

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**DOMATESTE MOLEKÜLER MARKÖR  
SELEKSİYONU İLE DOMATES LEKELİ  
SOLGUNLUK VİRÜSÜ VE KÖK-UR NEMATODUNA  
DAYANIKLI HAT GELİŞTİRME**

**Ayşe KAHRAMAN**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hülya İLBİ**

**Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı**

**Sunuş Tarihi: 03.07.2017**

**Bornova-İZMİR**

**2017**

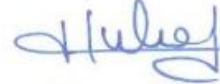


Ayşe KAHRAMAN tarafından doktora tezi olarak sunulan “Domateste Moleküler Markör Seleksiyonu ile Domates Lekeli Solgunluk Virüsü ve Kök-Ur Nematoduna Dayanıklı Hat Geliştirme” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 03.07.2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.


**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

**Jüri Başkanı : Prof. Dr. Hülya İLBİ**



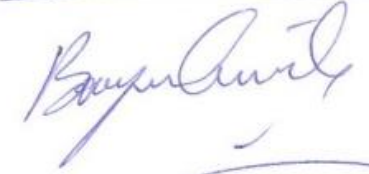
**Raportör Üye : Prof. Dr. Eftal DÜZYAMAN**



**Üye : Prof. Dr. Ahmet BALKAYA**



**Üye : Prof. Dr. Bayram ÇEVİK**



**Üye : Prof. Dr. Pervin KINAY TEKSÜR**





# EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “**Domateste Moleküler Markör Seleksiyonu ile Domates Lekeli Solgunluk Virüsü ve Kök-Ur Nematoduna Dayanıklı Hat Geliştirme**”başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

... / ... / 2017



Ayşe KAHRAMAN



**ÖZET****DOMATESTE MOLEKÜLER MARKÖR SELEKSİYONU İLE  
DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ ve KÖK-UR  
NEMATODUNA DAYANIKLI HAT GELİŞTİRME**

KAHRAMAN, Ayşe

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hülya İLBİ

Temmuz 2017, 75 sayfa

Domates, *Solanaceae* familyasına ait dünyada ve ülkemizde yetiştiriciliği en fazla yapılan sebze türüdür. Domates yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen birçok hastalık etmeni ve zararlı bulunmaktadır. Tez çalışması, Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virüs, TSWV) ve toprak kaynaklı bir zararlı olan kök-ur nematoduna karşı dayanıklı domates hatlarının geliştirmesi amacıyla 2012-2015 yılları arasında Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü domates gen havuzunda yer alan sofralık domates hattı M68 ile Tomato Genetic Resource Center (TGRC)'den temin edilen Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklı LA3667 ve nematoda dayanıklı LA2941 domates hatlarıyla melezlemeler yapılmıştır. Dayanıklılığın belirlenmesinde klasik PCR, real-time PCR ve mekanik inokulasyon yöntemleri kullanılmıştır. Bu çalışmada, TSWV ve nematoda dayanıklı hatlar geliştirmek amacıyla 2 popülasyon oluşturulmuştur. Popülasyon 1 TSWV'e dayanıklılık amacıyla oluşturulmuş olup, ıslah kademesinde monogenik (1:2:1) açılımına göre 150 F<sub>2</sub> bireyinde 35 homozigot dayanıklı, 74 heterozigot dayanıklı ve 41 hassas birey elde edilmiştir. Popülasyon 2 ise TSWV ve nematoda dayanıklılık amacıyla oluşturulmuştur. Popülasyon 2'de F<sub>2</sub> kademesinde yapılan moleküler testlemede 92 bitkide 9:3:3:1 açılımına uygun bir açılım belirlenmiştir. Bu açılımda nematod dayanıklılık geni *Mi* ve TSWV'e dayanıklılık geni *Sw-5* bakımından homozigot dayanıklı 5 birey belirlenmiştir. Aynı zamanda Popülasyon 1'de geliştirilen F<sub>4</sub> ıslah kademesinde bulunan 30 adet

genotipin moleküler olarak testlemesi yanında, *Sw-5* lokusu bakımından homozigot dayanıklı 3 hat ve 2 hassas hatta mekanik inokulasyon yoluyla biyolojik testlemeye alınmış ve dayanıklılık sonuçlarının, moleküler ve biyolojik olarak birbiriyle uyumlu olduğu görülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** Domates, TSWV, Nematod, dayanıklılık, moleküler markör.



**ABSTRACT****DEVELOPMENT OF RESISTANT LINE TO TOMATO SPOTTED  
WILT VIRUS AND NEMATODE WITH MOLECULAR MARKER  
ASSISTED SELECTION**

KAHRAMAN, Ayşe

PhD. In Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Hülya İLBI

July 2017, 75 pages

Tomato is the most common vegetable species of the *Solanaceae* family both the world and in Turkey. There are many diseases and pests adversely affecting tomato cultivation. The study carried out at the Aegean Agricultural Research Institute between 2012 and 2015 in order to develop tomato lines resistant to Tomato spotted wilt virüs, (TSWV) and knot-root nematode, a soil-borne pest. For this purpose, TSWV resistant LA3667 and nematode resistant LA2941 tomato lines obtained from Tomato Genetic Resource Center (TGRC) were crossed with the fresh-market tomato line M68 in the tomato gene pool of the Aegean Agricultural Research Institute. Classical PCR, real-time PCR and biological testing methods were used for determination of durability of the resistance. Two populations have been established to develop lines resistant to TSWV and nematode. The first population was established for resistance to TSWV, and in the F<sub>2</sub> population, 35 homozygous resistant, 74 heterozygous resistant and 41 susceptible individuals were obtained in 150 F<sub>2</sub> plants according to the monogenic (1: 2: 1) expression. Population 2 established, in order to obtain pyrimading to two (*Sw-5* and *Mi* genes) homozygous genes in same individual. Population 2 carried out an expansion suitable for the 9: 3: 3: 1 segregation of 92 individuals was determined in the molecular test performed at the F<sub>2</sub> population. Five genotypes with homozygous resistance were identified in the nematode resistance gene *Mi* and TSWV resistance gene *Sw-5*.

In population 1, at the F<sub>4</sub> stage, three homozygous lines were taken for biological testing to TSWV. Results of biological test and molecular test were concordantly.

**Keywords:** Tomato, TSWV, nematode, resistance, molecular marker. MAS.



## TEŞEKKÜR

Birlikte yüksek lisans ve doktora tez çalışması yapma fırsatı bulduğum, üniversite yaşamım boyunca bana her zaman destek olan, yanımda olan, fikirleri ve önerileriyle yeni ufuklar açan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hülya İLBİ'ye,

Tez çalışmalarında bana yön veren sayın danışman hocalarım, Prof. Dr. Benian ESER'e, Prof. Dr. Ersin ONOĞUR'a Prof.Dr. Eftal DÜZYAMAN'a, Prof. Dr. Pervin KINAY TEKSÜR'e, tezin son şeklinin oluşmasında fikirleriyle katkı sağlayan sayın Prof. Dr. Ahmet BALKAYA ve Prof. Dr. Bayram ÇEVİK hocalarıma,

Çalışmalarım süresince görüş ve önerileri ile katkı sağlayan yardımlarıyla beni yönlendiren, her zaman desteğini hissettiğim değerli çalışma arkadaşlarım Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Sebzeçilik Şube Şefi Sayın Sevgi MUTLU'ya, değerli çalışma arkadaşlarım M.Asım HAYTAOĞLU ve Seyfullah BİNBİR'e

Doktora çalışmaları için genetik materyal temini ve çalışmaların gerçekleştirildiği, iş yerim olan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü (ETAE) yönetimi ve çalışanlarına;

Moleküler çalışmalar sırasında imkânlarından yararlandığım E.Ü. Tohum Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi(TOTEM), Klasik Testlemelerin yapıldığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM)'e ve testleme çalışmalarında bana yardımcı olan Nejla ÇELİK ve Bengi Kütük TOPKAYA'ya,

İstatistiksel analizler için bana yardımcı olan, Ege Üniversitesi'nden Dr. Tansel Kaygısız Aşçıoğul'a, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden Dr. Erol Küçük, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü'nden, Dr. İbrahim Çelik'e,

Tezin yazımı için bana yardımcı olan Andaç Çavdar, Fatih Gül, Ayşegül Altunok ve kardeşim Naz'a

Yaşamım boyunca sevgi ve fedakarlıklarını benden esirgemeyen ve bu çalışma süresince de her türlü desteğini esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime çok teşekkür ederim.



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
TEŞEKKÜR .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxi
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	3
2.1 Domates Hakkında Genel Bilgiler .....	3
2.2 Domatesin Ekonomik Önemi .....	4
2.3 Dünyada ve Ülkemizde Domates Islah Programları .....	5
2.4 Domates Yetiştiriciliğinde Hastalık ve Zararlılara Dayanıklılık .....	7
2.4.1 Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV-Tomato Spotted Wilt Virus) .....	8
2.4.2 Kök ur nematodları .....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	17
3.1 Materyal .....	17

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
3.1.1 Hassas materyal.....	17
3.1.2 TSWV dayanıklı materyal .....	18
3.1.3 Nematod dayanıklı materyal .....	18
3.2 Yöntem.....	20
3.3 Populasyon Oluşturma .....	20
3.3.1 TSWV (Domates Lekeli Solgunluk virüsü)'ne dayanıklı populasyon oluşturma.....	24
3.3.2 Nematoda dayanıklı populasyon oluşturma .....	24
3.4 Moleküler Testlemeler .....	27
3.4.1 Klasik PCR ile moleküler testlemeler .....	27
3.4.2 Real-Time PCR ile moleküler testlemeler .....	28
3.5 Morfolojik Çalışmalar.....	32
3.6 Klasik Testleme (Mekanik İnokulasyon).....	35
3.7 Kullanılan İstatistiksel Yöntemler .....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1 Morfolojik Değerlendirmelere İlişkin Bulgular .....	38

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
4.1.1 Ebeveynlerin morfolojik özellikleri.....	38
4.1.2 Populasyon 1'in morfolojik özelliklerindeki değişim .....	39
4.1.3 Populasyon 2'nin morfolojik değerlendirmeleri.....	48
4.2 Moleküler Dayanıklılık Testlemelerine İlişkin Bulgular.....	49
4.2.1 Populasyon 1'de dayanıklılık testlemelerine ilişkin bulgular.....	49
4.2.2 Populasyon 2'de moleküler testlemelere ilişkin bulgular.....	52
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	56
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	71

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Domates bitkilerinde hastalık ve zararlılardan meydana gelen zararlar a,b ve c şekillerinde virüs kaynaklı zararlar d ve e kök-ur nematodlarının domates bitki köklerinde bitki köklerinde oluşturdukları besin alınımını engelleyen urlar (orijinal) .....	7
2.2. TSWV domates yapraklarında oluşturduğu kahverengi lekeler (orijinal).....	10
2.3. TSWV'nin domates meyvelerinde oluşturduğu simptomlar (orijinal).....	10
2.4. Kök-ur nematodlarının domates bitkisi köklerinde oluşturduğu urlar (orijinal) .....	14
3.1. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilmiş olan ve gen havuzunda yer alan sofralık M68 hattı .....	17
3.2. LA3667 Sw-5 lokusu içeren TGRC aksasyonu.....	18
3.3. LA2941Mi dayanaklı aksasyonu.....	19
3.4. Populasyon 1 için izlenen aşamalar .....	20
3.5. 2012 sonbahar üretim sezonunda kademe ilerletmek amacıyla serada yetiştirilen F1 (M68x LA 3667) bitkileri .....	21
3.6. F1 bitkilerinden elde edilen meyveler .....	22
3.7. Deneme alınan dikimi yapılan F2 bitkilerinin görüntüsü.....	22

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.8. Etiketlenmiş fideler ve serada F <sub>3</sub> kademesindeki domates hatları .....	23
3.9. Populasyon 2 için izlenen aşamalar .....	24
3.10. TSWV Homozigot dayanıklı F <sub>2</sub> (77) bitkisi ile LA 2941 melez meyvesi .....	25
3.11. Populasyon 2 deneme alanı.....	25
3.12. a) Genç yapraklardan örnek alma işlemi, b) Plate içerisine alınmış yaprak örnekleri c) Kullanılan izolasyon solüsyonları (orijinal) .....	29
3.13. Domateste meyve şekilleri.....	35
3.14. Hastalık testlemede kullanılan domates hatları.....	36
4.1. Populasyon1 F <sub>2</sub> populasyonunda yer alan bireylerin benzerlik derecelerini gösteren dendogram .....	42
4.2. F <sub>2</sub> populasyonu homozigot dayanıklı bireylerin meyve ve fenolojik özellikleri .....	45
4.3. Meyve tiplerine ait görüntüler .....	49
4.4. F <sub>1</sub> bitkilerinden elde edilen bant görüntüleri(s: 510 bp, M68 hassas; R:574 bp, LA3667; H: 510 bp ve 574 bp F <sub>1</sub> (M68x LA 3667) bitkileri.....	50

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**ŞekilSayfa

- 4.5. Dayanıklı ve hassas hatlara ait bitkilerde inokulasyon sonrası TSWV belirtileri a) testlenen bitkilerin genel görüntüsü b) hassas ve dayanıklı kontrol c) hassas bitkilerde görülen belirtiler d) hassas bitkilerde kahverengileşme .....52
- 4.6. F<sub>1</sub> bitkilerinde oluşan (heterozigot dayanıklı (*Sw-5/Mi*) erime eğrisi sıcaklığı değerleri (*Sw-5* için 50°C ve 62°C) *Mi* geni için (66°C ve 73°C) .....53

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Domatesin botanik sınıflandırılması.....	3
2.2. Bazı önemli domates üreticisi ülkelerin 2014 yılı üretimleri.....	5
2.3. TSWV'e dayanıklılık sağlayan genler ve kaynakları .....	11
3.1. Primer 'S-w-5-2' primer sekans dizilimi .....	27
3.2. Sw-5 için kullanılan DNA amplifikasyon ve erime eğrisi sıcaklığı (Melting Curve Analysis) protokolü.....	30
3.3 DYN-1004-81- Sw-5 genini değerlendirmek için kullanılan erime eğrisi sıcaklığı değerleri.....	31
3.4. DYN-1028-81-Mi-23 Mi genini değerlendirmek için kullanılan erime eğrisi sıcaklığı değerleri.....	31
3.5. Kullanılan morfolojik karakterizasyon kriterleri .....	32
4.1. Ebeveynlere ait bazı morfolojik ve fenolojik özellikler .....	38
4.2. F <sub>2</sub> populasyonunda homozigot dayanıklı bireylerin morfolojik ve fenolojik gözlemleri.....	40
4.3. F <sub>2</sub> kademesindeki her iki gen bakımından Homozigot bireylerin morfolojik özellikleri .....	48
4.4. F <sub>2</sub> Populasyonu moleküler markör sonuçlarına göre Ki-kare ( $\chi^2$ ) testi.....	50

**ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)**ÇizelgeSayfa

- 4.5. Populasyon 2 için, F<sub>2</sub> açılımında moleküler markör sonuçlarına göre Ki-kare ( $\chi^2$ ) testi sonuçları.....55



**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
da	Dekar
g	Gram
cm	Santimetre
ha	Hektar
ml	Mililitre
l	Litre
µl	Mikrolitre
Mbp	Mega Base pair
<u>Kısaltmalar</u>	
AVRDC	Asian Vegetable Research and Development Center
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequences
DNA	Deoxyribonucleic Acid
MAS	Marker Assisted Selection(Marköre Dayalı Seleksiyon)
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
TGRC	Tomato Genetic Resources Centre
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TSWV	Tomato Spotted Wilt Virus (Domates Lekeli Solgunluk Virüsü)
TYLCV	Tomato Yellow Leaf Curl Virus (Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü)

## 1. GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.) patatesten sonra en çok tüketilen sebzelerin başında gelmekte olup, önemli bahçe bitkilerinden biridir (Foolad and Panthee 2012). Buğday, mısır, arpa ve patates gibi üretimi yoğun olarak yapılan kültür bitkileriyle karşılaştırıldığında, domates bitkisi daha geç kültüre alınmıştır. Islah tarihçesi eski dönemlere uzanmayan domates, günümüzde pek çok alanda önemli bir konuma sahiptir.

Türkiye, uygun coğrafik ve iklim koşulları nedeniyle dünyanın en önde gelen taze sebze ve meyve üreticileri arasında yer alır. Türkiye'nin toplam sebze üretiminin %38'ini domates üretimi oluşturmaktadır. Ülkemizde sebze işleme sanayiinde en çok işlem gören türler domates ve biberdir. Türkiye domates üretiminin yaklaşık %30'u işlenmiş olarak domates salçası, domates suyu, ketçap, domates püresi ve doğranmış domates olarak değerlendirilir. Domates salçası, Türkiye'nin işlenmiş meyve ve sebze ihracat ürünlerinin en önemlileri arasındadır. Türkiye'nin her yerinde domates üretimi yapılmasına karşın, sofralık tüketime uygun yetiştiricilik Akdeniz bölgesinde seralarda gerçekleştirilmektedir. Antalya'daki seralarda toplam üretimin yaklaşık %17'si üretilmektedir. İzmir, Çanakkale ve Mersin diğer önemli üretici illerdir. İşlenmiş gıda sanayi için yetiştirilen sanayilik domates üretiminde ise Marmara ve Ege bölgelerinde Balıkesir, Bursa, Manisa ve Çanakkale önde gelen illerdir (Yanmaz vd., 2015).

Ülkemiz açısından ekonomik olarak önemli bir ürün olan domateste, çoğu kültür bitkisi üretiminde olduğu gibi yetiştiriciliği sınırlayan birçok hastalık ve zararlı bulunmaktadır. Üretimi arttırmak ve kaliteli ürün elde edebilmek için yetiştiriciliği tehdit eden hastalık ve zararlılardan korunmak önemlidir. Dayanıklılık çalışmalarıyla domateste 50'den fazla hastalık ve zararlı dayanıklılık geni tanımlanmıştır ve ıslah programlarında ticari çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır (Bai and Lindhout, 2007).

Dünyada domates üretimini en fazla sınırlandıran virüslerin başında Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus-TSWV) ve Domates sarı yaprak kıvrıcılık virüsü (Tomato yellow leaf curl virus-TYLCV)

gelmektedir. Günümüzde bitki virüs hastalıklarının kimyasal mücadelesi bulunmamaktadır. Bu nedenle virüs kaynaklı hastalıklara karşı en etkin ekonomik ve çevreci yöntem hastalıklara karşı dayanıklı çeşit kullanılmasıdır (Hull and Davies, 1992).

Domateste hastalık yapan viral etmenlerin yanı sıra zararlılar da önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Bunlardan en önemlilerinden biri obligat organizmalar olan kök ur nematodlarıdır (*Meloidogyne* spp.). Kök ur nematodlarının domateslerde % 42-54 oranında ürün kaybına neden olduğu bildirilmektedir (Netscher and Sikora,1990).

Kök ur nematodlarına karşı mücadele etmek amacıyla rotasyon, solarizasyon ve geniş etkilere sahip fümigantlar (Metil Bromid, Dazomet, vb.) veya spesifik nematisitler kullanılmaktadır. Ancak kullanılan kimyasalların insan ve çevre sağlığı açısından etkileri nedeniyle ülkemizde ve pek çok ülkede yasaklanmıştır (Hatipoğlu, 2007). Kök ur nematodlarına dayanıklılık çalışmaları, nematodun gelişmesini önlemesi, kimyasal uygulama gereksinimi olmaması ve çevre dostu bir yöntem olmasından dolayı büyük bir önem taşımaktadır (Boerma and Hussey, 1992). Kök-ur nematodlarına dayanıklı domates çeşitlerinin geliştirilmesi önemli mücadele yöntemlerindedir (Mıstanoğlu vd., 2016).

DNA markörleri 1980'lerden itibaren pek çok alanda olduğu gibi domates dayanıklılık ıslahında seleksiyonu kolaylaştırması ve yeni çeşitlerin geliştirilmesinde önemli bir araç olmuştur. Hastalık dayanıklılık genlerini tanımlamaya yönelik markörler, ıslah programlarında seleksiyonda (MAS) kullanılmaktadır. Böylece, birden fazla dayanıklılık genini aynı genotip üzerinde piramitlemek mümkün olabilmektedir (Collard et al., 2005).

Bu çalışmada; moleküler markör yardımcı seleksiyon ıslahı kullanılarak domates yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen verim ve kalite kayıplarına neden olan TSWV ve toprak kaynaklı bir etmen olan nematoda karşı dayanıklılık kazandırılmış domates ıslah hatlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1 Domates Hakkında Genel Bilgiler

Domates (*Solanum lycopersicum* L.) *Solanaceae* familyasına ait tek yıllık bir sebzedir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Domatesin botanik olarak sınıflandırılması.

Alem: <i>Plantae</i>
Sınıf: <i>Magnoliopsida</i>
Takım: <i>Solanales</i>
Familya: <i>Solanaceae</i>
Cins: <i>Solanum</i>
Tür: <i>Solanum lycopersicum</i> L.

Domatesin sınıflandırılması ilk olarak 1753 yılında Linnaeus tarafından bitkilerde cins ve tür adını verme sistemi, “Linnaeus'tan Türler Plantarum”un ilk baskısında başlamıştır. Linnaeus domatesleri *Solanum* sınıfında *S. lycopersicum* ve *S. peruvianum* olarak sınıflandırmıştır. Daha sonra botanikçi Philip Miller ise domatesi *Lycopersicon* cinsinde *Lycopersicon esculentum* Mill. olarak adlandırmıştır. Uzun yıllar birçok araştırmacı tarafından bu isimle kullanılmış ve günümüzde ise yapılan moleküler ve morfolojik araştırmalar ışığında *Solanum* cinsinde sınıflandırılmaktadır (Peralta and Spooner, 2007).

Dünyada tohum gen bankalarında domatesin 75000'den fazla aksesyonu bulunmaktadır. Bu bankaların bazıları Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC), C. M. Rick Tomato Genetics Resource Center (TGRC) ve United States Department of Agriculture (USDA) gen bankalarıdır. Gen bankalarında domatesin yabani akrabalarını içeren geniş koleksiyonlarının yanı sıra kültür çeşitleri de korunmaktadır. Domates Genetik Kaynakları Merkezi (TGRC) domatesin yabani ve kültür türleri yanında nitelikli ıslah materyallerini de kapsayan geniş bir koleksiyona sahiptir. Koleksiyonda yer alan nitelikli domates hatları birçok çalışmada kullanılmaktadır. Ülkemizde ise Ege Tarımsal

Araştırma Enstitüsü Ulusal Tohum Gen Bankasında ve Türkiye Tohum Gen Bankasında ülkemiz orjinli domates genetik kaynakları bulunmaktadır.

Tüm domates türleri diploid ( $2n=2x=24$ ) kromozom sayısında ve yapısındadır. Domates genomunun, 950 Mbp büyüklükte, 12 kromozom üzerinde "Heinz 1706" domates çeşidinin genom sekanslanmasıyla yaklaşık 35 000 gen içerdiği belirtilmektedir (Rothan et al., 2016). RNA sekanslanması ile elde edilen çalışma sonuçlarına göre domateste 34 727 protein kodlayan gen ve 97 miRNA'nın varlığı belirlenmiştir (Tomato Genome Consortium, 2012). Domates moleküler olarak karakterize edilmiş bitki türleri içerisinde uygulamalı ve temel araştırmalar açısından mükemmel bir model bitkidir. Yetiştirilmesinin kolay oluşu, kısa yaşam döngüsü, yüksek oranda (%98) kendine döllenmesi (Levy et al.1978), büyük üretim potansiyeli, tozlaşma ve hibridizasyon kontrolü yanında genetik kaynaklara olan ulaşılabilirliğinin kolaylığı ve küçük genoma (950 Mbp) sahip diploid yapıda olması nedeniyle genetik çalışma konularının başında yer almaktadır (Foolad, 2007).

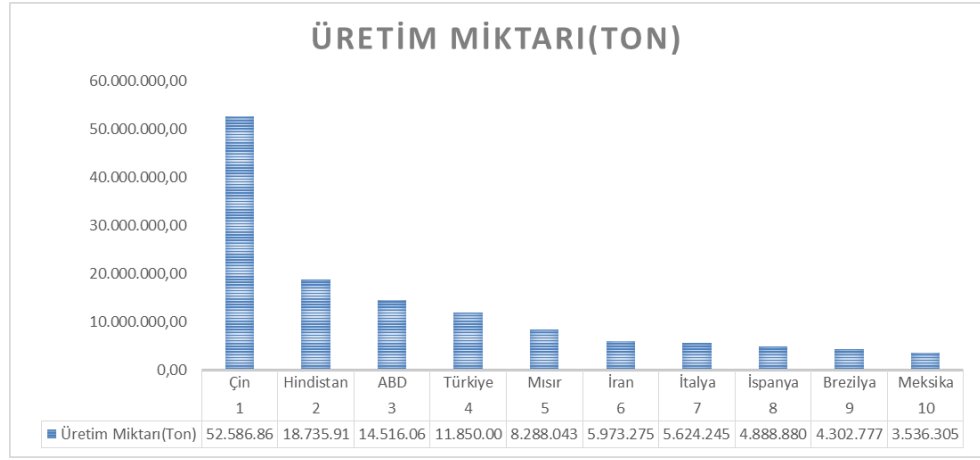
## **2.2 Domatesin Ekonomik Önemi**

Domates, 100 yıldan daha kısa bir sürede dünya çapında en önemli ürün olmuştur ve kişi başına, patatesten sonra en fazla tüketilen sebzedir (FAOSTAT, 2015). Ayrıca domates tüketim şekli bakımından çok çeşitlidir. Çiğ tüketilebildiği gibi diğer yiyecekleri çeşitlendirmesi ve işlenmiş ürünleri de önemli bir sektör oluşturmaktadır.

Tüketim hacmi üstünlüğü nedeniyle A ve C vitaminleri, esansiyel mineral ve besinlerin alımında önemli katkıları bulunmaktadır. Ayrıca zengin bir likopen kaynağı olarak kansere karşı önemli bir besindir (Foolad, 2007).

Dünyada 2014 yılında toplam 170.886.876 ton domates üretimi yapılmıştır (FAOSTAT, 2016). Çin bu üretimde en fazla paya sahiptir. Ülkemiz ise Çin, Hindistan ve ABD'nin ardından dördüncü sırada yer almaktadır Çizelge 2.2'de bazı önemli domates üreticisi ülkelerin 2014 yılı üretimleri verilmiştir.

Çizelge 2.2. Bazı önemli domates üreticisi ülkelerin 2014 yılı üretimleri (FAOSTAT, 2016).



Türkiye’de üretilen domatesin büyük bölümü taze olarak tüketilmekte geriye kalan yaklaşık % 30’u gıda sanayinde işlenmektedir. Sanayide işlenen toplam miktarın ise % 80’i salça, % 15’i konserve ve kuru domates üretimi için kalan kısım ise ketçap, domates suyu vb. domates ürünleri imalatı için kullanılmaktadır. Ülkemiz domates salçası üretim kapasitesi bakımından Dünya’da 4. ve salça ihracatında 7. sırada yer almaktadır. Türkiye’nin sebze ihracatı miktarı türler içerisinde incelendiğinde, domates %57 payla ilk sırada yer almaktadır (Yanmaz vd., 2015).

Türkiye’de 2016 yılında 1.806.873 dekar alanda 12.600.000 ton domates üretilmiştir. Bu üretimin 8.581.247 tonu sofralık domatesten, 4.018.753 tonu sanayilik domatesten oluşmaktadır. Sanayilik ve sofralık domates üretim miktarları bakımından önde gelen iller Antalya, Bursa, Manisa ve İzmir’dir (TÜİK, 2017).

### 2.3 Dünyada ve Ülkemizde Domates Islah Programları

Domatesin kültüre alınması diğer ürünlere göre yakın zamanlarda gerçekleşmiş olup 400 yıllık geçmişe sahiptir. Domatesin 1500’lü yılların başlarında Avrupa’ya getirildiği buradan daha geniş bölgelere yayıldığı belirtilmektedir. Avrupa’da ilk tanımlaması 1544 yılında Pertus Matthiolius tarafından hazırlanan herbaryum ile olmuştur. Uzun yıllar süs bitkisi olarak kullanılmasına karşın Fransa’da 18.yüzyıl sonlarında Vilmorin tarafından

hazırlanan tohum kataloğunda sebze olarak kullanımından söz edilmektedir. İngiltere’de 18.yüzyıl ortalarında domates tüketiminin oldukça yaygın olduğu ve domatesin İngiltere’den Orta Doğu ve Asya’ya Halep konsolosu John Baker tarafından getirildiği belirtilmektedir (Bergougnoux, 2014).

Domates %98 oranında kendine döllenir (Levy et al., 1978). Bu özelliğinden dolayı ilk geliştirilen domates çeşitleri aile içerisinde seleksiyonu yapılan çeşitlerdir. Nesilden nesile aktarılan anlamında “heirloom” çeşitler olarak adlandırılır. “Heirloom” çeşitler açık tozlanan, büyüklük, şekil ve renk bakımından özgün olan çeşitlerdir (Watson, 1996). Etkili ıslah programları 1870’lerde Amerika’da bilinen ilk domates ıslahçısı Livingston’un geliştirdiği ilk ticari domates çeşidi “Paragon” ile başlamıştır. Livingston’un ıslahtaki amacı düzgün meyve yüzeyine sahip, büyüklüğü homojen ve daha lezzetli bir domates geliştirmek olmuştur. 1946 yılında ilk hibrit domates çeşidi “Single Cross” piyasaya sunulmuştur (Dorst, 1946).

Günümüzde domates pazarı oldukça önemlidir ve piyasada rekabet edebilmek için sürekli yeni çeşitler geliştirmek ve geliştirilen yeni çeşitlere yeni değerler, nitelikler kazandırmak gerekmektedir. Bir ticari domates çeşidinin ortalama satış ömrü yaklaşık 5 yıl olarak öngörülmektedir. Bu da çok rekabetçi bir ıslah aşamasını beraberinde getirmektedir. Kamu ve özel sektörün domates ıslah programlarının amaçları lokasyona, ihtiyaçlara ve kaynaklara göre değişiklik göstermektedir. 20. yüzyılda domateste ıslah amaçları 1970’li yıllarda verim, 1980’lerde uzun raf ömrü, 1990’larda tat ve günümüzde ise besin değeri ve hastalıklara dayanıklılık olarak tanımlanmaktadır (Bai and Lindhout, 2007).

Ülkemizde Cumhuriyet döneminde çeşit geliştirme ve tohumluk üretimlerinin sistemli bir şekilde yapılması amacıyla, 1926 yılında Adapazarı, Eskişehir ve İstanbul (Yeşilköy)’de “Tohum Islah ve Üretme istasyonları” kurulmuştur. Türkiye, 1963 yılında Uluslararası Tohum Test Birliği (ISTA)’ya üye olmuş ve çıkarılan 308 sayılı “Tohumculuk Tescil, Kontrol ve Sertifikasyonu Kanunu” ülkemizde çeşit geliştirme ve tohumculuk çalışmalarında uluslararası kurallar uygulanmaya başlanmıştır. Bu kanun ile kaliteli tohumlukların devlet garantisi ile üretim ve dağıtımını hedeflenmiştir. Çeşit ıslahı, tohumluk üretimi ve dağıtımında 1980 yılından sonra bir dizi teşvik yasası ile özel sektörün

tohumculuk sektörüne girmesi sağlanmıştır. 1984 yılında tohumluk ithalatının serbest bırakılması ve ithal edilen tohumlar için sübvansiyon verilmesi ile özel tohumculuk kuruluşlarının sayıları artmıştır ( Altındal ve Akgün, 2007).

Bu dönemde yurtdışından birçok çeşit introduksiyon yoluyla getirilip, adaptasyon çalışmaları yapılmıştır. İlk yurtdışı orjinli standart domates çeşitleri SC2121, H-2274 çeşitleridir. 1980’li yıllarda en çok yetiştirilen çeşitler: Earlyana, Maryglobe, Manalucia, Yalova-9, H-2274, SC2121, Campell-11, AT-29, CAL-ACE ve Super California çeşitleridir. Bu dönemde bilinen pek çok domates çeşidi Amerikan menşelidir (Kütevin ve Türkeş, 1994).

Türkiye’de 1980 yılından sonra tohumculuk yasasının değişmesiyle yurt dışından tohumluk dış alımına kolaylık getirilmiştir. Tohumculuk sektöründe devletin %95 düzeyinde olan payı azaltılmış, özel tohumculuk şirketlerinin tohum üretimi ve pazarlamasındaki payı %89-100’e çıkmıştır. Ülkemizdeki yabancı tohum şirketlerinin yanında yabancı şirketlerle ortak olan ve tamamen yerli sermayeli tohumculuk şirketleri kurulmuştur. Tohumculuk sektörünün gelişmesiyle birlikte ülkemizdeki çeşit sayısı da artmıştır (Yanmaz vd., 2015). Türkiye’de ilk hibrit domates ıslah çalışmaları, 1980 yılında Antalya Sebzeçilik Araştırma Enstitüsü’nde başlamıştır. Ülkemizde geliştirilen tescilli ilk hibrit çeşitler, 1990 yılında Lale F1 (Altın Tohumculuk), 1991 yılında Zeynep F1 (Bursa Tohumculuk), 1993 yılında Ertekin VF F1 ve Genç VF F1 (Antalya Sebzeçilik Araştırma Enstitüsü) çeşitleridir (H. Ekiz, sözlü görüşme). 1990’lı yılların ortalarından sonra birçok yerli tohum kuruluşları çalışmalarına hız vererek, biyoteknolojik yöntemleri kullanarak, birçok yerli hastalık ve zararlılara dayanıklı olarak ve sırk hibrit domates çeşitleri geliştirmekte olup, yurtdışına ihracat yapmaktadırlar ( M. Özkale, sözlü görüşme).

Ülkemizde, Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Müdürlüğü, (TTSM)’ye her yıl domates çeşidi tescil amacıyla sunulmaktadır (Güvenç, 2016). 2017 yılı TTSM’de kayıtlı tescilli domates çeşidi sayısı 754 ve 437 adet üretim izinli olmak üzere toplam 1191 tescilli domates çeşidi bulunmaktadır (TTSM, 2017).

## 2.4 Domates Yetiştiriciliğinde Hastalık ve Zararlara Dayanıklılık

Domates yetiştiriciliğinde fungal, bakteriyel ve viral etmenlerin neden olduğu birçok hastalık bulunmaktadır. Domates, ekonomik olarak zarar meydana getiren 200 den fazla türde patojen ve zararlıya konukçuluk yapar. Kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.) bunların içerisinde en önemlilerindedir. Bitkilerin köklerinde irili-ufaklı ur oluşturmaları ile tanınabilen kök-ur nematodları, bitki paraziti nematodlarının en önemli gruplarını oluşturmakta olup, 100 den fazla türü tanımlanmıştır (Seid et al., 2015). Şekil 2.1’de virüsler ve toprak kaynaklı etmenlerin oluşturduğu zararlardan görüntüler verilmiştir.



Şekil 2.1. Domates bitkilerinde hastalık ve zararlılar sonucu oluşan zararlar a,b ve c şekillerinde virüs kaynaklı zararlar d ve e kök-ur nematodlarının domates bitki köklerinde bitki köklerinde oluşturdukları besin alınımını engelleyen urlar (orijinal).

Genellikle, bu patojen ve zararlılarla mücadele etmek için bazı fungusit ve pestisitlerin kullanımı zorunlu hale gelmektedir. Ancak kullanılan bu kimyasallar üretici ve tüketicilerin sağlığı açısından aynı zamanda doğal çevre için çok zararlıdır (Bai and Lindhout, 2007).

Özellikle virüslerin ve toprak kaynaklı etmenlerin neden olduğu hastalıklar nedeniyle domates yetiştiriciliğinde ekonomik anlamda birçok zarar meydana gelmektedir. Virüs hastalıklarının kimyasal mücadelesinin olmaması, toprak kaynaklı etmenler olan nematodlara karşı uygulanacak olan kimyasal yöntemlerin çevreye ve insan sağlığına olan etkilerinden dolayı dayanıklı çeşit kullanımı önem taşımaktadır.

#### **2.4.1 Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV-Tomato Spotted Wilt Virus)**

1915 yılında ilk defa Brittlebank tarafından Avustralya'da tespit edilen TSWV (Brittlebank, 1919; Samuel et al., 1930), insan ve hayvanlarda patojen virüs türlerini de içeren *Bunyaviridae* familyasına ait *Tospovirus* cinsinde yer alan 15 virüs türünden birisidir (Oğuz, 2010).

Dünya'da en fazla zarar oluşturduğu bitki türleri arasında domates, biber, marul, tütün, yer fıstığı ve bazı süs bitkileri yer almaktadır. TSWV, Türkiye'de ilk olarak Tekinel ve ark. (1969), tarafından marul bitkilerinde, ardından domateste (Tekinel, 1973; Fidan 1993; Fidan,1995; Azeri, 1994; Güldür ve ark., 1995; Yılmaz ve ark., 1995; Güldür, 1997; Arlı-Sökmen ve Şevik, 2006; Turhan ve Korkmaz,2006; Şevik ve Arlı-Sökmen, 2012; Özdemir ve ark., 2009; Yardımcı ve Kılıç, 2009), tütünde (Azeri, 1994), biberde (Yürtmen ve ark., 1999; Arlı-Sökmen ve ark., 2005; Yardımcı ve Kılıç, 2009), patlıcanda (Kamberoğlu ve ark., 2009), kabakta (Yardımcı ve Kılıç, 2009) ve bazı yabancı otlarda da(Arlı-Sökmen ve ark., 2005; Özdemir ve ark., 2009) tespit edilmiştir.

TSWV, domates yetiştiriciliğinde ve diğer önemli kültür bitkilerinde en tehlikeli 10 virüs türünden birisi olmakla birlikte Dünya'da hemen hemen her yerde sorun oluşturmaktadır (German et al., 1992).

TSWV, Akdeniz ve Avrupa Bitki Koruma Organizasyonu (EPPO) ve ülkemizde de karantina usullerince iç ve dış karantinaya tabi virüsler arasında yer almaktadır (Şin, 2015). EPPO A2 karantina listesinde, Türkiye Bitki Karantinası

Yönetmeliği'nde ise 'Türkiye de sınırlı olarak bulunan ve ithale mani teşkil eden karantinaya tabi zararlı organizmalar' listesinde yer almaktadır (Kılıç vd., 2017).

Virüs mekanik yolla ve 9 trips türü ile taşınmaktadır. Bu türler arasında, soğan tripsi (*Thrips tabaci* Lindeman) ve batı çiçek tripsi (*Frankliniella occidentalis* Pergande) en yaygın olanlarıdır (Mau and Martin, 2002).

#### **2.4.1.1 Belirtileri**

TSWV, domates bitkisini ciddi oranda etkilemekte ve önemli derecede ürün kayıplarına neden olabilmektedir.

TSWV ile bulaşık bitkilerde bodurlaşma, yapraklarda kloroz, meyvelerde klorotik ve nekrotik halka şeklinde lekeler meydana gelmektedir (German et al. 1992).

Domateste yapraklar üzerinde önce kahverengi daha sonra bronz rengine dönüşen lekeler oluşmaktadır (Şekil 2.2 ve Şekil 2.3). Yapraklar aşağı ve içe doğru kıvrılıp, kırılğan bir yapıya dönüşmektedir. Yaprak sapında, gövdede ve yeni gelişen sürgünlerde koyu kahverengi çizgiler gözlemlenmektedir. Sürgün uçlarında geriye doğru ölüm, bitkide tek yönlü ya da homojen bodurlaşma ve genel solgunluk tipiktir. Meyveler üzerinde çok sayıda iç içe geçmiş, merkezi kabarık olan halkalar şeklinde lekeler görülmektedir. Çiçekler enfeksiyondan önce oluşmuş ise meyvelerde belirti görülmeyebilir. Enfeksiyondan sonra oluşmuş ise olgunlaşmamış, yeşil renkli meyvelerde şekil bozukluğu ve iç içe geçmiş yuvarlak lekeler görülmektedir. Olgunlaşmış meyvelerde ise çok sayıda konsantrik ve etrafi sarı renkte olan daire şeklinde lekeler oluşmaktadır (Güldür, 1997;Şin, 2015).



Şekil 2.2. TSWV domates yapraklarında oluşturduğu kahverengi lekeler (orijinal).



Şekil 2.3. TSWV'nin domates meyvelerinde oluşturduğu belirtiler (orijinal).

#### **2.4.1.2 TSWV dayanıklılık genleri**

TSWV dayanıklılığı ile ilişkili genler ilk olarak Finley (1953) tarafından 5 farklı dayanıklılık geni (*Sw1a*, *Sw1b*, *sw2*, *sw3*, *sw4*) olarak tanımlanmıştır. Bu genlerin izolat spesifik olup, ayrıca dayanıklılık mekanizmasının farklı Tospovirüsler tarafından kırılabilirdiği bildirilmiştir (Price et al., 2007, Saidi and Warade, 2008).

Dominant kalıtım gösteren *Sw-5* geni ise ilk olarak Güney Afrika kaynaklı "Stevens" domates çeşidinde tanımlanmıştır (Stevens et al., 1992).

*S. peruvianum*'dan geliştirilen *S. lycopersicum* "UPV-32" hattında tanımlanan dayanıklılık geni *Sw-6*'nın trips inokulasyonuna kısmi dayanıklılık ve virus izolatlarına *Sw-5*'ten daha az dayanıklılık gösterdiği belirlenmiştir (Rosello et al., 1998, 2001).

Son olarak, *Sw-7* tanımlanmıştır ve *S. chilense* kaynaklı LA 1938'den, *Solanum lycopersicum*'a aktarılmıştır (Canady et al., 2001, Stevens et al., 2006, Price et al., 2007, Saidi and Warade, 2008). *Sw-7* geni yeni bir dayanıklılık kaynağı olarak belirlenmiş olup, dayanıklılık mekanizması ile ilgili araştırmalar devam etmektedir (M.R. Stevens, sözlü görüşme). Çizelge 2.3'de dayanıklılık sağlayan genler ve kaynakları gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. TSWV'e dayanıklılık sağlayan genler ve kaynakları.

Genler	Kaynak	Kalıtım	Referans
<i>Sw-1<sup>a</sup></i>	<i>S. lycopersicum</i>	Dominant	(Finlay, 1953)
<i>Sw-1<sup>b</sup></i>	<i>S. lycopersicum</i>	Dominant	(Finlay, 1953)
<i>Sw-2</i>	<i>S. lycopersicum</i>	Dominant	(Finlay, 1953)
<i>sw-3</i>	<i>S. lycopersicum</i>	Resesif	(Finlay, 1953)
<i>sw-4</i>	<i>S. lycopersicum</i>	Resesif	(Finlay, 1953)
<i>Sw-5</i>	<i>S. peruvianum</i>	Dominant	(Stevens et al., 1992)
<i>Sw-6</i>	<i>S. peruvianum</i>	Dominant	(Rosello et al., 1999).
<i>Sw-7</i>	<i>S. chilense</i> (LA 1938)	Dominant	(Stevens et al., 2006).

*Sw-5* geni ilk olarak *S. peruvianum*'da tanımlanmıştır ve farklı coğrafik bölgelerden TSWV izolatlarına karşı kararlı bir dayanıklılık sağladığı bildirilmektedir (Boiteux and Giordano, 1992, 1993, Stevens et al., 1991, 1992, 1994, 1996, Rosello et al., 1998). Stevens et al., (1995), *Sw-5* genini 9. kromozomun telomerik bölgesinde Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) markörleri CT71, CT220 ve *Sw-5*'ten yaklaşık 0.5 cM uzaklıkta Random

Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markörü 421R ile haritalandırmıştır. Yakın İzogenik Hatlar'dan (Near Isogenic Lines, NILs) elde edilen segregant *L. esculentum* geri melez popülasyonunu kullanarak Stevens et al., (1996) bir sonraki haritayı 1 cM uzaklıkta RAPD markörü 421R ve Sw-5 'ten 2.4 cM uzaklıkta RFLP markörü CT220 ile oluşturmuştur. Chague et al., (1996)

Shi et al., (2011) *Sw-5* genine spesifik olarak tanımlamaya yönelik yaptıkları çalışmada PCR bazlı markörler ve TSWV spesifik gen türevli SNP markörleriyle çalışmışlardır. *Sw-5-b* allelini tanımlamış ve ticari çeşitler ve TGRC'den alınan aksesyonlarla gerçekleştirilen çalışmada 26 genotiple tanımlama yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan 14 aksesyon (LA 3667, LA0655, LA 0656, LA 1221, LA 1802, LA 2088, LA 2821, LA 2823, LA 3130, LA 3432, LA 3433, LA 3471 ve LA 3473) arasında sadece LA 3667, 541 bp fragmentinde bant vererek *Sw-5* genini içerdiği belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan *Sw-5* geni içeren diğer genotipler ise Talladega, BHN-444 ve Sophya ticari çeşitleri olmuştur.

Domateste şimdiye kadar geniş spektrumlu Tospovirus dayanıklılığı ile ilgili en iyi direnç seviyeleri *Sw-5* geninde bildirilmiştir. Bu lokus (*Sw-5*) en az beş paralog gen (*Sw-5a*, *Sw-5b*, *Sw-5c*, *Sw-5d* ve *Sw-5e* ) içerir. Bu paralog genlerden *Sw-5b* asıl dayanıklılığı temsil etmektedir *Sw-5a* ve *Sw-5b* gen kümesini kapsayan genomik gen bölgesi içinde farklı dizilerden oluşan 7 primer çiftini içeren bir paneli değerlendirmişlerdir (Dianese et al., 2010). Bir gen çifti tek ve ko-dominant dayanıklı ve hassas hatlar arasında polimorfizm göstermiştir. Bu ampliconların sekans analizi sonunda ortaya çıkan ampliconlarda *Sw-5* lokusuna spesifik insersiyon ve delesyonlarda meydana gelen farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde domateste markörlere dayalı seleksiyon üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Oğuz (2010), Türkiye kaynaklı domates genetik kaynaklarının ve bazı yabancı genotiplerin etmene karşı dayanımlarını morfolojik ve moleküler olarak araştırmışlardır. Kontrol olarak TSWV dayanıklılık geni, *Sw-5* genini taşıyan LA 3667, Formula F1 ve *S. peruvianum* genotipleri dayanıklı kontrol

olarak kullanılmışlardır. Araştırma sonunda tüm yerel genotiplerin etmene karşı hassas olduğu belirlenmiştir.

Koca (2012), tarafından yapılan çalışmada, Türkiye’de faaliyet gösteren 8 farklı tohumculuk firmasından temin edilen 71 farklı domates çeşidinin *Sw-5* dayanıklılık genini taşıyıp taşımadıkları araştırılmıştır. Bu çeşitlerin TSWV'a dayanıklılık durumları *Sw-5* lokusuyla bağlantılı olan *Sw-5-2*, CT220 markörleri ve bu çalışmada geliştirilen *Sw-5a-e* markörüne spesifik primerler kullanılarak PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Domateste MAS yöntemi kullanılarak *Sw-5* geninin varlığının etkin bir şekilde belirleneceği ve Türkiye’de yaygın olarak yetiştirilen domates çeşitlerinin çoğunun TSWV'a dayanıklılık sağlayan *Sw-5* lokusunu taşıdığı belirtilmiştir.

Şat (2015), serada TSWV'e karşı iki dayanıklı (Asil F1, Ferman F1), bir tolerant (Çiğdem F1) ve bir duyarlı (Kardelen F1) çeşitleri ile virüsün fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal faaliyetleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanan çalışmada; seralarda oldukça yaygın olan TSWV' e karşı kimyasal mücadele yönteminin olmaması nedeniyle enfeksiyondan korunmada en etkili faktör olan dayanıklı çeşitlerin kullanımının önemi belirtilmiştir.

#### 2.4.2 Kök ur nematodları

Bitki paraziti nematodların tespiti ve teşhisi mikroskopun icadından sonra olmuş ve nematodlarla ilgili ilk kayıt 1799 yılında buğday gal nematodu *Anguina tritici* olarak belirtilmektedir (Thorne, 1961; Siddiqi, 2000). Çok sayıda bitki türünde zarar meydana getiren, tarımsal anlamda ciddi verim kayıplarına neden olan kök-ur nematodları ilk kez 1855 yılında İngiltere’de Berkeley tarafından bulunmuştur (Whitehead, 1968). Kök-ur nematodlarının bitkide kolayca tanınan belirtiler meydana getirmesi ve diğer türlere oranla zarar derecelerinin yüksek olması, bu türler üzerindeki çalışmaların yoğun olmasına neden olmuştur.

Dünyanın tropik ve subtropik iklim bölgelerinde yürütülen araştırmalarda ekonomik öneme sahip dört kök-ur nematod türü (*M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. hapla* ) bulunmuştur (Netscher and Sikora, 1990).

### 2.4.2.1 Zararları

Kök ur-nematodları endoparazit (bitki bünyesinde yaşayan ve çoğalan) nematodlardır. Beslenme sırasında stiletinden (sokucu-emici olarak ağız iğnesinden) hücre içerisine bıraktığı toksik salgılar sonucunda bitkinin köklerinde urlar meydana getirirler. Şekil 2.4’de kök-ur nematodlarının domates bitkisi köklerinde oluşturduğu urlar gösterilmiştir. Bu urlar, bitkideki su dolaşım düzenini bozar ve kökün fonksiyonlarını engeller. Bitkide gelişme yavaşlar ve durur, bodurlaşma görülür. Yapraklarda sararma, çiçek ve meyve dökülmeleri olur. Enfeksiyon ağır ise bitki tamamen kuruyabilir (Beşirli ve Yaşarakıncı, 2004).



Şekil 2.4. Kök-ur nematodlarının domates bitkisi köklerinde oluşturduğu urlar (orijinal).

Bulaşık bitkilerin köklerdeki urların baklagil nodozitelerinden farkı, daha açık renkli ve muntazam şekilli oluşlarıdır. Bu urların içerisinde ergin dişiye de bulmak mümkün olabilmektedir. Nematodun zarar derecesi populasyon yoğunluğuna ve bitki çeşidine göre değişmektedir. Bakteriyel ve fungal hastalık etmenleriyle bulaşık bitkilerde kök-ur nematodlarının zararı artmaktadır. Tüm bölgelerimizde bu nematod türlerine rastlanabilmektedir (Beşirli ve Yaşarakıncı, 2004).

Kaşkavalcı (1998) yazlık sebze yetiştirilen alanlarda kök ur nematodları (*Meloidogyne spp.*)'nin türlerinin saptanması ve bu bölgedeki yayılışları ile ekonomik önemlerinin ortaya konması amacıyla yaptıkları çalışmada sanayi domateslerindeki kök ur nematodları bulaşıklık derecesinin verim azalması üzerinde %80,1 oranında etkili bir faktör olduğunu belirtmiştir.

Kök-ur nematodlarının konukçusunun çok olması, sulanabilen alanlarda özellikle sebzelerin yetiştirilmesi, bazı yerlerde, yıl içinde birden fazla ürünün üretiminin yapılması nedeniyle kültürel önlemlerin uygulanması güç olmaktadır.

Kök-ur nematodlarının yaşamasını etkileyen başlıca faktörler duyarlı (hassas) konukçular ve iklime bağlı olan toprak sıcaklığıdır. İkinci en önemli faktör de sulama veya yağışa bağlı olarak değişen toprak nemidir. Ayrıca, toprak yapısı da populasyon yoğunluğu üzerinde etkili olan bir diğer önemli faktördür (Mutlu, 2015).

Ülkemizde yapılan çalışmalar ile kök ur nematodları *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* ve *M. thamesi* türlerinin bulunduğu, en yaygın ve ekonomik olarak zarar yapan türlerin ise *M. incognita* ve *M. javanica* olduğu belirtilmiştir (Yüksel, 1974; Elekçioğlu ve Uygun 1994, Elekçioğlu et al., 1994, Mennan ve Ecevit, 1996, Kaşkavalcı ve Öncüer, 1999, Söğüt ve Elekçioğlu, 2000).

#### **2.4.2.2 Domateste Kök Ur-Nematodlarına dayanıklılık**

Domateste kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılık, ilk olarak domatesin yabani türlerinden *Solanum peruvianum* Mill. PI128657 gözlenmiştir (Bailey, 1941). Embriyo kurtarma tekniği kullanılarak dayanıklılık *S. lycopersicum*'a aktarılmıştır (Smith, 1944). *Mi* geninin tek dominant kalıtmı bir gen olduğu ve bitkilerin dayanıklılık durumunu belirlemek için yapılan çalışmada kullanılan nematod türü olan *M. incognita*'ya dayanıklılığı ifade etmek için verilmiştir (Gilbert and McGuire, 1956).

Bitki paraziti kök-ur nematodlarına karşı bilinen genetik dayanıklılığın %52 oranında monogenik, %28 oranında oligogenik ve %20 oranında poligenik genlerin kontrolünde olduğu bildirilmiştir (Bingefors, 1982; Sidhu and Webster, 1981; Hussey and Boerma 1992). Nematod dayanıklılığı ile ilgili genetik çalışmalar monogenik/vertikal dayanıklılık üzerinde yoğunlaşmaktadır. Monogenik başka bir ifadeyle tek, dominant genler ile sağlanan dayanıklılık, Mendel açılımı göstermesi, kalıtımın belirlenmesinin ve aktarılmasının kolay olması ile bitki ıslah programlarında tercih edilmektedir. Çok gen kontrolünde olan dayanıklılığın klasik ıslah metodları ile belirlenmesi, seçilmesi ve aktarılması zordur. Domateste kök-ur nematodlarına dayanıklılık sağlayan *Mi* geni monogenik gen kontrolündedir (Bailey 1941). Geriye melezleme ıslah metodu ile kök ur nematodlarına dayanıklı VFN-8 ve Anahu kültür çeşitleri geliştirilmiştir (Filho and Stevens, 1979). Geliştirilen birçok dayanıklı çeşidin orjininin bu çeşitlerden oluştuğu bildirilmektedir (Gallardo, 1989).

Domateste *Mi* dayanıklılık geni, kök-ur nematodları *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria* türlerine dayanıklılık sağlamakta (Roberts and Granfell, 1992) ayrıca patates afidi (*Macrosiphum euphorbiae*) (Rossi et al., 1998; Godzina et al., 2010) ve beyaz sinek (*Bemisia tabaci*) biyotipleri Q (Nombela et al., 2001) ve B (Jiang et al., 2001)'ye dayanıklılık sağlamaktadır. Bu bakımdan da birbirinden farklı 3 patojen türüne karşı dayanıklılık gösteren ilk bitki dayanıklılık geni olarak belirtilmektedir (Maleita et al., 2011).

Domateste *Mi* geni, 6. kromozomun sentromere yakın kısa kolunda (Kaloshian et al., 1998) haritalanmıştır. Bakterilere, funguslara ve virüslere karşı dirençte (dayanıklılık) etkili olan bitki proteinlerinin bir familyasının karakteristiği olan NBS-LRR grubuna aittir (Milligan et al., 1998). Domates sarı yaprak kıvrıcılığı virüsü (TYLCV)'ne dayanıklılık sağlayan *Ty-1* geni de aynı kromozom üzerinde bulunmaktadır. Her iki dayanıklılık geninin aynı genomik bölgede ve birbirlerine çok yakın olması nedeniyle domateste *Ty-1* geni taşıyan domates bitkilerinde kök-ur nematoduna dayanıklılığı tespit etmek için PMi12 ve Mi23 markörleri geliştirilmiştir (El Mehrach et al., 2005; Seah et al., 2007b). Devran vd. (2013). Yapılan çalışmalarda, domates ıslah hatlarında dayanıklılığın belirlenmesinde kullanılan PMi12 markörünün istenmeyen ilave bantlar

verebildiği, Mi23 markörü ile tutarlı sonuçlara ulaşıldığı belirtilmektedir (Cortada et al., 2008; Özarslandan vd., 2010; Maleita et al., 2011; Devran ve Sögüt, 2014).

Danso et al., (2011), dünyanın farklı bölgelerine ait ticari ve yerel 28 domates çeşitleri içeren kök ur nematodu dayanıklılık geni (*Mi*) spesifik moleküler markörü Mi23 ile taranmıştır. FLA 505-BL 1172, 2641A, Adwoa Deede, Terminator F1, Tima ve 2644A çeşitleri ve dayanıklı kontrol çeşit VFNT, *Mi* dayanıklılık lokusuna spesifik 380 bp'de bant oluşturarak moleküler olarak dayanıklı olarak belirlenmişlerdir. Hassas kontrol çeşit UC-82'de bant oluşumu gözlenmediği belirtilmiştir. Araştırma sonunda moleküler markör Mi23F/Mi23 primerinin domates genotiplerinin kök ur nematodlarına dayanıklılık durumlarının belirlenmesinde güvenilir ve etkin olduğu belirtilmiştir.

Soya (2008), 288 domates ıslah hattının kök ur nematodlarına ve *verticillium* solgunluğuna dayanıklılıklarının CAPS markörleriyle belirlenmesi için yapılan çalışmada; kök ur nematodlarına hassas 200 genotip, heterozigot dayanıklı 45 genotip ve homozigot dayanıklı 2 bitki genotipi belirlenmiştir.

Zengin (2016), moleküler markör yardımcı seleksiyon (MAS) ıslahı ile farklı domates tiplerinde (kiraz, kokteyl, tekli salkım ve iri) birden fazla hastalığa ve/veya nematoda dayanıklı genotiplerin geliştirilmesi amacıyla, bir çalışma yapılmıştır. Bu amaçla; *Ty-1*, *Ty-3a*, *Sw-5*, *Frl* ve *Mi* genlerini heterozigot taşıyan ticari bir çeşit ile bu genleri homozigot hassas olarak taşıyan 4 adet enstitü hattı melezlenmiştir. Çalışma sonucunda farklı meyve tiplerinde (kiraz, kokteyl, tane, beef) F<sub>3</sub> generasyonunda 95 adet genotip geliştirilmiştir. Çalışmada *Ty-3a* (*Ty-1*) ve *Sw-5* genlerini 19 genotip, *Mi* ve *Frl* genlerini 26 genotip, *Ty-3a* (*Ty-1*) ve *Frl* genlerini 12 genotip, *Sw-5* ve *Frl* genlerini 15 genotip elde edilmiştir. Ayrıca *Sw-5* ve *Mi* genlerini 7 genotip, *Ty-3a* (*Ty-1*), *Sw-5* ve *Frl* genlerini 7 genotip, *Sw-5*, *Mi* ve *Frl* genlerini 3 genotip bir arada homozigot olarak taşıdığı belirlenmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Çalışmada Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilmiş olan, TSWV ve nematoda hassas M68 hattı ile dayanıklılık aktarmak amacıyla TGRC'den temin edilen TSWV'ye dayanıklılık sağlayan *Sw-5* genini içeren LA 3667 ve nematoda dayanıklılık sağlayan *Mi* genini içeren LA 2941 sofralık hatları kullanılmıştır.

##### 3.1.1 Hassas materyal

M68: Bitki ve meyve özellikleri bakımından öne çıkan, sanayi ve sofralık özelliği iyi, 150-200 g ağırlıkta, orta erkenci, yuvarlak meyveli bir hatır. Hastalıklara dayanıklılık yönünden hassas olduğu belirlenmiştir. Şekil 3.1.'de meyve ve bitki tipi görülmektedir.



Şekil 3.1. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilmiş olan ve gen havuzunda yer alan sofralık M68 hattı.

### 3.1.2 TSWV dayanıklı materyal

LA 3667: TGRC'den temin edilmiştir. Şekil 3.2'de LA 3667 aksesyonuna ait bitki ve meyve özellikleri görülmektedir. Aksesyonla ilgili bilgiler:

- Takson (Solanum): *S. lycopersicum*
- Takson (Lycopersicon): *L. esculentum*
- Donör: Mikel Stevens
- Genotip geçmişi: Hibrit ürünü
- Mating System: Autogamous-SC
- Kromozom sayısı: 24
- Açıklama: F5 Stevens x Rodale
- Kategori: Hastalık dayanıklılığı, monogenik
- Aksesyon yılı: 1995
- Genler: *Sw-5*



Şekil 3.2. LA3667 *Sw-5* lokusu içeren TGRC aksesyonu.

### 3.1.3 Nematod dayanıklı materyal

LA2941, TGRC'den temin edilmiştir. Şekil 3.3'te aksesyona ait meyve şekli görülmektedir. Aksesyonla ilgili bilgiler:

- Takson (*Solanum*): *S. lycopersicum*
- Takson (*Lycopersicon*): *L. esculentum*
- eşit ismi: UC-TR51
- Donör: Craig Giannini
- Mating System: Autogamous-SC
- Kromozom sayısı: 24
- Açıklama: Rick Jones sofralık ıslah hattı
- Kategori: Hastalık dayanıklılığı
- Aksesyon yılı: 1988
- Genler: *I, Mi Ve*



Şekil 3.3. LA2941Mi dayanıklı aksesyonu.

### 3.2 Yöntem

TSWV ve nematoda dayanıklı domates hatları geliştirmek için yapılan çalışmada “markör yardımcı piramitleme” (Marker-assisted pyramiding) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem için izlenen aşamalar, aşağıdaki alt başlıklarda açıklanmıştır.

### 3.3 Populasyon Oluşturma

#### 3.3.1 TSWV (Domates Lekeli Solgunluk virüsü)'ne dayanıklı populasyon oluşturma

Tez çalışmasında ilk olarak Domates lekeli solgunluk virüsü'ne dayanıklılık geni (*Sw-5*) içeren hatların oluşturulmasına yönelik populasyon oluşturulmuştur. Oluşturulan populasyon "populasyon 1" olarak adlandırılmıştır. ETAE'nin hastalıklara dayanıklılık bakımından duyarlı M68 nolu ıslah hattı ile TGRC'den temin edilen *Sw-5* geni bakımından homozigot dayanıklı LA 3667 ıslah hattının ile melezlenme ile oluşturulmuştur. Populasyon oluşturma çalışmaları 2012, 2013 ve 2014 yılı ilkbahar ve sonbahar üretim sezonlarında gerçekteşirilmıştir.

Populasyon 1'in oluşum şeması şekil 3.4'te gösterilmıştir.



şekil 3.4. Populasyon 1 için izlenen aşamalar.

### **3.3.1.1 2012 yılı çalışmaları**

Tohum ekimleri hazır torf kullanılarak 228'lik polistren fide viyollerine yapılmıştır. Fide dikimleri 140x50 cm aralıkla Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü deneme alanına yapılmıştır. Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklı ( LA 3667) ve hassas (M68) ebeveynler melezlenmiştir. Melezlemeler 20 Mayıs 2012 - 10 Haziran 2012 tarihleri arasında çiçeklenmelerin yoğun olduğu dönemde gerçekleştirilmiştir. Kademe ilerletmek amacıyla melez meyvelerden elde edilen tohumlar 06 Ağustos 2012'de ekilmiş ve 07 Eylül 2012'de 10 adet F<sub>1</sub> fidesi seraya dikilmiştir (Şekil 3.5).

10 adet F<sub>1</sub> bitkisinden alınan yaprak örneklerinden yapılan markör analizi (Dianase, 2010) sonunda heterozigot dayanıklı (Rr) oldukları belirlenmiştir. Bu F<sub>1</sub> bitkileri kendilenmeleri izole koşullarda yetiştirilerek sağlanmıştır. Her bir F<sub>1</sub> bitkisinden (01.02.2013) 10 adet meyve alınarak F<sub>2</sub> tohumları çıkarılmıştır.( Şekil 3.6 ) tohum hasadı için F<sub>1</sub> bitkilerden seçilen meyveler görülmektedir.



Şekil 3.5. 2012 sonbahar üretim sezonunda kademe ilerletmek amacıyla serada yetiştirilen F<sub>1</sub> (M68x LA 3667) bitkileri.



Şekil 3.6. F1 bitkilerinden elde edilen meyveler.

### **3.3.1.2 2013 yılı çalışmaları**

F1 bitkilerinden elde edilen tohumların 200 tanesi F<sub>2</sub> ıslah kademesi için viyollere ekilmiştir (11.03.2013). Tohum çıkışı gerçekleşen 190 adet fidenin 140 x 50 cm aralıkla Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü deneme alanına dikimi 24 Nisan 2013'te yapılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Deneme alanın dikimi yapılan F2 bitkilerinin görüntüsü.

F<sub>2</sub> populasyonunda yer alan 190 bitkinin kendilemesi yapılarak tohumu alınabilen 150 bitkisinden taze yaprak örnekleri alınarak Dianase et al., (2010)'a göre markör analizi yapılmıştır.

TSWV bakımından homozigot dayanıklı (*RR/Sw-5*) olduğu belirlenen 35 F<sub>2</sub> bireyinin meyvelerinden alınan tohumlar herbirinden beşer bitki olacak şekilde 14.08.2013'te ekilmiştir. Yetiştirilen F<sub>3</sub> bireylerinin fideleri 05.09.2013 tarihinde seraya dikilmiştir.

### **3.3.1.3 2014 yılı çalışmaları**

F<sub>3</sub> bireylerinde kendilemeler yapılmış ve olgunlaşan kendilenmiş meyvelerin hasatı 13.02.2014 tarihinde yapılarak, tohumları alınmıştır (Şekil 3.8). F<sub>3</sub> bireylerinde bitki habitüsü, çiçeklenme durumu ve meyve şekli yönünden gözlemler yapılmış ve bitki habitüsü güçlü, çiçeklenme durumu iyi ve yuvarlak meyve şekilli 30 adet kendilemesi yapılan homozigot F<sub>3</sub> bireyinin seçimi yapılmıştır.



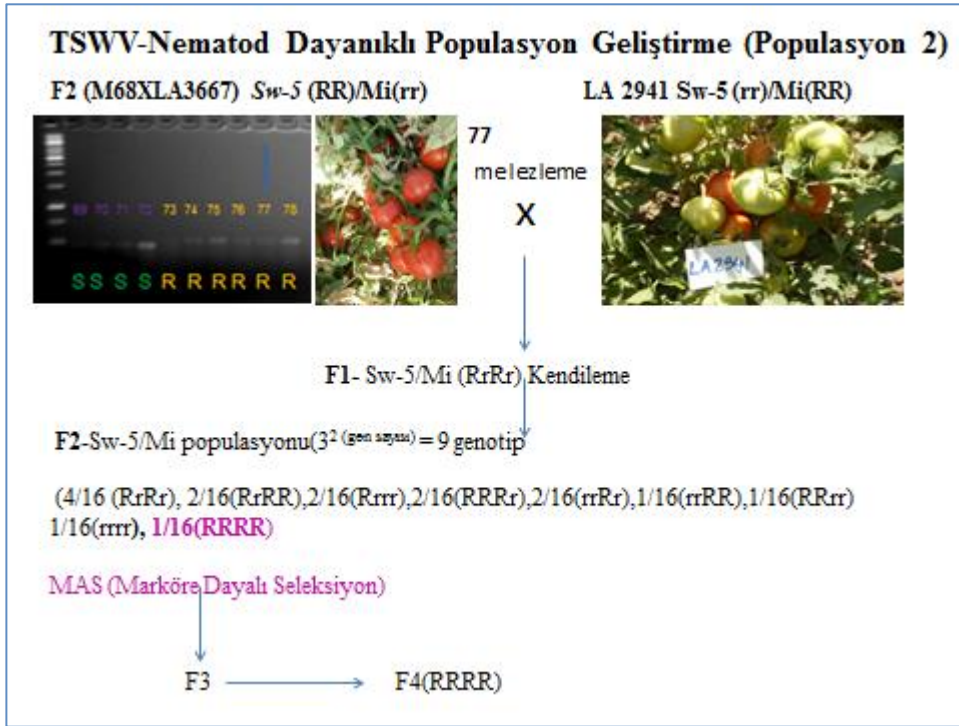
Şekil 3.8. Etiketlenmiş fideler ve serada F<sub>3</sub> kademesindeki domates hatları.

### **3.3.1.4 2015 yılı çalışmaları**

F<sub>3</sub> populasyonundan seçilen 30 F<sub>4</sub> bireyin herbirinden 20 bitki olacak şekilde 4 Mart 2015 tarihinde ekilmiştir. Fide döneminde yapılan markör analizi ile homozigot dayanıklı *Sw-5(RR)* 10'ar adet F<sub>4</sub> kademesindeki 3 hat Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde biyolojik testlemeye alınmıştır.

### 3.3.2 Nematoda dayanıklı populasyon oluşturma

Moleküler testleme sonucunda *Sw-5* dayanıklılık genini homozigot olarak içerdiği belirlenen F<sub>2</sub> kademesindeki 77 nolu birey (*Sw-5*<sup>+</sup>/*Sw-5*<sup>+</sup>)(M68XLA3667), homozigot *Mi* geni taşıyan LA2941(*Mi*<sup>+</sup>/*Mi*<sup>+</sup>) ile melezlenerek her iki dayanıklılık geni M68 hattında piramitlenmeye çalışılmıştır. Bu populasyon Populasyon 2 olarak adlandırılmıştır. Populasyon 2'nin oluşum şeması Şekil 3.9'da gösterilmiştir.



Şekil 3.9. Populasyon 2 için izlenen aşamalar.

#### 3.3.2.1 2013 yılı çalışmaları

TSWV dayanıklılığı kazandırılmak için oluşturulan F<sub>2</sub> populasyonundaki homozigot dayanıklı 77 nolu birey, 10.06.2013-14.06.2013 tarihlerinde *Mi* geni bakımından homozigot dayanıklı LA 2941 ile melezlenmiştir (Şekil 3.10). Melez meyvelerinden alınan tohumlar 14.08.2013 tarihinde torf içeren polistren viyollere ekilmiştir. Her iki gen bakımından moleküler testleme sonucunda heterozigot olduğu belirlenen 10 adet F<sub>1</sub> bitkisinin 05.09.2013 tarihinde dikimi yapılmıştır.



Şekil 3.10. TSWV Homozigot dayanıklı F<sub>2</sub> (77) bitkisi ile LA 2941 melez meyvesi.

### **3.3.2.2 2014 yılı çalışmaları**

F<sub>1</sub> bireylerinin 2013 sonbahar sezonunda (Eylül 2013-Şubat 2014) kendilenmesi ile elde edilen meyvelerden alınan 200 tohum ilkbahar döneminde (12.03.2014) torf içeren polistren viyollere ekilmiştir. Çıkışı olan 140 adet F<sub>2</sub> bireyelerine ait fideler 28 Nisan 2014 tarihinde deneme alanına dikilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Populasyon 2 deneme alanı.

F<sub>2</sub> bireyelerinde salkım izolasyonu yöntemi kullanılarak kendilemeler yapılmıştır. Populasyonda kendileme sonucunda meyve tutumu sağlanmış olan bitkilerde etiketleme yapılarak 92 F<sub>2</sub> genotipinden yaprak örneği alınmıştır. Analizde kontrol olarak hassas M68, LA 3667 (homozigot dayanıklı-Sw-5+/Sw-

5+), LA 2941 (homozigot dayanıklı- $Mi+/Mi+$ ) ve heterozigot dayanıklı  $F_1$  bitkileri (M68xLA3667 ve 77xLA2941) kullanılarak, 96 genotipten oluşan analiz gerçekleştirilmiştir.

Yapılan analiz sonucunda her iki gen bakımından dayanıklı homozigot ( $Sw-5+/Sw-5+/-/Mi+/Mi+$ ) 5  $F_2$  bireyi belirlenmiştir. Her iki gen bakımından homozigot  $F_2$  bireylerinin 05.08.2014 tarihinde kendilenmiş meyvelerinin hasatı yapılarak  $F_3$  tohumları elde edilmiştir.

Her iki gen bakımından homozigot 5 adet  $F_2$  bireyinde bitki ve meyve özellikleri açısından açılım devam edeceğinden uygun bitki ve meyve özelliklerine sahip bitkilerin seleksiyonunu yapabilmek amacıyla 50'şer bitki olarak 16.09.2014 tarihinde ETAE seralarına dikimi gerçekleştirilmiştir. Bitkilerin tamamında 2014 sonbahar döneminde (Eylül 2014-Ocak 2015) kendileme yapılarak  $F_3$  kademesinde bitki habitusu güçlü, çiçeklenme durumu iyi ve yuvarlak meyveli bireylerin kendilenmiş meyvesi elde edilen 105 adedinin tohumları 14 Ocak 2015 tarihinde alınmıştır.

### **3.3.2.3 2015 yılı çalışmaları**

$F_4$  kademesine gelen popülasyona ait bireylerin tohum 04 Mart 2015 tarihinde ekilmiş, fidelerin dikimi 27 Nisan 2015 tarihinde gerçekleştirilmiştir. Popülasyonda her hatta ait kendilenmiş meyveler hasat edilmiştir.

Popülasyonun oluşturulmasında  $Sw-5$  geni bakımından homozigot olan fakat bitki ve meyve özellikleri açısından heterozigot yapıda olan  $F_2$  -77 nolu birey kullanılmıştır. Ancak çalışmada popülasyon oluşturmak için kullanılan ebeveynler bitki ve meyve özellikleri yönünden benzer karakterlere sahip olmaları nedeniyle bu özellikler yönünden geniş bir farklılık gözlenmemiştir. Bu popülasyonun bitki ve meyve özellikleri açısından da homozigot duruma gelmesiyle birlikte en iyi seleksiyon genel kombinasyon yeteneklerinin ortaya konulması olacaktır.

### 3.4 Moleküler Testlemeler

Tez çalışmasında her iki geni bir hatta toplamak (gen piramidi) için oluşturulan melez ve kendileme popülasyonlarında markör seleksiyonunda klasik PCR ve Real-Time PCR yöntemleri kullanılmıştır.

#### 3.4.1 Klasik PCR ile moleküler testlemeler

Populasyon 1’de M68, LA 3667, F1 ve F2 bitkilerine ait yaprak örnekleri sıvı azotla muamele edildikten sonra Doyle&Doyle (1981) yöntemine göre DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Dianase (2010) ‘S-w-5-2’ primerine göre moleküler testleme gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.1’de Primer sekans dizilimi verilmiştir.

Çizelge 3.1. Primer ‘S-w-5-2’ primer sekans dizilimi.

Primer Dizilimi: Dianase ve ark. (2010).
Forward: 5’-AATTAGGTTCTTGAAGCCCATCT-3’
Reverse: 5’-TTCCGCATCAGCCAATAGTGT-3’

#### PCR Reaksiyonu mix için kullanılan protokol:

- 10X BUFFER: 1µL
- dNTP: 0,7 µL (2,5 mM dNTP)
- MgCl<sub>2</sub>: 0,6 µL (50 mM MgCl<sub>2</sub>)
- Primer Forward: 0,5 µL (100 ng)
- Primer Reverse: 0,5µL (100 ng)
- Taq Polimerase: 0,1 µL (0,5 U of Taq DNA polymerase (Invitrogen))
- DNA: 2 µL
- H<sub>2</sub>O: 4,5 µL

### **DNA Amplifikasyonu için Kullanılan Protokol**

Sw-5 lokusunu tanımlamaya yönelik DNA amplifikasyonu sağlamak için kullanılan PCR tabanlı çoğaltım programı:

- 94 ° C‘de 2 dakika ilk denatürasyon basamağı,
- 94 °C‘de 30 saniye (denatürasyon), 50°C‘de 1 dakika (annealing), 72°C‘de 30 saniye(elongasyon) 29 döngü (denatürasyon, annealing ve elongasyon) tekrar edilmiştir.
- 72°C‘de 5 dakika ve ∞ zamanda 4°C‘de inkübasyon şeklinde uygulanmıştır.

#### **3.4.2 Real-Time PCR ile moleküler testlemeler**

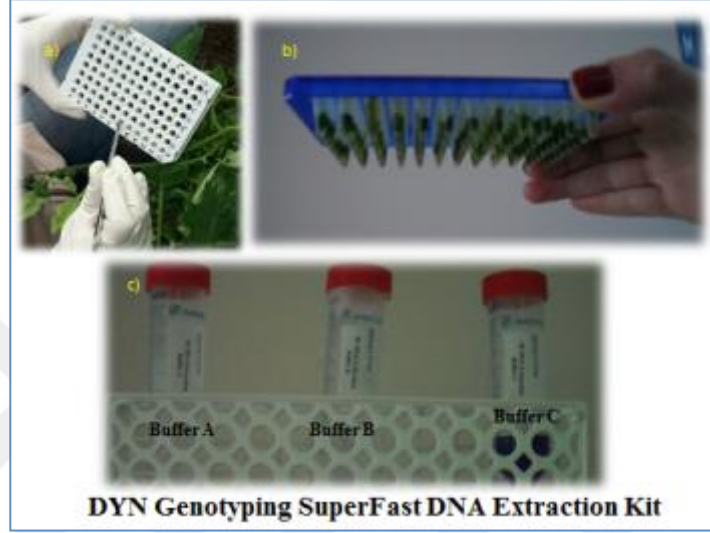
Populasyon 2’de 77 nolu birey ile LA 2941 hattının melezinden (77XLA2941) elde edilen F1 bitkileri, F2 populasyonuna ait bireyler ve ebeveyn hatların taze yaprak örneklerinden DNA izolasyonu DYN Genotyping SuperFast DNA Extraction Kit (DYN-SF-02) kullanılarak yapılmıştır.

#### **İzlenen DNA İzolasyon yöntemi:**

- 4-5 mm çapında bitki yaprak örneği 96’lık plate içerisine alınmış, ezme ya da parçalama işlemi yapılmamıştır.
- Örneklerin bulunduğu plate içerisine 50 µl Buffer A eklenmiştir.
- Daha sonra 2 dakika 4000rpm’de satrifüjlenmiştir.
- 98°C’de 90 saniye inkübe edilmiştir.
- Ardından inkübe edilen örneklere 120 µl Buffer B eklenmiştir.
- Temiz bir plate içersine 75 µl Buffer C eklenmiştir.
- Daha sonra Buffer A ve Buffer B eklenmiş plate’den 20 µl alınıp, Buffer C bulunan plate’e eklenmiştir.

- Seyreltilmiş Buffer C'li örnekler PCR için kullanılmıştır. Konsantr örnekler (Buffer A+Buffer B) gerektiğinde seyreltilebilmek için -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

Şekil 3.12 izlenen DNA izolasyon aşaması için örnek alma ve kullanılan solüsyonlara ait görüntüler verilmiştir.



Şekil 3.12. a) Genç yapraklardan örnek alma işlemi, b) Plate içerisine alınmış yaprak örnekleri c) Kullanılan izolasyon solüsyonları (orijinal).

Real-Time PCR; kalitatif ve kantitatif analizlerde kullanılan, tek bir cihazla oluşan amplifikasyon ve floresan sinyalin deteksiyonu ile oluşan verinin eş-zamanlı olarak görüntülediği bir cihazdır. Populasyon 2'de 77 nolu birey ile LA 2941 hattının melezinden elde edilen F<sub>1</sub> bitkilerine, F<sub>2</sub> populasyonuna ait bireylere ve ebeveynlere ait deteksiyon bu cihaz ile gerçekleştirilmiştir.

Tüm Real-Time PCR sistemleri floresan boya ile tanımlama yapmaktadır. Bu sistemlerde çeşitli floresan boyalar kullanılmakta olup, Etidyum bromid düşük hassasiyeti nedeniyle kullanılmamaktadır. Çalışma 470-514 nm dalga boylarında eksitasyon ve emisyonunda etkili SimpleProb (6-FAM) probu ile erime eğrisi sıcaklığı (Melting Curve Point) analizi ile değerlendirilmiştir. Simple Prob deteksiyon formatında cihazda okuma yapılmıştır.

Dayanıklılığın aktarılmasının belirlenmesi için *Sw-5* ve *Mi-23* marker DYN-1004-81-*Sw-5* ve DYN-1028-81-*Mi-23* ürünler kullanılmıştır. PCR’da DNA amplifikasyonu ve analiz için uygulanan PCR protokolü Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

*Sw-5* geni için Çizelge 3.2 ve *Mi* geni için Çizelge 3.3’te verilen erime eğrisi sıcaklığı pik değerlerine göre skorlama yapılmıştır.

Çizelge 3.2. *Sw-5* için kullanılan DNA amplifikasyon ve erime eğrisi sıcaklığı (Melting Curve Analysis) protokolü.

Deteksiyon Formatı:	Simpleprobe			
Reaksiyon Hacmi:	18µl			
Programlar				
Program adı	Döngüler		Analiz Modu	
Pre-inkübasyon	1		-	
Amplifikasyon	50		Miktar belirleme(kantifikasyon)	
Melting	1		melting	
Soğutma	1		-	
Sıcaklık Değerleri				
Değerler(°C)	Veri Modu	Süre (ss:dd:ss)	Sıcaklık Çıkış Oranı(°C/s)	Okuma Değeri(°C)
Pre-inkübasyon				
95°C	-	0:10:00	4,4	
Amplifikasyon				
95°C	-	0:00:10	4,4	
57°C	single	0:00:12	2,2	
72°C	-	0:00:15	4,4	
Melting				
95°C	-	0:01:00		
40°C	-	0:02:00		
75°C	Sürekli		5	
Soğutma				
40°C	-	0:00:30	2,2	

Çizelge 3.3 DYN-1004-81- Sw-5 genini değerlendirmek için kullanılan erime eğrisi sıcaklığı değerleri.

<b>DYN-1004-81 Sw-5</b>	
Sıcaklık Değeri(°C) Erime Noktası (Melting Point Sıcaklığı)	Genotip
50°C	4 (R-Dayanıklı-tipII)
57°C	3 (R-Dayanıklı-tipI)
62°C	1 (s-Hassas)
50°C ve 62°C	2,5/heterozigot dayanıklı (r-TipII/s)
57°C ve 62°C	2/heterozigot dayanıklı (r-TipI/s)

Çizelge 3.4. DYN-1028-81-Mi-23 Mi genini değerlendirmek için kullanılan erime eğrisi sıcaklığı değerleri.

<b>Mi- DYN-1028-81-Mi-23</b>	
Sıcaklık Değeri(°C) Erime Noktası (Melting Point Sıcaklığı )	Genotip
66°C	3 (R-Dayanıklı)
69°C	5 (s-Hassas-tip II)
73°C	1 (s-Hassas-tip I)
66°C ve 73°C	2/heterozigot dayanıklı (r/s Tip I)
66°C ve 69°C	4/heterozigot dayanıklı (r/s TipII )
69°C ve 73°C	6 (hassas-s I/sII)

### 3.5 Morfolojik Çalışmalar

Morfolojik karakterizasyon, UPOV (2001) (International Union for The Protection of New Varieties of Plant: Uluslar Arası Yeni Bitki Çeşitleri Koruma Birliği) ve IPGRI (1996) (Descriptors for Tomato-Lycopersicon spp.- International Plant Genetic Resources Institute)'nin domates karakterizasyon kriterlerine göre gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. Kullanılan morfolojik karakterizasyon kriterleri.

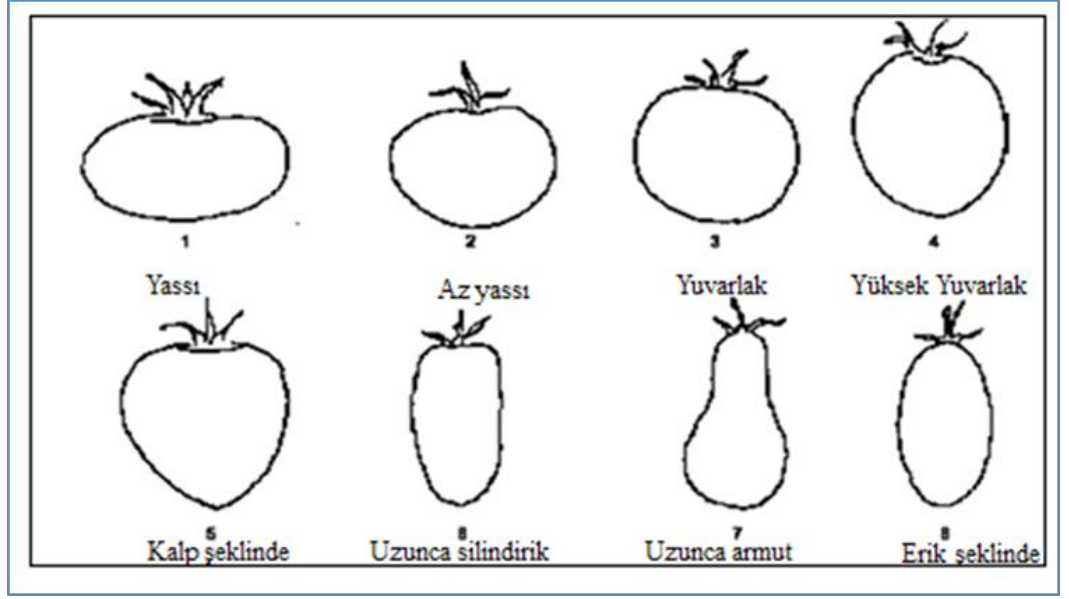
Özellikler	Açıklamalar	Puan
1. Fide: Hipokotilde antosiyan oluşumu	yok	1
	var	9
2. Bitki: Yetiştirme şekli	yer	1
	sırık	2
3. Bitki gücü	zayıf	1
	orta	2
	güçlü	3
4. Gövde: Tüylülüğü	yok	1
	az	3
	orta	5
	yoğun	7
5. Yapraklar: Duruşu	yarı dik	3
	yatay	5
	sarkık	7
	karişik	9
6. Yaprak: Tipi	tip 1	1
	tip 2	2
	tip 3	3
	tip 4	4
7. Yaprak: Rengi	açık yeşil	3
	orta yeşil	5
	koyu yeşil	7

Çizelge 3.5. Kullanılan morfolojik karakterizasyon kriterleri (devam)

Özellikler	Açıklamalar	Puan
8. %50 çiçeklenme gün sayısı		
9. Çiçek: Rengi	sarı	1
	portakal	2
10. Meyve: Büyüklüğü	çok küçük	1
	küçük	3
	orta	5
	büyük	7
	çok büyük	9
11. Meyve: Şekli	yassı	1
	az yassı	2
	yuvarlak	3
	Yüksek yuvarlak	4
	kalp biçiminde	5
	uzunca silindirik	6
	uzunca armut biçiminde	7
	erik biçiminde	8
12. Meyve: Enine kesiti	yuvarlak	1
	köşeli	2
	düzensiz	3
13. Meyve: Kopma dokusu	yok	1
	var	9
14. Meyve: Çiçek sapı kopma noktasının büyüklüğü	küçük	3
	orta	5
	büyük	7
15. Meyve: Çiçek sapı izinin genişliği	küçük	3
	orta	5
	büyük	7

Çizelge 3.5. Kullanılan morfolojik karakterizasyon kriterleri (devam)

Özellikler	Açıklamalar	Puan
16. Meyve: Dişi organ izinin şekli	benekli	1
	yıldız şeklinde	2
	çizgisel	3
	düzensiz	4
17. Meyve: Çiçek burnu şekli	çentikli	1
	düz	2
	sivri uçlu	3
18. Meyve: Çekirdek evi sayısı		
19. Meyve: Yeşil yaka (olumdan önce)	yok	1
	var	9
20. Meyve: Yeşil yakanın koyuluğu (olumdan önce)	az	3
	orta	5
	kuvvetli	7
21. Meyve: Rengi (olumdan önce)	açık yeşil	3
	orta yeşil	5
	koyu yeşil	7
22. Meyve: Rengi (olumda)	sarı	1
	portakal	2
	pembe	3
	parlak kırmızı	4
	koyu kırmızı	5
	kahve kırmızı	6
23. Meyve ağırlığı	g cinsinden	
24. Meyve genişliği	cm	
25. Meyve yüksekliği	cm	
26. Çiçeklenme zamanı	erkenci	3
	orta	5
	geççi	7
27. Olum zamanı	erkenci	3
	orta	5
	geççi	7



Şekil 3.13. Domateste meyve şekilleri (IPGRI, 1996).

### 3.6 Klasik Testleme (Mekanik İnokulasyon)

Çalışmada moleküler olarak dayanıklı ve hassas olarak belirlenen 5 domates ıslah hattında F<sub>4</sub> kademesinde mekanik inokulasyon yapılmıştır. Mekanik inokulasyon 14 Nisan 2015 ile 15 Mayıs 2015 tarihleri arasında BATEM (Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü) Antalya 'da gerçekleştirilmiştir.

TSWV inokulum kaynağı olarak BATEM Bitki Koruma Bölümü viroloji laboratuvarlarındaki hastalıklı bitki örnekleri kullanılmıştır.

14 Nisan 2015 tarihinde ilk gerçek yaprakları oluşan TSWV'ne dayanıklılığı moleküler olarak belirlenmiş F<sub>4</sub> kademesindeki 3 dayanıklı hat (Sw-5/RR) ve 2 hassas hat (Sw-5/rr) BATEM'de biyolojik olarak testlemeye alınmıştır. Testleme yapılan her bir hattın 10 bitki, hassas kontrol ETAE hassas hattı M68, Sw-5 lokusu içeren dayanıklı olduğu bilinen LA 3667 ve BATEM kodlu hassas kontrol olarak 10 ar bitki kullanılmış ve her bir saksıya 2 şer adet gelecek şekilde şaşırtılmıştır. Şekil 3.14'te testleme yapılan domates hatları gösterilmiştir.



Şekil 3.14. Hastalık testlemede kullanılan domates hatları.

TSWV ile bulaşık olduğu belirlenmiş domates bitkilerinden elde edilen inokulum steril porselen bir havan içerisinde iyice ezilmiştir. İçersine 1:5 oranında 0,01 M fosfat tampon ilave edilmiştir. İnokulasyonda kullanılan fosfat tampon; 1 lt 0.01 M için, 1 lt suya 5.253 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (MA=136.09), 10.93 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (MA=177.99) eklenerek, pH=7.0 olacak şekilde hazırlanmıştır. Solüsyonun içerisine %1 oranında  $\text{Na}_2\text{NO}_3$  ve % 0.1 oranında Merchптоethanol eklenmiş ve +4°C’de saklanmıştır. İnokulasyonda kullanılan inokulum kaynağı, 100 g hastalıklı bitki örneğine 200µl fosfat tampon eklenerek hazırlanmıştır. Bitki örnekleri porselen havanlara konmuş ve bitki özsuğu tampona geçecek şekilde iyice ezilmiştir. Bitki artıkları süzülerek çözülden çıkarılmış ve çözelti içerisine hastalık etmeninin girişini sağlayabilmek için yaprak dokusunu zedelemek amacıyla carborandum tozu serpilmiştir. Bu hazırlık işlemleri ve inokulasyon işlemleri sırasında inokulum kaynağının buz içerisinde tutulmasına dikkat edilmiştir. Şaşırtma işleminden 1 gün sonra hazırlanan bu inokulumla fidelerin kotiledon ve ilk gerçek yapraklarına sünger yardımıyla sürülerek inokulasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemden 3-4 dakika sonra bitkilerin yapraklarına sprey ile su püskürtülerek yapraklar üzerindeki inokulum fazlalıkları yıkanmıştır.

Bu işlem tamamlandıktan sonra bitkilerin kurummasını önlemek amacıyla yukarıdan püskürtme suretiyle su takviyesi yapılmıştır.

### **3.7 Kullanılan İstatistiksel Yöntemler**

Geliştirilen populasyonlarda gözlenen frekansların, beklenen frekanslara uyumunu belirlemek için Ki-kare Hipotez Testi (anlamlılık testi) kullanılmıştır. Teste 0,05 anlam düzeyinde uyuma bakılmıştır. Cluster Analizi için “NTSYSpc 2.20j, (C) 1986-2006, Applied Biostatistics Inc.” istatistiksel programı kullanılmıştır.



## **4. BULGULAR**

### **4.1 Morfolojik Değerlendirmelere İlişkin Bulgular**

#### **4.1.1 Ebeveynlerin morfolojik özellikleri**

Tez çalışmasında kullanılan ebeveynlere (M68, LA 3667 ve LA 2941) ait morfolojik gözlemler yapılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda ebeveynler arasında hipokotilde antosiyanin oluşumu (var), bitki büyüme şekli (determinate), bitki gücü (güçlü), bitki gövde tüylülüğü (orta), yaprakların duruşu (yatay), yaprak tipi (standart), yaprak rengi (yeşil), çiçek rengi (sarı) ve meyve enine kesiti(yuvarlak) bakımından farklılık gözlenmemiştir.

Kullanılan ebeveynler (M68, LA 3667 ve LA 2941) meyve şekli, meyve büyüklüğü, meyve ağırlığı, meyvede olum öncesi renk, meyve olum öncesi yeşil yaka (green shoulders - gs), meyve şekli, meyve eni, meyve boyu ve meyve ağırlığı morfolojik karakterleri açısından farklılıklar gözlenmiş olup, Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Ebeveynlere ait bazı morfolojik ve fenolojik özellikler.

Özellikler	M 68 (Hassas)	LA 3667 (Sw-5)geni	LA 2941 (Mi) geni
% 50 çiçeklenme gün sayısı	20-25 gün	30-35 gün	20-25 gün
% 50 meyve bağlama gün sayısı	58-64 gün	70-80 gün	60-65 gün
Bitki habitusu	Toplu-güçlü	Güçlü	Güçlü
Yetiştirme şekli	Yer	Yer	Yer
Yaprak tipi	Standart	Standart	Standart
Meyve büyüklüğü	Orta	Orta	Orta
Meyve olum öncesi yeşil yaka	Var	Yok	Yok
Meyvede olum öncesi yeşil yakanın yoğunluğu	Hafif	Yok	Yok
Meyve olum süresi (gün)	75	100-110	80
Meyve eni-boyu (cm)	7,3-6,1 cm	8,0-9,0 cm	7,0-5,0 cm
Meyve şekli	Yuvarlak	Yüksek yuvarlak	Hafif basık yuvarlak
Meyvenin enine kesiti	Yuvarlak	Yuvarlak	Yuvarlak
Meyve çekirdek evi sayısı	5-6	5-6	4-5
Meyve rengi	Kırmızı	Kırmızı	Kırmızı
Meyvede kopma noktasının varlığı	Var	Var	Var
Meyvede çiçek burnu şekli	Düz	Sivri	Düz
Meyvede çiçek burnu izi şekli	Yıldız	Yıldız	Yıldız

Ebeveynlerden hastalık genleri (*Sw-5* ve *Mi*) bakımından homozigot hassas durumda bulunan M68, güçlü bitki yapısında, meyve şekli yuvarlak, meyvede olum öncesi yeşil yaka hafif derecede bulunmaktadır. Fide dikiminden itibaren % 50 çiçeklenme gün sayısı (20-25 gün) ve % 50 meyve bağlama gün sayısı (73-78 gün) sayısı bakımından LA 3667'den erkencidir. TSWV'a dayanıklı popülasyon geliştirmek amacıyla kullanılan LA 3667, diğer ebeveynlere göre meyve şekli bakımından yüksek yuvarlak, meyvede çiçek burnu şekli sivri ve meyvede kaliks sepelleri diğer ebeveynlere göre daha uzun olduğu gözlemlenmiştir. Fenolojik olarak diğer ebeveynlere göre % 50 çiçeklenme ve % 50 meyve bağlama gün sayılarına bakıldığında daha geçici olduğu tespit edilmiştir. LA 2941 ise güçlü bitki yapısında, meyve şekli yuvarlak, meyvede olum öncesi yeşil yaka bulunmamaktadır. Fide dikiminden itibaren % 50 çiçeklenme gün sayısı (20-25 gün) ve % 50 meyve bağlama gün sayısı (60-65 gün) olarak gözlemlenmiştir.

Domates ıslah çalışmalarının en çok yapıldığı türlerin başında gelmektedir, diğer kültür bitkileriyle karşılaştırıldığında çeşitler arasında genetik çeşitlilik azdır. Islah çalışmalarında yeni çeşit geliştirme için (dayanıklılık aktarmak, popülasyon geliştirmek) geriye melezleme ıslah yöntemi yerine melezleme (kombinasyon ıslahı) ve hibrit çeşit açılımları kullanılmaktadır.

#### **4.1.2 Populasyon 1'in morfolojik özelliklerindeki değişim**

TSWV dayanıklılık geliştirmek için oluşturulan F<sub>2</sub> kademesindeki Sw-5 geni bakımından moleküler testleme ile homozigot oldukları belirlenen 35 bireyde morfolojik değerlendirmeler yapılmıştır (Çizelge 4.2).

İncelenen özellikler açısından bitki gücü bakımından tüm bireylerin bitkileri güçlü büyüme yapısında, bitki gövdeleri tüylü, yaprak rengi orta yeşil, çiçek renkleri sarı ve meyvenin enine kesitleri yuvarlak şekilli olarak gözlenmiştir.

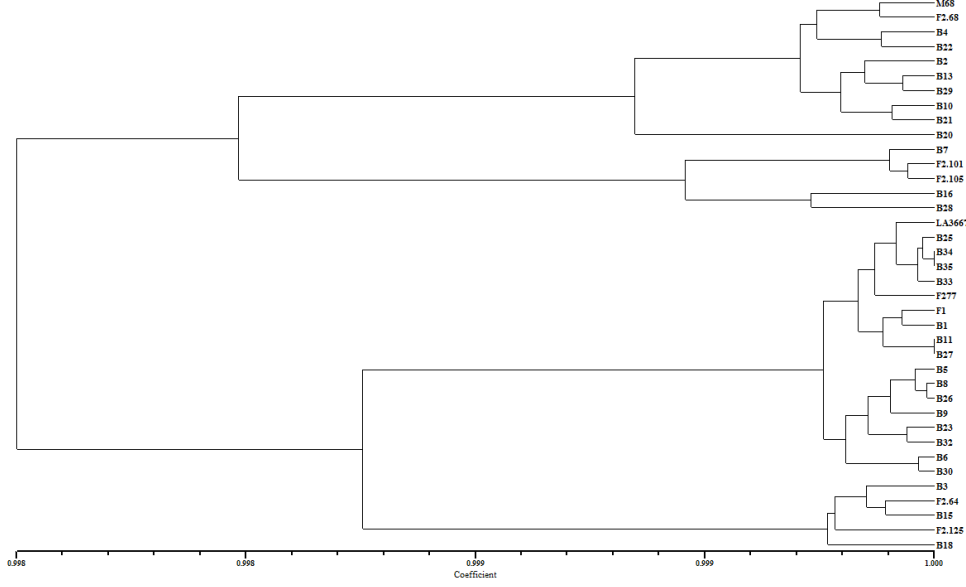
Ebeveynlerden M68, kırmızı olum öncesi hafif yeşil yaka özelliğine sahip, LA3667 ise homojen olgunlaşma göstermektedir. F<sub>1</sub> bitkileri ise yeşil yaka özelliğindedir. F<sub>2</sub> kademesinde homozigot dayanıklı olan 35 bireyin 14'ünde kırmızı olum öncesi yeşil yaka gözlenmiş olup, 21 bireyde homojen olgunlaşma görülmüştür. Bireylerin çiçek burnu izi yıldız şeklindedir. Çiçek burnu şekli bakımından M68 düz çiçek burnu şekline, LA 3667 sivri çiçek burnu şekline sahip olup, F<sub>1</sub> meyveleri düz çiçek burnu şeklinde gözlemlenmiştir. F<sub>2</sub> populasyonunda yer alan homozigot dayanıklı genotiplerin 10'u sivri şekilli çiçek burnuna sahiptir. Ortalama meyve eni 6,9 cm ve ortalama meyve boyu 6,5cm ve ortalama meyve ağırlığı ise 158 g olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. F<sub>2</sub> populasyonunda homozigot dayanıklı bireylerin morfolojik ve fenolojik gözlemleri.

Özellikler	Tanımı	Birey sayısı
1. Fidede antosiyen oluşumu	Var	
2. Bitki yetiştirme şekli	Yer (determinate)	
3. Bitki gücü	Güçlü	
4. Bitki gövde tüylülüğü	Orta	
5. Yaprakların duruşu	Yatay	
6. Yaprak tipi	Tip 2	
7. Yaprak rengi	Orta yeşil	
8. %50 çiçeklenme gün sayısı	25-35 gün	
9. Çiçek rengi	Sarı	
10. Meyve büyüklüğü	Orta büyüklükte (5,1-8 cm)	Ortalama 6,9 cm
11. Meyve şekli	Yuvarlak Yüksek yuvarlak	27 birey 8 birey
12. Meyve enine kesiti	Yuvarlak	
13. Meyve kopma dokusu	Var	
14. Meyvede çiçek sapı kopma noktasının büyüklüğü	Orta Büyük	16 birey 19 birey
15. Meyvede çiçek sapı izinin genişliği	Orta Büyük	27 birey 8 birey
16. Meyvede dişi organ şekli	Yıldız	
17. Çiçek burnu şekli	Düz Sivri	23 birey 12 birey
18. Çekirdek evi sayısı	4-6	
19. Meyvede olumdan önce yeşil yaka	Yok Var	21 birey 14 birey
20. Meyvede olumdan önce yeşil yakanın yoğunluğu	Az	14 birey
21. Meyvede olumdan önce renk	Açık yeşil Orta yeşil	23 birey 12 birey
22. Meyvede olumda renk	Parlak kırmızı	
23. Meyve ağırlığı	Ortalama 158 g	124 g -240 g
24. Meyve genişliği	6,9 cm	Minimum: 6 cm Maksimum: 8,3 cm
25. Meyve yüksekliği	6,5 cm	Minimum: 5,2 cm Maximum: 8 cm
26. Çiçeklenme zamanı	Orta	
27. Meyve olum zamanı	Orta erkenci Geçici	19 birey 16 birey

F<sub>2</sub> kademesinde yer alan homozigot dayanıklı 35 genotip, M68, LA 3667 ve F<sub>1</sub> bitkilerinden oluşan bireyler arasında morfolojik gözleme dayalı cluster analizi yapılmıştır. F<sub>2</sub> kademesinde yer alan homozigot dayanıklı 35 genotip, M68, LA 3667 ve F<sub>1</sub> bitkilerinden oluşan bireyler arasında morfolojik gözleme dayalı kümeleme analizinde; bireyler arasında (0,998-1,000) arasında benzerlik katsayısı olduğu görülmüştür. Populasyonu oluşturan ebeveynlerin birbirine çok benzer morfolojik özelliklerinden dolayı, F<sub>2</sub> populasyonunda bireyler arasında önemli düzeyde farklılık görülmemiştir. Kümeleme analizi ile elde edilen dendogramın









matris verilerinden oluşturulan “coph” (co-phenetic) matrisi ile “sahn” matrisine göre hazırlanmış benzerlik matrisi verileri arasında Mantel (1967) testi ile oluşturulan matris arasındaki korelasyon  $r=0,869$  bulunmuştur.





Şekil 4.1. Populasyon1 F<sub>2</sub> populasyonunda yer alan homozigot dayanıklı bireylerin benzerlik derecelerini gösteren dendogram.

Kümeleme analizinde yer alan genotipler arasında farklı olan özellikler meyve şekli, çiçek burnu şekli, olgunlaşma öncesi renk, çiçek sapı kopma noktası, çiçek sapının genişliği ve olgunlaşma zamanıdır. Bu bireyler arasında benzerlik oranının çok yüksek olmasının muhtemel nedeni, populasyonu oluşturan ebeveynlerin birbirine çok benzer morfolojik özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte homozigot dayanıklı F<sub>2</sub> bireyleri arasında meyve olum zamanları arasında önemli 95 gün ile 110 gün arasında değişen bir varyasyon gözlenmiş olup, bu durum ebeveynlerin farklı meyve olum zamanlarına sahip olmalarından kaynaklanmaktadır.









Popülasyon 1’de yer alan F<sub>2</sub> populasyonuna ait bireylerin bazı meyve ve fenolojik özellikleri gösterilmiştir (Şekil 4.2).Popülasyon 1’de yer alan F<sub>2</sub> populasyonuna ait bireylerin bazı meyve ve fenolojik özellikleri gösterilmiştir (Şekil 4.2).

	
<p>Yuvarlak, yeşil yaka yok, çiçek burnu düz, orta erkenci.</p>	<p>Yüksek yuvarlak, hafif dilimli, yeşil yakalı, çiçek burnu düz, orta erkenci.</p>
	
<p>Yuvarlak, çiçek burnu şekli düz, yeşil yaka yok, olum öncesi renk yeşil, orta erkenci.</p>	<p>Yuvarlak, hafif dilimli, yeşil yaka yok, çiçek burnu düz, geçci.</p>
	
<p>Yuvarlak, çiçek burnu düz, yeşil yaka yok, orta erkenci.</p>	<p>Yuvarlak, yeşil yaka yok, olum öncesi renk yeşil, çiçek burnu sivri, orta erkenci.</p>
	
<p>Yuvarlak, hafif dilimli, yeşil yaka yok, çiçek burnu düz, olum öncesi renk açık yeşil, orta erkenci</p>	<p>Yuvarlak, hafif dilimli, yeşil yaka yok, çiçek burnu düz, olum öncesi renk yeşil, geçci.</p>

Şekil 4.2. F<sub>2</sub> populasyonu homozigot dayanıklı bireylerin meyve ve fenolojik özellikleri.

	
<p>Yuvarlak meyve, yeşil yaka var, olum öncesi renk yeşil, çiçek burnu düz, orta erkenci.</p>	<p>Yuvarlak meyve, yeşil yaka yok, olum öncesi renk açık yeşil, çiçek burnu düz, orta erkenci.</p>
	
<p>Yuvarlak meyve, hafif dilimli, yeşil yakalı, çiçek burnu düz, orta erkenci</p>	<p>Yuvarlak meyve, hafif dilimli, yeşil yaka yok, olum öncesi renk yeşil, çiçek burnu düz, geçci.</p>
	
<p>Yüksek yuvarlak meyve, yeşil yaka yok, çiçek burnu düz, olum öncesi renk açık yeşil, geçci.</p>	<p>Yüksek yuvarlak meyve, yeşil yaka yok, çiçek burnu düz, geçci.</p>
	
<p>Yuvarlak meyve, hafif dilimli,olum öncesi renk açık yeşil, çiçek burnu düz,geçci.</p>	<p>Yüksek yuvarlak, olum öncesi renk açık yeşil, çiçek burnu sivri, orta erkenci.</p>

Şekil 4.2. F<sub>2</sub> popülasyonu homozigot dayanaklı bireylerin meyve ve fenolojik özellikleri (devam)

	
<p>Yüksek yuvarlak meyve, yeşil yakalı, çiçek burnu sivri, geçici.</p>	<p>Yuvarlak meyve, olum öncesi renk açık yeşil, yeşil yaka yok, çiçek burnu düz, orta erkenci.</p>
	
<p>Yuvarlak meyve, hafif dilimli, yeşil yakalı, olum öncesi renk yeşil, orta erkenci.</p>	<p>Yuvarlak meyve, hafif dilimli, yeşil yakalı, olum öncesi renk açık yeşil, çiçek burnu sivri, orta erkenci.</p>
	
<p>Yüksek yuvarlak meyve, olum öncesi renk açık yeşil, yeşil yaka yok, geçici.</p>	<p>Yüksek yuvarlak meyve, hafif dilimli, olum öncesi renk açık yeşil, orta erkenci.</p>
	
<p>Çiçek burnu sivri olan Ebeveyn LA 3367.</p>	<p>Yuvarlak meyve, olum öncesi renk açık yeşil, yeşil yaka yok, çiçek burnu sivri, orta erkenci.</p>

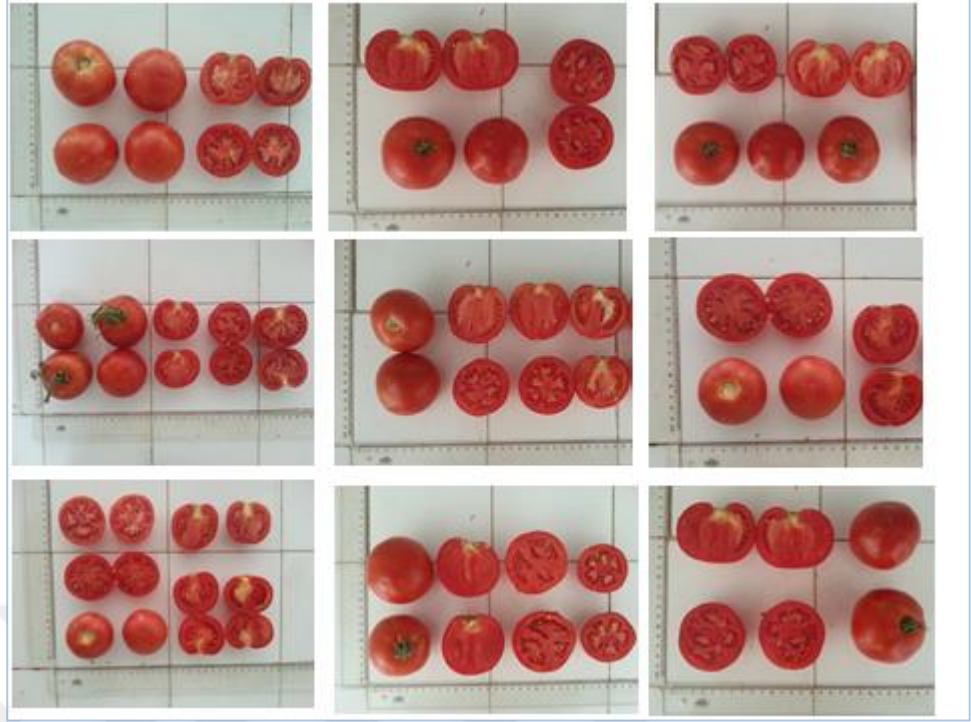
Şekil 4.2. F<sub>2</sub> popülasyonu homozigot dayanaklı bireylerin meyve ve fenolojik özellikleri (devam)

### 4.1.3 Populasyon 2'nin morfolojik değerlendirmeleri

F<sub>2</sub> kademesindeki her iki gen bakımından 5 homozigot dayanıklı hatta morfolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Bazı morfolojik özellikler bakımından (Fidede hipokotilde antosiyanin oluşumu, bitki büyüme şekli, bitki gücü, bitki gövde tüylülüğü, yaprakların duruşu, yaprak tipi, yaprak rengi, çiçek rengi ve meyve enine kesiti) farklılık gözlenmemiştir. (Çizelge 4.3) F<sub>2</sub> kademesindeki her iki gen bakımından homozigot beş bireyin morfolojik özellikleri verilmiştir. Bireyler arasında en belirgin farklılık meyve büyüklükleri arasındadır( 183,5 g, 179 g, 157 g, 147 g, 190 g ).

Çizelge 4.3. F<sub>2</sub> kademesindeki her iki gen bakımından Homozigot bireylerin morfolojik özellikleri.

Özellik	
1. Fidede antosiyan oluşumu	var
2. Bitki yetiştirme şekli	yer (determinate)
3. Bitki gücü	güçlü
4. Bitki gövde tüylülüğü	orta
5. Yaprakların duruşu	yatay
6. Yaprak tipi	tip 2
7. Yaprak rengi	orta yeşil
8. %50 çiçeklenme gün sayısı	20-30 gün
9. Çiçek rengi	sarı
10. Meyve büyüklüğü	Orta büyüklükte
11. Meyve şekli	yuvarlak ve basık yuvarlak
12. Meyve enine kesiti	yuvarlak
13. Meyve kopma dokusu	var
14. Meyvede çiçek sapı kopma noktasının büyüklüğü	orta
15. Meyvede çiçek sapı izinin genişliği	orta
16. Meyvede dişi organ şekli	yıldız
17. Çiçek burnu şekli	Düz
18. Çekirdek evi sayısı	4-8
19. Meyvede olumdan önce yeşil yaka	yok
20. Meyvede olumdan önce yeşil yakanın yoğunluğu	-
21. Meyvede olumdan önce renk	açık yeşil orta yeşil
22. Meyvede olumda renk	parlak kırmızı
23. Meyve ağırlığı	183,5 g / 179 g / 157 g / 147 g / 190 g
24. Meyve genişliği	7,1 cm / 6,6cm / 7,3 g / 6,9 g / 7,6 g
25. Meyve yüksekliği	6 cm / 6,7 cm / 6,1 cm / 6 cm / 5,7 cm
26. Çiçeklenme zamanı	Orta (23-29 gün)
27. Meyve olum zamanı	orta



Şekil 4.3. F<sub>2</sub> kademesindeki her iki gen bakımından homozigot bireylerin meyve tiplerine ait görüntüler.

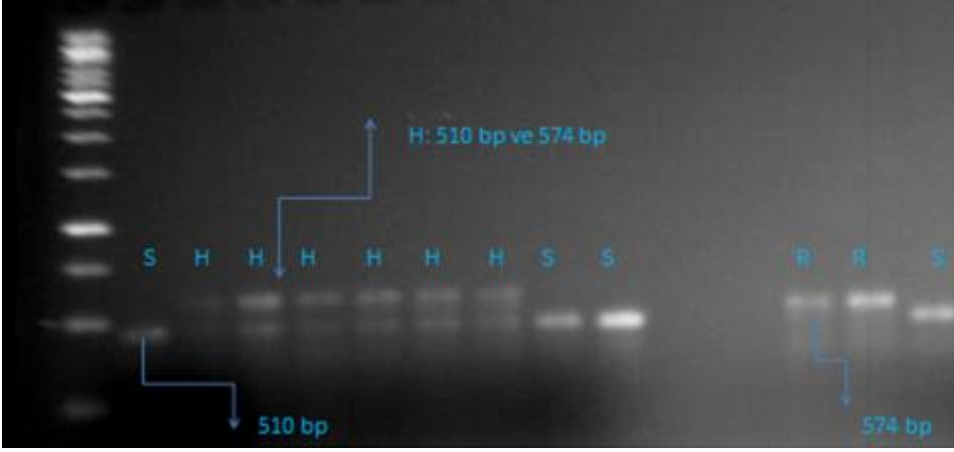
## 4.2 Moleküler Dayanıklılık Testlemelerine İlişkin Bulgular

Dayanıklılık kazandırılmak üzere oluşturulan Populasyon 1 ve Populasyon 2 için yapılan moleküler testlemeler Populasyon 1 için klasik PCR ile Populasyon 2 için Real-Time PCR ile yapılmıştır.

### 4.2.1 Populasyon 1’de dayanıklılık testlemelerine ilişkin bulgular

Domates lekeli solgunluk virüsüne karşı dayanıklılık sağlamak için oluşturulan populasyon 1’de F<sub>1</sub> ve F<sub>2</sub> bitkilerinde 10 adet F<sub>1</sub> bitkisinde ve F<sub>2</sub> populasyonunda 150 bitkide markör analizi gerçekleştirilmiştir.

F<sub>1</sub> bireyleri ve kontrol olarak kullanılan hassas ebeveyn M68, dayanıklı ebeveyn LA 3667 ve F<sub>1</sub> bireylerine ait moleküler analiz. Görüntüleri Şekil 4.4’de verilmiştir. Testlemeye alınan 10 F<sub>1</sub> bireyi de *Sw-5* geni bakımından heterozigot dayanıklı bulunmuştur.



Şekil 4.4. F<sub>1</sub> bitkilerinden elde edilen bant görüntüleri (s: 510 bp, M68 hassas; R:574 bp, LA3667; H: 510 bp ve 574 bp F<sub>1</sub> (M68x LA 3667) bitkileri.

TSWV'ne dayanıklı hat geliştirmek amacıyla oluşturulan Populasyon 1'in F<sub>2</sub> kademesindeki 150 birey *Sw-5* geni bakımından moleküler testlemeye alınmıştır. Moleküler testlemede *Sw-5* geni bakımından homozigot dayanıklı bireyler 574 bp'de bant oluştururken, hassas F<sub>2</sub> bireyleri 510 bp'de, heterozigot dayanıklı 574 bp ve 510 bp'de bant oluşturmuşlardır.

F<sub>2</sub> populasyonunda yapılan testlemede dayanıklılığın tek gen kalıtım hipotezi Ki-kare ( $\chi^2$ ) testi ile belirlenmiştir. Çizelge 4.4'te Populasyon 1'in F<sub>2</sub> kademesindeki moleküler markör sonucu belirlenen birey sayıları ve Ki-kare testi verilmiştir.

Çizelge 4.4. Populasyon 1 için, F<sub>2</sub> açılımında moleküler markör sonuçlarına göre Ki-kare ( $\chi^2$ ) testi.

F <sub>2</sub> Açılımı Ki-kare ( $\chi^2$ )			
Genotip	Gözlenen	Beklenen	Ki-kare ( $\chi^2$ )
RR ( <i>Sw-5</i> +/ <i>Sw-5</i> +) Homozigot dayanıklı	35	37.5	0,16
Rr ( <i>Sw-5</i> +/ <i>Sw-5</i> -) Heterozigot dayanıklı	74	75	0,01
rr ( <i>Sw-5</i> -/ <i>Sw-5</i> -) Hassas	41	37.5	0,32
Toplam	150	150	$\chi^2=0,49$

Sd:2  $\chi^2=(0,05)= 5,991$

F<sub>2</sub> açılımında genotiplerin  $\frac{1}{4}$  RR,  $\frac{1}{2}$  Rr ve  $\frac{1}{4}$  rr şeklinde genotipik açılım göstermesi gerekmektedir. F<sub>2</sub> açılımında 150 bitkide yapılan testleme sonucunda 35 birey homozigot dayanıklı, 74 birey heterozigot dayanıklı ve 41 birey hassas olarak gözlenmiştir. F<sub>2</sub> açılımında yapılan Ki-kare( $\chi^2$ ) testi ile monohibrit açılımın beklenen değerleri ile uyumlu olduğu bulunmuştur. TSWV'ne dayanıklılığın tek gen kontrolünde olduğu (0,05) istatistiki önem seviyesinde görülmüştür.

Populasyon 1'de dayanıklılık çalışmalarına homozigot dayanıklı bireylerle devam edilmiş ve bu bireylerde kendilemeler yapılarak. F<sub>3</sub> ve F<sub>4</sub> kademelerine geçilmiştir.

Populasyon 1'de geliştirilen bazı genotiplere yönelik biyolojik testlemede gerçekleştirmiştir. TSWV'ne dayanıklılığı moleküler olarak belirlenmiş F<sub>4</sub> kademesindeki 3 dayanıklı hat (Sw-5+/ Sw-5+) ve 2 hassas hat (Sw-5-/Sw-5-) biyolojik da olarak testlemeye alınmıştır. Hassas kontrol olarak M68, dayanıklı kontrol olarak LA 3667 kullanıldığı denemede ayrıca BATEM koduyla dayanıklı kontrol kullanılmıştır. Şekil 4.5'de testlemeye alınan hatlara ait bitkilerde inokulasyon sonrası görülen TSWV belirtilerine ait görüntüler verilmiştir.



Şekil 4.5. Dayanıklı ve hassas hatlara ait bitkilerde inokulasyon sonrası TSWV belirtileri  
 a) testlenen bitkilerin genel görüntüsü b) hassas ve dayanıklı kontrol c) hassas bitkilerde görülen simptomlar d) hassas bitkilerde kahverengileşme.

TSWV testlemesinde kullanılan dayanıklı kontrole (LA3667) ait bitkilerde hiçbir hastalık belirtisi görülmediği, hassas kontrole (M68) ait tüm bitkilerde hastalık belirtileri görülmüştür. Moleküler olarak dayanıklı olarak belirlenen 3 hatta ait bitkilerin tamamında hastalık belirtisi görülmemiş, hassas hatların bitkilerinde ise hastalık belirtileri görülmüştür. Testlenen bireylerde moleküler testleme sonuçları ile biyolojik testleme sonuçları uyumlu olarak belirlenmiştir.

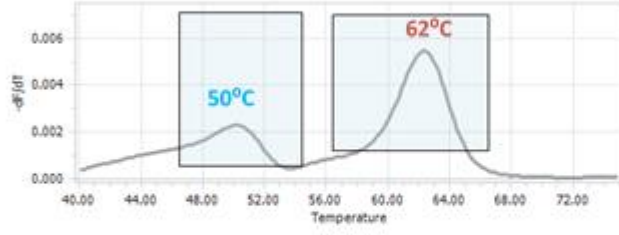
#### 4.2.2 Populasyon 2’de moleküler testlemelere ilişkin bulgular

Moleküler testleme sonucunda *Sw-5* dayanıklılık genini homozigot olarak içerdiği belirlenen  $F_2$  kademesindeki 77 nolu birey ( $Sw-5^+/Sw-5^+$ ) (M68XLA3667), homozigot *Mi* geni taşıyan LA2941 ( $Mi^+/Mi^+$ ) ile melezlenmiştir. 10 adet  $F_1$  bitkisinde hem TSWV hem de nematod açısından dayanıklılık durumunu belirlemek için moleküler testleme yapılmıştır.

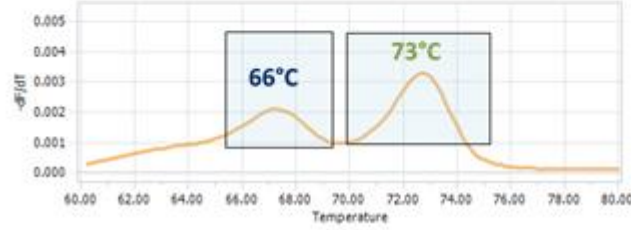
Real-Time PCR cihazında gerçekleştirilen analiz erime eğrisi sıcaklık değerlerine göre yapılmıştır. Analizde F<sub>1</sub> bitkilerinde belirlenen *Sw-5* ve *Mi* genleri bakımından meydana gelen erime noktası eğrileri Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

### F<sub>1</sub> (*Sw-5/Mi*)(RrRr) (heterozigot dayanıklı)

*Sw-5*



*Mi*



Şekil 4.6. F<sub>1</sub> bitkilerinde oluşan (heterozigot dayanıklı (*Sw-5/Mi*) erime eğrisi sıcaklığı değerleri (*Sw-5* için 50°C ve 62°C) *Mi* geni için (66°C ve 73°C).

Analizde kullanılan dayanıklı kontrol LA 3667 (*Sw-5* dayanıklı) 50°C'de grafik (dayanıklı tip II) oluşturmuş, hassas kontrol ise 62°C'de pik oluşturmuş, belirtilen erime eğrisi sıcaklık değerlerinden, hassas genotipe uygun bulunmuştur. F<sub>1</sub> bitkileri ise 50°C'de ve 62°C'de pik oluşturmuştur (heterozigot dayanıklı r-tip- II). Kullanılan protokolde bazı erime eğrisi sıcaklık değerlerine 57°C'de (dayanıklı tip I) ve 57°C ve 62°C'de (heterozigot dayanıklı r-tip-I) şeklinde yer alan genotipler belirlenmemiştir.

Analizde kullanılan dayanıklı kontrol LA 2941 (*Mi*<sup>+</sup>/*Mi*<sup>+</sup> dayanıklı) 66°C'de (dayanıklı tip) pik oluşturmuş, hassas kontrol M68 (*Mi*<sup>-</sup>/*Mi*<sup>-</sup>) ise 73°C'de (hassas genotip I) pik oluşturmuştur. F<sub>1</sub> bitkileri (*Mi*<sup>+</sup>/*Mi*<sup>-</sup>) ise 66°C'de ve 73°C'de pik oluşturmuş kullanılan dayanıklılık (heterozigot dayanıklı r/s tip-I) olarak değerlendirilmiştir.

F<sub>2</sub> populasyonunda testlenen 92 genotipin *Sw-5* ve *Mi* genleri bakımından oluşan erime eğrisi sıcaklık pik değerlerine göre dayanıklılık durumu belirlenmiştir.

Analizde kullanılan dayanıklı kontrol LA 2941 (*Mi*<sup>+</sup>/*Mi*<sup>+</sup> dayanıklı) 66°C'de pik oluşturmuş, belirtilen dayanıklı tip genotipine uygun; hassas kontrol M68 ise 73°C'de pik oluşturmuş, belirtilen hassas genotip I'e uygun bulunmuştur. Yapılan değerlendirmelere göre homozigot dayanıklı, heterozigot dayanıklı ve hassas genotipler belirlenmiştir. Protokolde yer alan 69°C'de pik oluşturan (hassas tip- I), 66°C ve 69°C ( heterozigot dayanıklı r/s- tip- II) 69°C ve 73°C pik oluşturan (hassas tip I/s tip II) şeklinde genotip belirlenmemiştir.

F<sub>2</sub> bitkileri *Sw-5* lokusu yönünden incelendiğinde ise; 50°C'de pik oluşturmuş olan F<sub>2</sub> bitkileri kullanılan protokolde belirtilen dayanıklı tip II genotipine uygun, 62°C'de pik oluşturmuş olan F<sub>2</sub> bitkileri ise belirtilen hassas genotipe uygun bulunmuştur. 50°C'de ve 62°C'de pik oluşturmuş olan F<sub>2</sub> bitkileri ise ( heterozigot dayanıklı r- tip- II olarak değerlendirilmiştir. Protokolde yer alan 57°C'de (dayanıklı tip I) ve 57°C ve 62°C'de (heterozigot dayanıklı r- tip- I) pik oluşturan genotip belirlenmemiştir. Bu durumun nedeni geliştirilen markörün kullanıldığı dayanıklılık kaynağının baz diziliminden kaynaklanmaktadır.

2 bağımsız genle kontrol edilen popülasyonda oluşan genotip sayısı 3<sup>n</sup> formülü ile belirlenmiştir. Burada 2 bağımsız gen olduğu için (*Sw-5* ve *Mi*) n=2 ve 3<sup>2</sup>=9 genotip oluşmuştur. Testlenen popülasyonda 2 gen bakımından dayanıklılık piramitlenmek istendiği için F<sub>2</sub> populasyonunda geniş bir varyasyon oluşmuştur. F<sub>2</sub> populasyonunda homozigot dayanıklı 2 genin bir arada olma olasılığı (1/16) Ki-kare ( $\chi^2$ ) testi ile analiz edilmiştir Çizelge (4.5).

Çizelge 4.5. Populasyon 2 için, F<sub>2</sub> açılımında moleküler markör sonuçlarına göre Ki-kare ( $\chi^2$ ) testi sonuçları.

Sw-5/Mi	Sw-5/Mi	Sw-5/Mi	F <sub>2</sub> 'de Gözlenen bitki sayısı	Beklenen bitki sayısı sayısı (Beklenen)	Ki-kare ( $\chi^2$ )
4/16	RrRr	het/het	23	23	0,00
2/16	RrRR	het/day	14	11,5	0,54
2/16	Rrrr	het/has	11	11,5	0,02
2/16	RRRr	day/het	12	11,5	0,02
2/16	rrRr	has/het	10	11,5	0,20
1/16	rrRR	has/day	7	5,75	0,27
1/16	RRrr	day/has	4	5,75	0,53
1/16	rrrr	has/has	6	5,75	0,01
1/16	RRRR	day/day	5	5,75	0,10
		<b>Toplam</b>	92	92	$\chi^2=1,69$

day: Dayanıklı, het: Heterozigot dayanıklı has:Hassas

Sd:3  $\chi^2=(0,05)= 7,815$

F<sub>2</sub> açılımında genotiplerin 4/16 (RrRr), 2/16 (RrRR), 2/16 (Rrrr), 2/16 (RRRr), 2/16 (rrRr), 1/16 (rrRR), 1/16 (RRrr), 1/16 (rrrr), 1/16 (RRRR) şeklinde genotipik açılım göstermesi gerekmektedir. Elde her iki gen bakımından birbirinden bağımsız iki genin F<sub>2</sub> populasyonu açılımında homozigot dayanıklı, heterozigot dayanıklı ve hassas birey sayıları Mendel açılımına göre (9:3:3:1) P:0,05 istatistiki önem seviyesinde uygun bir açılım olduğu belirlenmiştir.

Geliştirilen populasyonda aktarılmak istenen hastalık ve zararlı dayanıklılık genlerinin monogenik kalıtımın 2 bağımsız dominant gen bakımından idare edilmesi nedeniyle bu popülasyondan geliştirilen F<sub>2</sub> bitkilerinde yapılan testleme sonunda 9:3:3:1 oranında açılım gözlenmiştir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Marköre Dayalı Seleksiyon yöntemi kullanılarak tüm dünyada büyük ekonomik kayıplara neden olan Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklılık sağlayan *Sw-5* geni ve toprak kaynaklı etmen kök-ur nematodu türlerine dayanıklılık sağlayan *Mi* genlerinin piramitlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak melezleme (kombinasyon ıslah) yöntemi kullanılarak iki populasyon geliştirilmiştir.

Populasyon 1, Domates lekeli solgunluk virüsüne ve kök-ur nematoduna hassas saf domates hattı M68 ve TSWV'ne dayanıklılık sağlayan *Sw-5* genini homozigot olarak içeren LA 3667 sofralık domates hattının melezlenmesi ile oluşturulmuştur. Populasyon 2, Populasyon 1'de yer alan homozigot *Sw-5* genini içerdiği moleküler olarak belirlenmiş F<sub>2</sub> kademesinde bir birey ile kök-ur nematoduna dayanıklılık sağlayan *Mi* genini homozigot içeren LA 2941 sofralık ıslah hattı melezlenerek oluşturulmuştur.

Geliştirilen popülasyonlarda her iki etmene dayanıklılık seleksiyonunda çevre koşullarından bağımsız ve güvenilir olması nedeniyle marköre dayalı seleksiyon yönteminden yararlanılmıştır. Her iki popülasyonda F<sub>2</sub> ıslah kademesinde marköre dayalı seleksiyon yöntemi (MAS) ile homozigot dayanıklı bitkiler seçilerek tek bitki seleksiyonu yapılmış ve kendileme işlemi yapılarak bir sonraki ıslah kademesine ulaşılmıştır. MAS yöntemi ile belirlenen hassas ve heterozigot dayanıklı bireyler popülasyonlardan elimine edilmiştir.

Bu çalışmada, Populasyon 1'de Domates lekeli solgunluk virüsü'ne karşı dayanıklılığın belirlenmesinde SCAR (*Sw-5-2*) moleküler marköründen (Dianase et al.2010) ve Populasyon 2'de ise Domates lekeli solgunluk virüsü ve kök-ur nematoduna yönelik dayanıklılığın belirlenmesinde SNP (*Sw-5* ve *Mi23*) moleküler markörlerinden (Shi et al.2011) yararlanılmıştır.

Bu güne kadar TSWV'ne karşı dayanıklılık sağlayan 8 gen (*Sw1a*, *Sw1b*, *sw2*, *sw3*, *sw4*, *Sw-5*, *Sw-6* ve *Sw-7*) tanımlanmıştır (Finlay, 1953, Price et al., 2007; Saidi,2008). Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklılık sağlayan

genler arasında, *Sw-5* geninin Tospovirüslere karşı güvenilir ve etkili dayanıklılık sağladığı ve domates ıslah programlarında seleksiyonda *Sw-5* geni ile yakın ilişkide olan SCAR markörü ve SNP markörlerinin kullanıldığı belirtilmektedir (Stevens et al.,1991; Dianase et al.,2010; Shi et al., 2011, Lee et al., 2015).

Popülasyon 1'de F<sub>2</sub> kademesinde kullanılan SCAR (*Sw-5-2*) markörüyle, homozigot dayanıklı bireyler 574 bp'de bant; hassas bireyler 510 bp'de; heterozigot dayanıklı bireyler 510 bp ve 574 bp'de bant oluşturmuştur. Dianase et al. (2010), homozigot dayanıklı Stevens çeşidinin 574 bp büyüklüğünde bant oluşturduğunu, Moneymaker ile küçük meyve şekline sahip domates çeşitlerinin ise 464 bp'de bant oluşturduğunu belirtmektedir. Dayanıklılık kaynağı olarak kullanılan *Sw-5* genini içeren hat LA 3667, Stevens çeşidinden geliştirilmiş bir ıslah hattı olması dolayısıyla Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklı bireyler sadece 574 bp'de bant oluşturmuşlardır.

Shi et al.(2011), *Sw-5* ile ilişkili SNP moleküler markörleriyle yaptıkları çalışmada, Stevens çeşidi kaynaklı LA 3667 aksesyonunun, Tospovirüslere etkili dayanıklılık gösterdiğini belirtmiştir. Tez çalışmasında da dayanıklılık kaynağı olarak kullanılan ve Enstitüde saf hat haline getirilen LA 3667 hattı hem SCAR hem de SNP markörü ile yapılan analizlerde *Sw-5* genini içerdiği teyit edilmiştir. Ayrıca, Populasyon 1'in F<sub>2</sub> bitkilerinde *Sw-5* geni bakımından yapılan moleküler analiz sonucu açılımın 1:2:1 ( $(Sw-5^+/Sw-5^+)/(Sw-5^+ Sw-5^-)/(Sw-5^- /Sw-5^-)$ ) olduğu belirlenmiştir. Populasyon 1'de kullanılan LA 3667 hattının dayanıklılık sağlayan *Sw-5* genini dominant olarak taşıdığı ve dayanıklılığın tek dominant genle kontrol edildiği (Stevens et al.,1992; Langella et al., 2004) teyit edilmiştir.

Domateste *Mi* dayanıklılık geni, kök-ur nematodu (*M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria* ) türlerine dayanıklılık sağlamaktadır ( Roberts and Granfell, 1992). Domateste kök-ur nematodlarına dayanıklılık sağlayan *Mi* geni monogenik gen kontrolünde (Bailey 1941) olup, geninin belirlenmesine ilişkin moleküler markörler geliştirilmiştir. Günümüzde yapılan ıslah çalışmalarında dayanıklılık geni ile yakın ilişkili Mi23 moleküler markörü yaygın şekilde kullanılmaktadır (El Mehrach et al., 2005; Seah et al., 2007b; Devran vd., 2013).

Tez çalışmasında *Sw-5* ve *Mi* genlerinin piramitlemesi amacıyla geliştirilen Populasyon 2'de, her iki gen ile ilişkili Dyn Genotyping Firması tarafından Real-time PCR temelli geliştirilen SNP markörleri kullanılarak seleksiyon gerçekleştirilmiştir. Firmanın kullanım kılavuzunda domateste kök-ur nematodlarına dayanıklılığın belirlenmesinde, SNP temelli Mi23 moleküler markörünün hassas bireylerde, 3 farklı formda pik oluşturduğu belirtilmektedir. Bunlar 69°C sıcaklıkta, 73°C sıcaklıkta ve eş zamanlı her iki sıcaklıkta pik oluşturması şeklindedir. Ancak tez çalışmasında hassas bireylerin sadece 73°C sıcaklıkta pik verdiği diğer pikleri oluşturmadığı belirlenmiştir. Populasyon 2'de homozigot dayanıklı bireyler 66°C'de, heterozigot dayanıklı bireyler ise 66°C ve 73°C'de pik vermiştir. Benzer şekilde Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklılık yönünden yapılan analizde, Firma kullanım kılavuzunda homozigot dayanıklı bireylerin 50°C ve 57°C olmak üzere 2 farklı sıcaklık noktasında pik oluşturduğu belirtilmiştir. Fakat çalışmada analiz edilen bireylerden homozigot dayanıklı bireyler sadece 50°C'de pik oluşturmuş ve hassas bireyler 62°C'de, heterozigot dayanıklı bireyler de 50°C ve 62°C'de pik oluşturmuşlardır. Bu durumun çalışmada kullanılan dayanıklılık kaynağına bağlı olarak baz dizilimindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Shi et al. (2011) Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklılıkta, *Sw-5b* alleleline spesifik SNP markörü belirlemişler ancak bunlardan, 31.279 bp'deki T/A ve 31.392 bp'deki A/G, SNP markörlerinin dayanıklılık ıslahında kullanılabileceği valide edilmiştir. Lee et al. (2015) ise dayanıklılıkla ilişkili 1796 bp'de G/A olarak belirlenen SNP markörlerinin Kore'de yapılan çalışmada kullanılan dayanıklı genotiplerde kullanılabilir olduğunu belirtmişlerdir. Dolayısıyla, dayanıklılık allelinde tek nükleotid farklılıklarına (SNP)'lere dayalı tekniğin ıslahta daha uygun olacağı belirtilebilir.

Populasyon 2'de F<sub>2</sub> kademesinde 92 bireyde yapılan testlemede; 54 birey Domates lekeli solgunluk virüsüne ve nematoda dayanıklı, 15 birey Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklı/nematoda hassas, 17 birey Domates lekeli solgunluk virüsüne hassas/nematoda dayanıklı; 6 birey ise hem Domates lekeli solgunluk virüsüne hem de nematoda hassas olarak bulunmuştur. Bu popülasyonda oluşan açılım Mendel açılımının iki bağımsız genle kontrol edilen

9:3:3:1 ( $Mi^+/Mi^-/Sw-5^+/Sw-5^-$ )/( $Mi^+/Mi^-/Sw-5^- Sw-5^-$ )/( $Mi^-/Mi^-/Sw-5^+ Sw-5^-$ )/ ( $Mi^-/Mi^-/Sw-5^- /Sw-5^-$ ) dihibrit açılımı ile uyumlu olduğu görülmüştür. Nitekim, *Sw-5* geni domatesin 9. kromozomunun telomerik bölgesinde (Boiteux and Giordano, 1992), *Mi* geni ise 6. kromozomun sentromere yakın kısa kolunda (Kaloshian et al., 1998) haritalanmıştır. Farklı domates kromozomlarında yer alan *Sw-5* ve *Mi* genleri arasında linkage olmadığı geliştirilen Populasyon 2’de oluşan açılımda görülmüştür.

Çalışmanın sonucunda dayanıklı ileri ıslah hatları geliştirilmiştir. Domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklı  $F_4$  kademesinde 30 ileri ıslah hattı, TSWV ve nematoda homozigot dayanıklı  $F_4$  kademesinde 100 ileri ıslah hattı geliştirilmiştir. Bu hatlar ileride yapılacak moleküler ve biyolojik testleme çalışmalarında referans olarak kullanılacakları gibi çeşit geliştirme çalışmalarında ebeveyn hat olarak kullanılacaklardır.

Domates ıslah programlarında, hastalık ve zararlılara yönelik dayanıklılık genlerinin belirlenmesinde geliştirilen moleküler markörlerin katkıları ve seleksiyonda ıslahçılara kazandırdığı zaman ve emek oldukça önemlidir. Ancak hastalık etmenlerinin ve zararlıların dinamik canlılar olması nedeniyle geliştirilen ıslah materyallerinin biyolojik olarak testlenmesi, yapılan çalışmaların etkinliğinin teyit edilmesi açısından faydalı olacaktır.

**KAYNAKLAR DİZİNİ**

- Altındal, D ve Akgün i., 2007,** Yeni tohumculuk Yasası ve Türk Tarımına Etkileri, SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, Cilt 2, Sayı 2, 27-35ss.
- Arie, T., Takahshi, H. Kodama, M. and Teraoka, T., 2007,**Tomato as a model plant for plant–pathogen interactions, *Plant Biotechnol* , 24(1):135– 147pp.
- Arlı-Sökmen, M. ve Şevik, M.A., 2006.** Viruses infecting field-grown tomatoes in Samsun province, Turkey. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 39(4), 283-288pp.
- Arlı-Sökmen, M., Mennan, H., Şevik, M.A. ve Ecevit, O., 2005.** Occurrence of viruses in field-grown pepper crops and some of their reservoir weed hosts in Samsun, Turkey. *Phytoparasitica*, 33(4), 347-358pp.
- Azeri, T., 1994.** Detection of tomato spotted wilt virus in tobacco and tomato cultivars by enzyme linked immunosorbent assay. *J. Turkish Phytopath*, 23(1), 37-46pp.
- Bai, Y. and Lindhout, P., 2007.** Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future?. *Annals of botany*, 100(5),1085-1094pp.
- Bailey, D.M., 1941.** The seedling test method for root-knot-nematode resistance. In *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*. Vol. 38, 573-575pp.
- Barten J.H.M., Scott J.W. and Gardner R.G., 1994,** Characterization of Blossom-end Morphology Genes in Tomato and Their Usefulness in Breeding for Smooth Blossom-end Scars,*J. Amer. Soc. Hort. Science*. 119(4):798–803pp.
- Bergounoux, V., 2014,** The history of tomato: From domestication to biopharming. *Biotechnology Advances*, 32(1):170-189pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Beşirli, G. ve Yaşarakıncı N.**, 2004, Sebzeçilik 2, Tarım ve Köyışleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı 36:1s.
- Boerma H.R. and Hussey R.**, 1992, Breeding Plants for Resistance to Nematodes, Journal of Nematology 24(2):242-252pp.
- Boiteux L.S. and Giordano L. de B.**, 1993, Genetic basis of resistance against two *Tospovirus* species in tomato (*Lycopersicon esculentum*). Euphytica, 71: 151–154pp.
- Brittlebank, C.C.**, 1919. Tomato diseases. J. Dept. Agric. Victoria 27: 231–235.
- Brommonschenkel, S.H. and Tanksley, S.D.**, 1997, Map-based cloning of the tomato genomic region that spans the *Sw-5* tospovirus resistance gene in tomato. Molecular General Genetics 256:121-126pp.
- Brommonschenkel, S.H., Frary, A., Frary A. and Tanksley, S.D.**, 2000, The broad-spectrum tospovirus resistance gene *Sw-5* of tomato is a homolog of the root-knot nematode resistance gene *Mi*. Molecular Plant-Microbe Interaction 13: 1130–1138pp.
- Canady M.A., Stevens M.R., Barineau M.S. and Scott J.W.**, 2001, Tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in tomato derived from *Lycopersicon chilense* Dun. LA 1938. Euphytica, 117: 19–25pp.
- Chagué, V., Mercier, J.C., Guénard, M., De Courcel, A. and Vedel, F.**, 1996. Identification and mapping on chromosome 9 of RAPD markers linked to *Sw-5* in tomato by bulked segregant analysis. TAG Theoretical and Applied Genetics, 92(8),1045-1051pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer J.B. and Pang, E:CK.,** 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica*, Volume 142, Issue 1-2, 169-196pp.
- Cortada, L., Sorribas, F.J., Ornat, C., Kaloshian, I., and Verdejo-Lucas, S.** 2008. Variability in infection and reproduction of *Meloidogyne javanica* on tomato rootstocks with the Mi resistance gene. *Plant Pathology*, 57: 1125-1135pp.
- Danso, Y., Akromah, R. and Osei, K.,** 2011. Molecular marker screening of tomato, (*Solanum lycopersicum* L.) Germplasm for root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) resistance. *African Journal of Biotechnology*, 10(9),1511-1515pp.
- Davies J.W.,** 1985, *Molecular Plant Virology*. Vol. II. CRC Press, London.
- Devran, Z., Başköylü, B., Taner, A., ve Doğan, F.** 2013. Comparison of PCR-based molecular markers for identification of *Mi* gene. *Acta-agricultura Scandinavica Section B – Soil and Plant Science*, 45: 395-402pp.
- Devran, Z., ve Söğüt M.A.,** 2014. Response of heat-stable tomato genotypes to Mi-1 virulent root-knot nematode populations. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 38(3): 229-238pp.
- Dianese È.C., Fonseca M.E.N., Goldbach R., Kormelink R., Inoue-Nagata A.K., Resende R.O. and Boiteux L.S.,** 2010, Development of a locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the Sw-5 (Tospovirus resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions. *Mol Breeding* 25: 133–142pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dorst JCEA (VW),** 1946, Een en twintigste beschrijvende rassenlijst voor landbouwgewassen. Wageningen, Rijkscommissie voor de samenstelling van de rassenlijst voor landbouwgewassen, 221p.
- El Mehrach, K.S., Gharsallah Chouchane, S., Mejia, L., Williamson, V.M., Vidavsky, F., Hatimi, A., Salus, M.S., Martin, C.T., and Maxwell, D.P.** 2005. PCR based methods for tagging the *Mi-1* locus for resistance to root-knot nematode in begomovirus resistant tomato germplasm. Acta Horticulturae, 695: 263-270pp.
- Elekçioğlu, İ.H. and Uygun, N.,** 1994, Occurrence and distribution of plant parasitic nematodes in cash crop in eastern Mediterranean Region of Türkiye. In Proc. of 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union-Kuşadası-Aydın-Türkiye.
- Fidan, Ü.,** 1993, Recent records on virus diseases of vegetables in Greenhouses.J.Turk. Phytopathology Vol: 22 (1):45-45pp.
- Fidan, Ü.,** 1995, Virus disease of vegetables in Greenhouses in İzmir and Muğla.J.Turk. Phytopathology Vol: 24 (1): 7-14pp.
- Finlay K.W.,** 1953, Inheritance of spotted wilt virus resistance in tomato. Australian Journal of Biological Sciences, 6: 153–163pp.
- Foolad M.R. and Sharma A.,** 2005,Molecular Markers as selection tools in tomato breeding.Acta Horticulturae,695:225-240pp.
- Foolad, M.R. and Panthee, D.R.,** 2012. Marker-assisted selection in tomato breeding. Critical reviews in plant sciences, 31(2), 93-123pp.
- Foolad, M.R.,** 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. International Journal of Plant Genomics, 52p.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Gallardo, G.S.**, 1989, November. Breeding program and variety situation in Argentina. In III International Symposium on Processing Tomatoes. 47-50pp.
- Georgiev, H.**, 1991, Heterosis in tomato breeding. Genetic improvement of tomato. Springer Berlin Heidelberg,83-98pp.
- German, T.L., Ullman, D.E. and Moyer, J.W.**, 1992. *Tospoviruses*: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships. Annual review of phytopathology, 30(1), pp.315-348.
- Gilbert, J.C., and Mcguire DC.**, 1956. Inheritance of resistance to severe root-knot from *Meloidogyne incognita* in commercial type tomatoes. In Proc. Amer. Soc. Hort. Sci Vol. 68, 437-442pp.
- Gitaitis R.D., Dowler C.C. and Chalfant R.B.**, 1998, Epidemiology of tomato spotted wilt in pepper and tomato in Southern Georgia. Plant Disease, 82: 752–756pp.
- Godzina, M., Staniaszek, M. and Kielkiewicz, M.**, 2010. Relevance of the Mi23 marker and the potato aphid biology as indicators of tomato plant (*Solanum lycopersicum* L.) resistance to some pests. Vegetable Crops Research Bulletin, 72, 25-33pp.
- Grandillo, S., Ku, H.M. and Tanksley S.D.**, 1999, Identifying the loci responsible for natural variation in fruit size and shape in tomato TAG Theoretical and Applied Genetics, Volume 99, Number 6, 978p
- Güldür, M.E.**, 1997. Şanlıurfa ili için yeni bir virüs: Domates lekeli sogunluk virüsü (TSWV). Harran Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 1(3),71-76pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Güldür, M.E., Marchoux, G. ve Yılmaz, M.A., 1995.** A new virus destructive on tomatoes growing in Mersin and its provinces: tomato spotted wilt virus (TSWV). In 7. Congress of Phytopathology in Turkey, Adana (Turkey), 26-29 Sep 1995. Cukurova University, Faculty of Agriculture.
- Güvenç, İ., 2016,** Sebzeçilik Temel Bilgiler, Muhafaza ve Yetiştiricilik, ISBN 978-605-83781-3-1, 438s.
- Hatipoğlu, N., 2007,** Kök-ur nematodları (Meloidogyne spp.) 'na karşı savaşta bazı bitki kısımlarının etkileri üzerine araştırmalar, yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi.
- Hull, R., and Davies, J.W., 1992.** Approaches to non-conventional control of plant virus diseases. Critical reviews of Plant Science 11:17-33pp.
- Jiang, Y.X., Nombela, G. and Muñiz, M., 2001.** Analysis by DC-EPG of the resistance to *Bemisia tabaci* on an *Mi*-tomato line. Entomologia Experimentalis et Applicata, 99(3), 295-302pp.
- Kaloshian, I., Yaghoobi, J., Liharska, T., Hontelez, J., Hanson, D., Hogan, P., Jesse, T., Wijbrandi, J., Simons, G., Vos, P. and Zabel, P., 1998.** Genetic and physical localization of the root-knot nematode resistance locus *Mi* in tomato. Molecular and General Genetics MGG, 257(3), 376-385pp.
- Kamberoğlu M.A, Çalışkan A.F, Alan B., 2009.** First report of Tomato spotted wilt virus on eggplant in Turkey. Journal of Plant Pathology, 91: 231-231pp.
- Kang B.C., Yeam I. and Jahn M., 2005,** Genetic of Plant Virus Resistance, Annual Reviews Phytopathology, 43:581-621pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kaşkavalcı, G ve Öncüer, C.,** 1999, Investigations on the distribution and economic importance of *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Tylenchida: *Meloidogynidae*) species found in the major areas of hot climate vegetables, Türkiye Journal of Entomology 23:149–160s.
- Kaşkavalcı, G.,** 1998, Aydın İli Yazlık Sebze Yetiştirilen Önemli Bölgelerinde Bulunan Kök-Ur Nematodları (*Meloidogyne* spp.)'nın Tanınmaları ve Ekonomik Önemleri Üzerine Araştırmalar.(Doktora Tezi), T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü .
- Kılıç, H., Isparta L., Yardımcı N. ve Doğan K.,** 2017, Isparta ve Burdur İlleri Üretim Alanlarında Yetiştirilen Domateslerde Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Tanınması. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 8(1): 34-39s.
- Koca G.,** 2012, Farklı Domates Çeşitlerinde Domates Lekeli Solgunluk virüsüne (Tomato Spotted Wilt Virus = TSWV) Dayanıklılık Geninin Markör Destekli Seleksiyon Yöntemiyle Belirlenmesi, (Yüksek Lisans Tezi), Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Koebner R.M.D. and Summers R.W.,** 2003, 21st Century Wheat Breeding: Plot Selection or Plate Detection. Trends Biotechnol 21: 59-63pp.
- Kütevin, Z. ve Türkeş, T.,** 1994, Sebzeçilik, Genel Sebze Tarımı Prensipleri ve Pratik Sebzeçilik Yöntemleri, İstanbul, İnkilap Kitabevi.
- Langella, R., Ercolano, M.R., Monti, L.M., Frusciante, L. and Barone, A.,** 2004. Molecular marker assisted transfer of resistance to TSWV in tomato elite lines. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology,79(5),806-810pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lee, H.J., Kim, B., Bae, C., Kang, W.H., Kang, B.C., Yeam I., and Oh, C.S.,** 2015, Development of a Single-nucleotide Polymorphism Marker for the Sw-5b Gene Conferring Disease Resistance to Tomato Spotted wilt virus in Tomato, Korean Society for Horticultural Science.33,730-736pp.
- Levy, A., Rabinowitch, H.D. and Kedar, N.,** 1978, "Morphological and physiological characters affecting flower drop and fruit set of tomatoes at high temperatures. *Euphytica* 27(1): 211–218pp.
- Maleita, C.M., Vieira Dos Santos M.C., Curtis, R.H.C., Powers, S.J., and Abrantes, I.M. de O.** 2011. Effect of the Mi gene on reproduction of *Meloidogyne hispanica* on tomato genotypes. *Nematology*, 13 (8): 939-949pp.
- Mau, R.F.L. and Martin, J.L.,** 2002, *Frankliniella occidentalis* Pergande).[www.extentohawaii.edu/kbase/crop/type/foccid.html](http://www.extentohawaii.edu/kbase/crop/type/foccid.html).
- Medina Filho, H.P. and Stevens, M.A.,** 1979, September. Tomato breeding for nematode resistance: survey of resistant varieties for horticultural characteristics and genotype of acid phosphates. In Symposium on Production of Tomatoes for Processing 100 383-394pp.
- Medina-Filho, H.P.,** 1980. Linkage of Aps-1, Mi and other markers on chromosome 6. Rep. Tomato Genet. Coop, 30, 26-28pp.
- Mennan, S. and Ecevit, O.,** 1996. Studies on biology, distribution and the ratio of infestation of root-knot nematodes (*Meloidogyne spp.*) in summer vegetable growing area in Bafra and Çarşamba plains. In Proceedings of the Third Turkish National Congress of Entomology 700-705pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Mıstanoglu, İ., Özalp T. ve Devran Z.,** 2016, Farklı sayıda gerçek yapraklı döneme sahip domates fidelerinin *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949'ya tepkileri. Türkiye Entomoloji dergisi, 2016, 40 (4): 377-383ss.
- Milligan, S.B., Bodeau, J., Yaghoobi, J., Kaloshian, I., Zabel, P. and Williamson, V.M.,** 1998. The root knot nematode resistance gene Mi from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. *The Plant Cell*, 10(8), 1307-1319pp.
- Mutlu, A.,** 2015, Kök Ur Nematodu *meloidogyne arenaria neal* (nematoda: heteroderidae)'nın morfolojisi ve domates çeşidindeki (*Solanum lycopersicum l.*) Biyolojisi,(Yüksek Lisans Tezi), Ondokuz Mayıs Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Bitki Koruma Anabilim Dalı
- Netscher, C. and Sikora, R.A.,** 1990. Nematode parasites of vegetables. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 237-283pp.
- Nombela, G., Beitia, F. and Muñiz, M.,** 2001. A differential interaction study of *Bemisia tabaci* Q-biotype on commercial tomato varieties with or without the Mi resistance gene, and comparative host responses with the B-biotype. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 98(3), 339-344pp.
- Oğuz, A.,** 2010. Bazı yerel domates genotiplerinde farklı yöntemler kullanarak, domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virüs= TSWV)'ne dayanıklılığın ve genetik varyasyonun araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 166s.
- Özarslandan, A., Ekbiç, E., ve Elekçioğlu, İ.H.** (2010). Domateste kök-ur nematodu (*Meloidogyne javanic a* (Treub, 1885) Chitwood)'na dayanıklılık sağlayan *Mi 1.2* geninin Mi23 SCAR markırı ile belirlenmesi. Türkiye Entomoloji Dergisi, 35 (4): 677-686pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Özdemir, S., Erilmez, S. and Kaçan, K.,** 2009, Detection of Tomato spotted wilt virüs (TSWV) on tomato crops and some weeds in Denizli province of Turkey. *Acta Hort.* (ISHS) 808:171-174pp.
- Peralta, I., Knapp, S. and Spooner.,** 2007, The taxonomy of tomatoes: a revision of wild tomatoes (*Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst.) and their outgroup relatives (*Solanum* sections *Juglandifolium* (Rydb.) Child and *Lycopersicoides* (Child) Peralta), *Systematic Botany* 84: 1-186pp.
- Price, D.L., Memmott, F.D., Scott, J.W., Olson, S.M. and Stevens, M.R.,** 2007. Identification of molecular markers linked to a new Tomato spotted wilt virus resistance source in tomato. *Tomato Genetics Coop Rep*, 57p.
- Rick, C.M.,** 1991. Tomato resources of South America reveal many genetic treasures. *Diversity*.
- Roberts, M.G. and Grenfell, B.T.,** 1992. The population dynamics of nematode infections of ruminants: The effect of seasonally in the free-living stages. *Mathematical Medicine and Biology*, 9(1), 29-41pp.
- Roselló, S., Díez, M.J. and Nuez, F.,** 1998. Genetics of tomato spotted wilt virus resistance coming from *Lycopersicon peruvianum*. *European Journal of Plant Pathology*, 104(5), 499-509pp.
- Roselló, S., Ricarte, B., José Díez, M. and Nuez, F.,** 2001. Resistance to Tomato spotted wilt virus introgressed from *Lycopersicon peruvianum* in line UPV 1 may be allelic to Sw-5 and can be used to enhance the resistance of hybrids cultivars. *Euphytica*, 119(3), 357-367pp.
- Rossi, M., Goggin, F.L., Milligan, S.B., Kaloshian, I., Ullman, D.E. and Williamson, V.M.,** 1998. The nematode resistance gene Mi of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(17), 9750-9754pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Saidi, M. and Warade, S.D.**, 2008, Tomato breeding for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV): an overview of conventional and molecular approaches. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 44: 83–92pp.
- Samuel, G., Bald J.G. and Pittman H.A.**, 1930. Investigations on spotted wilt of tomatoes. *Aust. Council Sci. Ind. Res. Bull.* 44
- Seah, S., Williamson, V.M., Garcia, B.E., Mejía, L., Salus, M.S., Martin, C.T. and Maxwell, D.P.**, 2007, Evaluation of a co-dominant SCAR marker for detection of the Mi-1 locus for resistance to root-knot nematode in tomato germ plasm. *Tomato Genetic Cooperative Report*, 57: 37–40 pp.
- Seid, A., Fininsa, C., Mekete, T., Decraemer, W. and Wesemael, W.M.**, 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne spp.*)—a century-old battle. *Nematology*, 17(9),995-1009pp.
- Shi, A., Vierling, R., Grazzini, R., Chen, P., Caton H. and Panthee D.**, 2011, Identification of molecular markers for Sw-5 gene of tomato spotted wilt virus resistance. *Am. J. Biotechnol. Mol. Sci.*, 2011, 1(1): 8-16pp.
- Siddiqi, M.R.**, 2000, Tylenchida parasites of plants and insects. CABI Publishing 833p.
- Smith, P.G.**, 1944. Embryo culture of a tomato species hybrid. In *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* Vol. 44, 413-416pp.
- Soya, S.**, 2008. Domates çeşitlerinde (*Lycopersicum esculentum* Mill.) kök-ur nematodu ve *Verticillium solgunluğuna* karşı dayanıklı hatların DNA markörleri kullanılarak taranması, Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Söğüt, M.A. and Elekçioğlu, İ.H.**, 2000, Determination of *Meloidogyne* Goeldi, 1892 (Nemata: *Heteroderidae*) species races found in vegetable growing areas of the Mediterranean region of Turkey. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 24(1), 33-40pp.
- Stevens, M.R., Heiny, D.K., Rhoads, D.D., Griffiths, P.D. and Scott, J.W.** 1996, A linkage map of the tomato spotted wilt virus resistance gene *Sw-5* using near isogenic lines and an interspecific cross. *Acta Hort (ISHS)* 431: 385-392pp.
- Stevens, M.R., Lamb, E.M. and Rhoads, D.D.**, 1995, Mapping the *Sw-5* locus for tomato spotted wilt virus resistance in tomatoes using RAPD and RFLP analyses. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 451-456pp.
- Stevens, M.R., Rhoads, D.D., Lamb, E.M., Gergerich, R.C. and Morelock, T.E.**, 1993, Use of PCR and RFLP techniques to map the *Sw-5* locus conferring resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) in tomatoes. *HortScience* 28: 583p.
- Stevens, M.R., Scott, J.W., Cho, J.J., Geary, B.D. and Memmott, F.D.**, 2006, A new dominantly inherited source of TSWV resistance in tomato derived from *L. chilense*, which resists isolates that overcome *Sw-5*. *HortScience* 41: 991p.
- Stevens, M.R., Scott, S.J. and Gergerich, R.C.**, 1991, Inheritance of resistance to tomato spotted wilt virus in a *Lycopersicon esculentum* cultivar. *HortScience* 26(6):781p.
- Stevens, M.R., Scott, S.J. and Gergerich, R.C.**, 1992, Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica* 59: 9-17pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Stevens, M.R., Scott, S.J. and Gergerich, R.C.,** 1994, Evaluation of seven *Lycopersicon* species for resistance to tomato spotted wilt virus (TVSW). *Euphytica* 80: 79-84pp.
- Şat, İ.,** 2015, Farklı domates çeşitlerinin tomato spotted wilt virus (TSWV)'e karşı reaksiyonlarının belirlenmesi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü ,Yüksek lisans tezi, 66s.
- Şevik, M.A. ve Arli-Sökmen, M.,** 2012. Estimation of the effect of Tomato spotted wilt virus (TSWV) infection on some yield components of tomato. *Phytoparasitica*, 40(1),87-93pp.
- Şevik, M.A.,** 2007, Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'nün Samsun ilinde domates üretim alanlarındaki yayılış durumunun ve bazı karakteristik özelliklerinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s:128.
- Şevik, M.A.,** 2011, Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'nün Tarımsal Ürünlerde Meydana Getirdiği Ekonomik Kayıplar. H R.Ü.Z.F. Dergisi, 15(1): 35- 42s.
- Şin, B.,** 2015, Amasya, Samsun ve Tokat İllerinde Domates Yetiştirilen Alanlarda Enfeksiyon Oluşturan Domates Lekeli Solgunluk virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV) İzolatlarının Karakterizasyonu, Ondokuz Mayıs Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Tekinel, N.,** 1973, Adana, Antalya, Hatay ve İçel illerinde domates virüs hastalıklarının yayılış alanlarının ve oranlarının tespiti üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni Cilt 13 No: 3, s: 107-141s.
- Tekinel,N., Dolar M.S., Sağsöz S., Salcan Y.,** 1969, Mersin Bölgesinde ekonomik bakımdan önemli bazı sebzelerin virüsleri üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni Cilt 9 No: 1, s: 37-49 s.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Thorne, G.**, 1961, Principles of Nematology, Mc Graw-Hill Book Company, Inc. Newyork, Toronto, London. 553p.
- Tomato Genome Consortium**, 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. Nature, 485(7400),635-641pp.
- Turhan, P. ve Korkmaz, S.**, 2006. Çanakkale ilinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün serolojik ve biyolojik yöntemlerle saptanması. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi, 12(2),130-136pp.
- Watson, B.**, 1996. Taylor's guide to heirloom vegetables. Houghton Mifflin Harcourt.
- Whitehead, A.G.**, 1968, Taxonomy of Meloidogyne (Nematoda: Heteroderidae) with description of four new species. The Transactions of the Zoological Society of London, 31(3), 263-401pp.
- Williamson, V.M.**, 1998, Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use, Annual Review of Phytopathology, 36: 277-293pp.
- Yanmaz, R., Duman, İ., Yaralı, F., Demir, K., Sarıkamış, G., Sarı, N., Balkaya, A., Kaymak, H.Ç., Akan, S. ve Özalp, R.**, 2015. Sebze üretiminde değişimler ve yeni arayışlar.
- Yardımcı, N. ve Çulal-Kılıç H.**, 2009, Tomato spotted wilt virus in vegetable growing areas in the west mediterranean region of Turkey. African Journal of Biotechnology,8(18): 4539-4541pp.
- Yüksel, H.**, 1974. Kök-ur nematodlarının (*Meloidogyne spp.*) Türkiye'deki durumu ve bunların populasyon problemleri üzerinde düşünceler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Dergisi 5: 83-105s.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Yürtmen M., Güldür ME., Yılmaz MA.,** 1999. Tomato spotted wilt virus on peppers in İçel province of Turkey. *Petria, Giornale di Patologia Delle Plante*, 9 (3): 243-344pp.

**Zengin S.,** 2016. Moleküler markör yardımcı seleksiyon ile viral (domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüs, Domates lekeli solgunluk virüsü), fungal (kök ve kök boğazı çürüklüğü) hastalıklara ve nematoda dayanıklı domates hatlarının geliştirilmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 84s.



## ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında doğdu. Lise eğitimini İzmir Konak Anadolu Lisesi'nde tamamladıktan sonra Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği programına kayıtlı ve 2006 yılında Bahçe Bitkileri bölümünde eğitime devam etti. 2007 yılında aynı bölümde yüksek lisansa başladı. 2008 yılında Mediterranean Agronomic Institute of Zaragoza (IAMZ-CIHEAM), İspanya'da Bitki Islahı master programında 1 yıl boyunca eğitim aldı. 2010 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda "Bazı Yerel Kavun Çeşitlerimizin *Fusarium Solgunluğuna (Fusarium oxysporium f.sp. melonis)* Dayanıklılık Durumlarının Moleküler Markörlerle Belirlenmesi" konulu tez çalışması ile yüksek lisansını tamamladı. Çalışmalarına Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Bahçe Bitkileri Sebzeçilik Şubesinde devam etmektedir.