

## Bazı Nitelikli Kopya Biber Hatlarının TSWV'ne Dayanım Düzeylerinin Belirlenmesi

Nora ALLAM<sup>1,a</sup>, Gülbanu KIYMACI<sup>1,b</sup>, Ünal KAL<sup>2,c</sup>, Önder TÜRKMEN<sup>2,3,\*</sup>,d

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Selçuklu-Konya

<sup>2</sup>Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Selçuklu – Konya

<sup>3</sup>Necmettin Erbakan Üniversitesi, Ereğli Ziraat Fakültesi, Ereğli- Konya

\*Sorumlu Yazar e-mail: [turkmenonder@hotmail.com](mailto:turkmenonder@hotmail.com)

<sup>a</sup>ORCID: (0000-0003-2022-6464), <sup>b</sup>ORCID: (0000-0002-7693-7663), <sup>c</sup>ORCID: (0000-0002-3447-316X),

<sup>d</sup>ORCID: (0000-0003-3218-6551)

### Makale Bilgileri

### ÖZ

**Makale Geçmişi**  
**Geliş: 17.11.2022**  
**Kabul: 30.12.2022**  
**Yayın: 31.12.2022**

### Anahtar Kelimeler:

Biber,  
TSWV,  
Moleküler markör

Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) dünyada biber üretimini sınırlayan ve ekonomik kayıplara neden olan bir viral hastalık etmenidir. TSWV'ye dayanıklılığı kontrol eden gen (Tsw) birçok *Capsicum chinense* biber genotipinde ('PI 152225', 'PI 159236', 'CNPH 275' 'C00943' ve '7204') tespit edilerek 10. kromozomda haritalanmış ve kültür çeşitlerine (*Capsicum annuum*) aktarılmıştır. Sw-5'in homoloğu haritalanamamasına rağmen fenotipik olarak benzer genler domateste vardır, birçok Sw5 homoloğu hem domates hem biberde benzer bölgelerde bulunmuştur. Tsw ve Sw5 arasındaki ilişki TSWV'nin genetik çalışmaları yoluyla incelenmiştir. Viral kökenli bu patojen ile mücadelede etkili ve çevreci yol dayanıklı çeşit kullanmaktır. Çalışmamızda S3 kademesinde 40 adet genotipin domates lekeli solgunluk virüsü (tswv) e karşı dayanım düzeyleri çalışmalarda SCAR markörü kullanılmıştır. Genotiplerin 5 adet homozigot dayanım (RR), 15 adet hassas (rr), 20 dayanıklı (Rr) olarak tespit edilmiştir.

## Determination of TSWV Resistance Levels of Some Properties of Capia Pepper Lines

### Article Info

### ABSTRACT

### Article History

**Received: 17.11.2022**

**Accepted: 30.12.2022**

**Published: 31.12.2022**

### Keywords:

Pepper,  
TSWV,  
Molecular marker

Tomato spotted wilt virus (TSWV) is a viral disease agent that limits pepper production and causes economic losses in the world. The gene controlling resistance to TSWV (Tsw) has been detected in many *Capsicum chinense* pepper genotypes ('PI 152225', 'PI 159236', 'CNPH 275' 'C00943', and '7204') and mapped on chromosome 10 it has been mapped to cultivars (*Capsicum annuum*). Although the homolog of Sw-5 could not be mapped, phenotypically similar genes are present in tomatoes, with many Sw5 homologs found in similar regions in tomatoes and pepper. The relationship between Tsw and Sw5 has been studied through genetic studies of TSWV. The most effective and environmentally friendly way to combat this viral pathogen is to use resistant varieties. Our study investigated the resistance levels of 40 genotypes at S3 stage against tomato spotted wilt virus (TSWV) investigated. SCAR marker was used in molecular studies. Genotypes were determined as 5 homozygous resistant (RR), 15 sensitive (rr), and 20 heterozygous resistant (Rr).



**Atıf/Citation:** Allam, N., Kıymacı, G., Kal, Ü. & Türkmen, Ö. (2022). Bazı Nitelikli Kopya Biber Hatlarının TSWV'ne Dayanım Düzeylerinin Belirlenmesi, *Ereğli Tarım Bilimleri Dergisi*, 2(2), 62-66.

"This article is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) (CC BY-NC 4.0)"

## GİRİŞ

Biber, patlıcangiller (*Solanaceae*) familyasından *Capsicum* cinsi içerisinde yer alan bir sebze türüdür. Yetiştiricilikte biber verimliliğini sınırlandıran birçok abiyotik ve biyotik stres faktörleri vardır. Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) dünyada biber üretimini sınırlayan ve ekonomik kayıplara neden olan bir viral hastalıktır. Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) yaprakların sararmasına ve bazı durumlarda bitkinin yapraklarının kırmızımsı bir renk oluşturmasına, yaprak uçlarının kırılmasına neden olur iken, gövde üzerinde görülen belirtiler ise bodurlaşma, dal uçlarında yanma şeklinde kurumalar meydana gelir, meyveler üzerinde ise, şekil bozuklukları, siğil şeklinde kabarcıklar meydana gelmektedir (Soler ve ark., 1998). Hastalık doğrudan meyveleri etkileyip ürünün pazar değerini oldukça düşürür (Yılmaz, 2002). Patojene karşı etkin bir mücadele yöntemi yoktur. Biber tarımında bu en etkin ve en ekonomik yöntem olarak dayanıklı çeşit kullanılmalıdır. TSWV'ye dayanıklılığı kontrol eden gen (Tsw) birçok *Capsicum chinense* biber genotipinde ('PI 152225, 'PI 159236, 'CNPH 275' 'C00943' ve '7204') tespit edilerek 10. kromozomda haritalanmış ve kültür çeşitlerine (*Capsicum annum*) aktarılmıştır (Black ve ark., 1991; Costa ve ark., 1995; Boiteux, 1995; Moury ve ark., 1997; Jahn ve ark., 2000). Sw-5'in homoloğu haritalanamamasına rağmen fenotipik olarak benzer genler domateste de vardır ve birçok Sw-5 homoloğu hem domates hem biberde benzer bölgelerde bulunmuştur. Tsw ve Sw-5 arasındaki ilişki TSWV'nin genetik çalışmaları yoluyla incelenmiştir (Jahn ve ark., 2000). Hastalık ve zararlılarla mücadelede kimyasal uygulamalar, kültürel uygulamalar ve dayanıklı çeşit kullanımı gibi yöntemler kullanılmaktadır. Viral hastalıklara karşı kimyasal mücadele ile birlikte, kültürel uygulamaların kullanımı da hastalıkla mücadelede zaman zaman etkisiz kalmaktadır. Dayanıklı çeşit kullanımı ise en etkili ve çevreci mücadele yöntemi olarak kabul edilmektedir. Bu yönü ile dayanıklı çeşit geliştirmek bitki ıslahının önemli konuları arasında yer almaktadır. Dayanıklı çeşit kullanımı sadece verim ve kalitenin artışı değil, aynı zamanda sürdürülebilir bir çevre ile uyumlu bir mücadele yöntemidir (Qi ve ark., 2022; Boiteux, 1995; Moury ve ark., 1997). Günümüzde birçok yeni çeşit geliştirilmiş olmasına rağmen hastalık ve zararlılara dayanıklılığın iyileştirilmesi konusunda çalışmalar halen devam etmektedir. Domates lekeli solgunluk virüsü biber yetiştiriciliği yapılan ülkelerde ciddi kayıplara sebep olmaktadır. Viral etmen Türkiye dahil dünyanın birçok yerinde önemli hasarlar meydana getirmektedir. TSWV (domates lekeli solgunluk virüsü)'nin kültür bitkilerinde neden olduğu ürün kaybından kaynaklanan ekonomik kayıp miktarı, yetiştirilen bölge şartlarına ve mevsim koşullarına göre değişim gösterebilmektedir. Bundan dolayı tarımsal ürünlerin ekonomik kayıp miktarının rakamsal değerini net bir şekilde belirtmenin güç olduğu belirlenmiştir (Bos, 1982; Strange ve Scott, 2005). Ayrıca meyve kalitesinin düşmesine bağlı olarak ürünlerin pazar veriminin düşmesi de bir başka kayıp olarak ortaya çıkmaktadır. Bu çalışma ile ülkemizde ekonomik olarak yetiştiriciliği yapılmakta olan biber genotiplerinin domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) 'e karşı dayanım durumları moleküler olarak belirlenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Bitkisel Materyal

Çalışmada 2021 bahar Aksu ilçesinde SELKO şirketine ait AR-Ge serasında S3 kademesinde 40 adet kapa tipi biber bitkisel materyalini oluşturmuştur.

## Yöntem

Moleküler karakterizasyon için genç fide döneminde bulunan bitkilerden steril bistüri yardımıyla bitkinin sağlıklı, genç yapraklarından her genotipin temsil edecek şekilde on adet bitkiden DNA izolasyonu için örnekler alınmıştır. Bitkilerden alınan genç yaprak örnekleri 80 °C derin dondurucuda DNA izolasyonu yapıncaya kadar muhafaza edilmiştir. Biber yaprak doku örneklerinden toplam DNA izolasyonu, QiagenTissueLyzerIIcihazında CTAB protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. Biber yaprak DNA örnekleri ve CAPS moleküler işaretleyiciler (Moury ve ark., 2000) (aşağıda Çizelge 1’de verilmiştir) kullanılmıştır. PCR reaksiyonları Frary önerilen yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemine göre: 25 µl reaksiyon karışımı içerisinde 1 µl kalıp DNA (40-60 ng/µl), 2.5 µl 10X PCR tampon çözeltisi (1x), 0.5 µl dNTP (0.2 mM), her birinden 0.5 µl olmak üzere ileri (Forward) ve geri (Reverse) primerler (10 pmol), 0.25 µl Taqpolymerase enzimi (0.25U) ve 19.75 µl steril dH<sub>2</sub>O içermektedir. PCR reaksiyonları GeneAmp®PCRSytem 9700 (Applied Biosystems) cihazı kullanılarak yapılmıştır. PCR döngüsü (35 döngü için 94°C/5 dakika, 94°C/30 saniye, 50°C/45 saniye, 72°C/45 saniye 72°C/5 dakika ve so sıcaklık 4°C) kullanılarak uygulanmıştır amplifikasyonun olup olmadığı, PCR ürünleri %1’lik agarose jelde yürütülerek amplifikasyonun olup olmadığı kontrol edilmiştir. PCR ürünleri polimorfizm sağlayan (gerekli ise) uygun bir restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu işlem için 15 µl PCR ürünü, 1.5 µl 10x kesimleme tampon çözeltisi (1x), 0.2 µl (100x) BSA (1x) (enzim için gerekliyse), 0.5 µl restriksiyon enzimi ve 2.8 µl steril dH<sub>2</sub>O kullanılmıştır. Reaksiyonda kullanılan enzim tipine bağlı olarak uygun sıcaklıklarda en az 3-4 saat inkübe edilmiştir. Örneklerin kesimlenen parçacıklarının ayrıştırılması için kapiller elektroferez sistemi kullanılmıştır.

**Tablo 1.** Hastalık testlemede kullanılan primer listesi.

| Markör isimleri | Markörler | Primerlerinnükleoit dizilimi |
|-----------------|-----------|------------------------------|
| SCAC568- F      | SCAR      | GTGCCAGAGGAGGATTT            |
| SCAC568-R       | SCAR      | GCGAGGTGGACTGATA             |

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Moleküler işlemler sonucunda elde edilen örnekler kapillar ektroferez sistemi ile görüntülenmiş bu görüntüler değerlendirilerek pozitif ya da negatif şekilde dayanıklılık durumları belirlenmiştir. Sonuç olarak çalışmada yer alan biber genotiplerinin TSWV etmenine karşı; % 12.5 homozigot dayanımlı (RR), % 67.5 heterozigot dayanımlı (Rr), % 20’sinin ise hassas (rr) olduğu belirlenmiştir.

Çelik ve ark., (2018), yaptıkları bir çalışmada 210 bitki fide döneminde SCAC568 markırı ile taranmış ve 44 bitki hassas, 166 bitki heterozigot dayanıklı olarak belirlenmiştir. Çoban (2021)’in yaptığı bir çalışmada SCAR yöntemi ile, 6 farklı F<sub>1</sub> bitkisinin TSWV hastalığına dayanıklılık geni taşıdığı tespit edilmiştir. Biberde yapılan başka bir çalışmada F2 popülasyonunda, 26’sının heterozigot (Rr), 14 homozigot (RR) dayanımlı ve 12 hassas (rr) olarak bulmuştur. Ayrıca F2 popülasyonun 56 adetinden PCR ürünü elde edilmiş bunların XbaI enzimi ile yapılan kesim analizi sonucunda, 11 adet hassas (rr) bireye ait PCR ürününün kesime uğramadığını bildirilmiştir (İkten, 2019). Polat ve ark., 2016’da yaptıkları çalışmada 118 birey testlenmiş ve 568 bp band elde edilen 48 homozigot birey tespit edilmiştir. Çalışmada SCAC568 kullanılarak dayanıklı ve homozigot- heterzigot dayanıklı bireylerin belirlenmesinde yöntemin başarılı şekilde uygulanabilir olduğunu bildirmişlerdir. Kün ve ark., (2013)’de

yaptıkları çalışmada 773 birey testlenmiş ve 455 homozigot dayanıklı, 117 heterozigot dayanıklı olarak bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada CAPS markırları kullanılmış ve 346 genotip içerisinde 150 adet homozigot (RR) 83 adet heterozigot (Rr) dayanıklı ve 113 adet hassas (rr) olduğunu tespit etmişlerdir (Özalp, 2019).

**Tablo 2.** Genotiplerin TSWV'ye Dayanımlarını Gösteren Çizelge

| Genotip No | (TSWV) dayanım durumu * | Genotip No | (TSWV) dayanım durumu * |
|------------|-------------------------|------------|-------------------------|
| 2-1        | Rr                      | 46-1       | rr                      |
| 2-3        | Rr                      | 49-1       | Rr                      |
| 3-2        | Rr                      | 50-1       | Rr                      |
| 14-1       | RR                      | 53-1       | Rr                      |
| 20-1       | Rr                      | 55-1       | rr                      |
| 21-1       | Rr                      | 58-1       | Rr                      |
| 22-1       | Rr                      | 59-1       | rr                      |
| 32-1       | Rr                      | 60-1       | Rr                      |
| 33-1       | Rr                      | 61-1       | rr                      |
| 34-1       | Rr                      | 61-2       | rr                      |
| 26-1       | Rr                      | 66-2       | rr                      |
| 37-1       | Rr                      | 72-1       | Rr                      |
| 37-2       | RR                      | 73-1       | rr                      |
| 37-3       | Rr                      | 74-1       | rr                      |
| 39-1       | Rr                      | 78-1       | Rr                      |
| 42-1       | Rr                      | 82-1       | RR                      |
| 43-1       | Rr                      | 82-3       | Rr                      |
| 45-1       | RR                      | 84-1       | Rr                      |
| 45-2       | Rr                      | 85-1       | Rr                      |
| 45-3       | RR                      | 85-2       | Rr                      |

\*: RR =homozigot dayanıklı, \*: Rr = heterozigot dayanıklı, \*: rr =hassas

## SONUÇ

Sonuç olarak dünya üzerinde oldukça geniş bir üretim alanı ve üretim miktarına sahip olan biber yetiştiriciliğinde önemli problemler oluşturan Domates lekeli solgunluk virüsüne (TSWV)'e karşı dayanıklılık genine sahip olan genotiplerin bulunması ıslah açısından değerli bir durumdur. Çalışma sonucunda biberde önemli problemler oluşturan Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanım düzeyi göz önüne alınmıştır. Tez çalışmamızda S3 kademesinde 40 genotipin 5 adet homozigot dayanıklı, 27 adet heterozigot dayanıklı ve 8 adet hassas rr TSWV'ye dayanımlarının moleküler olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda homozigot dayanım gösteren 14-1, 37-2, 45-1, 45-3, 82-1 nolu genotiplerin ileride yürütülecek ıslah çalışmalarını için ebeveyn hat potansiyelleri ortaya çıkmıştır. Bu çalışma sonucu elde edilen veriler ışığında melezleme programları oluşturulabileceği ve TSWV ye dayanıklı kopya biber çeşitleri geliştirilebileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Black L.L., Hobbs, H.A., & Gatti, J.M. (1991). Tomato spotted wilt virus resistance in *Capsicum chinense* 'PI 152225' and 'PI 159236'. *Plant Disease*, 75, 863.
- Boiteux, L.S. (1995). Allelic relationships between genes for resistance to tomato spotted wilt tospovirus in *Capsicum chinense*. *Theoretical and Applied Genetics*, 90(1), 146-149.

- Bos, L. (1982). Crop Losses Caused By Viruses. *Crop Protection*, 1(3), 263-282.
- Costa, J., Catalá, M.S., Lacasa, A., Díez, M.J., & Nuez, F. (1995). Introduction of plant genetic resistance to TSWV from *C. chinense* 'PI 159236' in different pepper genetic back grounds.
- Çelik, İ., Ramazan, Ö., Nejla, Ç., İlknur, P., & SÜLÜ, G. (2018). Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'ne dayanıklı sivri biber hatlarının geliştirilmesi. *Derim*, 35(1), 27-36.
- Çoban, O. (2021). *Biberde Tswv Dayanımının Yerli Kapya Biber Çeşitlerine Moleküler İşaretleyiciler Kullanılarak Aktarılması*. (Yüksek Lisans Tezi), Bursa Uludağ Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Türkiye.
- Jahn, M., Paran, I., Hoffmann, K., Radwanski, E.R., Livingstone, K.D., Grube, R.C., Aftergoot, E., Lapidot, M., & Moyer, J. (2000). Genetic mapping of the Tsw locus for resistance to the tospovirus tomato spotted wilt virus in *Capsicum* spp. and its relationship to the Sw-5 gene for resistance to the same pathogen in tomato. *The American Phytopathological Society*, 13(6), 673-682.
- İkten, H. (2019). Farklı genetik kaynaklardan elde edilen F<sub>2</sub> biber genotiplerinde (*Capsicum annuum* L.) TSWV'ye dayanıklılığın moleküler analizi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 32(1), 43-48.
- Kün, A., Atasayar, A., Güneşdoğdu, N., Cansız, A., Özdemir, D., & İlbi, H. (2013). *Development of Resistant Varieties to Tomato Spotted Wild Virus and Root Knot Nematodes in Pepper by Using Molecular Markers*. I. International Plant Breeding Congress. Abstract Book, p.454, Oral presentation. 10-14 November (2013). Antalya.
- Moury, B., Pflieger, S., Blattes, A., Lefebvre, V., & Palloix, A. (2000). A CAPS marker to assist selection of tomato spotted wilt virus (tswv) resistance in pepper. *Genome*, 43(1), 137-142.
- Moury, B., Palloix, A., Gebre-Selassie, K., & Marchoux, G. (1997). Hypersensitive resistance to tomato spotted wilt virus in three *Capsicum chinense* accessions is controlled by a single gene and is overcome by virulent strains. *Euphytica*, 94, 45-52.
- Özalp, R. (2019). *Hibrit Biber (Capsicum annuum L.) Islahında Biyolojik Test ve Moleküler İşaretleyici Yardımıyla Hat ve Aday Hibritlerin Geliştirilmesi*. (Doktora Tezi), Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe bitkileri Anabilim Dalı.
- Polat, I., Çelik, İ., Çelik, N., & Özalp, R. (2016). *Biological And Molecular Determination For Resistance To Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) In F2 Population Of Long-Type Pepper (Capsicum Annuum L.)*. International Symposium on Biotechnology and Other Omics in Vegetable Science. *Acta Horticulturae*, 26 (1), 115-120.
- Qi, S., Shen, Y., Wang, X., Zhang, S., Li, Y., Islam, M., Wang, J., Zhao, P., Zhan, X., & Zhang, F. (2022) A new NLR gene for resistance to tomato spotted wilt virus in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Theoretical and Applied Genetics*, 135(5), 1493-1509.
- Soler, S., Díez, M. J., & Nuez, F., (1998). Effect of temperature regime and growth stage interaction on pattern of virus presence TSWV-resistant accessions of *Capsicum chinense*. *Plant Disease Journal*, 82(11), 1199-1204.
- Strange, R.N., & Scott, P.R. (2005). Plant Disease: A Threat to Global Food Security. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 83-116.
- Yılmaz, S. (2002). Batı Akdeniz Bölgesi'nde yeni bir virus hastalığı. *Derim Dergisi*, 19(2), 55-60.