

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**DOMATES SARI YAPRAK KIVIRCIKLIK VİRÜSÜ (Ty-3) VE DOMATES
LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (Sw-5)'E DAYANIKLI DOMATES (*Solanum
lycopersicum* L.) HATLARININ MOLEKÜLER MARKER YARDIMLI GERİ
MELEZLEME YÖNTEMİ İLE ISLAH EDİLMESİ**

Sevde Nur YEMŞEN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OCAK 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**DOMATES SARI YAPRAK KIVIRCIKLIK VİRÜSÜ (Ty-3) VE DOMATES
LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (Sw-5)'E DAYANIKLI DOMATES (*Solanum
lycopersicum* L.) HATLARININ MOLEKÜLER MARKER YARDIMLI GERİ
MELEZLEME YÖNTEMİ İLE ISLAH EDİLMESİ**

Sevde Nur YEMŞEN

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

OCAK 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOMATES SARI YAPRAK KIVIRCIKLİK VİRÜSÜ (*Ty-3*) VE DOMATES
LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (*Sw-5*)'E DAYANIKLI DOMATES (*Solanum
lycopersicum* L.) HATLARININ MOLEKÜLER MARKER YARDIMLI GERİ
MELEZLEME YÖNTEMİ İLE ISLAH EDİLMESİ**

Sevde Nur YEMŞEN

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 21/ 01/ 2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nedim MUTLU (Danışman)

Doç. Dr. Hatice İKTEN

Doç. Dr. Hasan PINAR

ÖZET

DOMATES SARI YAPRAK KIVIRCIKLIK VİRÜSÜ (Ty-3) VE DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (Sw-5)'E DAYANIKLI DOMATES (*Solanum lycopersicum* L.) HATLARININ MOLEKÜLER MARKER YARDIMLI GERİ MELEZLEME YÖNTEMİ İLE ISLAH EDİLMESİ

Sevde Nur YEMŞEN

Yüksek Lisans

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nedim MUTLU

Ocak 2021; 61 sayfa

Çeşitli virüsler domates üretiminde önemli verim ve kalite kayıplarına sebep olmaktadır. Bu çalışmanın amacı; verim ve kalite özellikleri bakımından ticarileşme potansiyeli olan fakat önemli iki virüs etmenine hassas bahar yetiştiriciliğine uygun sırik sofralık domates çeşit adayının ebeveyn hattına ilgili virüslere karşı dayanıklılık kazandırmaktır. Domates Solgunluk Virüsü ve Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklığı Virüsüne karşı dayanıklılık veren genler markır yardımcı geriye melezleme programı ile ebeveyn hatta aktarılmıştır. Bunun için, TYLCV'ye ve TSWV'ye hassas "51" numaralı ebeveyn hat çift dayanım taşıyan donör "202 F1" numaralı hibritle melezlenmiştir. Elde edilen ilk popülasyon (pseudo-BC1F1) fide döneminde moleküler markırlar ile taranmış, Ty-3 ve Sw-5 taşıyan bitkiler serada yetiştirilmiş, "51" numaralı tekrarlanan ebeveyne geriye melezlenmiştir. Bitkisel ve agronomik karakterler bakımından üstün olan bitkilerden elde edilen BC2F1 tohumlarından tekrar fide yetiştirilmiş ve yukardaki işlemler tekrar edilmiştir. Çift virüs dayanımlı tekrarlanan ebeveynin özelliklerini sergileyen BC2F1 bitkileri kendilenmiş ve homozigot çift virüs dayanımlı BC2F2 bitkileri elde edilmiştir. Çift dayanımlı (Ty-3 ve Sw-5) bitkiler ilgili moleküler markırlar yardımıyla belirlenmiş ve BC2F2 aşamasına kadar getirilmiştir. Ty-3 ve Sw-5'e genlerini homozigot taşıyan 12 adet bitki tekrarlanan ebeveynin yerine ve çift virüs dayanımlı hibrit domates adaylarının geliştirilmesinde kullanılacaktır. Ty-3 ve Sw-5 geniyle bağlantılı moleküler markırlar kullanılarak ikili dayanımlı hatlar geliştirilmesi, domateste önemli ekonomik kayıplara neden olan TYLCV ve TSWV virüslerine karşı yerli ve dayanıklı çeşit geliştirilmesini sağlayacaktır. Çalışma ile markır destekli seleksiyon yöntemlerini kullanarak Sw-5 ve Ty-3 genlerini taşıyan ebeveyn hatlar geliştirilmiştir. Dayanıklılık genlerini taşıyan hibritlerin ticarileşmesi ile bu etmenlerden kaynaklanan verim ve kalite kayıpları önlenecektir.

ANAHTAR KELİMELER: TYLCV, TSWV, MAS, domates, Sw-5, Ty-3, moleküler markırlar, islah, hibrit tohum, dayanıklılık.

JÜRİ: Prof. Dr. Nedim MUTLU

Doç. Dr. Hatice İKTEN

Doç. Dr. Hasan PINAR

ABSTRACT

BREEDING OF TOMATO LINES RESISTANT TO TOMATO YELLOW LEAF CURL (Ty-3) VIRUS AND TOMATO SPOTTED WILT VIRUS (Sw-5) BY MOLECULAR MARKER ASSISTED BACKCROSSING METHOD

Sevde Nur YEMŞEN

MSc Thesis in Agricultural Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Nedim MUTLU

January 2021; 61 pages

Various viruses cause significant yield and quality losses in tomato production. The aim of this study is; to provide resistance to the related viruses to the parent line of the indeterminate table tomato variety candidate suitable for spring cultivation, which has commercialization potential in terms of yield and quality characteristics but is sensitive to two important virus factors. Genes giving resistance to Tomato Spotted Wilt Virus and Tomato Yellow Leaf Curl Virus were transferred to one of the parent lines by a marker-assisted backcrossing program. For this, the parent line numbered "51" sensitive to TYLCV and TSWV was hybridized with hybrid numbered "202 F1" the donor carrying double resistance. The first population obtained (pseudo-BC1F1) was screened with molecular markers at the seedling stage. Plants bearing *Ty-3* and *Sw-5* were grown in the greenhouse. "51" is backcrossed to the repeated parent. Seedlings were grown again from BC2F1 seeds obtained from plants superior in terms of herbal and agronomic characters and the above procedures were repeated. BC2F1 plants exhibiting double virus resistant repeat parent characteristics were inbred and homozygous double virus resistant BC2F2 plants were obtained. Double strength (*Ty-3* and *Sw-5*) plants were identified with the help of relevant molecular markers and brought up to BC2F2 stage. 12 plants that carry genes homozygous to *Ty-3* and *Sw-5* will be used instead of the repeated parent and will be used in the development of double virus resistant hybrid tomato candidates. Developing dual strength lines using molecular markers linked to the *Ty-3* and *Sw-5* genes will enable the development of native resistant varieties against TYLCV and TSWV viruses that cause significant economic losses in tomato. Parental lines carrying the *Sw-5* and *Ty-3* genes were developed using marker-assisted selection methods. With the commercialization of hybrids carrying resistance genes, the yield and quality losses caused by these factors will be prevented.

KEYWORDS: TYLCV, TSWV, MAS, tomato, *Sw-5*, *Ty-3*, molecular markers, breeding, hybrid seed, resistance.

COMMITTEE: Prof. Dr. Nedim MUTLU

Assoc. Prof. Dr. Hatice İKTEN

Assoc. Prof. Dr. Hasan PINAR

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmam boyunca zengin bakış açısıyla beni aydınlatan, tez konumun belirlenmesi ve bu çalışmanın her aşamasında yönlendirici, destekleyici ve teşvik edici yardımları ve değerli tavsiyeleri için danışman hocam sayın Prof. Dr. Nedim MUTLU'ya sonsuz minnet, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmaları sürecinde özellikle laboratuvar çalışmalarında her türlü desteği sağlayan kıymetli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Tarımsal Biyoteknoloji doktora öğrencisi kıymetli arkadaşım Cansu BÜLBÜL'e, öğretim görevlisi kıymetli arkadaşım Dr. Charles RUHIMBANA'ya, bilgi ve manevi desteklerinden dolayı araştırma görevlisi Dr. İnanç SOYLU hocama saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmaları kapsamında hem arazi hem de laboratuvar çalışmalarında her türlü desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Tarımsal Biyoteknoloji Doktora öğrencisi Yüksek Ziraat Mühendisi kıymetli arkadaşım Alparslan KARABENİZ ve Tarımsal Biyoteknoloji Yüksek Lisans öğrencisi kıymetli arkadaşım Ece AKKÜL'e en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan ve beni destekleyen, aldığım kararlar doğrultusunda benden hiçbir desteği esirgemeyen, kıymetli babam Faruk YEMŞEN'e, kıymetli annem Gülseren YEMŞEN'e ve kıymetli abim Mehmet Rauf YEMŞEN'e sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
ABSTRACT	2
ÖNSÖZ	3
AKADEMİK BEYAN	6
SİMGELER VE KISALTMALAR	7
ŞEKİLLER DİZİNİ	9
ÇİZELGELER DİZİNİ	11
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	4
2.1. Domates Hakkında Genel Bilgiler.....	4
2.2. Domateste Hastalık Yapan Virüsler	5
2.3. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV)	5
2.3.1. TSWV'nin Morfolojik ve Genomik Yapısı	5
2.3.2. TSWV'nin Konukçuları.....	6
2.3.3. TSWV'nin Domateste oluşturduğu Belirtileri	6
2.3.4. TSWV'nin Taşınımı	7
2.3.5. TSWV ile Mücadele.....	9
2.3.6. TSWV Sw-5 Dayanıklılık Geni	9
2.4. Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü (Tomato yellow leaf curl virus- TYLCV).....	10
2.4.1. TYLCV Hakkında Genel Bilgiler	10
2.4.2. TYLCV 'nin Konukçuları	10
2.4.3. TYLCV'nin Belirtileri	10
2.4.4. TYLCV 'nin Taşınımı.....	11
2.4.5. TYLCV ile Mücadele ve Genetik Dayanıklılık Kaynakları.....	12
3. MATERYAL VE METOT.....	13
3.1. Analiz İçin Kullanılan Bitki Materyali	13
3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi	14
3.3. Genomik DNA İzolasyonu	14
3.4. Primerler	17
3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Analizleri ve Koşulları	18
3.6. Agaroz Jel Elektrophorez	19

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	20
4.1. DNA İzolasyonu Sonuçları	20
4.2.PCR Analizleri	20
4.2.1. Domates F1 Bitkilerinin <i>Ty-3</i> ve <i>Sw-5</i> Lokuslarının PCR	
Değerlendirilmesi	20
4.2.2. BC1F1 jenerasyonunda <i>Ty-3</i> ve <i>Sw-5</i> Lokuslarının Markır Yardımlı	
Seleksiyonu	23
4.2.3. Domates BC1F1 Bitkilerinin Geri Melezlenmesinden sonraki elde	
edilen BC2F1 bitkilerinin <i>Ty-3</i> ve <i>Sw-5</i> Lokuslarının Marker Yardımlı	
Seleksiyonu	28
4.2.4. Domates BC2F1 Bitkilerinin Kendilenmesinden sonraki elde edilen BC2F2	
bitkilerinin <i>Ty-3</i> ve <i>Sw-5</i> Lokuslarının PCR Değerlendirilmesi	39
5. SONUÇLAR.....	52
6. KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü (Ty-3) Ve Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Sw-5)’e Dayanıklı Domates (*Solanum Lycopersicum* L.) Hatlarının Moleküler Marker Yardımlı Geri Melezleme Yöntemi ile Islah Edilmesi ” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

21/01/2021

Sevde Nur YEMŞEN

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

dH₂O : Distile su

dNTP : Deoksiribonükleik asit trifosfat

EDTA : Etilen diamin tetra asetikasit

TE : Tris-EDTA

HCl : Hidrojen klorür

MgCl₂ : Magnezyum klorür

M : Molar

mM : Milimolar

Pmol : pikomol

V : Volt

μl : Mikrolitre

ml : Mililitre

gr : Gram

mg : Miligram

Ng : Nanogram

Kısaltmalar

RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele ogaltılmış Polimorfik DNA)
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilen Parça Uzunluk Polimorfizmi)
SRAP	: Sequence-Related Amplified Polymorphism (Sekansa Bağlı ogaltılmış Polimorfizm)
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Region (Dizisi Karakterize Edildikten Sonra Amplifiye Edilmiş Blge)
STS	: Sequence-Tagged Sites (Dizisi Etiketlenmiř Alanlar)
ISSR	: Internal Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları Arası)
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Amplifiye Edilmiş Fragment Uzunluk Polimorfizmi)
SSR	: Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
TE	: Tris – EDTA
Tris	: Trisodyum tuzu
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
CTAB	: Setil tri-metil amonyum bromür
DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
BC	: Backcrossing
TSWV	: Tomato spotted wilt virus
TYLCV	: Tomato yellow leaf curl virus

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.3.1. a) TSWV virüs partikülünün genomik yapısı, b) TSWV enfekteli bir bitki hücresinde elektron mikroskopik virion görüntüsü (Moyer vd.1999)	6
Şekil 2.3.3. a) TSWV'nin domates yaprağındaki belirtileri, b) TSWV'nin domates meyvesindeki belirtileri (Melzer 2012; Jones 2014)	7
Şekil 2.3.4. a) Tospovirüslerin tripsler ile biyolojik döneme göre taşınma periyodu (Whitfield et al. 2005), b) TSWV'nin domates bitkisinde tripslerle taşınması	8
Şekil 2.4.3. TYLCV'nin yapraklardaki belirtisi.....	11
Şekil 3.2. a, b) Domates bitkilerinin yetiştirildiği örtü altından görüntüler	14
Şekil 3.3.1. DNA izolasyonu yapılacak olan bitkilerin taze ve genç yaprakları.....	15
Şekil 3.3.2. a) Santrifüj sonucunda oluşan iki ayrı faz, b) Supernatantın temiz tüplere aktarılması.....	16
Şekil 3.3.3. Pellet Oluşumu.....	17
Şekil 4.1. DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroferezindeki görüntüsü, M: 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-19: domates bitkilerinin DNA örnekleri.....	20
Şekil 4.2.1. F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Ty-3-P6-25 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, M: 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-48: F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip	21
Şekil 4.2.2. F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Sw-5-110 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, M: 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-48: F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip,rr: homozigot resesif genotip	22
Şekil 4.2.3. BC1F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Sw-5-110 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, 1-96: BC1F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip,rr: homozigot resesif genotip	23
Şekil 4.2.4. BC1F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Ty-3-P6-25 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, 1-96: BC1F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip,rr: homozigot resesif genotip	26
Şekil 4.2.5. BC2F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Sw-5-110 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, M: 100 bp ve 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-360: BC2F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip,rr: homozigot resesif	

genotip..... 28

Şekil 4.2.6. BC2F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Ty3-P6-25 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, M: 100 bp ve 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-360: BC2F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip 32

Şekil 4.2.7. BC2F2 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Sw-5-2 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, 1-368: BC2F2 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip, RR: Homozigot dayanıklı genotip..... 40

Şekil 4.2.8. BC2F2 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Ty-3-P6-25 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, 1-368: BC2F2 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip, RR: Homozigot dayanıklı genotip 44



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Dünyadaki en fazla domates elde eden ülkelerin sıralaması (FAO 2018)	4
Çizelge 3.1. Proto Tohum Tarım Ürünleri Pazarlama Ltd. Şti.'den elde edilen domates hat listesi.....	13
Çizelge 3.4.1. Ty-3 ve Sw-5 lokuslarına ait markırlar ve sekansları	17
Çizelge 3.5.1. PCR analizlerinde kullanılan bileşenler	18
Çizelge 3.5.2. Analizlerde kullanılan PCR Protokolü	18
Çizelge 4.2. F1 bitkilerinden ikili virüs dayanımı olan bitkilerin adları ve dayanımları.....	22
Çizelge 4.2.2. BC1F1 bitkilerinin çift virüs dayanımı olan bitkilerin arazi adları ve dayanımları.....	26
Çizelge 4.2.3. TYLCV ve TSWV dayanımlı BC1F1 bitkilerinin tekrarlanan ebeveyne geriye melezlenmesi ile oluşturulan BC2F1 bitkilerinin grupları ve dikim planları.....	27
Çizelge 4.2.4. BC2F1 popülasyonuna ait çift virüs dayanımı olan bitkilerin dikim kodları ve dayanımları	36
Çizelge 4.2.5. Popülasyon F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 için, açılımlarına göre Ty-3 moleküler markır sonuçlarına göre Ki-kare (χ^2) testi, Rr: Heterozigot dayanıklı , RR: Homozigot Dayanıklı, rr; Homozigot hassas (duyarlı)	49
Çizelge 4.2.6. Popülasyon F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 için, açılımlarına göre Sw-5 moleküler markır sonuçlarına göre Ki-kare (χ^2) testi, Rr: Heterozigot dayanıklı , RR: Homozigot Dayanıklı, rr; Homozigot hassas (duyarlı)	50
Çizelge 4.2.7. Popülasyon F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 için, açılımlarına göre Sw-5 ve Ty-3 moleküler markır sonuçlarına göre ikili dayanımlarının Ki-kare (χ^2) testi, Rr: Heterozigot dayanıklı , RR: Homozigot Dayanıklı, rr; Homozigot hassas (duyarlı).....	50

1. GİRİŞ

Bir kültür bitkisi olan Domates (*Solanum lycopersicum* L.), patlıcangil (Solanaceae) ailesindendir ve $2n = 24$ kromozomludur (Spooner et al. 1995). Domates dünyada en çok üretilen ve tüketilen tarım ürünlerinden biridir. Domateslerin birçok yabani ve kültüre alınmış akrabası vardır. Domates, Galapagos Adaları, And Dağları, Ekvador ve Bolivya'ya kadar pek çok bölgede yetiştirilmektedir (Rick 1973; Taylor 1986). Yetiştirilen domateslerin yabani akrabaları rakıma bağlıdır. Geniş bir çeşitlilik gösterir ve aynı zamanda enleminden etkilenir. Tür gelişimi önem taşıyan bir gen bankası oluşturur (Rick ve Holle 1990).

FAO'nun 2014 verilerine göre dünya domates üretimi yaklaşık 170.750.767 tondur. Çin 50 milyon tonla ilk sırada yer alıyor. Hindistan ve Amerika Birleşik Devletleri bu sıranın ardından takip etmektedir. Türkiye, yaklaşık 12,6 milyon ton olan dünya domates üretiminin % 7,2'sini karşılamaktadır. Türkiye'nin üretimi ABD'nin ardından dördüncü sırada yer almaktadır (FAO 2017). Ülkemizin tüm bölgelerinde yetiştirilebilen domatesler ağırlıklı olarak Batı Karadeniz, Akdeniz ve Ege bölgelerinde yetiştirilmektedir. Antalya Türk domates üretiminde birinci sıradadır. Antalya'yı takiben sırayla Mersin ve Muğla illeri takip etmektedir (TÜİK 2017).

Domates meyveleri başlangıçta yeşildir ve solanin içerir. Domatesler olgunlaştıkça solanin kaybolur ve kırmızıya döner. Domates bitkileri K, B1, B6, B, C ve A vitaminleri, niasin, yağ, karbonhidratlar, potasyum, protein, kalsiyum, demir ve bol miktarda likopen içerir. Bu vitaminlerden A, B6, B1, C vitaminlerinin ve likopenin antioksidandan sağladığı faydası sebebiyle kanserin bazı çeşitlerine ve kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkisi söz konusudur (Şalk ve ark. 2008).

Günümüzde Türkiye'de ticari üretim için kullanılan çoğu domates çeşidi çeşitli abiyotik ve biyolojik faktörlere duyarlıdır. Virüsler, nematodlar ve mantarların biyolojik faktörler domates verimini düşürecektir. (Pandey ve ark., 2003). Kültür bitkilerinde yabani otlar, zararlılar ve hastalıkların neden olduğu ürün kayıplarının değeri % 31-42 arasında değişmektedir. Bu kayıpların % 14,1'i hastalıktan kaynaklandı, % 12,2'si yabani otlar ve % 10,2'si ise zararlılar oluşturmuştur. Ürün kayıplarının ekonomik değeri yıllık 550 milyar ABD dolarıdır. (Agrios 2005).

Üretilen domates çeşitlerinde hastalıklara ve zararlı etkenlere karşı direnç genlerinin olmaması, domatesin doğal olarak yetiştirilen çeşitler için bir direnç kaynağı olarak kullanılmasına imkan vermektedir. Yabani domatesler, zararlılara ve hastalıklara direnebilen hastalık direnci genlerine sahiptir. Son yıllarda gerekli direnç genlerinin ekili domateslere aktarılması ve yüksek verim özelliklerinin elde edilmesi çok önemli hale gelmiştir (Pandey ve ark. 2003).

Klasik ıslah programlarında son yıllara kadar, ekili bitkilerin başta bitkisel ürünlerdeki zararlılar ve hastalıklar olmak üzere diğer birçok tarımsal özelliğini iyileştirmede önemli bir faktör haline gelmiştir. Klasik ıslah yöntemleri bazen yetersiz olabilir veya oldukça uzun sürebilir. Bitki biyoteknolojisi yöntemleri Türkiye'de büyük önem kazanmıştır. Tarımsal öneme sahip genler, genetik haritalar aracılığıyla ekili türlere verimli, hızlı ve kolay bir şekilde aktarılabilir (Kandemir ve Yıldırım 2001).

Domates yetiştiriciliğinde hastalıkların ve zararlı etkenlerin neden olduğu verim kaybını azaltmak için kimyasal ve kültürel önlemler alınır. Ancak ürünlerde bulunan pestisit kalıntıları nedeniyle yetiştirme uygulamaları hastalıkları kontrol altına almak için yeterli olmayıp, tekrarlanan uygulamalar ve çevreye zararlı faktörler ile sonuçlanmaktadır. Son yıllarda bitki direnç genlerinin kullanımı çok önemlidir. Dayanıklı çeşitlerin kullanılması en etkili yöntemdir (Agrios 1997).

Açık alanlarda ve kapalı alanlarda meyve büyüklüğüne göre birçok farklı domates çeşidi yetiştirilebilir. 20 gramdan az meyvesi olan çeşitlere kiraz (cherry) domates, 250 gramdan daha ağır olan çeşitlere ise iri (beef) domates adı verilir (Causse ve ark. 2007a). Sofralık ve endüstriyel kullanım için belirleyici çeşitler açık alanlarda üretilirken, seralarda yetiştirilen tipler ise ; tane ,kokteyl, pembe, kiraz, erik ve iri çeşitlerdir. Serada domates yetiştiriciliğinde% 100 F1 hibritleri kullanılmaktadır. Domates çeşitlerinin% 75-80'i taneli ve iri domates çeşitleridir (TTSM 2016).

Domateste F1 melezi, iki farklı ebeveyn arasındaki bir melezen oluşur ve genellikle toplam verim ve erken verim, ebeveynlerinden daha yüksektir. Ek olarak, hibrit domates çeşitleri, her iki ebeveyninden farklı zararlılara direnç genlerini kalıtım olarak alarak daha fazla direnç geni taşır (Fehr 1991).

Domates yetiştiricileri, hibrit çeşit geliştirme seçim aşamasında üreticilerin ve tüketicilerin ihtiyaçlarını göz önünde bulundurmalıdır. Bu nedenle yapılacak iyileştirme araştırması multidisipliner, karmaşık ve uzun bir süreci içerir. İslah sürecini ve seçim aşamasını kısaltmak ve kolaylaştırmak için birçok biyoteknolojik yöntem geliştirilmiştir. Biyoteknolojik yöntemlerden biri olan moleküler markır yardımcı seleksiyon (MAS) kullanılarak, özellikle hastalık ve zararlı direnci ile ilgili markırlar kullanılarak seçim süreci kısaltılabilir ve kolaylaştırılabilir. Bu nedenle zamandan ve iş gücünden tasarruf ederek, fide aşamasında istenilen özelliklere sahip bitkileri kısa sürede tespit etmek ve ıslah araştırması başlangıcında gerektiğinde ebeveyn olarak kullanmak gibi avantajları vardır (Young and Tanksley 1989; Barone et al. 2005).

MAS ayrıca geri çaprazlama programlarında, resesif ve ilave gen transferinde de önemlidir. MAS, aynı yıl ıslah programları için kullanılabildiği gibi gen piramidi araştırmaları için de kullanılmaktadır. (Williams et al. 1993; Foolad 2007).

Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) , kültür bitkilerinde önemli ekonomik öneme sahiptir. İlk on virüs arasında ikinci sıradadır (Scholthof vd. 2011). Bunyaviridae ailesi, orthopoxvirus cinsine dahil olan bir hastalık faktörüdür (Francki vd. 1991).

Domatesin belirli zararlılara ve hastalıklara karşı direnci bir gen tarafından kontrol edilir. Dominant (baskın) karakter göstermektedir. Domateste *S. peruvianum*'da bulunan baskın Sw-5 geni, TSWV'ye direnç kaynağı olarak tanımlanmıştır. İlk olarak ticari domates çeşidi Stevens'a aktarıldı(Stevens vd. 1992). Sw-5 direnç geni melezleme yoluyla ticari domates çeşitlerine aktarıldı. Bitki virüsleri, bitkilerde çalışmasını sağlamak için bir veya daha fazla proteini kodlar(Hull 2002).

Geminiviridae familyasında begomovirus genusuna ait olan Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü (Tomato Yellow Leaf Curl Virus, TYLCV), beyaz sinek, *Bemisia tabaci* vasıtası ile taşınır. Begomovirusler dairesel tek zincirli DNA'dan

oluşan bitki virüsleridir. Çoğu bitki virüsünün RNA genomuna sahip olur. Buna rağmen DNA bulundurmaları onların sıra dışı bir özellikte olduğunu gösterir. Begomovirusler dairesel tek zincirli DNA'dan oluşan bitki virüsleridir. TYLCV genomu her birinin uzunluğu 2.5 ve 3 kb olan bir veya iki halkasal tek zincirli DNA molekülüne sahiptir (DNA-A ve DNA-B) (Czosnek 2007).

Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü domateste yetiştiriciliği sınırlayan virüs hastalıklarının en önemlilerinden birisidir(Pico et al. 1996). TYLCV enfeksiyon şiddetine göre değişmekle birlikte, yetiştirilen ürünün tamamen kaybına neden olabilmektedir (Polston and Anderson 1997).

Bu nedenle bu tez çalışmasında, 'PROTO' tohum firmasında sera için baharlık sezona uygun başarılı bir hassas saf hat domates adayına TSWV ve TYLCV dayanımı kazandırmak için materyal olarak 32.12.2.3.1.11-1 pedigree numaralı domates hattına geri melezleme ve markır yardımlı seleksiyon yöntemiyle aktarılması amaçlanmıştır. Açılım gösteren geri melez (BC) popülasyonlarında heterozigot, BC2F2 jenerasyonunda ise homozigot dayanıklı genotiplerin seleksiyonu moleküler markırlar ile belirlenmesi ve iki virüse de dayanıklı hatlar geliştirilmesi hedeflenmiştir. Böylece çoklu virüs hastalığına dayanıklı hibrit çeşit adaylarının geliştirilmesi mümkün olacaktır. Moleküler markırların seleksiyonda kullanılması çoklu virüs dayanıklı çeşit geliştirme süresini kısaltmış, zamandan ve iş gücünden kazanç sağlanmasına imkan vermiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1.Domates Hakkında Genel Bilgiler

Domates, haploid kromozom sayısı 12 olan diploid bir bitki türüdür. Patates, patlıcan, tütün, petunya ve biber gibi ekonomik değeri yüksek bitkiler dahil 3000'den fazla tür içeren Solanaceae familyasına aittir (Bai Y. and P. Lindhout 2007). 10.000'den fazla domates çeşidi vardır (Peralta and Spooner 2006; Foolad 2007). Domates yetiştiriciliği araştırması yaklaşık 400 yıl önce başladı. Bu nedenle, diğer patlıcangillerle karşılaştırıldığında nispeten yeni bir araştırma alanıdır. Domates yetiştirme araştırmalarının bu kadar geç başlamasının birçok nedeni olabilir, ancak en önemli nedenlerden biri insanların domateslerin bir zamanlar zehirli olduğu düşünülmesidir (Günay 2005).

Bazı ülkeler önemli üretim miktarları ile dünyada ilk sıralarda yer almaktadır. Türkiye 12,6 milyon ton domates üretimi olmaktadır. Çin, Hindistan ve ABD' den sonra Türkiye dördüncü sırada yer alır (Çizelge 2.1.) (FAO 2018).

Çizelge 2.1. Dünyadaki en fazla domates elde eden ülkelerin sıralaması (FAO 2018)

Sıra	Üretim (ton)
Çin	57 milyon
Hindistan	19 milyon
ABD	15 milyon
Türkiye	12 milyon
Mısır	8 milyon
İran	6 milyon
İtalya	5 milyon
İspanya	4 milyon
Brezilya	3.8 milyon
Meksika	3.4 milyon

2.2.Domateste Hastalık Yapan Virüsler

Domates üretiminde hastalık ve zararlılar ciddi ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Hastalıkların neden olduğu önemli ekonomik kayıpların başında viral hastalıklar gelir. Virüs hastalıklarının oluşturdukları zararlar bölgesel, mevsimsel ve üründen ürüne değişiklik gösterir. Domateste görülen viral hastalıklarda son yıllarda artış gözlemlenmektedir (Şevik 2011).

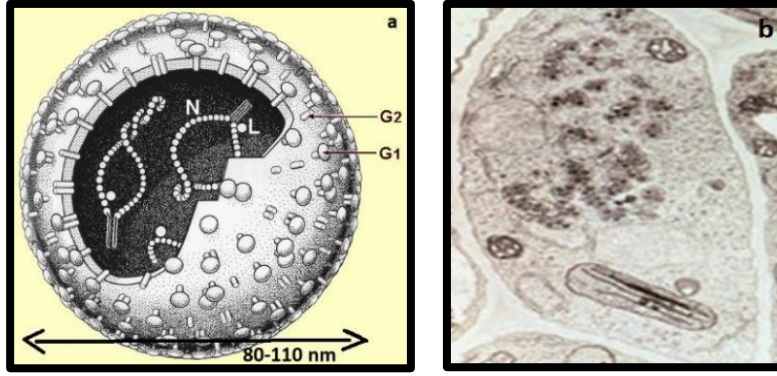
Domates üretim alanlarında görülen en önemli viral hastalık faktörleri; Hıyar mozaik virüsü ,Domates mozaik virüsü, Patates Y virüsü , Patates X virüsü, Domates sarı yaprak kıvrıcılık virüsü, Domates halkalı leke virüsü ve Domates lekeli solgunluk virüsü 'dür (Valizadeh vd. 2011).

2.3. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV)

2.3.1. TSWV'nin Morfolojik ve Genomik Yapısı

TSWV'nin virionları, diğer bitki virüsleri ile karşılaştırıldığında daha karmaşık bir yapıdadır. Bu yapı TSWV'yi diğer bitki virüslerden ayıran en belirgin özelliktir (De Haan et al. 1990).

Virionlar dış görünüşleri ile küremsi yapıları andırmakla beraber yaklaşık 80-110 nm çapında iki adet viral glikoprotein olan G1 ve G2'den oluşan yüzey çıkıntılarına sahiptir (Şekil 2.3.1). TSWV partikülleri% 5 nükleik asit (RNA),% 70 protein,% 20 lipid ve% 5 karbonhidrat içerir. Viral yüzey (kabuk) üzerinde 3 viral RNA bulunmaktadır ve her biri boyut olarak birbirinden farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Büyük (L), orta (M), küçük (S) olarak isimlendirilmiştir (Adkins 2000). Kabuk içinde bulunan glikoproteinler virionları olgunlaşmasını sağlar ve beraber tripslerin TSWV'yi tanınmasında rol oynar (Pappu ve ark. 2009).



Şekil 2.3.1. a) TSWV virüs partikülünün genomik yapısı, **b)** TSWV enfekteli bir bitki hücresinde elektron mikroskopik virion görüntüsü (Moyer vd.1999)

2.3.2. TSWV'nin Konukçuları

Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün geniş bir konukçu yelpazesine sahip olması yoğun bir epidemiye neden olur. Monokotiledon ve dikotiledonlarda 80'den fazla familyaya ve 700'den fazla farklı bitki türüne sahip geniş bir konukçu yelpazesine sahiptir (Gordillo et al. 2008). Sebze grupları arasında Solanacea ailesi, virüsün ana konakçılarını barındırmakta ve 100'den fazla türde hastalıklara neden olmaktadır. Domates ve marul, virüsün hastalığa neden olduğu başlıca bitkilerdir. Ancak patlıcan, enginar, hıyar, kavun, karpuz, yer fıstığı, soya, tütün ve patates gibi tarımsal önemi yüksek hastalıklar da görülmektedir. (Rosello ve ark. 1996; Şevik 2011). Tropikal ve subtropikal bölgelerde süs bitkileri, yabani otlar ve kültür bitkilerinde yoğun bir epidemi oluşturur (Wilson et al. 2000; Oğuz ve ark. 2009).

2.3.3. TSWV'nin Domateste oluşturduğu Belirtileri

Domates bitkisinde TSWV; bronzlaşan genç yapraklar, bitki üzerinde küçük ve çok sayıda siyah nokta, solma ve cücelik, bitkide siyah çizgiler şeklinde lekeler, meyve üzerinde klorotik halkalar lekelerin oluşumu, meyvelerde deformasyon ve sürgün uçlarından geriye doğru ölümler gerçekleşerek domates meyvelerinin kalite ve veriminde azalmaya neden olur (Şekil 2.3.3). Böylelikle deforme olmuş meyve taze tüketim için kullanılamaz, ekonomik değerini yitirir ve satılması zor hatta imkânsız hale gelir. Bu nedenle TSWV'nin domateste önemli bir virüs olduğu ve domatesin ülkemizde önemli bir sebze olduğu tespit edilmiştir ki bu da şimdi ve gelecekte karşılaşılabilecek sorunların önlenmesi açısından oldukça önemlidir (Korkmaz ve Turhan 2006).



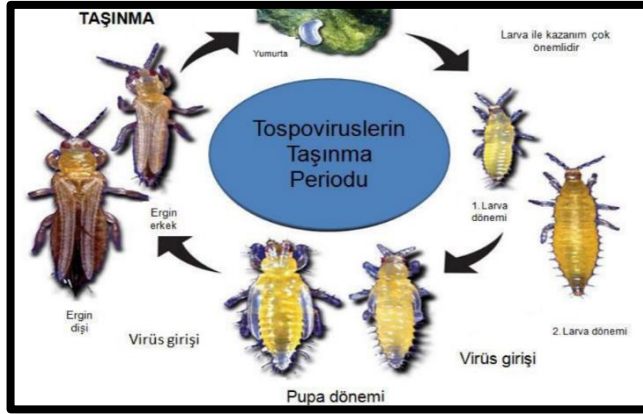
Şekil 2.3.3. a) TSWV'nin domates yaprağındaki belirtileri, **b)** TSWV'nin domates meyvesindeki belirtileri (Melzer 2012; Jones 2014)

2.3.4. TSWV'nin Taşınımı

TSWV mekanik olarak ve tripsler tarafından taşınır (Şekil 2.3.4). Aş, böcekler, akarlar , nematodlar ve tohumlar gibi vektörler yoluyla bitkilere yayılır (Fereres ve Raccach 2009). Bazı bitki tohumlarının tohum kabuğunda TSWV'nin taşıma oranı düşüktür. Bu nedenle, TSWV epidemiyolojisinde tohum ile taşınması çok önemli değildir. Raporlara göre, TSWV taşıyan domates tohumlarının oranı % 1 kadar düşüktür (Le 1970).

TSWV, *Thysanoptera* takımı *Thripidae* familyası içinde olan 3 cinse (*Trips*, *Frankliniella*, *Scirtotrips*) ait 9 trips türü ile sirkülatif ve propagatif olarak taşınmaktadır (Şevik, 2015). TSWV'nin vektörde replikasyonu, orta bağırsak ve salgı kanalı yoluyla iki aşamada gerçekleştirilir (German vd. 1992).

Tripsler gelişimlerini 4 evrede oluşturur (Şekil 2.3.4). Bunlar yumurta, larva, pupa ve ergin evreleridir. İlk oluşan larva yumurtadan 7 gün sonunda çıkar. Yaklaşık 7 gün beslendikten sonra pupa dönemine geçerler. Pupa dönemi yaklaşık 3–4 gün sürer ve pupadan çıktıktan sonra ergin döneme giren tripsler beslenmeye devam etmektedirler. Erginin yaşam süresi ortam sıcaklığına bağlı 20 ile 40 gün arasında değişir ve optimum sıcaklık gereksinimi 25-27 ° C ve nem gereksinimi % 70'tir (Şevik 2007).



(a)



(b)

Şekil 2.3.4. a) Tospovirüslerin tripsler ile biyolojik döneme göre taşınma periyodu (Whitfield et al. 2005), **b)** TSWV'nin domates bitkisinde tripslerle taşınması

Virüsün yayılabilmesi için, vektöre larva aşamasında virüs bulaşmış olması gerekir. Pupa aşamasına geçmeden önce, virüs partikülleri salgı kanallarından, ortakanal epitel hücrelerinden ve orta bağırsak kaslarından geçmelidir. Tripslerin larva aşamasında virüsü emmesi için yaprak epidermal hücrelerinin yüzeyinde 15-30 dakika beslenmesi gerekir (Wijkamp ve Peters 1993).

Trips virüsü, edinildikten sonraki yaşam döngüsü boyunca taşıyabilir. (Nagata vd. 2002). Fakat virüs partikülleri vektör yumurtaya giremez. (Wijkamp vd. 1996).

2.3.5. TSWV ile Mücadele

Domates lekeli solgunluğun doğrudan kimyasal mücadele yöntemi yoktur. Tripsler için kimyasal mücadele yöntemleri mevcut olmasına rağmen, birçok trips türü kimyasal ilaçlara karşı bağışıklık/ direnç kazanmıştır(Oğuz ve ark. 2009). İlk tercih edilmesi gereken kimyasal ilaçlar tripslerin beslenmesini bozanlardır. Tek başına kimyasal mücadele nihai çözüm değildir. Kimyasal kontrole ek olarak, kültürel faktörlerin de virüsün yayılmasını sınırladığı düşünülebilir. Özellikle seralarda feromon tuzakları kurulmalı ve trips girmesini önlemek için tül çekilmelidir (Şevik 2008). Ayrıca virüse konukçuluk edebilecek yabancı otlar ve süs bitkileri yetiştirme alanından uzaklaştırılmalıdır. Hastalıklı bitkiler ekim alanından uzaklaştırılmalı ve yakılarak imha edilmelidir. Günümüzde genetik dayanıklılık yöntemleri domates lekeli solgunluk virüsüne karşı en etkili yöntem haline gelmiştir (Şevik 2015). Biyolojik mücadelede predatör akar *Neoseiulus cucumeri* ile '*Orius laevigatus*' ve '*Amblyseius swirskii*' tripsler ile mücadelede avcı böcek türleri arasında başarı oranı daha yüksek olmaları sebebiyle ön plana çıkmaktadır (Arthurs ve ark. 2009; Şevik 2015).

Greenough vd. (1990), tripslerin çevreden uzaklaştırılmasında plastik film malç kullanımı ile TSWV'nin domates, biber ve tütün bitkilerindeki etkinliği arasındaki ilişki incelenmiştir. Domates yetiştiriciliği için alüminyum-plastik malçtaki trips sayısı% 68 azalırken, TSWV yoğunluğu% 64 azalmıştır. Biber ekiminde kullanılan malçta trips sayısı% 60, TSWV yoğunluğu ise% 78 azaltıldı. Biber, domates ve tütünün birlikte yetiştigi plastik kaplı alanda TSWV yoğunluğu% 60, trips sayısı% 33 azalmıştır. Florida'da 2000-2002 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada, UV yansıtıcı malç kaplamaların trips kolonizasyonunu ve her 3 yılda bir TSWV yoğunluğunu azaltabildiği bildirilmiştir (Momol vd. 2004).

2.3.6. TSWV Sw-5 Dayanıklılık Geni

Günümüzde TSWV ile mücadelenin en etkili yolu, dirençli veya toleranslı çeşitler kullanmaktır. TSWV'ye dirençli domates melezlerinin kullanılması virüsün neden olduğu ekonomik kayıpları önleyebilir. *Orthotospovirus*'lere direnç sağlayan virüs türevi genler içeren transgenik bitkiler geliştirilmiştir (Çandar ve Erkan 2011).

Sw-5 geni, TSWV'ye direnç kaynağı olarak kullanılır. Gen, domatesin yabancı akrabalarından biri olan *Solanum peruvianum*'da bulundu ve ticari Stevens (LA3667) çeşidine aktarıldı (Spasova vd. 2001; Barone 2004; Garland vd. 2005). Bu genin önceki çalışmalarında hastalık direnci, virüslerin mekanik olarak inokulasyonu ile belirlendi (Spasova vd. 2001).

Sw-5'in "gen karşı gen" hipotezine göre TSWV, direnç sağlayan dominant bir gendir. Bitkilerde, Sw-5 direnç geni, TSWV'de Avr genine sahip virüslerin yalnızca R proteini tarafından tanındığını algılanır. Genel olarak, tek bir viral Avr proteini, R geni aracılığıyla dayanıklılığı tetiklemekten sorumludur (Hallwass vd. 2014).

Sw-5 geni, domates kromozomu 9'un telomerine çok yakındır ve RFLP markırının CT220 ve CT71'e çok yakındır. Sw-5 geni, dağınık bir gen ailesine aittir. Sw-5 genine yakın olan bu familyanın diğer üyeleri 9. kromozomun diğer bölgelerinde ve 12. kromozomda yer almaktadır (Garland vd. 2005).

2.4.Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü (Tomato yellow leaf curl virus-TYLCV)

2.4.1.TYLCV Hakkında Genel Bilgiler

İsrail'de 1930'lardan itibaren görülmeye başlanmıştır.1960'lı yıllara kadar teşhisi yapılamamıştır. İlk defa 1964 yılında Cohen ve Harpaz tarafından tespiti bildirilmiştir. Bu tarihten günümüze kadar Orta Doğuda yayılmıştır ve etkisi gözlemlenmiştir. Özellikle Kuzey ve Orta Afrika ile Güneydoğu Asya'da domates üretimi yapılan birçok alanda sıklıkla rapor edilmiştir. Hastalık son 10 yılda Avrupa'nın güneyinde salgınlar meydana getirmiştir (Labidot et al. 2001).

Geçmişte tropikal ve subtropikal bölgelerdeki birçok ülkede% 100'e varan ürün kayıplarına yol açarak 10-450 milyon ABD doları ekonomik zarara neden olmuştur (Awasthi 2020).

TYLCV, Begomovirus cinsine aittir. Tek sarmallı dairesel DNA genomuna ve ikozahedral parçacık yapısına sahip bir virüstür (Díaz-Pendón vd. 2019). Çalışmalarda, virüs domates bitkisinin floem ve mezofil hücrelerinde bulunmuştur (Michelson et al. 1997).

TYLCV'nin neden olduğu bulaşıcı bitki hastalıkları ilk olarak ağırlıklı olarak Akdeniz iklimine sahip olduğu ılıman alanlarda, tropikal ve subtropikal bölgelerde bildirilmiştir (Czosnek and Laterrot, 1997). Günümüzde iklim koşulları hızla değişirken, hastalık yayılımı her mevsimde görülmüştür (TTSM 2017).

2.4.2. TYLCV 'nin Konukçuları

TYLCV, tütün (*Nicotiana tabacum*), biber (*Capsicum annuum*), taze fasulye (*Phaseolus vulgaris*) mercimek, bakla gibi kültür bitkilerinin yanı sıra petunya (*Petunia x hybrida*), lisiyantis ve boru çiçeği gibi süs bitkileri ile ısırganotu, yabani otlar da dahil olmak üzere köpek üzümeleri gibi birçok konakçı vardır (Diaz-Pendon et al. 2010).Virüsün temel konukçusu domatestir (*Lycopersicon esculentum*). Konukçulardan bir tanesi de tütündür buna rağmen, bu bitkide belirti göstermemektedir (KKGM 2016).

2.4.3. TYLCV'nin Belirtileri

TYLCV, tütün beyazsineği (*Bemisia tabaci*) ile taşınmaktadır. *B. tabaci* dünyada 175'ten fazla ülkede rapor edilmesinden şimdiye istilacı bir zararlı olarak

bilinmektedir. Ayrıca 24' ten fazla türe sahiptir ve böyle olması mücadelesini oldukça zorlaştırmaktadır (De Barro et al. 2011).

TYLCV'nin yapraklardaki ilk belirtisi yaprak kenarlarında ve damar aralarında oluşan sararmalardır. Hastalanmış yaprakların gelişmesi durarak, içe doğru kıvrılır ve bitki büyümesi zayıflar (Aybak et al. 2007). Yaprak ayası büyük ölçüde küçülür. Olgunlaşan meyvelerde zarara neden olmaz ama yeni meyve oluşumu engellemektedir. Çiçeklenme öncesi dönemde hastalığa yakalanmış olan bitkilerin bodurlaştığı görülmüştür. Önemli oranda ürün kaybı olmaktadır (Moriones et al. 2000)(Şekil 2.4.3.).



Şekil 2.4.3. TYLCV'nin yapraklardaki belirtisi

2.4.4. TYLCV 'nin Taşınımı

TYLCV, beyaz sinek taşıyıcısı (*Bemisia tabaci*) aracılığıyla domates bitkilerine yayılır. TYLCV kontrol edilmesi, çok pahalıdır ve domates yetiştiriciliğinde zordur. Geçmişten günümüze, bu virüsle savaşmak için beyaz sinekleri kontrol etmek, yabancı otları ortadan kaldırmak ve yetiştiricilik sezonunu değiştirmek gibi çeşitli yöntemler kullanılmıştır (Kil vd. 2016).

Beyazsineğin emgi ile virüsü bünyesine alması, yaklaşık 10 ile 60 dakikalık bir beslenme gerektirir. Sineğin nimf dönemindeki beslenmeyle bünyesine virüs alır. Ergin dönemde de sineğin bünyesinde taşınmaya devam eder. Virüs vektör bünyesine alındıktan sonra, 20-24 saat bekleme (latent) dönemi olur. Virüsün agresifliğine bağlı olmak üzere 10-12 gün, en fazla ise 20 gün hastalık yapabilme özelliği vardır. Bu süreler sonrasında, virüs vektörü olan beyaz sineğin bünyesinde aktive olmaktadır. Bir sonraki jenerasyona aktarılmamaktadır (Topakcı ve ark. 2019).

TYLCV, birincil olarak beyaz sineklerle taşınır. Bu duruma yanı sıra virüsün belirli bir alana sekonder olarak yayılması oldukça yaygındır. Virüs mekanik olarak bulaşmaz, bu sebeple çalışanlar tarafından bulaşık bitkilerden sağlıklı bitkilere bu şekilde yayılma olasılığı oldukça düşüktür. Fakat seyrek te olsa, mekanik olarak taşınabildiği durumlar söz konusu olup rapor edilmiştir (GTHB 2008).

2.4.5. TYLCV ile Mücadele ve Genetik Dayanıklılık Kaynakları

TYLCV direnç araştırmasının ilk aşamasında yapılan araştırmaya göre, *S. lycopersicum*'dan domatesinden elde edilen tüm genotiplerin hastalığa duyarlı olduğu tespit edildi, bu nedenle ıslah araştırması, yabani domates türlerinin direnç genlerini yetiştiriciliği yapılan kültür çeşitlerine aktarmanın odağı haline geldi. *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum*, *S. chilense*, *S. habrochaites* ve *S. cheesmaniae* yabani domateslerin hastalık dayanıklılık mekanizması ve dayanıklılık oranı farklıdır (Pico et al. 1996; Scott 2006; Ji et al. 2007a, 2007b, 2007c, 2008, 2009a, 2009b; Vidavski 2007).

Şimdiye kadar, farklı yabani domates türlerinde birçok dayanıklılık lokusu konumlandırıldı. Dayanıklılıkta etkili genler dominant *Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3*, *Ty-4* ve resesif *ty-5* genleridir (Zamir et al. 1994; Hanson et al. 2000; Ji et al. 2007a, 2007b, 2007c, 2009; Anbinder et al. 2009). 6.kromozomda *Ty-1* ve *Ty-3* genleri , 11.kromozomda *Ty-2* geni, ve 4.kromozomda *ty-5* geni bulunur.

Castro et al. (2007) *Ty-1* geni için yapılan bir çalışmada JB-1 markırı için 3 tane allel bant tespit etmişlerdir. Allel 1 400 bp, allel 2 400 bp'den daha fazla baz büyüklüğünde, allel 3 ise 500 bp uzunluğunda bant vermiştir. Allel 2 ve 3'ün allel 1 üzerine dominant veya ko-dominant olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada JB-1 markırının *Ty-1* genine çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Çalışmadaki *Ty-1* geni olmayan materyal, bu allel 3 bandını hiçbir şekilde göstermemiştir. *Ty-1* homozigot dirençli bitkilerin *Mi* genini taşımadığı belirlenmiştir.

Yapılan ilk çalışmalarda, *Ty-1* ve *Ty-3* geni *S. chilense*'den aktarılmıştır. *Ty-1* ve *Ty-3* genleri 6.kromozom üzerinde birbirlerine çok yakın bölgede oldukları Ji et al. (2007) ve Castro et al. (2007) tarafından rapor edilmiş olmasına rağmen, başka bir çalışmada Verlaan et al. (2013), *Ty-1* ve *Ty-3* genlerini aynı genin allelleri olduğunu tespit etmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Analiz İçin Kullanılan Bitki Materyali

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji laboratuvarı ile Proto Tohum seralarında yürütülmüştür. TYLCV'ye ve TSWV'ye hassas “51” numaralı ebeveyn hat ve çift dayanım taşıyan donör “202 F1” numaralı hibrit kullanılmıştır. Arazi hat listesi Çizelge 3.1.' gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Proto Tohum Tarım Ürünleri Pazarlama Ltd. Şti.'den elde edilen domates hat listesi

Kod	Arazi Hat Adı	Kod	Arazi Hat Adı
1	51	10	213
2	200	11	215
3	201	12	217
4	202	13	218
5	204	14	219
6	205	15	220
7	207	16	796
8	209	17	797
9	212		

3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Bu çalışma kapsamında kullanılan domates bitkileri Proto Tohum Tarım Ürünleri Pazarlama Ltd. Şti. bünyesinde örtü altında yetiştirilmiştir (Şekil 3.2.).



(a)



(b)

Şekil 3.2. a, b) Domates bitkilerinin yetiştirildiği örtü altından görüntüler

3.3. Genomik DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu Doyle and Doyle (1987) tarafından geliştirilen CTAB (hexadecyltrimethyl ammonium bromide) izolasyon metoduna göre yapılmıştır.

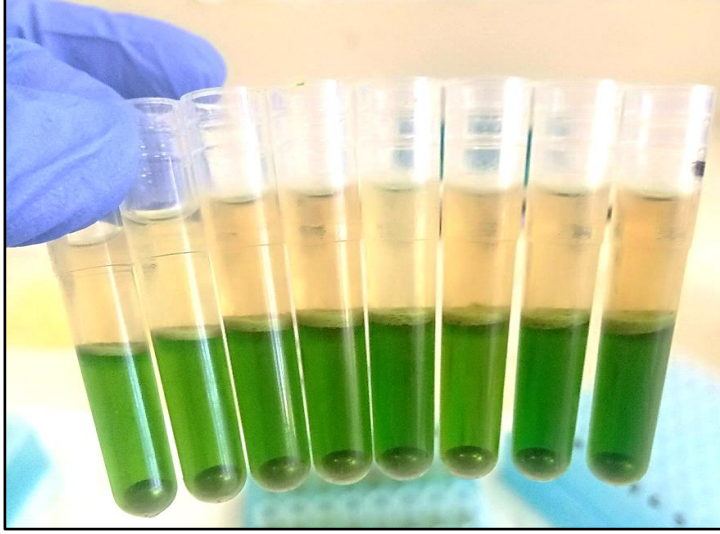
DNA İzolasyonu Yöntemi aşamaları;

1. DNA izolasyonu yapılacak olan bitkilerin taze ve genç yapraklarından 0.1 g doku alınıp 1,5 ml'lik ependorf tüplere konulmuştur. 1mm büyüklüğünde paslanmaz çelik bilye ilave edilmiştir (Şekil 3.3.1).
2. Her tüpe 150 µl %2'lik CTAB (5 M NaCl, 1 M Tris-HCl (pH 8), %2 CTAB, 0,5 M ve 1.2 µl beta-mercaptoethanol) çözeltisi eklenerek "tissue lyser (doku ezici)" cihazına konulup dokular ezilmiştir.
3. Ezilen dokuların olduğu tüpler 30 sn 4 000 rpm (devir/dakika)'de santrifüjlenir.

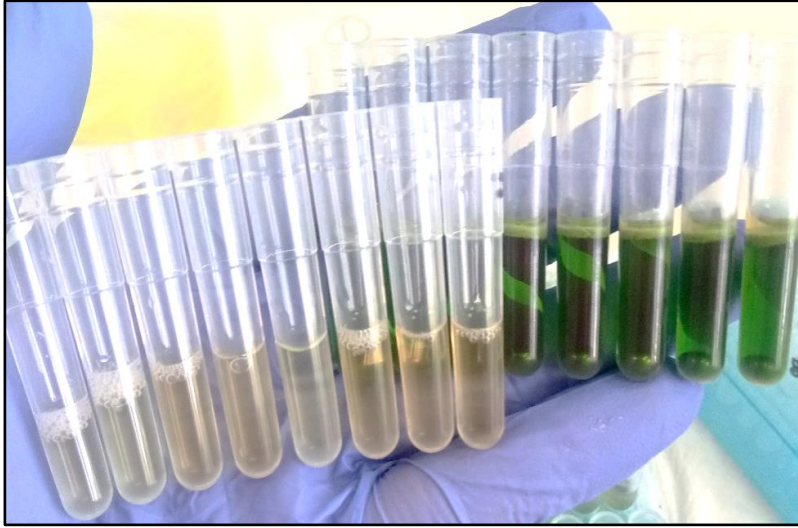
4. Üzerlerine 300 µl CTAB çözeltisi eklenir. Elde edilen karışım 65°C’de 60 dakika süreyle inkübe edilmiştir.
5. Daha sonra tüplere “chloroform-isoamyl alcohol” (24:1) solüsyonundan 450 µl eklenerek alt üst edip çevirerek karıştırılmıştır ve 20 dakika 4 000 rpm (devir/dakika)’da santrifüj edilmiştir.
6. Santrifüj sonucunda oluşan iki ayrı fazdan DNA’nın olduğu kabul edilip üstteki sıvı kısım (supernatant) mikropipet yardımıyla temiz tüplere alınmıştır (Şekil 3.3.2.). Üzerine -20°C’de bekletilmiş 300 µl isopropanol eklenmiştir ve alt üst edip çevirerek karıştırılmıştır. Daha sonra bir gece boyunca -20°C’de bekletilmiştir.
7. Bekletilen tüpler 20 dakika 4 000 rpm (devir/dakika)’da santrifüj edilip tüplerin tabanında pellet oluşumu sağlanmıştır (Şekil 3.3.3).
8. Oluşan pelletlerdeki çözelti dikkatlice dökülüp yerine 200 µl etanol konularak tekrar 20 dakika santrifüj yapılarak DNA yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem iki defa tekrarlandıktan sonra tüplerdeki pelletin düşmemesine dikkat edilerek içerisindeki çözelti döküldükten sonra yarım saat kurumaya bırakılmıştır.
9. Kuruyan tüplere 100 µl distile (steril) su eklenerek stok DNA çözeltisi elde edilmiştir. +4 °C’de bir gece bekletilmiştir.



Şekil 3.3.1. DNA izolasyonu yapılacak olan bitkilerin taze ve genç yaprakları



(a)



(b)

Şekil 3.3.2. a) Santrifüj sonucunda oluşan iki ayrı faz, **b)** Supernetantın temiz tüplere aktarılması



Şekil 3.3.3. Pellet Oluşumu

3.4. Primerler

Daha önceden yapılmış çalışmalarda Sw-5 lokusu ve Ty-3 lokusuyla bağlantılı bulunan markırların çoğaltılması amacıyla geliştirilen TSWV'ne ve TVLCV'ne dayanıklılığın belirlenmesinde başarılı bir şekilde kullanıldıkları literatürde belirtilen primerlerden yararlanılmıştır (Jensen et al.2007; Ji et al. 2007 a, b, c; Dianese et al. 2010)(Çizelge 3.4.1).

Çizelge 3.4.1. Ty-3 ve Sw-5 lokuslarına ait markırlar ve sekansları

Virüs Adı	Gen	Markır Tipi	Markır Adı	Sekanslar (5'-3')	Literatür
TYLCV	Ty-3	SCAR-Co dominant	P6-25-F2	GGT AGT GGA AAT GAT GCT GCT C	Jensen et al. 2007; Ji et al. 2007 a, b, c.
			P6-25-R5	GCT CTG CCT ATT GTC CCA TAT ATA ACC	
TSWV	Sw-5	SCAR-Co dominant	Sw-5-2- F	AAT TAG GTT CTT GAA GCC CAT CT	Dianese et al. 2010
			Sw-5-2- R	TTC CGC ATC AGC CAA TAG TGT	
TSWV	Sw-5	SCAR-Co dominant	Sw-5-110- F	TAC GAA AAT CTA GTA ACT CCG CCG	
			Sw-5-110- R	CTA TAA GGT ACC TCT AAT TGA GG	

3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Analizleri ve Koşulları

Bu çalışmada kullanılan Ty-3-P6-25 , Sw-5-2, ve Sw-5-110 markırları belirlenmiş bir PCR protokolüne göre çalışılmıştır. Çizelge 3.5.1, Çizelge 3.5.2.).

Çizelge 3.5.1. PCR analizlerinde kullanılan bileşenler

Bileşenler	Miktar
DNA	3 µL
10x Taq Buffer	1,5 µL
25Mm MgCl ₂	1,5 µL
5 U/µL Taq DNA polymerase	0,1 µL
5 Mm dNTP	1,5 µL
Primeri (Forward)	0,5 µL
Primeri (Reverse)	0,5 µL
H ₂ O	6,4 µL
TOPLAM	15 µL

Çizelge 3.5.2. Analizlerde kullanılan PCR Protokolü

Aşama Sırası	PCR Aşamaları	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
1	Ön denatürasyon	94.0°C	3 dakika	1
2	Denatürasyon	94.0°C	30 saniye	35
3	Renatürasyon (Annealing)	53°C -58°C	59 saniye	
4	Uzama (Extension)	72°C	59 saniye	
5	Son uzama	72°C	10 dakika	1
6		4°C	∞	

3.6. Agaroz Jel Elektroforez

PCR ürünleri agaroz jel elektroforez yöntemiyle ayrıştırılarak analiz edilmiştir. PCR sonrası dayanıklılık genlerine bağlı olarak amplifiye edilen DNA fragmentleri UV ışınları altında görüntülenebilmesi için %2'lik jel (400 ml TBE tampon çözeltisi, 8 gr agaroz, 5 µL etidyum bromid) kullanılmıştır.

Jeli hazırlarken kullanılan TBE tampon çözeltisi için ilk önce 108 gr tris, 55 gr borik asit ve 7.5 gr EDTA'nın 1000 ml saf suda çözülmesi ile 10X'lik stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra bu 10X'lik çözelti 9 L saf su ile karıştırılarak 1X'lik seyreltilmiş çözelti olarak kullanılmıştır.

PCR ürünlerinin üzerine 5 µL yükleme boyası (15 ml gliserol, 35 ml saf su, 0.05 g bromofenol blue) eklenmiştir. PCR ürünü ve yükleme boyası karışımı jelin kuyucuklarına yüklenmiştir. Ürünler 110 V elektrik akımı ile yaklaşık 3-4 saat 1X'lik TBE tampon çözeltisinin içerisinde yürütülmüştür.

Jel yüklemelerinin hepsinde ilk kuyucuklara 3 µL 1 kb'lik DNA Ladder (Thermo, GeneRuler) yüklemesi yapılmıştır.

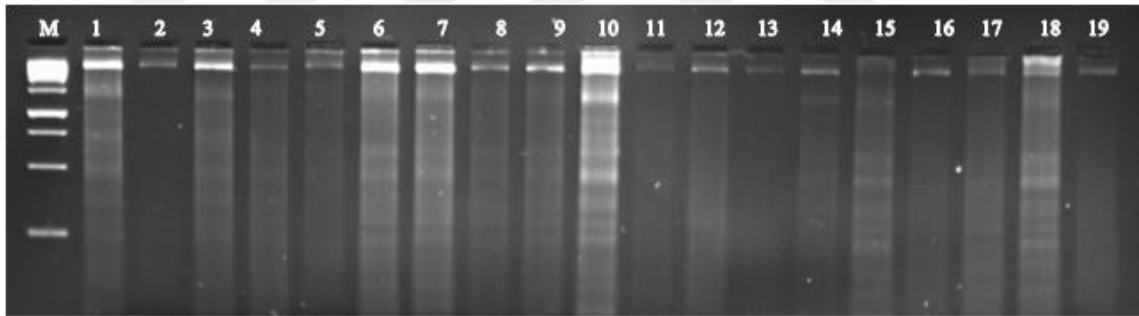
Yürütülen jelin görüntülenmesi için Minilumi, DNR Bio-Imaging Systems markalı görüntüleme cihazı kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. DNA İzolasyonu Sonuçları

Domates bitkilerinden yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda kullanılan bütün domates genotiplerinde genomik DNA'lar başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Analizlerden önce domates bitkilerinden izole edilen DNA'ların kalitesi, %1'lik agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir. Domates örneklerinden DNA izolasyonu sonucunda elde edilen örnek genomik DNA'lar Şekil 4.1.'de gösterilmekte olup tüm örneklerden benzer görüntü elde edilmiştir. Jel görüntüsü yakından incelendiğinde tüm örneklerden genomik DNA elde edilmiştir. Buna rağmen elde edilen DNA miktarlarında farklılıklar görülmüştür. Bu farklılıkların sebebi başlangıçta alınan genç yaprak dokusunda ki miktarlarında farklılıklardan veya izolasyon aşamalarındaki pipetaj farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Elde edilen DNA miktarlarında bazı küçük farklılıklar bulunsa da tüm örneklerden PCR'da kullanılacak saflık ve miktarda DNA elde edilmiştir.

Stok DNA, moleküler analizlerde kullanılmak üzere 1:20 oranında distile su ile seyreltilmiştir.

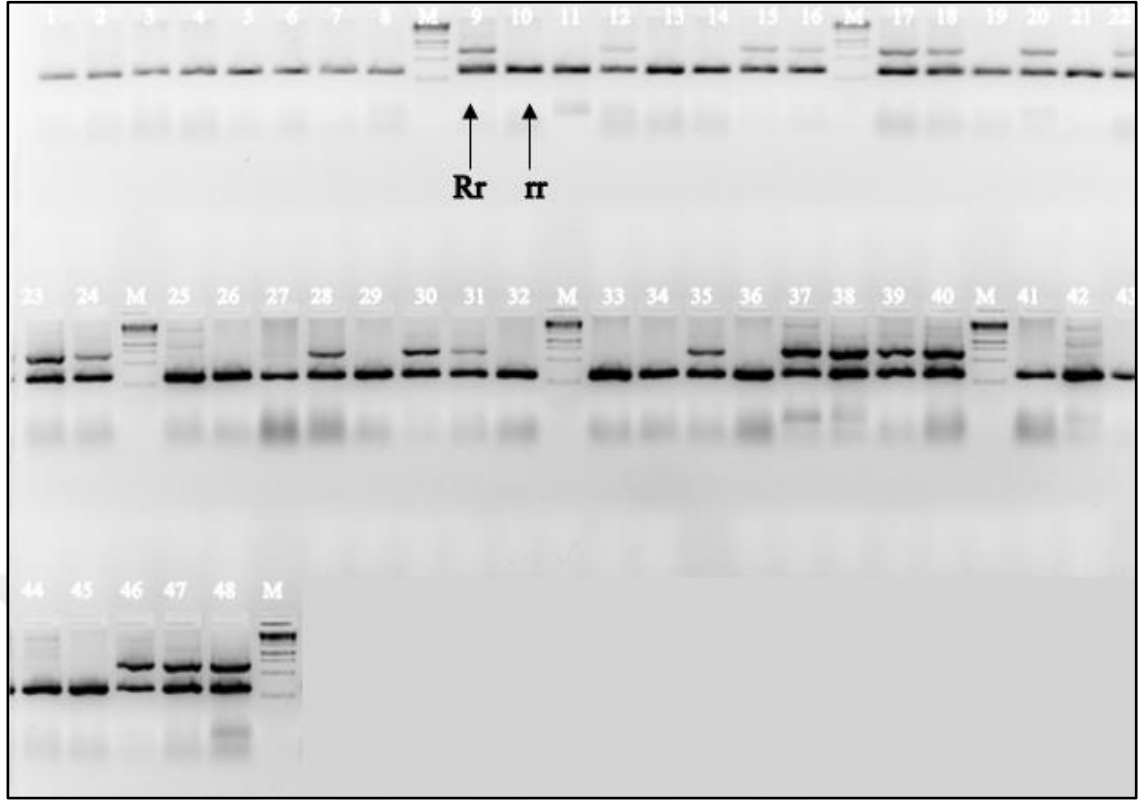


Şekil 4.1. DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü, M: 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-19: domates bitkilerinin DNA örnekleri

4.2.PCR Analizleri

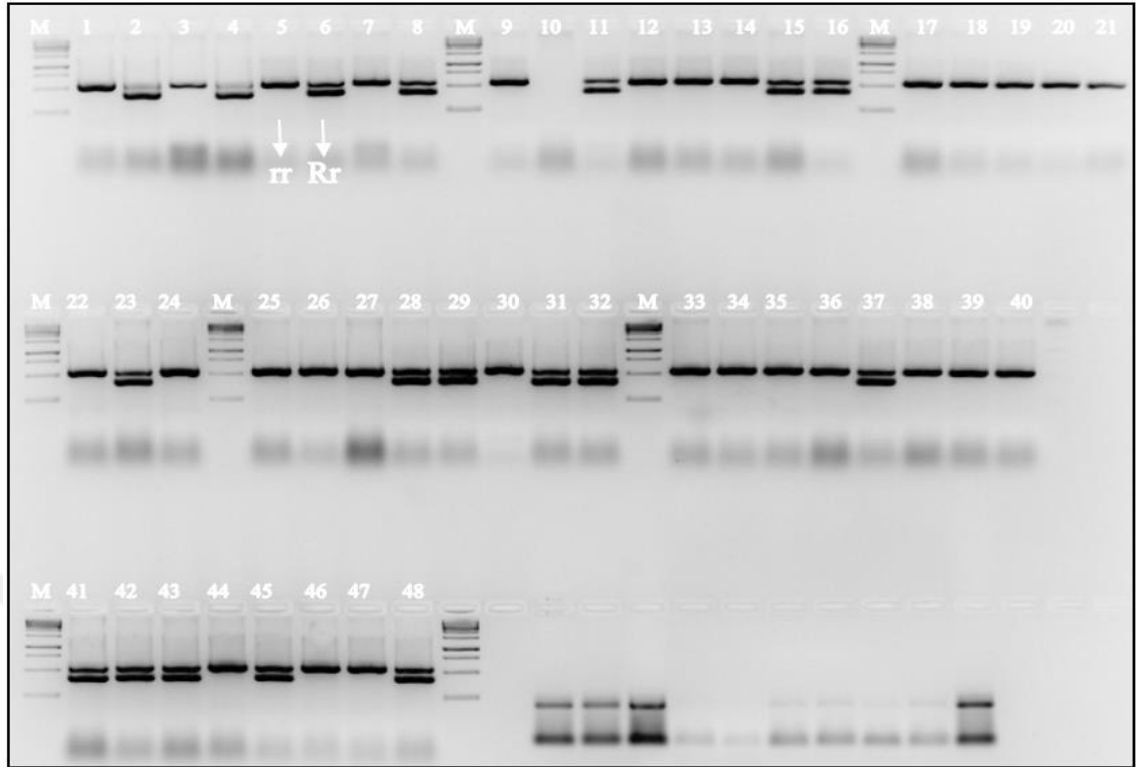
4.2.1.Domates F1 Bitkilerinin Ty-3 ve Sw-5 Lokuslarının PCR Değerlendirilmesi

Dayanıklılık kaynağı donör bitkiler heterozigot olduğundan (hassa saf hat x heterozigot dayanıklı hibrit) ilk jenerasyon F1 bitkileri her gen için 1:1 açılımı göstermiştir. Domates F1 bitkilerinin Ty-3 lokuslarının çoğaltılması sonucu 22 adet genotip 320 ve 650 bp de bant vererek heterozigot(Rr) olduğu belirlenmiştir ve 26 genotipin de 320 bp de bant vererek homozigot resesif olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2.1.).



Şekil 4.2.1. F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Ty-3-P6-25 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, M: 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-48: F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip

Domates F1 bitkilerinin Sw-5-110 lokuslarının çoğaltılması sonucu 18 adet genotip 400 bp de ve 500 bp uzunluğunda iki bant verip heterozigot (Rr) dayanıklı olduğu ve 30 adet genotip 500 bp uzunluğunda bant verip homozigot resesif (rr) hassas olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2.2.).



Şekil 4.2.2. F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Sw-5-110 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, M: 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-48: F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip

TYLVCV için *Ty-3*, TSWV için *Sw-5* geniyle bağlantılı moleküler markırlar kullanılarak ikili virüs dayanımlı 8 adet bitki belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

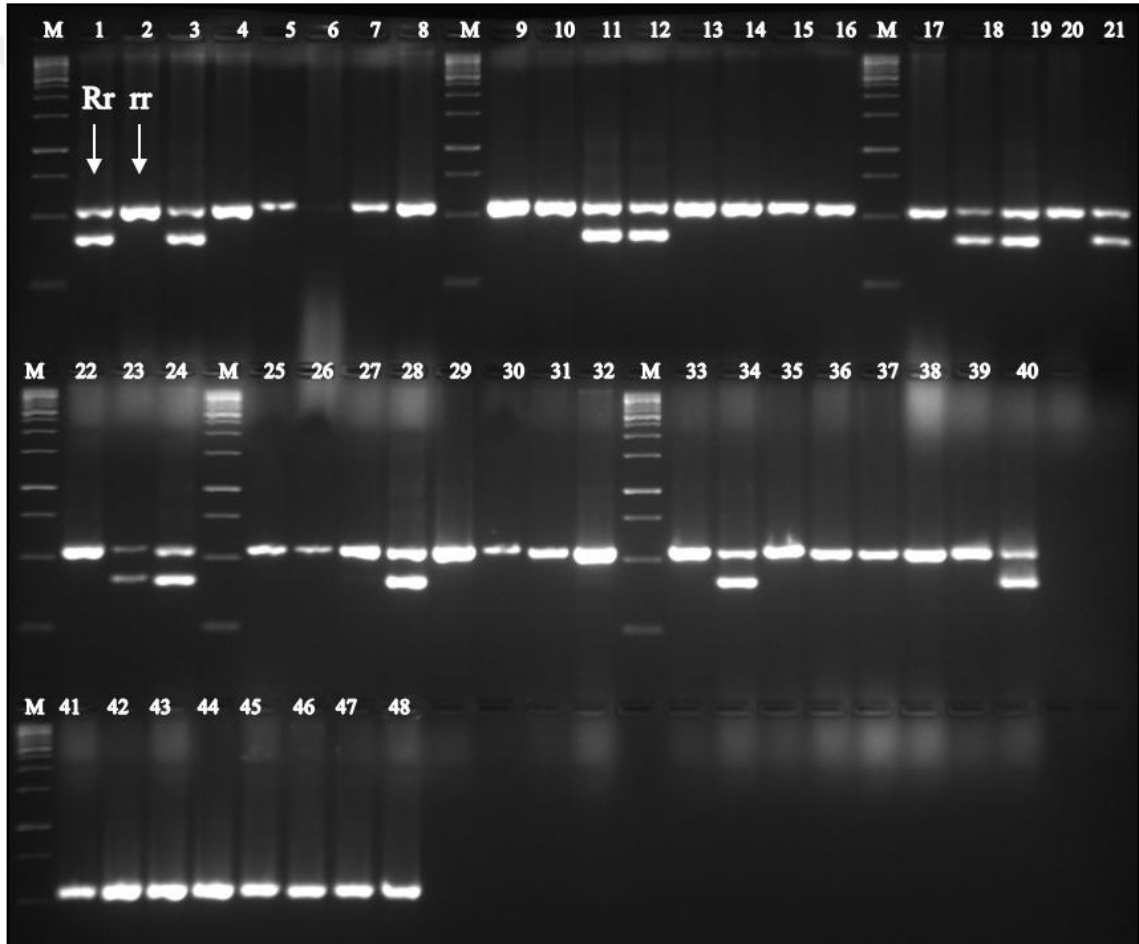
Çizelge 4.2.1. F1 bitkilerinden ikili virüs dayanımı olan bitkilerin adları ve dayanımları

Arazi Adı	<i>Ty-3</i>	<i>Sw-5</i>
797-13	Rr	Rr
797-14	Rr	Rr
797-21	Rr	Rr
797-26	Rr	Rr
797-29	Rr	Rr
797-35	Rr	Rr
797-41	Rr	Rr
797-47	Rr	Rr

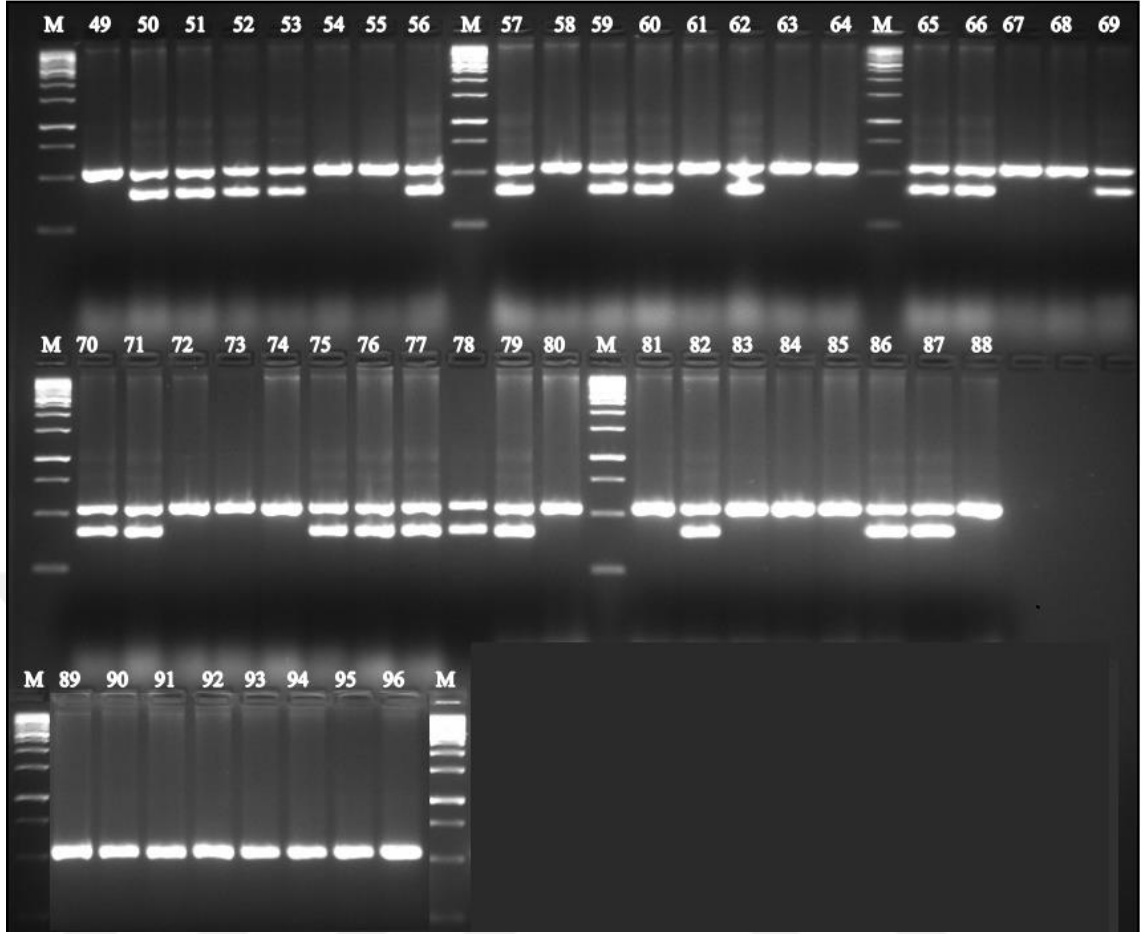
4.2.2. BC1F1 jenerasyonunda *Ty-3* ve *Sw-5* Lokuslarının Markır Yardımlı Seleksiyonu

Domates F1 bitkilerinden ikili dayanımı (*Ty-3* + *Sw-5*) belirlenen bitkiler, geri melezleme yöntemiyle agronomik olarak iyi özelliklere sahip hassas tekrarlanan ebeveyne geri melezlenmiştir ve BC1F1 popülasyonu elde edilmiştir.

Domates BC1F1 bitkilerinin *Sw-5* lokuslarının çoğaltılması sonucu 37 adet genotip 400 bp de ve 500 bp uzunluğunda iki bant verip heterozigot (Rr) dayanıklı olduğu ve 59 adet genotip 500 bp uzunluğunda bant verip homozigot resesif (rr) hassas olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2.3.).

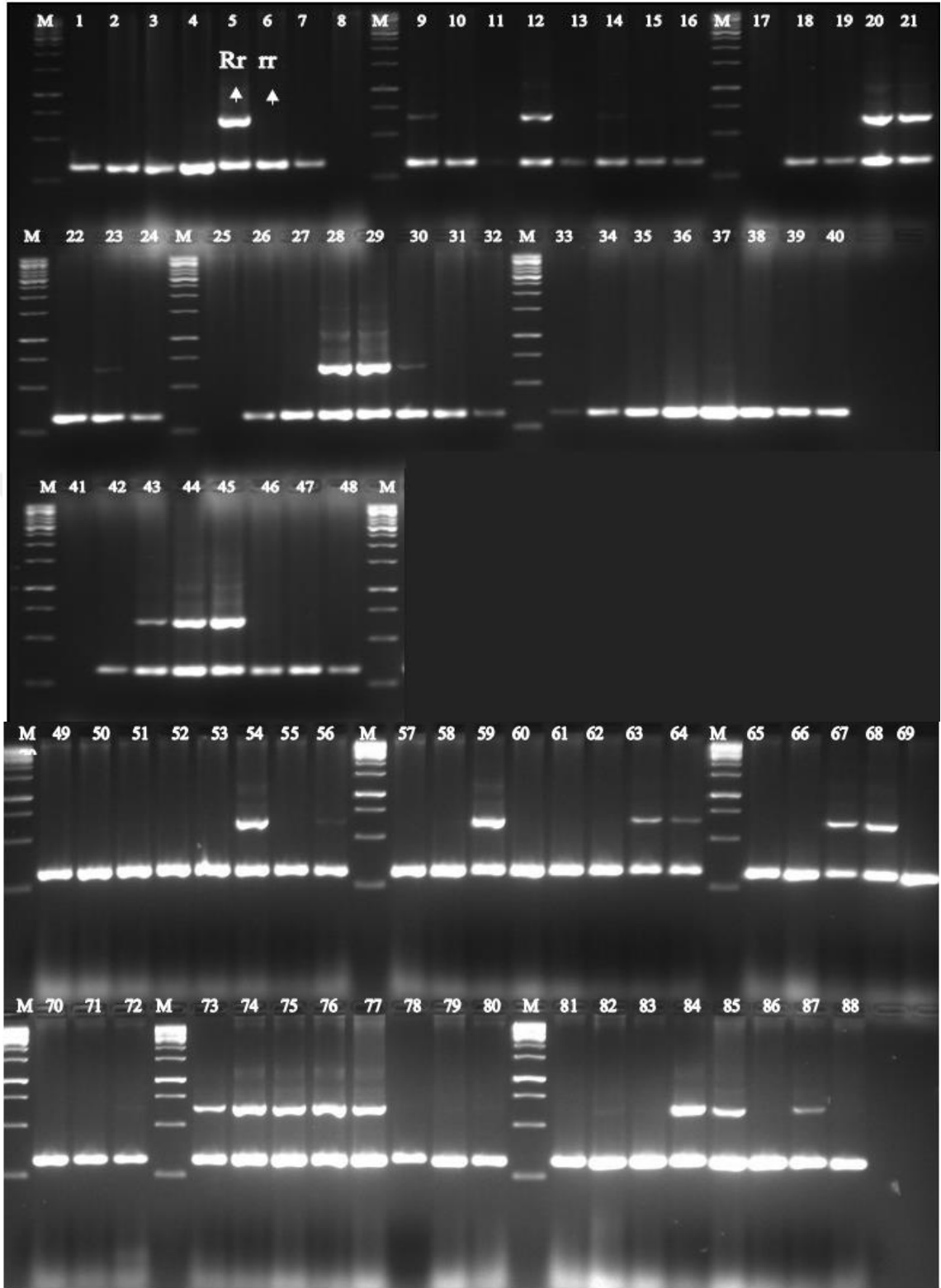


Şekil 4.2.3. BC1F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin *Sw-5-110* Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, 1-96: BC1F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip

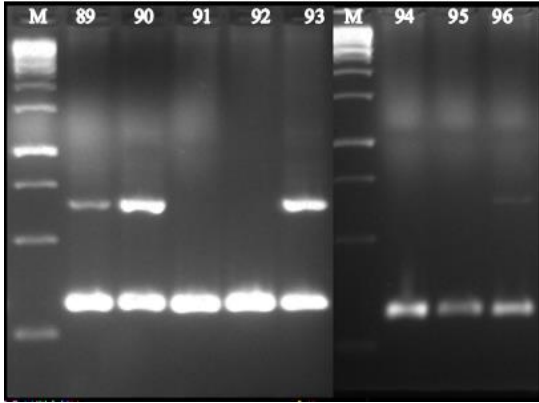


Şekil 4.2.3.'ün devamı

Domates BC1F1 bitkilerinin *Ty-3* lokuslarının çoğaltılması sonucu 34 adet genotip 320 ve 650 bp de bant vererek heterozigot (Rr) olduğu belirlenmiştir ve 62 genotipin de 320 bp de bant vererek homozigot resesif olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2.4.).



Şekil 4.2.4. BC1F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Ty-3-P6-25 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, 1-96: BC1F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip



Şekil 4.2.4. 'ün devamı

TYLCV için *Ty-3*, TSWV için *Sw-5* geniyle bağlantılı moleküler markırlar kullanılarak BC1F1 bitkilerinde çift virüs dayanımlı 13 adet bitki belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2.2. BC1F1 bitkilerinin çift virüs dayanımı olan bitkilerin arazi adları ve dayanımları

Arazi Adı	<i>Ty-3</i>	<i>Sw-55</i>
200-10	Rr	Rr
200-12	Rr	Rr
204-4	Rr	Rr
204-7	Rr	Rr
207-12	Rr	Rr
209-1	Rr	Rr
209-3	Rr	Rr
209-7	Rr	Rr

Çizelge 4.2.2.'nin devamı

209-8	Rr	Rr
209-9	Rr	Rr
2012-4	Rr	Rr
212-6	Rr	Rr
212-11	Rr	Rr

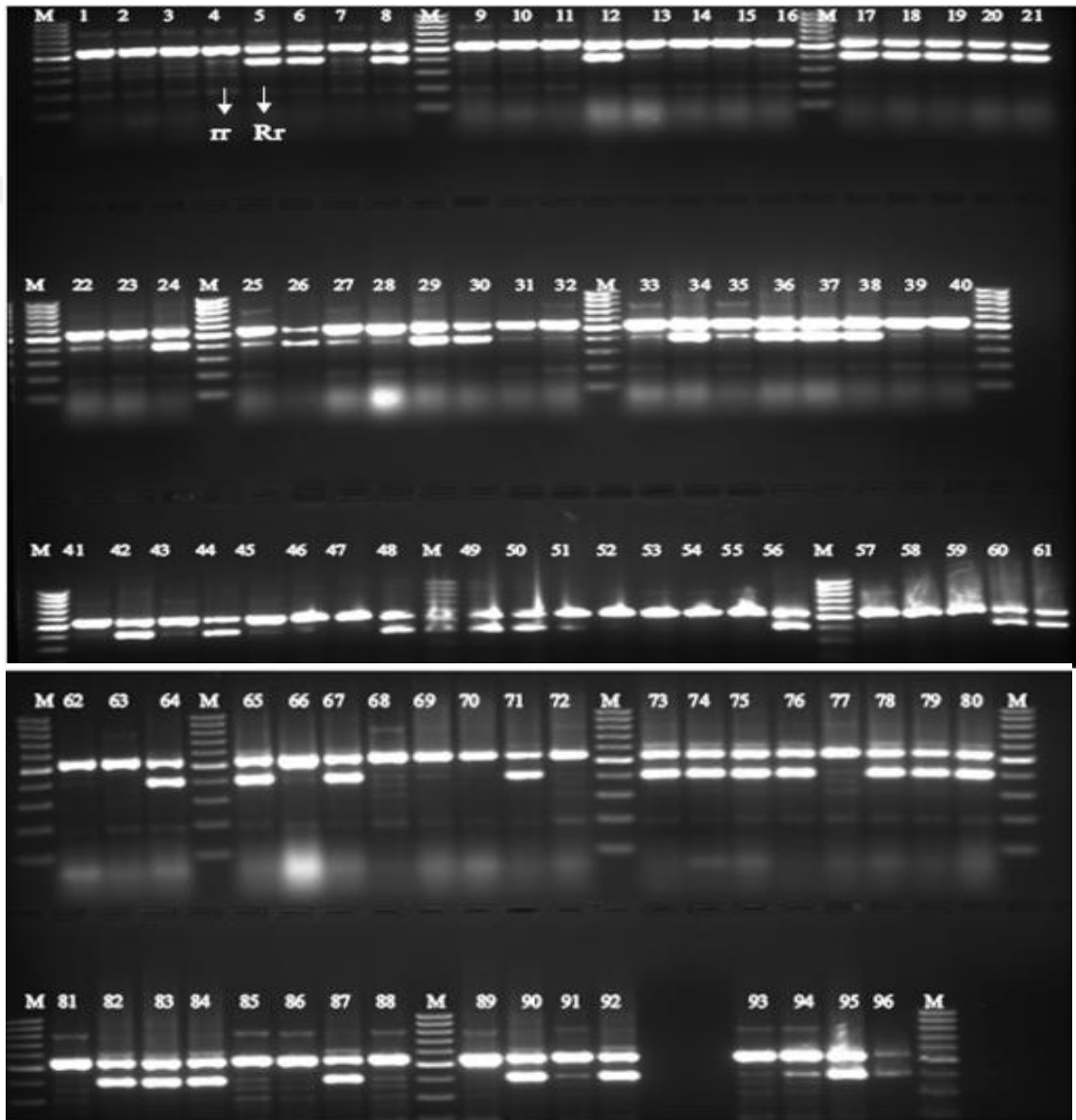
BC1F1 bitkilerinden 10 adet bitki seçilmiştir. Bu bitkiler hassas tekrarlanan ebeveyn geriye melezlenmiş ve BC2F1 bitkileri elde edilmiştir (Çizelge 4.2.3.).

Çizelge 4.2.3. TYLCV ve TSWV dayanımlı BC1F1 bitkilerinin tekrarlanan ebeveyn geriye melezlenmesi ile oluşturulan BC2F1 bitkilerinin grupları ve dikim planları

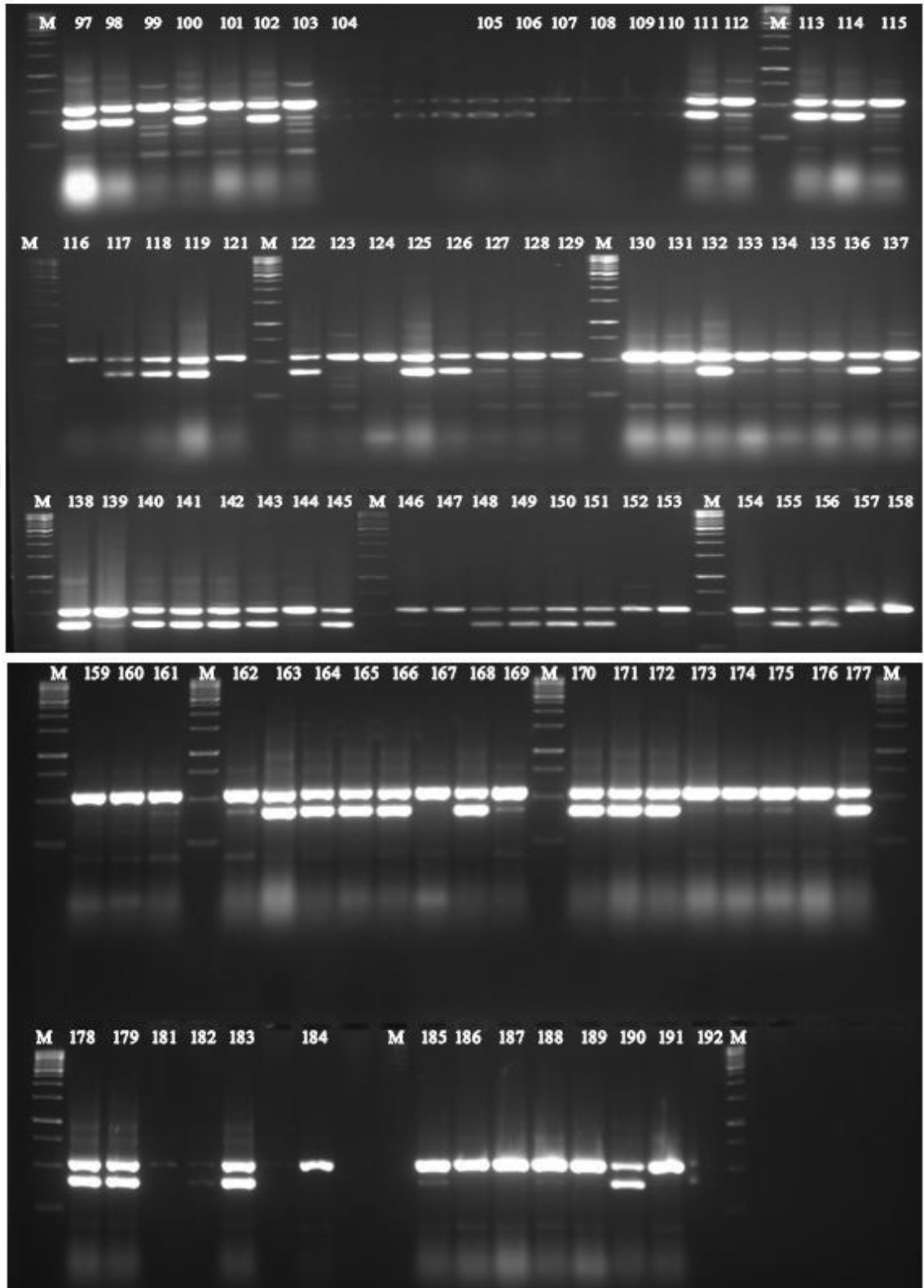
Bitki Sayısı	Arazi Adı		Arazi Adı
1	220	x	204 (4.Bitki)
2	220	x	204 (7.Bitki)
3	220	x	209 (1.Bitki)
4	220	x	209 (3.Bitki)
5	220	x	209 (4.Bitki)
6	220	x	209 (7.Bitki)
7	220	x	209 (8.Bitki)
8	220	x	209 (9.Bitki)
9	220	x	212 (4.Bitki)
10	220	x	212 (11.Bitki)

4.2.3. Domates BC1F1 Bitkilerinin Geri Melezlenmesinden sonraki elde edilen BC2F1 bitkilerinin *Ty-3* ve *Sw-5* Lokuslarının Marker Yardımlı Seleksiyonu

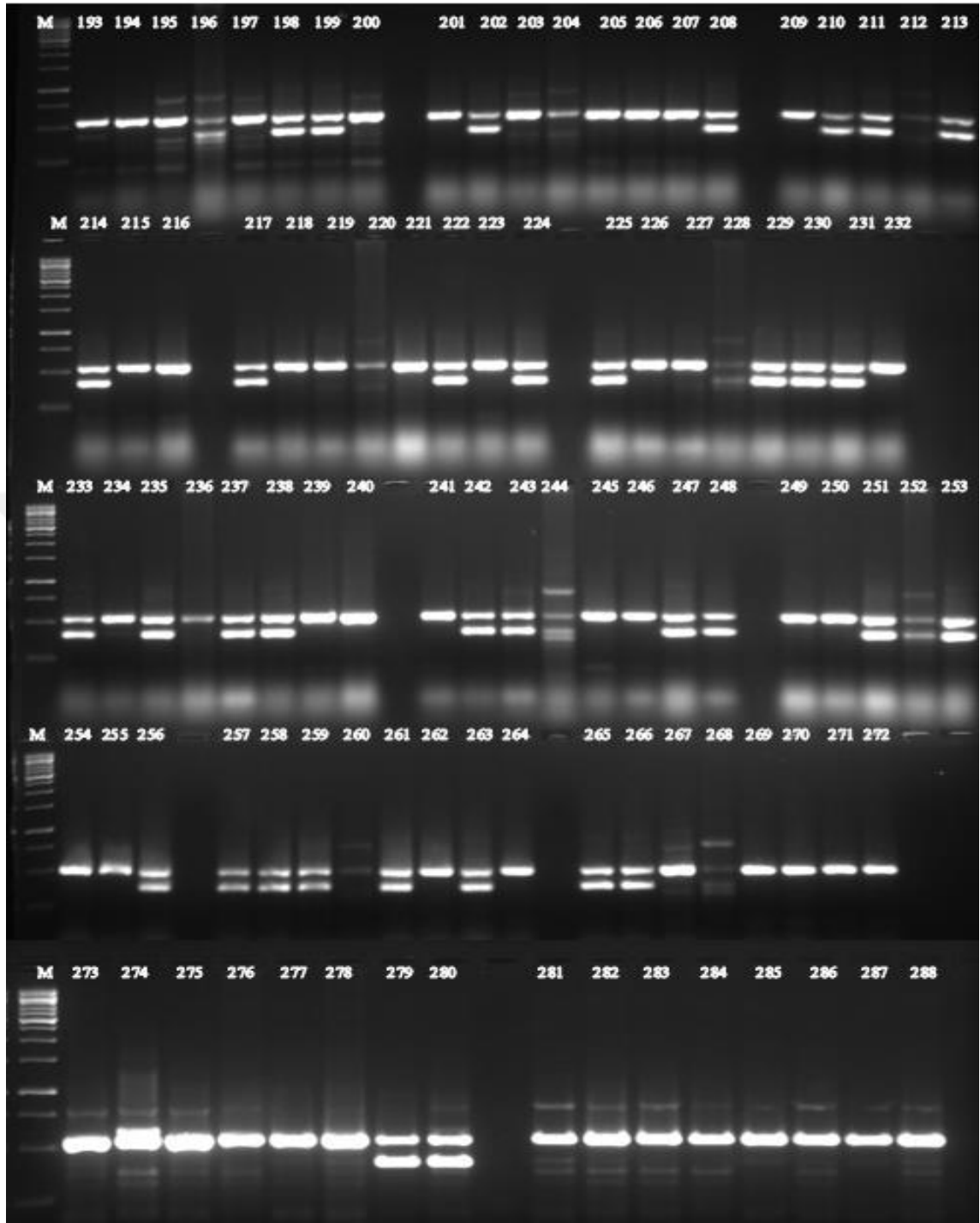
BC2F1 olan domates bitkilerinden 360 adet bitkinin *Sw-5* lokuslarına bakılmak üzere *Sw-5-110* primeri kullanılarak PCR çalışması yapılmıştır (Şekil 4.2.5.). BC2F1 bitkilerinin *Sw-5* lokuslarının çoğaltılması sonucu 151 adet genotip 400 bp de ve 500 bp uzunluğunda iki bant verip heterozigot (Rr) dayanıklı olduğu ve 209 adet genotip 500 bp uzunluğunda bant verip homozigot resesif (rr) hassas olduğu belirlenmiştir.



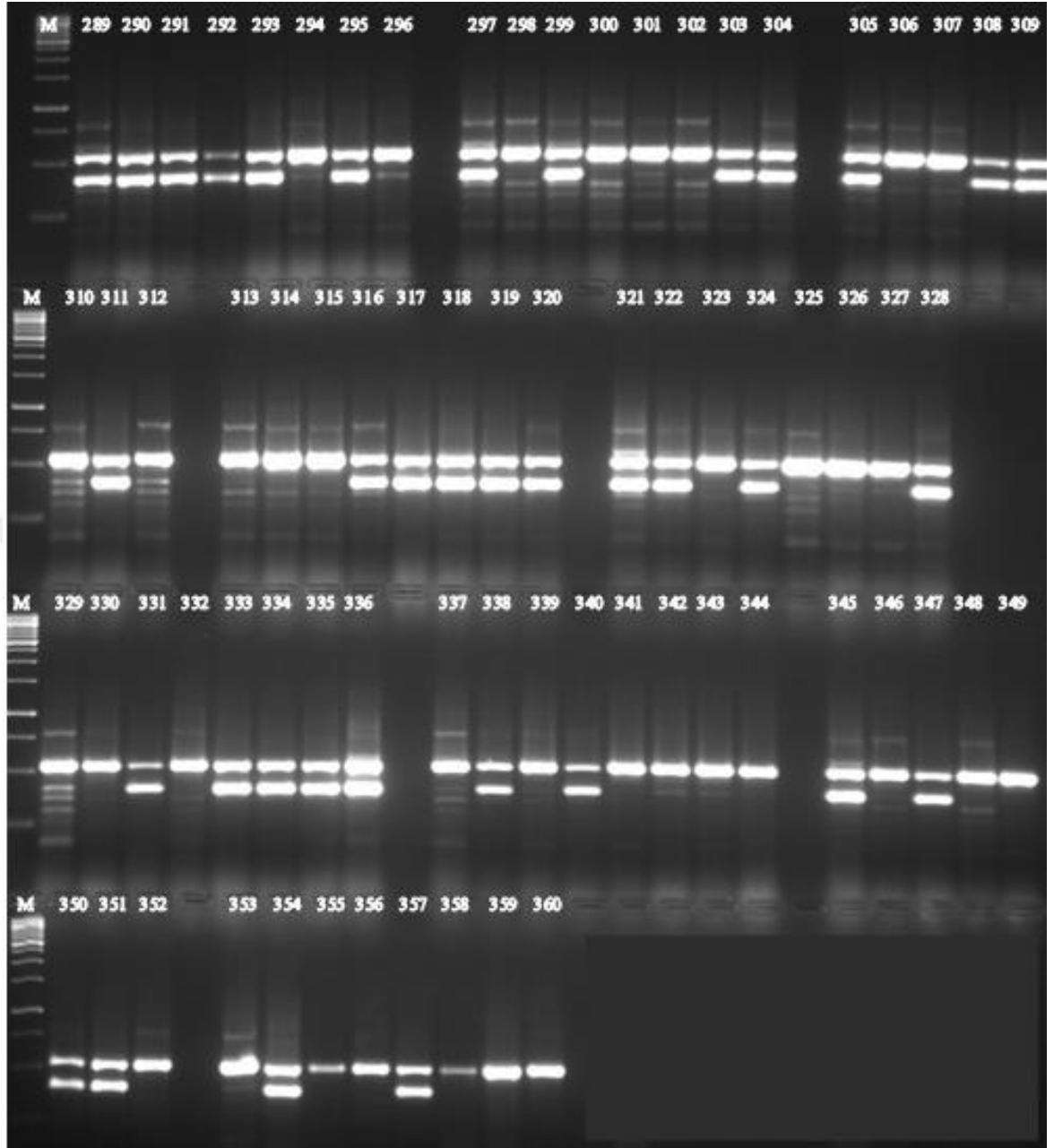
Şekil 4.2.5. BC2F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin *Sw-5-110* Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, M: 100 bp ve 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-360: BC2F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip



Şekil 4.2.5.'in devamı

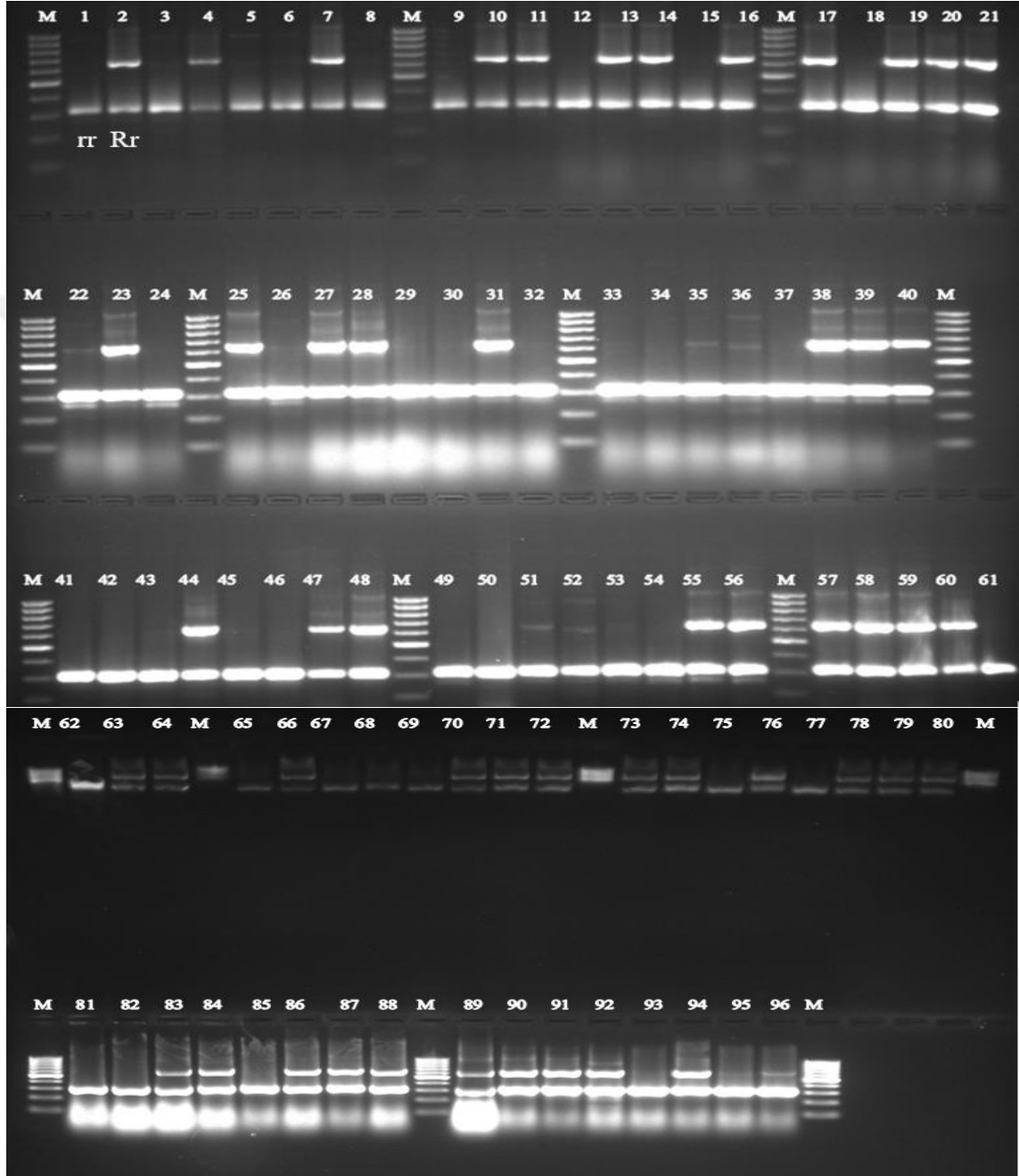


Şekil 4.2.5.'in devamı

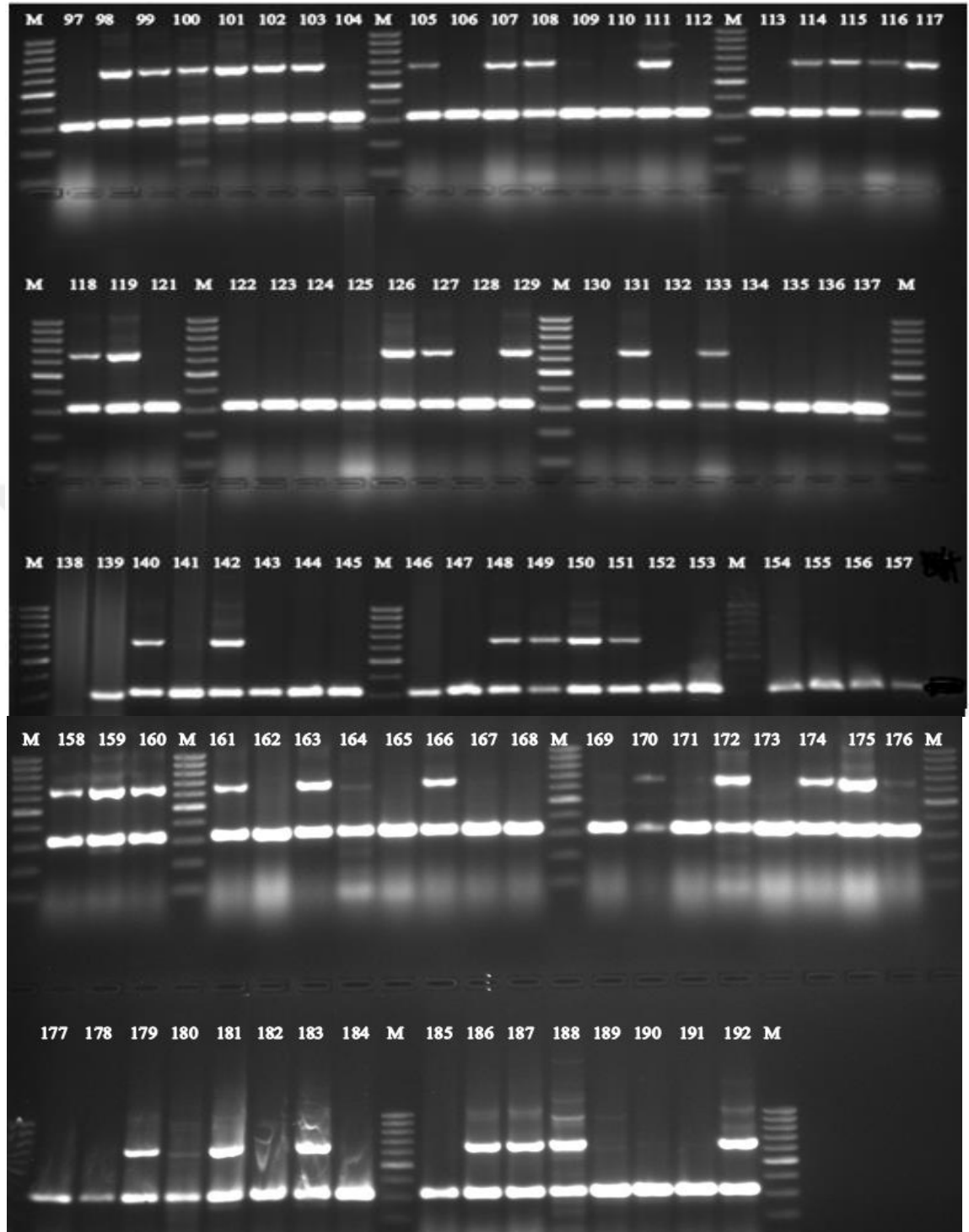


Şekil 4.2.5.'in devamı

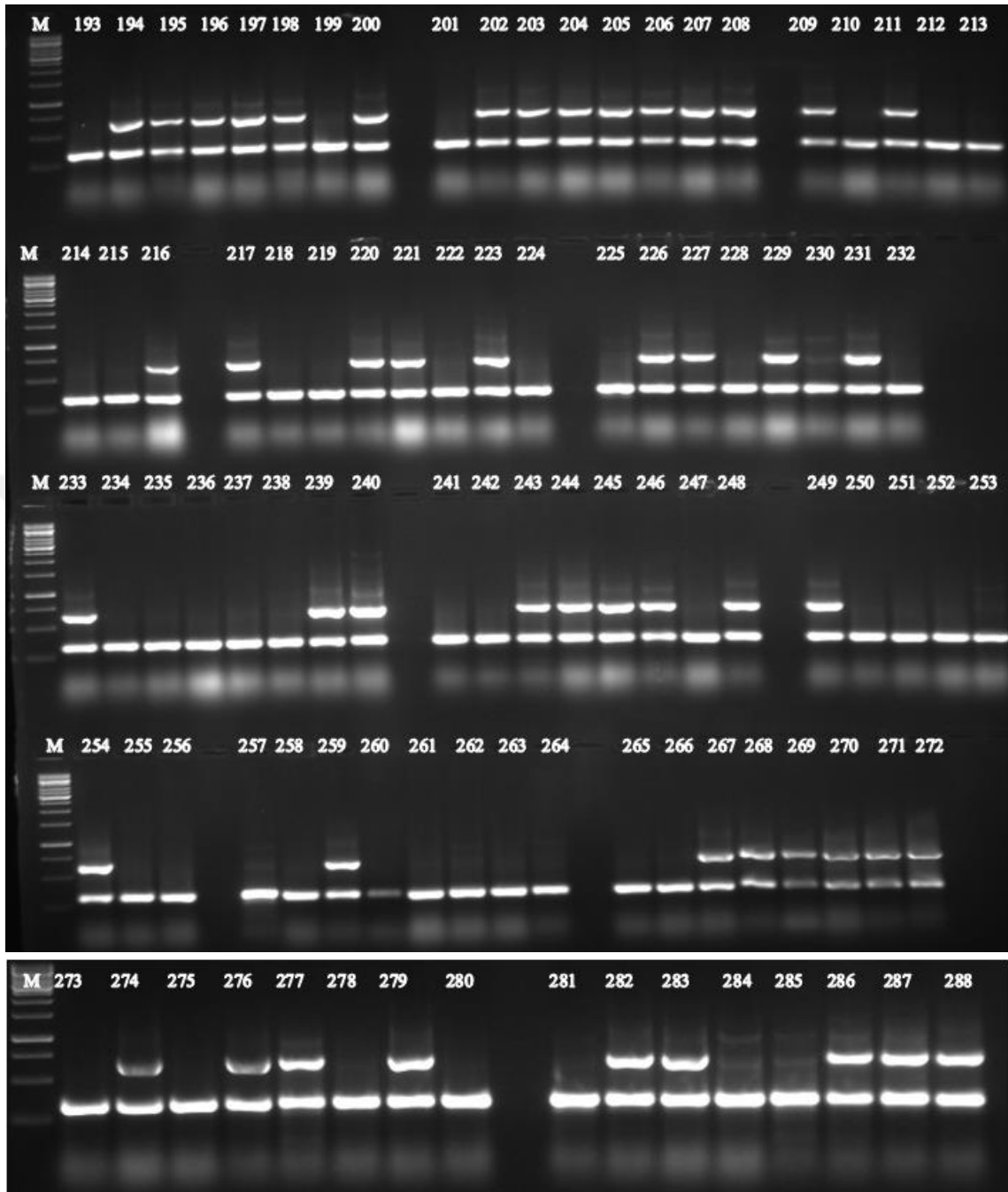
BC2F1 popülasyonuna ait olan 360 adet bitkinin Ty-3 lokuslarına bakılmak üzere Ty-3-P6-25 primeri kullanılarak PCR çalışması yapılmıştır (Şekil 4.2.6.). BC2F1 bitkilerinin PCR çalışması sonucu 185 adet genotip 320 ve 650 bp de bant vererek heterozigot (Rr) olduğu belirlenmiştir ve 175 genotipin de 320 bp de bant vererek homozigot resesif olduğu belirlenmiştir.



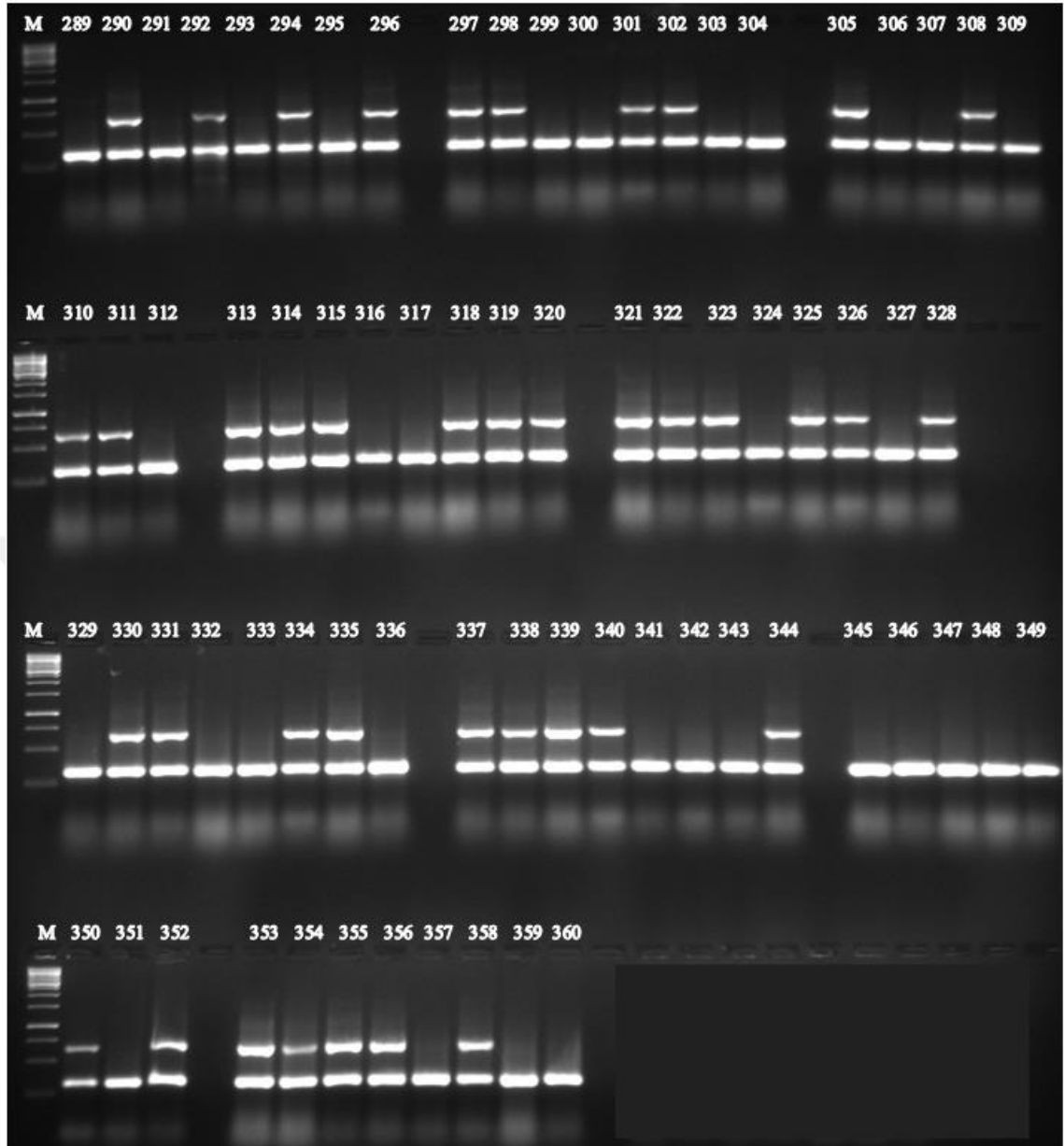
Şekil 4.2.6. BC2 F1 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Ty3-P6-25 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, M: 100 bp ve 1 kb ladder (Thermo, Generuler), 1-360: BC2F1 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip



Şekil 4.2.6.'nın devamı



Şekil 4.2.6.'nın devamı



(g)

Şekil 4.2.6.'nın devamı

TYLCV için *Ty-3*, TSWV için *Sw-5* geniyle bağlantılı moleküler markırlar kullanılarak BC2F1 bitkilerinde ikili virüs dayanımlı 67 adet heterozigot(Rr) bitki belirlenmiştir (Çizelge 4.2.4.).

Çizelge 4.2.4. BC2F1 popülasyonuna ait çift virüs dayanımı olan bitkilerin dikim kodları ve dayanımları

Arazi Adı BC2F1	Açıklama	<i>Ty-3</i>	<i>Sw-5</i>
BC1 (17. Bitki)	220x204(4.Bitki)	Rr	Rr
BC1 (19. Bitki)	220x204(4.Bitki)	Rr	Rr
BC1 (20. Bitki)	220x204(4.Bitki)	Rr	Rr
BC1 (21. Bitki)	220x204(4.Bitki)	Rr	Rr
BC1 (38. Bitki)	220x204(4.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (4. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (8. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (16. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (20. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (24. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (31. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (33. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (34. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (36. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (38. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (39. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC2 (40. Bitki)	220x204(7.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (3. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (4. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr

Çizelge 4.2.4.'ün devamı

BC6 (11. Bitki)	220x209(8.Bitki)	Rr	Rr
BC6 (17. Bitki)	220x209(8.Bitki)	Rr	Rr
BC6 (29. Bitki)	220x209(8.Bitki)	Rr	Rr
BC6 (33. Bitki)	220x209(8.Bitki)	Rr	Rr
BC7 (3. Bitki)	220x209(9.Bitki)	Rr	Rr
BC7 (8. Bitki)	220x209(9.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (2. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (3. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (8. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (10. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (12. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (17. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (25. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (28. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (31. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (38. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (39. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC8 (40. Bitki)	220x212(4.Bitki)	Rr	Rr
BC9 (1. Bitki)	220X212(11.Bitki)	Rr	Rr
BC9 (2. Bitki)	220X212(11.Bitki)	Rr	Rr
BC9 (8. Bitki)	220X212(11.Bitki)	Rr	Rr
BC9 (14. Bitki)	220X212(11.Bitki)	Rr	Rr

Çizelge 4.2.4. 'ün devamı

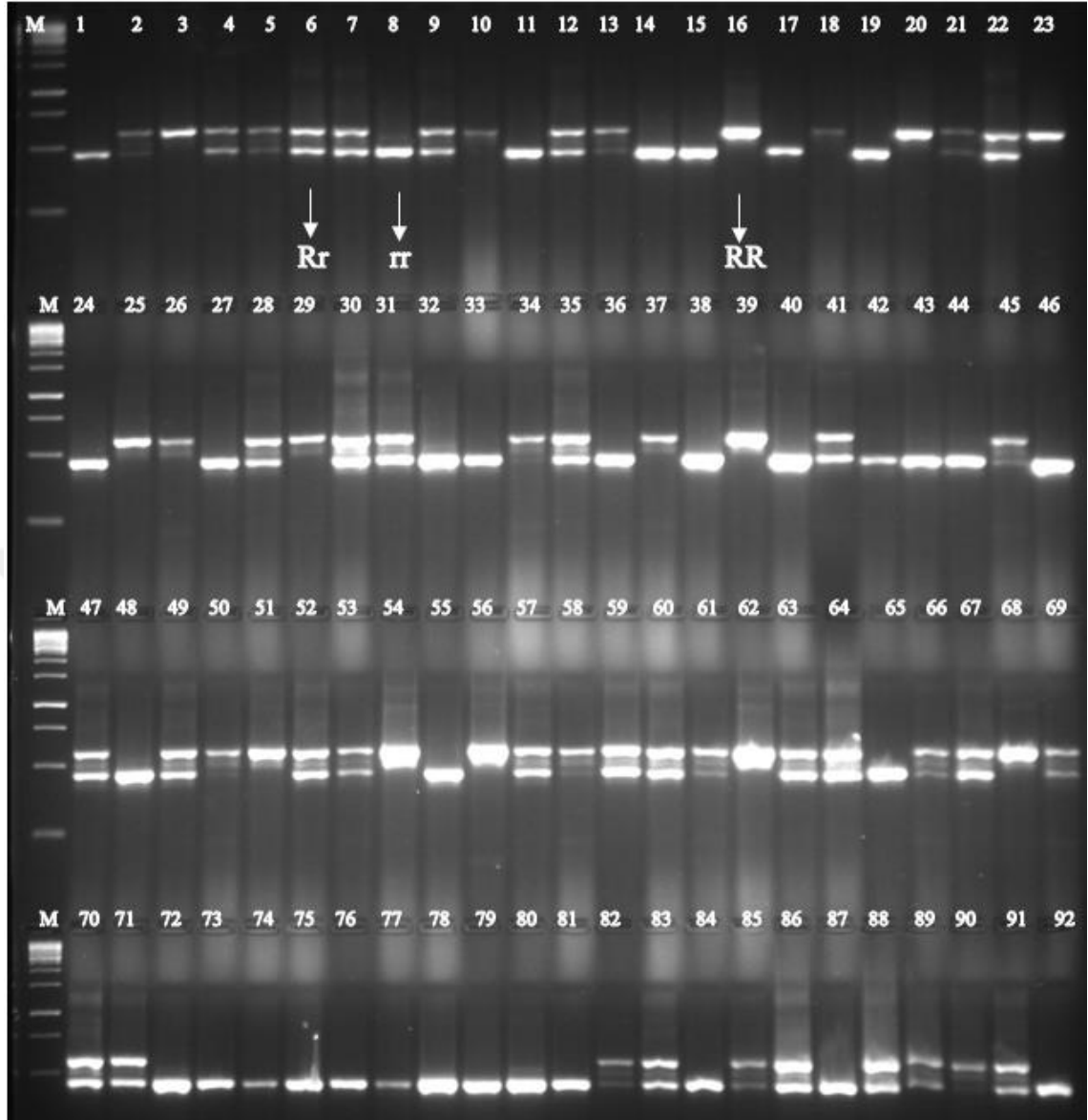
BC9 (15. Bitki)	220X212(11.Bitki)	Rr	Rr
BC9 (30. Bitki)	220X212(11.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (7. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (10. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (12. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (18. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (20. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (22. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (31. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (34. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (37. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (38. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC3 (39. Bitki)	220x209(1.Bitki)	Rr	Rr
BC4 (5. Bitki)	220x209(3.Bitki)	Rr	Rr
BC4 (19. Bitki)	220x209(3.Bitki)	Rr	Rr
BC4 (21. Bitki)	220x209(3.Bitki)	Rr	Rr
BC4 (27. Bitki)	220x209(3.Bitki)	Rr	Rr
BC4 (28. Bitki)	220x209(3.Bitki)	Rr	Rr
BC4 (29. Bitki)	220x209(3.Bitki)	Rr	Rr
BC4 (30. Bitki)	220x209(3.Bitki)	Rr	Rr
BC5 (3. Bitki)	220x209(7.Bitki)	Rr	Rr
BC5 (10. Bitki)	220x209(7.Bitki)	Rr	Rr

Çizelge 4.2.4. 'ün devamı

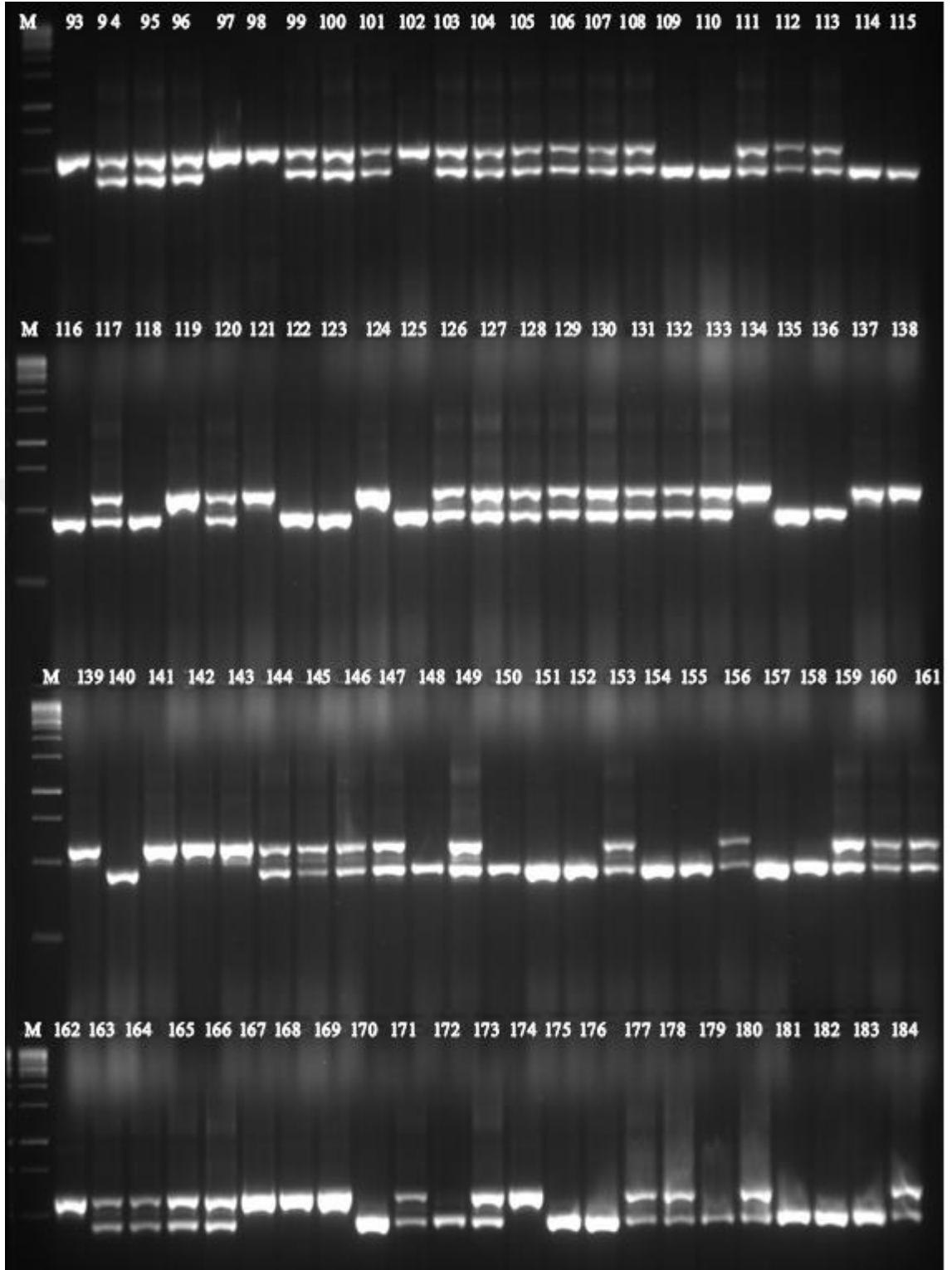
BC5 (21. Bitki)	220x209(7.Bitki)	Rr	Rr
BC5 (38. Bitki)	220x209(7.Bitki)	Rr	Rr
BC6 (2. Bitki)	220x209(8.Bitki)	Rr	Rr
BC6 (8. Bitki)	220x209(8.Bitki)	Rr	Rr

4.2.4.Domates BC2F1 Bitkilerinin Kendilenmesinden sonraki elde edilen BC2F2 bitkilerinin Ty-3 ve Sw-5 Lokuslarının PCR Değerlendirilmesi

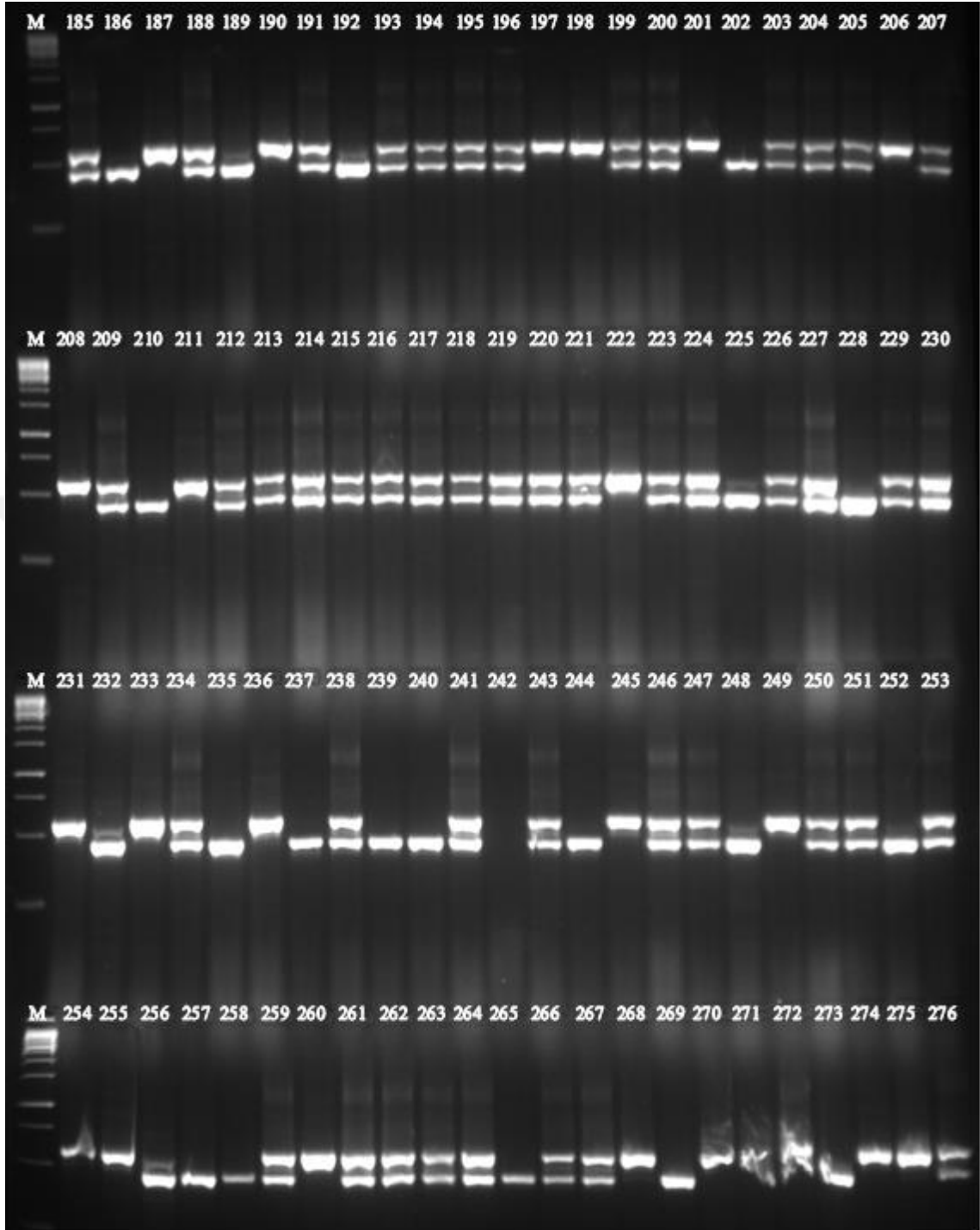
Çift dayanımlı BC2F1 bitkilerinden bitki ve meyve kalitesi tekrarlanan ebeve benzeyenler kendilenmiş ve BC2F2 bitkileri elde edilmiştir. Seçilen çift dayanımlı BC2F1 bitkisinin kendilenmesi sonucu elde edilen dölleri iki gen için moleküler marker testlemesine tabi tutulmuştur (Şekil 4.2.7.). BC2F2 bitkilerinden elde edilen DNA'ların Sw-5 geninin çoğaltılması için mevcut imkanlardan dolayı Sw-5-2 markırı kullanılmıştır. Sw-5-2 markırının rapor edildiği gibi dayanıklı bitkilerde 574 bp büyüklüğünde bant üretir ve Sw-5 lokusu taşımayan hassas bitkilerde ise yaklaşık 510 bp veya 464 bp büyüklüğünde bir DNA bandı üretir. 368 adet BC2F2 bitkilerinin PCR çalışması sonucu 173 bitkinin Sw-5 bakımından heterozigot (Rr) olduğu ,40 bitkinin de homozigot dayanıklı(RR) yani 574 bp de bant gösterdiği ve 155 bitkinin de homozigot resesif(rr) hassas olduğu tespit edilmiştir.



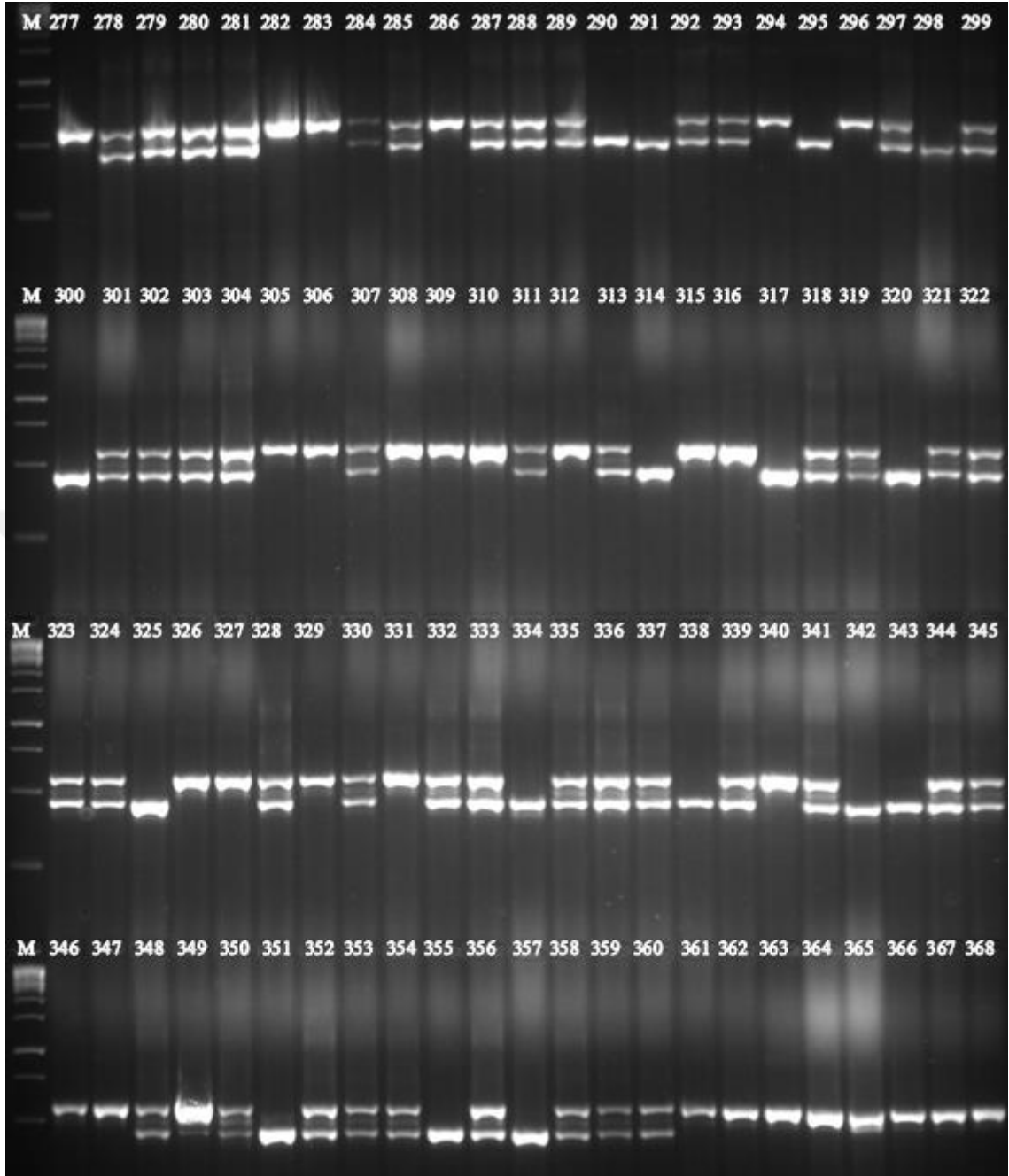
Şekil 4.2.7. BC2F2 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Sw-5-2 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, 1-368: BC2F2 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip, RR: Homozigot dayanıklı genotip



Şekil 4.2.7.'nin devamı

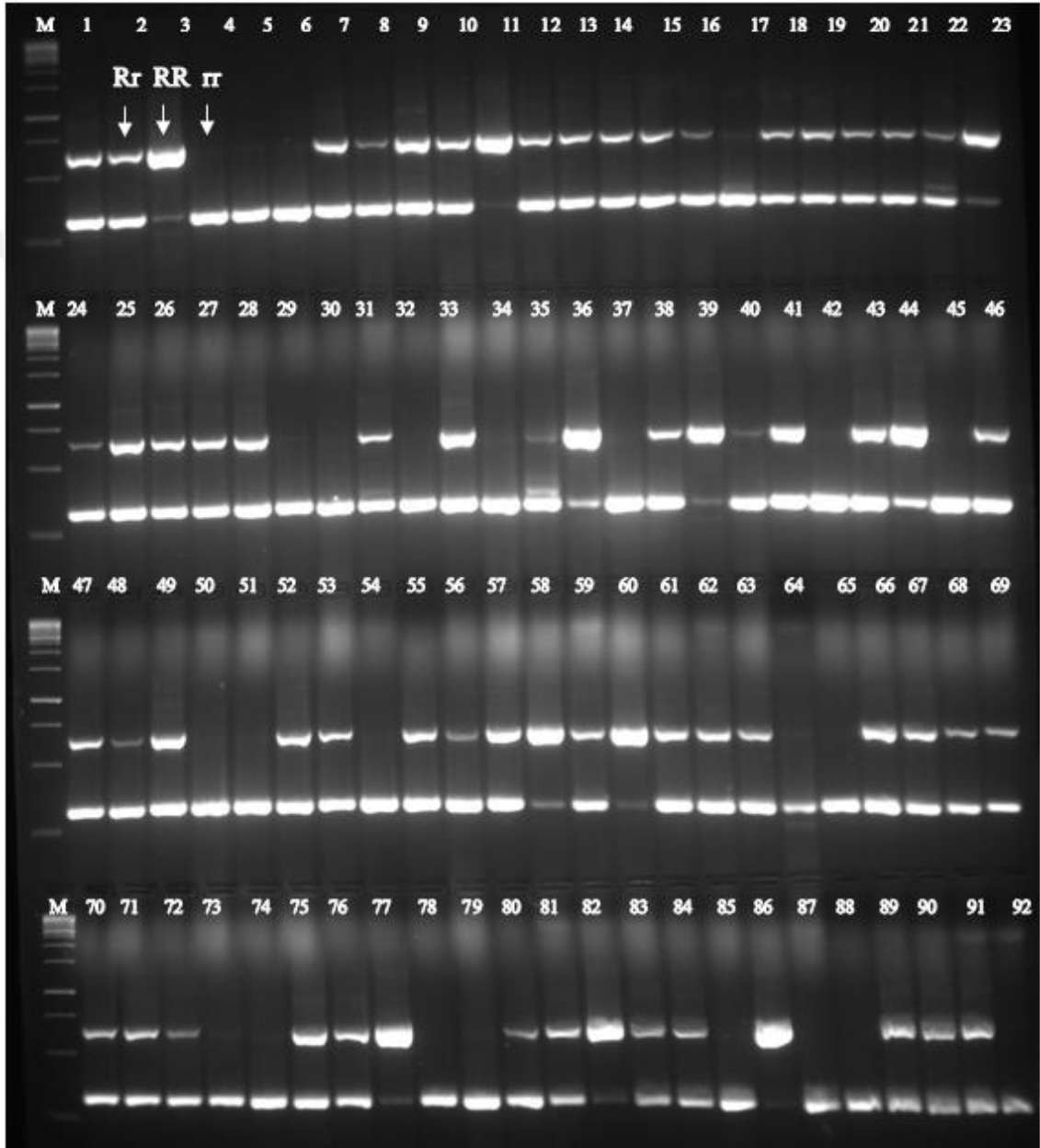


Şekil 4.2.7.'nin devamı

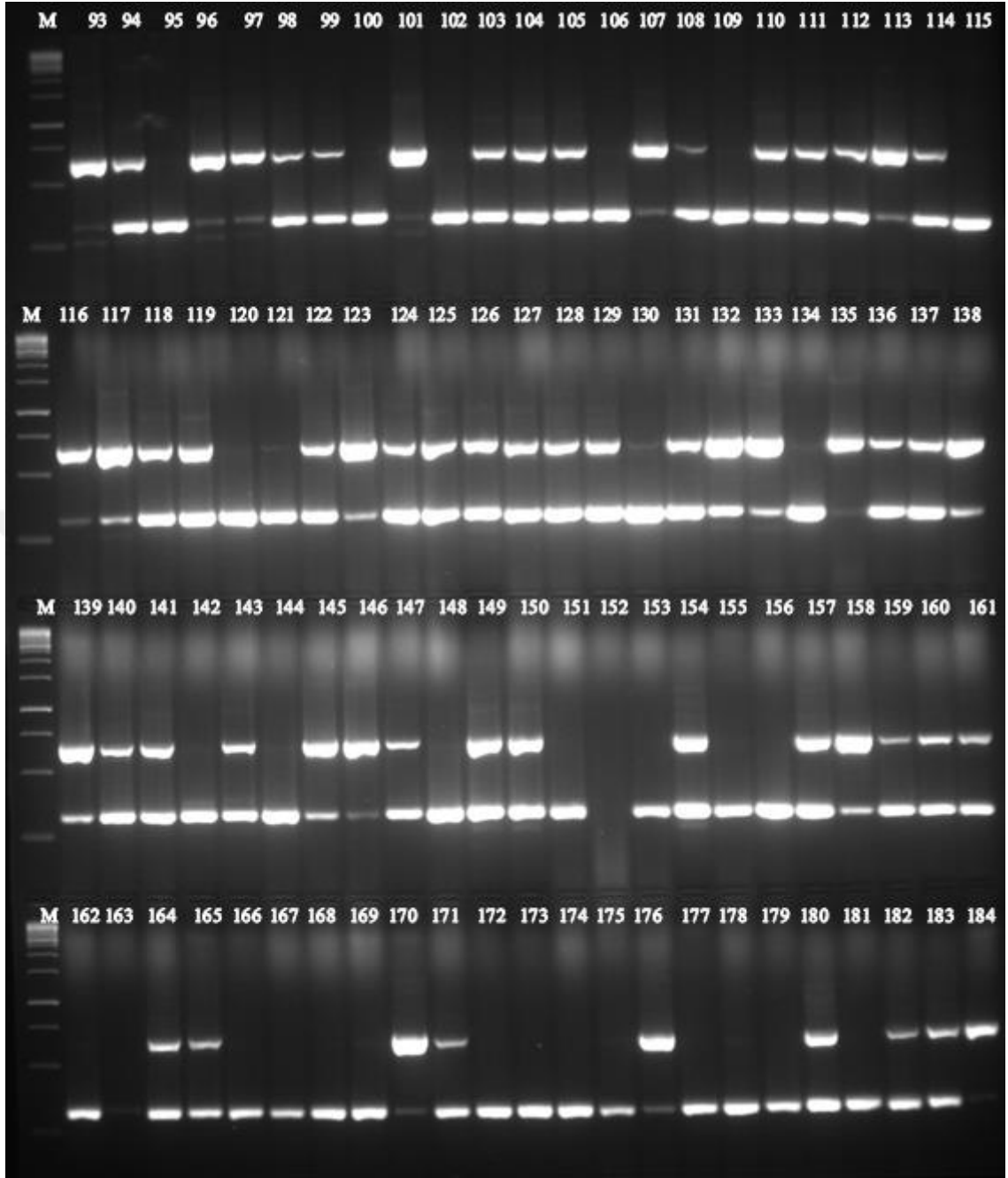


Şekil 4.2.7'nin devamı

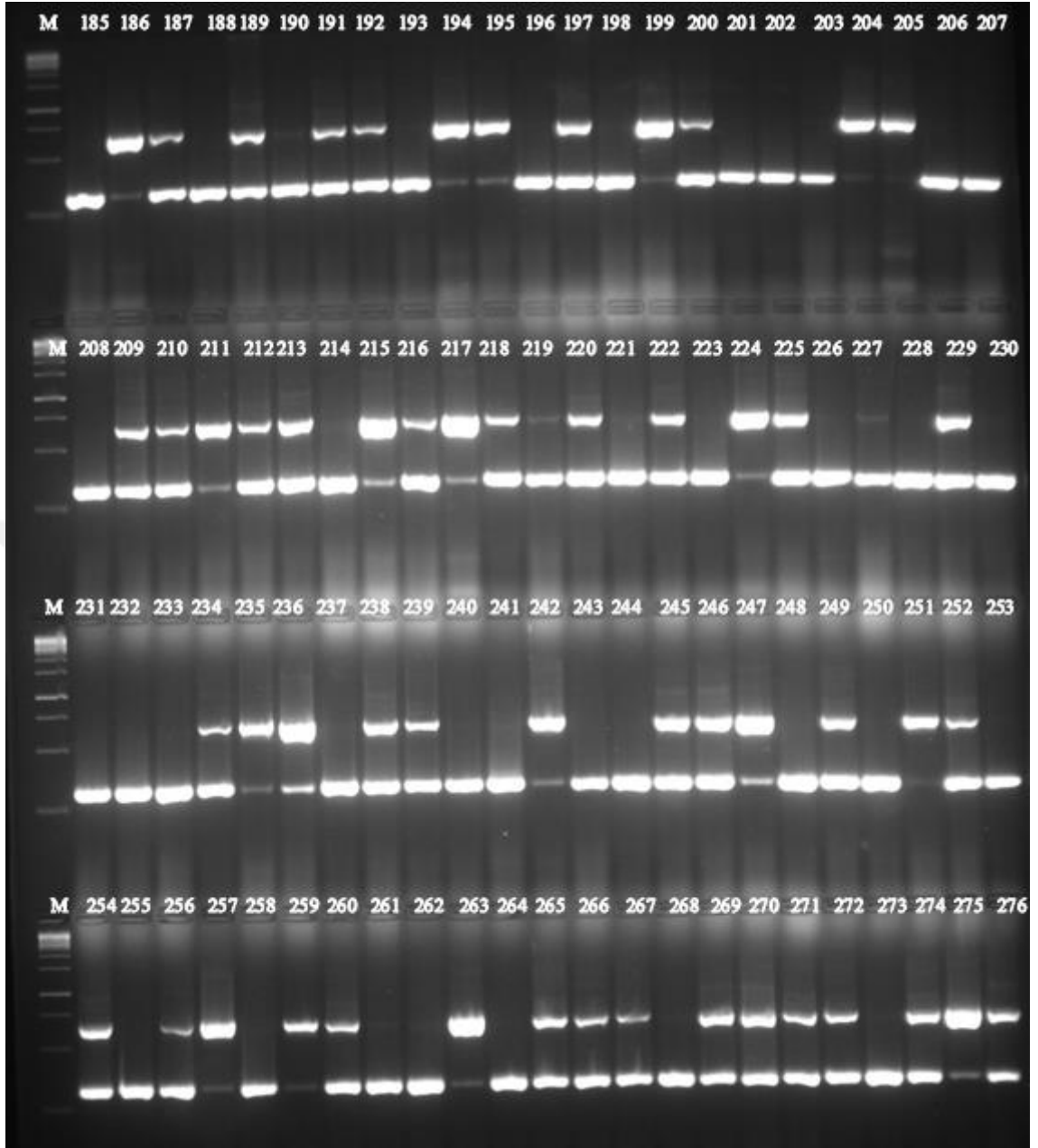
BC2F2 popölasyonuna ait domates bitkilerinden 368 adet bitkinin DNA'ları izole edilip Ty-3 lokuslarına da bakılmak üzere PCR çalışması yapılmıştır (şekil 4.2.8.) Ty-3-P6-25 primeri ile yapılan BC2F2 bitkilerinin PCR çalışması sonucu 173 bitkinin Ty-3 bakımından heterozigot (Rr) dayanıklı, 59 bitkinin homozigot dayanıklı (RR) yani 650 bp de bant verdiği ve 136 bitkinin homozigot resesif (rr) yani 320 bp de bant oluşturduğu tespit edilmiştir.



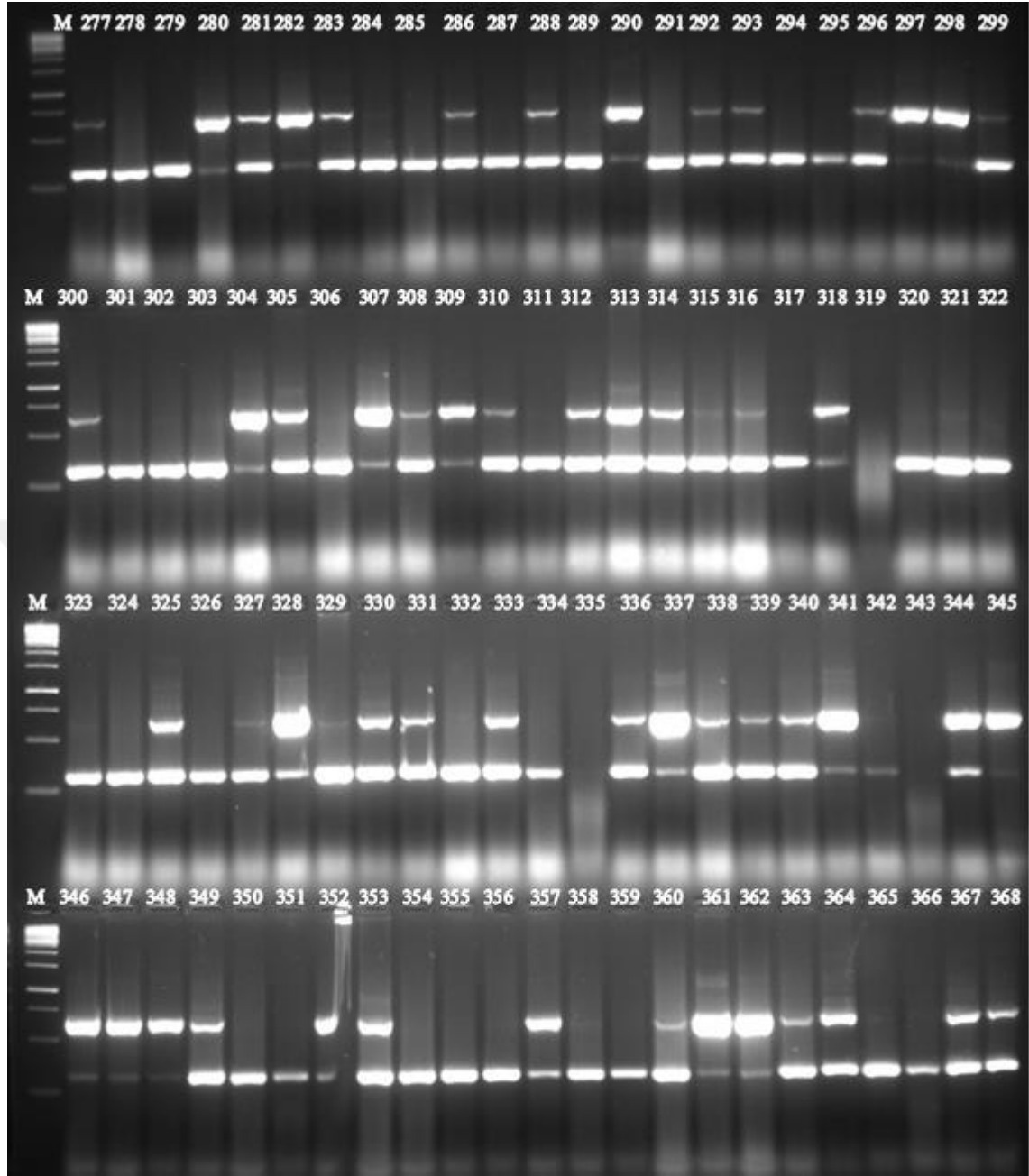
şekil 4.2.8. BC2F2 Bitkilerinden elde edilen DNA örneklerinin Ty-3-P6-25 Primeri ile çoğaltılması sonucu elde edilen PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü, 1-368: BC2F2 bitki örnekleri, Rr: Heterozigot genotip, rr: homozigot resesif genotip, RR: Homozigot dayanıklı genotip



Şekil 4.2.8.'in devamı



şekil 4.2.8. 'in devamı



Şekil 4.2.8. 'in devamı

TYLCV için *Ty-3*, TSWV için *Sw-5* geniyle bağlantılı moleküler markırlar kullanılarak BC2F2 bitkilerinde ikili virüs dayanımlı olan 80 adet bitkinin heterozigot (Rr) olduğu ve 12 adet bitkinin de çift virüse homozigot (RR) dayanıklı olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada *Ty-3* dayanıklılık geni için P6- 25 markırının test edilmesinden sonra 92 adet domates genotipin 24'ünde homozigot dayanıklı bant ve 18'inde hassas bant tespit etmişlerdir. 50 adedinde her iki bant yani heterozigot bant

elde etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda belirtilen hastalığa karşı moleküler markırlar klasik testlemeye göre dayanıklı hat ve çeşit geliştirmede kolaylık sağlayabildiğini belirtmişlerdir (Pınar ve ark. 2013).

Başka bir çalışmada Ty-3 geniyle bağlantılı SCAR P6- 25 markırı kullanılmıştır. Gc4 ve Gc171 hatlarda Ty-3 ile ilişkili olanlar duyarlı çeşitlerde 450 bp dayanıklı çeşitlerde 650 bp bir büyüklük oluşturmuştur. Ty-1 geniyle bağlantılı C2-At5g6151 merkerında 1000 bp bir bant görülmüştür. P6-25 ve C2-At5g61510'un birleştirilmesiyle oluşturulan analizlerde, LA3473, CA4 ve GC171'deki Ty-1 / Ty-3 genini ayırt etmiştir. SCAR P6-25 markırı ve C2-At5g61510 birlikte kullanıldığında başarılı sonuç vermiştir. Bu çalışmada geliştirilen domates 46 hatları domates yaprak kıvrıcılığı virüsünden etkilenen bölgelerde yetiştiricilik yapılan domates alanlarında önemli genetik kaynak olabileceği bildirilmiştir (Prasanna ve ark. 2015).

Kuzey-doğu İspanya Bölgesi'nde bulunan bir TSWV izolatının, bilinen dayanıklılık kaynağı Sw-5'in sağladığı dayanıklılığı kıldığını rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmada, CAPS moleküler işaretleyici yöntemiyle Sw-5 geni tespit edilmiş olan dört değişik ticari domates çeşidi kullanılmıştır. Domates bitkileri, yeni izolatla enfekte edilmişlerdir. Sw-5 geni bulunduran bu çeşitler daha önce birçok farklı TSWV izolatına karşı testlenmiş ve dayanıklı oldukları tespit edilmiş olmasına rağmen, GRAU olarak isimlendirilen bu izolatın daha önce görülen izolatlara göre Sw-5'in dayanıklılığını kırmadığını ortaya konmuştur (Aramburu ve ark. 2003).

Sw-5 geni ile alakalı yapılan bir çalışmada, *S. peruvianum*'dan aktarılan domateste bakteriyel solgunluk direnci olan UPV-1 ıslah hattında Sw-5 allelini kontrol eden ve hibrit yetiştiriciliğinde dayanıklılığı arttırabilmek için yaptıkları çalışmada Sw-5 ile bağlantılı SCAR Scr001F/R dominant markır çifti kullanılmıştır. Analizlerin görüntülenmesinin sonucunda 400bç baz uzunluğunda sonuç vermiştir. Sw-5'te çalışan SCAR markırı UPV-1 de benzer şekilde çalışmış ve ticari hibrit çeşitlerinin geliştirilmesinde UPV-1'in önemli olduğunu göstermişlerdir (Rosella ve ark. 2001).

Sw5-2 markırıyla yapılan bir çalışmada 14 domates çeşidi kullanılarak 4 çeşit (Stevens, Viradoro, *S. peruvianum* 'PI 128660', Santa Clara R.) 574 bp büyüklüğünde bant içererek dayanıklı bulunmuştur. 2 çeşit (Nemo Netta, ve Ohio 8245) 510 bp büyüklüğünde DNA bandı içererek ve 8 çeşit, ise (Santa Clara S, Ponderosa, IPA-5, Densus, Moneymaker, CNPH Tx-577, Alambra, ve Netta) 464 bp büyüklüğünde bir bant göstererek hassas olduğunu tespit etmişlerdir (Dianese et al. 2010).

Bu yüksek lisans çalışmasında ise, marker yardımcı geriye melezleme programı yürütülmüştür. Açılım görülen F1 (pseudo-BC1F1), BC1F1 ve BC2F1 jenerasyonlarında her lokus için 1:1 açılım, BC2F2 kendileme jenerasyonunda ise 1:2:1 açılımı görülmüştür. Tarama sonucunda BC2F2 olan domates bitkilerinden 368 adet bitkinin Ty-3-P6-25 primeri ile yapılan testleme sonucu 173 bitkinin Ty-3 bakımından

heterozigot (Rr) ve 59 bitkinin homozigot dayanıklı (RR) olduğu, aynı popülasyonda 136 bitkinin homozigot resesif (rr) olduğu tespit edilmiştir. Sw-5-2 primeri ile yapılan BC2F2 bitkilerinin PCR çalışması sonucunda ise 173 bitkinin Sw-5 bakımından heterozigot (Rr), 40 bitkinin de homozigot (RR) dayanıklı olduğu belirlenmiştir.

BC2F2 bitkilerinde 80 adet bitkinin heterozigot (Rr) ikili virüs dayanımlı olduğu ve 12 adet bitkinin ikili olarak homozigot (RR) dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan gözlemler ve incelemeler moleküler markırla testleme sonuçlarını desteklemiştir.

F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 popülasyonlarında yapılan testlemede Ty-3 dayanıklılığının tek gen kalıtım hipotezi ki-kare (χ^2) analizi ile belirlenmiştir (Çizelge 4.2.5.).

Çizelge 4.2.5. Popülasyon F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 için, açılımlarına göre Ty-3 moleküler markır sonuçlarına göre Ki-kare (χ^2) testi, Rr: Heterozigot dayanıklı , RR: Homozigot Dayanıklı, rr; Homozigot hassas (duyarlı)

Popülasyon	Açılım Oranı	Toplam	Beklenen			Gözlenen			X ² değeri (Ty-3)	P değeri	Serbestlik Derecesi
			RR	Rr	rr	RR	Rr	rr			
F1	01:01	48	-	24	24	-	22	26	0,333	2,71	1
BC1F1	01:01	96	-	48	48	-	34	62	8,166	10,828	1
BC2F1	01:01	360	-	180	180	-	185	175	0,277	0,455	1
BC2F2	01:02:01	368	92	184	92	59	173	136	33,536	13,816	2

Ty-3 markır testleme sonucu, yapılan ki-kare (χ^2) analizi ile F1, BC1F1 ve BC2F1 popülasyonlarının açılımlarının beklenen değerleri ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. BC2F2 popülasyonunun açılımı ile beklenen değerler arasında bir sapma olduğu belirlenmiştir. TYLCV'ne dayanıklılığın tek gen kontrolünde olduğu F1 (0.1), BC1F1 (0,001) ve BC2F1 (0,5) istatistiki önem seviyesinde görülmüştür. BC2F2 (0,001) önem seviyesine göre değerlendirip ki-kare (χ^2) değeri P-değerinden yüksek olduğu belirlenmiştir.

F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 popülasyonlarında yapılan testlemede Sw-5 dayanıklılığının tek gen kalıtım hipotezi ki-kare (χ^2) analizi ile belirlenmiştir (Çizelge 4.2.6.).

Çizelge 4.2.6. Popülasyon F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 için, açılımlarına göre Sw-5 moleküler markır sonuçlarına göre Ki-kare (χ^2) testi, Rr: Heterozigot dayanıklı , RR: Homozigot Dayanıklı, rr; Homozigot hassas (duyarlı)

Popülasyon	Açılım Oranı	Toplam	Beklenen			Gözlenen			X ² değeri (Sw-5)	P değeri	Serbestlik Derecesi
			RR	Rr	rr	RR	Rr	rr			
F1	01:01	48	-	24	24	-	18	30	3	3,841	1
BC1F1	01:01	96	-	48	48	-	37	59	5,041	6,635	1
BC2F1	01:01	360	-	180	180	-	151	209	9,344	10,828	1
BC2F2	01:02:01	368	92	184	92	40	173	155	73,189	13,816	2

Sw-5 markır testleme sonucu, yapılan ki-kare (χ^2) analizi ile F1, BC1F1 ve BC2F1 popülasyonlarının açılımlarının beklenen değerleri ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. BC2F2 popülasyonunun açılımı ile beklenen değerler arasında bir sapma olduğu belirlenmiştir. TSWV'ne dayanıklılığın tek gen kontrolünde olduğu F1 (0.05), BC1F1 (0,01) ve BC2F1 (0,001) istatistiki önem seviyesinde görülmüştür. BC2F2 (0,001) önem seviyesine göre değerlendirip ki-kare (χ^2) değeri P-değerinden yüksek olduğu belirlenmiştir.

F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 popülasyonlarında yapılan testlemede Sw-5 ve Ty-3 ikili virüs dayanıklılığının kalıtım hipotezi ki-kare (χ^2) analizi ile belirlenmiştir (Çizelge 4.2.7.).

Çizelge 4.2.7. Popülasyon F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 için, açılımlarına göre Sw-5 ve Ty-3 moleküler markır sonuçlarına göre ikili dayanımlarının Ki-kare (χ^2) testi, Rr: Heterozigot dayanıklı , RR: Homozigot Dayanıklı, rr; Homozigot hassas (duyarlı)

Popülasyon	Açılım Oranı	Toplam	Beklenen			Gözlenen			X ² değeri (Ty-3 +Sw-5)	P değeri	Serbestlik Derecesi
			RR	Rr	rr	RR	Rr	rr			
F1	01:01:01:01	48	-	12	-	-	8	-	1,333	2,366	3
BC1F1	01:01:01:01	96	-	24	-	-	13	-	5,041	6,251	3
BC2F1	01:01:01:01	360	-	90	-	-	67	-	5,877	6,251	3
BC2F2	09:03:03:01	368	23	92	-	12	80	-	6,825	7,815	3

Sw-5 ve Ty-3 markır testleme sonucu, yapılan ki-kare (χ^2) analizi ile F1, BC1F1, BC2F1 ve BC2F2 popülasyonlarının açılımlarının ikili virüs dayanıklılığı için beklenen değerleri ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. TSWV'ne ve TVLCV'ne dayanıklılığın F1

(0.5), BC1F1 (0,1) ve BC2F1 (0,1) ve BC2F2 (0,05) istatistiki önem seviyesinde görülmüştür.



5. SONUÇLAR

“51” arazi numaralı elit domates hattının TYLCV’ye ve TSWV’ye hassas olduğu fenotipik gözlemler ve denemeler sonucu tespit edilmiştir. Çift dayanım taşıyan donör “202 F1” numaralı hibrit ile “51” domates hattının melezlenmesi ile *Ty-3* ve *Sw-5* genlerinin “51” elit hattına aktarılması ve *Ty-3* ve *Sw-5*’e ikili dayanım taşıyan domates hattının geliştirilmesi hedeflenmiştir. Yapılan melezlerlerden tohumlar alınıp, bu tohumlardan elde edilen fidelerden yaprak örneği alınarak Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü’nde ki Moleküler Biyoloji Laboratuvarı’nda TSWV’ye dayanıklılık sağlayan *Sw-5* geni ve TYLCV’ye dayanıklılık sağlayan *Ty-3* geninin hangi melezlenen bitkilere aktarıldığı, moleküler markırlar ile tespit edilmiştir. Heterozigot olarak elde edilen bireylerin geriye melezleme döngüsünü takiben kendileme yöntemi yapılarak saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

BC2F2 popülasyonundaki domateslerden alınan yaprak örneklerinin DNA’ları izole edilmiş ve moleküler markırlar ile taranmıştır. Tarama sonucunda *Ty-3*-P6-25 primeri ile yapılan BC2F2 bitkilerinin PCR çalışması sonucu 173 bitkinin *Ty-3* bakımından heterozigot (Rr) dayanıklı olduğu belirlenmiştir. 59 bitkinin *Ty-3* bakımından homozigot dayanıklı (RR) ve 136 bitkinin homozigot resesif (rr) olduğu tespit edilmiştir. Tarama sonucunda *Sw-5*-2 primeri ile yapılan BC2F2 bitkilerinin PCR çalışması sonucunda ise 173 bitkinin *Sw-5* bakımından heterozigot (Rr) olduğu, 40 bitkinin de homozigot (RR) dayanıklı yani 574 bp de bant gösterdiği tespit edilmiştir. TYLCV için *Ty-3*, TSWV için *Sw-5* geniyle bağlantılı moleküler markırlar kullanılarak BC2F2 bitkilerinde ikili virüs dayanımlı olan 80 adet bitkinin heterozigot (Rr) olduğu ve 12 adet bitkinin ikili olarak homozigot (RR) dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Dayanıklı olan homozigotlaşmış bireylerden elit hata meyve şekli, kaliks, irilik ve sertlik bakımından en çok benzerlik gösteren fenotipler seleksiyonda seçilmiştir. Seleksiyondan sonra seçilen bireyler orijinal ebeyn ile melezlenmiştir. Melezleme sonucu moleküler markır destekli seleksiyon ile elde edilen elit hattın yeni versiyonları olan F1 domatesler ile hassas F1 domatesler ve ticari çeşitler ile tekerrürlü deneme dikimi yapılarak ticari adayı çeşitlerinin belirlendiği denemeye girmiştir.

Moleküler markırlarla testleme sonucu belirlenen *Ty-3* ve *Sw-5* dayanımlı hatlar fenotipik gözlemler ve denemeler sonucunda da dayanıklı oldukları gözlemlenmiştir. Yapılan gözlemler ve incelemeler moleküler markırla testleme sonuçlarını destekler nitelikte olmuştur.

Moleküler markır yardımcı ıslah, klasik ıslah metotlarına göre ıslah hatlarının taranmasında sürecin daha kısa olacağını ve iş gücünün azaltılabileceğini göstermiştir. Elde edilen sonuçlar moleküler tarama sonuçlarını desteklemiş ve güvenilirliğini ortaya koymuştur.

6. KAYNAKLAR

- Adkins, S., (2000). Tomato spotted wilt virus positive steps towards negative success. *Molecular Plant Pathology*, 1(3): 151-157.
- Agrios, G. N. 1997. Genetics of plant disease. *Plant Pathology*, 115-142 p.
- Agrios, G.N., (2005). *Plant Pathology*. Fifth Edition. Printed in the United States of America. 922.p.
- Anbinder, I., Reuveni, M., Azari, R., Paran, I., Nahon, S., Shlomo, H., Chen, L., Lapidot, M. and Levin, I., 2009, *Molecular dissection of tomato leaf curl virus resistance in tomato line TY172 derived from Solanum peruvianum*, *Theor Appl Genet.*, 119:519-530 pp.
- Aramburu, J. Marti, M. 2003. *The occurrence in North-east Spain of a variant of Tomato spotted wilt virus (TSWV) that breaks resistance in tomato (Lycopersicon esculentum) containing the Sw-5*. *Plant Pathology*, 52, 407.p.
- Arthurs, S., McKenzie, C. L., Chen, J., Dogramaci, M., Brennan, M., Houben, K., Osborne, L., 2009. *Evaluation of Neoseiulus cucumeris and Amblyseius swirskii (Acari: Phytoseiidae) as biological control agents of chilli thrips, Scirtothrips dorsalis (Thysanoptera: Thripidae) on pepper*. *Biological control*, 49(1): 91-96.
- Awasthi, L., (2020). *Applied Plant Virology*. UK, Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818654-1.00038-4>.
- Aybak, H., Ç., Kaygısız, H., 2007. *Domates Yetiştiriciliği*, Hasad Yayıncılık
- Bai, Y. and P. Lindhout, *Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future?* *Annals of botany*, 2007. 100(5): p. 1085-1094.
- Barone G., Lo Guidice A., Mazzoleni, P. and Pezzino, A., 2005, *Chemical characterization and statistical multivariate analysis of ancient pottery from Messina*, *Archaeometry*, 47, 745-762 pp.
- Barone, A., 2004. *Molecular marker-assisted selection for resistance to pathogen in tomato*. *Marker Assisted Selection: A Fast Track To Increase genetic Gain in Plant and Animal Breeding*. Session 1: MAS in Plant, pp: 29-35.
- Barro, P.J.D., Liu, S., Boykin, L.M., Dinsdale, A.B., 2011, *Bemisia Tabaci: A Statement of Species Status*, 56(1): 1-4 pp.

- Czosnek H., 2007, Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance, Springer.
- Çandar, A. & Erkan, S. (2011). *Bitkilerde Viral Etmenlere Karşı Genetik Dayanıklılık Mekanizmaları. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, (9)3, 13-27.
- De Haan, P., Wagemakers, L., Peters, D., Goldbach, R., 1990. The S RNA segment of tomato spotted wilt virus has an ambisense character. *Journal of General Virology*, 71(5): 1001-1007.
- Dianese, E. C., de Fonseca, M. E. N., Goldbach, R., Kormelink, R., Inoue-Nagata, A. K., Resende, R. O., & Boiteux, L. S. (2010). Development of a locus-specific, co-dominant SCAR markır for assisted-selection of the Sw-5 (Tospovirus resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions. *Molecular Breeding*, 25(1), 133.
- Dianese E.C., Fonseca M.E.N., Goldbach R., Kormelink R., Inoue-Nagata A.K., Resende R.O., Boiteux L.S. 2010. Development of a locus-specific, codominant SCAR markır for assisted-selection of the Sw-5 (Tospovirus resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions. *Mol Breeding*, 25:133–142
- Diaz, J.A., Canizares, M.C., Moriones, E., Bejanaro, E.R., Czosnek, H., Castillo, J.R., 2010, Tomato Yellow Leaf Curl Viruses: Menage a Trois Between the Virus Complex, the Plant and the Whitefly Vector, 11(4): 441- 448 pp
- Díaz-Pendón, J.A., Sánchez-Campos, S., Fortes, I.M., & Moriones, E. (2019). *Viruses*, 11(1), 45. <https://doi.org/10.3390/v11010045>
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. 1990. *Isolation of Plant Dna From Fresh Tissue*. *Focus* 12:13-15.
- FAO, 2016. Statistic database. <http://faostat.fao.org/>. Erişim tarihi: 10.07.2017
- FAO. Statistical Pocketbook World Food and Agriculture. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. . 2017; Available from: <http://www.fao.org/land-water/databases-and-software/en/> [Erişim Tarihi: 30.10.2018].
- Fehr, W.R., 1991, Principles of Cultivar Development, Macmillan Publishing Company, ISBN 0-07-020345-8. 536 pp.
- Foolad M.R., 2007, Genome mapping and molecular breeding of tomato, *International Journal of Plant Genomics*, vol. 2007, Article ID 64358, 52 pages. doi:10.1155/2007/64358

- Foolad, M.R., Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 2007. 2007.
- Francki, R.I.B., Fauquet, C.M., Knudson D. L. & Brown, F. (1991). Classification and Nomenclature of Viruses. In: Fifth Report of The International Committee on Taxonomy of Viruses (pp.1-450).
- Garland, S., Sharman, M., Persley, D., McGrath, D., 2005. The development of an improved PCR-based markır system for Sw-5, an important TSWV resistance gene of tomato. *Australian J. Agric. Research*, 56: 285-289.
- German, T.L., Ullman, D.E. & Moyer, J.W., (1992). Tospoviruses: Diagnosis, Molecular Biology, Phylogeny And Vector Relationships. *Review of Phytopathology*, 30, 315-348.
- Gordillo, L. F., Stevens, M. R., Millard, M. A., Geary, B., 2008. Screening two *Lycopersicon peruvianum* collections for resistance to Tomato spotted wilt virus. *Plant disease*, 92(5): 694-704.
- Greenough, D.R., Black, L.L., Bond, W.P., (1990). Aluminum-Surfaced Mulch: An Approach to the Control of Tomato spotted wilt virus in Solanaceous Crops. *Plant Disease*, 74, 805-808.
- Günay, A., Sebze yetiştiriciliği. Cilt-II, Meta Basımevi, İzmir, 2005.
- Hallwass, M., de Oliveira, A.S., Dianese, E., Lohuis, D., Boiteux, L.S., Nagata, A. K., Resende, R. O., Kormelink, R. (2014). *The Tomato spotted wilt virus cellto-cell movement protein (NSm) triggers a hypersensitive response in Sw-5 containing resistant tomato line and in Nicotiana benthamiana transformed with the f unctıonal Sw-5b resistance gene copy*. *Molecular Plant Pathology*, 15(9), 871-880.
- Hanson, P.M., Bernacchi, D. and Green, S., 2000a, Mapping a wild tomato introgression associated with tomato yellow leaf curl virus resistance in a cultivated tomato line, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, vol. 125, no. 1, 15–20 pp.
- Hanson, P.M., Bernacchi, D., Green, S., Tanksley, S.D., Muniyappa, V., Padmaja, A.S., Chen, H., Kuo, G., Fang, D. and Chen, J., 2000b, Mapping a wild tomato introgression associated with tomato yellow leaf curl virus resistance in a cultivated tomato line, *J. Am Soc Hort Sci*, 15:15– 20 pp
- Hull, R., (2002). *Matthews plant virology*, 4th Edition. Academic Press.

- Jensen, K. S. Betteray, Smeets, B. J. Ji, Y. Scott, J. W. Mejía, L. Havey, M. J., Maxwell D. P. 2007. Co-dominant SCAR Markır, P6-25, for Detection of the Ty-3, Ty-3, and Ty-3a alleles of Chromosome 6 of Tomato College of Agricultural and Life Sciences at University of Wisconsin-Madison, and by grants from Unilever Bestfoods Ltd. and the Florida Tomato Committee to J. W. Scott.
- Ji, Y., Salus, M.S., van Betteray, B., Smeets, J., Jensen, K.S., Martin, C.T., Meji'a, L., Scott, J.W., Havey, M.J. and Maxwell, D.P., 2007c, *Codominant SCAR markers for detection of the Ty-3 and Ty- 3a loci from Solanum chilense at 25 cM of chromosome 6 of tomato*, Rep Tomato Genet Coop, 57:25–28 pp.
- Ji, Y., Scott, J.W. and Schuster, D.J., 2009a, Toward fine mapping of the Tomato yellow leaf curl virus resistance gene Ty-2 on chromosome 11 of tomato, HortScience, 44(3):614–618 pp.
- Ji, Y., Scott, J.W., Hanson, P., Graham, E. and Maxwell, D.P., 2007b, Sources of resistance, inheritance, and location of genetic loci conferring resistance to members of the tomatoinfecting begomoviruses. In: Czosnek H (ed) Tomato yellow leaf curl virus disease: management, molecular biology, breeding for resistance. Kluwer, Dordrecht, 343–362 pp.
- Ji, Y., Scott, J.W., Maxwell, D.P. and Schuster, D.J., 2008, Ty-4, a tomato yellow leaf curl virus resistance gene on chromosome 3 of tomato, Rep Tomato Genet Coop, 58:29–31 pp.
- Ji, Y., Scott, J.W., Schuster, D.J. and Maxwell, D.P., 2009b, Molecular mapping of Ty-4, a new Tomato Yellow Leaf Curl Virus (2014) 34:749– 760 759 123 resistance locus on chromosome 3 of tomato, J Am Soc Hort Sci 134:281–288 pp
- Jones, J., Zitter, T., Momol, T., and Miller, S. 2014. Compendium of tomato diseases and pests, second edition. American Phytopathological Society, St.Paul,MN.
- Melzer, M., Tripathi, S., Matumoto, T., Keith, L., Sugano, J., Borth, W., Wieczorek,Kil, E.J., Kim, S., Lee, Y.J., Byun, H.S., Park, J., Seo, H., Kim, C.S., Shim, J.K., Lee, J.H., Kim, J.K., Lee, K.Y., Choi, H.S., & Lee, S. (2016). Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV-IL): a Seed-Transmissible Geminivirus in Tomatoes. Scientific Reports, 6, 1-10. <https://doi.org/10.1038/srep19013>
- KKGM, 2016, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, (www.tarimorman.gov.tr), (Erişim Tarihi: 6 Mayıs 2019).

- Korkmaz, S., Turhan, P., 2006. *Çanakkale İlinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün Serolojik ve Biyolojik Yöntemlerle Saptanması. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi* 12 (2):130-136.
- Lapidot, M., Friedmann, M., Pilowsky, M., Ben- Joseph, R., Cohen, S., 2001, Effect of Host Palnt Resistance to Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) on Virus Acquisition and Transmission by Its Whitefly Vector, 91(12): 1209- 1210 pp
- Le, T.S. (1970). Tomato spotted wilt virus. England Issued jointly by the Commonwealth Mycological Institute (CMI) and the Association of Applied Biologists (AAB)
- Momol, M.T., Olson, S., Funderburk, J.E., Stavisky, J., & Morois, J.J., (2004). Integred Management of Tomato spotted wilt virus on tomatoes. *Plant Disease*, 88, 882-890.
- Moriones, E., Castillo, J., N., 2000, Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide, *Virus Research* 71 123–134.
- Moyer, J.W., German, T., Sherwood, J.L. & Ullman, D. (1999). An update on Tomato spotted wilt virus and Related Tospoviruses. *APSnet Features*. Online. doi: 10.1094/APSnetFeatures-1999-0499
- Nagata, T., Almedia, A.C.L., De Resende, R.O. & De Avila, A.C. (2002). The Transmission specificity and efficiency of tospoviruses. *Trips and tospoviruses. Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera. Australian National Insect Collection, July 2-7, Canberra*, 45- 46.
- Oğuz, A., Ellialtıoğlu, Ş., Çelik, N., Zengin, S., 2009. Bazı domates hatlarının domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV =Tomato Spotted Wilt Virus)’ne karşı reaksiyonlarının mekanik inokulasyon yöntemi ile belirlenmesi. *Derim*, 26(1): 40-50.
- Pandey, K. K., Pandey, P. K., Kalloo, G., Banerjee, M. K. 2003. Resistance to early blight of tomato with respect to various parameters of disease epidemics. *Journal of General Plant Pathology*, 69(6): 364-371.
- Pappu, H. R., Jones, R. A. C., Jain, R. K., 2009. Global status of tospovirus epidemics in diverse cropping systems: successes achieved and challenges ahead. *Virus research*, 141(2): 219-236
- Peralta, I.E. and D.M. Spooner, History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae). *Genetic improvement of solanaceous crops*, 2006. 2: p. 1-27.

- Pınar, H., Atilla, A., Keleş, D., Mutlu, N., Denli, N., Mustafa, Ü. 2013a. *Domates hatlarında Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici'ye dayanıklılığın moleküler markörler yardımıyla belirlenmesi*. *Derim*, 30(1): 15-23.
- Pınar, H., Atilla, A., Keleş, D., Mutlu, N., Denli, N., Mustafa, Ü. 2013b. *Domateste Bazı Hastalık ve Zararlılara Dayanıklı Hat ve Çeşit Geliştirmede Moleküler Markörlerin Kullanımı*. *Alatırım*, 12(1):10-18.
- Prasanna, H. C., D. P., Rai, G.K, Krishna, R., Kashyap, S.P., Singh, N. K., Malathi, V.G. 2015. Pyramiding Ty-2 ve Ty-3 genes for resistance to monopartite and bipartite tomato leaf curl viruses of India. *Plant Pathology*, 64(2): 256-264.
- Pico, B., Diez, M.J. and Nuez, F., 1996, Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop, The tomato yellow leaf curl virus—a review., *Sci Hort.*, 67:151-196 pp.
- Polston, C., E., McGovern, R., J. and Stansly, P., A., 1997, Tomato Yellow Leaf Curl Virus, (4), 2-3 pp.
- Racchah, B. & Fereres, A. (2009). “Plant Virus Transmission by Insects. In *Encyclopedia of Life Science (ELS)*. (pp. 1-9)
- Rick C.M. & Holle M. (1990). Andean *Lycopersicon esculantum* var. *Cerasiforme* genetic variation and its evolutionary significance, *Economic Botany*, 44, 6978.
- Rick, C.M. (1973). Potential Genetic Resources in Tomato Species. Clues from Observation in Native Habitats. *Genes, Enzymes and Populations, BasicLife Sciences*, 2, 255-269.
- Rosello, S., Diez M.J., Nuez F., 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. The Tomato spotted wilt virus -a review. *Scientia Horticulturae*, (67): 117-150.
- Rosella, S., Ricarte, B., José Díez, M., Nuez, F. 2001. Resistance to tomato spotted wilt virus introgressed from *Lycopersicon peruvianum* in line UPV 1 may be allelic to Sw-5 and can be used to enhance the resistance of hybrids cultivars. *Euphytica*, 119(3): 357-367.
- Scott, J.W., 2007, Breeding for resistance to viral pathogens. In: Razdan MK, Mattoo AK (eds) *Genetic improvement of solanaceous crops*. Science Publisher Inc, Enfield, NH, 447–474 pp.

- Spassova, M. I., Prins, T. W., Folkertsma, R.T., Klein-Lankhorst, R. M., Hile, J., Goldbach, R.W., Prins, M., 2001. The tomato gene Sw-5 is a member of coiled coil, nucleotide binding, leucine rich repeat class of plant resistance genes and confers resistance to TSWV in tobacco. *Molecular Breeding*, 7: 151-161 pp.
- Spooner, D.M., Peralta, I.E. and Knaap, S., 2005, Comparison of AFLPs with other for phylogenetic inference in wild tomatoes, [*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.)Wettst.], *Taxon*, 54: 43-61pp.
- Stevens, M.R., Scott, S.J. & Gergerich, R.C. (1992). Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, 59, 9–17 s.
- Şalk, A., Arın, A., Deveci, M., Polat, S., 2008. Özel Sebzecilik. NKÜ, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tekirdağ, 488 s.
- Şevik, M. A., 2008. Thrips (Thripidae: Thysanoptera) türleri ile taşınan bitki virüsleri, *Derim*, 25(1): 1-11 s.
- Şevik, M. A., 2011. *Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) ’nün Tarımsal ürünlerde meydana getirdiği ekonomik kayıplar. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 15(1): 35-42 s.
- Şevik, M. A., 2015. *Sebze Üretimini Tehdit Eden Viral Hastalık Etmeni: Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus–TSWV) Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Dergisi Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech*, 5(2): 17-23 s.
- Şevik, M.A., (2007). Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV)“nün Samsun İlinde Domates Üretim Alanlarındaki Yayılış Durumunun ve Bazı Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi. (Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Taylor, J.B. (1986). Biosystematic of the Tomato. In: *The Tomato Crop. A Scientific Basis for Improvement* (pp 1-34).
- Topakcı., N. ve Güneş., S., *Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklığı (Tomato Yellow Leaf Curl Begomovirus -TYLCV) Hastalığında Virüs Vektör İlişkisi*, 8s.
- TTSM, 2016," Sertifikalı Tohumluk Üretimi Yapılacak Çeşitler ve Üretim İzinli Çeşitler Listesi" <http://www.tarim.gov.tr/BUGEM/TTSM/>(Erişim Tarihi: 05 Şubat 2016)

- TÜİK, 2016. Türkiye istatistik kurumu. Bitkisel üretim istatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/>. Erişim tarihi: 10.07.2017.
- Valizadeh, M., Valizadeh, J. & Jafar, M. (2011). *Identification, distribution and incidence of important tomato and cucurbits viruses in Southeast of Iran*. American Journal of Plant Physiology, 6(5), 242-251 p.
- Verlaan, M.G., Hutton, S.F., Ibrahim, R.M., Kormelink, R., Visser, R.G., Scott, J.W., Edwards, J.D and Bai, Y., 2013, *The tomato yellow leaf curl virus resistance genes Ty-1 and Ty-3 are allelic and code for DFDGD-class RNA-dependent RNA polymerases*, PLoS Genet, 9(3):e100339 p.
- Vidavski, F.S., 2007, Exploitation of resistance genes found in wild tomato species to produce resistant cultivars; pile up of resistant genes. In: Czosnek H (ed) *Tomato yellow leaf curl virus disease: management, molecular biology, breeding for resistance*. Kluwer, Dordrecht, 363-372 p.
- Whitfield AE, Ullman DE, German TL (2005) Tospovirus-thrips interactions. Annual Review of Phytopathology 43: 459–494 p.
- Wijkamp, I., & Peters, D. (1993). Determination of the median latent period of two tospoviruses in frankliniella occidentalis using a novel leaf disk assay. Phytopathology, 82, 986-991 p.
- Wijkamp, I., Goldbach, R. & Peters, D. (1996). Propagation of Tomato spotted wilt virus in Frankliniella occidentalis does neither result in pathological effects nor in transovarial passage of the virus. Entomologia Experimentalis et Applicata, 81, 285-292 p.
- Williams, J.A., Paddock, S.W. and Carroll, S.B., 1993, Pattern formation in a secondary field: a hierarchy of regulatory genes subdivides the developing Drosophila wing disc into discrete subregions, Development, 117(2): 571-584 p.
- Wilson, C. R., Wilson, A. J., Pethybridge, S. J., 2000. First report of Tomato spotted wilt virus in common agapanthus. Plant disease, 84(4): 491-491 p.
- Yıldırım, A., Kandemir, N. 2001. Genetik markörler ve analiz metodları. Özcan, S. Babaoğlu, M. Bitki Biyoteknolojisi II. Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. Selçuk Üniv. Vakıf Yayınları, 112-159 s.
- Young, N.D. and Tanksley S.D., 1989, Restriction fragment length polymorphisms maps and the concept of graphical genotypes, Theoretical and Applied Genetics, 77(1): 95–101 p.

Zamir, D., Ekstein-Michelson, I. and Zakay, Y., 1994a, *Mapping and introgression of a tomato yellow leaf curl virus tolerance gene*, Ty-1, Theoretical and Applied Genetics, vol. 88, no. 2, 141-146 p.

Zamir, D., Eksteinmichelson, I., Zakay, Y., Navot, N., Zeidan, M., Sarfatti, M., Eshed, Y., Harel, E., Pleban, T., Vanoss, H., Kedar, N., Rabinowitch, H.D. and Czosnek, H., 1994b, Mapping and introgression of a tomato yellow leaf curl virus tolerancegene, Ty-1, Theor Appl Genet., 88:141-146 p.



ÖZGEÇMİŞ

SEVDE NUR YEMŞEN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2018- 2021	Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya
Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi
2012-2017	Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Samsun

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Ziraat Mühendisi/Biyoteknolog	Teta Tohumculuk Ltd. Şti.
2020-Devam Ediyor	Sebze Tohumları Islahı Araştırma ve Geliştirme İstasyonu, Antalya
Ziraat Mühendisi/ Biyoteknolog	Argeto Sebze Tohumları Islah Üretim ve Paz. Ltd. Şti.
2019-2020	Arge-Moleküler Islah Laboratuvarı, Antalya
Biyoteknolog	Antalya Havaalanı Dış Hatlar
2020	Covid-19 PCR Laboratuvarı, Antalya
Ziraat Mühendisi/Biyoteknolog	Petektar Tohum San. ve Tic. Ltd. Şirketi
2017-2018	Sebze Tohumları Islahı Araştırma ve Geliştirme İstasyonu, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Kantar F., Yemşen S. (2021). Phenotypic and iPBS-retrotransposon Marker Diversity in Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) Germplasm, *Biotech Studies* 30(1), 7-15 ,doi.org/10.38042/biost.2021.30.01.02.

