

***Phytophthora capsici*'ye dayanıklı bazı biber genotiplerinin SRAP ve SSR belirteçlerle genetik farklılıklarının belirlenmesi**

Münevver GÖÇMEN¹ Kazım ABAK²

¹ Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Emekli Ziraat Yüksek Mühendisi, Antalya

² Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Emekli Öğretim Üyesi, Adana

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: gocmenmunevver@gmail.com

ORCID: 0000-0002-8445-2068

Makale Bilgisi/Article Info

Derim, 2019/36(2):124-134

doi:10.16882/derim.2019.557877

Araştırma Makalesi/Research Article

Geliş Tarihi/Received: 25.04.2019

Kabul Tarihi/Accepted: 11.09.2019



Öz

Dünyada biber yetiştiriciliğini sınırlayan en önemli hastalıklardan birisi, kök boğazı yanıklığıdır. Bazı başka türlerde olduğu gibi *Capsicum annuum* L. türüne ait farklı genotiplerde de etmene karşı dayanıklılık kaynakları mevcuttur. Dayanıklılık düzeyi farklı biber genotiplerinin genetik ilişkilerinin belirlenmesi, dayanıklılık ile ilgili gen/genlerin kültür çeşitlerine aktarılması açısından önemlidir. Bu çalışmada, *P. capsici*'ye karşı dayanıklılık düzeyi ve orijini farklı 12 dayanıklı ve 4 duyarlı biber genotipin filogenetik ilişkileri SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) ve SSR (Simple Sequence Repeat) moleküler belirteçleriyle belirlenmiştir. Bunun için, 144 SRAP primer kombinasyonu ve 27 SSR primer çifti kullanılmıştır. Otuz iki SRAP primeri herhangi bir PCR ürünü vermemiştir. Elli primer kombinasyonunda yalnızca monomorfik DNA bantı oluşurken 31 primer kombinasyonu polimorfizm sağlamış toplam 254 DNA fragmenti elde edilmiş, bunların, 99'u (%39) monomorfik, 155'i (%61) polimorfik DNA bantı olarak değerlendirilmiştir. SRAP belirteçleri ile 16 biber genotipi birbirinden genetik olarak ayrılmıştır. SSR primerinin 15'i monomorfik bant oluşturmaya karşın 12 SSR primeri ile toplam 36 DNA bantı elde edilmiş bunların 33'ü (%93) polimorfik olmuştur. SSR belirteç sistemi ile 16 biber genotipinin bazıları (PM-217 KM2-11, Perennial LS-279, PBC-178, Sera Demre, PBC 179 KMAE-12) birbirinden ayrılamamıştır. SRAP ve SSR belirteç verileri birlikte değerlendirildiğinde, genotiplerin genetik ilişkisi, orijine göre kümelemesi daha bilgi verici olmuştur. *P. capsici*'ye karşı dayanıklılık genitörü olarak kullanılan CM 334'den, PM 702, Perennial, PM-217, Tayvan'da temin edilen PBC grubu (1364, 1365, 178, 179 ve 413) ile Kahramanmaraş biber popülasyonundan selekte edilen KM211 genotipleri genetik olarak farklı gruplarda yer aldığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biber; Kök boğazı yanıklığı; SRAP; SSR; Genetik ilişki

Investigation of genetic diversity of different accessions of resistance against *Phytophthora capsici* L. using SRAP and SSR markers

Abstract

Phytophthora capsici L. is one of the most important pathogens of pepper in the world. Different genetic resources that resistant to *P. capsici* have been reported so far. Determination of the phylogenetic relationships of resistant pepper genotypes is important for transferring of resistance gene/genes to cultivated varieties. In this study, 12 pepper genotypes from different accessions of resistance and 4 susceptible genotypes tested with *P. capsici* were identified genetic relationship among genotypes using 144 SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) and 27 SSR (Simple Sequence Repeat) primer combinations. 31 SRAP primers were polymorphic and yielded 254 polymorphic DNA fragments. Fifty SRAP primers were only monomorphic. However, 32 SRAP primers were not produced PCR products. Results showed that 16 pepper genotypes were genetically separated from each other by SRAP primers. Twelve SSR primers yielded total 36 DNA fragments, 33 of these were polymorphic (93%). However 15 SSR primers only produced monomorphic DNA bands. Results showed that Pepper genotypes PM-217 KM2-11, Perennial LS-279, PBC-178, Sera Demre, PBC 179 and KMAE-12 were not separated with SSR markers. When the SRAP and SSR marker data were evaluated together, the results were more informative about the genetic relationship of genotypes and clustering by origin. Findings indicated that the genotype CM 334 which is resistance resource to *P. capsici* was genetically different from PM 702, Perennial, PM-217, Taiwan's group called as PBC label (1364, 1365, 178, 179 and 413) and KM211 selected from Kahramanmaraş pepper populations.

Keywords: Pepper; *Phytophthoracapsici* L.; SRAP; SSR; Genetic relationship

1. Giriş

Biber, dünyada yaygın olarak yetiştirilen ve çok fazla tüketilen sebzelerden birisidir. 2016

verilerine göre dünyada 32.7 milyon ton, Türkiye'de ise 2.5 milyon ton biber üretimi gerçekleşmiştir. Türkiye, biber üretiminde Çin ve Meksika'dan sonra üçüncü sırada bulunmaktadır (TUİK, 2016). Biber üretimi yapılan alanlarda verim kaybına neden olan ve yetiştiriciliği sınırlayan birçok hastalık etmeni bulunmaktadır. Biber kök boğazı yanıklığı (*Phytophthora capsici* Leonian) bunların en önemlilerinden olup, biberlerde kök boğazı yanıklığı oluşturarak önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Çakır vd., 2001; Göçmen, 2006; Babadoost ve Pavon, 2013; Barchengerve vd., 2018). *Phytophthora capsici*'ye karşı mücadelede sürdürülebilir ve çevre ile uyumlu metotların başında dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi gelmektedir. *Phytophthora capsici*'ye dayanıklılık kaynakları, Güney Meksika orijinli, *C. annuum* türüne ait Criollo de Morelos 334 (CM334), PI 201232, PI 201234, PI 201237 ve PI 640532 (McGregor vd., 2011), Orta Amerika kaynaklı AC2258 (Ares vd., 2005). Hindistan kökenli 'Perennial' (Thabuis vd., 2003) ve Türkiye orijinli KM211 (Göçmen ve Abak, 2010) bildirilmiştir. CM334, *P. capsici*'ye karşı dayanıklılık düzeyi en yüksek genotip olup ayrıca bazı virüsler gibi başka patojenlere karşıda dayanıklılık sağladığı bildirilmiştir (Quirin vd., 2005; Alcantara ve Bosland, 1994; Ortega vd., 1991). Son yıllarda *P. capsici*'ye karşı ticari olarak tolerant çeşitler geliştirilmiş olmasına karşın dayanıklı ticari biber çeşitleri henüz geliştirilememiştir. Çünkü, *P.capsici*'ye dayanıklı genotipler, yabani biber formunda olup, kültürü yapılan biber çeşitlerine morfolojik olarak oldukça uzak, meyvesi küçük ve acıdır (Thabuis vd., 2004). Hastalık etmenine karşı dayanıklılığın mekanizması kompleks yapıda olup çok gen tarafından (poligenik) kontrol edilmektedir (Pochard ve Daubeze, 1980; Abak, 1982; Palloix vd., 1988; Lefebvre vd., 2002; Curtis, 2014). Ayrıca *P. capsici*'nin konukçuya özgü birçok patotip varlığı da bildirilmiştir (Hwang vd., 1995; Oelke vd., 2003; Göçmen 2006; Lee vd., 2010; Jiang vd., 2015; Barchengervd., 2017). Hastalık etmenlerine karşı dayanıklı çeşitler geliştirmek için dayanıklı bitkilerden, dayanıklılığı sağlayan allellerin, duyarlı kültür çeşitlerine aktarılması gerekmektedir. Geriye melezleme ile yabani hatlardaki dayanıklılık genlerinin kültür hatlarına aktarılması sırasında önemli oranda dayanıklılığın aktarılamadığı görülmüştür (Palloix vd., 1990). Bunun için dayanıklılık ıslahı çalışmalarında hastalık etmenine karşı farklı

dayanıklılık kaynaklarının belirlenmesi gereklidir. Dayanıklılık kaynaklarının morfolojik özelliklerinin bilinmesi, genetik yakınlığının saptanması, dayanıklılık düzeyinin ve ilgili patojene reaksiyon düzeyinin bilinmesi ıslah programları için çok önemlidir. Ayrıca farklı dayanıklılık kaynaklarından farklı gen allellerin biraraya getirilerek gen piramiti oluşturularak dayanıklılığı yüksek çeşitler geliştirebilecektir (Stuthmanvd., 2007; McGregor vd., 2011). *Phytophthora capsici*'ye karşı dayanıklılık kaynağı olarak kullanılan CM334 genotipine ve dayanıklılık düzeyi farklı diğer genotiplerin birbiriyle olan genetik ilişkisinin bilinmesi hastalığa karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirmesi biber ıslahı için önemli olacaktır. Biber genotipleri arasında genetik farklılığının belirlenmesi için Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLPs), Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLPs) (Paran vd., 1998), Random Amplified Polymorphic DNA (RAPDs) (Rodriguezvd.,1999; Ilbi, 2003) uygulanmıştır. Daha sonra, biber genom bilgilerinin artması sonucu daha spesifik primerler dizayn edilerek Simple Sequence Repeats (SSRs) (Morgante vd., 2002; Lee vd., 2004; Kwon vd., 2005; Portis vd., 2007), Sequence Specific Amplification Polymorphisms (SSAPs) (Tam vd., 2005), Sequence-Related Amplified Polymorphisms (SRAP) (Li ve Quirois, 2001; Ren vd., 2008; Bozokalfa ve Aşçıoğul, 2017), Restriction Site Amplification Polymorphism (RSAP) (Du vd., 2010) belirteçleri kullanılmıştır. Bu çalışmada, *P.capsici*'ye dayanıklılık düzeyleri farklı olan 16 adet biber genotipi arasındaki genetiksel ilişkiler SRAP ve SSR belirteçleri kullanılarak araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde 2006 yılında yürütülen çalışmada, *Capsicum annuum* ve *Capsicum frutescens* türlerine ait 16 farklı biber genotipi kullanılmıştır (Çizelge 1)

2.2. Metot

2.2.1. DNA izolasyonu

Biber tohumları, ayrı ayrı küçük çimlendirme kaplarında bulunan steril torflara ekilmiş ve

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan biber genotipleri ve *P. capsici*'ye karşı dayanıklılık durumları

No	Genotip adı	Tür adı	Temin edildiği yer	<i>P.capsici</i> 'ye karşı reaksiyon*
1	CM 334	<i>Capsicum annuum</i>	New MexicoState, ABD	Dayanıklı
2	PM 702	<i>Capsicum annuum</i>	INRA, Fransa	Dayanıklı
3	PM 217	<i>Capsicum annuum</i>	Ç.Ü.Z.F.B.B.B.	İzolata özgü dayanıklı
4	Perennial	<i>Capsicum annuum</i>	Ç.Ü.Z.F.B.B.B	İzolata özgü dayanıklı
5	Early jalapone	<i>Capsicum annuum</i>	New MexicoState, ABD	Dayanıklı
6	Cherry biber	<i>Capsicum annuum</i>	New MexicoState, ABD	Duyarlı
7	LS 279	<i>Capsicum annuum</i>	Ç.Ü.Z.F.B.B.B	İzolata özgü dayanıklı
8	PBC 1365	<i>Capsicum annuum</i>	Tayvan	Dayanıklı
9	PBC 1364	<i>Capsicum annuum</i>	Tayvan	Dayanıklı
10	PBC 178	<i>Capsicum annuum</i>	Tayvan	Dayanıklı
11	PBC 179	<i>Capsicum annuum</i>	Tayvan	Dayanıklı
12	KM2 11	<i>Capsicum annuum</i>	Ç.Ü.Z.F.B.B.B	Dayanıklı
13	KMAE 12	<i>Capsicum annuum</i>	Ç.Ü.Z.F.B.B.B	Duyarlı
14	COO 276	<i>Capsicum frutescens</i>	New MexicoState, ABD	Duyarlı
15	PBC 413	<i>Capsicum annuum</i>	Tayvan	Dayanıklı
16	Sera Demre	<i>Capsicum annuum</i>	BATEM	Duyarlı

*Biber genotiplerinin *P. capsici*'ye reaksiyonu (Göçmen 2006);

INRA; French National Institute for Agricultural Research, BATEM; Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü; Ç.Ü.Z.F.B.B.B.;Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan SRAP primeri ve dizimleri

Primer adı	Özelliği	Primerdizisi (5'-3')	Primer adı	Özelliği	Primerdizisi (5'-3')
ME1	İleri	TGAGTCCAAACCGGATA	EM3	Geri	GACTGCGTACGAATTCGA
ME3	İleri	TGAGTC CAAACCGGAAT	EM4	Geri	GACTGCGTACGAATTTGA
ME4	İleri	TGAGTCCAAACCGGACC	EM5	Geri	GACTGCGTACGAATTAAC
ME5	İleri	TGAGTCCAAACCGGAAG	EM6	Geri	GACTGCGTACGAATTCCA
ME6	İleri	TGAGTCCAAACCGGACA	EM7	Geri	GACTGCGTACGAATTCAA
ME7	İleri	TGAGTCCTTTCCGGTCC	EM8	Geri	GACTGCGTACGAATTCAC
ME8	İleri	TGAGTCCTTTCCGGTGC	EM9	Geri	GACTGCGTACGAATTCAG
ME9	İleri	TGAGTCCAAACCGGAGG	EM13	Geri	GACTGCGTACGAATTCTG
EM1	Geri	GACTGCGTACGAATTAAT	EM14	Geri	GACTGCGTACGAATTCTT
EM2	Geri	GACTGCGTACGAATTTGC	EM15	Geri	GACTGCGTACGAATTGAT

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan SSR primerleri ve dizimleri

Primer adı	Primer dizilimi (5'-3')	Primer dizilimi (5'-3')
Hpms 1-5	GACAATGTTGAAAAAGGTGGAAGAC	CCAAACGAACCGATGAACACTC
Hpms 1-148	GGCGGAGAAGAAGACTAGACGATTAGC	CCACCCAATCCACATAGACG
Hpms 1-155	ACGAGGCCCAAGCTGTTATGTC	TTGTCCCGACTCTCCATTGACC
Hpms 1-281	TGAGGCAGTGGTATGGTCTGC	CCCGAGTTCGTCTGCCAATAG
Hpms 1-172	GGGTTTGCATGATCTAAGCATTTT	CGCTGGAATGCATTGTCAAAGA
Hpms 2-45	CGAAGGTAGTTTTGGCCTTTG	TGGGCCCAATATGCTTAAGAGC
Hpms 2-24	TCGTATTGGCTTGTGATTTACCG	TTGAATCGAATACCCGAGGAG
AA840692	TGGAAGTGATTACTGGAACCATGC	GGGGTTTAGTCATGGAATCTTTTGC
AA840689	GACAACATAGCGGACCTTTGG	TGCTTTAGGTCTACGTCCTTGCAC
Hpms 2-13	TCACCTCATAAGGGCTTATCAATC	TCCTTAACCTTACGAAACCTTGG
Hpms 1-173	TGCTGGGAAAGATCTCAAAGG	ATCAAGGAAGCAAACCAATGC
Hpms 1-117	ACCCAAATTTGCCTTGTGAT	AATCCATAACCTTATCCATAAA

çimlendirme dolabında 27°C'de çimlendirilmiştir. Tohum ekiminden 20 gün sonra oluşan genç bitkilerin yaprakları pens ile kopartılarak eppendorf tüplere alınmıştır. DNA izolasyonu, 0.5 g taze yaprak dokusundan, DNA izolasyon kiti (Promega Wizard Genomic DNA Purification, Oslo/Norveç) kullanılarak yapılmıştır.

2.2.2. SRAP ve SSR primerleri

Çalışma kapsamında 9 adet ileri (forward) ve 16 adet geri (reverse) SRAP primeri kullanılmıştır (Çizelge 2). Bu SRAP primerleri ile 144 adet primer kombinasyonu oluşturularak PCR yapılmıştır. SSR belirteçleri olarak, Lee vd. (2004), tarafından *C. annuum* ve *C. chinense* melezinin genetik haritalama çalışması sonucu geliştirilen 27 primer kullanılmıştır (Çizelge 3).

2.2.3. PCR reaksiyonu

SRAP ve SSR PCR çalışmaları 25 µl'lik toplam hacimde; 10-25 ng genomik DNA 1U Taq DNA polimeraz enzimi (Promega), 50 mM MgCl₂, 5 mM dNTPs, ve 25 µM ileri ve geri primerler kullanılmıştır. SRAP primer kombinasyonları için DNA sentezleme protokolü; ilk 5 döngüde, 94°C'de 1 dk, 35°C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk; sonraki 35 döngü, 94°C'de 1 dk, 50°C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk ve son döngü ise 72°C'de 10dk olarak gerçekleştirilmiştir. SSR primerleri ile PCR çalışmasında, iki farklı PCR programı kullanılmıştır. 1. Program: İlk döngü, 94°C'de 3 dk, 30 döngü; 94°C'de 1 dk, 55°C'de 1 dk. 72°C'de 2 dk ve 72°C'de 10 dk ve 2. Program: İlk döngü, 94°C'de 3 dk sonraki 30 döngü; 94°C'de 1 dk, 50°C'de 1 dk, 72°C'de 2 dk ve 72°C'de 10 dk olarak yapılmıştır.

SSR ve SRAP PCR ürünleri, %3'lük agaroz jelde (Agarose SFR, AMBRESKO) 100 V'da 3.5 saat yürütülmüş ve ethidiumbromide ile boyanarak UV ışığında, görüntüleme cihazı (Kodak GelLogic 200) kullanılarak fotoğraflanmıştır.

2.2.4. Verilerin değerlendirilmesi

DNA bantların değerlendirilmesinde, DNA bantı varsa "1" yoksa "0" olarak skorlama yapılmıştır. Elde edilen bant verileri, NTSYS-pcversion 2.0 (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System) programında değerlendirilmiştir (Rohlf, 2000, State University of New York, Stony Brook, NY). Genotipler arasındaki genetik benzerlik indeksleri, Dice (1945)'e göre NTSYS-pc programı içerisindeki UPGMA (unweighted pair-group method algorithm)'daki kümelendirme (cluster) analiz (SAHN) kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca, temel koordinat analizi (PCO) aynı programda gerçekleştirilmiştir. PIC (Polymorphism Information Content) değerleri, Smith vd. (1997)'nin ortaya koyduğu, $PIC=1-\sum f_i^2$ formüle göre hesaplanmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Phytophthora capsici'ye karşı dayanıklılık düzeyi farklı 16 biber genotipi aralarındaki genetik ilişkiyi belirlemek amacıyla, 144 SRAP primer kombinasyonu kullanılmıştır. Bunların 32 tanesi PCR ürünü vermemiş, 81 kombinasyon ise 1-3

arasında değişen monomorfik DNA fragmentleri oluşmuştur. 31 primer kombinasyonu ise polimorfik DNA bantları vermiştir (Çizelge 4). Bu 31 primer kombinasyonundan 250-1600 bp arasında 3 ile 15 arasında değişen, toplam 254 DNA bandı sayılmıştır. 8 primer kombinasyonunda (me5/em8, me3/em6, me9/em14, me4/em6, me4/em7, me3/em7, me9/em2, me1/em3) 10-15 adet DNA bandı gözlemlenmiştir. me3/em6 primer kombinasyonunda, toplam 15 adet DNA fragmentinin 13'ünün polimorfik olduğu görülmüştür. me5/em9, me7/em5 primer kombinasyonları polimorfik fragment vermesine karşılık yalnızca 3 adet DNA bandı oluşmuştur. *C. frutescens* türüne ait COO 276 genotipi ile, *C. annuum* türüne ait 15 genotipinden elde edilen DNA bantlarının 99'u (%39) monomorfik ve 155'i (%61) polimorfik olup genotip başına, 6.1 monomorfik, 9.68 polimorfik ve ortalama 15.87 DNA fragmenti değerlendirilmiştir. Bu veriler ışığında, ortalama primer başına 8,18 bant ve 5 polimorfik bant elde edilmiştir. Polimorfik DNA fragment oranı, %33 (me7/em5 ve me8/em5) ile %100 (me4/em2) arasında değişmiş olup ortalama %60.77 bulunmuştur (Çizelge 4).

Otuz bir SRAP primer kombinasyonunun PIC değerleri ortalama 0.41 olup 0.15 (me4/em6) ile 0.71 (me7/em3) arasında değişim göstermiştir. Hildebrand vd. (1992) PIC değeri 0.7 ve üzerinde ise yüksek düzeyde bilgi verici, 0.44'ün altının ise düşük düzeyde bilgi verici olduğunu bildirmektedirler. Buna göre PIC değeri, 0.15-0.27 arasında olan 6 primer kombinasyonu (me1/em3, me4/em6, me4/em7, me5/em2, me9/em4 ve me8em5) oldukça düşük bilgi verici olarak değerlendirilmiştir. Aynı zamanda, bu primerlerin, me5/em2 hariç diğer 5 tanesinde polimorfizm DNA fragment oranı %50'nin altında bulunmuştur. Polimorfizm oranı %80'nin üzerinde olup aynı zamanda PIC değeri 0.71-0.68 olan me7/em3 ve me7/em13 primerleri yüksek bilgilendirici özellikte olduğu görülmüştür. Çalışmada SRAP moleküler verileri kullanılarak dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 1). Genotipler arasında genetik yakınlık, 0.69 (*C. annuum* ve *C. frutescens* türleri arasında) ile 0.96 (PM702 ile Sera Demre genotipleri arasında) arasında değişim göstermiştir. PM702 ve Sera Demre genotipleri, orijin olarak (Meksika ve Türkiye) birbirinden oldukça uzak ayrıca *P. capsici*'ye dayanıklı ve duyarlı genetik kaynaklardır.

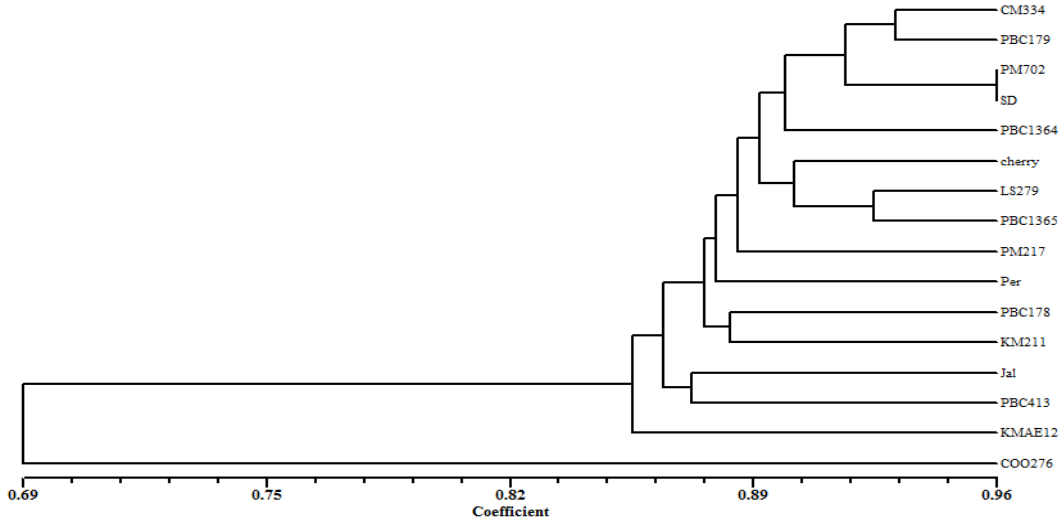
Çizelge 4. 31 SRAP primerleriyle elde edilen DNA fragment sayısı, polimorfizm oranı ve PIC değerleri

Primer kombinasyonu	Monomorfik fragment sayısı	Polimorfik fragment sayısı	Toplam fragment sayısı	Polimorfizm oranı (%)	PIC
me1/em3	6	4	10	40	0.27
me1/em4	4	3	7	43	0.40
me3/em7	7	7	14	50	0.43
me3/em6	4	11	15	73	0.54
me4/em1	1	6	7	86	0.42
me4/em2	0	6	6	100	0.59
me4/em3	2	4	6	67	0.53
me4/em4	2	5	7	71	0.39
me4/em6	4	3	7	43	0.15
me4/em7	6	5	11	45	0.21
me4/em15	4	5	9	56	0.54
me5/em2	3	6	9	67	0.27
me5/em4	2	4	6	67	0.42
me5/em8	4	8	12	67	0.38
me5/em9	1	2	3	67	0.39
me6/em2	2	4	6	67	0.47
me6/em3	3	4	7	57	0.44
me7/em3	1	7	8	88	0.71
me7/em5	2	1	3	33	0.33
me7/em6	5	4	9	44	0.34
me7/em7	3	7	10	70	0.47
me7/em8	2	1	3	33	0.33
me7/em13	1	6	7	86	0.68
me8/em5	6	3	9	33	0.26
me8/em6	4	5	9	56	0.43
me8/em7	4	4	8	50	0.42
me9/em2	4	9	13	69	0.58
me9/em3	3	4	7	57	0.43
me9/em4	5	4	9	44	0.26
me9/em8	1	6	7	86	0.36
me9/em14	3	7	10	70	0.45
Toplam/oran	99 (%39)	155 (%61)	254 (%100)		
Ortalama	3.19	5.00	8.19	60.77	0.41

Capsicum annuum türüne ait 15 genotipin yer aldığı kümelemede, genetik benzerlik oranı 0.80 ile 0.96 arasında olup iki alt gruba ayrılmıştır. 1. alt kümede; CM334, PBC179, PM702, Sera Demre, PBC1364, Cherry meyve tipindeki biber hattı ile LS279 ve PBC1365 genotipleri, 2. alt kümede; PM217, Perennial, PBC178, KM211, Jalopen, PBC413 ve KMAE12 genotiplerinin genetik yakınlığı 0.80 ile 0.89 arasında olmuştur. Kahramanmaraş biber popülasyonundan selekte edilen KM211 ile KMAE12 genotipleri aynı alt grupta yer almıştır. Ayrıca CM334'den geliştirilen PM702 ve LS279 genotiplerinin kümeleneşinde aynı olmuştur. Buna karşılık genotiplerin *P.capsic*'ye dayanıklılık durumu göz önüne alındığında, *P.capsic*'ye dayanıklılık düzeyi en yüksek olan CM334 ile PBC178 ve PBC413 genotipleri iki farklı alt grupta yer almışlardır.

SRAP belirteçler, genotipleri orijinlerine göre gruplandırma yapmasına karşılık dayanıklılık

yönünden kümelemede yetersiz kalmıştır (Şekil 1). 27 SSR primer ile yapılan PCR sonucunda, 15 primerde yalnızca monomorfik DNA bantı oluşturmuştur. Buna karşılık, 12 primer(Hmps 1-5, Hmps 1-117, Hmps 1-148, Hmps-1-155, Hmps 1-172, Hmps 1-173, Hmps 1-281, Hmps 2-13, Hmps 2-24, Hmps 2-45, AA-689, AA-692,) polimorfik fragment vermiştir. Toplam 36 DNA fragmenti elde edilmiş ve 33'ü polimorfik (%93) olarak belirlenmiştir (Çizelge 5). Her primer için ortalama 3 DNA bantının, 2.75 polimorfik DNA fragmenti olduğu görülmüştür. 16 biber genotipi gözönüne alındığında ortalama 2.25 fragmentin 2.06'nın polimorfik olduğu belirlenmiştir. 12 SSR primerin PIC değerleri, 0.34 (Hmps 1-117) ile 0.83 (Hmps 1-173) arasında ve ortama ise 0.63 düzeyinde olmuştur. Hmps 1-148, Hmps 1-5 ve Hmps-1-155 primerlerinde PIC değerleri sırasıyla 0.74, 0.72 ve 0.71 olmuş ve bu primerlerin oldukça yüksek bilgi verici olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5).



Şekil 1. 254 SRAP belirteciyle 15 *C.annuum* ve 1 *C.frutescens* biber genotipinin oluşturduğu kümeleme

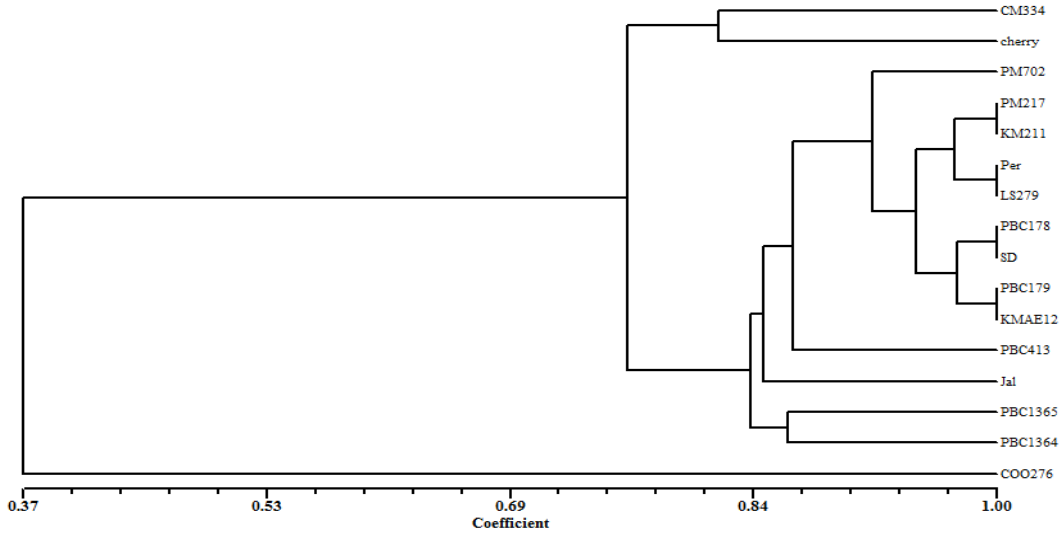
Çizelge 5. On iki SSR primerleriyle biber genotiplerinde elde edilen DNA fragment sayısı, polimorfizm oranı ve PIC değerleri

Primer Adı	Toplam fragment (bp)	Polimorfik fragment (bp)	Polimorfizm oranı (%)	PIC
Hpms 1-5	290, 300, 311	290, 300, 311	100	0.72
Hpms 1-148	175, 190, 195, 210, 230	175, 190, 195, 210, 230	100	0.74
Hpms 1-155	200, 210, 215	200, 210, 215	100	0.71
Hpms 1-281	130, 135, 150	135, 150	66	0.63
Hpms 1-172	325, 330, 345, 360	325, 330, 360	75	0.54
Hpms 2-45	140, 150	140, 150	100	0.59
Hpms 2-24	205, 220	205, 220	100	0.63
AA840692	200, 215	200, 215	100	0.62
AA840689	270, 295	270, 295	100	0.59
Hpms 2-13	260, 295	260, 295	100	0.63
Hpms 1-173	165, 180, 185, 200	165, 180, 185, 200	100	0.83
Hpms 1-117	190, 200, 215, 240	200, 215, 240	75	0.34
Toplam	36	33	-	-
Ortalama primer	3	2.75	93	0.63
Ortalama genotip	2.25	2.06		

Kwon vd. (2005), 66 biber genotipini 27 SSR primer kombinasyonu ile analiz etmeleri sonucu, PIC değerlerinin 0.03 ile 0.88 arasında değiştiği ortalama 0.52 olduğu bildirilmiştir. Bizim sonuçlarla uyumluluk gösterdiği dikkati çekmiştir.

SSR moleküler verilerine göre de bir dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 2). *Capsicum annuum* ile *C. frutescens* türleri arasında genetik uzaklık SRAP belirteçlerle elde edilene göre daha fazla (0.37) bulunmuştur. *C.annuum* türü içinde olan 15 genotipin genetik uzaklığı 0.76 ile 1.0 arasında olmuştur (Şekil 2). PM-217 ve KM2-11, Perennial ve LS-279, PBC-178 ve Sera Demre, PBC-179 ve KMAE-12 genotiplerinin genetik

benzerlik oranları 1.0 olmuş ve birbirinden ayıramamışlardır. Kümeleme analizi sonucu, çalışmadaki 16 genotip iki ana gruba ayrılmıştır. 1. ana grupta yalnızca *C. frutescens* (COO-276) türü yer almıştır. 2. ana grup; *C. annuum* türüne ait genotiplerin bulunduğu 3 alt gruptan oluşmuştur. 1. alt grupta; genetik uzaklık 0.81 düzeyinde olup CM-334 (dayanıklılık düzeyi yüksek) ve Cherry biber (*P. capsici*'nin agresif izolatlarına duyarlı) yer almıştır. 2. alt grupta, genetik uzaklığı 0.92 düzeyinde olup, PM-702 genotipi ile birbirinden genetik olarak ayıramayan ve *P.capsici*'ye karşı orta düzeyde dayanıklı olan PM-217, KM2-11, Perennial ve LS-279 genotipleri kümelmiştir. Ayrıca PBC-178 (R) ve Sera Demre (S) ile PBC-179 (R) ve KMAE-12 (S) genotipleri yer almıştır.



Şekil 2. Polimorfik DNA fragmanı oluşturan 12 SSR belirteciyle 15 *C. annuum* ve 1 *C. frutescens* biber genotipinin oluşturduğu kümeleme analizi.

3. alt grup, Jalopeno (PBC-413 ve Early Jalopene) ve PBC-1364 ile PBC-1365 genotipleri içermekte ve 4 genotip de *P. capsici*'ye karşı dayanıklılık göstermektedir.

SSR moleküler belirteçler, *P. capsici*'ye dayanıklılık düzeyi farklı genotiplerin bazılarını kümeleme yapmıştır. Kahramanmaraş biber popülasyonundan selekte edilen KMAE-12 (S) ve KM2-11 (R) genotipleri farklı gruplarda yer almıştır. Buna karşılık, çalışmada, *P. capsici*'ye karşı duyarlı olan Sera Demre, KMAE-12, Cherry biber ve COO-276 genotipleri ayrı gruplara düşmüştür. Jalopeno grubuna ait olan ancak farklı kaynaklardan (PBC 413, Tayvan'dan; Early Jalopeno, ABD'den) temin edilen iki genotip hem SRAP hem de SSR belirteçleri ile analiz edildiğinde kümeleri aynı olmuştur.

SRAP ve SSR moleküler belirteçler karşılaştırıldığında; toplam DNA fragmenti SRAP'de daha fazla (254 fragment) ancak polimorfik DNA fragment oranı %60.77 olmuştur. Buna karşılık SSR'da ise toplam DNA bant sayısı daha düşük (36), polimorfik DNA bant oranı %93 gibi yüksek seviyelerde bulunmuştur. SRAP ve SSR primerlerin polimorfik DNA fragment oluşturan gruplarının seçilip çalışmaya bu primerlerle devam edilmesi, polimorfik DNA bant oranını arttırdığı düşünülmektedir. Du vd. (2010), acı biber genotiplerinde genetik ilişkiyi belirlemek için uyguladıkları SRAP, SSR ve RSAP moleküler

belirteçlerde, SRAP'ın polimorfik fragment oranını %29.6, SSR'de %51.2, RSAP'da ise %91 olduğunu, SSR ve RSAP tekniklerinin esasta aynı olduğu bildirilmiştir. Bozokalfa vd. (2017), 94 yerel biber genotipinin birbirlerine olan genetik uzaklıklarının 33 SRAP primer kombinasyonu ile belirlenmiş, varyasyonun %85 olduğunu, nedeninin farklı tipteki yerel biber popülasyonlardan kaynaklandığını bildirmişlerdir.

PIC değerleri yönünden SRAP ve SSR moleküler uygulamalar ele alındığında, ortama PIC değeri sırasıyla 0.41 ve 0.63 olmuştur. Kwon vd. (2005) biber çeşitlerinin stabilitesini ortaya koymak için SSR tekniğini uyguladıklarında çalıştıkları 66 biber genotipinde PIC değerini 0.52 olarak belirlemişlerdir. Dato vd. (2014), biberde acılık genini haritalamak için SSR tekniğini kullanmışlar ve PIC değerinin ortalama 0.53 olduğunu, PIC değeri en yüksek olan SSR primerlerle haritalama çalışmasına devam ettiklerini bildirmişlerdir.

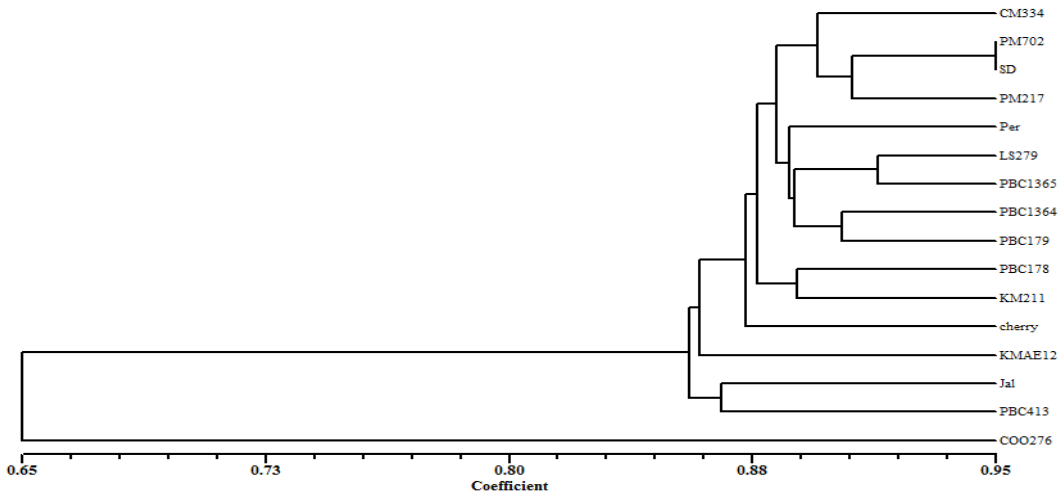
Çalışmada, SRAP ve SSR belirteçler, *C. annuum* türü içerisindeki genotipler arasında genetik uzaklığı sırasıyla, 0.82-0.94 ve 0.70-1.00 olarak ortaya koymuştur. Rodriguez vd. (1999)'nın RAPD belirteç sistemi kullanarak 6 biber türü ile yaptıkları çalışmada türler arasında genetik uzaklığı 0.00- 0.92 arasında değiştiğini ve ortalama 0.47 olduğunu göstermişlerdir. SSR belirteç sistemi ile iki

Capsicum türü arasındaki genetik uzaklığın RAPD belirteç ile elde edilenden daha fazla olması SSR belirteçlerin biber genom bilgilerinden elde edilmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Hwang vd. 2000). Rodriguez vd. (1999)' *C. annuum*'a ait 100 çeşit ile yaptıkları RAPD analizinde genetik uzaklığı 0.35 olarak bildirmişlerdir. Paran vd. (1998) ise *C.annuum* türü içerisinde genetik uzaklığın çok az (0.93) olduğunu belirtmişlerdir.

SRAP ve SSR moleküler belirteçler ile elde edilen kümeleme ve genetik uzaklık farklılığı, iki tekniğin genomda ayrı bölgelerdeki DNA farklılığını belirlemelerinden kaynaklanmış olacağı düşünülmektedir. SRAP belirteçler, ORF (Open Reading Frame) bölgesindeki nükleotid polimorfizimini, SSR genomda dağılım gösteren tekrarlı nükleotid bölgelerdeki nükleotid farklılığını ortaya koymaktadır (Li ve Quiros, 2001). SRAP belirteçleri, biber genotiplerinin genetik olarak ayırımında daha bilgi verici olmasına karşı *P.capsic*'ye karşı dayanıklı/duyarlı genotip kümelemesinde yetersiz olmuştur. Buna karşılık, SSR kümeleme analizi için daha uygun bulunmuştur. Biber genomunda en fazla bulunan SSR motifi diğer bitkilerde daha az bulunan TTG'dir. İki TTG klonunun, polimorfizm belirlemede daha etkin olduğu bildirilmiştir (Morgante vd., 2002). Bu çalışmada, TTG motif yapısına sahip olan üç SSR primerinden (Hpms 1-281, Hpms 2-23, Hpms 2-45) ikisinin polimorfik SSR olarak belirlenmiş olması önceki çalışmayı desteklemiş ve onunla uyumlu bulunmuştur. Du vd. (2010)

yaptıkları acı biber genotiplerin kümeleme analizinde, SSR ve RSAP belirteçlerin SRAP tekniğine göre daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. Dato vd. (2015) 59 biber genotipinde acılık ve dayanıklılık genleri içeren genotiplerin kümeleme analizi için 24 SSR primer ile yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

SRAP ve SSR moleküler belirteç DNA fragment verileri birlikte UPGMA kümeleme analizi ile genetik benzerlik dendrogramı yapılmıştır (Şekil 3). Dendrogram ve benzerlik indeksi arasındaki kofenetik korelasyon katsayısı (Cophentetic Correlation Coefficient) $r=0.97$ bulunmuş ve aralarında çok güçlü bir ilişkinin olduğu belirlenmiştir. On altı biber genotipi genetik olarak birbirlerinden ayrılmıştır. Genetik uzaklık 0.56-0.96 arasında değişmiştir. *Capsicum annuum* ile *C. frutescens* türleri arasında genetik uzaklık 0.56 olarak belirlenmiştir (Şekil 3). Buso vd. (2003)' nın yapmış oldukları farklı türlerdeki RAPD çalışmasında her iki tür arasındaki genetik uzaklığı 0.51 olarak belirlediklerini, her iki türün aynı grupta yer aldıklarını ve bu iki türün diğer *Capsicum* türlerine göre genetik olarak daha yakın olduklarını bildirmişlerdir. *Capsicum annuum* türü içinde genotiplerin genetik uzaklığı, 0.86 ile 0.95 (PM702 ve Sera Demre) arasında olmuştur. *Phytophthora capsic*'ye karşı dayanıklılık kaynağı olarak kullanılan CM334 genotipi, PM702, Sera Demre ve PM217 genotiplerine diğer genotiplere göre genetik olarak daha yakın (0.90) bulunmuştur.

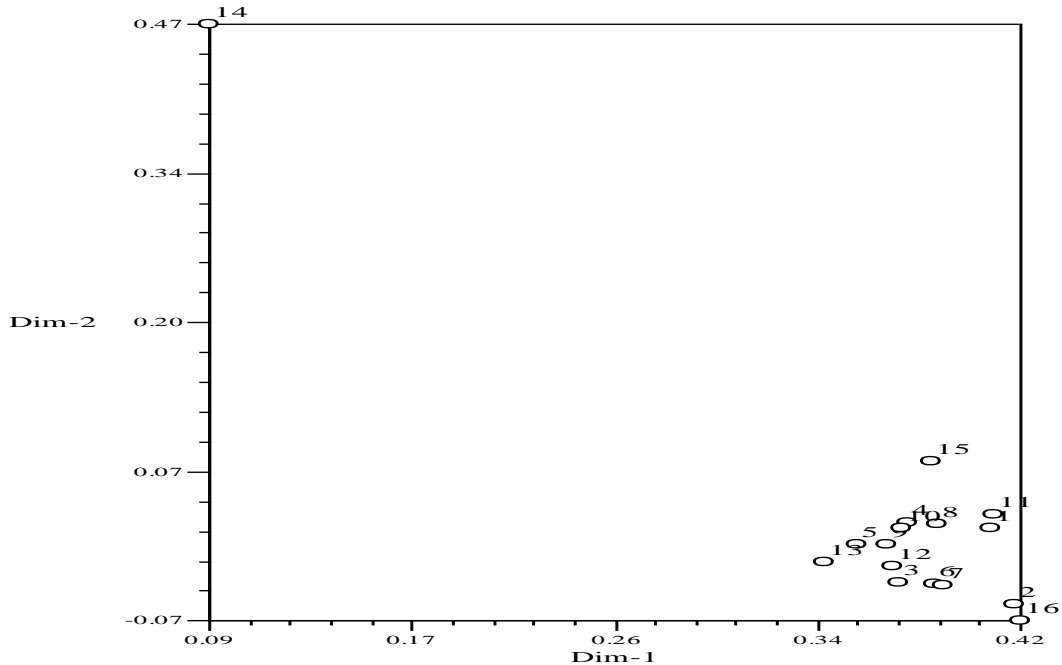


Şekil 3. 31 SRAP ve 12 SSR belirteçlerin DNA fragment sonuçlarının birlikte değerlendirilmesiyle 15 *C.annuum* ve 1 *C. frutescens* biber genotipinin oluşturduğu kümeleme analizi

PM702 ve PM217 genotipleri INRA/Fransa'da Pochard vd. (1983) tarafından ortaya çıkartılmıştır. Bu sonuç, çalışmanın doğru gruplandırma yaptığını ve genetik ilişkileri doğrular niteliktedir. Tayvan'dan sağlanan PBC (1365, 1364, 179) genotiplerinin genetik yakınlığı 0.89 düzeyinde olmuştur. PBC178 genotipi, *P. capsici*'ye CM334 kadar dayanıklı olmasına karşın CM334 genotipinden genetik olarak uzak (0.88 düzeyinde) bulunmuştur. Dayanıklılık ıslah programı ve genetik haritama için önemli sonuç olma özelliği göstermektedir. PBC178 genotipi, Kahramanmaraş biber popülasyonundan selekte edilen dayanıklı KM211 ile aynı kümede yer almıştır. *Phytophthora capsici*'ye dayanıklılık düzeyi yüksek PBC413 genotipi diğer dayanıklı genotiplere genetik olarak daha uzak (0.87) olduğu dikkati çekmiştir. Kahramanmaraş biber popülasyonundan selekte edilen bitki morfolojik özellikleri benzeyen KMAE12 (S) ile KM211 (R) genotipleri genetik olarak 0.86 düzeyinde farklı görülmüştür. *P.capsici*'ye karşı dayanıklılık düzeyleri farklı olan (Göçmen 2006), CM334, Perennial, PBC178, KM211, PBC413 kümeleme analizinde farklı yerlerde bulunmuşlardır. Faktör analizinden elde edilen veriler kullanılarak biber genotiplerinin birbirleri ile ilişkileri iki boyutlu düzlemde gösterilmiştir (Şekil 4).

4. Sonuç

Hastalıklara karşı dayanıklı yeni çeşit geliştirmede, dayanıklılık kaynaklarının genetik farklılık bilgileri ıslah programını planlamada oldukça önemlidir. Özellikle çoklu gen tarafından kontrol edilen dayanıklılık mekanizmasında gen piramitinin oluşturulmasında daha da önemli olmaktadır. *P.capsici*'ye karşı dayanıklı, kısmi dayanıklı ve hassas 16 biber genotipin genetik ilişkisini belirlemek için SRAP ve SSR moleküler belirteçler kullanılmıştır. SRAP moleküler belirteçler ile genotiplerinin tümü genetik olarak birbirinden ayrılmıştır. Ancak SSR belirteçler ile *C.annuum* türü içerisinde genotiplerin bir kısmı genetik olarak ayrılamamıştır. Buna karşılık, *C. annum* ve *C. frutescens* türleri arasında genetik uzaklık SRAP belirteçlere göre daha fazla görülmüştür. SSR ve SRAP belirteçlerin birlikte değerlendirilmesinde tüm genotipler genetik olarak birbirlerinden ayrılmışlardır. Biber genotiplerinin genetik ilişkilerini belirlemede en az iki moleküler belirtecin kullanımı daha uygun olacaktır. *P.capsici*'ye karşı dayanıklı/hassas duruma göre genotiplerin kümeleme durumu ele alındığında, SRAP belirteçlerle kümeleme yapılamamış ancak SRR belirteçlerle kümelemenin daha iyi yapılabileceği görülmüştür. Dayanıklılık kaynağı CM334'den



Şekil 4. Biber genotiplerinin Dice's genetik uzaklığına göre temel bileşen analizinden (PCA) elde edilen iki boyutlu düzlemde dağılımları

genetik olarak farklı genotiplerin ayrı coğrafik bölgelerden (PBC grubu Tayvan'da, KM211 Türkiye'de), değişik biber tiplerinden (Jalopene ve Kahramanmaraş biber tipinde) oluşmuştur.

Kaynakça

- Abak, K. (1982). Biberlerde kökboğazı yanıklığına dayanıklılığın kalıtımı üzerinde araştırmalar. A.Ü. Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Doçentlik Tezi, Ankara.
- Alcantara, T.P., & Bosland, P.W. (1994). An inexpensive disease screening technique for foliar blight of chile pepper seedlings. *HortScience*, 29:1182-1183.
- Ares, J.L.A., Martinez, A.R., & Paz, J.P. (2005). Resistance of pepper germplasm to *Phytophthora capsici* isolates collected in northwest Spain. *Spain Journal of Agriculture Research*, 3:429-436.
- Babadoost, M., & Pavon, C. (2013). Survival of oospores of *Phytophthora capsici* in soil. *Plant Diseases*, 97:1478-1483.
- Barchenger, D. W., Lamour, K.H., & Bosland, P. W. (2018). Challenges and strategies for breeding resistance in *Capsicum annuum* to the multifarious pathogen, *Phytophthora capsici*. *The Journal Frontiers in Plant Science*, 9:1-19.
- Bozokalfa, M.K., Aşcıoğlu, T.K., & Eşiyok, D. (2017). Biber genotiplerinin genetik çeşitliliklerinin SRAP belirteçleri kullanılarak belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 321-329.
- Buso G.S.C., Amaral Z.P.S., Machad F.R.B., Bem L., Ferreira M.E. (2003). Variedade genética e análise filogenética de espécies brasileiras de pimenta e pimentão (*Capsicum* spp). *Congresso Brasileiro De Melhoramento De Plantas: 2*.
- Curtis, M. R. (2014). QTL Mapping of *Phytophthora capsici* resistance and horticultural traits in pepper (*Capsicum annuum*) recombinant in bred line population. MS Thesis, University of California, Davis, CA.
- Çakır, C., Göçmen, M., & Devran, Z. (2001). Investigation of genetic variation of root rot (*Phytophthora capsici* Leon) isolates of pepper (*Capsicum annuum* L.) obtained from the west mediterranean region by RAPD-PCR amplification. *XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*, p:265-269.
- Dato, D.D., Parisi, M., Cardi, T., & Tripodi, P. (2015). Genetic diversity and assessment of markers linked to resistance and pungency genes in *Capsicum* germplasm. *Euphytica*, 204: 103-119
- Dice, L.R. (1945). Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*, 26:297-302.
- Du, X., Wang, D., & Gong, Z. (2010). Comparison of RSAP, SRAP and SSR markers for genetic analysis in hot pepper. *Indian Journal Horticulture*, 67(4):505-512.
- Göçmen, M. (2006). Biberlerde *Phytophthora capsici*'ye karşı dayanıklılıkta genotip x izolat interaksyonu ve farklı dayanıklılık kaynaklarının karakterizasyonu. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Göçmen, M., & Abak, K. (2010). Genetics of resistance of the Kahramanmaraş pepper KM2-11 genotype to *Phytophthora capsici* isolates. *Proceedings of the XIVth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant*, p:236-242.
- Ilbi, H. (2003). RAPD markers assisted varietal identification and genetic purity test in pepper, *Capsicum annuum*. *Scientia Horticulturae*, 97:211-218.
- Hwang, B.K., Kim, Y.J., & Kim, C.H. (1995). Differential interactions of *Phytophthora capsici* isolates with pepper genotypes at various plant growth stages. *European Journal of Plant Pathology*, 102:311-316.
- Hildebrand, C.E., Torney, D.C., & Wagner, R.P. (1992). Mapping the genome. Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Science*, 20:100-102.
- Jiang, L., Sanogo, S., & Bosland, P.W. (2015). Using recombinant inbred lines to monitor changes in the race structure of *Phytophthora capsici* in chile pepper in New Mexico. *Plant Health Programme*, 16:235-240
- Kwon, Y.S., Lee, J.M., Yi, G.B., Ti, S.I., Kim, K.M., Soh, E.H., Bae, K.M., Park, E.K., Song I.N., & Kim, B.D. (2005). Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Molecules and Cells*, 19(3): 428-435
- 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: 619-27.
- Lee, S.J., Park, Y.J., Kim, H.T., & Kim, B.S. (2010). The race differentiation of *Phytophthora capsici* in Korea. *Research in Plant Disease*, 16:153-157.
- 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: 741-50.
- Lefebvre V., Pflieger S., Thabuis A., Caranta C., Blattes A., Chauvet, J.C., Daubéze A.M. & Palloix, A. (2002). Towards the saturation of the pepper linkage map by alignment of three intraspecific maps including known-function genes. *Genome*, 45: 839-854.
- Li, G., & Quiros, C.F., (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theoretical Applied Genetic*, 103:455-461.

- McGregor, C., Waters, V., Nambeesan, S., MacLean, D., Candole, B. L., & Conner, P. (2011). Genotypic and phenotypic variation among pepper accessions resistant to *Phytophthora capsici*. *HortScience*, 46: 1235-1240.
- Morgante, M., Hanafey, M., & Powell, W. (2002). Microsatellites are preferentially associated with non-repetitive DNA in plant genomes. *Nature Genetics*, 30: 194-200.
- Oelke, LM., Bosland, PW., & Steiner, R. (2003). Differentiation of race specific resistance to phytophthora root rot and foliar blight in *Capsicum annuum*. *The Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128:213- 218.
- Ortega, RG., Palazon-Espanol, C., & Cuartero-Zueco, J. (1991). Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line 'SCM-334'. *Plant Breeding*, 107:50-55.
- Palloix, A., Daubeze, A.M., & Pochard, E. (1988). *Phytophthora* root rot of pepper. Influence of host genotype and pathogen strain on the inoculum density- disease severity relationships. *Journal Phytopathology*, 123:25-33.
- Palloix, A., Daubeze, A.M., Phaly, T. & Pochard, E. (1990). Breeding transgressive lines of pepper for resistance to *Phytophthora capsici* in a recurrent selection system. *Euphytica*, 51:141-150.
- Paran, I., Afterdoot, E., & Shifriess, C. (1998). Variation in *Capsicum annuum* revealed by RAPD and AFLP markers. *Euphytica*, 99:167-173.
- Pochard, E., & Daubeze, M. (1980). Recherches et evaluation des composantes d'une resistance polygenique: la resistance du piment a *Phytophthora capsici*. *Annual. Amelior. Plantes*, 30(4):377-398.
- Pochard, E., Molot, P. M. & Dominguez, G. (1983). Etude de deux nouvelles sources de resistance a *P.capsici* chez le piment: confirmation de existence trois composantes distinctes dans la resistance. *Agronomie*, 3:333-342.
- Portis, E., Nagy, I., Sasvari, Z., Stage, I. 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 Science*, 172:640-648.
- Quirin, E.A., Ogundiwin, E.A., Prince, J.P., Mazourek, M., Brigs, M.O., & Chlada, T.S. (2005). Development of sequence characterized *Phytophthora capsici* Leon. in pepper. *Theoretical and Applied Genetics*, 110:605-612.
- Ren, Y., Zhang, Y., Yin, J., & Wang, D. (2008). Parent grouping of 31 elite inbred lines in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Hereditas*, 30: 237-45.
- Rodriguez, JM., Berke, T., Engle, L. & Nienhuis, J. (1999). Variation among and within *Capsicum* species revealed by RAPD markers. *Theoretical Applied Genetic*, 99:147-156.
- Rohlf, F.J. (2000). NTSYSpc, numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.10e. Exeter Software, Setauket.
- Smith, J.S.C., Chin, E.C.L., Shu, H., Smith, O.S., Wall, S.J., Senior, M.L., Mitchel, S.E., Kresovich, S., & Tiegle, J. (1997). An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(1-2):163-173.
- Stuthman, D.D., Leonard, J.J., & Miller-Garvin, J. (2007). Breeding crops for durable resistance to disease. *Advances in Agronomy*, 95:319-367.
- Tam, S.M., Mhiri, C., Vogelaar, A., Kerkveld, M., Pearce, S.R., & Grandbastien, M.A. (2005). Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon- based SSAP, AFLP and SSR. *Theoretical and Applied Genetics*, 110: 819-31.
- Thabuis, A., Palloix, A., Pflieger S., Daubèze, A.M., Caranta, C., & Lefebvre, V. (2003). Comparative mapping of *Phytophthora* resistance loci in pepper germplasm: evidence for conserve resistance loci across *Solanaceae* and for a large genetic diversity. *Theoretical and Applied Genetics*, 106:1473-1485.
- Thabuis, A., Lefebvre, V., Bernard, G., Daubeze, A. M., Phaly, T., & Pochard, E. (2004). Phenotypic and molecular evaluation of a recurrent selection program from a polygenic resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. *Theoretical and Applied Genetics*, 109:342-351.
- TUİK (2016). Biber Üretim İstatistikleri <http://www.tuik.gov.tr>. Erişim tarihi: 19 Aralık 2018.