BAHÇE 51 (Özel Sayı 1): 420–424 (2022)
ISSN: 1300-8943 e-ISSN: 2791-6375

BİBER BİTKİLERİNİ ENFEKTE EDEN TOBAMOVIRUSLER'İN SİMPTOMATOLOJİSİ VE L4 GENİNİ TANILAYAN FARKLI MARKIRLAR İLE REALTIME PCR SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Pelin SARIKAYA[1]*, Tuğba TOKSÖZ[2], Sevgül ÇOBAN[3], Hakan FİDAN[4]

[1]AD Rossen Tarım San. ve Tic. A.Ş., Antalya; ORCID: 0000-0002-6133-6128
[2]AD Rossen Tarım San. ve Tic. A.Ş., Antalya; ORCID: 0000-0003-3356-0832
[3]AD Rossen Tarım San. ve Tic. A.Ş., Antalya; ORCID: 0000-0001-5287-3661
[4]Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antalya; ORCID: 0000-0002-0384-9486

ÖZ

Biber (*Capsicum annuum* L.) dünyada en yaygın olarak yetiştirilen ve ekonomik olarak önemli yere sahip sebzelerden gruplarından biridir. Biber yetiştiriciliği yapılan açık alanlar ve seralarda üretim girdilerini sınırlandıran faktörlerin başında virüs hastalıkları gelmektedir. Tohumla ve mekanik yollarla taşınabilen Tobamovirus grubuna ait virüslerden özellikle Pepper mild mottle virus (PMMoV) ve son yıllarda özellikle domates üretiminde ciddi problemlere sebep olan Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) biber yetiştiriciliği yapılan alanlarda ciddi enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Bu iki virüs de biber bitkilerinde benzer simptomlar meydana getirmeleri sebebiyle simptomatolojik olarak ayırt etmek oldukça zordur. Teşhis için virüslere spesifik primerler ile RT-PCR yapılması gerekmektedir. Virüs enfeksiyonlarından korunmanın en etkili yöntemi dayanıklı çeşit kullanmaktır. Bu çalışmada biber bitkilerinde L4 dayanıklılık genini tanılayan farklı klasik markırlar ve DYN firmasına ait 'simple probe' teknolojisiyle çalışan L4 RealTime kiti kullanılarak, MAS (Marker-Assisted Selection) çalışmalarıyla L4 geni tanılaması hem klasik PCR hem de qPCR (quantitative PCR) sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. MAS analizlerinde ise L4 genini tanılamak için kullanılan markırlar ile kıyaslama çalışması yapılmıştır. RealTime PCR ile uyumlu çalışan, beklenen-gözlenen sonuçlarını doğrulayan klasik PCR markırı da belirlenmiştir. Laboratuvar imkanları elverişli olduğu sürece L4 klasik markırlarının qPCR kitleri ile doğrulanması gerektiği, tek markıra bağlı kalınarak alınan sonuçların güvenilir olmadığı ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: MAS, L4 dayanıklılık geni, PMMoV, ToBRFV, virüs

SYMPTOMATOLOGY OF TOBAMOVIRUSES INFECTING PEPPER PLANTS AND THE COMPARISON OF REALTIME PCR RESULTS WITH DIFFERENT MARKERS DIAGNOSING THE L4 GENE

ABSTRACT

Pepper (*Capsicum annuum* L.) is one of the most widely grown and economically important vegetable groups in the world. The primary factors limiting production inputs in open fields and greenhouses where pepper is cultivated are virus infections. Major infections in pepper growing areas are caused on by the PMMoV, one of the Tobamovirus group's viruses that can spread mechanically and by seeds, and the ToBRFV, which has recently caused serious issues with tomato production. It is quite difficult to diagnose these two viruses symptomatologically, requiring RT-PCR with virus-specific primers for complete diagnosis. The usage of resistant cultivars is the best defense against viral infections. In this study, the results of MAS analyze performed with both classical PCR and qPCR using various markers identifying the L4 gene in pepper plants were compared. The markers used to identify the L4 gene were compared with the results of the MAS analysis. Additionally, a traditional PCR marker was identified, which enhances RealTime PCR and supports the observed results. As long as there are laboratory facilities available, it has been revealed that L4 classical markers should be confirmed using qPCR kits and that the results from using only one marker are unreliable.

Keywords: MAS, L4 resistance gene, PMMoV, ToBRFV, virus

GİRİŞ

Biber (*Capsicum annuum* L.) dünyada ve ülkemizde yaygın olarak üretilen ve tüketilen, aynı zamanda ekonomik olarak önemli yere sahip sebze gruplarından biridir. Ülkemizde Kapya, Dolmalık, Sivri ve Çarliston çeşitleri olarak farklı biber genotiplerinin üretimleri gerçekleştirilmektedir. Biber yetiştiriciliği yapılan açık alan ve seralarda üretim verilerini sınırlandıran birçok faktör bulunmaktadır. Biber yetiştiriciliğinde hem kaliteyi hem de üretim miktarını etkileyen en önemli parametrelerin başında kimyasal mücadelesi mümkün olmayan virüs hastalıkları gelmektedir. Üretim alanlarında en sık karşılaşılan vektörler; yaprak bitleri (*Myzus persica*), thripsler (*Thrips*

*Sorumlu yazar / *Corresponding author*: pelinsarikaya75@gmail.com

tabaci, *Frankliniella occidentalis*) ve beyazsinekler (*Bemisia tabaci*) olarak bilinmektedir ve bu vektörler önemli verim kayıplarına sebep olan virüslere vektörlük yapma özellikleriyle etkin rol oynamaktadır. Bazı araştırmacılar biber üretim alanlarında sık rastlanan ve önemli olan ilk üç virüs olarak; Potato virus Y (PVY), Tomato spotted wilt virus (TSWV) ve Pepper mild mottle virus (PMMoV) olduğunu belirtmişlerdir. Pepper mild mottle virus (PMMoV) ve Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)'ün de dahil olduğu Tobamovirus'lerin bilinen bir böcek vektörü olmamasına rağmen mekanik yollarla ve temas ile bulaşabilmeleri nedeniyle üretim alanlarının en önemli problemlerindendir. Virüs hastalıkları ile mücadelede en başarılı yönetim modeli, dayanıklı çeşitlerin ıslahı ve bu hastalıklara vektörlük yapan böceklere karşı kültürel-kimyasal mücadele yöntemlerinin kullanılmasıdır. Birçok virüs vektörü ile kimyasal-kültürel mücadeleler yapılarak hastalık kontrol altında tutulabilmektedir. Ancak Tobamovirus'ler gibi temas yoluyla bulaşabilen ve şu ana kadar vektörü tespit edilmeyen virüslerin varlığı büyük bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Virülensliği çok yüksek olan bu virüslerin mücadelesinde dayanıklı çeşitlerin kullanılmasının önemi daha da artmaktadır [9].

Biber bitkisinin genomundaki I2C ve R3a lokuslarının pozisyonu, birkaç kantitatif özellik lokusuna (QTL) sahip bir R-gen kümesini ve ayrıca baskın bir direnç geni olan L'yi içermektedir. L lokusunda, *Capsicum annuum* (L1), *Capsicum frutescens* (L2), *Capsicum chinense* (L3) ve Capsicum chacoense (L4) [2, 3]. Dayanıklılığı kontrol eden dört genin allelizmi, TMV direncinin erken bir genetik çalışmasında gösterilmiştir [3]. L geninin, Tobacco mosaic virus (TMV), Tomato mosaic virus (ToMV), Paprika mild mottle virus (PaMMV) ve Pepper mild mottle virus (PMMoV) dahil olmak üzere biberi enfekte eden birkaç Tobamovirus'e dayanıklılık kazandırdığı gösterilmiştir [6, 18]. Bu Tobamovirus'ler, patojenitelerine ve muadili direnç L genleri ile etkileşimlerine bağlı olarak farklı patotipler -P0, P1, P1,2 ve P1,2,3- olarak sınıflandırılmıştır. P1,2,3 olarak sınıflandırılan birkaç PMMoV izolatının en agresif olduğu gösterilmiştir, L4 hariç tüm L geni aracılı dayanıklılık, sistemik enfeksiyonun meydana geldiği yerlerde etkisiz kalmaktadır [14, 11]. L4, aşırı duyarlı tepkiyi (HR) indükleyerek Tobamovirus'lerin çoğu patotipine karşı direnç sağlar. Tobamovirus'ün kılıf proteini, belirgin bir HR oluşturarak L gen aracılı direnci ortaya çıkardığı gösterilmiştir [2].

Dünyada bulunan PMMoV izolatları P1.2 veya P1.2.3 olarak adlandırılmıştır [15]. L3 genini taşıyan bitkiler patotip P1.2'ye dayanıklı, fakat P1.2.3'e karşı hassas olduğu belirtilmiştir [14]. L4 genine sahip bitkiler ise her iki patojene karşıda dayanıklılık sağlamaktadır [14, 11].

Biber kromozomu 11'in alt kolunda haritalanan L geni için çeşitli DNA markörleri ve haritalama popülasyonları kullanılarak birkaç markör geliştirilmiştir. Sugita ve ark. [16] tarafından L3 lokusundan 4.0 cM'de bulunan Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markörleri geliştirilmiştir. L3 lokusuna (\0.1 cM uzaklıkta) daha yakın konumlanan markırlar, bulked segregant analysis-amplified fragment length polymorphism (BSA-AFLP) ve resistance gene analog (RGA) haritalaması kullanılarak geliştirilmiştir [17]. Matsunaga vd. [14], birkaç L4 bağlantılı işaretleyici geliştirilmiştir. L4 lokusundan 1.5 cM uzaklıkta bulunan RAPD belirteçlerinden biri (WA31-1500), AP7-AP8 adıyla bir SCAR markırına dönüştürülmüştür. Başka bir haritalama çalışması, L4 ile bağlantılı üç AFLP markırı oluşturmuş ve en yakın markır (L4SC340) bir SCAR markırına dönüştürülmüştür. [11]. Bu işaretleyici iki popülasyonda test edildiğinde, işaretleyici L4'ten 0.9 ve 1.8 cM uzakta haritalanmıştır ve bu belirteçlerin varlığı, L4 geninin iyi haritalanması ve L3 ile L4 arasındaki alelik ilişkinin aydınlatılması için büyük bir fırsat sağlamıştır. Daha sonraki yıllarda L4 genini tanılamak için çeşitli klonlama ve haritalama çalışmaları Yang vd. [19] tarafından 060I2END dominant markırı ve 087H3T7 co-dominant markırı geliştirilmiştir. Lee vd. [12] tarafından L4 genini tanılayan bir SCAR co-dominant markır da literatüre geçmiştir. TG036 [13] markırından türetilen Tm3-DRS markırı, PCR primer çifti P118 ve primer P119 olarak tanımlanmış ve PCR ürünlerinin, Tru1I (MseI) enzimiyle kesilmesi sonucu L4 alelinin varlığını gösteren bir markır olarak patenti alınmıştır [1]. L4 geni için araştırılan markırların sekans dizilimleri Çizelge 2.'de özetlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada biber bitkilerinde Tobamavirus grubuna karşı dayanıklılık sağlayan L4 geninin tanılamasında kullanılan altı farklı markır ve bir adet RealTime kiti kullanılarak markırların sonuçları kıyaslanmıştır. Heterozigot ve hassas kontrollerin eklendiği klasik ve RealTime PCR çalışmalarının sonuçlarındaki farklılıklar kaydedilerek L4 geni için kullanılacak en uygun markırın belirlenmesi amaçlanmıştır. Ek olarak biber bitkilerini enfekte eden ve ülkemizde rapor edilmiş olan iki farklı Tobamovirus hastalığının simptomatolojisi de bu çalışmaya dahil edilmiştir. ToBRFV'nin L4 geni taşıyan dayanıklı biber bitkilerinde sebep olduğu simptomların, PMMoV ile

karıştırılmaması için simptomatolojinin öneminin vurgulanması da amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada piyasada satılan tescilli çeşitleri kontrol grubu olarak kullanılmıştır (Çizelge 1). Bu çeşitler dolmalık tiplerden oluşan Sobek F1 (Syngenta Tohum), Doddo RZ F1 (Rijk Zwaan), Torpido F1 (Multi Tohum), Kanije F1 (Multi Tohum), Zafer F1 (Yüksel Tohum), ASG 407 F1 (Asgen Tarım) ; Çarliston tipi Nicole F1 (ADRossen Tohum), Dolma tipi Egeli F1 (ADRossen Tohum). İki adet homozigot dayanıklı sentetik kontrol de çalışmaya dahil edilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan hibrit çeşitler ve L4 dayanımları

Table 1. Hybrid varieties and their L4 resistances

Çeşit İsmi	L4 Dayanımı
Sobek F1	+
Doddo RZ F1	+
Torpido F1	-
Kanije F1	-
Zafer F1	+
Asg 407 F1	+
Egeli F1	+
Nicole F1	+

Metot

•Total Nükleik Asit Ekstraksiyonu: Materyal olarak kullanılan çeşitlerden yaprak örnekleri alınarak CTAB [8] metodu modifiye edilerek uygulanmıştır. Elde edilen nükleik asit örnekleri, PCR çalışmalarında kalıp olarak kullanılmıştır.

•Klasik ve Real Time PCR Çalışmaları: Çalışmadaki 9 farklı kontrol bitkinin nükleik asitleri, Çizelge 2'de belirtilen primer dizilimleri kullanılarak klasik PCR çalışmalarına tabii tutulmuştur. Bu çalışmalarda GRS Hotstart Taq Mastermix (2X) (GRISP, Portekiz) kiti kullanılarak 12.5 µl Mastermix, 1.5 µl forward primer,1.5 µl Reverse primer, 2 µl DNA ve 7.5 µl steril su eklenerek totalde 25 µl hacimde PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. PCR koşullarında ise Çizelge 2.'deki annealing sıcaklıkları takip edilerek 95'de 5 dk 1 döngü, 95°C'de 30 sn, 53-64°C'de 30 sn ve 72°C'de 30 sn-1 dk 40 döngü ve 72°C'de 10 dk 1 döngü olacak şekilde uygulanmıştır.

Klasik PCR çalışmalarının sonuçlarından elde edilen amplikonlar baz %1.5'luk agaroz jel hazırlanarak ve Xpert Green DNA Stain (20.000X) (GRISP, Portekiz) boyanmıştır ve ürünler 70-100 V arasında yürütülmüş ve UV ışık altında görüntüleri kaydedilmiştir. Realtime PCR için DYN Firmasının L4 SimpleProbe kiti kullanılmış ve sonuçları Roche LightCycler 480 cihazında analiz edilmiştir.

Çizelge 2. L4 geni için çalışılan markır listesi ve özellikleri

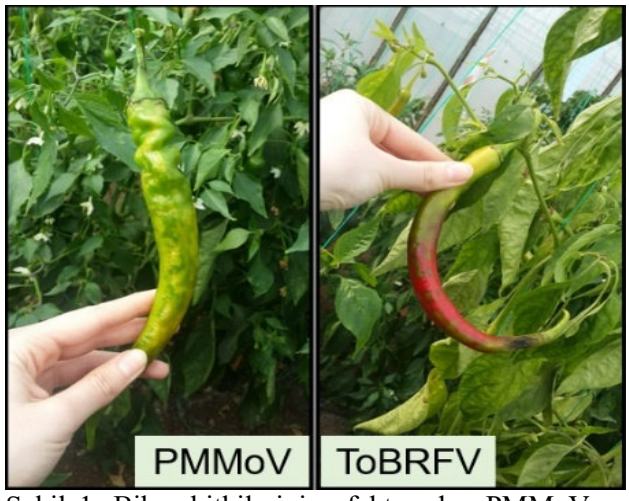
Table 2. List of markers studied for the L4 gene and their properties

Markır Adı	Dizilimi	Tm (°C)
AP-7 AP-8	CGTACTGTGGCTCAAAACTC ATTCGCACCGTTTAGCCCGT	58
L4SC340-F L4SC340-R	AAGGGGCGTTCTTGAGCCAA TCCATGGAGTTGTTCTGCAT	53
060I2END-2F 060I2END-2R	GCACATCAGCAGGTTTAGTACG CCAACTGTCAAACCTCGG	62
087H3T7-F 087H3T7-R	CCTTTGCCTGCATTATTCTTG GCCCAAATTTATTCCCAAATGC	62
P118 P119	AATCCTTCAACTGCCATTTC ATTGGGACATGAGGTGTGTA	58
L4SCAR-F L4SCAR-R	ATCGATGCACCCCTCGTTTTAATC GAGCAGTGTGGAGTGTCTATTGCTCA	64

BULGULAR VE TARTIŞMA

Simptomatojik Bulgular

Biber bitkilerini enfekte eden Tobamoviruslerin gösterdiği simptomlar Şekil 1'de gösterilmiştir. Tobamovirus'lerin tipik özelliği olarak yaprak simptomu vermeyen enfeksiyonların, biber meyvelerinde meydana getirdiği simptomlar birbirine benzemektedir. Dolayısıyla spesifik bir tanılama istediğinde PMMoV için P12/3(F) ve P12/3A(R) primer çifti [5] ve ToBRFV için ToBRFVF1 ToBRFV R1 primer çifti [10] kullanılarak RT-PCR çalışması ile teşhis yapılması gerekmektedir.



Şekil 1. Biber bitkilerini enfekte eden PMMoV ve ToBRFV hastalıklarının simptomları

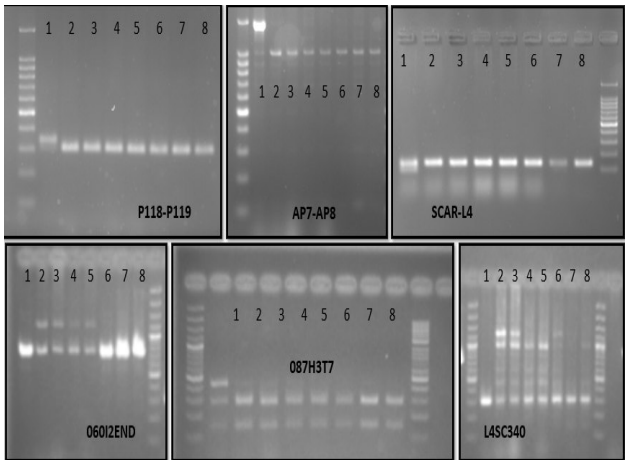
Figure 1. Symptoms of PMMoV and ToBRFV diseases that infect pepper plants

Moleküler Bulgular

L4 geni için kullanılan markırlar ile yapılan klasik PCR analizlerinin sonuçları kıyaslanarak çalışılmış

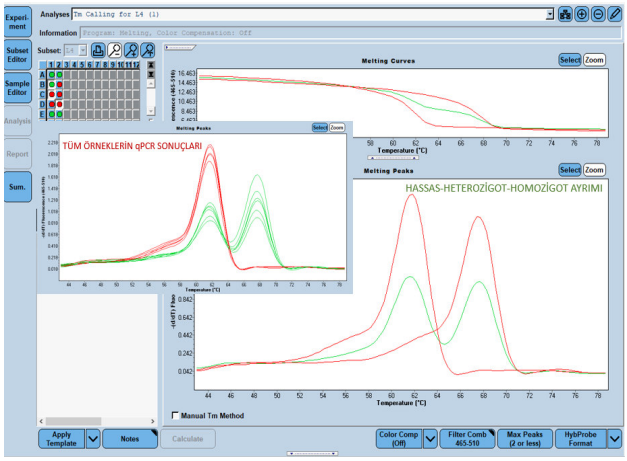
ve kalıtımdaki farklılıkları belirten sonuçlar tek jel resminde toplanmıştır (Şekil 2).

Real time kiti ile yapılan çalışmada elde edilen pik görüntüleri Şekil 3'te paylaşılmıştır.



Şekil 2. L4 geni markırları ile Klasik PCR ile yapılan örneklerin agaroz jel görüntüleri

Figure 2. Agarose gel images of samples made by classical PCR with L4 gene markers



Şekil 3. qPCR ile yapılan L4 geni sonuçları

Figure 3. Results of the L4 gene performed by qPCR

TARTIŞMA

PMMoV ve özellikle son yıllarda ToBRFV biber üretim alanlarında büyük problemler oluşturmaktadır. Özellikle Çağlar ve ark. [7]'nın yılında yapılan çalışmada L3 geni vasıtasıyla PMMoV için sağlanan dayanıklılığın kırılmasının rapor edilmesi ve Fidan vd. [10]'nin yaptıkları çalışmada biber bitkilerindeki dayanıklılık genlerinin ToBRFV'ye karşı etkinliğinin henüz anlaşılamadığını belirtmeleriyle birlikte bu Tobamovirus hastalıkları ile mücadelede kullanılacak tek dayanıklılık kaynağı olarak Capsicum chacoense'den elde edilen L4 geni ile çalışılması önem kazanmıştır. L4 geni vasıtasıyla sadece PMMoV'ye karşı değil aynı zamanda Tobamovirus grubuna ait ToMV (Tomato mosaic virus), TMV (Tobacco mosaic virus) gibi diğer virüslere karşı da dayanıklılık sağlanabildiği belirtilmiştir [4]. Simptomatolojik, fenotipik özelliklerin haricinde bitkilerin genotiplerinin araştırılmasında yardımcı olan genetik markırlar ile yapılan bu kıyaslama çalışmasında farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Moleküler markırların tanılamadaki yetkinliğini etkileyen unsurlardan biri de bu primerlerin aday gen olan L4 genine yakın konumlanmasıyla ilgilidir. Denemede kullanılan L4SC340 L4 genine 1.8 cM yakınında konumlandığı [11], AP7/AP-8 primerlerinin L4 genine olan yakınlığının 1.5 cM yakınında olduğu [14], 087H3T7 [19] primerinin ise gene olan uzaklığının 0.7 cM yakınında konumlandığı rapor edilmiştir.

Allersma vd. [1], P118-P119 markırı için, söz konusu bitkinin genomunda L4 direnç alelinin mevcudiyeti nedeniyle Pepper mild mottle virus'ü (PMMoV) patotip 1.2.3'e direnç gösteren Capsicum cinsinin bir bitkisini sağladığını ve burada söz konusu L4 alelinin yaklaşık 0.001 ila 10 cM, tercihen 0.001 ila 10 cM'lik bir genetik mesafe boyunca nükleotit dizilerinin çıkarılmasını içermesi gerektiğini belirtmişlerdir. TM-3 direnç genini içeren Grup 1'in markıları ile grup 3'ün markırları arasında gözlemlenen rekombinasyon frekansın, yaklaşık 2 cM'lik bir mesafeye eşdeğer olduğunu ve Grup 1'in markırları ile Grup 2'nin markırları arasında gözlemlenen rekombinasyon sıklığının da yaklaşık 2 cM'lik bir mesafeye eşdeğer olduğunu paylaşmışlardır.

Simpleprobe teknolojisiyle hazırlanmış olan ve bu çalışmada kullandığımız RealTime L4 kiti ise hassas ve dayanıklı allelleri, dizilimlerindeki farklı nükleotidlerin erime sıcaklığının farklı olması mantığına dayanarak birbirinden ayırt etmektedir. Reaksiyon sonrasında elde edilen pikler incelendiğinde 67°C'de elde edilen pik hassas genotipi, 73°C'de elde edilen pik dayanıklı genotipi, her iki sıcaklıkta da pik veren örneklerin ise heterozigot dayanıklı genotip olduğunu belirlemede oldukça kolay ve hızlı sonuç sağlamaktadır. Laboratuvar imkanları elverişli olduğu sürece L4 klasik markırlarının, real time kitler ile doğrulanması gerektiği ve tek markıra bağlı kalınarak alınan sonuçların yanıltıcı olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

SONUÇ

Yapılan çalışma sonuçlarına göre L4 geni için kullanılan markırların sonuçlarında farklılıklar gözlenmiştir. L4SC340 markırı [11] SCAR dominant bir markır olup tüm kontrollerde bant verdiğinden

kalıtım belirlemede etkin bulunmamıştır. AP7-AP8 [14] markırı, L4 alleli taşıyan genotiplerde bant verip olmayanlarda vermeyerek L4 geni için yorum yapılmasına olanak sağlamıştır fakat heterozigot genotipleri belirleyememektedir. 060I2END [19] markırı dayanıklı olan bitkilerde bant vermesinin yanı sıra heterozigot olarak sonuçlar vermediğinden ıslah çalışmaları için eksikliği belirlenmiştir. P118-P119 [1], patentli bir markır olup MseI enzimiyle kesim işlemi sonrası Sobek F1 çeşidinin heterozigot karakterde olduğunu doğrulamış fakat diğer tüm bitkileri hassas olarak göstermiştir. L4SCAR [12] markırı da P118-P119 ile aynı sonuçları vermiştir. Benzer şekilde 087H3T7 [19] markırı da SspI enzimiyle kesim sonrası hassas/heterozigot ayrımını göstermiştir. Real time PCR simpleprobe kit sonuçları değerlendirildiğinde yüksek oranda doğru sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmada, L4 geni analizi için klasik markırları ve realtime kitleri karşılaştırmalı olarak test edilmesinin önemi vurgulanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Allersma, A.P., Hofstede, R.J.M., Vreugdenhil, D. 2011. PMMoV resistant capsicum plants. New European Patent Specification, Bulletin 2017/4. U.S. Patent No:7, 943, 831.
2. Berzal-Herranz, A., de la Cruz, A., Tenllado, F., Díaz-Ruíz, J.R., López, L., Sanz, A.I., Vaquero, C., Serra, M.T., García-Luque, I. 1995. The Capsicum L3 gene-mediated resistance against the Tobamoviruses is elicited by the coat protein. Virology 209:498-505.
3. Boukema, I.W. 1980. Allelism of genes controlling resistance to TMV in *Capsicum* L. Euphytica 29:433-439.
4. Boukema, I.W. 1984. Resistance to TMV in *Capsicum chacoense* Hunz. is governed by an allele of the L-locus. Capsicum Newsletter 3:47-48.
5. Buzkan, N., Yüzer, D. 2009. Molecular detection of seed-borne viruses in Kahramanmaraş red peppers. Alatarım, 8(1):1-7.
6. Csillery, G., Tobias, I., Rusko, J. 1983. A new pepper strain of tomato mosaic virus. Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae 18:195-200.
7. Çağlar, B.K., Fidan, H., Elbeaino, T. 2012. Detection and molecular characterization of pepper mild mottle virus from Turkey. Journal of Phytopathology 161(6):434-438.
8. Doyle, J.J., Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19:11-15.
9. Fidan, H., Barut, M. 2019. Biber hafif benek virüsüne (PMMoV) karşı L4 dayanıklılık durumunun taranması ve moleküler yöntemlerle karakterizasyonu. Mediterranean Agricultural Sciences 32(3):297-305.
10. Fidan, H., Sarikaya, P., Yildiz, K., Topkaya, B., Erkis, G., Calis, O. 2021. Robust molecular detection of the new Tomato brown rugose fruit virus in infected tomato and pepper plants from Turkey. Journal of Integrative Agriculture 20(8):2170-2179.
11. Kim, H.J., Han, J.H., Yoo, J.H., Cho, H.J., Kim, B.D. 2008. Development of a sequence characteristic amplified region marker linked to the L4 locus conferring broad spectrum resistance to Tobamoviruses in pepper plants. Molecules and Cells 25:205-210.
12. Lee, J.D., Han, J.H., Yoon, J.B. 2012. A set of allele-specific markers linked to L locus resistant to Tobamovirus in *Capsicum* spp. Horticultural Science & Technology, 30(3):286-293.
13. Lefebvre, V., Pflieger, S., Thabuis, A., Caranta, C., Blattes, A., Chauvet, J.C., Daubeze, 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(5):839-854.
14. Matsunaga, H.T., Saito, M., Hirai, T., Yoshida, T. 2003. DNA markers linked to pepper mild mottle virus (PMMoV) resistant locus (L4) in Capsicum. Japanese Society for Horticultural Science 72:218-220.
15. Rast, A.T.B. 1988. Pepper Tobamoviruses and pathotypes used in resistance breeding. Capsicum Newsletter 7:20-23.
16. Sugita, T., Yamaguchi, K., Sugimura, Y., Nagata, R., Yuji, K., Kinoshita, T., Todoroki, A. 2004. Development of SCAR markers linked to L3 gene in Capsicum. Breed. Sci. 54:111-115.
17. Tomita, R., Ken-Taro, S., Hiroyuki, M., Sakamoto, M., Murai, J., Kiba, A., Hikichi, Y., Suzuki, K., Kobayashi, K. 2011. Genetic basis for the hierarchical interaction between Tobamovirus spp. and L resistance gene alleles from different pepper species. Molecular Plant Microbe Interactions 24:108-117
18. Wetter, C., Conti, M., Altschuh, D., Tabillion, R., Van Regenmortel, M.H.V. 1984. Pepper mild mottle virus, a Tobamovirus infecting pepper cultivars in Sicily. Phytopathology 74(4):405-410.
19. Yang, H.B., Lıu, W.Y., Kang, W.H., Jahn, M., Kang, B.C. 2009. Development of SNP markers linked to the L locus in Capsicum spp. by a comparative genetic analysis. In Molecular Breeding 24(4):433-446.