



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Sciences)

<https://dergipark.org.tr/pub/yyutbd>



Araştırma Makalesi (Research Article)

***Capsicum chinense* Türüne Ait Biber Popülasyonunun SSR Moleküllerleri ile Karakterizasyonu**

Kübra TAŞ^{*1}, Ahmet BALKAYA², Ali Tefvik UNCU³

^{1,2} Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Samsun, Türkiye

³ Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Konya, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-2859-1212> ²<https://orcid.org/0000-0001-9114-615X> ³<https://orcid.org/0000-0003-4729-5750>

*Sorumlu yazar e-posta: kbra.tass55@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 26.04.2021
Kabul: 31.07.2021
Online Yayınlanma: 15.09.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.928181

Anahtar Kelimeler

Capsicum chinense,
Karakterizasyon,
SSR,
Genetik çeşitlilik

Öz: Genetik kaynaklarının karakterizasyonu ve çeşitlilik düzeylerinin belirlenmesinde morfolojik tanımlayıcılar ve moleküler analiz yöntemlerinden yararlanılmaktadır. *Capsicum chinense* biber türü; meyve özellikleri yönünden yüksek düzeyde varyasyon göstermektedir. Bu çalışmada, *Capsicum chinense* türüne ait biber genetik kaynaklarının (83 genotip) SSR yöntemine göre moleküler karakterizasyonu ile tür içerisindeki mevcut popülasyondaki varyasyon düzeyi ve genetik çeşitlilik düzeylerinin saptanması amaçlanmıştır. Moleküler analizler sonucunda, incelenen 14 SSR primerinden toplam 115 bant elde edilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda, bantların 66 tanesinin polimorfik (% 57.4) ve 49 tanesinin ise monomorfik (% 42.6) olduğu belirlenmiştir. *Capsicum chinense* türüne ait biber genotipleri, SSR markörleri ile yapılan moleküler analizler sonucunda Ağırlık atanmamış komşu birleştirme yöntemine göre üç farklı heterojen genetik gruba ayrılmıştır. Ayrıca, *C. chinense* türüne ait biber genotipleri arasında genetik uzaklık değerlerinin 0.15-0.75 arasında değiştiği bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda karakterizasyonu yapılmış olan *C. chinense* türüne ait biber genotiplerinde halen seleksiyon ıslahı çalışmalarına devam edilmektedir.

Molecular Characterization of *Capsicum chinense* Populations with SSR markers

Article Info

Received: 26.04.2021
Accepted: 31.07.2021
Online Published: 15.09.2021
DOI: 10.29133/yyutbd.928181

Keywords

Capsicum chinense,
Characterization,
SSR,
Genetic diversity.

Abstract: Morphological descriptors and molecular analysis methods were used to identify plant genetic resources and determine genetic diversity levels. *Capsicum chinense* has a high variation in terms of fruit traits. In this study, it was aimed to identify the plant characteristics of 83 *Capsicum chinense* genotypes and to determine genetic diversity levels in the existing population within the species by SSR method. As a result of molecular analysis of genotypes of *Capsicum chinense* species, a total of 115 bands were obtained from 14 SSR markers. As a result of the evaluation, 66 of the bands were polymorphic (57.4%) and 49 were monomorphic (42.6%). As a result of analyses made with SSR markers in *Capsicum chinense* genotypes, it was divided into 3 heterotic main groups according to the Unweighted Neighbor-Joining method. Genetic distance values of *C. chinense* genotypes were found to vary between 0.15-0.75. It is planned to continue selection breeding studies in *C. chinense* genotypes, which have characterization with this study.

1. Giriş

Biber bitkisi, *Solanaceae* familyası içerisinde yer alan 98 cinsten birisi olan *Capsicum* cinsine aittir (Greenleaf, 1986; Eshbaugh, 2012). Günümüzde *Capsicum* cinsi içerisinde sadece beş tür (*C. annuum* L., *C. baccatum* L. var. *pendulum*, *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L. ve *C. pubescens* Ruiz & Pav.) kültüre alınmıştır (Eshbaugh, 2012; Barboza ve ark., 2019). Bu türler, üç farklı gen merkezinde yaygın olarak rastlanan yabani türlerden zaman içerisinde ortaya çıkan değişimler sonucunda meydana gelmişlerdir. *C. chinense* ve *C. frutescens* türlerinin gen merkezi, Amazon Havzası olarak kabul edilmektedir (Ramchiary ve ark., 2014).

Biberin orijini, Orta Amerika'dır. Brezilya'da en çok yetiştirilen ve tüketilen acı biber türü, *C. chinense*'dir. *C. chinense* Jacq türü $2n = 2x = 24$ genom yapısına sahip olup, 2017 yılında referans genomu yayımlanmıştır. Biber ıslahında özellikle biyotik ve abiyotik stres dayanıklılık/toleransının genetik alt yapısını ve allel çeşitliliğinin birincil kaynağı olarak çeşit ıslah programlarında kullanılmaktadır. (Qin ve ark., 2014; Kim ve ark., 2017). *Capsicum chinense* Jacq. bitki karakterleri; meyve şekli, rengi ve büyüklüğü bakımında yüksek düzeyde çeşitlilik göstermektedir (Bharath ve ark., 2013). Bu tür, Orta ve Güney Amerika ülkelerinde ve Asya'da Çin ve Japonya'da oldukça fazla yayılış göstermektedir (Eshbaugh, 2012). Günümüzde kültüre alınan formlarının yanı sıra geçit formlarda bulunmaktadır. Bu nedenle *C. chinense* türü; meyve şekli, meyve rengi, meyve büyüklükleri ve acılık seviyeleri yönünden yüksek oranda fenotipik çeşitlilik göstermektedir (Moscone ve ark., 2007).

Genetik kaynaklar, yeni çeşitlerin geliştirilmesinde ve çeşit ıslah programlarının oluşturulmasında bitki ıslahçıların en büyük yardımcısıdır (Balkaya ve Yanmaz, 2001; Karaağaç ve Balkaya, 2017). Ayrıca bu genetik materyaller yetiştirildikleri farklı ekolojilere adaptasyon yetenekleri, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık göstermeleri ve istenen birçok kalite özelliğine sahip olmaları nedeniyle de çeşit ıslahı programları için eşsiz nitelikte değerli kaynaklardır (Hawkes, 1983). Islahçılar son yıllarda genetik çeşitlilikten yararlanarak, adaptasyon, verim, kalite, hastalık ve zararlılara dayanıklılık yönünden istenilen özelliklere sahip bitki çeşitlerini seçme veya çeşit geliştirme yolunda önemli düzeyde başarılar elde etmişlerdir (Karaağaç ve Balkaya, 2017). Ortiz ve Delgado (1990), farklı tohum gen bankalarında (UNA, Peru; CATIE, Kosta Rika; INIA, Meksika ve CIRF, Meksika) bulunan *Capsicum* cinsinin kültürü yapılan beş farklı biber türünde, morfolojik özellikler yönünden incelemeler yapmışlar ve *C. annuum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. pubescens* ve *C. baccatum* L. türüne ait biber genotiplerini çeşit ıslahı çalışmalarında kullanılmak üzere gruplandırmışlardır.

Biber yetiştiriciliği yapılan ülkelerde zaman içerisinde yüksek düzeyde zengin bir genetik çeşitlilik oluşmuş ve bunun sonucunda birçok farklı niteliklere sahip yeni çeşitler meydana gelmiştir. Çeşitli yollarla bir bölgeye gelen bitkisel gen kaynakları, bulunduğu bölgeye zamanla adapte olmakta ve çevre faktörlerinin de etkisiyle zamanla genetik yapısında belirgin fenotipik açılmalar meydana gelmektedir (Karaağaç, 2006). Biberde yabancı tozlanma oranı, çeşitlere göre % 9-32 oranları arasında değişmektedir (Bayraktar, 1970). Biber tohum üretiminde izolasyon tekniklerine uyulmadığı takdirde yüksek oranda genetik açılmalar meydana gelebilmektedir (Karaağaç ve Balkaya, 2010).

Bitki genetik çeşitlilik düzeylerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda, genetik farklılıkların tam ve doğru olarak ortaya konulmasında hem morfolojik tanımlayıcılar hem de moleküler analiz yöntemlerinden yararlanılmaktadır (Geleta ve ark., 2005). *Capsicum* türleri, birçok araştırmacı tarafından morfolojik tanımlayıcılar, sitogenetik analizler ve moleküler markörler kullanılarak ayrıntılı olarak incelenmiştir (Conicella ve ark., 1990; Lefebvre ve ark., 1993, 2001; Zewdie ve Zeven, 1997; Geleta ve ark., 2004). Bu çalışmalarda, *Capsicum* cinsi içerisinde bitkisel özelliklerle ilgili 290'nın üzerinde genin bulunduğu bildirilmiştir. Bu genlerin kalıtım mekanizmaları ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir (Buso ve ark., 2003).

Tarla ve sera denemeleri ile yapılan morfolojik çeşit tanımlama çalışmaları hem uzun zaman almakta hem de bazı morfolojik karakterlerin kalıtım derecesinin düşük olması nedeniyle çevre koşullarından kolaylıkla etkilenmekte, dolayısıyla genotipik özellikleri ile fenotipik özellikleri arasında zamanla belirgin farklılıklar oluşabilmektedir. Bunun sonucunda bazen kesin sonuçlara ulaşılamamaktadır (Okumuş ve Balkaya, 2007; Karaağaç ve Balkaya, 2010). Bu sorunun üstesinden gelmek ve ıslahçının daha doğru ve kesin teşhislere ulaşabilmesi için günümüzde modern biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Son yıllarda birçok farklı moleküler markör tekniği geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNAs), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms), SSR (Simple Sequence

Repeats) ve SNP (Single Nucleotide Polymorphism) teknikleridir. (Röder ve ark., 1995; Geleta ve ark., 2005; Şensoy ve Şahin, 2012; Erdinc ve ark., 2017).

Capsicum chinense Jacq. genomunun genetik haritalarının oluşturulması, genoma spesifik markörlerin geliştirilmesi ve markör verilerinin biber türleri arasında transfer edilebilirlikleri ile karşılaştırmalı haritalama çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Kim ve ark., 2017; Uncu 2019; Qin ve ark., 2014; Park ve ark., 2019; Zhu ve ark., 2019). Birçok bilimsel çalışmada; *C. chinense* gen kaynaklarında farklı moleküler markör sistemleri kullanılarak genotipler arasında genetik çeşitliliğin belirlenmesi, popülasyon yapısı analizleri ile karakterize edilmiştir. Özellikle AFLP, SNP ve SSR markör sistemlerinin *C. chinense* türüne ait gen kaynaklarının karakterizasyonunda çoklukla kullanıldığı bilinmektedir. (Baruah ve ark., 2019; Baba ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2016; Moreira ve ark., 2018). *C. chinense* gen kaynaklarının karakterizasyonuna önemli bir örnek Latin Amerika coğrafyasından elde edilen 112 adet *C. chinense* genotipinin SSR markörleri kullanılarak genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısının analiz edildiği çalışmadır (Moses ve ark., 2014).

Kromozomların üzerinde genlerin bulunduğu özel kısımlar için fazla oranda allel üretebilmesi, tekrarlanabilir olması, aynı türe dahil olan çeşitler ile aynı cinse dahil türler arasında aktarımın sağlanabilmesi ve ülkelerin veri tabanlarının kıyaslanmasına izin vermesi gibi oldukça önemli avantajlara sahip olması nedeni ile SSR tekniği, bitki türlerinin tanımlanmasında önceki DNA primerlerin kullanıldığı tekniklere (RFLP, RAPD, AFLP vb.) göre daha yaygın kullanılmaktadır (Acunalp, 2012). Araştırmacılar, SSR yönteminin sağladığı bu avantajlardan dolayı farklı bitki tür ve çeşitlerinde oldukça başarılı bir şekilde uygulanabildiğini bildirmişlerdir (Röder ve ark., 1995; Geleta ve ark., 2005).

Bu çalışma ile Amerika Tarım Bakanlığı Tohum Gen Bankasında kayıtlı bulunan *C. chinense* türüne ait dünya koleksiyonunun SSR markörleri kullanılarak karakterize edilmesi, genotipler arasındaki genetik uzaklıkların belirlenmesi ve birbirleriyle olan akrabalık ilişkilerinin ayrıntılı olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Araştırma, 2019 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü'nde ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde koordineli olarak yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak Amerika Tarım Bakanlığı Tohum Gen Bankasından (USDA-ARS-National Plant Germplasm System NPGS) temin edilen *Capsicum chinense* türüne ait 83 biber genotipi kullanılmıştır (Çizelge 1). *C. chinense* genotiplerinde genetik materyallerde bir generasyon kendileme yapılmıştır. *C. chinense* türüne ait biber fideleri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü sıcaklık kontrollü sera ünitesinde yetiştirilmiştir. Daha sonra 4-5 gerçek yaprağa ulaşan fideler deneme arazisine 50 x 50 cm sıra arası ve sıra üzeri mesafe ile dikilmiştir. Arazide dikimi yapılmış genç biber yapraklarından her bir popülasyonu temsil edecek şekilde bitkilerden bulk şeklinde örnekler alınarak laboratuvara getirilmiş ve DNA izolasyonu yapıncaya kadar -80°C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

2.1. Moleküler Karakterizasyon

Bitkisel genetik materyalde DNA izolasyonu, 14.01.2019 tarihinde ZR Plant/Seed DNA MiniPrep kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzolasyonu gerçekleştirilen DNA'ların kalitesi ve miktarları NanoDrop spektrofotometre'de ölçülmüştür. Bitkisel materyallerden izole edilen DNA'lar seyreltikten sonra sentetik olarak hazırlanmış SSR primerleri ve tüm reaksiyon komponentleri eklenerek Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sıcaklık Döngü cihazı (PCR thermal cycler) içerisine yerleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan SSR markörleri, literatürde biberde daha önce farklı popülasyonlarda başarıyla uygulanan markörlerdir (Çizelge 2) (Lee ve ark., 2004; Lee ve ark., 2005; Yi ve ark., 2006). PCR uygulaması, 0.2 ml'lik mikro tüplerde 25 µl' lik (Buffer 2 µl, MgCl₂ 1.5 µl, Taq polimeraz enzimi 0.25 µl, dNTP karışımı 0.2 mM, Primer F 0.75 µl, Primer R 0.75 µl, DNA 1 µl, ddH₂O) toplam reaksiyon hacminde gerçekleştirilmiştir. PCR cihazında PCR ürünleri ilk olarak DNA denatürasyonu için, 94 °C'de 10 dakika; 94 °C'de 30 saniye (35 döngü), 55 °C'de 30 saniye (primerlere

göre bu sıcaklık dereceleri değişiklik gösterebilmektedir) primer sıcaklıkları ve uzama için 72 °C'de 45 saniye, son aşamada ise uzama 72 °C'de 10 dakika olarak ayarlanmıştır. Daha sonrasında, PCR ürünleri görüntüleneceği zamana kadar -20 °C'de bekletilmiştir.

Çizelge 1. *C. chinense* türüne ait gen havuzunda yer alan biber genotiplerinin aksesyon numaraları ve orijinleri

Çalışma Kodu	Aksesyon Numarası	Orijin	Genotip Kodu	Aksesyon Numarası	Orijin
CC1	PI 159223 01	ABD	CC39-2	PI 281430 01	Bolivya
CC2	PI 213916 01	Bolivya	CC39-3	PI 281430 01	Bolivya
CC3	PI 215736 01	Peru	CC39-4	PI 281430 01	Bolivya
CC4	PI 244667 01	Hindistan	CC40-1	PI 315013 01	Peru
CC5	PI 257085 01	Kolombiya	CC40-2	PI 315013 01	Peru
CC6	PI 257129 01	Kolombiya	CC40-3	PI 315013 01	Peru
CC7	PI 257145 01	Peru	CC40-4	PI 315013 01	Peru
CC8	PI 260470 01	Peru	CC47	PI 238053 01	Meksika
CC9	PI 260485 02	Bolivya	CC50	PI 497976 01	Filipinler
CC10	PI 260486 01	Bolivya	CC51	PI 241669 01	ABD
CC11	PI 260508 01	Peru	CC51-3	PI 241669 01	ABD
CC13	PI 281393 01	Meksika	CC52	PI 653747 01	Venezuela
CC14	PI 281417 01	Filipinler	CC54	PI 653677 02	Peru
CC16	PI 281435 01	ABD	CC55	PI 653676 02	Peru
CC17	PI 281440 01	Venezuela	CC56	PI 645487 03	Hindistan
CC18	PI 315019 01	Peru	CC57	PI 257068 01	Kosta Rika
CC19	PI 315023 02	Peru	CC59	PI 639655 02	Kosta Rika
CC20	PI 322721 01	Hindistan	CC60	PI 645555 01	Meksika
CC21	PI 406725 01	Kosta Rika	CC61	PI 593925 02	Bolivya
CC22	PI 438532 01	Belize	CC62	PI 585253 04	Güney Kore
CC23	PI 438636 02	Meksika	CC63	PI 241668 01	Ekvator
CC24	PI 439416 01	Bolivya	CC65	PI 257064 01	İspanya
CC25	PI 439432 01	G. Kore	CC66	Grif 9261 01	Kosta Rika
CC26	PI 585278 02	Ekvator	CC68	PI 439419 01	Meksika
CC27	PI 257158 01	Peru	CC69-1	PI 257126 01	Kolombiya
CC28	PI 666562 01	Meksika	CC69-2	PI 257126 01	Kolombiya
CC-29	PI 260491 01	ABD	CC69-3	PI 257126 01	Kolombiya
CC29-1	PI 260491 01	ABD	CC69-4	PI 257126 01	Kolombiya
CC-30	PI 666561 01	Bolivya	CC72	PI 441635 01	Brezilya
CC31	PI 438635 01	Peru	CC72-4	PI 441635 01	Brezilya
CC33	PI 439467 01	Hindistan	CC76	PI 260465 02	Arjantin
CC34	PI 653746 02	Kolombiya	CC78	Grif 9193 02	Kolombiya
CC35	Grif 9308 01	Kolombiya	CC79	PI 666547 01	Guatemala
CC36	PI 639657 04	Peru	CC82-1	PI 260477 01	Peru
CC37	PI 485593 01	Peru	CC82-2	PI 260477 01	Peru
CC38	PI 209028 01	Bolivya	CC82-3	PI 260477 01	Peru
CC38-2	PI 209028 01	Bolivya	CC82-4	PI 260477 01	Peru
CC39-1	PI 281430 01	Bolivya			

PCR reaksiyonları sonucu *C. chinense* genotiplerine ait DNA örneklerinden; çoğaltılmış olan SSR markörleri Qiaxcel Fragment Analyzer (Qiagen Sample&Assay Technologies) kapiler elektroforez sistem ile Qiaxcel DNA High Resolution Kiti, QX DNA Size Marker 25–500 bp, v2.0 (Qiagen) boy standardı ve QX Alignment Marker 15 bp/600 bp (Qiagen) hizalama standardı kullanılarak OM800 yürütme ve ayırma programı ile yüksek çözünürlükte polimorfik allellerin belirlenmesi için yürütülmüş ve QIAxcel ScreenGel Software (Qiagen) yazılımı kullanılarak görüntülenerek manuel olarak skorlanmıştır.

Çizelge 2. PCR çalışmalarında kullanılan SSR primerleri ve baz dizinleri

Markör ismi	İleri primer (5' → 3')	Geri primer (5' → 3')
EPMS-596	CTCGTGCCGTATTTCTGTCA	AAGGGCGTGTGGTATGAA
EPMS-600	ATGGGTACGTGTTGGGGTA	ACTTTATTCCTCGTGCCGAA
EPMS-601	AAATTGAGAACATCGGTGCC	TAAAGAAAGAGCCTCGTGCC
EPMS-603	GCGGTTCCCTATTTGAAGAA	ATAGGGGGAATTGGGTTCC
EPMS-628	TGCTCCTTAAGACTGGCACC	GGGTTCTGGCTCTGTTATTGA
EPMS-629	GCTCGAGGGAGAGAGACTGT	GGTCATATGTTTCCATGGGC
EPMS-642	CAACTTCGCGTTATTGTCCA	AGGGCGGACAAAGAAGATTT
EPMS-643	CCAAGATCAACTCTTACGCTAT	CCCCTCAAGAATTCCCTCCAT
EPMS-648	TGTAATAATAAATAAGGCTAA	CAAGAAAGTGTGCCCAAAT
EPMS-649	AAGGGTTCTCGAGGAAATGC	TCAATCCCAAACCATGTGA
EPMS-650	CATGGGTGAGGGTACATGGT	AGAGGGAAGGGTATTTGCC
EPMS-654	TTCCACTCTTCGAAGCACCT	GGTAGGGTTTAAACCCGCC
EPMS-658	CCTTGAGTAGGCGCACAAAT	TTCTCATTGCTTTTCCCAC
EPMS-670	TCACAAAGATGGAGAAGGGAA	CAATCACTGTCACTGCTACTGCT
EPMS-683	AAATGGATCCCAACAACCAA	GGAGTTGAAAACGGTGGAGA
EPMS-697	ATGTCGCTCGCAATTTCACT	CGTAGGGAGGAGCGATAGAG
EPMS-704	GGTCCTCTGATTGGCAACAT	GACCTGAAATTGGAGCAAACA
EPMS-705	TCAACTAGATCCACCACGCA	TAACCCGTTGCTCACACTCA
EPMS-725	TTGAATCGTTGAAGCCCAT	ATCTGAAGCTGGGCTCCTTT
EPMS-745	GTTGTTGGGTGGTACTTGGG	GGAAGATCTCAAATGGGTGC
EPMS-747	CATTGGACGGTTGGTTCTCT	TGGAATTGGAACCTCAAGCA
EPMS-755	CGCTCGCTACCCTTTCATTA	AATTCGGAAGGGCAAAGAT
EPMS-762	CGGCGAGATATGGACTTGAT	CCCACGTTATACCATCCAGG
EPMS-773	CGAGCAACTCCCTCTTATCG	TCGAATAGCACGCACGTTAG
EPMS-923	CAAAACCAATAGGTCCCC	CGCGCAATAATTCAATATCG

2.2. *C. chinense* Popülasyonunda Genetik Çeşitlilik Düzeyinin Belirlenmesi

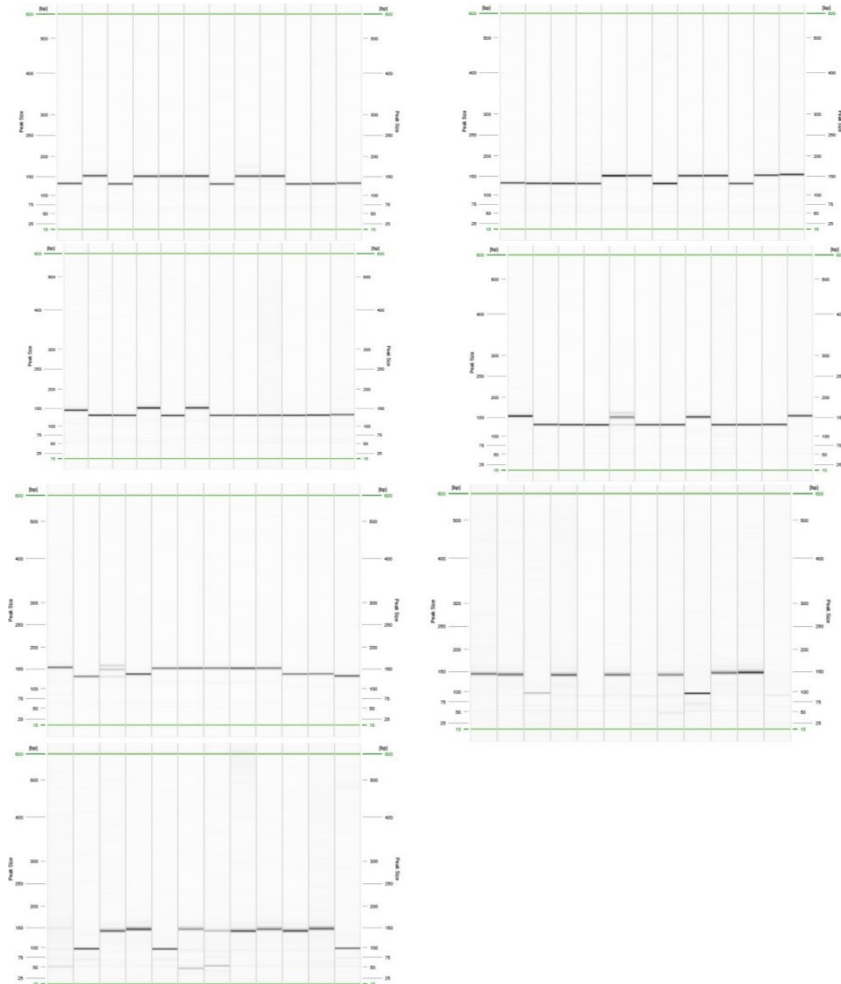
Genotiplere ait SSR markör allelleri mevcut (1) veya yok (0) ve kayıp veri (9) olarak skorlanmıştır. Bu veriler, Nei'nin genetik benzerlik indeksinin (The Nei index of genetic similarity) hesaplanmasında kullanılmıştır (Nei, 1973). Polimorfik markör verileri moleküler genetik çeşitliliği analiz etmek için DARwin 6 (<http://darwin.cirad.fr>) bilgisayar programı kullanılarak analiz edilmiştir. Markör skorlama verileri benzerlik hesabı, her bir genotip arasında Dice katsayısı ile hesaplanmıştır. Ağırlık atanmamış komşu birleştirme yöntemi kullanılarak bir genetik çeşitlilik ağacı çizilmiştir. Ayrıca yine aynı yazılım kullanılarak genotiplere ait allel verisi Temel Koordinat Analizi (PCoA) yapılmıştır. Mantel testi benzerlik hesabı ile çizilen çeşitlilik ağacının arasındaki korelasyonu test etmek üzere gerçekleştirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Çalışmada, toplam 83 *C. chinense* biber genotipi SSR yöntemi ile 25 adet markör kullanılarak incelenmiştir. Markörlerden 11 tanesinden tekrarlanabilir kalitede amplifikasyon elde edilememiştir. Amplifikasyonu oluşturan 14 markörden, toplam 115 bant elde edilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda, bantların 66 tanesinin polimorfik (% 57.4) ve 49 tanesinin ise monomorfik (% 42.6) yapıda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3, Şekil 1). Çalışma kapsamında tespit edilen markör başına düşen polimorfizm yüzdesi, Baruah ve ark. (2019) ve Zhang ve ark. (2016) yaptıkları çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

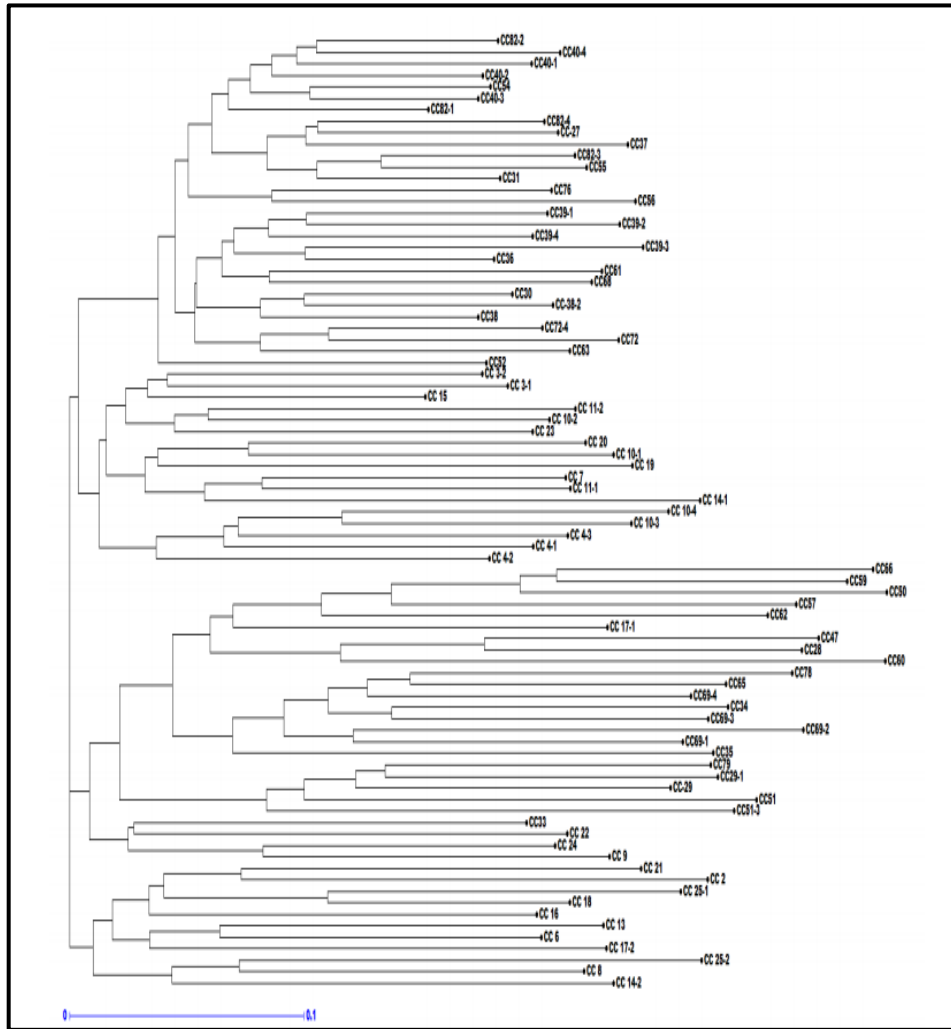
Çizelge 3. *Capsicum chinense* türüne ait biber popülasyonunda SSR analizi sonucunda 14 markörden elde edilen bantların sayısı ve dağılımları

Markör Adı	Toplam Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı (Allel)	Monomorfik Bant Sayısı	Alel Büyüklükleri (bp)
EPMS-596	5	3	2	114-138
EPMS-600	8	4	4	98-142
EPMS-601	7	6	1	166-193
EPMS-603	9	5	4	112-204
EPMS-628	11	7	4	160-196
EPMS-649	7	4	3	137-219
EPMS-650	9	4	5	119-182
EPMS-705	9	2	7	144-157
EPMS-725	7	5	2	123-177
EPMS-745	5	3	2	119-163
EPMS-747	7	6	1	120-163
EPMS-755	8	2	6	119-136
EPMS-762	9	7	2	117-159
EPMS-773	14	8	6	124-182
Toplam	115	66	49	



Şekil 1. *C. chinense* türüne ait biber genotiplerinde EPMS-773 SSR markörü ile elde edilen bantların Qiaxcel Fragment Analyzer yürütmesinin QIAxcel ScreenGel Software görünümü.

Araştırma sonucunda incelenen *C. chinense* türüne ait biber genotipleri arasında DARwin 6 programı ile *C. chinense* türüne ait biber genotiplerinin genetik uzaklık değerleri hesaplanmıştır. *Capsicum chinense* türüne ait tüm genotipler arasında genetik uzaklık değerlerinin, 0.15-0.75 arasında olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en düşük genetik uzaklık değeri CC54 ve CC40-3 genotipleri arasında 0.15 ve en yüksek genetik uzaklık değeri ise CC79 ve CC2 genotipleri arasında 0.75 olarak bulunmuştur. Araştırma kapsamında kullanılan *C. chinense* türüne ait biber gen kaynaklarının ortalama genetik uzaklığı 0.44 olarak hesaplanmıştır. Çalışma kapsamında hesaplanan ortalama uzaklık değeri, incelenen gen havuzunun yüksek bir genetik çeşitliliği barındıran bir genetik alt yapıdan geldiğini işaret etmektedir. Bu durum hem çalışılan türün karakteri hem de dünya gen koleksiyonunu temsil eden bir genetik havuzun kullanılmasının sonucudur. Kullanılan gen havuzu, tür içerisinde bulunabilecek olası her lokus için potansiyel tüm allelleri taşıma ihtimaline sahip eşsiz bir gen koleksiyonu niteliğindedir. Araştırma kapsamında kullanılan gen havuzuna benzer özelliklere sahip gen kaynaklarının karakterizasyonu çalışmalarında elde edilen genetik uzaklık verilerine benzer ve doğrular nitelikte sonuçlar elde edilmiştir (Baba ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2016; Moreira ve ark., 2018; Baruah ve ark., 2019). Moleküler karakterizasyon sonucunda toplam 83 genotipten elde edilen polimorfik bantlardan hesaplanan benzerlik oranları kullanılarak oluşturulan dendrogram, Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Ağırlık atanmamış komşu birleştirme yöntemi (Unweighted Neighbor-Joining [NJ]) metodu ile oluşturulmuş *C. chinense* türüne ait biber genotipleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram.

Uzaklık matrisi ile genetik benzerlikler (NJ) arasındaki korelasyon Mantel test ile belirlenmiştir ($r = 0.92$). Genetik uzaklık matrisi verileri ile dendrogram birlikte değerlendirildiğinde sonuçların uyumlu olduğu görülmektedir. Dendrogram incelendiğinde *C. chinense* türüne ait biber genotiplerinin 3 ana grup içerisinde kümelendikleri belirlenmiştir (Çizelge 4). Moses ve ark. (2014) tarafından Latin Amerika kökenli bir *C. Chinense* genotip koleksiyonunun moleküler genetik çeşitliliğinin incelendiği çalışma sonuçları, bu çalışma ile benzer şekilde genotiplerin üç grupta toplandığını göstermektedir.

Çizelge 4. *C. chinense* biber popülasyonlarının küme analizi sonucunda elde edilen grup ve alt grupların dağılışı

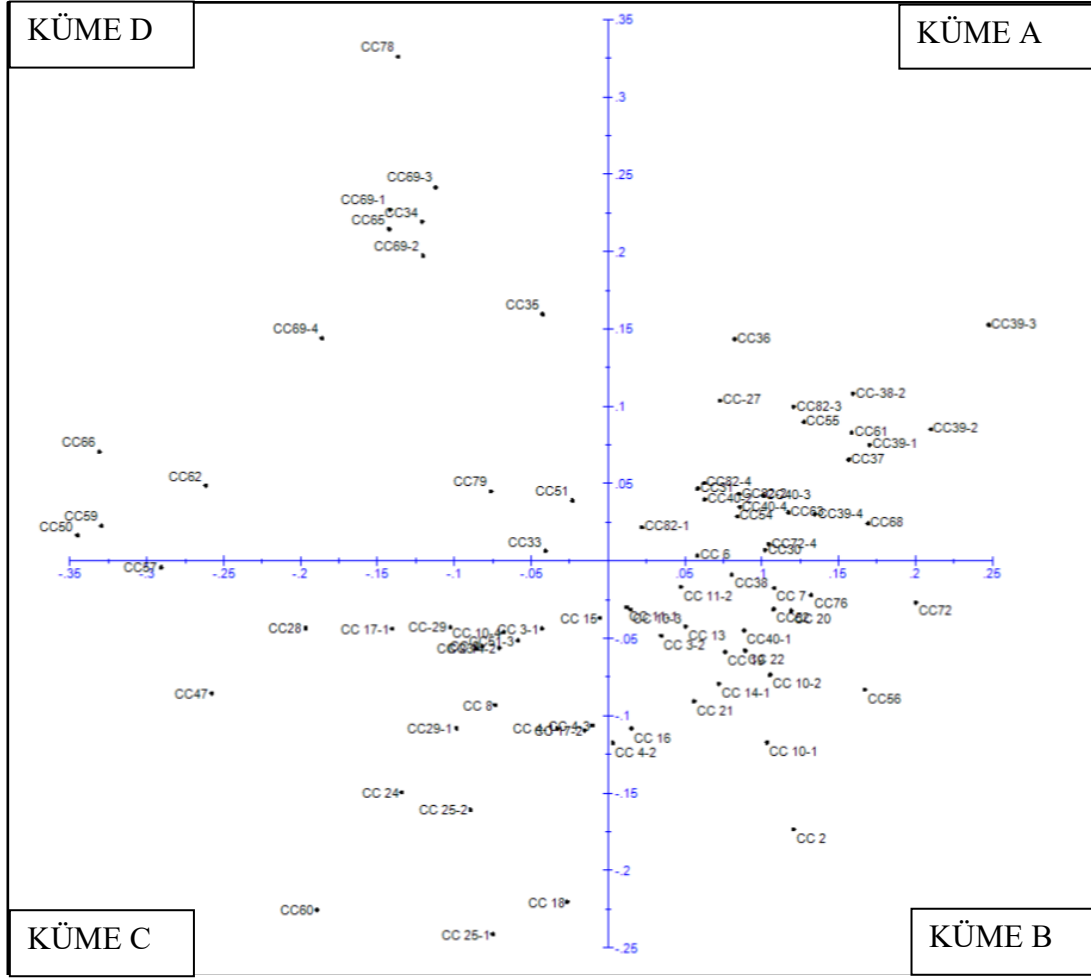
Grup	Alt Grup	Genotipler	Toplam Genotip Sayısı
A	5	CC82-2, CC40-4, CC40-1, CC40-2, CC54, CC40-3, CC82-1, CC82-4, CC27, CC37, CC82-3, CC55, CC31, CC76, CC56, CC39-1, CC39-2, CC39-4, CC39-3, CC36, CC61, CC68, CC30, CC38-2, CC38, CC72-4, CC72, CC63, CC52, CC3-2, CC3-1, CC15, CC11-2, CC10-2, CC23, CC20, CC10-1, CC19, CC7, CC11-1, CC14-1, CC10-4, CC10-3, CC4-3, CC4-1, CC4-2	46
B	4	CC66, CC59, CC50, CC57, CC62, CC17-1, CC47, CC28, CC60, CC78, CC65, CC69-4, CC34, CC69-3, CC69-2, CC69-1, CC35, CC79, CC29-1, CC29, CC51, CC51-3, CC33, CC22, CC24, CC9	26
C	3	CC21, CC2, CC25-1, CC18, CC16, CC13, CC6, CC17-2, CC25-2, CC8, CC14-2	11
Toplam	12		83

Dendrogramda Grup A içerisinde, 5 alt grubun yer aldığı belirlenmiştir. En fazla biber genotipi (46 genotip) Grup A içerisinde bulunmuştur. Grup A'dan sonra en fazla alt grup, Grup B'de belirlenmiştir. Dendrogram incelendiğinde, Grup C'nin 3 alt gruba ayrıldığı ancak en az sayıda biber genotiplerinin kümelendiği grup olduğu bulunmuştur. Bu grup içerisinde yer alan genotiplerin Grup A ve Grup B'ye göre daha uzak genetik uzaklığa sahip oldukları belirlenmiştir.

C.chinense türüne ait biber gen havuzunun 3 farklı heterotik grup oluşturması nedeniyle gelecekte heterosis ıslahında yeni biber çeşitlerinin geliştirilmesinde yararlanma potansiyeli bulunmaktadır. Ayrıca, araştırma sonucunda farklı alt gruplar içerisinde yer alan biber genotiplerinde var olan genetik çeşitliliği büyük oranda temsil eden çekirdek koleksiyonların oluşturulması da planlanmaktadır. Böylece benzer genotiplerin çeşit ıslah programları içerisinde duplikasyonları önlenmiş olacaktır.

Araştırma sonucunda, elde edilen moleküler benzerlik oranları ile daha önceden başka bir çalışmada tespit edilmiş olan morfolojik yönden benzerlik oranları arasında direkt bir ilişkisinin olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu nedenle *C. chinense* türüne ait biber genotiplerinde hem morfolojik özellikler hem de moleküler analiz sonuçlarına göre tek başına genotiplerin orijinleri ile ilişkilendirilmesi mümkün olmamıştır. Bu durum, *C. chinense* türünde çalışmalar yürüten Baba ve ark. (2016) ve Moreira ve ark. (2018)'nin sonuçları ile de benzerlik göstermiştir.

Temel Koordinat Analizi (PCoA) sonucunda biber genotipleri 4 ana grup içerisinde kümelendirilmiştir (Şekil 3). Temel Koordinat Analizi sonucunda oluşan kümelerde yer alan genotiplerin dağılışı ile dendrogram grupları içerisinde oluşan kümelendirmeler çoğunlukla uyum sağlamıştır. PCoA analizi genel olarak bu çalışmada *C. chinense* türüne ait biber popülasyonlarında SSR markörleriyle dünyanın farklı yerlerinden toplanmış olan *C. chinense* biber genotipleri arasındaki coğrafi bir kümelendirmeyi ortaya çıkarmıştır. PCoA, ölçülen değişkenler açısından popülasyonlara ait genotipler arasındaki benzerlikleri bir koordinat üzerinde göstermiştir (Şekil 3).



Şekil 3. *Capsicum chinense* türüne ait biber genotiplerinin PCoA (Temel Koordinat Analizi) grafiği.

4. Sonuç

C. chinense türü, *Capsicum* cinsi içerisinde yer alan en önemli biber türlerinden birisidir. Günümüzde kültüre alınan formlarla birlikte yabani ve geçit formları da bulunmaktadır. Bu nedenle, *C. chinense* türü içerisinde yer alan biber genotipleri; meyve şekli, meyve rengi, meyve büyüklükleri ve acılık seviyeleri yönünden yüksek düzeyde genetik çeşitlilik göstermektedir. Birçok araştırmacı, *C. chinense* türünün biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık yönünden önemli bir genetik kaynak olduğunu bildirmişlerdir (Hawkes, 1983; Yoon ve ark., 2006; Fonseca ve ark., 2008). Bu araştırma sonucunda, *C. chinense* türüne ait biber popülasyonunda moleküler analizlerde 14 SSR markörlerinden toplam 115 bant elde edilmiştir. Ağırlık atanmamış komşu birleştirme yöntemine göre biber genotipleri, 3 ana gruba ayrılmıştır. Farklı uzunluklarda dendrogram grupları, *C. chinense* türüne ait biber genotiplerinin genetik farklılıklarının oldukça yüksek düzeyde olduğunu göstermiştir.

Bu araştırma, *C. chinense* biber çeşit ıslahında türe ait başlangıç popülasyonunun moleküler yöntemler ile ayrıntılı olarak tanımlanmasını kapsayan çeşit ıslah programının başlangıç aşamasını oluşturmaktadır. Önümüzdeki yıllarda popülasyon içerisindeki seleksiyon ıslahı ile seçilecek üstün nitelikli genetik materyallerin farklı ıslah amaçları doğrultusunda değerlendirilmesi planlanmaktadır.

Teşekkür

Bu araştırma, Kübra Taş'ın Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalında tamamlanmış olan Yüksek Lisans tez çalışmasının bir kısmından üretilmiştir.

Kaynakça

- Acunalp, S. (2012). *Ekonomik öneme sahip yerli kiraz (Prunus avium L.) genotiplerinin SSRs (Simple Sequence Repeats)'a dayalı genetik karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Baba, V.Y., Rocha, K. R., Gomes, G. P., de Fátima Ruas, C., Ruas, P. M., Rodrigues, R., & Gonçalves, L. S. A. (2016). Genetic diversity of *Capsicum chinense* accessions based on fruit morphological characterization and AFLP markers. *Genetic resources and crop evolution*, 63 (8), 1371-1381.
- Balkaya, A., & Yanmaz, R. (2001). Bitki genetik kaynaklarının muhafaza imkanları ve tohum gen bankalarının çalışma sistemleri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 10(39), 25-30.
- Barboza, G. E., Garcia, C. C., Gonzalez, S. L., Scaldaferrro, M., & Reyes, X. (2019). Four new species of *Capsicum (Solanaceae)* from the tropical Andes and an update on the phylogeny of the genus. *PloS one*, 14 (1).
- Bayraktar, K. (1970). Sebze Yetiştirme. Cilt II Kültür Sebzeleri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 169- 479.
- Baruah, J., Pandey, S. K., Sarmah, N., & Lal, M. (2019). Assessing molecular diversity among high capsaicin content lines of *Capsicum chinense* Jacq. using simple sequence repeat marker. *Industrial Crops and Products*, 141, 111769.
- Bharath, S. M., Cilas, C., & Umaharan, P. (2013). Fruit trait variation in a caribbean germplasm collection of aromatic hot peppers (*Capsicum chinense* Jacq.). *Hortscience*, 48(5), 531-538.
- Buso, G. S. C., Amaral, Z. P. S., Bianchetti, L. B. M., Flavia, R. B., & Ferreira, M. E. (2003). Genetic variability and phylogenetic analysis of Brazilian species of *Capsicum*. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 22, 13-16.
- Conicella, C., Errico, A., & Saccardo, F. (1990). Cytogenetic and isozyme studies of wild and cultivated *Capsicum annum*. *Genome*, 33, 279-282.
- Erdinc, C., Turkmen, O., Demir, S., & Sensoy, S. (2017). Determination of the anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. and Magn.) Lambs. Scrib.) resistance in some Turkish bean genotypes by artificial inoculation and molecular methods. *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences*, 27(1), 175-18.
- Eshbaugh, W. H. (Vincent M. Russo) (2012). The taxonomy of the genus *Capsicum*. In: Peppers Botany, Production and Uses. *CAB International*, 14-28.
- Fonseca, R. M., Lopes, R., Barros, W. S., Lopes, M. T. G., & Ferreira, F. M. (2008). Morphologic characterization and genetic diversity of *Capsicum chinense* Jacq. accessions along the upper Rio Negro-Amazonas. *Embrapa Amazônia Ocidental-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.
- Geleta, N., Daba, C., & Gebeyehu, S. (2004). Determination of plant proportion and planting time in maize-climbing bean intercropping system. *Proc. 10th Annual Conference of the Crop Science Society of Ethiopia*, 176-182.
- Geleta, L. F., Labuschagne, M. T., & Viljoen, C. D. (2005). Genetic variability in pepper (*Capsicum annum* L.) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. *Biodiversity and Conservation*, 14, 2361-2375.
- Greenleaf, W. H. (1986). Pepper breeding. Breeding vegetable crops. CAP International. The Cambridge University Press, *United Kingdom*, 76-82.
- Hawkes, J. G. (1983). The diversity of crop plants. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 184.
- Karaağaç, O. (2006). *Bafra kırmızı biber gen kaynaklarının (Capsicum annum var. conoides Mill.) karakterizasyonu ve değerlendirilmesi*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 129 s, Samsun.
- Karaağaç, O., & Balkaya, A. (2010). Bafra kırmızı biber popülasyonlarının [*Capsicum annum* L. var. *conoides* (Mill.) Irish] tanımlanması ve mevcut varyasyonun değerlendirilmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(1), 10-20.
- Karaağaç, O., & Balkaya, A. (2017). Türkiye'de yerel sebze çeşitlerinin mevcut durumu ve ıslah programlarında değerlendirilmesi. *TÜRKTOB*, 23(6), 8-15.
- Kim, S., Park, J., Yeom, S. I., Kim, Y. M., Seo, E., & Kim, K. T. (2017) New reference genome sequences of hot pepper reveal the massive evolution of plant disease-resistance genes by retroduplication. *Genome Biol*, 18, 210. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1341-9>

- Lee, J. M., Nahm, S. H., Kim, Y. M., & Kim, B. D. (2004). Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(4), 619-627.
- Lee, S., Kim, S. Y., Chung, E., Joung, Y. H., Pai, H. S., Hur, C. G., & Choi, D. (2005). EST and microarray analyses of pathogen-responsive genes in hot pepper (*Capsicum annuum* L.) non-host resistance against soybean pustule pathogen (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*). *Functional & integrative genomics*, 4(3), 196-205.
- Lefebvre, V., Palloix, A., & Rives, M. (1993). Nuclear RFLP between pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica*, 71, 189-199.
- Lefebvre, V., Goffinet, B., Chauvet, J. C., Caromel, B., Signoret, P., Brand, R., & Palloix, A. (2001). Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD and phenotypic data. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(5), 741-750.
- Moreira, A. F. P., Ruas, P. M., Ruas, C. F., Baba, V. Y., Giordani, W., Arruda, I. M., & Gonçalves, L. S. A. (2018). Genetic diversity, population structure and genetic parameters of fruit traits in *Capsicum chinense*. *Scientia Horticulturae*, 236, 1-9.
- Moses, M., Umaharan, P., & Dayanandan, S. (2014). Microsatellite based analysis of the genetic structure and diversity of *Capsicum chinense* in the Neotropics. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61, 741-755.
- Moscone, E. A., Scadafarro, M. A., & Gabriele, M. (2007). The evolution of chili peppers (*Capsicum* – *Solanaceae*): a cytogenetic perspective. *Acta Horticulturae*, 745, 137-169.
- Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70 (12), 3321-3323.
- Okumuş, A., & Balkaya, A. (2007). Estimation of genetic diversity among Turkish kale populations (*Brassica oleracea* var. *acephala* L.) using RAPD markers. ISSN 1022-7954, *Russian Journal of Genetics*, 43(4), 409-413.
- Ortiz, R., & Delgado, D. L. F. (1990). Utilization of descriptors for the characterization of lines of the genus *Capsicum*. *Turrialba*, 40(1), 112-118.
- Park, M., Lee, J. H., Han, K., Jang, S., Han, J., Lim, J. H., ... & Kang, B. C. (2019). A major QTL and candidate genes for capsaicinoid biosynthesis in the pericarp of *Capsicum chinense* revealed using QTL-seq and RNA-seq. *Theoretical and Applied Genetics*, 132(2), 515-529.
- Ramchiary, N., Kehie, M., Brahma, V., Kumaria, S., & Tandon, P. (2014). Application of genetics and genomics towards *Capsicum* translational research. *Plant Biotechnol Reports*, 8, 101-123.
- Röder, M. S., Plaschke, P., König, S. U., Börner, A., Sorrells, M. E., Tanksley, S. D., & Ganai, M. W. (1995). Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular and General Genetics*, 246, 327-333.
- Şensoy, S., & Şahin, U. (2012). Farklı Sıhke yerel kavun genotipleri arasındaki genetik ilişkiler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(3), 147-154.
- Qin, C., Yu, C., Shen, Y., Fang, X., Chen, L., & Min, J. (2014) Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization. *Proc Natl AcadSci USA*, 111, 5135-5140. <https://doi.org/10.1073/pnas.1400975111>
- Uncu, A. T. (2019). Genome-wide identification of simple sequence repeat (SSR) markers in *Capsicum chinense* Jacq. with high potential for use in pepper introgression breeding. *Biologia*, 74(2), 119-126.
- Yi, G., Lee, J. M., Lee, S., Choi, D., & Kim, B. D. (2006). Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map. *Theoretical and Applied Genetics*, 114(1), 113-130.
- Yoon, B. J., Jang, C. D., Do, J. W., & Park, G. H. (2006). Over coming two postfertilisation genetic barriers in inter specific hybridization of anthracnose resistance. *Breeding Science*, 56, 31-38.
- Zhang, X. M., Zhang, Z. H., Gu, X. Z., Mao, S. L., Li, X. X., Chadœuf, J., & Zhang, B. X. (2016). Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp.) germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution. *Journal of integrative agriculture*, 15(9), 1991-2001.
- Zewdie, Y., & Zeven, A. C. (1997). Variation in Yugoslavian hot pepper (*Capsicum annuum* L.) Accessions. *Euphytica*, 97, 81-89.
- Zhu, Z., Sun, B., Wei, J., Cai, W., Huang, Z., Chen, C., & Lei, J. (2019). Construction of a high density genetic map of an interspecific cross of *Capsicum chinense* and *Capsicum annuum* and QTL analysis of floral traits. *Scientific reports*, 9(1), 1-14.