



Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 32 (2017)

ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)

doi: 10.7161/omuanajas.284511



## Biber genotiplerinin genetik çeşitliliklerinin SRAP markörleri kullanılarak belirlenmesi

M. Kadri Bozokalfa\*, Tansel Kaygısız Aşçıoğlu, Dursun Eşiyok

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 35100 İzmir/Türkiye

\*Sorumlu yazar/corresponding author: mehmet.kadri.bozokalfa@ege.edu.tr

Geliş/Received 06/01/2017

Kabul/Accepted 29/09/2017

### ÖZET

Türkiye'nin coğrafik konumu itibariyle ticaret yolları üzerinde yer alması biberin diğer ülkelere yayılmasında etkili olmuştur. Ülkemizde çok sayıda yerel popülasyonlar ve ticari çeşitler biber yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır. Biber ıslahının başarısı yüksek genetik çeşitliliğe sahip kaynakların varlığına, genetik materyalin özelliklerine ve istenen özelliğe sahip kombinasyonların oluşturulmasına dayanmaktadır. Bitkisel materyalin popülasyon içerisinden seçimi ve karakterizasyonu bu işlemin ilk adımını oluşturmaktadır. Bu çalışmada kullanılan bitkisel materyalin kaynağını; 2004-2007 yılları arasında yürütülen, yerel biber genotiplerinin morfolojik ve agronomik özellikler yönünden karakterizasyonu amacıyla yürütülen çalışmada belirlenen yerel genotipler oluşturmaktadır. Morfolojik özellikleri tanımlanan bu gen havuzunun moleküler yöntemler ile karakterizasyonu amacıyla yürütülen projede ise toplam 94 yerel biber genotipinin birbirlerine olan genetik uzaklıkları SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) markör sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler istatistik olarak değerlendirildiğinde incelenen genotiplerin yüksek düzeyde varyabilitiyeye sahip, büyük bir bölümünün genetik yönden uzak akraba olduğu ve dendrogramda farklı gruplarda yer aldığı görülmüştür. 33 SRAP markör kombinasyonu kullanılarak yapılan moleküler analizler sonucunda varyasyonun %85'i 9 faktör grubunda yer almış ve genotiplerin genetik uzaklıkları %62 ile %94 arasında değişmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ileride yürütülecek ıslah programlarında incelenen genotiplerin daha etkin kullanımına imkan sağlayacak ve ıslah süresini büyük ölçüde kısaltacaktır.

Anahtar Sözcükler:

Biber  
Islah  
Moleküler karakterizasyon  
SRAP  
Varyasyon

### Genetic diversity of pepper genotypes as assessed by SRAP markers

#### ABSTRACT

Turkey's geographical position have played an important role in the spread of pepper cultivation to neighboring countries. A large number of commercial cultivars and landraces are used in pepper production in Turkey. The performance of pepper breeding depends on discovery of new sources of genetic variation, identification of accessions with useful traits, and their combination with desired agronomic properties. Characterization and evaluation are the first steps in the development of new cultivars. This study was carried to assess molecular characterization of 94 local pepper accessions by using SRAP (sequence related amplified polymorphism) marker system. The plant materials examined in the present study were obtained from the source of pepper landraces evaluated for agromorphological characters during the experiments in 2004-2007. Molecular characterization studies revealed that the examined plant collection displayed high genetic diversity, and most of the accessions showed low genetic similarities which resulted in greater distances on the dendrogram. Molecular analysis performed with 33 SRAP combinations showed that 85% of total variance wastaken place in 9 factor groups, and genetic differences varied between 62 and 94% among pepper genotypes. Present study highlights that these results may make a valuable contribution to further pepper breeding programs and the characterized plant pepper collection may reduce the period of breeding.

Keywords:

Breeding  
Molecular characterization  
Pepper  
SRAP markers  
Variability

#### 1. Giriş

Biber, ülkemiz sebze kültüründe de çok eski yeri olan dünyada ve ülkemizin her bölgesinde geniş

alanlarda yetiştirilen, taze veya işlenerek değerlendirilen, önemli ticari potansiyele sahip türler arasında bulunmaktadır. Tek yıllık veya tropik bölgelerde çok yıllık yetiştirilen biberin bitki ve meyve

© OMU ANAJAS 2017

formunda büyük varyasyonlar görülmektedir. Uzun yıllar boyunca devam eden doğal seleksiyonlar, ekolojik etki ve üreticiler tarafından yerel populasyonlara uygulanan seleksiyonlar yeni bitki ve meyve yapısına sahip genotiplerin ortaya çıkmasına neden olmuş ve gen kaynaklarında yer alan genotip sayısının her geçen gün artmasını sağlamıştır (Hausman ve ark., 2004; Zhang ve ark., 2016).

Türlerin genetik çeşitlilik oranı, döllenme biyolojisi ve genetik özelliklerine bağlı olarak farklılık göstermektedir. *Brassicaceae* familyası veya mısır gibi yabancı döllenmiş kültür bitkilerinin genetik çeşitliliğinden diğer türlerden daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Figdore ve ark., 1988; Smith, 1989). Buna karşın, fasulye (Apuya ve ark., 1988) ve domates (Miller ve Tanksley, 1989) gibi kendine döllenmiş türlerde populasyonlar arasında polimorfizm oranı daha düşük olmaktadır. Genellikle az oranda yabancı döllenme özelliği gösteren biberin bazı alt türleri oldukça yüksek yabancı döllenme özelliğindedir (Rego ve ark., 2012). *Capsicum annum*'un kendine döllenmiş diğer türler ile karşılaştırıldığında, döllenme biyolojisi yönünden değişkenlik gösterdiği ve tozlanma davranışı ile ilişkili olarak varyasyonun yüksek olabileceği bildirilmektedir (Lefebvre ve ark., 1993).

Yeni çeşitlerin geliştirilmesinde gen havuzunun genetik akrabalık düzeylerinin bilinmesi ıslah programlarının oluşturulması ve etkinliklerinin artırılmasında büyük önem taşımaktadır. Agromorfolojik özellikler ile genetik materyalin karakterizasyonu ıslah çalışmalarına hız kazandırırken genetik çeşitliliğin ortaya konmasında kullanılan karakterlerin bir bölümünün çok gen tarafından kontrol ediliyor olması, ayrıca bu özelliklerin ortaya çıkmalarında çevresel faktörlerin etkisi nedeniyle agromorfolojik özellikler yanında moleküler markör sistemlerinin de uygulanması tavsiye edilmektedir (Escribano ve ark., 1998). Moleküler markör sistemleri tarımsal ürünlerin genetik yapısını anlamak ve tanımlamak açısından yarar sağlamaktadır (Geleta ve ark., 2005). Diğer yandan bu markörlerin biyotik ve abiyotik stres koşullarından bağımsız olmaları, büyüme, gelişme ve farklılaşma sürecinde değişmeden saptanabilmeleri nedeniyle; ıslah programlarında yeni çeşitlerin geliştirilmesinde, genetik haritalamada (Grisi ve ark., 2007), markör destekli seleksiyon çalışmalarında (Ender ve ark., 2008), populasyonlar içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliğin belirlenmesinde (Papa ve Gepts, 2003) başarı ile kullanılmaktadır.

Genetik çalışmalarda DNA temelli yöntemlerin kullanılmasına başlanmasıyla daha fazla polimorfizm sağlanmış ve elde edilen sonuçlar tekrarlanabilir hale gelmiştir. DNA'ya dayalı markör sistemleri arasında yer alan SRAP, ilk yıllarda özellikle *Brassicaceae* familyası türlerinin genetik akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaya başlanmış, ancak kullanım pratikliği ve verilerin birbirine uyumunu bir araya getiren bir yöntem olması nedeniyle son yıllarda diğer

türlerde de tercih edilmektedir (Li ve Quiros, 2001). SRAP markör sistemi genomda kodlanan sekansı hedefler, kodinant markörlerin ortalama bir sayısını verir, farklı bitkilerde harita oluşturma, gen hedefi ve genetik çeşitlilik çalışmaları gibi çeşitli amaçlar için kolay adapte edilebilmektedir (Gulsen ve ark., 2007). Ferriol ve ark. (2003) SRAP markörlerinin morfolojik varyasyonlarla daha çok uyum sağladığını ve morfolojilerin evrimsel geçmişi ile ilgili AFLP'den daha çok bilgi verdiğini bildirmektedir.

Ülkemiz sebze kültüründe çok eski yeri olan biberin bugün ülkemizin her bölgesinde geniş alanlarda yetiştirilmesi ve üretimde uzun yıllar süresince yerel populasyonların kullanılması genetik varyasyonun zenginliğini sağlamıştır (Bozokalfa ve ark., 2009). Kalitatif ve kantitatif agromorfolojik özellikler yönünden yüksek varyasyona sahip biber populasyonları arasından çeşit ıslahında ebeveyn olabilecek niteliğe sahip genotipler ortaya konulabilmektedir (Bozokalfa ve Eşiyok, 2011). Bu gen kaynağının moleküler düzeyde genetik tanımlanması yapılarak doğrudan veya dolaylı olarak ıslahta kullanımına katkı sağlanması ekonomik bakımdan büyük avantaj sağlayacaktır.

Bu kapsamda, yürütülen çalışma ile ülkemiz gen kaynaklarında yer alan farklı bölgelerden toplanmış, agromorfolojik özellikleri tanımlanmış biber genotiplerinin moleküler yöntemler ile genetik varyabilitesini ortaya konması ve genotipler arasındaki ilişkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Araştırma 2010-2011 yılları arasında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü uygulama-araştırma arazisi ve laboratuvarlarında yürütülmüştür. Çalışmada yer alan biber genotipleri 2004-2005 yıllarında Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Gen Kaynakları Başkanlığından temin edilmiştir. 5 yıl boyunca genotipler incelenmiş, genotip içerisinde ve genotipler arasında görülen varyasyonlar temel alınarak her genotip kendilenmiştir. Üretim süresince varyasyon görülen bitkilerden ayrı ayrı kendileme yoluyla tohumlar alınmış ve bu yöntemle elde edilen 3. generasyona ait genotipler ile gen havuzu oluşturulmuştur. Ayrıca bu genotipler ile birlikte şahit olarak nitelendirilebilecek ve halen ülkemizde yaygın yetiştiriciliği yapılan 14 yerel çeşit ile Chili Pepper Institute'den (ABD) sağlanan 7 yabancı orijimli biber genotipi incelenmiştir (Çizelge 1). Biber genotiplerine ait fideler elde edilmesi için tohumlar 26 Mart tarihinde alçak plastik tüneller altına ekilmiş, dikim büyüklüğüne ulaşan fideler esas yetiştirme yerlerine 7 Mayıs tarihinde dikilmiştir. Bitki gelişme dönemi süresince tüm kültürel işlemler düzenli olarak yürütülmüştür (Eşiyok, 2012).

Çizelge 1. Çalışmada yer alan genotipler, temin edildiği kaynaklar ve yöresel isimleri

Genotip No	İl	Yöre	Yükseklik	Yöresel adı
1-2-6-40-41-42-43-44-45-46-47-48-49	Bursa	M. Kemalpaşa-Behram köyü	50	Acı çiçek biberi
3-4	Gaziantep	Oğuzeli-Havuçluçam	550	Salçalık biber
5-25-26	Muğla	Yaraş köyü	650	Arnavut biberi
7	Bilecik	Kayınbeli köyü	250	Çok acı saksı biberi
23-24	Kars	İğdır-Akveyis köyü	850	Acı biber
27-28-29	Manisa	Gördes	450	Acı biber siyah
30-31	İzmir	Dikili	15	Biber salçalık
32-33-34-35-36	Eskişehir	Orhangazi-Bakırköy	1020	Acı biber
37-38-39	Bilecik	Osmaneli- Büyükyenice	240	Acı toz biber
50-51-52	Bilecik	Kayınbeli köyü	250	Çok acı saksı biberi
53	Bursa	Orhangazi Bakırköy	200	Çiçek biberi yuvarlak acı
54-55-56-57-58-59	Isparta	Şakirkocaağaç Feleç köyü	1220	Acı çin biberi
60-61-62-63	Bilecik	Sütçüler Karadiken	1080	Acı biber
64-65	Sakarya	Geyve- Umurbey	191	Beyaz acı biber
66	Sakarya	Karasu- Karapınar köyü	25	Acı biber
67-68	Konya	Çumra- Yeniköy	965	Acı yaprak biber
69-70-71-72-73-74-75-76	Antalya	Derme-Yavu köyü	420	Büyük cin biber
77-78	Aksaray	Güzelyurt-Ihlara	1250	Acı uzun biber
79-80	Aksaray	Gülağaç merkez	1025	Acı biber
81-82-83-84-85-86-87-88-89	Kırşehir	Akpınar merkez	1020	Acı sivri biber
90-91-92-93	Kırıkkale	Keskin- Ortasöken	725	Cin biberi
94	Yalova çarliston	Yalova T.A.E		Çarliston
8	Menderes acı kıl	Toros Tohum		Acı ince kıl
9	Acı şahnalı	Pinaper seed		Kısa acı sivri
10	Demre sivrisi	Türkiye		<i>C. annuum</i>
11	Doruk dolmalık	İstanbul Tohum		Dolmalık
12	Doruk dolmalık	İstanbul Tohum		Dolmalık
13	Elitra ege acı s.	Elitra Tohum		Acı uzun sivri
14	İstanbul acı ılıca	İstanbul Tohum		Acı sivri
15	Jupiter	Chili Pepper Institute		<i>C. annuum</i>
16-17	Kandil dolma	Türkiye		<i>C. annuum</i>
18	Menderes acı kıl	Toros Tohum		Acı ince kıl
19	Numex jalmundo	Chili Pepper Institute		<i>C. annum</i>
20	Numex joe	Chili Pepper Institute		<i>C. annuum</i>
21	Numex primavera	Chili Pepper Institute		<i>C. annuum</i>
22	Numex primavera	Chili Pepper Institute		<i>C. annuum</i>

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Yaprak örneklerinin alınması, DNA ekstraksiyonu ve DNA parçalarının çoğaltılması

Dikimden 15-20 gün sonra yeni gelişen taze yapraklardan alınan örnekler sıvı azot içerisinde laboratuvara getirilmiştir. 94 biber genotipine ait yaprak

örnekleri sıvı azotla muamele edilerek iyice parçalanmış ve Doyle ve Doyle (1990) yöntemine göre DNA ekstraksiyonları gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemle elde edilen DNA örnekleri %1'lik agaroz jelde kaliteleri belirlenmek üzere yürütülmüştür. DNA kalitelerinde farklılıklar ve kalite kayıpları olan genotiplere ait DNA'lar gözlenmiş ve bu örneklerden DNA ekstraksiyonları kiti ile tekrarlanmıştır. Elde edilen

DNA örneklerinin spektrofotometre cihazında 260 ve 280 nm dalga boyunda miktarları tespit edildikten sonra örnekler 7-10 µl ng<sup>-1</sup> olacak şekilde seyreltilmiştir.

Çalışmada yer alan genotiplerin genetik olarak tanımlanması için moleküler yöntemlerden SRAP yöntemi kullanılmış ve 33 adet SRAP primer kombinasyonu test edilmiştir. DNA'ların çoğaltımı için SRAP primerlerinin farklı kombinasyonları kullanılarak PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yapılmıştır. PCR protokolü; 1.5 µl 10 X, 1.8 µl MgCl<sub>2</sub>, 1.2 µl dNTP, 0.5 µl reverse primer, 0.5 µl forward primer, 0.15 µl Taq Polimeraz, 5.35 µl H<sub>2</sub>O, 4 µl DNA olacak şekilde, toplam hacmi 15 µl olan PCR karışımı hazırlanmıştır. PCR işlemi Eppendorph PCR cihazında programı; 1) 94°C 'de 5 dk 2) 94°C'de 1 dk 3) 35°C'de 1 dk 4) 72°C'de 2 dk olup 5) 2. basamaktan sonra 4 defa tekrar şeklinde 6) 94°C'de 1 dk, 7) 50°C'de 1 dk, 8) 72°C'de 2 dk, 9) ise 6. basamaktan sonra 29 defa tekrar, 10) 72°C'de 5 dk şeklinde çalışılmıştır. PCR ürünleri yatay jel elektroforezde %2.5' lik agaroz jele yüklenerek 100 watt'ta 4 saat yürütülmüştür. Jel fotoğrafları UV ışık altında çekilerek DNA örnekleri ile birlikte jele yüklenen markör ile karşılaştırılmış ve aynı bantı oluşturanlara (1) oluşturmayanlara (0) rakamları verilerek skorlanmıştır.

### 2.3. Verilerin istatistiksel analizi

Genotiplerin SRAP primer kombinasyonlarına bağlı oluşturulan skorları; NTSYS-pc (2.2j, 1986-2006, Applied BioStatistics Inc., Setauket, New York, USA) paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Genotiplerin benzerlik katsayıları "Jakkard" metodu kullanılarak oluşturulduktan sonra genotiplerin birbirleri ile ilişkileri UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging) yöntemi ile oluşturulan dendrogramda gösterilmiştir. Programın "SIMINT" modülü ile korelasyon matrisi oluşturulduktan sonra temel bileşen analizi "PCA" (Principal Component Analysis) yapılmıştır.

### 3. Bulgular ve Tartışma

Genetik kaynaklar ve varyasyonlar bitki ıslahının temelini oluştururken bitki genetik kaynaklarının toplanması, korunması ve karakterizasyonu ıslahın başarısını artıran unsurların başında gelmektedir. Nitekim genetik çeşitliliğin ortaya konması, genotip özelliklerinin belirlenmesi ve genetik materyalin tanımlanmış olması ıslah için geçen sürenin kısalmasını sağlamaktadır.

Karakterizasyonun temelini agronomik ve morfolojik özellikler oluşturmakla birlikte sadece morfolojik özelliklere dayalı oluşturulan dendrogramlarda yer alan genotiplerin gruplamalarında bazı hatalar olabilmektedir (Souza ve Sorrels, 1991). Yürütülen çalışmalar, genotipler arasındaki akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde DNA bazlı markör sistemleri ile elde edilen sonuçların morfolojik ve

biyokimyasal karakterizasyondan sağlanan sonuçlardan farklı olabildiğini ortaya koymaktadır (Dias ve ark., 1992, 1993; Gepts 1995; Koutita ve ark., 2005).

Karakterizasyondan elde edilen bilgiler ile birleştirilerek ıslah programlarının doğru bir şekilde oluşturulabilmesi, biber populasyonlarının genetik akrabalık ilişkilerinin moleküler teknikler ile belirlenmesi için yüksek polimorfizm eldesine olanak veren SRAP markör sistemi tercih edilmiştir. Bu amaçla 33 SRAP primer kombinasyonu kullanılarak yapılan PCR işlemlerinde elde edilen bantlarda yapılan karşılaştırmalar sonucu 23 primerde polimorfizme rastlanmış 10 primerin de monomorfik olduğu tespit edilmiştir. 23 primerden toplam 202 polimorfik bant elde edilmiş ve bunların temel bileşen analizine dayalı olarak yapılan faktör analiz sonucuna göre öz değeri 1'in üzerinde olan 9 faktör grubu oluşmuş, toplam varyasyonun %85'ini ( $r=0.85$ ) temsil eden (Li ve Quiros, 2001) faktör grupları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. SRAP markörlerine göre oluşan temel bileşen eksenleri, özdeğerler, açıkladığı varyasyon ve kümülatif varyasyon

PC eksenleri	Özdeğer (Eigenvalue)	Açıkladığı varyasyon (%)	Kümülatif varyasyon (%)
1	61.84	65.79	65.79
2	5.65	6.01	71.81
3	3.59	3.82	75.64
4	2.48	2.64	78.28
5	1.52	1.61	79.90
6	1.49	1.58	81.49
7	1.29	1.38	82.87
8	1.12	1.20	84.07
9	1.04	1.10	85.18

SRAP markörleri kullanılarak oluşturulan benzerlik katsayıları Jaccard metodu kullanılarak hazırlanmıştır. Kofenetik korelasyon katsayısı (Cophentetic Correlation Coefficient),  $r$  değeri ( $r=0.85$ ,  $P<0.01$ ) yüksek bulunmuş ve bu değer kümeleme analizinin benzerlik katsayılarını önemli ölçüde temsil ettiği kanısına varılmıştır. Budak ve ark. (2004), manda otunda (*Bouteloua dactyloide*) yapılan çalışmada SRAP analizleriyle elde edilen dendrogram ve benzerlik indeksi arasındaki kofenetik korelasyon katsayısı  $r=0.92$  bulunmuş ve aralarında güçlü bir ilişkinin olduğu belirlenmiştir. Mohammadi ve Prassanna (2003), bu katsayının  $r=0.9$  değerine eşit ve büyük olması halinde ise benzerlik indeksleri ile elde edilen dendrogram arasında çok yüksek korelasyon olduğunu ve dendrogramın benzerlik indeksini çok iyi temsil ettiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada dendrogramda oluşan ana gruplarda farklı bölgelerden alınan biber genotiplerinin bir arada oldukları görülmektedir. Benzer şekilde yapılan farklı çalışmalarda oluşan grupların coğrafik orijinlerden

etkilenmeden oluştukları ve farklı coğrafik koşullardan gelen genotiplerin aynı gruplar içerisinde yer aldıkları belirtilmektedir (Geleta ve ark., 2005; Bozokalfa ve Eşiyok, 2011; Nsabiya ve ark., 2013). Ayrıca biber aksesyonlarında ekocoğrafik koşulların genetik yakınlığa etkisinin olduğu vurgulanmış ve oluşan grupların toplanan genotiplerin coğrafik bölgelerine göre oluştuğu belirtilmiştir (Toquica ve ark., 2003).

Yürütülen çalışmada kullanılan SRAP markörleri ile elde edilen dendogram incelendiğinde biber genotiplerinde yüksek polimorfizm oranı elde edildiği görülmektedir. Benzer şekilde farklı türlere ait gen havuzlarının genetik yakınlık/uzaklık ilişkilerinin incelendiği çalışmalarda SRAP markörleri ile elde edilen polimorfizmin yüksek olduğu vurgulanmaktadır. Yapılan çalışmalarda polimorfizm oranının türlere göre farklılık gösterdiği ve diğer markör sistemlerine göre SRAP yöntemi elde edilen polimorfizm oranının daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Alghamdi ve ark., 2012). Patlıcanda yapılan çalışmadan %56, farklı *Solanum* türlerinin kullanıldığı çalışmadan %47.2 düzeyinde polimorfizm oranı elde edilirken, *Cucurbita pepo* ve *Cucurbita moschata* türlerinde polimorfizm oranı, sırasıyla %66.2 ve %57 düzeyinde, bamyada ise %50 polimorfizm oranı elde edilmiştir (Li ve ark., 2010, Ferriol ve ark., 2003; Ferriol ve ark., 2004). Bu bağlamda SRAP analizlerinden elde edilen veriler ile oluşturulan dendogram incelendiğinde genotiplerin %64 genetik benzerlik seviyesinde 4 ana grup altında toplandığı görülmüştür (Şekil 1). İlk ana grupta yurt dışından temin edilen genotiplerin tamamı ve ticari çeşitlerin büyük çoğunluğu yer almıştır. Nitekim Ortiz ve ark. (2010) moleküler markörler ile belirlediği, ıslah edilen tatlı biber çeşitleri ile ticari olarak yetiştirilen poplasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin acı biber genotipleri arasındaki genetik çeşitliliği oranla daha düşük olduğunu bildirmektedir. İlk ana grubu oluşturan alt gruplar incelendiğinde 1 ve 14 numaralı genotiplerin %93 genetik benzerlik oranına sahip oldukları tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan bitkisel materyalin bütünü değerlendirildiğinde birbirine yakın bölgelerden alınan birçok genotipin farklı genetik uzaklık seviyelerinde olabildikleri belirlenmiştir. Bu iki genotip dışında yine birbirine %92 oranında genetik yakınlık gösteren Konya ve Antalya'dan temin edilen 67 ve 73 numaralı genotiplerin olduğu belirlenmiştir. Bu iki genotipin benzerlik oranının yüksek olmasının nedeni birbirine yakın bölgelerden temin edilen genotiplerin ekocoğrafik koşullara adaptasyonları sonucu genetik olarak benzerlik oranlarının artabileceğini söylemek mümkündür. Bu bağlamda genetik olarak görülen benzerlik ekocoğrafik olarak da desteklenmektedir. Diğer yandan ilk ana grup içerisinde yer alan çok farklı özelliklere sahip diğer genotiplerin varlığı da gen havuzunun genişliğine olumlu katkı sağlamaktadır.

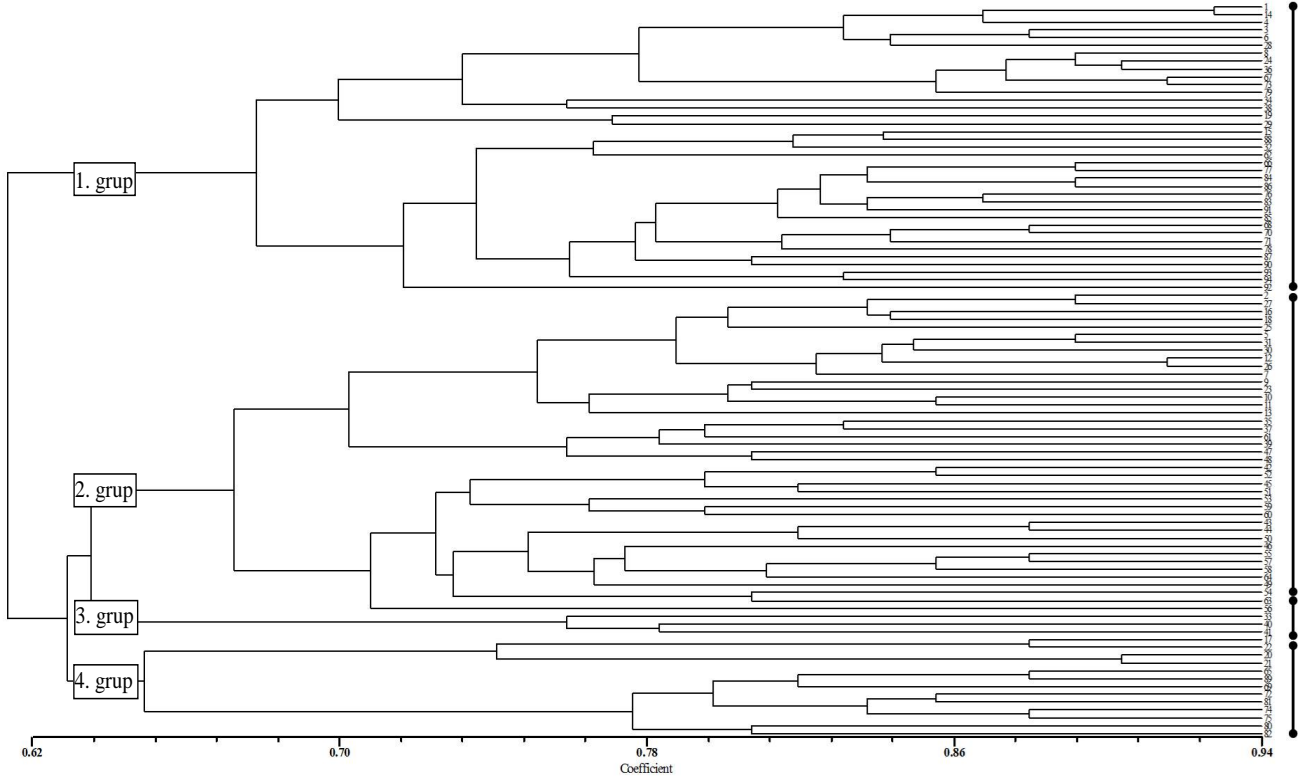
İkinci ana grup içerisinde yer alan genotipler incelendiğinde 12 ve 26 numaralı genotipler %92 seviyesinde genetik yakınlık göstermektedir. Yine aynı grup içerisinde %90 oranında genetik yakınlığa sahip 2-

27 ve 5-31 numaralı genotipler dikkati çekmektedir. Bu genotiplerin bölgesel olarak yakınlıkları gözlenmektedir.

Üçüncü ana grubu 33, 40 ve 41 numaralı genotiplerin oluşturduğu görülmektedir. Bu grup içerisinde yer alan 40 ve 41 numaralı genotipler, daha önce yapılan çalışmada agro-morfolojik özellikleri bakımından görülen varyasyonlar sonucu ayrımlanan iki genotip olarak görülmüştür (Bozokalfa ve ark., 2009). Buna karşın moleküler teknikler ile yapılan genetik yakınlık çalışmasında aynı grupta yer almıştır. Bu grupta yer alan 33 numaralı genotip ile 40 numaralı genotip agro-morfolojik özellikleri bakımından daha yakın değerlere sahip olsalar da moleküler düzeyde genetik yakınlıkları incelendiğinde 40 ve 41 numaralı genotipler %78 oranında yakınlık göstermiştir. Buradan hareketle poplasyonların karakterizasyonunda agro-morfolojik özelliklerin genetik temelli markör sistemler ile desteklenerek kullanılmasının materyalin genetik yapısının ve genotipler arasındaki ilişkilerin ortaya konulmasında oldukça etkili olduğu görülmüştür. Biberde genetik çeşitliliğin ortaya konulması için farklı marker sistemleri kullanılmış SSR yönteminin biber aksesyonları arasında genetik çeşitliliğin ortaya konulmasında yüksek polimorfizm gösterdiği ayrıca aksesyonların toplandığı lokasyonlara bağlı olarak gruplandığı bildirilmektedir (Zhang ve ark., 2016).

Dördüncü ana grupta yer alan genotiplerin %73 genetik benzerlik düzeyinde iki alt grupta toplandığı görülürken bu alt gruplardan ilkinin oluşturan 20, 21 ve 22 numaralı genotiplerin yurtdışından temin edilen genotipler olduğu, 17 no'lu genotipin ise kandil dolma biber çeşidi olduğu belirlenmiştir. Diğer alt grubu oluşturan genotiplerden 65 ve 89 ile 74 ve 75 numaralı genotiplerin ise bu grupta yer alan diğer genotiplere göre genetik yakınlık düzeylerinin daha yüksek olduğunu söylemek mümkün olmaktadır. Tarafımızdan yürütülen çalışmalarda adı geçen genotiplerin agro-morfolojik karakterleri incelendiğinde çiçeklenme ve meyve bağlama zamanı yönünden genotiplerin aynı özellikleri gösterdiği belirlenmiştir (Bozokalfa ve ark., 2009, Bozokalfa ve Eşiyok, 2011). Long ve ark. (2007) farklı çevresel faktörlerde çiçeklenme zamanı ile ilgili yapmış oldukları QTL (Kantitatif Karakter Lokusu) çalışmasında farklı ekolojilerde çiçeklenme zamanını kontrol eden farklı genler olduğunu ve farklı poplasyonların aynı ekolojilerde çiçeklenme zamanlarının benzerlik gösterebileceklerini vurgulamışlardır.

Faktör analizinden elde edilen veriler kullanılarak gen havuzunda yer alan genotiplerin birbirleri ile ilişkileri iki boyutlu ve üç boyutlu düzlemde gösterilmiştir (Şekil 2, 3). Bu düzlemler incelendiğinde genotiplerin birçoğunun birbirlerine uzak olması mevcut genotiplerin birbirinden genetik yönden çok farklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca genotiplerin genetik yönden birbirlerinden uzak noktada yer alması genetik varyasyonun yüksek olduğuna işaret etmektedir.



Şekil 1. SRAP markör sonuçları kullanılarak “Jaccard” genetik uzaklığına göre UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) yöntemi ile oluşturulmuş biber genotipleri benzerlik dendrogramı

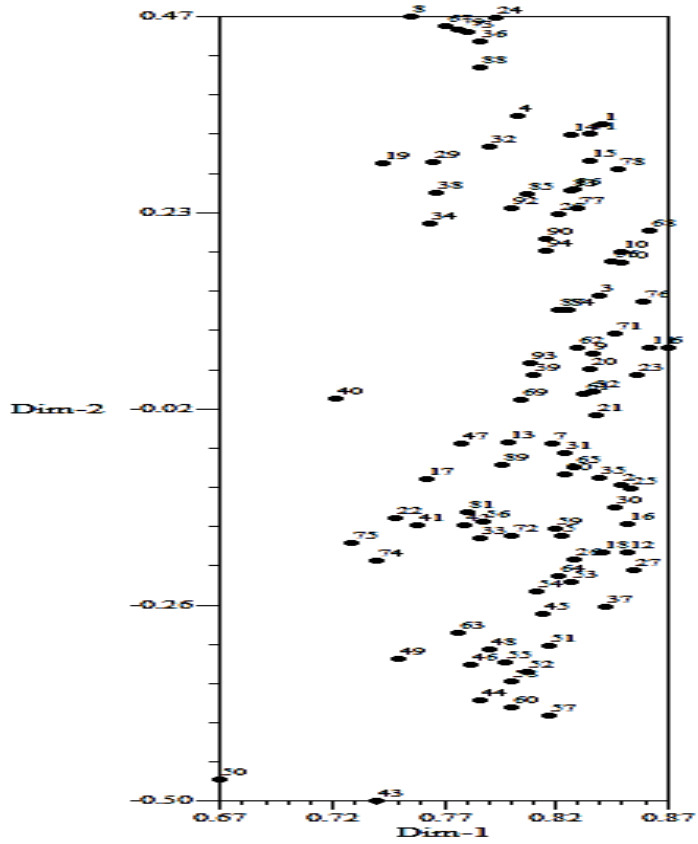
Nitekim elde ettiğimiz bu yüksek varyasyon gen havuzu üzerine geçmiş yıllarda yaptığımız çalışmalar tarafından ortaya konulan bilgileri desteklemektedir (Bozokalfa ve ark., 2009). İncelenen gen havuzunu oluşturan genotiplerin dendrogramda genetik yönden birbirinden çok uzak gruplarda yer almasının ıslah açısından bir avantaj olduğu bildirilmektedir (Akteş ve ark., 2009). Genotipler arasında seleksiyon kriterleri yönünden farklılık bulunması ebeveyn seçimi açısından oldukça önemli olduğu bilinmektedir. Farklı gruplarda yer alan ve ıslah hedefine göre istenen agromorfolojik özelliklere sahip genotipler veya hatlar seçilerek biber ıslahında başarı şansı artırılabilir.

Tarafımızdan yürütülen çalışmalarda mevcut gen havuzunun agromorfolojik özellikleri belirlenerek biber gen havuzunun yüksek varyabiliteye sahip olduğunu göstermiştir. Biber genetik kaynaklarında yer alan ve ülkemizde yetiştirilen farklı özelliklere sahip genotipler arasında antioksidan kapasitesi, fenolik madde ve C vitamini açısından yüksek varyabilite belirlenirken bazı çeşitlerin incelenen içerik yönünden ıslah programlarında kullanılabilir şansının yüksek olduğu bildirilmektedir (Frary ve ark., 2008). Keleş ve ark., (2016) Alata biber ıslah programında yer alan farklı agronomik meyve özelliklerine sahip 52 biber genotipinin toplam fenol ve total antioksidan aktivitesi yönünden ortaya çıkan varyabilitenin, genotiplerin farklı

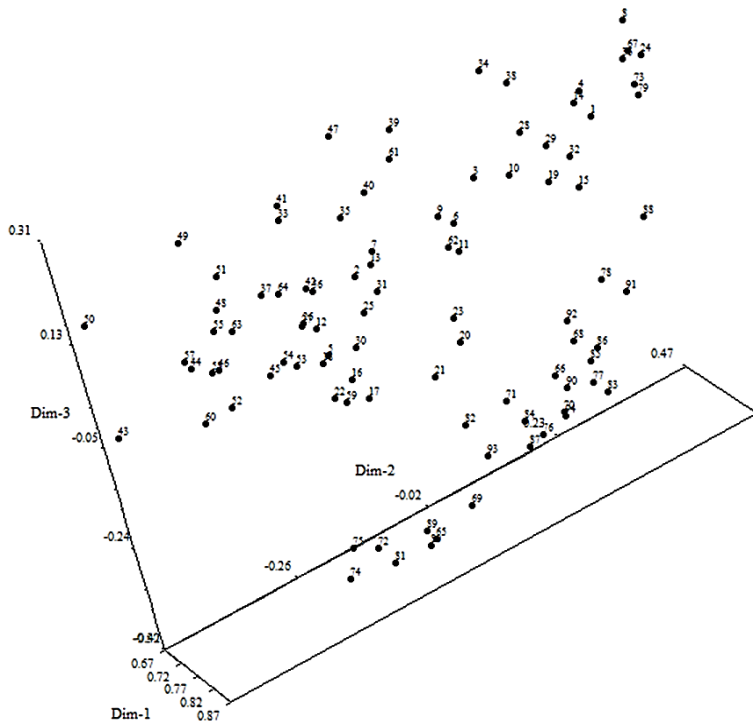
genetik özelliklerinden kaynaklandığı bildirilmiş ve antioksidan içeriği ile meyve özellikleri (meyve şekli, meyve et kalınlığı, meyve uzunluğu, meyve çapı) arasında yüksek korelasyon belirlenmiştir. Türkiye biberin anavatanı olmamasına karşın biberin Türkiye’ye farklı dönemlerde değişik kaynaklardan giriş yaparak farklı kıtalara yayılmasında ülkemiz etkin rol oynamıştır. Uzun yıllar süregelen yetiştirme dönemi içerisinde meydana gelen doğal seleksiyonlar, yaygın üretim alanlarının farklı ekolojik koşullara sahip olması, tüketici istekleri ve bölgelere göre değişebilen farklı değerlendirme şekilleri doğrultusunda üreticiler tarafından uygulanan seleksiyonlar biber gen kaynaklarının varyabilitesinin yüksek olmasını sağlamıştır (Hausman ve ark., 2004; Bozokalfa ve ark., 2009; Bozokalfa ve Esyok, 2011; Zhang ve ark., 2016).

#### 4. Sonuç

Moleküler düzeyde yapılan karakterizasyonun morfolojik markörler kullanılarak genotipler arasındaki ilişkiyi ve genetik çeşitliliği desteklediğini ve bu markör sistemlerinin etkin bir şekilde amaca hizmet ettiğini göstermektedir. SRAP markör sisteminin biberde pek fazla kullanılmamasına rağmen tarafımızdan yapılan çalışmada yüksek polimorfizm göstermesi bu markör



Şekil 2. Biber genotipleri arasındaki ilişkilerin temel bileşen analizinden elde edilen eksenler ile oluşturulan iki boyutlu düzlem



Şekil 3. Biber genotipleri arasındaki ilişkilerin temel bileşen analizinden elde edilen eksenler ile oluşturulan üç boyutlu düzlem

sisteminin biber ve diğer Solanaceae familyası türlerinde başarı ile kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan kavunların genetik çeşitliliğinin ve yabancı orjinli kavun genotipleri ile akrabalıklarının belirlenmesi amacı ile SSR, SRAP ve RAPD markör sistemlerinin karşılaştırıldığı çalışmada, SRAP ve SSR markörlerinin bitki ıslahı çalışmaları açısından genetik çeşitliliğin belirlenmesinde RAPD markör sistemine kıyasla yüksek polimorfizm sağladığı vurgulanmıştır (Yıldız ve ark., 2011). Sonuç olarak mevcut gen havuzunu oluşturan genotiplerin birbirine olan genetik uzaklıklarının/yakınlıklarının belirlenmesi yanında farklı kalite özelliklerinin iyileştirilmesi için yürütülecek ıslah programlarında melez kombinasyonlarının oluşturulabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu sayede çeşit geliştirme çalışmalarında ıslah çalışmalarının süresinin kısaltılması ve melezleme kombinasyonlarının belirlenmesinde doğru programların oluşturulabilmesine olanak sağlanacaktır.

## Teşekkür

Bu çalışma E.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından 2009 ZRF 005 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. Genetik materyalin sağlanmasında katkılarından dolayı Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Gen Kaynakları Başkanlığına ve laboratuvar imkanlarından faydalandığımız E.Ü. Tohum Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezine teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

- Andrews, J., 1999. The pepper trail: history and recipes from around the world. Univ. North Texas Press, Denton, Tex.
- Aktaş, H., Abak, K., Şensoy, S., 2009. Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum L.*) genotypes revealed by AFLP analysis. African Journal of Biotechnology, 8(18): 4378-7386.
- Alghamdi, S.S., Al-Faifi, S.A., Migdadi, H.M., Khan M.AL., EL-Harty, EH., Ammar, M.H., 2012. Molecular diversity assessment using sequence related amplified polymorphism (SRAP) markers in *Vicia faba L.* International Journal of Molecular Science. 13, 16457-16471. doi: 10.3390/ijms131216457.
- Apuya, N.R., Frazier, B.L., Keim, P., Jillroth, E., Lark, K.G., 1988. Restriction fragment length polymorphisms as genetic markers in soybean, *Glycine max (L.)* Merrill. Theoretical and Applied Genetics. 75: 889-901.
- Bozokalfa, M.K., Eşiyok, D., 2011. Evaluation of morphological and agronomical characterization of Turkish pepper accessions. International Journal of Vegetable Science. 17: 115-135. doi: 10.1080/19315260.2010.516329
- Bozokalfa, M.K., Eşiyok, D., Turhan, K., 2009. Patterns of phenotypic variation in a germplasm collection of pepper (*Capsicum annuum L.*) from Turkey. Spanish Journal of Agricultural Research, 7: 83-95.
- Budak, H., Shearman, R.C., Parmaksız, I., Gaussoin, R.E., Riordan, T.P., Dweikat, I., 2004. Molecular characterization of buffalograss germplasm using sequence-related amplified polymorphism markers. Theoretical and Applied Genetics, 108: 328-334.
- Dias, J.S., Lima, M.B., Song, K.M., Monterio, A.A., Williams, P.H., Osborn, T.C., 1992. Molecular taxonomy of portuguese tronchuda cabbage and kale landraces using nuclear RFLPs. Euphytica, 58: 221-229.
- Dias, J.S., Monterio, A.A., Lima, M.B., 1993. Numerical taxonomy of portuguese tronchuda cabbage and galega kale landraces using morphological characters. Euphytica, 69: 51-68.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus., 12: 13-15.
- Ender, M., Terpstra K., Kelly, J.D., 2008. Marker-assisted selection for white mold resistance in common bean. Molecular Breeding, 21: 149-157.
- Escribano, M.R., Santalla, M., Casquero, P.A., De Ron, A.R., 1998. Patterns of genetic diversity in landraces of common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) from Galicia. Plant Breeding, 117: 49-56.
- Eşiyok, D., 2012. Kışlık ve yazlık sebze yetiştiriciliği. Meta Basım, 404 s. Bornova/İzmir.
- Ferriol, M., Pico, B., Nuez, F., 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of Cucurbita pepo using SRAP and AFLP markers. Theoretical and Applied Genetics, 107: 271-282.
- Ferriol, M., Pico, B., Fernandez, P., Cordova, D., Nuez, F., 2004. Molecular diversity of a germplasm collection of squash (*Cucurbita moschata*) determined by SRAP and AFLP markers. Crop Science, 44, 653-664.
- Figdore, S.S., Kennard, W.C., Song, K.M., Slocum, M.K., Osborn, T.C., 1988. Assessment of the degree of restriction length polymorphism in Brassica. Theoretical and Applied Genetics, 75: 833-940.
- Frery, A., Kegeli, M.A., Okmen B, Sigva H.O, Yemencioğlu, A., Doganlar, S., 2008. Water-soluble antioxidant potential of Turkish pepper cultivars. HortScience. 43(3): 631-636.
- Geleta, L.F., Labuschagne, M.T., Viljoen, C.D., 2005. Genetic variability in pepper (*Capsicum annuum L.*) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. Biodiversity & Conservation, 14: 2361-2375.
- Gepts, P., 1995. Genetic markers and core collections. In: Hodgkin, T., Brown, A.H.D., Van Hintum, Th.J.L. & Morales, E. A.V. (Eds). Core Collections of Plant Genetic Resources. Chichester, UK: John Wiley & Sons. pp. 127-146.
- Grisi, M.C., Blair, M.W., Gepts, P., Brondani, C., Pereira, P.A., Brondani, R.P., 2007. Genetic mapping of a new set of microsatellite markers in a reference common bean (*Phaseolus vulgaris*) population BAT93 x Jalo EEP558. Genetics and Molecular Research, 30: 691-706.
- Gulsen, O., Shearman, R.C., Heng-Moss, T.M., Mutlu, N., Lee, D.J., Sarath, G., 2007. Peroxidase gene polymorphism in buffalograss and other grasses. Crop Science Society of America, 47: 767-772.



- Hausmann, B.I.G., Parzies, H.K., Presterl T, Susic, Z., Miedaner, T. 2004. Plant genetic resources in crop improvement. *Plant Genetic Resources*, 2(1): 3-21.
- Keleş, D., Özgen, Ş., Saraçoğlu, O., Ata, A., Özgen, M., 2016. Antioksidant potential of turkish pepper (*Capsicum annuum L.*) genotypes at two different maturity stage. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40: 542-551.
- Koutita, O., Tertivanidis, K., Koutsos, T.V., Koutsika-Sotiriou, M., Skaracisi, G.N., 2005. Genetic diversity in four cabbage populations based on random amplified polymorphic DNA markers. *Journal of Agricultural Science*, 143: 377-384.
- Lefebvre, V., Palloix, A., Rives, M., 1993. Nuclear RFLP between pepper cultivars (*Capsicum annuum L.*). *Euphytica*, 71: 189-199.
- 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 and Applied Genetics*, 103: 455-461.
- Li, H., Chen, H., Zhuang, T., Chen, J., 2010. Analysis of genetic variation in eggplant and related Solanum species using Sequence-Related Amplified Polymorphism markers. *Scientia Horticulturae*. 125, 19-24.
- Long, Y., Shi, J., Qiu, D., Li, R., Zhang, C., Wang, J., Hou, J., Zhao, J., Shi, L., Beom-Seok, P., Choi, S.R., Lim, Y.P., Meng, J., 2007. Flowering time quantitative trait loci analysis of oilseed brassica in multiple environments and genome wide alignment with arabidopsis. *Genetics*, 17(4): 2433-2444.
- Miller, J.C., Tanksley, S.D., 1989. RFLP analysis of polygenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theoretical and Applied Genetics*, 80: 437-448.
- Mohammadi, S.A., Prassanna, B.M., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science Society of America*, 43, 1235-1248.
- Nsabiya, V., Logose, M., Ochwo-Ssemakula, M., Sseruwagi, P., Gibson, P., Ojiewo, C. 2013. Morphological characterization of local and exotic hot pepper (*Capsicum annuum L.*) collections in Uganda. *Bioremediation Biodiversity and Bioavailability*, 7(1): 22-32.
- Ortiz, R.F., De la Flor, D., Alvarado, G., Crossa, J., 2010. Classifying vegetable genetic resources-A case study with domesticated *Capsicum* spp. *Scientia Horticulturae*, 126: 186-191. doi: 10.1016/j.scienta.2010.07.007.
- Papa, R., Gepts, P., 2003. Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) from mesoamerica. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(2): 239-250.
- Rego, E.R., Nascimento, M.F., Nascimento, N.F.F., Santos, R.M.C., Fortunato, F.L.G., Rego, M.M., 2012. Testing methods for producing self-pollinated fruits in ornamental peppers. *Horticultura Brasileira*, 30: 669-672.
- Smith, J.S.C., Smith, O.S., 1989. The description and assessment of distances between inbred lines of maize: the utility of morphological, biochemical and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica*, 34: 151-161.
- Souza, E., Sorrells, M.E., 1991. Genetic relationships among 70 North American oat cultivars: cluster analysis using quantitative morphological characters. *Crop Science Society of America*, 31, 599-605.
- Toquica S.P., Rodriguez, F., Martinez, E., Duque, M.C., Tohme, J., 2003. Molecular characterization by AFLPs of *Capsicum* germplasm from the amazon department in colombia, characterization by AFLPs of *Capsicum*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50: 639-647.
- Yıldız, M., Ekbiç, E., Keleş, D., Şensoy, S., Abak, K., 2011. Use of ISSR, SRAP, and RAPD markers to assess genetic diversity in Turkish melons. *Scientia Horticulturae*, 130: 349-353.
- Zhang, X.M., Zhang, Z.H., Gu, X.Z., Mao, S.L., Li, X.X., Chadœuf, J., Palloix, A., Wang, L.H., Zhang, B.X., 2016. Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp.) germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(9): 1991-2001.