünümü

Denemede kullanılan bazı seralara ait; 2012 İlkbahar dönemi 14 nolu sera, 2014 Sonbahar dönemi 35-36 nolu cam sera, 2015 İlkbahar dönemi 16 nolu sera Çizelge

3.3'de ve 2015 İlkbahar dönemi 9 nolu kompartmana ait sıcaklık ve oransal nem değerleri Çizelge 3.4'de verilmiştir.

F₆ Kademedeki materyallerde klasik testlemenin yapıldığı 9 nolu kompartmana ait sıcaklık ve oransal nem ortalama, maksimum ve minimum değerleri Çizelge 3.4'de verilmiştir. Sıcaklık değerlerinin testleme şartlarına uygun olduğu ancak nem değerlerinin istenen nem değerinin biraz altında kaldığı görülmektedir. Ancak, bu durum inokulasyon yöntemiyle hastalığın bulaştırılmasına engel teşkil etmemiştir. Kompartmanlarda havalandırma ve soğutma fan pet sistemi ile sağlanmıştır.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan sera alanlarına ait sıcaklık ve oransal nem değerleri

2012 Yılı Bahar Dönemi-14 Nolu Sera						
2012 Aylar	Sıcaklık (°C)			Nem (%)		
	Ortalama	En Düşük	En Yüksek	Ortalama	En Düşük	En Yüksek
Nisan	24.0	9.4	51.8	50.9	23.5	82.4
Mayıs	24.5	12.2	47.4	54.3	23.8	85.3
Haziran	28.7	14.5	45.4	50.4	23.6	87.1
Temmuz	30.2	18.3	42.9	51.6	23.7	87.2
2014-2015 Yılı Sonbahar Dönemi- 35-36 Nolu Sera						
2014-15 Aylar	Sıcaklık (°C)			Nem (%)		
	Ortalama	En Düşük	En Yüksek	Ortalama	En Düşük	En Yüksek
Ekim	25.1	12.9	46.4	54.6	23.7	85.3
Kasım	17.6	6.22	35.7	64.7	23.4	91.6
Aralık	11.6	3.74	29.9	64.3	23.4	91.7
Ocak	11.4	2.03	33.6	64.5	23.4	94.5
Şubat	15.2	2.89	38.8	57.4	23.4	91.7
2015 Yılı Bahar Dönemi-16 Nolu Sera						
2015 Aylar	Sıcaklık (°C)			Nem (%)		
	Ortalama	En Düşük	En Yüksek	Ortalama	En Düşük	En Yüksek
Mayıs	24.9	12.2	45.9	53.9	23.6	100
Haziran	27.2	16.4	45.9	53.1	23.8	92
Temmuz	30.5	17.9	50.1	49.6	23.8	95.7

Çizelge 3.4. 2015 İlkbahar dönemi 9 nolu kompartmana ait sıcaklık ve oransal nem değerleri

2015 Yılı Bahar Dönemi - 9 Nolu Kompartman						
Aylar 2015	Sıcaklık (°C)			Nem (%)		
	Ortalama	En Düşük	En Yüksek	Ortalama	En Düşük	En Yüksek
Mart	21.3	9.03	36.6	40.8	23.4	73.4
Nisan	24.4	14.1	42	35.2	23.6	100
Mayıs	26.1	17.1	35.7	34.4	23.5	60.9

3.2.2.2. Denemede uygulanan gübreleme programı

Araştırma süresince bitkilerin ihtiyacı olan besin maddeleri ve mikrobesein maddelerinin verilmesi için, araştırma alanlarından alınan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları BATEM Toprak ve Yaprak Analiz laboratuvarında yapılarak Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6’te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan sera alanlarındaki toprak örneklerine ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları-1

Özellikler	Sera 14	Sera 11	Sera 22	Sera 28/2
Lab. No	501	786	433	1022
pH (1:2.5)	8.1	7.4	7.7	7.8
Kireç (%)	1.1	2.0	2.3	1.4
EC micromhos (25 °C)	314	1620	1190	543
Kum %	60	54	59	54
Kil %	21	22	25	28
Mil %	19	24	16	18
Org. Madde (%)	1.8	2,1	1.2	1.4
P ppm (Olsen)	64	149	84	73
K ppm	405	435	398	338
Ca ppm	3599	3841	3301	2353
Mg ppm	296	390	269	183
Değerlendirme	Hafif alkali	Nötr	Hafif alkali	Hafif alkali
	Orta kireçli	Kireçli	Kireçli	Kireçli
	Tuzsuz	Yüksek tuzlu	Orta tuzlu	Hafif Tuzlu
	Kumlu Killi Tın	Kumlu Tın	Kumlu Killi Tın	Kumlu Tın

Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan sera alanlarındaki toprak örneklerine ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları-2

Özellikler	21 Sera	35 Sera	18 Sera	16 Sera
Lab. No	500	152	154	788
pH (1:2.5)	7.6	7.9	7.4	7.8
Kireç (%)	1.0	6.3	7.0	4.6
EC micromhos (25 °C)	1290	1140	1320	748
Kum %	60	51	60	50
Kil %	21	24	21	28
Mil %	19	25	19	22
Org. Madde (%)	2.2	2.1	2.5	2.2
P ppm (Olsen)	132	138	70	143
K ppm	541	730	436	390
Ca ppm	3682	4641	3553	4759
Mg ppm	379	263	192	333
Değerlendirme	Hafif alkali	Hafif alkali	Nötr	Hafif alkali
	Az kireçli	Orta kireçli	Orta kireçli	Kireçli
	Tuzlu	Orta tuzlu	Tuzlu	Hafif Tuzlu
	Kumlu Killi Tın	Tın	Kumlu Killi Tın	Kumlu Killi Tın

Araştırma alanları, bitki gelişimini sınırlayıcı bir durumun sözkonusu olmadığı; kumlu killi tın, kumlu tın ve tınlı bünyeye sahip topraklardır. Gübre verilmesi işleminde de toprak analiz sonuçlarına göre hazırlanmış olan kimyasal gübre tavsiyesi ve mikro besin element tavsiyeleri uygulanmıştır (Çizelge 3.7, 3.8). Yetiştiricilik süresince bitki besleme bakımından herhangi bir sorunla karşılaşılmamıştır.

Çizelge 3.7. Çalışmada kullanılan sera alanlarında bitkilere uygulanan kimyasal gübreleme programı tavsiyesi

Sera No	Yetiştirme Dönemleri	Potasyum Nitrat (%13 N- %46 K ₂ O) g/da/gün	Mono Amonyum Fosfat (%12 N-% 61 P ₂ O ₅) g/da/gün	Amonyum Nitrat (%33 N) g/da/gün
11	Fide	200	200	400
	Gelişme	400	250	600
	Hasat	700	100	700
28/2	Fide	300	300	400
	Gelişme	500	300	600
	Hasat	800	100	700
35	Fide	200	100	400
	Gelişme	400	100	600
	Hasat	700	100	700
16	Fide	300	200	400
	Gelişme	500	250	600
	Hasat	800	100	700

Çizelge 3.8. Çalışmada kullanılan sera alanlarında bitkilere uygulanan mikro besin element miktarları (g/ da /10 gün)

Kalsiyum Nitrat	500
Magnezyum Nitrat	500
Fe- EDDHA	100
Mangan Sülfat	25
Çinko Sülfat	25
Borax	50

3.2.2.3. Denemede kullanılan sulama sistemi ve su analiz sonucu

Denemede bitkilerin, su ve bitki besin maddesi ihtiyacının karşılanmasında damla sulama sistemi kullanılmış ve besin maddeleri suda eritilerek damlatıcılar yardımıyla verilmiştir.

Araştırma alanında sulama amacıyla kullanılan su arazi içerisinde bulunan derin kuyudan pompaj sistemi ile sağlanmıştır. Sulama suyunun bazı özellikleri incelenerek Çizelge 3.9'da verilmiştir. Sulama suyu kalitesi açısından C₂S₁ grubuna dahil olmaktadır. Sodyum absorpsiyon oranı (SAR) 0.31 meq/lt, az sodyumlu olarak belirlenmiş olup, su kalitesi serada kültür bitkilerinin sulanması için uygun, iyi kalitede bir su olarak değerlendirilebilir.

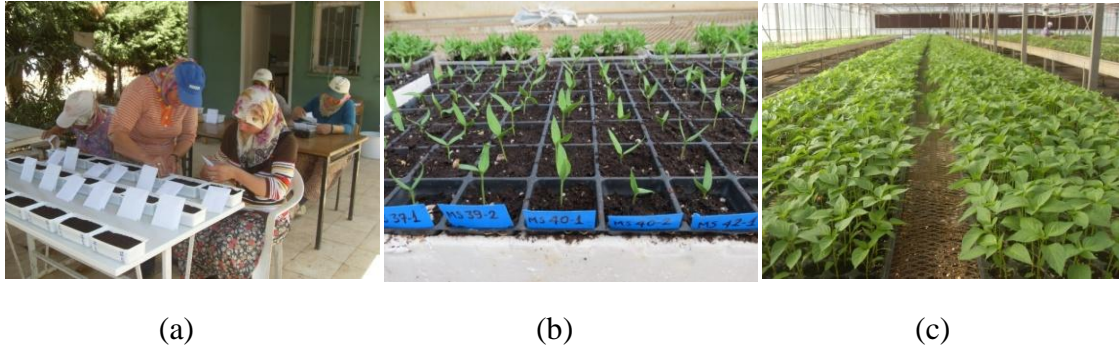
Çizelge 3.9. Deneme alanı su analiz sonucu

pH	7.1
EC (μ mhos/cm)	730
HCO ₃ ppm	311
NO ₃ ppm	34
Ca ppm	110
Mg ppm	12
Cl ppm	32
SO ₄ ppm	41
Na ppm	13

3.2.3. Yetiştiricilik işlemleri

3.2.3.1. Tohum ekimi ve fidelerin yetiştirilmesi

Gen havuzu başlangıç materyalleri ile elde edilen melezler, açılım kademelerine ait bitkiler ve aday hibritlerin tohumları ile kontrol olarak denemede kullanılan çeşitlerin tohumları torf ile doldurulmuş plastik kutulara veya doğrudan (12x8=128'lik) strafor viyollere ekilmiştir. Daha sonra fidelikte ihtiyaç duyuldukça maneb ve mancozeb etken maddeli fungusitler ile pymetrozine etken maddeli insektisit ilaçlaması yapılmış, su ile birlikte bitki besin maddesi (amonyum nitrat ve mono amonyum fosfat) verilmiştir (Şekil 3.3a, b, c).



Şekil 3.3. a) Tohum ekim işlemi; b) Şaşırtma işlemi; c) Dikime hazır fideler

3.2.3.2. Deneme alanının dikim için hazırlanması ve fidelerin dikilmesi

Solarizasyon işlemi yapılmış olan seralarda, solarizasyon örtüsünün kaldırılmasından sonra toprağın tava gelmesiyle birlikte sera sürülmüş ve bitkilerin dikileceği seddeler yapılmıştır. Damlama sulama boruları seddeler üzerine çift sıra dikim sistemine göre 90x50 mesafelerle yerleştirilmiştir. Fidler yeterince büyüüp pişkinleştikten sonra sabah saatlerinde, çift sıra dikim sistemine göre 90-(50X50) cm mesafelerle seddelerdeki damlatıcıların yanına dikilmiştir. Yetiştirme dönemine göre tüm bitkilerin dikimi aynı zamanda gerçekleştirilmiştir. Dikimden sonra can suyu verilmiştir.

3.2.3.3. Yetiştiricilik süresince uygulanan kültürel işlemler

Kültürel önlemler alınması amacıyla, sera çevresi beyaz sinek girişine karşı tül ile kapılmıştır. Bitkiler arasına sarı ve mavi tuzak (böcekler için cezbedici) asılmıştır. Dikimlerden 7-10 gün sonra 1. çapalama, ilk çapadan bir hafta sonra 2. çapalama işlemi yapılmıştır. Çapalamadan sonra toprak analiz sonuçlarına göre verilen tavsiyeler dikkate alınarak hazırlanmış gübreleme programına geçilmiştir. Dikimlerden üç hafta sonra ip atma ve bağlama işlemleri yapılmıştır.

İp bağlama işlemi ile birlikte gövde üzerindeki sürgünler temizlenerek üç ana dallı şekil verme (budama) ve ipe dolama işlemi yapılmıştır. Kış döneminde sürekli bir ısıtma yapılmamış olup, sadece dondan koruma amaçlı yakıt olarak mazot kullanılan ısıtıcı veya lpg ısıtıcıları hazır tutularak nadiren ısıtma yapılmıştır. Kimyasal mücadele, budama ve ipe dolama işlemleri dönem boyunca gerekli görüldüğü takdirde yapılmıştır. Kültürel işlemler denemede tüm hat veya aday hibritler ile aynı zamanda ve aynı uygulamalarla yapılmıştır (Şekil 3.4a, b, c, d).



(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 3.4. a) Fideler; b) Dikim; c) İp atma; d) Malçlama (Sera 28/2)

3.2.4. Farklı biber meyve tiplerinde gen havuzu oluşturulması ve başlangıç materyallerinde TSWV dayanıklılığının belirlenmesi

Çalışma sonunda elde edilecek çıktılar doğrudan uygulamada kullanılabilmesi için kültür formunda piyasada dayanıklı olarak bilinen ticari ya da deneme aşamasında

olan dayanıklı çeşitler ile üstün özellikleri olan ancak dayanıklılığı bulunmayan hatlar ile başlangıç materyalleri (gen havuzu) oluşturulmuştur. Gen havuzu için kullanılan materyaller Çizelge 3.1’de verilmiştir. (Demir ve Turgut 1999; Fehr 1993).

Önceki dönemde oluşturulan gen havuzundaki melezlemede kullanılan çeşit ve hatların moleküler yöntem ile dayanıklı-hassas ayırımının yapılması amacıyla, 30 Mayıs 2012 tarihinde 45 farklı genotipe ait bitki örneklerinin DNA’ları modifiye edilmiş CTAB protokolüne göre izole edilmiştir. Moleküler testlemede PI 152225 genotip dayanıklı, Serademre 8 çeşidi hassas kontrol olarak kullanılmıştır. *Tsw* geninin tespitinde kesim enzimi olarak *Xba*I ve *Taq*I kullanılmıştır. Yapılan moleküler analiz sonucu melezlemeye alınan 45 genotipte 1 homozigot (1 hat) ve 21 heterozigot dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

3.2.5.Farklı biber meyve tiplerinde melezleme yoluyla TSWV dayanıklılığının aktarıldığı populasyon oluşturulması (Birinci dönem-2012 ilkbahar)

TSWV dayanıklılığı dominant tek bir gen tarafından kontrol edildiğinden meyve tiplerine yönelik melezleme yoluyla dayanıklı populasyon oluşturulması için Çizelge 3.1’de verilen genotipler arasında melezlemeler yapılmıştır. Dayanıklı tespit edilen materyaller meyve tiplerine göre gruplandırılarak çeşit X çeşit, çeşit X hat ve hat X hat olacak şekilde melezlemeler yapılmıştır. Dayanıklı populasyon oluşturma konusunda çok az sayıda çeşit ve hat kullanılarak dayanıklılık elde edilebilecek olmasına rağmen, her meyve tipinde çok daha fazla sayıda çeşit ve hat kullanılarak, genetik olarak (meyve ve bitki yapısı) çok geniş varyasyonun sağlanabilmesi hedeflenmiştir (Demir ve Turgut 1999; Fehr 1993). Melezleme yapılan ana materyaller ve F_1 bitkilerinden itibaren açılım döl kademelerine ait bitkiler cam ve plastik seralarda yetiştirilmiştir (Vural vd. 2000).

3.2.5.1. Farklı biber meyve tiplerinde gen havuzu oluşturulması için bitkilerin yetiştirilmesi

Kültür formunda bulunan dayanıklı ve hassas ticari çeşitler ile saf hatların tohumları 21.02.2012 tarihinde torf ile dolu viyollere ekilmiştir. Çimlenen tohumlar torf ve perlit karışımı bulunan plastik fide kaplarına 07.03.2012 tarihlerinde şaşırtılmıştır. Fideler, çift sıra dikim sisteminde 80-50X50 cm mesafelerle 05.04.2012 tarihinde 14 nolu plastik seraya dikimleri yapılmıştır. Bitkilerin askıya alınması işlemi 20-21 Nisan 2012 tarihlerinde, çapalama işlemi 11 Nisan tarihinde yapılmıştır. Toprak analiz sonuçlarına göre bitki besin ihtiyacı belirlenerek sulama suyu ile birlikte gübreleme yapılmakta, hastalık ve zararlılara karşı gerekli görüldükçe kimyasal mücadele uygulanmıştır. 2012 Mayıs ayında melezleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.2. Farklı biber meyve tiplerinde TSWV dayanıklılığı melezleme çalışmaları

Melezlemeler, ana bitkilere ait çiçek tomurcukları açmadan önce ince uçlu pens yardımıyla açılıp erkek organlar uzaklaştırıldıktan sonra baba bitkilere ait çiçek tozlarının toplanarak ana bitkinin dişi tepesine sürülmesiyle yapılmıştır. Melezleme işlemi yapılan çiçeklere, ana ve baba hat numarası yazılı etiketler asılarak işaretlenmiştir. TSWV dayanıklılığı dominant tek bir gen tarafından kontrol edildiğinden, dayanıklı populasyon oluşturulması için meyve tiplerine yönelik ayrı ayrı

melezleme programları ile çeşit X çeşit, çeşit X hat, hat X hat olacak şekilde melezlemeler yapılmıştır (Şekil 3.5a, b, c).



(a)

(b)

(c)

Şekil 3.5. a) Tül izolasyonu; **b)** Melezleme (emaskülasyon); **c)** Melezleme (tozlama-polen verme)

Bu çalışmalar 02.05.2012-12.06.2012 tarihlerinde yürütülmüştür. Sivri tipte 10 ticari çeşit ve 17 hat, çarliston tipte 8 ticari çeşit ve 3 hat, kapyia tipte 8 ticari çeşit ve 9 hat, dolma tipte 8 ticari çeşit ve 4 hat (toplam 34 çeşit, 33 hat) kullanılarak melezleme çalışmaları tamamlanmıştır (Çizelge 3.1.)(Şekil 3.6a, b, c, d).



(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 3.6. a) Sivri biber; **b)** Çarliston biber; **c)** Kapyia biber; **d)** Dolma biber melezlemeleri

3.2.5.3. Farklı biber meyve tiplerinde hibrit tohumların elde edilmesi

Melezleme çalışmalarının tamamlanmasından sonra, hasat olgunluğuna gelmiş olan melez meyveler bağlı olan bilgi etiketleriyle birlikte hasat edilmişlerdir. Meyveler 24.07.2012 tarihinde ayrı ayrı hasat edilerek tohum çıkarma işlemleri yapılmıştır. Tül keseler içerisinde yaklaşık 48 saat kurutma odasında kurutulduktan sonra +7°C 'de tohum odasında depolanmıştır. Sivri tipte 62, çarliston tipte 13, kapyia tipte 41 ve dolma tipte 23 hibrit (toplam 139) elde edilmiştir (Çizelge 3.10). Farklı meyve tiplerinde elde edilmiş olan sivri, çarliston, kapyia ve dolma tipte hibritler aşağıda verilmiştir (Çizelge 3.11 ve 3.12).

Çizelge 3.10. Farklı biber meyve tiplerine göre elde edilen melez kombinasyon sayıları

Kombinasyon	Sivri	Çarliston	Kapyia	Dolma
Çeşit X Çeşit	38	13	22	19
Çeşit X Hat	11	--	19	4
Hat X Hat	13	--	--	--
Toplam	62	13	41	23

Çizelge 3.11. Farklı biber meyve tiplerinde melezleme programı ile elde edilen kombinasyonlar-I (Komb: kombinasyon, MS: sivri hibritler, MÇ: çarliston hibritler)

Sivri							
Genotipler	Komb.	Genotipler	Komb.	Genotipler	Komb.	Genotipler	Komb.
MS1	1X2	MS20	3X4	MS46	1X11	MS65	11X57
MS2	1X3	MS21	3X5	MS47	1X12	MS66	11X58
MS3	1X4	MS22	3X6	MS48	1X 52	MS67	11X59
MS4	1X5	MS23	3X7	MS49	1X13	MS68	11X60
MS5	1X6	MS24	3X8	MS50	1X53	MS69	11X61
MS6	1X7	MS25	3X9	MS51	1X56	Çarliston	
MS7	1X8	MS26	3X10	MS52	2X11	MÇ1	14X17
MS8	1X9	MS27	5X1	MS53	2X12	MÇ2	14X18
MS9	1X10	MS28	5X2	MS54	11X2	MÇ3	14X19
MS10	2X1	MS29	5X3	MS55	3X13	MÇ4	14X20
MS11	2X3	MS30	6X1	MS56	3X53	MÇ5	14X21
MS12	2X4	MS31	6X2	MS57	11X12	MÇ6	15X16
MS13	2X5	MS32	6X3	MS58	11X48	MÇ7	15X18
MS14	2X6	MS33	7X1	MS59	11X49	MÇ8	15X19
MS15	2X7	MS34	7X2	MS60	11X50	MÇ9	15X20
MS16	2X8	MS35	7X3	MS61	11X51	MÇ10	15X17
MS17	2X9	MS36	10X1	MS62	11X53	MÇ11	15X21
MS18	2X10	MS37	10X2	MS63	11X54	MÇ12	16X14
MS19	3X2	MS38	10X3	MS64	11X55	MÇ13	15X14

Çizelge 3.12. Farklı biber meyve tiplerinde melezleme programı ile elde edilen kombinasyonlar-II (Komb: kombinasyon, MK: kapyra hibritler, MD: dolma hibritler)

Kapyra				Dolma			
Genotipler	Komb.	Genotipler	Komb.	Genotipler	Komb.	Genotipler	Komb.
MK1	25X26	MK17	29X25	MK43	26X34	MD8	36X41
MK2	25X26	MK18	30X25	MK44	26X33	MD9	36X43
MK3	25X31	MK19	27X26	MK45	26X62	MD10	37X36
MK4	25X27	MK20	28X26	MK46	26X63	MD11	38X36
MK5	25X28	MK21	29X26	MK47	26X64	MD12	39X36
MK6	25X29	MK22	30X26	MK48	26X66	MD13	40X36
MK7	25X30	MK33	25X34	MK49	26X67	MD15	37X42
MK8	26X25	MK34	25X33	MK50	34X26	MD16	38X42
MK9	26X31	MK35	25X35	MK51	35X26	MD17	40X42
MK10	26X27	MK36	25X62	MD1	36X37	MD20	44X36
MK11	26X28	MK37	25X63	MD2	36X37	MD21	45X36
MK12	26X29	MK38	25X64	MD3	36X43	MD22	45X37
MK13	26X32	MK39	25X65	MD4	36X42	MD23	45X68
MK14	26X30	MK40	25X66	MD5	36X38	MD24	45X69
MK15	27X25	MK41	25X67	MD6	36X39	MD28	36X68
MK16	28X25	MK42	33X25	MD7	36X40	MD29	36X69

3.2.6. Farklı biber meyve tiplerine hat seleksiyonu kademe ilerlemesinin sağlanması (pedigri)

3.2.6.1. Farklı biber meyve tiplerinde hibritlere (F₁ kademe) ait bitkilerde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (İkinci dönem-2012 sonbahar)

Hat seleksiyonu konusunda meyve tiplerine göre oluşturulan melez kombinasyonları ayrı ayrı ekilmiş, F₁ bireylerde morfolojik gözlem yapılarak bitki ve meyve yapısı bakımından uygun bireylerin seçimi gerçekleştirilmiştir. Gözleme alınacak hibritlerin tohumları depodan çıkarılarak 24.08.2012 tarihinde torf ile dolu kutulara ekilmiştir. Çimlenen tohumlar torf ve perlit karışımı bulunan plastik fide kaplarına 4.09.2012 tarihlerinde şaşırtılmıştır. Bitkiler çift sıra dikim sisteminde 80-50X40 cm mesafeler ile 28.09.2012 tarihinde 11 nolu cam ve plastik konstrüksiyonlu seraya dikilmiştir. İp atma ve bağlama işlemi 15 Ekim 2012 tarihinde yapılmıştır. Siyah PE ile malçlama işlemi de 23 Kasım 2012 tarihinde yapılmıştır.

Bitkilerde tül yardımıyla bitki izolasyonu sağlanarak kendileme işlemi yapılmıştır. Hatlarda fenotipik olarak seçim yapılarak kademe ilerlemesi sağlanmıştır. Bu aşamada, TSWV dayanıklılığının belirlenmesi için klasik yöntem ve moleküler yöntem-işaretleyici kullanılarak test edilmiştir.

Seraya dikimi yapılan F₁ bitkilerinde seleksiyon yoluyla bitki seçimleri Mart 2013 ayı içinde tamamlanmıştır. Seçilen bitki DNA'ları 4-15 Mart 2013 tarihlerinde izole edilmiştir. Mezlemlere ait seçilen bitkilerin meyveleri 22.03.2013 tarihinde ayrı ayrı hasat edilerek tohum çıkarma işlemleri yapılmıştır. Tül keseler içerisinde yaklaşık 48

saat kurutma odasında (24-28 °C) kurutulduktan sonra +7 °C’de tohum odasında depolanmıştır (Şekil 3.7a, b, c).



Şekil 3.7. a) Bitki izolasyonu; b) Tohum çıkarma; c) Tohum kurutma

3.2.6.2. Farklı biber meyve tiplerinde F₂ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Üçüncü dönem-2013 ilkbahar)

Tohum odasında bekletilen F₂ kademe tohumlar 26.03.2013 tarihinde ekilmiş, 09.04.2013 tarihinde şaşırtma işlemi yapılmış ve bitkiler yetiştirilmek üzere fideler çift sıra dikim sisteminde 80-50X40 cm mesafeler ile 07.05.2013 tarihinde (7+7) 14 bitki olarak 22 nolu plastik örtülü seraya dikilmiştir. Toprak analiz sonuçlarına göre belirlenmiş olan bitki besin ihtiyacı sulama suyu ile birlikte verilmiş, hastalık ve zararlılara karşı gerekli görüldükçe kimyasal mücadele yapılmıştır. F₂ kademe bitkileri 2013 ilkbahar döneminde 22 nolu serada yetiştirilmiş ve 24-26 Temmuz tarihlerinde morfolojik gözlem ile bitki seleksiyonu tamamlanmıştır. Seçilen F₂ kademe bitkilerinde DNA izolasyonu 01-02 Ağustos 2013 tarihlerinde yapılmıştır.

F₂ kademe bitkileri arasından seçilen bitkilerin meyveleri sivri ve çarliston tipte 29.07.2013 tarihinde, kapy ve dolma tipte 30.07.2013 tarihinde ayrı ayrı hasat edilerek tohum çıkarma işlemleri yapılmıştır. Tül keseler içerisinde yaklaşık 48 saat kurutma odasında kurutulduktan sonra +7 °C’de tohum odasında depolanmıştır.

3.2.6.3. Farklı biber meyve tiplerinde F₃ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Dördüncü dönem-2013 sonbahar)

Üçüncü dönem sonunda elde edilerek tohum odasında muhafaza edilen F₃ kademedeki ait tohumlar 27.08.2013 tarihinde ekilmiş, 07.09.2013 tarihinde şaşırtma işlemi yapılmış ve yetiştirilmek üzere fideler tek sıra dikim sisteminde 80X40 cm mesafeler ile 01.10.2013 tarihinde 28/2 nolu cam seraya dikilmiştir. Toprak analiz sonuçlarına göre belirlenmiş olan bitki besin ihtiyacı sulama suyu ile birlikte verilmiş, hastalık ve zararlılara karşı gerekli görüldükçe kimyasal mücadele yapılmıştır. F₃ kademedeki bitkilerden 6-7 Mart 2014 tarihinde meyve hasadı yapılarak F₄ Kademe tohumları elde edilmiştir.

3.2.6.4. Farklı biber meyve tiplerinde F₄ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Beşinci dönem-2014 ilkbahar)

Dördüncü dönem sonunda elde edilerek tohum odasında muhafaza edilen F₄ kademedeki ait tohumlar 14.03.2014 tarihinde ekilmiş, 01.04.2014 tarihinde şaşırtma işlemi yapılmış ve yetiştirilmek üzere fideler çift sıra dikim sisteminde 80-(50x40) cm mesafeler ile 29.04.2014 tarihinde 21 nolu plastik seraya dikilmiştir. Toprak analiz sonuçlarına göre belirlenmiş olan bitki besin ihtiyacı sulama suyu ile birlikte verilmiş, hastalık ve zararlılara karşı gerekli görüldükçe kimyasal mücadele yapılmıştır. Serada seçimi yapılan bitkilerden F₅ kademe tohumların elde edilmesi için 24.07.2014 tarihinde tohumluk hasadı yapılmış ve tohumlar elde edilmiştir.

3.2.6.5. Farklı biber meyve tiplerinde F₅ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Altıncı dönem-2014 sonbahar)

Beşinci dönem sonunda elde edilerek tohum odasında muhafaza edilen F₅ kademedeki tohumlar 28.08.2014 tarihinde ekilmiş, 10.09.2014 tarihinde şaşırtma işlemi yapılmıştır. Yetiştirilmek üzere fideler çift sıra dikim sisteminde 80-(50x40) cm mesafeler ile 08.10.2014 tarihinde 35-36 nolu cam seraya dikilmiştir. Toprak analiz sonuçlarına göre belirlenmiş olan bitki besin ihtiyacı sulama suyu ile birlikte verilmiş, hastalık ve zararlılara karşı gerekli görüldükçe kimyasal mücadele yapılmıştır.

F₅ kademe bitkilerde, 19 Şubat- 12 Mart 2015 tarihleri arasında gözlem ve seleksiyon yapılmıştır. Serada seçimi yapılan bitkilerden F₆ kademe tohumların elde edilmesi için 16-17-18 Mart 2015 tarihlerinde tohumluk hasadı yapılmış ve tohumlar çıkarılmıştır.

3.2.6.6. Farklı biber meyve tiplerinde F₆ bitkilerinde hat seleksiyonu ve kademe ilerlemesi (Yedinci dönem-2015 ilkbahar)

Altıncı dönem sonunda elde edilerek tohum odasında muhafaza edilen F₆ kademedeki tohumlar 26.03.2015 tarihinde ekilmiş, 10.04.2015 tarihinde şaşırtma işlemi yapılmıştır. Yetiştirilmek üzere fideler çift sıra dikim sisteminde 80-(50x40) cm mesafeler ile 12.05.2015 tarihinde 18 ve 20 nolu plastik seralara dikilmiştir. Toprak analiz sonuçlarına göre belirlenmiş olan bitki besin ihtiyacı sulama suyu ile birlikte verilmiş, hastalık ve zararlılara karşı gerekli görüldükçe kimyasal mücadele yapılmıştır.

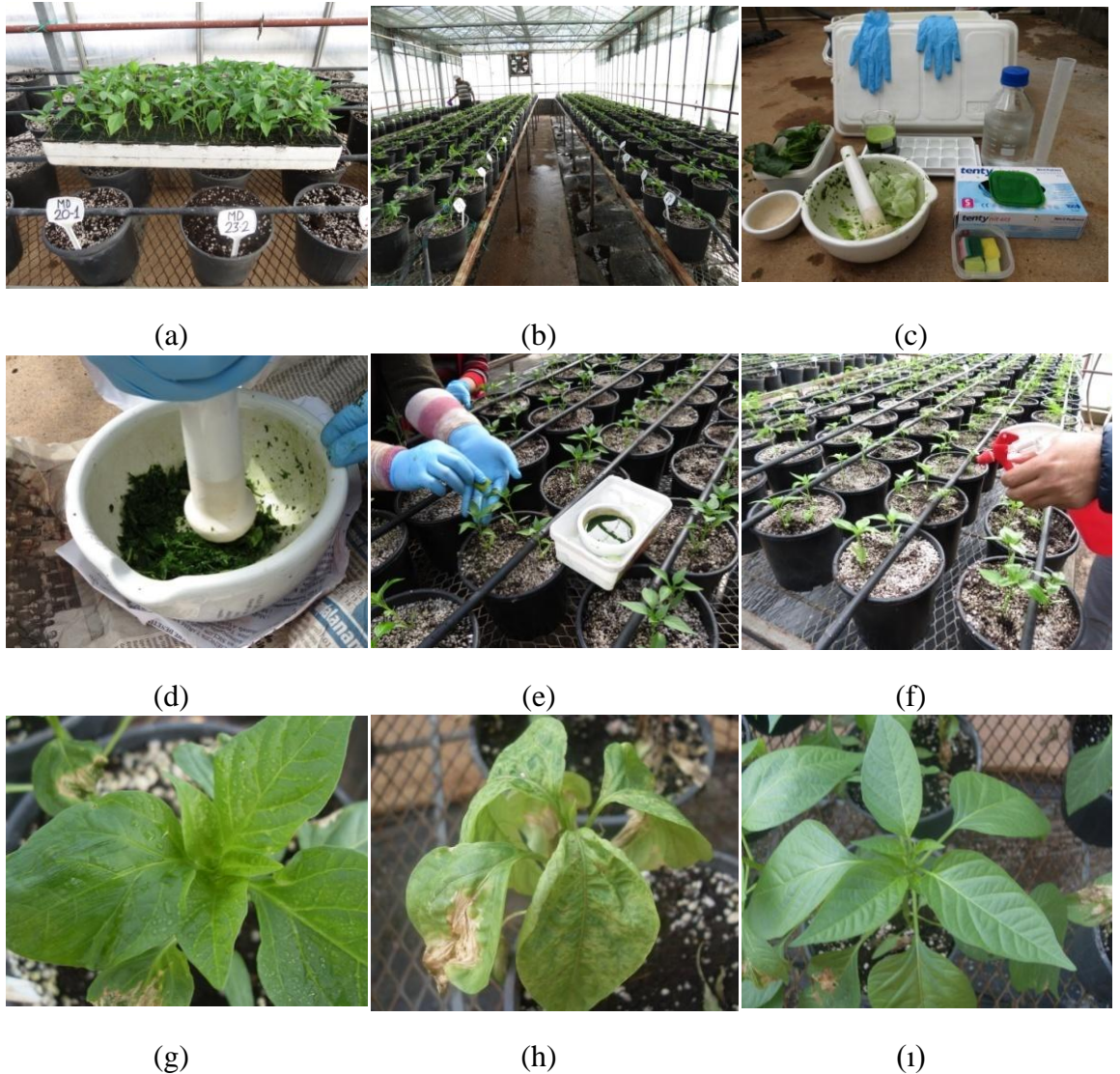
3.2.7. TSWV dayanıklılığının biyolojik test yöntemi (mekanik inokulasyon) ile belirlenmesi

3.2.7.1. TSWV dayanıklılığının biyolojik testleme yöntemi (mekanik inokulasyon) ile belirlenmesi

Testleme yapılacak olan biber fideleri 2-3 gerçek yapraklı dönemde steril harç (2:1 oranında torf ve perlit karışımı) ile doldurulmuş saksılara şaşırtılmıştır. TSWV ile bulaşık olduğu DAS-ELISA analizi (Clark and Adams 1977) sonucunda belirlenmiş biber bitkilerinden elde edilen inokulum, steril porselen bir havan içerisinde iyice ezilmiştir. İçerisine 1:5 oranında 0.01 M fosfat buffer (pH:7.0) ilave edilmiştir. Şaşırtma işleminden 1-2 gün sonra, hazırlanan bu inokulum, içerisinde buz parçaları olan kapta

olacak şekilde fidelerin gelişimini tamamlamış ilk gerçek yapraklarına sünger yardımıyla sürülerek inokulasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemden 3-4 dakika sonra, bitkilerin yapraklarına musluk suyu püskürtülerek yapraklar üzerindeki inokulum fazlalıkları yıkanması sağlanmıştır. İnokulasyon işlemi kompartmanda (otomasyonlu hastalık testleme serası) yapılması nedeniyle bulaştırma işlemi bir hafta arayla 2 kez tekrar edilmiştir (Mandal vd. 2008).

Testlemede her bir kombinasyondan 10'ar bitki kullanılmıştır. Dayanıklı kontrol olarak PI152225, hassas kontrol olarak BATEM çeşidi Serademre 8 kullanılmıştır. Her saksıya ikişer adet fide olacak şekilde dikilmiştir. İnokulasyon, sıcaklık 24- 30 °C ve bağıl nem % 60-80 oranlarında gerçekleştirilmiştir (Mandal vd. 2001) (Şekil 3.8a, b, c, d, e, f, g, h, ı).



Şekil 3.8. Biyolojik testleme aşamaları (Kompartman); **a)** Fide dikim; **b)** Fide sulama; **c)** Biyolojik test malzemeleri; **d)** İnokulum hazırlama; **e)** Mekanik inokulasyon işlemi; **f)** Su ile yıkama; **g)** İnokulasyon yapılmış yapraklar; **h)** Hassas bitki; **ı)** Dayanıklı bitki

Bitkilerde haftalık olarak belirti gözlemler yapılmış ve inokulasyondan yaklaşık olarak 3-4 hafta sonra kontrol bitkileri ile karşılaştırmak suretiyle bitkilerde gelişen semptomlara göre TSWV belirtisi görülen bitkiler “hassas”, belirti göstermeyen bitkiler “dayanıklı” olarak değerlendirilmiştir (Mandal vd. 2008).

3.2.7.2. Das-Elisa test yöntemi

AGDIA firmasının protokolü izlenerek yapılan Double Antibody Sandwich (DAS-ELISA) testinde izlenen basamaklar sırasıyla aşağıda verilmiştir (Clark and Adams 1977). Elisa testi sonucu çıkan absorbans değerlerin negatif kontrolün 3 katı ve daha yüksek olması halinde virüsün var olduğu-pozitif olarak değerlendirilmiştir. Değerin yüksek olması virüs yoğunluğunu göstermektedir (Çizelge 3.13).

1. Kaplama tamponu ile kullanılacak optimum konsantrasyona göre sulandırılmış antibody solüsyonundan pleyt üzerindeki her bir kuyucuğa 100'er mikrolitre konulmuş,
2. Pleyt, kağıt havlu ile nemlendirilmiş bir kutu içerisinde, karanlık ortamda, oda sıcaklığında 4 saat inkübasyona bırakılmış,
3. Pleyt kuyucukları, inkübasyon süresi tamamlanınca, yıkama tamponu ile doldurup-boşaltmak suretiyle 2 kez yıkanmış,
4. Testlenecek örneklerin belirti gösteren kısımlarından alınan bitki dokuları el homojenizatörü ile ezilmiş ve özsuvarı çıkarılmıştır. Çıkarılan özsuvarı 1/10 oranında örnek ekstraksiyon tamponu ile seyreltilerek bitki ekstraktı hazırlanmış,
5. Hazırlanan bitki ekstraktından her bir kuyucuğa 100 µl gelecek şekilde konulmuş ve pleyt nemli kutu içerisinde, buzdolabında (+4 °C'de) bir gece bekletilmiş,
6. İnkübasyon tamamlandığında, pleyt yıkama tamponu ile 7-8 kez doldurup boşaltmak suretiyle yıkanmış,
7. Enzim konjugat, ECI buffer ile birlikte kullanılacak optimum konsantrasyona göre hazırlanmış ve her bir kuyucuğa 100 µl hazırlanan solüsyon dağıtılmış,
8. Pleyt nemli kutu içerisinde, oda sıcaklığında, karanlık ortamda 2 saat bekletilmiş,
9. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra pleyt kuyucukları yıkama tamponu ile 7-8 kez yıkanmış,
10. PNPP tozu 1 mg/1 ml oranında PNPP tamponu ile hazırlanan solüsyon her bir pleyt kuyucuğuna 100 mikrolitre olacak şekilde konulmuş ve pleyt nemli kutu içerisinde oda sıcaklığında karanlık ortamda inkübasyona bırakılmış,
11. Pleyt 60 dakika kadar inkübasyonda tutulmuş, bu süre içerisinde 30 ve 60 dakikalık sürelerde 2 kez olmak üzere 405 nm spektrofotometrede ölçümler yapılmıştır.

Çizelge 3.13. TSWV ile bulaşık bazı biber örneklerinin DAS-ELISA analizi sonucu elde edilen absorbands değerleri

Örnekler	Absorbans Değeri	Sonuç
TSWV 1	0.844	Pozitif
TSWV 2	0.887	Pozitif
TSWV 3	1.088	Pozitif
TSWV 4	1.142	Pozitif
Negatif kontrol	0.096	Negatif
Pozitif kontrol	0.912	Pozitif

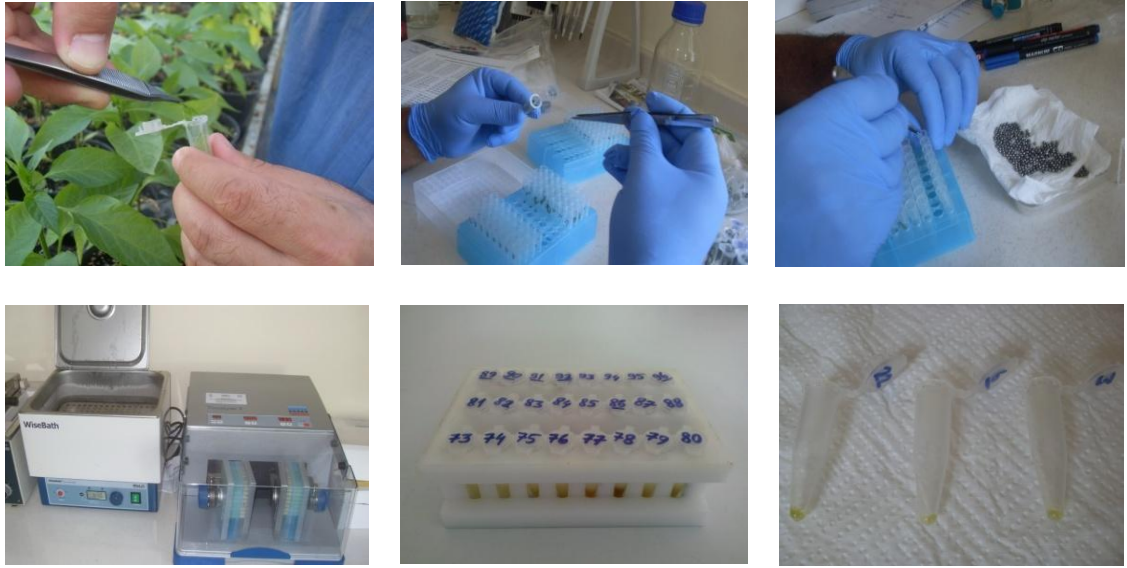
3.2.8. TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla (marker assisted selection-MAS) belirlenmesi (moleküler yöntem)

Çalışmanın beş farklı aşamasında; oluşturulan başlangıç gen havuzundaki çeşit ve hatlarda, F₂, F₄ ve F₆ kademe hatlarda ve son olarak aday hibrit ve ticari çeşitlerde moleküler yöntem ile TSWV dayanıklılığı tespit edilmiştir. TSWV dayanıklılığını kontrol eden *T_{sw}* geni ile bağlantılı olan işaretleyici (SCAC₅₆₈) yardımıyla dayanıklı hat ve hibritler belirlenmiştir (Moury vd. 2000).

3.2.8.1. Bitkilerde DNA izolasyonu

Bitkilerin DNA'ları modifiye edilmiş CTAB protokolüne (Doyle ve Doyle 1990) göre izole edilmiştir.

Her bir materyal örneği için yaklaşık 0.2 g taze sürgün yaprağı ependorf tüpü içerisine alınmış ve 0.5 ml CTAB ekstraksiyon çözeltisi [1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM of Tris-HCL (pH=8), 2% CTAB, ve 1.2 µl of (β)beta-mercaptoethanol] eklenerek tissuelyser cihazının (QIAGEN TissueLyser II) yardımı ile ezilmiştir. Ezme işlemi bittikten sonra, 65 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir (WiseBath- Fuzzy Control System). Daha sonra 3-5 dakika oda sıcaklığında bırakılmış ve 0.5 ml kloroform-izoamil alkol (24:1) karışımı ilave edilerek 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş iki fazlı solüsyon oluşması sağlanmıştır. Oluşan iki fazlı çözeltinin üst fazında DNA olduğu kabul edilip pipet yardımı ile yeni tüplere aktarılmıştır (yaklaşık 300 µl). Santrifüjden (Sigma) sonra, üst sıvı başka bir ependorf tüpüne alınmış ve üzerine 0.4 ml isopropanol ilave edilerek -20 °C'de en az 2 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra, 10 dakika 13.000 rpm'de santrifüjlenerek çökelti elde edilmiş ve % 76'lık etanol ve 10 mM ammonium acetate içeren 0.2 ml yıkama sıvısı ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra, yaklaşık 30-45 dakika kurumaya bırakılarak ependorf içerisinde kalan alkolün uçması sağlanmıştır. Elde edilen DNA'lar TE bufferda saklanmıştır. DNA konsantrasyonunu belirlemek amacıyla, 5 µl DNA örneği alınmış, Lamda DNA kontrolü kullanılmış ve DNA interkalar boya (EZ-Vision® One, DNA DYE AND BUFFER Ambresco®, USA) ile boyayarak %1 lik yüksek çözünürlüklü agaroz jelde (Ambresco® SFR, OH, USA) yürütülmüştür. İzole edilen DNA'ların tamamı -20 °C'de saklanmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. DNA izolasyon aşamaları (Moleküler biyoloji laboratuvarı)

3.2.8.2. PCR Reaksiyon ve amplifikasyon koşulları

TSWV'ye karşı dayanıklılığın sağlanması için melezlemeler ile oluşturulan populasyonlarda dayanıklı ve hassas bireyleri ayırmak için Moury vd. (2000) tarafından oluşturulan spesifik CAPS primeri SCAC₅₆₈ (ileri F:5'-GTGCCAGAGGAGGATTTAT-3' ve geri R:5'-GCGAGGTGGACACTGATACT-3') ile kesim (restriction) enzimi olarak XbaI ve TaqI kullanılmıştır.

PCR bileşenleri olarak toplam hacim 15 µl olacak şekilde aşağıdaki bileşenlerden meydana gelmiştir (Çizelge 3.12). Reaksiyon koşulu 1 µl DNA (20 ng DNA), 1 µl dNTP (0.1 mM dNTPs), 1.5 µl MgCl₂ (2.5 mM MgCl₂), 0.2 µl Taq (0.6 U Taq DNA polymerase), 2 µl her bir primer (0.3 µM her bir primer), 1.5 µl (10X) PCR buffer ve 5.8 µl ddH₂O şeklindedir (Çizelge 3.14).

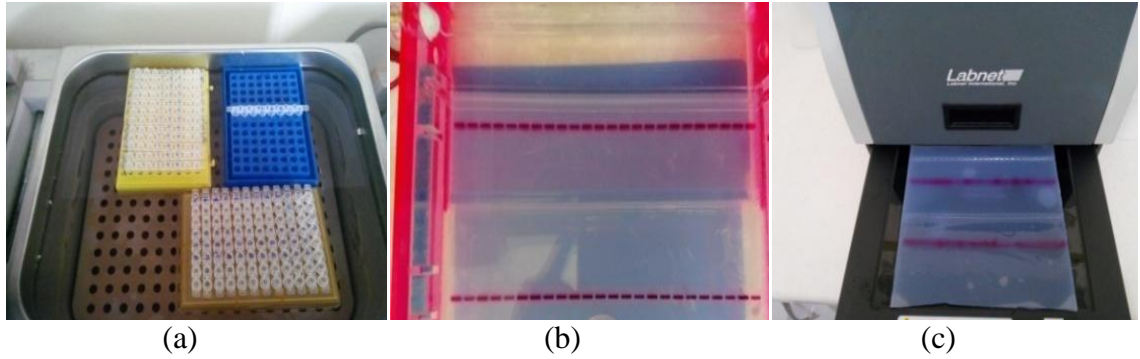
Çizelge 3. 14. CAPS analizde kullanılan PCR bileşenleri

Bileşenler	Miktarlar
DNA (20 ng DNA)	1 µL
dNTP (0.1 mM dNTPs)	1 µL
2.5 mM MgCl ₂	1.5 µL
Taq DNA polymerase (0.6 U)	0.2 µL
Primer (Forward 0.3 µM)	2 µL
Primer (Reverse 0.3 µM)	2 µL
10x PCR Buffer ((NH ₄) ₂ SO ₄)	1.5 µL
ddH ₂ O	5.8 µL
TOPLAM	15 µL

PCR protokolü Çizelge 3.15'te verilmiştir. DNA thermal cycler (Biorad DNA-Engine Gradient Cycler, Hercules, CA, USA) kullanılmıştır. Kesim işlemi, 10 µl PCR ürünü, 15 µl ddH₂O, 2.0 µl buffer ve 3.0 µl kesim enzimi (TaqI veya XbaI) olmak üzere toplam 30 µl hacimde gerçekleştirilmiştir. Kesim işlemi 37 °C'de sıcak su banyosunda ve 16 saat sürede gerçekleştirilmiştir. Kesim işleminden sonra elde edilen ürün, % 2.5'lük yüksek çözünürlüklü agaroz jel içerisinde 110 volt elektrik akımı altında ve 3 saat süreyle yürütülmüştür. Elde edilen bantların büyüklüklerini belirleyebilmek amacıyla 100-bp lik DNA ladder kullanılmıştır (Thermo Scientific™ GeneRuler™ 100 bp, USA). Görüntüleme işlemi UV ışığı altında (ENDURO GDS Gel Documentation System, USA) yapılmıştır (Şekil 3.10a, b, c).

Çizelge 3.15. CAPS analizlerinde kullanılan PCR döngüsü

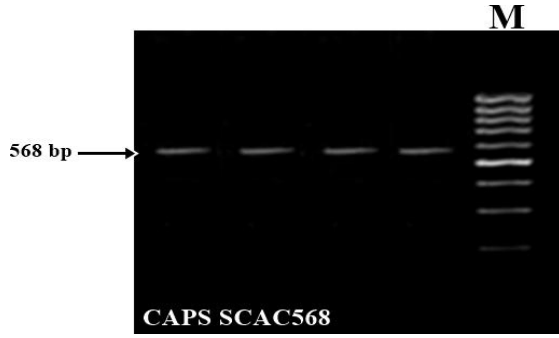
Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
94.0 °C	5 dk	1
94.0 °C	0.5 dk	35
52 °C	0.5 dk	35
72 °C	1 dk	35
72 °C	10 dk	1
4 °C	∞	



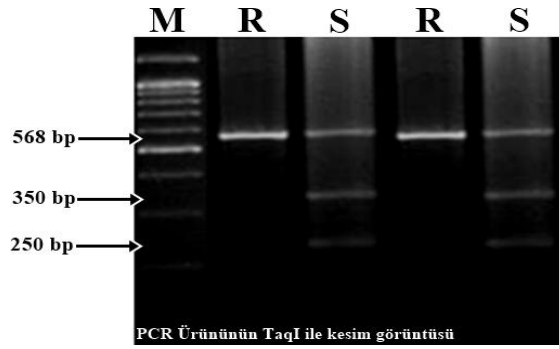
Şekil 3.10. a) Kesim işlemi; b) Jel yürütme; c) Görüntüleme (Moleküler biyoloji lab.)

3.2.8.3. Moleküler test sonuçlarının değerlendirilmesi

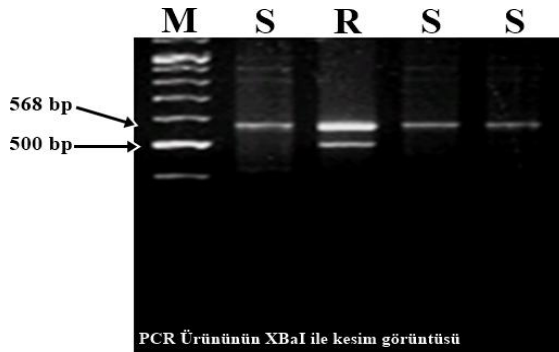
PCR ürününden UV ışığı altında, jel görüntüleme sistemi kullanılarak 568 bp büyüklüğündeki tek bandın görülmesi sağlanmıştır. Daha sonra, TaqI ve XbaI kesim enzimleri (Thermo Scientific, USA) kullanılarak elde edilen bant durumuna göre, hassas, homozigot dayanıklı ve heterozigot dayanıklı bireyler belirlenmiştir (Şekil 3.11, Şekil 3.12, Şekil 3.13)(Çizelge 3.16).



Şekil 3.11. *Tsw* genine bağlı kodominant CAPS SCAC568 işaretleyici açılımı
M: size marker (Polat vd. 2016)



Şekil 3.12. PCR ürününün spesifik enzim TaqI ile kesim görüntüsü M: Size Marker,
S: hassas, R:dayanıklı (Polat vd. 2016)



Şekil 3.13. PCR ürününün spesifik enzim XbaI ile kesim görüntüsü
M: size marker, S: hassas, R:dayanıklı (Polat vd. 2016)

Çizelge 3.16. Kesim enzimi TaqI ve XbaI'a göre bantların değerlendirilmesi (Moury vd. 2000)

TaqI		XbaI		SONUÇ
Dayanıklı	-	Dayanıklı	+	Homozigot Dayanıklı (RR)
Dayanıklı	-	Hassas	-	Heterezigot Dayanıklı (Rr)
Hassas	+	Dayanıklı	+	Heterezigot Dayanıklı (Rr)
Hassas	+	Hassas	-	Hassas (rr)

3.2.9. TSWV dayanıklılığında biyolojik ve moleküler test sonuçlarının karşılaştırılması

Hibrit açılımları ile elde edilen F₂, F₄ ve F₆ kademe hatlar ile aday hibritlerde biyolojik ve moleküler testler ile elde edilen sonuçlar aynı çizelge üzerinde verilerek karşılaştırılmıştır.

3.2.10. TSWV'e dayanıklı aday hibritlerin elde edilmesi ve verim denemesinin yürütülmesi

3.2.10.1. Farklı biber meyve tiplerinde dayanıklı aday hibritlerin elde edilmesi (Altıncı dönem-2014 sonbahar)

Mezleme yapılacak olan hatlar, fenotipik özellikleri ve F₄ kademe biyolojik test ve moleküler test (MAS) sonuçlarına göre belirlenmiştir. Seçilen F₅ kademe bitkilerde sivri, çarliston, kapy ve dolma meyve tiplerinde ayrı ayrı olmak üzere 10 Kasım- 28 Kasım 2014 tarihleri arasında mezleme çalışması yürütülmüştür (Çizelge 3.17).

Çizelge 3.17. Farklı meyve tiplerinde yürütülen aday hibritler mezleme programı (2014 sonbahar)

Sivri		Çarliston		Kapy		Dolma	
Ana ♀	Baba ♂	Ana ♀	Baba ♂	Ana ♀	Baba ♂	Ana ♀	Baba ♂
MS8-1	MS16-1	MÇ6-2	MÇ9-2	MK51-2	MK3-2	MD2-2	MD3-2
MS28-1	MS28-2	MÇ14-1	MÇ14-1		MK8-3	MD4-2	MD9-2
MS41-1	MS46-2	MÇ15-1			MK17-2	MD9-3	MD17-2
MS51-1							MD15/3-1

3.2.10.2. Farklı biber meyve tiplerinde aday hibritlerde ilkbahar dönemi verim denemelerinin kurulması ve istatistikî analizler (Yedinci dönem-2015 ilkbahar)

Sivri, çarliston, kapy ve dolma meyve tiplerinde olmak üzere dört deneme kurulmuştur. Sivrit tipte 10 hibrit ve kontrol çeşit olarak 37-05 RZ (Rijzk Zwaan), çarliston tipte 4 hibrit ve Abide (Yüksel Tohum), kapy tipte 3 hibrit ve Semerkand (Nunhems) ve dolma tipte 10 hibrit ve Ergenekon (Bircan Tarım) ile verim denemeleri kurulmuştur. Verim denemesinde, elde edilmiş olan hibritler ile kontrol çeşitler 26.03.2015 tarihinde ekilmiş, 10.04.2015 tarihinde plastik viyollere şaşırtma işlemi yapılmıştır. Gelişen fideler çift sıra dikim sisteminde 80-(50x40) cm mesafeler ile tesadüf blokları deneme desenine göre üç tekerrürlü ve her tekerrürde 6 bitki olacak şekilde 12.05.2015 tarihinde 16 nolu plastik seraya dikilmiştir (1 da alana 3846 bitki karşılık gelmektedir). Hasat olgunluğuna gelen meyveler 06.07.2015, 22.07.2015 ve 05.08.2015 tarihlerinde hasatları yapılarak meyve ağırlıkları ve meyve sayıları kaydedilmiştir. Hasat edilen meyvelerin resimleri de kaydedilmiştir. Bu dönem hibritlere ait fideler ile ayrıca biyolojik yöntem ve moleküler işaretleyici ile testleme yapılarak TSWV'e karşı dayanıklılık durumları belirlenmiştir.

Aday hibritlere ait elde edilen meyve ağırlık ve meyve sayısı değerleri SAS istatistik paket programında varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar LSD ($P \leq 0.05$) çoklu karşılaştırma yöntemine göre gruplandırılmıştır.

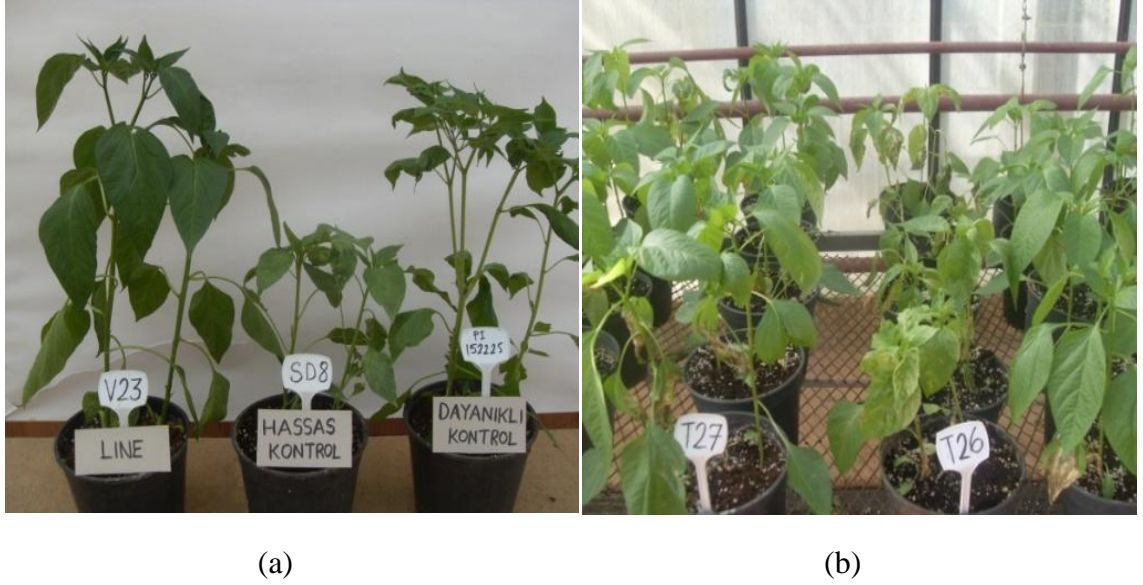
4. BULGULAR

4.1. Farklı Biber Meyve Tiplerinde TSWV Dayanıklılığının Biyolojik Testleme Sonuçları

4.1.1. Farklı biber meyve tiplerinde F₂ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının biyolojik testleme sonuçları

Dördüncü dönem içinde 58 adet kombinasyona ait F₂ kademedeki bitkiler klasik inokulasyon yöntemi ile testlemeye alınmıştır. Tohum ekimi 26.03.2013, şaşırtma 12.04.2013, saksılara dikim 30.04.2013 tarihinde bir saksıya 2 fide olacak şekilde dikilmiştir. Birinci inokulasyon işlemi 03.05.2013 tarihinde, ikinci inokulasyon 10.05.2013 tarihinde yapılmıştır (Şekil 4.1).

TSWV hastalık belirti gözlemleri 21.05.2013 tarihinde “**var-yok**” şeklinde bitki sayıları kaydedilerek yapılmıştır. Hastalık belirtisi bulunan bitkiler “**hassas**”, hastalık belirtisi bulunmayan bitkiler “**dayanıklı**” kabul edilmiştir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1.a) PI152225-dayanıklı kontrol, SD8-Serademre 8 hassas kontrol, V23-hat ; **b)** Dayanıklı ve hassas bitki görünüşleri (T26-Hassas)

Farklı meyve tiplerinde 58 kombinasyona ait F₂ kademesindeki bitkilerde yapılan testleme sonucu hastalık belirtisi göstermeyen 31 dayanıklı, belirti gösteren 27 hassas (kontrol bitkileri hariç) tespit edilmiştir. Meyve tiplerine göre sivri tipte 10, çarlistonda 2, kapyada 7, dolmada 12 dayanıklı kombinasyon belirlenmiştir. Testleme yapılan kombinasyonlarda dayanıklı kombinasyon açılımı hat oranı % 53 olmuştur.

Çizelge 4.1. Farklı biber meyve tiplerinde F₂ kademe bitkilerinde biyolojik testleme sonuçları (MS: sivri, MÇ: çarliston, MK: kapyra, MD: dolma, Dyn: dayanıklı, Has: hassas, K: kontrol)

Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç
MS1-1	0/10	Dyn	MS62-1	2/10	Has	MK20-2	0/10	Dyn
MS2-1	5/10	Has	MS63-1	2/10	Has	MK29-1	10/10	Has
MS3-1	9/10	Has	MS66-1	2/10	Has	MK30-1	10/10	Has
MS5-1	1/10	Has	MS67-1	3/10	Has	MK41-1	0/10	Dyn
MS10-1	0/10	Dyn	MÇ2-1	0/10	Dyn	MK49-1	0/10	Dyn
MS11-1	0/10	Dyn	MÇ4-1	3/10	Has	MD1-1	0/10	Dyn
MS12-1	5/10	Has	MÇ5-1	0/10	Dyn	MD2-1	0/10	Dyn
MS19-1	0/10	Dyn	MÇ12-1	3/10	Has	MD3-1	0/10	Dyn
MS30-2	4/10	Has	MÇ13-1	8/10	Has	MD5-1	0/10	Dyn
MS31-1	10/10	Has	MK3-1	10/10	Has	MD7-1	0/10	Dyn
MS41-1	0/10	Dyn	MK4-1	7/10	Has	MD8-1	0/10	Dyn
MS42-1	0/10	Dyn	MK5-1	0/10	Dyn	MD10-1	0/10	Dyn
MS44-1	0/10	Dyn	MK8-2	10/10	Has	MD11-1	0/10	Dyn
MS46-1	0/10	Dyn	MK9-1	0/10	Dyn	MD12-1	0/10	Dyn
MS47-1	0/10	Dyn	MK10-1	0/10	Dyn	MD13-1	2/10	Has
MS48-2	0/10	Dyn	MK13-1	3/10	Has	MD16-1	0/10	Dyn
MS49-1	1/10	Has	MK15-1	6/10	Has	MD18-1	0/10	Dyn
MS52-1	9/10	Has	MK16-1	0/10	Dyn	MD21-1	0/10	Dyn
MS53-1	2/10	Has	MK17-1	8/10	Has	SD8	9/10	Has K.
MS59-1	2/10	Has	MK19-1	10/10	Has	PI152225	0/10	Dyn K.

4.1.2. Farklı biber meyve tiplerinde F₄ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının biyolojik testleme sonuçları

Beşinci dönem içinde 172 adet kombinasyon açılımı hatlara ait F₄ kademedeki bitkilerde 14.03.2014 tarihinde tohum ekimi, 01.04.2014 tarihinde viyollere şaşırtma yapılmış ve fideler 24.04.2014 tarihinde bir saksıya 2 fide olacak şekilde dikilmiştir. Bitkilerde biyolojik testleme için ilk inokulasyon işlemi 28.04.2014 tarihinde, ikinci inokulasyon işlemi de 05.05.2014 tarihinde yapılmıştır. TSWV hastalık belirti gözlemleri 13.05.2014 tarihinde “var-yok” şeklinde bitki sayıları kaydedilerek yapılmıştır. Bitki gözlemleri son olarak 27.05.2014 tarihinde belirtiler tekrar kontrol edilerek tamamlanmıştır (Çizelge 4.2, 4.3, 4.4) (Şekil 4.2).

Sivri, çarliston, kapyra ve dolma tipte 172 kombinasyon açılımı hatların F₄ kademe bitkilerinde yapılan biyolojik testlemede sivride 10, çarlistonda 3, kapyrada 16 ve dolmada 9 olmak üzere 38 kombinasyon dayanıklı, 134 kombinasyon da hassas olarak belirlenmiştir. Dayanıklı kombinasyon açılımı hat oranı % 22 olmuştur.

Çizelge 4.2. Sivri ve çarliston kombinasyonlara ait F₄ kademe bitkileri biyolojik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas)

Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç
MS1-2	5/10	Has	MS27-1	4/10	Has	MS56-1	8/10	Has
MS2-2	4/10	Has	MS28-1	0/10	Dyn	MS58-1	6/10	Has
MS3-2	4/10	Has	MS28-2	0/10	Dyn	MS59-2	4/10	Has
MS4-1	7/10	Has	MS29-1	4/10	Has	MS61-1	2/10	Has
MS6-1	6/10	Has	MS29-2	10/10	Has	MS64-1	5/10	Has
MS7-1	2/10	Has	MS31-2	8/10	Has	MS64-2	0/10	Dyn
MS8-1	0/10	Dyn	MS32-2	5/10	Has	MS65-1	7/10	Has
MS9-1	10/10	Has	MS33-1	2/10	Has	MS66-2	7/10	Has
MS10-2	10/10	Has	MS34-1	1/10	Has	MS69-1	8/10	Has
MS11-2	10/10	Has	MS35-1	3/10	Has	MÇ1-2	5/10	Has
MS12-2	0/10	Dyn	MS36-1	0/10	Dyn	MÇ2-2	7/10	Has
MS13-1	0/10	Dyn	MS37-1	4/10	Has	MÇ4-1	8/10	Has
MS15-1	3/10	Has	MS37-2	7/10	Has	MÇ5-2	4/10	Has
MS16-1	2/10	Has	MS38-3	4/10	Has	MÇ6-2	0/10	Dyn
MS17-2	4/10	Has	MS41-2	0/10	Dyn	MÇ8-1	3/10	Has
MS18-1	9/10	Has	MS42-2	3/10	Has	MÇ9-1	6/10	Has
MS19-2	6/10	Has	MS43-2	6/10	Has	MÇ9-2	4/10	Has
MS20-1	10/10	Has	MS44-1	6/10	Has	MÇ10-1	5/10	Has
MS21-1	10/10	Has	MS45-2	0/10	Dyn	MÇ10-2	7/10	Has
MS21-2	2/10	Has	MS46-2	1/10	Has	MÇ11-1	4/10	Has
MS23-1	3/10	Has	MS47-2	8/10	Has	MÇ11-2	0/10	Dyn
MS24-1	8/10	Has	MS49-2	2/10	Has	MÇ12-2	7/10	Has
MS24-2	7/10	Has	MS50-1	7/10	Has	MÇ13-2	3/10	Has
MS25-1	10/10	Has	MS51-1	0/10	Dyn	MÇ13-3	2/10	Has
MS25-2	10/10	Has	MS54-1	3/10	Has	MÇ14-2	0/10	Dyn
MS26-1	9/10	Has	MS55-1	4/10	Has			



Şekil 4.2. Biyolojik testleme sonunda bitki görünümleri

Çizelge 4.3. Kopya kombinasyonlara ait F₄ kademe bitkileri klasik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas, K: kontrol)

Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç
MK1-2	6/10	Has	MK23-4	6/10	Has	MK37-2	5/10	Has
MK2-2	3/10	Has	MK25-1	6/10	Has	MK38-1	1/10	Has
MK3-2	0/10	Dyn	MK26-1	4/10	Has	MK39-1	1/10	Has
MK4-2	7/10	Has	MK27-1	7/10	Has	MK40-1	0/10	Dyn
MK5-3	7/10	Has	MK28-2	4/10	Has	MK40-2	4/10	Has
MK6-2	0/10	Dyn	MK29-2	6/10	Has	MK41/2-1	2/10	Has
MK8-1	0/10	Dyn	MK29-3	5/10	Has	MK42-1	4/10	Has
MK8-3	3/10	Has	MK30-2	0/10	Dyn	MK43-1	3/10	Has
MK10-2	0/10	Dyn	MK30-3	4/10	Has	MK44-1	1/10	Has
MK11-2	6/10	Has	MK30-4	0/10	Dyn	MK45-1	0/10	Dyn
MK12-2	4/10	Has	MK30-5	4/10	Has	MK45-2	0/10	Dyn
MK12-3	3/10	Has	MK31-2	5/10	Has	MK46-1	8/10	Has
MK13-2	3/10	Has	MK32-1	3/10	Has	MK46-2	10/10	Has
MK15-2	0/10	Dyn	MK32-2	0/10	Dyn	MK48-2	0/10	Dyn
MK17-2	0/10	Dyn	MK33-1	0/10	Dyn	MK48/3-1	3/10	Has
MK17-3	6/10	Has	MK34-1	0/10	Dyn	MK49-2	5/10	Has
MK18-1	7/10	Has	MK34-2	2/10	Has	MK50-2	2/10	Has
MK18-3	2/10	Has	MK35-1	5/10	Has	MK51-1	5/10	Has
MK21-1	6/10	Has	MK35-2	6/10	Has	MK51-2	3/10	Has
MK22-2	3/10	Has	MK36-1	0/10	Dyn	SD8-kont	10/10	Has K.
MK23-2	2/10	Has	MK37-1	3/10	Has	PI152225	0/10	Dyn K

Çizelge 4.4. Dolma kombinasyonlara ait F₄ kademe bitkileri biyolojik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas, K: kontrol)

Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç
MD1-2	0/10	Dyn	MD8-3	5/10	Has	MD19-2	8/10	Has
MD1-3	2/10	Has	MD9-1	0/10	Dyn	MD21-2	5/10	Has
MD2-2	0/10	Dyn	MD9-2	0/10	Dyn	MD22-1	4/10	Has
MD3-2	0/10	Dyn	MD9-3	0/10	Dyn	MD22-2	6/10	Has
MD4/1-1	0/10	Dyn	MD11-2	2/10	Has	MD23/1-	5/10	Has
MD4-2	0/10	Dyn	MD12-2	3/10	Has	MD23-2	7/10	Has
MD5-2	5/10	Has	MD15-3	2/10	Has	MD24-1	3/10	Has
MD6-2	1/10	Has	MD15/3-1	3/10	Has	MD28-1	5/10	Has
MD6-3	5/10	Has	MD16-2	9/10	Has	MD28-2k	1/10	Has
MD7/1-1	2/10	Has	MD16/2-1	7/10	Has	MD29-1k	3/10	Has
MD7-3	3/10	Has	MD17/2	0/10	Dyn	SD8 kont	10/10	Has K.
MD8-2	6/10	Has	MD18-1	5/10	Has	PI152225	0/10	Dyn K.

4.1.3. Farklı biber meyve tiplerinde F₆ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının biyolojik testleme sonuçları

Yedinci dönemde 186 adet kombinasyon açılımı hatlara ait F₆ kademedeki tohumlar 26.03.2015 tarihinde ekilmiş, 10.04.2015 tarihinde şaşırtma işlemi yapılmış ve fideler 08.05.2015 tarihinde saksılara dikilmiştir. İlk inokülasyon 14.05.2015, ikinci inokülasyon 21.05.2015 tarihinde yapılmıştır. Fidelerdeki hastalık belirti gözlemi

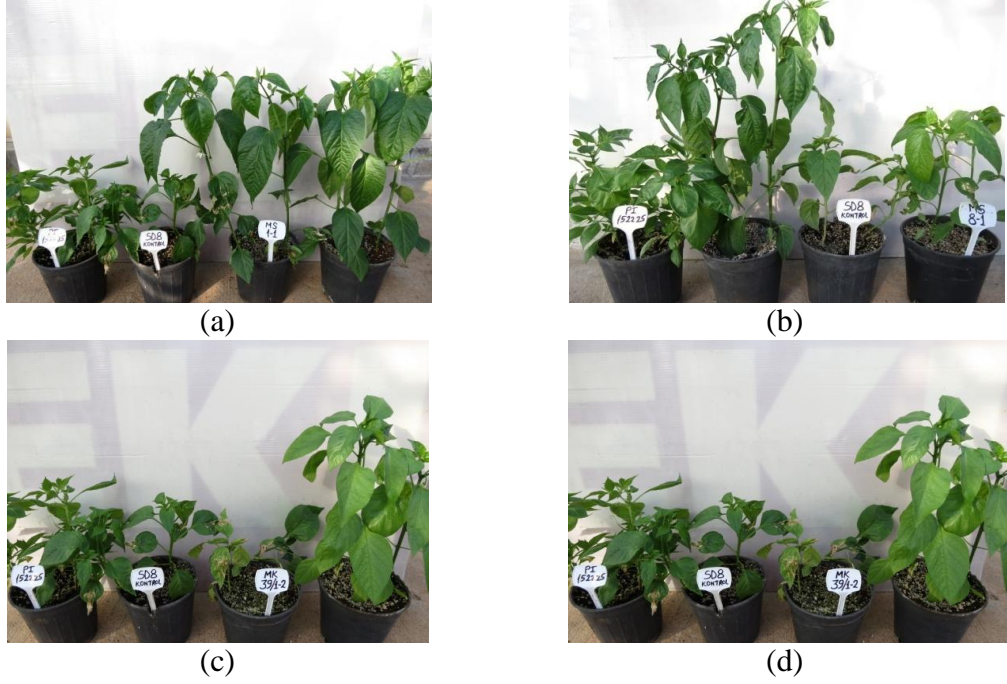
12.06.2015 tarihinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5, 4.6 ve 4.7’de verilmiştir. Biyolojik testlemeye ait dayanıklı kontrol ve hat görüntüleri Şekil 4.3a, b, c, d’de verilmiştir.

Sivri, çarliston, kapyra ve dolma kombinasyon açılımı hatlara ait F₆ kademe bitkilerinde yapılan biyolojik testlemelerde; sivride 20, çarlistonda 4, kapyrada 37, dolmada 32 olmak üzere 93 kombinasyon dayanıklı, 93 kombinasyon hassas olarak belirlenmiştir. Dayanıklı kombinasyon oranı % 50 olmuştur. Aynı dönemde testlenmiş olan 21 aday hibrit klasik testleme sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Sivri ve çarliston kombinasyonlara ait F₆ kademe bitkileri biyolojik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas, K: kontrol)

Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç
MS1-1	0/10	Dyn	MS27-2	10/10	Has	MS51-1	0/10	Dyn
MS2-2	6/10	Has	MS28-1	0/10	Dyn	MS52-1	8/10	Has
MS3-1	3/10	Has	MS28-2	0/10	Dyn	MS53-2	0/10	Has
MS4-2	1/10	Has	MS29-1	10/10	Has	MS61-1	0/10	Dyn
MS5-1	4/10	Has	MS30-2	2/10	Has	MS62-1	7/10	Has
MS5-2	3/10	Has	MS31-2	7/10	Has	MS64-2	0/10	Dyn
MS7-1	1/10	Has	MS33-1	10/10	Has	MÇ2-1	6/10	Has
MS8-1	0/10	Dyn	MS34-1	5/10	Has	MÇ2/1-2	5/10	Has
MS8-2	0/10	Dyn	MS35-1	10/10	Has	MÇ5-1	0/10	Dyn
MS10-1	0/10	Dyn	MS36-1	0/10	Dyn	MÇ6-2	10/10	Has
MS11-1	2/10	Has	MS38-1	8/10	Has	MÇ8-1	10/10	Has
MS12-2	0/10	Dyn	MS38-2	3/10	Has	MÇ9-2	2/10	Has
MS13-1	0/10	Dyn	MS38-3	10/10	Has	MÇ10-1	2/10	Has
MS13-2	0/10	Dyn	MS41-1	0/10	Dyn	MÇ11-2	10/10	Has
MS14-1	2/10	Has	MS41-2	0/10	Dyn	MÇ12-1	2/10	Has
MS15-1	2/10	Has	MS43-1	0/10	Dyn	MÇ13-1	1/10	Has
MS15-2	9/10	Has	MS43-2	10/10	Has	MÇ13-3	7/10	Has
MS16-1	3/10	Has	MS44-1	10/10	Has	MÇ14-1	10/10	Has
MS16-2	9/10	Has	MS45-1	7/10	Has	MÇ14-2	10/10	Has
MS18-1	10/10	Has	MS46-2	0/10	Dyn	MÇ14/1-1	0/10	Dyn
MS19-1	10/10	Has	MS47-1	0/10	Dyn	MÇ14/2-2	4/10	Has
MS19-2	10/10	Has	MS48-1	1/10	Has	MÇ15-1	0/10	Dyn
MS20-1	9/10	Has	MS48-2	3/10	Has	MÇ15/1-1	3/10	Has
MS21-1	10/10	Has	MS49-1	0/10	Dyn	MÇ15/1-2	0/10	Dyn
MS24-1	0/10	Dyn	MS49-2	1/10	Has			

Bu dönem yapılan biyolojik testlemede ilginç bir sonuç olarak, dayanıklı kontrol genotip PI152225’e ait 1 bitkide ve serada yetiştirilen PI152225 bitkilerinin birisinde TSWV hastalık belirtileri gözlenmiştir. Bu durum, kullandığımız BATEM TSWV izolatinin dayanıklılığı kıran izolat olabileceği sonucunu ortaya koymaktadır (Şekil 4.4a, b, c, d).



Şekil 4.3. a) MS1-1 dayanaklı; b) MS8-1 dayanaklı; c) MK39/1-2 hassas; d) MD15/3-1 hassas

Çizelge 4.6. Kapyta kombinasyonlarına ait F₆ kademe bitkileri biyolojik testleme sonuçları (Dyn: dayanaklı, Has: hassas, K: kontrol)

Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç
MK1-1	0/10	Dyn	MK25-1	3/10	Has	MK39-1-2	3/10	Has
MK3-2	0/10	Dyn	MK25-2	0/10	Dyn	MK40-1	0/10	Dyn
MK4-1	2/10	Has	MK26-1	0/10	Dyn	MK40-1S	0/10	Dyn
MK5-2	5/10	Has	MK27-1	3/10	Has	MK41-1	0/10	Dyn
MK5-3	1/10	Has	MK27-2	0/10	Dyn	MK41/2-1	0/10	Dyn
MK6-2	0/10	Dyn	MK27-2-1	0/10	Dyn	MK42-1	0/10	Dyn
MK8-1	0/10	Dyn	MK29-1	10/10	Has	MK45-1	0/10	Dyn
MK8-3	0/10	Dyn	MK29-2	10/10	Has	MK45-2	0/10	Dyn
MK10-1	0/10	Dyn	MK29-4	0/10	Dyn	MK48-1	6/10	Has
MK11-2	0/10	Dyn	MK30-1	10/10	Has	MK48-2	0/10	Dyn
MK12-3	10/10	Has	MK30-2	0/10	Dyn	MK49-2	10/10	Has
MK13-2	0/10	Dyn	MK30-2-1	0/10	Dyn	MK50-2	7/10	Has
MK15-2	0/10	Dyn	MK31-1	0/10	Dyn	MK50-3	4/10	Has
MK16-1	0/10	Dyn	MK32-1	1/10	Has	MK51-1	0/10	Dyn
MK16/2-2	4/10	Has	MK32-2	0/10	Dyn	MK51-2	0/10	Dyn
MK17-2	0/10	Dyn	MK33-1	0/10	Dyn	MK51-3	6/10	Has
MK17/2-2	10/10	Has	MK33/1-2	10/10	Has	MK51-4	10/10	Has
MK18-3	10/10	Has	MK34-1	0/10	Dyn	MK51/4-2	0/10	Dyn
MK22-2-2	4/10	Has	MK34-2	0/10	Dyn			
MK22-3	0/10	Dyn	MK35-2	1/10	Has	SD8 Kont.	10/10	Has K
MK23-4	0/10	Dyn	MK38-1	1/10	Has	PI 152225	1/10	Has*
MK24-2	10/10	Has	MK39-1	0/10	Dyn	SCM 334	0/10	Dyn

*:Kontrol genotipte 1 bitki de hastalık belirtisi görülmüştür.

Çizelge 4.7. Dolma kombinasyonlara ait F₆ kademe bitkileri biyolojik testleme sonuçları (Dyn: dayanıklı, Has: hassas)

Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç	Genotip	Skor	Sonuç
MD1-1	0/10	Dyn	MD7/1	3/10	Has	MD15-3-1	0/10	Has
MD1-2	0/10	Dyn	MD7/1-2	6/10	Has	MD15-4	2/10	Has
MD1-3	0/10	Dyn	MD7-3	0/10	Dyn	MD16-1	0/10	Dyn
MD2-1	1/10	Has	MD8-1	1/10	Has	MD17-2	0/10	Dyn
MD2-2	0/10	Dyn	MD8/2-1	0/10	Dyn	MD18-1	0/10	Dyn
MD3-1	0/10	Dyn	MD8/2-2	0/10	Dyn	MD19-2	5/10	Has
MD3-3	4/10	Has	MD9-1	1/10	Has	MD20-1	5/10	Has
MD3-2	0/10	Dyn	MD9/1-2	0/10	Dyn	MD23-2	0/10	Dyn
MD3-3-1	4/10	Has	MD9-2	0/10	Dyn	MD23/3-2	0/10	Dyn
MD3-3-2	1/10	Has	MD9-3	0/10	Dyn	MD24-2	4/10	Has
MD4-1	0/10	Dyn	MD10-1	0/10	Dyn	MD24/2-2	0/10	Dyn
MD4/1-2	2/10	Has	MD11-1	0/10	Dyn	MD28-2 S	0/10	Dyn
MD4-2	0/10	Dyn	MD11-2	10/10	Has	MD28-2k	0/10	Dyn
MD5-1	0/10	Dyn	MD12-2	5/10	Has	MD29-1k	0/10	Dyn
MD5-2	2/10	Has	MD13-1	4/10	Has	MD29-2	0/10	Dyn
MD6/1-2	0/10	Dyn	MD15-1	0/10	Dyn	MD30-1	0/10	Dyn
MD6/2	0/10	Dyn	MD15-3	0/10	Dyn			



(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.4. a) PI15225 dayanıklı genotip; b); c); d) TSWV-dayanıklılığı kıran izolat (RB) belirtileri

4.1.4. Farklı biber meyve tiplerinde TSWV dayanıklılığı için biyolojik testleme sonuçlarının genel değerlendirmesi

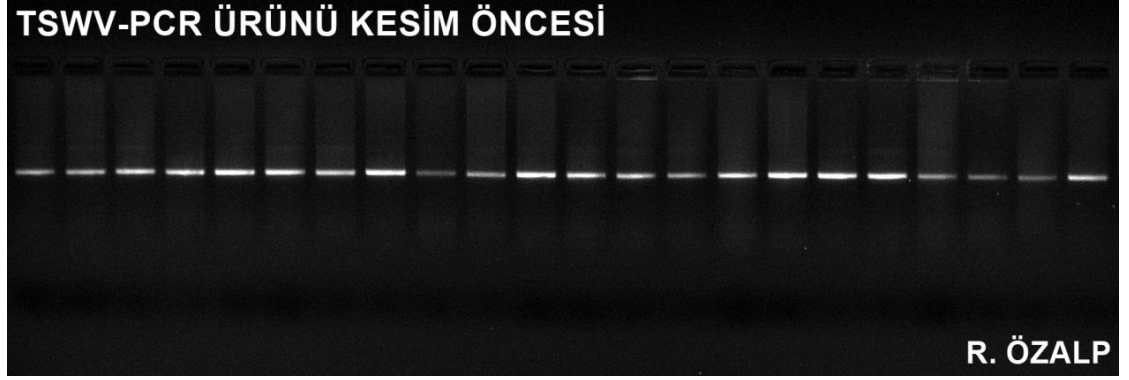
Sivri, çarliston, kapy ve dolma tiplerde kombinasyon açılımı hatlara ait F₂, F₄ ve F₆ kademe generasyonlar ve aday hibritlerde yapılmış olan biyolojik testlemelerde kontrol bitkileri dışında toplam 437 genotip testlenmiş ve 182 dayanıklı, 255 hassas sonuç tespit edilmiştir. Biyolojik testlemesi yapılmış olan hat ve aday hibritlerin tamamında % 41.6 oranında dayanıklı genotip tespit edilmiştir. Biyolojik testlemelerde 60 adet kontrol bitkisi, 4370 adet genotip olmak üzere 4430 adet bitkide inokulasyon yapılarak biyolojik testleme gerçekleştirilmiştir. Yapılan biyolojik testlemelere ait dayanıklı-hassas açılım hat ve aday hibrit sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir. Biyolojik ve moleküler testleme sonuçlarının hatlara göre sıralı listesi EK-1’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Farklı biber meyve tiplerinde biyolojik testlemelere ait genel sonuçlar (F₂: 58, F₄: 172, F₆: 186, Aday hibrit: 21, Dyn: dayanıklı, Has: hassas)

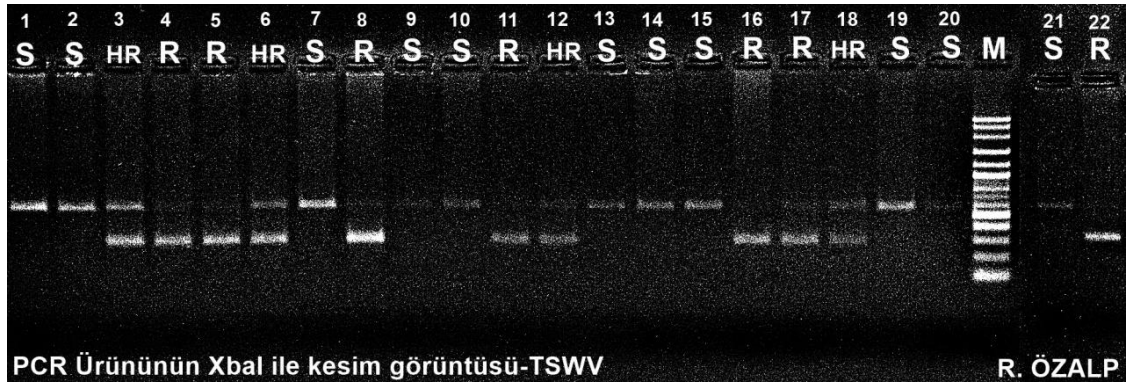
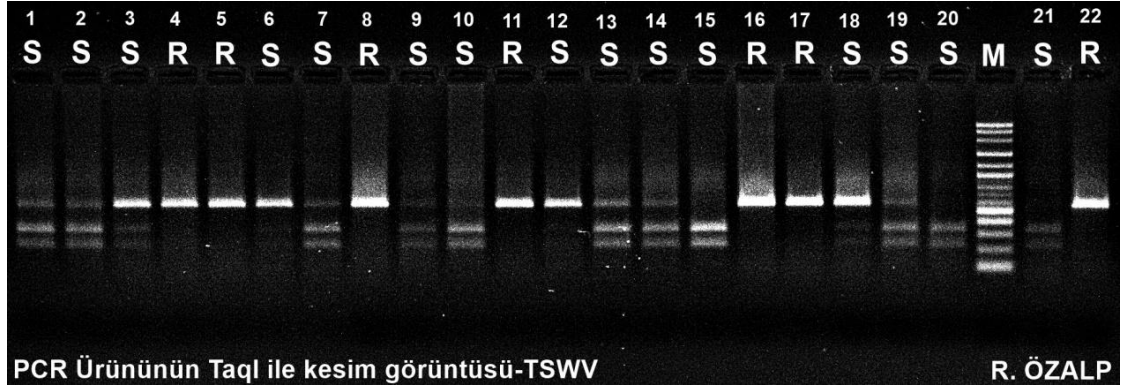
Meyve Tipi	Sivri (adet)		Çarliston (adet)		Kapy (adet)		Dolma (adet)		Toplam (adet)		% Dyn oran
	Dyn	Has	Dyn	Has	Dyn	Has	Dyn	Has	Dyn	Has	
F ₂ hat	10	14	2	3	7	19	12	1	31	27	53
F ₄ hat	10	51	3	13	16	45	9	25	38	134	22
F ₆ hat	20	36	4	14	37	25	32	18	93	93	50
Aday hibrit	7	1	2	--	3	--	8	--	20	1	95
Toplam	47	102	11	30	63	79	61	44	182	255	41.6

4.2. Farklı Biber Meyve Tiplerinde TSWV Dayanıklılığının Moleküler İşaretleyici Yardımıyla Belirlenmesine İlişkin Sonuçlar

Sivri, çarliston, kapy ve dolma tiplerde F₂, F₄ ve F₆ kademe bitkilerinde Moury vd. 2000’e göre yapılan moleküler testlemelerde kodominant markır kullanılarak homozigot, heterozigot ve hassas olarak sonuçlar belirlenmiştir. TSWV dayanıklılığı tespiti için elde edilen PCR ürününün kesim öncesi jel görüntüsü Şekil 4.5 ve ürünün TaqI ve XbaI kesim görüntüleri Şekil 4.6’da verilmiştir. Her iki kesim görüntüsü incelenerek örneklerin dayanıklılığı homozigot-RR, heterozigot-Rr ve hassas-rr olarak belirlenmiştir. TaqI spesifik enzim kesim kesim jel görüntüsüne göre 568 bp bant görüntüsü verenler dayanıklı, 250 ve 350 bp bant görüntüsü verenler hassas, XbaI enzim kesim jel görüntüsüne göre 568 bp+yaklaşık 300 bp birlikte dayanıklı, tek 568 bp bant görüntüsü veren örnekler hassas kabul edilmiştir. Her iki görüntü sonuçlarına göre de dayanıklı bulunanlar homozigot-RR, sadece birinde dayanıklı bulunanlar heterozigot-Rr ve ikisinde de hassas bulunanlar hassas-rr olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.9). Moleküler testleme yapılan labotatuvar görüntüsü Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.5. TSWV dayanıklılığını belirlemek için elde edilen PCR ürününün kesim öncesi jel-elektroforez görüntüsü



Şekil 4.6. TSWV dayanıklılığı için PCR ürünlerinin TaqI ve XbaI enzimleri ile kesim jel-elektroforez görüntüleri, M:100 bç'lik DNA merdiveni (S:hassas, R: dayanıklı, HR: heterozigot dayanıklı)

Çizelge 4.9. Örneklerin TSWV dayanıklılığı için TaqI ve XbaI spesifik enzim kesim sonuçlarına göre değerlendirilmesi (Kontroller:21=Serademre 8, 22= PI152225, S:hassas, R: dayanıklı)

No	TaqI	XbaI	Sonuç	No	TaqI	XbaI	Sonuç
1	S	S	Hassas-rr	12	S	R	Heterezigot dayanıklı-RR
2	S	S	Hassas-rr	13	S	S	Hassas-rr
3	S	R	Heterezigot dayanıklı-RR	14	S	S	Hassas-rr
4	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	15	S	S	Hassas-rr
5	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	16	R	R	Homozigot dayanıklı-RR
6	S	R	Heterezigot dayanıklı-RR	17	R	R	Homozigot dayanıklı-RR
7	S	S	Hassas-rr	18	S	R	Heterezigot dayanıklı-RR
8	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	19	S	S	Hassas-rr
9	S	S	Hassas-rr	20	S	S	Hassas-rr
10	S	S	Hassas-rr	21	S	S	Hassas-rr (kontrol)
11	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	22	R	R	Hom. Dayanıklı- RR (PI)



Şekil 4.7. Moleküler biyoloji laboratuvarı çalışma alanı görüntüsü

4.2.1. Farklı biber meyve tiplerinde F₂ kademe bitkileri TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar

Sivri, çarliston, kapyra ve dolma tiplerde 135 kombinasyon açılım hatlara ait F₂ kademe bitkilerinde yapılan moleküler testlemede; sivride homozigot dayanıklı-RR:8, heterezigot dayanıklı-Rr:14, hassas-rr:21, çarlistonda RR:5, Rr:6, rr:5, kapyrada RR:23, Rr:23, rr:5 ve dolmada RR:11, Rr:7, rr:7 olmak üzere 97 kombinasyon dayanıklı, 38 kombinasyon hassas olarak belirlenmiştir. Dayanıklı kombinasyon açılım hat oranı % 72 olmuştur. F₂ kademe açılım hatlara ait moleküler testleme sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Farklı biber meyve tiplerinde F₂ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesi sonuçları (Mol: moleküler test, RR: homozigot dayanıklı, Rr: heterozigot dayanıklı, rr: hassas)

Genotip F2	Mol Test F2	Genotip F2	Mol Test F2	Genotip F2	Mol Test F2	Genotip F2	Mol Test F2
MS 2-1	rr	MS 60-2	rr	MK 13-1	rr	MK 45-2	Rr
MS 3-1	rr	MS 61-1	rr	MK 14-1	RR	MK 46-1	Rr
MS 4-2	rr	MS 62-1	Rr	MK 15-2	RR	MK 47-2	Rr
MS 5-1	rr	MS 63-1	rr	MK 16-2	Rr	MK 48-1	Rr
MS 7-1	rr	MS 65-1	RR	MK 17-1	RR	MK 48-2	Rr
MS 9-2	Rr	MS 66-1	rr	MK 17-2	RR	MD 1-1	rr
MS 10-2	Rr	MS 67-1	rr	MK 18-3	RR	MD 1-2	RR
MS 12-2	rr	MS 68-1	rr	MK 20-2	RR	MD 2-2	RR
MS 13-1	Rr	MÇ 1-2	rr	MK 21-2	rr	MD 3-1	Rr
MS 16-2	Rr	MÇ 2-1	Rr	MK 22-2	rr	MD 8-1	Rr
MS 17-2	Rr	MÇ 4-1	rr	MK 24-2	RR	MD 9-1	RR
MS 18-1	Rr	MÇ 5-1	Rr	MK 25-1	rr	MD 9-2	RR
MS 18-2	RR	MÇ 6-2	Rr	MK 25-2	Rr	MD 9-3	RR
MS 21-1	Rr	MÇ 7-1	rr	MK 27-2	RR	MD 10-2	RR
MS 22-1	Rr	MÇ 7-2	Rr	MK 29-1	Rr	MD 11-1	Rr
MS 23-1	rr	MÇ 8-1	RR	MK 29-2	Rr	MD 16-1	Rr
MS 28-1	RR	MÇ 9-1	RR	MK 29-4	RR	MD 17-2	Rr
MS 28-2	RR	MÇ 9-2	Rr	MK 30-1	Rr	MD 18-1	Rr
MS 30-2	rr	MÇ 11-2	Rr	MK 30-2	RR	MD 18-2	Rr
MS 38-2	Rr	MÇ 12-1	rr	MK 30-4	RR	MD 19-1	RR
MS 39-1	RR	MÇ 13-2	RR	MK 31-1	Rr	MD 19-2	RR
MS 43-1	Rr	MÇ 14-1	RR	MK 31-2	RR	MD 20-1	RR
MS 44-1	RR	MÇ 14-2	rr	MK 32-1	Rr	MD 20-2	RR
MS 45-1	rr	MÇ 15-1	RR	MK 32-2	RR	MD 21-1	RR
MS 45-2	RR	MK 1-1	RR	MK 33-1	RR	MD 22-1	rr
MS 46-1	rr	MK 3-2	RR	MK 34-1	RR	MD 22-3	rr
MS 47-1	RR	MK 5-1	RR	MK 34-2	Rr	MD 24-2	rr
MS 48-2	rr	MK 5-2	RR	MK 34-3	Rr	MD 28-2	rr
MS 49-1	rr	MK 6-2	Rr	MK 38-1	rr	MD 29-1	rr
MS 51-2	Rr	MK 7-1	Rr	MK 39-1	Rr	MD 29-2	rr
MS 52-1	rr	MK 7-2	RR	MK 39-2	Rr		
MS 53-1	rr	MK 8-1	RR	MK 41-1	Rr	SD8 kont.	rr
MS 53-2	Rr	MK 8-3	RR	MK 41-2	Rr	PI 152225	RR
MS 54-1	Rr	MK 10-1	RR	MK 42-1	Rr		
MS 59-1	rr	MK 11-2	Rr	MK 45-1	Rr	TEST	137

4.2.2. Farklı biber meyve tiplerinde F₄ kademe bitkileri TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar

Sivri, çarliston, kapyra ve dolma tiplerde 89 kombinasyon açılımı hata ait F₄ kademe bitkilerinde yapılan moleküler testlemede; sivride RR:12, Rr:2, rr:10, çarlistonda RR:4, Rr:2, rr:3, kapyrada RR:21, Rr:7, rr:7 ve dolmada RR:8, Rr:2, rr:11 olmak üzere 58 kombinasyon dayanıklı, 31 kombinasyon hassas olarak belirlenmiştir.

Dayanıklı kombinasyon oranı % 65 bulunmuştur. F₄ kademe açılım hatlara ait moleküler testleme sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Farklı biber meyve tiplerinde F₄ kademe bitkilerinde TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesi sonuçları (Mol: moleküler test, RR: homozigot dayanıklı, Rr: heterozigot dayanıklı, rr: hassas)

Genotip F4	Mol Test F4	Genotip F4	Mol Test F4	Genotip F4	Mol Test F4	Genotip F4	Mol Test F4
MS 1-1	RR	MS 64-2	rr	MK 23-2	rr	MD 2-2	RR
MS 7-1	rr	MÇ 2-1	RR	MK 25-1	rr	MD 3-2	RR
MS 8-1	RR	MÇ 5-1	Rr	MK 26-1	RR	MD 3-3	rr
MS 10-1	rr	MÇ 6-2	RR	MK 27-2	RR	MD 4-1	RR
MS 12-2	rr	MÇ 9-2	Rr	MK 29-4	RR	MD 4-1-1	RR
MS 13-1	RR	MÇ 11-2	rr	MK 30-2	RR	MD 4-2	RR
MS 13-2	RR	MÇ 13-1	rr	MK 31-1	RR	MD 6-2	rr
MS 15-1	rr	MÇ 14-1	RR	MK 32-1	rr	MD 7-1-1	rr
MS 16-1	rr	MÇ 14-2	rr	MK 32-2	RR	MD 9-1	rr
MS 21-2	rr	MÇ 15-1	RR	MK 33-1	RR	MD 9-2	RR
MS 28-1	RR	MK 1-1	RR	MK 34-2	RR	MD 9-3	RR
MS 28-2	RR	MK 3-2	RR	MK 36-1	RR	MD 13-1	rr
MS 36-1	RR	MK 6-2	Rr	MK 38-1	rr	MD 15-1	rr
MS 41-1	RR	MK 8-1	RR	MK 39-1	rr	MD 15-3	rr
MS 41-2	RR	MK 8-3	RR	MK 40-1S	RR	MD 15-3-1	rr
MS 45-2	RR	MK 10-1	RR	MK 41-1	Rr	MD 17-2	Rr
MS 46-2	Rr	MK 11-2	rr	MK 42-1	Rr	MD 18-1	Rr
MS 47-1	RR	MK 12-3	RR	MK 45-2	Rr	MD 20-1	RR
MS 51-1	RR	MK 13-2	RR	MK 48-2	Rr	MD 23-2	rr
MS 52-1	rr	MK 15-2	RR	MK 49-2	rr	MD 24-1	rr
MS 53-2	Rr	MK 16-2	RR	MK 51-2	Rr	SCM 334	rr
MS 61-1	rr	MK 17-2	RR	MK 51-4	Rr	PI 152225	RR
MS 62-1	rr	MK 18-3	RR	MD 1-1	rr	SD8 (92)	rr

F₄ kademe açılım hatlara ait moleküler testleme spesifik enzim kesim jel görüntüsü 18 örnek ve kontroller için Şekil 4.8’de verilmiştir. Bu örneklerin TSWV dayanıklılığı için TaqI ve XbaI spesifik enzim kesim sonuçlarına göre değerlendirme sonuçları da Çizelge 4.12’de verilmiştir. Görüntülere göre testlenen 18 örnek; 8 RR-homozigot dayanıklı, 7 Rr-heterozigot dayanıklı ve 3 rr-hassas olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.8. TSWV dayanıklılığı için PCR ürünlerinin TaqI ve XbaI enzimleri ile kesim jel-elektroforez görüntüleri (M:100 bç'lik DNA merdiveni, S:hassas, R: dayanıklı)

Çizelge 4.12. Örneklerin TSWV dayanıklılığı için TaqI ve XbaI spesifik enzim kesim sonuçlarına göre değerlendirilmesi (Kontroller: 19= PI152225, 20=Serademre 8, S:hassas, R: dayanıklı)

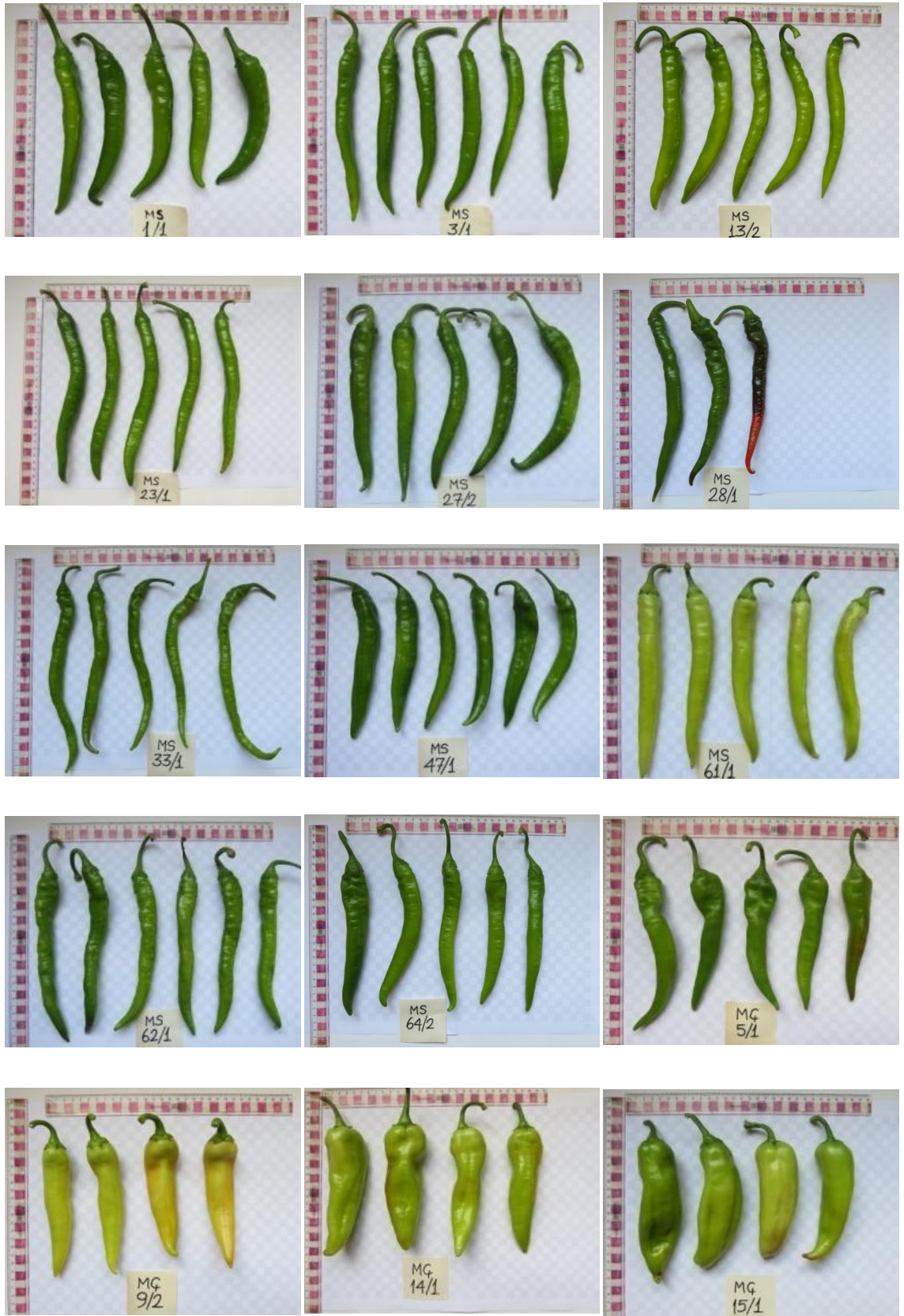
No	TaqI	XbaI	Sonuç	No	TaqI	XbaI	Sonuç
1	S	S	Hassas-rr	11	R	R	Homozigot dayanıklı-RR
2	S	S	Hassas-rr	12	S	R	Heterezigot dayanıklı-Rr
3	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	13	S	R	Heterezigot dayanıklı-Rr
4	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	14	S	R	Heterezigot dayanıklı-Rr
5	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	15	S	R	Heterezigot dayanıklı-Rr
6	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	16	S	R	Heterezigot dayanıklı-Rr
7	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	17	S	R	Heterezigot dayanıklı-Rr
8	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	18	S	S	Hassas-rr
9	R	R	Homozigot dayanıklı-RR	19	R	R	Hom. Dayanıklı- RR (PI)
10	S	R	Heterezigot dayanıklı-Rr	20	S	S	Hassas-rr (kontrol SD8)

4.2.3. Farklı biber meyve tiplerinde F₆ kademe bitkileri TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar

Meyve tiplerine göre 101 kombinasyon açılımı hata ait F₆ kademe bitkilerinde yapılan moleküler testlemede; sivride RR:9, Rr:6, rr:12, çarlistonda RR:3, Rr:2, rr:7, kapyada RR:21, Rr:3, rr:13 ve dolmada RR:10, Rr:3, rr:12 olmak üzere 57 açılım materyali dayanıklı, 44 açılım materyali hassas olarak belirlenmiştir. Dayanıklı kombinasyon açılımı hat oranı % 56 bulunmuştur. F₆ kademe bitkilerinde yapılan moleküler testleme sonuçları Çizelge 4.13'te verilmiştir. Farklı meyve tiplerinde F₆ kademede elde edilen hatların meyve resimleri Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.13. Farklı biber meyve tiplerinde F₆ kademe bitkilerde TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesi sonuçları (Mol: moleküler test, RR: homozigot dayanıklı, Rr: heterozigot dayanıklı, rr: hassas)

Genotip F ₆	Mol Test F ₆	Genotip F ₆	Mol Test F ₆	Genotip F ₆	Mol Test F ₆	Genotip F ₆	Mol Test F ₆
MS 1-1	RR	MS 64-2	RR	MK 22-2-2	rr	MD 3-2	Rr
MS 3-1	rr	MÇ 2-1	rr	MK 23-4	rr	MD 3-3-1	Rr
MS 4-2	rr	MÇ 5-1	RR	MK 25-1	rr	MD 4-1	RR
MS 5-1	rr	MÇ 6-2	Rr	MK 26-1	RR	MD 4-2	RR
MS 7-1	rr	MÇ 9-2	rr	MK 27-2-1	RR	MD 5-1	rr
MS 8-1	RR	MÇ 10-1	rr	MK 29-4	RR	MD 6-1-2	RR
MS 10-1	Rr	MÇ 11-2	rr	MK 30-2-1	RR	MD 7-1-2	rr
MS 12-1	rr	MÇ 13-1	rr	MK 31-1	RR	MD 8-1	rr
MS 13-1	RR	MÇ 13-2	rr	MK 32-1	rr	MD 9-1	rr
MS 13-2	Rr	MÇ 14-1-1	RR	MK 32-2	RR	MD 9-2	RR
MS 14-1	rr	MÇ 14-2-21	rr	MK 33-1	RR	MD 9-3	RR
MS 15-1	rr	MÇ 15-1-1	Rr	MK 34-1	RR	MD 12-2	rr
MS 16-1	Rr	MÇ 15-1-2	RR	MK 34-2	RR	MD 13-1	rr
MS 28-1	RR	MK 1-1	rr	MK 35-2	rr	MD 15-1	RR
MS 28-2	RR	MK 3-2	RR	MK 38-1	rr	MD 15-3-1	rr
MS 41-1	RR	MK 5-3	rr	MK 39-1-2	rr	MD 16-1	rr
MS 43-1	RR	MK 6-2	RR	MK 40-1	RR	MD 17-2	RR
MS 46-2	Rr	MK 8-1	RR	MK 40-1S	RR	MD 18-1	RR
MS 47-1	Rr	MK 8-3	RR	MK 41-1	Rr	MD 19-2	rr
MS 48-1	rr	MK 10-1	RR	MK 42-1	RR	MD 20-1	RR
MS 49-1	rr	MK 11-2	rr	MK 45-2	RR	MD 23-2	rr
MS 51-1	RR	MK 12-3	RR	MK 49-2	Rr	MD23-3-2	Rr
MS 52-1	Rr	MK 13-2	rr	MK 51-2	rr	MD 24-2	rr
MS 53-2	rr	MK 16-2-2	rr	MK 51-4-2	Rr	SCM 334	rr
MS 61-1	rr	MK 17-2	RR	MD 1-1	rr	PI 152225	RR
MS 62-1	rr	MK 18-3	RR	MD 2-2	RR	SD8 (104)	rr



Şekil 4.9. F₆ kademesindeki sivri ve çarliston hatlara ait meyve resimleri



Şekil 4.10. F₆ kademesindeki kapy ve dolma hatlara ait meyve resimleri

4.2.4. Farklı biber meyve tiplerinde aday hibritlerde TSWV dayanıklılığının biyolojik test ve moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar

Yedinci dönemde F₆ kademedeki açılım hatları yanında 21 adet aday hibrit tohumları 26.03.2015 tarihinde ekilmiş, 10.04.2015 tarihinde şaşırtma işlemi yapılmış ve fideler 08.05.2015 tarihinde saksılara dikilmiştir. İlk inokülasyon 14.05.2015, ikinci inokülasyon 21.05.2015 tarihinde yapılmıştır. Fidelerdeki hastalık belirti gözlemi 12.06.2015 tarihinde gerçekleştirilmiştir.

Aday hibritler yapılan biyolojik testlemelere göre SH6 dışında hepsi dayanıklı bulunmuştur. Biyolojik testlemede dayanıklı 20, hassas 1 hibrit sonucuna göre dayanıklı bulunan hibrit oranı (20/21) % 95 olmuştur. Aday hibritlere ait biyolojik testleme ve moleküler testleme sonuçları Çizelge 4.14'de verilmiştir. Aynı çizelgede ebeveynlerin F4 kademedeki yapılan testleme sonuçları da verilerek elde edilen hibrit sonuçları ile birlikte değerlendirilmiştir. Moleküler testleme sonucuna göre ise tamamı dayanıklı bulunarak, dayanıklı oranı %100 olmuştur.

Çizelge 4.14. Farklı biber meyve tiplerinde aday hibritlerin ve ebeveynlerin TSWV dayanıklılığı için moleküler ve biyolojik testleme sonuçlarının karşılaştırılması (Mol: moleküler test, Bio: biyolojik test, +;uyumlu olan, -;farklı olan)

Ebeveynlerin Dayanıklılık Sonuçları (Mol - Bio)			Aday Hibritlerin Dayanıklılık Sonuçları (Mol - Bio)		
Kombinasyon (♀ x ♂)	F4 Ana-♀	F4 Baba-♂	Hibrit No	Mol Test F1	Bio Test F1
MS 8/1 X MS 16/1	RR-Dyn	rr-Has	SH 1	RR+ (Rr?)	Dyn +
MS 28/1X MS 16/1	RR-Dyn	rr-Has	SH 4	Rr +	Dyn +
MS 28/1 X MS 28/2	RR-Dyn	RR-Dyn	SH 5	RR +	Dyn +
MS 28/1 X MS 46/2	RR-Dyn	Rr-Has?	SH 6	RR +	Has - ?
MS 41/1 X MS 16/1	RR-Dyn	rr-Has	SH 7	Rr +	Dyn +
MS 41/1 X MS 28/2	RR-Dyn	RR-Dyn	SH 8	RR +	Dyn +
MS 41/1 X MS 46/2	RR-Dyn	Rr-Has?	SH 10	RR +	Dyn +
MS 51/1 X MS 16/1	RR-Dyn	rr-Has	SH 11	RR+ (Rr?)	Dyn +
MÇ 6/2 X MÇ 9/2	RR-Dyn	Rr-Has?	ÇH 14	RR +	Dyn +
MÇ 14/1 X MÇ 9/2	RR-Dyn	Rr-Has?	ÇH 16	RR +	Dyn +
MK 51/2 X MK 3/2	Rr-Has?	RR-Dyn	KH 22	Rr +	Dyn +
MK 51/2 X MK 17/2	Rr-Has?	RR-Dyn	KH 23	RR +	Dyn +
MK 51/2 X MK 18/3	Rr-Has?	RR-Has?	KH 24	Rr +	Dyn +
MD 2/2 X MD 3/2	RR-Dyn	RR-Dyn	DH 25	RR +	Dyn +
MD 2/2 X MD 17/2	RR-Dyn	Rr-Dyn	DH 26	RR +	Dyn +
MD 4/2 X MD 9/2	RR-Dyn	RR-Dyn	DH 28	RR +	Dyn +
MD 4/2 X MD 15/3-1	RR-Dyn	rr-Has	DH 29	Rr +	Dyn +
MD 4/2 X MD 17/2	RR-Dyn	Rr-Dyn	DH 30	RR +	Dyn +
MD 9/3 X MD 3/2	RR-Dyn	RR-Dyn	DH 31	RR +	Dyn +
MD 9/3 X MD 15/3-1	RR-Dyn	rr-Has	DH 33	Rr +	Dyn +
MD 9/3 X MD 17/2	RR-Dyn	Rr-Dyn	DH 34	RR +	Dyn +
PI 152225	RR	Dyn	PI 152225	RR	Has*?
SD8	rr	Has	SD8	rr	Has +
Test Sayısı (kontrol hariç)				21	21

*:Kontrol genotipte 1 bitki de hastalık belirtisi görülmüştür

Yapılan moleküler testleme sonucuna göre de RR-homozigot 15, Rr-heterezigot 6 hibrit tespit edilmiştir. Moleküler test sonuçları ebeveynlere göre iki hibrit (SH1 ve SH11) dışında uyumlu bulunmuştur. Bu iki hibritin baba ebeveyni olan MS16/1 hattının F6 kademesinde yapılan test sonucu Rr olarak bulunmuştur. Dayanıklı (RR) x Hassas (rr) melezlemesi ile SH4, SH7, DH29, DH33 hibritlerde beklenildiği gibi Heterezigot (Rr) sonuç elde edilmiştir. Heterezigot bulunan diğer iki hibrit KH22 ve KH24 hibritlerinin ana ebeveyninin moleküler ve biyolojik sonucu uygunluk göstermemiş olsa da elde edilen Rr-heterezigot moleküler sonuç beklenen ihtimal dahilinde bulunmuştur. Aday hibritlerde yapılan biyolojik testlemelere ait görüntü Şekil 4.11’de verilmiştir.



Şekil 4.11. Aday hibritlerde biyolojik test sonucuna ait görüntü: SH25 dayanıklı

4.2.5. Farklı biber meyve tiplerinde bazı ticari çeşitlerin TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar

Aday hibritlerin moleküler testlemesi sırasında bazı ticari çeşitlerinde moleküler olarak testlemesi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.15’de verilmiştir. Yapılan testleme sonucu 12 çeşitte de Heterezigot (Rr) dayanıklılık tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar ticari çeşitlerin Dayanıklı (RR) x Hassas (rr) melezlemeleri ile elde edildiği kanaatini oluşturmuştur. Bu durum, dayanıklı ticari çeşit geliştirilmesinde dayanıklı hatlar yanında, verim ve meyve kalitesi bakımından çok üstün ancak dayanıklılık özelliği bulunmayan hassas hatlarında ebeveyn olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

4.2.6. Farklı biber meyve tiplerinde hatlar ve aday hibritlerde TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçların genel değerlendirmesi

Kombinasyon açılım hatlar (325) ve aday hibritlerde (21) toplam 346 materyalde moleküler yöntem ile testleme yapılmış ve RR:150, Rr:83 ve rr: 113 (233 dayanıklı, 113 hassas) sonuç tespit edilmiştir. Moleküler testlemesi yapılmış olan hat ve aday hibritlerin tamamında % 67 oranında dayanıklılık tespit edilmiştir. Moleküler testlemeler ile elde edilen “RR-homozigot dayanıklı”, “Rr-heterezigot dayanıklı” ve “rr-hassas” sonuçları Çizelge 4.16’da verilmiştir.

Çizelge 4.15. Bazı ticari çeşitlerin TSWV dayanıklılığının moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar

No	Çeşit	Meyve Tipi	Moleküler Test F1
1	SA F1	Sivri	Rr
2	SB F1	Sivri	Rr
3	SC F1	Sivri	Rr
4	SD F1	Sivri	Rr
5	SE F1	Sivri	Rr
6	SF F1	Sivri	Rr
7	ÇA F1	Çarliston	Rr
8	KA F1	Kapya	Rr
9	KB F1	Kapya	Rr
10	KC F1	Kapya	Rr
11	DA F1	Dolma	Rr
12	DB F1	Dolma	Rr
13	PI 152225 (Dayanıklı kontrol)	Kısa chili-süs	RR
14	Serademre 8 (Hassas kontrol)	Sivri	rr
Test Sayısı			14

Çizelge 4.16. Farklı biber meyve tiplerinde hatlar ve aday hibritlerde TSWV dayanıklılığı moleküler testlemelere ilişkin sonuçların genel değerlendirmesi (F₂:135, F₄:89, F₆:101, Aday hibrit: 21, RR: Homozigot dayanıklı, Rr: Heterozigot dayanıklı, rr: Hassas)

Meyve Tipi	Sivri (adet)			Çarliston (adet)			Kapya (adet)			Dolma (adet)			Toplam (adet)		
	RR	Rr	rr	RR	Rr	rr	RR	Rr	rr	RR	Rr	rr	RR	Rr	rr
F ₂ hat	8	14	21	5	6	5	23	23	5	11	7	7	47	50	38
F ₄ hat	12	2	10	4	2	3	21	7	7	8	2	11	45	13	31
F ₆ hat	9	6	12	3	2	7	21	3	13	10	3	12	43	14	44
Aday hibrit	6	2	-	2	-	-	1	2	-	6	2	-	15	6	-
Toplam	35	24	43	14	10	15	66	35	25	35	14	30	150	83	113

4.3. TSWV Dayanıklılığında Biyolojik ve Moleküler Test Sonuçlarının Karşılaştırılması

Moleküler test sonuçları ve klasik testleme sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, genel olarak uyumlu görülse de farklı olan sonuçlarda mevcuttur. F₂, F₄ ve F₆ kademe hatlarda karşılıklı testleme yapılanlar EK-8.2'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde; F₂ kademedeki kontrol çeşitler dışında karşılıklı 35 testlemede 28 uyumlu, 7 uyumlu olmayan-farklı sonuç elde edilmiştir. Sonuçların uyum oranı % 80

olmuştur. Farklı olanların üçünde sonuçlar moleküler hassas, klasik dayanıklı, dördünde moleküler dayanıklı, klasik hassas olarak tespit edilmiştir.

F₄ kademe açılım hatlarında kontroller dışında karşılıklı 61 testlemede 45 uyumlu, 16 farklı sonuç elde edilmiştir. Sonuçların uyum oranı % 74 olmuştur. Farklı olanlarda 5 örnekte sonuçlar moleküler hassas, klasik dayanıklı, 11 örnekte moleküler dayanıklı, klasik hassas olarak tespit edilmiştir.

F₆ kademe açılım hatlarında kontroller dışında karşılıklı 100 testlemede 78 uyumlu, 22 farklı sonuç elde edilmiştir. Sonuçların uyum oranı % 78 olmuştur. Farklı olanlarda 12 örnekte sonuçlar moleküler hassas, klasik dayanıklı, 10 örnekte moleküler dayanıklı, klasik hassas olarak tespit edilmiştir (EK-8.2).

Aday hibritlerde kontroller dışında biyolojik ve moleküler olarak karşılıklı testlemede 20 uyumlu, 1 farklı sonuç elde edilmiş, uyum oranı % 95 olmuştur. Farklı bulunan 1 örnekte sonuç moleküler olarak dayanıklı, biyolojik olarak hasas tespit edilmiştir (Çizelge 4.16).

F₂, F₄ ve F₆ Kademe açılım hatları ile aday hibritler birlikte ele alındığında, biyolojik ve moleküler olarak karşılıklı testleme yapılan 217 genotipte testleme sonuçları 171’inde uyumlu, 46’sında farklı elde edilmiştir. Biyolojik ve moleküler test uyum oranı % 79 olarak tespit edilmiştir.

4.4. Farklı Biber Meyve Tiplerinde TSWV’e Dayanıklı Aday Hibritlerin Elde Edilmesi ve Verim Denemesine İlişkin Sonuçlar

Kombinasyon açılımlarından F₆ kademe tohumlarının alınmasının yanında, yapılan melezlemeler ile elde edilen tohumlarda alınmıştır. Elde edilen hibritlerden 10 adet sivri, 4 adet çarliston, 3 adet kapy ve 10 adet dolma aday hibrit, kontrol çeşitleri ile birlikte verim denemesi kurulmuştur (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Farklı biber meyve tiplerinde elde edilen aday hibrit kombinasyonları

Sivri		Çarliston		Dolma	
Hibrit No	Kombinasyon (♀ x ♂)	Hibrit No	Kombinasyon (♀ x ♂)	Hibrit No	Kombinasyon (♀ x ♂)
SH1	MS 8/1 X MS 16/1	ÇH14	MÇ 6/2 X MÇ 9/2	DH25	MD 2/2 X MD 3/2
SH3	MS 8/1 X MS 46/2	ÇH16	MÇ 14/1 X MÇ 9/2	DH26	MD 2/2 X MD 17/2
SH4	MS 28/1X MS 16/1	ÇH17	MÇ 15/1 X MÇ 9/2	DH27	MD 4/2 X MD 3/2
SH5	MS 28/1 X MS 28/2	ÇH18	MÇ 15/1 X MÇ 14/1	DH28	MD 4/2 X MD 9/2
SH6	MS 28/1 X MS 46/2	KÇ	Abide	DH29	MD 4/2 X MD 15/3-1
SH7	MS 41/1 X MS 16/1	Kapy		DH30	MD 4/2 X MD 17/2
SH8	MS 41/1 X MS 28/2	KH22	MK 51/2 X MK 3/2	DH31	MD 9/3 X MD 3/2
SH10	MS 41/1 X MS 46/2	KH23	MK 51/2 X MK 17/2	DH32	MD 9/3 X MD 9/2
SH11	MS 51/1 X MS 16/1	KH24	MK 51/2 X MK 18/3	DH33	MD 9/3 X MD 15/3-1
SH13	MS 51/1 X MS 46/2	KK	Semerkand	DH34	MD 9/3 X MD 17/2
KS	37-05 RZ			KD	Ergenekon

♀:Ana ebeveyn, ♂:Baba ebeveyn,

KS: Kontrol sivri, KÇ: Kontrol çarliston, KK: Kontrol kapy, KD: Kontrol dolma

Denemede aday hibritlerin meyve ağırlıkları ile meyve sayıları kaydedilerek istatistik analizi yapılmıştır. Dört meyve tipinde de meyve ağırlığı ve sayısı yönünden farklılık olduğu ve kontrol çeşitlerden üstün olan aday hibritlerin bulunduğu görülmektedir (Çizelge 4.18, Çizelge 4.19).

Sivri biber denemesinde meyve ağırlığı bakımından SH4 hibriti en üstün performansı göstermiş, kontrol çeşit 3705-RZ çeşidi alt gruba girmiştir. Verim değerleri bitki başına 787 ile 1504 g arasında değişmekte olup, ortalama verim 1128 g elde edilmiştir. Meyve sayısı 28 ile 48 arasında bulunmuştur. Ebeveynlerden de bu hibritleri oluşturan MS28/1, MS16/1, MS51/1 ve MS28/2 üstün bulunmuştur. Çarliston biber denemesinde meyve ağırlığı bakımından ÇH18 hibriti en üstün performansı göstererek kontrol çeşit Abide'ye göre üst grupta yer almıştır. Verim değerleri bitki başına 994 ile 1431 g arasında değişmekte olup, ortalama verim 1163 g elde edilmiştir. Meyve sayısı bitki başına 23 ile 30 arasında tespit edilmiştir. Ebeveynlerden de bu hibriti oluşturan MÇ14/1 ve MÇ15/1 üstün bulunmuştur (Çizelge 4.18).

Kapya biber denemesinde meyve ağırlığı bakımından KH22 hibriti en üstün performansı gösterse de Semerkand ile aynı verim grubundadır. Verim değerleri bitki başına 983 ile 1510 g arasında değişmekte olup, ortalama verim 1333 g elde edilmiştir. Denemede bitki başına meyve sayısı 14 ile 25 arasında bulunmuştur. Ebeveynlerden de bu hibritleri oluşturan MK51/2 ve MK3/2 üstün bulunmuştur (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.18. Sivri ve çarliston hibritlerin verim ve meyve sayısına ilişkin analiz sonuçları

Sivri			Çarliston		
Hibrit No	Verim (g/bitki)	Meyve Sayısı (adet/bitki)	Hibrit No	Verim (g/bitki)	Meyve Sayısı (adet/bitki)
SH4	1504 a	39 ad	ÇH18	1431 a	29 a
SH11	1456 a	42 ac	ÇH14	1194 b	30 a
SH5	1322 ab	48 a	KÇ	1152 b	30 a
KS	1289 ab	38.5 bd	ÇH16	1042 b	23 b
SH1	1199 bc	46 ab	ÇH17	994 b	23 b
SH8	1085 bd	34 ce			
SH13	1012 ce	37 ce			
SH6	948 de	33 de			
SH3	934 de	39 ad			
SH10	878 de	32 de			
SH7	787 e	28 e			
ORT.	1128.2	37.8	ORT.	1163	26.8
LSD	242.9	9.1	LSD	227	5.4
CV (%)	12.6	14.1	CV (%)	10.4	10.8
Pr>F	**	**	Pr>F	*	*

*: % 5 seviyesinde önemli, **: % 1 seviyesinde önemli

KS: Kontrol sivri, KÇ: Kontrol çarliston

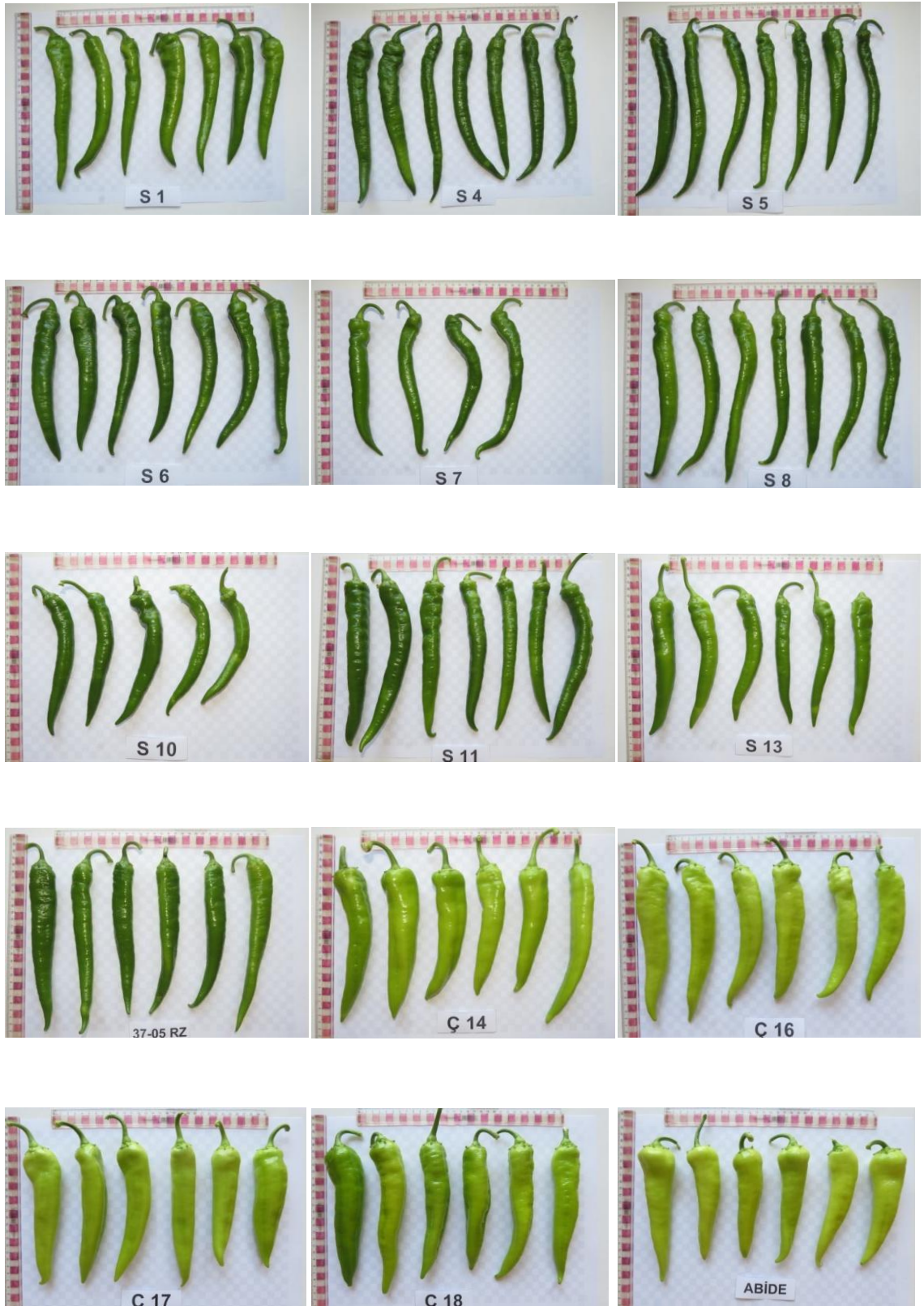
Çizelge 4.19. Kapyra ve dolma hibritlerin verim ve meyve sayısına ilişkin analiz sonuçları

Kapyra			Dolma		
Hibrit No	Verim (g/bitki)	Meyve Sayısı (adet/bitki)	Hibrit No	Verim (g/bitki)	Meyve Sayısı (adet/bitki)
KH22	1510 a	22 ab	DH34	1555 a	26 a
KH23	1426 a	25 a	KD	1539 a	21 b
KK	1413 a	20 b	DH29	1355 ab	17 bc
KH24	983 b	14 c	DH26	1313 ac	18 bc
			DH25	1297 ac	17 bc
			DH32	1265 bc	15 c
			DH33	1201 bd	15 c
			DH31	1195 bd	16 c
			DH30	1084 ce	15 c
			DH28	983 de	15 c
			DH27	913 e	14 c
ORT.	1333	20.1	ORT.	1245.3	17
LSD	248	5.5	LSD	270	4.9
CV (%)	9.3	13.8	CV (%)	12.7	16.6
Pr>F	**	*	Pr>F	**	**

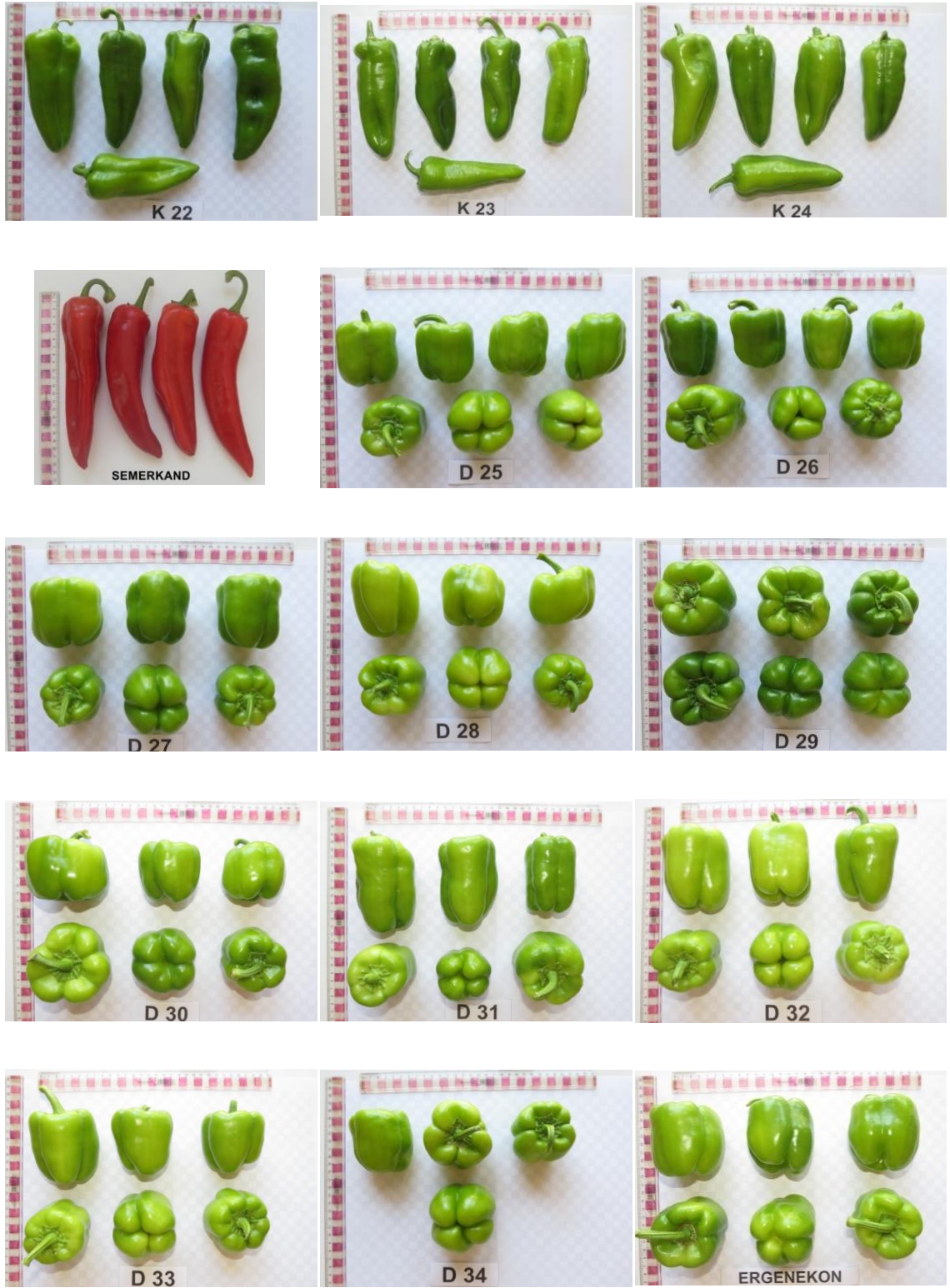
*: % 5 seviyesinde önemli, **: % 1 seviyesinde önemli,
KK: Kontrol kapyra, KD: Kontrol dolma

Dolma biber denemesinde hem meyve ağırlığı, hem de meyve sayısı bakımından DH34 hibriti en üstün performansı göstermiştir. Kontrol çeşit Ergenekon da DH34 ile aynı grupta yer almıştır. Verim değerleri 913 ile 1555 g arasında değişmekte olup, ortalama verim 1245 g elde edilmiştir. Bitki başına meyve sayısı 14 ile 26 arasında bulunmuştur. Ebeveynlerden de bu hibritleri oluşturan MD9/3 ve MD17/2 hatları üstün bulunmuştur. Verim denemesi yapılmış olan sivri, çarliston, kapyra ve dolma meyve tipindeki hibritler ile kontrol çeşitlere ait meyve resimleri Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te verilmiştir.

Deneme sonucu; elde edilmiş olan yeni dayanıklı hatlar ile geliştirilen aday hibritlerin piyasada bulunan ticari çeşitlerle verim bakımından rekabet edebileceğini göstermiştir. Ticari çeşit geliştirilmesi için meyve kalitesi, agronomik özellikler ve çevre şartlarına (sıcaklık ve farklı yetiştirme alanları) adaptasyonu bakımından da çalışmanın daha fazla sayıda hat ve aday hibrit ile sürdürülerek performans testleri ile genişletilmesinde yarar vardır. Çalışmada hedeflenmiş olan; TSWV dayanıklılığı olan ve verim bakımından üstün veya kontrol çeşitler düzeyinde aday hibritlerin elde edilmesi sağlanmıştır. Laboratuvar ve arazi çalışmalarına ait bazı görüntüler EK-3'te verilmiştir.



Şekil 4.12. Sivri ve çarliston hibritler ile kontrol çeşitlere ait meyve resimleri



Şekil 4.13. Kapy ve dolma hibritler ile kontrol çeşitlere ait meyve resimleri

5. TARTIŞMA

5.1. TSWV Dayanıklılığının Biyolojik Testlemesi (Klasik Yöntem)

Çalışmada, öncelikle genetik zenginliğin sağlanması için dört farklı meyve tipinde ticari çeşit ve hatların bulunduğu başlangıç gen havuzu oluşturulmuştur. Pazar ihtiyacı gözetilerek tek meyve tipi yerine en fazla üretimi yapılan dört meyve tipinde de ayrı ayrı programlar oluşturulmuştur. Çalışma kapsamı genişlediği için doğal olarak işyükü de fazla olmuştur. Tek dominant *Tsw* geni ile kontrol edilen TSWV dayanıklılığının kolay ve sorunsuz olarak aktarılması için özellikle kültür formunda olan ve TSWV dayanıklılığını bulunduran çeşitler ile melezlemeler yapılmıştır. İstenen meyve özelliklerinin elde edilmesi için aynı meyve tipi ile melezlemeler gerçekleştirilmiştir. Özel sektörde yapılan iki çalışmada tek meyve tipi çarliston çalışılmış ancak birden fazla dayanıklılığın kazandırılması sağlanmıştır (Özkaynak vd. 2014; Şimşek 2014). Dayanıklılığın aktarılmasında melezleme ile populasyonların oluşturulması ve döl kademelerinde dayanıklı bireylerde kendileme ile generasyon ilerlemesi -Pedigri yöntemi başarılı bir şekilde uygulanan bir yöntemdir (Çelik vd. 2018). Yurt içinde benzer çalışmalar yapılmıştır ancak, aynı anda dört farklı meyve tipinde yürütülen çalışmaya rastlanmamıştır.

Hat ve çeşit geliştirme çalışmalarında dayanıklılık kaynağı olarak ticari çeşitlerin kullanımı, bu çeşitlerin kültür formları özelliği ve melezlemeler ile istenmeyen özelliklerin aktarılmaması nedeniyle ıslahta önemli avantaj sağlamaktadır. Ticari çeşitlerin genitör ve varyasyon kaynağı olarak değerlendirilmesi doğal olarak başvurulan yaygın bir yöntem haline gelmiştir. Özel araştırma kuruluşlarının da sıklıkla uyguladığı bilinen bu yöntem hat ve çeşit geliştirme konusunda çok sayıda çalışma ile de teyit edilmiştir (Kim vd. 2008; Pınar vd. 2013; Polat ve Özalp 2014; Şimşek 2014; Şimşek vd. 2015; Zengin 2016; Çelik vd. 2018; İkten 2019).

Kullanılan hastalık kaynağı izolatın TSWV olduğu DAS-ELISA yöntemi ile teyit edilmiştir. Bu yöntemin kullanıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur (Yardımcı ve Kılıç 2009; Bozdoğan 2009; Çelik vd. 2010; Oğuz 2010; Alan 2012; Hoang vd. 2013; Bozdoğan ve Kamberoğlu 2015; Şevik ve Arlı-Sokmen 2016; Fidan vd. 2016; Başay ve Uzunoğlu 2016; Polat vd. 2016; Çelik vd. 2018). Biyolojik testlemede kullanılan klasik inokulasyon yöntemi başarıyla uygulanmaktadır. Yurt içi ve yurt dışı çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde ıslah çalışmalarında kullanımına ait ilk uygulamalar BATEM'de yapılan virüs testleme çalışmalarıdır (Çelik vd. 2010; Oğuz 2010; Çelik vd. 2012; Çelik vd. 2013a; Polat vd. 2014; Polat ve Özalp 2014; Polat vd. 2016; Çelik vd. 2018).

Dayanıklılık özelliği bulunan saf hatların elde edilebilmesi için melez kombinasyonlarının açılım generasyonlarında biyolojik ve moleküler testlemeler ile dayanıklı/ hassas açılım hatları tespit edilmiştir. Ancak, çalışmada testleme ile ilgili iş yoğunluğunu azaltmak için her generasyon yerine F_2 , F_4 ve F_6 kademe bitkilerinde ve son olarak aday hibritlere ait bitkilerde testlemeler yapılmıştır. Çalışma tek genle kontrol edilen kalıtım kurallarına uygun olarak (Mendel kuralları) sonuçlandırılmıştır. *Tsw* geni ile tek dominant gen kalıtımı sonuçlarına uygunluğu Çelik vd. (2018) tarafından da teyit edilmiştir. Domateste de *Sw-5* tek dominant gen kalıtıma uygunluğu F_2 generasyonunda 1RR:2Rr:1rr açılımı ile Pınar vd. (2013) ve Kahraman (2017)

tarafından rapor edilmiştir.

TSWV dayanıklılığının sağlanması için sivri, çarliston, kopya ve dolma tiplerde kombinasyon açılımı hatlara ait F₂, F₄ ve F₆ kademe generasyonlar ve aday hibritlerde yapılmış olan biyolojik testlemelerde kontrol bitkileri dışında toplam 437 genotip testlenmiş ve 182 dayanıklı, 255 hassas sonuç tespit edilmiştir. Klasik testlemesi yapılmış olan hat ve aday hibritlerin tamamında % 41.6 oranında dayanıklı genotip tespit edilmiştir. Biyolojik testlemelerde 60 adet kontrol bitkisi, 4370 adet genotip olmak üzere 4430 adet bitkide inokulasyon yapılarak biyolojik testleme gerçekleştirilmiştir.

Biyolojik testlemede başarılı olunması için istenen ortam şartlarının 22 °C sıcaklık, 12 saat fotoperiyot ve % 60 nem şartları karşılaması gerektiği ifade edilmiştir (Moury vd. 1997). Çalışmada; ortalama sıcaklık aylık 21.3, 24.4 ve 26.1 °C, nem ise % 40.8, 35.2 ve 34.4 olmuştur (Çizelge 3.4). Sıcaklık değerlerinin testleme şartlarına uygun olduğu ancak nem değerlerinin istenen nem değerinin altında kaldığı görülmektedir. Ancak, bu durum inokulasyon yöntemiyle hastalığın bulaştırılmasına engel teşkil etmemiştir. Bitkilerde *Tsw* geninin sağladığı dayanıklılığın yüksek sıcaklıkta kırıldığı rapor edilmiştir (Moury vd. 1998; Roggero vd. 2002a; Yang vd. 2012; de Ronde vd. 2019). Kompartman şartlarında zaman zaman sıcaklık yükselmiş ancak, ortalama sıcaklık olarak istenen seviyelerde kalmıştır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda nem oranının inokulasyon şartlarına uygun olacak şekilde yükseltilmesi yararlı olacaktır. Zaman zaman dayanıklı bilinen hat ve çeşitlerde hastalık belirtilerinin görülmesi testleme ortamında görülen yüksek sıcaklıktan kaynaklanabileceğini akla getirmektedir.

Ayrıca, genç bitkilerin yüksek sıcaklık şartlarında (32 °C) dayanıklılığı azalırken, daha yaşlı bitkilerde ise nadiren sistemik belirti geliştiği bildirilmiştir (Moury vd. 1998). Dayanıklılığın bitki yaşı ile ilişkisi, arazi şartlarında öncelikle genç fidelerin daha fazla hastalığa maruz kalmasını açıklamaktadır. Bitki yaşı ile ilgili, yaşlı bitkilerin daha fazla direnç göstermesi “olgun bitki direnci” olarak ifade edilmektedir (Roggero vd. 1996). Yüksek sıcaklıklarda homozigot dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi tavsiye edilmektedir (Moury vd. 1997).

Viral patojenlerin bitkisel üretimde oluşturduğu tehdit, viral genomların dinamik doğasının ve vektör organizmaların küresel iklim değişikliğine adaptasyonunun bir sonucu olarak dünya çapında gelişen bir sorundur (Kim vd. 2017). Problem, TSWV'nin yüksek evrimsel ve adaptif kapasitesinden kaynaklanmaktadır (Tentchev vd. 2015). Biyolojik testleme sonuçlarında; kullanılan dayanıklı kontrol ve *Tsw* geninin aktarılmış olduğu PI152225 genitöründe de hastalık semptomlarına rastlanmış ve “hassas” olarak değerlendirilmiştir. Kullanılmış olduğumuz “Batem TSWV” izolatının dayanıklılığı kıran izolat olması muhtemeldir. *Tsw* geni barındırdığı halde bitkilerin enfekte olması ve hassas olarak değerlendirilmesinin önemli bir sebebi ülkemizde dayanıklılığı kıran izolatın varlığından kaynaklanabileceğidir (Deligöz vd. 2014; Fidan vd. 2016). Nitekim, bu konuda çalışan ve çok daha önceden dayanıklılığı kıran izolatın dayanıklı bilinen genotiplerde hastalık oluşturduğu bildirilmiştir (Boiteux vd. 1993; Moury vd. 1997). Dayanıklılık ıslahında kullanılan biyolojik testlemenin zaman ve işgücü kaybına neden olan zahmetli bir yöntem olduğu ifade edilmekteydi (Moury vd. 2000). Geline bu aşamada ise özellikle TSWV hastalığı gibi çok ciddi sorun yaratan ve yeni patojenler

nedeniyle dayanıklılığın tespiti daha da önemli hale gelen konularda biyolojik test vazgeçilmez hale gelmiştir.

TSWV dayanıklılığı bulunan ticari çeşitler ilk yıllarında hastalığa karşı direnç gösteriyorken 2008-2014 yılları arasında arazi koşullarında hastalığa maruz kaldıkları görülmeye başlandı. O yıllarda bu durum, (tarafımızca) çeşitlerin tohum üretimleri aşamasında yapılan hatalardan kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştı. 2014 Yılından itibaren yeni hastalık etmeni izolatin tespiti ile birlikte izolatin dayanıklılığı kıldığı kabul edilmiştir. Şirketler tarafından çeşit tanıtımında (IR-intermediate resistance) “orta dayanıklı” ya da uygun olmadığı halde “toleranslı” ifadesi kullanılmaya başlanmıştır.

ISF Sebze ve süs bitkileri bölümü tarafından “IR: Orta direnç: belirlenmiş bir zararlının veya neden olduğu zararın büyümesini ve/veya gelişmesini yüksek derecede kısıtlayan, ancak yüksek dirençli çeşitlere kıyasla daha geniş semptom veya hasar çeşitliliği gösteren bitki çeşitleri orta dirençli bitkiler yinede, benzer çevresel koşullar ve/veya zararlı baskısı altında büyüdüklerinde hassas bitki çeşitlerinden daha az şiddetli semptomlar veya hasar göstereceklerdir” şeklinde tanımlanmaktadır (Anonymous, 2018).

5.2. TSWV Dayanıklılığının Moleküler İşaretleyici Yardımıyla Belirlenmesi (Moleküler testleme)

Çalışmada, kombinasyon açılım hatlarda (325) ve aday hibritlerde (21) toplam 346 materyalde CAPS marker SCAC₅₆₈ ile testleme yapılmış ve “RR-homozigot dayanıklı” 150, “Rr-heterezigot dayanıklı” 83 ve “rr-hassas”113 olmak üzere 233 dayanıklı, 113 hassas sonuç tespit edilmiştir. Ko-dominant markır özelliği nedeniyle sonuçların homozigot ve heterezigot olarak elde edilmesi ıslah çalışmalarında büyük avantaj sağlamaktadır. Çeşit geliştirmek için benzer bir çalışma Kim vd. (2008) tarafından yürütülmüş ve başarılı sonuç elde etmişlerdir. Özellikle ticari çeşit geliştirmek için tek dominant gen kalıtımında ebeveynlerden birisinin homozigot dayanıklı kullanılması çeşitte dayanıklılık özelliğinin sağlanması için yeterli olacaktır. Nitekim, çalışmada yapılan ticari çeşitlerin moleküler testleme sonuçlarına göre heterezigot dayanıklı oldukları belirlenmiştir. Bu durum, dayanıklı olarak pazara sunulan ticari çeşitlerin tamamına yakınının ticari sebepler nedeniyle heterezigot olarak geliştirildiklerini akla getirmektedir.

Moleküler genotipleme yöntemi, başlangıç ve erken aşamada istenen allellerin tanımlanmasında yarar sağladığından önemlidir (Moodley vd. 2019). Moleküler markır kullanımı konusunda yurt içi başarılı çalışmalar mevcuttur. Domateste aynı hastalık için Sw-5 geni taraması yapılmıştır. Bu amaçla CAPS işaretleyiciler; Sw-5b-LRR-F, Sw-5b-LRR-R, ZUP641 ve ZUP642 primerleri kullanılmıştır. Dayanıklı kontrollerde 300 bp görüntü elde edilmiştir (Oğuz 2010). Domateste yapılan başka bir çalışmada hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılığın belirlenmesinde moleküler markörlerin başarılı bir şekilde kullanılabilmesi ve biyolojik-klasik testlemeye alternatif olabileceği sonucuna varılmış olsa da (Pınar vd. 2013) mevcut dayanıklılığın kırılması olasılığı nedeniyle biyolojik testleme ile moleküler sonuçların doğrulanması gerekmektedir.

Biberde, TSWV ve nematot (Me1, Me3, Me7 ve N) dayanıklılığı için çoklu dayanıklılık çalışması yürütülmüş, materyaller moleküler markır ile taranmıştır. Çalışmada, 773 birey taranmış ve 455 homozigot dayanıklı, 117 heterozigot dayanıklı bulunmuştur (Kün vd. 2013). Aynı çalışmada toplam 1049 biber hattı incelenmiş ve TSWV için 500 homozigot, 169 heterozigot dayanıklı hat, nematot için 67 homozigot ve 22 heterozigot dayanıklı hat, bakteriyel leke hastalığına 6 dayanıklı hat ve her üç patojene 4 dayanıklı hat belirlendiği bildirilmiştir (İlbi vd. 2014).

Markır yardımcı seleksiyonun uygulandığı başarılı bir çalışmada, F6 kademesinde 30 adet *Tsw*, 15 adet L3+L4, 20 adet L3, 16 adet *Tsw*+L3, ve 9 adet L4 dayanıklılık allelerini taşıyan saf hatlar elde edilmiştir. Hatlar içerisinde her 3 dayanıklılık allelini taşıyacak şekilde 100 adet melez yapılmış ve bu melezler arasından 3 tanesinin aday çeşit olarak belirlendiği, adaylardan birisinin Armina F1 ismiyle kayıt altına alındığı bildirilmiştir (Şimşek 2014). TMV dayanımlarından (L3/L4 alleleri) L3 alleli için IH6-06, IH6-04 ve 189D23M SCAR markırları ve L4 alleli için 060I2END dominant SCAR markırı ve 087H3T7 co-dominant CAPS markırları, TSWV'ne karşı ise *Tsw* genine bağlı ve Moury vd. (2000) tarafından geliştirilen co-dominant CAPS markırı (SCAC568) kullanmışlardır. Araştırmacılar, moleküler ve klasik ıslah yöntemleri birlikte kullanılarak biberde PMMoV, TMV ve TSWV gibi hastalıklara dayanıklı çeşit geliştirilebileceğini bildirmişlerdir (Şimşek vd. 2015). Özkaynak vd. (2014), çarliston biberde TSWV, PVY ve PMMoV multivirüs dayanıklılığı çalışmışlardır. TSWV dayanıklılığı için sadece spesifik XBaI enzimi kullanılmış olup, sonuç hassas, dayanıklı (homozigot veya heterozigot) olarak verilmiştir. TaqI enzimi kullanılmamıştır.

Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde ıslah programlarında değerlendirilmek üzere TSWV'e dayanıklı sivri biber hatlarının geliştirilmesi amacıyla SCAC568 kullanılarak *Tsw* geninin varlığı tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, 118 birey testlenmiş ve 568 bp band elde edilen 48 homozigot birey tespit edilmiştir. Araştırmacılar, oluşturulan popülasyonlarda markır yardımcı seleksiyon kullanılarak dayanıklı bireylerin tespit edilmesinde ve homozigot- heterozigot dayanıklı ayırımının yapılmasında yöntemin başarılı şekilde uygulanabilir olduğunu rapor etmişlerdir (Polat vd. 2016). Çalışmanın devamında TSWV'ne dayanıklı 10 sivri biber hattı geliştirilmiştir (Çelik vd. 2018). Biberde kök ur nematotlarına (*Meloidogyne* spp.) dayanıklılık için geliştirilen moleküler işaretleyicilerin güvenilirliğinin değerlendirildiği bir çalışmada; Kontrol genotiplerde 4 hassas, 4 dayanıklı, hatlarda 1 hassas, 5 dayanıklı tespit edilmiştir. Moleküler işaretleyici ile yapılan test sonuçlarının doğrulanması için klasik testlemenin yapılması gerektiği ifade edilmiştir (Pınar vd. 2016). TSWV dayanıklılığı tespiti için mevcut kullanılan moleküler markır SCAC568 primeri kullanılmış ve F4 kademesinde 96 biber bitkisi testlenmiştir (Solak, 2016). Macaristan'da baharat olarak kullanılacak dayanıklı biber çeşidi olmaması nedeniyle hassas "Kocseri" ve "PalF4" hatları ile *C. annuum* x *C. chinense* -PI 159236 popülasyonundan elde edilen homozigot dayanıklı "TSR" hattı melezlenerek dayanıklı hibritler elde edilmiştir. Bu çalışmada, farklı markır SCAR T2 (Földi vd. 2010) kullanıldığı bildirilmiştir (Salamon vd. 2016). Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde domateste yapılan F₁ ve F₂ aşamasında beş gen için moleküler tarama, F₃ generasyonunda üç hastalık için (TYLCV, TSWV, FORL) biyolojik testleme yapılmıştır. *Ty-3a* (Ty-1) ve *Sw-5* genleri için markör sonuçları ile biyolojik test sonuçları uyumlu iken, *Frl* geni için bazı genotiplerde farklı

olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, F₃ generasyonunda farklı dayanıklılıkları bulunan 95 adet genotip geliştirilerek Enstitü gen havuzuna kazandırıldığı bildirilmiştir (Zengin 2016).

Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde domateste yapılan çalışmada TSWV ve kök ur nematoduna karşı dayanıklı hat geliştirmek için Enstitü hattı M68 ile LA3667 ve LA2941 arasında melezlemeler yapılmıştır. TSWV için 150 F₂ bireyinde monogenik (1:2:1) açılımına göre 35 homozigot dayanıklı, 74 heterozigot dayanıklı ve 41 hassas birey tespit edildiği ifade edilmiştir (Kahraman 2017).

Ülkemizde patlıcanda yapılan bir çalışmada; 77 genotip, kök ve kök boğazı çürüklüğü (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*- FOM) dayanıklılığı ilgili gene 1.2 cM yakınlıkta olan SCAR426 markır ile taranmış, P11, P29, P49 ve P52 isimli dört genotipin heterozigot dayanıklı bulunduğu bildirilmiştir (Çolak-Ateş vd. 2018). Domateste yapılan bir çalışmada toplam 418 F₂ generasyon hatta kök ve kök boğazı çürüklüğü (FORL) ve domates sarı yaprak kıvrıcılık virüsü [(*Tomato yellow leaf curl virus* –TYLCV-(TY1+TY3)] dayanıklılığı için moleküler ve klasik tarama yapılmıştır. Sonuçta, FORL' a karşı 102 genotip, TY3 ve TY1 lokuslarını içeren sırasıyla 46 ve 35 genotip belirlenmiştir. Yazarlar çalışma sonunda hem biyolojik hem de moleküler testlerin birlikte kullanılmasıyla dayanıklı genotiplerin ticarileşmesi ve pazara sunulmasının daha hızlı gerçekleşebileceğini vurgulamışlardır (Colak Ates vd. 2019).

Tez çalışmasında biyolojik test ve moleküler test uyum oranı F₂ kademedede % 80, F₄ kademedede % 74, F₆ kademedede % 78 bulunmuştur. Daha önce Çelik vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada F₅ generasyonunda moleküler testlemenin biyolojik-mekanik testlemeyi doğrulama oranı % 72 bulmuşlardır. Ortaya çıkan %28'lik farkın markırın geliştirildiği kaynak genotip ile çalışmada kullanılan ebeveyndeki dayanıklılık geninin kaynağının farklı olmasından veya testleme ortamındaki iklim koşullarından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir. Bu çalışmada, F₂, F₄ ve F₆ kademe açılım hatlar ile aday hibritler birlikte ele alındığında, biyolojik ve moleküler olarak karşılıklı testleme yapılan 217 genotipte testleme sonuçları 171'inde uyumlu, 46'sında farklı sonuç elde edilmiş olup, biyolojik ve moleküler test uyum oranı % 79 olarak tespit edilmiştir. Ya da başka bir ifade ile test sonuçları % 21 farklılık göstermektedir. Bu farklılık, yukarıda açıklandığı gibi öncelikle dayanıklılığı kıran izolat varlığı (Boiteux vd. 1993; Moury vd. 1997; Deligöz vd. 2014; Fidan vd. 2016; Güneş ve Gümüş 2016; Fidan ve Sarı 2019) ve biyolojik testleme sırasında ortam şartlarının zaman zaman fazla yüksek olmasıyla açıklanabilir (Moury vd. 1997; Roggero vd. 2002a; Çelik vd. 2018). Ayrıca, markırın geliştirildiği kaynak genotip ile bizim çalışmamızda kullanılan ticari çeşitlerdeki dayanıklılık geni kaynaklarının farklı olabileceği de düşünülmektedir (Çelik vd. 2018).

Yapılan çalışmalarda, PVY hastalığına dayanıklı hat geliştirme programında moleküler markır başarıyla kullanılmıştır. Yapılan çalışmada markır-gen arasında geriye melezleme populasyonlarında %13-18 arasında (13-18 cM) rekombinasyon gözlenmiştir. Biyolojik testleme ile moleküler testleme sonuçları arasında ortaya çıkan farkın CAPS markırını ile gen arasındaki bağlantının (linkage) kırıldığı sonucuna varılmıştır. Çalışma sonucunda, moleküler markırla yapılan seleksiyonların mutlaka mekanik inokulasyon testlemesi de yapılarak materyal seçiminin bu sonuçlara göre yapılması gerektiği bildirilmiştir (Çelik vd. 2013a). Yine PVY hastalığı için yapılan başka bir çalışmada, moleküler şaretleyici ve biyolojik test sonuçları uygunluk

göstermemiştir. Bu uyumsuzluğun, markör ve *Pvr4* lokusu arasındaki rekombinasyona bağlı olabileceğine karar verilmiştir. Bu nedenle, bu markör ıslah hatlarının taranması için kullanılmamış, inokulasyon testi ile değerlendirilmiştir (Özkaynak vd. 2014).

Genetik arka planı farklı olan TSWV dayanıklı F_2 populasyonlarda *Tsw* geninin belirlenmesi için SCAC568+XBaI markırı ile yapılan taramada, monogenik açılımın sağlanamadığı, heterozigot ve homozigot bireylerin kesin olarak ayırt edilmesinde sorun yaşandığı bildirilmiştir. TaqI görüntüsünün değerlendirmesinde; homozigot dayanıklı RR:568 bç tek bant, heterozigot dayanıklı Rr: 568 bç dayanıklı allel, 230 ve 330 bç hassas allel olarak üç bant ve homozigot hassas rr: 230 ve 330 bç hassas olmak üzere iki bant görüntüsü elde edilerek tespit edilmektedir. Ancak, XBAl enzimi ile yapılan kesim görüntüsünde populasyon 1'de (homozigot dayanıklı RR: 280 bç, heterozigot dayanıklı Rr: 280 bç+568 bç çift bant, homozigot hassas rr: 568 bç tek bant) homozigot, heterozigot tespiti yapılabilirken, populasyon 2'de sadece heterozigot ve hassas olarak belirlendiği, homozigot tespiti yapılamadığı ifade edilmiştir (İkten 2019). XBAl enzimi ile yapılan kesim görüntüsünde benzerlik bu çalışmada da mevcut olup, metodun uygulandığı şekliyle (Moury vd. 2000) homozigot-heterozigot ayrımının yapılabilmesi için her iki spesifik enzim XBAl ve TaqI kesim görüntülerinin birlikte karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi gerektiği (Polat vd. 2016; Çelik vd. 2018; İkten 2019), tez çalışmamızda da vurgulanmaktadır. Aynı çalışmada, TaqI ile kesim görüntüsünde rr hassas tespiti için 230 bp ve 330 bp iki bantın birlikte görüldüğü ifade edilmiş, Silvar ve García-González (2017) tarafından yapılan çalışmada bu iki bant 220 bp ve 320 bp olarak elde edildiği bildirilmiştir. Tez çalışmamızda ise hassas genotipe ait bu iki bant 250 bp ve 350 bp olarak değerlendirilmiştir. Farklı çalışmalarda farklı bant görüntüsü elde edilebilmektedir.

Sonuç olarak; moleküler çalışma sonuçları da bu konuda yapılan çalışmaları destekler niteliktedir. Moleküler işaretleyici yardımcı seleksiyon ile ilişkili gen varlığı tespiti ve homozigot-heterozigot bilgisi büyük avantaj ve kolaylık sağlamaktadır. Ayrıca, hızlı ve güvenli şekilde belirlemek mümkün olmaktadır (Devran 2003, Moodley vd. 2019). Ancak, hastalık etmeni biyolojisinde görülebilecek değişiklik nedeniyle (Tör 1998) her zaman biyolojik test ile doğrulanmasında fayda vardır. Bu konuda yabancı şitketlere ait yurt dışı çalışmaları, ticari çeşit geliştirme faaliyetleri olduğu bilinmekte, ancak yayın olarak fazla rastlanmamaktadır. Yurt içi çalışmalarda MAS uygulamalarına ait örnekler son yıllarda artış göstermekte ise de yinede günümüzde istenen seviyede değildir (Devran 2003; Vardar-Kanlıtepe vd. 2010; Filiz ve Koç 2011). Doğru sonuç veren ve kolay uygulanabilir inokulasyon yöntemi, moleküler yöntemlerle yürütülen çalışmaların paralelinde bulunması gereklidir (Oğuz 2010).

6. SONUÇLAR

1-Dayanıklılık ıslahına başlarken dayanıklı genotiplerin bulunduğu gen havuzu oluşturulması ve dayanıklılığı bilinen materyaller ile melezlemeler yapılması önemlidir. Islah çalışmasında sonuçta başarılı olabilmek için başlangıçta kullanılan materyallerin doğru seçimi için doğru yöntemler kullanılmalıdır. Bu konuda, hem klasik (biyolojik) hem de moleküler yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Zaman ve işgücü bakımından kolaylık sağlayan moleküler yöntemler ıslah programında avantajlar sağlamaktadır. Ancak, zaman içinde değişim gösteren hastalık ve etmenlere karşı moleküler testler yanında klasik yöntemlerinde kullanılması elde edilen sonuçların doğruluğunun teyit edilmesi gerekmektedir. İki yöntemin birlikte kullanılması zorunluluk haline gelmiştir.

2-Hastalık etmenleri ve zararlılar, mücadele için kullanılan her türlü araçlara karşı zaman içinde direnç göstermekte veya mutasyon gibi çeşitli nedenler ile yeni ırk veya patotipler oluşturabilmektedirler. Bilim, sağlıklı ve sorunsuz bitki yetiştiriciliği için yeni ırkların tespiti ve bunlarla mücadele araçları geliştirmeye çalışmaktadır. Bu çalışmada ülkemizde biber yetiştiriciliği için en önemli sorunların başında gelen TSWV- Domates lekeli solgunluk virüsü hastalığına karşı dayanıklı hat ve çeşitler elde etmek için hibrit biber ıslahı uygulanmış ve beklenen sonuçlar elde edilmiştir. Bilinen geliştirilmiş moleküler işaretleyiciler (markırlar) ile klasik (biyolojik) testleme yöntemi birlikte uygulanmıştır. Sonuç olarak, her iki yöntemin birlikte kullanılmasının uygulanabilir ve güvenilir sonuçlar verdiği görülmüştür.

Bununla birlikte, dayanıklılığı kıran izolatin 2014 yılında ülkemizde tespiti ile birlikte her iki yöntemin birlikte kullanılma zorunluluğu ortaya çıkmıştır. Çalışmada, elde edilen verilerde moleküler ve klasik yöntem sonuçlarının genel olarak birbiri ile uyumlu olduğu, ancak uyumlu olmayan verilerin de bulunduğu görülmüştür. Geçmişte yapılan çalışmalar ışığında, *Tsw* geninin varlığını belirlemek ve elde edilen dayanıklılığın klasik yöntem ile doğrulanması önemini korumaktadır. Yapılan arazi gözlemlerinde *Tsw* genini taşıyan heterezigot yapıda ticari çeşitlerin de hastalığa yakalandığı görülmekte, ancak bu geni taşımayan hassas çeşitlere göre daha düşük oranda enfeksiyona maruz kalmaktadır.

3-Klasik ve moleküler yöntemlerin uygulamasında başarıyı olumsuz etkileyen faktörlerde görülmüştür. Klasik yöntemlerde sağlıklı sonuçların alınması için hastalık inokulumun izolasyonu ve muhafazası, uygulama ortamında gerekli sıcaklık ve nem düzeyinin sağlanması önemlidir. Özellikle yüksek sıcaklık şartlarında TSWV dayanıklılığının azaldığı ve stabilitenin sağlanamadığı rapor edilmiştir. Bu durum klasik testleme yanında her durumda moleküler testleme yapılmasını gerektirmektedir. Bu konuda sıcaklık, ışık ve nem kontrollü yeni testleme ortamlarının oluşturulması yararlı olacaktır. Klasik ve moleküler testlemeleri yapacak teknik elemanların eğitimi ve sayısının artırılması, ihtiyacı karşılayacak düzeye getirilmesi gerekmektedir.

4- Hastalık izolatlarının bitki ıslahında yaygın olarak kullanılabilmesi için adına doğru izolat bankasının oluşturulması özel sektör araştırmacı kuruluşların da öncelikli olarak talep ettiği bir konudur. Islah çalışmalarında yapılacak biyolojik testlemelerde hastalık şiddeti yüksek izolatların kullanılmasında yarar vardır.

5- Dayanıklılığı kıran yeni izolata (Resistant breaking isolate-RBV) karşı yeni dayanıklılık kaynaklarının bulunması ve ıslahçıların dayanıklı çeşit geliştirmek amacıyla değerlendirmesi gerekmektedir. Klasik yöntem (biyolojik) ile testleme yüksek derecede önemini korumaktadır. Yeni dayanıklılık gen veya genlerin tespit edilmesinden sonra bu yeni genler ile bağlantılı moleküler işaretleyiciler geliştirilebilecektir. Ülkemiz yetiştiriciliği açısından da bu konuda yapılacak çalışmalar çok önemli olup, desteklenmesi gerekmektedir. Özellikle, ilk geliştirilen dayanıklı çeşitlerin yabancı-yurtdışı orijinli olması nedeniyle ithal edilerek kullanımı ciddi döviz kaybına da neden olmaktadır.

6-Moleküler testlemelerin yaygınlığını etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Ancak, en önemli faktör kullanılan kimyasal ve cihazların yüksek maliyetidir. Araştırmacı kuruluşların, moleküler çalışmalar yapmak için ayrı ayrı laboratuvar kurması ve konu uzmanı teknik personel tahsis etmeleri bütçelerini zorlamaktadır. Bunun yerine, bir araya gelerek aynı laboratuvarında çok sayıda bitki örneğini testlemeleri maliyeti azaltacak, daha ekonomik olmasını sağlayacaktır. Moleküler çalışmalarda da bitki vegetasyon süresi içinde alınan bitki örneğinden başlangıç ürünü olan DNA izolasyonunun sağlıklı ve kaliteli olarak elde edilmesi, sonraki aşamalarda seleksiyonda doğru sonuç almak için çok önemlidir.

7-Dayanıklılıkta homozigot ve heterozigot gen kalıtımı önemlidir. Homozigot genlere sahip olan hat ve çeşitler, heterozigot olanlara kıyasla daha yüksek dayanım gücüne sahip olduğundan, yüksek sıcaklıklarda homozigot çeşitlerin yetiştirilmesi tercih edilmelidir. Çalışmada, ticari çeşitlerin heterozigot dayanıklılığa sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu hastalığın verdiği yüksek düzeydeki zarar göz önüne alınarak, bundan sonra geliştirilecek çeşitlerde homozigot dayanıklılık sağlayan yeni hibrit çeşitlerin geliştirilmesi de düşünülmelidir.

8-TSWV hastalığının taşınması ve bitkiye infeksiyonunda rol oynayan zararlı, batı çiçek tripsi (*Frankliniella occidentalis*)'dir. Bu zararlı populasyonunun yüksek olduğu dönemlerde, hastalığın görülmesi kaçınılmazdır. Dayanıklı çeşit kullanımının yanı sıra, bu zararlı ile mücadele her türlü kültürel tedbirin alınması ve entegre mücadele yapılması gerekmektedir. Ne yazık ki ülkemizde üreticilerimizin sebze yetiştiriciliği konusunda alışkanlıkları ve üretim tesislerinin olumsuz şartları nedeniyle mücadele konusunda yeterli başarı elde edilememektedir. Yaygın olarak kimyasal mücadele ile çözüm aranması da taşıyıcı tripsin direnç kazanmasına neden olmaktadır. Üreticilerimiz hastalıklar ile mücadelede, çeşitlerden her türlü hastalığa karşı dayanım konusunda yüksek beklenti içerisinde girebilmektedir. Sağlıklı bitki yetiştiriciliğinde üreticilerin eğitimi ve bilincinin artırılması da önemli bir husustur.

7. KAYNAKLAR

- Adkins, S. 2000. *Tomato spotted wilt virus*- positive steps towards negative success. doi: 10.1046/j.1364-3703.2000.00022.x. *Molecular Plant Pathology*, 1(3):151-157
- Agrios, G.N. 2005. Plant Diseases Caused by Viruses. in Plant Pathology edited by G.N. Agrios. Fifth Edition. Elsevier Academic Press, pp.724-825. New York-USA
- Alan, B. 2012. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Yetiştirilen Bazı Kışlık Sebzelerde Hastalık Yapan Virüslerin Tanımlanması ve Karakterizasyonu. Doktora tezi. Çukurova Ün. Fen Bilimleri Ens., Bitki Koruma ABD., Adana. 134 s.
- Almásı, A., Csilléry, G., Csömör, Z., Nemes, K., Palkovics, L., Salánki, K. and Tóbiás, I. 2015. Phylogenetic analysis of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) NSs protein demonstrates the isolated emergence of resistance-breaking strains in pepper. *Virus Genes*. 50: 71-78. DOI:10.1007/s11262-014-1131-3
- Almásı, A., Csilléry, G., Salánki, K., Nemes, K., Palkovics, L. and Tóbiás, I. 2016. Comparison of wild type and resistance-breaking isolates of *Tomato spotted wilt virus* and searching for resistance on pepper. Proceedings XVI. Eucarpia Capsicum and Eggplant Meeting.pp:574-578. 12-14 September. Keszthely-Hungary. ISBN978-615-5270-27-7
- Almásı, A., Nemes, K., Csömör, Z., Tóbiás, I., Palkovics, L. and Salánki, K. 2017. A single point mutation in *Tomato spotted wilt virus* NSs protein is sufficient to overcome *Tsw*-gene-mediated resistance in pepper. *Journal of General Virology* 98: 1521-1525. DOI:10.1099/jgv.0.000798
- Andrews, J. 1984. Peppers, The Domesticated Capsicums. University of Texas Pres. Austin.
- Anonim, 2006. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Zirai Mücadele Teknik Talimatı, Domates Lekeli Solgunluk Virüsü, *Tomato spotted wilt tospovirus* (TSWV), s:2.
- Anonim, 2010. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Zirai Karantina Yönetmeliği. (13 Haziran 2010 tarih ve 5996 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanununa dayalı) s. 54.
- Anonim, 2016. Biber Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (GTHB), Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Domates Lekeli Solgunluk Virüs Hastalığı. Çiftçi Eğitim Serisi 12. Ankara. s:58. (https://www.tarim.gov.tr/GKGM/Belgeler/Bitki%20Sa%C4%9F%C4%B1%C4%9F%C4%B1%20Hizmetleri/hastalik_zararlıları_ile_m%C3%BCcadele_dokumanları/biber.pdf) [Son erişim tarihi: 26.11.2017].
- Anonim, 2018. Tomato spotted wilt tospovirus. EPPO Datasheets on Quarentine Pests (European and Mediterranean Plant Protection Organization) https://gd.eppo.int/download/265/datasheet_TSWV00.pdf datasheet_TSWV00 [Son erişim tarihi: 01.01.2018].
- Anonim, 2019a. TÜİK. Bitkisel Üretim İstatistikleri. http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. [Son erişim tarihi: 24.03.2018].

- Anonim, 2019b. Akdeniz İhracatçılar Birliği. <http://www.akib.org.tr/files/downloads/ArastirmaRaporlari/YSM/Ocak-Aral%C4%B1k%202018%20YMS%20%C4%B0hracat%20De%C4%9Ferlendirme%20Raporu.pdf>. Son erişim tarihi: 04.02.2019
- Anonymous, 2018. Sebze tohumu endüstrisi için bitkilerin zararlılara karşı dayanıklılığını betimleyen terimlerin tanımı. Mayıs 2017 tarihinde kabul edilmiştir, ISF International Seed Federation, httpwww.worldseed.org/wp-content/uploads/201711/Definition-Terms-Reaction-Plants-to-Pests_2017_TURKISH.Pdf [Son erişim tarihi: 04.12.2018].
- Anonymous, 2019a. The Plant List, *Capsicum*, Species in *Capsicum*. <http://www.theplantlist.org/browse/A/Solanaceae/Capsicum/> [Son erişim tarihi: 15.07.2019].
- Anonymous, 2019b. Dünya yaş sebze biber üretimi. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Son erişim tarihi: 31.03.2019].
- Arlı-Sökmen, M., Mennan, H., Şevik, M.A. and Ecevit, O. 2005. Occurrence of Viruses in Field-grown Pepper Crops and Some of their Reservoir Weed Hosts in Samsun, Turkey. *Phytoparasitica* 33(4):347-358.
- Arnedo-Andres, M.S., Artega, M. L. and Ortega, R. G. 2006. New Inheritance Studies Related to Potato Virus Y (PVY) Resistance in *Capsicum annuum* L. Serrano Criollo de Morelos-334. *Euphytica*, 151:95-101.
- Atakan, E. ve Uygur, S. 2004. Bazı trips türleri ve predatörlerinin yabancı otlar üzerinde mevsimsel yoğunlukları. *Türk Entomoloji Dergisi* 2004. 28(2):123-132 ISSN1010-6960
- Atakan, E. ve Uygur, S. 2005. Winter and spring abundance of *Frankliniella spp.* and Thrips tabaci (Lindeman) (Thysanoptera) on weed host plants in Turkey. *Journal of Applied Entomology*. Jen 129(1) doi: 10.1111/j.1439-0418.2005.00918.17-26
- Atakan, E., Kamberoğlu, M.A. and Uygur, S. 2013. Role of weed hosts and the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, in epidemiology of Tomato spotted wilt virus in the Çukurova region of Turkey. *Phytoparasitica* (2013)41: 577-590 DOI 10.1007/s12600-013-0318-9
- Atakan, E. ve Pehlivan, S. 2018. Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerde thripslerle (Thysanoptera) birlikte saptanan avcı böcek türleri. *Derim* 35 (1):37-44. <https://doi.org/10.16882/derim.2018.311008>
- Atalık, A. 2018. Bitkisel Ürünlerde İthalat. Tarım ve Mühendislik. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Yayın Organı. Sayı: 120/18. S: 52-55. ISSN-1300-0071. Pozitif Matbaacılık ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti. 05 Mart 2018. Ankara. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/7ee3f2fcfc904e_ek.pdf?dergi= [Son erişim tarihi: 13.03.2018].
- Azeri, T. 1981. Preliminary report of tomato spotted wilt virus and its epidemiy on tobacco in the Çanakkale region of Türkiye. *J. Turkish Phytopathology*, 10 (2-3): 79-87.

- Azeri, T. 1994. Detection of tomato spotted wilt virus in tobacco and tomato cultivars by ELISA. *J. Turkish Phytopathology*, 23 (1): 37-46.
- Bag, S., Mitter, N., Eid, S. and Pappu, H.R. 2012. Complementantation between two tospoviruses facilitates systemic movement of a plant virus silencing suppressor in an otherwise restrictive host. *Plos One Plos Biology*. Volume 7, Issue 10, e44803. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044803>
- Bağcı, M. 1965. Türkiye’de yetiştirilen yerli ve yabancı biber çeşitlerinin ve pomolojik özellikleri ile çiçek biyolojileri üzerinde mukayeseli araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Doktora tezi. Bornova, İzmir.
- Balcı, E. 2005. Genetic Characterization of Cucumber Mosaic Virus (CMV) Resistance in Tomato and Pepper. Master of science in biology. A thesis submitted to The Graduate School of Engineering and Sciences of İzmir Institute of Technology. P.55. İzmir.
- Başay, S. ve Uzunoğlu, N., 2016. F₁ Hibrit Dolma Biber Islahında Cucumber Mosaic Virus (CMV) ve Tobacco Mosaic Virus (TMV) ve Potato Virus Y (PVY) Virus Testlemeleri. *Alatarım*, 15(2):37-43.
- Batuman, O., Turini, T.A., Oliveira, P.V., Rojas, M.R., Macedo, M., Mellinger, H.C., Adkins, S. and Gilbertson, R. 2017. First report of a resistance breaking strain of *tomato spotted wilt virus* infecting tomatoes with the Sw-5 tospovirus resistance gene in California. *Plant Disease*, 101(4): 637. <http://doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1371-PDN>.
- Bayraktar, K. 1981. Sebze Yetiştirme. Cilt II. E.Ü. Ziraat Fak. Yayın No: 69. Bornova, İzmir.
- Birişik, N. 2015. Teoriden Pratiğe Kültürel Mücadele. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (GTHB), Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı ve Karantina Daire Başkanlığı, ISBN: 978-605-9175-21-0. Ankara. 288 s.
- Black, L.L., Hobbs, H.A. and Gatti, J.M. 1991. *Tomato spotted wilt virus* Resistance in *Capsicum chinense* PI 152225 and 159236. *Plant Disease*, 75: 863.
- Boiteux, L.S. and Nagata, T. 1993. Susceptibility of *Capsicum chinense* PI 159236 to tomato spotted wilt virus isolates in Brazil. *Plant Disease*, 77(2):210. ISSN : 0191-2917 DOI : 10.1094/PD-77-0210F
- Boiteux, L.S., Nagata, T., Dutra, W.P. and Fonseca, M.E.N.1993. Sources of resistance to *Tomato Spotted Wilt Virus* (TSWV) in cultivated and wild species of *Capsicum*. *Euphytica*, 67:89-94.
- Boiteux, L.S. and De Avila, A.C. 1994. Inheritance of a resistance specific to tomato spotted wilt *tospovirus* in *Capsicum chinense* “PI 159236”. *Euphytica* 75:139-142. doi: 10.1007/BF00024541
- Boiteux, L.S. 1995. Allelic relationships between genes for resistance to *Tomato spotted wilt tospovirus* in *Capsicum chinense*. *Theorl. Appl. Genet.*, 90:146-149.
- Bosland, P.W. and Votava E.J. 2000. Peppers: Vegetable and Spice Capsicums. Department of Agronomy and Horticulture, New Mexico State University. Cab International 2000. London, UK.

- Bozdoğan, V. 2009. Antalya İlinde Domates, Biber ve Marul Yetiştirilen Alanlarda Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (*Tomato Spotted Wilt Virus-TSWV*)' nün Saptanması, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Adana. 65 s.
- Bozdoğan, V. and Kamberoğlu, M. A. 2015. Incidence and distribution of Tomato Spotted Wilt Tospovirus (TSWV) in vegetable crops in Antalya province of Turkey. *J. Turk. Phytopath.* 44 (1-3):39-50. ISSN.0378-8024
- Brittlebank, C.C. 1919. Tomato diseases. *Journal of Agriculture Victoria* 17: 231-235.
- Buzkan, N., Demir, M., Öztekin, V., Mart, C., Çağlar, B.K. and Yılmaz, M.A. 2006. Evaluation of the status of capsicum viruses in the main growing regions of Turkey. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 36:15-19.
- Buzkan, N. ve Yüzer, D. 2009. Kahramanmaraş Kırmızı Biberlerinde Tohumla Taşınan Virüslerin Moleküler Tanısı. *Alatarım*, 2009, (8) 1:1-7.
- Campbell, P. R., Cremer, J.E., Roach, R. L., Steele, V., Subramaniam, S., Sivasubramaniam, V., Monsour, C., Mullins, T., Persley, D.M. and Gambley, C.F. 2017. Towards area wide management of insect vectored viruses of tomatoes in the Bowen district. *Virus Research* 241 (2017):228-235. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2017.06.011>.
- Caranta, C., Thabuis, A. and Palloix, A. 1999. Development of a CAPS Marker for the Pvr4 Locus: A Tool for Pyramiding Potyvirus Resistance Genes in Pepper. *Genome*, 42: 1111–1116.
- Cebolla-Cornejo, J., Soler, S., Gomar, B., Soria, M.D. and Nuez, F. 2003. Screening *Capsicum* germplasm for resistance to *Tomato spotted wilt virus* (TSWV). *Ann. Appl. Biol.* 143: 143-152.
- Cho, J.J., Mau, R.F.L., Mitchell, W.C., Gonsalves, D. and Yudin, L.S. 1987. Host list of plants susceptible to tomato spotted wilt virus (TSWV). Univ. Hawaii Coll. Trop. Agric. Hum. Resour. Res. Ext. Ser. 078.
- Cho, J.J., Mitchell, W.C., Mau, R.F. L., and Sakimura, K. 1987. Epidemiology of Tomato Spotted Wilt Virüs Disease on Crisphead Lettuce in Hawaii. *Plant Disease*, 71: 505- 508.
- Clark, M.F. and Adams, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
- Colak-Ates, A., Fidan, H., Karacaoglu, M. and Dasgan, H.Y. 2019. The identification of the resistance levels of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and *Tomato yellow leaf curl viruses* in different tomato genotypes through traditional and molecular methods. *Applied Ecology and Environmental Research*. 17 (2): 2203-2218. ISSN 1589 1623 (print). ISSN 1785 0037 (online). DOI:http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1702_22032218.
- Collard, B.C. and Mackill, D.J. 2008. Marker assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society, Series B. Biological sciences*. 363 (1491):557-572. DOI:<https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2170>

- Çağlar, B.K., M.E. Güldür, H. Fidan, M.A. Kamberoğlu, S. Baloğlu ve T. Albaeino. 2011. Biberde L3 Dayanıklılık Genini Kıran Biber Hafif Benek Virüsü'nün (*Pepper mild mottle virus* -PMMoV) Yaygınlığının Saptanması ve Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri. Özet. 28-30 Haziran 2011. s.52. Kahramanmaraş.
- Çağlar, B.K., Fidan, H. and Albaeino, T. 2013. Detection and Molecular Characterization of *Pepper Mild Mottle Virus* from Turkey. *Journal of Phytopathology*. 161:434-438.
- Çandar, A. ve Erkan, S. 2011. Bitkilerde Viral Etmenlere Karşı Genetik Dayanıklılık Mekanizmaları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi* TR.Yıl:2011, Cilt:09 Sayı:3 Sayfa:13-27.
- Çandar, A. ve Gümüş, M. 2012. Bitki virüslerinin vektörlerle taşınmasına moleküler yaklaşımlar. ISSN 2146-975X. *Türk entom. bült.* 2 (3):207-222.
- Çelik, N., Özalp, R. ve Çelik, İ. 2010. Bazı Biber Hat ve Çeşitlerinin *Tobacco mosaic tobamovirus* (TMV)'e Dayanıklılığının Mekanik İnokulasyon ve Elisa Testleri ile Belirlenmesi. ISSN:1300-3496. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü *Derim Dergisi*. 27 (2):1-9.
- Çelik, N., Özalp, R. ve Göçmen, M. 2012. Antalya ilinde örtüaltı biber yetiştiriciliğinde Patates Y virüsü (PVY) patotiplerinin belirlenmesi ve bazı biber çeşitlerinin PVY'ye karşı reaksiyonları. *Bitki Koruma Bülteni*. 52(3):235-246.
- Çelik, İ., Özalp, R., Çelik, N., Polat, İ., Sülü, G. ve Ünlü, A. 2013a. Patates Y Virüsü (Potato Virus Y=PVY)'ne Dayanıklı Sivri Biber Hatlarının Geliştirilmesi. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü *Derim Dergisi*. 30 (2):42-53.
- Çelik, İ., Özalp, R., Çelik, N., Polat, İ. and Ünlü, A. 2013b. Development of Longer Pepper Lines Resistant to Potato Virus Y (PVY). I. International Plant Breeding Congress. Abstract Book. Oral presentation.10-14 November 2013, Antalya. p.500.
- Çelik, İ., Özalp, R., Çelik, N., Polat, İ. ve Sülü, G. 2018. Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'ne dayanıklı sivri biber hatlarının geliştirilmesi. *Derim*, 35 (1):27-36. doi:10.16882/derim.2018.325765.
- Çolak-Ateş, A., Fidan, H., Ozarslandan, A. and Ata, A. 2018. Determination of the resistance of certain eggplants lines against fusarium wilt *potato y potyvirus* and root-knot nematode using molecular and classic methods. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27 (11) 2018:7446-7453.
- Çulal-Kılıç, H., Yardımcı, N., Bal, A., Güneş, A. and Deniz, F. 2017a. Sensitive detection of tomato spotted wilt virus from pepper plants by DAS-ELISA, RT-PCR and IC-RT-PCR. *Romanian Biotechnological Letters*, Vol.22. No 5. 2017:12934-12939.
- Çulal Kılıç, H., Isparta, L., Yardımcı, N. ve Doğan, K. 2017b. Isparta ve Burdur İlleri Üretim Alanlarında Yetiştirilen Domateslerde Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Tanılanması. ISSN Online:1309-2243. *MAKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8 (1):34-39.
- Dağlı, F. ve Tunç, İ. 2006. *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera:

- Thripidae) Üzerinde Farklı Gruplardan İnsektisidlerle Yaprak Kalıntı Testleri. Akdeniz Ün. Ziraat Fak. Dergisi. 19 (1): 9-14.
- Dağlı, F. 2016. *Frankliniella occidentalis* (Pergande) Antalya Populasyonunda Acrinathrin ve Spinosad Direnci. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi. ss. 194. 5-8 Eylül 2016, Selçuk Üniversitesi, Konya
- de Ronde, D., Lohuis, D. and Kormelink, R. 2019. Identification and characterization of a new class of *Tomato spotted wilt virus* isolates that break *Tsw*-based resistance in a temperature-dependent manner. *British Society for Plant Pathology (BSPP)-Plant Pathology*. 68 (1):60-71. <https://doi.org/10.1111/ppa.12952>
- Değirmenci, K., Morca, A.F., Barış, A. ve Elibüyük, E.A. 2016. Bazı İllerde Domates Lekeli Solgunluk Virüs'ün (*Tomato Spotted Wilt Virus-TSWV*) Yaygınlığı ve Epidemiyolojisi. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi. ss. 558. 5-8 Eylül 2016, Selçuk Üniversitesi, Konya
- Deligoz, İ., Arlı Sökmen, M. and Sarı. S. 2014. First report of resistant breaking strain of *Tomato spotted wilt virus (Tospovirus; Bunyaviridae)* on resistant sweet pepper cultivars in Turkey. *New Disease Reports*. 30. 26. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.030.026>
- Demir, M. 2005. Kahramanmaraş'ta Yetiştirilen Kırmızı Biberlerde Yaprakbiti ile Taşınan Virüslerin Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, 34 s.
- Demir, İ. ve Turgut, İ. 1999. Genel Bitki Islahı. Ege Ün. Ziraat Fak. Yayınları No: 496. Bornova, İzmir.
- Devran, 2003. Moleküler İşaretleyicilerin (Markörlerin) Dayanıklılık Islahında Kullanılması. *Derim Dergisi*: 20.1-6.
- Devran, Z., Özkaynak, E., Studholme, D. J. and Tör, M. 2015. Development of molecular markers tightly linked to *Pvr4* gene in pepper using next-generation sequencing. *Molecular Breeding* . Vol. 35 No.4 pp.101 ref.44.
- Doyle, J.J. ve Doyle, J.L. 1990. Isolation of Plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12: 13-15.
- Ekbiç, E., K. Abak and M.A. Yılmaz 1997. A New PVY Pathotype on Pepper Along Mediterranean Coastal Area of Turkey. Proceedings 10th Congress, Mediterranean Phytopathological Union, Montpellier, 1-5 June 1997. 187-189.
- Fehr, R. W. 1993. Principles of Cultivar Development. Theory and Technique. Macmillan publishing company, USA.
- Ferrand L., García M.L., Resende, R.O., Balatti, P.A. and Dal, Bó.E. 2015. First report of a resistance-breaking isolate of *Tomato spotted wilt virus* infecting sweet pepper harboring the *Tsw* gene in Argentina. *Plant Disease*, 99:1869. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0207-PDN>.
- Fidan, Ü. 1993. Recent records on virus diseases of vegetables in greenhouses (Seralardaki sebzelerin virüs hastalıkları ile ilgili yeni kayıtlar). *Journal of Turkish Phytopathology*, 22 (1):45.
- Fidan, H., Koç, G. ve Topçu, T. 2016. *Anthurium* sp.'de Tomato Spotted Wilt Virus

- (TSWV) Enfeksiyonu ve Moleküler Karakterizasyonu. *Alatarım*, 15(2): 28-36.
- Fidan, H. and Sarı, N. 2019. Molecular characterization of resistance-breaking *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) isolate medium segment in tomato. *Applied Ecology and Environmental Research*. 17 (2): 5321-5339. ISSN 1589 1623 (print). ISSN 1785 0037 (online). DOI:http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1702_53215339.
- Filiz, E. ve Koç, İ. 2011. Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. GOÜ, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (2):207-2014.
- Fletcher, J.T. 1989. Diseases of Greenhouse Plants, British Library Cataloguing in Publication Data, Singapore, P. 35.
- Földi, T. J., Jeney, A. and Kiss, G. B. 2010. Identification of molecular markers linked to disease resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Növényvédelem*. 46, 209-217. (In Hungarian).
- Gabor, B., Krizbai, L., Horvath, J. and Takacs, A. 2012. Resistance breaking strain of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) on resistant pepper cultivars in Hungary. *Proceedings of the International Symposium on Current Trends in Plant Protection*, Belgrade, Serbia, 25-28th September, 239-241. UDK:635. 64-238(439)
- German, T. L., D. E. Ulman and J. M. Mayer 1992. Tospoviruses: Diagnosis, molecular biology, phylogeny and vector relationships. *Annual Review of Phytopathology*, 30: 315-348.
- Gitaitis, R.D., Dowler, C.C. and Chalfant, R.B. 1998. Epidemiology of Tomato Spotted Wilt in Pepper and Tomato in Southern Georgia. *Plant Disease*, 82: 752- 756.
- Goldbach, R., Bucher, E. and Prins, M. 2003. Resistance mechanisms to plant viruses: an overview. *Virus Research*, 92 (2003): 207-212.
- Grube, R.C., Radwanski, E.R. and Jahn, M. 2000. Comparative genetics of disease resistance within the *Solanaceae*. *Genetics*. 155(2):873-887.
- Güldür, M.E. 1997. Şanlıurfa ili için yeni bir virus: Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus). *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1997,1(3): 71-76.
- Güldür, M.E., Marchouks, G., Yurtmen, M. ve Yılmaz, M.A. 1995. Mersin ve Çevresinde yetiştirilen domateslerde zararlı yeni bir virus: Tomato spotted wilt virus. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 26-29 Eylül 1995, Adana. Bildiriler, s. 303-305.
- Günay, A. 1992. Özel Sebze Yetiştiriciliği. Serler. Cilt 2. A. Ü. Ziraat Fak. Bağ-Bahçe Kürsüsü. Ankara.
- Güneş, N. ve Gümüş, M. 2016. Antalya İli Biber Alanlarında Saptanan CMV ve TSWV'nin Serolojik ve Moleküler Karakterizasyonu. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi. ss. 559. 5-8 Eylül 2016, Selçuk Üniversitesi, Konya.
- Haralayya, B. and Asha, I.S. 2017. Molecular marker application in *Capsicum* spp: a supplement to conventional plant breeding. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6 (11): 3840-3855. ISSN:2319-7706. DOI: https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.

611.451

- Hazell, S.P., Groutides, C., Neve, B.P., Blackburn, T.M. and Bale, J.S. 2010. A comparison of low temperature tolerance traits between closely related aphids from the tropics, temperate zone, and Arctic. *Journal of Insect Physiology*, 56:115-122.
- Herron, G.A. and James, T.M. 2007. Insecticide resistance in Australian populations of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera:Thripidae). *Gen. Appl. Ent.* Vol.36, 2007.
- Hoang, N.H., Yang, H.B. and Kang, B.C. 2013. Identification and inheritance of a new source of resistance against *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in *Capsicum*. *Scientia Horticulturae*, 161:8-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.06.033>
- Hobbs, H.A., Black, L.L., Johnson, R.R. and Valverde, R.A., 1994. Differences in reactions among *Tomato spotted wilt virus* isolates to three resistant *Capsicum chinense* lines. *Plant Disease* 78:1220. <http://dx.doi.org/10.1094/PD-78-1220D>
- İkten, H. 2019. Farklı genetik kaynaklardan elde edilen F2 biber genotiplerinde (*Capsicum annuum* L.) TSWV'ye dayanıklılığın moleküler analizi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi. *Mediterr Agric Sci* (2019) 32 (1):43-48. DOI: 10.29136/mediterranean.503932
- İlbi, H., Kün, A., Cansız, A., Atasayar, A., Güneşdoğdu, N. ve Özdemir, D. 2014. Biberde Domates lekeli solgunluk virüsü, bakteriyel leke ve kök ur nematodu'na karşı dayanıklı çeşit geliştirilmesi. 10. Sebze Tarımı Sempozyumu, Özetler, Poster bildiri, s.87, 2-4 Eylül, Namık Kemal Ün., Tekirdağ.
- İlbağı, H. ve Çıtır, A. 2006. Bitkilerde Virüs Hastalıklarına Karşı Dayanıklılık Mekanizmaları. *Bahçe*, 35 (1-2):109-116.
- Jahn, M., Paran, I., Hoffmann, K., Radwanski, E.R., Livingstone, K.D., Grube, R.C., Aftergoot, E., Lapidot, M. and Moyer, J. 2000. Genetic mapping of the Tsw locus for resistance to the Tospovirus Tomato spotted wilt virus in *Capsicum* spp. and its relationship to the Sw-5 gene for resistance to the same pathogen in tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions-MPMI*, 13 (6): 673-682. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10830267>
- Jiang, L., Huang, Y., Sun, L., Wang, B., Zhu, M., Li, J., Huang, C., Liub, Y., Li, F., Liu, Y., Dong, J., Zhang, Z. and Tao, X. 2017. Occurrence and diversity of Tomato spotted wilt virus isolates breaking the Tsw resistance gene of *Capsicum chinense* in Yunnan, southwest China. *Plant Pathology*, 66 (6): 980-989. Doi:10.1111/ppa.12645
- Kahraman, A. 2017. Domateste moleküler markör seleksiyonu ile domates lekeli solgunluk virüsü ve kök-ur nematoduna dayanıklı hat geliştirme, Doktora tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 97 s.
- Kameroğlu, M.A., Çalışkan, A.F., Alan, B., 2009. First Report of Tomato spotted wilt virus on eggplant in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 91(1): 231-231.
- Kaygısız, H. 1997. Sebze Yetiştiriciliği. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti. İstanbul.
- Kazıncı, G., Horvath, J. and Takacs, A. 2007. Tospoviruses on Ornamentals. *Plant*

- Viruses 1 (2):142-162.
- Keçeci, M. and Gürkan, M.O. 2013. Biological control of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* with *Orius* species in eggplant greenhouses in Turkey. *Türk entomol. derg.* 37 (4): 467-476. ISSN 1010-6960
- Kırışik, M. ve Erler, F. 2017. Antalya ilinde örtüaltı sebze üretim alanlarında ticari boyutta kullanılan biyolojik mücadele etmenleri. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 30 (3):189-195, DOI: 10.29136/mediterranean.359789
- Kim, J-H., Choi, G-S., Kim, J-S. and Choi, J-K. 2004. Characterization of *Tomato spotted wilt virus* from Paprika in Korea. *Plant Pathol. J.* 20 (4):297-301.
- Kim, H. J., Yang H. B., Chung, B. N. and Kang, B.C. 2008. Survey and application of DNA markers linked to TSWV resistance. *Korean Journal of Horticultural Science & Technology.* 26 (4): 464-470.
- Kim, S-B., Kang, W-H., Huy, H.N., Yeom, S-I., An, J-T., Kim, S., Kang, M-Y., Kim, H.J., Jo, Y.D., Ha, Y., Choi, D. and Kang, B-C. 2017. Divergent evolution of multiple virus-resistance genes from a progenitor in *Capsicum* spp. *New Phytologist*, 213:886-889.
- Küçük, B. 2006. Adana ve Mersin illerinde domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV)' nin değişik yöntemlerle saptanması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilimdalı Yüksek Lisans Tezi. Adana. 72 s.
- Kün, A., Atasayar, A., Güneşdoğdu, N., Cansız, A., Özdemir, D. and İlbi, H. 2013. Development of Resistant Varieties to Tomato Spotted Wild Virus and Root Knot Nematodes in Pepper by Using Molecular Markers. I. International Plant Breeding Congress. Abstract Book, p.454, Oral presentation.10-14 November 2013, Antalya.
- Lovato, FA, Inoue-Nagata, A.K., Nagata, T., De Avila, A.C., Pereira L.A. and resende, R.O. 2008. The N protein of Tomato spotted wilt virus (TSWV) is associated with the induction of programmed cell death (PCD) in *Capsicum chinense* plants, a hypersensitive host to TSWV infection. Epub 2008 Sep 5. *Virus Research*, 137 (2): 245-252.
- Mandal, B., Pappu, H.R., Culbreath, A.K., 2001. Factors Affecting Mechanical Transmission of Tomato Spotted Wilt Virus to Peanut (*Arachis hypogaea*). *Plant Disease*, 85: 1259- 1263.
- Mandal, B., Csinos, A.S., Martinez- Ochoa, N., and Pappu, H.R. 2008. A rapid and efficient inoculation method for Tomato spotted wilt tospovirus. *Journal of virological Methods*, 149: 195- 198.
- Margaria, P., Ciuffo, M. and Turina, M., 2004. Resistance breaking strain of *Tomato spotted wilt virus* (*Tospovirus; Bunyaviridae*) on resistant pepper cultivars in Almeria, Spain. New Disease Report. *Plant Pathology* 53:795. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2004.01082.x>
- Margaria, P., Ciuffo, M., Pacifico, D. and Turina, M., 2007. Evidence That the Nonstructural *Tomato spotted wilt virus* Is the Avirulence Determinant in the Interaction with Resistant Pepper Carrying the *Tsw* Gene. The American

- Phytopathological Society, *MPMI Molecular Plant-Microbe Interaction*. 20 (5): 547–558. doi:10.1094/MPMI-20-5-0547.
- Momol, M.T., Funderburk, J.E., Olson, S., and Stavisky, J. 2002. Management of Tomato Spotted Wilt Tospovirus (TSWV) on Tomatoes with 60 UV- Reflective Mulch and Acibenzolar-S-methyl. Proceedings of the 7th International Symposium of Thysanoptera Australian National Insect Collection, Canberra. pp. 111- 116.
- Montero-Astúa, M., Ullman, D.E. and Whitfield, A.E. 2016. Salivary gland morphology, tissue tropism and the progression of tospovirus infection in *Frankliniella occidentalis*. *Virolog*, 493:39-51. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.03.003>
- Moodley, V., Naidoo, R., Gubba, A. and Mafongoya, P.L. 2019. Development of *Potato virus Y* (PVY) resistant pepper (*Capsicum annum* L.) lines using marker-assisted selection (MAS). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 105:96-101. <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2018.12.002>
- Moury, B., A. Palloix, K. Selassie-Gebre K., Marchoux, G. 1997. Hypersensitive resistance to tomato spotted wilt virus in three *Capsicum chinense* accessions is controlled by a single gene and is overcome by virulent strains. *Euphytica* 94, 45–52.
- Moury, B., Selassie-Gebre K., Marchoux, G., Daubeze, A. M. and Palloix, A. 1998. High temperature effects on hypersensitive resistance to tomato spotted wilt tospovirus (TSWV) in pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *European Journal of Plant Pathology* 104, 489-498.
- Moury, B., Pflieger, S., Blattes, A., Lefebvre, V. and Palloix, A. 2000. A Caps Marker to Assist Selection of Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) Resistance in Pepper. *Genome*, 43:137-142.
- Mumford, R.A., Barker, I., and Wood, K.R. 1994. The Detection of *Tomato Spotted Wilt Virus* Using The Polymerase Chain Reaction. *J. Virol. Methods*, 46: 303-311.
- Mun, H.Y., Park, M.R., Lee, H.B. and Kim, K.H. 2008. Outbreak of *Cucumber mosaic virus* and *Tomato spotted wilt virus* on bell pepper grow in Jeonnam in Korea. *Plant Pathol. J.* 24 (1):93-96.
- Nuez, F., Diez, M.J., Roselló, S., Lacasa, A., Jordá, C., Martín, M. and Costa, J., 1994. Genetic resistance to TSWV (*Tomato spotted wilt virus*) in *Capsicum* spp. *Capsicum Newsl.* 13: 86-87.
- Oğuz, A., Ellialtıoğlu, Ş., Çelik, N., Kabaş, A. ve Zengin, S. 2009. Bazı Domates Hatlarının Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV= *Tomato Spotted Wilt Virus*)'ne Karşı Reaksiyonlarının Mekanik İnokulasyon Yöntemi ile Belirlenmesi. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 26 (1):40-50. ISSN 1300-3496
- Oğuz, A. 2010. Bazı yerel domates genotiplerinde farklı yöntemler kullanılarak, domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*=TSWV)'ne dayanıklılığın ve genetik varyasyonun araştırılması, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara,

166 s.

- Onus, N. 2001. Capsicum Cinsine Genel Bir Bakış. *Derim Dergisi*. Cilt:19, Sayı:2. 72-88.
- Öz Aydın, S. 2004. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) Belirleyicileri ve Bitki Sistematiği. Dumlupınar Ün. *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. Sayı:6. 113-130.
- Özalp, M. O. 1964. İzmir’de Sebzelerde Görülen Virüs Hastalıkları. *Bitki Koruma Bülteni*. 4 (1):18-25.
- Özalp, R., İ. Çelik ve A. Coşkun. 2006. Kamu-Özel Sektör İşbirliğiyle Yerli Hibrit Biber Çeşitlerinin Geliştirilmesine Yönelik Biber Saf Hatlarının Morfolojik Karakterizasyonu ve Özel Sektöre Tanıtımı. VI. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildiri Kitabı. 19-22 Eylül 2006. Kahramanmaraş. S: 373-377.
- Özalp, R., İ. Çelik ve A. Coşkun. 2011. Turşuluk Süs Biberi Aday Çeşitlerinin Verim ve Verim Bileşenlerinin İncelenmesi. IV. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı-I. S.43-48. Sözlü Bildiri. Ondokuz Mayıs Ün. Zir. Fak. 14-17 Haziran 2011. Samsun.
- Özalp, R., İ. Çelik ve, A. Eren. 2014. Ülkemizde Sebze Tohumculuğunda Yaşanan Gelişmeler (2002-2013). 5. Uluslararası Katılımlı Türkiye Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı. s. 261-267. Sözlü Bildiri. Dicle Üniversitesi. 19-23 Ekim 2014. Diyarbakır.
- Özaslan, M., Baş, B., Aytekin, T. and Sığırcı, Z. 2006. Identification of Pepper Viruses by Das-elisa Assays in Gaziantep-Turkey. *Plant Pathology Journal* 5 (1):11-14. ISSN 1812-5387. Asian Network for Scientific Information
- Özdağ, Y. and Sertkaya, G. 2017. Investigation on viruses causing yellowing disease in pepper in Hatay-Turkey. *Journal of Agricultural Faculty of Mustafa Kemal University. Research Article*.22 (1): 16-22 (2017). ISSN:1300-9362.
- Özkaynak, E., Devran, Z., Kahveci, A., Doğanlar, S., Başköylü, B., Doğan, F., İşleyen, M., Yüksel, A. and Yüksel, M. 2014. Pyramiding multiple genes for resistance to PVY, TSWV and PMMoV in pepper using molecular markers. *Europ. J. Hort Sci.* 79 (4):233-239. ISSN:1611-4426
- Palloix, A., K. Abak, P. Gognalos, A.M. Daubeze, M. Güldür, G. Memouchi and K. Gebre-Selassie. 1994. Virus diseases infecting pepper crops in Turkey. Proceedings of 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. P.469-472. (TR) Kusadasi, Aydın.
- Pappu, H.R., Jones, R.A.C. and Jain, R.K. 2009. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: Successes achieved and challenges ahead. *Virus Res.* 141, 219–236.
- Parrella, G., Gognalons P, Gebre-Selassie, K., Vovlas, C. and Marchoux, G. 2003. An update of the host range of tomato spotted wilt virus. *J. Plant Path.*, 85(4): 227-264.
- Paylan, İ.C. ve Erkan, S. 2013. Bazı Sebze Tohumlarındaki Viral Etmenlerin Saptanması ve Yaygınlık Oranlarının Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50 (3):231-240. ISSN: 1018-8851

- Peiró, A., Cañizares, M.C., Rubio, L., López, C., Moriones, E. 2014. The movement protein (NSm) of Tomato spotted wilt virus is the avirulence determinant in the tomato Sw-5 gene-based resistance. *Mol Plant Pathol*, 15:802–813
- Pınar, H., Ata, A., Keleş, D., Mutlu, N. ve Ünlü, M. 2013. Domateste bazı hastalık ve zararlılara dayanıklı hat ve çeşit geliştirmede moleküler markörlerin kullanımı. *Alatarım*, 12 (1): 10-18. ISSN 1304-2653.
- Pınar, H., Mutlu, N., Özaslandan, A., Argun, D., Keles, D. and Canhilal, R. 2016. Reliability Assessment of Molecular Markers Linked to Resistance Genes against *Meloidogyne* spp. in Diverse Peppers Genotypes. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 26 (3) 2016, 515-521.
- Polat, E. and Özalp, R. 2014. Molecular marker assisted selection for resistance to tomato spotted wilt virus (tswv) in pepper breeding. Poster presentation. European Biotechnology Congress 2014. 15-18 May 2014, Lecce-Italy. Abstracts, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.07.386> Journal of Biotechnology 185S (2014) S37-S125, p.114.
- Polat, İ., İ. Çelik, N. Çelik, R. Özalp, and G. Sülü. 2014. Sivri Biberde Patates Y Virüsü (Potato Y Potyvirus= PVY)'ne Dayanıklı Hatların Geliştirilmesinde Moleküler Markör ve Mekanik İnokulasyonun Kullanımı. V. Bitki Koruma Kongresi, özet, poster bildiri, 3-5 Şubat 2014, Antalya. S. 277.
- Polat, I., Çelik, İ., Çelik, N., and Özalp, R. 2016. Biological and molecular determination for Resistance to Tomato spotted wilt virus (TSWV) in F₂ population of long-type pepper (*Capsicum annuum* L.). International Symposium on Biotechnology and Other Omics in Vegetable Science. *Acta Horticulturae* 26 (1): 115-120. DOI: 10.17660/ ActaHortic. 2016.1145.18.
- Roggero, P., Lisa, V., Nervo, G., and Pennazio, S. 1996. Continuous high temperature can break the hypersensitivity of *Capsicum chinense* 'PI152225' to tomato spotted wilt tospovirus (TSWV). *Phytopathologia Mediterranea* 35, 117-120.
- Roggero, P., Melani, V., Ciuffo, M., Tavella, L., Tedeschi, R. and Stravato, M.R. 1999. Two Field Isolates of Tomato spotted Wilt Tospovirus Overcome the Hypersensitive Response of a Pepper (*Capsicum annuum*) Hybrid with Resistance Introgressed from *C. chinense* PI152225. *Plant Disease* 83(10):965. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.10.965A>
- Roggero, P., Pennazio, S., Masenga, V. and Tavella, L. 2002a. Resistance to tospoviruses in pepper. *Thrips and Tospoviruses: Proceedings of the 7 th International Sympozyum on Thysanoptera*. Università degli studi mediterranea di Reggio. p.391. 105-110 pp.
- Roggero, P., Masenga, V. and Tavella, L. 2002b. Field Isolates of *Tomato spotted wilt virus* Overcoming Resistance in Pepper and Their Spread to Other Hosts in Italy. *Plant Disease* 86(9): 950-954. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.9.950>
- Roselló, S., Díez, M.J. and 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.
- Salamon, P., Mitykó, J., Kaló, P. and Szabó, S. 2016. Symptoms caused by *Tomato*

- spotted wilt virus* (TSWV) and marker assisted selection of TSWV resistant pepper lines for hybrid constructions. Proceedings XVI. Eucarpia Capsicum and Eggplant Meeting. pp:69-75. 12-14 September. Keszthely-Hungary. ISBN978-615-5270-27-7
- Scholthof, K-B. G., Adkins, S., Czosnek, H., Palukaitis, P., Jacquot, E., Hohn, T., Hohn, B., Saunders, K., Candresse, T., Ahlquist, P., Hemenway, C. and Foster, G.D. 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. 12 (9): 938-954. Doi:10.1111/J.1364-3703.2011.00752.X
- Sevgican, A. 1999. Örtüaltı Sebzeçiliği (Topraklı Tarım) Cilt 1. Ege Ün. Ziraat Fak. Yayınları No: 528. Ege Ün. Basımevi. Bornova-İzmir.
- Sharman, M. and Persley, D. M. 2006. Field isolates of *Tomato spotted wilt virus* overcoming resistance in capsicum in Australia. *Australasian Plant Pathology* 35: 123-128. <http://dx.doi.org/10.1071/AP06014>
- Silvar, C. and García-González, C.A. 2017. Screening old peppers (*Capsicum* spp.) for diseases resistance and pungency-related traits. *Scientia Horticulturae*, 218:249-257. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.037>
- Solak, S. S. 2016. Biberde domates lekeli solgunluk virüsüne (TSWV) dayanıklılık lokusunun scar işaretleyicisine (markırına) çevrilmesi, Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 90 s.
- Soler, S., Diez, M.J. and 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: 1199-1204.
- Soler, S., Debreczeni D.E., Vidal, E., Aramburu, J., Lopez, C., Galipienso, L. and Rubio, L. 2015. A new *Capsicum baccatum* accession shows tolerance to wild-type and resistance-breaking isolates of Tomato spotted wilt virus. *Ann. Appl. Biol.* 167(2015):343-353. Doi:10.1111/aab.12229. ISSN 0003-4746.
- Suzuki, K., T. Kuroda, Y. Miura and J. Murai. 2003. Screening and field trials of virus resistant sources in *Capsicum* spp. *Plant Disease*. 87, 779-783.
- Şehirali, S. 1998. Bitki Islahı. Ankara Ün. Ziraat Fak. Yayınları: 1059, Ders Kitabı: 310. Ankara.
- Şevik, M.A. 2008. Thrips (*Thripidae: Thysanoptera*) Türleri ile Taşınan Bitki Virüsleri. ISSN 1300-3496. *Derim Dergisi*, 2008, 25 (1):01-11.
- Şevik, M.A. 2011. *Domates Lekeli Solgunluk Virüsü* (TSWV)'nün Tarımsal Ürünlerde Meydana Getirdiği Ekonomik Kayıplar. *Derleme Makale. Hr. Ü. Z. F. 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) Derleme Makalesi. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.* 5 (2):17-23.
- Şevik, M.A. and Arlı-Sökmen, M. 2012. Estimation of the effect of *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) infection on some yield components of tomato. DOI 10.1007/s12600-011-0192-2. *Phytoparasitica* 40:87-93.
- Şevik, M.A. and Arlı-Sökmen, M. 2016. Current Status of Tosspoviruses Infecting

- Vegetables in Samsun, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*. Abstract. 5 (12A): 5739-5743.
- Şimşek, D. 2014. Moleküler Islah Yöntemleri Kullanılarak Tospovirus ve Tobamoviruslere Dayanıklı Çarlı Biber (*Capsicum Annuum* L.) Hat ve Çeşitlerinin Geliştirilmesi. *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi* 1 (1):1-5.
- Şimşek, D., Pınar, H. ve Mutlu, N. 2015. Moleküler Islah Yöntemleri Kullanılarak Tospovirus ve Tobamoviruslere Dayanıklı Yeni Dolmalık Biber (*Capsicum annuum* L.) Hat ve Çeşitlerinin Geliştirilmesi. *Alatırım* 14 (1):1-8.
- Şin, B. 2015. Amasya, Samsun ve Tokat illerinde domates yetiştirilen alanlarda enfeksiyon oluşturan domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus, TSWV) izolatlarının karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 129 s.
- Tekinel, N., Dolar, M.S., Sağsöz, S. ve Salcan, Y. 1969. Mersin bölgesinde ekonomik bakımdan önemli bazı sebzelerin virüsleri üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 9: 37-49.
- Tentchev, D., Verdin, E., Marchal, C., Jacquet, M., Aguilar, J.M. and Moury, B. 2011. Evolution and structure of *Tomato spotted wilt virus* populations: evidence of extensive reassortment and insights into emergence processes. *Journal of General Virology*, 92: 961–973. Doi:10.1099/vir.0.029082-0.
- Thomas-Carroll, M.L. and Jones, R.A.C. 2003. Selection, biological properties and fitness of resistance-breaking strains of *Tomato spotted wilt virus*. *Ann. Appl. Biol.* 142:235-243. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2003.tb00246.x>
- Tomita, R. Murai, J., Miura, Y., Ishihara, H., Liu S., Kubotera, Y., Honda A., Hatta R., Kuroda, T., Hamada, H., Sakamoto, M., Munemura I., Nunomura, O., Ishikawa, K., Genda, Y., Kawasaki, S., Suzuki, K., Meksem, K., Kobayashi, K. 2008. Fine mapping and DNA fiber FISH analysis locates the tobamo virus resistance gene L3 of *Capsicum chinense* in a 400-kb region of R-like genes cluster embedded in highly repetitive sequences. *Theor Appl Genet. Nov.* 117 (7):1107-18.
- Tör, M. 1998. Bitkilerde Moleküler Konukçu-Patojen İlişkilerindeki Son Gelişmeler. *Tr. J. of Biology*, 22(1998): 271-285.
- Tunç, İ. and H. Göçmen. 1994. New greenhouse pests, *Polyphagotarsonemus latus* and *Frankliniella occidentalis* in Turkey. *FAO Plant Prot. Bull.* 42 (3):218-220.
- Tunç, İ. ve Göçmen, H. 1995. Antalya’ da bulunan iki sera zararlısı *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acarina, Tarsonemidae) ve *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera, Thripidae) üzerine notlar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 19(2): 101-109.
- Turhan, P. ve 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. and Schreier, P.H. 1999. Homotypic interaction and multimerization of nucleocapsid protein of *Tomato spotted wilt tospovirus*: Identification and characterization of two interacting domains. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 96: 55-60.

- Ullman, D.E., Cho, J.J., Mau, R.F.L., Westcot, D.M., and Custer, D.M. 1992. A midgut barrier to *Tomato Spotted Wilt Virus* acquisition by adult western flower thrips. *Phytopathology*, 82: 1333- 1342.
- Uygun, N., Ulusoy, M.R. ve Başpınar, H. 2002. Sebze Zararlıları. Ç.Ü. Ziraat Fak. Genel Yayın No:213. Ders Kitapları Yayın No: A-68. 3. Baskı. Adana. 168 s.
- Wang, D. and Bosland, P.W. 2006. The genes of *Capsicum*. *Hort Science*, 41(5):1169-1187. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.5.1169>.
- Wien, H. C. 1997. Peppers. The Physiology of Vegetable Crops. UK. At the Univ., Pres, Cambridge. P.259 ISBN 0 85199 1467, 1997,
- Whitfield, A.E., Falk, B.W. and Rotenberg, D. 2015. Insect-vector mediated transmission of plant viruses. *Virology*, 479-480:278-279. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.03.026>
- Van Leeuwen, L., Arrieta, I.S., Guiderdone, S.M., Turina, M. and Ciuffo, M. 2017. TSWV Resistant *Capsicum* Plants. United States Patent. Patent No: US 9,603,319 B2, Date of Patent: Mar.28,2017. <http://www.freepatentsonline.com/9603319.pdf> [Son erişim tarihi: 24.06.2019].
- Vardar-Kanlıtepe, Ç., Aras, S. ve Cansaran-Duman, D. 2010. Bitki Islahında Moleküler Belirteçlerin Kullanımı ve Gen Aktarımı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67 (1):33-43.
- Vural, H., Eşiyok, D. ve Duman, İ. 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), Ege Ün. Z.raat Fak. Bahçe Bitkileri Bl. Bornova, İzmir. 293-305.
- Yang, H.B., Liu, W. Y., Kang, W.H., Jahn, M., Kang, B.C. 2009. Development of SNP markers linked to the *L* locus in *Capsicum* spp. by a comparative genetic analysis. *Molecular Breeding*. 24(4): 433-446.
- Yang, E.Y., Choi, S-K., Chung, B.N., Chae, S-Y., Park, D.K., Lee, W-M., Choi, H.S. and Kim, S. 2012. Selection of pepper germplasms resistant to Tomato spotted wilt virus in high temperature. *Kor. J. Breed. Sci.* 44(4):559-566. <https://dx.doi.org/10.9787/KJBS.2012.44.4.559>
- Yardımcı, N. and 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.
- Yeşil, S. ve Ertunç, F. 2012. Bitki Virüsleriyle Mücadelede Yeni Stratejiler: Virüs Enfeksiyonlarına ve Vektörlerine Karşı Dayanıklılığın Geliştirilmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2 (4):19-28
- Yıldırım, H., 2010. Samsun ilinde farklı kültür bitkilerinde Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'nün bulaşıklık durumunun belirlenmesi ve bazı ticari domates çeşitlerinde dayanıklılığı kıran TSWV varyantlarının araştırılması. Yüksek Lisans tezi, Ondokuzmayıs Üniversitesi, Samsun, 86 s.
- Yılmaz, S. 2002. Batı Akdeniz Bölgesi'nde yeni bir virus hastalığı, *Derim dergisi*, 19(2): 55-60.
- Yurtmen, M., Güldür, M.E. and Yılmaz, M.A. 1999. *Tomato Spotted Wilt Virus* on Peppers in İçel Province of Turkey. English abstract. *Petria* 9: 343-344.

Zengin, S. 2016. Moleküler markör yardımcı seleksiyon ile viral (domates sarı yaprak kıvrıcılık virüsü, domates lekeli solgunluk virüsü), fungal (kök ve kök boğazı çürüklüğü) hastalıklara ve nematoda (*meloidogyne incognita*) dayanıklı domates hatlarının geliştirilmesi. Doktora tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 84 s.

8. EKLER

EK-8.1. Farklı biber meyve tiplerinde hatlara ait biyolojik ve moleküler işaretleyici yardımıyla belirlenmesine ilişkin sonuçlar

SIRA NO	GENOTİPLER	MOL TEST F2	MOL TEST F4	MOL TEST F6	BIO TEST F2	BIO TEST F4	BIO TEST F6
1	MS 1-1		RR	RR	Dyn		Dyn
2	MS 1-2					Has	
3	MS 2-1	rr			Has		
4	MS 2-2					Has	Has
5	MS 3-1	rr		rr	Has		Has
6	MS 3-2					Has	
7	MS4-1					Has	
8	MS 4-2	rr		rr			Has
9	MS 5-1	rr		rr	Has		Has
10	MS 5-2						Has
11	MS6-1					Has	
12	MS 7-1	rr	rr	rr		Has	Has
13	MS 8-1		RR	RR		Dyn	Dyn
14	MS 8-2						Dyn
15	MS 9-1					Has	
16	MS 9-2	Rr					
17	MS 10-1		rr	Rr	Dyn		Dyn
18	MS 10-2	Rr				Has	
19	MS 11-1				Dyn		Has
20	MS 11-2					Has	
21	MS 12-1			rr	Has		
22	MS 12-2	rr	rr			Dyn	Dyn
23	MS 13-1	Rr	RR	RR		Dyn	Dyn
24	MS 13-2		RR	Rr			Dyn
25	MS 14-1			rr			Has
26	MS 15-1		rr	rr		Has	Has
27	MS 15-2						Has
28	MS 16-1		rr	Rr		Has	Has
29	MS 16-2	Rr					Has
30	MS 17-2	Rr				Has	
31	MS 18-1	Rr				Has	Has
32	MS 18-2	RR					
33	MS 19-1				Dyn		Has
34	MS 19-2					Has	Has
35	MS 20-1					Has	Has
36	MS 21-1	Rr				Has	Has
37	MS 21-2		rr			Has	
38	MS 22-1	Rr					
39	MS 23-1	rr				Has	
40	MS 24-1					Has	Dyn
41	MS 24-2					Has	
42	MS 25-1					Has	

(Devamı arkada)

EK-8.1'in devamı.

43	MS 25-2					Has	
44	MS 26-1					Has	
45	MS 27-1					Has	
46	MS 27-2						Has
47	MS 28-1	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
48	MS 28-2	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
49	MS 29-1					Has	Has
50	MS 29-2					Has	
51	MS 30-2	rr				Has	Has
52	MS 31-1					Has	
53	MS 31-2					Has	Has
54	MS 32-2					Has	
55	MS 33-1					Has	Has
56	MS 34-1					Has	Has
57	MS 35-1					Has	Has
58	MS 36-1		RR			Dyn	Dyn
59	MS 37-1					Has	
60	MS 37-2					Has	
61	MS 38-1						Has
62	MS 38-2	Rr					Has
63	MS 38-3					Has	Has
64	MS 39-1	RR					
65	MS 41-1		RR	RR	Dyn		Dyn
66	MS 41-2		RR			Dyn	Dyn
67	MS 42-1				Dyn		
68	MS 42-2					Has	
69	MS 43-1	Rr		RR			Dyn
70	MS 43-2					Has	Has
71	MS 44-1	RR			Dyn	Has	Has
72	MS 45-1	rr					Has
73	MS 45-2	RR	RR			Dyn	
74	MS 46-1	rr			Dyn		
75	MS 46-2		Rr	Rr		Has	Dyn
76	MS 47-1	RR	RR	Rr	Dyn		Dyn
77	MS 47-2					Has	
78	MS 48-1			rr			Has
79	MS 48-2	rr			Dyn		Has
80	MS 49-1	rr		rr	Has		Dyn
81	MS 49-2					Has	Has
82	MS 50-1					Has	
83	MS 51-1		RR	RR		Dyn	Dyn
84	MS 51-2	Rr					
85	MS 52-1	rr	rr	Rr	Has		Has
86	MS 53-1	rr			Has		
87	MS 53-2	Rr	Rr	rr			Has
88	MS 54-1	Rr				Has	
89	MS 55-1					Has	
90	MS 56-1					Has	

(Devamı arkada)

EK-8.1'in devamı.

91	MS 58-1					Has	
92	MS 59-1	rr			Has		
93	MS 59-2					Has	
94	MS 60-2	rr					
95	MS 61-1	rr	rr	rr		Has	Dyn
96	MS 62-1	Rr	rr	rr	Has		Has
97	MS 63-1	rr			Has		
98	MS 64-1					Has	
99	MS 64-2		rr	RR		Dyn	Dyn
100	MS 65-1	RR				Has	
101	MS 66-1	rr			Has		
102	MS 66-2					Has	
103	MS 67-1	rr			Has		
104	MS 68-1	rr					
105	MS 69-1					Has	
106	MÇ 1-2	rr				Has	
107	MÇ 2-1	Rr	RR	rr	Dyn		Has
108	MÇ 2-1-2						Has
109	MÇ 2-2					Has	
110	MÇ 4-1	rr			Has	Has	
111	MÇ 5-1	Rr	Rr	RR	Dyn		Dyn
112	MÇ 5-2					Has	
113	MÇ 6-2	Rr	RR	Rr		Dyn	Has
114	MÇ 7-1	rr					
115	MÇ 7-2	Rr					
116	MÇ 8-1	RR				Has	Has
117	MÇ 9-1	RR				Has	
118	MÇ 9-2	Rr	Rr	rr		Has	Has
119	MÇ 10-1			rr		Has	Has
120	MÇ 10-2					Has	
121	MÇ 11-1					Has	
122	MÇ 11-2	Rr	rr	rr		Dyn	Has
123	MÇ 12-1	rr			Has		Has
124	MÇ 12-2					Has	
125	MÇ 13-1		rr	rr	Has		Has
126	MÇ 13-2	RR		rr		Has	
127	MÇ 13-3					Has	Has
128	MÇ 14-1	RR	RR				Has
129	MÇ 14-1-1			RR			Dyn
130	MÇ 14-2	rr	rr			Dyn	Has
131	MÇ 14-2-2-1			rr			Has
132	MÇ 15-1	RR	RR				Dyn
133	MÇ 15-1-1			Rr			Has
134	MÇ 15-1-2			RR			Dyn
135	MK 1-1	RR	RR	rr			Dyn
136	MK 1-2					Has	
137	MK 2-2					Has	
138	MK 3-1				Has		

(Devamı arkada)

EK-8.1'in devamı.

139	MK 3-2	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
140	MK 4-1				Has		Has
141	MK 4-2					Has	
142	MK 5-1	RR			Dyn		
143	MK 5-2	RR					Has
144	MK 5-3			rr		Has	Has
145	MK 6-2	Rr	Rr	RR		Dyn	Dyn
146	MK 7-1	Rr					
147	MK 7-2	RR					
148	MK 8-1	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
149	MK 8-2				Has		
150	MK 8-3	RR	RR	RR		Has	Dyn
151	MK 9-1				Dyn		
152	MK 10-1	RR	RR	RR	Dyn		Dyn
153	MK 10-2					Dyn	
154	MK 11-2	Rr	rr	rr		Has	Dyn
155	MK 12-2					Has	
156	MK 12-3		RR	RR		Has	Has
157	MK 13-1	rr			Has		
158	MK 13-2		RR	rr		Has	Dyn
159	MK 14-1	RR					
160	MK 15-1				Has		
161	MK 15-2	RR	RR			Dyn	Dyn
162	MK 16-1				Dyn		Dyn
163	MK 16-2	Rr	RR				
164	MK 16-2-2			rr			Has
165	MK 17-1	RR			Has		
166	MK 17-2	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
167	MK 17-2-2						Has
168	MK 17-3					Has	
169	MK 18-1					Has	
170	MK 18-3	RR	RR	RR		Has	Has
171	MK 19-1				Has		
172	MK 20-2	RR			Dyn		
173	MK 21-1					Has	
174	MK 21-2	rr					
175	MK 22-2	rr				Has	
176	MK 22-2-2			rr			Has
177	MK 22-3						Dyn
178	MK 23-2		rr			Has	
179	MK 23-4			rr		Has	Dyn
180	MK 24-2	RR					Has
181	MK 25-1	rr	rr	rr		Has	Has
182	MK 25-2	Rr					Dyn
183	MK 26-1		RR	RR		Has	Dyn
184	MK 27-1					Has	Has
185	MK 27-2	RR	RR				Dyn
186	MK 27-2-1			RR			Dyn

(Devamı arkada)

EK-8.1'in devamı.

187	MK 28-2					Has	
188	MK 29-1	Rr			Has		Has
189	MK 29-2	Rr				Has	Has
190	MK 29-3					Has	
191	MK 29-4	RR	RR	RR			Dyn
192	MK 30-1	Rr			Has		Has
193	MK 30-2	RR	RR			Dyn	Dyn
194	MK 30-2-1			RR			Dyn
195	MK 30-3					Has	
196	MK 30-4	RR				Dyn	
197	MK 30-5					Has	
198	MK 31-1	Rr	RR	RR			Dyn
199	MK 31-2	RR				Has	
200	MK 32-1	Rr	rr	rr		Has	Has
201	MK 32-2	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
202	MK 33-1	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
203	MK 33-1-2						Has
204	MK 34-1	RR		RR		Dyn	Dyn
205	MK 34-2	Rr	RR	RR		Has	Dyn
206	MK 34-3	Rr					
207	MK 35-1					Has	
208	MK 35-2			rr		Has	Has
209	MK 36-1		RR			Dyn	
210	MK 37-1					Has	
211	MK 37-2					Has	
212	MK 38-1	rr	rr	rr		Has	Has
213	MK 39-1	Rr	rr			Has	Dyn
214	MK 39-1-2			rr			Has
215	MK 39-2	Rr					
216	MK 40-1			RR		Dyn	Dyn
217	MK 40-1S		RR	RR			Dyn
218	MK 40-2					Has	
219	MK 41-1	Rr	Rr	Rr	Dyn		Dyn
220	MK 41-2	Rr					
221	MK 41-2-1					Has	Dyn
222	MK 42-1	Rr	Rr	RR		Has	Dyn
223	MK 43-1					Has	
224	MK 44-1					Has	
225	MK 45-1	Rr				Dyn	Dyn
226	MK 45-2	Rr	Rr	RR		Dyn	Dyn
227	MK 46-1	Rr				Has	
228	MK 46-2					Has	
229	MK 47-2	Rr					
230	MK 48-1	Rr					Has
231	MK 48-2	Rr	Rr			Dyn	Dyn
232	MK 48-3-1					Has	
233	MK 49-1				Dyn		
234	MK 49-2		rr	Rr		Has	Has

(Devamı arkada)

EK-8.1'in devamı.

235	MK 50-2					Has	Has
236	MK 50-3						Has
237	MK 51-1					Has	Dyn
238	MK 51-2		Rr	rr		Has	Dyn
239	MK 51-3						Has
240	MK 51-4		Rr				Has
241	MK 51-4-2			Rr			Dyn
242	MD 1-1	rr	rr	rr	Dyn		Dyn
243	MD 1-2	RR				Dyn	Dyn
244	MD 1-3					Has	Dyn
245	MD 2-1				Dyn		Has
246	MD 2-2	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
247	MD 3-1	Rr			Dyn		Dyn
248	MD 3-2		RR	Rr		Dyn	Dyn
249	MD 3-3		rr				Has
250	MD 3-3-1			Rr			Has
251	MD 3-3-2						Has
252	MD 4-1		RR	RR			Dyn
253	MD 4-1-1		RR			Dyn	
254	MD 4-1-2						Has
255	MD 4-2		RR	RR		Dyn	Dyn
256	MD 5-1			rr	Dyn		Dyn
257	MD 5-2					Has	Has
258	MD 6-1-2			RR			Dyn
259	MD 6-2		rr			Has	Dyn
260	MD 6-3					Has	
261	MD 7-1				Dyn		Has
262	MD 7-1-1		rr			Has	
263	MD 7-1-2			rr			Has
264	MD 7-3					Has	Dyn
265	MD 8-1	Rr		rr	Dyn		Has
266	MD 8-2					Has	
267	MD 8-2-1						Dyn
268	MD 8-2-2						Dyn
269	MD 8-3					Has	
270	MD 9-1	RR?	rr	rr		Dyn	Has
271	MD 9-1-2						Dyn
272	MD 9-2	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
273	MD 9-3	RR	RR	RR		Dyn	Dyn
274	MD 10-1				Dyn		Dyn
275	MD 10-2	RR					
276	MD 11-1	Rr			Dyn		Dyn
277	MD 11-2					Has	Has
278	MD 12-1				Dyn		
279	MD 12-2			rr		Has	Has
280	MD 13-1		rr	rr	Has		Has
281	MD 15-1		rr	RR			Dyn
282	MD 15-3		rr			Has	Dyn

(Devamı arkada)

EK-8.1'in devamı.

283	MD 15-3-1		rr	rr		Has	Has
284	MD 15-4						Has
285	MD 16-1	Rr		rr	Dyn		Dyn
286	MD 16-2					Has	
287	MD 16-2-1					Has	
288	MD 17-2	Rr	Rr	RR		Dyn	Dyn
289	MD 18-1	Rr	Rr	RR	Dyn	Has	Dyn
290	MD 18-2	Rr					
291	MD 19-1	RR					
292	MD 19-2	RR		rr		Has	Has
293	MD 20-1	RR	RR	RR			Has
294	MD 20-2	RR					
295	MD 21-1	RR			Dyn		
296	MD 21-2					Has	
297	MD 22-1	rr				Has	
298	MD 22-2					Has	
299	MD 22-3	rr					
300	MD 23-1-1					Has	
301	MD 23-2		rr	rr		Has	Dyn
302	MD23-3-2			Rr			Dyn
303	MD 24-1		rr			Has	
304	MD 24-2	rr		rr			Has
305	MD 24-2-2						Dyn
306	MD 28-1					Has	
307	MD 28-2	rr				Has	
308	MD 28-2S						Dyn
309	MD 28-2K						Dyn
310	MD 29-1	rr				Has	
311	MD 29-1K						Dyn
312	MD 29-2	rr					Dyn
313	MD 30-1						Dyn
314	SCM 334-2		rr	rr			Dyn*
315	PI 152225	RR	RR	RR	Dyn	Dyn	Dyn
316	SD8	rr	rr	rr	Has	Has	Has
TEST SAYISI		137	92	104	60	174	189

EK-8.2. F₂, F₄ ve F₆ Kademe Bitkilerinde Moleküler ve Biyolojik Test Sonuçlarının Birlikte Değerlendirilmesi (+; Uyumlu olan, X; Farklı olan-uyumlu olmayan)

SIRA NO	GENOTİP- LER	MOL TEST F2	BIO TEST F2	MOL TEST F4	BIO TEST F4	MOL TEST F6	BIO TEST F6	MOL X BIO
1	MS 1-1		Dyn	RR		RR	Dyn+	+
2	MS 2-1	rr	Has+					+
3	MS 3-1	rr	Has+			rr	Has+	+
4	MS 4-2	rr				rr	Has+	+
5	MS 5-1	rr	Has+			rr	Has+	+
6	MS 7-1	rr		rr	Has+	rr	Has+	+
7	MS 8-1			RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
8	MS 9-2	Rr						--
9	MS 10-1		Dyn	rr		Rr	Dyn+	+
10	MS 10-2	Rr			Has			+
11	MS 12-1		Has			rr		+
12	MS 12-2	rr		rr	Dyn-		Dyn	X
13	MS 13-1	Rr		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
14	MS 13-2			RR		Rr	Dyn+	+
15	MS 14-1					rr	Has+	+
16	MS 15-1			rr	Has+	rr	Has+	+
17	MS 16-1			rr	Has+	Rr	Has-	X
18	MS 16-2	Rr					Has	+
19	MS 17-2	Rr			Has			+
20	MS 18-1	Rr			Has		Has	+
21	MS 18-2	RR						--
22	MS 21-1	Rr			Has		Has	+
23	MS 21-2			rr	Has+			+
24	MS 22-1	Rr						--
25	MS 23-1	rr			Has			+
26	MS 28-1	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
27	MS 28-2	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
28	MS 30-2	rr	Has+				Has	+
29	MS 36-1			RR	Dyn+		Dyn	+
30	MS 38-2	Rr					Has	+
31	MS 39-1	RR						--
32	MS 41-1		Dyn	RR		RR	Dyn+	+
33	MS 41-2			RR	Dyn+		Dyn	+
34	MS 43-1	Rr				RR	Dyn+	+
35	MS 44-1	RR	Dyn+		Has		Has	+
36	MS 45-1	rr					Has	+
37	MS 45-2	RR		RR	Dyn+			+
38	MS 46-1	rr	Dyn-					X
39	MS 46-2			Rr	Has-	Rr	Dyn+	+
40	MS 47-1	RR	Dyn+	RR		Rr	Dyn+	+
41	MS 48-1					rr	Has+	+
42	MS 48-2	rr	Dyn-				Has	X
43	MS 49-1	rr	Has+			rr	Dyn-	X

(Devamı arkada)

EK-8.2'nin devamı.

44	MS 51-1			RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
45	MS 51-2	Rr						--
46	MS 52-1	rr	Has+	rr		Rr	Has-	+
47	MS 53-1	rr	Has+					+
48	MS 53-2	Rr		Rr		rr	Has+	+
49	MS 54-1	Rr			Has			+
50	MS 59-1	rr	Has+					+
51	MS 60-2	rr						--
52	MS 61-1	rr		rr	Has+	rr	Dyn-	X
53	MS 62-1	Rr	Has-	rr		rr	Has-	+
54	MS 63-1	rr	Has+					+
55	MS 64-2			rr	Dyn-	RR	Dyn+	+
56	MS 65-1	RR			Has			X
57	MS 66-1	rr	Has+					+
58	MS 67-1	rr	Has+					+
59	MS 68-1	rr						--
60	MÇ 1-2	rr			Has			+
61	MÇ 2-1	Rr	Dyn+	RR		rr	Has+	+
62	MÇ 4-1	rr	Has+		Has			+
63	MÇ 5-1	Rr	Dyn+	Rr		RR	Dyn+	+
64	MÇ 6-2	Rr		RR	Dyn+	Rr	Has-	X
65	MÇ 7-1	rr						--
66	MÇ 7-2	Rr						--
67	MÇ 8-1	RR			Has		Has	X
68	MÇ 9-1	RR			Has			X
69	MÇ 9-2	Rr		Rr	Has-	rr	Has+	+
70	MÇ 10-1				Has	rr	Has+	+
71	MÇ 11-2	Rr		rr	Dyn-	rr	Has+	+
72	MÇ 12-1	rr	Has+				Has	+
73	MÇ 13-1		Has	rr		rr	Has+	+
74	MÇ 13-2	RR			Has	rr		X
75	MÇ 14-1	RR		RR			Has	X
76	MÇ 14-1-1					RR	Dyn+	+
77	MÇ 14-2	rr		rr	Dyn-		Has	+
78	MÇ 14-2-2-1					rr	Has+	+
79	MÇ 15-1	RR		RR			Dyn	+
80	MÇ 15-1-1					Rr	Has-	X
81	MÇ 15-1-2					RR	Dyn+	+
82	MK 1-1	RR		RR		rr	Dyn-	+
83	MK 3-2	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
84	MK 5-1	RR	Dyn+					+
85	MK 5-2	RR					Has	X
86	MK 5-3				Has	rr	Has+	+
87	MK 6-2	Rr		Rr	Dyn+	RR	Dyn+	+
88	MK 7-1	Rr						--
89	MK 7-2	RR						--
90	MK 8-1	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
91	MK 8-3	RR		RR	Has-	RR	Dyn+	+

(Devamı arkada)

EK-8.2'nin devamı.

92	MK 10-1	RR	Dyn+	RR		RR	Dyn+	+
93	MK 11-2	Rr		rr	Has+	rr	Dyn-	X
94	MK 12-3			RR	Has-	RR	Has-	X
95	MK 13-1	rr	Has+					+
96	MK 13-2			RR	Has-	rr	Dyn-	X
97	MK 14-1	RR						--
98	MK 15-2	RR		RR	Dyn+		Dyn	+
99	MK 16-2	Rr		RR				--
100	MK 16-2-2					rr	Has+	+
101	MK 17-1	RR	Has-					X
102	MK 17-2	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
103	MK 18-3	RR		RR	Has-	RR	Has-	X
104	MK 20-2	RR	Dyn+					+
105	MK 21-2	rr						--
106	MK 22-2	rr			Has			+
107	MK 22-2-2					rr	Has+	+
108	MK 23-2			rr	Has+			+
109	MK 23-4				Has	rr	Dyn-	X
110	MK 24-2	RR					Has	X
111	MK 25-1	rr		rr	Has+	rr	Has+	+
112	MK 25-2	Rr					Dyn	+
113	MK 26-1			RR	Has-	RR	Dyn+	+
114	MK 27-2	RR		RR			Dyn	+
115	MK 27-2-1					RR	Dyn+	+
116	MK 29-1	Rr	Has-				Has	X
117	MK 29-2	Rr			Has		Has	X
118	MK 29-4	RR		RR		RR	Dyn+	+
119	MK 30-1	Rr	Has-				Has	X
120	MK 30-2	RR		RR	Dyn+		Dyn	+
121	MK 30-2-1					RR	Dyn+	+
122	MK 30-4	RR			Dyn			+
123	MK 31-1	Rr		RR		RR	Dyn+	+
124	MK 31-2	RR			Has			X
125	MK 32-1	Rr		rr	Has+	rr	Has+	+
126	MK 32-2	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
127	MK 33-1	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
128	MK 34-1	RR			Dyn	RR	Dyn+	+
129	MK 34-2	Rr		RR	Has-	RR	Dyn+	+
130	MK 34-3	Rr						--
131	MK 35-2				Has	rr	Has+	+
132	MK 36-1			RR	Dyn+			+
133	MK 38-1	rr		rr	Has+	rr	Has+	+
134	MK 39-1	Rr		rr	Has+		Dyn	X
135	MK 39-1-2					rr	Has+	+
136	MK 39-2	Rr						--
137	MK 40-1				Dyn	RR	Dyn+	+
138	MK 40-1S			RR		RR	Dyn+	+
139	MK 41-1	Rr	Dyn+	Rr		Rr	Dyn+	+

(Devamı arkada)

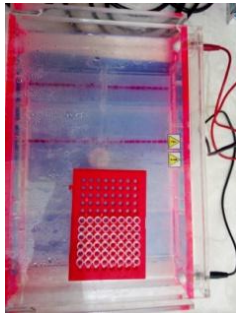
EK-8.2'nin devamı.

140	MK 41-2	Rr						--
141	MK 42-1	Rr		Rr	Has -	RR	Dyn+	+
142	MK 45-1	Rr			Dyn		Dyn	+
143	MK 45-2	Rr		Rr	Dyn+	RR	Dyn+	+
144	MK 46-1	Rr			Has			X
145	MK 47-2	Rr						--
146	MK 48-1	Rr					Has	X
147	MK 48-2	Rr		Rr	Dyn+		Dyn	+
148	MK 49-2			rr	Has+	Rr	Has-	X
149	MK 51-2			Rr	Has-	rr	Dyn-	X
150	MK 51-4			Rr			Has	X
151	MK 51-4-2					Rr	Dyn+	+
152	MD 1-1	rr	Dyn-	rr		rr	Dyn-	X
153	MD 1-2	RR			Dyn		Dyn	+
154	MD 2-2	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
155	MD 3-1	Rr	Dyn+				Dyn	+
156	MD 3-2			RR	Dyn+	Rr	Dyn+	+
157	MD 3-3			rr			Has	+
158	MD 3-3-1					Rr	Has-	X
159	MD 4-1			RR		RR	Dyn+	+
160	MD 4-1-1			RR	Dyn+			+
161	MD 4-2			RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
162	MD 5-1		Dyn			rr	Dyn-	X
163	MD 6-1-2					RR	Dyn+	+
164	MD 6-2			rr	Has+		Dyn	X
165	MD 7-1-1			rr	Has+			+
166	MD 7-1-2					rr	Has+	+
167	MD 8-1	Rr	Dyn+			rr	Has+	+
168	MD 9-1	RR		rr	Dyn-	rr	Has+	+
169	MD 9-2	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
170	MD 9-3	RR		RR	Dyn+	RR	Dyn+	+
171	MD 10-2	RR						--
172	MD 11-1	Rr	Dyn+				Dyn	+
173	MD 12-2				Has	rr	Has+	+
174	MD 13-1		Has	rr		rr	Has+	+
175	MD 15-1			rr		RR	Dyn+	+
176	MD 15-3			rr	Has+		Dyn	X
177	MD 15-3-1			rr	Has+	rr	Has+	+
178	MD 16-1	Rr	Dyn+			rr	Dyn-	X
179	MD 17-2	Rr		Rr	Dyn+	RR	Dyn+	+
180	MD 18-1	Rr	Dyn+	Rr	Has-	RR	Dyn+	+
181	MD 18-2	Rr						--
182	MD 19-1	RR						--
183	MD 19-2	RR			Has	rr	Has+	+
184	MD 20-1	RR		RR		RR	Has-	X
185	MD 20-2	RR						--
186	MD 21-1	RR	Dyn+					+
187	MD 22-1	rr			Has			+

(Devamı arkada)

EK-8.2'nin devamı.

188	MD 22-3	rr						--
189	MD 23-2			rr	Has+	rr	Dyn-	X
190	MD23-3-2					Rr	Dyn+	+
191	MD 24-1			rr	Has+			+
192	MD 24-2	rr				rr	Has+	+
193	MD 28-2	rr			Has			+
194	MD 29-1	rr			Has			+
195	MD 29-2	rr					Dyn	X
196	SCM 334-2			rr		rr	Dyn*-	X
197	PI 152225	RR	Dyn+	RR	Dyn+	RR	Dyn*	+
198	SD8	rr	Has+	rr	Has+	rr	Has	+
TEST SAYISI		137	44	92	94	104	139	

EK-8.3. Moleküler test –markır yardımcı seleksiyonda kullanılan cihaz ve malzemelere ait görüntüler ile arazi çalışmasından bir görünüm

ÖZGEÇMİŞ

RAMAZAN ÖZALP
ramazanozalp@yahoo.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2009-2019	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri ABD, Antalya
Yüksek Lisans 2005-2008	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri ABD, Antalya
Lisans 1987-1991	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Mühendis 2001-Devam Ediyor	Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Antalya
Şef 1994-2001	T.C. Ziraat Bankası

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1-Polat, I., Celik, I., Celik, N. and **Özalp, R.** 2016. Biological and Molecular Determination for Resistance to Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) in F2 population of Long-Type Pepper (*Capsicum annuum* L.). International Symposium on Biotechnology and Other Omics in Vegetable Science. *Acta Horticulturae* 26(1): 115-120, Doi: 10.17660/ Acta Hortic.2016.1145.18

2-Polat, İ., Baysal, Ö., Gümrükcü, E., Sülü, G., Kitapçı, A., **Özalp, R.**, Çelik, İ., Devran, Z. and Polat, E. 2018. Molecular Diversity and assessment of reactions of pepper pure line germplasm to *Botrytis cinerea*. *Plant Protect Sci.* 54(3):147-152. Doi:10.17221/44/2017-PPS.

3-Çelik, İ., **Özalp, R.**, Çelik, N., Polat, İ. ve Sülü, G. **2018.** Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV)'ne Dayanıklı Sivri Biber Hatlarının Geliştirilmesi. *Derim* (Uluslararası hakemli dergi), 2018/35(1):27-36. Doi:10.16882/derim.2018.325765

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1-Çelik, N., **Özalp, R.**, ve Çelik, İ., **2010.** Bazı Biber Hat ve Çeşitlerinin *Tobacco mosaic tobamovirus* (TMV)'e Dayanıklılığının Mekanik İnokulasyon ve Elisa Testleri ile Belirlenmesi. *Derim* (Hakemli Dergi) 2010, 27 (2):1-9. ISSN:1300-3496.

2- Çelik, N., **Özalp, R.** ve Göçmen, M., **2012.** Antalya İlinde Örtüaltı Biber Yetiştiriciliğinde Patates Y Virüsü (PVY) Patotiplerinin Belirlenmesi ve Bazı Biber Çeşitlerinin PVY'ye Karşı Reaksiyonları. *Bitki Koruma Bülteni* (Hakemli dergi). 52 (3):235-246. ISSN: 0406-3597.

3- Çelik, İ., **Özalp, R.**, Çelik, N., Polat, İ., Sülü, G. and Ünlü, A., **2013.** Patates Y Virüsü (Potato Virus Y = Pvy)'ne Dayanıklı Sivri Biber Hatlarının Geliştirilmesi, *Derim* (Hakemli dergi), Yıl: 2013, Cilt: 30, Sayı: 2 S:42-53. ISSN: 1300-3496.

4- Kaya, A.S., Karagüzel, Ö., Kazaz, S., Aydınşakir, K., Erdal, Ş., **Özalp, R.**, **2016.** BATEM'de Karanfil Çeşit Geliştirme Çalışmaları. *Bahçe*. Cilt:43, Özel sayı, s:883-886.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan bildiriler

1- **Özalp, R.** **2004.** The General Evaluation of the Hybrid Vegetable Seeding in Antalya Province.3. Balkan Sempozyumu, Abstract book. Bursa, 06-10 Eylül 2004, P:16.

2- Polat E. ve **Özalp, R.** **2009.** The Determination of Morphological and Quality Characteristics and Yields of Pure Lines and Their Hybrids in Hybrid Pepper (*Capsicum annuum* L.) Breeding. 19thEucarpia Conference Genetic Resources Section Book of Abstracts. Ljubljana, Slovenia, May 26th – 29th 2009. P:81.

3- Yılmaz, M., **Özalp, R.** and Tepe, A., **2010.** Seed Industry in Turkey. ISTA 2010 Seed Congress & Symposium, Cologne, Germany. 16-22 June 2010. P:37.

4- Polat İ., Celik, İ., Çelik, N., and **Özalp, R.** **2012.** Biological and Molecular Determination for Resistance to Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) in F₂ population of Long-Type Pepper (*Capsicum annuum* L.) . International Symposium on Biotechnology and Other Omics in Vegetable Science. Poster presentation. 30 April 2012. Antalya. On press.

5- **Özalp, R.** and Çelik, İ., **2013.** “Investigation of combining ability and heterotic pattern of pepper (*C. annuum* L.) inbred lines developed for protected cultivation”. Breakthroughs in the genetics and breeding of Capsicum and Eggplant. XV. Meeting on genetics and breeding of Capsicum and Eggplant EUCARPIA. Torino, 2-4 September 2013. Oral presentation. P: 63-69.

6- **Özalp, R.** and Çelik, İ., **2013.** “Determination of seed yield and traits of “Serademre 8” long pepper and “Doru 16” bell pepper (*C. annuum* L.) varieties over years”. Breakthroughs in the genetics and breeding of Capsicum and Eggplant. XV. Meeting on

genetics and breeding of Capsicum and Eggplant EUCARPIA. Torino, 2-4 September 2013. Poster presentation. P: 415-419.

7- Çelik, İ., **Özalp, R.**, Çelik, N., Polat, İ. and Ünlü, A., **2013**. Development of Longer Pepper Lines Resistant to Potato Virus Y (PVY). I. International Plant Breeding Congress. Abstract Book. Oral presentation. 10-14 November 2013, Antalya. P: 500.

8- Ünlü, A., Gözen, V., Kabaş, A., **Özalp, R.**, Boyacı, F., Ünlü, M., Oğuz, A., Çelik, İ., Tepe, A., Zengin, S., Topçu, V., Köksal, Y., Çelik, N., Öten, M., Kurum, R., Keskin, L., Demirtaş, I., Öktüren, F., Polat, İ., Gümrükcü, E., Tokgöz, H., Gölükcü, M. and Tekşam, İ. **2013**. Improvement of F1 Hybrid Vegetable Varieties and Qualified Lines Project in Turkey. I. International Plant Breeding Congress. Abstract Book. Oral presentation. 10-14 November 2013, Antalya. P: 486.

9- Polat, E. and **Özalp, R.**, **2014**. Molecular marker assisted selection for resistance to tomato spotted wilt virus (tswv) in pepper breeding. Poster presentation. European Biotechnology Congress 2014. 15-18 May 2014, Lecce-Italy. Abstracts, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.07.386>, Journal of Biotechnology 185S (2014) S37-S125 P:114.

10- **Özalp, R.** ve Çelik, İ., **2014**. Örtüaltı Yetiştiriciliği İçin Geliştirilen Heterotik Grupları Belirlenmiş Biber Hatlarında Özel Kombinasyon Yetenek Testi ve Morfolojik Karakterizasyon. 5. Uluslararası Katılımlı Türkiye Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı. Sözlü Bildiri. Dicle Üniversitesi. 19-23 Ekim 2014. Diyarbakır. S: 285-290.

11- **Özalp, R.**, Çelik, İ. ve Eren, A., **2014**. Ülkemizde Sebze Tohumculuğunda Yaşanan Gelişmeler (2002-2013). 5. Uluslararası Katılımlı Türkiye Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı. Sözlü Bildiri. Dicle Üniversitesi. 19-23 Ekim 2014. Diyarbakır. S: 261-267.

12- Çelik, İ. ve **Özalp, R.**, **2014**. Türkiye’de Tarla Bitkileri Tohumculuğunun Durumu. 5. Uluslararası Katılımlı Türkiye Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı. Poster Bildiri. Dicle Üniversitesi. 19-23 Ekim 2014. Diyarbakır. S: 409-413.

13- Polat, İ., Gümrükcü, E., Sülü, G., Kitapçı, A., **Özalp, R.**, Çelik, İ., Devran, Z., Polat, E. and Baysal, Ö., **2015**. Molecular Characterization of Fungicides Resistance of *Botrytis Cinerea* on Pepper and Host-Resistance of Selected Breeding Materials. Evolutionary Genomics of Plant Summer Workshop Pathogens. COST European Cooperation in Science and Technology. 26th August-28th August 2015. Kiel-Germany. P:49.

14- **Özalp, R.**, and Çelik, İ., **2015**. Developing of Hybrid Pepper (*C. annuum* L.) Varieties For Protected Cultivation. II. International Plant Breeding Congress. Abstract Book. Poster presentation. 1-5 November 2015, Antalya. P:326.

- 15- Çelik, İ., **Özalp, R.**, 2015. Achieving Long Type Pepper Population Resistant to Tomato Spotted Vilt Virus (TSWV). II. International Plant Breeding Congress. Abstract Book. Poster presentation. 1-5 November 2015, Antalya. P:321.
- 16- Yılmaz, M., **Özalp, R.**, Çelik, İ. and Sülü, S. M. 2015. Efficiency on pepper (*Capsicum annuum* L.) seed quality of different seed production dates, storage and moisture content. XVIII. International Plant Protection Congress, 24-27 August 2015, P: 482.
- 17- **Özalp, R.**, and Çelik, İ., 2017. Developing of Hybrid Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) Varieties and Morphological Characterization for Protected Cultivation. The Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress, Book of Abstracts, Kırgızistan. 20-23 September 2017. Oral presentation, Abstract P:140.
- 18- **Ozalp, R.**, Celik, I., Boyaci, H.F., Kabas, A., Gölükcü, M. and Unlu, A., 2018. Collection, identification and conservation for sustainability of traditional local pepper genotypes. 30th International Horticultural Congress. IHC 2018-Symposium 20, Plant Breeding in Horticulture (2nd International Symposium), 12-16 August 2018.İstanbul. Oral presentation. Abstract. p: 15.
- 19- Boyaci, H.F., Kabas, A., **Özalp, R.**, Golukcu, M. and Unlu, A., 2018. Identification of traditional eggplant heirlooms for conservation and sustainable commercial production. 30th International Horticultural Congress. IHC 2018-Symposium 20, Plant Breeding in Horticulture (2nd International Symposium), 12-16 August 2018.İstanbul. Oral presentation. Abstract. p:14
- 20- Kabaş, A., Boyacı, H.F., **Özalp, R.**, Gölükcü, M. and Unlu, A., 2018. Determination of some morphological and quality traits of Turkish local tomato genotpes. 30th International Horticultural Congress. IHC 2018-Symposium 20, Plant Breeding in Horticulture (2nd International Symposium), 12-16 August 2018.İstanbul. Oral presentation. Abstract. p:22
- 21- Çelik, İ., **Özalp, R.**, Çelik, N., Polat, İ. ve Sülü, G. 2018. Search for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) in pepper (*Capsicum annuum* L.). 30th International Horticultural Congress. IHC 2018-Symposium 20, Plant Breeding in Horticulture (2nd International Symposium), 12-16 August 2018.İstanbul. Oral presentation. Abstract. p:8.
- 22- Gözen, V., **Özalp, R.**, and Çelik, İ., 2018. Evaluation of heterosis on yield and fruit number of hybrid bell pepper (*Capsicum annuum* L.) in unheated greenhouse. 30th International Horticultural Congress. IHC 2018-Symposium 20, Plant Breeding in Horticulture (2nd International Symposium), 12-16 August 2018.İstanbul. Oral presentation. Abstract. p:10.

23- Kaya, A.S., Kazaz, S., Aydınşakir, K., Erdal, Ş., Karagüzel, Ö. and **Özalp, R., 2018.** Morphological and Phenological Characteristics of “Likya Kaya” Carnation. 30th International Horticultural Congress. IHC 2018-Symposium 20, Plant Breeding in Horticulture (2nd International Symposium), 12-16 August 2018.İstanbul. Oral presentation. Abstract. p:16

24- **Özalp, R.,** and Çelik, İ., **2018.** The determination of specific combining performances of capia pepper (*C. annuum* L.) inbred lines and development of hybrid pepper varieties for protected cultivation. 30th International Horticultural Congress. IHC 2018-Symposium 17, III. International Symposium on Innovation and New Technologies in Protected Cultivation, 12-16 August 2018.İstanbul. Poster presentation. Abstract. p:31.

25- Celik, I., Turgut, M., **Özalp, R.,** Sayin, B. and Celikyurt, M.A., **2018.** The effects of grafting and MeBr alternatives on pepper (*Capsicum annuum* L) production in greenhouse. 30th International Horticultural Congress. IHC 2018-Symposium 17, III. International Symposium on Innovation and New Technologies in Protected Cultivation, 12-16 August 2018.İstanbul. Poster presentation. Abstract. p:35.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- **Özalp, R., 2005.** Ülkemizde Sebze Tohumculuğunun Genel Değerlendirmesi. Türkiye II. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı. Çukurova Univ. 09-11 Kasım 2005.Adana, S:15-23.

2- **Özalp, R.,** Çelik, İ. ve Coşkun, A. **2006.** Kamu-Özel Sektör İşbirliğiyle Yerli Hibrit Biber Çeşitlerinin Geliştirilmesine Yönelik Biber Saf Hatlarının Morfolojik Karakterizasyonu ve Özel Sektöre Tanıtımı. VI. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildiri Kitabı. Kahramanmaraş Sütçü İmam Univ. 19-22 Eylül 2006. Kahramanmaraş. S: 373-377.

3-Coşkun, A., Çelik, İ. ve **Özalp, R. 2006.** 2000-2004 Antalya Toptancı Hali'nde İşlem Gören Bazı Sebzelerin Fiyat Değişimleri ve Ekim Alanları Arasındaki İlişkiler. VI. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildiri Kitabı. Kahramanmaraş Sütçü İmam Univ. 19-22 Eylül 2006. Kahramanmaraş. S: 198-202.

4-Coşkun, A., Çelik, İ., Topçu, V., Ertok, R., ve **Özalp, R. 2007.** 2000-2004 Yılları Arasında Antalya Örtüaltı Sebzeciliğinde Girdi ve Ürün Fiyatları Arasındaki Değişimler. 5. Bahçe Bitkileri Kongresi, 04-07 Eylül 2007. Erzurum. S: 170-172.

5- **Özalp, R.,** Boyacı, H.F.,Kabaş, A.,Ünlü, M.,Ertok, R., Tepe, A., Oğuz, A., Zengin, S., Gözen, V., Yılmaz, M., Çelik, İ., Coşkun, A., Coşkun, R., Dündar, M., Topçu, V., Eren, A., Köksal, Y. ve Ekiz, H. **2008.** “Türkiye F1 Hibrit Sebze Çeşitlerinin Geliştirilmesi ve Tohumluk Üretiminde Kamu-Özel Sektör İşbirliği Projesi”

Kapsamında Batem’de Yapılan Islah Çalışmaları”, Türkiye III. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı, 25-28 Haziran 2008. Ürgüp- Kapadokya. S: 94-97.

6- **Özalp, R.**, Çelik, İ.; Tepe, A. ve Eren, A., **2008**. Ülkemizde Sebze Tohumculuğunun Gelişimi, Türkiye III. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı, Ürgüp- Kapadokya. S: 61-66.

7- **Özalp, R.**, **2008**. Türkiye’de Biber Üretimi ve Biber Tohumculuğu’nun Durumu. VII. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildiri Kitabı. 26-29 Ağustos 2008. Yalova. S:250-255.

8- **Özalp, R.**, Çelik, İ. ve Coşkun, A. **2008**. Kamu-Özel Sektör İşbirliği İle Yerli Hibrit Biber Çeşitlerinin Geliştirilmesine Yönelik Islah Çalışmaları. VII. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildiri Kitabı. 26-29 Ağustos 2008. Yalova. S: 31-34.

9- **Özalp, R.**, Çelik, İ. ve Coşkun, A. **2008**. Bazı Aday Hibrit Biber Çeşitlerinin Örtüaltı Yetiştiriciliğinde Performanslarının Belirlenmesi. VII. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildiri Kitabı. 26-29 Ağustos 2008. Yalova. S: 278-282.

10- **Özalp, R.**, Çelik, İ., Coşkun, A. ve Tur, A., **2008**. Kamu-Özel Sektör İşbirliği İle Yerli Hibrit Biber Çeşitlerinin Islahı: “Çakır F1”. VII. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildiri Kitabı. 26-29 Ağustos 2008. Yalova. S: 256-260.

11- Çelik, N., Güneş, S., **Özalp, R.**, ve Çelik, İ. **2009**. Örtüaltı Biber Yetiştiriciliğinde *Tobacco mosaic tobamovirus* (TMV) ve *Potato Y potyvirus* (PVY)’e karşı Dayanımlı Hatların Belirlenmesi. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi. Van Yüzüncüyıl Univ. 15-18 Temmuz 2009. Van. S:254.

12- **Özalp, R.**, Boyacı, H.F.; Kabaş, A.; Ünlü, M.; Ertok, R.; Tepe, A.; Oğuz, A.; Çelik, İ., Gözen, V.; Zengin, S.; Coşkun, A.; Yılmaz, M.; Coşkun, R.; Eren, A.; Dündar, M.; Topçu, V.; Köksal, Y.; Yılmaz, S. ve Ekiz, H. **2010**. Türkiye F1 Hibrit Sebze Çeşitlerinin Geliştirilmesi ve Tohumluk Üretiminde Kamu-Özel Sektör İşbirliği Projesi” Kapsamında BATEM’de Yürütülen Islah Çalışmaları (2004-2009). VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu. Sözlü bildiri. Van Yüzüncüyıl Univ. 23-26 Haziran 2010, Van. S:327-332.

13- Çelik, İ., **Özalp, R.**, Polat, İ. ve Çelik, N. **2010**. Biberde Domates Lekeli Solgunluk Virüs (*Tomato Spotted Wilt Virus-TSWV*) Hastalığı, Yayılışı ve Dayanımlılık Çalışmaları. VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu, Van Yüzüncüyıl Univ. 23-26 Haziran 2010, Van. S:477-484.

14- Çelik, İ., **Özalp, R.**, Çelik, N. Ve Polat, İ. **2010**. Biberde *Patates Y Virusü (PVY)* Hastalığı, Patotipleri ve Dayanımlılık Çalışmaları. VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu, Van Yüzüncüyıl Univ. 23-26 Haziran 2010, Van. S: 470-476.

- 15- **Özalp, R.**, Çelik, İ. ve Coşkun, A. **2011.** Örtüaltı Yetiştiriciliğine Uygun Biber Hibritlerinin Geliştirilmesi ve Performanslarının Belirlenmesi. IV. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı-I. Sözlü Bildiri. Ondokuz Mayıs Ün. Zir. Fak. 14-17 Haziran 2011. Samsun. S:25-30.
- 16- **Özalp, R.**, Çelik, İ., Yılmaz, M. ve Tepe, A. **2011.** Sebze Tohumculuğunda Son Yıllarda Görülen Değişimler. IV. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı-I. Poster bildiri. Ondokuz Mayıs Ün. Zir. Fak. 14-17 Haziran 2011. Samsun. S:190-199.
- 17- **Özalp, R.**, Çelik, İ. ve Coşkun, A. **2011.** Turşuluk Süs Biberi Aday Çeşitlerinin Verim ve Verim Bileşenlerinin İncelenmesi. IV. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı-I. Sözlü Bildiri. Ondokuz Mayıs Ün. Zir. Fak. 14-17 Haziran 2011. Samsun. S:43-48.
- 18- **Özalp, R.** ve Çelik, İ. **2011.** Serademre 8 Sivri Biber ve Doru 16 Dolmalık Biber Çeşitlerinde Yıllara Göre Tohum Verimi ve Tohum Özelliklerinin İncelenmesi. Özet bildiri. IV. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı-I. Ondokuz Mayıs Ün. Zir. Fak. 14-17 Haziran 2011. Samsun. S:200-201.
- 19- Çelik, İ. ve **Özalp, R.**, **2011.** Türkiye’de Tarla Bitkileri Tohumculuğu. Sözlü bildiri. IV. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı-I. Sözlü Bildiri. Ondokuz Mayıs Ün. Zir. Fak. 14-17 Haziran 2011. Samsun. S: 9-16.
- 20- **Özalp, R.** ve Çelik, İ., **2012.** Örtüaltı Yetiştiriciliği İçin Geliştirilen Biber Hatlarının Verim ve Heterosis Özelliklerinin İncelenmesi, 9. Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu, Selçuk Üniversitesi. 12-14 Eylül 2012, Sözlü Bildiri, Konya. S: 156-165.
- 21- **Özalp, R.** ve Çelik, İ., **2012.** Örtüaltı Yetiştiriciliğine Uygun Sivri Biber Hibritlerinin Geliştirilmesi ve Performanslarının Belirlenmesi, 9. Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu, Selçuk Üniversitesi. 12-14 Eylül 2012, Sözlü Bildiri, Konya. S: 27-34.
- 22- Polat, İ., Çelik, İ., Çelik, N., **Özalp, R.** and Sülü, G. **2014.** Sivri Biberde Patates Y Virüsü (*Potato Y Potyvirus*= PVY)’ne Dayanıklı Hatların Geliştirilmesinde Moleküler Markör ve Mekanik İnokulasyonun Kullanımı. V.Bitki Koruma Kongresi, Özet, Poster Bildiri, 3-5 Şubat 2014, Antalya. S: 277.
- 23- **Özalp, R.** ve Çelik, İ., **2014.** Örtüaltı Yetiştiriciliği İçin Geliştirilen Biber Hatlarının Genel Kombinasyon Yeteneği ve Heterotik Gruplarının Belirlenmesi. Sözlü Bildiri. 10. Sebze Tarımı Sempozyumu. Namık Kemal Ün. 2-4 Eylül 2014. Tekirdağ. ISBN:978-605-4265-33-6. S:60-67.
- 24- Gözen, V., **Özalp, R.**, ve Çelik, İ., **2014.** Isıtmasız Seralarda Yetiştirilmeye Uygun Dolma Biberde (*Capsicum annuum* L.) Hibrit Güçlerinin Belirlenmesi. Poster Bildiri. 10. Sebze Tarımı Sempozyumu. Namık Kemal Ün. 2-4 Eylül 2014. Tekirdağ. ISBN:978-605-4265-33-6. S:413-419.

25- Yanmaz, R., Duman, İ., Yaralı, F., Demir, K., Sarıkamış, G., Sarı, N., Balkaya, A., Kaymak, H.Ç., Akan, S. ve **Özalp, R., 2015.** Sebze Üretiminde Değişimler ve Yeni Arayışlar. VIII. ZMO Teknik Kongresi, 12-16 Ocak 2015, Ankara. S:579-604.

26- **Özalp, R.** ve Çelik, İ., **2015.** Örtüaltı Yetiştiriciliğine Uygun Hibrit Biber (*Capsicum annuum* L.) Islahında Çeşit Adaylarının Belirlenmesi. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Sözlü bildiri. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat fakültesi. 25-29 Ağustos 2015. Çanakkale. Abstract. S: 35.

27- Özkan, C.F., **Özalp, R.**, Çelik, İ. ve Demirtaş, E.I., **2015.** Biberde (*Capsicum annuum* L.) Farklı Meyve Tipindeki Islah Hatlarının Bitki Besin Elementleri Alımındaki Farklılıkların Belirlenmesi. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Sözlü bildiri. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat fakültesi. 25-29 Ağustos 2015. Çanakkale. Abstract. S: 43.

28- Kaya, A.Ş., Karagüzel, Ö., Kazaz, S., Aydınşakir, K., **Özalp, R.**, Erdal, Ş. ve Kolak, B., **2015.** BATEM’de Karanfil Çeşit Geliştirme Çalışmaları. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Sözlü bildiri. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat fakültesi. 25-29 Ağustos 2015. Çanakkale. Abstract. S: 37.

29- Polat, İ., Gümrükcü, E., Sülü, G., Kitapçı, A., **Özalp, R.**, Çelik, İ., Devran, Z., Polat, E. ve Baysal, Ö., **2015.** Örtüaltı Biber Yetiştiriciliğinde Görülen Kurşuni Küf Hastalığına Neden Olan *Botrytis cinerea* İzolatlarının Klasik ve Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Sözlü bildiri. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat fakültesi. 25-29 Ağustos 2015. Çanakkale. Abstract. S: 190.

30- **Özalp, R.** ve Çelik, İ. **2016.** Örtüaltı Yetiştiriciliğine Uygun Hibrit Biber (*Capsicum annuum* L.) Islahında Hat ve Çeşitlerin Geliştirilmesi. 11. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildiri Özetleri. Sözlü bildiri. Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, 11-13 Ekim 2016. Ordu. S: 28.

Diğer Yayınlar

1- **Özalp, R.**, Çelik, İ. ve Coşkun, A. **2006.** Örtüaltı Biber Yetiştiriciliği. Tarımın Sesi, Mart 2006. Sayı: 9. S:18-21.

2- **Özalp, R.** ve Aktaş A., **2008.** Türkiye ve Antalya’da Sebzeçiliğin Genel Durumu, Tarımın Sesi, Mart 2008. Sayı: 17. S: 15-18.

3- **Özalp, R.**, **2008.** Hibrit Biber Islahında Saf Hatların ve Hibritlerinin Morfolojik Karakterizasyonu ile Verim ve Kalite Özelliklerinin İncelenmesi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Antalya. 92 s.

4- **Özalp, R.**, **2008.** Ülkemizde Biber Üretimi, Tohumluk Durumu ve Çeşit Geliştirme Çalışmaları, Meyve Sebze Dünyası, Temmuz 2008, Yıl:1 Sayı:8, S:56-57.

- 5- **Özalp, R., 2009.** Biber Üretim Durumu, İhracatı ve Yeni Çeşit Geliştirme Çalışmaları. Tüsemkom Dergisi, Mayıs-Haziran 2009, sayı:14. Ankara. S:36-38.
- 6- Sayal B., Ekiz, H. ve **Özalp, R., 2009.** Sebze Tohum Islahı Araştırmalarındaki Gelişmeler. Türktarım, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Dergisi, Temmuz-Ağustos 2009 sayı: 188, Ankara, S: 52-53.
- 7- **Özalp, R., 2010.** Ülkemizde Biber Üretimi ve Örtüaltı Biber Yetiştiriciliği. Tarım Türk Dergisi, Temmuz-Ağustos 2010, Sayı:24, Yıl:5, S: 29-32.
- 8- **Özalp, R., 2014.** Yaş Sebze Üretimi ve İhracatı ile İhracata Yönelik Biber Tipleri. Tarım Türk Dergisi, Mart-Nisan 2014, Sayı: 46, S:105-110.
- 9- **Özalp, R., 2014.** Örtüaltı Tarımda Antalya. SEMA Şile Ekosistem Yönetim ve Yerel Kalkınma Merkezi Projesi, Sema Projesi Raporları Dizisi No:4, Çalıştay Raporları, 06-07 Ocak 2014, Şile İstanbul, Sözlü Bildiri, Tarım Çalıştay Sonuç Raporu, S: 377-384.
- 10- Çelik, İ. ve **Özalp, R., 2015.** Dünyada ve Türkiye’de Sebze Tarımı. Agromedya Dergisi. Mayıs-Haziran 2015. Yıl 3. Sayı 16. S:72-78. ISSN:2147-6551.
- 11- **Özalp, R., 2015.** İhracata Yönelik Biber Tipleri. Tarım Türk Dergisi, Temmuz-Ağustos 2015, Sayı: 54, S:74-75.
- 12- Çelik, İ. ve **Özalp, R., 2016.** Türkiye’de Sebze Tohumculuğu ve Fidecilik. Agromedya Dergisi. Derleme. Eylül-Ekim, Yıl 4. Sayı 25. S: 24-30.
- 13- Çelik ve **Özalp, R., 2016.** Türkiye’de Tohumculuğun Son On Yılı. Agromedya Dergisi. Derleme. Kasım-Aralık, Yıl 4. Sayı 25. S: 22-27.

Kitaplar

- 1- Coşkun, A., Kılıç, T., Ünlü, A., **Özalp, R., vd., 2009.** Örtüaltı Sebze Yetiştiriciliği (kitap), Örtüaltı Biber Yetiştiriciliği Bölümü. YAYÇEP, 2009, TKB, TEDGEM. Yayın No:53 Baskı:1, 296 s. S:28-50.
- 2- **Özalp, R., 2010.** Hobi Domates- Biber Yetiştiriciliği. Hobi Biber Yetiştiriciliği Bölümü (Kitap). Hobi Yetiştiriciliği Serisi T.C. TKB. Yayın Dairesi Başkanlığı. Ankara 2010. 69 s. S:38-59.
- 3- Melan, K., Kedici, R. Caner, Ö.K., Duman, İ., Arı, N., Kabaş, A., Çelik, İ., **Özalp, R., Gözen, V., Merken, Ö., Boyacı, H.F., Canıhoş, E., Yücel, S. ve Tetik, Ö., 2014.** Domates, Biber, Hıyar, Patlıcan Yetiştiriciliği ve Entegre Mücadele. Açık Alanda ve Örtüaltında Biber Yetiştiriciliği Bölümü. FAO, TCP/TUR/3301 proje. Uzerler Matbaacılık San. Ltd. Şti. Ankara. 287 s. S:97-123.