



Yuzuncu Yil University
Journal of Agricultural Sciences
(Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi)

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



ISSN: 1308-7576

e-ISSN: 1308-7584

Research Article

Validity Control of Markers Used in Molecular Marker Assisted Selection in Tomato

Ceylan Pınar UÇAR^{*1}, Suat ŞENSOY²

^{1,2}Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri ABD, Van Türkiye

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Van Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-9056-9353>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7129-6185>

*Corresponding author e-mail: ceylanucar2@gmail.com

Article Info

Received: 21.12.2021

Accepted: 30.03.2022

Online published: 15.06.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1039398

Keywords

CAPS,
Molecular marker assisted
selection,
SCAR,
Solanum lycopersicum L.

Abstract: This study aimed to check the validity of the SCAR and CAPS markers developed for certain diseases and pests on some tomato cultivars and genotypes in molecular marker-assisted selection. For this purpose, developed molecular markers for resistance were tested for tomato wilt virus (TSWV), Fusarium wilt (FOL), Tomato leaf curl virus (TYLCV), and root-knot nematode (RKN). SCAR Scr-001 markers for TSWV, TAO1 CAPS marker, and P743DF1-P743DR1, P743DF3- SCAR P6-25 markers for FOL; Scar P6-25 marker which TYLCV; SCAR Mi-23 and PMI, of RKN, CAPS APS and C8B markers for P743DR3, P743DF1-P743DR1, At2F- ToMV were selected. These selected markers were screened in 24 tomato genotypes, 9 of which were commercial and 12 local genotypes as well as the control group, Mountain Merit, NCICELBR, and NCI123S. SCAR Scr-001 marker for TSWV; TAO1 CAPS marker and P743DF3-P743DR3, P743DF1-P743DR1, At2-F-At2-R SCAR markers for FOL; P6-25 SCAR marker for TYLCV; and SCAR Mi-23 and PMI markers for RKN gave results. In this context, it was concluded that the mentioned markers could be efficiently used in marker-assisted selection studies in tomatoes.

To Cite: Uçar, C., P., Şensoy, S., 2022. Validity Control of Markers Used in Molecular Marker Assisted Selection in Tomato. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(2): 300-309. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1039398>

Domateste Moleküler Markör Yardımlı Seleksiyonda Kullanılan Markörlerin Geçerliliğinin Kontrolü

Makale Bilgileri

Geliş: 21.12.2021

Kabul: 30.03.2022

Online Yayınlanma: 15.06.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1039398

Anahtar kelimeler

CAPS,
Domates,
Moleküler markör yardımcı
seleksiyon,
SCAR,
Solanum lycopersicum L.

Öz: Bu çalışmada, domateste bazı hastalık ve zararlılar için geliştirilen SCAR ve CAPS markörlerinin moleküler markör destekli seleksiyon çalışmalarında geçerliliğini kontrol etmek amaçlanmıştır. Bu amaçla Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV), Fusarium solgunluğu (FOL), Domates yaprak kıvrıcıklığı virüsü (TYLCV), kök-ur nematodu (RKN), gibi hastalık ve zararlılara dayanıklılık için geliştirilmiş olan moleküler markörler test edilmiştir. Bu markörlerden, TSWV için SCAR Scr-001 markörü, FOL için CAPS TAO1 markörü ve P743DF3-P743DR3, P743DF1-P743DR1, At2F- At2R SCAR markörleri; TYLCV için SCAR P6-25 markörü, RKN için SCAR Mi-23 ve PMI markörleri kullanılmıştır. Bu markörlerin kontrolü, 9'u ticari 12'si yerli çeşit ve kontrol grubu olarak da Mountain Merit, NCICELBR ve NCI123S genotipleri olmak üzere 24 domates genotipinde PCR yöntemiyle yapılmıştır. TSWV için SCAR Scr-001 markörü; FOL için TAO1 CAPS markörü ve P743DF3-P743DR3, P743DF1-P743DR1, At2-F- At2-R SCAR markörleri; TYLCV için P6-25 SCAR markörü ve RKN için

SCAR Mi-23 ve PMİ markörlerinden sonuç alınabilmektedir. Bu bağlamda sonuç alınan SCAR ve CAPS markörlerinin domatestede moleküler yardımcı seleksiyon çalışmalarında etkin bir şekilde kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

1. Giriş

Personatae takımının Solanaceae familyasından yer alan domates türleri Yeni Dünya'dan diğer kıtalara yayılmıştır. Türkiye'ye domatesin Adana'dan girdiği bilinmektedir. Ülkemizin iklim şartlarının uygun olması nedeni ile domates yetiştiriciliği hızla yayılmış ve bu sebze işleme sanayi 1970'li yıllardan itibaren kurulmaya başlamıştır. Türkiye domates üretiminde dünya ülkeleri içinde alt sıralardan hızla üst sıralara yükselmeyi başarmıştır (Şalk ve ark., 2008).

Domates lekeli solgunluk virüsü, nematod, fusarium, domates sarı yaprak kıvrıcıklığı virüsü, hastalıkları ve zararlıları dünyada olduğu gibi Türkiye'de de büyük verim kayıplarına sebep olmaktadır. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV), 1915'de Avustralya'da tespit edilmiştir. Virüsün başlıca vektörü olan *Frankliniella occidentalis* Perg. tripsinin kıtaya yayılması ile diğer ülkelerde de hastalık saptanmaya başlamıştır (Cho ve ark., 1989). Türkiye'de Tekinel ve ark. (1969), Mersin ili çevresinde yetiştiriciliği yapılan çeşitli sebzelerde bu virüsün belirtilerine rastlamıştır. Çanakkale'de tütün yetiştirilen bölgelerde görülmüş, bunun arkasından Balıkesir, Manisa, Uşak ve Samsun illerinde de tespiti yapılmıştır (Azeri, 1981). 1997 yılında Şanlıurfa'nın domates yetiştirilen alanlarında Güldür (1997) tarafından TSWV etmeninin olduğu ilk kez raporlanmıştır. Domates kök-ur nematodu *Meloidogyne* spp. (RKN), tamamen bitkinin kök kısımlarına yapışarak beslenen bir parazittir. Domatestede kök ur nematodlarının varlığı, bitki köklerinde oluşturduğu yumrular ile belli olur ve nematodlar bu oluşan urlar içerisinde kendine yaşam alanı sağlamaktadır. Bu urlar, bitkideki su dolaşım sistemini bozar ve kökün işlevlerini engeller (Thorne, 1962). Domates bitkisinde gelişme yavaşlar ve durur, bodurlaşma meydana gelir. Domatesin yaprak kısımlarında sararma, çiçek ve meyve dökülmeleri görülür. Enfeksiyon ağır bir pozisyona gelirse bitki tamamen kuruyabilir (Trudgill ve Blok, 2001). *Fusarium* solgunluk etmeninin (*Fusarium* spp) tropik ve subtropik iklim şartlarında ve kumlu topraklarda daha zararlı olduğu görülmektedir. Etmen dayanıklı sporları olan kladiospor formunda olumsuz şartları geçirebilir. Tohum ve toprak kökenli bir hastalık etmenidir (Dilmaç ve ark., 2020). Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü (TYLCV), domates yetiştiriciliğini etkileyen en önemli hastalıklardan birisi olup, geminivirüs (çift parçacık halinde) grubundandır ve beyazsinek ile taşınır. TYLCV'nin konukçu dizisi oldukça geniştir. Konukçularının bazılarında belirti bulunmayabilirken, hastalık o bitkinin içinde bulunabilir ve ergin beyazsineklerle hastalık etmeni bulunmayan sağlıklı bitkilere taşınabilir (Çolak Ateş ve ark., 2017).

Moleküler markör destekli seleksiyon (MAS) kullanılmasının avantajları, çevre etkisi nedeniyle örtülen genlerin tespit edilmesinde kolaylık sağlamaktadır: MAS ile resesif genler de güvenli bir şekilde belirlenebilmekte; Analizi yapılacak olan genotip sayısı büyük ölçüde azalmakta; Araştırmanın başında aktarılmak istenilen geni bulundurmayan genotiplerin çoğu elemine edileceği için daha efektif bir ıslah programı oluşturulabilmekte; Geriye melezleme ile dayanıklılığın aktarılmasını kolaylaştırmakta; fenotipik olarak taranması zor olan özelliklerin belirlenmesinde kolaylık sağlanmakta; erken dönemde genotip bilgisi elde edilebilmekte; ve ebeveynlerin belirlenip melezlemelere erken dönemde başlaması gibi birçok avantaj sağlamaktadır (Güleç ve ark., 2010). Ayrıca, karantina kapsamındaki bazı hastalıklara dayanıklılık için testlemeye gereksinimin olmaması ve az sayıda bitkiyle yapılan çalışmalara olanak sağlaması iş gücü ve maliyeti düşürmede katkı sunmaktadır.

Markör tipi, moleküler markörlerin ıslahta ve genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılmasında büyük öneme sahiptir (Sensoy ve ark. 2007; Güleç ve ark., 2010; Ertuş ve ark., 2014; Taş ve ark., 2021). Kodominant markörlerin heterozigot bireyleri ayırabilme özelliği yüzünden, MAS'ta özellikle kodominant markörler kullanılmaktadır. MAS programları dominant özelliklerin yanında genellikle kodominant SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) ve CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) markör sistemleri üzerine yoğunlaşmıştır (Collard ve Mackill, 2008). SCAR markörleri genetik haritada belirli bir gen ya da özellikle bağlantılı olarak tespit edilen RAPD-AFLP gibi bantlardan yola çıkılarak geliştirilebilmektedir. PCR-RFLP olarak da bilinen CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), uygun primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılmış DNA bölgelerinin restriksiyon enzimleriyle (endonükleaz) parçalanmasına dayanan ve sonucunda DNA parçacık uzunluk polimorfizminin elde edildiği bir tekniktir (Filiz ve Koç, 2011).

Moleküler markörler, farklı özellikleri ve karakterleri DNA düzeyinde ölçen ve araştırılan genotiplerde istenen bir geni ya da özelliği izlemek için kullanılabilen araçlardır. Modern ıslah programlarında birden fazla dayanıklılık geninin ıslah hat veya çeşitlerine aktarılması hedeflenmektedir. Moleküler markörler 1980’den bu yana çoğu bitkide yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Özellikle domateste hastalıklara dayanıklılık genleriyle bağlantılı markörler geliştirilerek ıslah programlarında kullanılmaktadır (Grube ve ark., 2000). Moleküler markörlerin geliştirilmesi, kantitatif karakterlerle çalışmayı daha kolay hale getirdiğinden dolayı büyük ilgiyle karşılanmıştır. Mevcut çalışmada, domateste farklı araştırmacılar tarafından geliştirilen markörlerin ülkemizdeki bazı domates çeşitleri ve genotiplerinde çalışıp çalışmadığının kontrolü amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada 24 domates genotipi kullanılmıştır. Domates genotiplerinin 9’unu F1 hibrit çeşitler, 15’ini farklı bölgelerden temin edilmiş olan yerel çeşitler (Erzurum sırk, Van sırk, Siirt yerli 1, Siirt yerli 2, Gönen, Sencan sırk, Köylüm, Armut, Yayla, Sırk kapıdağ, Oturak geleneksel ve Patika) oluşturmuştur. Ayrıca, North Caroline Üniversitesi’nden temin edilmiş olan ve hastalık ve zararlılara dayanıklılık durumları bilinen 3 genotip (Mountain Merit, NCICELBR ve NC123S) kontrol genotipleri olarak çalışmada yer almıştır. Yedisi SCAR ve 1 CAPS markörü olmak üzere 8 adet markör çifti çalışmada kullanılmıştır (Çizelge 1). Genotiplere ait tohumların viyollere ekimi Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü iklim odasında yapılmıştır. Yaklaşık 15-20 gün sonra bitkiler 2-3 gerçek yaprak dönemindeyken, genç yapraklardan örnekler alınmıştır. DNA izolasyonu, Doyle ve Doyle (1990)’a göre geliştirilmiş olan CTAB metodunun modifiye edilmesi ile yapılmıştır. Elde edilen DNA örneklerini elektroforezde görüntülemek için % 2 hazırlanmış agaroz jel kullanılmıştır. Baz büyüklüklerinin belirlenmesi amacıyla da 100 bp DNA ladder kullanılmıştır. Yirmi dört domates genotipi üzerinde SCAR ve CAPS markör yöntemleri kullanılmıştır. CAPS markör tekniğinde gen spesifik markör çiftleriyle PCR ortamında çoğaltılan amplifikasyon ürünleri kesme enzimleri ile kesilmiştir (Jiang ve ark., 1997). Çizelge 1’de belirtilen TAO-1 CAPS markörü için RsaI kesme enzimi kullanılmıştır. SCAR markör yöntemiyle Sw-5 genine ait scr-001 markörü, I-3 genine ait P43DF3-P43DR3 ve P43DF1-P43DR1 markörleri, I-1 genine ait At2-F-At2R markörü, Ty3 genine ait P6-25 markörü, Mi-1 genine ait Pmi ve Mi-23 markörleri PCR ortamında çoğaltılmıştır. Scr-001, At2F-At2R, TAO-1 markörlerine ait amplifikasyon ürünleri %2 elektroforez jel ortamında yürütülmüştür. P43DF3-P43DR3 ve P43DF1-P743DR1, P6-25, Mi-23, Pmi markörleri ise kapillar elektroforez ile görüntülenmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan moleküler markörlere ait primer dizilimleri

| Hastalık/ Zararlı | Gen | Markör | Markör tipi | Markör ID | Markör dizilimi Kaynak |
|----------------------|------|--------|-------------|----------------------|---|
| TSWV | Sw-5 | SCAR | Dominant | Scr-001 | F=CTGGGTGAGTCTTGACAT Dianese ve ark., 2010 R=CTGGGTGAGTACATCAGATT |
| FOL | I-3 | SCAR | Ko-dominant | P7-43DF3 P7-43DR3 | F=CACGGGATATGTRTTGATAAGCATGT Barillas ve ark., 2008 R=GTCTTTACCACAGGAACCTTTATCACC |
| FOL | I-3 | SCAR | Ko-dominant | P7-43DF1 P7-43DR1 | F=GGTAAAGAGATGCGATGATTATGTGGAG Barillas ve ark., 2008 R=GTCTTTACCACAGGAACCTTTATCACC |
| FOL | I-1 | SCAR | Dominant | At2-F At2-R | F=CGAATCTGTATATATTACATCCGTCGT Arens ve ark., 2010 R=GGTGAATACCGATCATAGTCGAG |
| FOL | I-2 | CAPS | Ko-dominant | TAO1 | F=GGGCTCCTAATCCGTGCTCA Staniaszek, 2007 R=GGTGGAGGATCGGGTTGTTTC |
| TYLCV | Ty-3 | SCAR | Ko-dominant | P6-25 | F=GGTAGTGGAAATGATGCTGCTC Ji ve ark., 2008 R=GCTCTGCCTATTGTCCCATATATAACC |
| RKN | Mi-1 | SCAR | Ko-dominant | Pmi | F=GGTATGAGCATGCTTAATCAGAGCTCTC Arens ve ark., 2010 R=CCTACAAGAAATTATTGTGCGTGTGAATG |
| RKN | Mi-1 | SCAR | Ko-dominant | Mi-23 | F=TGGAAAAATGTTGAATTTCTTTG Seah ve ark., 2007 R=GCATACTATATGGCTTGTTACCC |

3. Bulgular

Domateste domates lekeli solgunluk virüsüne dayanıklılık sağlayan ve *L. peruvianum*'dan aktarılan sw-5 genine ile ilişkili markörler dizayn edilmiş ve ıslah çalışmalarında kullanılmıştır (Shi ve ark., 2011). Bu çalışmada sw-5 genine dayalı olarak Dianese ve ark., (2010) tarafından geliştirilen Scr-001F/R markör çifti 24 domates genotipi üzerinde taranmıştır (Şekil 1 ve Çizelge 2). Bu dominant markörün dayanıklılık bandı 400bç'de görüntü vermektedir. Dokuz F₁ ticari çeşidin 3'ünde 400bç'lik dayanıklı bant elde edilmiş ve 6'sında herhangi bir bant elde edilememiştir. Yerli çeşitlerin 12 tanesinde herhangi bir dayanıklılık DNA bandı elde edilememiştir. Kontrol grubunda ise Mountain Merit ve NC123S homozigot dayanıklılık DNA bandı elde edilmiştir.

Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ırkı-3'e bağlı olarak geliştirilmiş olan SCAR 43DF3-43DR3 markörü 24 domates genotipinde analiz edilmiştir (Şekil 2 ve Çizelge 2). F₁ ticari çeşitlerin 4'ünde 650bç duyarlı bant elde edilmiştir. Yerli çeşitlerin de 4'ünde duyarlı DNA bant profili elde edilmiştir. Kontrol grubunda ise Mountain merit 650 bç ve 875 bç'de DNA bant profili vermiş ve bu çeşidin heterozigot olduğu tespit edilmiştir. NCICELBR çeşidi 650 bç'de DNA bandı vermiş ve duyarlı bir genotip olduğu görülmüştür. NC123S genotipi ise 875bç baz uzunluğu vererek dayanıklılık özelliği göstermiştir.

Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ırkı-3'e bağlı olarak geliştirilmiş olan 43DF1-43DR1 markörü de 24 domates genotipi üzerinde test edilmiştir (Şekil 3 ve Çizelge 2). Dokuz F₁ ticari çeşidin 1'inde 1060 bç baz uzunluğu veren duyarlı bir bant elde edilmiştir. Yerli çeşitlerin 6'sı da duyarlı bant vermiştir. Kontrol grubunda NC123S genotipinde 1270 bç dayanıklılıkla ilişkili bant elde edilmiştir. Bunun yanında Mountain Merit'te hiç bant elde edilmezken, NCICELBR'de DNA duyarlılık bandı elde edilmiştir.

Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ırkı-1'e bağlı olarak geliştirilmiş olan At-2F/R markörünün de 24 domates genotipi üzerinde taraması yapılmıştır (Şekil 4 ve Çizelge 2). Dokuz ticari çeşidin 8'inde 130 bç büyüklüğünde dayanıklılık ile ilişkili bir bant elde edilirken, sadece bir çeşitte ilişkili DNA bant profili belirlenmemiştir. Yerli çeşitlerin 7'sinde dayanıklılığı gösteren DNA bant profili elde edilmiştir. Kontrol grubunda NCICELBR ve NC123S genotipleri DNA dayanıklılık bandını oluştururken, Mountain Merit genotipinde herhangi bir DNA bandı elde edilememiştir.

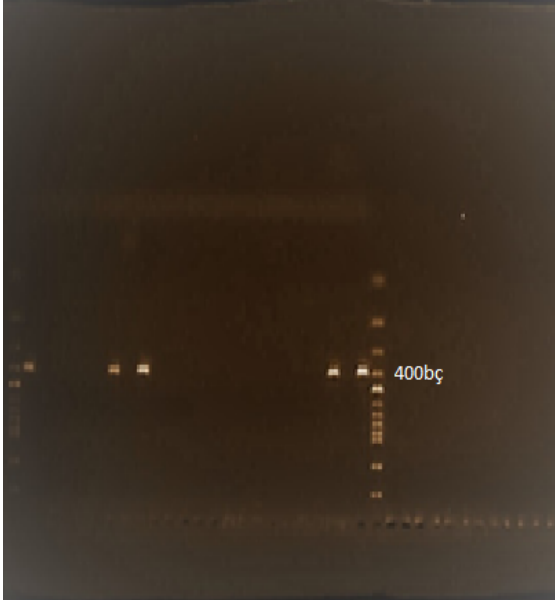
Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ırkı-2'ye bağlı olarak geliştirilmiş olan CAPS TAO1 kodominant markörünün de 24 domates genotipi üzerinde taraması yapılmıştır (Şekil 5 ve Çizelge 2). Bu markör ile elde edilen PCR ürününün RsaI kesme enzimiyle kesilmesi sonucu DNA bant profili elde edilmiştir. Ticari F₁ çeşitlerin 6'sında 250 bç ve 500 bç büyüklüğünde olmak üzere her iki baz uzunluğu tespit edilmiş ve bu çeşitlerdeki dayanıklılığın heterozigot formda olduğu anlaşılmıştır. Yerel çeşitlerin 9'unda sadece 250bç'de DNA bandı tespit edilmiş ve genotipler homozigot duyarlı olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda NC123S çeşidinde her iki büyüklükte DNA bant profili elde edilerek bu genotipin heterozigot özellik gösterdiği gözlemlenirken, Mountain Merit ve NCICELBR genotiplerinde DNA bant profili elde edilememiştir.

Domates sarı yaprak kıvrıkcılığı virüsüne dayanıklılık sağlayan ty-3 genine yönelik tasarlanmış olan P6-25 kodominant markörü de 24 domates genotipi üzerinde taranmıştır (Şekil 6 ve Çizelge 2.). Dokuz ticari F₁ hibrit çeşitten 5 tanesinde hem 450 bç duyarlılık ile ilişkili DNA bandı hem de 650 bç dayanıklılık ile ilişkili DNA bandı elde edilerek heterozigot durumun varlığı tespit edilmiştir. Bu F₁ çeşitlerin 4 adedinde ise sadece 450 bç uzunluğundaki duyarlılık ile ilişkili DNA bant profili elde edilmiştir. Yerli çeşitlerin 10 tanesinde DNA duyarlılık ile ilişkili bant elde edilirken, 2'sinde herhangi bir DNA bant profili elde edilememiştir. Kontrol grubunda yer alan Mountain Merit, NCICELBR, NC123S 450 bç'de duyarlı bant olduğu tespit edilmiştir.

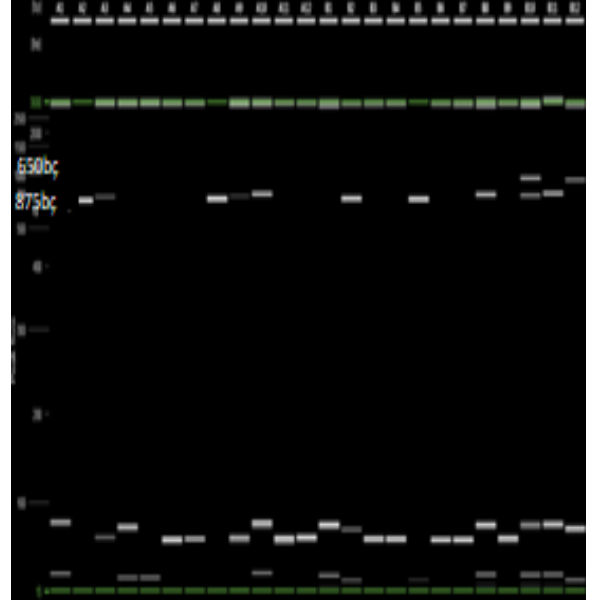
S. peruvianum'dan aktarılan Mi lokusundaki Mi 1-2 dayanıklılık geni için geliştirilmiş markörlerden bir diğeri olan PMİ markörünün 24 domates genotipi üzerinde analizi yapılmıştır (Şekil 7 ve Çizelge 2). Dokuz ticari çeşidin ikisinde 350 bç uzunluğunda duyarlılık ile ilişkili bir DNA bandı elde edilmiş; birinde 550 bç dayanıklılık ile ilişkili DNA bandı elde edilirken, birinde ise her iki DNA bant profili görülmüş ve bu genotipin heterozigot yapıda olduğu tespit edilmiştir. Yerli çeşitlerin ise sadece 2'sinde DNA duyarlılık bandı elde edilmiştir. Kontrol grubunda yer alan NCICELBR'de DNA duyarlılık bandı elde edilirken, diğer 2 çeşitte herhangi bir DNA bant profili elde edilememiştir.

Solanum habrochaites'den aktarılan Mi-1 genine dayalı olarak geliştirilmiş olan SCAR kodominant Mi-23 markörünün 24 domates genotipi üzerinde analizi yapılmıştır (Şekil 8 ve Çizelge 2).

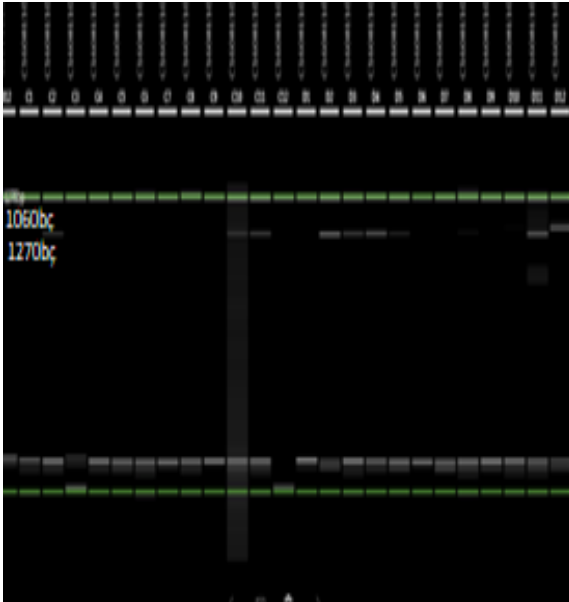
Bunlardan 9 ticari F₁ çeşidinin 5'inde 430 bç uzunluğunda DNA dayanıklılık bandı elde edilmiştir. Bir ticari çeşit ise 380 bç'de duyarlı ve 430 bç'de DNA dayanıklılık bandı oluşturarak heterozigot özellik göstermiştir. Yerli çeşitlerin 9'unda DNA dayanıklılık bandı elde edilmiştir. Kontrol grubundan Mountain Merit genotipinde heterozigot (H), NCICELBR duyarlı (S), NCI123S (R) DNA dayanıklı bant profili elde edilmiştir.



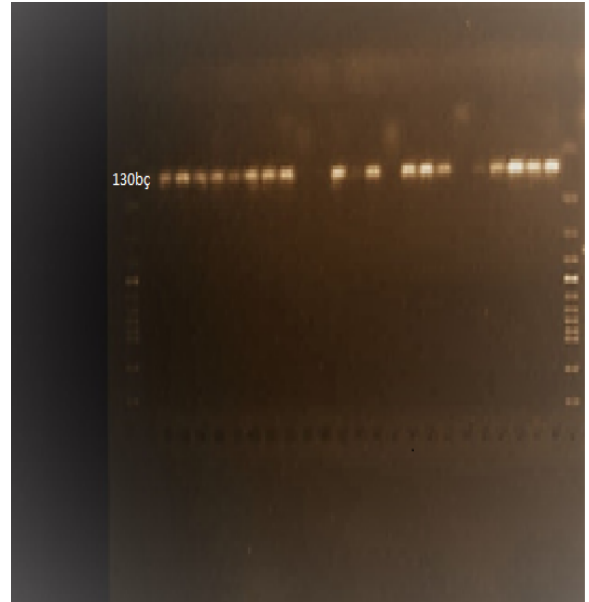
Şekil 1. Scr-001 dominant markörü ile elde edilen 400bç DNA bandı.



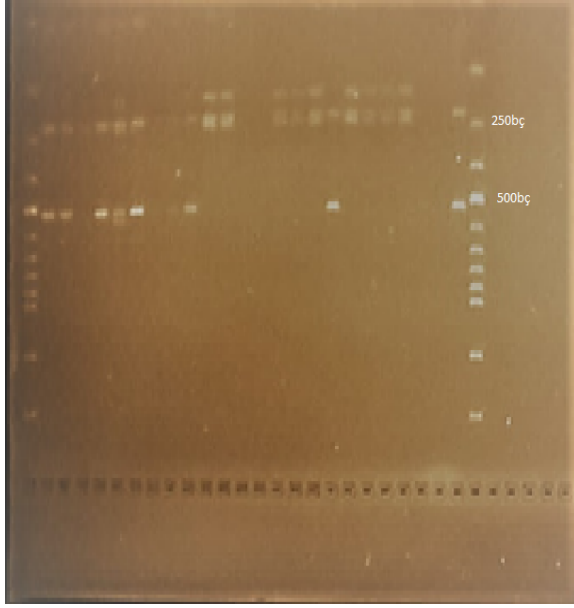
Şekil 2. 43DF3 markörü PCR ürünlerinin Kapillar elektroforez görüntüsü 100bç ladder kullanılmıştır (R:875bç, S: 650bç).



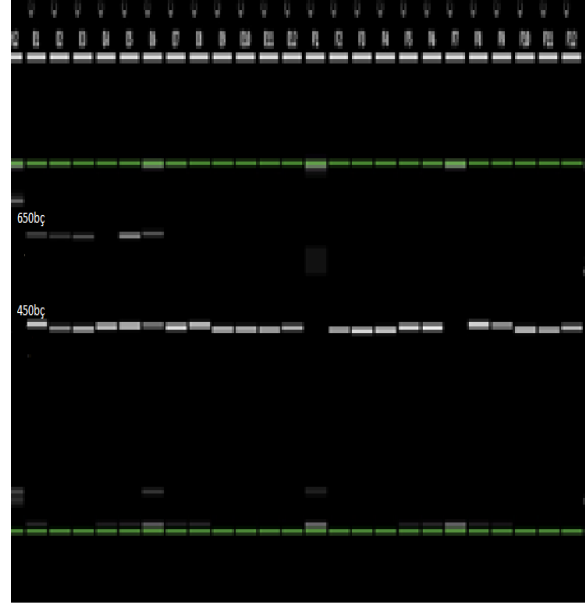
Şekil 3. 43DF1-43DR1 markörü PCR ürünlerinin Kapillar elektroforez görüntüsü (R:1060 bç, S: 1270bç).



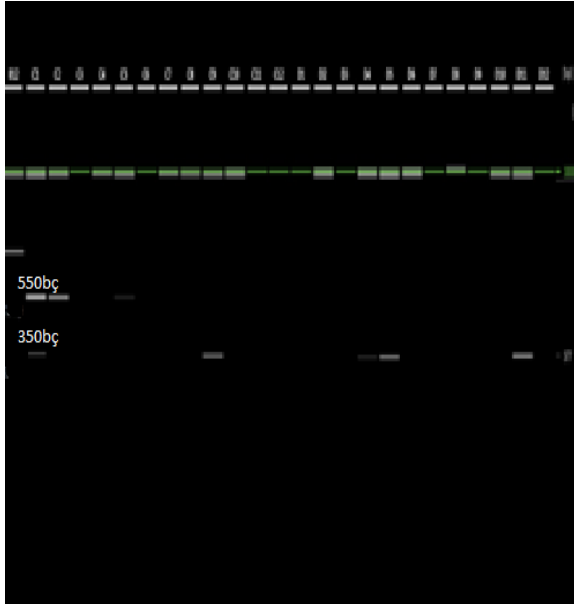
Şekil 4. At-2 markörüne ait (dominant) elde edilen 130bç bant.



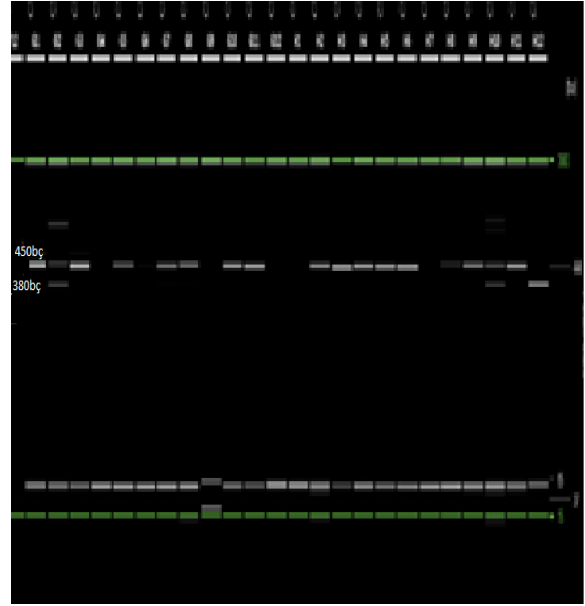
Şekil 5. TAO1 markörüne ait elde edilen S:250bç
R:500 bant.



Şekil 6. P6-25 markörü PCR ürünlerinin Kapillar
elektroforez görüntüsü (R:650bç, S: 450bç).



Şekil 7. PMİ markörü PCR ürünlerinin Kapillar
elektroforez görüntüsü (R:550bç, S: 350bç).



Şekil 8. Mİ-23 markörü PCR ürünlerinin Kapillar
elektroforez görüntüsü (R: 430 bç S: 380 bç).

Çizelge 2. Domates popülasyonuna ait genotiplerin bazı hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılığı sağlayan genlerle ilişkili olarak geliştirilen moleküler markörlerle taranmasından elde edilen sonuçlar

| Hastalık/ | TSWV | | | FOL | | | TYLCV | | | RKN | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|---------|------|------|------|------|------|-------|------|------|----------|------|------|----------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|-----|------|------|
| Zararlı | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Gen | SW-5 | | | I-1 | | | I-2 | | | I-3 | | | TY-3 | | | Mİ-1 | | | | | | | | |
| Markör | SCR-001 | | | At-2 | | | TAO-1 | | | P7-43DF1 | | | P7-43DF3 | | | P6-25 | | | Mi-23 | | | Pmi | | |
| | F1 | Y.Ç. | K.G. | F1 | Y.Ç. | K.G. | F1 | Y.Ç. | K.G. | F1 | Y.Ç. | K.G. | F1 | Y.Ç. | K.G. | F1 | Y.Ç. | K.G. | F1 | Y.Ç. | K.G. | F1 | Y.Ç. | K.G. |
| Hm Duyarlı | - | - | - | - | - | - | - | 9 | - | 1 | 6 | 1 | | | | 1 | 4 | 10 | 3 | - | 1 | 2 | 2 | 1 |
| Hm Dayanıklı | 3 | - | 2 | - | - | - | - | - | - | | | | 1 | 4 | 4 | 1 | | | | | | 5 | 9 | 1 |
| Heterozigot | | | | - | - | - | 6 | 1 | | | | | | | | 1 | 5 | | | | | 1 | 1 | 1 |
| Bant Mevcudiyeti | - | | | 8 | 7 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

*Hm: Homozigot, F1: Hibrit çeşit, K.G: Kontrol grubu, Y.Ç: Yerli çeşit.

4. Tartışma ve Sonuç

Moleküler markörler domatesta tarımsal açıdan birçok önemli özellik için genlerin ve QTL'lerin belirlenmesinde veya haritalanmasında moleküler yardımcı seleksiyon yöntemiyle kullanışlı ve faydalı olabilmektedir. Bununla birlikte, literatürde belirtilen tüm markörler domates ıslah programlarında uygulanmamaktadır. Markörleri yeniden tanımlayabilmek, belirli ıslah hatlarında faydalılık, çoğaltılabilirlik, yeni polimorfik markörleri tanımlamak ve geliştirmek için genellikle ek çabalar gereklidir. Bu çalışmada, domates lekeli solgunluk virüsü, fusarium solgunluğu, domates yaprak kıvrıcıklığı virüsü, kök-ur nematodu, hastalık ve zararlılar için literatürde belirtilen geliştirilmiş olan markörlerden seçilmiştir. Seçilen CAPS ve SCAR markörleri 24 domates genotipi üzerinde test edilmiştir.

Domates lekeli solgunluk virüsü için test edilen SCAR Scr-001 markörü için çalışılan domates genotiplerinde sonuç elde edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, Roselló ve ark. (2001)'nin yaptığı çalışmada Huallanca, Ancash, Peru'da toplanan *Lycopersicon peruvianum*'un PE-18 genotipinden geliştirilen UPV 1 ıslah hattında Sw-5 alleliği kontrol eden ve hibrit yetiştiriciliğinde dayanıklılığı arttırabilmek için yaptıkları çalışmada Sw-5 ile bağlantılı SCAR Scr001F/R dominant markör çifti kullanılmıştır. Analizlerin görüntülenmesi sonucunda 400 bç DNA büyüklüğündeki bant sonuç vermiştir. Sw-5'te çalışan SCAR markırı UPV-1'de benzer şekilde çalışmış ve ticari hibrit çeşitlerinin geliştirilmesinde UPV-1'in önemli olduğunu göstermişlerdir (Roselló ve ark., 2001). Elde edilen sonuçlar bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermiştir ve bu markörün klasik testlemeye alternatif olabileceği belirtilmiştir.

Fusarium solgunluğu ile ilişkili TAO1 CAPS markörü de bu çalışmadaki 24 genotip üzerinde denenmiş ve genotiplerde heterozigot ve homozigot DNA bant profilleri elde edilmiştir. Ülkemizde yürütülen başka bir çalışmada TAO1 CAPS markörü ile test edilen 92 adet domates hattından 20 adet dayanıklı, 25 adet duyarlı ve 47 adedinde hem duyarlı hem hassas (heterozigot) DNA bant profili elde edilmiş ve TAO1 CAPS markörünün FOL'a karşı klasik testlemeye göre dayanıklı hat ve çeşit geliştirmede kolaylık sağlayabileceği belirtilmiştir (Pınar ve ark., 2013a). P743DF3-P743DR3 marköründe de çalışmamızda yapılan sonuçlara göre kontrol gurubu homozigot DNA bant profili vermesi paralellik göstermiştir. Barillas ve ark. (2008), Fusarium solgunluğu I-3 dayanıklılık genine bağlı olarak geliştirilmiş olan SCAR 43DF3/R3 markörünü farklı domates genotipleri üzerinde test etmişler ve duyarlı bant 650 bç'de ve dayanıklı bant 875 bç'de elde edilmiştir. Bunun sonucunda I-3 geniyle SCAR 43DF3/R3 ko-dominant markörünün bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (Barillas ve ark. 2008). Barillas ve ark. (2008)'nin yaptığı çalışmada ayrıca Irk-3'e bağlı olarak geliştirilmiş olan P743DF1-P743DR1 ve 43DF1-43DR1 markörleri de domates genotipleri üzerinde test edilmiş ve SCAR 43DF1\R1 markör çifti duyarlı genotiplerde 1060 bç'de ve dayanıklı genotiplerde ise 1270 bç'de bant elde edilmiş; denemenin sonucunda I-3 geniyle SCAR 43DF1/R1 ko-dominant markörünün

bağlantılı olduğu değerlendirilmiştir ve domates hatlarında markör destekli seleksiyon kullanılabilceği belirtilmiştir. Arens ve ark., 2010'da yaptığı çalışmada domates çeşitlerinde I-1 genine bağlı dayanımı test etmek için At-2 markörünü kullanmışlar ve bu markörün I-1 gen lokusunun varlığını tespit etmek için kullanılabilceğini ifade etmişlerdir. Ülkemizde yürütülen başka bir çalışmada I-1 genine bağlı olarak geliştirilmiş olan At-2F/R markörü ile yapılan bir moleküler tarama sonucunda 92 adet F2 popülasyonu genotipinin 66'sı 130 bç büyüklüğünde DNA bant profili vermiş ve çalışma sonucunda *Fusarium oxysporum f.sp.*'ye dayanıklılığın belirlenmesinde bu markörlerin yol gösterici olabileceği belirtilmiştir (Pınar ve ark., 2013b).

Domates yaprak kıvrıcıklığı virüsü için literatürde geliştirilen SCAR P6-25 markörü, 24 domates genotipi üzerinde denenmiş ve olumlu sonuç alınmıştır. Pınar ve ark. (2013a) yaptığı çalışmada Ty-3 dayanıklılık geni için P6-25 markörünün test edilmesinden sonra 92 adet domates genotipin 24'ünde homozigot dayanıklı bant ve 18'inde duyarlı bant elde edilirken, 50'sinde her iki bant da elde edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda belirtilen hastalığa karşı moleküler belirteçler klasik testlemeye göre dayanıklı hat ve çeşit geliştirmede kolaylık sağlayabileceğini belirtmişlerdir (Pınar ve ark., 2013a). Prasanna ve ark., (2015) çalışmalarında Domates yaprak kıvrıcıklığı virüsü için geliştirilen moleküler markörleri Hindistan'da ıslah çalışmalarında etkin bir şekilde kullanılabilceğini göstermişlerdir.

Kök-ur nematoduna ait Mi-1 dayanıklılık genine ait literatürde geliştirilen SCAR ko-dominant PMİ markörünün de bu çalışmada 24 domates genotipi üzerinde taraması yapılmıştır. PMİ markörüne ait markör sonuçların El Mehrach ve ark. (2005)'nin yaptığı çalışmayla paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. El Mehrach ve ark. (2005)'nin yaptığı çalışmada Mi-1-2 bölgesi için dört markör belirlenmiştir. Bunlardan biri olan Pmi markörü PCR'a dayalı olarak anonim olarak seçilen domates genotiplerinde denendikten sonra, duyarlılık için 350 bç ve dayanıklılık için 550 bç'de DNA bant profili vermiştir. Bunun sonucunda Mi-1 dayanıklılık geni için PMİ markörünün kullanılabilceği ifade edilmiştir (El Mehrach ve ark., 2005).

Kök-ur nematodu ile ilişkili olarak literatürde Mi-1 dayanıklılık genine yönelik geliştirilen kodominant SCAR Mi-23 ve PMİ markörlerinin de bu çalışmada 24 domates genotipi üzerinde taraması yapılmış ve bu markörlerden olumlu sonuç alınmıştır. Özarslandan ve ark. (2010)'nin yaptığı çalışmada domates bitkileri, *Meloidogyne javanica* ile inoküle edilmiş ve genotiplerin dayanıklılık özellikleri klasik yöntemle taranmış ve bu domates genotipleri REX-F1-REX-R2 ve Mi23F-Mi23R'ye özgü primerler kullanılarak da duyarlı, dayanıklı veya heterozigot yapıda bantlar taşıyıp taşımadıkları belirlenmiş ve klasik tarama ile DNA markörlerinin kullanımı arasında açık bir ilişki olduğunu saptanmıştır. Bu markörlerin *M. javanica* dayanıklılık ıslahı için markör destekli seleksiyonda kullanılabilceği sonucuna varılmış ve yürüttüğümüz bu çalışmayla da paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, literatürde domates ıslah programlarında moleküler markör yardımcı seleksiyon amaçlı geliştirilmiş bazı markörlerin ülkemizde de etkin bir şekilde kullanılabilceği anlaşılmıştır. Ayrıca yabani kaynaklı domates türleri dayanıklılık genlerinin ticari hibrit çeşitlerine aktarılmasından dolayı etkin bir şekilde kullanıldığı görülmekle birlikte yerel kaynaklarda bu markörler mevcut olmadığı da teyit edilmiştir. Bununla birlikte, entansif tarım uygulamaları yüzünden hastalık ve zararlı etkenlerinin sürekli kendilerini değiştirme kapasitesine sahip olduğu unutulmamalıdır. Bu yüzden hastalık ve zararlılara dayanıklılık sağlayan yeni dayanıklılık genlerinin bulunması ve bunlarla ilişkili güvenilir ve etkin markörlerin ıslah programlarına gelecekte yoğun bir şekilde kazandırılması önem arz etmektedir.

Teşekkür

Bu makalenin oluşturulmasında kullanılan veriler, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2015-FBE-YL277 nolu projeye desteklenen yüksek lisans tezinden alınmıştır. Ayrıca çalışmamızda kullandığımız tohumlar için tohum kaynağı sağlayan Antalya tohum firmalarına teşekkür ederiz.

Kaynakça

Arens, P., Mansilla, C., Deinum, D., Cavellini, L., Moretti, A., Rolland, S., & Mathis, R. (2010). Development and evaluation of robust molecular markers linked to disease resistance in tomato

- for distinctness, uniformity and stability testing. *Theoretical and Applied Genetics*, 120(3), 655-664.
- Azeri, T. (1981). Preliminary report of tomato spotted wilt virus (TSWV) and its epidemy on tobacco in the Canakkale region of Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*. 10(2/3), 79-87.
- Barillas, A. C., Mejia, L., Sanchez-Perez, A., Maxwell, D. P. (2008). CAPS and SCAR markers for detection of I-3 gene introgression for resistance to *Fusarium oxysporium* f. sp. lycopersici race 3. *Rep Tomato Genetic. Coop*, 58, 11-17.
- Cho, J.J., Mau, RFL., German, TL., Hartmann, RW., Yudin, LS., Gonsalves, D., Provvidenti, R. (1989). A multidisciplinary approach to management of Tomato spotted wilt virus in Hawaii. *Plant Disease*, 73, 375-383.
- Collard, B. C., Mackill, D. J. (2008). Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 363(1491), 557-572.
- Çolak Ateş, A., Daşgan, H. Y., Fidan, H., & Karacaoğlu, M. (2017). Farklı Domates Genotiplerinde *Fusarium oxysporum* f. sp. radialis-lycopersici ve Tomato Yellow Leaf Curl Virus Dayanıklılık Durumlarının Klasik ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. TÜBİTAK TOVAG Proje no: 213O103.
- Dianese E. C., Fonseca, M.E. Goldbach, R., Kormelink, R., Inoue-Nagata, A. K. Resende, R.O., 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. *Molecular Breeding*, 25:113-142.
- Dilmaç, M., Dinler, H., Kaki, B. (2020). Nonpatojen *Fusarium* spp.'lerinin nohutta *Fusarium* solgunluğuna karşı in vitro koşullarda antagonist etkilerinin belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(3), 775-792.
- Doyle J.J., Doyle J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- El Mehrach, K., Hatimi, A., Gharsallah Chouchane, S., Salus, M. S., Martin, C. T., Maxwell, D. P., & Vidavski, F. (2005). PCR-based methods for tagging the Mi-1 locus for resistance to root-knot nematode in begomovirus-resistant tomato germplasm. *Acta Horticulture*. 695, 263-270.
- Ertuş, M. M., Sabancı, C. O., & Şensoy, S. (2014). The determination of molecular diversity among some alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes using RAPD markers. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 24(1), 7-15.
- Filiz, E., Koç, İ. (2011). Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, (2): 207-214.
- Güleç, T. E., Yıldırım, A., & Sönmezoğlu, Ö. A. (2010). Bitkilerde markör destekli seleksiyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3(2), 67-79.
- Grube, R. C., Radwanski, E. R., & Jahn, M. (2000). Comparative genetics of disease resistance within the *Solanaceae*. *Genetics*, 155(2), 873-887.
- Güldür, M. E. (1997). Şanlıurfa ili için yeni bir virüs: Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV). *Harran Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*, 1(3), 71-76.
- Ji, Y., Betteray, B., Smeets, J., Jensen, K. S., Mejia, L., Scott, J. W., & Maxwell, D. P. (2008). Codominant SCAR marker, P6-25, for detection of Ty-3, Ty-3a and Ty-3b introgressions from three *Solanum chilense* accessions at 25 cM of chromosome 6 of Begomovirus-resistant tomatoes. *Proc Tomato Breeders Table, Tampa, FL, USA. roundtable08. ifas. ufl. edu/Schedule.htm*.
- Jiang, G., Qu, W., Cruz, Y., Chang, C. J., Ho, G. Y., Klein, R. S., Burk, R. D. (1997). PCR detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP5+/GP6+ primer systems. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6), 1304-1310.
- Özarslandan, A., Ekbiç, E., & Elekcioglu, İ. H. (2010). Domateste Kök ur nematodu (*Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood)'na dayanıklılık sağlayan Mi-1.2 geninin Mi23 SCAR markırı ile belirlenmesi. *Turkish Journal of Entomology*, 35(4), 677-686.
- Pandey, K. K., Pandey, P. K., Kallou, G., & Banerjee, M. K. (2003). Resistance to early blight of tomato with respect to various parameters of disease epidemics. *Journal of General Plant Pathology*, 69(6), 364-371.

- Pınar, H., Atilla, A., Keleş, D., Mutlu, N., Denli, N., & Mustafa, Ü. (2013a). Domates hatlarında *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*'ye dayanıklılığın moleküler markörler yardımıyla belirlenmesi. *Derim*, 30(1), 15-23.
- Pınar, H., Atilla, A., Keleş, D., Mutlu, N., Denli, N., & Mustafa, Ü. (2013b). Domateste bazı hastalık ve zararlılara dayanıklı hat ve çeşit geliştirmede moleküler markörlerin kullanımı. *Alatarım*, 12(1), 10-18.
- Prasanna, H. C., D. P., Rai, G.K, Krishna, R., Kashyap, S.P., Singh, N. K., & Malathi, V.G. (2015). Pyramiding Ty-2 ve Ty-3 genes for resistance to monopartite and bipartite tomato leaf curl viruses of India. *Plant Pathology*, 64(2), 256-264.
- Roselló, S., Ricarte, B., José Díez, M., & Nuez, F. (2001). Resistance to tomato spotted wilt virus introgressed from *Lycopersicon peruvianum* in line UPV 1 may be allelic to Sw-5 and can be used to enhance the resistance of hybrids cultivars. *Euphytica*, 119(3), 357-367
- Shi A, Vierling R, Grazzini R, Chen P, Caton H, Panthee D (2011) Identification of molecular markers for Sw-5 gene of tomato spotted wilt virus resistance. *Am. J Biotechnol. Mol. Sci.* 1: 8–16.
- Seah, S., Williamson, V. M., Garcia, B. E., Mejia, L., Salus, M. S., Martin, C. T., & 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 germplasm. *Report of the Tomato Genetics Cooperative*, 57: 37-40.
- Sensoy, S., Demir, S., Buyukalaca, S., & Abak, K. (2007). Response of Turkish melon genotypes to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1 determined by inoculation tests and RAPD markers. *European Journal of Horticultural Science*, 72(5), 220.
- Staniaszek, M., Kozik, E. U., & Marczewski, W. (2007). A CAPS marker TAO1902 diagnostic for the I-2 gene conferring resistance to *Fusarium oxyporum* f.sp. *lycopersici* race 2 in tomato. *Plant Breeding*, 126(3), 331-333.
- Taş, K. , Balkaya, A. & Uncu, A. T. (2021). *Capsicum chinense* Türüne Ait Biber Popülasyonunun SSR Molekülerleri ile Karakterizasyonu. *Yüzuncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 31 (3),722-732. DOI: 10.29133/yyutbd.928181
- Tekinel, N., Dolar, MS., Sağsöz, S., & Salcan, Y. (1969). Mersin Bölgesinde ekonomik bakımdan önemli bazı sebzelerin virüsleri üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 9: 37-49.
- Thorne, G. (1962). Principles of nematology. *Soil Science*, 93(1), 70.
- Trudgill, D. L., Blok, V. C. (2001). Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 39(1), 53-77.