

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



BİBER'DE (*Capsicum annuum*) TÜTÜN MOZAİK VİRÜSÜ (TMV -TOBACCO MOSAIC VİRÜS) VE DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (TSWV - TOMATO SPOTTED WILT VIRUS)'NE KARŞI MOLEKÜLER MARKIR YARDIMLI (MAS) SELEKSİYON İLE DAYANIKLI HATLARIN GELİŞTİRİLMESİ

Canseri BOZKUŞ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



BİBER'DE (*Capsicum annuum*) TÜTÜN MOZAİK VİRÜSÜ (TMV -TOBACCO MOSAIC VİRÜS) VE DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (TSWV - TOMATO SPOTTED WILT VIRUS)'NE KARŞI MOLEKÜLER MARKIR YARDIMLI (MAS) SELEKSİYON İLE DAYANIKLI HATLARIN GELİŞTİRİLMESİ

Canseri BOZKUŞ

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

HAZİRAN 2018

ANTALYA

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

**BİBER'DE (*Capsicum annuum*) TÜTÜN MOZAİK VİRÜSÜ (TMV -TOBACCO
MOSAIC VİRÜS) VE DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (TSWV -
TOMATO SPOTTED WILT VIRUS)'NE KARŞI MOLEKÜLER MARKIR
YARDIMLI (MAS) SELEKSİYON İLE DAYANIKLI HATLARIN
GELİŞTİRİLMESİ**

**Canseri BOZKUŞ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Bu tez Tübitak tarafından 1505 projesi 513O039 nolu proje ile desteklenmiştir.

HAZİRAN 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBER'DE (*Capsicum annuum*) TÜTÜN MOZAİK VİRÜSÜ (TMV -TOBACCO
MOSAIC VİRÜS) VE DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (TSWV -
TOMATO SPOTTED WILT VIRUS)'NE KARŞI MOLEKÜLER MARKIR
YARDIMLI (MAS) SELEKSİYON İLE DAYANIKLI HATLARIN
GELİŞTİRİLMESİ**

Canseri BOZKUŞ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 20/06/2018 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nedim MUTLU
Dr. Öğ. Ü. Cengiz İKTEN
Dr. Öğ. Ü. Hasan PINAR

ÖZET

BİBER'DE (*Capsicum annuum*) TÜTÜN MOZAİK VİRÜSÜ (TMV -TOBACCO MOSAIC VİRÜS) VE DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (TSWV - TOMATO SPOTTED WILT VIRUS)'NE KARŞI MOLEKÜLER MARKIR YARDIMLI (MAS) SELEKSİYON İLE DAYANIKLI HATLARIN GELİŞTİRİLMESİ

Canseri BOZKUŞ

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nedim MUTLU

Haziran 2018; 45 sayfa

Biberin tüketim alışkanlığında önemli bir yerinin olması ve Dünya yaş sebze ticaretinde önemli bir yer alması sebebiyle yoğun ıslah çalışmalarına konu olan türler arasındadır. Fakat her sebze türünde olduğu gibi hastalık/zararlı baskısı dayanıklı genetik materyal geliştirme, dolayısıyla dayanıklı hibrit geliştirme, çalışmalarına ivme kazandırmıştır. Mekanik / klasik testlemenin zorlukları nedeniyle de ilgili patojenlere karşı dayanım sağlayan gen(ler)e bağlı moleküler markır kullanımı hızla yaygınlaşmıştır. Hastalık ve zararlılar arasından biber için ilk sırada TMV(Tobacco mosaic virüs) ve TSWV(Tomato Spotted Wilt Virus) gelmektedir. Bu nedenle çalışmada TMV ve TSWV dayanıklılık genleri bakımından açılım gösteren biber popülasyonlarında (F2 ve F3) dayanıklı bitkilerin ilgili moleküler markırlar yoluyla tesbiti ve çoklu dayanımlı hatların geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada markır destekli seleksiyon (MAS) yöntemi kullanılmış, 12 adet ticari çeşit(F1 hibrit) 2012 guz sezonunda dikilmiş, kendilenmiş ve F2 tohumları alınmıştır. Açılım gösteren F2 generasyonunda seçilen bitkilerde TMV dayanımı için L3 ve L4 alleleri, ve TSWV dayanımı için de Tsw genlerinin varlığı tespit edilmiştir. F2 generasyonunda seçilen bitkilerin F3 projenilerinde seçilen bitkilerde bu dayanımlar ilgili moleküler markırlar ile takip edilmiştir. Çalışmada TSWV dayanımı için kodominant CAPS markırı SCAC568 kullanılmış, TMV dayanımında; L3 alleli için 189D23M, L4 allelinin amplifikasyonu içinde 060I2END dominant markerları kullanılmıştır. L3 ve L4 dayanımları dominant markırla takip edildiği için F2 popülasyonunda beklenen segregasyon 3:1, Tsw dayanımı ise kodominant markırla takip edildiği için segregasyon 1:2:1 olmuştur. İlgili markır lokuslarının F2 açılımları için kikare(χ^2) analizleri yapılmıştır. Kodominant markır beklenen 1:2:1 açılımı göstermiş olmasına rağmen L3 ve L4 lokuslarını temsil eden dominant markırlar beklenen 3:1 açılımından önemli derecede sapma göstermiştir. MAS kullanımının biber ıslahı için önemi ve sonuçları tartışılmıştır.

ANAHTAR KELİMELE: Biber, dayanıklılık, L3, L4, virüs

JÜRİ: Prof. Dr. Nedim MUTLU

Dr. Öğ. Ü. Cengiz İKTEN

Dr. Öğ. Ü. Hasan PINAR

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF PEPPER (*Capsicum annuum*) LINES FOR RESISTANCE AGAINST TOMATO MOSAIC VIRUS (TMV) AND TOMATO SPOTTED WILT VIRUS (TSWV) VIA MOLECULAR MARKER ASSISTED SELECTION (MAS)

Canseri BOZKUŞ

MSc Thesis in Agricultural Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Nedim MUTLU

June 2018; 45 pages

Pepper have an important place in consumption habits and taking in a big place in world's vegetable exports. As a result when seed companies decided to start breeding activities pepper is among the preferred species. Disease pressure has accelerated the development of resistant material/line and resistant hybrids, because of the difficulties of mechanical testing, the use of molecular markers in plant breeding has accelerated in the last decade.

In this study, the marker assisted selection (MAS) method was used. In 2012 autumn season 12 commercial hybrid variety planted, selfed and obtained F₂ seeds . The presence of L3, L4 alleles for TMV resistance, and Tsw gene for TSWV resistance were detected using the molecular markers linked to the gene of interests in the selected F₂ plant, and among the F₃ progenies of the selected plants. The markers were co-dominant CAPS marker SCAC568 for TSWV resistance, and dominant markers 189D23M for the L3 allele and 060I2END for the L4 allele. Two dominant markers linked to L3 and L4 alleles were dominant with an expected segregation ratio of 3: 1 , and a co-dominant marker linked to Tsw resistance with an expected segregation ratio of 1:2:1 in F₂ population. Ksquare (X^2) analysis was performed to test segregation distortion in the F₂ population for both dominant and co-dominant marker results. The codominant marker linked to the Tsw gene segregated 1:2:1 as expected. However, dominant markers linked to L3 and L4 alleles showed significant distortions. Ramification of MAS in pepper breeding is discussed.

KEYWORDS: L3, L4, Pepper, resistance, Tsw, virus

COMMITTEE: Prof. Dr. Nedim MUTLU

Asst. Prof. Dr. Cengiz İKTEN

Asst. Prof. Dr. Hasan PINAR

ÖNSÖZ

Solanaceae familyası 102 genus ve 2500 tür ile ve çok sayıda zirai açıdan önemli yiyecek ve ilaç olarak kullanılan bitkilere sahiptir.

Bu konu; ıslah konusunda yapmış olduğum çalışmalarla ilgili olması ve bunları geliştirici nitelikte olması nedeniyle Danışman'ım Sn. Prof. Dr. Nedim MUTLU'nun önerisiyle seçilmiştir.

Islah ürün yelpazesinin gelişmesi ve tüketici isteklerinin artması nedeniyle gün geçtikçe önemi artan ve artmaya devam edecek olan bir çalışma alanıdır. Fakat klasik ıslah çalışmaları moleküler markır çalışmalarıyla desteklenmek zorundadır. Markır destekli seleksiyon; hastalık baskısının artmasıyla dayanıklı çeşit geliştirmenin elzem olması nedeniyle generasyon ilerletme için kullanılan en önemli yöntemdir. Arazi çalışmalarını sürdürdüğüm zamanlarda hastalık baskısının yüksek olması ve thrips mücadelesinin güç olması nedeniyle yaşadığımız materyal kayıpları moleküler markır destekli seleksiyonun önemini tecrübe ederek de anlamamıza neden olmuştur.

Tezi hazırlama ve bu alanda kendimi geliştirme konusunda benden bilgi ve manevi desteğini asla esirgemeyen Hocam Sn. Prof. Dr. Nedim Mutluya, yüksek lisans eğitimim sırasında bana anlayış gösteren yoğun çalışma temposunda beni destekleyen aileme teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
AKADEMİK BEYAN	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	7
2.1. Tütün Mozaik Virüsü ve Domates Mozaik Virüsü (TMV, ToMV)	7
2.2. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus).....	8
2.3. Tobacco Mozaik Virüsü ve Domates Mozaik Virüsü İle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	9
2.4. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus) İle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	11
3. MATERYAL VE METOD	13
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	17
5. SONUÇLAR	22
6. KAYNAKLAR	25
7. EKLER.....	27
7.1.F2 dayanıklılık dağılım durumu.....	27
7.2. F2 dayanıklılık dağılım durumu.....	28
7.3. F2 dayanıklılık dağılım durumu	29
7.4. F2 dayanıklılık dağılım durumu	30
7.5. F2 dayanıklılık dağılım durumu	31
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Biber'de (*Capsicum anuum*) Tütün mozaik virüsü (TMV -Tobacco Mosaic Virus) ve Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV -Tomato Spotted Wilt Virus)'ne Karşı Moleküler Markır yardımcı (MAS) seleksiyon ile dayanıklı hatların 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.

01/06/2018

Canseri BOZKUŞ

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

nm :Nanometre

μl :Mikrolitre

Kisaltmalar

BAC :Bakteriyel yapay kromozom

DH :Dihaploid

RAPD :Random amplified polymorphic DNA

SCAR :Sequence-characterized amplified region

CAPS :Cleaved amplified polymorfik sequence

TSWV :Tomato Spotted Wilt Virüs

TMV :Tomato Mosaic Virus

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Meyve şekillerine göre biber tipleri;	2
Şekil 1.2. 2000-2010 yılları arasındaki dünya sebze ve meyve üretimi.....	3
Şekil 1.3. 2000-2010 yılları arasında meyve ve sebze ihracat değeri.....	4
Şekil 2.1. TMV semptomları; a) yaprak; b) meyve.....	7
Şekil 2.2. TSWV semptomları; a) bitki; b) meyve.....	9
Şekil 2.3. TSWV virüsünün moleküler teşhisinde kullanılan primer	12
Şekil 5.1. F2 populasyonunda gözlenen L3 bandları.....	22
Şekil 5.2. F2 populasyonunda gözlenen L4 bandları.....	23
Şekil 5.3. F2 populasyanında TaqI enzimi ile kesildikten sonra gözlenen TSW bandları.....	23
Şekil 5.4. F2 populasyanında XbaI enzimi ile kesildikten sonra gözlenen TSW bandları.....	23

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya biber ihracatında Türkiye'nin sıralamadaki yeri.....	4
Çizelge 3.1. Çalışmaya konu olan F2 ve F3 popülasyonlarının elde edildiği Hibrit biber çeşitleri ve bunların Tsw, L3 ve L4 markır analizlerine göre TSWV ve TMV dayanım durumları.....	13
Çizelge 3.2. SCAC568 markırı primerleri	14
Çizelge 3.3. SCAC568 analizde kullanılan PCR mix bileşenleri	14
Çizelge 3.4. PCR cihazında amplifikasyon sıcaklık ve süreleri	15
Çizelge 3.5. 189D23M (NB) BAC-end SCAR markırı primerleri	15
Çizelge 3.6. 189D23M (YB) BAC-end SCAR markırı primerleri	15
Çizelge 3.7. 189D23M analizinde kullanılan PCR mix bileşenleri	16
Çizelge 3.8. PCR cihazında amplifikasyon sıcaklık ve süreleri	16
Çizelge 3.9. 060I2END-2 markırı primerleri	17
Çizelge 3.10. 060I2END-2 analizinde kullanılan PCR mix bileşenleri	17
Çizelge 3.11. PCR cihazında amplifikasyon sıcaklık ve süreleri	17
Çizelge 4.1. Hibrit biber çeşitleri, F2 populasyonlarına ait bitkilerde Tsw, L3, ve L4 markır analizlerine göre dayanıklı ve hassas bitki sayıları, morfolojik karakterizasyon ve moleküler markır sonuçlarına göre seçilen F2 bitki sayıları	18
Çizelge 4.2. Hibrit biber çeşitleri, F3 populasyonlarına ait bireylerde TSW, L3, L4 markır analizlerine göre dayanıklı ve hassas bitki sayıları, morfolojik karakterizasyon ve moleküler markır sonuçlarına göre seçilen F3 bitki sayıları.....	18
Çizelge 4.3. L3 için F2 generasyonunda dağılım tablosu.....	20
Çizelge 4.4. L4 için F2 generasyonunda dağılım tablosu.....	20
Çizelge 4.5. Tsw için F2 generasyonunda dağılım tablosu.....	20

1. GİRİŞ

Biber; domates ve patlıcan gibi Solanaceae (Patlıcangiller) familyasından ve *Capsicum* cinsi içindedir. En çok tüketimi yapılan tür *Capsicum annuum* L.'dur. Sıcak iklim sebzesidir. Tropik iklimlerde çok yıllık bir bitkidir.

Biberin anavatanı Şili, Peru, Meksika, Orta Amerika kabul edilmektedir. Güney Amerika, özellikle Brezilya, çeşitli biber tür ve formların orijin merkezidir.

Biber, protein, karbonhidrat, yağ ve vitaminler yönünden zengin ve beslenme değeri açısından çok önemli bir sebzedir. C vitamini miktarı bakımından bilinenden daha değerlidir. Her 100 gr biberde 160 mg vitamin C vardır. Değişik mineraller içermesinin yanı sıra, acı ve yakıcı tadı veren kapsaisin alkaloidinin önemli bir antioksidan olduğu bilinmektedir.

Meyve renkleri, şekilleri baz alınarak farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Çok farklı tipleri bulunmaktadır; sivri biber, dolmalık biber, macar biberi, kiraz biberi, süs biberleri, konik biberler, Kaliforniya vunder, anço tip, serrano tip ve domates biberi bunlara örnek verilebilir (Şekil 1.1).

Tat durumuna göre; tatlı ve acı biber, taç yaprak rengine göre; beyaz ve mor yapraklı olarak sınıflandırılırlar. Meyvesi yenen sebzeler grubundandır. Çiçek biyolojisine göre kendine döllen ve az oranda yabancı tozlanma görülen bir türdür.

Meyve eti rengi ve meyve eti kalınlığı her tip için farklı istenmektedir. Meyve tazeyken meyve eti rengi; beyaz, sarı, yeşil ve yeşilin değişik tonları, mor olarak gözlemlenmekte, meyve olgunlaşmaya başladığında ise kırmızı, sarı ve turuncu gözlemlenebilmektedir. Meyve et kalınlığı 1mm ile 6 mm arasında değişmektedir. 1 gramda tohum sayısı 100-200 adet arasında, bin tane ağırlığı ise yaklaşık olarak 5 gram ile 8 gram arasında değişmektedir. Tohumlar uygun koşullarda saklandığı takdirde canlılıklarını 3-5 yıl koruyabilirler.



Şekil 1.1. Meyve şekillerine göre biber tipleri; **a)** Jalepeno; **b)** Macar; **c)** Dolma; **d)** Çarliston **e)** Şili; **f)** Serrano **g)** Anço

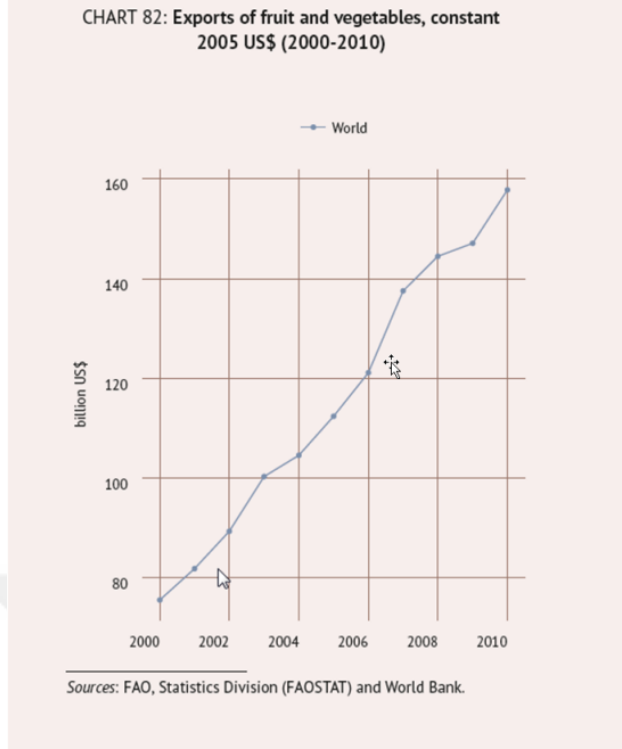
Global meyve ve sebze üretimi kaydedeğer artış göstermektedir (Şekil 1.2). Üretim geçen 10 yılın ortalamasını %3 geçmiştir. Dünya genelinde 2011 de yaklaşık 640 milyon ton meyve ve 1 milyar tondan fazla sebze elde edilmiştir (FAOSTAT 2013).



Şekil 1.2. 2000-2010 yılları arasındaki dünya sebze ve meyve üretimi (FAOSTAT 2013)

Tarım ticaretinde birçok tüketilen ürünün yerel olarak yetiştirildiği bir eğilim vardır. Lokal olarak üretimin talebi karşılamadığı zaman küresel ticaret açığı kapatmada etkili olmaktadır.

Küresel yaş sebze ihracatında ikinci sırada 4,3 milyar dolarlık ihracat hacmiyle biber gelmektedir (Şekil 1.3). Hollanda 1,1 milyar dolarlık biber ihracatı ile dünya lideri konumunda bulunmakta olup, küresel biber ihracatından %26.9 pay almaktadır. Bu ülkeyi İspanya (802 milyon dolar, %18.8 pay) ve Meksika (785 milyon dolar, %18.5 pay) izlemektedir. Türkiye 2012 yılında gerçekleştirdiği 75 milyon dolarlık biber ihracatıyla 9'uncu sırada yer almıştır (Çizelge 1.2) (FAOSTAT 2013).



Şekil 1.3. 2000-2010 yılları arasındaki meyve ve sebze ihracat değeri

Çizelge 1.1. Dünya biber ihracatında Türkiye'nin sıralamadaki yeri

Dünya Sıralaması	Ülke	İhracat	Küresel biber ihracatından aldığı pay
1	Hollanda	1,1 milyar	%26,9
2	İspanya	802 milyon dolar	%18,8
3	Meksika	785 milyon dolar	%18,5
9	Türkiye	75 milyon dolarlık	%1,32

Biber yetiştiriciliğinde ana sınırlayıcı faktörlerden bazıları; virüs, bakteri, nematod ve mantar vb. gibi biyotik etmenlerin sebep olduğu verim kayıplarıdır. Bunlar sırayla;

- Virüs hastalıkları; tütün mozaik virüsü (TMV -Tobacco Mosaic Virus), ToMV (Tomato mosaic virus), PMMoV (Pepper mild mottle virus), domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV -Tomato Spotted Wilt Virus), CMV (Cucumber Mosaic Virus), PVY (Potato virus Y) dir.

-Nematod (*Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne arenaria*)

-Bakteriyel leke (*Xanthomonas vesicatoria*), kanser ve solgunluk (*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*)

-Fungal hastalıklar; kurşuni küf (*Botrytis cinerea*), külleme (*Leveillula taurica*) kök boğazı yanıklığı (*Phytophthora capsici*)

-Böcekler; akar, trips (*Thrips tabaci*, *Frankliniella occidentalis*), beyaz sinek (*Bemisia tabaci*), afit (*Aphis gossypii*), kırmızı örümcek (*Tetranychus* sp)

-Abiyotik problemler; Ca eksikliğinden kaynaklanan BER (Blossom end root)

Ülkemizde ve dünyada virüs hastalıkları ile kimyasal mücadelenin olmaması, ürünlerde nitel ve nicel kayıplara neden olması üreticilerin dayanıklı çeşit kullanmalarını gerektirmektedir. Dayanıklı çeşitlerin tesbiti için; saksılara veya patoloji serasına dikilen biber fideleri 2-4 yapraklı döneme gelince hazırlanan virüs inokulumu bitkilerin yapraklarına mekanik inokulasyon yöntemine göre inokule edilebilmekte daha sonra bitkiler haftalık olarak gözlenmekte ve oluşan belirtiler kaydedilmektedir. İnokulasyondan 4-6 hafta sonra gözlem sonuçları semptomatolojik olarak ve laboratuvarında ELISA testi ile değerlendirilmekte, çalışmalar sonucunda hat ve çeşitler dayanıklı olarak belirlenebilmektedir. Kontrol bitki olarak dayanıklı-hassas olarak bilinen çeşitler kullanılmaktadır. Bu yöntemi çok fazla sayıda hat (hat X bitkisi sayısı= çok sayıda fide), çok fazla sayıda ıslah programında uygulamak zaman alıcı bir yöntemdir ve fidenin uygun dönemde testlenmesi mümkün olmayabilmektedir. Bu yüzden daha etkili ve hızlı sonuçların alınmasına yönelik olarak geliştirilen biyoteknolojik yöntemin yani Moleküler markırların kullanılması elzem ve zorunlu hale gelmiştir (Çelik 2010). TSWV mekanik olarak inoküle edildiğinde mutasyon yoluyla değişim gösterebilmektedir (Moury vd. 1997). Bu durumda homojen ve güvenilir bir testleme yapmak her zaman mümkün değildir. Laboratuvar çalışmalarında bu tür inokülasyonlarda kullanılan TSWV izolatlarından bazılarının dayanıklılığın üstesinden geldiği durumlar gözlenmiştir (Moury vd. 1997). Böyle bir durum dayanıklılık testlemesi sonuçlarının yorumlamasını zorlaştıracaktır. Son olarak, dayanıklılık testlemesi yapılacak bitki ve çevre şartları sonuçları etkileyebilir. Birçok hassas genotip olgun bitki döneminde yapılan testlemelerde dayanıklı gibi reaksiyon gösterebileceği için testleme yapılacak biber bitkilerinin çok yaşlı olmaması gerekmektedir (Moury 1997). Ayrıca, testleme süresince yüksek sıcaklık Tsw geninin sağladığı dayanıklılığın stabilitesini bozabilmektedir (Moury vd. 1998).

Hastalık ve zararlıların yayılmasının kontrolünde kimyasal uygulamalar, kültürel uygulamalar (budama, sulama, gübreleme, vb.) ve dayanıklı çeşit kullanımı ön plana çıkmaktadır. Girdi maliyetlerini arttıran ve kalıntı problemleri oluşturan kimyasal mücadele bazı hastalık ve zararlıların yayılmasını bir miktar önlemesine rağmen virüs hastalıklarına karşı etkili değildir. Ayrıca, kültürel uygulamalarda hastalık ve zararlı kontrolünde her zaman ekonomik koruma sağlamayabilmektedir. En etkin mücadele yöntemi olarak dayanıklı çeşit kullanımı karşımıza çıkmaktadır.

Birden fazla hastalık ve zararlının bulunması biber domates gibi yoğun olarak tarımı yapılan türlerde verim ve kalite yönünden büyük kayıplara yol açabilmektedir. Birçok bitki tür ve çeşidinde bir veya daha fazla zararlı ve hastalığa karşı dayanıklılık vardır. Sebze üretiminde kullanılan hibrit çeşitler bu yüzden çoklu dayanıklılığa sahip olmalıdır. Virüslerde ve diğer hastalıklarda birden çok tür ve ırk/patotip olması, hastalık etmen sayısının fazla olması mekanik izolasyonun uygulanabilirliğindeki zorluklar nedeniyle biber için uygun çözüm olamamaktadır.

Markır destekli seleksiyon, klasik bitki ıslahında karşılaşılan bu sorunlara alternatif olarak geliştirilen bir yaklaşımdır. Bu teknik yabancı gen kaynaklarından gen transferleri, resesif allellerin yönlendirilmesi ve seleksiyonu, erken seleksiyon gibi kullanımının yanı sıra; gen izolasyonu ve klonlanmasında da kullanılabilir. Bu teknik oldukça hızlı, etkin, doğru ve ekonomik olduğu için klasik ıslaha yardımcı bir seleksiyon tekniğidir.

Örtüaltı biber (*Capsicum annuum* L.) yetiştiriciliğinde önemli verim kayıpları ve kalite bozulmalarına neden olan virüs hastalıklarının başında domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) ve tütün mozaik virüsü (TMV) gelmektedir.

Verim ve kalitedeki kayıpları önlemek amacıyla TMV ve TSWV dayanıklılık genleri bakımından açılım gösteren biber populasyonlarında (F2 ve F3) dayanıklı bitkilerin ilgili moleküler markırlar yoluyla tesbit edilmiş ve çoklu dayanımlı hatların geliştirilmesine başlanmıştır.

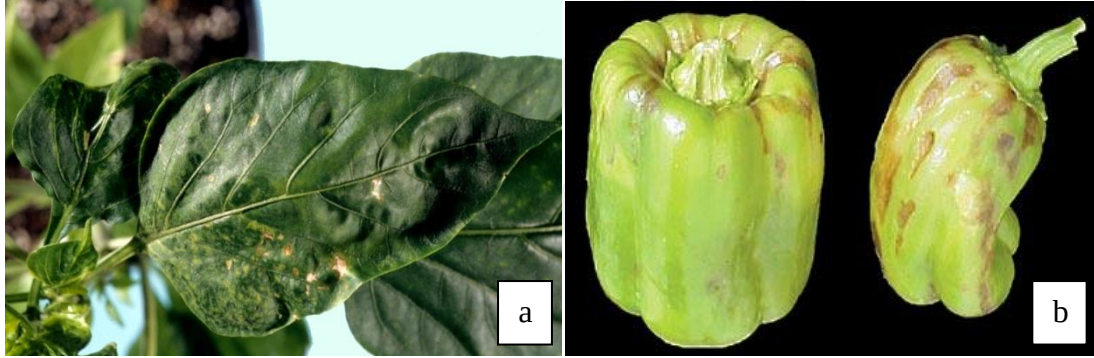
12 adet ticari çeşit (F1 hibrit) 2012 güz sezonunda dikilmiş, kendilenmiş ve F2 tohumları alınmıştır. 2013 bahar sezonunda her hibritten elde edilen F2 populasyonundan yaklaşık 100 adet bitki dikilmiştir. Bu bitkiler markır yardımcı seleksiyona tabi tutulmuş, selekte edilen bitkiler kendilenerek F3 kademesine ulaşmış ve tekrar fideleri yetiştirilerek markır yardımcı seleksiyon yapılmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Tütün Mozaik Virüsü ve Domates Mozaik Virüsü (TMV, ToMV)

Mekanik olarak taşınan virüslerdir. TMV ve ToMV birbirleriyle yakından ilgilidir. TMV oldukça yağın bir konukçuya sahiptir. Her iki hastalıkta biber domates, patates ve yabancı otları da içeren diğer konukçuları da enfekte eder.

Bitki bütün gelişme aşamalarında etkilenebilir. Semptomlar bitkinin herhangi bir yerinde nekroz olarak ya da meyve, yaprak ve gövdede mozaik şeklinde olabilir. Genellikle enfekte olmuş bitkiler klorotik mozaiklerle birlikte genç yapraklarda şekil bozuklukları olur ve normal büyüklüğüne ulaşamaz. Şiddetli enfekte olmuş yapraklar solma ve dökülmenin yanısıra şeklini bozar veya ana damarlarda nekrozlar görülür. Enfekte olan meyveler küçüktür ve nekroz klorozlu bölgelerle şekli bozulur. Genel olarak semptomlar artar ve vejetatif aksamında açık ve koyu renkli benekler görülür (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. TMV semptomları; **a)** yaprak; **b)** meyve

Hastalık Gelişmesi için Uygun Koşullar:

Her iki virüsde tohum kaynaklıdır. Hastalığın yayılması için çok az fidenin enfekte olmuş olması yeterlidir. Bu hızlı yayılma çalışanların kontamine olmuş elleri, kıyafetler, şaşırtma, ipe alma, budama, aşı gibi rutin işlemler virüsün mekanik taşınması nedeniyle gerçekleşmektedir.

Diğer virüs kaynakları enfekte olmuş yabancı otlar ve sulama suyudur. İkincil yayılması ise böcekler (çekirge), kuşlar ve küçük memelilerdir. Tütün ürünleri sigara gibi ve TMV enfekteli tütün bitkileri bir diğer kaynaktır. Virüs kötü çevre koşullarında oldukça stabildir; kuru toprakta bitki artıklarında 2 yıl, nemli toprakta 1 ay, kök kalıntılarında 22 ay kalır. Sağlıklı fideler kontamine olmuş toprağa dikildiğinde kökteki mekanik yaralar vasıtasıyla, sulama sistemleriyle enfekte olabilir.

TMV veya ToMV benzer simptomlar verebilir. Dayanıklı çeşitler mevcuttur, bunlar kullanılıp ürünler mukayese edilebilir.

Sağlıklı bitkilerden alınan tohumlar kullanılmalıdır. Tohum kabuğundaki TMV veya ToMV 20 dk %15 lik trisodyum fosfat (TSP) yada 2 saat aynı solüsyonda bekletilip suyla direk yıkanır. Aynı yıkama kapları kullanarak tohumlar tekrar re-kontamine edilmemelidir. Dikilecek alanlar 2 yıl rotasyonlu kullanılmalı; domates patates, patlıcan gibi hassas türlerin arkasından dikim yapmaktan kaçınılmalıdır.

Fidelik temizliğine dikkat edilmeli ve depolardan uzak olmalıdır. Bitki kalıntılarının ayrışması için buharla sterilize edilmiş toprak kullanılmalıdır çünkü TMV ve ToMV küçük kök ve gövde kalıntılarında korunabilmektedir.

Anormal büyüme, mozaik ve kıvrılmış hastalıklı fideler atılmalı, bu fidelere yakın aynı simptomları gösteren fidelere atılmalıdır.

Kullanılan aletleri hastalıklı bölgeden temiz bölgeye alırken dezenfekte edilmeli bunun için %5.25 lik sodyum hipokloriti 1:10 sulandırarak 10 dakika bekletilmeli, aletler durulanmamalıdır. Eller ve aletler sabun ve sütle yıkanmalıdır. Temiz alanlarda çalıştıktan sonra en son hastalığın olduğu alanda çalışılmalı, kıyafetler sıcak su ve deterjanla yıkanmalıdır.

KONUKÇULAR:

Bu virüsün 30 farklı familyadan 199 türü enfekte ettiği bilinmektedir. Bir çok türde de zarar eşliğinin altında enfeksiyon görülmüştür (Anonymous 4). Çoğunlukla Solanaceae familyasından petunya, domates, tütün gibi türleri enfekte eder (Anonymus 5).

COĞRAFİK DAĞILIM:

Tim Dünyada yaygın olduğu bilinektedir (Anonymous 4).

BİYOLOJİ:

TMV Tobamovirüs grubundandır. Çubuk şekilli ve 300 nm x 15 nm büyüklüğündedir. Hastalıklı yapraklarla ve kontamine olmuş aletler, insan eli ile çok kolay taşınır. Virus aynı zamanda kontamine olmuş tohum kabuğunda bulunur ve bu tohumdan yetiştirilen fideler enfekte olur (Anonymous 6).

2.2. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus)

KONUKÇULAR:

TSWV çok sayıda bitkisel konukçuya sahip olan polifag bir hastalıktır. *Capsicum annuum*, marul, tütün, domates ve çeşitli peyzaj bitkileri başlıca konukçularıdır. TSWV bitki virüsü en yaygın konukçuya sahip virüslerden biridir. Dikotiledonlarda 271 tür ve 7 monokotiledon familya Edwarson ve Christie (1986)

tarafından derlenmiştir. *Asteraceae*, *Fabaceae* ve *Solanaceae* familyalarının türlerinde 100 den fazla kayıtlı konukçusu bulunmaktadır. Yabani otlar kültür bitkileri gibi konukçularıdır (Jorda vd. 1995), ama epidomolojilerinde önemli rol oynadıkları hakkında şüpheler vardır (Van Os vd. 1993).

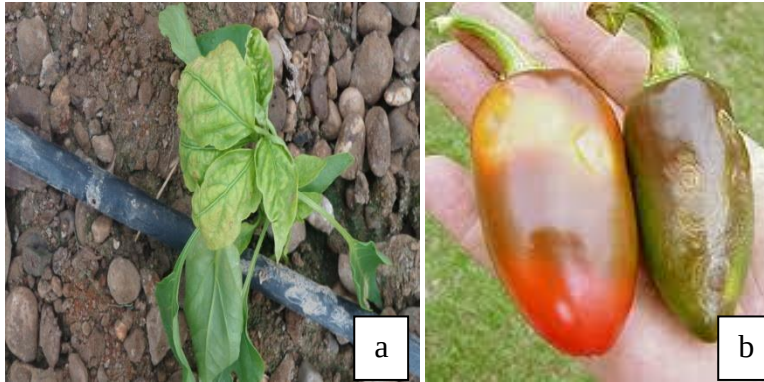
COĞRAFİK DAĞILIM:

Cezayir, Avusturya, Belçika, Bulgaristan, Hırvatistan, Kıbrıs, Çek, Mısır, Fransa (ilk 1987’de görülmüş, 1993’e kadar tekrar ortaya çıkmamış; Almanya, Yunanistan (Girit dahil), Macaristan, İrlanda, İsrail, İtalya (Sicilya dahil), Libya, Litvanya, Malta, Moldova, Fas, Hollanda, Norveç (yok edilme aşamasında), Polanya, Portekiz, Romanya, Rusya (kuzey, uzak doğusu), Slovakya, İspanya (Kanarya adaları dahil), İsveç, Tunus (teyit edilmedi), Türkiye, İngiltere (kanal adaları, İskoçya), Ukrayna. Danimarka ve Finlandiya da tamamen yok edilmiştir.

BİYOLOJİ:

TSWV *Thripidae* (Thysanoptera) familyası tarafından doğal olarak yayılır ve taşınır. Bu familya *Thrips tabaci*, *T. setosus*, *Frankliniella occidentalis* (EPPO/CABI, 1997a), *F. fusca*, *F. intonsa*, *F. schultzei* ve *Scirtothrips dorsalis* (EPPO/CABI, 1997b) türlerini içerir. Virüs sadece larva evresinde elde edilir ve virüs inokulasyonu yaprağın yüzeysel epidermal hücreleriyle beslenilmesiyle olur. Rapor edilen en kısa edinim periyodu *T. tabaci*, için 15 dakikadır fakat yayılma etkinliği beslenme zamanıyla artmaktadır. Virüsle beslenen larva virüsü erkenden larva evresinin sonunda bulaştırabilir. Vektör 3-10 günlük inkübasyon sürecine girdiğinde virüs türüne bağlı olarak muhafaza edilir.

Virüsü aldıktan 22-30 gün sonra vektör maksimum enfekte edebilir ve hayatı boyunca virüsü taşır fakat transovaryal taşıma (Çeşitli patojenlerin, maternal vektör organizmanın ovaryumuna, buradan yumurtalara ve yumurta kanalıyla yeni nesil vektörlere geçmesi durumu) ‘na dair bir kanıt bulunamamıştır. Bu bulgular TSWV’nin vektöründe kalıcı olduğunu göstermiş ve virüs serolojik olarak virüs taşıyan thrips olarak teşhis edilmiştir (Cho vd. 1988).



Şekil 2.2. TSWV semptomları; **a)** bitki; **b)** meyve

2.3. Tobacco Mozaik Virüsü ve Domates Mozaik Virüsü İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Biberde TMV dayanıklılık lokusu 11. kromozomda bulunan domateste I2 ve patateste R3 lokusuyla senteniktir. Yang vd. (2009), I2 ve R3 lokuslarına ve geliştirilen BAC sekans bilgilerini kullanan L link markırlarına benzer biber bakteriyel yapay kromozom (BAC) klonları tespit etmiştir. BAC kütüphanesi domates I2C-1 geni probe olarak kullanılarak taranmıştır. Klon sonuçları PCR sonuçları, sekanslama, genetik haritalama yardımıyla gruplanmıştır. Linkaj analizi BAC klonu 082F03'nin hedef bölge yakınında kromozom 11 de TG36 RFLP markırına yakın olabileceğini ortaya çıkarmıştır. Araştırmacılar, 082F03 sekansını kullanarak daha fazla BAC klonu bulmuş ve 224 kb uzunluğundaki BAC kontiglerinde en az 3 I2/R3 gen analogu olduğunu gösteren gen tahmin analizi yapmıştır. Üç DNA markırı BAC kontig sekansını kullanarak geliştirilen L4 genine yakın bağlantı durumundadır (yaklaşık 1.2 cM). L3 ve L4 birlikte segregasyonu olan popülasyonda linkaj analiziyle SNP markırı 087H3T7 geliştirilmiştir. L3 ile birlikte dağılımı/segregasyonu olan 189D23M markırı 087H3T7 'nın tam ters tarafında ve L4 ten 0.7 cM uzaklıkta bulunmaktadır. Bu durum L3 ve L4 ün aynı lokusta farklı alleller oldukları yerine aynı bölgede birbirine link ve farklı genler olduğu fikrini desteklemektedir. Agresif tobamovirüs patotipi P1,2,3 'ün L4'ün elit hatlara aktarımı için bu markırların moleküler ıslahta kullanımı önermiştir (Yang vd. 2009).

Sugita vd. (2004), iki DH (double haploid) popülasyonuna Bulk segregant analizi uygulayarak L3 lokusuna link olan RAPD markırlar geliştirmiştir. Dominant RAPD markırları E18₂₇₂ ve E18₂₈₆, moleküler klonlama ve nükleotid sekanslama yardımıyla SCAR markırına dönüştürülmüştür. Dihaploit (n=176) ve gerimelezleme (n=190) popülasyonlarını kullanarak yapılan PCR analizi, bütün SCAR markırlarının PMFR11₂₆₉, PMFR11₂₈₃ and PMFR21₂₀₀ orijinal RAPD markırlarıyla birlikte dağılım gösterdiğini ve L3 lokusundan 4 cM uzakta haritalandığını göstermiştir. 18 materyal kullanılarak markırın teyit edilmesinin ardından kodominant SCAR markır çiftini; PMFR11₂₆₉ and PMFR11₂₈₃, PI159236 (*C. chinense*) den elde edilen L³ allelinin ıslah programlarında kullanılmasının etkin olacağı düşünülmüştür (Sugita vd. 2004).

Tomita vd. (2008), *Capsicum chinense* deki L³ tobamovirüs dayanıklılık geni *Capsicum annuum* hatlarında intra-spesifik F2 popülasyonu (2016 bitki) kullanılarak haritalamıştır. *Capsicum chinense* deki L³ geni interspesifik F2 popülasyonu *Capsicum chinense* ve *Capsicum frutescence* arasındaki 3,391 bireyden elde edilmiştir. L³-dayanıklılığına yakın olan AFLP markırıyla yapılan BAC kütüphanesi analizi domates dayanıklılık geni I2 nin homoloğu olduğunu ortaya çıkarmıştır. Kısmi yada tam kodlama sekansları interspesifik kombinasyondan elde edilen 35 farklı I2 homoloğu 17 genetik markırının dejenere PCR'ından klonlanmıştır. L³ geni I2 homolog markırı IH1-04 ve BAC-end markır 189D23M arasında haritalanmıştır. DNA fiber FISH sonuçları ve BAC klonlarının Southern blot analizi L³ lokusunun bulunduğu bölgenin fazla miktarda tekrarlayan sekanslar içerdiğini göstermiştir. Southern blot analizi iki BAC kontiğinin ondan fazla I2 homoloğu içerdiğini işaret etmektedir. Rekombinasyon dağılımı iki popülasyonda farklıdır ve L lokusunu içeren bölgedeki linkaj eşitsizliğini öne çıkarmaktadır (Tomita vd. 2008).

Biberde TMV ve benzeri (PMMoV gibi) virüslere dayanıklılık veren L3 alleli için Sugita ve ark (2004) tarafından bildirilen PMFR11 ve PMFR21 SCAR (sequence characterized amplified region) markırları kullanılmaktadır. PMF1 ve PMR1 primer kombinasyonu ko-dominant (269 bp band L3 alleli), PMF2 ve PMR1 primer kombinasyonu ise dominant SCAR markırı oluşturmaktadır. Tomita ve ark (2008) belirttiği IH6-06, IH6-04 ve 189D23M SCAR markırları da dominant markırlardır. Tobamovirüslerde P0, P1, P1-2, ve P1-2-3 olmak üzere dört patotip bildirilmiştir. Bu sınıflandırma dayanıklılık geninin (*L*) farklı allelleri (*L1*, *L2*, *L3*, *L4*) taşıyan genotipler kullanılarak yapılmıştır. İspanya'da yapılan bir sörveyde saptanan virüs izolatlarının % 85'i P1-2 ve % 15'inin P1-2-3 patotipine ait olduğu belirlenmiştir (TenlladoI vd. 1997). *L3* allelini taşıyan biber genotipleri P0, P1, P1-2 patotiplerine, *L4* allelini taşıyanlar ise P1-2-3 patotiplerini kapsayan bilinen bütün patotiplere karşı koruma sağlamaktadır. *L3* ve *L4* genleri biberde tobamovirüslere karşı dayanıklılık sağlayan allelik (veya çok yakın) genlerdir. *L3* geni *C. chinense* PI 152225 nolu tohum örneğinden, *L4* geni ise *C. chacoense* PI 260429 nolu tohum örneğinden gelmektedir.

Ülkemizde P1-2 patotipi yaygın olmasına rağmen P1-2-3 patotipinin de son yıllarda görüldüğü ve hızla yaygınlaşacağı düşünülmektedir. *L4* alleli P1-2 patovarını da kapsayan ve *L1*, *L2* ve *L3* allellerinin dayanıklılık sağladığı patotiplere karşı da koruma sağlamaktadır. *L4* alleli ayrıca bilinen tüm Tobamovirus grubuna dahil Tobacco mosaic virus (TMV), Tomato mosaic virus (ToMV), Bell pepper mottle virus (BePMV), Tobacco mild green mosaic virus (TMGMV), Paprika mild mottle virus (PaMMV), Dulcamara yellow fleck virus (DYFV), ve Pepper mild mottle virus (PMMoV) lere karşı dayanıklılık sağlamaktadır.

L4 alleli için Matsunaga vd. (2003) tarafından bildirilen dominant WA31-1500 SCAR markırı ve Kim vd. (2008) tarafından bildirilen dominant L4SC340 SCAR markırları kullanılmaktadır. Ayrıca Yang vd. (2009) tarafından belirtilen 060I2END dominant SCAR markırı ve 087H3T7 ko-dominant CAPS markırları da kullanılmaktadır.

2.4. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus) İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Tsw geni *Capsicum* spp de TSWV (Tomato spotted wilt virus)' a karşı dominant dayanıklılık sağlar. Biberin 10. kromozomunda uzaklığı ± 1.3 cM *SCAC*₅₆₈ markırı kullanılarak etiketlenmiştir (Moury vd. 2000). Sw-5'in homoloğu haritalanamamasına rağmen fenotipik olarak benzer genler domateste vardır, birçok Sw5 homoloğu hem domates hem biberde benzer bölgelerde bulunmuştur. Tsw ve Sw5 arasındaki ilişki TSWV'nin genetik çalışmaları yoluyla incelenmiştir (Jahn vd. 2000).

Biber fidelerinde Tsw geninin varlığını anlamak için inokulasyon LYE 51 TSWV izolat kullanılarak Moury vd. (1997) tarafından açıklanan prosedür doğrultusunda yapılmıştır. Bu izolat Fransa'nın güneydoğusundaki domates bitkilerinden alınmıştır (Nono-Womdim vd. 1994; Moury vd. 1997).

LYE 51 TSW izolatı ve genç fideler kullanılarak yapılan çalışmada PI195301 (*C. frutescens* hassas) ve PI152225 (*C. chinense* dayanıklı) arasında türlerarası melez yapılarak 153 bitki içeren F2 populasyonu oluşturulmuştur. Bu F2 bitkileri segregasyon

oranının az olması (Moury vd. 1997) göz önünde bulundurularak seçilmiştir. Bu progenilerde Tsw lokusu her F2 bitkisi için PI195301 (hassas ebeveyn) ile test melezi yapılarak değerlendirilmiştir. 101 bitki; yani her test melezinden 9 bitki inoküle edilmiş, TSWV dayanımı gözlem ve DAS-ELISA (Moury vd. 1997) kullanılarak not edilmiştir.

Bu method bitki genotipleme de heterozigotlar için %100, homozigotlar için %99.8 güvenilirlik sağlamıştır. Geriye kalan 52 F2 bitkisi PI 195301 ile mezelelendiğinde yeterince fertil değildi. Tüm F2 bitkilerinin TSWV ye reaksiyonu koparılmış yapraklarda (Moury vd. 1997) test edilmiş ve dayanıklı (homozigot ya da heterozigot ayırt edilmeden) ya da hassas oldukları not edilmiştir. Koparılmış yapraklarda 2 farklı reaksiyon gözlenmiştir; dayanıklı bitkilerde erkenden çok aşırı hassas (hipersensitiv) sınırlı nekrotik lezyonlar ve hassas bitkilerde virüs1 simptomları oluşmuştur.

Homozigot dayanıklı ve hassas bireylere ait PCR ürünleri agoroz jelde yürütülmüştür. RAPD analizi yapılmış, PCR ürünleri ayrılmış, dayanıklılık genine linkaj veren 600 bp uzunluğundaki DNA bandı çoğaltılmıştır. Bulunan RAPD markırı CAPS markırına dönüştürülmüştür (Şekil 2.3) (Moury vd. 2000).

MARKIR	Primer Adı	Primer sekansı (5'-->3')	Büyüklüğü ve orjini	Tsw lokusuna genetik uzaklık
SCAR/CAPS	SCAC ₅₆₈	Forward GTGCCAGAGGAGGATTTAT	568 bp, Xba1, Tag1 or HaeIII sonrasında kodominant	0.87 ± 0.62
		Reverse GCGAGGTGGACACTGATACT		

Çizelge 2.3. TSW virüsünün moleküler teşhisinde kullanılan primer (Moury vd. 2000)

3. MATERİYAL VE METOD

Bitki materyaline konu olan ticari hibrit biberlerin listesi Çizelge 3.1’de verilmiştir. F₂ ve F₃ bitkilerinden izole edilen DNA’lar moleküler markır analizleri için kullanılmıştır. DNA izolasyonu tissue lyser cihazı ile CTAB protokolüne göre yapılmıştır. CTAB tampon çözeltisi; 2% CTAB, 100 mM TrisHCl (pH=8), 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl, 0.2% β-mercaptoethanol tarifine göre hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmaya konu olan F₂ ve F₃ popülasyonlarının elde edildiği hibrit biber çeşitleri ve bunların Tsw, L3 ve L4 markır analizlerine göre TSWV ve TMV dayanım durumları

	Hibrit Biber Çeşidi (F1)	Tsw ^a	L3 ^b	L4 ^c
1	NUN-DOL F1	rr	R	R
2	Erciyes F1	Rr	R	R
3	Efes F1	Rr	R	R
4	Kanyon F1	Rr	R	R
5	Safran F1	rr	R	R
6	Uygar F1	Rr	R	R
7	Turbo F1	rr	R	R
8	Reis F1	rr	R	R
9	Mert F1	rr	R	R
10	Onur F1	rr	R	R
11	Üçburun F1	rr	R	R
12	Flinta F1	Rr	R	rr

a: Domates solgunluk virüsü (TSW)'ne dayanıklılık veren Tsw alleli

b: Domates mozaik virüsü (TMV)'ne dayanıklılık veren L3 alleli

c: Domates mozaik virüsü (TMV)'ne dayanıklılık veren L4 alleli

Yaklaşık 1 g biber yaprakları 1,1 ml hacimli tüplere konulup üzerlerine 200 µl CTAB çözeltisi eklenerek tissue lyser cihazı yardımı ile ezilmiştir. Üzerlerine 250 µl daha CTAB çözeltisi eklenerek 65°C’de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. 1 saat sonra

inkübasyondan alınan örnekler 450 µl 24:1 oranındaki kloroform-izoamil alkol çözeltisi eklenip santrifüjde 20 dk iki fazlı solüsyon oluşması sağlanmıştır. Üst fazı (DNA) pipet yardımı ile yeni tüplere aktarılmıştır. Bu fazın üzerine 300 µl izopropanol çözeltisi eklenip 1 gece -20°C'deki dondurucuda bekletilmiştir. Ertesi gün örnekler santrifüj edilip pellet oluşumu sağlanmıştır. Oluşan pelletler 300 µl etanol konularak santrifüj yapılmıştır. Bu işlem iki defa tekrarlandıktan sonra tüplerdeki pelletler yarım saat kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan tüplere 300 µl distile su eklenerek stok DNA çözeltisi elde edilmiştir.

Analizlerden önce izole edilen DNA'ların miktarı, %1'lik agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir. Stok DNA, moleküler analizlerde kullanılmak üzere 1:20 oranında distile su ile seyreltilmiştir.

TSWV'a dayanıklılık geni olan Tsw'nin amplifikasyonu bir CAPS markırı olan SCAC568 ile yapılmış, DNA kesim enzimi olarak XbaI, ve TaqI kullanılmıştır. Görüntüleme işlemi Dnr Mini Lumi Bio Imaging Systems cihazıyla yapılmış ve co-dominant marker olduğu için homozigot-heterozigotluk durumları göz önüne alınarak skorlanmıştır.

Çizelge 3.2. SCAC568 markırı primerleri

Forward	GTGCCAGAGGAGGATTAT
Reverse	GCGAGGTGGACACTGATACT

Çizelge 3.3. Analizde kullanılan PCR mix bileşenleri

Bileşenler	Miktar
DNA	1 µl
MgCl ₂	3 µl
Buffer	3 µl
dNTP	3 µl
Primer forward,Reverse)	1µl
Primer reverse)	1µl
Taq polimeraz	0.16 µl
H ₂ O	12,84 µl

Çizelge 3.4. PCR cihazında amplifikasyon sıcaklık ve süreleri

Sıcaklık	Süre
95°C	2.20 dk
95°C	1.00 dk
53°C	59 sn
72°C	59 sn
95°C	35 dk
72°C	10dk

PCR'dan çıkan üründen 4 µl alınıp Taq I enziminden 1 µl H₂O 1 µl, Buffer 1 µl ile mix hazırlanır. Boyanarak jele yüklenir.

PCR'dan çıkan üründen 4 µl alınıp Xba I enziminden 1 µl H₂O 1 µl, Buffer 1 µl ile mix hazırlanır. Boyanarak jele yüklenir.

TMV dayanıklılık geni olan L3 amplifikasyonu dominant bir marker olan 189D23M'ı ile yapılmış. Görüntüleme işleminin ardından sonuçlar var/yok olarak değerlendirilmiştir. 189D23M dominant marker olduğu için dayanıklı (RR veya Rr) alleli taşıyan bireyler göz önüne alınmıştır.

Çizelge 3.5. 189D23M (NB) BAC-end SCAR markırı primerleri

Forward	5'-ATTGTCAGAGTCGGGAAGCA-3'
Reverse	5'TACTATGCACAGGGTCTAGG-3'

Çizelge 3.6. 189D23M (YB) BAC-end SCAR markırı primerleri

Forward	5'-ATTGTCAGAGTCGGGAAGCA-3'
Reverse	5'-AACGACAAGGGTTTATTGTATGC-3'

Çizelge 3.7. Analizde kullanılan PCR mix bileşenleri

Bileşenler	Miktar
dNTP	1,5 µl
MgCl ₂	1.5 µl
Buffer	1,5 µl
Taq Polimeraz	0.08 µl
Primer forward,Reverse)	0,1µl
Primer reverse)	0,1µl
H ₂ O	7,2 µl

Çizelge 3.7 de verilen bileşenlerden PCR mixi elde edilmiş ve örnek sayısı ile çarpılarak çoğaltılmıştır. Daha sonra karışım örnek sayısına bölünerek tüplere dağıtılmıştır. Aşağıdaki koşullara göre PCR cihazında amplifikasyonu sağlanmıştır.

Çizelge 3.8. PCR cihazında amplifikasyon sıcaklık ve süreleri

Sıcaklık	Süre
95°C	2.20 dk
95°C	1.00 dk
55°C	59 sn
72°C	59 sn
95°C	35 dk
72°C	10dk

TMV dayanıklılık geni olan L4'ün amplifikasyonu dominant markırı olan 060I2END ile yapılmıştır. Görüntüleme işlemi ardından dayanım durumları değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.9. 060I2END-2 markırı primerleri

Forward	GCACATCAGCAGGTTTAGTACG
Reverse	CCAACTGTCAAACCTCGG TT

Çizelge 3.10. Analizde kullanılan PCR mix bileşenleri

Bileşenler	Miktar
dNTP	1,5 µl
MgCl ₂	1.5 µl
Buffer	1,5 µl
Taq Polimeraz	0.08 µl
Primer forward,Reverse)	0,1µl
Primer reverse)	0,1µl
H ₂ O	7,2 µl

Çizelge 3.10 daki bileşenler örnek sayısı ile çarpılarak PCR mix'i hazırlanmış ve tüplere dağıtılmıştır. Aşağıdaki Çizelge 3.8 deki koşullara göre amplifikasyon yapılmıştır.

Çizelge 3.11. PCR cihazında amplifikasyon sıcaklık ve süreleri

Sıcaklık	Süre
95°C	2.20 dk
95°C	1.00 dk
53°C	59 sn
72°C	59 sn
95°C	35 dk
72°C	10dk

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada farklı meyve tipine sahip 12 adet ticari biber hibriti alınarak dikilmiş yaprak örnekleri alınarak ilgili moleküler markırlar yardımıyla TMV ve TSWV dayanım durumları anlaşılmış ve kendilenmiştir. Her hibritin kendilenmiş F2 tohumları ekilmiş, 100'er adet bitki seraya dikilmiştir. Normal bakım işlemleri yapılan 1200 F2 bitkisinden agromik olarak beğenilen, arzu edilen bitki ve meyve özellikleri taşıyan, bitkiler seçilmiştir. Arzu edilen karakterleri taşıyan F2 bitkileri orijinal hibritlerinin durumu göz önüne alınarak TMV (L3 veya L4 allelleri) ve TSWV (Tsw) için moleküler markır testlemesine tabi tutulmuştur. Morfolojik olarak ve markır sonuçlarına göre seçilen F2 bitkilerine ait F3 projenilerinin her birinden 10-15 arası bitki dikilmiştir. Hibritlerdeki ve F2 ebeveynlerindeki dayanımlar gözönünde tutularak (dayanıklı olduğu bilinen genler/lokuslar için) F3 projenisi tekrar moleküler markır testlemesine tabi tutulmuştur.

Çizelge 4.1. Hibrit biber çeşitleri, F2 populasyonlarına ait bitkilerde Tsw, L3, ve L4 markır analizlerine göre dayanıklı ve hassas bitki sayıları, morfolojik karakterizasyon ve moleküler markır sonuçlarına göre seçilen F2 bitki sayıları

Hibrit Biber Çeşidi	F2'de seçilen materyal sayısı	Tsw ^a	L3 ^b	L4 ^c
NUN-DOL F1	26	hassas	26	12
Erciyes F1	11	9	6	0
Efes F1	12	7	2	0
Kanyon F1	13	10	7	0
Safran F1	1	hassas	0	1
Uygar F1	16	15	12	0
Turbo F1	1	hassas	1	0
Reis F1	10	hassas	8	10
Mert F1	3	hassas	3	3
Onur F1	34	hassas	4	28
Üçburun F1	5	hassas	2	5
Flinta F1	24	14	18	hassas

Çizelge de seçilen hatlardaki dayanım durumları özetlenmiştir. Nundol F1'in F2 sinden 26 adet hat seçilmiş, bunlardan 26 sı da L3'e dayanıklı yine 26 hattın 12 tanesi

L4'e dayanıklı, hibrit hassas olduğu için tüm materyaller Tsw hassas kabul edilmiştir. Erciyes F1'in F2 sinden 11 tane hat seçilmiş, bunlardan 9'u Tsw, 6'sı L3 dayanıklıdır fakat hiç L4 dayanıklı hat seçilmemiştir. İlk sütun F2 materyalleri seçilen hibrit adlarını, ikinci sütun kaç adet materyal seçildiğini, üçüncü sütun Tsw geni taşıyan dayanıklı materyal sayısını, dördüncü sütun L3 geni taşıyan dayanıklı materyal sayısını, beşinci sütun ise L4 geni taşıyan dayanıklı materyal sayısını göstermektedir (Hassaslar zaten hibritte dayanım olmadığını, 0 ise seçilen materyallerde dayanıklılık olmadığını göstermektedir).

Çizelge 4.2. Hibrit biber çeşitleri, F3 popülasyonlarına ait bitkilerde Tsw, L3, ve L4 markır analizlerine göre dayanıklı ve hassas bitki sayıları, morfolojik karakterizasyon ve moleküler markır sonuçlarına göre seçilen F3 bitki sayıları

Hibrit Biber Çeşidi	F3'de seçilen materyal sayısı	Tsw ^a	L3 ^b	L4 ^c
NUN-DOL F1	29	hassas	21	0
Erciyes F1	9	7	9	4
Efes F1	4	3	0	0
Kanyon F1	21	13	3	2
Safran F1	3	hassas	0	1
Uygar F1	39	26	14	0
Turbo F1	1	hassas	0	0
Reis F1	26	hassas	7	2
Mert F1	2	hassas	1	0
Onur F1	62	hassas	23	1
Üçburun F1	10	hassas	3	1
Flinta F1	36	16	24	7

Çizelge 4.2 de Çizelge 4.1 de seçilen F2 materyallerinden seleksiyon yapılarak F3 generasyonuna taşınan materyal sayısını, seçilen materyallerin kaç tanesinde Tsw, L3, L4 olduğunu göstermektedir. Hassas olanlar hibritinde Tsw, L3, L4 genini hiç taşımayanlar, 0 değerine sahip olanlar ise seçilmiş fakat segregasyon nedeniyle dayanıklılık genine sahip olmayan materyaller/hatlardır.

Klasik ıslah çalışmaları sonucu bir çeşidin geliştirilmesi çeşit geliştirme aşamalarında görüldüğü gibi 9-12 yıl gibi uzun bir zaman almaktadır. Bu sistem tek bitki seleksiyonuna dayalı klasik ıslah yöntemidir ve bu ıslah yönteminde hastalığa dayanıklılık ıslahı yapılmamakta sadece kalite, bitkisel özellikler ve verim bakımından değerlendirmelerle çeşit geliştirilmektedir. Klasik ıslahta hastalığa dayanıklılık da ıslah çalışmalarına girdiğinde ıslah sistemi biraz daha karmaşık bir yapı almakta, çeşit geliştirme aşamaları ve süresi uzamaktadır. Hastalığa dayanıklılık ıslahında, dayanıklı bir hat geliştirmek amacıyla dayanıklı kaynaklardan ya da dayanıklılığı patolojik testlerle belirlenmiş yabancı materyallerden ve çeşitlerden yararlanılmakta ve verim ve diğer özellikleri iyi olan biber saf hattına hastalığa dayanıklı bir yabancı hattan ya da bir çeşitten dayanıklılık aktarmak için geriye melezleme yöntemine başvurmak gerekmektedir. Geriye melezleme yöntemi ile bir dayanıklılığın saf hatta aktarılması ise yine 5-6 yıl gibi oldukça uzun bir sürede gerçekleşmekte bu durumda ıslah süresini ve dolayısıyla da çeşit geliştirme sürecini daha da uzatmaktadır. Moleküler ıslah yöntemleri kullanılarak hem hastalığa dayanıklılık kolay bir şekilde tespit edilebilmekte hem de dayanıklı olan saf hatlar kullanılarak ıslah süresi ve dolayısıyla da çeşit geliştirmek kolaylaşmaktadır.

MAS (markıra dayalı seleksiyon) bir markır (morfolojik, biyokimyasal, veya DNA farklılığından oluşan) kullanarak verim, hastalıklara dayanıklılık, abiotik streslere tolerans veya kalite gibi genetik kontrol altındaki karakterler için dolaylı seleksiyon yapılmasıdır. Bu çalışmada kullanılacak tüm markırlar DNA markırıdır. Genler fenotipi oluşturan proteinleri ürettiği halde markırlar (eğer klonlanmış bir genin dizisi değilse) ilgili gene bağlı (rekombinasyonel olarak çok yakın) DNA kısımlarıdır. Hastalıklara dayanıklılık genleri için MAS kullanılması bitkilerin patojenle inokülasyon yapılmadan daha fide döneminde bir çok hastalık için dayanıklı bireylerin tespitine imkan vermektedir. Böylece, inokülasyondan kaynaklanabilecek hatalar ve riskler ortadan kalkmaktadır. Virüsler gibi hava sıcaklığı ve nemi ile bitkinin farklı gelişme dönemlerinde farklı reaksiyonlar verebilen patojenler için MAS uygulamaları günümüz bitki ıslahı çalışmalarında son derece önemli bir hale gelmiştir.

MAS metoduyla seçilen hatlarda F2 generasyonunda belirlenen dayanımlara dair dayanıklılık genleri beklenen açılımı göstermiş, seçilen bitkilerden alınan yaprak örnekleri laboratuvarda test edilerek dayanımları belirlenmiştir. Aynı işlem F3 generasyonunda da yapılmıştır. Dayanımlarda Tsw'de 1:2:1 dağılımı beklenen değerlere uygun görülürken, L3' ve L4' te markır sonuçları beklenen 3:1 dağılım değerinden önemli sapma göstermiştir.

Teorem 4.1. Ki-kare formülü

$$\chi^2 = \frac{(\text{gözlenen} - \text{beklenen})^2}{\text{beklenen}} \quad (4.1)$$

serbestlik derecesi (df)=n-1, n=dağılım gösteren grup sayısı, kodominant markır için 2 (3-1), dominant markır için 1 (2-1) olarak alınmıştır.

Çizelge 4.3. L3 için F2 generasyonunda dağılım tablosu

L3	dayanıklı	hassas	toplam örnek sayısı
Gözlenen	103	53	156
Beklenen	117	39	156

Çizelge 4.4. L4 için F2 generasyonunda dağılım tablosu

L4	dayanıklı	hassas	toplam örnek sayısı
Gözlenen	59	73	132
Beklenen	99	33	132

Çizelge 4.5. TSW için F2 generasyonunda dağılım tablosu

TSW	RR	Rr	rr	toplam örnek sayısı
Gözlenen	19	36	21	76
Beklenen	19	38	19	76

Tsw dayanımı için χ^2 değeri

$$\chi^2 = \frac{(19 - 19)^2}{19} + \frac{(38 - 36)^2}{38} + \frac{(19 - 21)^2}{19} = 0,10 + 0,21 = 0,31$$

$$df = n - 1 = 3 - 1 = 2,$$

$$P=0,1- 0,9$$

L3 için:

$$\chi^2 = \frac{(103 - 117)^2}{117} + \frac{(39 - 53)^2}{39} = 1,67 + 5,02 = 6,69$$

$$df = n - 1 = 2 - 1 = 1$$

$$P=0,005-0.01$$

L4 için:

$$\chi^2 = \frac{(59 - 99)^2}{99} + \frac{(73 - 33)^2}{33} = 16,16 + 48,48 = 64.64$$

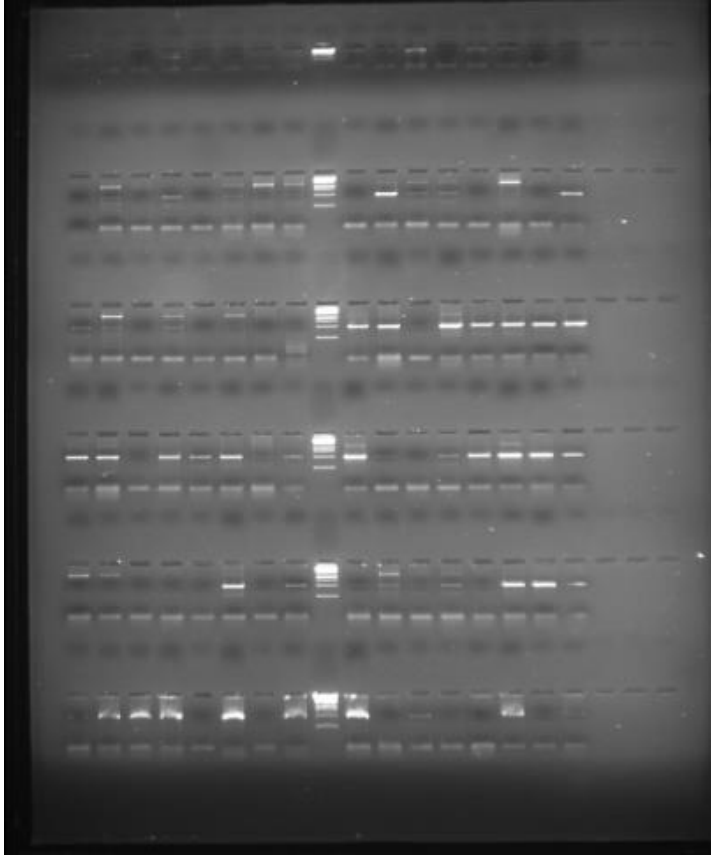
$$df = n - 1 = 2 - 1 = 1$$

$$P<0.001$$

5. SONUÇLAR

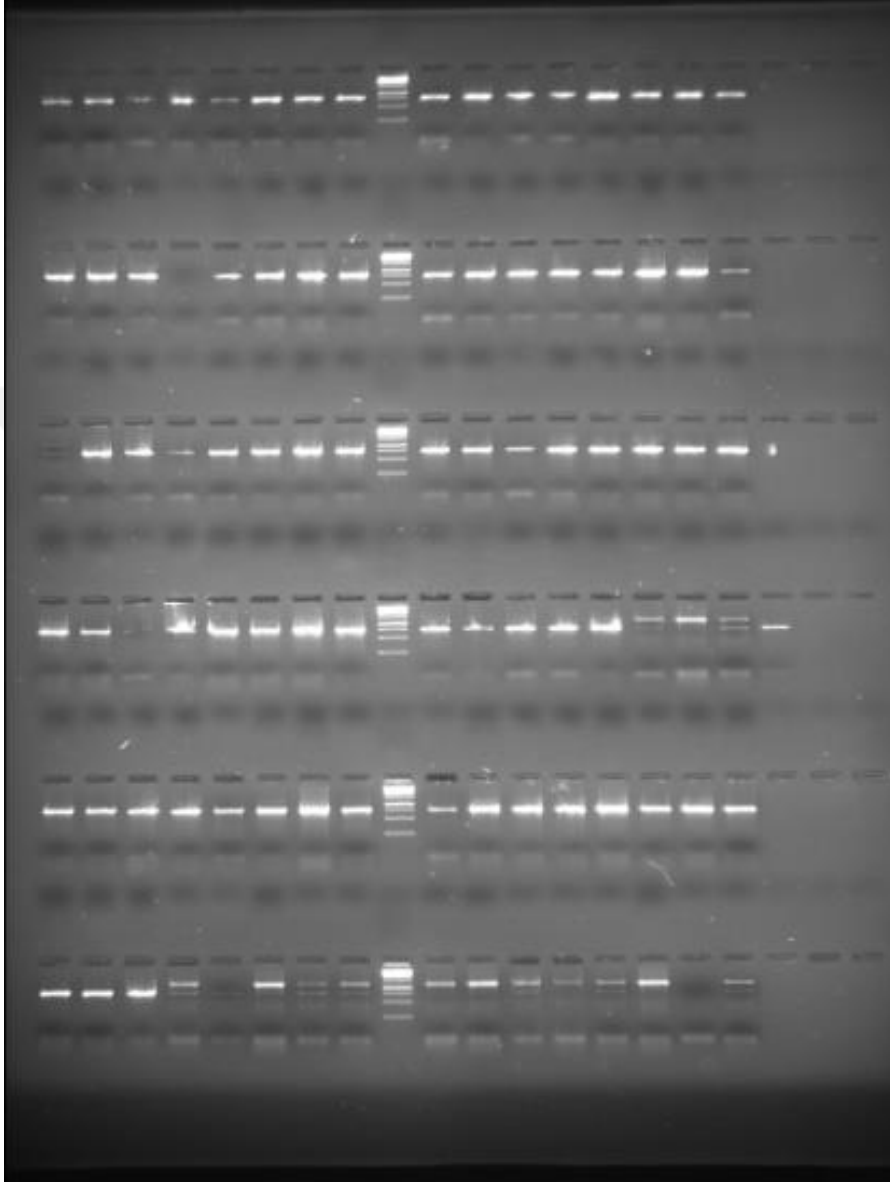
Açılım gösteren generasyonlarda (F2, F3) agronomik karakterler bakımından seçilmiş-seleksiyon yapılmış biber materyallerinin TSWV ve TMV virüslerine dayanım durumlarının marker yardımıyla tespiti ilgili virüslere dayanıklı hatların geliştirilmesini kolaylaştırmaktadır. Patojen inokulasyonuna gerek kalmaması maliyet ve zaman bakımından avantajlar sunmaktadır. İslah materyallerinin seçiminde hastalık dayanımları göz önüne alındığından MAS ıslahı kolaylaştırması bakımından önemli bir yöntemdir. Generasyon ilerletirken bitkilerin dayanım durumu takip edilmekte, dayanıklılığın heterozigot / homozigotluk durumu belirlenebilmektedir. Çalışma sonunda TMV ve TSWV virüslerine dayanıklılık veren genleri taşıyan, genlerin homozigot/heterozigotluk durumları belirlenmiş ve F3 generasyonunda agronomik özellikler bakımından da seleksiyon yapılmış ıslah hatları geliştirilmiştir.

189D23M dominant moleküler markırı kullanılarak L3 testlemesi sonrası dominant markır sonuçlarına göre PCR ürünü (band) veren bireyler homozigot veya heterozigot TMV dayanımlı bitkiler, band vermeyen bitkiler ise homozigot hassas olanlardır (Şekil 5.1).



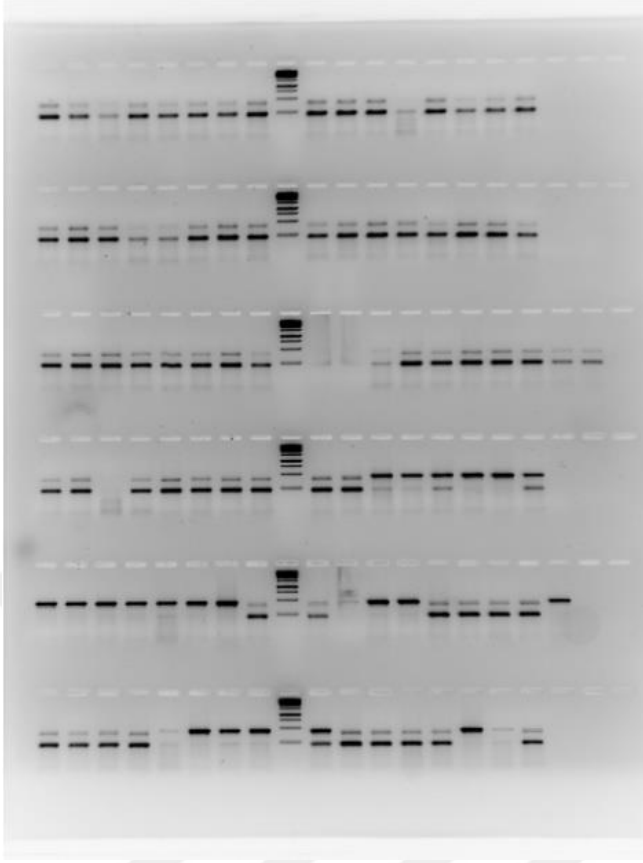
Şekil 5.1. F2 populasyonunda gözlenen L3 alleleline bağlı markır bandları

060I2END-2 dominant moleküler markırı kullanılarak L4 testlemesi sonrasında ise dominant markır sonuçlarına göre PCR ürünü (band) veren bireyler homozigot veya heterozigot TMV dayanımlı bitkiler, band vermeyen bitkiler ise homozigot hassas olanlardır (Şekil 5.2).



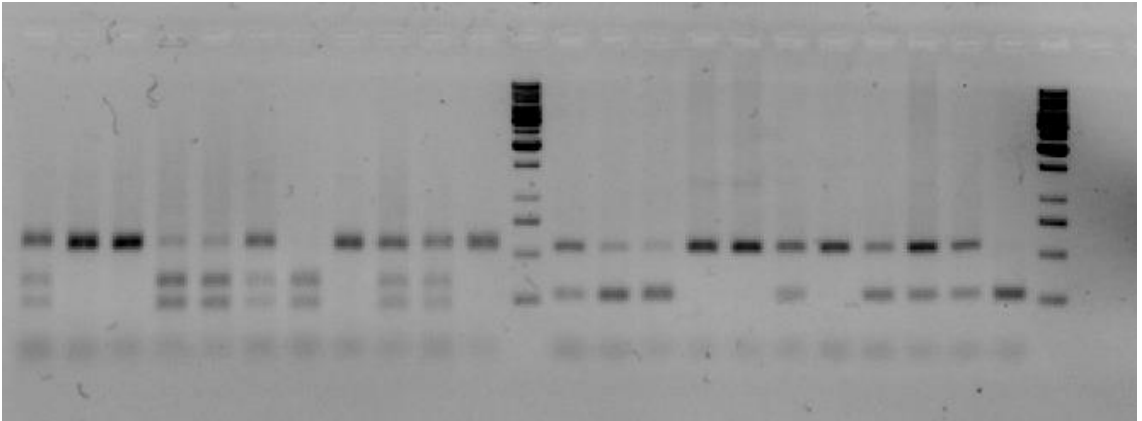
Şekil 5.2. F2 populasyonunda gözlenen L4 bantları

SCAC568 kodominant moleküler markırı kullanılarak F2 populasyonunda yapılan Tsw testlemesi. Kodominant markır sonuçlarına göre PCR ürünü (band) veren bireyler TaqI enzimi ile kesilmiş ve homozigot veya heterozigot TSWV dayanımlı bitkiler belirlenmiştir (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. F2 populasyonunda TaqI enzimi ile kesildikten sonra gözlenen TSW bandları

SCAC568 kodominant moleküler markırı kullanılarak F2 populasyonunda yapılan Tsw testlemesi. Kodominant markırı sonuçlarına göre PCR ürünü (band) veren bireyler aynı zamanda XbaI enzimi ile de kesilmiş ve homozigot veya heterozigot TSWV dayanımlı bitkiler belirlenmiştir (Şekil 5.4).



Şekil 5.4. F2 populasyonunda XbaI enzimi ile kesildikten sonra gözlenen TSW bandları

Kodominant CAPS markır sonuçları F2 aşamasında bile homozigot dayanıklı bireylerin tespitini mümkün kıldığından sadece heterozigot F2 bitkilerinin F3 projenileri tekrar moleküler markır testlemesine tabi tutulmuştur. Halbuki dominant L3 ve L4 markırlarının F2 sonuçlarına göre yapılan seleksiyon sonrası F3 projenilerinin tamamı tekrar markır testlemesine alınmıştır. Çünkü dominant markırlar F2 aşamasında hangi bitkinin dayanıklı hangi bitkinin hassas olduğunu ortaya koymasına rağmen dayanıklı bireylerin hangilerinin homozigot veya heterozigot dayanıklı olduğunu bildirmemektedir.

İlgili moleküler markırları kullanarak TMV ve TSWV ye karşı dayanıklı biber hatları geliştirilmiştir. Klasik ıslah, tek bitki seleksiyonu ve moleküler markır yardımcı seleksiyonun birlikte kullanıldığı bu çalışma ile hızlı ve doğru bir şekilde değişik meyve tiplerinde sözü geçen virüslere dayanıklı hatlar geliştirilmiştir. F2 veya F3 generasyonunda TSVW ve/veya TMV dayanımı bakımından homozigot dayanıklı bulunan bireyler kendileme / tek bitki seleksiyonu ile saflaştırılmış (F6 ve üstü) ve bir çok meyve tipinde TSVW ve/veya TMV dayanımlı hatlar geliştirilmiştir. Bu hatlar hibrit çeşit adaylarına ebeveyn olarak kullanılmaktadır. Hem TMV hemde TSWV dayanımı taşıyan hatlar kullanılarak bir adet kopya (Rosso F1) hibrit biber tescil edilmiş ve dört adet sivri hibrit biber tescil aşamasındadır.

6. KAYNAKLAR

Anonymous 1: Solanaceae

<http://global.britannica.com/EBchecked/topic/552838/Solanaceae>
[Son erişim tarihi: 30.04.2018].

Anonymous 2: Tomato Spotted Wilt Virus Eppo Data Sheets on Quarantine Sheets.
https://www.eppo.int/QUARANTINE/data_sheets/virus/TSWV00_ds.pdf [Son erişim tarihi: 30.05.2018].

Anonymous 3: FAO Statistical Yearbook 2013.

<http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e.PDF> [Son erişim tarihi: 01.05.2017].

Anonymous 4: Zaitlin, M *Dept. of Plant Pathology, Cornell University*

<http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=370> [Son erişim tarihi: 20.05.2017].

Anonymous 5: Wollagar, H. Michigan State University Tobacco Mosaic Virus Hosts.

http://msue.anr.msu.edu/news/common_question_and_answers_about_tobacco_mosaic_virus [Son erişim tarihi: 01.03.2018].

Anonymous 6: Scholthof, K-B.G. 2000. Tobacco mosaic virus.

<https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/viruses/Pages/TobaccoMosaic.aspx> [Son erişim tarihi: 20.02.2017].

Çelik, N. Özalp, R. Çelik, İ. Bazı Biber hat ve Çeşitlerinin Tobacco mosaic tobamovirus (TMV)'e dayanıklılığının Mekanik İnokulasyon ve Elisa Testleri ile belirlenmesi. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 2010, 27(2):1-9.

Edwarson, J.R. and Christie, R.G. 1986. Tomato spotted wilt virus. *Viruses infecting forage legumes*, Vol. III. Florida Agricultural Experiment Stations Monograph Series no. 14, pp. 563-579.

Jorda, C., Ortega, A. and Juarez, M. 1995. New hosts of tomato spotted wilt virus. *Plant Disease* 79, 538.

Kim, H.J., Han, J., Yoo, J.H., Cho, H.J., Kim, B., Development of a Sequence Characteristic Amplified Region Marker linked to the L4 Locus Conferring Broad Spectrum Resistance to Tobamoviruses in Pepper Plants, *Molecules and Cells*, 2007, Vol. 25, No. 2, pp. 205-210.

Molly, J., Paran, I., Hoffman, K., Radwanski, E.R., Livingstone K.D, Grubbe R.C, Aftergoot E, Lapidot M, Moyer J, Genetic mapping of 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, *MPMI* vol:13 no. 6, (2000) pp. 673-682. Publication no. M-2000-0411-01R 2000 The American Phytopathological Society.

Moury B, Pflieger S, Blattes A, Lefebvre V, Palloix A, A Caps marker to assist selection of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in pepper. 2000. *Genome*. 2000 Feb;43(1):137-42.

- Ozalp, R. 2010, Ülkemizde Biber Üretimi ve Biber yetiştiriciliği, http://batem.gov.tr/yayinlar/bilimsel_makaleler/sebzecilik/ramazan_ozalp/biber_yetistiriciligi.pdf [Son erişim tarihi: 15.05.2018].
- Sugita, T., Yamaguchi, K., Sugimura Y., Nagata, R., Yuji, K., Kinoshita, T., Todoroki, A., 2004. Development of SCAR Markers Linked to L^3 gene in *Capsicum*, Breeding Science, 54, 111-115.
- 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 tobamovirus resistance gene L^3 of *Capsicum chinense* in a 400-kb region of R-like genes cluster embedded in highly repetitive sequences Theor Appl Genetic DOI 10.1007/s00122-008-0848-6.
- Van, O.B., Stancanelli, G., Mela, L., Lisa, V., 1993. Role of wild plants and weeds in the epidemiology of tospovirus in Liguria. Informatore Fitopatologico 43 (10), 40-44 (in Italian).
- Yang, H., Wing Y.l., Kang , W., Jahn, M., Kang, B., 2009. Development of SNP markers linked to the L locus in *Capsicum* spp. By a comparative genetic analysis, Mol Breeding, 24, 433–446.

7. EKLER

7.1 F2 dayanıklılık dağılım durumu

		F2	L3	L4	Tsw
4	D11	1,1.	R	R	yok
5	E11	1,2	R	R	yok
6	F11	1,3	R	R	yok
7	G11	1,4	R	R	yok
8	H11	1,5	R	R	yok
1	A12	1,6	R	R	yok
2	B12	1,7	R	R	yok
3	C12	1,8	R	R	yok
4	D12	1,9	R	R	yok
5	E12	1,10.	R	R	yok
6	F12	1,11	R	R	yok
7	G12	1,12	R	R	yok
8	H12	1,13	R	rr	yok
1	A1	1,14	R	rr	yok
2	B1	1,15	R	rr	yok
3	C1	1,16	R	rr	yok
4	D1	1,17	R	rr	yok
5	E1	1,18	R	rr	yok
6	F1	1,19	R	rr	yok
7	G1	1,20.	R	rr	yok
8	H1	1,21	R	rr	yok
1	A2	1,22	R	rr	yok
2	B2	1,23	R	rr	yok
3	C2	1,24	R	rr	yok
4	D2	1,25	R	rr	yok
5	E2	1,26	R	rr	yok
6	F2	2,1		rr	RR
7	G2	2,2	R	rr	RR
8	H2	2,3	R	rr	RR
1	A3	2,4	R	rr	RR
2	B3	2,5		rr	RR
3	C3	2,6	R	rr	Rr
4	D3	2,7		rr	Rr

7.2 F2 dayanıklılık dağılım durumu

		F2	L3	L4	Tsw
5	E3	2,8		rr	Rr
6	F3	2,9		rr	rr
7	G3	2,10.	R	rr	rr
8	H3	2,11	R	rr	Rr
1	A4	5,1		rr	RR
2	B4	5,2	R	rr	Rr
3	C4	5,3	R	rr	RR
4	D4	5,4		rr	rr
5	E4	5,5		rr	Rr
6	F4	5,6	R	rr	RR
7	G4	5,7	R	rr	RR
8	H4	5,8		rr	Rr
1	A5	5,9	R	rr	Rr
2	B5	5,1		rr	Rr
3	C5	5,11	R	rr	rr
4	D5	5,12		rr	rr
5	E5	5,13	R	rr	Rr
1	A1	6,,1	rr	R	yok
6	F5	4,1		rr	RR
7	G5	4,2	R	rr	Rr
8	H5	4,3		rr	rr
1	A6	4,4	R	rr	rr
2	B6	4,5		rr	rr
3	C6	4,6		rr	RR
4	D6	4,7		rr	Rr
5	E6	4,8		rr	Rr
6	F6	4,9		rr	Rr
7	G6	4,10.		rr	rr
8	H6	4,11		rr	rr
1	A7	4,12		rr	Rr
2	B7	8,1	R	rr	Rr

7.3 F2 dayanıklılık dağılım durumu

		F2	L3	L4	Tsw
3	C7	8,2	R	rr	Rr
4	D7	8,3		rr	Rr
5	E7	8,4	R	rr	rr
6	F7	8,5		rr	Rr
7	G7	8,6	R	rr	Rr
8	H7	8,7		rr	Rr
1	A8	8,8	R	rr	Rr
2	B8	8,9	R	rr	RR
3	C8	8,10.	R	rr	Rr
4	D8	8,11	R	rr	Rr
5	E8	8,12	R	rr	Rr
6	F8	8,13		rr	RR
7	G8	8,14	R	rr	Rr
8	H8	8,15	R	rr	Rr
1	A9	8,16	R	rr	Rr
2	B1	9..1	R	rr	yok
3	C1	10..1	R	R	yok
4	D1	10,,2	R	R	yok
5	E1	10,3		R	yok
6	F1	10,4	R	R	yok
7	G1	10,5		R	yok
8	H1	10,6	R	R	yok
1	A2	10,7	R	R	yok
2	B2	10,8	R	R	yok
3	C2	10,9	R	R	yok
4	D2	10,,10	R	R	yok
5	E2	13,1	R	R	yok
6	F2	13,,2	R	R	yok
7	G2	13,3	R	R	yok
8	H2	14,1	R	R	yok
1	A3	14,2	R	R	yok

7.4 F2 dayanıklılık dağılım durumu

		F2	L3	L4	Tsw
2	B3	14,3		R	yok
3	C3	14,4	R	R	yok
4	D3	14,5		R	yok
5	E3	14,6	R	R	yok
6	F3	14,7	R	R	yok
7	G3	14,8	R	R	yok
8	H3	14,9	R	R	yok
1	A4	14,10.	R	R	yok
2	B4	14,11		R	yok
3	C4	14,12	R	R	yok
4	D4	14,13		R	yok
5	E4	14,14		R	yok
6	F4	14,15	R	R	yok
7	G4	14,16	R	R	yok
8	H4	14,17	R	R	yok
1	A5	14,18		R	yok
2	B5	14,19		R	yok
3	C5	14,20.		R	yok
4	D5	14,21	R	R	yok
5	E5	14,22	R	R	yok
6	F5	14,23		R	yok
7	G5	14,24		R	yok
8	H5	14,25	R	R	yok
1	A6	14,26		R	yok
2	B6	14,27		rr	yok
3	C6	14,28		rr	yok
4	D6	14,29	R	rr	yok
5	E6	14,30.	R	rr	yok
6	F6	14,31		rr	yok
7	G6	14,32		rr	yok
8	H6	14,33		R	yok
1	A7	14,34		R	yok
2	B7	16,1	R	R	yok
3	C7	16,2		R	yok

7.5 F2 dayanıklılık dağılım durumu

		F2	L3	L4	Tsw
4	D7	16,3	R	R	yok
5	E7	16,4		R	yok
6	F7	16,5		R	yok
1	A10	18,1	R	yok	Rr
2	B10	18,2	R	yok	Rr
3	C10	18,3	R	yok	rr
4	D10	18,4	R	yok	RR
5	E10	18,5	R	yok	Rr
6	F10	18,6	R	yok	RR
7	G10	18,7		yok	Rr
8	H10	18,8	R	yok	RR
1	A11	18,9	R	yok	Rr
2	B11	18,10.	R	yok	Rr
3	C11	18,11	R	yok	rr
4	D11	18,12	R	yok	rr
5	E11	18,13		yok	rr
6	F11	18,14	R	yok	RR
7	G11	18,15	R	yok	Rr
8	H11	18,16	R	yok	rr
1	A12	18,17		yok	rr
2	B12	18,18	R	yok	rr
3	C12	18,19		yok	rr
4	D12	18,20.	R	yok	RR
5	E12	18,21		yok	RR
6	F12	18,22		yok	Rr
7	G12	18,23	R	yok	rr
8	H12	18,24	R	yok	rr
		F2	L3	L4	Tsw

ÖZGEÇMİŞ

CANSERİ BOZKUŞ

canseribozkus@hotmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2012-2018	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya
Lisans 2003-2007	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Eskişehir

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Biber Islahçısı 2016-Devam Ediyor	Rijk Zwaan Türkiye Islah Departmanı, Antalya
Biber ve Domates Islahçısı 2012-2016	Proto Tohum/Surde Tarım Islah Departmanı, Antalya
2011 Domates Islah Asistanı	Anamas Tohum Islah Departmanı, Antalya
2008-2010 Biber Islahçı Asistanı	Yüksel Tohum Islah ve Tohum Üretim Departmanı, Antalya