

Yöresel cırgalan biberi genotiplerinin ISSR markırları ile karakterizasyonu*

Hasan PINAR¹, Ömer Faruk COŞKUN¹, Emrah UYSAL¹, Osman GÜLŞEN¹, Halit YETİŞİR¹

¹Erciyes Üniversitesi, Ziraat fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü,-KAYSERİ

* Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi (Proje No: FCD-2016-6379) ve Kayseri Tarım İl Müdürlüğü tarafından desteklenmiştir.

Alınış tarihi: 14 Ekim 2016, Kabul tarihi: 5 Şubat 2017
Sorumlu yazar: Hasan PINAR, e-posta: hpinarka@yahoo.com

Öz

Cırgalan biberi, Kayseri’de uzun yıllardan beri yetiştirilen, kurutulduktan sonra toz biber olarak tüketilen yerli bir çeşittir olup bölgede baharat piyasasında hatırı sayılır değere sahiptir. Ancak son yıllarda söz konusu çeşidin verimliliği ve kalitesindeki düşüşler biber çeşidinin yavaş yavaş üretimden çekilmesine neden olabilecektir. Biber ıslahının ilk aşaması mevcut genotiplerin karakterize edilmesidir. Bu çalışmada Kayseri ili merkez ve ilçelerinden temin edilen 16 adet farklı Cırgalan biberi genotipinin ISSR markır sistemi ile karakterizasyonu yapılmıştır. Çalışmada 16 adet ISSR primerinden toplam 107 band elde edilmiş ve bu bandlardan 23 adedi polimorfik bulunmuştur. Genetik benzerlik 0.95-0.99 arasında belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular Kayseri ve yöresinde yetiştiriciliği yapılan Cırgalan biber genotipleri arasında genetik farklılığın olduğunu göstermiştir. Bu bulgular ışığında yapılacak ıslah çalışmaları ile Kayseri ve yöresine adapte olmuş söz konusu biber çeşidinin verim ve kalitenin yanında hastalık ve zararlılara dayanımın kazandırılarak üretim alanlarının arttırılmasında faydalı olabilecektir.

Anahtar kelimeler: *Capsicum annuum*, Cırgalan biberi, ISSR, Moleküler karakterizasyon

Characterization of regional cırgalan pepper genotypes via ISSR markers

Abstract

Cırgalan pepper is local cultivar which grown in Kayseri for many years, consumed as powdered pepper after dried and has important value for spice market. However, this cultivars can lose its production areas because of yield and quality losses. First stage of pepper breeding is characterization of present genotypes. In this study, it was characterized 16 Cırgalan pepper geotypes which obtained from different region of Kayseri using 16 ISSR primers. Total 107 bands were found with 16 ISSR primers and 23 of them were polymorphic. Genetic similarity was determined between 0.95-0.99. Obtained results from this study showed that there are genetic differences among Cırgalan pepper genotypes which produce in Kayseri region. With breeding programs in the light of these findings, it can be helpful to increase production areas of this cultivar which adopted to Kayseri region after obtained disease resistance addition to yield and quality of this cultivar.

Key words: *Capsicum annuum*, Cırgalan pepper, ISSR, Molecular characterization

Giriş

Sekiz ana bitki gen merkezinden, Yakınoğu ve Akdeniz gen merkezlerinin çakıştığı alan üzerinde bulunan ölkemizde toprak ve iklim açısından oldukça farklı özellikleri bulunan yöreler bulunmaktadır. Dünyada tarımın ilk yapıldığı yörelerden biri üzerinde bulunan Anadolu, kültüre alınan birçok bitki türünün gen merkezi haline gelmiştir. Ayrıca bitki endemizmi oranı yüksektir. Bitkisel üretimin sürdürülebilirliği bakımından tarımı yapılan türlere ait bitki genetik kaynaklarındaki çeşitliliğin korunması gereklidir (Tan ve İnal, 2003). Ancak, yangın, erozyon gibi tabii afetler, üniform çeşitlerin popülasyon formundaki yerli çeşitlerin yerine geçmesi, şehirleşme ve imar çalışmaları, tarımsal sistemlerin değişmesi ve tarımsal mücadele uygulamaları sonucunda, bitkisel çeşitlilik azalmakta ve kaybolmaktadır. Bu tehlikenin farkına varılması sonucu pek çok ölkede bitkisel kaynakların tespiti, korunması ve saklanması yönelik çalışmalar başlatılmıştır (Tan, 1992).

Biber, dünyada değişik şekillerde yoğun olarak tüketilen beş önemli sebzedenden birisidir. Sıcak iklim sebzesi olan *Capsicum annuum* L. 2n=24 kromozom yapısına sahiptir ve yüksek oranda kendine tozlanmaktadır (Rohami, 2010). Ölkemizin hemen her bölgesinde biber yetiştiriciliği yapılmaktadır. Taze tüketimin yanı sıra toz biber, salça, közleme, sos, turşu ve ana yemeklerin içerisinde çok değişik şekillerde değerlendirilmektedir (Keleş, 2007). Ayrıca özellikle acı biberlerden elde edilen biber suyu sanayide geniş ölçüde kullanılmaktadır (Vural ve ark., 2000). Biber insan sağlığı açısından da önemlidir. A, B, C ve E vitaminleri içermekte ayrıca antioksidan özelliği bulunmaktadır. Bibere acılığını veren capsaicin (C₁₈H₂₇O₃N), mide ve barsak hareketlerini arttırarak hazmı kolaylaştırır ve emilimi teşvik etmektedir (Şalk ve ark, 2008).

Biberin dünya üretimi yaklaşık 31 milyon ton/yıl, Türkiye üretimi ise yaklaşık 2.1 milyon ton/yıl olup ölkemiz sebze üretiminde domates, karpuz, soğan, kavun ve hıyardan sonra 6. sırada yer almaktadır. Türkiye dünya biber üretiminde bazı yıllar Çin'den sonra ikinci sırada, bazı yıllarda ise Endonezya ile yer değiştirerek dördüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2013). Orta Anadolu Bölgesinin sivri biber üretimi 5.950 da alanda 6.058 ton ve Kayseri ilinin sivri biber üretimi ise 598 da alanda 353 tondur (TUİK, 2014).

Ölkemiz için önemli genetik kaynaklardan bir tanesi de Kayseri ili ve çevresinde yetiştiriciliği yapılan ve Cırgalan biberi olarak adlandırılan standart biber

çeşididir. Cırgalan biberi, bayrak kırmızısı renkte, yaklaşık 7 cm boyunda ve dört burunludur. Özellikle Kayseri ve civarı illerin biber üretimini Cırgalan biberi oluşturmaktadır. Cırgalan biberi kurutulduktan sonra toz biber olarak tüketilmektedir. Özellikle Kayseri yöresinde baharat piyasasında hatırı sayılır değere sahiptir. Üretim miktarı az olduğundan dolayı baharatçılar tarafından Cırgalan biberinin yerine başka bölgelerden biber getirilerek toz biber olarak satıldığı beyan edilmektedir. Cırgalan biberi kaliteli olmasına rağmen zamanla verimlilik oldukça düşmüş aynı zamanda bölgede olmayan hastalık ve zararlıların bölgeye girmesiyle üretim oldukça sınırlı alana sıkışmıştır. Ayrıca kalite ve verimdeki bu düşüş yerel Cırgalan biberinin zamanla üretilmez hale geleceğine işaret etmektedir.

Son yıllarda ölkemizde F1 hibrit çeşitlerle yetiştiriciliğe hızlı bir geçiş olmuş ve standart tohumla yerli biber üretimi lokal alanlarda kalmıştır. Ölkemizde yerli tohumculuğun hız kazanmasıyla hem standart hem de F1 hibrit tohum için yerel çeşitlerin kullanımı da hız kazanmıştır. Bu iş için önce yerel genetik kaynakların toplanarak karakterize edilmesi ardından standart çeşit olarak bazı olumsuzlukların giderilmesi amacıyla ıslah edilmesi gerekmektedir. Islah çalışmalarında ise ilk adım karakterizasyondur. Bu çalışmada Kayseri ili merkez ve ilçelerinden temin edilen farklı Cırgalan biberi genotipinin ISSR marker sistemi ile karakterizasyonu amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada bitkisel materyal olarak Kayseri merkez ve ilçelerinden morfolojik özellikler bakımından farklılık gösteren toplam 16 adet Cırgalan biber genotipi kullanılmıştır. Tohumlar 3:1 torf:perlit ortamında çimlendirilmiş ve iki yapraklı aşamaya geldiğinde seraya transfer edilmiştir.

DNA İzolasyonu

Serada yetiştirilen 16 biber genotipine ait taze yaprak örneklerinde toplam genomik DNA Doyle ve Doyle (1990) protokolüne göre elde edilmiştir. DNA kalitesi spektrofotometre ve agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuş çalışmaya uygun oldukları görülerek muhafazaya alınmıştır.

PCR Aşaması

Araştırmada testleme sonucunda skorlanabilir band kalitesi bakımından başarılı bulunan 16 ISSR primeri kullanılmıştır. PCR reaksiyonu için hacim 15 µl olarak hazırlanmıştır; 7.15 ml distile su, 1.5 ml 10 x DNA polimerase buffer, 1.2 ml dNTPs (2.5 mM), 1 ml

primer (5 mM), 0.15 ml Taq Polymerase (10 u/ ml) ve 20 ng DNA. Hazırlanan PCR karışımı 16 ISSR primeri kullanılarak analiz edilmiştir. Bio-Rad C1000 Thermal Cycler PCR cihazına yerleştirilip 94°C' de 3 dakika süreyle bir denatürasyon yapıldıktan sonra 45 döngü olacak şekilde 94°C' de 30 saniye, 55°C' de 45. saniye, 72°C' de 2 dakika tutulmuştur. Son olarak PCR karışımı 72°C' de 5 dakika uzama safhası gerçekleşmiştir.. PCR aşaması sonrasında elde edilen ürünlerin görüntülenmesi amacıyla %2 'lik agaroz jel (Sigma Agarose) hazırlanmıştır. PCR reaksiyonlarından elde edilen ürünler agaroz jelde ve Tris borik asit EDTA (TBE) tampon solüsyonu içerisinde elektroforez yöntemiyle ayrılmıştır. Daha sonra ethidium bromide ile boyanıp, ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir.

Sonuçların değerlendirilmesi

Jel elektroforezi ve görüntüleme işlemleri sonucunda elde edilen görüntülerdeki bantlar varlığında bir (1), yokluğunda sıfır (0) ve amplifikasyonun görülmediği durumlarda dokuz (9) şeklinde skor edilerek kayıt altına alınmıştır. Elde edilen veriler NTSYS

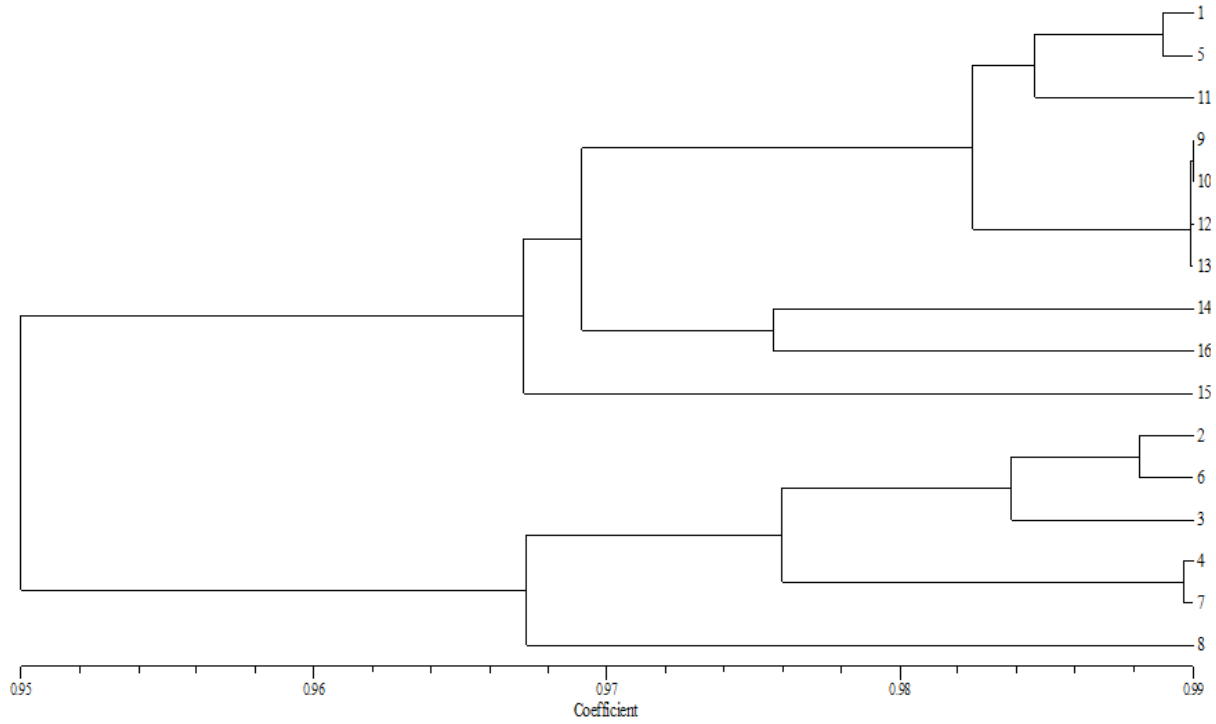
(Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.11, Exeter Software, Setauket, N.Y. USA,) bilgisayar paket programında analiz edilmiş ve dendrogram elde edilmiştir. Yapılan analizlerle çalışmada kullanılan biber genotipleri arasındaki varyasyon ve benzerlik düzeyleri tespit edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

16 biber genotipinde 16 ISSR primeri ile yapılan inceleme sonunda 12 primerde polimorfizm elde edilmiştir. Primer başına ortalama 6.69 bant elde edilirken 4 primerde polimorfik bant elde edilememiştir. Toplam bant sayısı 107 ve polimorfizm oranı %21.5 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Elde edilen UPGMA dendrogramına göre tüm genotiplerde benzerlik oranı %95 olarak belirlenmiştir. Birbirine en yakın 9. 10. 12. ve 13. genotipler olmuşlardır (Şekil 1). İki ana küme olduğu, ilk kümede 10, diğer kümede ise 6 genotipin yer aldığı belirlenmiştir. En düşük benzerlik katsayısı (0.91) 2. ile 14. genotipler ve 3. ile 15. genotipler arasında bulunmuştur (Çizelge 1).

Çizelge 1. Moleküler ölçümler

ISSR Primeri	Band Sayısı	Polimorfik Band	Polimorfizm (%)	
1	CAC3GC	5	2	40
2	CAC6	3	0	0
3	HVHTCC7	7	4	57
4	CA6AC	5	0	0
5	AG8T	10	2	20
6	CA8R	8	1	12.5
7	VHVG7G7	6	1	17
8	CT8TG	6	1	17
9	GACA4	4	1	25
10	HVHCA7	11	2	18
11	AG7YC	7	0	0
12	AGC6G	6	3	50
13	GAA6	9	2	22
14	TAA8GT6GG	7	0	0
15	TCC5RY	5	2	40
16	DBDACA7	8	2	25
Toplam		107	23	21.5



Şekil 1. 16 ISSR primerine göre 16 biber genotipi üzerinde upgma metoduna göre oluşturulan dendrogram.

Çizelge 2. 16 ISSR primerine göre 16 cırgalan biberi genotipi arasındaki benzerlik katsayıları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	1.00															
2	0.95	1.00														
3	0.96	0.98	1.00													
4	0.97	0.97	0.98	1.00												
5	0.99	0.95	0.95	0.96	1.00											
6	0.95	0.99	0.98	0.98	0.96	1.00										
7	0.96	0.96	0.98	0.99	0.95	0.97	1.00									
8	0.97	0.96	0.97	0.96	0.97	0.97	0.96	1.00								
9	0.98	0.95	0.95	0.97	0.99	0.95	0.96	0.97	1.00							
10	0.98	0.95	0.94	0.96	0.99	0.95	0.95	0.96	0.99	1.00						
11	0.98	0.94	0.95	0.97	0.99	0.95	0.96	0.97	0.99	0.98	1.00					
12	0.97	0.95	0.94	0.96	0.98	0.95	0.95	0.96	0.99	0.99	0.98	1.00				
13	0.98	0.94	0.94	0.96	0.99	0.94	0.95	0.96	0.99	0.99	0.98	0.99	1.00			
14	0.95	0.91	0.92	0.93	0.95	0.92	0.93	0.94	0.96	0.97	0.95	0.97	0.97	1.00		
15	0.96	0.92	0.91	0.93	0.96	0.92	0.93	0.93	0.96	0.97	0.95	0.97	0.97	0.96	1.00	
16	0.97	0.93	0.94	0.94	0.98	0.93	0.94	0.96	0.98	0.98	0.97	0.98	0.99	0.97	0.97	1.00

Capsicum türlerinde genetik çeşitlilik çalışmaları için farklı moleküler markır yöntemleri kullanılmıştır. Mikrosatellit ya da SSR (simple sequence repeats) markırları ile (Minamiyama ve ark, 2006; Nagy ve ark, 2007; Portis ve ark, 2007; Pacheco-Olvera ve ark, 2012; Stágel ve ark, 2009; Rai ve ark, 2013; Dhaliwal ve ark, 2013), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) primerleri ile (Costa ve ark, 2005; Adetula 2006; Kumar ve ark, 2006; Oyama ve ark, 2006; Rego ve ark, 2010; Bhadrageoudar ve Patil 2011), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

markırları ile (Aktaş ve ark, 2009; Guzman ve ark, 2005), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) markırları ile (Lefebvre ve ark, 1993) birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada da kullanılan ISSR markır sistemi *Capsicum* türlerinde genetik çeşitlilik için belirleyici olduğu için birçok çalışmada kullanılmıştır (Kumar ve ark, 2001; Kochieva ve ark, 2004; Yang ve ark, 2005; Patel ve ark, 2011; Lijun ve Xuexiao, 2012; Thul ve ark, 2012; Ahmed, 2013; Gaikwad ve ark, 2013; Rana ve ark, 2014). Rana ve ark. (2014), tarafından 24 biber genotipinde 12 ISSR

primeri ile genetik karakterizasyon çalışması yapılmıştır. Toplam 59 banttan 29'u polimorfik bulunmuştur. Primerlerden ikisi dışında kalanları polimorfizm göstermiş olup polimorfizm oranı % 49.15 olarak belirlenmiştir (Rana ve ark, 2014). Yine 30 biber genotipinde yapılan bir başka çalışmada ise kullanılan 4 ISSR primeri ile polimorfizm %100 olarak belirlenmiştir (Gaikwad ve ark, 2013). Lijun ve Xuexiao, (2012)'nin yaptığı çalışmada 5 kültür biberi 13 ISSR markırı ile taranmış ve %75 oranında polimorfizm bulunmuştur. ISSR markırlarının biber genetik çeşitliliğini belirlemede iyi bir araç olduğu belirtilmiştir. Patel ve ark. (2011)'nin yaptıkları bir çalışmada 13 biber genotipi kullanılmıştır. SSR ve ISSR primerinin kullanıldığı çalışmada 5 ISSR primeriyle elde edilen 204 bandın 139'u polimorfik olduğu belirlenmiştir Yang ve ark, (2005)'nin yapmış olduğu çalışmada 12 ISSR primerini kullanarak 11 doğal biber genotipini karşılaştırmışlardır. Elde edilen 66 banttan 26'sı polimorfik bulunmuş ve polimorfizm oranı %39,4 olarak belirlenmiştir. 6 tane biber (*Capsicum annuum* L.) genotipi arasındaki farkı belirlemek için yapılan çalışmada 58 adet SSR markırı ile 83 adet allel belirlenmiştir. Bazı bantların biber için spesifik olabileceği ve çeşit ayrımında kullanılabilmesi tespit edilmiştir (Dhaliwal ve ark, 2013). 10 adet RAPD primeri kullanılarak 29 adet acı biber genotipi arasındaki genetik ilişki belirlenmiştir. Çalışılan primerlerden 8 tanesi ile polimorfik bant elde edilmiştir (Rego ve ark, 2010). RAPD markırları kullanılarak yapılan başka bir çalışmada 70 adet *Capsicum* cinsi biber arasında tür içi ve türler arası genetik çeşitlilik belirlenmiştir (Costa ve ark, 2005). 72 biber genotipinin kullanıldığı çalışmada 17 adet SRAP kombinasyonu kullanılarak genotipler arasındaki ilişki belirlenmiştir. Analizler sonucu genotiplerin 8 farklı küme oluşturduğu belirlenmiştir (Xu ve ark, 2011).

Sonuç ve Öneriler

Kayseri ilinde yöresel olarak yetiştirilip toz biber sanayinde kullanılan aynı zamanda taze tüketimin yanında kırmızı olgunlukta hasat edilenler kurutulduktan sonra kış aylarında dolma olarak sevilerek tüketilmektedir. Ancak uzun yıllardan bu yana amatörce kendi tohumları ile üretim yapılan alanlarda üretimde verimlilik, kalite düşmüş ve aynı zamanda hastalık ve zararlıların etkisi artmış durumdadır. Özellikle arazide meyve verim ve kalitesinde oldukça önemli bir varyasyonun olduğu görülmekte ve bu çalışma ile bu varyasyon moleküler markır sistemiyle desteklenmiştir. Bu çalışmadan

elde edilen bulgular ışığında söz konusu biber genotipinin öncelikle seleksiyon ıslahı metoduyla standart çeşit olarak ıslah edilmesi ardından TSWV, nematot ve kök boğazı yanıklığı gibi hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı hale getirilene birim alandan kaliteli ve yüksek verim alınması amaçlar arasında olmalıdır.

Kaynaklar

- Adetula, O.A., 2006. Genetic diversity of *Capsicum* using random amplified polymorphic DNAs. *Afr J Biotech.* 5:120-122.
- Aktas, H., Abak, K., Sensoy, S., 2009. Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes revealed by AFLP analyses. *Afr J Biotech.* 8:4378-4386.
- Ahmed, S.M., 2013. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in the evaluation of genetic polymorphism of Egyptian *Capsicum* L. hybrids. *African Journal of Biotechnology* Vol. 12(7):665-669.
- Anonim, 2013. FAOSTAD Statistical Databases [http://www.fao.org/]
- Anonim, 2014. TÜİK Bitkisel Üretim istatistikleri [http://www.tuik.gov.tr/]
- Bhadragoudar, M.R., Patil, C.G., 2011. Assessment of genetic diversity among *Capsicum annuum* L. genotypes using RAPD markers. *Afr J Biotechnol* 10:17477-17483.
- Costa, F.R., Pereira, T.N.S., Vitória, A.P., De Campos, K.P., Rodrigues, R., Da Silva, D.H., Pereira, M.G., 2005. Genetic diversity among *Capsicum* accessions using RAPD markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 6:18-23.
- Dhaliwal, M.S., Jindal, S.K., Gaikwad, A.K. Singh, K. 2013. Genetic Diversity Analysis and DNA Fingerprinting of Elite Chilli Pepper Lines Using SSR Markers. *International Journal of Vegetable Science*, 19 (3):207-216.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. 1990. Isolation of Plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12: 13-15.
- Gaikwad, A.B., Archak, S., Gautam, D., 2013. DNA profiling of *Capsicum annuum* L. cultivars based on AFLP and ISSR markers. *Geneconserve*: 12(49): 4-12.
- Guzman, F.A., Ayala, H., Azurdia, C., Duque, M.C., de Vicen, M.C., 2005. AFLP assessment of genetic diversity of *Capsicum* genetic resources in Guatemala: home gardens as an option for conservation. *Crop Sci* 45:363-370.
- Keleş, D. 2007. Farklı biber tiplerinin karakterizasyonu ve düşük sıcaklığa tolerans. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 212s.

- Kochieva, E.Z., Ryzhova, N.N., van Dooijeweert, W., Boukema, I.W., Arens, P., 2004 Assessment of genetic relationships in the genus *Capsicum* using different marker systems. XIIth Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant. Noordwijkerhout, the Netherlands.
- Kumar, L.D., Kathirvel, M., Rao, G.V., Nagaraju, J., 2001. DNA profiling of disputed chilli samples (*Capsicum annuum*) using ISSR-PCR and FISSR-PCR marker assays. Forensic Sci. Int., 116: 63-68.
- Kumar, S., Singh, V., Singh, M., Rai, S., Kumar, S., Rai, S.K., Rai, M., 2007 Genetics and validation of fertility restoration associated RAPD markers in pepper (*Capsicum annuum* L.) Sci Hort. 111:197-202.
- Lefebvre, V., Palloix, A., Max, R., 1993. Nuclear RFLP between pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) Euphytica. 71:189-199.
- Lijun, O., Xuexiao, Z., 2012. Inter simple sequence repeat analysis of genetic diversity of five cultivated pepper species. Afr. J. Biotechnol. 11:752-757.
- Minamiyama, Y., Tsuru, M., Hirai, M., 2006. An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. Mol Breed. 18:157-169.
- Nagy, I., Stágel, A., Sasvári, Z., Röder, M., Ganal, M., 2007. Development, characterization and transferability to other Solanaceae of microsatellite markers in pepper (*Capsicum annuum* L.). Genome 50:668-688.
- Oyama, K., Verdugo, S.H., Sanchez, C., Rodríguez, A.G., Pena, P.S., Tiznado, J.A.G., Casas, A., 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from northwestern Mexico analyzed by RAPDs. Genet Resour Crop Evol. 53: 553-562.
- Pacheco-Olvera, A., Hernández-Verdugo, S., Rocha-Ramírez, V., González-Rodríguez, A., Oyama, K., 2012. Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Northwestern Mexico analyzed by microsatellite markers. Crop Sci. 52:231-241.
- Patel, A.S., Sasidharan, N., Ashish, G.V., Vinay, K., 2011. Genetic relation in *Capsicum annuum* L. cultivars through microsatellite markers: SSR and ISSR. Electr. J. Plant Breed. 2:67-76.
- Portis, E., Nagy, I., Sasvari, Z., Stágel, A., Barchi, L., Lanteri, S., 2007. The design of *Capsicum* spp. SSR assays via analysis of in silico DNA sequence, and their potential utility for genetic mapping. Plant Sci. 172:640-648.
- Rai, V.P., Kumar, R., Kumar, S., Rai, A., Kumar, S., Singh, M., Singh, S.P., Rai, A.B., Rajneesh, P., 2013. Genetic diversity in *Capsicum* germplasm based on microsatellite and random amplified microsatellite polymorphism markers. Physiol Mol Biol Plants. 19(4): 575-586.
- Rana, M., Sharma, R., Sharma, P., Bhardwaj, S.V., Sharma, M., 2014. Estimation of Genetic Diversity in *Capsicum annuum* L. Germplasm Using PCR-Based Molecular Markers. National Academy Science Letters. Volume 37, Issue 3, 295-301.
- Rego, E.R., Rego, M.M., farias-Filho, L.P., 2010. Genetic diversity in pepper (*Capsicum* spp.) by RAPD marker. In XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): III International Symposium, 341-347, Lisbon.
- Rohami, M., Mohammadi, A., Khosroshahli, M., Ahmadi, H., Darandeh, D., 2010. Karyotype Analysis of several Ecotypes of *Capsicum annuum* L. in Iran. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. 38 (3), 177-180.
- Stágel, A., Gyurján, I., Sasvári, Z., Lanteri, S., Ganal, M., Nagy, I., 2009. Patterns of molecular evolution of microsatellite loci in pepper (*Capsicum* spp.) revealed by allele sequencing. Plant Systematics and Evolution. Volume, 281(1): 251-254.
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., Polat, S., 2008. Özel sebzecilik, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 448 s.
- Tan, A., 1992. Türkiye' de bitkisel çeşitlilik ve bitki genetik kaynakları. Anadolu, J. of AARI., 2(2): 50-54.
- Tan, A., İnal, A., 2003. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü bitki genetik kaynakları çalışmaları, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayın No:112, 13s, İzmir.
- Thul, S.T., Darokar, M.P., Shasany, A.K., Khanuja, S.P.S., 2012. Molecular profiling for genetic variability in *Capsicum* species based on ISSR and RAPD markers. Mol Biotechnol., 51(2):137-147.
- Xu, X.S., Liu, Z.Q., Lin, X.D., Mou, S.L., Guan, D.Y., He, S.L., 2011. Genetic diversity and relationship analysis of pepper germplasm resources based on phenotype traits and SRAP molecular markers. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 1: 009.
- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., 2000. Kültür sebzeleri (sebze yetiştirme), E.Ü.Z.F. Bahçe Bitkileri Bölümü, Ege Üniversitesi Matbaası, 440s., İzmir.
- Yang, R., Kong, J., Wu, X., Deng, Z., Chen, Q., Liu, W., 2005. Application of ISSR markers in genetic polymorphism of *Capsicum frutescens* L. Journal of Shanghai University (Natural Science Edition), 4-20.