



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**SAMSUN İLİNDE BİBER ÜRETİM ALANLARINDA ENFEKSİYON OLUŞTURAN
POTATO VIRUS Y (PVY) PATOTİPLERİNİN KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİBER ÇEŞİT
VE HATLARININ PVY'YE KARŞI DAYANIKLILIK DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

İlyas DELİGÖZ
(08210505)

Tezin Savuma Tarihi : 25/06/2014

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Miray SÖKMEN

Bu Doktora Tez Çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi PYO.ZRT1904.10.019 nolu Proje ile Desteklenmiştir.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalında

İlyas DELİGÖZ Tarafından Hazırlanan

**SAMSUN İLİNDE BİBER ÜRETİM ALANLARINDA ENFEKSİYON OLUŞTURAN
POTATO VIRUS Y (PVY) PATOTİPLERİNİN KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİBER ÇEŞİT VE
HATLARININ PVY'YE KARŞI DAYANIKLILIK DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 25/06/2014 tarihinde yapılan sınav ile

DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

**Başkan : Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
Çukurova Üniversitesi**

**Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Miray ARLI SÖKMEN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi**

**Doç. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi**

**Doç Dr. Hasan Murat AKSOY
Ondokuz Mayıs Üniversitesi**

**Yrd. Doç. Dr. Mücella TEKEOĞLU
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
(Emekli Öğretim Üyesi)**

.../.../2014

Prof. Dr. Hüseyin DEMİR

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora çalışmam süresince bana destek olan ve bilimsel anlamda hep daha iyi yerlere gelebilmem için yoğun emek sarf eden danışman hocam Doç. Dr. Miray SÖKMEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez İzleme Komitesinde yer alan hocalarım Doç Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ ve Yrd. Doç. Dr. Mücella TEKEOĞLU'na çalışmam süresince gösterdikleri değerli katkı ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu'na ve Tez çalışmasının bazı aşamalarının yürütüldüğü Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün laboratuvar ve sera imkanlarından faydalanmamı sağlayan Enstitü Müdürü Dr. Kibar AK'a teşekkür ederim.

Üniversitedeki laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencileri Sevcan SARI, Özden UNCU ve Bahadır ŞİN'e, Herboloji laboratuvarında yürütmüş olduğum çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen ve laboratuvar imkanlarından faydalanmamı sağlayan Yrd. Doç. Dr. Emine KAYA ALTOP'a, Mikoloji laboratuvarında yürütmüş olduğum çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen Araştırma Görevlisi Bayram KANSU'ya, RNA ölçümlerindeki yardımları nedeni ile Yrd. Doç. Dr. Hüseyin UYSAL'a, Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde yürütmüş olduğum çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen Yasemin İZGİ SARAÇ'a, ıslah hatlarının temin edilmesinde yardımcı olan Hayati KAR ve Dr. Onur KARAAĞAÇ'a, moleküler çalışmalarda eksik kalan bazı kimyasal malzemeleri temin eden Dr. Hakan FİDAN'a, tezimin yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen Ümit ESER ve Songül YIDIZ'a teşekkür ederim.

Doktora çalışmam süresince yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Bitki Koruma Bölümü'ndeki tüm hocalarıma ve bölüm personeline, lisansüstü eğitimim süresince yardımseverlikleri nedeni ile Fen Bilimleri Enstitüsü Öğrenci İşleri Bürosu çalışanlarına teşekkür ederim.

Son olarak maddi ve manevi her türlü desteği vererek bugünlere gelmemi sağlayan anne ve babama, çalışmalarım süresince manevi desteğini benden esirgemeyen eşim Serap DELİGÖZ'e ve yoğun iş temposu sonrasında tüm yorgunluğumu unutturan oğullarım Yusuf DELİGÖZ ve Ömer DELİGÖZ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2014

İlyas DELİGÖZ
(Ziraat Yüksek Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
KISALTMALAR	xv
ÖZET.....	xix
ABSTRACT	xxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 PVY'nin Morfolojik Özellikleri, Taşınma ve Yayılma Yolları	5
2.2 PVY'nin Konukçu Çevresi ve Coğrafi Dağılımı	7
2.3 PVY'nin Değişik Kültür Bitkilerindeki Irkları, Patotipleri ve Oluşturdukları Simptomlar	7
2.4 PVY'nin Zararı ve Ekonomik Önemi	14
2.5 PVY ile Mücadele	14
2.6 Biberde PVY'ye Dayanıklılık Genleri	17
2.7 PVY ile İlgili Türkiye'de Yapılan Çalışmalar	23
2.7.1 Biberde yapılan çalışmalar	23
2.7.2 Patateste yapılan çalışmalar.....	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1 Materyal	29
3.1.1 Virüs izolatları	29
3.1.2 Patotip ayrımında kullanılan biber çeşitleri	29
3.1.3 Biyolojik karakterizasyonda kullanılan indikatör bitki türleri	29
3.1.4 Dayanıklılık testlerinde kullanılan biber hat ve çeşitleri	30
3.1.5 Antiserumlar	32
3.1.6 ELISA testinde kullanılan tampon çözeltiler.....	32
3.1.7 Mekanik inokulasyon sırasında kullanılan tampon çözeltiler	33
3.2 Yöntem	33
3.2.1 Arazi çalışmaları.....	33
3.2.2 PVY ile enfekteli örneklerin belirlenmesi ve izolatların elde edilmesi.....	37
3.2.3 Patotip ayırım setine ait tohumların çoğaltılması	37
3.2.4 Patotip ayırım setindeki bitkilere virüs inokulasyonu ve patotiplerin belirlenmesi	38
3.2.5 PVY patotiplerinin biyolojik karakterizasyonu.....	40
3.2.6 PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin CP bölgesinin çoğaltılması ve baz dizisi analizi	40
3.2.6.1 RNA izolasyonu	41
3.2.6.2 RT-PCR	42
3.2.6.3 Agaroj jel elektroforez yöntemi	45
3.2.6.4 Jelden PCR ürünlerinin ekstraksiyonu	45

3.2.6.5 Baz dizisi analizi	45
3.2.7 Biber çeşitleri ve ıslah hatlarının dayanıklılık durumlarının araştırılması	46
3.2.8 Resesif <i>pvr2</i> allel genlerinin moleküler olarak araştırılması	46
3.2.8.1 DNA izolasyonu	47
3.2.8.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	48
3.2.8.3 Agaroz jel elektroforez yöntemi	49
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	51
4.1 Samsun İlinde Biber Üretim Alanlarında PVY'nin Bulunma Durumu	51
4.2 Samsun İlinde Belirlenen PVY Patotipleri.....	56
4.3 Samsun İlinde Belirlenen PVY Patotiplerinin Biyolojik Karakterizasyonu	61
4.4 PVY Biber İzolatlarının CP Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltılması ve Sekans Verilerinin Analizi.....	69
4.5 Biber Çeşit ve Hatlarının PVY Patotiplerine Karşı Reaksiyonları.....	89
4.5.1 PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin biber çeşit ve ıslah hatlarında ileri dönemde oluşturduğu belirtiler	96
4.6 Biber Çeşit ve Hatlarının Dayanıklılık Genleri	102
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	109
KAYNAKLAR.....	113
EKLER.....	127
EK A. SÇ-84 nolu izolata ait 2 farklı PCR ürününün DNA dizi analizleri ve CLC Main Workbench programında hizalanmış kriptogram eğrileri	128
EK B. NCBI'ya kayıt edilmiş olan PVY izolatlarına ait bilgiler.....	133
EK C. PVY izolatlarının CP gen bölgesi baz dizi analizlerinin karşılaştırılması ...	137
ÖZGEÇMİŞ	141

ÇİZELGELER LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1. PVY proteinlerinin fonksiyonları	6
Çizelge 2.2. Biberde PVY'ye karşı dayanıklılıkta rol oynayan genler ve dayanıklılık kaynakları.....	18
Çizelge 2.3. VPg-eIF4E interaksyonu belirlenmiş olan virüs-konukçu ilişkileri	20
Çizelge 3.1. Patotip ayırım setine ait çeşitler.....	29
Çizelge 3.2. PVY'nin biyolojik karakterizasyonunda kullanılan bitki türleri	30
Çizelge 3.3. Dayanıklılık testlerinde kullanılan ıslah hatları	31
Çizelge 3.4. Dayanıklılık testlerinde kullanılan ticari biber çeşitleri.....	32
Çizelge 3.5. Samsun ilinde 2010 yılında biber örnekleri toplanan ilçeler ve örnek sayıları.....	34
Çizelge 3.6. Samsun ilinde 2011 yılında biber örnekleri toplanan ilçeler ve örnek sayıları	35
Çizelge 3.7. Patotip ayırım setindeki çeşitler ve PVY patotipleri ile inokule edildiklerinde beklenen reaksiyonlar	40
Çizelge 3.8. Resesif <i>pvr2</i> allel genlerine spesifik primerler ve dizileri	48
Çizelge 4.1. 2010 yılında toplanan biber yaprak örneklerine ait ELISA sonuçları ...	52
Çizelge 4.2. 2011 yılında toplanan biber yaprak örneklerine ait ELISA sonuçları ...	53
Çizelge 4.3. Patotip ayırım çalışmalarında kullanılan PVY izolatları	56
Çizelge 4.4. PVY izolatlarının patotip ayırım setine ait biber çeşitlerinde verdikleri reaksiyonlar ve belirlenen patotipler.....	58
Çizelge 4.5. Samsun ilinde tespit edilen PVY patotiplerinin ilçelere göre dağılımı..	61
Çizelge 4.6. PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin test bitkilerinde oluşturduğu belirtiler	61
Çizelge 4.7. PVY patotiplerine ait izolatlardan izole edilmiş olan total RNA'ların Nanodrop Spektrofotometre kullanılarak ölçülen miktarları.....	73
Çizelge 4.8. PVY patotiplerine ait izolatlardan izole edilmiş olan total RNA'ların Nanodrop Spektrofotometre kullanılarak ölçülen miktarları.....	76
Çizelge 4.9. PVY izolatlarının NCBI'daki kayıt numaraları.....	82
Çizelge 4.10. PVY izolatlarının CP bölgesi nükleotit dizilerine göre farklı PVY izolatlarıyla dizi benzerlikleri	83
Çizelge 4.11. Biber ıslah hatlarının PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı dayanıklılık durumları.....	91
Çizelge 4.12. Biber çeşitlerinin PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı dayanıklılık durumları.....	92
Çizelge 4.13. PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin biber çeşit ve hatlarında oluşturduğu belirtiler.....	97
Çizelge 4.14. Biber çeşit ve hatlarının sahip oldukları allel genler	105

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. <i>Potato virus Y</i> partikül morfolojisi	5
Şekil 2.2. <i>Potyvirus</i> cinsi virüs türlerinde genom organizasyonu.....	6
Şekil 2.3. <i>Potyvirus</i> lara resesif dayanıklılığın mekanizması	19
Şekil 2.4. Biberde <i>pvr2⁺</i> , <i>pvr2¹</i> , <i>pvr2²</i> ve <i>pvr2³</i> allelleri ile ilişkili eIF4E bölgesinin aminoasit dizileri	21
Şekil 3.1. Patotip ayırım setine ait biber genotiplerinin tohum çoğaltımları	38
Şekil 3.2. A) İzolatların çoğaltıldığı seradan bir görünüm B) PVY izolatlarının saksılarda yetiştirilen Yolo Wonder çeşidinde çoğaltımı	39
Şekil 3.3. Biber bitkilerine mekanik inokulasyon yapılması	39
Şekil 3.4. Biber <i>pvr2-eIF4E</i> geni üzerinde tetra-primer ARMS-PCR markörlerinin amplikonları ve SNP'lerin lokasyonları	47
Şekil 4.1. Biber alanlarında rastlanan sarı çay akarı (<i>Polyphagotarsonemus latu</i>) zararı.....	54
Şekil 4.2. PVY-0 patotipine ait SB-12 nolu izolatin Yolo Wonder çeşidindeki hafif mozayik simptomu	57
Şekil 4.3. PVY-1 patotipine ait SÇ-84 nolu izolatin Yolo Wonder (A) ve Yolo Y (B) çeşidindeki mozayik simptomları.....	59
Şekil 4.4. PVY-1 patotipine ait SÇ-87 nolu izolatin Yolo Wonder (A) ve YoloY (B) çeşidindeki mozayik simptomları.....	59
Şekil 4.5. PVY-1 patotipine ait SÇ-86 nolu izolatin Yolo Wonder (A) ve YoloY (B) çeşidindeki mozayik simptomları.....	59
Şekil 4.6. PVY-1 patotipine ait SB-62 nolu izolatin Yolo Yolo Wonder (A) ve YoloY (B) çeşidindeki mozayik simptomları.....	60
Şekil 4.7. PVY-0 patotipinin <i>N. tabacum</i> Samsun NN'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu nekrotik lezyonlar (A), üst yapraklarda hafif sistemik mozayik (B) simptomu.....	62
Şekil 4.8. PVY-0 patotipinin <i>N. tabacum</i> White Burley'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik ve damarlarda renk açılması (B) ...	62
Şekil 4.9. PVY-0 patotipinin <i>N. tabacum</i> Xanthi'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu nekrotik lezyonlar (A), üst yapraklarda hafif sistemik mozayik (B) simptomu.....	63
Şekil 4.10. PVY-0 patotipinin <i>N. benthamiana</i> 'da inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B) simptomu.....	63
Şekil 4.11. PVY-0 patotipinin <i>N. debneyi</i> 'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), yapraklarda sistemik mozayik ve yaprak deformasyonu (B)	63
Şekil 4.12. PVY-0 patotipinin <i>N. rustica</i> 'da inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B)	64

Şekil 4.13. PVY-0 (A) ve PVY-1 (B) patotiplerinin domateste (<i>S. lycopersicum</i> Dora) oluşturduğu yapraklarda mozayik ve şekil bozukluğu	64
Şekil 4.14. PVY-0 (A) ve PVY-1 (B) patotiplerinin <i>C. amaranticolor</i> 'da oluşturduğu klorotik lokal lezyonlar.....	64
Şekil 4.15. PVY-0 patotipinin <i>S. chacoense</i> 'de yapraklarda oluşturduğu hafif mozayik....	65
Şekil 4.16. PVY-0 (A) ve PVY-1 (B) patotiplerinin patates bitkisinin (<i>S. tuberosum</i> CPS-1150) yapraklarında oluşturduğu hafif mozayik simptomsu.....	65
Şekil 4.17. PVY-1 patotipinin <i>C. chinense</i> 'de yapraklarda oluşturduğu hafif mozayik simptomsu.....	66
Şekil 4.18. PVY-1 patotipinin <i>N. tabacum</i> Samsun NN'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu nekrotik lezyonlar (A), üst yapraklarda hafif sistemik mozayik (B) simptomsu.....	66
Şekil 4.19. PVY-1 patotipinin <i>N. tabacum</i> White Burley'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B) simptomsu.....	67
Şekil 4.20. PVY-1 patotipinin <i>N. tabacum</i> Xanthi'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu nekrotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B) simptomsu.....	67
Şekil 4.21. PVY-1 patotipinin <i>N. benthamiana</i> 'da inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B) simptomsu.....	67
Şekil 4.22. PVY-1 patotipinin <i>N. debneyi</i> 'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik ve şekil bozukluğu (B).....	68
Şekil 4.23. PVY-1 patotipinin <i>N. rustica</i> 'da inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik ve şekil bozukluğu (B).....	68
Şekil 4.24. PVY-1 patotipinin <i>P. peruviana</i> 'da yapraklarda oluşturduğu sistemik mozayik ve damarlarda renk açılması.....	68
Şekil 4.25. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri	70
Şekil 4.26. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri.....	71
Şekil 4.27. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri.....	72
Şekil 4.28. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri.....	73
Şekil 4.29. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri.....	74
Şekil 4.30. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri.....	75
Şekil 4.31. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri.....	76
Şekil 4.32. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen ve jelden ekstrakte edilen tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu amplifikasyon ürünleri	77

Şekil 4.33. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen 100 µl hacimde tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri...	78
Şekil 4.34. PVY CP bölgesine spesifik primerler ve Phusion® High-fidelity DNA Polimeraz Enzimi kullanılarak gerçekleştirilen iki aşamalı RT-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri...	79
Şekil 4.35. PVY CP bölgesine spesifik primerler ve Promega tek aşamalı RT-PCR kiti kullanılarak 50 µl hacimde gerçekleştirilen reaksiyon sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri	80
Şekil 4.36. SÇ-84 nolu izolat ile 4 ul RNA ve SÇ-87 nolu izolat ile 8 ul RNA kullanılarak Promega tek aşamalı RT-PCR kiti kullanılarak 50 µl hacimde oluşturulan PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri...	80
Şekil 4.37. PVY izolatlarının aminoasit düzeyinde karşılaştırması	84
Şekil 4.38. PVY SÇ-63 nolu izolatın CP genine ait baz dizilişi kromatogram eğrisi	87
Şekil 4.39. Yolo Wonder çeşidinde PVY-1 patotipine ait SÇ-87 nolu izolatın oluşturduğu şiddetli mozayik ve damar bantlaşması (sol) ve PVY-0 patotipine ait SB-12 nolu izolatın oluşturduğu mozayik (sağ)	89
Şekil 4.40. PVY-0 patotipinin ALT 1570 (A) ve 49-3 (B) ıslah hatlarında oluşturduğu yapraklarda mozayik ve damar bantlaşması...	90
Şekil 4.41. PVY-1 patotipinin BK 2-5 (A) ve BS11-2-1 (B) ıslah hatlarında oluşturduğu yapraklarda şiddetli mozayik ve damarlarda renk açılması.	90
Şekil 4.42. PVY-0 patotipinin Venüs (A) ve Kandil Dolma (B) çeşitlerinde oluşturduğu mozayik belirtileri	93
Şekil 4.43. PVY-0 patotipinin Kapyra (A) ve Cümbüş (B) çeşitlerinde oluşturduğu damarlarda renk açılması ve mozayik belirtileri	94
Şekil 4.44. PVY-1 patotipinin Kandil Dolma (A) ve Venüs (B) çeşitlerinde oluşturduğu damarlarda renk açılması ve şiddetli mozayik belirtileri...	95
Şekil 4.45. PVY-1 patotipinin Safran (A) ve Cümbüş (B) çeşitlerinde oluşturduğu mozayik ve şekil bozukluğu belirtileri	95
Şekil 4.46. PVY-0 patotipinin Kapyra çeşidinde ileri dönemde yapraklarda oluşturduğu mozayik ve damar bantlaşması (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması (B) ...	97
Şekil 4.47. PVY-1 patotipinin Kapyra çeşidinde yapraklarda oluşturduğu şiddetli mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması (sol), sağlıklı (sağ) (B)	97
Şekil 4.48. PVY-0 patotipinin Kandil Dolma çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması (sol), sağlıklı (sağ) (B) ...	98
Şekil 4.49. PVY-1 patotipinin Kandil Dolma çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması (sol), sağlıklı (sağ) (B) ...	98
Şekil 4.50. PVY-0 patotipinin BS-11-10-1 ıslah hattında yapraklarda oluşturduğu mozayik (sol) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve çizgi şeklinde renk açılması (sağ) ...	99
Şekil 4.51. PVY-1 patotipinin BS-11-10-1 ıslah hattında yapraklarda oluşturduğu şiddetli mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu, küçülme ve çizgi şeklinde renk açılması (sol), sağlıklı (sağ) (B)...	99

Şekil 4.52. PVY-0 patotipinin BK-1-1 ıslah hattında yapraklarda oluşturduğu damar bantlaşması ve mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu renk açılması (B)	100
Şekil 4.53. PVY-1 patotipinin BK-1-1 ıslah hattında yapraklarda oluşturduğu şiddetli mozayik ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması ..	100
Şekil 4.54. PVY-0 patotipinin Zafer çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik ve damarlarda renk açılması (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu (B)	100
Şekil 4.55. PVY-1 patotipinin Zafer çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik (sol) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu (sağ) ...	101
Şekil 4.56. PVY-0 patotipinin Cümbüş çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik, damarlarda renk açılması (sol) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu (sağ) ...	101
Şekil 4.57. Tetra primer ARMS-PCR yöntemiyle biberde <i>pvr2-eIF4E</i> allellerinin belirlenmesi...	103

KISALTMALAR

A	:Adenin
A₄₀₅	:ELISA mikrolept okuyucusunda 405 nm’de elde edilen absorban değerleri
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
ABKAİ	:Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu
AFLP	:Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Amplified fragment length polymorphism)
AMV	: <i>Alfalfa mosaic virus</i>
ARMS-PCR	:Amplification refractory mutation system polymerase chain reaction
AuBV	: <i>Aucuba bacilliform virus</i>
bp	:Baz çifti
C	:Sitozin
CAPS	:Çoğaltılmış Polimorfik DNA Dizileri (Cleaved amplified polymorphic sequences)
cDNA	:Tamamlayıcı DNA (complementary DNA)
CI	:Sitooplazmik inklüzyon (Cytoplasmic inclusion)
cM	:Santimorgan (Rekombinasyon birimi)
CMV	: <i>Cucumber mosaic virus</i>
CP	:Kılıf Proteini (Capsid protein)
DAS-ELISA	:Double antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay
DNA	:Deoksiribonükleik asit
DNase	:DNA’yı parçalayan enzim
dNTP	:Deoxyribonucleotide triphosphate
Dra	:Damarlarda renk açılması
eIF4E	:Ökaryotik translasyon başlatma faktörü 4E (eukaryotic initiation factor 4E)
eIF(iso)4E	:Ökaryotik translasyon başlatma faktörü izoform 4E (eukaryotic initiation factor iso 4E)
eIF(iso)4G	:Ökaryotik translasyon başlatma faktörü izoform 4G (eukaryotic initiation factor iso 4G)
FAO	:BM Gıda ve Tarım Teşkilatı (Food and Agricultural Organisation)
G	:Guanin
HC	:Yardımcı bileşen (helper component)
HC-Pro	:Yardımcı bileşen-proteinaz (helper component–proteinase)
Hm	:Hafif mozayik
INRA	:Fransa Ulusal Tarımsal Araştırma Enstitüsü
Kb	:Kilobaz
k-Da	:Kilodalton
Kl	:Kloroz
Kll	:Kolorotik lokal lezyon
KTAE	:Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü
M	:Molar (1 lt’deki mol sayısı)
mM	:Milimolar
µl	:Mikrolitre

M	:Mozayik
Mk	:Meyve küçülmesi
M-MLV	:Moloney murine leukemia virus
NCBI	:Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information)
NCR	:Kodlanmayan bölge (non-coding region)
ng	:Nanogram
NIa	:Nüklear inklüzyon a
NIb	:Nüklear inklüzyon b
NIl	:Nekrotik lokal lezyon
NTR	:Transle edilmeyen bölge (Non translated region)
ORF	:Okuma çerçevesi (Open reading frame)
OMÜ	:Ondokuzmayıs Üniversitesi
P1	:Protein 1
P3	:Protein 3
PBS	:Fosfat buffer salin
PCR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
PepMoV	: <i>Pepper mottle virus</i>
PLRV	: <i>Potato leafroll virus</i>
PMMoV	: <i>Pepper mild mottle virus</i>
pmol	:Pikomol
PVA	: <i>Potato virus A</i>
PVP	:Polyvinylpyrrolidone
PVS	: <i>Potato virus S</i>
PVX	: <i>Potato virus X</i>
PVY	: <i>Potato virus Y</i>
QRL	:Kantitatif dayanıklılık lokusu (Quantitative resistance locus)
R	:Dayanıklı (Resistance)
Ra	:Renk açılması
RAPD	:Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (Random amplified polymorphic DNA)
RFLP	:Sınırlı parça uzunluk polimorfizmi (Restriction fragment length polymorphism)
RNA	:Ribonükleik asit
RNase	:RNA'yı parçalayan enzim
RT	:Reverse transcriptase
RT-PCR	:Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (Reverse transcription polymerase chain reaction)
S	:Hassas (Susceptible)
SCAR	:Dizisi belirlenmiş çoğaltılan bölgeler (Sequence-characterized amplified regions)
SNP	:Tek nükleotid polimorfizmi (Single-nucleotide polymorphism)
Sy	:Simptom yok
Şb	:Şekil bozukluğu
Şm	:Şiddetli mozayik
T	:Timin
Taq	:Taq polimeraz enzimi; <i>Thermus aquaticus</i> bakterisinden elde edilen ve yüksek sıcaklığa oldukça dayanıklı olan bir enzimdir.
TBE	:Tris-borate-EDTA buffer
TEV	: <i>Tobacco etch virus</i>

TMV	: <i>Tobacco mosaic virus</i>
ToMV	: <i>Tomato mosaic virus</i>
TSWV	: <i>Tomato spotted wilt virus</i>
U	:Unit
USDA-ARS:	United States Department of Agriculture Agricultural Research Service
UTR	:Translasyon dışı bölge (Untranslated region)
UV	:Ultraviyole
VPg	:Genom-bağlı viral protein (viral protein genome-linked)
Yk	:Yaprak kıvrılması
μM	:Mikromolar
6K1	:6 kilodalton protein 1
6K2	:6 kilodalton protein 2

**SAMSUN İLİNDE BİBER ÜRETİM ALANLARINDA ENFEKSİYON
OLUŞTURAN *POTATO VIRUS Y* (PVY) PATOTİPLERİNİN
KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİBER ÇEŞİT VE HATLARININ
PVY'YE KARŞI DAYANIKLILIK DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Potato virus Y (PVY), biberde en fazla zarar oluşturan virüsler arasında yer almaktadır. Biber izolatları, *pvr2-eIF4E* lokusundaki *pvr2*¹ ve *pvr2*² dayanıklılık genlerine sahip biber genotiplerinin verdikleri reaksiyonlara göre üç ayrı patotip altında sınıflandırılmaktadır. Bu çalışmada, Samsun ilinde biberde enfeksiyon oluşturan PVY patotiplerinin belirlenmesi amacıyla 2010 ve 2011 yıllarında toplam 1012 yaprak örneği toplanmış ve daha sonra örnekler, PVY'ye spesifik poliklonal antiserum kullanılarak DAS-ELISA ile test edilmiştir. Test sonucunda 2010 yılında alınan örneklerin % 11.9'unun, 2011 yılında ise % 5.8'inin PVY ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. İzolatların patotip ayırım setindeki bitkilerde oluşturduğu reaksiyonlara göre, % 80'nin PVY-0, % 20'sinin ise PVY-1 patotipi olduğu ortaya konulmuştur.

PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine ait ikişer izolatın CP gen bölgesinin baz ve aminoasit dizilişleri elde edilmiştir. Nükleotit BLAST analizi, PVY-0 patotipine ait SÇ-9 izolatının ve PVY-1 patotipine ait SÇ-84 ve SÇ-87 nolu izolatların, Tu12.3 biber izolatı ve LYE 84.2 domates izolatı ile benzerlik (% 97-98) gösterdiğini; PVY-0 patotipine ait SB-63 nolu izolatın ise patatesti NTN ırkına ait bir çok izolat ile % 99 benzer olduğunu ortaya koymuştur.

Ayrıca, 23 biber çeşidi ve 30 ıslah hattının PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı dayanıklılık düzeylerinin ve *pvr2-eIF4E* lokusundaki resesif *pvr2* allel genlerinin belirlenmesine çalışılmıştır. Test edilen ıslah hatlarının tamamının her iki patotipe de hassas olduğu, çeşitlerden bir tanesinin PVY-0'a, 3 çeşidin ise her iki patotipe dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, resesif *pvr2* allellerine spesifik SNP (tek nükleotid polimorfizm) markörlerinin ve tetra primer amplification refractory mutation system (ARMS) PCR yönteminin dayanıklı çeşitlerin belirlenmesinde kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Samsun, biber, patotip, karakterizasyon, dayanıklılık, SNP

**CHARACTERIZATION OF *POTATO VIRUS Y* (PVY) PATHOTYPES
INFECTING PEPPER IN SAMSUN PROVINCE AND SCREENING SOME
PEPPER BREEDING LINES AND CULTIVARS FOR RESISTANCE
LEVELS TO PVY**

ABSTRACT

PVY is one of the most devastating viruses on pepper. Pepper isolates are classified into three groups according to the reactions of pepper genotypes possessing the *pvr2*¹ ve *pvr2*² resistance genes at the *pvr2-eIF4e* locus. In this study, in order to determine PVY pathotypes infecting pepper in Samsun province, a total of 1012 leaf samples were collected in 2010 and 2011, and these samples were tested by DAS-ELISA using virus-specific polyclonal antiserum. The percentage of PVY infections were 11.9% in 2010 and % 5.8 in 2011. According to reactions of different pepper genotypes to these isolates after sap inoculation method, PVY pathotypes were determined, and among the isolates tested, PVY-0 pathotype (80%) was found to be more prevalent than PVY-1 (20%) in Samsun.

The coat protein (CP) gene nucleotide and predicted aminoacid sequences of four isolates were obtained. Nucleotide BLAST analysis showed that SÇ-9 (PVY-0), SÇ-84 (PVY-1) and SÇ-87 (PVY-1) isolates of this study had sequence similarity (% 97-98) with Tu12.3 isolate from pepper and LYE 84.2 isolate from tomato, while the isolate SB-63 (PVY-0) had the highest similarity (% 99) with many isolates belonging to potato NTN strain.

A total of 23 commercial pepper cultivars (cvs.) and 30 breeding lines were evaluated for the presence of *pvr2* resistance alleles at the *pvr2-eIF4E* locus and resistance levels to PVY-0 and PVY-1 pathotypes. All breeding lines were determined to be sensitive to both pathotypes. Three commercial pepper cultivars were resistant to both PVY-0 and PVY-1, and however, one cv. was resistant to only PVY-0. Additionally, it was revealed that SNP (single nucleotide polymorphism) markers, which are spesific for the recessive *pvr2* alleles, and the tetra primer amplification refractory mutation system (ARMS) PCR method were could be used to determine resistant varieties.

Key Words: Samsun, pepper, pathotype, characterization, resistance, SNP

1. GİRİŞ

Sebzeler insan sağlığı ve beslenmesi bakımından hem içerdikleri protein, karbonhidrat ve mineral maddeler, hem de sahip oldukları ve hayvansal gıdalarda yok denecek kadar az olan vitaminler, enzimler, hormonlar, mineral maddeler (tuzlar) ve antibiyotiklerle oldukça önemli bir yere sahiptir (Bozokalfa ve Eşiyok, 2010). Bu nedenle dünyada ve ülkemizde, hızlı bir şekilde artan nüfusun dengeli ve sağlıklı beslenmesini sağlayabilmek için daha kaliteli ve bol sebze üretiminin gerçekleştirilmesi önem kazanmıştır. Türkiye sebze kültüründe çok eski yeri olan biber, bugün ülkemizin her bölgesinde geniş alanlarda yetiştirilmekte, taze-sofralık veya sanayi sebzeciliğinde işlenerek değerlendirilen, ticari potansiyele sahip önemli türler arasında yer almaktadır.

Solanaceae familyası ve *Capsicum* cinsine dahil olan biberin anavatanının Meksika ve Orta Amerika olduğu bilinmektedir. Oldukça zengin popülasyon çeşitliliğine sahip olan *Capsicum* cinsi içerisinde 20–25 arasında biber türü bulunmasına rağmen günümüzde bunlardan sadece 5 tanesinin (*C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. pubescens*) kültürü yapılmaktadır (Bozokalfa ve Eşiyok 2010).

Biber ılık ve sıcak iklim sebzesi olup, optimum gelişme sıcaklığı 18-26°C'dir. Biber bitkileri, 15°C'nin altında ve 32°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda zarar görür ve alınan verim düşer. 35°C'nin üstündeki sıcaklıklarda bitki büyümesi ve gelişmesi çok yavaşlar. Sıcaklık ile birlikte toprak rutubetine de ihtiyaç duymakta olup, iyi bir yetiştiricilik için toprakta devamlı % 60-70 nem bulunması gerekmektedir. Genelde biber bitkisinin toprak isteği fazla olmamakla birlikte kökleri narin yapıda olduğundan ağır, killi, havasız, su tutan topraklarda yetişmez. Tınlı-kumlu, tınlı-hafif killi, organik maddece zengin topraklarda daha iyi gelişir ve verim verir. Biber yetiştiriciliği için en uygun toprak pH'sı ise 5.6-6.8 arasındadır (Bosland, 1999; Vural ve diğ., 2000; Aybak, 2002).

Meyve özellikleri bakımından büyük varyasyona sahip olan biber, meyve şekline göre değişik şekillerde tüketilmektedir. Biber taze tüketiminin yanında,

yemeklerde, hazır gıdalarda, kızartmalarda, dondurulmuş ürünlerde, sos ve turşu yapımında ve baharat olarak da kullanılabilir. Dolma biberler dolma yemeği yapımında kullanılırken, California Wonder biberleri salatalarda, kalp şeklinde meyveleri bulunan biberler konserve veya dondurularak, konik biberler baharat yapımında veya taze tüketim amacıyla değerlendirilir. Farklı meyve şekillerine sahip acı biberler ülkelere ve tüketim alışkanlıklarına göre taze veya işlenerek değerlendirilmektedir (Bozokalfa ve Eşiyok, 2006). Gıda sanayisinde kullanılan biber; salça, toz-pul biber, dondurulmuş, turşu, acı sos, ketçap, boya ve ilaç sanayiinde farklı işleme yöntemleri ile değerlendirilmektedir (Aybak, 2002).

Meyvenin kuru maddesinde toplam protein ve şeker içeriği sırasıyla; % 16-% 18 ve % 20-% 40 oranındadır (Somos, 1984). Ayrıca acı biberlere acı ve yakıcı tad veren capsaicin alkaloidinin kanser hastalıklarına karşı önemli bir antioksidan olduğu bildirilmektedir. Biber meyveleri karbonhidrat, organik asit, aromatik bileşikler ve renk pigmentleri içermekte ve bunların miktarı meyve olgunlaşması ile değişmektedir (Govindarajan, 1986). Biber, ayrıca B1, B2, C vitamini ve birçok meyvede bulunmayan P vitamini ile birlikte daha çok havuçlarda bulunan karotenoid pigmentlerini de (alfa ve beta-karoten) içermektedir. Biber bünyesinde yağ, pigmentler, resin, protein, selüloz, pentosa ve mineral madde bulundurur. Birçok *Capsicum* türü önemli miktarda B, C, E ve provitamin A (karoten) içerir. C vitamini bakımından oldukça zengin olan biber çeşitlere göre değişmekle beraber 340 mg/100 g kadar C vitamini bünyesinde bulundurabilir (Bozokalfa ve Eşiyok, 2006).

Biber, dünyada domates ve hıyardan sonra en fazla üretilen sebzedir. FAO tarafından yayınlanan 2012 yılı verilerine göre dünya biber üretimi 31171567 tondur. Türkiye biber üretiminde Çin ve Meksika'dan sonra üçüncü sırada gelmektedir. Ülkemizde üretilen biberin % 7.3'ü yurt dışına pazarlanmaktadır. Türkiye, biber ihracatı bakımından, dünyada 4. sırada yer almaktadır (URL-1). Türkiye'de 2011 yılında 2.072.132 ton biber üretimi elde edilmiştir. Biber üretim bölgelerinin başında Ege, Akdeniz, Marmara ve Karadeniz gelmektedir (URL-2). Ege ve Marmara Bölgeleri'nde taze-sofralık veya gıda endüstrisinde farklı şekillerde işlenmek üzere biber yetiştiriciliği yapılırken, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde özellikle toz ve pul biber üretimine yönelik üretim yapılmaktadır. Türkiye'de toplam biber üretiminin yaklaşık % 90'ı taze tüketim amacıyla, geri kalan kısmı ise farklı şekillerde işlenerek değerlendirilmektedir. İşlenmiş ürünlerin başında salça, toz biber, dondurulmuş ürün ve turşu gelmektedir (Bozokalfa ve Eşiyok, 2006).

Türkiye’de en fazla biber üretimi yapılan iller sırasıyla 270.127 ton ile Antalya, 257.306 ton ile Samsun, 169.787 ton ile Manisa ve 133.438 ton ile Bursa’dır. Samsun ili Türkiye toplam biber üretiminin % 13’ünü karşılamaktadır (URL-2).

Biber üretim alanlarında hastalık ve zararlılar yetiştiricilikte önemli sorunlar oluşturmaktadır. Biber üretiminde verim kaybına sebep olan hastalık etmenleri arasında virüsler hem verim hem de kalitede kayıplara yol açabilmeleri açısından önem arz etmektedirler. Virüsler içerisinde ise *Potato virus Y* (PVY) hem tek başına hem de diğer virüslerle birlikte önemli kayıplara neden olabilmektedir.

PVY ilk olarak 1931 yılında Güney Amerika’da patates bitkilerinde tespit edilmiş (Smith, 1931), daha sonraları ise *Solanaceae* familyasına dahil olan domates, biber ve tütün gibi diğer bitkilerde de belirlenmiştir. PVY, başta patates, biber, domates ve tütün olmak üzere *Solanaceae* familyasına ait pek çok üründe tüm dünyada yaygın olarak enfeksiyon oluşturmaktadır (Pasko ve diğ., 1995; Kerlan, 2006).

PVY mekanik olarak ve yaklaşık 73 yaprak biti türü ile non-persistent yolla taşınabilen bir virüs türüdür (Varveri, 2000). PVY’nin hassas çeşitlerde % 80’e kadar verim kaybına neden olabildiği belirtilmektedir (Hamalainen ve diğ., 1997).

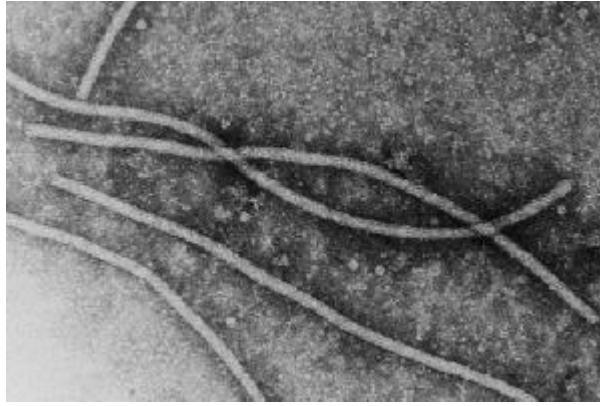
Ülkenin önemli biber üretim merkezlerinden birisi konumundaki Samsun ilinde, son yıllarda biber üretim alanlarında viral hastalıklarda artışlar görülmektedir. Samsun ilinde biber üretim alanlarında viral hastalıkların belirlenmesi ile ilgili bazı çalışmalar yapılmış olup, bu çalışmalarda PVY en yaygın virüs olarak belirlenmiştir (Arlı Sökmen ve diğ., 2005a). Ancak bölgede PVY’nin patotipleri ve bu patotipler arasındaki moleküler ve biyolojik farklılıkların belirlenmesi üzerine herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma ile Samsun ilinde biber üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan PVY’nin patotiplerinin belirlenmesi, patotipler arasındaki moleküler ve biyolojik farklılıkların ortaya konulması, biber hat ve çeşitlerinin bölgede belirlenen patotiplere karşı dayanıklılık durumlarının saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

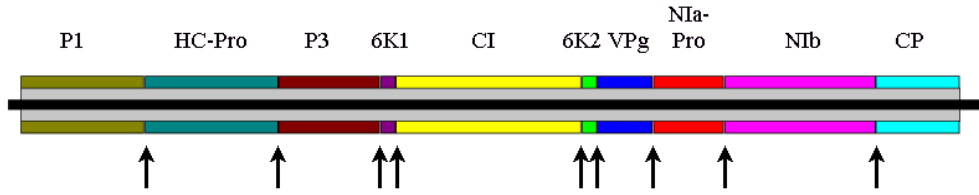
2.1 PVY'nin Morfolojik Özellikleri, Taşınma ve Yayılma Yolları

Potato virus Y (PVY), *Potyvirus* familyasında yer alan ve bitki virüsleri içerisinde en geniş üyeye sahip olan *Potyvirus* cinsine dahil bir virüs türüdür (Rigotti ve Gugerli, 2007). *Potyvirus* cinsinin tipik üyesi olan ve bu cinse adını veren PVY, yaklaşık 10 kb büyüklüğünde pozitif özellikte tek sarmal RNA genomuna ve 740 nm uzunluğunda esnek çubuk şeklinde partiküllere sahiptir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. *Potato virus Y* partikül morfolojisi (<http://www.dpvweb.net/intro/>)

Viral RNA, tek okuma çerçevesi (Open Reading Frame=ORF) ve ayrıca 5' ve 3' uçlarında translasyon dışı bölgeleri (untranslated region=UTR veya non-translated region=NTR) içerir. Yaklaşık 2000 adet kılıf protein alt birimi (kapsomer) partikül oluşumunda kullanılır. Genomik RNA tek bir polyprotein kodlar (Riechmann ve diğ., 1992). Bu protein, proteaz enziminin proteolitik kesimi sonucunda birden fazla peptit bağını koparmasıyla; protein 1 (P1), yardımcı bileşen-proteinaz (helper component–proteinase=HC-Pro), protein 3 (P3), 6 kilodalton protein 1 (6K1), sitoplazmik inklüzyon (CI), 6 kilodalton protein 2 (6K2), genom-bağlı viral protein (viral protein genome-linked=VPg), nüklear inklüzyon *a* (NIa), nüklear inklüzyon *b* (NIb) ve RNA-dependant RNA polimeraz (NIb-Pol) ve kılıf proteini (Coat Protein=CP) olmak üzere toplam 10 adet işlevsel viral proteine dönüşür (Urcuqui-Inchima ve diğ., 2001; Grzela ve diğ., 2008) (Şekil 2.2). Bu proteinlerin fonksiyonları Çizelge 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.2. *Potyvirus* cinsi virüs türlerinde genom organizasyonu (Adams ve diğ., 2005)

Çizelge 2.1. PVY proteinlerinin fonksiyonları (Urcuqui-Inchima ve diğ., 2001; Grzela ve diğ., 2008)

İsim	Büyüklik (k-Da)	Fonksiyon
P1	32-64	Trypsin-benzeri serine tipi proteinaz. Proteinin C terminal bölgesindeki kesimde ve simptomatoloji üzerinde etkili
HC-Pro	50	Gen susturulmasının baskılanması Hücreden hücreye ve uzun mesafelere taşınma Sinerjizm ve simptom gelişimi Yaprak biti ile taşınma
P3	37	Patojenite ile ilişkili
6K1	6	RNA replikasyonu
CI	70	Virüsün lokal hareketinde görev alan ATPase ve RNA helikaz aktivitesine sahip
6K2	6	Fonksiyonu bilinmemektedir
VPg	22	RNA replikasyonu Hücreden hücreye ve uzun mesafelere taşınma Ökaryotik Başlangıç Faktörü eIF(iso)4E ile kompleks oluşturma
NIa	49	Genom replikasyonu (VPg) ve protein-protein interaksyonu
NIb Pol	58	Replikasyonda görevli RNA-dependent RNA-polimeraz
CP	30	Virüs partikül oluşumu (coating), lokal ve sistemik hareket ve yaprak biti ile taşınmada görevli multi-fonksiyonel protein

PVY, mekanik olarak ve yaklaşık 73 yaprak biti türü ile non-persistent olarak taşınabilen bir virüsdür (Varveri, 2000). Yeşil şeftali afidi *Myzus persicae* Sulzer (*Homoptera: Aphididae*) taşınmada en etkili vektördür (Kanavaki ve diğ., 2006; Ng ve Falk, 2006). Diğer vektör türler ise *Aphis fabae*, *A. gossypii*, *A. nasturtii*, *Macrosiphum euphorbiae*, *M. (Nectarosiphon) certus*, *M. (Phorodon) humuli* ve *Rhopalosiphum insertum*'dur (Van Hoof, 1980; Halbert ve diğ., 2003). Virüsün non-persistent yolla yaprak biti ile taşınabilmesi için PVY virionlarının yanında yapısal olmayan bir protein olan yardımcı bileşen (Helper Component: HC) önemli rol oynamaktadır (Ammar ve diğ., 1994; Wang ve diğ., 1996) (Şekil 2.2). Bu protein,

yaprak biti stiletinde virionların tutunması için oldukça önemli olup, yaprak biti ağız parçalarındaki reseptör ile virüs partiküllerinin kılıf proteini arasında bir köprü olarak görev yapmaktadır (Pirone ve Blanc, 1996).

2.2 PVY'nin Konukçu Çevresi ve Coğrafi Dağılımı

PVY, 31 familyaya ait 495 türde enfeksiyon oluşturabilmektedir (Kerlan ve Moury, 2008). Patates, biber, domates, tütün ve *Solanaceae* familyasına ait diğer bitkiler ile genellikle *Solanaceae* familyasına ait bazı yabancı otlar PVY'nin önemli konukçuları arasındadır (De Bokx ve Huttinga, 1981; Kerlan ve Moury, 2008). PVY aynı zamanda *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Compositae* ve *Leguminosae* familyasına ait türlerde de enfeksiyon yapabilen bir virüstür (De Bokx ve Huttinga, 1981; Pasko ve diğ., 1995; Kerlan, 2006).

İspanya (Luis Arteaga ve Gil Ortega, 1983), İtalya (Conti ve Masenga, 1977), Fransa (Gebre Selassie ve diğ., 1985) Avustralya (Thomas ve diğ., 1989), Amerika (Makkouk ve Gumpf, 1974), Kanada (Lana ve Peterson, 1980), Brezilya (Nagai ve Costa, 1972), Arjantin (Gracia ve diğ., 1968) ve Etiyopya (Hiskias ve diğ., 1999) gibi dünyanın değişik ülkelerinde PVY'nin biberde enfeksiyon yaptığı rapor edilmiştir.

2.3 PVY'nin Değişik Kültür Bitkilerindeki Irkları, Patotipleri ve Oluşturdukları Simptomlar

Konukçu dizileri, belirtiler ve serolojik karakterizasyonlarına göre patatesten enfeksiyon oluşturan PVY izolatları, O (PVY^O), N (PVY^N) ve C (PVY^C) olmak üzere 3 ana ırk grubuna ayrılmıştır (Moury ve diğ., 2002; Kerlan ve Moury, 2008). Bu gruplardan N ve O grupları arasında bazı rekombinant izolatların oluştuğu bildirilmiştir (De Bokx ve Huttinga 1981; Revers ve diğ., 1996; Glais ve diğ., 2002; Ogawa ve diğ., 2008). N ve O grupları arasındaki izolatların rekombinasyonları sonucunda oluşan izolatların bazıları NTN (PVY^{NTN}) (Ogawa ve diğ., 2008), Wilga (PVY^{N-Wi}) (Rigotti ve Gugerli, 2007) ve Z (PVY^Z) (Aramburu ve diğ., 2006) ırkları olarak isimlendirilmiştir. Blanco-Urgoiti ve diğ. (1998), PVY^C grubu izolatların biyolojik, serolojik ve moleküler karakterizasyonlarını yapmışlar ve PVY^C izolatlarının homojen bir patotip olmasına karşın farklı iki genetik ırktan oluştuklarını ortaya koymuşlardır. PVY^{C1} alt grubunun biberi enfekte edebildiğini,

PVY^{C2} alt grubunun ise biberi enfekte edemediğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte araştırmacılar pek çok biber izolatının patatesteki PVY^C izolatları ile yakından ilişkili olduğunu ve hemen hemen tüm biber izolatlarının bu sınıflandırmada C grubunda yer aldığını belirlemişlerdir. Ayrıca PVY'nin biberdeki belirtilerine göre yaygın ve nekrotik olmak üzere iki sınıflandırma da mevcuttur. Yaygın tip biberde damar bantlaşması, nekrotik tipler ise damar nekrozu oluşturmaktadır (Marchoux ve Gebre Selassie, 1989).

PVY'nin patatesteki belirtileri patates çeşidi ile virüs ırkı arasındaki ilişkilere bağlı olarak değişmekle beraber yapraklarda lekelenme ve kıvrıcıklık belirtileri en yaygın görülen belirtilerdir. PVY^N yapraklarda klorotik veya nekrotik halkalar ve lekeler, damarlar arasında açık yeşil renkte beneklenmeler ve yapraklarda küçülmelere neden olurken, PVY^O tepe yapraklarda kurumalar, yaprak dökülmeleri veya bu yaprakların bitki üzerinde asılı kalması şeklinde belirti göstermektedir. Ayrıca bitkilerde nekroz görüntüleri ile beraber kıvrıcıklık, bitkide cüceleşme şeklinde belirtiler sergilemektedir. PVY^C ise genellikle yapraklarda nekrotik halkalar veya benekler ve mozayik lekeler şeklinde belirtiler oluşturmaktadır. Ayrıca damarlar boyu bantlaşma ve damarlarda incelme, gövde ve yaprak sapında mozayik ve nekrozlar şeklinde de belirtiler oluşturabilmektedir. Bu belirtilerin dışında yumrulara gözler çevresinde nekrozlara hatta bitki ölümlerine de neden olabilmektedir (Asscherman ve diğ., 1996; Brunt ve diğ., 1990; Stevenson ve diğ., 2001).

Biberde PVY patotipleri serolojik olarak birbirileri ile yakın ilişkilidir. Bu nedenle antijenik özelliklere dayanan metotlarla patotipleri ayırmak nadiren mümkün olmaktadır (Gugerli ve Fries, 1983; Jordan ve Hammond, 1991). CP dizisi analizi ve monoklonal antibadi (Mab)'ler PVY'nin biber izolatlarını diğer konukçu bitkilerin ırklarından ayırt edilmesinde kullanılabilesine karşın, PVY'nin biber ırklarını kendi arasında ayırmada başarısız olmaktadır. Patateste PVY'nin ırkları moleküler olarak Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction=RT-PCR) metodu ile birbirinden ayrılabilirken (Rigotti ve Gugerli, 2007), biber izolatları ayıramamaktadır (Llave ve diğ., 1999).

Biberde PVY patotiplerini ayırma ve sınıflandırma üzerine Brezilya ve Arjantin'de pek çok çalışma yapılmıştır. Bu ülkelerde yapılan çalışmalarda altı ırk belirlenmiştir. (Nagai ve Costa, 1972; Von Der Pahlen ve Nagai, 1973). Makkouk ve Gumpf (1974), 8 biber çeşidi kullanarak 9 PVY ırkını birbirinden ayırabilmiştir.

Daha sonraları Marchoux ve diğ. (1974), Pochard (1977) ve Gebre Selassie ve diğ. (1985) tarafından INRA-Montfavet (Fransa)'da yapılan sistematik ve süreklilik arz eden çalışmalarda PVY biber izolatları ilk olarak iki ve daha sonraları ise PVY-0, PVY-1 ve PVY-1-2 olmak üzere üç patotipe ayrılmıştır. Gebre Selassie ve diğ. (1985) tarafından önerilen aynı biber çeşitleri kullanılarak benzer PVY patotip ayrımı İspanya'da (Luis Arteaga ve Gil Ortega, 1986; Luis Arteaga ve diğ., 1993; Pasko, 1993), Avustralya'da (Thomas ve diğ., 1989) ve Türkiye'de yapılmıştır (Palloix ve diğ., 1994b; Çelik ve diğ., 2012). Gebre Selassie ve diğ. (1985) tarafından önerilen sistem günümüzde PVY'nin biber izolatlarını patotiplere ayırmada en fazla kabul gören ve en yaygın olarak kullanılan sistemdir. Bu sistemde biber izolatları, *pvr2* lokusundaki *pvr2*¹ ve *pvr2*² dayanıklılık genlerine sahip biber (*Capsicum annuum* L.) genotiplerinde verdikleri reaksiyonlara göre PVY-0, PVY-1 ve PVY-1,2 olmak üzere üç ayrı patotip altında sınıflandırılmaktadır (Gebre Selassie ve diğ. 1985). Resesif *pvr2*¹ alleli PVY-0 patotipine dayanıklılığı, *pvr2*² alleli ise PVY-0 ve PVY-1'e karşı dayanıklılığı sağlamaktadır. PVY-1,2 patotipi ise her iki genin dayanıklılığını kırmaktadır (Palloix ve Kyle, 1995).

PVY'nin biberdeki tipik semptomları mozayik ya da kabarık benekliliğe doğru ilerleyen damarlarda renk açılmaları ve genellikle de damar bantlaşmasıdır. Bazen damar ve yapraklarda nekroz ile birlikte bitki ölümleri de oluşabilmektedir. Meyvedeki semptomları her zaman belli olmamakla birlikte bazı biber çeşitlerinde mozayik ve nekrotik lekeler ortaya çıkabilmektedir. Klorotik ve nekrotik lekeler, mozayik, deformasyon ve meyve büyüklüğünde azalma, meyvelerde en sık görülen belirtilerdendir (Luis Arteaga ve Gil Ortega, 1983; Gebre Selassie ve diğ., 1985).

Tütündeki PVY izolatları kök ur nematodu dayanıklılık geni (*Rk*) içeren tütün bitkilerindeki semptom oluşumlarına göre M^SN^R, M^SM^R ve N^SN^R olmak üzere 3 ırk grubuna ayrılmaktadır. M^SN^R ırkı *Rk* genine sahip tütün bitkilerinde nekroza neden olan izolatları içermektedir. M^SM^R ırkı dayanıklı ve hassas tütün bitkilerinde mozayik semptomlarına, N^SN^R ırkı ise nekrotik semptomlara neden olmaktadır. (Aramburu ve diğ., 2006; Kerlan ve Moury, 2008; Singh ve diğ., 2008). PVY'nin CP dizisi ile ilgili filogenetik çalışmalarda M^SN^R ve N^SN^R ırklarının PVY^C ırkı ile yakın ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. (Singh ve diğ., 2008).

Patatesi enfekte edebilen PVY ırkları tütünü de enfekte edebilmektedir. Bu izolatlar tütünde oluşturdukları semptomlara göre iki farklı fenotipe (mozayik ve damar nekrozu) ayrılmaktadır. PVY^O ve PVY^C tütünde mozayik lekeler

oluştururken, PVY^N, PVY^{NTN} ve PVY^{N-Wi} damar nekrozu oluşturmaktadır (Le Romancer ve diğ., 1994; Ali ve diğ., 2008; Singh ve diğ., 2008).

Domateste enfeksiyon yapan PVY izolatları için biber, patates ve tütündeki izolatlar gibi belirgin bir ırk ayrımı bulunmamaktadır. Domateste PVY^O ve PVY^C genç yapraklarda kırışıklık ve nekrotik lekeler, alt yaprak yüzeyindeki damarlarda nekroz şeklinde belirti gösterirken genellikle meyvelerde simptom oluşturmamaktadır (Shukla ve diğ., 1994; Morel ve diğ., 2000). PVY^N ise, yapraklarda şiddetli mozayik lekeler, damar aralarında ise sarımsı lekelerle neden olmakta ve meyvelerde ise beyazımsı lekeler oluşturmaktadır (Aramburu ve diğ., 2006).

Tarlada biberde enfeksiyon oluşturan PVY izolatları genellikle patatesten sistemik enfeksiyona neden olmamaktadır. Aynı şekilde bazı patates PVY izolatları da sınırlı oranda biber bitkilerini enfekte edebilmektedir (Ferreira ve diğ., 1993; Romero ve diğ., 2001). CP'yi kodlayan dizilerdeki sistematik farklılıklar nedeni ile patates ve biber izolatları monoklonal antikorlar (Soto ve diğ., 1994) ve CP geninin bazı dizilişlerine ait filogenetik analizler ile ayırt edilebilmektedirler (Romero ve diğ., 2001). Bununla birlikte pek çok biber izolatı, patatesteki PVY^C izolatları ile yakından ilişkilidir (Romero ve diğ., 2001; Fanigliulo ve diğ., 2005). Patates ve biber izolatları daha çok biber ve patatese özgüdür ve aralarında geçiş sınırlıdır. Buna karşın domates ve tütün pek çok biber ve patates izolatları ile enfekte olabilmektedir (Soto ve diğ., 1994; Aramburu ve diğ., 2006). Yine tütün izolatlarının birçoğu da patatesi enfekte edebilmektedir (Mc Donald ve Kristjansson, 1993).

Gebre Selassie ve diğ. (1983), Fransa'da patates (P.de T.-N), domates (To-72), biber (Israel-82 ve VR-2), *Portulacca oleracea* (N17-E), *Solanum nigrum* (SON-41) gibi çeşitli konukçulardan izole edilen PVY izolatlarının ilk olarak patotip ayırım setini kullanarak patotiplerini, sonrasında ise biyolojik farklılıklarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar ilk olarak P.de T.-N ve To-72 izolatlarının PVY-0; SON-41 ve Israel-82 izolatlarının PVY-1; N17-E ve VR-2 izolatlarının ise PVY-1,2 patotipine ait olduklarını belirlemişlerdir. Biyolojik karakterizasyon çalışmalarında ise N17-E izolatı hariç diğer izolatların benzer bir şekilde *Chenopodium amaranticolor*'un inokule edilen yapraklarında lokal lezyonlar, *Physalis floridana*'da yapraklarda lokal lezyonlar ve mozayik lekeler, *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi'de yapraklarda mozayik lekeler ve damarlarda renk açılması şeklinde belirti gösterdiklerini, N17-E izolatının ise *P. floridana*'da yapraklarda benek şeklinde belirti gösterdiğini, *C. amaranticolor* ve

N. tabacum cv. Xanthi'de ise herhangi bir belirti oluşturmadağını belirlemişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda biber izolatlarının patates bitkisini, patates izolatının ise biber bitkisini enfekte edemediğini ortaya koymuşlardır.

D'Aquino ve diğ.(1995), İtalya'da biberde damar nekrozu simptomuna neden olan ve PVYnnp olarak isimlendirdikleri PVY izolatının 3' kodlanmayan bölge (non-coding region=NCR) ve CP genini klonlayarak nükleotid dizilerini belirlemişler, bu dizileri diğer PVY izolatlarının dizileri ile karşılaştırmışlar ve benzerliklerini ortaya koymuşlardır. Ayrıca PVYnnp izolatını değişik indikatör bitkilere inokule ederek biyolojik olarak karakterize etmişlerdir. Biyolojik karakterizasyon sonucunda PVYnnp izolatının biberi enfekte eden diğer PVY izolatlarından farklı olduğunu belirlemişlerdir. PVYnnp izolatının diğer PVY izolatları ile 3' NCR bölgesinin nükleotid dizilerine göre % 85.5-% 97 oranında benzerlik gösterdiğini, CP geninin nükleotid dizilerine göre % 87.5-% 94 oranında benzerlik gösterdiğini, CP geninin ortaya çıkardığı aminoasit dizilerine göre ise % 94.7-% 97.3 oranında benzerlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar aynı zamanda 19 farklı biber çeşidini biber izolatları PVYnnp ve PVYmp ile ve patates orijinli ırklar PVY^N, PVY^O ve PVY^C ile inokule etmişler, sonuçta biber izolatlarının çoğunun çeşitlerde sistemik enfeksiyona neden olduğunu patates ırklarından ise yalnızca PVY^O'nun tek bir biber çeşidini enfekte edebildiğini ortaya koymuşlardır.

Blanco-Urgoiti ve diğ. (1996), konukçudan bağımsız olarak PVY izolatlarının CP genine ait nükleotit dizilerini Immunucapture RT-PCR-RFLP (Sınırlı Parça Uzunluk Polimorfizmi=Restriction Fragment Length Polymorphism) analizi yöntemi ile 5 farklı restriksiyon endonükleaz enzimi (*Dde* I, *Eco* RV, *Hin* I, *Rsa* I ve *Taq* I) kullanarak genetik ırklarına ayırmaya çalışmışlar ve izolatları PVY^O, PVY^N ve PVY^{NP} (non potato=patates izolatı olmayanlar) olmak üzere 3 grupta sınıflandırmışlardır. Araştırmacılar çalışmalarında CP geni nükleotit dizileri kullanılarak yapılan genetik sınıflandırmanın iyi sonuç verdiğini ortaya koymuşlardır.

Llave ve ark (1999), İspanya'da biber yetiştirilen alanlardan elde edilen PVY patotipleri PVY-0, PVY-1, ve PVY-1,2'nin CP nükleotid ve aminoasit dizilerini karşılaştırmışlar ve en yüksek dizi benzerliğinin 0 ve 1 patotipi arasında olduğunu (% 99.2), en düşük benzerliğin 0 ve 1 patotipi ile patotip 1,2 arasında olduğunu (% 98.1) belirlemişlerdir. Ayrıca PVY biber izolatlarının tütün ve patates izolatları ile oldukça

uzak ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışma CP dizilerine göre biber PVY patotiplerinin diğer PVY ırkları ile oldukça uzak ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.

Morel ve diğ. (2000), PVY'nin LYE 84 domates izolatu ve dayanıklı *Lycopersicon hirsutum* PI 2470087 hattında dayanıklılığı kırabilen LYE 84.2 isimli izolat ile yabancı *S. nigrum*'dan izole edilen SON 41.2 izolatının biyolojik ve moleküler karakterizasyonlarını yapmışlar ve birbirileri ile karşılaştırmışlardır. Her 3 izolat tütünde yalnızca mozayik semptomuna neden olmuş ve PVY^O ırk grubunda yer almıştır. İki domates izolatu da (LYE 84 ve LYE 84.2), yalnızca Yolo Wonder biber çeşidini enfekte edebilmiş ve PVY-0 patotipi olarak belirlenmiştir. SON 41.2 izolatı ise Yolo Wonder, Yolo Y ve Florida VR2 çeşitlerini enfekte edebildiği için PVY-1,2 patotipi olarak tespit edilmiştir. *L. hirsutum* PI 2470087 hattında dayanıklılığı kıran LYE 84.2 izolatı, biber genotiplerinde yaygın patotip (PVY-0) olarak bulunurken, *pvr2*¹ ve *pvr2*² genlerinin dayanıklılığını kıran SON 41.2 izolatının ise domateste yaygın ırk olduğunu ortaya koymuşlardır. CP geni ve 3' NCR dizilerine göre LYE 84 ve LYE 84.2 hem nükleik asit hem de aminoasit seviyesinde tam benzerlik göstermiş ve LYE 84.2 izolatının LYE 84 izolatından türediği sonucuna varılmıştır. Araştırmacılar her iki izolatın benzer sekanslara sahip olmasının, CP geninin LYE 84.2 izolatının *L. hirsutum* PI 2470087 hattındaki dayanıklılığı kırma kapasitesi ile doğrudan ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır.

Romero ve diğ. (2001), PVY biber izolatlarını biyolojik ve genetik olarak karakterize etmişler ve bu izolatlar ile PVY patates izolatlarını karşılaştırmışlardır. Biber izolatlarının farklı patotipik özelliklere sahip tek bir genetik ırk olduklarını ve patates izolatlarından farklı olduklarını ortaya koymuşlardır. Biber ve patates izolatları *C. amaranticolor*'da inokule edilen yapraklarda lokal lezyon, *N. benthamiana*'da tüm izolatlar hafif mozayik ve gelişme geriliği, *N. tabacum* Xanthi'de patates PVY^O izolatları şiddetli mozayik, PVY^N izolatı damar nekrozu oluşturmuştur. Farklı patotiplere ait biber izolatları ise aynı tip hafif mozayik oluşturmuştur. Biber izolatları *C. amaranticolor*'da inokule edilen yapraklarda lokal lezyon, *N. benthamiana*'da hafif mozayik ve gelişme geriliği, *N. tabacum* cv. Xanthi'de hafif mozayik, *C. annuum* Yolo Wonder'de şiddetli mozayik şeklinde belirti oluştururken, *S. tuberosum*'da ise herhangi bir semptom oluşturmamıştır.

Fanigliulo ve diğ. (2005), İtalya'da biber yapraklarında damar nekrozu belirtileri gösteren PVY^{nnp} izolatının tam genom analizini yapmışlar ve bu izolatın rekombinant bir ırk olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar virüsün P1 ve CP

bölgelerinin moleküler karakterizasyonunu yapmışlar, PVY_{np} izolatının P1 bölgesi dizisine göre PVY^O ırk grubunda, CP dizisine göre ise PVY^{NP} ırk grubunda yer aldıklarını ortaya koymuşlardır. Genomun farklı bölgeleri kullanılarak yapılan filogenide PVY_{np}'nin P1 bölgesine göre PVY^O grubunda, CP bölgelerine göre ise PVY^{NP} grubunda yer almasının bu ırkın rekombinant olması ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Mostafae ve diğ. (2008), İran'da Tahran ilinde 2005 ve 2006 yıllarında biber tarlalarından elde ettikleri PVY izolatlarının biyolojik ve moleküler karakterizasyonlarını yapmışlardır. PVY biber izolatlarının, *C. annuum*'da, damarlarda renk açılması ve sararma, *Datura metal*'da damar bantlaşması ve mozayik, *N.tabacum* cv. White Burley ve *N.rustica*'da mozayik belirtileri gösterdiğini, *Physalis floridana*, *C. amaranticolor*, *C. quinoa* ve *S. tuberosom*'da ise simptom oluşturmadığını belirlemişlerdir. CP gen bölgesinin nükleotit dizilerine göre Tahran PVY izolatlarının % 95 oranında LYE 84.2 izolatı ile ve % 90 oranında ise SON41 izolatı ile benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Feki ve Bouslama (2008), GenBank'ta kayıtlı farklı ülke orijinli 107 PVY izolatının CP bölgeleri dizi analizlerine göre genetik farklılıklarını ve moleküler filogenisini çalışmışlardır. PVY'nin filogenide 6 farklı kümesi olduğunu ve kümelerin coğrafik bölgelere göre oluşmadığını belirlemişlerdir.

Ibaba (2009), Güney Afrika'da domates üretim alanlarından 18, biber üretim alanlarından 9 ve patates üretim alanlarından 12 olmak üzere toplam 39 PVY izolatını ELISA ve ırka spesifik primerler kullanarak RT-PCR yöntemi ile karakterize etmiştir. Biber ve domates izolatlarının tamamının PVY^O ırkı olduğunu, patates izolatlarının ise PVY^N, PVY^{NTN} ve PVY^{N-Wi} ırkları olduğunu belirlemiştir.

Khalifa ve diğ. (2009), Tunus'ta % 23'ünün resesif *pvr2'* alleli, ve diğerlerinin dominant *pvr2* alleleline sahip biber çeşitlerinin oluşturduğu 8 farklı lokasyondan topladıkları örneklerden PVY ile enfekteli olanların genetik yapısını RFLP analizi ile P3, VPg ve CP bölgelerine spesifik primerler kullanarak araştırmışlar ve coğrafi olarak uzak mesafede elde edilen PVY popülasyonları arasında farklılıkların bulunduğunu fakat dayanıklı *pvr2* allelinin viral popülasyonun yapısını etkilemediğini bildirmişlerdir.

2.4 PVY'nin Zararı ve Ekonomik Önemi

PVY, tüm dünyada enfeksiyona neden olduğu ürünlerde meydana getirdiği kalite ve kantite kayıpları nedeni ile ekonomik olarak en önemli virüsler arasında yer almaktadır.

PVY patatesi enfekte eden en önemli virüs türü olup % 80'e varan ürün kaybına neden olabilmektedir (Hooker, 1981; Valkonen, 2007). İngiltere'de özellikle 1980 ve 1990'lı yıllarda Record isimli patates çeşidinde PVY^N ırkı epidemi yapmış ve önemli ürün kayıplarına neden olmuştur (Barker, 1994). PVY ve PVX birlikte enfeksiyon oluşturduğunda patatesten ürün kaybı % 10-80 arasında değişebilmektedir (Kerlan ve Moury, 2010).

PVY biberde enfeksiyon şiddetine bağlı olarak patatesten olduğu gibi % 80'e varan ürün kayıplarına yol açabilmektedir (Hamalainen ve diğ., 1997). Ekonomik kayıp PVY'nin patotiplerine ve biber çeşitlerinin hassasiyetlerine göre değişebilmektedir.

PVY, domatesin önemli bir patojeni olup (Marte ve diğ., 1991; Zitter, 1993) hassas çeşitlerde % 50'ye varan ürün kayıplarına neden olabilmektedir (Thomas ve McGrath, 1988). Nekrotik ırkların oluşturduğu ürün kayıpları ise % 100 olabilmektedir. PVY, domatesten enfeksiyon yapan diğer virüslerle (örneğin CMV) birlikte bulunduğu daha şiddetli enfeksiyonlara yol açabilmekte ve bunun sonucunda ürün kayıpları artabilmektedir (Kerlan ve Moury, 2010).

PVY tütünde enfeksiyon yapan virüsler arasında en tahripkar türlerden birisi olarak bilinmektedir. Virüs tütün yapraklarının başta nikotin içeriği olmak üzere kimyasal kompozisyonunda değişimlere, şiddetli enfeksiyonlarda % 14-59 ürün kayıplarına neden olabilmektedir (Kerlan ve Moury, 2010).

2.5 PVY ile Mücadele

PVY ile mücadelede karantina tedbirlerine dikkat edilmesi, sertifikalı tohumluk patates yumrusu üretimi ve kullanımı, yetiştiricilik esnasında hijyen kurallarına uyulması, vektör yaprak bitlerinin kontrolü ve virüsün konukçu bitkide çoğalmasının önlenmesi amacı ile dayanıklı çeşitlerin kullanılması önem taşımaktadır. Vektör kontrolü kültürel yöntemlerle (Hooks ve Fereres, 2006), kimyasal ilaç kullanımı ile (Van Toor ve diğ., 2009) ve biyolojik mücadele yöntemleri ile (Cabral ve diğ., 2009) olabilmektedir.

Ana ürünün kenar parsellerine ayçiçeği, sorgum, mısır gibi bariyer bitkilerin ekilmesi yaprak bitlerinin PVY'yi bariyer bitkilerine bulaştırmasına ve asıl ürüne PVY'nin geçişinin sınırlı oranda olmasını sağlamaktadır (Hooks ve Fereres., 2006). Biberde yapılan çalışmalarda bariyer bitkisi olarak kullanılan ayçiçeğinin virüs yayılmasını azalttığı (Simons, 1957) sorgumun PVY'nin yayılmasını geciktirdiği (Avilla ve diğ., 1996), mısırın ise PVY'nin yayılmasını azaltarak verimde artışa neden olduğu (Fereres, 2000) ortaya konulmuştur.

Difonzo ve diğ. (1996), 1992-1995 yılları arasında yaptıkları bir çalışmada soya fasulyesi, sorgum ve kışlık buğday bitkilerinin bariyer bitki (crop border) olarak kullanılması sonucunda tohumluk patates üretim alanlarında virüs taşıyan yaprak biti popülasyonunun ve PVY enfeksiyonunun önemli ölçüde azaldığını ortaya koymuşlardır.

Boiteau ve diğ. (2008), Kanada'da üç yıl süren tarla denemeleri sonucunda mineral yağ uygulamalarının PVY'nin vektörü olan yaprak bitlerine karşı bariyer görevi yaptığını ve PVY enfeksiyonunu azalttığını belirlemişlerdir. Mineral yağ uygulaması ile birlikte tuzak bitki kullanılmasının tek başına mineral yağ uygulamasına oranla PVY enfeksiyonunu azaltmada iki kat daha başarılı olduğunu öne sürmüşlerdir.

Martin ve diğ. (2006), biber ve patates bitkilerinde *M. persicae*'nin PVY'yi taşıma etkinliği üzerine yaptıkları bir çalışmada Imidacloprid etkili maddeli insektisit kullanımında % 36.9 oranında virüs taşınması gerçekleştiğini, mineral yağ ile birlikte Imidacloprid etkili maddeli insektisit kullanımında ise virüs taşınma oranının % 15'te kaldığını ortaya koymuşlardır.

Vektör yaprak bitlerine karşı insektisit kullanılarak mücadele edilmesi yaprak bitleri tarafından PVY'nin kazanılma ve sağlıklı bitkilere bulaştırma süresinin kısa olması nedeni ile (non-persistent taşınma) genellikle etkili bir yöntem değildir. Bununla birlikte insektisit kullanımı tarla içerisindeki yaprak bitlerini kontrol edebilmek ve yayılmalarını önleyebilmek için etkili olabilmektedir (Gray ve diğ., 2010). Yani insektisit uygulaması PVY kontrolünden çok yaprak biti zararının önlenmesinde etkilidir.

Dayanıklı çeşitler ya ıslah yolu ile ya da bitkiye gen transformasyonu ile geliştirilebilmektedir. Melezleme ıslahı dayanıklı çeşit geliştirme çalışmalarında en

eski yöntem olup bu yolla pek çok dayanıklı çeşit geliştirilmiştir. Bu metodun dezavantajı dayanıklı çeşit geliştirmek için uzun bir sürenin gerekli olması ve zamanla dayanıklılığı kırabilen yeni virüs ırklarının oluşabilme ihtimalidir (Garcia-Arenal ve McDonald, 2003). Günümüzde patates, domates, biber ve tütün gibi pek çok üründe PVY'ye karşı dayanıklı veya toleranslı çeşitler geliştirilmiş olup üreticiler tarafından kullanılmaktadır.

Caranta ve Paloix (1996), Perennial isimli biber hattını PVY-1,2 patotipi ile inokule etmişler ve hattın inokulasyon sonrasında herhangi bir simptom oluşturmadığını, ELISA absorbans değerinin ise düşük olduğunu ve bu nedenle de Perennial biber hattının PVY-1,2 patotipine karşı kısmi olarak dayanıklı olduğunu belirlemişlerdir.

Arnedo Andr'es ve diğ. (1999) ise Perennial biber hattını PVY-1,2 patotipine ait P-22-88 izolatına karşı test etmişler ve Caranta ve Paloix (1996)'in çalışmalarının aksine hattın hassas olduğunu belirlemişlerdir. İnokulasyon sonrası Perennial hattına ait bitkilerin yapraklarında damar bantlaşması, mozayik lekeler ve damar nekrozu belirtisi gözlemlenmiştir. İnokule edilmeyen yapraklardaki ELISA absorbans değerinin hassas kontrol olarak kullanılan Yolo Wonder ile yakın olduğunu belirlemişlerdir.

Alegbejo ve Egwemi (1999), Nijerya'da 31 biber ıslah hattını serada serin-kuru iklim şartlarında (Ocak-Şubat ayları) ve sıcak-nemli iklim şartlarında (Ağustos-Eylül ayları) yaygın biber virüslerinden PVY, *Pepper mottle virus* (PepMoV), *Pepper veinal mottle virus* (PVMV) ve TEV'e karşı test etmişler ve çevre şartlarının biber hatlarının virüslere karşı dayanıklılık durumlarını etkilediğini ortaya koymuşlardır. Çalışmada 4 biber hattının her iki koşulda da orta derece dayanıklı olduğunu, 6 hattın ise sadece serin ve kuru hava şartlarında orta derecede dayanıklı olduklarını belirlemişlerdir.

Horwath ve diğ. (2000), Macaristan'da 18 biber çeşidini PVY^{NTN} ırkına karşı mekanik inokulasyon yöntemi ile test etmişler ve çeşitlerden 13 tanesini dayanıklı olarak belirlemişlerdir.

Echer ve Costa (2002), Brezilya'da 9 hibrit çeşit ve 10 ıslah hattının PVY-1,2 patotipi olarak belirlenmiş olan PVYm izolatına karşı dayanıklılık durumlarını araştırmışlar ve hibrit çeşitlerin 3 tanesinde, ıslah hatlarının ise 5 tanesinde dayanıklı genotipler belirlemişlerdir.

Kazinczi ve diğ. (2003), Macaristan'da 12 biber ıslah hattını PVY^{NTN} ırkına karşı mekanik inokulasyon yöntemi ile test etmişler, hatlardan 5 tanesini dayanıklı olarak belirlemişlerdir.

2.6 Biberde PVY'ye Dayanıklılık Genleri

Biber genotiplerinde PVY'ye karşı dayanıklılık resesif ve dominant genler tarafından sağlanmaktadır. Biberde *Potyvirus* cinsi üyesi virüs türlerine karşı ilk olarak bulunan dayanıklılık lokusu *pvr1* olup, bu lokus ilk kez Greenleaf (1956) tarafından *Capsicum chinense*'de tespit edilmiştir (Çizelge 2.2). Resesif *pvr1* geninin PVY'nin 0 patotipine karşı dayanıklılıkta rol oynadığı (Greenleaf, 1986; Pasko ve diğ., 1996; Boiteux ve diğ., 1996; Ruffel ve diğ., 2006; Kang ve diğ., 2005a) ve aynı zamanda TEV (Greenleaf, 1956 ve 1986) ve PepMoV (Zitter, 1972)'a karşı da dayanıklılığı sağladığı belirlenmiştir.

İkinci dayanıklılık lokusu olan *pvr2* ise Cook (1960) tarafından *C. annuum* PI 264281 ve SC46252 hatlarında belirlenmiştir. Bu lokusta bulunan *pvr2*¹ alleli PVY'nin 0 patotipine, *pvr2*² alleli ise PVY'nin 0 ve 1 patotiplerine karşı dayanıklılıkta rol oynamaktadır (Kyle ve Palloix, 1997; Ruffel ve diğ., 2006) (Çizelge 2.2). Resesif *pvr2*³ alleli ise kantitatif dayanıklılık lokusları (Quantitative resistance locus=QRL) içerisinde majör etkiye sahip bir gen olarak PVY-0, PVY-1 ve PVY-1,2 patotiplerine karşı dayanıklılıkta etkili olmaktadır (Caranta ve diğ., 1997; Ayme ve diğ., 2004; Ayme ve diğ., 2007; Charron ve diğ., 2008).

Resesif dayanıklılık geni olan *pvr3*, Zitter ve Cook (1973) tarafından *C. annuum* "Avelar" hattında belirlenmiş olup (Çizelge 2.2), bu genin PVY-0 patotipine ve aynı zamanda PepMoV ve TEV'e karşı dayanıklılık sağladığı da bildirilmiştir.

Dominant *Pvr4* geni ilk kez *C. annuum* türünün Serrano Crillo de Morales 334 (CM 334) çeşidinde belirlenmiştir (Çizelge 2.2). Bu gen PVY-0, PVY-1 ve PVY-1,2 patotiplerine karşı ve PepMoV'ye karşı dayanıklılıkta rol oynamaktadır (Palloix, 1992; Pasko ve diğ., 1992; Boiteux ve diğ., 1996; Dogimont ve diğ., 1996). Biberde virüslere karşı pek çok dominant dayanıklılık geni virulent varyantlar tarafından zayıflatılmasına rağmen (Hobbs ve diğ., 1994; Genda ve diğ., 2007; Hamada ve diğ., 2007), *Pvr4* geni günümüze kadar etkisini korumuştur. Bugüne kadar tarla şartlarında biberde *Pvr4* genine karşı etkili virulent izolatlar rapor edilmemiştir. Laboratuvar şartlarında biber W4 hattına 1500 den fazla inokulasyon yapılmasına

rağmen *Pvr4* genini kıran virulent PVY varyantları elde edilememiştir (Janzac ve diğ. 2009).

Resesif *pvr5* ise Dogimont ve diğ. (1996) tarafından *C. annuum* CM 334’de belirlenmiş olup PVY-0 a karşı dayanıklılıkta rol oynamaktadır (Çizelge 2.2).

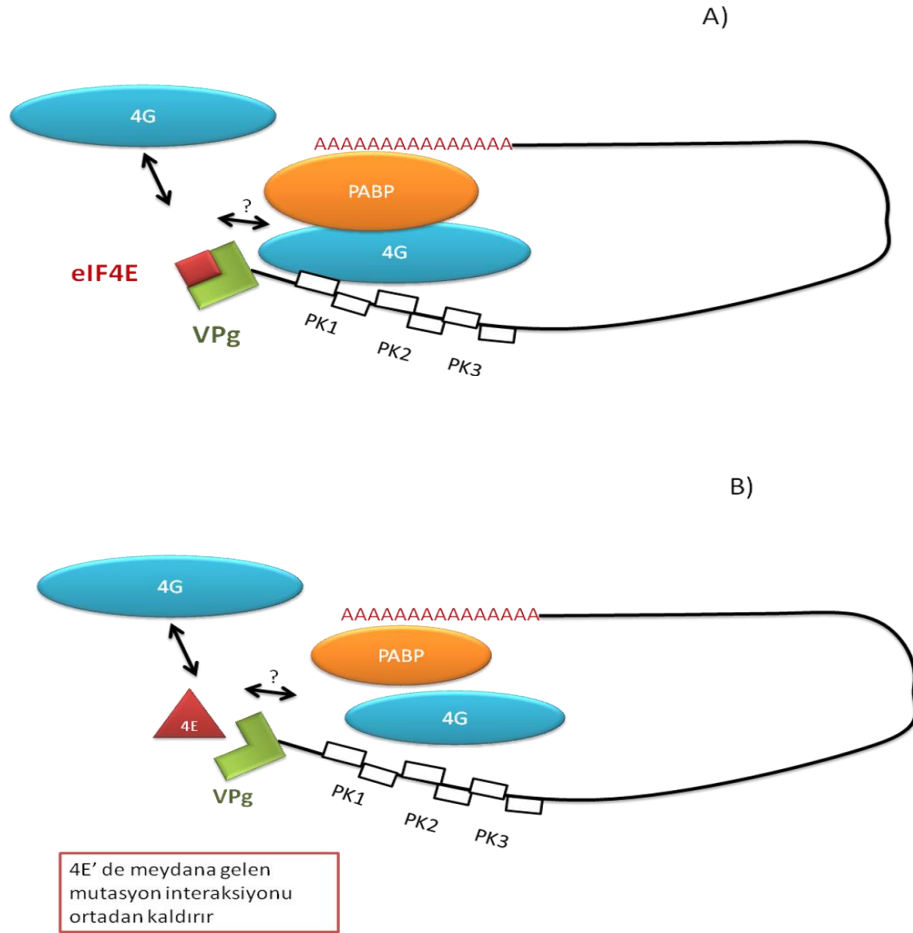
Çizelge 2.2. Biberde PVY’ye karşı dayanıklılıkta rol oynayan genler ve dayanıklılık kaynakları (Kyle ve Palloix, 1997)

Genler	Dayanıklılık Sağladığı Patotipler	Dayanıklılık Kaynağı
<i>pvr1</i> (resesif)	PVY-0	<i>C. chinense</i> PI 159236, PI 152225
<i>pvr2¹</i> (resesif)	PVY-0	<i>C. annuum</i> Yolo Y, Yolo RP10
<i>pvr2²</i> (resesif)	PVY-0, PVY-1	<i>C. annuum</i> Florida VR-2
<i>pvr2³</i> (resesif)	PVY-0, PVY-1, PVY-1,2	<i>C. annuum</i> Perennial
<i>pvr3</i> (resesif)	PVY-0	<i>C. annuum</i> Avelar
<i>Pvr4</i> (dominant)	PVY-0, PVY-1, PVY-1,2	<i>C. annuum</i> CM 334
<i>pvr5</i> (resesif)	PVY-0	<i>C. annuum</i> CM 334

Virüsler küçük genom yapılarına ve diğer bitki patojenleri ile kıyaslandığında az miktarda gene sahip olmalarından dolayı yaşam döngülerini tamamlayabilmek için konukçu faktörlerine büyük ölçüde gereksinim duymaktadırlar. Replikasyon, translasyon ve hücre içerisindeki virüs hareketi gibi virüs enfeksiyonunun farklı aşamalarında konukçu faktörleri ile virüsün ya da viral proteinlerin spesifik interaksiyonlarının etkili olduğu ortaya konulmuştur (Maule ve diğ., 2002; Ahlquist ve diğ., 2003). Virüs yaşam döngüsü için gerekli konukçu faktörlerinin olmaması ya da bu faktörlerin mutasyona uğraması sonucunda dayanıklı bitki fenotipleri ortaya çıkabilmektedir (Fraser, 1998). Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Potyviriidae* familyası içerisinde özellikle *Potyvirus* cinsine dahil virüsler ile konukçuları arasında böyle bir ilişkinin bulunduğu ve resesif dayanıklılık genlerinin aslında konukçuda ökaryotik translasyon başlatma faktörü (eukaryotic initiation factor) genlerinin mutasyona uğramış formları olduğu ortaya konulmuştur.

Potyviriidae familyasına ait virüslerde bulunan VPg’lerin pek çok Potyvirus-konukçu ilişkilerinde resesif dayanıklılık genleri için avirülens determinantları kodladığı bilinmektedir (Nicolas ve diğ., 1997; Schaad ve diğ., 1997; Keller ve diğ., 1998; Rajamaki ve Valkonen., 1999; Borgstrom ve Johansen., 2001; Rajamaki ve Valkonen., 2002; Moury ve diğ., 2004; Whitham ve Wang, 2004; Ayme ve diğ.,

2006; Miyoshi ve diğ., 2006; Robaglia ve Caranta, 2006). Viral enfeksiyon döngüsü içerisinde önemli bir yeri olan replikasyon aşamasında translasyonun başlayabilmesi için virüs VPg proteininin konukçu genomunda ökaryotik translasyon başlatma faktörü olarak bilinen eIF4E bölgesine bağlanması gerekmektedir. Yapılan çalışmalar resesif dayanıklılık genlerinin ökaryotik translasyon başlatma faktöründe ve izoformlarında meydana gelen mutasyonlar sonucu oluştuğunu ortaya koymuştur. Bu bölgede meydana gelen mutasyonların virüs VPg proteininin translasyon başlatma faktörünün (eIF4E) bağlanmasını engellediği ve translasyonun başlayamaması nedeniyle dayanıklılık yanıtının oluştuğu öne sürülmektedir (Şekil 2.3) (Maule ve diğ., 2002; Ahlquist ve diğ., 2003; Truniger ve Aranda, 2009).



Şekil 2.3. Potyvirüslere resesif dayanıklılığın mekanizması. Normal VPg-eIF4E interaksyonu (A) varsa PVY polyprotein translasyonu başlar (bitki hassas). eIF4E'deki mutasyon interaksyonu önler (B) ve translasyon başlayamaz (bitki dayanıklı). eIF4E'de Gly107Arg mutasyonu (*pvr1*), Val67Glu mutasyonu (*pvr2⁴*) dayanıklılığı ile sonuçlanır (Truniger ve Aranda, 2009)

VPg-eIF4E interaksyonu özellikle *Potyvirus* cinsine dahil virüsler ve konukçuları arasında belirlenmiştir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda *Carmovirus*, *Bymovirus* ve *Sobemovirus* cinsine dahil virüsler ve konukçuları arasında da böyle bir interaksyonun olduğu ortaya konulmuştur (Çizelge 2.3) (Robaglia ve Caranta, 2006; Maule ve diğ., 2007).

Çizelge 2.3. VPg-eIF4E interaksyonu belirlenmiş olan virüs-konukçu ilişkileri (Robaglia ve Caranta, 2006; Maule ve diğ., 2007)

Bitki Adı	Virüs	Virüs Cinsi	Dayanıklılık Genleri	Translasyon Faktörü
Biber	<i>Potato virus Y</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>pvr2</i>	eIF4E
Biber	<i>Tobacco etch virus</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>pvr2</i>	eIF4E
Biber	<i>Pepper veinal mottle virus</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>pvr6</i>	eIF(iso)4E
Marul	<i>Lettuce mosaic virus</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>mo1</i>	eIF4E
Bezelye	<i>Pea seedborne mosaic virus</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>sbm1</i>	eIF4E
Domates	<i>Potato virus Y</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>pot1</i>	eIF4E
Domates	<i>Tobacco etch virus</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>pot1</i>	eIF4E
Kavun	<i>Zucchini yellow mosaic</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>zym</i>	eIF4E
Arpa	<i>Barley mild mosaic virus</i>	<i>Bymovirus</i>	<i>rym4</i>	eIF4E
Kavun	<i>Melon necrotic spot virus</i>	<i>Carmovirus</i>	<i>nsv</i>	eIF4E
Çeltik	<i>Rice yellow motlle virus</i>	<i>Sobemovirus</i>	<i>rymv1</i>	eIF(iso)4G

Son yıllarda değişik araştırmacılar tarafından yapılan araştırmalarda biberde PVY'ye dayanıklılıkta rol oynayan resesif genlerin ökaryotik translasyon başlatma faktörü olan eIF4E geni ile ilişkili olduğu (bu genin homoloğu) gösterilmiştir (Şekil 2.4). Biberde *pvr2* lokusu tarafından kodlanan eIF4E geninin genomik dizileri kullanılarak yapılan analizde ise lokusun beş exon ve dört introndan oluştuğu (Ruffel ve diğ., 2004), *pvr2* allel genlerinde (*pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*², *pvr2*³) yalnızca 2-4 nükleotidlik farklılıklar olduğu ve bu genlerin eIF4E'deki mutasyonlar sonucu meydana geldiği ortaya konulmuştur (Şekil 2.4) (Ruffel ve diğ., 2002; Ruffel ve diğ., 2004, Kang ve diğ., 2005b; Robaglia ve Caranta, 2006).

	1	50
<i>pvr2</i> ⁺	MATAEMEKTTTFDEAEKVKLNANEADDEVEEGEIVEETDDTTSYLSKEIA	
<i>pvr2</i> ¹	-----	
<i>pvr2</i> ²	-----	
<i>pvr2</i> ³	-----	
	51	100
<i>pvr2</i> ⁺	TKHPLEHSWTFWFEDNPVAKSKQAAWGSSLRNVYTFSTVEDEFWGAYNNIHH	
<i>pvr2</i> ¹	-----E-----R-----	
<i>pvr2</i> ²	-----E-----	
<i>pvr2</i> ³	-----E-----	
	101	150
<i>pvr2</i> ⁺	PSKLVVGADLHCFKHKIEPKWEDPVCANGGTWKMSFSKGS DTSWLYTLL	
<i>pvr2</i> ¹	-----	
<i>pvr2</i> ²	-----N-----	
<i>pvr2</i> ³	-----	
	151	200
<i>pvr2</i> ⁺	AMIGHQFDHEDEICGAVVSVRGKGEKISLWTKNAANETAQV SIGKQWKQF	
<i>pvr2</i> ¹	-----	
<i>pvr2</i> ²	-----	
<i>pvr2</i> ³	-----	
	201	228
<i>pvr2</i> ⁺	LDYSDSVGFIFHDDAKRLDRNAKNRYTV	
<i>pvr2</i> ¹	-----	
<i>pvr2</i> ²	-----	
<i>pvr2</i> ³	----G-----	

Şekil 2.4. Biberde *pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*² ve *pvr2*³ allelleri ile ilişkili eIF4E bölgesinin aminoasit dizileri (GenBank accession numaraları sırasıyla AY1220252, AF521964, AF521965 ve AY723737) (Ruffel ve diğ., 2002; 2004)

Biberde PVY'ye dayanıklılık üzerine yapılan çalışmalarda; Gil Ortega ve diğ. (1986), Luesia çeşidinin PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine toleranslı olduğunu belirlemişler fakat toleranslılığın kalıtımı ile ilgili herhangi bir çalışma yapmamışlardır.

Janzac ve diğ. (2009), *Pvr4* geni içeren W4 hatlarına PVY'nin SON41 izolatını seri halde inokule ederek virüent varyantların elde edilip edilemeyeceğini araştırmışlardır. İnokulasyonları bitkinin kotiledon yapraklarına yapmışlar ve her inokulasyon sonrası nekrotik lokal lezyonlardan yeni inokulum oluşturarak tekrar W4 hatlarının kotiledon yapraklarına inokule etmişlerdir. İnokulasyonları aşı ile ve bitki öz suyu ile inokule ederek yapmışlardır. Mekanik inokulasyonlarda virüent varyantları elde edemez iken, aşı (grafting) ile inokulasyonda ise virüent varyantları elde edebilmişlerdir. Daha sonra virüent varyantların CP bölgesini RT-PCR ile amplifiye ederek dizi analizlerini yapmışlar ve virüent varyantların SON41 izolatının varyantları olduğunu ortaya koymuşlardır.

Markör yardımı ile seleksiyon metodu son yıllarda değişik ürün gruplarındaki virüslerin de içinde olduğu patojenlere karşı dayanıklılık genlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Biber bitkisinde viral hastalıklara dayanıklılık genleri ile bağlı markörler dünyanın değişik ülkelerindeki araştırmacılar tarafından geliştirilmiş ve kullanıma sunulmuştur. Caranta ve diğ., (1999) yapmış oldukları çalışmada, *Pvr4* lokusu için Çoğaltılmış Polimorfik DNA Dizileri (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences=CAPS) markörünü geliştirmişlerdir. Araştırmacılar CAPS (CSO 458 bp) markörünü, Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism=AFLP) yöntemini kullanarak geliştirmiş ve markörü *Pvr4* genine yaklaşık olarak 2.1 cM mesafede belirlemişlerdir. Çalışmada, *Pvr4* genini taşıyan CM 334 biber genotipi, virüse hassas Yolo Wonder hattı ile melezlenmiştir. AFLP markörü dönüştürülerek kodominant moleküler markör elde edilmiş ve ıslah çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Arnedo-Andrés ve diğ. (2002), pratik olarak ıslahta kullanılabilecek *Pvr4* lokusu ile bağlantılı Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA=RAPD) markörlerini ve sonrasında ise RAPD'den dönüştürülmüş Dizisi Belirlenmiş Çoğaltılan Bölgeler (Sequence-characterized Amplified Regions=SCAR) markörlerini belirlemişlerdir. Çalışmada, 1 uygun RAPD markörü (UBC191432) *Pvr4* geni ile bağlantılı bulunmuş ancak, bu markörün ıslahta kullanılacak mesafede olmadığı belirlenmiştir. Daha sonra RAPD markör dönüştürülerek dominant SCAR (SCUBC191423) markör elde edilmiştir.

Yeam ve diğ. (2005), resesif *pvr2* allel genleri ile bağlı allele spesifik CAPS markörlerini geliştirmişlerdir.

Rubio ve diğ. (2008), resesif *pvr2* geni alelleri ile bağlı Tek Nükleotid Polimorfizm (Single Nucleotide Polymorphism=SNP) markörlerini geliştirmişler ve bu markörlerin tetra primer Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction (ARMS-PCR) yöntemi ile başarılı bir şekilde *pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*², *pvr2*³ allellerinin seleksiyonunda kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Moodley ve diğ. (2013), *pvr2*¹ ve *pvr2*² genlerini taşıyan lokal biber genotiplerinden homozigot biber hatlarını geliştirmek için, dayanıklı (*pvr2*¹ ve *pvr2*²) ve hassas (*pvr2*⁺) biber hatlarını melezlemişler ve F₂ bireylerinde *pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*² ve *pvr2*³ allel genlerini, tetra primer ARMS-PCR yöntemini kullanarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar daha sonra moleküler markör çalışmaları ile *pvr2*⁺ hassaslık alleli taşıdığı belirlenen bireyleri negatif seleksiyon ile elemine etmişlerdir.

Sonrasında ise F₂ bireylerini PVY'ye karşı mekanik inokulasyon yöntemi ile test etmişler, seçilen bitkilerin tamamının dayanıklı olduğunu ve tetra primer ARMS-PCR yönteminin *pvr2* allel genlerinin seleksiyonunda kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

2.7 PVY ile İlgili Türkiye'de Yapılan Çalışmalar

2.7.1 Biberde yapılan çalışmalar

Bugüne kadar Türkiye'de biber üretim alanlarında enfeksiyon yapan virüsleri belirlemek amacı ile değişik araştırmacılar tarafından survey çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda biber üretim alanlarında *Tobacco mosaic virus*- TMV (Erkan ve Yorgancı, 1983; Yılmaz ve Davis, 1985; Çiçek ve Yorgancı 1991; Palloix ve diğ., 1994a; Güldür ve diğ., 1995; Arlı Sökmen ve diğ., 2005a; Özaslan ve diğ., 2006) *Potato virus Y* - PVY (Erkan, 1986; Palloix ve diğ., 1994a; Ekbiç ve diğ., 1997; Arlı Sökmen ve diğ., 2005a; Buzkan ve diğ., 2006), *Cucumber mosaic virus*- CMV (Yılmaz ve Davis 1985; Güldür ve diğ., 1992; Palloix ve diğ., 1994a; Ünlü ve Güldür, 2004; Özaslan ve diğ., 2006), *Potato virus X*- PVX (Basım ve diğ., 1997; Buzkan ve diğ. 2006), *Alfalfa mosaic virus*- AMV (Arlı Sökmen ve diğ., 2005a; Buzkan ve diğ. 2006), *Tobacco etch virus*- TEV (Yılmaz ve diğ., 1983; Güldür ve diğ., 1994; Palloix ve diğ., 1994a), *Pepper mild mottle virus* -PMMoV (Güldür ve diğ., 1994; Buzkan ve diğ. 2006), *Tomato spotted wilt virus* -TSWV (Yurtmen ve diğ., 1999; Arlı Sökmen ve diğ., 2005a), *Tomato mosaic virus*-ToMV (Arlı Sökmen ve diğ., 2005a)'lerinin enfeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir.

Erkan (1986), biberde PVY ile ilgili Türkiye'de yapılan ilk çalışmada çeşitli lokasyonlardan topladığı virüs benzeri simptom gösteren biber örneklerini teşhis etmek amacıyla ilk olarak indikatör bitkilere mekanik olarak inokule etmiş, sonrasında agar-jel diffüzyon testi ile PVX, PVY, CMV ve TMV ile test etmiş ve son olarak ise enfekteli bitkilerden ekstrakte ettiği örnekleri elektron mikroskopunda incelemiştir. Araştırmacı çalışma sonucunda biberlerde virüs benzeri belirtilere PVY'nin neden olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmada PVY'nin mekanik inokulasyon sonrasında *C. annuum*'da yapraklarda damar bantlaşması, mozayik lekeler ve bitki gelişiminde gerileme şeklinde belirti verdiğini belirlenmiştir.

Erkan ve Schlosser (1987), Türkiye'de 1986 yılında biber bitkilerinde tespit ettikleri PVY izolatının 9 biber çeşidindeki reaksiyonlarını mekanik inokulasyon

yöntemi ve ELISA yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Mekanik inokulasyon sonrası Danube ve Yolo Wonder çeşitlerinin simptom göstermediklerini ve düşük ELISA absorbans değeri verdiklerini ve bu iki çeşidin PVY izolatına karşı toleranslı olabileceklerini, diğer 7 çeşidin ise hassas olduklarını, yapraklarda mozaik, kıvrılma ve deformasyon şeklinde belirti gösterdiklerini ve yüksek ELISA absorbans değeri verdiklerini belirlemişlerdir.

Palloix ve diğ. (1994a), 1992 ve 1993 yıllarında Antalya, Mersin, Adana ve Kahramanmaraş illerindeki biber üretim alanlarında PVY, CMV, TEV, TMV, PMMoV ve TSWV virüslerinin varlığını DAS-ELISA ve biyolojik indeksleme yöntemlerini kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda Antalya ilinde PVY, CMV, TEV, TMV, PMMoV, Mersin ilinde PVY, CMV, TEV, TMV, Kahramanmaraş ilinde ise PVY ve CMV'yi belirlemişler, TSWV'yi ise her üç ilde de tespit etmemişlerdir.

Bostan ve Dursun (2002), Erzincan ilinin Kemaliye ilçesinden 30 ve Artvin in Yusufeli ilçesinden 15 olmak üzere toplam 45 virüs benzeri simptom gösteren biber yaprak örneklerini PVX, PVY, CMV ve TMV-spesifik ELISA kitleri ile test etmişlerdir. Araştırmacılar Kemaliye ilçesinden alınan 30 yaprak örneğinden 11 tanesinin PVY, 7 tanesinin TMV ile enfekteli, 1 tanesinin ise PVY ve TMV ile karışık olarak enfekteli olduğunu; Yusufeli ilçesinden alınan 15 yaprak örneğinden 6 tanesinin PVY, 3 tanesinin ise TMV ile enfekteli olduğunu saptamışlar, PVX ve CMV'yi ise örneklerin hiçbirisinde tespit etmemişlerdir.

Arlı Sökmen ve diğ. (2005a), 1998 ve 1999 yıllarında Samsun ilinde biber üretim alanlarından 313 adet örnek toplamışlar ve bu örneklerdeki virüsleri ELISA yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 1998 yılında Samsun ilinde biber üretim alanlarında AMV, CMV, PVY, ToMV, TMV ve TSWV'nin bulunduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca bu çalışmada en yaygın virüsler olarak sırasıyla PVY (% 24.6), TMV (% 21.5), ToMV (% 8.4), AMV (% 6.9), TSWV (% 3.8) ve CMV (% 2.3)'yi belirlemişlerdir. Karışık enfeksiyonda ise en yaygın olarak TMV+PVY (% 15.4) ikili enfeksiyonunu saptamışlardır.

Demir (2005), Kahramanmaraş ilinde kırmızı biber üretim alanlarından topladığı 171 örneği ELISA ile test etmiş ve en yaygın virüsleri sırasıyla AMV (% 35.7), TEV (% 21.6), PVY (% 21.1), PVX (% 17.5), PMMoV (% 8.2) ve CMV (% 4.6) olarak belirlemiştir.

Buzkan ve diğ. (2006), Hatay, Kahramanmaraş Şanlıurfa ve Gaziantep illerinde biber üretim alanlarından topladıkları toplam 515 örnekte; CMV, AMV, PVX, PVY, PMMoV ve TEV'in yaygınlık oranlarını Double antibody sandwich (DAS) ELISA yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Toplanan örneklerde PVY nin % 26.4 bulunma oranı ile en yaygın virüs olduğunu, bu virüsü sırasıyla PVX (% 25.8), AMV (% 25.2), TEV (% 23), PMMoV (% 9.1) ve CMV (% 8.3)'nin izlediğini bildirmişlerdir.

Çelik ve diğ. (2012), 2007 ve 2008 yıllarında Antalya ilinde biber üretim alanlarından topladıkları 274 örnekte bazı virüslerin varlığını DAS-ELISA yöntemi ile belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda en yaygın virüsleri sırasıyla TSWV (% 34.6), TMV (% 14.5), CMV (% 13.1), PMMoV (% 7.6) ve PVY (% 7.6) olarak saptamışlardır.

Türkiye'de farklı araştırmacılar değişik bölgelerde yetiştirilen biberlerde enfeksiyona neden olan PVY'nin patotiplerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar yapmışlardır. Bunlardan Palloix ve diğ. (1994b), Akdeniz Bölgesi'nde biber üretim alanlarından izole ettikleri 9 PVY izolatını patotip ayırım setini kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 5 izolatı PVY-0 ve 4 izolatı ise PVY-1 patotipi olarak belirlemişlerdir.

Ekbiç ve diğ. (1997), yine Akdeniz Bölgesi'nde biber üretim alanlarında patotip ayırım setini kullanarak PVY-1,2 patotipini belirlemişlerdir.

Buzkan ve diğ. (2012), 2010 ve 2011 yıllarında Gaziantep, Kahramanmaraş ve Hatay illerinde biber üretim alanlarından topladıkları 1347 yaprak ve meyve örneğinin 135 tanesinde (% 12.99) PVY enfeksiyonunu, 144 tanesinde (% 10.69) ise TEV enfeksiyonunu belirlemişlerdir. PVY ile enfekteli bir izolatın patotip ayırım seti kullanarak PVY-1 patotipi olduğunu saptamışlardır.

Çelik ve diğ. (2012), Antalya'da 2007 ve 2008 yıllarında biber üretim alanlarından topladıkları toplam 21 PVY izolatının patotiplerini patotip ayırım setini kullanarak belirlemişler ve izolatların tamamının PVY'nin 0 patotipi olduğunu ortaya koymuşlardır.

Biberde PVY'ye dayanıklılık ile ilgili ise Türkiye'de az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda Ekbiç (1998), biberde PVY'ye dayanıklılık özelliği için kullanılabilecek RAPD markörlerinin belirlenmesi amacıyla Bulk Segregant Analizi (Bulk segregant analysis=BSA) tekniği ile yaptığı çalışmada, KM1 ile CM 334 melezlemesinden elde edilen F₂ ve GM₁ bireylerini kullanarak *Pvr4* geni ile bağlı bir markör elde etmeye çalışmıştır. Ancak yaptığı çalışmalar sonucunda, PVY'nin

değişik patotiplerine dayanıklılık sağlayan *Pvr4* geni ile bağlı bir markör elde edememiştir.

Buzkan ve diğ. (2012), 15 adet biber genotipinin ve Maraş 1 ile Sena isimli iki ticari çeşidin PVY'ye karşı dayanıklılık geni bulundurma durumunu araştırmışlardır. Potyviruslere karşı biber genotipleri ve çeşitlerinin (15 popülasyon, iki çeşit) mevcut resesif dayanıklılık genlerini belirlemek amacı ile bitkileri LYE84 (PVY-0), CAA16 (PVY-1) ve SON41P (PVY-1,2) patotipleriyle inokule etmişlerdir. İnokulasyon sonrasında bitkilerin tamamında patotiplere spesifik nekroz, kloroz, şekil bozuklukları ve mozayik simptomları oluştuğunu ve bitkilerin yapılan ELISA testlerinde pozitif reaksiyon verdiklerini ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak çeşitlerin ve test edilen diğer bütün popülasyon genotiplerinin hassaslık alleli *pvr2⁺* taşıdığını belirlemişlerdir.

Çelik ve diğ. (2012), 30 biber çeşidini Antalya ilinde biber bitkilerinden izole edilen PVY-0 patotipine karşı test etmişler ve çeşitlerin 29 tanesinin hassas bir tanesinin ise dayanıklı olduklarını ortaya koymuşlardır. Hassas çeşitlerde PVY-0 patotipinin yapraklarda renk açılması, mozaik lekeler, kıvrılma, şekil bozukluğu ve bitkinin genel görünümünde bodurlaşma şeklinde belirtilere neden olduğunu, dayanıklı çeşitte ise herhangi bir belirtinin oluşmadığını belirlemişlerdir.

Çelik ve diğ. (2013), CM 334 biber hattında bulunan dominant *Pvr-4* genini SD-8 biber çeşidine geriye melezleme yöntemi ile aktarmaya çalışmışlardır. Çalışma süresince dayanıklı bitkileri PVY-0 patotipi ile inokulasyon sonrası ortaya çıkan semptomlara göre ve *Pvr-4* geni ile bağlı CSO CAPS markörü kullanarak moleküler yöntemlerle belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda geri melez hatlarında moleküler testleme sonucu dayanıklı çıkan bitki sayısının mekanik inokulasyon ile testleme sonucu dayanıklı çıkan bitkiye oranının ortalama % 85 olduğunu, markör-gen arasında geriye melezleme popülasyonlarında % 13-% 18 arasında (13-18 cM) rekombinasyon olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar çalışma sonucunda moleküler markörle yapılan seleksiyonların mutlaka mekanik inokulasyon testlemesi de yapılarak da doğrulanması gerektiğini ve materyal seçiminin buna göre yapılmasının önemini vurgulamışlardır.

2.7.2 Patateste yapılan çalışmalar

Ülkemizde patateste PVY ve diğer virüsler üzerine birçok çalışma yapılmış olup bu çalışmalar daha çok viral etmenlerin tespiti üzerine odaklanmıştır.

Dolar ve diğ. (1976), Adana, İçel, Gaziantep, Hatay, Antalya ve Kahramanmaraş illeri patates ekim bölgelerinde PVX, PVY, *Potato leafroll luteovirus* (PLRV), *Aucuba bacilliform badnavirüs* (AuBV) 'ü tespit etmişlerdir.

Kurçman (1979), Ankara'nın Çubuk ilçesinde patates ekim bölgelerinin PVX, PVY ve *Potato virus A* (PVA) ile bulaşık olduğunu ortaya koymuştur.

Çıtır (1982), Erzurum'da yaptığı bir çalışmada tohumluk patates yumrularının PVX, PVY, PLRV, *Potato virus S carlavirus* (PVS) ve düşük oranda PVA ile bulaşık olduğunu bildirmiştir.

Çalı ve Yalçın (1991), ithal edilmiş tohumluk patateslerde önemli virüs hastalıklarının DAS-ELISA ve diğer yöntemlerle araştırılması üzerine yaptıkları bir çalışmada, sertifikasyon yönünden önemli olan PLRV, PVY, PVX ile PVS'nin özellikle sağlıklı görünüşteki yumrulara ortaya çıkmasının, patates tohumculuğunu ve patates üretimini olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir.

Gümüş ve Erkan (1998), Balıkesir'in Ayvalık ilçesinde üretilen patates çeşitlerinin yumrularında bulunan virüsleri DAS-ELISA testi ile araştırmışlar ve çalışma sonucunda patates yumrularında PLRV, PVX ve PVY'yi saptamışlardır.

Yardımcı ve Bostan (1999), Erzurum'daki patateslerde en yaygın olarak sırasıyla PLRV (% 42.2), PVX (% 38.3), PVY (% 7), PVX+PLRV (% 6.29), PVX+PVY (% 2.96) ve PLRV+PVY'nün karışık enfeksiyonlarını saptamışlardır. Ayrıca bu çalışmada, herhangi bir virüs belirtisinin görülmediği örneklerde de DAS-ELISA testi ile PVY, PLRV ve PVY+PVS enfeksiyonları tespit edilmiştir.

Bostan ve Demirci (2001), bazı patates çeşitlerinde PVY ve PVX'in tek başına ve birbirileri ile karışık enfeksiyonları sonucunda ortaya çıkan belirtileri belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada PVY'nin bitkilerde gelişme geriliği, sarılık yapraklarda nekrotik çizgiler ve dökülme şeklinde belirti oluşturduğunu, PVY ve PVX'nin birlikte oluşturduğu karışık enfeksiyonlarda ise Granola ve Pasinler 92 çeşitlerinde mozayik şeklinde reaksiyon verdiğini, Caspar çeşidinde ise bitkilerin yapraklarında şiddetli mozaik, yaprak yüzeyinde kabarma, kıvrırcıklaşma ve gelişme geriliği belirtileri oluşturduğunu ortaya koymuşlardır.

Kutluk Yılmaz ve diğ. (2003), 2001 ve 2002 yıllarında Tokat ilinde patates yaprak ve yumrularında enfeksiyon yapan virüsleri ELISA yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Test sonucunda 168 yaprak örneğinde PVY'yi diğer virüslerle karışık enfekteli olarak tespit etmişlerdir. PVY, PLRV ile karışık olarak % 2.98, PVX ve PVS ile karışık olarak ise yine % 2.98 oranında saptanmıştır. Çalışmada

ayrıca 159 adet yumru örneği test edilmiş ve PVY enfeksiyonu % 10 oranında belirlenmiştir. Patates yumrularında en yaygın karışık enfeksiyonu PVY ve PVS olarak (% 23.64) belirlemişlerdir.

Bostan ve Haliloğlu (2004), Bolu, Erzurum, İzmir, Niğde ve Nevşehir illerinde patates yumrularında en yaygın virüsleri sırasıyla PVY (% 17.7), PLRV (% 14.2), PVX (% 11.8) ve PVS (% 4.6) olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar patates yumrularında PVY^N ırkını % 13.4 oranında PVY^O ırkını ise % 4.3 oranında saptamışlar, PVY^C ırkını ise örneklerin hiçbirinde tespit edememişlerdir.

Arlı-Sökmen ve diğ. (2005b), Trabzon ve Bayburt illerinde tohumluk patates yumrularındaki virüsleri araştırmışlar ve test edilen yumruların % 38.9 oranında PVX, % 1.9 oranında PVY ile enfekteli olduğunu saptamışlardır. Örneklerin hiç birisinin *Potato leaf roll virus* (PLRV) ile bulaşık olmadığını belirlemişlerdir.

Bostan ve diğ. (2006), Erzurum'da 2003, 2004 ve 2005 yıllarında Marfona çeşidi patateslerde PLRV, PVY ve PVS'in enfeksiyon oranlarını DAS-ELISA yöntemi ile araştırmışlar ve en yaygın olarak sırasıyla PVY, PVS ve PLRV'yi belirlemişlerdir. Karışık enfeksiyonda ise en yaygın olarak sırasıyla PVY+PVS, PLRV+PVY ve PLRV+PVS karışık enfeksiyonlarını saptamışlardır. Araştırmacılar aynı zamanda patates yumrularında PVY, PVS ve PLRV'nin varlığını RT-PCR yöntemi kullanarak da tespit etmişlerdir.

Güner ve Yorgancı (2006), 2003 ve 2004 yıllarında Niğde ve Nevşehir'de patates üretim alanlarındaki virüsleri DAS-ELISA yöntemi ile araştırmışlardır. 2003 yılında en yaygın virüsleri sırasıyla PVY+PVS (% 22.22), PVY (% 18.18), PVS (% 11.36), PLRV (% 2.27), PVX+PVY (% 2.27) olarak, 2004 yılında ise PVY (% 51.6), PVY+PVS (% 36.6) ve PVS (% 1.6) olarak belirlemişlerdir.

Güner ve Yorgancı (2009), Afyon ve Bolu illerinde 2003-2004 yıllarında yürüttükleri bir survey çalışmasında DAS-ELISA ve PCR yöntemleri kullanarak patates üretim alanlarındaki virüsleri belirlemeye çalışmışlar ve PVY'nin, Afyon ilinde % 20.46 ve Bolu ilinde ise % 13.06 oranında yaygın olduğunu belirlemişlerdir.

Özaydın (2010), 2007-2009 yılları arasında Adana ve İçel illerinden topladıkları toplam 306 patates örneğindeki virüsleri DAS-ELISA ile araştırmışlar ve Adana ilinde en yaygın olarak sırasıyla PVY (% 73.2), PLRV (% 26.12), PVS (% 20.41), PLRV+PVY (% 19.21), PVY+PVS (% 1.97) virüs enfeksiyonlarını, İçel ilinde ise PVY (% 67.50), PLRV (% 14.30), PLRV+PVY (% 6.26), PVS (% 1.72), PVY+PVS (% 0.57) enfeksiyonlarını tespit etmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Virüs izolatları

Araştırma materyalini oluşturan virüs benzeri belirti gösteren biber yaprak örnekleri, 2010 ve 2011 üretim sezonunda Samsun ilinde biber üretim alanlarının yaklaşık % 97'sine sahip olan Çarşamba, Bafra, Terme ve Tekkeköy ilçelerine bağlı köylerdeki biber üretim alanlarından toplanmıştır.

3.1.2 Patotip ayrımında kullanılan biber çeşitleri

PVY'nin patotiplerini belirlemek için daha önceki çalışmalarda kullanılan ve Gebre Selassie ve diğ. (1985) tarafından önerilen farklı biber çeşitlerine ait tohumlar kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Tohumlar North Central Regional Plant Introduction Station, Iowa State University, USDA-ARS, ABD'den temin edilmiştir.

Çizelge 3.1. Patotip ayrım setine ait çeşitler

Konukçu Grubu	Çeşit Adı	Dayanıklılık Genleri
1	Yolo Wonder	<i>Pvr0</i>
2	Yolo Y	<i>pvr2¹</i>
3	Florida VR2	<i>pvr2²</i>
4	Criollo de Morelos 334 (CM 334)	<i>Pvr4</i>

3.1.3 Biyolojik karakterizasyonda kullanılan indikatör bitki türleri

PVY'nin biyolojik karakterizasyonunda farklı türlere ait test bitkileri kullanılmıştır (Çizelge 3.2). Bu bitki türlerine ait tohumlar Ondokuzmayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (OMÜ-ZF-BKB), MAY Tohumculuk ve North Central Regional Plant Introduction Station, Iowa State University, USDA-ARS, ABD'den temin edilmiştir.

Çizelge 3.2. PVY'nin biyolojik karakterizasyonunda kullanılan bitki türleri

Botanik Adı	Türkçe Adı	Temin Edildiği Kuruluş
<i>Capsicum annuum</i> Yolo Wonder	Biber	USDA, ABD
<i>C. annuum</i> Yolo Y	Biber	USDA, ABD
<i>C. annuum</i> Florida VR-2	Biber	USDA, ABD
<i>C. annuum</i> CM-334	Biber	USDA, ABD
<i>C. chinense</i> PI 159236	Biber	USDA, ABD
<i>Nicotiana tabacum</i> Samsun NN	Tütün	OMÜ-ZF-BKB
<i>N. tabacum</i> White Burley	Tütün	OMÜ-ZF-BKB
<i>N. tabacum</i> Xanthi	Tütün	OMÜ-ZF-BKB
<i>N. benthamiana</i>	Tütün	OMÜ-ZF-BKB
<i>N. debneyi</i>	Tütün	OMÜ-ZF-BKB
<i>N. rustica</i>	Tütün	OMÜ-ZF-BKB
<i>Solanum tuberosum</i> CPS 1150	Patates	USDA, ABD
<i>S. tuberosum</i> GS 204 (PVY'ye dayanıklı)	Patates	USDA, ABD
<i>S. chacoense</i>	Yabani patates	USDA, ABD
<i>S. demissium</i>	Yabani patates	USDA, ABD
<i>Physalis peruviana</i>	Altın çilek, güney feneri	OMÜ-ZF-BKB
<i>S. lycopersicum</i> Falcon	Domates	OMÜ-ZF-BKB
<i>S. lycopersicum</i> Dora	Domates	MAY Tohum
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	Ak kazayağı	OMÜ-ZF-BKB

3.1.4 Dayanıklılık testlerinde kullanılan biber hat ve çeşitleri

Dayanıklılık çalışmalarında, Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (KTAE) ve Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu (ABKAİ) tarafından yürütülen Biber Islah Çalışmaları Projesi çerçevesinde geliştirilmiş olan ve ıslah kriterlerine göre öne çıkmış olan 30 hat (Çizelge 3.3) ile ticari olarak satılan 23 biber çeşidi (Çizelge 3.4) kullanılmıştır. Ayrıca dayanıklı kontrol olarak PVY'nin 3 patotipine de dayanıklı olan CM 334 hattı, hassas kontrol olarak ise olarak PVY'nin 3 patotipine de hassas olan Yolo Wonder çeşidi kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Dayanıklılık testlerinde kullanılan ıslah hatları

Hat Adı	Islah Kademesi	Bitki tipi	Temin Edildiği Kuruluş
S-14-1	S4	Kıl	KTAE
173	S4	Kıl	KTAE
137	S4	Kıl	KTAE
Çtk-2010	S4	Kıl	KTAE
Alt-1570	F5	Kıl	ABKAİ
Bs-11-2-1	F5	Sivri	KTAE
138	F5	Sivri	KTAE
Bs-5-2	F5	Sivri	KTAE
S-3-1	F6	Sivri	KTAE
14	S4	Sivri	KTAE
Ty-35	S4	Sivri	KTAE
Ty-311	S4	Sivri	KTAE
49-3	S5	Sivri	KTAE
Ty-283	S5	Sivri	KTAE
Bs 11-10-1	F5	Sivri	KTAE
881-A	F5	Sivri	ABKAİ
882	F5	Sivri	ABKAİ
907	F5	Sivri	ABKAİ
129	S5	Sivri	KTAE
Bk-2-4-1	F5	Kapya	KTAE
Bk-1-5	F5	Kapya	KTAE
Bk-1-9	F5	Kapya	KTAE
Bk 2-5-1	F5	Kapya	KTAE
Bk-2-4-2	F5	Kapya	KTAE
Bk-1-1	F5	Kapya	KTAE
Bk-1-4-2	F5	Kapya	KTAE
903	F5	Kapya	ABKAİ
875	F5	Kapya	ABKAİ
Alt-904 A	F5	Kapya	ABKAİ
Alt 831-A	S5	Kapya	ABKAİ

Çizelge 3.4. Dayanıklılık testlerinde kullanılan ticari biber çeşitleri

Çeşit Adı	Temin Edildiği Kuruluş
Gaston	Syngenta
Sahem	Syngenta
Drago	Syngenta
Menta	RİTO Tohumculuk
Flora	MAY Tohum
Yellow Block	MAY Tohum
Orion	MAY Tohum
Venüs	MAY Tohum
Kapya	MAY Tohum
Kandil Dolma	MAY Tohum
Dilber	Yüksel Tohum
Dut	Yüksel Tohum
İstek	Yüksel Tohum
Zafer	Yüksel Tohum
Mert	Yüksel Tohum
Arena	Yüksel Tohum
Safran	Yüksel Tohum
Seki	Yüksel Tohum
Elmas	Yüksel Tohum
Bafra	Yüksel Tohum
Üçburun	Yüksel Tohum
Cümbüş	Yüksel Tohum
Abide	Yüksel Tohum

3.1.5 Antiserumlar

Çalışmada; PVY, TMV, CMV, PMMoV, ToMV, TSWV ve AMV'ye spesifik poliklonal antiserumlar kullanılmıştır.

3.1.6 ELISA testinde kullanılan tampon çözeltiler

I. Fosfat Tamponu Salin (PBS) (pH=7,4)

8.0 gr NaCl, 0.2 gr. KH_2PO_4 , 0.2 gr. KCl, ve 2.9 gr. Na_2HPO_4 1 litre saf suda eritilerek, pH'ı 0.1 M HCl ile ayarlanmış ve 4°C' de saklanmıştır.

II. Kaplama Tampon Çözeltisi (pH=9,6)

1.59 gr. Na_2CO_3 , 2.93 gr. NaHCO_3 1 litre saf suda eritilip pH'ı ayarlanarak 4°C' de saklanmıştır.

III. Yıkama Tampon Çözeltisi (pH: 7.4)

1 lt PBS içerisine 0,5 ml Tween-20 ilave edilerek hazırlanmıştır.

IV. Ekstraksiyon Tampon Çözeltisi (pH: 7.4)

1 lt yıkama tampon çözeltisi içerisine 20 gr. (% 2) Polyvinylpyrrolidone 40.000 (PVP-40) ve 1gr. yağsız süt tozu ilave edilerek hazırlanmıştır.

V. Konjugat Tampon Çözeltisi (pH: 7.4)

Konjugat tampon çözeltisi olarak ekstraksiyon tampon çözeltisi kullanılmıştır.

VI. Substrat Tampon Çözeltisi (pH: 9.8)

9,7 ml Diethanolamin 80 ml saf su içine ilave edildikten sonra HCl ile pH 9.8'e ayarlanarak 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.1.7. Mekanik inokulasyon sırasında kullanılan tampon çözeltiler

PVY ile enfekteli yaprakların biber bitkilerine ve diğer test bitkilerine inokulasyonu sırasında kullanılmak üzere % 1 oranında 2-Mercaptoethanol ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{SH}$) içeren 0.01 M Fosfat Tampon Çözeltisi (pH= 7.0); $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.178 gr/100 ml) ve $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.156 gr/100 ml) kullanılarak hazırlanmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Arazi çalışmaları

2010 ve 2011 yılında Samsun ili Çarşamba, Bafra, Terme ve Tekkeköy ilçelerine bağlı köylerdeki biber üretim alanlarından her ilçenin ekiliş alanları oranında virüs benzeri belirti gösteren biber bitkilerinin genç yapraklarından örnekler toplanmıştır. Bu amaçla 2010 yılında 502, 2011 yılında ise 510 örnek alınmıştır (Çizelge 3.5 ve 3.6). Örnekler polietilen torbalara konularak etiketlenmiş ve serolojik olarak test edilinceye kadar -20°C 'de derin dondurucuda saklanmıştır.

Çizelge 3.5. Samsun ilinde 2010 yılında biber örnekleri toplanan ilçeler ve örnek sayıları

İlçe	Köy	Örnek Alınan Tarla/Sera Sayısı	Örnek Sayısı
Çarşamba	Bölmeçayır	2	8
	Damlataş	12	45
	Kuşhane	4	15
	Ovacık	3	14
	Ahubaba	2	12
	Yenikaracalı	6	16
	Bafracalı	2	10
	Kirazbucağı	2	7
	Durakbaşı	3	13
	Turgutlu	4	22
	Durusu	1	4
	Çınarlık	2	6
	Güneşli	2	9
	Y.Kavacık	1	6
	Paşayazı	1	6
	Vakıfköprü	3	18
	Karabahçe	5	14
	A.Güzpınar	1	1
	Y.Güzpınar	1	7
	Beylerce	2	10
	Yeniköseli	1	2
Toplam		60	245
Bafra	Ağıllar	5	17
	Türbe	6	29
	Karpuzlu	2	9
	Karınca	1	4
	Koşuköy	2	7
	Kuşçular	2	10
	Adaköy	2	9
	İkiztepe	1	5
	Harız	4	20
	Çetinkaya	5	26
	Yağmurca	3	13
	Dedeli	1	5
	Örencik	2	10
	Doğankaya	1	8
	Şeyhulaş	1	5
	Yörgüç	1	6
	Gazibeyli	4	19
Toplam		43	202

Çizelge 3.5 (devam). Samsun ilinde 2010 yılında biber örnekleri toplanan ilçeler ve örnek sayıları

İlçe	Köy	Örnek Alınan Tarla/Sera Sayısı	Örnek Sayısı
Tekkeköy	Gelemen	1	3
	Karabürük	1	7
	Köprübaşı	1	5
	Ovabaşı	1	4
Toplam		4	19
Terme	Elmaköy	1	5
	Sakarlı	1	6
	Karacalı	3	13
	Muratlı	1	4
	Bafracalı	1	4
	Emiryusuf	1	4
Toplam		8	36
Genel Toplam		115	502

Çizelge 3.6. Samsun ilinde 2011 yılında biber örnekleri toplanan ilçeler ve örnek sayıları

İlçe	Köy	Örnek Alınan Tarla/Sera Sayısı	Örnek Sayısı
Çarşamba	Bölmeçayır	6	23
	Ahubaba	3	11
	Çaltı	6	27
	Y.Dikencik	1	2
	Damlataş	12	31
	Y.Kavacık	4	15
	Allı	1	3
	Paşayazı	2	14
	Vakıfköprü	2	10
	Kirazbucağı	3	8
	Y.Karacalı	13	25
	Epceli	2	5
	Ovacık	1	2
	Karabahçe	4	6
	Kurtuluş	1	2
	Mahmutlu	4	13
	Çerçiler	1	5
	Bafracalı	6	13
	Kumarlı	1	4
	Kocakavak	1	3
	Zümrüt	1	2
	Kızılot	2	3
Toplam		77	227

Çizelge 3.6 (devam). Samsun ilinde 2011 yılında biber örnekleri toplanan ilçeler ve örnek sayıları

İlçe	Köy	Örnek Alınan Tarla/Sera Sayısı	Örnek Sayısı
Bafra	Bahçelievler	2	7
	Yağmurca	7	28
	Örencik	5	21
	Çetinkaya	5	20
	Kuşçular	4	18
	Karaburç	3	10
	Sahilkent	1	6
	Kalaycılı	1	4
	Türbe	8	28
	Ağıllar	6	31
	Karpuzlu	2	5
	Karıncak	1	5
	Harız	4	21
	Dedeli	2	6
	Yörgüç	2	5
	Hasanbeyli	1	2
	Küçükkavakpınarı	1	3
	Koşuköy	2	7
	Toplam	57	227
Tekkeköy	Karaoğlan	1	4
	Köprübaşı	1	3
	Kahyalı	1	1
	Gelemen	1	2
	Toplam	4	10
Terme	Sütözü	1	3
	Karaahmet	1	4
	Geçmiş	7	20
	Yeni	1	2
	Bafracalı	1	5
	Murathlı	1	8
	Dağdıralı	1	4
	Toplam	13	46
Genel Toplam		151	510

3.2.2 PVY ile enfekteli örneklerin belirlenmesi ve izolatların elde edilmesi

Samsun ilçelerinden toplanan ve virüs benzeri belirti gösteren biber örnekleri PVY'ye spesifik antiserumlar kullanılarak ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Yöntem, Clark ve Adams (1977)'ye ve antiserumların temin edildiği firmaların önerilerine göre uygulanmıştır. ELISA sonucu PVY ile enfekteli çıkan örneklerde karışık enfeksiyonları belirlemek amacıyla pozitif örnekler TMV, CMV, PMMoV, ToMV, TSWV, AMV'ye spesifik antiserumlar kullanılarak ELISA yöntemi ile tekrar test edilmiştir. Test sonucunda karışık enfeksiyon gösteren ve göstermeyen izolatlar belirlenmiş ve daha sonra her bir izolata numara verilerek izolatlar patotip belirleme çalışmalarına alınmıştır.

3.2.3 Patotip ayırım setine ait tohumların çoğaltılması

Patotip ayırım setine ait tohumların az sayıda temin edilmesi nedeni ile öncelikle tohumların çoğaltım işlemleri yapılmıştır. Bu amaçla biber çeşitlerine ait tohumlar torfla doldurulmuş viyollere ekilmiş ve fideler ilk gerçek yapraklarını oluşturduklarında 3:1:1 oranında torf, perlit, kum karışımı bulunan saksılara şaşırtılmıştır. Daha sonra bitkiler açık alanda yetiştirilmiştir. Çiçeklenme döneminde farklı bitkilerden toz alma ve vektör ile virüs bulaşma ihtimaline karşı bitkilerin üzeri meyve tutumu sona erinceye kadar tül örtü ile örtülmüştür. Daha sonra olgunlaşan meyveler kopartılarak tül torba içerisine tohumları çıkartılmıştır (Şekil 3.1) Tohumlar kuruyuncaya kadar oda sıcaklığında bekletilmiş, sonrasında ise 4 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Patotip ayırım setine ait biber genotiplerinin tohum çoğaltımları A) Üzeri tül ile örtülen bitkiler, B) Meyve bağlayan bitkilerin üzerindeki tül örtünün çıkartılması, C) Meyve tutumları (3 no), D) Tohumların çıkartılarak tül torbalara konulması

3.2.4 Patotip ayırım setindeki bitkilere virüs inokulasyonu ve patotiplerin belirlenmesi

ELISA testleri sonucunda PVY ile enfekteli bulunan örnekler çoğaltım konukçusu olan Yolo Wonder çeşidinde çoğaltılarak (Şekil 3.2) yeterli PVY inokulumunun elde edilmesine çalışılmıştır. Daha sonra patotip ayırım setine ait 4 farklı biber çeşidine (Çizelge 3.2) Samsun ilinden toplanan ve PVY ile enfekteli olan izolatlar ayrı ayrı inokule edilmişlerdir. Sonrasında ise patotip ayırım setindeki biber çeşitlerinin verdikleri reaksiyonlara göre (Çizelge 3.7) patotiplerinin belirlenmesine çalışılmıştır (Gebre Selassie ve diğ., 1985).



Şekil 3.2. A) İzolatların çoğaltıldığı seradan bir görünüm B) PVY izolatlarının saksılarda yetiştirilen Yolo Wonder çeşidinde çoğaltımı

Bu amaçla patotip ayırım setindeki biber çeşitlerine ait tohumlar torfla doldurulmuş viyollere veya küçük plastik kaplara ekilmiş ve fideler ilk gerçek yapraklarını oluşturduklarında 3:1 oranında torf-perlit karışımı bulunan saksılara şaşırtılmıştır. Fosfat tampon çözeltisinde (0.02 M, pH: 7.0) 1:10 (gr/ml) oranında sulandırıldıktan sonra homojenize edilerek hazırlanan PVY izolatlarına ait inokulumlar, şaşırtma işleminden 1-2 gün sonra fidelere mekanik inokulasyon yöntemine göre inokule edilmişlerdir (Şekil 3.3) (Echer ve Costa, 2002; Çelik ve diğ., 2012). Bu işlemden sonra yapraklar musluk suyu ile yıkanmıştır. İnokulasyon sonrası bitkiler ortalama 25 °C sıcaklık içeren sera koşullarında 21 gün süresince gözlenmiş ve belirtiler kaydedilmiştir. Ayrıca, bitkiler inokulasyondan 21 gün sonra DAS-ELISA yöntemi (Clark ve Adams, 1977) ile test edilmiştir. İnokulasyon sonrası sistemik belirti gösteren ve ELISA sonucu pozitif olan bitkiler hassas (S), sistemik belirti göstermeyen ve ELISA sonucu negatif olan bitkiler ise dayanıklı (R) olarak değerlendirilmiştir. Daha sonra Çizelge 3.7’den yararlanılarak izolatların patotipleri belirlenmeye çalışılmıştır (Gebre Selassie ve diğ., 1985).



Şekil 3.3. Biber bitkilerine mekanik inokulasyon yapılması

Çizelge 3.7. Patotip ayırım setindeki çeşitler ve PVY patotipleri ile inokule edildiklerinde beklenen reaksiyonlar (Gebre Selassie ve diğ., 1985)

Çeşit	PVY-0	PVY-1	PVY-1,2
Yolo Wonder	S	S	S
Yolo Y	R	S	S
Florida VR2	R	R	S
CM 334	R	R	R

R: Dayanıklı; S: Hassas

3.2.5 PVY patotiplerinin biyolojik karakterizasyonu

Samsun ilinde belirlenen PVY patotiplerinin değişik indikatör bitkilerdeki simptomatolojik farklılıklarını belirleyebilmek amacı ile PVY-0 ve PVY-1 patotipleri farklı indikatör bitkilere (Çizelge 3.2) mekanik inokulasyon yöntemi ile inokule edilmişlerdir.

Bu amaçla ilk olarak indikatör bitkilere ait tohumlar torfla doldurulmuş viyollere ekilmiş ve fideler ilk gerçek yapraklarını oluşturduklarında 3:1 oranında torf, perlit, karışımı bulunan saksılara şaşırtılmıştır. Şaşırtma işleminden 1-2 gün sonra fidelere PVY izolatlarına ait inokulumlar 1:10 oranında 0.02 M fosfat buffer (pH: 7,0) içerisinde homojenize edilmiş ve mekanik inokulasyon yöntemine göre test bitkilerinin yapraklarına inokule edilmişlerdir (Echer ve Costa, 2002; Çelik ve diğ., 2012). İnokulasyondan sonra yapraklar musluk suyu ile yıkanmış ve bitkiler ortalama 25 °C sıcaklık içeren sera koşullarında 3-4 hafta süresince yetiştirilmiştir. Bu sürede oluşan belirtiler kaydedilmiş ve bitkiler DAS-ELISA yöntemi (Clark ve Adams, 1977) ile test edilmiştir.

3.2.6 PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin CP geni bölgesinin çoğaltılması ve baz dizisi analizi

PVY patotiplerinin genomik RNA'sının bir bölümü (CP bölgesi) RT-PCR yöntemi ile çoğaltılmaya çalışılmıştır.

Primerler (CP1: Forward Primer: ATATCGGATCCGGAGAGACAC, CP2: ReversePrimer: CTAAGAAGCTTCACTGAAATG (Llave ve diğ., 1999) Iontek (İstanbul) firması tarafından sentezlenmiştir.

3.2.6.1 RNA izolasyonu

PVY patotipleri ile enfekteli biber bitkilerinden toplam RNA'lar Ambion PureLink RNA Mini Kit (Invitrogen) protokolüne göre izole edilmiştir. Buna göre PVY ile enfekteli biber bitkilerinden 0.1 gr yaprak örneği alınarak steril mikrosantrifüj tüpü içerisinde sıvı nitrojen yardımı ile toz haline gelinceye kadar homojenize edilmiştir. Daha sonra örneklerin üzerine 600 µl lysis buffer ve 6 µl 2-Mercaptoethanol ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{SH}$) ilave edilerek vorteks yardımı ile karıştırılmıştır. Takiben örnekler 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj edilerek supernatant kısmı yeni bir mikrosantrifüj tüpü içerisine aktarılmış ve üzerine 1 hacim % 70'lik etil alkol ilave edilerek vorteks yardımı ile karıştırılmıştır. Daha sonra mikrosantrifüj tüpündeki karışımın 700 µl'si alınarak kolonlu tüpe aktarılmış ve 14.000 rpm'de 15 sn santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası kolonun alt kısmında biriken sıvı uzaklaştırılmış ve mikrosantrifüj tüpünün içindeki sıvının diğer kalan yarısı tekrar bu beyaz kolona ilave edilerek 14.000 rpm'de 15 sn süre ile santrifüj edilmiştir. Daha sonra tüpün alt kısmında biriken sıvı uzaklaştırılarak üst kısmında biriken sıvı ile birlikte kolon tekrar aynı koleksiyon tüpüne yerleştirilmiş ve sonra 700 µl yıkama buffer 1 ilave edilerek 14.000 rpm'de 15 sn süre ile santrifüj edilmiştir. Bir sonraki aşamada tüpün alt kısmında biriken sıvı uzaklaştırılarak üst kısmında biriken sıvı ile birlikte kolon yeni bir koleksiyon tüpüne yerleştirilmiş ve sonra 500 µl yıkama buffer 2 ilave edilerek 14.000 rpm'de 15 sn süre ile santrifüj edilmiştir. Daha sonra tüpün alt kısmında biriken sıvı dökülmüş ve kolon aynı koleksiyon tüpüne yerleştirilerek tekrar 500 µl yıkama buffer 2 ilave edilerek 14.000 rpm'de 15 sn süre ile santrifüj edilmiştir. Takiben tüpün alt kısmında biriken sıvı uzaklaştırılarak kolon aynı koleksiyon tüpüne yerleştirilerek 14.000 rpm'de 15 sn süre ile santrifüj edilmiştir. Son aşamada üst kolon 1.5 ml'lik temiz bir santrifüj tüpüne aktararak 40 µl RNase içermeyen su ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 1 dk süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrası örnekler 14.000 rpm'de 2 dk süre ile santrifüj edilmiş ve RNA örnekleri PCR çalışması yapılınca kadar -80 °C'de saklanmıştır.

İzolatların RNA miktarlarının ölçülmesi için OMÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü laboratuvarında bulunan Thermo Scientific marka Nanodrop Spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Ölçümler her örnekten 1 µl kullanılarak yapılmıştır.

3.2.6.2 RT-PCR

PVY CP gen bölgesinin amplifikasyonu ve yeterli ürünün elde edilmesi amacıyla RT-PCR çalışmalarında optimizasyona gidilmiştir. Hem tek aşamalı (One Step) hem de iki aşamalı (two step) RT-PCR yöntemleri uygulanmıştır. Bu amaçla farklı reaksiyon koşulları ve farklı firmaların ürünleri kullanılmış olup, bunlar aşağıda verilmiştir.

İki aşamalı RT-PCR:

RT aşaması aşağıda açıklanan SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen) protokolü ve M-MLV Reverse Transcriptase (Invitrogen) enzimlerinin protokolleri takip edilerek gerçekleştirilmiştir

a) SuperScript III Reverse Transkriptaz (Invitrogen) protokolü

Bu protokolde ilk olarak steril santrifuj tüpüne 0.5 µl reverse primer (2 pmol), 1 µl RNA, 1 µl 10 mM dNTP, 10.5 µl RNase-free dH₂O ilave edilerek 65 °C’de 5 dk su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra karışım buz içerisinde 1 dk bekletilmiş ve sonrasında kısa süreli santrifuj edilmiştir. Takiben karışım üzerine 4 µl 5X First-Strand Buffer, 1 µl DTT, 1 µl RNase inhibitör enzimi (40 U/µl) ve 1 µl Superscript III RT Enzimi (200 U/µl) ilave edilerek iyice karışmaları sağlanmıştır. Daha sonra karışım 55 °C’de 60 dk su banyosunda inkübe edilmiş ve kısa süreli santrifuj edildikten sonra enzimin inaktivasyonu için 70 C°’de 15 dk inkübasyona bırakılmıştır.

b) M-MLV Reverse Transkriptaz (Invitrogen) protokolü

İlk olarak steril santrifuj tüpüne 0.5 µl reverse primer (2 pmol), 2 µl RNA, 1 µl 10 mM dNTP, 8.5 µl RNase-free su ilave edilerek karışmaları sağlanmış ve sonrasında 65°C’de 5 dk su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra karışım buz içerisinde 1 dk bekletilmiş ve sonra kısa süreli santrifuj edilmiştir. Takiben karışım üzerine 4 µl 5X First-Strand Buffer, 2 µl DTT, 1 µl RNase inhibitör enzimi (40 U/µl) ilave edilerek karışmaları sağlanmış ve sonrasında 37°C’de 2 dk su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra karışım üzerine 1 µl M-MLV RT Enzimi (200 U/µl) ilave edilerek iyice karışmaları sağlanmıştır. Takiben karışım 37 °C’de 50 dk su banyosunda inkübe edilmiş ve enzimin inaktivasyonu için 70 C°’de 15 dk inkübasyona bırakılmıştır.

PCR aşaması, Sigma, Qiagen ve New England Biolabs (NEB) firmalarının protokollerine bağlı kalınmak suretiyle bazı bölümleri modifiye edilerek

uygulanmıştır. Qiagen firmasının prosedürü ile gerçekleştirilen PCR çalışmasında normal Taq DNA Polimeraz enzimine oranla daha yüksek oranda PCR ürünü elde edilmesini sağlayabilen HotStar HiFidelity DNA Polimeraz enzimi denenmiştir.

c) Taq DNA Polimeraz protokolü (SIGMA–ALDRICH):

Bu yöntemde, 2 farklı primer konsantrasyonu (0.5 μ M ve 2 μ M) denenmiştir. PCR reaksiyonu 5 μ l 15 mM MgCl₂ içeren 10xPCR buffer, 0.5 μ l 10 mM dNTPs, her bir primerden (100 μ M) 0,125 μ l (0.5 mM) veya 0,5 μ l (2 μ M), 0,25 μ l Taq DNA polimeraz (Go Taq® DNA polimeraz enzimi 5 U/ μ l) ve 1 μ l cDNA (50 ng toplam cDNA)’dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 25 μ l’ye tamamlanmıştır.

Amplifikasyonlar Bio-Rad MJ Mini PCR Thermocycler’de, 94 °C’de 5 dk, 35 döngü olacak şekilde 94 °C’de 30 sn, 58 °C’de 1 dk ve 72 °C’de 1 dk ve 1 döngü 72 °C’de 5 dk ile tamamlanmıştır (Llave ve diğ., 1999).

d) HotStar Taq DNA Polimeraz protokolü (Qiagen):

Reaksiyonlar toplam hacim 25 μ l olacak şekilde hazırlanmıştır. Birinci reaksiyon bu enzimin kiti içerisinde yer alan Q solüsyonunu içerecek şekilde, ikinci reaksiyon ise Q Solüsyonunu içermeyecek şekilde oluşturulmuştur.

Reaksiyon 1 (Q solüsyonlu)

5X Hotstar PCR Buffer	: 5 μ l
5X Q-Solüsyonu	: 5 μ l
Forward primer (100 μ M)	: 0.25 μ l
Reverse primer (100 μ M)	: 0.25 μ l
HotStar HiFidelity DNA Polimeraz (2.5 U/ μ l)	: 0.5 μ l
RNase free su	: 13 μ l
cDNA	: 1 μ l

Reaksiyon 2 (Q solüsyonsuz)

5X Hotstar PCR Buffer	: 5 μ l
Forward primer (100 μ M)	: 0.25 μ l
Reverse primer (100 μ M)	: 0.25 μ l
HotStar HiFidelity DNA Polimeraz (2.5 U/ μ l)	: 0.5 μ l
RNase free su	: 18 μ l
cDNA	: 1 μ l

HotStar HiFidelity DNA Polimeraz enzimi kullanılan reaksiyon için amplifikasyonlar Bio-Rad MJ Mini PCR Thermocycler’de, 95 °C’de 5 dk (ilk

denatürasyon), 35 döngü olacak şekilde 94 °C’de 30 sn (denaturasyon), 58 °C’de 1 dk (primer bağlanma) ve 72 °C’de 1 dk (uzama) ve 1 döngü 72 °C’de 10 dk ile tamamlanmıştır.

e) Phusion® High-fidelity DNA Polimeraz protokolü (NEB):

PCR reaksiyonu 10 µl 5 X Phusion HC Buffer (50 mM MgCl₂ içeren), 1 µl 10 mM dNTPs, her bir primerden (100 µM) 0,25 µl (son konsantrasyon: 0.5 µM), 0,5 µl Phusion® High-Fidelity DNA polimeraz (2000 U/ml) ve 3 µl cDNA’dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 50 µl’ye tamamlanmıştır.

Amplifikasyonlar Bio-Rad MJ Mini PCR Thermocycler’de, 98 °C’de 30 sn, 35 döngü olacak şekilde 98 °C’de 7 sn, 58 °C’de 30 sn, 72 °C’de 30 sn ve 1 döngü 72 °C’de 7 dk ile tamamlanmıştır.

Tek aşamalı RT-PCR:

Tek aşamalı RT-PCR yöntemi, Qiagen tek aşamalı RT-PCR kiti ve Promega tek aşamalı RT-PCR kiti protokolleri takip edilerek uygulanmıştır.

f) Qiagen tek aşamalı RT-PCR kiti protokolü:

Reaksiyon 5 µl 12.5 mM MgCl₂ içeren 5X Qiagen One step RT-PCR Buffer, 1 µl 10 mM dNTPs, her bir primerden 0,15 µl, (son konsantrasyon: 0.6 µM), 1µl Qiagen RT-PCR Enzim Mix (Omniscript Reverse Transkriptaz, Sensiscript Reverse Transkriptaz ve HotStar Taq DNA Polimeraz) ve değişen miktarlarda (1 pg-2 µg/reaksiyon) RNA’dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 25 µl’ye tamamlanmıştır.

Amplifikasyonlar Bio-Rad MJ Mini PCR Thermocycler’de, 50 °C’de 30 dk, 95 °C’de 15 dk, 35 döngü olacak şekilde 94 °C’de 30 sn, 58 °C’de 1 dk ve 72 °C’de 1 dk ve 1 döngü 72 °C’de 5 dk ile tamamlanmıştır.

g) Promega tek aşamalı RT-PCR kiti protokolü:

Reaksiyon 10 µl AMV/*Tfl* 5X Reaksiyon Buffer, 1 µl 10 mM dNTPs, her bir primerden 0.5 µl (son konsantrasyon: 1 µM), 2 µl 25 mM MgSO₄, 1µl AMV Reverse Transkriptaz Enzim, 1µl *Tfl* Polimeraz ve optimizasyon için 2 µl, 4 µl veya 8 µl RNA’dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 50 µl’ye tamamlanmıştır.

Amplifikasyonlar Bio-Rad MJ Mini PCR Thermocycler’de, 45 °C’de 45 dk, 94 °C’de 5 dk, 35 döngü olacak şekilde 94 °C’de 30 sn, 58 °C’de 1 dk ve 68 °C’de 2 dk ve 1 döngü 68 °C’de 7 dk ile tamamlanmıştır.

3.2.6.3 Agaroz jel elektroforez yöntemi

PCR sonrası oluşan DNA fragmentlerinin analizi için 8 µl PCR ürününe 2 µl yükleme tamponu [% 15 ficoll 400, % 0,03 bromophenol blue, % 0,03 xylene cyanol FF, % 0,4 orange G, 10 mM Tris-HCl (pH: 7,5) ve 50 mM EDTA] ilave edilmiştir. Daha sonra örnekler TBE tampon çözeltisinde (89 mM Tris, 89 mM borik asit ve 2 mM EDTA) hazırlanan % 1'lik agaroz jelde (0,5 µg/ml etidium bromür içeren) 80 mA sürekli akımda 2 saat süre ile elektroforeze tabi tutulmuştur. Jeldeki PCR fragmentlerinin analizi GelDoc 2000 (Biorad, ABD) jel görüntüleme sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve jelde oluşan bantların fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.6.4 Jelden PCR ürünlerinin ekstraksiyonu

Jelden PCR ürünleri Fermentas GeneJet Gel Extraction Kit protokolü takip edilerek izole edilmiştir. İlk olarak jel üzerindeki bantlar UV jel görüntüleme cihazı üzerinde steril bistüri ile çıkarılarak mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Daha sonra izole edilen jeller hassas terazide tartılarak jel ağırlığı kadar (1:1) DNA bağlama tamponu (binding buffer) eklenmiştir. Sonrasında tüpler 60°C'ye ayarlı su banyosunda 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresince tüpler iki dakikada bir ters düz yapılarak karıştırılmıştır. Sonrasında solüsyon pürifikasyon tüpüne aktararak (800 µl'yi geçmeyecek şekilde) 1 dk süre ile 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Altta kalan pellet kısmı dökülerek artan solüsyon tekrar pürifikasyon tüpüne aktarılmış ve 1 dk süre ile 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Tüpün alt bölümünde biriken sıvı uzaklaştırılmış ve üst kolon tekrar aynı tüpe yerleştirilmiştir. Daha sonra 700 µl yıkama tamponu ilave edilerek 1 dk süre ile 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Altta biriken kısım dökülerek üst bölüm tekrar aynı koleksiyon tüpüne konulmuştur. Pürifikasyon tüpü daha sonra 1 dk süre ile 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Sonra pürifikasyon kolonu 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 30 µl kolon yıkama tamponu (elution buffer) ilave edilerek 1 dk süre ile 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra üst pürifikasyon kolonu atılmış ve örnekler sekans analizi yapılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

3.2.6.5 Baz dizisi analizi

Jelden ekstraksiyon yapılan ürünlerin sekans analizi Iontek (İstanbul) firması, PCR ürünlerinin sekans analizi ise Genoks (Ankara) firması tarafından yapılmıştır. Sekans

analizi sonrasında CLC Main Workbench (Demo Version 7.03) programı kullanılarak PVY izolatlarına ait her iki yönde (forward ve reverse) elde edilen ham sekans verileri hizalanmış ve konsensus diziler elde edilmiştir. Daha sonra PVY izolatlarına ait konsensus diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information)'den indirilen diğer PVY izolatlarına ait sekans verileri ile BLAST yapılarak analiz edilmiştir.

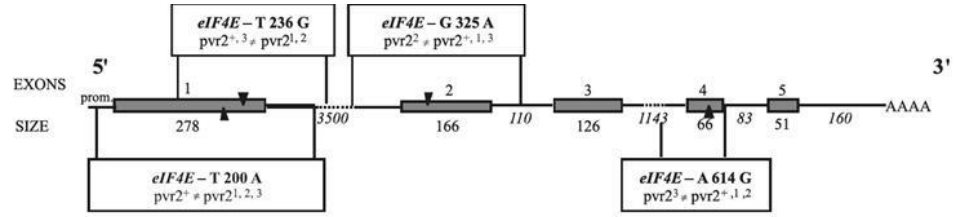
3.2.7 Biber çeşitleri ve ıslah hatlarının dayanıklılık durumlarının araştırılması

Biber çeşitleri ve ıslah hatlarının PVY'ye karşı dayanıklılık durumlarının belirlenmesinde bu çalışmada tespit edilmiş olan PVY-0 ve PVY-1 patotipleri kullanılmıştır. PVY- 0 patotipi olarak hassas konukçuda en şiddetli belirti gösteren SB-12 nolu izolat, PVY-1 patotipi olarak ise SÇ-87 nolu izolat seçilmiştir. Her bir patotip ayrı ayrı olmak üzere çalışmada kullanılan çeşit ve hatlara 4 tekerrürlü olacak şekilde Yöntem 3.2.4'te belirtildiği şekilde inokule edilmişlerdir. Ayrıca hassas kontrol olarak Yolo Wonder, dayanıklı kontrol olarak ise CM 334 çeşidi kullanılmıştır.

Denemede kullanılan biber çeşit ve hatlarına virüs inokulasyonu yapıldıktan sonra bitkilerin gösterdiği belirtiler 21 gün boyunca gözlemlenmiş ve oluşan belirtiler kayıtları yapılmıştır. Bitkiler ayrıca inokulasyondan 21 gün sonra DAS-ELISA yöntemi (Clark ve Adams, 1977) ile test edilmiştir. İnokulasyon sonrası sistemik belirti gösteren ve ELISA sonucu pozitif olan bitkiler hassas (S), sistemik belirti göstermeyen ve ELISA sonucu negatif olan bitkiler ise dayanıklı (R) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.8 Resesif *pvr2* allel genlerinin moleküler olarak araştırılması

Çalışmada kullanılan biber hat ve çeşitlerinde resesif *pvr2* allel genlerinin (*pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*² ve *pvr2*³) varlığı bu genlerle bağlı SNP markörleri kullanılarak tetra primer ARMS-PCR yöntemi ile belirlenmeye çalışılmıştır (Rubio ve diğ., 2008). Biberde *pvr2-eIF4E* geni ile ilişkili primerlerin pozisyonları Şekil 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Biber *pvr2-eIF4E* geni üzerinde tetra-primer ARMS-PCR markörlerinin amplikonları ve SNP'lerin lokasyonları. Geniş gri barlar eksonları (1-5), yatay çizgi, 5' ve 3' UTR (translasyon dışı bölge) ve intron bölgelerini göstermektedir. T200A: T'den A'ya pozisyon 200'de mutasyona uğramış nükleotid, T236G: T'den G'ya pozisyon 236'da mutasyona uğramış nükleotid, G325A: G'den A'ya pozisyon 325'de mutasyona uğramış nükleotid, A614G: A'den G'ye pozisyon 614'te mutasyona uğramış nükleotid (Ruffel ve diğ., 2004)

3.2.8.1 DNA izolasyonu

Denemede kullanılan biber bitkilerinden DNA'lar DNeasy DNA ekstraksiyon kiti (Qiagen) protokolüne göre izole edilmiştir. Buna göre denemede kullanılan biber bitkilerinden 100 mg yaprak örneği alınmış ve steril mikrosantrifüj tüpü içerisinde sıvı nitrojen yardımı ile toz haline gelinceye kadar ezilmiştir. Daha sonra bu örneklerin üzerine 400 µl AP1 Buffer ve 4 µl RNase A stok solüsyonu ilave edilerek vorteks yardımı ile karıştırılmış ve 65 °C'ye ayarlı su banyosunda 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresince tüpler 3 defa ters düz edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra 130 µl AP2 buffer her bir örneğin bulunduğu mikrosantrifüj tüpüne ilave edilmiş ve 5 dk süre ile buz içerisinde inkübe edilmiştir. Sonra örnekler 14000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek süpernatant kısım leylak rengi kolona aktarılmış ve 14000 rpm'de 2 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası kolonun altında toplanan sıvı kısımdan 450 µl alınarak temiz bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve 675 µl AP3/E buffer ilave edilerek iyice karışması sağlanmıştır. Daha sonra mikrosantrifüj tüpündeki karışımın yarısı alınarak beyaz renkli kolona aktarılmış ve 8.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası kolonun alt kısmında biriken sıvı uzaklaştırılmış ve mikrosantrifüj tüpünün içindeki sıvının diğer kalan yarısı tekrar bu beyaz kolona ilave edilerek yeniden 8000 rpm'de 1 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası kolonun üst kısmında biriken sıvı alınarak yeni bir koleksiyon tüpüne aktarılmış ve üzerine 500 µl AW buffer ilave edilerek 8000 rpm'de 1 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Daha sonra tüpün alt kısmında biriken sıvı uzaklaştırılarak üst kısmında biriken sıvı ile birlikte kolon tekrar koleksiyon tüpüne yerleştirilmiş ve sonra 500 µl AW buffer ilave edilerek 14.000 rpm'de 2 dk süre ile

santrifüj edilmiştir. Daha sonra üst kolon 1,5 ml'lik temiz bir santrifüj tüpüne aktarılarak 50 µl AE buffer ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 5 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası örnekler 8000 rpm'de 1 dk süre ile santrifüj edilmiş ve DNA örnekleri PCR çalışması yapılmaya kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.2.8.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Çalışmada Rubio ve diğ. (2008) tarafından geliştirilen ve *pvr2⁺*, *pvr2¹*, *pvr2²* ve *pvr2³* allellerine spesifik olan SNP markörleri kullanılmıştır. Metabion firması tarafından sentezlenen 4 set primer kullanılarak (Çizelge 3.8) 4 ayrı PCR reaksiyonu oluşturulmuştur.

Çizelge 3.8. Resesif *pvr2* allel genlerine spesifik primerler ve dizileri (Rubio ve diğ., 2008)

SNP pozisyonu		Hedef alleller	Primer dizileri (5'-3')
A614G	FI	<i>pvr2³</i> # <i>pvr2^{+,1,2}</i>	AATGGAAGCAGTTTCTGGATTACAGAGG
	RI		ATACGTGAAATATGAAGCCAACACGGT
	FO		CGTTGTAACCTATTCTTACCGCCATGCTT
	RO		TGTAACGATTCTTTGCATTTCTGTCGA
G325A	FI	<i>pvr2²</i> # <i>pvr2^{+,1,3}</i>	CACCCAAGCAAGTTAGTTGTGGGAGAAA
	RI		AATTTTATGCTTGAAACAATGTAATTC
	FO		GTACTTATGTGAATTTGGTGTCTGCCTT
	RO		TACTAGAGTGACCAATCACTACGAGCTG
T236G	FI	<i>pvr2⁺</i> , <i>3</i> # <i>pvr2^{1,2}</i>	GAAACAAGCTGCTTGGGGTAGCTCACT
	RI		CAACAGTGGAGAAAGTGTAGACGTTGCAAC
	FO		TGAGCAAAGAAATAGCAACAAAGCATCCA
	RO		AACTTCCACCTTGTTTCGTGATTGTTCTG
T200A	FI	<i>pvr2⁺</i> # <i>pvr2^{1,2,3}</i>	TCATGGACTTTCTGGTTTGATAATCCCGT
	RI		CCAAGCAGCTTGTTTCGATTTTCGTCT
	FO		TCCCGAAAGTAAAAAAGCACACAGCAC
	RO		TCGTGATTGTTCGATTCCCCTAATACCC

FI: Forward Inner, RI: Reverse Inner, FO: Forward Outer; RO: Reverse Outer

SNP A614G PCR reaksiyonu için; 2.5 µl 10xPCR buffer (15 mM MgCl₂ içeren), 0.5 µl 10 mM dNTPs, 0.5 µl (2 pmol) forward inner primer, 0.375 µl (1.5 pmol) forward outer primer, 0.5 µl (2 pmol) reverse inner primer, 0.375 µl (1.5 pmol) reverse outer primer, 0.25 µl Taq DNA polimeraz (Sigma) ve 1 µl DNA (50

ng toplam DNA)'dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır.

SNP G325A için PCR reaksiyonu; 2.5 µl 10xPCR buffer (15 mM MgCl₂ içeren), 0.5 µl 10 mM dNTPs, 0,5 µl (2 pmol) forward inner primer, 0,5 µl (2 pmol) forward outer primer, 1 µl (4 pmol) reverse inner primer, 0,5 µl (2 pmol) reverse outer primer, 0,25 µl Taq DNA polimeraz (Sigma) ve 1 µl DNA (50 ng toplam DNA)'dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır.

SNP T236G için PCR reaksiyonu; 2.5 µl 10xPCR buffer (15 mM MgCl₂ içeren), 0.5 µl 10 mM dNTPs, 0,5 µl (2 pmol) forward inner primer, 0,5 µl (2 pmol) forward outer primer, 1 µl (4 pmol) reverse inner primer, 0,5 µl (2 pmol) reverse outer primer, 0,25 µl Taq DNA polimeraz (Sigma) ve 1 µl DNA (50 ng toplam DNA)'dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır.

SNP T200A için PCR reaksiyonu; 2.5 µl 10xPCR buffer (15 mM MgCl₂ içeren), 0.5 µl 10 mM dNTPs, 0,75 µl (3 pmol) forward inner primer, 0,25 µl (1 pmol) forward outer primer, 0,5 µl (2 pmol) reverse inner primer, 0,25 µl (1 pmol) reverse outer primer, Taq DNA polimeraz (Sigma) ve 1 µl DNA (50 ng toplam DNA)'dan oluşmuştur. Toplam reaksiyon hacmi RNase ve DNase içermeyen su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır.

Amplifikasyonlar Bio-Rad MJ Mini PCR Thermocycler'de, 94 °C'de 3 dk (ilk denatürasyon), 35 döngü olacak şekilde 94 °C'de 30 s.(Denatürasyon; DNA sarmallarının birbirinden ayrılması), A614G için: 56 °C'de, G325A için: 48 °C'de, T236G için: 59 °C'de, T200A için 54 °C'de olmak üzere 30 s (Annealing; primerlerin sarmallara yapışması) ve 72 °C'de 1 dk (sarmalın polimeraz enzimi ve dNTP yardımı ile tamamlanması) ve 1 döngü 72 °C'de 10 dk (son denatürasyon) ile tamamlanmıştır (Rubio ve diğ., 2008).

3.2.8.3 Agaroz jel elektroforez yöntemi

PCR sonrası oluşan DNA fragmentlerinin analizi için 8 µl PCR ürününe 2 µl yükleme tamponu (% 15 ficoll 400, % 0,03 bromophenol blue, % 0,03 xylene cyanol FF, % 0,4 orange G, 10mM Tris-HCl (pH: 7,5) ve 50 mM EDTA) ilave edilmiştir. Daha sonra örnekler TBE tampon çözeltisinde (89 mM Tris, 89 mM borik asit ve 2

mM EDTA) hazırlanan % 2.5'lik agaroz jelde (0,5 µg/ml etidium bromür içeren) 80 mA sürekli akımda 1 saat süre ile elektroforeze tabi tutulmuştur. Jeldeki PCR fragmentlerinin analizi GelDoc 2000 (Biorad, ABD) jel görüntüleme sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve jelde oluşan bantların fotoğrafları çekilmiştir.

SNP A614G için genel allelin 249 bp büyüklüğünde, *pvr2*³ allelinin 177 bp büyüklüğünde, *pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*² allellerinin 127 bp büyüklüğünde bant oluşturması beklenmiştir.

SNP G235A için genel allelin 431 bp büyüklüğünde, *pvr2*⁺, *pvr2*¹ ve *pvr2*³ allellerinin 288 bp büyüklüğünde, *pvr2*² allelinin 198 bp büyüklüğünde bant oluşturması beklenmiştir.

SNP T236G için genel allelin 251 bp büyüklüğünde bant oluşturması beklenmiştir. 176 bp büyüklüğüne bant oluşması bitkide *pvr2*¹ ve *pvr2*² allellerinin olmadığını, 132 bp büyüklüğünde bant oluşması ise bitkide *pvr2*⁺, *pvr2*³ allellerinin olmadığını göstermiştir.

SNP T200A için genel allelin 402 bp büyüklüğünde, *pvr2*¹, *pvr2*², *pvr2*³ allellerinin 258 bp büyüklüğünde, *pvr2*⁺ allelinin 199 bp büyüklüğünde bant oluşturması beklenmiştir (Rubio ve diğ., 2008).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Samsun İlinde Biber Üretim Alanlarında PVY'nin Bulunma Durumu

Çalışmada, Samsun ilinin biber üretiminin % 97'sinin gerçekleştirildiği Çarşamba, Bafra, Terme ve Tekkeköy ilçelerindeki biber üretim alanlarından 2010 yılında 502, 2011 yılında ise 510 olmak üzere toplam 1012 örnek toplanmış ve daha sonra PVY'ye spesifik poliklonal antiserumlar kullanılarak ELISA ile test edilmiştir.

ELISA testleri sonucunda 2010 yılında toplanan 502 örneğin 60 tanesinin (% 11.9) PVY ile enekteli olduğu belirlenmiştir. Çarşamba ilçesinde 245 örneğin 18 (% 7.3)'i, Bafra ilçesinde 202 örneğin 39 tanesi (% 19.3), Terme ilçesinde 36 örneğin 3 tanesi (% 8.3) PVY ile enfekteli olarak belirlenmiştir. Tekkeköy ilçesinde ise test edilen 19 örneğin tamamında PVY tespit edilmemiştir (Çizelge 4.1). 2011 yılında toplanan 510 örneğin 30 (% 5.8)'unun PVY ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Çarşamba ilçesinde 227 örneğin 18 (% 7.9)'i, Bafra ilçesinde 227 örneğin 6 (% 2.6)'sı, Terme ilçesinde ise 46 örneğin 1 tanesinde (% 2.1), Tekkeköy ilçesinde ise test edilen 10 örneğin 5 tanesinde (% 50) PVY tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. 2010 yılında toplanan biber yaprak örneklerine ait ELISA sonuçları

İlçe	Köy	Örnek Sayısı	PVY Negatif	PVY Pozitif
Çarşamba	Bölmeçayır	8	8	0
	Damlataş	45	43	2
	Kuşhane	15	15	0
	Durusu	4	4	0
	Çınarlık	6	6	0
	Güneşli	9	8	1
	Y.Kavacık	6	5	1
	Paşayazı	6	6	2
	Vakıfköprü	18	8	8
	Ovacık	14	14	0
	Ahubaba	12	11	1
	Yenikaracalı	16	14	2
	Bafracalı	10	10	0
	Kirazbucağı	7	7	0
	Durakbaşı	13	13	0
	Turgutlu	22	22	0
	A.Güzpınar	1	1	0
	Y.güzpınar	7	7	0
	Karabahçe	14	14	0
	Beylerce	10	9	1
	Yeniköseli	2	2	0
	Toplam	245	227	18
Bafra	Ağıllar	17	14	3
	Türbe	29	24	5
	Karpuzlu	9	6	3
	Karınca	4	3	1
	Karınca	7	7	0
	Kuşçular	10	9	1
	Adaköy	9	7	2
	İkiztepe	5	5	0
	Harız	20	17	3
	Çetinkaya	26	20	6
	Yağmurca	13	13	0
	Dedeli	5	4	1
	Örencik	10	8	2
	Doğankaya	8	7	1
	Şeyhulaş	5	2	3
	Yörgüç	6	4	2
	Gazibeyli	19	13	6
	Toplam	202	163	39
Terme	Elmaköy	5	4	1
	Sakarlı	6	6	0
	Karacalı	13	13	0
	Muratlı	4	4	0
	Bafracalı	4	2	2
	Emiryusuf	4	4	0
	Toplam	36	33	3
Tekkeköy	Gelemen	3	3	0
	Karabürük	7	7	0
	Köprübaşı	5	5	0
	Ovabaşı	4	4	0
	Toplam	19	19	0
GENEL TOPLAM		502	442	60

Çizelge 4.2. 2011 yılında toplanan biber yaprak örneklerine ait ELISA sonuçları

İlçe	Köy	Örnek Sayısı	PVY Negatif	PVY Pozitif
Bafra	Bahçelievler	7	7	0
	Yağmurca	28	24	4
	Örencik	21	21	0
	Çetinkaya	20	20	0
	Kuşçular	18	18	0
	Karaburç	10	10	0
	Sahilkent	6	6	0
	Kalaycılı	4	4	0
	Türbe	28	27	1
	Ağıllar	31	30	1
	Karpuzlu	5	5	0
	Karınca	5	5	0
	Harız	21	21	0
	Dedeli	6	6	0
	Yörgüç	5	5	0
	Hasanbeyli	2	2	0
	Küçükakavakpınarı	3	3	0
	Koşuköy	7	7	0
	Bölmeçayır	23	23	0
	Ahubaba	11	11	0
	Çaltı	27	26	1
	Y. Dikencik	2	2	0
	Damlataş	31	31	0
	Y. Kavacık	15	15	0
	Allı	3	3	0
	Paşayazı	14	14	0
	Vakıfköprü	10	9	1
	Kirazbucağı	8	7	1
	Toplam	371	362	9
Çarşamba	Yenikaracalı	25	21	4
	Epçeli	5	5	0
	Ovacık	2	2	0
	Karabahçe	6	5	1
	Kurtuluş	2	2	0
	Mahmutlu	13	10	3
	Çerçiler	5	5	0
	Bafracalı	13	10	3
	Kumarlı	4	1	3
	Kocakavak	3	2	1
	Zümrüt	2	2	0
	Kızılot	3	3	0
	Sütözü	3	3	0
	Karaahmet	4	4	0
	Geçmiş	20	20	0
	Toplam	110	95	15
Terme	Yeni	2	2	0
	Bafracalı	5	5	0
	Muratlı	8	8	0
	Dağdıralı	4	3	1
	Karaoğlan	4	2	2
	Toplam	23	20	3
Tekkeköy	Köprübaşı	3	2	1
	Kahyalı	1	0	1
	Gelemen	2	1	1
Genel Toplam		510	480	30

Çalışma sonucunda 2010 ve 2011 yıllarında toplanan 1012 örneğin % 8.9'u (90 tanesi) PVY ile enfekteli olarak belirlenmiştir. PVY en yaygın olarak Tekkeköy ilçesinde % 17.2 oranında belirlenmiş olup, Bafra ilçesinde % 10.5, Çarşamba ilçesinde % 7.6 ve Terme ilçesinde ise % 4.8 oranında belirlenmiştir. Arlı Sökmen ve diğ. (2005a), 1998 ve 1999 yıllarında Samsun ilinde biber üretim alanlarında en yaygın virüs olarak PVY (% 24.6)'yi belirlemişlerdir. Buzkan ve diğ. (2006), Hatay, Kahramanmaraş Şanlıurfa ve Gaziantep illerinde biber üretim alanlarında PVY'nin % 26.4 bulunma oranı ile en yaygın olduğunu belirlemişlerdir. Çelik ve diğ. (2012) ise, 2007 ve 2008 yıllarında Antalya ilinde biber üretim alanlarından topladıkları 274 örnekte PVY'nin bulunma oranını düşük olarak (% 7.6) belirlemişlerdir. Biber üretim alanlarındaki arazi çalışmaları süresince yapılan gözlemlerde yaprak bitlerine düşük oranda rastlanılmıştır. Buna karşın yoğun bir şekilde sarı çay akarı (*Polyphagotarsonemus latu*) zararı gözlenmiştir. Sarı çay akarının biberdeki zararı yapraklarda renk açılması, damarlarda çekilme ve şekil bozukluğu şeklinde olup (Şekil 4.1) virüsler tarafından oluşturulan zarara benzerlik göstermektedir. Bu nedenle, arazi çalışmalarında virüs benzeri simptom gösteren bitkilerin belirlenmesinde güçlükle karşılaşılmıştır. Geçmiş yıllara oranla, PVY'nin Samsun'da biber üretim alanlarında daha düşük oranda belirlenmesinin nedeni, üreticilerin sistemik etkili yaprak biti ilaçlarını yoğun bir şekilde kullanmasına bağlı olarak vektör yaprak biti türlerinin popülasyonunun azalması olabilir. Ayrıca, örnekleme yapılırken sarı çay akarı zararı nedeni ile virüsle enfekteli bitkilerin ayırt edilmesinde zorluk çekilmesi ve virüs simptomu sergileyen bitkilerden yeterince örnek alınamaması bunun nedeni olabilir.



Şekil 4.1. Biber alanlarında rastlanan sarı çay akarı (*Polyphagotarsonemus latu*) zararı

Bu çalışmada daha sonra PVY enfekteli olarak bulunan 90 örnek, diğer virüslerle karışık enfeksiyonların belirlenmesi amacıyla CMV, AMV, TMV, ToMV, PMMoV ve TSWV'ye spesifik antiserumlar kullanılarak ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Örneklerin 13'ünün CMV, 9'unun TSWV, 1'inin PMMoV, 1 tanesinin ise hem CMV hem de TSWV ile karışık enfekteli olduğu saptanmıştır. Test edilen örneklerde AMV, TMV ve ToMV ile enfekteli örneğe rastlanmamıştır. Samsun ilinde biber üretim alanlarındaki virüslerin belirlenmesi ile ilgili 1998 ve 1999 yıllarında yapılan çalışmada Arlı Sökmen ve diğ. (2005a), Samsun ilinde biber üretim alanlarında AMV, CMV, PVY, ToMV, TMV ve TSWV'nin bulunduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca karışık enfeksiyon olarak TMV+PVY (% 15.4) enfeksiyonunu en yaygın olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise PVY ile enfekteli 90 örnekte benzer bir şekilde CMV (% 14.4) ve TSWV (% 10) tespit edilirken TMV, ToMV ve AMV tespit edilmemiştir. PVY ile karışık enfeksiyonu oluşturduğu belirlenen diğer bir virüs PMMoV ise Samsun ilinde ilk defa tespit edilmiştir.

PVY ile enfekteli 90 örnek daha sonra virüsün çoğaltım konukçusu olan Yolo Wonder çeşidine mekanik inokulasyon yöntemi ile inokule edilmişlerdir. İnokulasyonlar sonucunda, pozitif 90 örneğin yalnızca 20'sinin PVY'nin Yolo Wonder biber çeşidinde çoğaltımında başarılı olunabilmektedir. Bu nedenle patotip belirleme çalışmalarına yeterli inokulum elde edilebilen 20 izolat ile devam edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Patotip ayırım çalışmalarında kullanılan PVY izolatları

İzolat No	İlçe	Köy	No	Diğer Virüsler
SÇ-4	Çarşamba	Paşayazı	4	CMV
SÇ-6	Çarşamba	Vakıfköprü	3	CMV
SÇ-8	Çarşamba	Vakıfköprü	7	CMV
SÇ-9	Çarşamba	Vakıfköprü	14	CMV
SÇ-10	Çarşamba	Vakıfköprü	15	CMV
SB-12	Bafra	Ağıllar	2	
SB-20	Bafra	Çetinkaya	25	CMV
SÇ-30	Çarşamba	Vakıfköprü	2	CMV
SB-45	Bafra	Adaköy	3	
SB-62	Bafra	Yağmurca	21	
SB-63	Bafra	Yağmurca	26	
SÇ-76	Çarşamba	Bafracalı	6	PMMoV
SÇ-77	Çarşamba	Bafracalı	7	
SÇ-79	Çarşamba	Kumarlı	1	
SÇ-81	Çarşamba	Kumarlı	4	
SÇ-83	Çarşamba	Kirazbucağı	8	
SÇ-84	Çarşamba	Y.Karacalı	16	
SÇ-85	Çarşamba	Y.Karacalı	11	
SÇ-86	Çarşamba	Y.Karacalı	14	
SÇ-87	Çarşamba	Y.Karacalı	19	

4.2 Samsun İlinde Belirlenen PVY Patotipleri

Samsun ilindeki biber üretim alanlarından elde edilen 20 izolat, patotip ayırım setine ait 4 farklı biber çeşidine ayrı ayrı inokule edilerek PVY patotipleri belirlenmiştir. Ayrıca, inokulasyon yapılan tüm bitkiler PVY için DAS-ELISA yöntemi ile test edilerek virüsün sistemik hale geçip geçmediği serolojik olarak da belirlenmiştir. Patotip ayırım setindeki bitkilerde izolatların oluşturduğu semptomlara ve ELISA sonuçlarına göre değerlendirmeler yapılarak PVY patotiplerinin belirlenmesine çalışılmıştır. Karışık enfekteli örneklerin çoğaltılması sonucu elde edilen inokulumun kullanılmasıyla yapılan testlerde ise değerlendirme yalnızca ELISA sonuçlarına göre yapılmıştır.

Çalışma sonucunda, PVY izolatlarından 16 tanesi (SÇ-4, SÇ-6, SÇ-8, SÇ-9, SÇ-10, SB-12, SB-20, SÇ-30, SB-45, SB-63, SÇ-76, SÇ-77, SÇ-79, SÇ-81, SÇ-83 ve SÇ-85 nolu izolatlar) yalnızca Yolo Wonder çeşidinde mozayik (Şekil 4.2) şeklinde sistemik enfeksiyon oluşturarak hassas reaksiyona neden olmuştur. Sözü edilen 16 izolat Yolo Y, Florida VR-2 ve CM-334 çeşitlerinde ise sistemik belirtilere

neden olmadığı için bu çeşitler dayanıklı olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, inokulasyon yapılan tüm çeşitlere ait yapraklar inokulasyondan 21 gün sonra PVY'ye spesifik antiserumlar kullanılarak ELISA ile test edilmiş ve ELISA sonucunda yalnızca Yolo Wonder çeşidine ait bitkiler PVY antiserumu ile pozitif reaksiyon vermişlerdir. İnokulasyon ve ELISA sonuçlarına göre sözü edilen 16 izolatın PVY-0 patotipi olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).



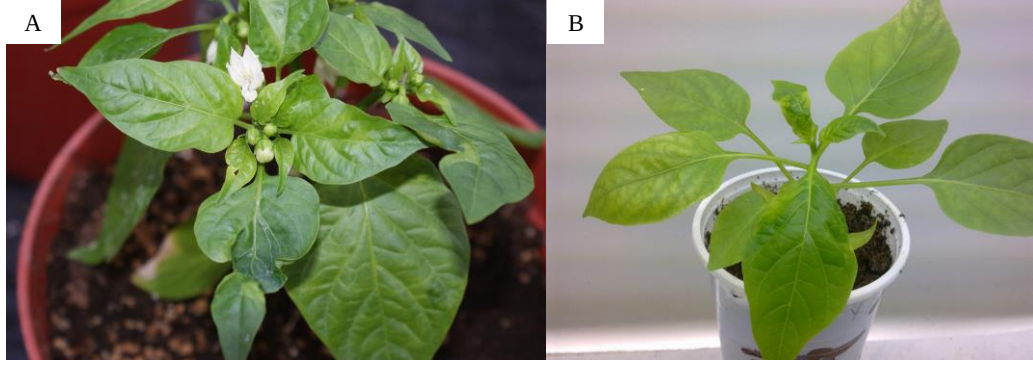
Şekil 4.2. PVY-0 patotipine ait SB-12 nolu izolatın Yolo Wonder çeşidindeki hafif mozayik simptomsu

Dört PVY izolatı (SB-62, SÇ-84, SÇ-86 ve SÇ-87 nolu izolatlar) ise hem Yolo Wonder çeşidinde hem de Yolo Y çeşidinde mozayik şeklinde sistemik enfeksiyon oluşturmuş (Şekil 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6) ve bu çeşitler hassas olarak değerlendirilmiştir. İzolatlar Florida VR-2 ve CM-334 çeşitlerinde ise sistemik belirtilere neden olmadığı için bu çeşitler dayanıklı olarak kabul edilmiştir. Daha sonra inokulasyon yapılan tüm çeşitlere ait yapraklar PVY'ye spesifik antiserumlar kullanılarak ELISA ile test edilmiştir. ELISA sonucunda Yolo Wonder ve Yolo Y çeşidinde ait bitkiler PVY antiserumu ile pozitif olarak reaksiyon vermişlerdir. Mekanik inokulasyon ve ELISA sonuçlarına göre sözkonusu 4 izolatın PVY-1 patotipi olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

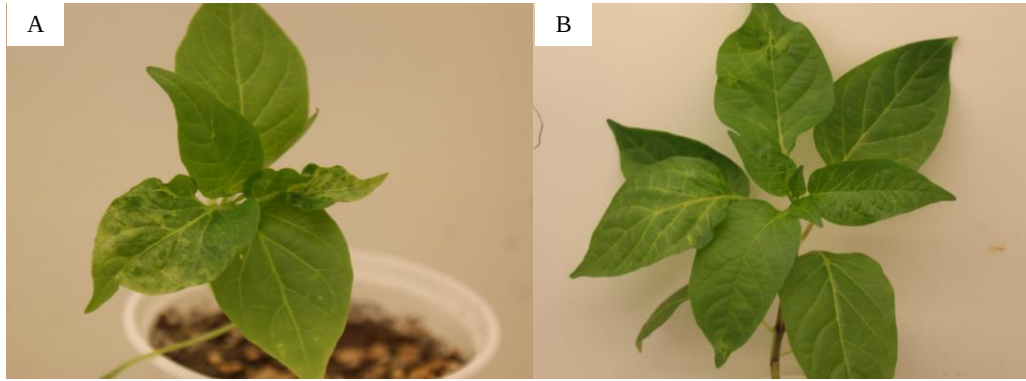
Çizelge 4.4. PVY izolatlarının patotip ayırma setine ait biber çeşitlerinde verdikleri reaksiyonlar ve belirlenen patotipler

İzolat No	İlçe	Köy	Patotip Ayırım Reaksiyonları								Patotip
			Yolo Wonder (1 no)		Yolo Y (2 no)		Florida VR-2 (3 no)		CM-334(4 no)		
			Reaksiyon	ELISA	Reaksiyon	ELISA	Reaksiyon	ELISA	Reaksiyon	ELISA	
SÇ-4*	Çarşamba	Paşayazı	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-6*	Çarşamba	Vakıfköprü	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-8*	Çarşamba	Vakıfköprü	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-9*	Çarşamba	Vakıfköprü	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-10*	Çarşamba	Vakıfköprü	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SB-12	Bafra	Ağıllar	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SB-20*	Bafra	Çetinkaya	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-30*	Çarşamba	Vakıfköprü	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SB-45	Bafra	Adaköy	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SB-62	Bafra	Yağmurca	S	+	S	+	R	-	R	-	PVY-1
SB-63	Bafra	Yağmurca	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-76*	Çarşamba	Bafracalı	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-77	Çarşamba	Bafracalı	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-79	Çarşamba	Kumarlı	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-81	Çarşamba	Kumarlı	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-83	Çarşamba	Kirazbucağı	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-84	Çarşamba	Y.Karacalı	S	+	S	+	R	-	R	-	PVY-1
SÇ-85	Çarşamba	Y.Karacalı	S	+	R	-	R	-	R	-	PVY-0
SÇ-86	Çarşamba	Y.Karacalı	S	+	S	+	R	-	R	-	PVY-1
SÇ-87	Çarşamba	Y.Karacalı	S	+	S	+	R	-	R	-	PVY-1

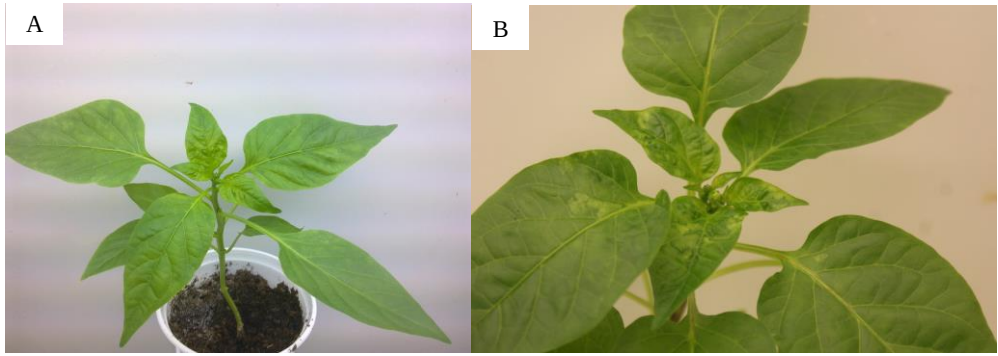
R: Dayanıklı, S: Hassas, +: pozitif, -: negatif, *: Karışık enfekteli izolatlar (yalnızca ELISA sonuçlarına göre değerlendirme yapılmıştır).



Şekil 4.3. PVY-1 patotipine ait SÇ-84 nolu izolatin Yolo Wonder (A) ve Yolo Y (B) çeşidindeki mozayik belirtileri



Şekil 4.4. PVY-1 patotipine ait SÇ-87 nolu izolatin Yolo Wonder (A) ve Yolo Y (B) çeşidindeki mozayik belirtileri



Şekil 4.5. PVY-1 patotipine ait SÇ-86 nolu izolatin Yolo Wonder (A) ve Yolo Y (B) çeşidindeki mozayik belirtileri



Şekil 4.6. PVY-1 patotipine ait SB-62 nolu izolatin Yolo Yolo Wonder (A) ve YoloY (B) çeşidindeki mozayik simptomları

Çalışma sonucunda, Samsun ilinde biber üretim alanlarında PVY-0 ve PVY-1 patotipleri belirlenmiştir. PVY-1,2 patotipi ise tespit edilmemiştir. Çalışmada kullanılan 20 PVY izolatinın 16'sının (% 80) PVY-0 patotipi, 4'ünün 8 (% 20) ise PVY-1 patotipi olduğu ortaya konulmuştur. Benzer bir şekilde Palloix ve diğ. (1994b), Akdeniz Bölgesi'ndeki biber üretim alanlarında patotip ayırım setini kullanarak PVY'nin patotiplerini araştırmışlar ve çalışma sonucunda PVY-0 ve PVY-1 patotiplerini belirlemişlerdir. Buzkan ve diğ. (2012), 2010 ve 2011 yıllarında Gaziantep, Kahramanmaraş ve Hatay illerinde biber üretim alanlarından topladıkları örneklerden PVY ile enfekteli bir izolatin patotip ayırım seti kullanarak PVY-1 patotipi olduğunu belirlemişlerdir. Çelik ve diğ. (2012), Antalya'da 2007 ve 2008 yıllarında biber üretim alanlarından topladıkları toplam 21 PVY izolatinın patotiplerini, patotip ayırım setini kullanarak belirlemişler ve izolatların tamamının PVY'nin 0 patotipi olduğunu ortaya koymuşlardır. Ekbiç ve diğ. (1997), ise Akdeniz bölgesinde biber üretim alanlarında bu çalışmada tespit edilmeyen PVY'nin 1-2 patotipini belirlemişlerdir.

PVY-0 patotipi Fransa, İtalya ve İspanya gibi Akdeniz ülkelerinde en yaygın patotip olarak belirlenmiştir (Gebre Selassie ve diğ., 1983; Luis Arteaga ve Gil Ortega, 1983; Caranta ve diğ., 1999). Bu tez çalışmasında da benzer bir şekilde Samsun ilinde PVY-0'ın en yaygın patotip olduğu ortaya konulmuştur.

Her iki patotip de hem Çarşamba hem de Bafra ilçelerinde tespit edilmiştir. Çarşamba ilçesinden elde edilen 15 izolatin 12'sinde (% 80) PVY-0, 3 tanesinde (% 20) PVY-1 patotipi belirlenmiştir. Bafra ilçesinden elde edilen 5 izolatin ise 4'ünde (% 80) PVY-0, 1 tanesinde (% 20) ise PVY-1 patotipi tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Samsun ilinde tespit edilen PVY patotiplerinin ilçelere göre dağılımı

İlçe Adı	Çalışılan İzolat Sayısı	PVY-0	PVY-1
Çarşamba	15	12 (% 80)	3 (% 20)
Bafra	5	4 (% 80)	1 (% 20)
Toplam	20	16 (% 80)	4 (% 20)

4.3 Samsun İlinde Belirlenen PVY Patotiplerinin Biyolojik Karakterizasyonu

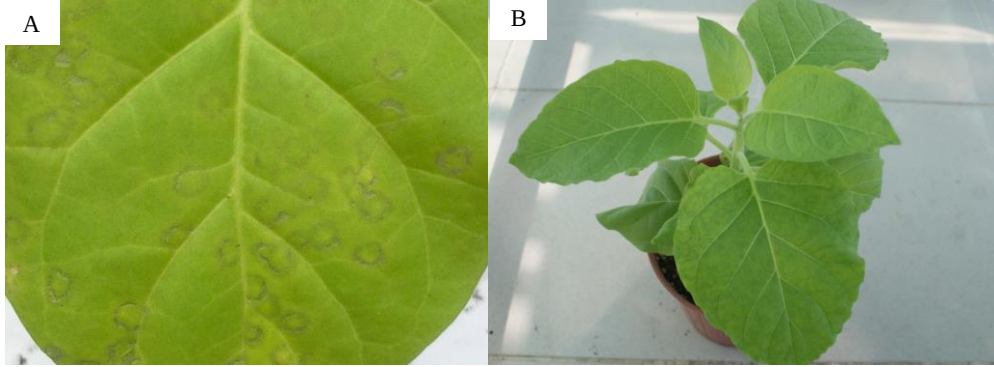
Samsun ilinde biber üretim alanlarında belirlenen PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin değişik test bitkilerinde oluşturdıkları reaksiyonları belirlemek amacı ile her iki patotipe ait bir izolat, çeşitli test bitkilerine inokule edilmiştir. Bu amaçla PVY-0 patotipi olarak SB-12 nolu izolat ve PVY-1 patotipi olarak ise SÇ-87 nolu izolat çalışmada kullanılmak üzere seçilmiştir. Ayrıca inokulasyondan 21 gün sonra bitkiler ELISA ile test edilmiştir. İnokülasyondan 21. güne kadar olan dönemde test bitkilerinde gözlenen belirtiler ve bitkilere ait ELISA sonuçları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin test bitkilerinde oluşturduğu belirtiler

Bitki türü	PVY 0		ELISA	PVY 1		ELISA
	İEY	Sistemik		İEY	Sistemik	
<i>C. annuum</i> Yolo Wonder	Sy	M	P	Sy	Şm	P
<i>C. annuum</i> Yolo Y	Sy	Sy	N	Sy	M	P
<i>C. annuum</i> Florida VR-2	Sy	Sy	N	Sy	Sy	N
<i>C. annuum</i> CM-334	Sy	Sy	N	Sy	Sy	N
<i>C. chinense</i> PI 159236	Sy	Hm	P	Sy	Sy	N
<i>N. tabacum</i> Samsun NN	Nll	M	P	Nll	M	P
<i>N. tabacum</i> White Burley	Kll	M, Dra	P	Kll	M	P
<i>N. tabacum</i> Xanthi	Nll	M	P	Nll	M	P
<i>N. benthamiana</i>	Kll	M, Kl	P	Kll	M, Kl	P
<i>N. debneyi</i>	Kll	M, Dra	P	Kll	M, Şb	P
<i>N. rustica</i>	Kll	M	P	Kll	M, Şb	P
<i>S. tuberosum</i> CPS1150	Sy	Hm	P	Sy	Hm	P
<i>S. tuberosum</i> GS204 (R)	Sy	Sy	N	Sy	Sy	N
<i>S. chacoense</i>	Sy	Hm	P	Sy	Sy	P
<i>S. demissum</i>	Sy	Sy	N	Sy	Sy	N
<i>S. lycopersicum</i> Falcon	Sy	M, Yk	P	Sy	M, Yk	P
<i>S. lycopersicum</i> Dora	Sy	M, Yk	P	Sy	M, Yk	P
<i>P. peruviana</i>	Sy	Sy	N	Sy	Hm, Dra	P
<i>C. amaranticolor</i>	Kll	Sy	N	Kll	Sy	N

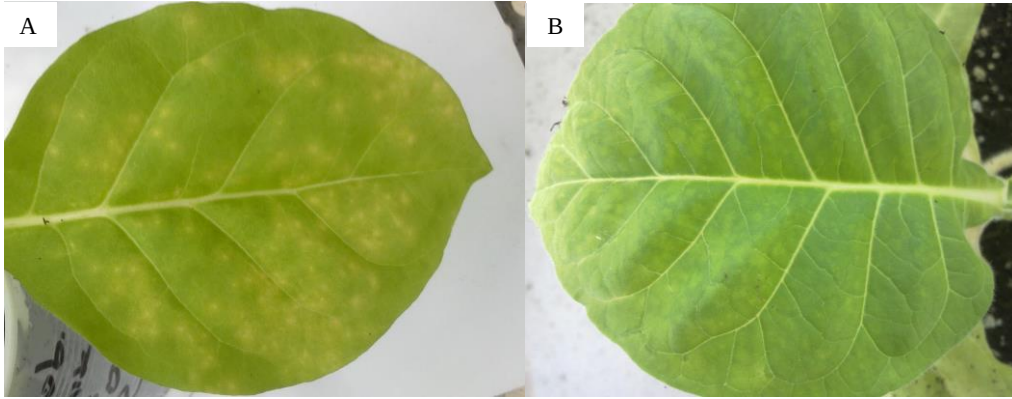
İEY: İnokule edilen yaprak, Sy: Simptom yok, Nll: Nekrotik lokal lezyon, Kll: Klorotik lokal lezyon, M: Mozayik, Hm: Hafif mozayik, Yk: Yaprak kıvrıklığı, Dra: Damarlarda renk açılması, Yk: Yaprak kıvrılması, Şm: Şiddetli mozayik, Şb: Yapraklarda şekil bozukluğu, Kl: Kloroz

PVY-0 patotipinin *C. annuum*'un Yolo Wonder çeşidinde yapraklarda mozayik, *N. tabacum* Samsun NN'de inokule edilen yaprakta nekrotik lokal lezyonlar, üst yapraklarda ise mozayik oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7).

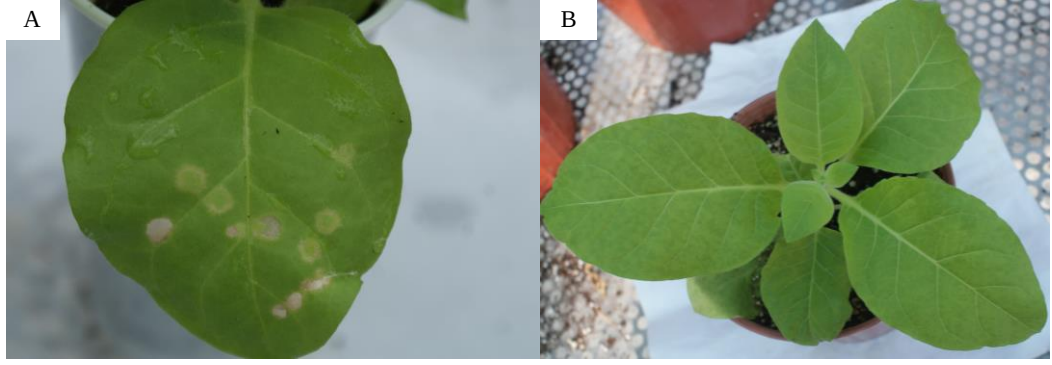


Şekil 4.7. PVY-0 patotipinin *N. tabacum* Samsun NN'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu nekrotik lezyonlar (A), üst yapraklarda hafif sistemik mozayik (B) simptomsu

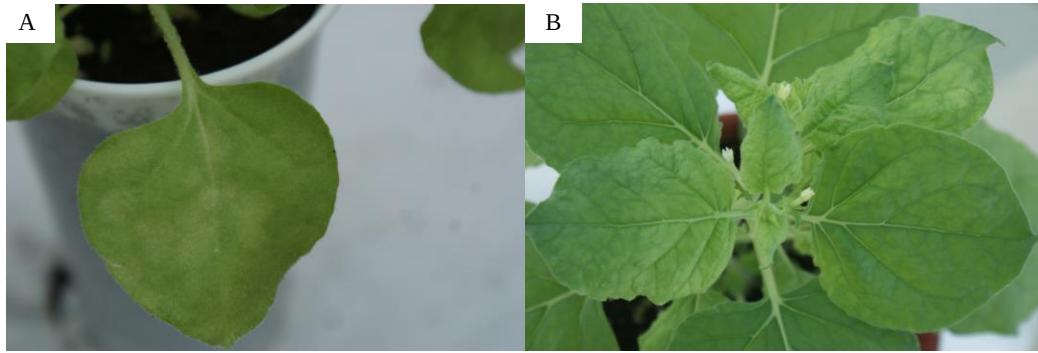
N. tabacum White Burley'de inokule edilen yaprakta klorotik lokal lezyonlar, üst yapraklarda ise mozayik ve damarlarda renk açılmaları (Şekil 4.8), *N. tabacum* Xanthi, *N. benthamiana*, *N. debneyi* ve *N. rustica*'da inokule edilen yapraklarda nekrotik lezyonlar, üst yapraklarda ise mozayik oluşmuştur (Şekil 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12).



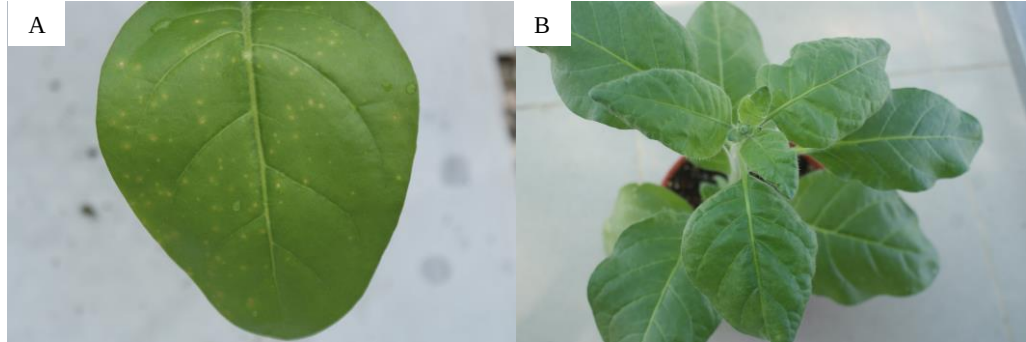
Şekil 4.8. PVY-0 patotipinin *N. tabacum* White Burley'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik ve damarlarda renk açılması (B)



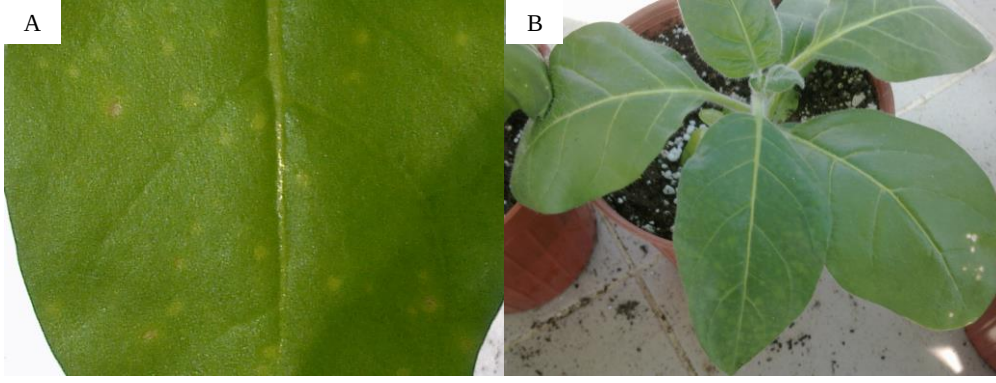
Şekil 4.9. PVY-0 patotipinin *N. glauca* Xanthi'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu nekrotik lezyonlar (A), üst yapraklarda hafif sistemik mozayik (B) simptome



Şekil 4.10. PVY-0 patotipinin *N. glauca*'da inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B) simptome

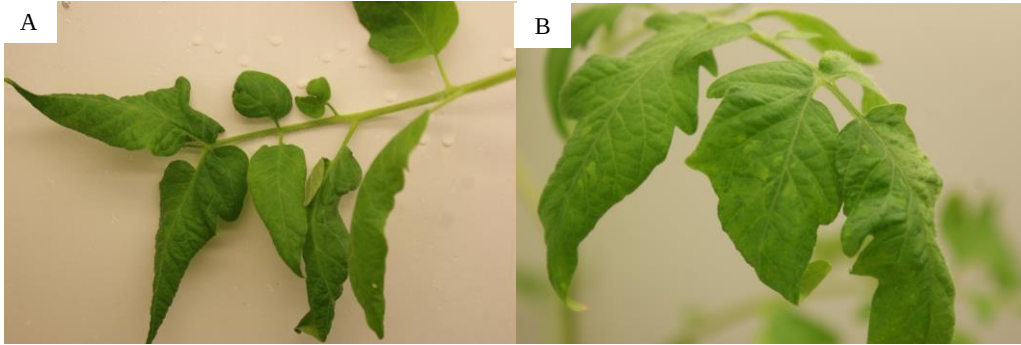


Şekil 4.11. PVY-0 patotipinin *N. glauca*'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), yapraklarda sistemik mozayik ve yaprak deformasyonu (B)

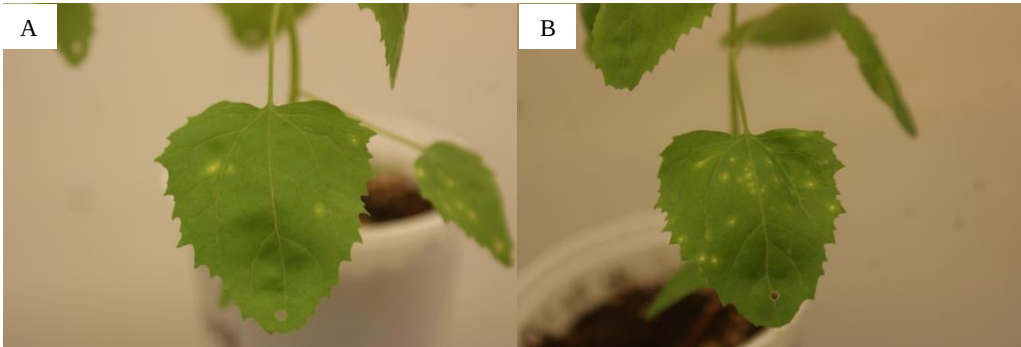


Şekil 4.12. PVY-0 patotipinin *N. rustica*'da inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B)

PVY-0, *S. lycopersicum*'un Falcon ve Dora çeşitlerinde yapraklarda mozayik ve deformasyon (Şekil 4.13), *C. amaranticolor*'da ise inokule edilen yaprakta klorotik ve nekrotik lezyonlar (Şekil 4.4), *S. tuberosum* CPS1150 ve *S. chacoense*'de hafif mozayik (Şekil 4.15 ve 4.16) şeklinde belirti oluşturmuştur. *C. annuum*'un Yolo Y, Florida VR-2 ve CM-334 çeşitlerinde, *C. chinense*'de, *P. peruviana*'da *S. tuberosum*'un PVY'ye dayanıklı olan GS204 çeşidinde ve *S. demissium*'da ise herhangi bir simptome neden olmamıştır (Çizelge 4.6).



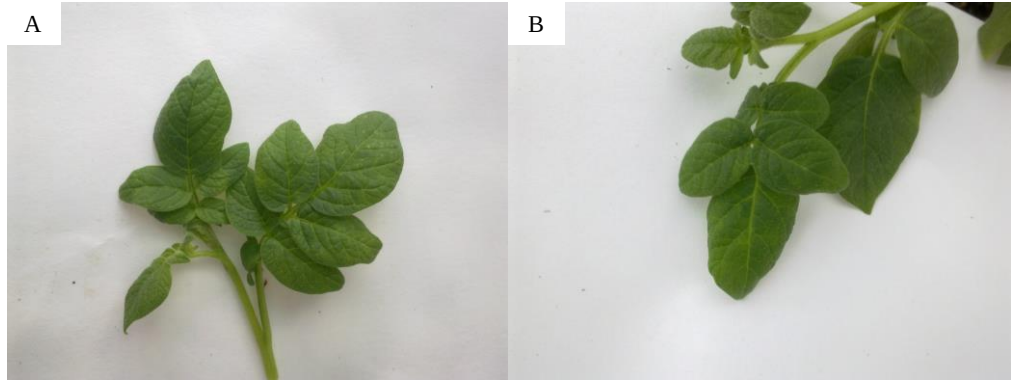
Şekil 4.13. PVY-0 (A) ve PVY-1 (B) patotiplerinin domateste (*S. lycopersicum*-Dora) oluşturduğu yapraklarda mozayik ve şekil bozukluğu



Şekil 4.14. PVY-0 (A) ve PVY-1 (B) patotiplerinin *C. amaranticolor*'da oluşturduğu klorotik lokal lezyonlar



Şekil 4.15. PVY-0 patotipinin *S. chacoense*'de yapraklarda oluşturduğu hafif mozayik



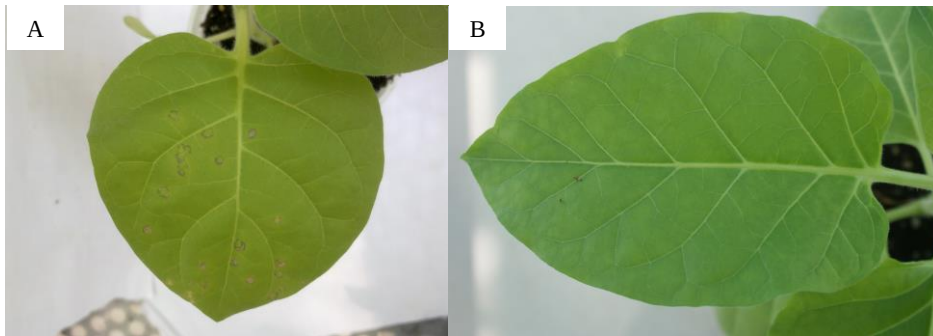
Şekil 4.16. PVY-0 (A) ve PVY-1 (B) patotiplerinin patates bitkisinin (*S. tuberosum* CPS-1150) yapraklarında oluşturduğu hafif mozayik simptomsu

PVY-1 patotipi *C. annuum*'un Yolo Wonder biber çeşidinde yapraklarda şiddetli mozayik, Yolo Y çeşidinde yapraklarda mozayik, *C. chinense*'de hafif şekilde mozayik (Şekil 4.17) oluşturmuştur.

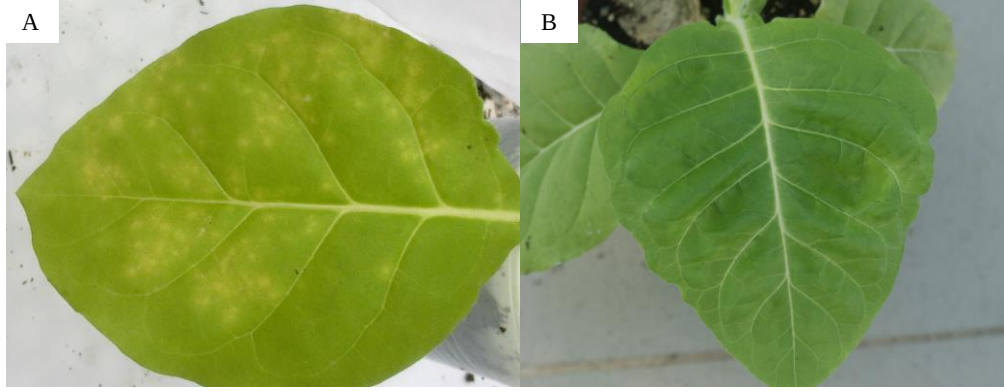


Şekil 4.17. PVY-0 patotipinin *C. chinense*'de yapraklarda oluşturduğu hafif mozayik simptomsu

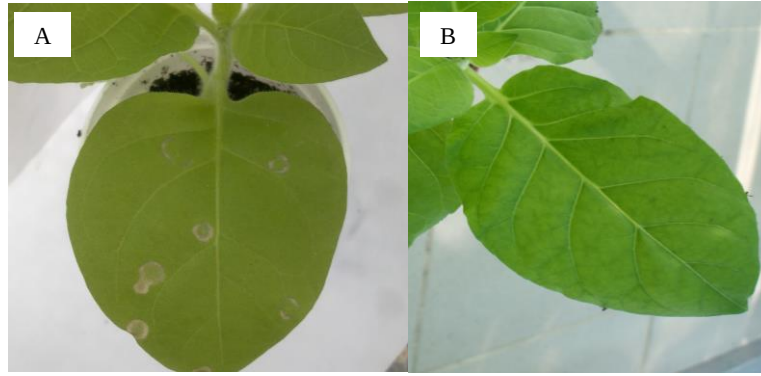
N. tabacum Samsun NN ve Xanthi çeşitlerinde inokule edilen yaprakta nekrotik lezyonlar, üst yapraklarda ise mozayik (Şekil 4.18), *N. tabacum* White Burley'de inokule edilen yaprakta klorotik lokal lezyonlar, üst yapraklarda ise mozayik (Şekil 4.19), *N. tabacum* Xanthi'de inokule edilen yaprakta nekrotik lokal lezyonlar, üst yapraklarda ise mozayik (Şekil 4.20), *N. benthamiana*'da inokule edilen yaprakta nekrotik lokal lezyonlar ve bitkide kloroz (Şekil 4.21), *N. debneyi* ve *N. rustica*'da inokule edilen yaprakta nekrotik lokal lezyonlar, üst yapraklarda mozayik ve şekil bozukluğu (Şekil 4.22 ve 23), *S. tuberosum* CPS1150'de hafif şekilde mozayik (Şekil 4.16), *S. lycopersicum*'un Falcon ve Dora çeşitlerinde yapraklarda mozayik ve deformasyon (Şekil 4.13), *P. peruviana*'da yapraklarda hafif mozayik ve damarlarda renk açılması (Şekil 4.24), *C. amaranticolor*'da ise inokule edilen yaprakta klorotik lokal lezyonlar (Şekil 4.14) şeklinde belirtiler oluşturmuştur. PVY-1 patotipi *C. annuum* 'un Florida VR-2 ve CM-334 çeşitlerinde, *S. tuberosum* 'un PVY'ye dayanıklı olan GS204 çeşidinde, *S. chacoense* ve *S. demissium*'da ise herhangi bir simptome neden olmamıştır (Çizelge 4.6).



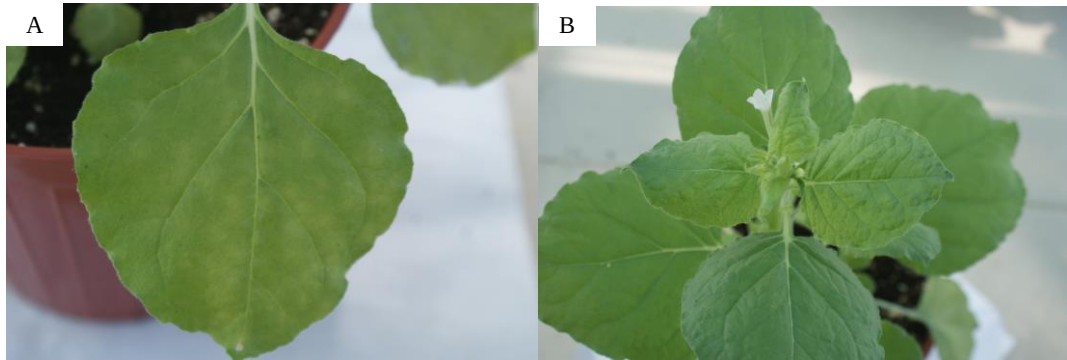
Şekil 4.18. PVY-1 patotipinin *N. tabacum* Samsun NN'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu nekrotik lezyonlar (A), üst yapraklarda hafif sistemik mozayik (B) simptomsu



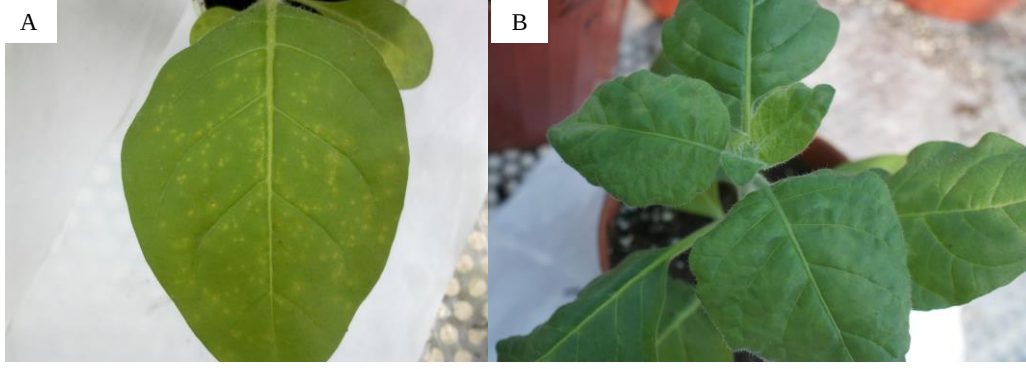
Şekil 4.19. PVY-1 patotipinin *N. tabacum* White Burley’de inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B) simptomu



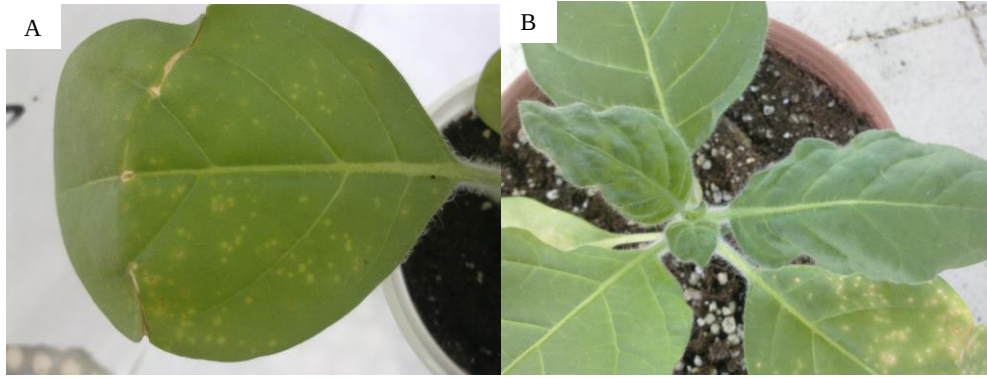
Şekil 4.20. PVY-1 patotipinin *N. tabacum* Xanthi’de inokule edilen yaprakta oluşturduğu nekrotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B) simptomu



Şekil 4.21. PVY-1 patotipinin *N. benthamiana*’da inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik (B) simptomu



Şekil 4.22. PVY-1 patotipinin *N. debneyi*'de inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik ve şekil bozukluğu (B)



Şekil 4.23. PVY-1 patotipinin *N. rustica*'da inokule edilen yaprakta oluşturduğu klorotik lezyonlar (A), üst yapraklarda sistemik mozayik ve şekil bozukluğu (B)



Şekil 4.24. PVY-1 patotipinin *P. peruviana*'da yapraklarda oluşturduğu sistemik mozayik ve damarlarda renk açılması

Test bitkilerinde yapılan çalışmalar sonucunda PVY-0 patotipi *C. chinense*'de hafif mozayik oluştururken, PVY-1 patotipi herhangi bir simptome neden olmamıştır. Diğer taraftan PVY-1 patotipine *P. peruviana* bitkisi hafif mozayik ve damarlarda

renk açılması şeklinde reaksiyon verirken, PVY-0 patotipi bu bitkiyi enfekte edememiştir. Mekanik inokulasyon çalışmaları, her iki bitki türünün PVY'nin 0 ve 1 patotiplerinin ayırımında kullanılabileceğini göstermiştir (Çizelge 4.6).

Bu çalışmada, PVY-0 ve PVY-1 patotipleri *S. tuberosum* CPS1150 hattında hafif şekilde mozayik oluşturmuştur. Bu bitkilere yapılan ELISA testinde ise pozitif sonuç elde edilmiştir. Bu çalışmadan farklı olarak Gebre Selassie ve diğ. (1983), Fransa'da farklı konukçulardan izole edilen PVY izolatları ile yaptıkları bir çalışmada biber izolatlarının patates bitkisini enfekte edemediğini ortaya koymuşlardır. Soto ve diğ. (1994), PVY'nin biber ve patates izolatlarının daha çok biber ve patatese özgü olduklarını ve aralarında geçişlerin sınırlı oranda olduğunu bildirmişlerdir. Romero ve diğ. (2001), farklı konukçulara ait biber izolatlarını farklı bitkilere inokule etmişler ve biber izolatının patatesi enfekte edemediğini belirlemişlerdir. D'Aquino ve diğ. (1995) yaptıkları çalışmada, biber izolatları PVYnp ve PVYmp'nin mekanik inokulasyon sonucunda patatesi enfekte edemediğini ortaya koymuşlardır. Romero ve diğ. (2001), PVY'nin biber izolatlarının mekanik inokulasyon sonucunda patatesten herhangi bir semptom oluşturmadığını belirlemişlerdir. Mostafae ve diğ. (2008), yaptıkları çalışmada PVY izolatlarının patates bitkisini enfekte edemediğini ortaya koymuşlardır. Horvath (1966a), Horvath (1966b), McDonald ve Kristjanson (1993), Le Romancer ve diğ. (1994) ise bu tez çalışmasına benzer bir şekilde bazı patates izolatlarının biberi enfekte edebildiğini bildirmişlerdir (Çizelge 4.6).

PVY-0 patotipi *S. chacoense*'de hafif mozayik oluştururken, PVY-1 patotipi herhangi bir semptomu sebep olmamıştır. Ancak ELISA sonucunda *S. chacoense*'nin her iki patotipe de hassas olduğu belirlenmiştir. Valkonen (1994), *S. chacoense* ve *S. demissium*'un PVY'ye dayanıklı olduğunu bildirmiştir. Bu tez çalışmasında ise benzer bir şekilde *S. demissium*'un PVY'ye dayanıklı, ancak *S. chacoense*'nin ise PVY'ye hassas olduğu ortaya konulmuştur (Çizelge 4.6).

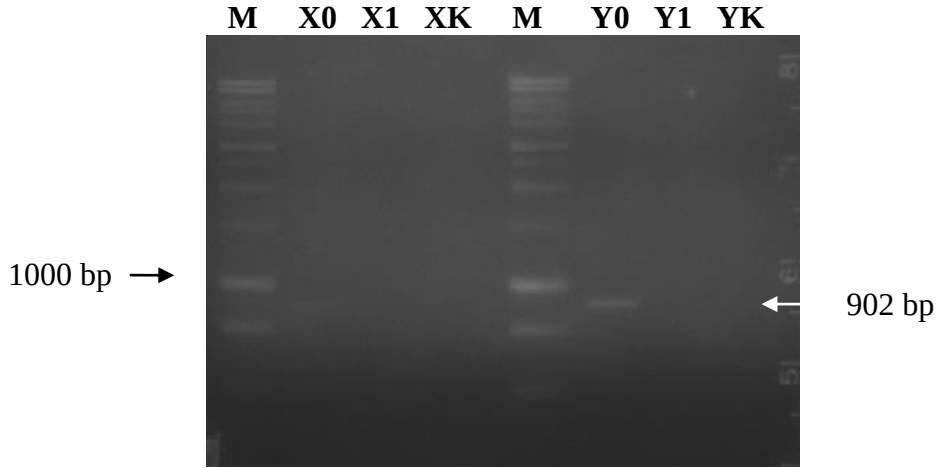
4.4 PVY Biber İzolatlarının CP Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltılması ve Sekans Verilerinin Analizi

PCR Optimizasyon Çalışmaları:

Daha önceki bölümde PVY-0 patotipi olduğu belirlenen 2 izolat (SB-63, SÇ-9) ve PVY-1 patotipine ait 2 izolat (SÇ-84 ve SÇ-87) ile enfekteli bitkilerden toplam RNA

izolasyonları yapılmıştır. Bu örneklerle başlangıçta P0A, P0B, P1A ve P1B kod numaraları verilmiştir. Sonrasında PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinden birer izolat seçilerek ilk olarak izolatlara ait RNA'ların cDNA'ya dönüştürülmesi için reverse transkripsiyon (RT) aşaması gerçekleştirilmiştir. RT aşaması SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen) enzimi kullanılarak Yöntem 3.2.6.2 (a)'da belirtildiği şekilde yapılmıştır. Daha sonra cDNA'ya dönüştürülmüş olan izolatların CP bölgesi, bu bölgeye spesifik primerler kullanılarak çoğaltılmaya çalışılmıştır. Her bir primer için son konsantrasyonları 0.5 μ M ve 2 μ M olacak şekilde iki farklı uygulama denenmiştir. PCR aşaması Sigma Taq polimeraz enzimi kullanılarak Yöntem 3.2.6.2 (c)'de belirtildiği şekilde uygulanmıştır.

PVY-1 patotipi cDNA'sı kullanılarak yapılan çalışma sonucunda her iki primer konsantrasyonunda da agaroz jelde bant elde edilememiştir. PVY-0 patotipi cDNA'sı kullanılarak yapılan çalışma sonucunda ise her iki primer konsantrasyonunda agaroz jelde 902 bp büyüklüğünde ürünler elde edilmiştir (Şekil 4.25). 0.5 μ M primer içeren reaksiyon, 2 μ M primer içeren reaksiyona göre daha iyi ürün elde edilmesini sağlamıştır (Şekil 4.25). Bu nedenle daha sonraki çalışmalara 0.5 μ M primer konsantrasyonu ile devam edilmesine karar verilmiştir.

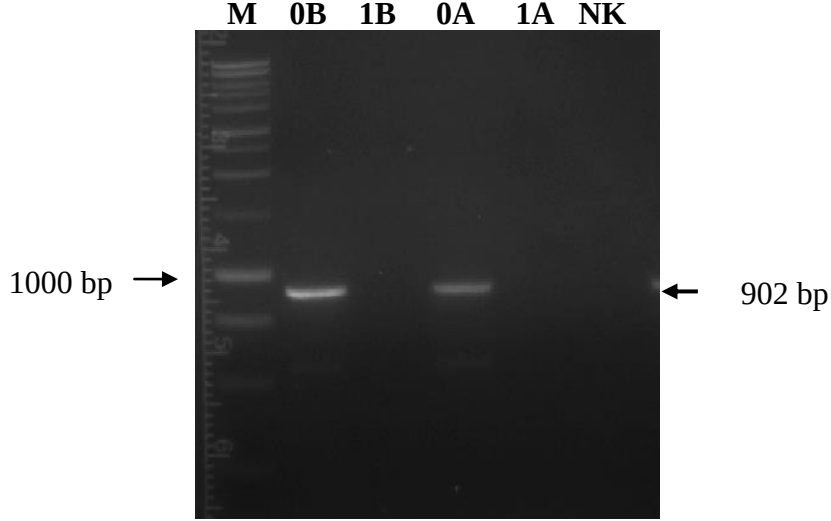


Şekil 4.25. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri. M: 1 kb moleküler markör (Promega), X0: 2 μ M primer/PVY-0 patotipi, X1: 2 μ M primer/PVY-1 patotipi, XK: 2 μ M primer/negatif kontrol, Y0: 0.5 μ M primer/PVY-0 patotipi, Y1: 0.5 μ M primer/PVY-1 patotipi, YK: 0.5 μ M primer/negatif kontrol

Daha sonrasında PVY-0 patotipine ait SB-12 nolu izolat ve PVY-1 patotipine ait SÇ-87 nolu izolat ile enfekteli farklı bitkilerden izole edilmiş RNA'lar

kullanılarak elde edilen cDNA'lar ile, reaksiyon şartları aynı kalmak üzere 0.5 µM primer konsantrasyonunda PCR tekrarlanmıştır.

Çalışma sonucunda SB-12 izolatına (PVY-0) ait her iki örnekte de beklenen büyüklükte bantlar elde edilmesine rağmen, SÇ-87 izolatına (PVY-1) ait örnekler ile sonuç alınamamıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri. M: 1 kb moleküler markör (Promega), OB: B kodlu biber bitkisinden izole edilen PVY-0 patotipine ait SB-12 nolu izolat 1B: B kodlu biber bitkisinden izole edilen PVY-1 patotipine ait SÇ-87 nolu izolat, OA: A kodlu biber bitkisinden izole edilen PVY-0 patotipine ait SB-12 nolu izolat 1A: A kodlu biber bitkisinden izole edilen PVY-1 patotipine ait SÇ-87 nolu izolat, NK: negatif kontrol

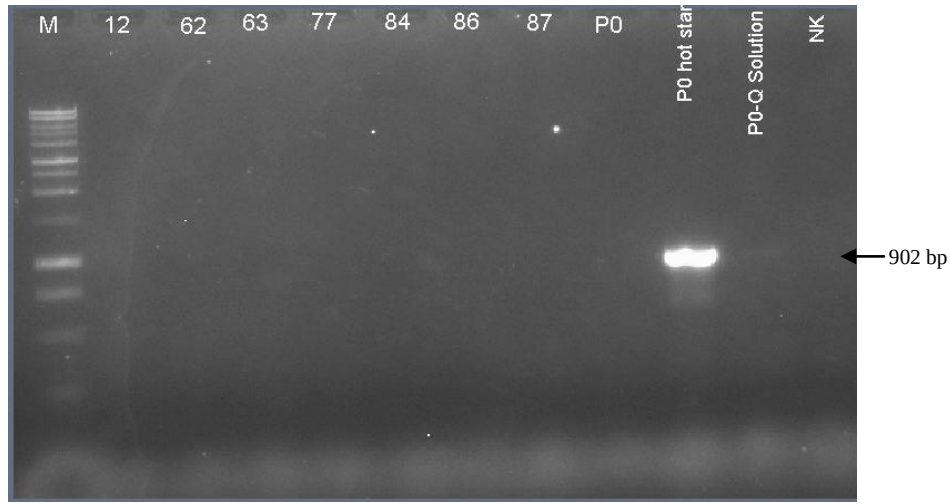
Bu nedenle SB-12 ve SÇ-87 nolu izolatları da dahil ederek 3 tane PVY-0, 4 tane ise PVY-1 patotipine ait 7 izolat seçilerek bu izolatlar ile enfekteli bitkilerden tekrar RNA izolasyonu yapılmasına karar verilmiştir. Bu amaçla PVY-0 patotipine ait SB-12, SÇ-77 ve SB-63 nolu izolatlar ve PVY-1 patotipine ait SB-62, SÇ-84, SÇ-86 ve SÇ-87 nolu izolatlar seçilmiştir. Daha sonra ilk olarak izolatların RNA'ların cDNA'ya dönüştürülmesi için RT aşaması gerçekleştirilmiştir. cDNA sentezi aşaması M-MLV Reverse Transcriptase enzimi kullanılarak Yöntem 3.2.6.2 (b)'de belirtildiği şekilde, PCR reaksiyonu ise Yöntem 3.2.6.2 (c)'de belirtildiği şekilde oluşturulmuştur.

Diğer taraftan aynı zamanda Qiagen firmasının HotStar HiFidelity DNA Polimeraz enzimi daha iyi ürün elde edilmesi amacıyla denenmek istenmiştir. Bu amaçla daha önceki çalışmada sonuç alınan PVY-0 izolatı (SB-12) ile iki farklı PCR

reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Birinci reaksiyon bu enzimin kiti içerisinde yer alan Q solüsyonunu içerecek şekilde, ikinci reaksiyon ise Q solüsyonunu içermeyecek şekilde Yöntem 3.2.6.2 (d)'de belirtildiği şekilde oluşturulmuştur.

HotStar HiFidelity DNA Polimeraz enzimi kullanılarak gerçekleştirilen PCR analizi sonucunda her iki örnekte de 902 bp büyüklüğünde bantlar elde edilmiştir. Q Solüsyonu kullanılan reaksiyonda zayıf bant elde edilirken, Q solüsyonu kullanılmayan reaksiyonda daha iyi bant elde edilmiştir (Şekil 4.26).

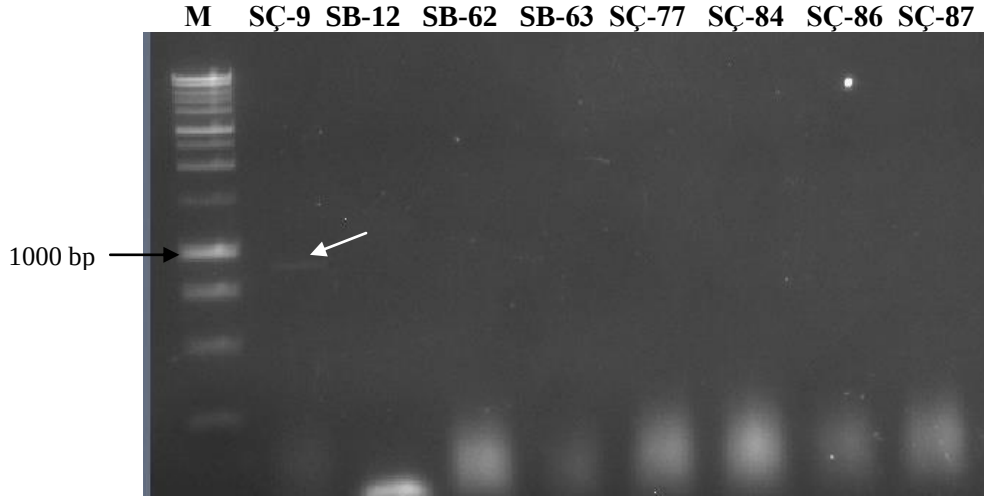
Diğer taraftan 7 izolat ile Sigma Taq DNA polimeraz enzimi kullanılarak yapılan RT-PCR çalışması sonucunda ise agaroz jelde her hangi bir ürün gözlenmemiştir (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri. M: 1 kb moleküler markör (Promega), SB-12, SB-62, SB-63, SÇ-77 (PVY-0) ve SÇ-84, SÇ-86, SÇ-87 (PVY-1) izolatları ve daha önceki pozitif örnek P0 (SB-12 nolu izolat) ile enfekteli bitkilerden elde edilen total RNA'lara ait cDNA'lar ve Sigma Taq DNA polimeraz enzimine ait amplifikasyon ürünleri; P0 hotstar: HotStar HiFidelity DNA Polimeraz enzimi kullanılarak ve Q Solüsyonu eklenmeden çoğaltılmış olan P0 örneği, P0-Q Solution: HotStar HiFidelity DNA Polimeraz enzimi kullanılarak ve reaksiyona Q solüsyonu eklenerek elde edilmiş olan P0 örneği, NK: negatif kontrol

Bu aşamaya kadar iyi amplifikasyon sinyali elde etmek adına gerçekleştirilen tüm PCR çalışmaları sonucunda yalnızca PVY-0 patotipine ait SB-12 nolu izolat ile sonuç elde edilebilmiştir. Bu nedenle, diğer izolatlardan izole edilen RNA miktarında bir sorun olabileceği düşünülmüş ve bunu araştırmak amacı ile 8 izolat Qiagen tek aşamalı RT-PCR kiti ile Yöntem 3.2.6.2 (f)'de belirtildiği şekilde test edilmiştir.

Qiagen tek aşamalı RT-PCR çalışması sonucu yalnızca SÇ-9 nolu izolat jelde beklenen büyüklükte zayıf bir bant oluşturmıştır. Diğer izolatlar ise sonuç vermemiştir (Şekil 4.28). Bu nedenle izolatların RNA'larında bir problem olabileceği kanısına varılmış ve izolatlar ile enfekteli bitkilerden elde edilen total RNA miktarlarının ölçülmesine çalışılmıştır.



Şekil 4.28. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen Qiagen tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri. M: 1 kb markör (Promega)

İzolatların RNA miktarlarının ölçülmesi için OMÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü laboratuvarında bulunan Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scientific) cihazı kullanılmıştır. Her örnekten 1.5 µl kullanılarak yapılan ölçümlerin sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. PVY patotiplerine ait izolatlardan izole edilmiş olan total RNA’ların Nanodrop Spektrofotometre kullanılarak ölçülen miktarları

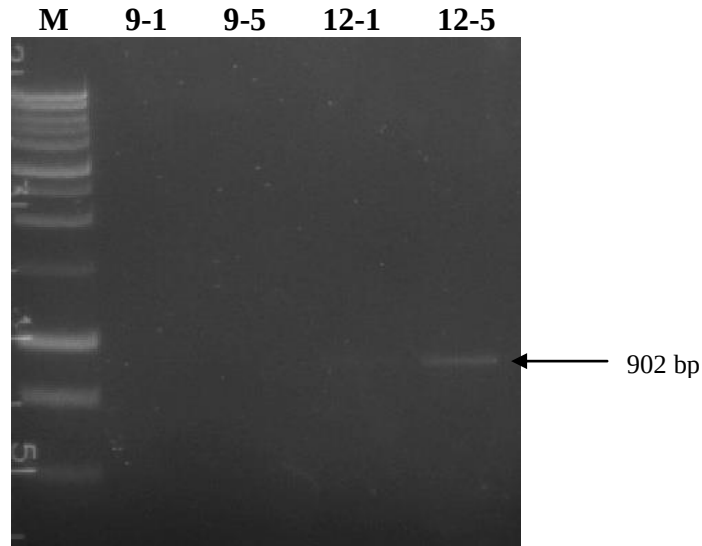
İzolat Adı	Patotipi	Miktarı (ng/µl)
SÇ-9	PVY-0	75.6
SB-12	PVY-0	408
SB-62	PVY-1	351.6
SB-63	PVY-0	237
SÇ-77	PVY-0	320
SÇ-84	PVY-1	370.8
SÇ-86	PVY-1	189.8
SÇ-87	PVY-1	284
P0A (SB-12)	PVY-0	87.4
P1B (SÇ-87)	PVY-1	243.1
P0B (SÇ-87)	PVY-0	90.2
P1A (SB-12)	PVY-1	240

Ölçümler sonucunda; SÇ-9, P0A (SB-12) ve P0B (SB-12) örneklerinde RNA miktarının diğer örneklerle oranla daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak şu ana

kadar yapılan PCR çalışmalarında düşük RNA konsantrasyonuna sahip örneklerden daha fazla sayıda sonuç alınmıştır.

İzolatların RNA konsantrasyonlarındaki farklılıklar nedeni ile iki farklı RNA miktarı (1 µl veya 5 µl) kullanılarak Yöntem 3.2.6.2 (f)'de belirtildiği şekilde tekrar Qiagen tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu oluşturulmuştur. Bu optimizasyon çalışması için daha önceki çalışmalarda sonuç elde edilmiş olan SÇ-9 ve SB-12 nolu isolatlar kullanılmıştır.

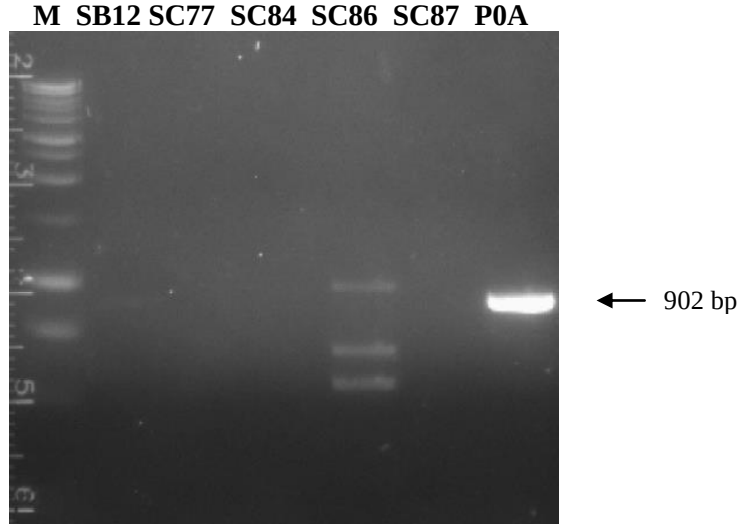
SÇ-9 nolu izolattan her iki RNA miktarında da sonuç alınamazken, SB-12 nolu izolattan her iki RNA miktarında da çok zayıf bant elde edilmiştir. SB-12 nolu izolatta 5 µl RNA miktarında biraz daha iyi ürün elde edildiği görülmüştür (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri. M: 1 kb moleküler markör (Promega), 9-1: 1 µl primer eklenmiş SÇ-9 nolu izolat, 9-5: 5 µl primer eklenmiş SÇ-9 nolu izolat, 12-1: 1 µl primer eklenmiş SB-12 nolu izolat, 12-5: 5 µl primer eklenmiş SB-12 nolu izolat

Bu aşamaya kadar olan çalışmalarda sekans analizi için yeterli amplifikasyon ürününe sadece Hotstar HiFidelity DNA polimeraz enzimi kullanılarak (Yöntem 3.2.6.2(d), P0 kodlu SB-12 izolatu ile ulaşılmıştır. Bu sebeple P0A, SB-12, SÇ-77, SÇ-84, SÇ-86 ve SÇ-87 nolu örnekler için cDNA'lar ile HotStar HiFidelity DNA Polimeraz enzimi kullanılarak Yöntem 3.2.6.2 (d)'de belirtildiği şekilde yeniden bir PCR reaksiyonu oluşturulmuştur.

Çalışma sonucunda, 408 ng/μl RNA miktarına sahip SB-12 nolu izolat ve 87.4 ng/μl RNA miktarına sahip P0A örneğinde (SB-12 nolu izolata ait Yöntem 3.2.6.2 (a)'da belirtildiği şekilde elde edilen cDNA) beklenen büyüklükte bant elde edilmiştir. P0A örneğinde elde edilen ürünün daha iyi olduğu, SB-12 nolu izolata ait yeni cDNA kullanıldığında ise ürünün zayıf olduğu görülmüştür. Buna karşılık SÇ-77 (320 ng/μl), SÇ-84 (370 ng/μl), SÇ-86 (189.8 ng/μl) ve SÇ-87 (284 ng/μl) nolu izolatlarda ise beklenen büyüklükte bant elde edilememiştir (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri. M: 1 kb moleküler markör (Promega), P0A: A kodlu biber bitkisinden izole edilen toplam RNA kullanılarak elde edilen cDNA (PVY-0 patotipi/SB-12 nolu izolat)

Elde edilen amplifikasyon ürünlerinin sekans analizi için yetersizliği nedeni ile izolatlardan tekrar RNA izolasyonu yapılmıştır. Çalışmaya SÇ-10, SÇ-79, SÇ-83 ve SÇ-85 SÇ-85 nolu, PVY-0 patotipine ait izolatlar da dahil edilmiştir. İzole edilen RNA'ların Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scientific) kullanılarak konsantrasyonları ölçülmüştür (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. PVY patotiplerine ait izolatlardan izole edilmiş olan total RNA'ların Nanodrop Spektrofotometre kullanılarak ölçülen miktarları

İzolat Adı	Patotipi	Miktarı (ng/µl)
SÇ-9	PVY-0	634,5
SÇ-10	PVY-0	504,3
SB-12	PVY-0	430,1
SB-62	PVY-1	172,4
SB-63	PVY-0	629,3
SÇ-77	PVY-0	635,8
SÇ-79	PVY-0	679,6
SÇ-83	PVY-0	403,1
SÇ-84	PVY-1	373,3
SÇ-85	PVY-0	373,1
SÇ-86	PVY-1	234,7
SÇ-87	PVY-1	472,9

Sonrasında tekrar izole edilen izolatlara ait RNA'lar kullanılarak Yöntem 3.2.6.2 (f)'de belirtildiği şekilde Qiagen tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu oluşturulmuştur.

Bu reaksiyon Herboloji laboratuvarında bulunan Qiagen marka (Rotor Gene Q) Realtime PCR cihazının normal PCR özelliği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, SÇ-9, SÇ-10, SB-12, SB-63 ve SÇ-83 (PVY-0); ve SÇ-84 (PVY-1) nolu izolatlarda istenen yoğunlukta ürün elde edilmiştir (Şekil 4.31). PVY-1 patotipine ait bir izolatın (SÇ-84) CP gen bölgesi çalışmanın bu aşamasına gelindiğinde ilk defa çoğaltılabilmektedir. Beklenen büyüklükte bant elde edilen izolatlardan PVY-1 patotipine ait SÇ-84 nolu izolat, PVY-0 patotipine ait SÇ-9, SB-12, SB-63 ve SÇ-83 nolu izolatlar jelden ekstraksiyon yapılmak üzere seçilmiştir.



Şekil 4.31. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri. M: 1 kb moleküler markör (Promega), NK: Negatif kontrol

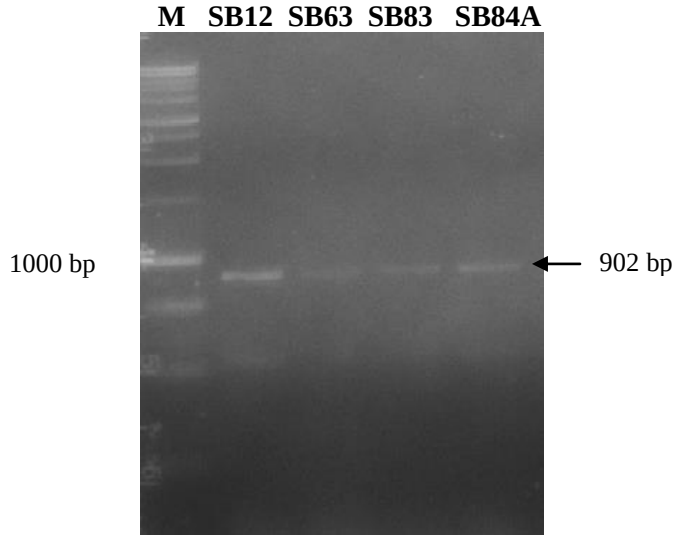
Yöntem 3.2.6.3'te açıklandığı şekilde jelden ekstrakte edilen ürünler 2 µl yükleme tamponu+2 µl örnek olacak şekilde % 1'lik agaroz jele yüklenmiş, 80 mA sürekli akımda 1 saat süre ile elektroforeze tabi tutulmuş ve sonrasında jel görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 4.32).



Şekil 4.32. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen ve jelden ekstrakte edilen tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu amplifikasyon ürünleri. M: 1 kb moleküler markör (Promega)

PCR ekstraksiyon ürünleri 25 µl (50 ng/µl) ve CP spesifik her bir primer (5 pmol/µl) sekans için Iontek firmasına gönderilmiş ve hem forward hem de reverse yönde Sanger teknolojisine göre baz dizi analizleri elde edilmiştir. Her iki yöndeki sekans analiz sonuçları Codon Code Aligner programında (Demo Version 5.0.1) hizalanmış ve dizinin düzgün okunan bölümlerinde her iki yöndeki okumada konsensüs sağlanan baz dizileri elde edilmiştir. Bu aşamada yalnızca SÇ-9 nolu izolata ait örnek için düzgün sekans sonucu elde edilebilmiştir.

Sonucu alınamayan SB-12, SB-63, SÇ-83 ve SÇ-84 nolu izolatlara ait örnekler için tekrar sekansa gönderilmek üzere 100 µl hacimde Yöntem 3.2.6.2 (f)'de belirtildiği şekilde Qiagen tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu oluşturulmuştur. Reaksiyon, Herboloji laboratuvarındaki Rotor Gene Q Realtime PCR cihazının 100 µl'lik reaksiyon hacmi için uygun olmaması sebebiyle Viroloji laboratuvarındaki Biorad marka PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler (8 µl) Şekil 4.33'de olduğu gibidir.

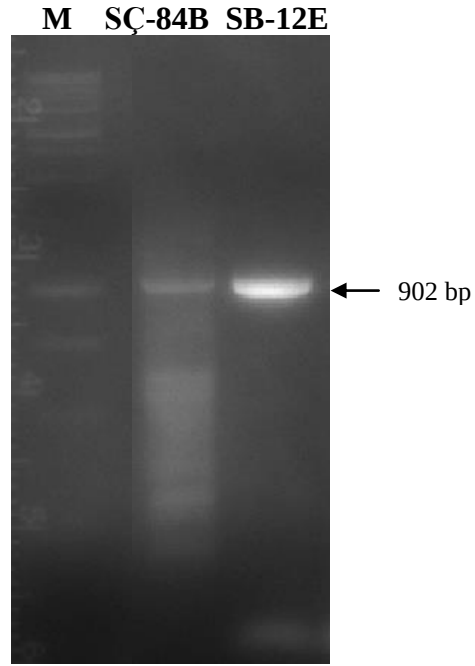


Şekil 4.33. PVY CP bölgesine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen 100 µl hacimde tek aşamalı RT-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri M: 1 kb moleküler markör (Promega)

Çalışma sonucunda SB-12, SB-63, SÇ-83 ve SÇ84 nolu izolatların tamamında bant elde edilmiştir. Ancak bantların zayıf olması nedeni ile sekansa gönderilememiştir. Bu test, reaksiyon hacminin artırılmasının sonucu olumsuz etkilediğini göstermiştir.

Daha sonra SÇ-84 (M-MLV RT enzimi ile Yöntem 3.2.6.2 (b)'de belirtildiği şekilde elde edilen cDNA) ve SB-12 (Superscript RT enzimi ile Yöntem 3.2.6.2 (a)'da belirtildiği şekilde elde edilen cDNA) nolu izolatlar kullanılarak, Phusion® High-fidelity DNA Polimeraz enzimi (New England Biolabs) ile Yöntem 3.2.6.2 (e)'de belirtildiği şekilde 50 µl hacimde PCR reaksiyonu oluşturulmuştur.

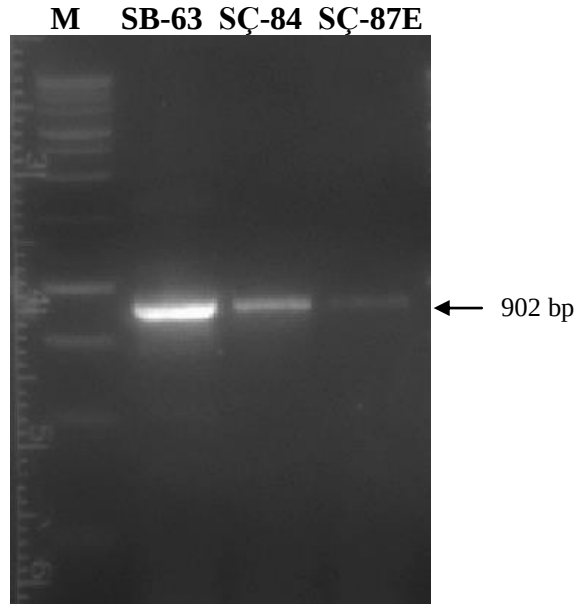
Çalışma sonucunda jelde SB-12 nolu izolatin CP bölgesine spesifik büyüklükte ürün gözlenmiştir. M-MLV RT enzimi ile cDNA'sı elde edilen 84 nolu izolata ait ürün ise zayıf oluşmuştur (Şekil 4.34). Bu nedenle yalnızca SB-12 nolu izolat sekans analizine gönderilmiştir.



Şekil 4.34. PVY CP bölgesine spesifik primerler ve Phusion High-fidelity DNA Polimeraz Enzimi kullanılarak gerçekleştirilen iki aşamalı RT-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri, M: 1 kb moleküler markör (Promega), SÇ-84B: M-MLV RT kullanılarak cDNA elde edilmiş SÇ-84 nolu izolat SB12E: Superscript RT enzimi kullanılarak cDNA elde edilmiş SB-12 nolu izolat

Daha sonra SB-63, SÇ-84 ve SÇ-87E nolu izolatlara ait RNA'lar ile Promega tek aşamalı RT-PCR kiti kullanılarak 50 µl hacimde Yöntem 3.2.6.2 (g)'de belirtildiği şekilde tekrar yeni bir PCR reaksiyonu oluşturulmuştur:

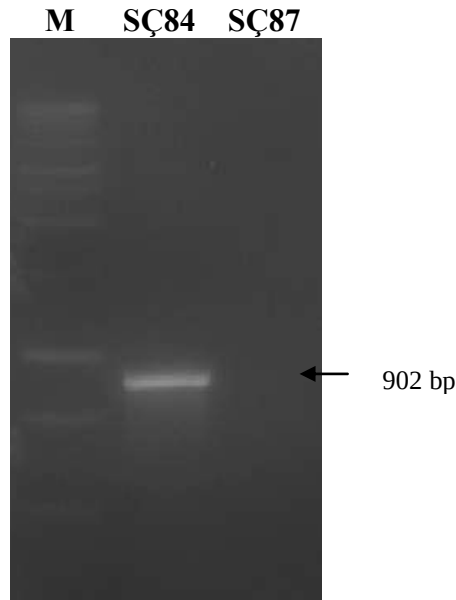
İzolatların tamamında beklenen büyüklükte ürünler elde edilmiştir ancak SB-63 nolu izolata ait amplifikasyon ürünü daha yoğun oluşmuştur (Şekil 4.35). Her 3 izolat sekans analizi için gönderilmiştir.



Şekil 4.35. PVY CP bölgesine spesifik primerler ve Promega tek aşamalı RT-PCR kiti kullanılarak 50 µl hacimde gerçekleştirilen reaksiyon sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri, M: 1 kb moleküler markör (Promega)

Son olarak SÇ-84 nolu izolat ile 4 µl RNA ve SÇ-87 nolu izolat ile 8 µl RNA kullanılarak Promega tek aşamalı RT-PCR kiti ile tekrar Yöntem 3.2.6.2 (g)'de belirtildiği şekilde 50 µl hacimde PCR reaksiyonu oluşturulmuştur.

Çalışma sonucunda SÇ-84 nolu izolata ait örnekte beklenen büyüklükte ürün elde edilmiş, SÇ-87 nolu izolatta ise elde edilememiştir (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. SÇ-84 nolu izolat ile 4 µl RNA ve SÇ-87 nolu izolat ile 8 µl RNA kullanılarak Promega tek aşamalı RT-PCR kiti kullanılarak 50 µl hacimde oluşturulan PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri, M: 1 kb moleküler markör (Promega)

SÇ-84 nolu izolata ait 2 PCR örneği tekerrür olması amacı ile sekansa gönderilmiştir. Sonuç olarak, çalışmanın bu aşamasına kadar olan denemelerde SB-9 nolu izolatin CP bölgesine ait ürünlerin sekans sonuçları elde edilebilmiş, SB-12 (Şekil 4.34), SB-63, SÇ-84 ve SÇ-87 (Şekil 4.35 ve 4.36) nolu izolatlara ait ürünler ise sekans analizi için gönderilmiştir.

PCR ürünlerinin (40 µl) CP spesifik primerler (10 pmol/µl) kullanılarak her iki yönde baz dizilişleri Sanger teknolojisine göre elde edilmiştir. Sekans analizleri sonucunda SB-12 nolu izolattan sonuç alınamamıştır. Sonuç alınan SB-63, SÇ-84 ve SÇ-87 nolu izolatlara ait her iki yöndeki sekans analiz sonuçları hem CLC Main Workbench (Demo Version 7.03) ve hem de Codon Code Aligner (Demo Version 5.0.1) Programlarında hizalanmış ve dizinin düzgün okunan bölümlerinde her iki yöndeki okumaya ait konsensüs sağlanan baz dizileri elde edilmiştir. EK A'da SÇ-84 nolu izolata ait 2 farklı PCR ürününün DNA dizi analizleri ve CLC Main Workbench programında hizalanmış kriptogram eğrileri görülmektedir. Bu eğriler incelendiğinde, SÇ-84 nolu izolata ait ham sekans sonuçlarının oldukça düzgün bir şekilde yorumlanabilir olduğu anlaşılmaktadır. Sonuçların hem güvenilirliği hem de daha uzun bölgenin okunma olasılığını artırma bakımından, aynı izolata ait birden fazla tekerrür ile sekans analizine gidilmesinin doğru olacağı kanısına varılmıştır.

CP gen bölgesinin PCR yöntemi ile çoğaltılması ve sekans verilerinin analizi ile ilgili çalışmalarda, toplam 12 PVY izolatu denenmiş ancak 7 izolat için beklenen büyüklükte ürün elde edilebilmiştir. Sekans analizleri için yeterli ürün elde edilen PVY-0 patotipine ait 4 (SÇ-9, SB-12, SB-63 ve SÇ-83) ve PVY-1 patotipine ait 2 (SÇ-84 ve SÇ-87) olmak üzere, toplam 6 izolata ait PCR ürünleri sekans analizine gönderilmiştir. SÇ-9 ve SB-63, SÇ-84 ve SÇ-87 nolu izolatlara ait konsensüs sağlanan sekans dizileri, NCBI (National Center for Biotechnology Information)'ya kayıt edilmiştir (Çizelge 4.9, EK B).

Çizelge 4.9. PVY izolatlarının NCBI'daki kayıt numaraları

İzolat Adı	Toplandığı Yer	Patotipi	Accession no
SÇ-9	Çarşamba	PVY-0	KJ847048
SB-63	Bafra	PVY-0	KJ847047
SÇ-84	Çarşamba	PVY-1	KJ847045
SÇ-87	Çarşamba	PVY-1	KJ847046

PVY izolatlarına ait sekanslar daha sonra NCBI'da nükleotid-BLAST yapılarak analiz edilmiş ve izolatların dünyadaki diğer PVY izolatları ile benzerlikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.10, EK C). Ayrıca izolatların NCBI'da kayıtlı olan en benzer PVY izolatlar ile protein-BLAST yapılarak aminoasit düzeyinde karşılaştırması yapılmıştır. SÇ-9, SÇ-84 ve SÇ-87 nolu izolatlar, İspanya domates izolatı LYE 84.2 (AJ439545) ve Türkiye biber izolatı Tu12.3 (AJ303095) ile aminoasit düzeyinde % 99 oranında benzer bulunmuştur. SB-63 nolu izolat ise ABD'de patatesten izole edilen PB312 (EF026075) izolatı ile % 100 benzer bulunmuştur (Şekil 4.37).

Çizelge 4.10. PVY izolatlarının CP bölgesi nükleotit dizilerine göre farklı PVY izolatlarıyla dizi benzerlikleri

Patotip	İzolat Adı	Accession no	Orijin Ülke	Orijin Bitki	Patotip/Irk	Benzerlik (%)
SÇ-9 (PVY-0)	Tu12.3	AJ303095	Türkiye	Biber	PVY-1	97
	LYE 84.2	AJ439545	İspanya	Domates	PVY-0	97
	K16.94	AJ303094	Tunus	Biber	PVY-1	95
	Si-15	AJ303093	İtalya	Biber	PVY-1	95
	SON-41	AJ439544	Fransa	<i>S. nigrum</i>	PVY-1,2	94
	PRI-509	EU563512	Hollanda	Patates	PVY ^C	95
	YC Zb	JF804785	Polonya	Patates	PVY ^C	95
	PVY-Kh81	EF192311	İran	Patates	PVY ^O	93
	SASA 207	AJ584851	UK	Patates	PVY ^N	91
	Cou8/03	JF804780	Polonya	Patates	PVY ^{NTN}	88
	PB312	EF026075	ABD	Patates	PVY ^{NTN}	88
SB-63 (PVY-0)	PB312	EF026075	ABD	Patates	PVY^{NTN}	99
	Cou8/03	JF804780	Polonya	Patates	PVY^{NTN}	99
	PVY-Kh81	EF192311	İran	Patates	PVY ^O	92
	Tu12.3	AJ303095	Türkiye	Biber	PVY-1	90
	K16.94	AJ303094	Tunus	Biber	PVY-1	90
	Si-15	AJ303093	İtalya	Biber	PVY-1	90
	SON-41	AJ439544	Fransa	<i>S. nigrum</i>	PVY-1,2	90
	SASA 207	AJ584851	UK	Patates	PVY ^N	91
	LYE 84.2	AJ439545	İspanya	Domates	PVY ^O	89
	PRI-509	EU563512	Hollanda	Patates	PVY ^C	89
	YC Zb	JF804785	Polonya	Patates	PVY ^C	89
SÇ-84 (PVY-1)	Tu12.3	AJ303095	Türkiye	Biber	PVY-1	98
	LYE 84.2	AJ439545	İspanya	Domates	PVY-0	97
	Si-15	AJ303093	İtalya	Biber	PVY-1	96
	K16.94	AJ303094	Tunus	Biber	PVY-1	95
	SON-41	AJ439544	Fransa	<i>S. nigrum</i>	PVY-1,2	95
	PRI-509	EU563512	Hollanda	Patates	PVY ^C	95
	YC Zb	JF804785	Polonya	Patates	PVY ^C	95
	PVY-Kh81	EF192311	İran	Patates	PVY ^O	93
	SASA 207	AJ584851	UK	Patates	PVY ^N	91
	Cou8/03	JF804780	Polonya	Patates	PVY ^{NTN}	89
	PB312	EF026075	ABD	Patates	PVY ^{NTN}	89
SÇ-87 (PVY-1)	Tu12.3	AJ303095	Türkiye	Biber	PVY-1	98
	LYE 84.2	AJ439545	İspanya	Domates	PVY-0	98
	K16.94	AJ303094	Tunus	Biber	PVY-1	96
	Si-15	AJ303093	İtalya	Biber	PVY-1	96
	PRI-509	EU563512	Hollanda	Patates	PVY ^C	96
	YC Zb	JF804785	Polonya	Patates	PVY ^C	96
	SON-41	AJ439544	Fransa	<i>S. nigrum</i>	PVY-1,2	96
	PVY-Kh81	EF192311	İran	Patates	PVY ^O	93
	SASA 207	AJ584851	UK	Patates	PVY ^N	92
	PB312	EF026075	ABD	Patates	PVY ^{NTN}	90
	Cou8/03	JF804780	Polonya	Patates	PVY ^{NTN}	90

Not: PVY-0, PVY-1, PVY-1,2: Biberdeki sınıflandırmaya göre patotipler, PVY^O, PVY^C, PVY^N, PVY^{NTN}: patatesteki sınıflandırmaya göre ırklar

PVY CP Bölgesi nükleotit dizilerine göre PVY-0 patotipine ait SÇ-9 izolatu, en yüksek benzerliđi % 97 ile PVY-0 patotipine ait İspanya domates izolatu LYE 84.2 (AJ439545) ve PVY-1 patotipine ait Türkiye’den elde edilmiř biber izolatu Tu12.3 (AJ303095) ile göstermiřtir. Buna karřılık, SÇ-9 izolatu patates izolatları ile daha dūřuk oranda (% 89- % 95) benzerlik göstermiřtir (Çizelge 4.10).

PVY-0 patotipine ait SB-63 nolu izolatuının, gen bankasındaki ABD izolatu PB312 (EF02607) ve Polonya izolatu Cou8/03 (JF804780) gibi patatesten izole edilen PVY^{NTN} ırkına ait birçok patates izolatu ile % 99 oranında benzer olduğu ortaya konulmuştur. SB-63 nolu izolat diğer patates izolatları, *S. nigrum*, domates ve biber izolatları ile daha dūřuk oranda benzerlik (% 89-% 92) göstermiştir (Çizelge 4.10).

PVY-1 patotipine ait SÇ-84 nolu izolat, PVY-1 patotipine ait Türkiye’den elde edilmiş olan biber izolatu Tu12.3 (AJ303095) ile % 98 oranında benzer, PVY-0 patotipine ait İspanya domates izolatu LYE 84.2 (AJ439545) ile ise % 97 oranında benzer bulunmuştur. Diğer taraftan SÇ-84 nolu izolat, patates izolatları (JF804785, JF804785, EF192311, AJ584851, JF804780, EF026075), *S. nigrum* izolatu ve biber izolatları (AJ303094, AJ303093) ile % 89 ile % 96 arasında değişen oranlarda benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.10).

PVY-1 patotipine ait SÇ-87 nolu izolat PVY-1 patotipine ait Türkiye’den elde edilen biber izolatu Tu12.3 (AJ303095) ve PVY-0 patotipine ait İspanya domates izolatu LYE 84.2 (AJ439545) ile % 98 oranında benzer olarak bulunmuştur. SÇ-87 nolu izolat patates izolatları, *S. nigrum* ve biber izolatları ile % 90 ile % 96 arasında değişen oranlarda benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.10).

PVY CP bölgesi nükleotit dizi analizleri sonucunda SÇ-9, SÇ-84 ve SÇ-87 nolu izolatlar en yüksek benzerliđi (% 97-% 98) PVY-1 patotipine ait Türkiye’den elde edilmiř biber izolatu Tu12.3 (AJ303095) ve PVY-0 patotipine ait İspanya domates izolatu LYE 84.2 (AJ439545) ile göstermiřtir. Her üç izolat PVY-1,2 patotipine ait SON-41 izolatu ile daha dūřuk oranda (% 94-% 96) benzerlik göstermiřtir. Bu durum PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin CP bölgesinin birbirine çok benzer, her iki patotipin PVY-1,2 patotipine ise daha dūřuk oranda benzer olduđunu göstermektedir. Llave ve diđ. (1999), İspanya’da biber yetiřtirilen alanlardan elde edilen PVY patotipleri PVY-0, PVY-1 ve PVY-1,2’nin CP nükleotit ve aminoasit dizilerini karřılařtırmıřlar ve en yüksek dizi benzerliđinin 0 ve 1 patotipi arasında

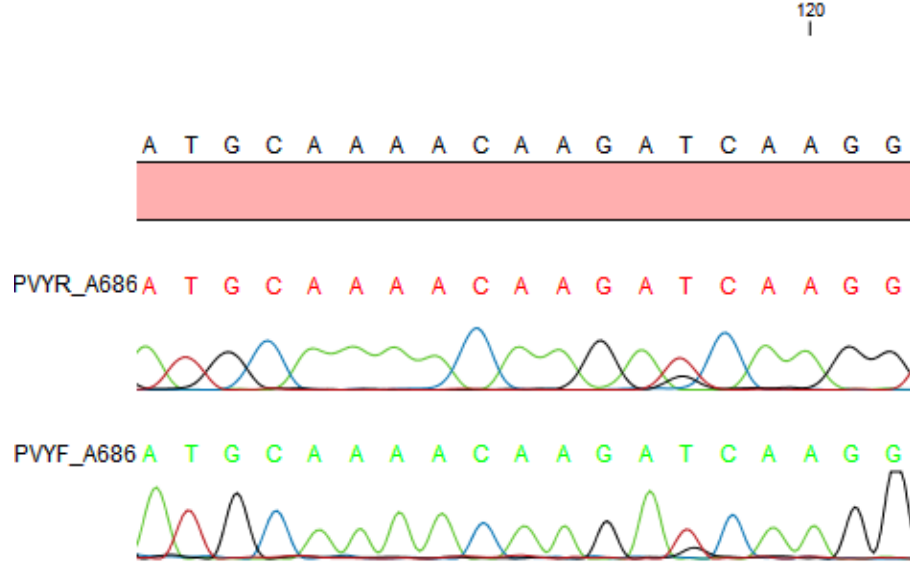
olduğunu (% 99.2), en düşük benzerliğin ise 0 ve 1 patotipleri ile patotip 1,2 arasında olduğunu (% 98.1) belirlemişlerdir. PVY biber izolatlarının biber izolatu olmayanlarla (tütün ve patates izolatları) oldukça uzak ilişkili olduğunu saptamışlardır.

SÇ-9, SÇ-84 ve SÇ-87 nolu izolatlar gen bankasındaki patates izolatları (PVY^N, PVY^{NTN} ve PVY^O) ile genel olarak daha düşük oranda (% 88-% 93) benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.10). Buna karşın her üç izolat patatesten izole edilen PVY^C ırkına ait izolatlarla ise daha yüksek oranda (% 95-% 96) benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.10). Blanco-Urgoiti ve diğ. (1996), farklı konukçulardan izole edilen PVY izolatları ile yaptıkları RFLP analizleri sonucunda oluşturdukları filogenetik ağaçta O, N ve NP ırk gruplarının oluştuğunu ve biber izolatlarının NP ırk grubunda yer aldığını, O ve N ırk grubundaki izolatlar ile aralarındaki genetik mesafenin uzak olduğunu belirlemişlerdir. Blanco-Urgoiti ve diğ. (1998) pek çok biber izolatuının patatesteki PVY^C izolatları ile yakından ilişkili olduğunu ve serolojik, biyolojik ve moleküler analizler (CP geni dizisi ve RFLP analizleri) sonucuna göre hemen hemen tüm biber izolatlarının C ırk grubunda yer aldığını belirlemişlerdir. Bu tezdeki çalışmalarda üç izolatu (SÇ-9, SÇ-84 ve SÇ-87) da PVY^C ırkına ait izolatlarla daha yüksek oranda benzer bulunması, izolatların PVY^C ırkı ile yakın ilişkili olduğunu göstermektedir.

SÇ-9, SÇ-84 ve SÇ-87 nolu izolatlar ilginç bir şekilde İspanya’da domatesten izole edilen LYE 84.2 (AJ439545) izolatu ile yüksek oranda (sırasıyla % 97, % 97, % 98) benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.10). Mostafae ve diğ. (2008), İran’da Tahran ilinde 2005 ve 2006 yıllarında biber tarlalarından elde ettikleri PVY izolatlarının CP gen bölgesinin nükleotit dizilerine göre Tahran PVY izolatlarının en yüksek oranda LYE 84.2 domates izolatu ile benzer (% 95) olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu tez çalışmasında da her üç izolat LYE 84.2 izolatu ile yüksek oranda benzerlik göstermiştir. LYE 84.2 izolatu domatesten izole edilmiş olmasına rağmen, biberdeki sınıflandırmaya göre PVY-0 patotipi olarak, dayanıklı *L. hirsutum* PI 2470087 hattında ise dayanıklılık kırıcı özellikte bir izolat olarak belirlenmiştir (Morel ve diğ., 2000).

CP nükleotid dizi analizleri sonucunda dört izolat içerisinde en farklı izolatu PVY-0 patotipine ait Bafra’dan elde edilen SB-63 nolu izolat olduğu ortaya konulmuştur. SB-63 nolu izolat, gen bankasındaki PB312 (EF026075) ve Cou8/03 (JF804780) gibi patatesten izole edilen ve rekombinant bir ırk olan PVY^{NTN},e ait

birçok patates izolatu ile nükleotid düzeyinde % 99 oranında benzer bulunmuştur (Çizelge 4.10). Ayrıca, baz dizisi analizleri SB-63 nolu izolatu iki farklı virüs popülasyondan oluştuğuna işaret etmiştir. Çünkü bu izolatu sekans verileri incelendiğinde (Şekil 4.38) hem forward hem de reverse okumada 117. pozisyonda Timin ve Guanin bazlarının her ikisinin de bulunduğu görülmüştür.



Şekil 4.38. PVY SÇ-63 nolu izolatu CP genine ait baz dizilişi kromatogram eğrisi

Karışık virüs popülasyonlarının olması rekombinasyon ihtimalini de artırmaktadır. *Potyvirus* cinsinde yer alan virüs türlerinin doğada rekombinasyon yoluyla yeni ırklar oluşturabildiği bilinmektedir. PVY^{NTN}; PVY^N ve PVY^O ırklarına ait izolatların rekombinasyonları sonucunda oluşan patatese özgü bir ırktır (Ogawa ve diğ., 2008). SB-63 nolu izolat diğer patates ırkları PVY^O (EF192311), PVY^N (AJ584851) ve PVY^C (EU563512) ile daha düşük oranda (sırasıyla % 92, %91 ve %89) benzerlik göstermiştir. Llave ve diğ. (1999), İspanya’da biber yetiştirilen alanlardan elde edilen PVY-0, PVY-1, ve PVY-1,2 patotiplerinin CP nükleotit ve aminoasit dizilerini karşılaştırmışlar, PVY biber izolatlarının biber izolatu olmayanlarla (tütün ve patates izolatları) oldukça uzak ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında ise PVY’nin SB-63 nolu biber izolatu ilginç bir şekilde PVY^{NTN} ırkı ile en yüksek benzerlik oranına (% 99) sahiptir. SB-63 nolu izolat, Türkiye’den izole edilen Tu 12.3 biber izolatu ile yalnızca % 90 oranında benzerlik göstermiştir. Diğer taraftan, domates izolatu LYE 84.2 izolatu ile % 89 oranında, PVY-0 patotipine ait P21-82 İspanya biber izolatu (AJ303097) ile % 90, PVY-1 patotipine ait K16.94 Tunus biber izolatu (AJ303094) ile % 90 oranında,

PVY-1 patotipine ait İtalya biber izolatu Si-15 (AJ303093) ile % 90 oranında benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.10). Bu sonuçlar SB-63 nolu izolatu patates orijinli olabileceğini ya da rekombinat bir ırk olabileceğine işaret etmiştir. Heldak (1997), Slovakya’da patates bitkisinden izole ettikleri iki izolatu laboratuvar şartlarında biberi enfekte edebildiğini ve izolatların biyolojik ve serolojik karakterlerine göre PVY^{NTN} ırkına ait olduğunu belirlemişlerdir. Gebre Selassie ve diğ. (1983), Fransa’da farklı konukçulardan izole edilen PVY izolatları ile yaptıkları bir çalışmada patates izolatu biber bitkisini enfekte edemediğini ortaya koymuşlardır. Soto ve diğ. (1994), PVY’nin biber ve patates izolatlarının daha çok biber ve patatese özgü olduklarını ve aralarında geçişlerin sınırlı oranda olduğunu bildirmişlerdir. Romero ve diğ. (2001), patates izolatu biberi enfekte edemediğini belirlemişlerdir. D’Aquino ve diğ. (1995), İtalya’da yaptıkları bir çalışmada patates orijinli ırklar PVY^N, PVY^O ve PVY^C’yi 19 farklı biber çeşidine inokule etmişler, patates ırklarından yalnızca PVY^O ırkının tek bir biber çeşidini enfekte edebildiğini ortaya koymuşlardır. Cardin ve Moury (2008) ise biberi enfekte edebilen izolatları yalnızca PVY^O ve PVY^C ırkları olarak tanımlamışlardır. Horvath (1966a), Horvath (1966b), McDonald ve Kristjanson (1993), Le Romancer ve diğ. (1994), bazı patates izolatlarının biberi enfekte edebildiğini bildirmişlerdir. Horvath ve diğ. (2000), Macaristan’da 18 biber çeşidini PVY^{NTN} ırkına karşı mekanik inokulasyon yöntemi ile test etmişler ve çeşitlerden 5 tanesinin biber çeşitlerinde enfeksiyon oluşturduğunu belirlemişlerdir. Kazinczi ve diğ. (2003), Macaristan’da 12 biber ıslah hattını PVY^{NTN} ırkına karşı mekanik inokulasyon yöntemi ile test etmişler, hatlardan 7 tanesinde sistemik enfeksiyon ortaya çıktığını belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında doğada biberi enfekte etmiş olan SB-63 izolatu PVY^{NTN} ile % 99 benzer olarak bulunmuştur. Biberden izole edilen PVY^{NTN} ırkına ait NCBI’da kayıtlı olan 2 izolat (Macaristan’dan Ca/H izolatu, NCBI No: AJ535662 ve Polonya’dan 08-11 izolatu, NCBI No: JF804782) bulunmaktadır. Fakat her iki çalışma da henüz yayınlanmamıştır.

PVY^{NTN} ve PVY^N ırkı diğer patates ırklarından farklı olarak *N .tabacum* Samsun NN ve *N .tabacum* Xanthi’de damar nekrozu oluşturmaktadır (Ali ve diğ., 2008, Kogovsek ve diğ., 2008, Rolland ve diğ., 2008; Ibaba, 2009). Bu nedenle -86 °C’de muhafaza edilmiş olan SB-63 nolu izolata ait örnek, *N .tabacum* Samsun NN ve *N .tabacum* Xanthi, patates (*S. tuberosum*-Marfona) ve PVY’ye hassas konukçu Yolo Wonder çeşidine 5 tekerrürlü olacak şekilde mekanik olarak inokule edilmiştir.

İnokulasyon sonrasında SB-63 izolatı, patates ve Yolo Wonder biber çeşidinde enfeksiyona neden olmamıştır. Bitkilere uygulanan ELISA sonucunda ise hassas biber çeşidi de dahil olmak üzere tüm bitkilerde negatif sonuç elde edilmiş olması, SB-63 nolu PVY izolatının enfektivitesini kaybetmiş olabileceğine işaret etmiştir.

SB-63 nolu izolat eğer gerçekten PVY^{NTN} ırkı ise PVY genomundaki CP, VPg, P1 gibi patojenik karakterleri içeren bölgelerin tüm nükleotid dizilerinin belirlenerek rekombinasyon ırk olup olmadığının araştırılması gerekmektedir. Ayrıca başta patates çeşitleri olmak üzere farklı tütün türleri, domates çeşitleri vb. gibi farklı konukçu bitkilere inokule edilerek ayrıntılı biyolojik karakterizasyonunun yapılması gerekmektedir.

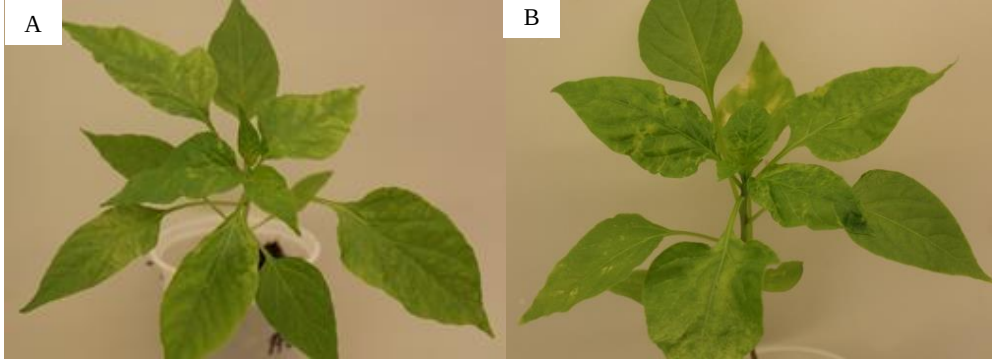
4.5 Biber Çeşit ve Hatlarının PVY Patotiplerine Karşı Reaksiyonları

Çalışmada, 30 adet biber ıslah hattı ve çeşitli firmalardan temin edilen 23 biber çeşidinin PVY patotiplerine dayanıklılık durumları araştırılmıştır. Hassas kontrol olarak Yolo Wonder, dayanıklı kontrol olarak ise CM-334 çeşidi kullanılmıştır. İnokulasyonlarda PVY-0 patotipi olarak SB-12, PVY-1 patotipi olarak ise SÇ-87 nolu izolat (Şekil 4.39) kullanılmıştır. İnokulasyondan 21 gün sonra bitkilerde oluşan semptomlar değerlendirilmiş, sistemik enfeksiyon gösteren bitkiler hassas (S), göstermeyenler ise dayanıklı (R) olarak değerlendirilmiştir (Echer ve Costa, 2002). Ayrıca inokulasyondan 21 gün sonra bitkiler ELISA ile serolojik olarak test edilmiştir.

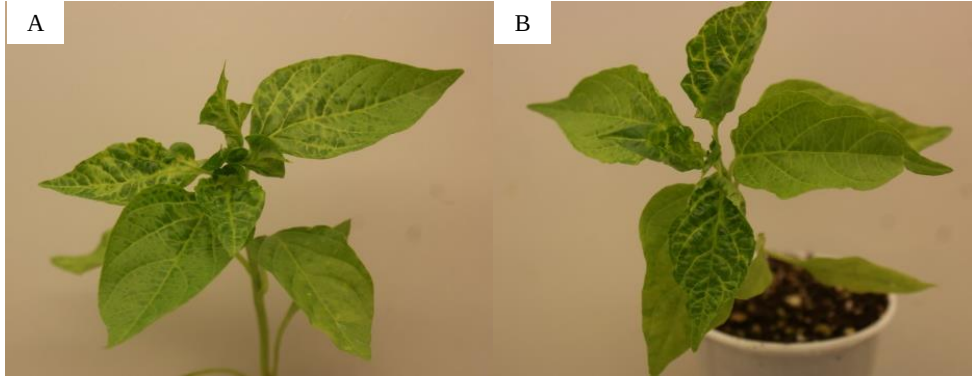


Şekil 4.39. Yolo Wonder çeşidinde PVY-1 patotipine ait SÇ-87 nolu izolatın oluşturduğu şiddetli mozayik ve damar bantlaşması (sol) ve PVY-0 patotipine ait SB-12 nolu izolatın oluşturduğu mozayik (sağ)

PVY-0 ve PVY-1 patotipleri ile inokule edilen 30 biber ıslah hattının tamamında sistemik mozayik şeklinde belirtiler ortaya çıkmıştır (Şekil 4.40 ve 4.41).



Şekil 4.40. PVY-0 patotipinin ALT 1570 (A) ve 49-3 (B) ıslah hatlarında oluşturduğu yapraklarda mozayik ve damar bantlaşması



Şekil 4.41. PVY-1 patotipinin BK 2-5 (A) ve BS11-2-1 (B) ıslah hatlarında oluşturduğu yapraklarda şiddetli mozayik ve damarlarda renk açılması

Islah hatlarına ait bitkilere uygulanan ELISA testi sonucunda da tüm bitkiler pozitif reaksiyon vermiştir. Bu nedenle hatların tamamı hassas olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.11).

PVY-0 ile inokule edilen ıslah hatlarına yapılan ELISA sonucunda elde edilen absorbans değerleri 2 ile 3.5 arasında değişim göstermiştir. Hassas kontrol Yolo Wonder çeşidinde absorbans değeri 2.2, dayanıklı kontrol olarak kullanılan CM-334 çeşidinde ise absorbans değeri 0.1 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.11).

PVY-1 ile inokule edilen ıslah hatlarına yapılan ELISA sonucunda elde edilen absorbans değerleri ise 2.3 ile 3.4 arasında değişim göstermiştir. Hassas kontrol olarak kullanılan Yolo Wonder çeşidinde absorbans değeri 3, dayanıklı kontrol olarak kullanılan CM-334 çeşidinde ise absorbans değeri 0.1 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.11). Buzkan ve diğ. (2012), 15 adet yerel popülasyondan oluşan biber genotiplerinin PVY patotiplerine karşı reaksiyonlarını araştırmışlar ve benzer bir

şekilde tüm genotiplerin PVY-0, PVY-1 patotiplerine hassas olduklarını belirlemişlerdir.

Çizelge 4.11. Biber ıslah hatlarının PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı dayanıklılık durumları

Islah Hatları	PVY-0			PVY-1		
	Reaksiyon	ELISA	A405	Reaksiyon	ELISA	A405
Bk-2-4-1	S	P	2.6	S	P	3.2
Bs 11-10-1	S	P	2.5	S	P	3.3
Bk-1-5	S	P	2.6	S	P	2.8
Bk-1-9	S	P	2.8	S	P	3.2
Bk 2-5-1	S	P	3.3	S	P	3.2
Bk-2-4-2	S	P	2.9	S	P	3.3
Bk-1-1	S	P	3	S	P	2.8
Bk-1-4-2	S	P	2,6	S	P	3.1
Alt 904 A	S	P	2.5	S	P	3
Alt 1570	S	P	3.5	S	P	3.4
Alt 831-A	S	P	2.5	S	P	3
907	S	P	3	S	P	2.3
882	S	P	2.5	S	P	3.3
881-A	S	P	2.8	S	P	3.3
Ty-35	S	P	3.4	S	P	2.4
Ty-311	S	P	3.4	S	P	3
Ty-283	S	P	3.3	S	P	3.1
Bs-11-2-1	S	P	3	S	P	3
Bs-5-2	S	P	2.6	S	P	3
S-3-1	S	P	2	S	P	3
S-14-1	S	P	2.9	S	P	3.1
14	S	P	3.3	S	P	3.4
49-3	S	P	3.4	S	P	3.1
137	S	P	3.5	S	P	3.3
138	S	P	3.5	S	P	3.2
129	S	P	2.7	S	P	3.2
173	S	P	3,5	S	P	3
875	S	P	2.7	S	P	3.1
903	S	P	2.5	S	P	3.2
Çtk-2010	S	P	3.2	S	P	3.2
Y.Wonder	S	P	2.2	S	P	3
CM 334	R	N	0.1	R	N	0.12
Negatif Kontrol			0.1			0.09
Pozitif Kontrol			3.2			3.3

S: Hassas, R: Dayanıklı, P: Pozitif, N: Negatif

Çeşitli firmalardan temin edilen 23 biber çeşidinin PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı test edilmesi sonucunda çeşitlerden bir tanesinin yalnızca PVY-0 patotipine dayanıklı, üç tanesinin ise her iki patotipe karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Erkan ve Schlosser (1987), Türkiye’de 1986 yılında biber bitkilerinde tespit ettikleri PVY izolatının 9 biber çeşidindeki reaksiyonlarını mekanik inokulasyon ve ELISA yöntemlerini kullanarak araştırmışlar ve çeşitlerin iki tanesinin toleranslı olabileceklerini, 7 çeşidin ise hassas olduklarını ortaya koymuşlardır.

Çizelge 4.12. Biber çeşitlerinin PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı dayanıklılık durumları

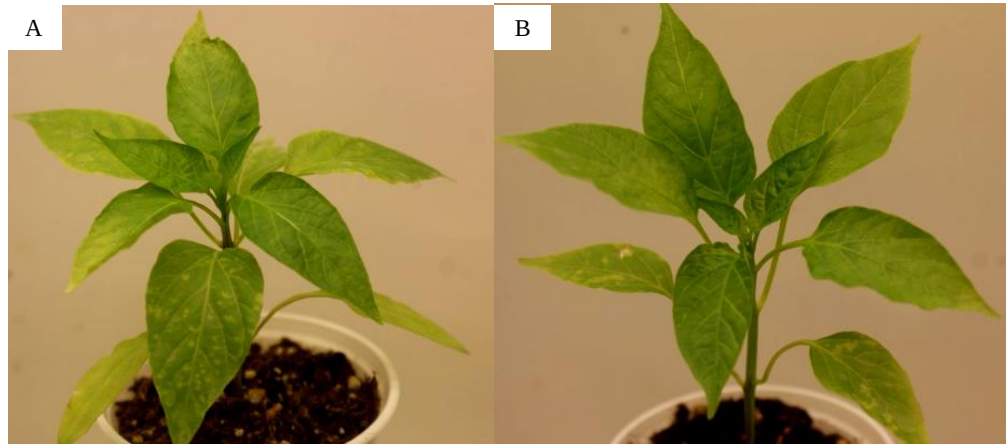
Çeşitler	PVY-0			PVY-1		
	Reaksiyon	ELISA	A405	Reaksiyon	ELISA	A405
Menta RZ	R	N	0.06	S	P	0.5
Sahem	R	N	0.05	R	N	0.05
Drago	R	N	0.05	R	N	0.05
Gaston	R	N	0.06	R	N	0.06
Flora	S	P	0.4	S	P	3
Yellow Block	S	P	1.3	S	P	3.3
Orion	S	P	0,7	S	P	2.1
Venüs	S	P	1	S	P	3
Kapya	S	P	1	S	P	3.2
Kandil Dolma	S	P	1.3	S	P	3.3
Cümbüş	S	P	3.2	S	P	3.3
Üçburun	S	P	3.3	S	P	3.3
Bafra	S	P	3.4	S	P	3.4
Elmas	S	P	2	S	P	3.4
Seki	S	P	3	S	P	3.2
Safran	S	P	3.2	S	P	3.3
Arena	S	P	3	S	P	3.4
Mert	S	P	3.3	S	P	3.5
Zafer	S	P	3.2	S	P	3.3
İstek	S	P	2.7	S	P	3.3
Dut	S	P	2.6	S	P	3.4
Dilber	S	P	3.3	S	P	3.3
Abide	S	P	3	S	P	3.2
Y.Wonder	S	P	3	S	P	3
CM 334	R	N	0.1	R	N	0.1
Negatif Kontrol			0.05			0.06
Pozitif Kontrol			3.3			3.3

S: Hassas, R: Dayanıklı, P: Pozitif, N: Negatif

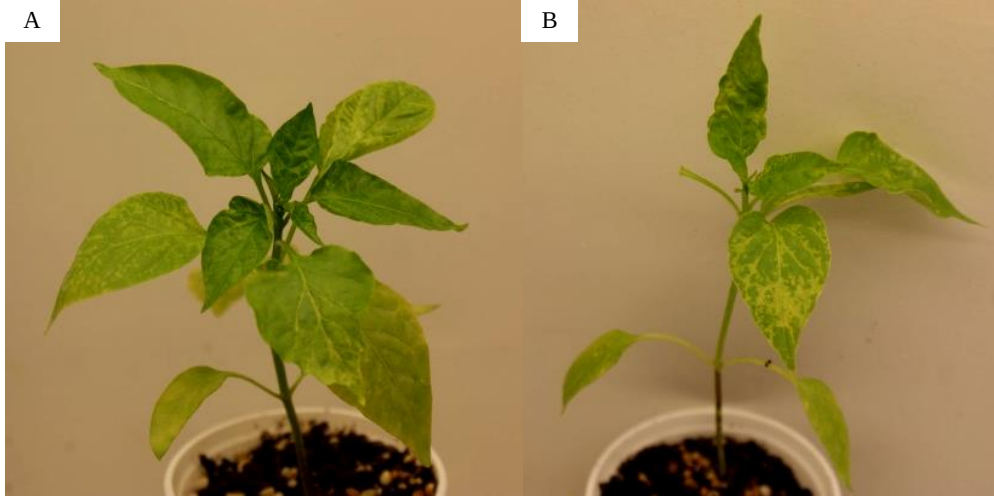
Buzkan ve diğ. (2012), Maraş 1 ve Sena isimli iki ticari çeşidin PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı hassas olduklarını belirlemişlerdir. Çelik ve diğ. (2012), 30 biber çeşidini Antalya ilinde biber bitkilerinden izole edilen PVY-0 patotipine karşı test etmişler ve yalnızca Campari çeşidinin dayanıklı olduğunu ortaya koymuşlardır.

PVY-0 ve PVY-1 patotipleri ile inokule edilen Sahem, Drago ve Gaston çeşitlerine ait bitkiler her iki patotipe karşı herhangi bir simptom oluşturmamışlardır. PVY-0 ve PVY-1 ile inokule edilen Sahem, Drago ve Gaston çeşitlerine ait bitkilere uygulanan ELISA sonucu da negatif olarak değerlendirilmiş ve bu çeşitlerin her iki patotipe karşı dayanıklı oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

PVY-0 patotipi ile inokule edilen Flora, Yellow Block, Orion, Venüs (Şekil 4.40), Kapyra (Şekil 4.43) ve Kandil Dolma (Şekil 4.42) çeşitlerinde inokulasyon sonrasında sistemik belirtiler oluşmuş ve çeşitlere ait tüm tekerrürlere uygulanan ELISA sonuçları pozitif (enfekteli) olarak değerlendirilmiştir. Testlemeler sonucunda çeşitlerin PVY-0 patotipine karşı hassas oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Ancak bu çeşitlerin ELISA absorbans değerleri sırasıyla 0.4, 1.3, 0.7, 1.0 1.0 ve 1.3 olarak diğer çeşitlere oranla daha düşük elde edilmiştir. Özellikle PVY-0 patotipi ile inokule edilen Flora (0.4) ve Orion (0.7) çeşitlerinin absorbans değerlerinin düşük elde edilmesi, bu çeşitlerin PVY-0 patotipine karşı toleranslı olabileceğini göstermektedir.



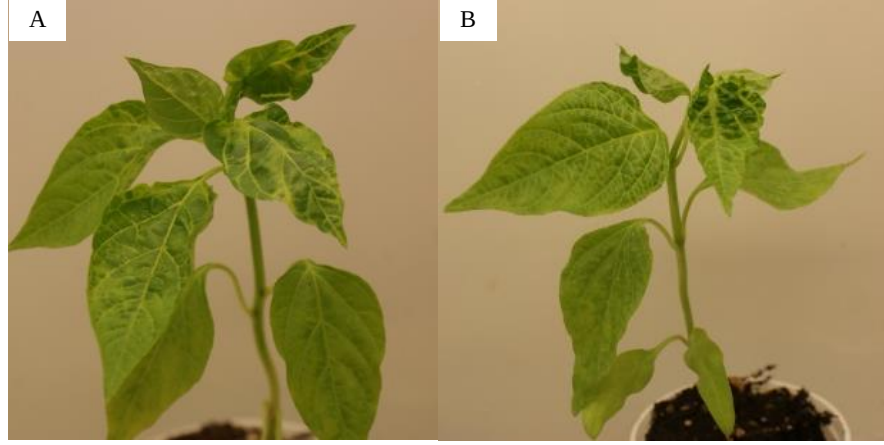
Şekil 4.42. PVY-0 patotipinin Venüs (A) ve Kandil Dolma (B) çeşitlerinde oluşturduğu mozayik simptomları



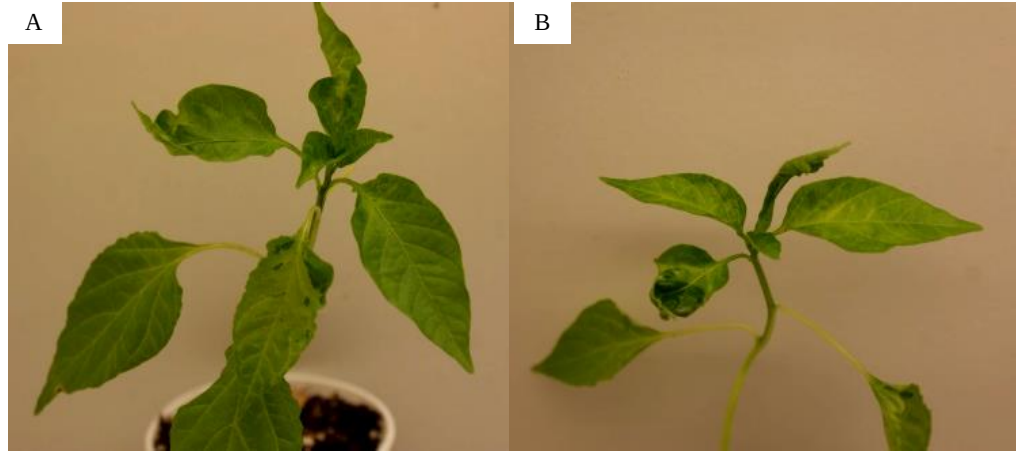
Şekil 4.43. PVY-0 patotipinin Kapyra (A) ve Cümbüş (B) çeşitlerinde oluşturduğu damarlarda renk açılması ve mozaik semptomları

PVY-1 patotipi ile inokule edilen Flora, Yellow Block, Orion, Venüs (Şekil 4.42), Kapyra ve Kandil Dolma (Şekil 4.44) çeşitleri benzer şekilde inokulasyon sonrası sistemik belirtiler oluşturmuşlardır. Çeşitlere ait bitkilere uygulanan ELISA sonuçları da pozitif elde edilmiş ve çeşitlerin hepsinin PVY-1 patotipine hassas oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

PVY-0 ve PVY-1 patotipleri ile inokule edilen Abide, Cümbüş (Şekil 4.43 ve 4.45), Üçburun, Bafra, Elmas, Seki, Safran (Şekil 4.45), Arena, Mert, Zafer, İstek, Dut ve Dilber çeşitlerinin tamamında sistemik belirtiler oluşmuş ve çeşitler her iki patotipe de hassas olarak değerlendirilmiştir. Çeşitlere ait bitkilere uygulanan ELISA sonucunda absorbans değerleri 2.0 ile 3.4 (Pozitif) arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.12). Çelik ve diğ. (2012), 30 biber çeşidini Antalya ilinde biber bitkilerinden izole edilen PVY-0 patotipine karşı test etmişler ve Abide, Seki, Safran, Zafer, Mert ve Bafra çeşitlerinin PVY-0 patotipine karşı hassas olduklarını belirlemişlerdir.



Şekil 4.44. PVY-1 patotipinin Kandil Dolma (A) ve Venüs (B) çeşitlerinde oluşturduğu damarlarda renk açılması ve şiddetli mozayik belirtileri



Şekil 4.45. PVY-1 patotipinin Safran (A) ve Cümbüş (B) çeşitlerinde oluşturduğu mozayik ve şekil bozukluğu belirtileri

Bu çalışmada, PVY-0 ve PVY-1 patotipleri ile inokule edilen Menta çeşidine ait bitkiler her iki patotipe karşı herhangi bir semptom oluşturmamışlardır. PVY-0 ile inokule edilen Menta çeşidine ait bitkilere uygulanan ELISA sonucunda bütün bitkiler negatif olarak değerlendirilmiş ve Menta çeşidinin PVY-0'a karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir. PVY-1 ile inokule edilen Menta çeşidine ait bitkilere uygulanan ELISA sonucunda ise A_{405} absorbans değeri 0.5 olduğundan Menta çeşidinin PVY-1'e karşı hassas olduğu kanısına varılmıştır (Çizelge 4.12). Ancak, absorbans değerinin düşük olması ve PVY-1 patotipine karşı tüm tekrürlerde herhangi bir semptom oluşmaması Menta çeşidinin PVY-1 patotipine toleranslı olabileceğine işaret etmiştir. Erkan ve Schlosser (1987), Türkiye'de 1986 yılında biber bitkilerinde tespit ettikleri PVY izolatının Danube ve Yolo Wonder çeşitlerinde semptom göstermediklerini ve düşük ELISA absorbans değeri verdiklerini ve bu iki çeşidin PVY izolatına karşı toleranslı olabileceklerini belirlemişlerdir.

PVY-0 ile inokule edilen ve hassas kontrol olarak kullanılan Yolo Wonder çeşidinde mozayik şeklinde belirtiler oluşmuş ve ELISA absorbans değeri 3.0 olarak (hassas) elde edilmiştir. Dayanıklı kontrol olarak kullanılan CM-334 çeşidinde ise inokulasyon sonrası herhangi bir belirti oluşmamış, ELISA testi absorbans değeri 0.1 olarak (dayanıklı) elde edilmiştir (Çizelge 4.12).

PVY-1 ile inokule edilen ve hassas kontrol olarak kullanılan Yolo Wonder çeşidinde mozayik şeklinde belirti oluşturan bitkilerin ELISA absorbans değeri 3.0 olarak (hassas) elde edilmiştir. Dayanıklı kontrol olarak kullanılan CM-334 çeşidinde ise inokulasyon sonrası herhangi bir belirti oluşmamış, uygulanan ELISA testi sonucunda absorbans değeri 0.1 olarak (dayanıklı) elde edilmiştir (Çizelge 4.12). Erkan ve Schlosser (1987), Türkiye’de 1986 yılında biber bitkilerinde tespit ettikleri PVY izolatının Yolo Wonder çeşidinde simptom göstermediğini düşük ELISA absorbans değeri verdiğini ve bu çeşidin PVY izolatına karşı toleranslı olabileceğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise Yolo Wonder çeşidi her iki patotiple inokulasyon sonrasında da sistemik belirtiler oluşturmuş ve yüksek ELISA absorbans değeri vermiştir. Luis Arteaga ve Gil Ortega (1983) ve Gebre Selassie ve diğ. (1985), Yolo Wonder çeşidinin PVY’ye karşı hassas olduğunu ve dayanıklılık geni içermediğini bildirmişlerdir.

4.5.1 PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin biber çeşit ve ıslah hatlarında ileri dönemde oluşturduğu belirtiler

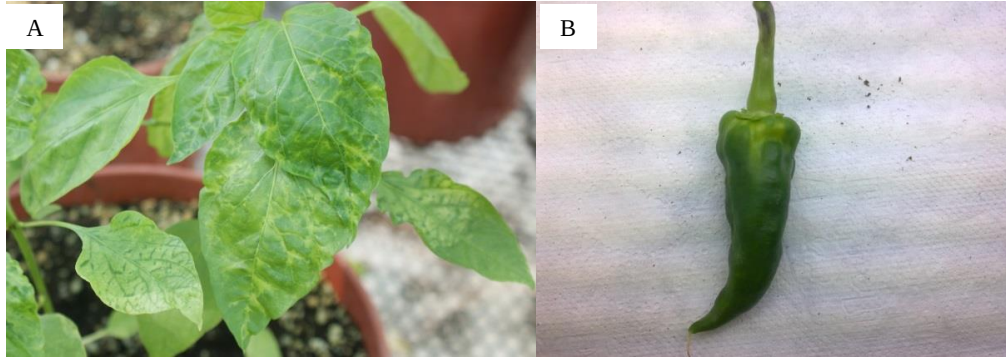
PVY’nin 0 ve 1 patotipi ile inokule edilen dört çeşit (Kapyra, Kandil, Zafer ve Cümbüş), iki ıslah hattı (BS-11-10-1 ve BK-1-1) ve dayanıklı olarak Sahem F1 ve Gaston F1 çeşitlerine ait bitkiler hasat zamanına kadar yetiştirilmiş ve her iki patotipin bitki ve meyve üzerindeki belirtileri gözlemlenmiştir.

PVY-0 patotipi, Kapyra çeşidinde yapraklarda mozayik ve şekil bozukluğuna, meyvede ise renk açılmaları, şekil bozukluğu ve küçülmeye neden olmuştur. PVY-1 patotipi Kapyra çeşidinde yapraklarda PVY-0’a göre daha şiddetli bir şekilde mozayik ve şekil bozukluğuna, meyvede ise küçülme ve şekil bozukluğuna oluşturmuştur (Çizelge 4.13, Şekil 4.46 ve 4.47).

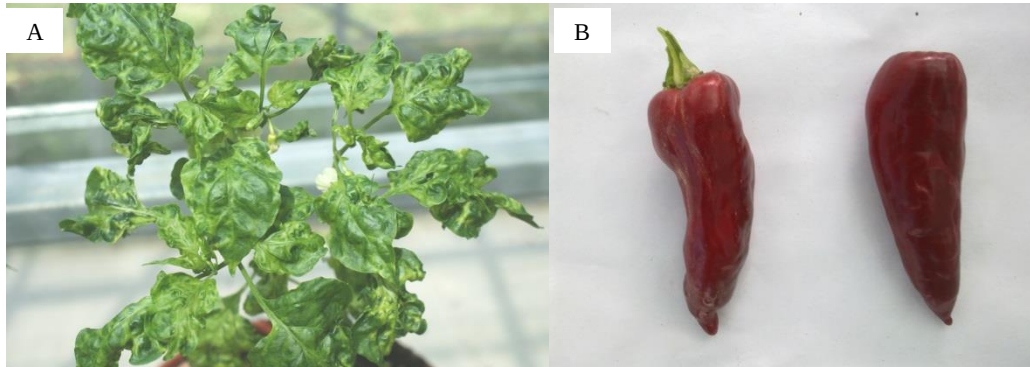
Çizelge 4.13. PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin biber çeşit ve hatlarında oluşturduğu belirtiler

Çeşit, Hat Adı	PVY-0 Belirtileri		PVY-1 Belirtileri	
	Yaprak	Meyve	Yaprak	Meyve
Sahem F1	Sy	Sy	Sy	Sy
Gaston F1	Sy	Sy	Sy	Sy
Kapya	M, Şb	Ra, Şb, Mk	Şm, Şb	Şb, Mk
Kandil	M, Dra	Ra, Şb, Mk	M,	Ra, Şb, Mk
BS-11-10-1	M,	Ra, Şb, Mk	Şm, Şb	Ra, Şb, Mk
BK-1-1	M, Db	Ra, Şb, Mk	Şm, Şb	Ra, Şb, Mk
Zafer	M	Şb	M, Şb	Şb
Cümbüş	M	Ra,Şb	M, Şb	Ra, Şb

Sy: Belirti yok, M: Mozayik, Ra: Renk açılması, Şb: Şekil bozukluğu, Db: Damar bantlaşması, Şm; Şiddetli mozayik, Mk: Meyve küçülmesi



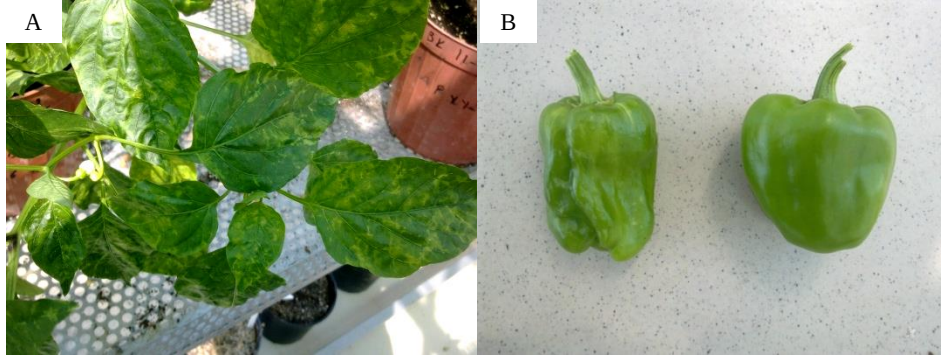
Şekil 4.46. PVY-0 patotipinin Kapsa çeşidinde ileri dönemde yapraklarda oluşturduğu mozayik ve damar bantlaşması (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması (B)



Şekil 4.47. PVY-1 patotipinin Kapsa çeşidinde yapraklarda oluşturduğu şiddetli mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması (sol), sağlıklı (sağ) (B)

PVY-0 patotipi Kandil Dolma çeşidinde yapraklarda mozayik ve şekil bozukluğuna, meyvelerde ise küçülme, renk açılmaları ve şekil bozukluğuna neden olmuştur. PVY-1 patotipi Kandil Dolma çeşidinde yapraklarda mozayik lekeler,

meyvede ise küçülme, daha şiddetli renk açılmaları ve şekil bozukluğuna neden olmuştur (Çizelge 4.13, Şekil 4.48 ve 4.49).



Şekil 4.48. PVY-0 patotipinin Kandil Dolma çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması (sol), sağlıklı (sağ) (B)



Şekil 4.49. PVY-1 patotipinin Kandil Dolma çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması (sol), sağlıklı (sağ) (B)

PVY-0 patotipi BS-11-10-1 hattında yapraklarda mozayik şeklinde belirtilere, meyvede şekil bozukluğu ve meyve renginde açılmalara neden olmuştur. PVY-1 ise yapraklarda PVY-0'a göre daha şiddetli mozayik, renk açılması ve şekil bozukluğuna, meyvelerde ise şekil bozukluğu, şiddetli renk açılması ve küçülmelere neden olmuştur (Çizelge 4.13, Şekil 4.50 ve 4.51).

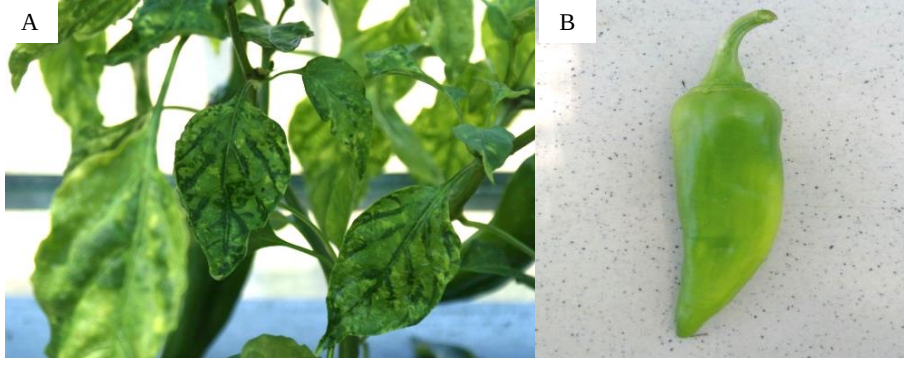


Şekil 4.50. PVY-0 patotipinin BS-11-10-1 ıslah hattında yapraklarda oluşturduğu mozayik (sol) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve çizgi şeklinde renk açılması (sağ)



Şekil 4.51. PVY-1 patotipinin BS-11-10-1 ıslah hattında yapraklarda oluşturduğu şiddetli mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu, küçülme ve çizgi şeklinde renk açılması (sol), sağlıklı (sağ) (B)

PVY-0 patotipi BK-1-1 ıslah hattında yapraklarda mozayik ve damar bantlaşmasına, meyvede ise renk açılması ve hafif şekil bozukluğuna neden olmuştur. PVY-1 ise yapraklarda PVY-0'a göre daha şiddetli renk açılması ve şekil bozukluğu, küçük meyve oluşumu, meyvelerde şekil bozukluğu ve şiddetli renk açılmasına neden olmuştur (Çizelge 4.13, Şekil 4.52 ve 4.53).

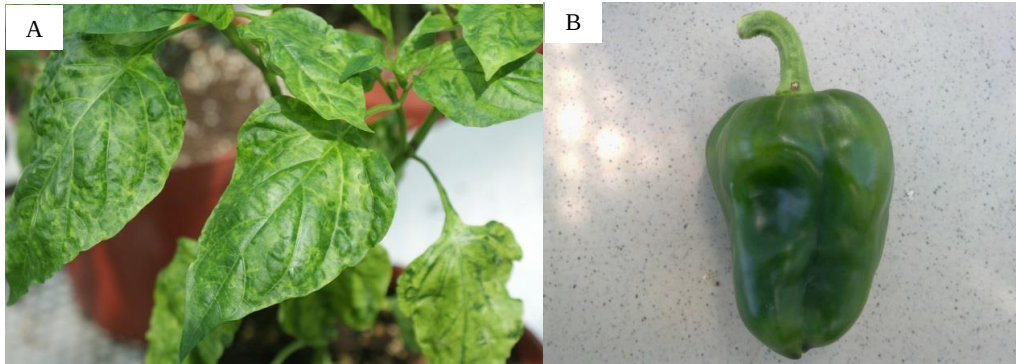


Şekil 4.52. PVY-0 patotipinin BK-1-1 ıslah hattında yapraklarda oluşturduğu damar bantlaşması ve mozayik (A) ve meyvede oluşturduğu renk açılması (B)



Şekil 4.53. PVY-1 patotipinin BK-1-1 ıslah hattında yapraklarda oluşturduğu şiddetli mozayik ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu ve renk açılması

PVY-0 patotipi Zafer çeşidinde yapraklarda mozayik meyvelerde ise şekil bozukluğuna neden olmuştur. PVY-1 patotipi ise bu çeşitte yapraklarda mozayik ve şekil bozukluğuna meyvede yalnızca şekil bozukluğu oluşturmuştur (Çizelge 4.13, Şekil 4.54 ve 4.55).

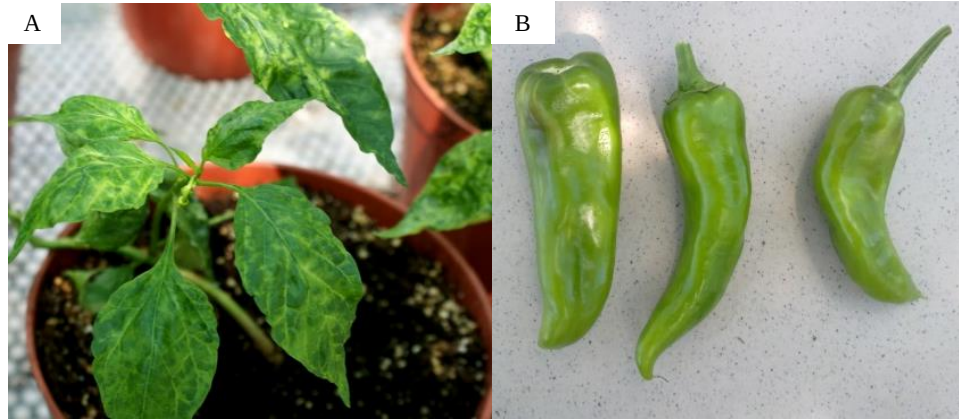


Şekil 4.54. PVY-0 patotipinin Zafer çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik ve damarlarda renk açılması (A) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu (B)



Şekil 4.55. PVY-1 patotipinin Zafer çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik (sol) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu (sağ)

PVY-0 patotipi Cümbüş çeşidinde yapraklarda mozayik, meyvede renk açılması ve şekil bozukluğuna neden olmuştur. PVY-1 ise yapraklarda mozayik ve şekil bozukluğuna, meyvede renk açılması ve şekil bozukluğu semptomu oluşturmuştur (Çizelge 4.13, Şekil 4.56).



Şekil 4.56. PVY-0 patotipinin Cümbüş çeşidinde yapraklarda oluşturduğu mozayik, damarlarda renk açılması (sol) ve meyvede oluşturduğu şekil bozukluğu (sağ)

Çalışmada, PVY-1 patotipinin biber çeşit ve hatlarındaki semptomları PVY-0 patotipine göre daha şiddetli olmuştur. PVY-0 ve PVY-1 patotipleri dayanıklı olarak belirlenen Sahem ve Gaston çeşitlerinde ise yaprak ve meyvelerde herhangi bir belirtiyeye neden olmamıştır.

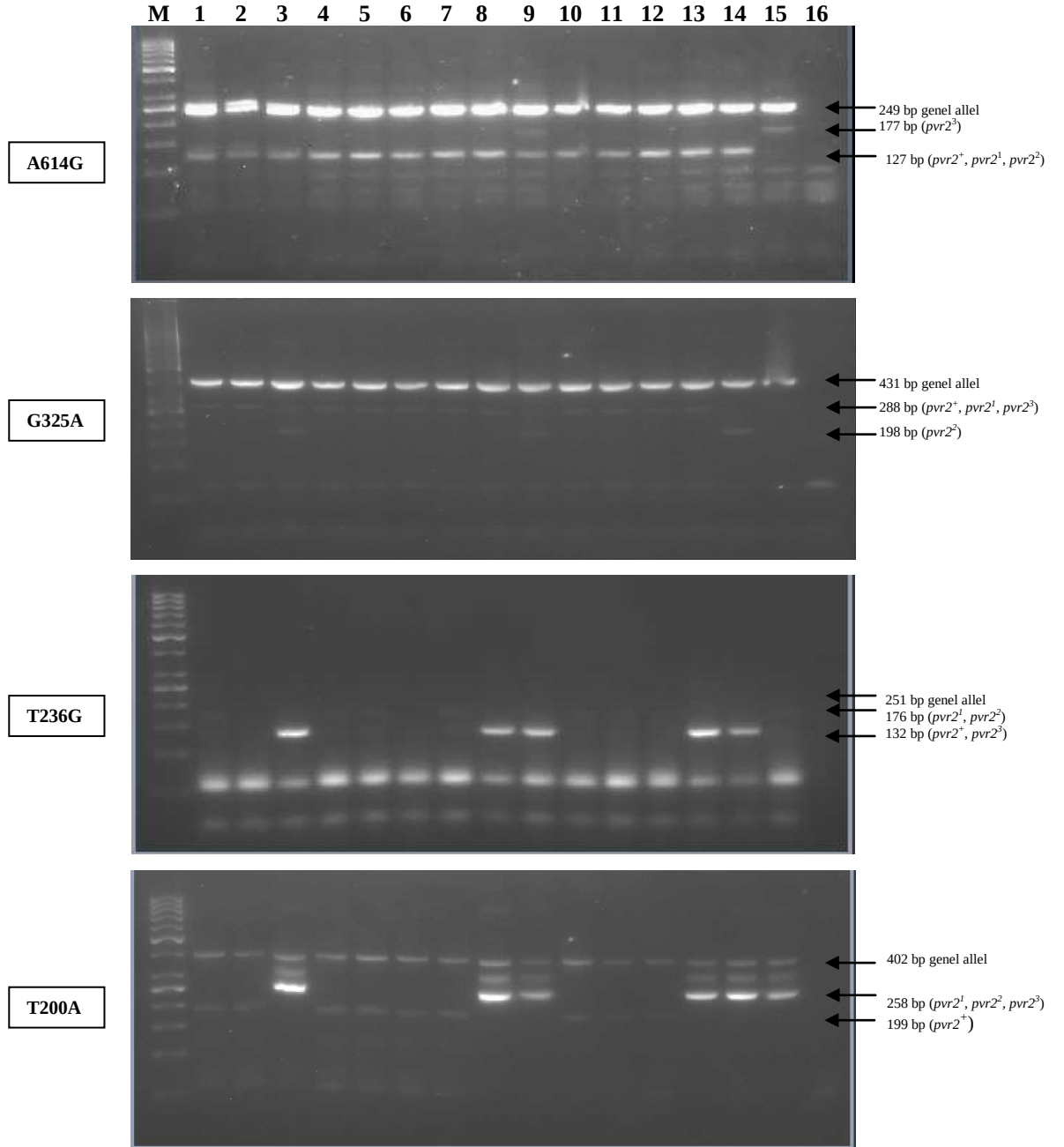
Daha önceki çalışmalarda da PVY'nin biber yapraklarındaki tipik semptomlarının genellikle yapraklarda mozayik, damarlarda renk açılmaları ve genellikle de damar bantlaşması şeklinde olduğu, meyvedeki semptomlarının ise mozayik, çizgi şeklinde lekeler ve renk açılmaları, deformasyon ve meyve

büyükluğünde azalma şeklinde ortaya çıktığı bildirilmektedir (Luis Arteaga ve Gil Ortega, 1983; Gebre Selassie ve diğ., 1985). Çelik ve diğ. (2012), PVY-0 patotipine karşı bazı çeşitlerin reaksiyonlarını belirledikleri çalışmada benzer bir şekilde hassas olarak değerlendirilen çeşitlerin yapraklarında mozayik, damar bantlaşması, meyvelerde ise çizgi şeklinde lekeler ve şekil bozukluğu oluştuğunu ortaya koymuşlardır.

4.6 Biber Çeşit ve Hatlarının Dayanıklılık Genleri

Çalışmada kullanılan biber çeşit ve hatlarında $pvr2^+$, $pvr2^1$, $pvr2^2$ ve $pvr2^3$ allel genlerinin varlığı bu genlere spesifik olan SNP markörleri kullanılarak ARMS-PCR yöntemi ile araştırılmıştır.

Çalışmada, A614G, G235A, T236G ve T200A SNP'leri ile ilgili allel spesifik markörler kullanılarak Yöntem 3.2.8.2'de belirtildiği şekilde, dört ayrı PCR reaksiyonu oluşturulmuştur. Her bir reaksiyona ait ürünler Yöntem 3.2.8.3'de açıklandığı gibi 4 ayrı jelde koşturularak, oluşan bant büyüklüklerine göre çeşit ve hatların dayanıklılık genlerinin belirlenmesine çalışılmıştır (Şekil 4.57).



Şekil 4.57. Tetra primer ARMS-PCR yöntemiyle biberde *pvr2-eIF4E* allellerinin belirlenmesi. M: 50 bp moleküler markör (Promega). 1. Yellow Block, 2: Gaston F1, 3: Drago F1, 4: 49-3, 5: Flora F1, 6: Bafra F1, 7: Venüs F1, 8: Menta RZ, 9: Sahem F1, 10: TY-35, 11: Abide F1, 12: Yolo Wonder, 13: Yolo Y, 14: FVR-2, 15: CM-334, 16: Negatif kontrol

Yellow Block, Gaston, Flora, Bafra, Venüs, Abide çeşitleri ile 49-3 ve TY-35 ıslah hatlarına ait bitkilerden Yöntem 3.2.8.1’de belirtildiği şekilde elde edilen genomik DNA’lar ve allel spesifik markörler kullanılarak oluşturulan dört ayrı PCR reaksiyonu sonucunda, SNP A614G için oluşturulan jelde genel allel için 249 bp büyüklüğünde, *pvr2⁺*, *pvr2¹*, *pvr2²* allel genleri için spesifik 127 bp büyüklüğünde; G235A için oluşturulan jelde genel allel için 431 bp büyüklüğünde, *pvr2⁺*, *pvr2¹*,

*pvr2*³ allel genleri için spesifik 288 bp büyüklüğünde; T200A için oluşturulan jelde genel allel için 402 bp büyüklüğünde ve yalnızca *pvr2*⁺ için spesifik olan 199 bp büyüklüğünde bant oluşturmuşlardır (Şekil 4.57). Bu nedenle sözü edilen çeşit ve hatların *pvr2*⁺ hassaslık alleline sahip oldukları belirlenmiştir. Rubio ve diğ. (2008), SNP markörleri kullanılarak ARMS-PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmalarında da *pvr2*⁺ hassaslık alleline sahip Yolo Wonder çeşidinde benzer büyüklükte bantlar elde etmişlerdir.

Menta çeşidi A614G için oluşturulan jelde genel allel için 249 bp büyüklüğünde, *pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*² allel genleri için spesifik 127 bp büyüklüğünde, G235A için oluşturulan jelde genel allel için 431 bp büyüklüğünde ve *pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*³ allel genleri için spesifik 288 bp büyüklüğünde; T200A için oluşturulan jelde genel allel için 402 bp büyüklüğünde, *pvr2*¹, *pvr2*², *pvr2*³ allel genleri için spesifik 258 bp büyüklüğünde ürünler oluşturmuştur. T236G için oluşturulan jelde ise *pvr2*⁺ ve *pvr2*³ allel genlerinin olmaması durumunda oluşacak olan 132 bp büyüklüğünde bant oluşturmuştur (Şekil 4.57). Bu nedenle Menta çeşidinin *pvr2*¹ ya da *pvr2*² allel genlerine sahip olabileceği düşünülmüştür. Ancak çeşidin, G235A için oluşturulan jelde sadece *pvr2*² allel geni için spesifik olan 198 bp büyüklüğünde bant oluşturmaması nedeni ile (Şekil 4.55), bu çeşidin yalnızca *pvr2*¹ dayanıklılık alleline sahip olduğu ortaya konulmuştur. Rubio ve diğ. (2008), SNP markörleri kullanılarak ARMS-PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada da *pvr2*¹ alleline sahip Yolo Y çeşidinde benzer büyüklükte bantlar elde etmişlerdir .

Drago çeşidi, A614G için oluşturulan jelde genel allel için 249 bp büyüklüğünde, *pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*² allel genleri için spesifik 127 bp büyüklüğünde, G235A için oluşturulan jelde genel allel için 431 bp büyüklüğünde, yalnızca *pvr2*² allel geni için spesifik olan 198 bp büyüklüğünde; T200A için oluşturulan jelde genel allel için 402 bp büyüklüğünde, *pvr2*¹, *pvr2*², *pvr2*³ allel genleri için spesifik olan 258 bp büyüklüğünde bant oluşturmuş ve çeşidin *pvr2*² dayanıklılık alleline sahip olduğu ortaya konulmuştur. Rubio ve diğ. (2008), SNP markörleri kullanılarak ARMS-PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada da *pvr2*² alleline sahip Florida VR-2 çeşidinde benzer büyüklükte bantlar elde etmişlerdir (Şekil 4.57).

Sahem A614 G için oluşturulan jelde genel allel için 249 bp büyüklüğünde, *pvr2*⁺, *pvr2*¹, *pvr2*² allel genleri için spesifik olan 127 bp büyüklüğünde, *pvr2*³ allel geni için spesifik olan 177 bp büyüklüğünde; G235A için oluşturulan jelde genel allel için 431 bp büyüklüğünde, yalnızca *pvr2*² allel geni için spesifik olan 198 bp

büyükliğünde ve $pvr2^+$, $pvr2^1$, $pvr2^3$ allelleri için spesifik olan 288 bp büyüklüğünde; T200A için oluşturulan jelde genel allel için 402 bp büyüklüğünde, $pvr2^1$, $pvr2^2$, $pvr2^3$ allel genleri için spesifik 258 bp büyüklüğünde ürünler oluşturmuş ve çeşidin $pvr2^2$ ve $pvr2^3$ dayanıklılık allelllerine sahip olduğu ortaya konulmuştur. Rubio ve diğ. (2008), SNP markörleri kullanılarak ARMS-PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmalarında da $pvr2^3$ alleleline sahip Perennial ve CM 334 çeşitlerinde benzer büyüklükte amplifikasyon elde etmişlerdir (Şekil 4.57).

Çeşit ve hatların tamamı T236G için oluşturulan jelde genel allel için 251 bp büyüklüğünde ve $pvr2^1$ ve $pvr2^2$ allel genlerinin yokluğu anlamına gelen 176 bp büyüklüğünde bant oluşturmamışlardır (Şekil 4.57). Rubio ve diğ. (2008), SNP markörleri kullanılarak ARMS-PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmaya ait T236G için oluşturulan jelde genel allel için 251 bp büyüklüğünde ve $pvr2^1$ ve $pvr2^2$ allel genlerinin yokluğu anlamına gelen 176 bp büyüklüğünde bant elde etmişlerdir. Bizim çalışmamızda sözü edilen büyüklükteki bantların elde edilememesinin nedeninin kullanılan primerlerin sentezi sırasındaki bir hatadan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür (Şekil 4.57).

Çalışmada kontrol olarak kullanılan Yolo Wonder ($pvr2^+$), Yolo Y ($pvr2^1$), Florida VR-2 ($pvr2^2$) ve CM 334 ($pvr2^3$) çeşitleri sahip oldukları genlerine spesifik olan bölgelerde beklenen büyüklüklerde ürünler oluşturmuşlardır. Bu durum yöntemin doğruluğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.57).

Çizelge 4.14. Biber çeşit ve hatlarının sahip oldukları allel genler

No	Biber Çeşitleri/Hatları	Belirlenen $pvr2$ Allel Genleri
1	Yellow Block	$pvr2^+$
2	Gaston F1	$pvr2^+$
3	Drago F1	$pvr2^2$
4	49-3	$pvr2^+$
5	Flora F1	$pvr2^+$
6	Bafra F1	$pvr2^+$
7	Venüs F1	$pvr2^+$
8	Menta Rz	$pvr2^1$
9	Sahem F1	$pvr2^2$, $pvr2^3$
10	TY-35	$pvr2^+$
11	Abide F1	$pvr2^+$
12	Yolo Wonder (Kontrol- $pvr2^+$)	$pvr2^+$
13	Yolo Y (Kontrol- $pvr2^1$)	$pvr2^1$
14	Florida VR-2 (Kontrol- $pvr2^2$)	$pvr2^2$
15	CM 334 (Kontrol- $pvr2^3$)	$pvr2^3$

Moleküler markör çalışmaları sonucunda Yellow Block, Flora, Bafra, Venüs, Abide çeşitleri ile 49-3 ve TY-35 ıslah hatlarının *pvr2⁺* hassaslık alleline sahip oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.57). Sözü edilen çeşit ve hatlara PVY-0 ve PVY-1 patotipleri kullanılarak yapılan mekanik inokulasyonlar sonucunda her iki patotipe karşı hassas reaksiyon vermiş olmaları (Çizelge 4.11 ve 4.12), çeşit ve hatlardaki hassaslık allelinin varlığını doğrulamaktadır. Gaston çeşidinin ise PVY-0 ve PVY-1 patotipleri kullanılarak yapılan mekanik inokulasyonlar sonucunda her iki patotipe karşı dayanıklı olarak belirlenmesine rağmen (Çizelge 4.12), moleküler markör çalışmaları sonucunda *pvr2⁺* hassaslık alleline sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.57). Bu çalışmada Gaston çeşidinin fenotipik gözlemlere ve ELISA sonuçlarına göre dayanıklı olarak değerlendirilmiş olması, PVY'nin üç patotipine karşı dayanıklılıkta rol oynayan dominant *Pvr4* genine sahip olabileceğine işaret etmektedir. *Pvr4* geninin, PVY'nin 0 ve 1 patotiplerine karşı dayanıklılıkta rol oynadığı pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Palloix, 1992; Pasko ve diğ., 1992; Boiteux ve diğ., 1996; Dogimont ve diğ., 1996). *Pvr4* geni ile bağlı CAPS moleküler markörü (Caranta ve diğ., 1999) geliştirilmiş olmasına rağmen kısıtlı imkânlar nedeni ile bu tez çalışmasında kullanılamamıştır.

Menta çeşidinin PVY-0 patotipine karşı dayanıklılığı sağlayan *pvr2¹* alleline sahip olduğu ortaya konulmuştur (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.57). Menta çeşidinin PVY-0 patotipine karşı dayanıklı, PVY-1 patotipine karşı ise hassas reaksiyon vermesi (Çizelge 4.12), çeşitteki *pvr2¹* allel geninin varlığına işaret etmektedir. Buna karşın Menta çeşidinin PVY-1 patotipine karşı herhangi bir symptom oluşturmaması ve ELISA absorbans değerinin düşük elde edilmiş olması (Çizelge 4.12), çeşitte symptom oluşumunu engelleyebilen başka dayanıklılık genlerinin de olabileceğini göstermektedir.

Moleküler markör çalışmaları Drago çeşidinin PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin her ikisine de dayanıklılıkta rol oynayan *pvr2²* allel genini taşıdığını ortaya koymuştur (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.57). Drago çeşidinin PVY-0 ve PVY-1 patotipleri kullanılarak yapılan mekanik inokulasyonlar sonucunda da her iki patotipe karşı dayanıklı bulunmuş olması (Çizelge 4.12), moleküler markör sonuçlarını doğrulamaktadır.

SNP markörleri ile yapılan bu çalışmada, Sahem çeşidinin *pvr2²* ve *pvr2³* allel genlerine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.57). PVY-0 ve PVY-1

patotipleri kullanılarak yapılan mekanik inokulasyonlar sonucunda, Sahem çeşidi her iki patotipe karşı da dayanıklı olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.12). Bu durum çeşitte *pvr2*² geninin olduğunu göstermektedir. Resesif *pvr2*³ allelinin ise QRL içerisinde majör etkiye sahip bir gen olduğu ve PVY'nin 0, 1 ve 1-2 patotiplerine karşı dayanıklılıkta rol oynadığı bildirilmektedir (Caranta ve diğ., 1997; Ayme ve diğ., 2004, Ayme ve diğ., 2007; Charron ve diğ., 2008).

Dayanıklılık belirleme çalışmalarında mekanik inokulasyon ile test yöntemi ve moleküler markör yöntemi birlikte değerlendirilmiş ve mekanik inokulasyon ile test sonuçları ile moleküler çalışmalar birbirine paralel sonuçlar vermiştir. Bu çalışmaya ait sonuçlar, SNP markörlerinin *pvr2* allel genlerinin belirlenmesinde güvenilir olduğunu ortaya koymuştur. Rubio ve diğ. (2008), SNP markörleri kullanılarak ARMS-PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada da benzer bir şekilde SNP markörlerinin *pvr2* allel genlerinin belirlenmesinde doğru sonuçlar verdiğini belirlemişlerdir. Moodley ve diğ. (2013), *pvr2*¹ ve *pvr2*² genlerini taşıyan lokal biber genotiplerinden homozigot biber hatlarının geliştirilmesi ile ilgili bir çalışmada, F₂ bireylerinde tetra primer ARMS-PCR yönteminin *pvr2* allel genlerinin seleksiyonunda kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır. Çelik ve diğ. (2013), CM 334 biber hattında bulunan dominant *Pvr-4* genini SD-8 biber çeşidine geriye melezleme yöntemi ile aktarmaya çalışmışlardır. Çalışma süresince dayanıklı bitkileri PVY-0 patotipi ile inokulasyon sonrası ortaya çıkan semptomlara göre ve *Pvr-4* geni ile bağlı CSO CAPS markörü kullanarak moleküler yöntemlerle belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda geri melez hatlarda moleküler testleme sonucu dayanıklı çıkan bitki sayısının mekanik inokulasyon ile testleme sonucu dayanıklı çıkan bitkiye oranının ortalama % 85 olduğunu, markör-gen arasında geriye melezleme popülasyonlarında % 13-% 18 arasında (13-18 cM) rekombinasyon olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar çalışma sonucunda moleküler markörle yapılan seleksiyonların mutlaka mekanik inokulasyon testlemesi de yapılarak doğrulanması gerektiğini ve materyal seçiminin buna göre yapılmasının önemini vurgulamışlardır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde sebzelerde viral hastalıklara dayanıklılık ile ilgili çalışmalar son yıllarda daha fazla önem kazanmıştır. Bu yönde yapılan araştırmalar her geçen gün artmaktadır. Virüslerin patotip/ırklarının belirlenmesi viral hastalıklara dayanıklılık ile ilgili çalışmalara temel teşkil eden çalışmalardır. Daha önce yapılan çalışmalarda değişik araştırmacılar tarafından biberde enfeksiyon oluşturan PVY izolatlarının patotipleri belirlenmiş, bazı çeşit ve genotiplerin PVY'ye karşı reaksiyonları ortaya konulmuştur. Bu çalışmada ise biber ıslah programlarında PVY'ye dayanıklılık ile ilgili çalışmalara ışık tutması amacı ile Samsun ilinde PVY'nin patotipleri belirlenmiş, patotiplerin moleküler ve biyolojik farklılıkları ortaya konulmuş, sonrasında ise bazı biber çeşit ve hatları mekanik inokulasyon, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak PVY'ye dayanıklılık açısından değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile ülkemizde ilk defa biberde PVY'ye dayanıklılıkta rol oynayan resesif *pvr2* allel genlerinin varlığı moleküler olarak ortaya konulmuştur. Bu araştırmadan elde edilen sonuç ve öneriler aşağıda verilmiştir:

Samsun ilinde biber üretim alanlarında 2010 ve 2011 yıllarında yapılan surveyler sonucunda PVY'nin 2010 yılında toplanan örneklerde % 11.9 oranında, 2011 yılında toplanan örneklerde ise % 7.3 oranında yaygın olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada Samsun ilinde biber üretim alanlarında PVY'nin 0 ve 1 patotiplerinin bulunduğu ortaya konulmuş, PVY-0 patotipinin PVY-1 patotipine göre daha yaygın olduğu belirlenmiştir. Her iki patotip de biber üretiminin yoğun olarak yapıldığı Çarşamba ve Bafra ilçelerinde tespit edilmiştir. Her ne kadar PVY-1 patotipi bölgede daha az oranda belirlenmiş olsa da, PVY-0 patotipine göre daha şiddetli belirtiler oluşturmaları nedeni ile bölgede yapılacak olan biber ıslahı çalışmalarında PVY-0 ve PVY-1 patotiplerinin her ikisine karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesine yönelik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Biyolojik karakterizasyon çalışmaları sonucunda, PVY-0 patotipi *C. chinense*'de hafif mozayik simptomsu oluştururken PVY-1 patotipi ise herhangi bir simptoma sebep olmamıştır. Diğer taraftan PVY-1 patotipi *P. peruviana*'da hafif

mozayik ve damarlarda renk açılması şeklinde simptom oluşturmuş, ancak PVY-0 patotipi herhangi bir simptom vermemiştir. Bu sonuçlar pratikte bu iki bitki türünün PVY'nin 0 ve 1 patotiplerinin ayrımında kullanılabileceğini göstermiştir. Ancak bu sonucun teyit edilmesi için her iki patotipe ait birer izolatin daha bu iki bitki türü için denenmesi gereklidir.

Bu çalışmada ayrıca, Samsun ili biber üretim alanlarında belirlenen PVY-0 ve PVY- 1 patotiplerinin CP gen bölgesi PCR ile çoğaltılarak baz dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. SÇ-9, SÇ-84 ve SÇ-87 nolu izolatlara PVY-1 patotipine ait Türkiye'den elde edilmiş biber izolatu Tu12.3 ve PVY-0 patotipine ait İspanya'da belirlenen domates izolatu LYE 84.2 ile yüksek benzerlik (% 97-98) gösterirken, SB-63 nolu izolat, patatesten izole edilen ve rekombinant bir ırk olan PVY^{NTN}'e ait birçok patates izolatu ile yüksek oranda (% 99) benzer bulunmuştur. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda PVY patates izolatlarının biber izolatlarını enfekte edemediği veya sınırlı oranda enfekte edebildiği bildirilmiş, bazı araştırmacılar tarafından ise patates izolatlarının laboratuvar şartlarında biberi enfekte edebildiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise biberden izole edilen SB-63 nolu izolatu patates orijinli PVY^{NTN} ırkı ya da rekombinat bir ırk olabileceği ortaya konulmuştur. SB-63 nolu izolat ile ilgili daha detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır

Arazi surveylerinde özellikle başta Çarşamba ilçesindeki seralar olmak üzere biber üretim alanlarında çok yoğun bir şekilde virüs belirtilerinin gözlemlendiği ve seraların bazılarında büyük verim kayıplarının olduğu görülmüştür. Söz konusu virüs belirtilerinin bu çalışmada da karışık enfeksiyonlarda yüksek oranda rastlanan başta TSWV ve CMV enfeksiyonu ya da karışık virüs enfeksiyonları nedeni ile olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, bölgede TSWV ve CMV ile ilgili daha detaylı çalışmaların yapılması, her iki virüsün bölgedeki yaygınlığının araştırılması ve her iki virüse karşı dayanıklı biber çeşitlerinin geliştirilmesi üzerine çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.

Ayrıca bu çalışmada, Samsun ilinde PMMoV ilk defa belirlenmiştir. PMMoV Türkiye'de bugüne kadar başta Akdeniz Bölgesi olmak üzere birçok bölgede tespit edilmiştir. Söz konusu virüsün Samsun ilinde biber üretim alanlarında ne derece yaygın olduğu, ekonomik anlamda zarara neden olup olmadığı bilinmemektedir. PMMoV'nin bölgede biber üretim alanlarındaki yaygınlığı ve epidemiyolojisi üzerine daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Çalışmada, Türkiye’de ve Samsun ilinde ticari olarak yetiştirilen 23 çeşidin ve KTAE ve ABKAİ tarafından geliştirilen 30 ıslah hattının Samsun ilinde belirlenen PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı dayanıklılık durumları araştırılmıştır. Dayanıklılık belirleme çalışmaları sonucunda hatların tamamının PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı hassas oldukları ortaya konulmuştur. Bu sonuç ıslah hatları geliştirilirken PVY’ye karşı dayanıklılık açısından değerlendirilmediğini ve gen havuzunda söz konusu virüse karşı dayanıklı genotiplerin bulunmadığını ortaya koymuştur. Bu nedenle, bundan sonra yapılacak olan biber ıslah çalışmalarında PVY’ ye veya bölgede en fazla sorun olan diğer virüslere (TSWV, CMV gibi) dayanıklı genotiplerin melezlemelerde kullanılarak dayanıklılık açısından test edilmesi ve dayanıklı bireyler ile ıslah çalışmalarına devam edilmesinin gerekliliği bir kez daha anlaşılmıştır.

Çalışmada kullanılan çeşitlerden Menta PVY-0 patotipine karşı, Sahem, Grago ve Gaston ise hem PVY-0 hem de PVY-1 patotipine karşı dayanıklı olarak belirlenmiştir. Dayanıklı olarak belirlenen bu çeşitler PVY’nin sorun olduğu alanlarda bölge üreticilerine önerilebilir ve ayrıca biberde dayanıklılık ıslahı çalışmalarında gen kaynağı olarak kullanılabilir. Özellikle PVY’nin her iki patotipine de dayanıklılığı sağlayan resesif *pvr2*² alleli ve her 3 patotipe karşı dayanıklılıkta rol oynayan *pvr2*³ allel genlerine sahip Sahem çeşidinin ve *pvr2*² alleli taşıyan Drago çeşidinin ıslah çalışmalarında dayanıklılık kaynağı olarak kullanılması önerilebilir. Ayrıca resesif *pvr2* allel geni taşımayan ancak PVY-0 ve PVY-1 patotiplerine karşı dayanıklı olarak belirlenen Gaston çeşidi de ıslah çalışmalarında dayanıklılık kaynağı olarak kullanılabilir.

Çalışmada kullanılan çeşitlerden Flora ve Orion çeşitleri PVY-0 patotipi ile inokulasyon sonrası sistemik belirtiler oluşturmuşlar, ancak ELISA testi sonrası düşük absorbans değeri vermişlerdir. Bu nedenle sözü edilen iki çeşidin PVY patotiplerine karşı toleranslı olabileceği düşünülmektedir. Her iki çeşidin PVY-0 patotipine karşı toleranslılık durumu ile ilgili daha detaylı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

PVY-0 ve PVY-1 patotipleri ile inokule edilen çeşit ve hatların reaksiyonları ile moleküler çalışmalar sonucu elde edilen veriler birbiri ile paralel sonuçlar vermiştir. Bu nedenle biberde PVY’ye karşı dayanıklılık ıslahı çalışmalarında resesif *pvr2* allel genlerinin seleksiyonunda SNP markörlerinin kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

PVY-1 ile inokule edilen Menta çeşidinde inokulasyondan 21 gün sonra herhangi bir virüs simptomu oluşmamasına rağmen ELISA sonuçlarına göre pozitif (enfekteli) çıkmıştır. Bu nedenle virüs inokulasyonları sonrasında sadece simptomatolojik değerlendirme yapılmayıp, ELISA veya diğer hassas yöntemlerle sonuçların doğrulanması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Adams, M.J., Antoniow, J.F., Beaudoin, F., 2005. Overview and analysis of the polyprotein cleavage sites in the family *Potyviridae*, *Molecular Plant Pathology*, 6, 471–487.
- Ahlquist, P., Noueiry, A.O., Lee, W.M., Kushner, D.B. Dye, B.T., 2003. Host factors in positive-strand RNA virus genome replication. *Journal of Virology* 77, 8181–8186.
- Alegbejo, M.D., Egwemi, J., 1999. Performance of some pepper selections screened for resistance to the potyviruses that commonly infect peppers. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 18, 56-59.
- Ali, M. C., Maoka, T., Natsuaki, K. T., 2008. Whole genome sequence and characterization of a novel isolate of PVY inducing tuber necrotic ringspot in potato and leaf mosaic in tobacco, *Journal of Phytopathology*, 156, 413-418.
- Ammar, E. D., Järlfors, U., Pirone, T. P., 1994. Association of *Potyvirus* helper component protein with virions and the cuticle lining the maxillary food canal and foregut of an aphid vector, *Phytopathology*, 84, 1054-1060.
- Aramburu J, Galipienso L, Matas M., 2006. Characterization of potato isolates from tomato crops in northeast Spain, *European Journal of Plant Pathology*, 115, 247–258.
- Arlı Sökmen, M., Mennan, H., Sevik, M.A., Ecevit, O., 2005a. Occurrence of viruses in field- grown pepper crops and some of their reservoir weed hosts in Samsun, Turkey, *Phytoparasitica*, 33 (4), 347-358.
- Arlı-Sökmen, M., Ayan, A.K., Şevik, M.A., 2005b. Trabzon ve Bayburt illerinde tohumluk patates (*Solanum tuberosum* L.) yumrularında belirlenen virüsler. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*. 20 (3), 23–26.
- Arnedo-Andr'es, M.S., Gil Ortega, R., Luis Arteaga, M., Hormaza, J.I., 1999. The pepper line "Perennial" is susceptible to *Potato Virus Y* pathotype 1-2. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 18: 66-68.
- Arnedo-Andr'es, M.S., Gil Ortega, R., Luis Arteaga, M., Hormaza, J.I., 2002. Development of RAPD and SCAR markers linked to the *Pvr4* locus for resistance to PVY in pepper (*Capsicum annuum* L.), *Theoretical and Applied Genetics*, 105, 1067–1074.
- Asscheman, I.E., Brinkman, H., Bus, C.B., Van Delft, M., Hotsma, P.H., Meijers, C.P., Mulder, A., Turkensteen, L.J., Wustman R., 1996. *Potato Diseases (Diseases, Pest and Defects)*, 179.
- Avilla, C., Collar, J.L., Duque, M., Hern'aiz, P., Mart'in, B., Fereres, A., 1996. Cultivos barrera como método de control de virus no persistentes en pimiento, *Boletín de sanidad vegetal plagas*, 22, 301–307.

- Aybak, H.Ç., 2002. Biber yetiştiriciliği. *Hasad*, 155.
- Ayme, V., Pierrugnes, O., Souche, S., Nemouchi, G., Caranta, C., Jacquemond, M., Chadoeuf, J., Palloix A., Moury, B., 2004. PVY evolution toward virulence to the resistance conferred by *pvr2³* in pepper and consequences for its durability. *XIIth. Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*, Noordwijkerhout (The Netherlands), 17–19 May, 139–146.
- Ayme, V., Souche, S., Caranta, C., Jacquemond, M., Chadsuf, J., Palloix, A., Moury, B., 2006. Different mutations in the genomelinked protein VPg of potato virus Y confer virulence on the *pvr2³* resistance in pepper. *Molecular. Plant-Microbe Interactions*. 19, 557–563.
- Ayme, V., Petit-Pierre, J., Souche, S., Palloix, A., Moury, B., 2007. Molecular dissection of the *Potato virus Y* VPg virulence gene reveals complex adaptations to the *pvr2* resistance allelic series in pepper, *Journal of General Virology*, 88, 1594–1601.
- Barker, H., 1994. Incidence of *Potato Virus Y* infection in seed and ware tubers of the potato cv. Record. *Annals of Applied Biology*, 124, 179–183.
- Basım, H., Akbulut, M., Yeğen, O., 1997. Identification of a virus causing ring spots in pepper by different techniques, *Journal of Turkish. Phytopathology*, 26 (2-3), 109-120.
- Blanco-Urgoiti, B., Sanchez, F., Dopazo, J., Ponz, F., 1996. A strain type clustering of *Potato Virus Y* based on the genetic distance between isolates calculated by RFLP analysis of the amplified CP gene, *Archives of Virology*, 141, 2425-2442.
- Blanco-Urgoiti B., Sánchez, F., Pérez de San Román, C., Dopazo, J., Pons, F., 1998. *Potato virus Y* group C isolates are a homogenous pathotype but two different genetic strains, *Journal of General Virology*, 79, 2037-2042.
- Boiteau, G., Singh, M., Lavoie, J., 2008. Crop border and mineral oil sprays used in combination as physical control methods of the aphid- transmitted *Potato virus Y* in potato. *Pest Management Science*, 65, 255-259.
- Boiteux, L.S., Cupertinof, P., Silva C., Dusia, N., Monte-Neshichd, C., Van Der Vlugt, R.A.A., Fonseca, M.E.N., 1996. Resistance to *Potato virus Y* (pathotype 1-2) in *Capsicum annuum* and *Capsicum chinense* is controlled by two independent major genes, *Euphytica*, 87, 53-58.
- Borgstrøm, B., Johansen, I. E., 2001. Mutations in *Pea seedborne mosaic potyvirus* genome-linked protein VPg alter pathotype-specific virulence in *Pisum sativum*, *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 14, 707-714.
- Bosland. P.W., 1999. Encyclopedia chiles, p. 22-37. In: Hanson (ed.) *Chile peppers*. Brooklyn Botanic Garden Hdbk. New York, 90, 13-6.
- Bostan, H., Haliloğlu, K. 2004. Distribution of PLRV, PVS, PVX and PVY (PVYN, PVYO and PVYC) in the seed potato tubers in Turkey, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(7), 1140–1143.
- Bostan, H., Güçlü, C., Öztürk, E., Özdemir, I., İlbağı, H. 2006. Influence of Aphids on the epidemiology of potato virus diseases (PVY, PVS and PLRV) in the high altitude areas of Turkey, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9 (4), 759–765.

- Bostan, H. ve E. Demirci, 2001. Patates X ve Y virüslerinin bazı patates çeşitlerinde neden olduğu belirtiler, *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 31(1), 1-4.
- Bostan, H., Dursun, A., 2002. Kemaliye ve Yusufeli ilçelerindeki biber (*Capsicum annuum* L.) üretim alanlarındaki bazı virüs hastalıklarının belirlenmesi, *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33 (4), 391-392.
- Bozokalfa, M.K., D., Eşiyok, 2006. Biberin anavatanı ve yayılışı. *Dünya Yayıncılık, Gıda*, 07, 92-93. Bağcılar. İstanbul.
- Bozokalfa, M.K., Eşiyok, D., 2010. Biber (*Capsicum annuum* L.) aksesyonlarında genetik çeşitliliğin agronomik özellikler ile belirlenmesi, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 47 (2), 123-134.
- Brunt, A. Crabtree, K., Gibbs, A. 1990. *Viruses of Tropical Plants*, C.A.B. International, Wallington, Oxon, OX108DE, UK, 707.
- Buzkan, N., Demir, M., Öztekin, V., Mart, C., Çağlar, B. K., Yılmaz., M. A., 2006. Evaluation of the status of capsicum viruses in the main growing regions of Turkey, *EPPO Bulletin*, 36 (1), 15–19.
- Buzkan, N., Arpacı, B.B., Moury, B., Fabre, F., 2012. Sürekli virüs dayanıklılığı için Türkiye’de biberler ve potyvürüsler arasındaki genetik ilişkinin analizi. *TÜBİTAK TOVAG 109O447 Nolu Proje Sonuç Raporu*, 54 s. http://uvt.ulakbim.gov.tr/uvt/index.php?cwid=9&vtadi=TPRJ&ano=145857_e8cbffd43bbcd2dcce840b488d80db83 (erişim 13.03.2013).
- Cabral, S., Soares, A. O., Garcia, P., 2009. Predation by *Coccinella undecimpunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) on *Myzus persicae* sulzer (Homoptera: Aphididae): Effect of prey density. *Biological Control*, 50, 25-29.
- Caranta, C., Palloix, A., 1996. Both common and specific genetic factors are involved in polygenic resistance of pepper to several potyviruses, *Theoretical and Applied Genetics*, 92, 15-20.
- Caranta, C., Lefebvre, V., Palloix A., 1997. Polygenic resistance of pepper to potyviruses consists of a combination of isolate-specific and broad-spectrum quantitative trait loci, *Molecular Plant Microbe Interaction*, 10, 872–878.
- Caranta, C., Thabuis, A., Palloix, A., 1999. Development of a CAPS marker for the *Pvr4* locus: a tool for pyramiding *Potyvirus* resistance genes in pepper. *Genome / National Research Council Canada*. 42(6), 1111-6.
- Cardin, L., Moury, B., 2008. First report of *Potato virus Y* in *Nicotiana mutabilis* in France. *Plant Disease*, 92, 312.
- Charron, C., Nicolai, M., Gallois, J.L., Robaglia, C., Moury, B., Palloix, A., Caranta, C., 2008. Natural variation and functional analyses provide evidence for coevolution between plant eIF4E and potyviral VPg, *Plant Journal*, 54, 56– 68.
- Clark, M.F., Adams, A.N., 1977. Characteristics of microplate method of Enzyme-linked Immunosorbent Assay for the detection of plant viruses, *Journal of General Virology*, 34, 475-483.
- Conti, M., Masenga, V., 1977. Identification and prevalence of pepper viruses in Northwest Italy, *Journal of Phytopathology*, 90, 212–222.

- Cook, A.A., 1960. Genetics of resistance in *Capsicum annuum* to two virus diseases, *Phytopathology*, 50, 364-367.
- Çalı, S., Yalçın, N., 1991. İthal edilmiş tohumluk patateslerde önemli virüs hastalıklarının DAS-ELISA ve diğer yöntemlerle araştırılması, *VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, İzmir, 333–336.
- Çelik, N., Özalp, R., Göçmen, M., 2012. Antalya ili örtü altı biber yetiştiriciliğinde *Patates Y Virüsü* (PVY) patotiplerinin belirlenmesi ve bazı biber çeşitlerinin PVY'ye karşı reaksiyonları. *Bitki Koruma Bülteni*, 52 (3). 235-246.
- Çelik, İ., Özalp, R., Çelik, N., Polat, İ., Sülü, G., Ünlü, A., 2013. Patates Y virüsü (*Potato Virus Y* = PVY)'ne dayanıklı sivri biber hatlarının geliştirilmesi. *Derim*, 30 (2), 42-53.
- Çıtır, A., 1982. Erzurum ve çevresinde tohumluk patateslerdeki virüs hastalıkları ve bunların tanılanması üzerine bazı araştırmalar, *Doğa Bilim Dergisi: Vet. Hay. Tar. Orm.*, 6(3), 99-109.
- Çiçek, Y., Yorgancı, Ü., 1991. Studies on the Incidence of *Tobacco mosaic virus* on certified seed of tomato, pepper and eggplant in Aegean Region, *The Journal of Turkish Phytopathology*, 20 (2-3), 57-65.
- D' Aquino, L., Dalmay, T., Burgyan, J., 1995. Host range and sequence analysis of an isolate of *Potato virus Y* inducing veinal necrosis in pepper, *Plant Disease*, 79, 1046-1050.
- De Bokx, J.A., Huttinga, H., 1981. *Potato virus Y*. *CMI/AAB Descriptions of Plants Viruses*, 242.
- Demir, M., 2005. Kahramanmaraş'ta yetiştirilen kırmızı biberlerde yaprakbiti ile taşınan virüslerin saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 28.
- Difonzo, C. D., Ragsdale, D. W., Radcliffe, E. B., Gudmestad, N. C., Secor, G. A., 1996. Crop borders reduce *Potato virus Y* incidence in seed potato, *Annals of Applied Biology*, 129, 289-302.
- Dogimont, C., Palloix, A., Daubze, A.M, Marchoux, G., Selassie, K.G., Pochard, E., 1996. Genetic analysis of broad spectrum resistance to potyviruses using doubled haploid lines of pepper (*Capsicum annuum* L.), *Euphytica* 88, 231–239.
- Dolar, M.S., Tekinel, N., Nas, Y.Z., 1976. Adana, Antalya, Gaziantep, Hatay, İçel ve Kahramanmaraş illeri patateslerinde virüs hastalıklarının ve kesafetlerinin simptomatolojik olarak tespiti üzerinde çalışmalar. *Bitki Koruma Bülteni*. 16: 2, 92 – 100.
- Echer, M., Costa, C.P., 2002. Reaction of sweet pepper to the *Potato Virus Y* (PVYm)1, *Scientia Agricola*, 59 (2), 309-314.
- Ekbiç, E., Abak, K., Yılmaz, M.A., 1997. A new PVY pathotype on pepper along mediterranean coastal area of Turkey. *10th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, Montpellier, 1-5 June 1997, 187-189.
- Ekbiç, E., 1998. Biberlerde Patates Y Virüsü'ne (PVY) dayanıklılık özelliği için bulk segregant analizi tekniği (BSA) ile RAPD (Random Amplified Polymorphic

- DNA) markerlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 53.
- Erkan, S., Yorgancı, Ü., 1983. A strain of *Tobacco mosaic virus* (TMV) affecting pepper plants, *Journal of Turkish Phytopathology*, 12, 83-101.
- Erkan, S., 1986. *Potato virus Y* on pepper in Turkey, *Phytopathologia Mediterranea*, 26, 149-150.
- Erkan, S., Schlosser, E., 1987. Reaction of pepper cvs. to a Turkish isolate of *Potato virus Y* (PVY), *Phytopathologia Mediterranea*, 26, 61-62.
- Fanigliulo, A., Comes, S., Pacella, R., Harrach, B., Martin, D.P., Crescenzi, A., 2005. Characterization of *Potato virus Y* nnp strain inducing veinal necrosis in pepper: a naturally occurring recombinant strain of PVY, *Archives of Virology*, 150, 709–720.
- Feki, S., Bouslama, L., 2008. Molecular phylogeny and genetic variability of the *Potato virus Y* (PVY) strains on the CP-encoding region, *Annals of Microbiology*, 58 (3), 29-33.
- Fereres, A., Perez, P., Gemenio, C., Ponz, F., 1993. Transmission of Spanish pepper and potato PVY isolates by aphid (*Homoptera: Aphididae*) vectors: epidemiological implications, *Environmental Entomology*, 22, 1260–1265.
- Fereres, A., 2000. Barrier crops as a cultural control measure of nonpersistently transmitted aphid-borne viruses, *Virus Research*, 71, 221–231.
- Fraser, R.S.S., 1998. Biochemistry of resistance to plant viruses. In *Plant Virus Disease Control* (Hadidi, A., Khetarpal, R.K. and Koganezawa, H., eds). St Paul, MN: APS Press, 56–64.
- Garcia-Arenal, F., McDonald, B. A., 2003. An analysis of the durability of resistance to plant viruses, *Phytopathology*, 93, 941-952.
- Gebre Selassie, K., Marchoux, G., Pochard, E., 1983. Biological and serological characterization of *Potato Virus Y* strains affecting peppers and other related strains, *Capsicum Newsletter*, 2, 134-136.
- Gebre Selassie, K., Marchoux, G., Delecolle, B., Pochard, E., 1985. Variabilite naturelle des souches du virus Y de la pomme de terre dans les cultures de piment du Sud- Est de la France. Caracterisation et classification en pathotypes, *Agronomie*, 5 (7), 621-630.
- Genda, Y., Kanda, A., Hamada, H., Sato, K., Ohnishi, J., Tsuda, S., 2007. Two amino acid substitutions in the coat protein of *Pepper mild mottle virus* are responsible for overcoming the *L4* gene-mediated resistance in *Capsicum* spp., *Phytopathology*, 97, 787–93.
- Gil Ortega, R., Luis Arteaga, M., Palazon Espanol, C., 1986. "Luesia" (INIA 225), variedad seleccionada de pimiento de conserva. *Actas II Congreso S.E.C.H.*, Cordoba, 11, 1147-1157.
- Glais, L., Tribodet, M., Kerlan, C., 2002. Genomic variability in *Potato potyvirus Y* (PVY): evidence that PVY^{NW} and PVY^{NTN} variants are single to multiple recombinants between PVY^O and PVY^N isolates, *Archives of Virology*, 147, 363–378.

- Govindarajan, V.S., 1986. Capsicum-production, technology, chemistry, and quality . Part III. Chemistry of the color, aroma, and pungency stimuli. *CRC Crit. Rev. Food Sciences and Nutrition*, 24, 245.
- Gracia, O., Feldman, J. M., Pontis, R. E., Boninsegna, J. 1968. Some viruses affecting tomatoes and peppers in Argentina, *Plant Disease Report*, 52(9), 674-676.
- Gray, S., De Boer, S., Lorenzen, J., Karasev, A., Whitworth, J., Nolte, P., Singh, R., Boucher, A., Xu, H., 2010. *Potato virus Y*: An evolving concern for potato crops in the United States and Canada., *Plant Diseases*, 94, 1384-1397.
- Greenleaf, W.H., 1956. Inheritance of resistance to tobacco-etch virus in *Capsicum frutescens* and in *Capsicum annuum*. *Phytopathology*. 46, 371–375.
- Greenleaf, W.H., 1986. *Pepper breeding*, 67-134. In 'Breeding Vegetable Crops', A.V.I., 67-127.
- Grzela, R., Szolajska, E., Ebel, C., Madern, D., Favier, A., Wojtal, I., Zagorski, W., Chroboczek, J., 2008. Virulence factor of *Potato virus Y*, genome-attached terminal protein VPg, is a highly disordered protein, *Journal of Biological Chemistry*, 283(1), 213-21.
- Gugerli, P., Fries, P., 1983. Characterization of monoclonal antibodies to *Potato virus Y* and their use for virus detection, *Journal of General Virology*, 64, 2471-2477.
- Gümüş, M., Erkan, S. 1998. Ayvalık ve Altınova yörelerinde üretilen patates çeşitlerinin yumrularında bulunan virüslerin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. *VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, Ankara, 348–350.
- Güldür, M.E., Yılmaz, M.A., Baloglu, S., Abak, K., Dikmen, F., 1992. Tuzla yöresinde biberlerde zararlı Hıyar mozayik virüsü. *Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, 13-16 Ekim 1992. E.Ü. Ziraat Fakültesi, İzmir, Cilt II (Sebze Bitkileri), 453-458.
- Güldür, M.E., Ozaslan, M., Baloglu, S., Yılmaz, M.A., 1994. *Pepper mild mottle virus* in pepper in Turkey. *Proceedings of 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*,. Kusadasi-Aydin-Türkiye, 465–467.
- Güldür, M.E., Özaslan, M., Baloğlu, S., Yılmaz, M.A., 1995. Mersin bölgesinde yetiştirilen biberlerde zararlı Tütün mozaik virüsü (TMV)'nın yeni bir ırkı. *Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 25. Kuruluş Yılı Özel Sayısı:105,67-72
- Güner, Ü., Yorgancı, Ü., 2006. Niğde ve Nevşehir İlleri patates ekiliş alanlarında saptanan viral etmenler, *Bitki Koruma Bülteni*, 46 (1-4), 35-49.
- Güner, Ü., Yorgancı, Ü., 2009. Afyon ve Bolu İllerinde patateslerdeki virüs hastalıklarının tanılanması ve hastalık oranları. *Türkiye 3. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri*, Van, 231.
- Halbert, S.E., Corsini, D.L., Wiebe, M.A., 2003. *Potato virus Y* transmission efficiency for some common aphids in Idaho, *American Journal of Potato Research*, 80, 87-91.
- Hamada, H., Tomita, R., Iwade, Y., 2007. Cooperative effect of two amino acid mutations in the coat protein of *Pepper mild mottle virus* overcomes L3-mediated resistance in *Capsicum* plants, *Virus Genes*, 34, 205–14.

- Hamalainen, J.H., Watanabe, K.N., Valkonen, J.P.T., Arihara, A., Plaisted, R.L., Pehu, E., Miller, L., Slack, S.A., 1997. Mapping and marker-assisted selection for a gene for extreme resistance to *Potato virus Y*, *Theoretical and Applied Genetics*, 94, 192-197.
- Heldak, J., 1997. Symptomatology and serological evaluation of *Potato virus Y* (PVY) isolates in relation to potato tuber necrotic ringspot disease *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, 43:1, 18-32.
- Hiskias, Y., Lesemann, D. E., Vetten, H. J., 1999. Occurrence, distribution and relative importance of viruses infecting hot pepper and tomato in the major growing areas of Ethiopia *Journal of Phytopathology*, 147:1, 5-11.
- Hobbs, H.A., Black, L.L., Johnson, R.R., Valverde, R.A., 1994. Differences in reactions among *Tomato spotted wilt virus* isolates to 3 resistant *Capsicum chinense* lines, *Plant Disease*, 78, 1220.
- Hooker, W.J. 1981. *Compendium of potato diseases*. APS Press, Minnesota.
- Hooks, C. R. R., Fereres, A. 2006. Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: A review on the use of barrier plants as a management tool, *Virus Research*, 120, 1-16.
- Horvath, J., 1966a. Methods of separation of potato pathogenic viruses and properties of the strains of *Potato virus Y*. Ph. D. Thesis. Rostock/Budapest, 231.
- Horvath, J., 1966b. Studies on strains of *Potato virus Y*. I. Strain C. *Acta phytopathologica Academiae scientiarum hungaricae* 1: 125–138.
- Horvath, J., Kazinczi, G., Takacs, A., Pribek, D., Bese, G., Gaborjanyi, R., Kadlicsko, S., 2000. Virus susceptibility and resistance of Hungarian pepper varieties. *International Journal of Horticultural Science*. 6 (4), 68-73.
- Ibaba, D.J., 2009. Characterization of *Potato Virus Y* (PVY) isolates infecting solanaceous vegetables in Kwazulu-Natal (Kzn), Republic Of South Africa (Rsa). Plant Pathology School of Agricultural Sciences Master of Science Thesis. University of KwaZulu-Natal, Republic of South Africa. 151.
- Janzac, B., Fabre, M.F., Palloix, A., Moury, B., 2009. Phenotype and spectrum of action of the *Pvr4* resistance in pepper against potyviruses, and selection for virulent variants, *Plant Pathology*, 58, 443–449.
- Jordan, R. L., Hammond, J., 1991. Comparison and differentiation of *Potyvirus* isolates and identification of strain-, virus-, subgroup- specific, and *Potyvirus* group-common epitopes using monoclonal antibodies, *Journal of General Virology*, 72, 25-36.
- Kanavaki, O. M., Margaritopoulos, J. T., Katis, N. I., Skouras, P., Tsitsipis, J. A., 2006. Transmission of *Potato virus Y* in tobacco plants by *Myzus persicae nicotianae* and *M. persicae* s.str, *Plant Disease*, 90, 777-782.
- Kang, B.C., Yeam, I., Jahn, M.M., 2005a. Genetics of plant virus resistance, *Annual Review of Phytopathology*, 43, 581–621.
- Kang, B.C., Yeam, I., Frantz, J.D., Murphy, J.F., Jahn, M.M., 2005b. The *pvr1* locus in pepper encodes a translation initiation factor eIF4E that interacts with *Tobacco etch virus* VPg, *Plant Journal*, 42, 392–405.

- Kazinczi, G., Kovács, J., Takács, A.P., Horváth, J., Gáborjányi, R., 2003. Susceptibility of *Capsicum* breeding lines to NTN strain of *Potato virus Y* (PVY(NTN)) and *Obuda pepper virus* (ObPV), *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 68, 555-9
- Keller, K. E., Johansen, I. E., Martin, R. R., Hampton, R. O., 1998. *Potyvirus* genome-linked protein (VPg) determines *Pea seed-borne mosaic virus* pathotype-specific virulence in *Pisum sativum*, *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11, 124-130.
- Kerlan, C., 2006. *Potato Virus Y*. *AAB Descriptions of Plants Viruses*, 414.
- Kerlan, C., Moury, B., 2008. *Potato Virus Y*. In *Encyclopedia of Virology*, 287-296. Edited by B.W.J. Mahy & M.H.V. van Regenmortel. Oxford: Academic Press.
- Kerlan, C., Moury, B., 2010. *Potato virus Y*, Editors: Mahy, B.W.J., van Regenmortel, M.H.V., *Desk encyclopedia of plant and fungal virology*, 290-298. Academic Press is an imprint of Elsevier Linacre House, Jordan Hill, Oxford, OX2 8DP, UK 525 B.
- Khalifa, M.B., Simon, V., Marrakchi, M., Fakhfakh, H., Moury, B., 2009. Contribution of host plant resistance and geographic distance to the structure of *Potato virus Y* (PVY) populations in pepper in northern Tunisia, *Plant Pathology*, 58 (4), 763–772.
- Kogovsek, P., Gow, L., Pompe-Novak, M., Gruden, K., Foster, G. D., Boonham, N., Ravnikar, M., 2008. Single-step RT real-time PCR for sensitive detection and discrimination of *Potato virus Y* isolates. *Journal of Virological Methods*. 149, 1-1.
- Kurçman, S., 1979. Ankara'nın Çubuk ilçesine bağlı bazı köylerde patateslerde görülen virüs hastalıkları. *Bitki Koruma Bülteni*. 19: 4, 181 – 190.
- Kutluk Yılmaz, N. D., Yanar, Y., Kadioğlu, İ., Çeşmeli, İ., Erkan, S., 2003. Detection of viruses in potato leaves, seed tubers and weeds by ELISA in Tokat Province, Turkey, *The Journal of Turkish Phytopathology*, 32 (3), 145-156.
- Kyle, M.M, Palloix, A., 1997. Proposed revision of nomenclature for *Potyvirus* resistance genes in *Capsicum*, *Euphytica*, 97, 183–188.
- Lana, A. F., Peterson, J. F., 1980. Identification and prevalence of pepper viruses in southern Quebec, *Phytoprotection*, 61, 13-18.
- Le Romancer, M., Kerlan, C., Nedellec, M., 1994. Biological characterization of various geographical isolates of *Potato virus Y* inducing superficial necrosis on potato tubers, *Plant Pathology*, 43, 138–144.
- Llave, C., Martinez, B., Diaz-Ruiz, J.R., López-Abella, D., 1999. Serological analysis and coat protein sequence determination of *Potato virus Y* (PVY) pepper pathotypes and differentiation from other PVY strains, *European Journal of Plant Pathology*, 105 (9), 847-857.
- Luis Arteaga, M., Gil Ortega, R., 1983. Natural virus infection in different pepper varieties in Spain. *Vith Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*, 4-7 July, 1983, Plovdiv, 143-147.

- Luis Arteaga, M., Gil Ortega, R., 1986. Biological characterization of PVY as isolated from pepper in Spain. *Eucarpia - VIth Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant*, Zaragoza, October 21-24, 183-188.
- Luis Arteaga, M., Mac Donaldj, G., Kristjansson, T., 1993. Properties of strains of *Potato virus Y* in North America, *Plant Disease*, 77(1), 87-89.
- Makkouk, K.M., Gumpf, D.J., 1974. Further identification of naturally occurring virus diseases of pepper in California, *Plant Disease. Reporter*, 58 (11), 1002-1006.
- Maule, A., Leh, V., Lederer, C., 2002. The dialogue between viruses and hosts in compatible interactions, *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 279–284.
- Maule J.A., Caranta C., Boulton, M.I., 2007. Sources of natural resistance to plant viruses: status and prospects, *Molecular Plant Pathology*, 8 (2), 223–231.
- Marchoux, G., Pochard, E., Chambonet, D., Rougier, J., 1974. Isolation of two PVY strains in pepper crops in South East France. Research for resistant genotypes. *Eucarpia, Genetics and Breeding of Capsicum*, 1 (4), 140-151.
- Marchoux G., Gebré-Selassié, K., 1989. Variabilité des virus chez les solanées maraîchères: conséquence pour la recherche de méthodes de lutte, *Phytoma*, 404, 49-52.
- Marte, M., Bellezza, G., Polverari, A., 1991. Infective behaviour and aphid transmissibility of Italian isolates of *Potato virus Y* in tobacco and peppers, *Annals of Applied Biology*, 118, 309-317.
- Martin, B., Varela, I., Marnotes, S., Cabaleiro, C., 2006. Use of oils combined with low doses of insecticide for the control of *Myzus persicae* and PVY epidemics, *Pest Management Science*, 62, 372-378.
- McDonald, J.G., Kristjansson, G.T., 1993. Properties of strains of *Potato virus Y* N in North America, *Plant Disease*, 77, 87–89.
- Miyoshi, H., Suehiro, N., Tomoo, K., Muto, S., Takahashi, T., Tsukamoto, T., Ohmori, T., Natsuaki, T., 2006. Binding analyses for the interaction between plant virus genome-linked protein (VPg) and plant translational initiation factors, *Biochimie*, 88, 329–340.
- Moodeley, V., Naidoo, R., Gubba, A., 2013. Development of homozygous pepper (*Capsicum annuum* L.) lines carrying *Potato virus Y* (PVY) resistance genes (*pvr2¹* and *pvr2*) using marker assisted selection (MAS). *10th International Congress of the Plant Pathology*, 25-30 August, Beijing, China. *Acta Phytopathologica*, 102-103.
- Morel, C., Gognalons, P., Guilbaud, L., Caranta, C., Gebré-Selassié, K., Marchoux, G., Jacquemond, M., 2000. Biological and molecular characterisation of two tomato strains of *Potato virus Y* (PVY), *Acta Physiologiae Plantarum*, 22, 336-343.
- Mostafae, S., Mosahebi, G.H., Koochi Habibi, M., Ansari Dezfouli, E., 2008. Study of biological and molecular characterization of pepper-PVY isolated from Tehran pepper fields and its comparison with other PVY isolates. *Iranian Journal of Virology*. 2 (4), 31-34.

- Moury, B., Morel, C., Johansen, E., Jacquemond, M., 2002. Evidence for diversifying selection in *Potato virus Y* and in the coat protein of other potyviruses, *Journal of General Virology*, 83, 2563–2573.
- Moury, B., Morel, C., Johansen, E., Guilbaud, L., Souche, S., Ayme, V., Caranta, C., Palloix, A., Jacquemond, M., 2004. Mutations in *Potato virus Y* genome-linked protein determine virulence toward recessive resistances in *Capsicum annuum* and *Lycopersicon hirsutum*, *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 17, 322–329.
- Nagai, H., Costa A.S., 1972. Four new pepper varieties resistant to virus Y in Brasil. *Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum*, (Ed. Quagliotti L. and Nassi M.O.), 283–287.
- Ng, J. C. K., Falk, B. W., 2006. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses, *Annual Review of Phytopathology*, 44, 183–212.
- Nicolas, O., Dunnington, S. W., Gotow, L. F., Pirone, T. P., Hellmann, G. M., 1997. Variations in the VPg protein allow a *Potyvirus* to overcome *va* gene resistance in tobacco, *Virology*, 237, 452–459.
- Ogawa, T., Tomitaka, Y., Nakagawa, A., Ohshima, K., 2008. Genetic structure of a population of *Potato virus Y* inducing potato tuber necrotic ringspot disease in Japan; comparison with North American and European populations, *Virus Research*, 131, 199–212.
- Özaslan, M., Baç, B., Aytekin, T., Sığircı, Z., 2006. Identification of pepper viruses by DAS-ELISA assays in Gaziantep-Turkey, *Plant Pathology Journal*, 5 (1), 11–14.
- Özaydın, K., 2010. Çukurova Bölgesi’nde yetiştirilen patateslerdeki virolojik sorunlar. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 75.
- Palloix A., 1992. Diseases of pepper and perspectives for genetic control. EUCARPIA. *VIIIth Meeting 'Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant'*, Rome, Italy, 7–10 Sept. 1992, 120–126.
- Palloix, A., Abak, K., Daubeze, A.M., Güldür, M.E., Gebre, K.G., 1994a. Survey of pepper diseases affecting the main production regions of Turkey with special interest in viruses and *Potyvirus* pathotypes, *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 13, 78–81.
- Palloix, A., Abak, K., Gognalons, P., Daubeze, A.M., Güldür, M.E., Memouchi, G., Selassie, K.G., 1994b. Virus diseases infecting pepper crops in Türkiye. *9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, September 18–24, Kuşadası-Aydın, Türkiye, 469–472.
- Palloix A., Kyle M., 1995. Proposal revision of gene nomenclature for *Potyvirus* resistance genes in *Capsicum* sp., *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 14, 26–29.
- Pasko, P., Luis Arteaga, M., Gil Ortega, R., 1992. Different kinds of reactions to PVY-1-2 in *Capsicum annuum* L. cv ‘SCM-334’. *Proc 8th Eucarpia Meet Genet Breed Capsicum Eggplant*, 153–156.
- Pasko, P., 1993. A study on pepper resistance to *Potato virus Y* (PVY). IAMZ. Zaragoza (Spain), 112.

- Pasko, P., Luis Arteaga, M., Gil Ortega, R., 1995. A cytoplasmically determined resistance to *Potato virus Y* (PVY) in *Capsicum annuum* L. cv. Puerto Rico Wonder. *IXth Eucarpia Meeting on Capsicum and Eggplant* (Budapest), 169-172.
- Pasko, P., Ortega, G.R., Arteaga, L.M., 1996. Resistance to *Potato virus Y* in peppers. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 15, 11-27.
- Pochard E., 1977. Etude de la resistance aux souches europeennes du virus Y de la pomme de terre (PVY) chez le piment; *Capsicum* 77, C.R. 3^o *Congres Eucarpia*, 5-8 Juillet 1977, France, 109-118.
- Pirone, T. P., Blanc, S. 1996. Helper-dependent vector transmission of plant viruses, *Annual Review of Phytopathology*, 34, 227-247.
- Rajamaki, M. L., Valkonen, J. P., 1999. The 6K2 protein and the VPg of *Potato virus A* are determinants of systemic infection in *Nicandra physaloides*, *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 12, 1074-1081.
- Rajamaki, M. L., Valkonen, J. P., 2002. Viral genome-linked protein (VPg) controls accumulation and phloem-loading of a *Potyvirus* in inoculated potato leaves, *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15, 138-149.
- Revers, F., Le Gall, O., Candresse, T., Le Romancer, M., Dunez, J., 1996. Frequent occurrence of recombinant *Potyvirus* isolates, *Journal of General Virology*, 77, 1953–1965.
- Riechmann, J.L., Lain, S., Garcia, J.A., 1992. Review Article: Highlights and prospects of *Potyvirus* molecular biology, *Journal of General Virology*, 73, 1-16.
- Rigotti, S., Gugerli, P., 2007. Rapid identification of *Potato virus Y* strains by one-step triplex RT-PCR, *Journal of Virological Methods* 140, 90–94.
- Robaglia, C., Caranta, C., 2006. Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection, *Trends in Plant Science*, 11, 40-45.
- Rolland, M., Glais, L., Kerlan, C., Jacquot, E., 2008. A nucleotide polymorphisms interrogation assay for reliable *Potato virus Y* group and variant characterization. *Journal of Virological Methods*.147, 108-117.
- Romero, A., Blanco-Urgoiti, B., Soto, M.J., Fereres, A., Ponz, F., 2001. Characterization of typical pepper-isolates of PVY reveals multiple pathotypes within a single genetic strain, *Virus Research*, 79, 71–80.
- Ruffel, S., Dussault, M.H., Palloix, A., Moury, B., Bendahmane, A., Robaglia, C., Caranta, C., 2002. A natural recessive resistance gene against *Potato virus Y* in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E), *Plant Journal*, 32, 1067–1075.
- Ruffel, S., Caranta, C., Palloix, A., Lefebvre, V., Caboche, M., Bendahmane, A., 2004. Structural analysis of the eukaryotic initiation factor 4E gene controlling *Potyvirus* resistance in pepper: exploitation of a BAC library. *Gene*, 338 (2), 209-216.
- Ruffel, S., Gallois, J., Moury, B., Robaglia, C., Palloix, A., Caranta, C., 2006. Simultaneous mutations in translation initiation factors eIF4E and eIF(iso)4E

- are required to prevent *Pepper vein mottle virus* infection of pepper. *Journal of General Virology*, 87, 2089–2098
- Rubio, M., Caranta, C., Palloix, P., 2008. Functional markers for selection of *Potyvirus* resistance alleles at the *pvr2-eIF4E* locus in pepper using tetra-primer ARMS-PCR, *Genome*, 51, 767-771.
- Schaad, M. C., Lellis, A. D., Carrington, J. C., 1997. VPg of *Tobacco etch potyvirus* is a host genotype-specific determinant for long-distance movement, *Journal of Virology*, 71, 8624-8631.
- Shukla, D.D., Ward, C.W., Brunt, A.A., 1994. *Genome structure, variation and function*. In: Shukla D.D., Ward C.W., Brunt A.A. (eds) *The Potyviridae*, 74-112. CAB International, Wallingford, UK.
- Simons, J., 1957. Effects of insecticides and physical barriers on field spread of *Pepper veinbanding mosaic virus*, *Phytopathology*, 47, 139–145.
- Singh, R. P., Valkonen, J. P., Gray, S. M., Boonham, N., Jones, R. A., Kerlan, C., Schubert, J., 2008. Discussion paper: The naming of *Potato virus Y* strains infecting potato, *Archives of Virology*, 153, 1-13.
- Smith, K.M., 1931. Composite nature of certain potato viruses of the mosaic group as revealed by the use of plant indicator, *Biological Sciences*, 109, 251-267.
- Somos, A. 1984. *The Paprika*. Akademiai Kiado, Budapest. 302.
- Soto, M.J, Luis Artega, M., Fereres, A., Ponz, F., 1994. Limited degree of serological variability in pepper strains of *Potato virus Y* as revealed by analysis with monoclonal antibodies, *Annals of Applied Biology*, 124, 37–43.
- Stevenson, W.R., Loria, R., Franc, G.D., Weingartner, D.P., 2001. *Compendium of Potato Diseases*, second edition, APS Press, 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, Minnesota, USA.
- Thomas, J.E., McGrath, D.J., 1988. Inheritance of resistance to *Potato virus Y* in tomato, *Australian Journal of Agricultural Research*, 39, 375-479.
- Thomas, J.E., Persley, D.M., Mcgrath, D.M., Hibberd, A.M., 1989. Virus diseases of tomato and pepper in Queensland and some aspects of their control. Tomato and pepper production in the tropics. *Proceedings of the International Symposium on Integrated Management Practices*, 21-26 March 1988, A VRDC, Taiwan, 250-259.
- Truniger, V., Aranda, M.A., 2009. Recessive resistance to plant viruses. *Advances in Virus Research*. 75, 119–159.
- Urcuqui-Inchima, S., Haenni, A.L., Bernardi, F., 2001. *Potyvirus* proteins: a wealth of functions, *Virus Research*, 74, 157-175.
- URL-1: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> (Ziyaret tarihi: 12 Şubat 2014).
- URL-2: <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Ziyaret tarihi: 12 Şubat 2014).
- Ünlü, Ş., Güldür, M. E., 2004. Şanlıurfa ilinde biberlerde hıyar mozayik virüsü (CMV)'nün bulaşıklık oranının belirlenmesi. *HR.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8 (3/4): 83-89.

- Valkonen, J. P. T., 1994. Natural genes and mechanisms for resistance to viruses in cultivated and wild potato species (*Solanum* spp.), *Plant Breeding*, 112, 1–16.
- Valkonen, J.P.T., 2007. *Potato viruses: economical losses and biotechnological potential*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 619-641.
- Van Hoof, H.A., 1980. Aphid vectors of potato virus YN, *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 86, 159.
- Van Toor, R. F., Drayton, G. M., Lister, R. A., Teulon, D. A. J., 2009. Targeted insecticide regimes perform as well as a calendar regime for control of aphids that vector viruses in seed potatoes in New Zealand, *Crop Protection*, 28, 599-607.
- Varveri, C., 2000. *Potato Y potyvirus* detection by immunological and molecular techniques in plants and aphids. *Phytoparasitica*. 28: 141-148.
- Von Der Pahlen, A., Nagai, H., 1973. Resistencia del pimiento (*Capsicum* spp.) a estirpes predominantes del virus 'Y' de la papa en Buenos Aires, el N.O. argentino yen el centro sur del Brasil. Revista de Investigaciones Agropecuarias, *Patologia Vegetale*, 10 (2), 109-116.
- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., 2000. *Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme)*, 440. E.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, E.Ü Basımevi, Bornova, İZMİR.
- Wang, R. Y., Ammar, E. D., Thornbury, D. W., López-Moya, J. J., Pirone, T. P., 1996. Loss of potyvirus transmissibility and helper-component activity correlate with non-retention of virions in aphid stylets, *Journal of General Virology*, 77, 861-867.
- Whitham, S. A., Wang, Y., 2004. Roles for host factors in plant viral pathogenicity, *Current Opinion in Plant Biology*, 7, 365–371.
- Yardımcı, N., Bostan, H., 1999. Research on detection of viruses in potato plants tested by ELISA in Erzurum province, *Journal of Plant Pathology*, 28, 3, 99-100.
- Yeam, I., Kang, B.C., Lindeman, W., Frantz, J.D., Faber, N., Jahn, M.M., 2005. Allele-specific CAPS markers based on point mutations in resistance alleles at the *pvr1* locus encoding eIF4E in *Capsicum*, *Theoretical and Applied Genetics*, 112, 178–186.
- Yılmaz, M.A., Davis, R.F., Varney, E.H., 1983. Viruses on vegetable crops along the Mediterranean coast of Turkey (summary), *Phytopathology*, 73, 378.
- Yılmaz, M.A., Davis, R.F., 1985. Identification of viruses infecting vegetable crops along the mediterranean sea coast in Turkey, *Journal of Turkish Phytopathology*, 14 (1), 1-8.
- Yurtmen, M., Güldür M.E., Yılmaz M.A., 1999. *Tomato spotted wilt virus* on peppers in İçel province of Turkey. *Petria*, 9(3): 243-344.
- Zitter, T. A., 1972. Naturally occurring pepper virus strains in South Florida, *Plant Disease Reporter*, 56 (7), 586-590.
- Zitter, T.A., Cook, A.A., 1973. Inheritance of tolerance to a pepper virus in Florida. *Phytopathology*. 63: 1211-1212.

Zitter, T.A., 1993. *Potato virus Y. In Compendium of Tomato Diseases*, 36-37. Eds J B Jones, R E Stall and T A Zitter, USA: APS press.

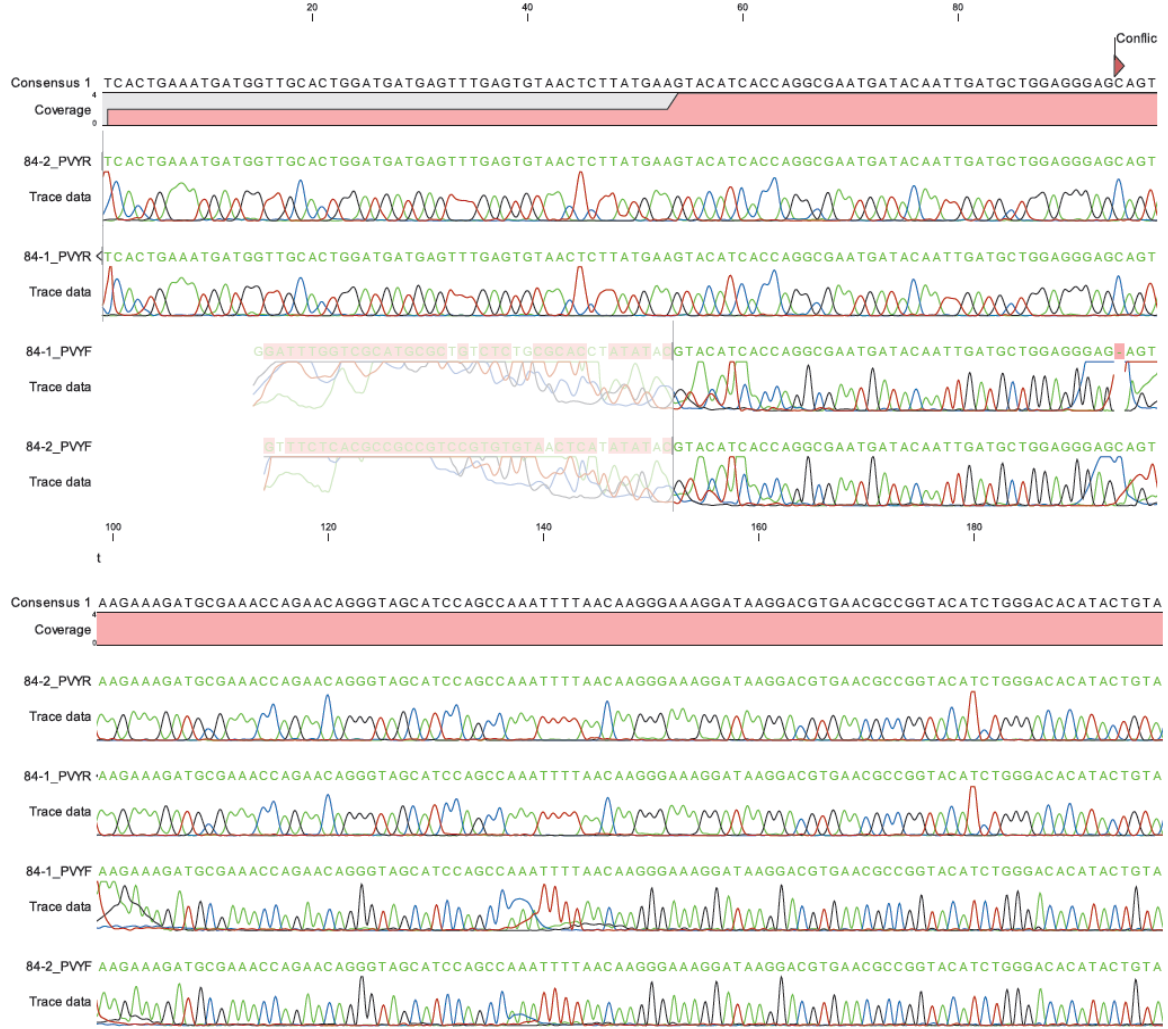
EKLER

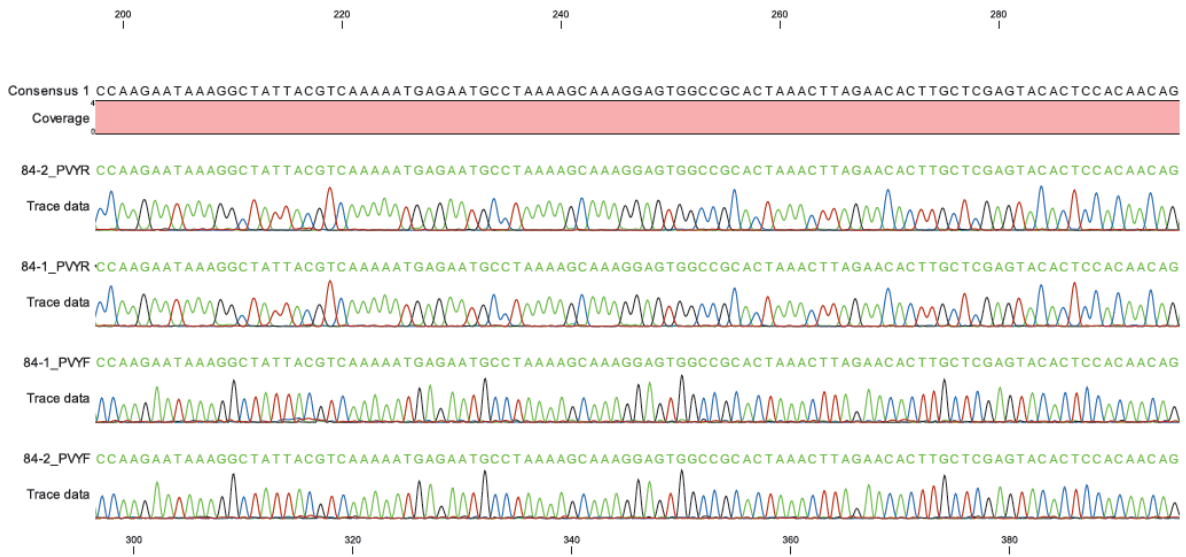
EK A: SÇ-84 nolu izolata ait 2 farklı PCR ürününün DNA dizi analizleri ve CLC Main Workbench programında hizalanmış kriptogram eğrileri

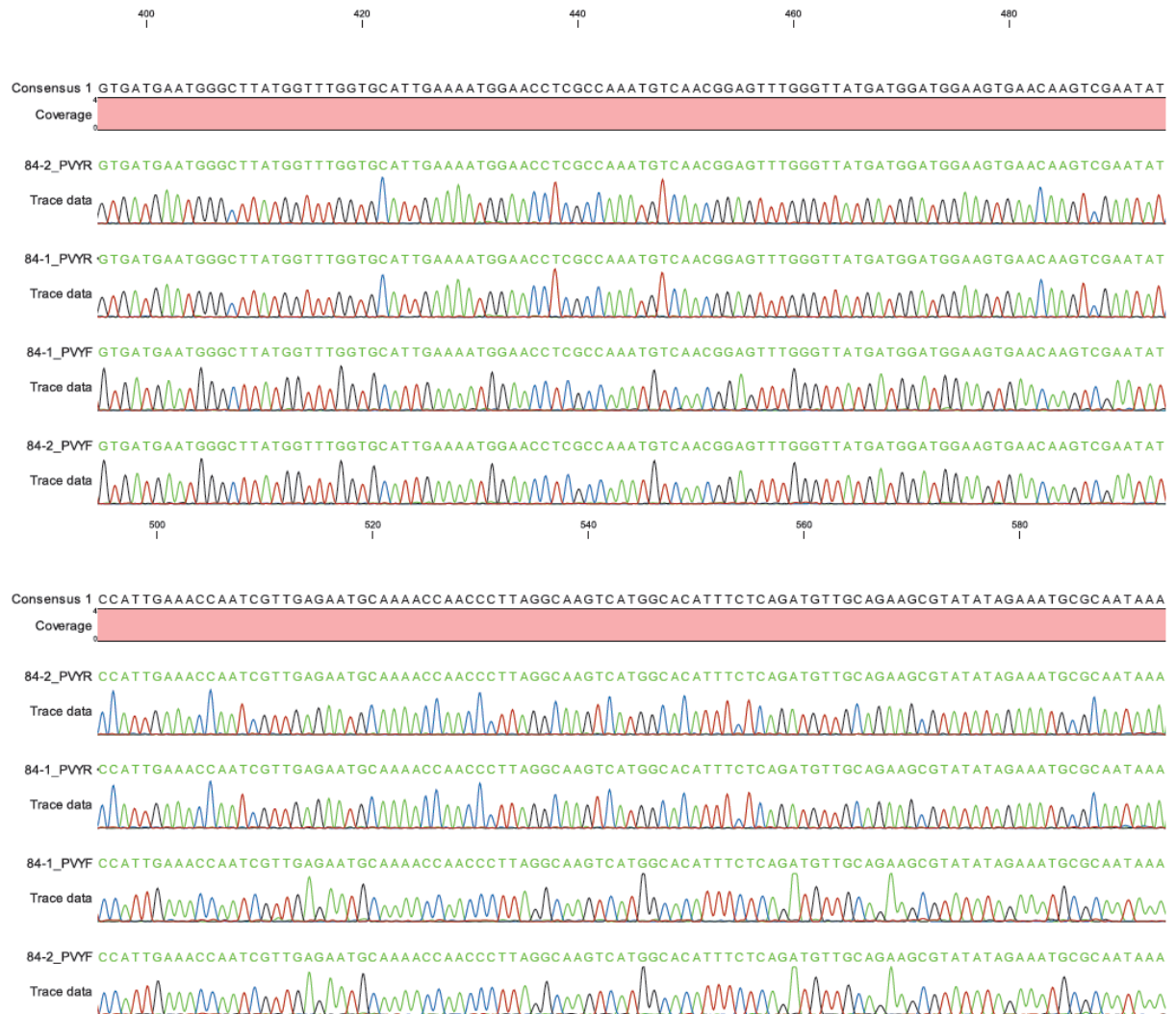
EK B: NCBI'ya kayıt edilmiş olan PVY izolatlarına ait bilgiler

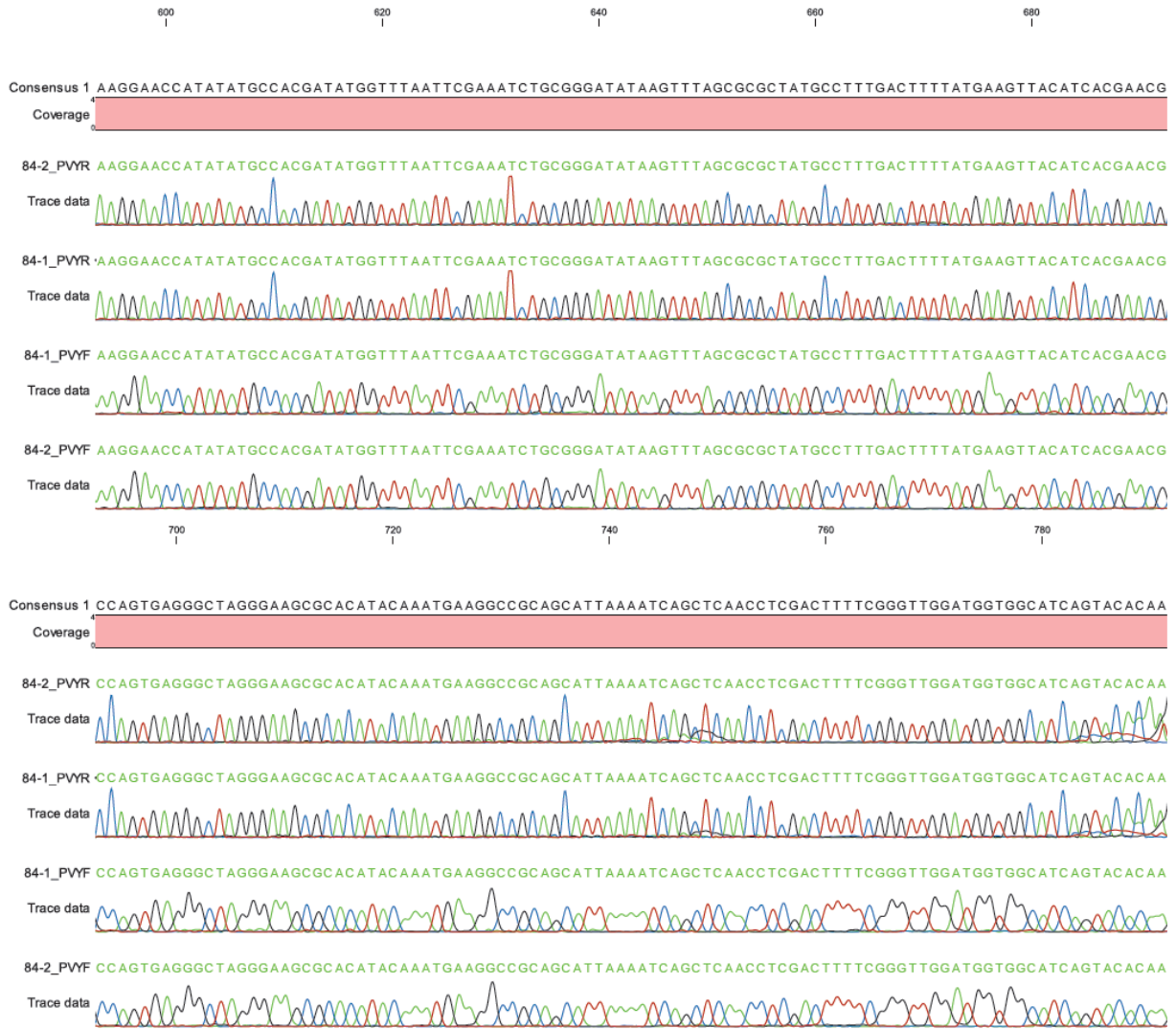
EK C: PVY izolatlarının CP gen bölgesi baz dizi analizlerinin karşılaştırılması

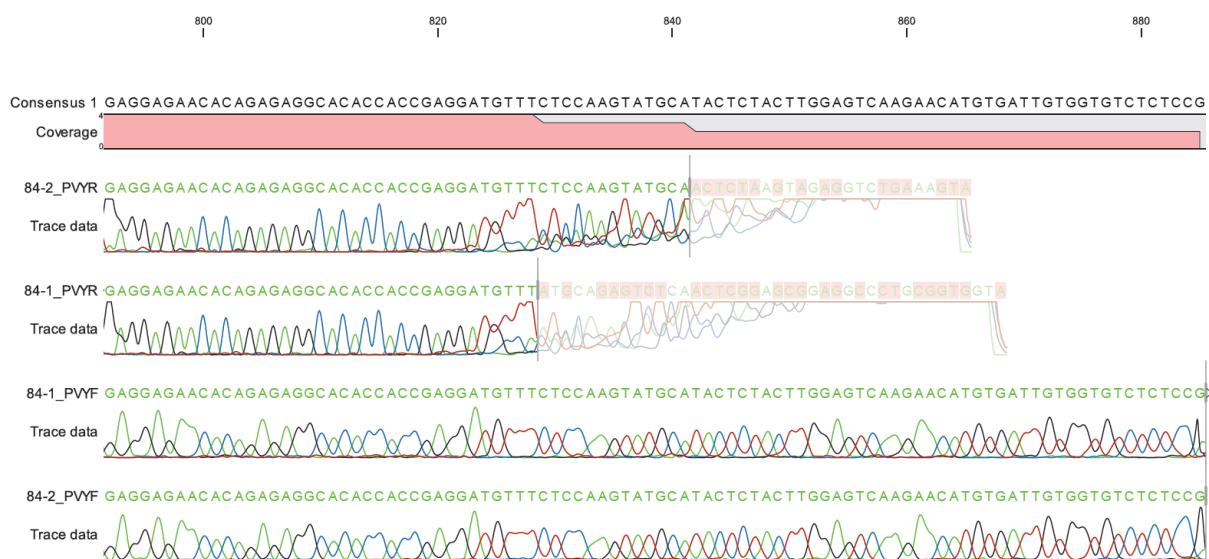
EK A. SÇ-84 nolu izolata ait 2 farklı PCR ürününün DNA dizi analizleri ve CLC Main Workbench programında hizalanmış kriptogram eğrileri











EK B. NCBI'ya kayıt edilmiş olan PVY izolatlarına ait bilgiler

```

LOCUS      Seq4                      879 bp    RNA      linear    VRL 15-MAY-2014
DEFINITION Potato virus Y coat protein region, complete CDS, isolate: SC-9.
ACCESSION  KJ847048
VERSION
KEYWORDS
SOURCE     Potato virus Y
ORGANISM   Potato virus Y
            Viruses; ssRNA positive-strand viruses, no DNA stage; Potyviridae;
            Potyvirus.
REFERENCE  1 (bases 1 to 879)
AUTHORS   Deligoz,I. and Arli Sokmen,M.
TITLE     Coat protein sequence analysis of Potato virus Y pathotypes from
            pepper (Capsicum annum L.) in Turkey
JOURNAL   unpublished
REFERENCE  2 (bases 1 to 879)
AUTHORS   Deligoz,I. and Arli Sokmen,M.
TITLE     Direct Submission
JOURNAL   Submitted (15-MAY-2014) Department of Plant Protection, Faculty of
            Agriculture, Ondokuz Mayıs University, Kurupelit Campus, Atakum,
            Samsun 55139, Turkey
COMMENT   Bankit Comment: ALT EMAIL:mirays@omu.edu.tr.
            Bankit Comment: TOTAL # OF SEQs:1.

            ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##

FEATURES             Location/Qualifiers
     source            1..879
                        /organism="Potato virus Y"
                        /mol_type="genomic RNA"
                        /isolate="SC-9"
                        /host="Capsicum annum L."
                        /db_xref="taxon:12216"
                        /country="Turkey: Samsun Province"
                        /collection_date="2011"
                        /note="Pathotype 'PVY-0'"
     gene              <76..879
                        /gene="CP"
     CDS               <76..879
                        /gene="CP"
                        /codon_start=1
                        /product="Coat Protein"
                        /translation="ANDAI DAGGSSKKDAKPEQGSIQPNPNKGKDKDVNAGTSGTHTV
                        PRIKAITSKMRMPKSKGVAALNLEHLEYTPQQIDISNTRATQSQFDTWYEAVRTAYD
                        IGETEMPTVMNGLMVWCIENGTSNVNGVWVMMDGSEQVEYPLKPIVENAKPTLRQVM
                        AHFSDVAEAYIEMRNKKEPYMPRYGLIRNLRDISLARYAFDFYEVTSRTPVRAREAHI
                        QMKAAALKSAQPRFLGDDGISTQEEPTERTHTTEDVSPSMHTLLGVKNM"

BASE COUNT      294 a      171 c      219 g      195 t
ORIGIN
    1 ctaagaagct tcactgaaat gatggttgca ctggatgatg agtttgagtg tgaatcttat
   61 gaagtatatc atcagggcga tgaatgcaatt gatgctggag ggagcagtaa gaaagatgcg
  121 aaaccagaac agggtagcat ccagccaaat cctaacaagg gaaaggataa ggacgtgaac
  181 gccggtacat ctgggacaca cactgtacca agaataaagg ctattacgtc aaaaatgaga
  241 atgCctaaaa gcaaaggagt ggccgcacta aacttagaac acttgctcga gtacactcca
  301 caacagatag atatctcaaa tactcgagca actcaatcac agtttgatag gtggtatgaa
  361 gcagtgcgga cggcatacga cataggagag accgaaatgc caactgtgat gaatgggctt
  421 atggttttgt gcattgaaaa tggaaacctg ccaaatgtca acggagtgtg gggtatgatg
  481 gatggaagtg aacaagtcga atatccgttg aaaccaatcg ttgagaatgc aaaaccaacc
  541 cttaggcaag tcatggcaca tttctcagat gttgcagaag cgtatataga aatgcgcaat
  601 aaaaaggaac cataatatgcc acgatatggt ttaattcgaa atttgcggga tataagttta
  661 gcgcgctatg cctttgactt ttatgaagtt acatcacgaa cgccagtggag ggctagggaa
  721 gcgcacatac aaatgaaggc cgcagcatta aaatcagctc aacctcgact tttcgggttg
  781 gatggtggca tcagtacaca agaggagccc acagagcggc acaccaccga ggatgtttct
  841 ccaagtatgc atactctact tggagtcaag aacatgtga
//

```

LOCUS Seq3 881 bp RNA linear VRL 15-MAY-2014
DEFINITION Potato virus Y coat protein region, complete CDS, isolate: SB-63.
ACCESSION KJ847047
VERSION
KEYWORDS
SOURCE .
ORGANISM Potato virus Y
Viruses; ssRNA positive-strand viruses, no DNA stage; Potyviridae;
Potyvirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 881)
AUTHORS Deligoz,I. and Arli Sokmen,M.
TITLE Coat protein sequence analysis of Potato virus Y pathotypes from
pepper (Capsicum annum L.) in Turkey
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 881)
AUTHORS Deligoz,I. and Arli Sokmen,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (15-MAY-2014) Department of Plant Protection, Faculty of
Agriculture, Ondokuz Mayis University, Kurupelit Campus, Atakum,
Samsun 55139, Turkey
COMMENT Bankit Comment: ALT EMAIL:mirays@omu.edu.tr.
Bankit Comment: TOTAL # OF SEQs:1.

##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES
source Location/Qualifiers
1..881
/organism="Potato virus Y"
/mol_type="genomic RNA"
/isolate="SB-63"
/host="Capsicum annum L."
/db_xref="taxon:12216"
/country="Turkey: Samsun Province"
/collection_date="2011"
/note="Pathotype 'PVY-0'"
gene
<64..867
/gene="CP"
CDS
<64..867
/gene="CP"
/codon_start=1
/product="Coat Protein"
/translation="GNDTIDAGGSTKKDAKQDQSGSIQPNLNKEKEKDVNVGTSHTV
PRIKAITSKMRMPKSKGATVNLKHLLEYAPQQIDISNTRATQSQFDTWYEAVQLAYD
IGETEMPTVMNGLMVWCIENGTSFNGVWVMDGDEQVEYPLKPIVENAKPTLRQIM
AHFSDVAEAYIEMRNKKEPYMPRYGLVRNLRDGLSARYAFDFYEVTSTPVRAREAH
QMKAAALKSAQSRLFGLDGGISTQEENTERHTTEDVSPSMHTLLGVKNM"
BASE COUNT 298 a 175 c 209 g 199 t
ORIGIN
1 actgaaatga tgggtgcctt ggatgatgaa cttgagtgcg atacttatga agtgcaccat
61 caaggaaatg acacaatcga tgcaggagga agcactaaga aggatgcaaa acaagatcaa
121 ggtagcattc aaccaaactc caacaaggaa aaggaaaagg acgtgaatgt tgggacatct
181 ggaactcata ctgtgccacg aattaaagct atcacgtcca aaatgagaat gcccaagagt
241 aaagggtgcaa ctgtactaaa ttgaaacac ttactcgagt atgctccaca gcaaattgac
301 atctcaataa ctcgagcaac tcaatcacag ttgtatagct ggtatgaagc ggtacaactt
361 gcatacgaca taggagaaac tgaaatgccg actgtgatga atgggcttat ggtttggtgc
421 attgaaaatg gaacctcgcc aaacatcaac ggagtttggg ttatgatgga tggagatgaa
481 caagtcgaat acccactgaa accaatcgtt gagaatgcaa aaccaacact taggcaaatc
541 atggcacatt tctcagatgt tgcagaagcg tatatagaaa tgcgcaacaa aaaggaacca
601 tatatgccac gatatggttt agttcgtaat ctgctcgatg gaagtttggc tcgctatgct
661 tttgactttt atgaggtcac atcacgaaca ccagtgaggg ctagggaagc gcacattcaa
721 atgaaggccg cagcattgaa atcagcccaa tctcgacttt tcgggttgga cggtggcatc
781 agtacacaag aggagaacac agagaggcac accaccgagg atgtctctcc aagtatgcat
841 actctacttg gagtcaagaa catgtgatgt agtgtctctc g

LOCUS Seq1 885 bp RNA linear VRL 02-MAY-2014
 DEFINITION Potato virus Y coat protein region, complete CDS, isolate: SC-84.
 ACCESSION KJ847045
 VERSION .
 KEYWORDS .
 SOURCE Potato virus Y
 ORGANISM Potato virus Y
 Viruses; ssRNA positive-strand viruses, no DNA stage; Potyviridae; Potyvirus.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 885)
 AUTHORS Deligoz, I.
 TITLE Coat protein sequence analysis of PVY pathotypes from pepper (Capsicum annuum L.) in Turkey
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 885)
 AUTHORS Deligoz, I. and Arli Sokmen, M.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (02-MAY-2014) Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ondokuz Mayıs University, Kurupelit Campus, Atakum, Samsun 55139, Turkey
 COMMENT Bankit Comment: ALT EMAIL: ilyasdeligoz@yahoo.com.
 Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.
 ##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##
 FEATURES
 source Location/Qualifiers
 1..885
 /organism="Potato virus Y"
 /mol_type="genomic RNA"
 /isolate="SC-84"
 /host="Capsicum annuum L."
 /db_xref="taxon:12216"
 /country="Turkey: Samsun Province"
 /collection_date="2011"
 /note="pathotype 'PVY-1'"
 gene <66..869
 /gene="CP"
 CDS <66..869
 /gene="CP"
 /codon_start=1
 /product="Coat Protein"
 /translation="ANDTIDAGGSSKKDAKPEQGSIQPNFNKGKDKDVNAGTSGTHTV
 PRIKAITSKMRMPKSKGVAALNLEHLLEYTPQQIDISNTRATQSQFDTWYEAVRTAYD
 IGETEMPTVMNGLMVWCIENGTSFNVNGVWVMDGSEQVEYPLKPIVENAKPTLRQVM
 AHFSDVAEAYIEMRNKKEPYMPRYGLIRNLRDISLARYAFDFYEVTSRTPVRAREAHI
 QMKAAALKSAQPRFLDGGISTQEENTERHTTEDVSPSMHTLLGVKNM"
 BASE COUNT 295 a 171 c 219 g 200 t
 ORIGIN
 1 tcactgaaat gatggttgca ctggatgatg agtttgagtg taactcttat gaagtacatc
 61 accaggcgaa tgatacaatt gatgctggag ggagcagtaa gaaagatgag aaaccagaac
 121 agggtagcat ccagccaaat tttaacaagg gaaaggataa ggacgtgaac gccggtacat
 181 ctgggacaca tactgtacca agaataaagg ctattacgtc aaaaatgaga atgcctaaaa
 241 gcaaaggagt ggccgcacta aacttagaac acttgctcga gtacactcca caacagatag
 301 atatctcaaa tactcgagca actcaatcac agtttgatac gtggtatgaa gcagtgcgga
 361 cgccatacga cataggagag accgaaatgc caactgtgat gaatgggctt atggtttggt
 421 gcattgaaaa tggaacctcg ccaaatgtca acggagtttg gggtatgatg gatggaagtg
 481 aacaagtcga atatccattg aaaccaatcg ttgagaatgc aaaaccaacc cttaggcaag
 541 tcatggcaca ttctcagat gttgcagaag cgtatataga aatgcgcaat aaaaaggaac
 601 catatatgcc acgatatggt ttaattcgaa atctgcggga tataagttta gcgcgctatg
 661 cctttgactt ttatgaagtt acatcacgaa cgccagttag ggctagggaa gcgcacatac
 721 aaatgaaggc cgagcagcatta aaatcagctc aacctcgact ttccgggttg gatggtggca
 781 tcagtacaca agaggagaac acagagagtc acaccaccga ggatgtttct ccaagtatgc
 841 atactctact tggagtcaag aacatgtgat tgtggtgtct ctccg

LOCUS Seq2 806 bp RNA linear VRL 15-MAY-2014
DEFINITION Potato virus Y coat protein region, partial CDS, isolate: SC-87.
ACCESSION KJ847046
VERSION
KEYWORDS
SOURCE Potato virus Y
ORGANISM Potato virus Y
Viruses; ssRNA positive-strand viruses, no DNA stage; Potyviridae; Potyvirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 806)
AUTHORS Deligoz,I. and Arli sokmen,M.
TITLE Coat protein sequence analysis of Potato virus Y pathotypes from
pepper (Capsicum annum L.) in Turkey
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 806)
AUTHORS Deligoz,I. and Arli sokmen,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (15-MAY-2014) Department of Plant Protection, Faculty of
Agriculture, Ondokuz Mayis University, Kurupelit Campus, Atakum,
Samsun 55139, Turkey
COMMENT Bankit Comment: ALT EMAIL:mirays@omu.edu.tr.
Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES
source Location/Qualifiers
1..806
/organism="Potato virus Y"
/mol_type="genomic RNA"
/isolate="SC-87"
/host="Capsicum annum L."
/db_xref="taxon:12216"
/country="Turkey: Samsun Province"
/collection_date="2011"
/note="Pathotype 'PVY-1'"
gene <3..791
/gene="CP"
CDS <3..791
/gene="CP"
/note="partial CP gene"
/codon_start=1
/product="Coat Protein"
/translation="DAGGSSKKDAKPEQGSIQPNPNKGKDKDVNAGTSGTHTVPRIKA
ITSKMRMPKSKGVAALNLEHLLLEYTPQQIDISNTRATQSQFDTWYEAVRTAYDIGETE
MPTVMNGLMVWCIENGTSNPVNGVWMMMDGSEQVEYPLKPIVENAKPTLRQVMAHFS
VAEAYIEMRNKKEPYMPRYGLIRNLRDINLARYAFDFYEVTSRTPVRAREAHIQMKAA
ALKSAQPRLFLDGGISTQEENTERHTTEDVSPSMHTLLGVKNM"
BASE COUNT 272 a 162 c 198 g 174 t
ORIGIN
1 tagatgctgg agggagcagt aagaaagatg cgaaaccaga acagggtagc atccagccaa
61 atcctaacaa gggaaaggat aaggacgtga atgccggtac atctggaaca catactgtac
121 caagaataaa ggctattacg tcaaaaatga gaatgcccaa aagcaaagga gtggccgcac
181 taaacttaga acacttgctc gactacacac cacaacagat agatatctca aatactcggg
241 caactcaatc acagtttgat acgtggtatg aagcagtgcg gacagcatag gacataggag
301 agaccgaaat gccaaactgtg atgaatgggc ttatggtttg gtgcattgaa aatggaacct
361 cgccaaatgt caacggaggtt tgggttatga tggatggaag tgaacaagtc gaatatccgt
421 tgaaaccaat cgttgagaat gcaaaaccaa cccttaggca agtcattggca catttctcag
481 atgttgacga agcgtatata gaaatgcgca acaaaaagga accatatatg ccacgatatg
541 gtttaattcg aaatctgcgg gatataaatt tagcgcgcta tgcctttgac ttttatgaag
601 ttacatcacg aacgccagtg agggctaggg aagcgcacat acaaatgaag gccgcagcat
661 taaaatcagc tcaacctcga cttttcgggt tggatggtgg catcagtaca caagaggaga
721 acacagagag gcacaccacc gaggatgttt ctccaagtat gcatactcta cttggagtca
781 agaacatgtg attgtggtgt ctctcc

EK C. PVY izolatlarının CP gen bölgesi baz dizi analizlerinin karşılaştırılması

		20		40		60	
SÇ-84	-----	-----TCAC	TGAAATGATG	GTTGCACCTGG	ATGATGAGTT	TGAGTGTAA	44
SÇ-9	-----CTAA	GAAGCTTCAC	TGAAATGATG	GTTGCACCTGG	ATGATGAGTT	TGAGTGTGAA	54
SÇ-87	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-
Tu12.3 (AJ303095)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-
LYE 84.2 (AJ439545)	GAGGAGTTGA	GGATCTTCAC	TGAAATGATG	GTTGCACCTGG	ATGATGAGTT	TGAGTGTGAC	60
SB-63	-----	-----AC	TGAAATGATG	GTTGCCCTTGG	ATGATGAACT	TGAGTGCAT	42
EF026075 (NTN)	GAGGAACCTGA	AGGCTTTTCAC	TGAAATGATG	GTTGCCCTTGG	ATGATGAACT	TGAGTGCAT	60
		80		100		120	
SÇ-84	TCTTATGAAG	TACATCACCA	GGCGAATGAT	ACAAATTGATG	CTGGAGGGAG	CAGTAAGAAA	104
SÇ-9	TCTTATGAAG	TATATCATCA	GGCGAATGAT	GCAATTGATG	CTGGAGGGAG	CAGTAAGAAA	114
SÇ-87	-----	-----	-----	-----TAGATG	CTGGAGGGAG	CAGTAAGAAA	26
Tu12.3 (AJ303095)	-----	-----	-----GCAAAACGAT	ACAAATTGATG	CTGGGGAGAG	CAGTAAGAAA	39
LYE 84.2 (AJ439545)	TCTTATGAAG	TACATCACCA	GGCAAAACGAT	ACAAATTGATG	CTGGAGGGAG	CAGTAAGAAA	120
SB-63	ACTTATGAAG	TGCACCATCA	AGGAAATGAC	ACAAATCGATG	CAGGAGGAAAG	CACTAAGAAAG	102
EF026075 (NTN)	ACTTATGAAG	TGCACCATCA	AGGAAATGAC	ACAAATCGATG	CAGGAGGAAAG	CACTAAGAAAG	120
		140		160		180	
SÇ-84	GATGCGAAAC	CAGAACAGGG	TAGCATCCAG	CCAAATTTTA	ACAAGGGAAA	GGATAAGGAC	164
SÇ-9	GATGCGAAAC	CAGAACAGGG	TAGCATCCAG	CCAAATCCTA	ACAAGGGAAA	GGATAAGGAC	174
SÇ-87	GATGCGAAAC	CAGAACAGGG	TAGCATCCAG	CCAAATCCTA	ACAAGGGAAA	GGATAAGGAC	86
Tu12.3 (AJ303095)	GATGCGAAAC	CAGAACAGGG	TAGCATCCAG	CCAAATCCTA	ACAAGGGAAA	GGATAAGGAC	99
LYE 84.2 (AJ439545)	GATGCGAAAC	CAGAACAGGG	TAGCATCCAG	CCAAATCCTA	ACAAGGGAAA	GGATAAGGAC	180
SB-63	GATGCAAAAC	AAGATCAAGG	TAGCATTCAA	CCAAATCTCA	ACAAGGGAAA	GGAAAAGGAC	162
EF026075 (NTN)	GATGCAAAAC	AAGAGCAAGG	TAGCATTCAA	CCAAATCTCA	ACAAGGGAAA	GGAAAAGGAC	180
		200		220		240	
SÇ-84	GTGAACGCCG	GTACATCTGG	GACACATACT	GTACCAAGAA	TAAAGGCTAT	TACGTCAAAA	224
SÇ-9	GTGAACGCCG	GTACATCTGG	GACACACACT	GTACCAAGAA	TAAAGGCTAT	TACGTCAAAA	234
SÇ-87	GTGAATGCCG	GTACATCTGG	AACACATACT	GTACCAAGAA	TAAAGGCTAT	TACGTCAAAA	146
Tu12.3 (AJ303095)	GTGAATGCCG	GTACATCTGG	AACACATACT	GTACCAAGAA	TAAAGGCTAT	TACGTCAAAA	159
LYE 84.2 (AJ439545)	GTGAATGCCG	GTACATCTGG	AACACATACT	GTACCAAGAA	TAAAGGCTAT	TACGTCAAAA	240
SB-63	GTGAATGTTG	GGACATCTGG	AACTCATACT	GTGCCACGAA	TTAAAGCTAT	CACGTCCAAA	222
EF026075 (NTN)	GTGAATGTTG	GAAACATCTGG	AACTCATACT	GTGCCACGAA	TTAAAGCTAT	CACGTCCAAA	240

		280		280		300	
SÇ-84	ATGAGAAATGC	CTAAAAAGCAA	AGGAGTGGCC	GCACTAAACT	TAGAACACTT	GCTCGAGTAC	284
SÇ-9	ATGAGAAATGC	CTAAAAAGCAA	AGGAGTGGCC	GCACTAAACT	TAGAACACTT	GCTCGAGTAC	294
SÇ-87	ATGAGAAATGC	CTAAAAAGCAA	AGGAGTGGCC	GCACTAAACT	TAGAACACTT	GCTCGAGTAC	206
Tu12.3 (AJ303095)	ATGAGAAATGC	CTAAAAAGCAA	AGGAGTGGCC	GCACTAAACT	TAGAACACTT	GCTCGAGTAT	219
LYE 84.2 (AJ439545)	ATGAGAAATGC	CTAAAAAGCAA	AGGAGTGGCC	GCACTAAACT	TAGAACACTT	GCTCGAGTAC	300
SB-63	ATGAGAAATGC	CTAAAAAGCAA	AGGAGTGGCC	GCACTAAACT	TAGAACACTT	GCTCGAGTAC	282
EF026075 (NTN)	ATGAGAAATGC	CTAAAAAGCAA	AGGAGTGGCC	GCACTAAACT	TAGAACACTT	GCTCGAGTAT	300
		320		340		360	
SÇ-84	ACTCCACAAC	AGATAGATAT	CTCAAAATACT	CGAGCAACTC	AATCACAGTT	TGATACGTGG	344
SÇ-9	ACTCCACAAC	AGATAGATAT	CTCAAAATACT	CGAGCAACTC	AATCACAGTT	TGATACGTGG	354
SÇ-87	ACTCCACAAC	AGATAGATAT	CTCAAAATACT	CGAGCAACTC	AATCACAGTT	TGATACGTGG	266
Tu12.3 (AJ303095)	ACTCCACAAC	AGATAGATAT	CTCAAAATACT	CGAGCAACTC	AATCACAGTT	TGATACGTGG	279
LYE 84.2 (AJ439545)	ACTCCACAAC	AGATAGATAT	CTCAAAATACT	CGAGCAACTC	AATCACAGTT	TGATACGTGG	360
SB-63	GCTCCACAGC	AAATTGACAT	CTCAAAATACT	CGAGCAACTC	AATCACAGTT	TGATACGTGG	342
EF026075 (NTN)	GCTCCACAGC	AAATTGACAT	CTCAAAATACT	CGAGCAACTC	AATCACAGTT	TGATACGTGG	360
		380		400		420	
SÇ-84	TATGAAGCAG	TGCGGACGGC	ATACGACATA	GGAGAGACCG	AAATGCCAAC	TGTGATGAAT	404
SÇ-9	TATGAAGCAG	TGCGGACGGC	ATACGACATA	GGAGAGACCG	AAATGCCAAC	TGTGATGAAT	414
SÇ-87	TATGAAGCAG	TGCGGACGGC	ATACGACATA	GGAGAGACCG	AAATGCCAAC	TGTGATGAAT	326
Tu12.3 (AJ303095)	TATGAAGCAG	TGCGGATGGC	ATACGACATA	GGGGAACCG	AAATGCCAAC	TGTGATGAAT	339
LYE 84.2 (AJ439545)	TATGAAGCAG	TGCGGATGGC	ATACGACATA	GGGGAACCG	AAATGCCAAC	TGTGATGAAT	420
SB-63	TATGAAGCGG	TACAACTTGC	ATACGACATA	GGGGAACCG	AAATGCCAAC	TGTGATGAAT	402
EF026075 (NTN)	TATGAAGCGG	TACAACTTGC	ATACGACATA	GGGGAACCG	AAATGCCAAC	TGTGATGAAT	420
		440		460		480	
SÇ-84	GGGCTTATGG	TTTGGTGCAT	TGAAAAATGGA	ACCTCGCCAA	ATGTCAACGG	AGTTTGGGTT	464
SÇ-9	GGGCTTATGG	TTTGGTGCAT	TGAAAAATGGA	ACCTCGCCAA	ATGTCAACGG	AGTTTGGGTT	474
SÇ-87	GGGCTTATGG	TTTGGTGCAT	TGAAAAATGGA	ACCTCGCCAA	ATGTCAACGG	AGTTTGGGTT	386
Tu12.3 (AJ303095)	GGGCTTATGG	TTTGGTGCAT	TGAAAAATGGA	ACCTCGCCAA	ATGTCAACGG	AGTTTGGGTT	399
LYE 84.2 (AJ439545)	GGGCTTATGG	TTTGGTGCAT	TGAAAAATGGA	ACCTCGCCAA	ATGTCAACGG	AGTTTGGGTT	480
SB-63	GGGCTTATGG	TTTGGTGCAT	TGAAAAATGGA	ACCTCGCCAA	ATGTCAACGG	AGTTTGGGTT	462
EF026075 (NTN)	GGGCTTATGG	TTTGGTGCAT	TGAAAAATGGA	ACCTCGCCAA	ATGTCAACGG	AGTTTGGGTT	480

				500				520				540	
SÇ-84	ATGATGGATG	GAAGTGAACA	AGTCGAATAT	CCATTGAAAC	CAATCGTTGA	GAAATGCAAAA	524						
SÇ-9	ATGATGGATG	GAAGTGAACA	AGTCGAATAT	CCGTTGAAAC	CAATCGTTGA	GAAATGCAAAA	534						
SÇ-87	ATGATGGATG	GAAGTGAACA	AGTCGAATAT	CCGTTGAAAC	CAATCGTTGA	GAAATGCAAAA	446						
Tu12.3 (AJ303095)	ATGATGGATG	GAAATGAACA	AGTTGAGTAT	CCGTTGAAAC	CAATCGTTGA	GAAATGCAAAA	459						
LYE 84.2 (AJ439545)	ATGATGGATG	GAAATGAACA	AGTTGAGTAT	CCGTTGAAAC	CAATCGTTGA	GAAATGCAAAA	540						
SB-63	ATGATGGATG	GAGATGAACA	AGTCGAATAC	CCACTGAAAC	CAATCGTTGA	GAAATGCAAAA	522						
EF026075 (NTN)	ATGATGGATG	GAGATGAACA	AGTCGAATAC	CCACTGAAAC	CAATCGTTGA	GAAATGCAAAA	540						
		580		580		600							
SÇ-84	CCAAACCCCTTA	GGCAAGTCAT	GGCACATTTTC	TCAGATGTTG	CAGAAGCGTA	TATAGAAATG	584						
SÇ-9	CCAAACCCCTTA	GGCAAGTCAT	GGCACATTTTC	TCAGATGTTG	CAGAAGCGTA	TATAGAAATG	594						
SÇ-87	CCAAACCCCTTA	GGCAAGTCAT	GGCACATTTTC	TCAGATGTTG	CAGAAGCGTA	TATAGAAATG	506						
Tu12.3 (AJ303095)	CCGACCCCTTA	GGCAAAATCAT	GGCACATTTTC	TCAGATGTTG	CAGAAGCGTA	TATAGAAATG	519						
LYE 84.2 (AJ439545)	CCAAACCCCTTA	GGCAAAATCAT	GGCACATTTTC	TCAGATGTTG	CAGAAGCGTA	TATAGAAATG	600						
SB-63	CCAAACACCTTA	GGCAAAATCAT	GGCACATTTTC	TCAGATGTTG	CAGAAGCGTA	TATAGAAATG	582						
EF026075 (NTN)	CCAAACACCTTA	GGCAAAATCAT	GGCACATTTTC	TCAGATGTTG	CAGAAGCGTA	TATAGAAATG	600						
		620		640		660							
SÇ-84	CGCAATAAAAA	AGGAACCATA	TATGCCACGA	TATGGTTTAA	TTCGAAATCT	GCGGGATATA	644						
SÇ-9	CGCAATAAAAA	AGGAACCATA	TATGCCACGA	TATGGTTTAA	TTCGAAATCT	GCGGGATATA	654						
SÇ-87	CGCAATAAAAA	AGGAACCATA	TATGCCACGA	TATGGTTTAA	TTCGAAATCT	GCGGGATATA	566						
Tu12.3 (AJ303095)	CGCAATAAAAA	AGGAACCATA	TATGCCACGA	TATGGTTTAA	TTCGAAATCT	GCGGGATATA	579						
LYE 84.2 (AJ439545)	CGCAATAAAAA	AGGAACCATA	TATGCCACGA	TATGGTTTAA	TTCGAAATCT	GCGGGATATA	660						
SB-63	CGCAACAAAAA	AGGAACCATA	TATGCCACGA	TATGGTTTAA	TTCGTAATCT	GCGGATGGA	642						
EF026075 (NTN)	CGCAACAAAAA	AGGAACCATA	TATGCCACGA	TATGGTTTAA	TTCGTAATCT	GCGGATGGA	660						
		680		700		720							
SÇ-84	AGTTTAGCGC	GCTATGCCCTT	TGACTTTTAT	GAAGTTACAT	CACGAACGCC	AGTGAGGGCT	704						
SÇ-9	AGTTTAGCGC	GCTATGCCCTT	TGACTTTTAT	GAAGTTACAT	CACGAACGCC	AGTGAGGGCT	714						
SÇ-87	AAATTTAGCGC	GCTATGCCCTT	TGACTTTTAT	GAAGTTACAT	CACGAACGCC	AGTGAGGGCT	626						
Tu12.3 (AJ303095)	AGTTTAGCGC	GCTATGCCCTT	TGACTTTTAT	GAAGTTACAT	CACGAACGCC	AGTGAGGGCT	639						
LYE 84.2 (AJ439545)	AGTTTAGCGC	GCTATGCCCTT	TGACTTTTAT	GAAGTTACAT	CACGAACGCC	AGTGAGGGCT	720						
SB-63	AGTTTGGCTC	GCTATGCCCTT	TGACTTTTAT	GAGGTCACAT	CACGAACACC	AGTGAGGGCT	702						
EF026075 (NTN)	AGTTTGGCTC	GCTATGCCCTT	TGACTTTTAT	GAGGTCACAT	CACGAACACC	AGTGAGGGCT	720						

		740		760		780	
SÇ-84	AGGGAAGCGC	ACATACAAAT	GAAAGGCCGCA	GCATTAAAAAT	CAGCTCAACC	TCGACTTTTC	764
SÇ-9	AGGGAAGCGC	ACATACAAAT	GAAAGGCCGCA	GCATTAAAAAT	CAGCTCAACC	TCGACTTTTC	774
SÇ-87	AGGGAAGCGC	ACATACAAAT	GAAAGGCCGCA	GCATTAAAAAT	CAGCTCAACC	TCGACTTTTC	686
Tu12.3 (AJ303095)	AGGGAAGCGC	ACATACAAAT	GAAAGGCCGCA	GCATTAAAAAT	CAGCTCAACC	TCGACTTTTC	699
LYE 84.2 (AJ439545)	AGGGAAGCGC	ACATACAAAT	GAAAGGCCGCA	GCATTGAAAT	CAGCTCAACC	TCGACTTTTC	780
SB-63	AGGGAAGCGC	ACATTCAAAT	GAAAGGCCGCA	GCATTGAAAT	CAGCCCAATC	TCGACTTTTC	762
EF026075 (NTN)	AGGGAAGCGC	ACATTCAAAT	GAAAGGCCGCA	GCATTGAAAT	CAGCCCAATC	TCGACTTTTC	780
		800		820		840	
SÇ-84	GGGTTGGATG	GTGGCATCAG	TACACAAGAG	GAGAACACAG	AGAGGCACAC	CACCGAGGAT	824
SÇ-9	GGGTTGGATG	GTGGCATCAG	TACACAAGAG	GAGCCACACAG	AGCGGCACAC	CACCGAGGAT	834
SÇ-87	GGGTTGGATG	GTGGCATCAG	TACACAAGAG	GAGAACACAG	AGAGGCACAC	CACCGAGGAT	746
Tu12.3 (AJ303095)	GGGTTGGATG	GTGGCATCAG	TACACAAGAG	GAGAACACAG	AGAGGCACAC	CACCGAGGAT	759
LYE 84.2 (AJ439545)	GGGTTGGATG	GTGGCATCAG	TACACAAGAG	GAGAACACAG	AGAGGCACAC	CACCGAGGAT	840
SB-63	GGGTTGGACG	GTGGCATCAG	TACACAAGAG	GAGAACACAG	AGAGGCACAC	CACCGAGGAT	822
EF026075 (NTN)	GGGTTGGACG	GTGGCATCAG	TACACAAGAG	GAGAACACAG	AGAGGCACAC	CACCGAGGAT	840
		880		880		900	
SÇ-84	GTTTCTCCAA	GTATGCATAC	TCTACTTTGGA	GTCAAGAACA	TGTGATTGTG	GTGTCTCTCC	884
SÇ-9	GTTTCTCCAA	GTATGCATAC	TCTACTTTGGA	GTCAAGAACA	TG - - - - -	- - - - -	876
SÇ-87	GTTTCTCCAA	GTATGCATAC	TCTACTTTGGA	GTCAAGAACA	TGTGATTGTG	GTGTCTCTCC	806
Tu12.3 (AJ303095)	GTTTCTCCAA	GTATGCATAC	TCTACTTTGGA	GTCAAGAACA	TGTGA - - - -	- - - - -	804
LYE 84.2 (AJ439545)	GTTTCTCCAA	GTATGCATAC	TCTACTTTGGA	GTCAAGAACA	TGTGATTGTG	ATGTCTCTCC	900
SB-63	GTCTCTCCAA	GTATGCATAC	TCTACTTTGGA	GTCAAGAACA	TGTGAT - GTA	GTGTCTCTCC	881
EF026075 (NTN)	GTCTCTCCAA	GTATGCATAC	TCTACTTTGGA	GTCAAGAACA	TGTGAT - GTA	GTGTCTCTCC	899
		920					
SÇ-84	G - - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	885
SÇ-9	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	876
SÇ-87	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	806
Tu12.3 (AJ303095)	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	804
LYE 84.2 (AJ439545)	GGACGATATA	TAAGTATTTA	CATATGCAGT	- - - - -	- - - - -	- - - - -	930
SB-63	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	881
EF026075 (NTN)	GGACGATATA	TAAGTATTTA	CATATGCAGT	- - - - -	- - - - -	- - - - -	929

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : İlyas DELİGÖZ
Doğum Yeri ve Tarihi : Araç / KASTAMONU – 19.06.1978
Adres : Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü / SAMSUN
E-Posta : ilyas.deligoz@ktae.gov.tr
Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü (2001)
Yüksek Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı (2007)

Mesleki Deneyim:

GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Teknisyen / 1996 – 1998)
Gıda Kontrol Laboratuvarı-SAMSUN (Teknisyen / 1998-2001)
Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Mühendis / 2001 -)

Yayın ve Patent Listesi :

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

Deligöz, İ., Arlı Sökmen, M., 2014. Bazı Biber Çeşit ve Islah Hatlarının Potato virus Y (PVY)'nin 0 ve 1 Patotiplerine Reaksiyonlarının ve PVY'ye Resesif Dayanıklılıkta Rol Oynayan Genlerinin Araştırılması. *5. Bitki Koruma Kongresi*. 3-5 Şubat. Antalya

Deligöz, İ., Arlı Sökmen, M., 2014. Samsun İlinde Biberde Enfeksiyon Oluşturan Potato virus Y (PVY) Patotiplerinin Belirlenmesi. *5. Bitki Koruma Kongresi*. 3-5 Şubat. Antalya.