

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MELEZ ASMA GENOTİPLERİNDE MİLDİYÖ HASTALIĞINA
DAYANIKLILIĞIN MARKÖRE DAYALI SELEKSİYONU**

İrem ŞENSES

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2020**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

İrem ŞENSES tarafından hazırlanan “Melez Asma Genotiplerinde Mildiyö Hastalığına Dayanıklılığın Marköre Dayalı Seleksiyonu” adlı tez çalışması 09.01.2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Murat AKKURT
Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

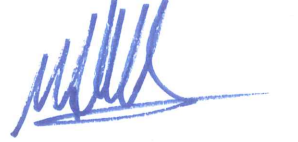


Jüri Üyeleri:

Başkan : Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU
Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Murat AKKURT
Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Atilla ÇAKIR
Bingöl Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof.Dr. Özlem YILDIRIM
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

09/01/2020

İrem ŞENSES

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Melez Asma Genotiplerinde Mildiyö Hastalığına Dayanıklılığın Marköre Dayalı
Seleksiyonu

İrem ŞENSES

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Murat AKKURT

Sofralık özellikleri çok yüksek ancak mildiyö hastalığına hassas olan Alphonse Lavalée üzüm çeşidi ile dayanıklı şaraplık Regent çeşidinin melezlenmesiyle elde edilen popülasyondaki F1 hibrit bitkilerinin marköre dayalı seleksiyon yöntemiyle genotipik düzeyde mildiyö hastalığına dayanıklılıklarının kısa sürede tespiti amacıyla yapılan bu çalışma, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Moleküler Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda 2017-2018 yıllarında gerçekleştirilmiştir. Mildiyöye dayanıklılık ile ilişkili Rpv3 geni ile bağlantılı GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile elde edilen amplifikasyon ürünlerine ait allel büyüklükleri Fragment Analyser Pro Size programıyla belirlenmiştir. GF 18-06 primeri ile toplam 881 bitkiden 874 adedi amplifikasyon ürünü bant vermiştir. 390 bp allele sahip melez bitkiler dayanıklı olarak sınıflandırılmıştır. Diğer primer GF18-08 ile toplam 848 melez bitki incelenmiş ve 844 adedi amplifikasyon ürünü bant vermiştir. Bu primer ile de 399 bp allele sahip genotipler dayanıklı olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmamız sonucunda, Rpv3 geni ile bağlantılı olarak marköre dayalı seleksiyonda her iki primerin de başarı ile kullanılabilir olduğu değerlendirilmiştir.

Ocak 2020, 77 sayfa

Anahtar Kelimeler: Rpv3, Marker Destekli Seleksiyon, Asma, Alphonse Lavalée, Regent, Mildiyö, SSR

ABSTRACT

Master Thesis

Marker Assisted Selection of Downy Mildew Resistance in Hybrid Grapevine
Genotypes

İrem ŞENSES

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat AKKURT

This study aiming to determine the resistance of F1 hybrid plants against *Plasmopara viticola* via marker assisted selection in a short time in the population, which was obtained from the cross of the Alphonse Lavallée (sensitive to downy mildew) and Regent (resistance to downy mildew) cultivars, was conducted in Ankara University Faculty of Agriculture Department of Horticulture Molecular Biotechnology Laboratory in 2017-2018. Allele sizes of the amplification products obtained by Polymerase Chain Reaction, using primers GF 18-06 and GF 18-08 associated to the Rpv3 gene with downy mildew resistance, were determined by Fragment Analyzer Pro Size program. 874 of 881 hybrid plants with GF 18-06 primer yielded amplification product. Hybrid plants with 390 bp alleles are classified as resistant. A total of 848 hybrid plants were examined with the other primer GF18-08 and 844 of them gave amplification product. Genotypes with a 399 bp allele were reported to be resistant. As a result of our study, it was evaluated that both primers can be used successfully in marker assisted selection in association with Rpv3 gene.

January 2020, 77 pages

Key Words: Rpv3, Marker Assisted Selection, grapevine, downy mildew, SSR, Regent, Alphonse Lavallée

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatım boyunca çalışmalarımı yönlendiren, gerek ders, gerek laboratuvar, gerekse tez yazım sürecim boyunca bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen, fikirleriyle yetişmem ve gelişmemde sonsuz sabır gösteren ve yardımcı olan çok değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Murat AKKURT'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Lisans hayatımın en başından beri desteğini asla eksik etmeyen değerli hocam Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU'na, laboratuvar çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübesini aktaran Dr. Nur YILDIRIM'a, yüksek lisans öğrenimime başlarken beni yüreklendiren ve desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Selen AKAN'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Laboratuvar ve tez araştırmalarım süresince her türlü desteği sunan Şereflikoçhisar İlçe Tarım ve Orman Müdürü Şenol GÖRGÜLÜ'ye, dönemin Gölbaşı İlçe Tarım ve Orman Müdürü Güven ALPSOY'a, Gölbaşı İlçe Tarım ve Orman Müdürü Yavuz EKİCİ'ye, çalışmalarımı gerçekleştirebilmem için sonsuz destek sağlayan Ziraat Yüksek Mühendisi Hülya GÜNDÜZ'e, akademik hayatı ve naifliğiyle bana daima örnek olan büyüğüm Ziraat Yüksek Mühendisi Ayla ATİK'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Her türlü sıkıntıda yanımda olan ve büyük bir sabırla beni her koşulda destekleyen kız kardeşlerim Yağmur ESENDEMİR ve Serenay ERMUMCU'ya, aynı hayatı farklı yerlerde bitmek bilmeyen sabırla yaşadığımız yol arkadaşım Yasemin KARADAŞ'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Her koşulda beni yüreklendiren, daha iyisini yapabileceğime benden çok inanan, gece gündüz farketmeden kilometrelerce uzakta çok zor bir görev icra ederken bile her saniye destek olup yardımcı olan çok sevdiğim eşim, hayat arkadaşım Anıl Ufuk ŞENSES'e sabrı ve sevgisi için teşekkür ederim.

Aldığım ilk nefesten itibaren her koşulda yanımda olan, düştüğüm yerden beni kaldıran, hergün kızı olmaktan dolayı şükrettiğim, arkamdaki dağım, ölümsüz desteğim babam Yaşar MUTLUM'a, bana benden çok inanan ve asla benden vazgeçmeyen, akademik hayatıyla, insan ilişkileriyle ve anneliğiyle sonsuz örnek aldığım, evladı olmaktan dolayı hep şükrettiğim, rehberim, annem Berrin MUTLUM'a, aile, kralların bile giremediği bir kaledir sözünü bana hayatım boyunca iyi ve kötü günde gösterdiğiniz için sonsuz şükürler

olsun. Elimi hiç bırakmayan küçük ailem abim Nazif Kerem MUTLUM, yengem Merve MUTLUM ve halasına sonsuz güvenen yeğenim Aslı Sure MUTLUM'a tüm destekleri için teşekkür ederim. Sizleri çok seviyorum.

Türk kadınlarına inanan ve açtığı yolda, gösterdiği hedefte durmadan ilerlememize olanaklar sağlayan, bu günlere gelirken yaptıklarını, fikirlerini ve hedeflerini örnek aldığım, bilime olan inancını yol haritası yaptığım Başkomutanımız Mustafa Kemal ATATÜRK'e saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması 1150176 proje numarasıyla TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İrem ŞENSES

Ankara, Ocak 2020.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1 Dünyada ve Türkiye’de Bağcılık.....	4
2.2 Bağcılığın Önemli Fungal Hastalık Etmenleri.....	6
2.2.1 Külleme (<i>Erysiphe necator</i>).....	6
2.2.2 Mildiyö (<i>Plasmopara viticola</i>).....	6
2.3 Islah Çalışmalarında Moleküler Markörlerin Önemi ve Avantajları.....	7
2.4 Moleküler Markörlerin Uygulama Alanları.....	8
2.5 Moleküler Markör Teknikleri.....	9
2.5.1 RFLP.....	9
2.5.2 RAPD.....	9
2.5.3 AFLP.....	10
2.5.4 SSR.....	10
2.5.5 CAPS.....	11
2.5.6 SCAR.....	11
2.5.7 SNP.....	11
2.5.8 ISSR.....	12
2.6 Marköre Dayalı Seleksiyon ve Bitki Islahında Kullanımı.....	12
2.7 Asmalarda Hastalıklara Karşı Dayanıklılık Islahı.....	14
2.8 Bağcılıkta Marköre Dayalı Seleksiyon Yönteminin Mildiyö Hastalığına Karşı Dayanıklılık Islahında Kullanımı.....	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
3.1 Materyal.....	28
3.2 Yöntem.....	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	53
KAYNAKLAR.....	58
ÖZGEÇMİŞ.....	66

KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi
BAC	Bacterial Artificial Chromosomes (Yapay Bakteri Kromozomları)
CAPS	Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EST	İfade Edilmiş Dizi Etiketleri
ER	Extremity Resistance
HR	High Resistance
ISSR	Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm
MDS	Marköre Dayalı Seleksiyon
PCD	Programmed Cell Death (Programlanmış Hücre Ölümü)
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	Resistance
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi
Ren	Resistenz Erysiphe necator (<i>Erysiphe necator</i> 'a Dayanıklı)
RFLP	Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi
RGA	Resisitenz Gen Analog (Dayanıklı Gen Analogu)
Run	Resistenz Uncinula necator (<i>Uncinula necator</i> 'a Dayanıklı)
S	Sensitive
SCAR	Sekansı Karakterize Edilen Bölge Amplifikasyonu
SNP	Basit Nükleotid Polimorfizmi
SSCP	Tek İplik Konformasyon Polimorfizm
SSR	Basit Tekrarlı Dizi
STS	Dizisi Etiketlenmiş Sekanslar
QTL	Quantity Trait Loci (Niceliksel Özellik Lokusu)

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Rpv3 lokusunda kullanılan markörler ile ilgili bilgiler.....	29
Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Üzüm üretiminde dünya sıralaması.....	4
Şekil 2.2 Son 10 yılda ülkemizdeki toplam üzüm üretim alanı ve tüketim şekillerine göre üzüm üretim miktarları.....	5
Şekil 2.3 Asma yaprağında külleme.....	6
Şekil 2.4 Asma yapraklarında mildiyö.....	7
Şekil 3.1 Fragment Analyser cihazı ile elde edilen GF 18-06 markörüne ait allel büyüklük görüntüsü.....	31
Şekil 3.2 Fragment Analyser cihazı ile elde edilen GF 18-08 markörüne ait allel büyüklük görüntüsü.....	31

1. GİRİŞ

Üzüm, geçmişten bugüne dek ülkemizde ilgiyle tüketilen bir meyvedir. Bu sebeple çok farklı şekillerde değerlendirilmiştir. Sofralık olarak tüketim en yaygın değerlendirilme şeklidir. Kurutma, şarap, pekmez, sirke yapımı gibi alanlarda da yoğun olarak kullanılmaktadır.

Asma, yüksek adaptasyon yeteneği sayesinde birçok bitkinin üretilmediği arazilerde iklim koşullarına da uyum sağlayarak yetiştirilebilmektedir ve bu sayede bu toprakların değerlendirilmesine imkân sağlamaktadır (Kısmalı 1995).

Dünya üzerinde çok farklı iklim koşullarına adapte olabilen asmanın yüksek oranda ve sürekli yabancı döllemesi sonucunda meydana gelen heterozigotik kalıtsal yapı, tohumdan elde edilen ebeveynler arasında fazlaca genetik farklılıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle *Vitis vinifera* türüne ait çeşitlerin çoğaltılmasında vejetatif yöntemler benimsenmiştir. Bunun sonucunda kökeni çok eski tarihlere dayanan çeşitlerin günümüze kadar korunması sağlanmıştır. Dünya üzerinde yaklaşık 30.000 tanımlanmış üzüm çeşidi olduğu tahmin edilmekle birlikte bunlardan 15.000 civarında çeşidin genotipik açıdan farklı yapıda olabileceği düşünülmektedir (Alleweldt 1988). Türkiye, bağcılık kültürü çok eski zamanlara kadar uzanan bir ülkedir. Kültür asmasının (*V. vinifera* L.) gen merkezlerinden biri olarak bilinmektedir. Bu yüzden, ülkemizde genetik çeşitlilik adına zengin bir kaynak bulunmaktadır (Kara vd. 2016).

Vitis vinifera türüne ait üzüm çeşitleri dünyada en yaygın yetiştirilen ve değerlendirilen üzümlerdir. Ancak bu üzümlerin üstün şaraplık ve sofralık değerlerine karşılık en önemli kusurları fungal enfeksiyonlara karşı hassas olmalarıdır. Ülkemizde üretimi yapılan sofralık üzümlerin tamamına yakını *V. vinifera* türüne ait olup, bu çeşitlerin de tamamı mildiyö enfeksiyonuna karşı hassas olarak kabul edilmektedir. Mildiyö hastalığı bağlarda külleme ile birlikte en sık görülen iki hastalıktan biridir. Yağışlı ve nemli havaların yoğun olduğu yıllarda mildiyö zararı fazla olmaktadır. Çok hızlı ve şiddetli seyreden bir hastalık olması nedeniyle salkımlara verdiği zarar ile o yılın ürününün tamamının yok olmasına neden olabilmekte ve hatta önlem alınmaz ise sürgünlere verdiği hasar sebebiyle bu

sürgünler üzerinde bulunan ve ertesi yılın verimini oluşturacak olan salkım taslaklarına da zarar verebilmektedir. Dolayısıyla şiddetli bulaşmalarda iki yıla varan ürün kaybına neden olabilmektedir. Üreticiler bu şiddetli ürün kayıplarına engel olabilmek için ilaçlama sıklığını ve ilaç miktarlarını arttırmaktadırlar. Bu uygulamalar getirdikleri maliyetin yanı sıra, üzüm tanelerindeki kalıntılar sebebiyle insan sağlığını tehdit etmekte ve yurtdışına ihraç edilen sofralık ve kuru üzümlerin geri dönmesine sebep olmaktadır. Yoğun fungusit kullanımı, maliyetleri arttırmasıyla birlikte, fungus dirençlerinin de artmasında etkili olmaktadır. Böyle durumlarda uygulanan fungusitlere direnç kazanan hastalık etmenlerine karşı daha fazla ve daha farklı etkili maddeleri kapsayan ilaçları kullanmak gerekmektedir (Demirci 1996). Türkiye’de 2018 yılında fungusit kullanımı 23.047 ton ile toplam tarım ilacı kullanımının %38’ini oluşturmaktadır (Anonim 2018).

Yukarıda özetlenmeye çalışılan nedenler ile tüm dünyada bağcılıkta hastalıklara karşı dayanıklılık ıslah çalışmaları yürütülmektedir. Dayanıklılık ıslahı çalışmaları 20. yy başlarında geleneksel yöntemler kullanılarak başlatılmıştır. Ancak geleneksel melezleme ıslah yöntemi ile yürütülen bu çalışmalarının sonuçlandırılması asma gibi çok yıllık odunsu bitkilerde görülen uzun gençlik kısırlığı süresi, heterozigotik kalıtsal yapı ve kendileme depresyonu nedeniyle oldukça uzun süre ve emek gerektirmektedir. Ayrıca asmanın heterozigotik kalıtsal yapısı sonucu melezleme sonrası oluşan döllerde geniş bir açılım meydana geldiğinden, popülasyon içinde istenilen özellikteki bireylerin elde edilmesi de çok zor olmaktadır (Akkurt, 2004). Bu nedenlerle istenilen özelliklerde yeni bir üzüm çeşidinin ıslah edilebilmesi için farklı kombinasyonlarda onbinlerce melezleme yapılması gerekmektedir ki bu, oldukça uzun zaman, yoğun iş gücü ve masraf anlamına gelmektedir. Bu olumsuz koşulları en aza indiren yeni tekniklerden biyoteknolojinin sağladığı imkanların asma ıslahında kullanılmaya başlanması ile birlikte günümüzde çok daha kısa sürede etkin sonuçlar alınabilmekte ve böylece ıslah kavramı önemli bir değişim sürecine girmektedir. Biyoteknolojik yöntemlerin asma ıslahında kullanılmaya başlanması ile birlikte asmalarda mantar hastalıklarına karşı dayanıklılığın genetik tanımlanmasındaki gelişmeler hız kazanmıştır. DNA kökenli bu yöntemlerde moleküler markör teknikleri kullanılarak asma genetik olarak incelenebilmiştir. Marköre dayalı seleksiyon yöntemi, bitkiden elde edilen DNA’larda hastalıklarla ilişkilendirilen markörlerin mevcut olup olmadığına göre dayanıklılığın erken dönemde (gençlik kısırlığı

dönemi) belirlenmesinde kullanılmaktadır. Moleküler çalışmalar fenotipik testler ile birlikte ilerlediğinde, çeşidin hastalığa dayanım durumu ve dayanım derecesi hakkında daha sağlıklı bilgi edinilmesine yardımcı olmaktadır.

Marköre dayalı seleksiyon olarak tanımlanan, enfeksiyonlara direnç karakteri ile bağlantılı markörlerin geliştirilmesi ve bunların asma ıslahı uygulamalarında erken seleksiyon çalışmalarında kullanılması bağcılık alanında özellikle tercih edilmeye başlamıştır.

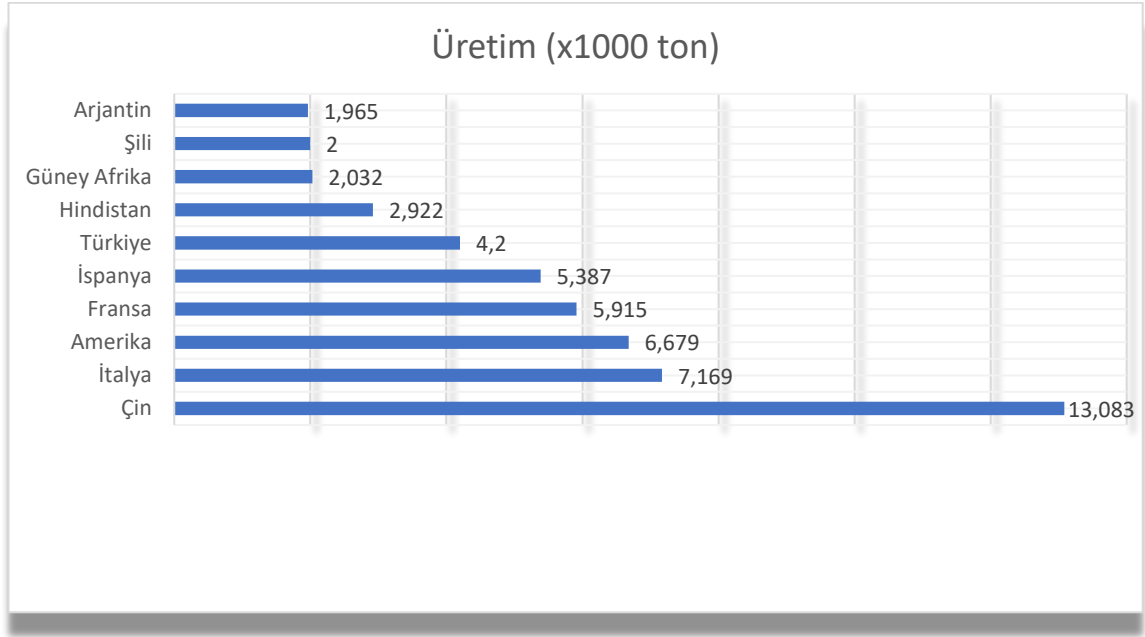
Çalışmamızda, sofralık özellikleri çok yüksek ancak mildiyö hastalığına hassas olan Alphonse Lavalée üzüm çeşidi ile aynı hastalığa yüksek düzeyde dayanıklı olan ‘Regent’ şaraplık üzüm çeşidinin melezlenmesiyle elde edilen popülasyondaki F1 hibrit bitkilerin, marköre dayalı seleksiyon yöntemiyle genotipik düzeyde hastalığa dayanıklı çeşit adaylarının kısa sürede erken teşhisi ve seleksiyonu amaçlanmıştır. Böylece üzümlerde kalıntı problemi ve aşırı ilaç kullanımının çözümüne önemli bir katkı sağlayacak olan dayanıklı sofralık çeşit adayları elde etmek hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Dünyada ve Türkiye’de Bağcılık

Bağcılık, her iki yarımkürede 34° - 49° kuzey ve güney enlemleri arasında yapılmaktadır.

Dünya üzerinde 6.931.353 ha alanda 74.276.583 ton üzüm üretimi yapılmaktadır. Bu üretimin %71’i Türkiye’nin de bulunduğu ilk 10 ülke tarafından gerçekleştirilmektedir. Dünya üzüm üretiminde 13.083.000 ton ile Çin ilk sırayı almaktadır ve ardından İtalya ve A.B.D. takip etmektedir. Türkiye, 4.200.000 ton üretimle dünya sıralamasında 6. sırada yer almaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Üzüm üretiminde dünya sıralaması (Anonymous 2017)

Türkiye, kültür asmasının anavatanıdır. Ancak ülkemizdeki üzüm üretim alanları son 10 yılda azalmıştır. Şekil 2.2’de görüldüğü gibi 2018 yılında ülke genelinde 4.170.410 dekar alanda toplam 3.933.000 ton üzüm üretimi yapılmıştır (Anonim 2018). Bunun 1.121 tonu örtüaltı üretimdir. 2017-2018 sezonunda gerçekleşen üretimin 1.396.531 tonu yurtdışına

ihraç edilmiş, 2.186.118 tonu ülkemizde tüketilmiştir. Kişi başı tüketim 27,1 kg'dır. Endüstriyel alanda 253.588 ton üzüm kullanılmıştır (Anonim 2018a).

Yıllar	Alan (da)	Sofralık Üretim (ton)	Kurutmalık Üretim (ton)	Şaraplık Üretim (ton)	Toplam
2008	4.827,887	1.970,686	1.477,471	470.285	3.918,442
2009	4.790,239	2.256,845	1.531,987	475.888	4.264,720
2010	4.777,856	2.249,530	1.543,962	461.508	4.255,000
2011	4.725,454	2.268,967	1.562,064	465.320	4.296,351
2012	4.622,959	2.219,813	1.613,833	400.659	4.234,305
2013	4.687,922	2.132,602	1.423,578	455.229	4.011,409
2014	4.670,929	2.166,749	1.563,480	445.127	4.175,356
2015	4.619,557	1.891,910	1.334,563	423.527	3.650,000
2016	4.352,269	1.990,604	1.536,862	472.534	4.000,000
2017	4.169,068	2.109,000	1.603,000	488.000	4.200,000
2018	4.170,410	1.945,262	1.524,091	463.647	3.933,000

Şekil 2.2 Son 10 yılda ülkemizdeki toplam üzüm üretim alanı ve tüketim şekillerine göre üzüm üretim miktarları (Anonim 2018)

İhracata yönelik üzüm üretimi bakımından ilk sırayı çekirdeksiz üzüm almaktadır. Türkiye'de üzüm ihracatının %95'ini Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidi oluşturmaktadır. Üretilen sofralık yaş üzüm ise başta Rusya, Almanya olmak üzere Avrupa Birliği ülkelerine ihraç edilmektedir. Bugün Türkiye'de üzüm üretiminde en büyük pay %49,5 ile sofralık çeşitlere aittir. Bunu %38,8 ile kurutmalık, %11,7 ile şaraplık üretim takip etmektedir. Ülkemiz dünyanın en büyük çekirdeksiz kuru üzüm üreticisi ve ihracatçısıdır. Dünya çekirdeksiz kuru üzüm ihracatının yaklaşık %40 – 45'ini gerçekleştiren ülkemiz çekirdeksiz kuru üzüm fiyatlarının oluşmasında önemli etkiye sahiptir (Anonim 2019).

2.2 Bağcılığın Önemli Fungal Hastalık Etmenleri

2.2.1 Külleme (*Erysiphe necator*)

Külleme, geniş bir alana yayılmış ve sık rastlanan bir asma hastalığıdır. Çoğu zaman toprak üzerindeki bitki kısımlarını etkileyen fungal hastalık etmenleri bu hastalığa sebep olmaktadır (Panstruga ve Kuhn 2019).

Bağ Küllemesi (*Erysiphe necator*) ülkemiz topraklarında yıllara göre görülme oranı ve şiddeti değişen bir hastalıktır. Enfeksiyonun bağlara vereceği zarar önceden bilinmemekle birlikte ilaç uygulamaları yapılmazsa zararın %90'lara kadar çıkabileceği bilinmektedir (Çetinkaya ve Ateş 2016).



Şekil 2.3 Asma yaprağında külleme görüntüsü

2.2.2 Mildiyö (*Plasmopara viticola*)

Bağ mildiyösü (*Plasmopara viticola*), *Peronosporales* takımına bağlı *Peronosporaceae* familyasına aittir (Shidfar 2014). Enfeksiyon, asmalarda yeşil aksamın tamamında görülmektedir. Yaprakta, sürgünler 25 cm civarına yaklaştığında belirtiler ortaya çıkmaktadır. Hastalığın başlarında yaprakların üst kısımlarında sarımsı yağ lekeleri oluşmaktadır. Alt kısımlarında ise beyaz renkli yapı bulunmaktadır. Bu lekeler süreç

içerisinde koyu hale dönüşmekte, kahverengimsi olmakta ve zamanla kuruyup, dökülmektedir. Sürgünlerde dairesel lekeler oluşmaktadır. Enfeksiyon kuvvetli ise sürgünler kurumaktadır. Çiçeklere enfeksiyon bulaştığında hemen koyu renge dönüp dökülmektedirler. Bu da az sayıda taneli salkımların oluşmasına sebep olmaktadır. Eğer taneler küçük ise enfeksiyona direnci daha az olmaktadır. Taneler irileştikçe dayanıklılığı artmaktadır. Enfeksiyon kapmış taneler olgunluk zamanına doğru su kaybederek büzüşmektedirler (Anonim 2008).

Plasmopara viticola'nın neden olduğu fungal bir hastalık olan mildiyö, Kuzey Amerika ve Avrupa'da bağlara en çok zarar vermesiyle bilinmektedir. Enfeksiyon, Fransa'da yaklaşık %50 civarında verim düşüklüğüne neden olmaktadır (Gargın ve Öztürk 2012). Ülkemizde özellikle nemli ve yağışlı havalarda etkisinin arttığı bilinen mildiyö enfeksiyonuna karşı yapılan ilaçlama üretim maliyetlerini yukarı çıkarmaktadır.



Şekil 2.4 Asma yapraklarında mildiyö görüntüsü

2.3 İslah Çalışmalarında Moleküler Markörlerin Önemi ve Avantajları

Moleküler markörler, genomda rastgele bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile alakalı DNA parçasıdır (Yorgancılar vd. 2015). Bu gen bölgelerinde istenilen bir karakteri izlemek için ıslah uygulamaları sırasında önemli bir yardımcıdır.

Moleküler markörler, morfolojik ve biyokimyasal markörlere göre daha güvenilirlerdir. İslah çalışmalarında seleksiyon için, çevreden az etkilenen, her gelişim evresinde kolayca gözlemlenebilen ve gen bölgelerinin arasında etkileşimin olmadığı en iyi yapılardır (Ovesna vd. 2002).

Moleküler markörler, kalitatif ve kantitatif karakterlerin ıslahında, gen haritalamalarında, çeşit geliştirmede ve genotipler arası uzaklıkların tespit edilmesinde kullanılmaktadır (Bilgin ve Korkut 2005).

2.4 Moleküler Markörlerin Uygulama Alanları

İslah çalışmalarında moleküler markörler kullanım alanları aşağıdaki gibi özetlenebilir (Yorgancılar vd. 2015).

1. Marköre Dayalı Seleksiyon,
2. Gen kaynaklarını tanımlanması, muhafaza edilmesi ve değerlendirilmesi,
3. Filogenetik çalışmalar,
4. QTL analizleri (Quantitative Trait Loci)
5. Genetik tanımlama
6. Genetik akrabalıkların belirlenmesi,
7. Tohum safiyet analizleri,
8. Geriye melezlemeler,
9. Stres kaynakları ile alakalı genom bölgelerinin belirlenmesi ve genom yapısının tanımlanması,
10. Farklı ve üstün özellikte çeşit geliştirme,
11. Gen transferleri
12. İslah çalışmalarında kullanılacak ebeveynleri belirleme.

2.5 Moleküler Markör Teknikleri

DNA'ya dayalı markörler olarak bilinen moleküler markörler hibridizasyon temelli markörler ve PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) temelli markörler olarak ikiye ayrılırlar.

2.5.1 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism-Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi) tekniği

İlk kez çalışması yapılan PZR temelli olmayan moleküler markör tekniği uygulamasıdır (Devran 2003). Restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA'nın farklı büyüklükteki parçalara ayrılması şeklinde tanımlanmaktadır. Polimorfizm çalışmalarında sık kullanılmaktadır.

2.5.2 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA-Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi) tekniği

Williams vd. (1990), PZR yönteminin avantajlarından faydalanmak ve RFLP tekniğindeki sıkıntıları yok edebilmek için RAPD tekniğini geliştirmişlerdir. Ortalama uzunluğu 10 baz olan rastgele primerler ile RAPD tekniği uygulanmaktadır.

RAPD tekniği moleküler analizlerde geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Tür ve çeşitlerin moleküler tanımlanması, somaklonal varyasyonların tespiti, marköre dayalı seleksiyon, genetik haritalama bunlardan bazılarıdır. RAPD markörleri, hızlı sonuç vermesinden dolayı iş gücü gerektirmez ve uygun maliyetlidir. Küçük miktarda ve ortalama kalitede DNA gerektirir. Ancak çalışma birbirinden farklı ortamlarda yapıldığında farklı sonuçlar gözlemlenebilmektedir. Bu yüzden güven problemi yaşatmaktadır.

2.5.3 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism-Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi) tekniği

RFLP tekniğinin kesme-tanım kısımlarının PZR ile çoğaltılmasına dayalı bir teknik olan AFLP, Vos vd. (1995) tarafından RAPD tekniğindeki olumsuzlukları gidermek için geliştirilmiştir.

Genomik DNA'nın restriksiyon enzimleriyle (MseI ve EcoRI) kesilmesi işlemiyle başlayan AFLP tekniği, çift sarmallı adaptör sekanslarının kesilen yerlere eklenmesiyle devam etmektedir. Ön seçici PZR ve PZR ürünlerinin poliakrilamid jelde yürütülmesiyle tekniğin işlem basamakları sonlanmaktadır.

AFLP tekniği, kriminal amaçlı babalık testleri, moleküler arkeoloji, kalıtsal hastalıkların tanısı ve genetik çeşitlilik belirlemede kullanılmaktadır.

2.5.4 SSR (Simple Sequence Repeats-Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatellitler) tekniği

Thomas ve Scott (1993) tarafından ilk olarak Avusturya'da geliştirilmiştir. SSR markörler, bitki DNA'sında bulunan arka arkaya tekrarlanan 2-4 baz uzunluğundaki en kısa DNA dizileridir. Tekrarlanma sayıları bireyden bireye farklılık göstermektedir. Yüksek çeşitlilik göstermesi ve eşbaskın (codominant) özellikte olması sebebiyle son zamanlarda bitki gen haritalarının belirlenmesinde sık kullanılmaktadır. SSR tekniğini kısıtlayan en önemli nokta primer elde edebilmek için önceden DNA dizileme uygulaması gerektirmesidir (Topaklı ve Hepaksoy 2019).

SSR tekniği bağcılıkta; moleküler analizlerde, gen haritalama, mutasyonlar, markör destekli seleksiyon, klonlama ve kombinasyon ıslahlarında tercih edilmektedir.

2.5.5 CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence-Kesilip oğaltılmış Polimorfik Diziler) tekniğı

CAPS tekniğı, PZR ile ortaya çıkan ürünlerin restriksiyon enzimleriyle kesilmesinden sonra elde edilen fragmentlerin teşhisidir. PZR ve RFLP tekniğinin bir araya gelmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu metodun avantajları, az miktarda DNA'ya gerek olması, allellerin ayrımını yapabilmesi, düşük maliyetli ve kolay olmasıdır (Filiz ve Koç 2011). CAPS, genetik haritalamalarda ve tanımlamalarda çok fazla kullanılmaktadır (Weiland ve Yu 2003). Bireylerde kesim yerlerinde dizilim farkı olduğunda polimorfizm ortaya çıkmaktadır (Yıldırım 2016).

2.5.6 SCAR (Sequence Characterized Amplified Region-Sekansı karakterize edilerek çoğaltılan bölge) tekniğı

Genomda bir gen veya özellikle ilişkili belirli bir bölgeden geliştirilen markörlerdir. Bu markörler spesifik bir gen veya özellik ile bağlantılı olarak bulunan RAPD-AFLP benzeri bantlardan oluşturulmaktadır. RAPD analizi sonucu istenilen özellik ile ilgili polimorfik bant jelden izole edilmektedir. İzole edilen banttaki dizi tespit edilip, RAPD ya da AFLP primerinden yeni bir SCAR primeri oluşturulmaktadır. SCAR tekniğı, spesifik bir gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılmaktadır.

2.5.7 SNP (Simple Nucleotid Polymorphism-Basit Nükleotid Polimorfizmi) tekniğı

SNP; gen eşitliliğı, popülasyonların yapısı, QTL analizleri ve marköre dayalı seleksiyon uygulamalarında ve akrabalık ilişkilerini belirlemede kullanılmaktadır. Tekrarlanabilir ve PZR'a dayalı olması avantajları olduğu gibi, her gen bölgesinde olmaması, düşük çeşitlilik dezavantajlarındandır (zcan vd. 2001). SNP, pek çok canlı türünde ortaya çıkmakla birlikte, popülasyonlardaki bireylerin gen dizilerinde gerçekleşen tek nükleotid değişimleridir (Filiz ve Koç 2011).

Fenotipik varyasyonun temeli, genlerde meydana gelen mutasyonlardır. DNA temelli moleküler markör teknikleri ile belirlenemeyen farklılıklar SNP analizi gerekmektedir. Genlerdeki bazı SNP markörleri önemli karakterleri ortaya çıkarabildikleri için genetik tanımlamada aktiftirler (Shirasawa vd. 2004).

2.5.8 ISSR (Inter Simple Sequence Repeat-Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) tekniği

ISSR tekniğinde 2'li, 3'lü, 4'lü ve 5'li nükleotid birimleri olan primerler ile çalışılmaktadır (Zietkiewicz vd. 1994).

Genetik haritalama, benzerlik, taksonomi araştırmalarında yüksek polimorfizm ve verimlilik göstermesinden dolayı kullanılmaktadır. ISSR markörleri, RAPD, AFLP ve SSR markör çalışmalarında ortaya çıkan pek çok kısıtlamanın üstesinden gelmektedir (Gupta vd. 1994).

ISSR dominant bir markördür. Avantajlarından biri dizileme gerektirmeden primer dizaynının mümkün olmasıdır (Joshi vd. 2000). ISSR markörleri hızlı ve kolay uygulama kolaylığına sahip, uzun primerler sayesinde güvenilirlerdir (Bornet ve Branchard 2001).

2.6 Marköre Dayalı Seleksiyon ve Bitki Islahında Kullanımı

Asmalarda hastalıklara dayanıklılık testlerinde klasik olarak melezlemelerin yapılması, bitkilerin geliştirilmesi, meyve oluşumunun beklenmesi ve bu bitkilerde hastalıklara dayanıklılık durumunun gözlenmesi şeklinde yapılmakta ve bu süreç bitkilerin gelişme hızına bağlı olarak 8-12 yıllık bir süreci kapsamaktadır. Bu gelişim süreci dolayısıyla ortaya çıkan uzun ıslah süreci çalışmaları aksatmaktadır.

Islah programlarında genler ile alakalı markörlerin kullanılması ile fenotipi esas alan seleksiyonlardan, genotipi esas alan seleksiyonlara doğru geçilmektedir. Ancak, markör çalışmalarının yetersiz olması sebebiyle genotip esaslı seleksiyonların kullanılması bir

süre yavaş ilerlemiştir. DNA tabanlı genetik markörlerin keşfi ile birlikte ıslahçılar ilk defa bir bitki türünün bütün genomuna dağılan çok sayıda markörü bulmaya ve bu markörlerle istedikleri karakterler arasında ilişkiye ulaşmaya başlamışlardır. Böylece marköre dayalı seleksiyon uygulanabilir olmuştur. Marköre dayalı seleksiyonun başarısı, ilgili gen ve markör arasındaki ilişkinin yüksekliğine bağlıdır. Markörün ilgili gen dizisinin içinde yer alması ve popülasyon içinde ilgili gen ile bağlantıda olması uygulama sonucuna ulaşmada kolaylık sağlamaktadır. Ancak markörün popülasyon içinde ilgili gen ile bağlantı durumunda olmaması marköre dayalı seleksiyonu zorlaştırmaktadır.

Marköre dayalı seleksiyon, yüksek karakterlere sahip genler ile birlikte bağlı olan ve kolay bilinebilen moleküler markörlerin kullanılması temeline dayanmaktadır. Marköre dayalı seleksiyon yöntemi ile yapılan ıslah çalışmaları, klasik ıslah uygulamalarındaki hızı ve işlevselliği arttırmaktadır.

Marköre dayalı seleksiyon yöntemi bitkinin yapraklarından elde edilen DNA'larda hastalıklarla ilişkilendirilen markörlerin bulunup bulunmadığına göre, dayanıklılığın erken dönemde belirlenmesine dayanmaktadır.

Son zamanlarda marköre dayalı seleksiyon uygulamaları geriye melezleme yöntemi üzerinde de yapılmaktadır (Yıldırım, 2005). Geri melezleme, hedef bölgenin seçimini sağlar ve tekrar eden ebeveyn tespitini yapar. Marköre dayalı seleksiyon yardımıyla F2 ve F3 basamaklarındaki genetik kaynak tam olarak bulunabildiği için ıslah çalışmalarının ileriki aşamalarında büyük kolaylıklar sağlamaktadır.

Marköre dayalı seleksiyon uygulaması; hızlı, güvenilir ve ekonomik olması özellikleriyle birlikte çekinik genlerin seleksiyonu, geriye melez ıslahı, gen piramitlerinin oluşturulması, erken seleksiyon, yabancı gen kaynaklarından gen transferleri, gen izolasyonu ve klonlanmasında kullanılarak klasik ıslah çalışmalarının etkinliğini arttırmaktadır. Gelişen moleküler markör teknolojisi ve markör destekli seleksiyon tekniği sayesinde bitki ıslahı çalışmaları daha etkili bir şekilde uygulanabilecek ve klasik ıslaha göre çok daha hızlı ve başarılı sonuçlar elde edilecektir.

2.7 Asmalarda Hastalıklara Karşı Dayanıklılık Islahı

Lodhi vd. (1995), asma genom büyüklüğünün tespiti için ilk genetik haritayı geliştirmiş ve asma genom büyüklüğünü 475 Mb olarak bulmuştur. Bu çalışma sonucunda ıslah uygulamaları farklı bir boyut kazanmıştır. Külleme ve mildiyö hastalıklarının genetik karakterizasyonun belirlenmesi ve hastalıklara dayanıklı çeşit geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır.

Horizon ve Illinois 547-1 isimli iki melez hibritinde RAPD primerlerinden yararlanarak, Ye vd. (1995) külleme enfeksiyonuna karşı direnç haritası oluşturmuşlardır. Haritada, ortaya çıkan F1 popülasyonunda incelenen 327 RAPD primerinden 90 adedi ve 504 adet skorlanabilen ve açılım gerçekleştiren DNA parçaları kullanılmıştır. Analiz edilen bireylerde arazi gözlemlerinin sonucunda dayanıklı 547-1 çeşidinde 10 numaralı bağlantı grubunda bir alanın küllemeye direnci sağlayan QTL taşıdığı bildirilmektedir.

Dalbo (1998), külleme ve siyah çürüklük hastalıklarına dayanımın kalıtımını çalışmak için Horizon x Illinois 547-1 popülasyonunu kullanmıştır. Her iki ebeveyne ait genetik haritalar çıkarılmış ve 20 adet bağlantı grubu belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda bir adet SCAR markör külleme hastalığına dayanıklılıkla ilişkili olarak belirlenmiştir.

Dayanıklı çeşit ‘‘Regent’’ ile hassas çeşit ‘‘Lemberger’’ melezlemesi sonucu seçtikleri 47 bireyde genom haritası oluşturmak için RAPD markörlerini uygulayan Buck ve Zyprian (2000) 11 bağlantı grubu elde etmişlerdir.

Kozma (2000), *Vitis amurensis* hibritleri, *Vitis vinifera* çeşitleri ve Franko Amerikan hibritlerinin kullanıldığı bir çalışmada, fungal hastalıklara dayanımı araştırmıştır. Franko-Amerikan hibritleri ile Doğu Asya *V. amurensis* hibritlerinin dayanım ıslahı çalışmaları için iyi bir kaynak olabileceği araştırmacı tarafından belirtilmiştir. Doğal ve yapay aşılamanın yapıldığı çalışmada, külleme ve mildiyöye dayanımın dominant karakterde olduğu tespit edilmiştir. Dayanım derecesi ebeveynin genetik kaynağına göre değişmiştir.

Reisch (2001), küllemeye karşı Horizon (hassas) ve *Vitis rupestris* x *Vitis cinerea* melezi Illinois 547-1 (dayanıklı) bireylerin melezlerinden oluşturduğu popülasyondan küllemeye dayanıklı lokus saptamıştır.

Külleme ve siyah çürüklük hastalıklarına dayanıklılığı çalışmak için Horizon (hassas) ve *Vitis rupestris* x *Vitis cinerea* melezi Illinois 547-1 (dayanıklı) popülasyonunu kullanan Dalbo vd. (2001), RAPD primerlerine ek olarak 30 mikrosatellit ve 4 STS markörü kullanarak 10 adet bağlantı bağlantı grubu belirlemiştir.

Pauquet vd. (2001), AFLP markörlerini kullanarak yaptıkları çalışmada, Cabernet Sauvignon çeşidini hassas kontrol çeşit olarak kullanmışlardır. 157 bireyden oluşan BC5 popülasyonu üzerinde 13 AFLP markörü 22 adet Run1 taşıyan genotip ile 16 duyarlı genotip üzerinde ileri düzeyde araştırmışlardır. 3 markör sadece dayanıklı genotiplerde bulunmuştur.

Roberts (2002), bitkilerin hastalıklara ve zararlılara dayanıklılık durumunun düşük, orta ve yüksek seviyede meydana geldiğini bildirmektedir. Bitki yüksek seviyede dirençli ise hastalık etmeni pasif kalmakta, orta veya yüksek seviyede ise hastalık etmeni aktif hale gelmektedir. Hastalıklara direnç gösterme monogenik, oligogenik ve poligenik gerçekleşmektedir.

Donald vd. (2002), tarafından yapılan çalışmada RFLP ve AFLP markörleri Run-1 lokusuna bağlantı açısından taranmıştır. Markörlerden 3 tanesinin sadece dayanıklı genotiplerde bulunması küllemeye dayanıklı asma çeşitlerinin marköre dayalı seleksiyonuna olanak sağlayabileceği bildirilmiştir.

SSR ve RAPD markörlerini kullanarak 70 bireylik Welschriesling x Sirius melez popülasyonunun külleme ve mildiyöye dayanıklılığını araştıran Regner vd. (2003), 7 RAPD markörünün küllemeye dayanıklılıkla bağlantısını önemli bulmuşlardır.

Zyprian vd. (2003), fungusa dayanıklı Gf.Ga-47-42 ve Villard blanc melezlenmesi sonucu elde ettikleri bireylerde yaptıkları külleme ve mildiyöye karşı dayanıklılık analizinde elde ettikleri haritanın daha önce kullandıkları Regent x Lemberger popülasyonuna ait harita kadar olumlu bulmamışlar ancak fenotipik karakterlere ait QTL'lerin genetik bölgelerinin korelasyonu çalışmasında kullanılabileceği görüşünü bildirmişlerdir.

Madini vd. (2003), *V. vinifera* ve *V. riparia* Michx.'a ait hastalığa dayanım ve kalite amaçlı yaptıkları 350 AFLP ve mikrosatellit markörlü ıslah çalışmalarında her iki haritada dayanıklı lokus tespit etmişlerdir.

Zyprian vd. (2005), Gf.Ga.47-42 x Villard blanc melezlemesinden elde edilen popülasyonda fungal hastalıklara dayanıklılık üzerine çalışmalar yapmışlardır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçları Regent çeşidinin dayanıklılığı ile karşılaştırmışlar ve Regent'te bulunan külleme hastalığına dayanıklılık markörlerini tespit etmişlerdir.

Barker vd. (2005), asmalarda, tek baskın gen olarak *Muscadinia rotundifolia*'da bulunan ve küllemeyi kontrol eden dayanıklı Run 1 geninin BAC analizi kullanarak genetik haritalamasını yapmıştır. Run 1 genetik markörler yardımıyla geri melezleme yöntemiyle belirlenmiştir.

Italia x Mercan popülasyonundaki bireylerde 300 RAPD primeri yardımıyla küllemeye dayanım Yaşa (2005) tarafından araştırılmıştır ve düşük oranda (%37) polimorfizm ortaya çıkmıştır.

Molnar vd. (2007), marköre dayalı seleksiyon yöntemi ile melezleme popülasyonu içinden külleme hastalığına dirençli bireyleri belirlemişlerdir.

Akkurt vd. (2007), Regent x Lemberger popülasyonunu kullanarak mildiyöye dayanım ile ilgili 7 RAPD marköründen SCAR markör elde etmişlerdir. Küllemeye dayanım ile ilgili ScORA7-760 ve ScORN3 SCAR markörlerinden sadece dirençli genotiplerde

bulunduğunu tespit etmişlerdir. Elde edilen markörlerin farklı melezleme popülasyonlarında ve *Vitis* türlerinde aynı sonucu verdiği belirlenerek bu markörlerin marköre dayalı seleksiyon yöntemiyle küllemeye dayanıklılık çalışmalarında kullanılabileceği bildirilmiştir.

Hoffmann (2008), Kismish vatkana (dayanıklı) x Nimrang (hassas) popülasyonundan elde edilen bireylerde Ren1 bölgesi ile ilgili bazı markörleri tespit etmişler ve hastalıklara dirençli ve hassas bireylerde hypal gelişimiyle birlikte konidiospor yoğunluğu farkını belirlemişlerdir.

Kozma vd. (2009), Kismish vatkana hibritleri BC3 ve BC4 ile *V. amurensis* x *V. Vinifera* hibritleriyle küllemeye dirençli çeşit ortaya çıkarmıştır. BC5 bireylerinde dirençli genler ortaya çıkmıştır.

Katula-Debreceni vd. (2010), küllemeye dayanım ile ilgili *Muscadinia rotundifolia* x *Vitis vinifera* BC4 kaynaklı Run1 ve *V. vinifera* orjinli Kismish vatkana kaynaklı Ren1 markörlerinin, marköre dayalı seleksiyonda kullanımını çalışmışlardır. Küllemeye dirençli 441 bitki içinden %35'inin bu genleri taşıdığı tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda marköre dayalı seleksiyonun farklı gen bölgelerinden bireylerin seçiminde en çabuk yöntem olduğu görülmüştür.

Riaz vd. (2011), yaptıkları çalışmada *Vitis* cinsine ait 5 farklı popülasyon üzerinde küllemeye dayanıklılığın haritalaması üzerine çalışmışlardır. Popülasyonlardan dördü *M. rotundifolia*'ya ait melez bireylerden, kalan bir popülasyon ise *V. romanetii*'ye ait 42 melez bireyden meydana gelmiştir. İlk popülasyonda 97 melez 137 SSR markör ile taranmıştır. Külleme ve mildiyö ile ilgili olduğunu bilinen 7 kromozoma bu çalışmada bakılmıştır. Gen haritalama ve QTL analizlerinde farklı kromozomlarda dirençli lokuslar belirlenmiştir. 18. kromozom üzerinde bulunan Run 2.1, Run 2.2 ve Ren 4, hastalıklara dirençli bölgeler olarak tespit edilmiştir. Bu haritalama çalışmaları küllemeye direnç geninin farklı genetik yapıya sahip bireylerde 18. kromozom üzerinde yer aldığını göstermektedir. 12. kromozomda bulunan Run1'in 18. kromozomda bulunan Run2 lokusunu kontrol eden bölge ile aynı olup olmadığının yapılacak çalışmalarla incelenmesi

gerektiği belirtilmiştir. Külleme ve mildiyöye dayanıklılık sağlayan bölgelerin birbirleriyle bağlantılı olup olmadıklarını *V. romanetii* türlerine ait bireylerde araştırılması önerilmiştir.

Gaforio vd. (2011), tarafından yürütülen *V. vinifera*'ya ait 159 yerli İspanyol ve yabancı çeşidin küllemeye hassaslığı ile ilgili yapılan bir çalışmada doğal şartlarda yapraklardaki ve salkımlardaki hastalık değerlendirilmiştir. Bu çeşitlerin 35 tanesinin çok hassas olduğu tespit edilirken 83 tanesinin özellikle salkımlarda yüksek ve çok yüksek arasında değişen dayanımını göstermişlerdir. Bu sonuçlar *V. vinifera*'ya ait çeşitlerde de dayanımdan sorumlu lokusların olabileceğini göstermiştir.

Run1 pozitif olan küllemeye dirençli 113 *V. rotundifolia* melezinde hastalığın gidişatını araştıran Cadle-Davidson (2011), hastalık şiddetinin Run1 negatif olan asmalarda daha az olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle Run1 pozitif olan bireylerde hastalık hiç belirti göstermezken, odunlaşmış yıllık sürgünlerde bazı hasarlı bölgeler tespit edilmiştir.

Ülkemizde asma hastalıklarına dayanıklılık ıslahı konusunda 1990 yılında külleme hastalığına dirençli çeşit geliştirme çalışmaları başlatılmıştır. Usumi, Cardinal ve Amasya beyazı isimli üç üzüm çeşidi Karadeniz bölgesinde yetiştirilen ve mildiyö hastalığına dayanıklı olduğu kabul edilen *V. labrusca* kanı taşıyan bazı üzüm çeşitleriyle geleneksel teknikler kullanılarak melezlenmiş ve böylece hastalıklara değişik düzeylerde dayanıklı çeşitler oluşturulmaya çalışılmıştır. Özer Karası isimli üzüm çeşidi dayanıklı olarak belirlenmiştir (Özer vd. 2012).

Barba vd. (2013), *V. rupestris* B38 ve *V. vinifera* 'Chardonnay'ın küllemeye karşı tepkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda 11 SNP kullanılarak *V. rupestris*'te dayanıklılık bölgesinin 7. kromozomda bulunduğu tespit edilmiştir.

Zyprian vd. (2016), ıslah çalışmalarında istenilen karakterlerin niceliksel özellik lokuslarına (QTL) bağlı moleküler markörlerle etiketlenmesi gerektiğini belirttikleri çalışmalarında, GF.GA-47-42 ('Bacchus' x 'Seyval') x 'Villard blanc'

melezlemesine ait bireylerde mildiyö ve külleme hastalıklarına dayanıklılık ile ilişkili genetik haritalama ve QTL analiziyle ilgili bulgularını paylaşmışlardır. 151 birey, SSR ve SNP markörler ile analiz edilmiştir. Arazide ve kontrollü koşullarda yetiştirilen bitkilerde gözlenen fenotipik varyasyonlara dayanan QTL analizleri için 543 lokustan oluşan bir harita taranmıştır. 18. kromozomda mildiyöye dayanıklılık ile ilişkili majör bir lokus tespit edilmiştir. Külleme dayanıklılık ile ilişkili 15. kromozomda bir lokus tanımlanmıştır. 15 kromozomda tanımlanan bu lokus, 2003 ve 2004 yıllarında 18. kromozomda tanımlanan lokus ile yerleri değiştirilmiştir. Daha sonra, her iki lokus birlikte çalışmıştır. İlave olarak, üzümün olgunlaşmasında çok önemli bir safha olan ben düşme başlangıcını etkileyen genomik faktörler de araştırılmıştır. Ben düşme ile ilişkili 16 numaralı kromozomda, 18 nolu kromozomdaki bir minör QTL ile de desteklenen bir büyük QTL lokusu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, mevcut iklim koşullarına adapte edilmiş, hastalıklara dayanıklı üzüm ıslahı ile ilgili QTL bağlantılı yeni markörler hakkında faydalı bilgiler sunulmaktadır.

Agurto vd. (2017), ıslah çalışmalarında farklı kaynaklardan çok sayıda dayanıklı geni kullanarak yapılan geri melezlemenin, bitki dayanıklılık mekanizmasını daha fazla güçlendirmek için majör bir strateji olduğunu savunmuşlardır. Bu sebeple hem RUN1 hem de REN1'i taşıyan P09-105/34' ü sırasıyla *Muscadinia rotundifolia* ve *Vitis vinifera* 'Dzhandzhal Kara' ile melezleyip, *Erysiphe necator*'a karşı direnç lokuslarının gen piramidi oluşturulmuştur. Dayanıklı RUN1 ve REN1 genotipleri marköre dayalı seleksiyon yardımıyla tanımlanmıştır. Ortaya çıkan sonuç, bu bitkilerde küllemeye karşı yüksek etkili direnç mekanizmasının varlığını göstermiştir. RUN1REN1 asmaları, düşük mantari yapı gelişimi ve az oranda nüfuz etmesiyle *E. necator*'a karşı güçlü bir savunma ortaya çıkarmıştır. Bu dayanıklı mekanizma, reaktif oksijen türlerini, bitki polisakkariti yığını, programlanmış ölü hücre indikasyonunu ve başlıca VvST36 ve VvPEN1 gen aktivasyonunu içermektedir. RUN1REN1 bitkileri, *E. necator*'a yüksek direnç ile birlikte yeni sofralık üzüm çeşitleri olarak çok iyi potansiyele sahiptir. Aynı zamanda asma hastalıklarına karşı diğer direnç kaynaklarıyla gen piramidi oluşturmaya devam etmek için asma ıslah programlarına dahil edilecek değerli gen kaynaklarıdır.

Atak vd. (2017), çalışmalarında mildiyö ve küllemeye değişik oranda hassasiyet gösteren farklı *Vitis* hibritleri ve genotiplerini 2 yıl boyunca değerlendirmişlerdir. Özellikle bazı *V. labrusca* hibritleri ve genotipleri her iki enfeksiyona karşı da dirençli olarak bulunmuştur. Trlerarası melezleme sonucunda ortaya çıkan bireyler ve *V. vinifera* eşitleri daha hassas bulunmuştur. Bundan sonraki ışlah çalışmalarında bu çalışmada belirlenen dayanıklı hatların ebeveyn olarak kullanımı ile çok daha az pestisit uygulamasıyla veya hiç kullanılmadan yüksek kalitede sofralık çeşitlerin yetiştirilmesinin mümkün olabileceği belirtilmiştir.

Welter vd. (2017), küllemeye dayanıklı donör türler olan Amerikan *Vitis* türlerini pedigrisinde taşıdığı için dayanıklılık özelliği gösteren Regent eşidinin dayanıklılık mekanizmasını belirlemek için hassas *V. vinifera* eşitleri ile karşılaştırmalı olarak transcriptom analizlerini gerçekleştirmişlerdir. n mikroarray hibritleme çalışması sonrası ilişkili seçilen bir dizi gen RT-qPCR ile araştırılmıştır. Veriler transkripsiyon faktörleri; MYB15, WRKY75, WRKY33, WRKY7 ile etilen transkripsiyon faktörleri ERF2 ve ERF5'in önemli bir rolünü göstermektedir. Bu genlerin yanı sıra, mantar oluşumu ile konakçı ile etkileşime başladığında erken savunmayı düzenleyen bir CZF1 / ZFAR transkripsiyon faktörü olduğu da gözlemlenmiştir.

Yıldırım vd. (2019), Türkiye'nin yıllık ortalama yağışı 2000-2500 mm olan Karadeniz Bölgesinde yetiştiriciliği yapılabilen farklı *Vitis* genotiplerinin külleme ve mildiyöye dayanıklılığını, marköre dayalı seleksiyon ve paralelinde yapay inoklasyonlar ile test etmişlerdir. Çalışmada farklı *Vitis* kaynaklarından geliştirilen dayanıklılık lokusları (Run1, Rpv1, Ren1, Rpv3, Ren3) ile ilişkili 6 SSR ve 1 SCAR markörü marköre dayalı seleksiyonda kullanılmıştır. Genotiplerden sekizi mildiyöye, yedisi küllemeye ve dördü ise her iki hastalığa da dayanıklı olarak karakterize edilmiştir. Marköre dayalı seleksiyon çalışmaları yapay inoklasyonlar ile birlikte değerlendirildiğinde, Kfteci zm ve Giresun 3'n en dayanıklı genotipler olduğu tespit edilmiştir.

Zini vd. (2019), daha az kimyasal girdi ile asma hastalıklarını yönetmek için küllemeye dayanıklı yeni çeşitlerin geliştirilmesi ve yaygınlaştırılmasının sürdürülebilir bağcılık için önemli bir adım olması amacıyla yürüttükleri çalışmalarında *Vitis* melezlerinin *V. vinifera*

çeşitleri ile melezlenmesinden meydana gelen 102 bireyden oluşan bir koleksiyonu incelemişlerdir. Literatürde bugüne kadar mevcut olan 11 güvenilir mildiyö direnci (R) lokusunda ayrıntılı bir genetik karakterizasyon gerçekleştirilmiştir. Bulgular, tüm bireylerden %39,2'sinin küllemeye, %15,7'sinin mildiyöye karşı dayanıklılık lokusu bulundurduğunu göstermiştir. Dayanıklılık lokusu düzenlemesinin yaprak ve salkım seviyesinde hastalık direnç seviyesi üzerindeki etkisini değerlendirmek için genetik analiz, ilaçlanmamış bir bağda hastalık semptomlarının üç yıllık bir değerlendirmesiyle birleştirilmiştir. Genel olarak, sonuçlar kuvvetli bir şekilde dayanıklı lokus piramitlemesinin genel hastalık direncini arttırmak anlamına gelmediğini, ancak ilk durumu aşan patojenler varlığında başka engelleri garanti ettiğini göstermektedir. Ayrıca, bu çalışma, marköre dayalı seleksiyona yönelik yeni QTL tanımlamaları için faydalı yeni mildiyö direnç kaynaklarının keşfedilmesine izin vermektedir.

2.8 Bağcılıkta Marköre Dayalı Seleksiyon Yönteminin Mildiyö Hastalığına Karşı Dayanıklılık Islahında Kullanımı

Luo vd. (2001), bir Çin yabani asma türü olan *V. ouinquangularis* ile *V. vinifera* melez kombinasyonunda mildiyöye dayanıklılığın kalıtımını araştırmıştır. Çalışma sonucunda 1 adet SCAR markör geliştirilerek mildiyöye dayanıklılık ile sıkı bağlantılı olduğu bildirilmiştir.

Külleme enfeksiyonuna direnci iki hibritte [*Muscadinia* x *V. vinifera* BC4 x Franco - American hibrit x *V. vinifera* x *V. amurensis* ve *Muscadinia* x *V. vinifera* BC4 x (*V. amurensis* x *V. vinifera*) BC2] arayan Kozma ve Dula (2003), *Muscadinia*'dan gelen külleme direncini taşıyan Run1 geninin mildiyö direnci ile de ilgili olduğunu belirlemişlerdir ve daha fazla mildiyöye dirençli bireyler elde etmişlerdir.

Merdinoğlu vd. (2003), *Muscadinia* asmalarında mildiyö enfeksiyonuna dirençli geni belirten markörler bulmak için 151 RAPD, 13 ISSR ve 208 SSR primeri kullanmıştır. Dirence etkili 1 RAPD, 4 ISSR ve 8 SSR primeri tespit edilmiştir.

Marino vd. (2003), SSR ve AFLP markörleri ile yapraklarda mildiyöye dayanıklılık ve tanelerde aroma için QTL analizini; *Vitis muscatobianco* x *Vitis riparia* melezlemesinden elde edilen bireylerde gerçekleştirmişlerdir. Ana ebeveyn haritasının 403 SSR ve AFLP markörleriyle 21 bağlantı grubundan ve baba ebeveyn haritasının 502 SSR ve AFLP markörleriyle 20 bağlantı grubundan oluştuğu bildirilmiştir.

Fischer vd. (2004), kullandıkları 185 AFLP, 137 RAPD, 85 SSR ve 22 SCAR markörleri ile 153 bireyi fungal enfeksiyonlara direnç karakteriyle karşılaştırmış ve külleme için 1, mildiyö için daha fazla lokus tespit etmişlerdir.

Wiedmann vd. (2006), iki adet SSR markörün (VMC8g9, VMC1g3.2) mildiyö dayanıklılık geni Rpv1 ile bağlantılı olduğunu ve marköre dayalı seleksiyon için kullanılabilir olduğunu belirlemişlerdir.

Regent (dayanıklı) x Lemberger (hassas) melezlemesi ile oluşturulan genetik haritayı 112 adet yeni SSR markörüyle geliştiren Welter vd. (2007), bu haritada külleme ve mildiyöye dayanım ile ilgili iki adet QTL bölgesi tespit etmişlerdir. Mildiyöye dayanım ile ilgili 1 adet QTL bölgesi Rpv3 olarak adlandırılmıştır.

Bellin vd. (2009), Chardonnay x Bianca melezinden oluşan gen haritasında Bianca'dan kaynaklı ve mildiyö ile ilişkili büyük bir QTL belirlemişlerdir. 18. kromozomda Regent ile aynı bölgedeki bu lokus Rpv3 olarak değerlendirilmiş ve Rpv3 QTL bölgesinin UDV305 ve VMC7F2 markörleri arasında yer aldığını açıklamışlardır.

Marguerit vd. (2009), Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*) ve *Vitis riparia* Gloire de Montpellier melezlemesinden elde ettiği 138 bireyde 199 SSR, 11 SSCP ve 2 morfololik markörü kullanmıştır. Mildiyö enfeksiyonuna direnç ile ilişkili 2 bağlantı grubu (bağlantı grubu 9 ve bağlantı grubu 12) tespit etmişlerdir.

Moreira vd. (2011), duyarlı *Vitis vinifera* çeşidi Moscato Bianco ve dayanıklı *Vitis riparia* melezlerinden 174 bireyli Populasyon1 ve VRH3082 1-42 ve SK77 5/3 melezlemesinden

elde edilen 94 bireyli Populasyon2'yi, mildiyö enfeksiyonuna direnç ile ilişkili gen haritası meydana getirmek ve QTL haritalarının oluşturulması için kullanmıştır. Her iki popülasyon için de farklı bağlantı gruplarında mildiyö dayanımı ile ilişkili QTL'ler tespit edilmiştir.

Blasi vd. (2011), mildiyöye dirençli *V. amurensis*'in genetik haritasını (232 SSR) ve (7 RGA) markörleri kullanarak ortaya çıkarmışlardır. Araştırmacılar 14. kromozom üzerinde Rpv8 lokusunu belirlemiştir.

Di Gaspero vd. (2012), Rpv3 dayanıklılık lokusu ile ilgili iki adet SSR markörün (UDV305 ve UDV737) hastalıklara dayanıklılık ıslahında ebeveyn olarak kullanılan dayanıklı hatlardaki allellik dağılımlarını araştırmışlardır. Islah hatlarında UDV305'in 299 bp büyüklükteki alleli ile UDV737'nin 279 bp büyüklüğündeki allelini mildiyöye dayanıklılıkla ilişkili QTL bölgesinden tespit edilen Rpv3 geni ile bağlantılı bulmuşlardır.

Schwander vd. (2012), mildiyö enfeksiyonuna dirençli Rpv10 lokusunu ilk defa tanımlamışlardır. Mildiyöye yüksek direnç gösteren Gf. Ga-52-42 çeşidi (Bacchus x Villard Blanc) Almanya'da Geilweilerhof Islah Enstitüsü'nde ıslah edilmiştir. Solaris çeşidi ise Almanya'nın ticari çeşitlerinden ıslah edildiği ve mildiyöye dirençli olduğu bilinmektedir (Merzling x Geisenheim 6493). Gf.Ga 52-42 x Solaris melezlemesinden 265 birey elde edilmiştir. Melez F1 bitkileri kullanılarak oluşturulan genetik haritada mildiyöye dayanım ile ilişkili 2 kuvvetli bağlantı grubu (LGs) 18 ve 09 ortaya çıkmıştır. LG 18'deki dayanıklı gen bölgesinin Rpv3 olduğu ve bu bölgenin Gf.Ga-52-42'den aktarıldığı bildirilmiştir. Solaris'in dayanıklılık bölgesi ise LG09'a aktarılmıştır. Bu mildiyöye direnç lokusunun adı Rpv10 olarak belirtilmiştir. Araştırmada Rpv10 lokusunun dayanımı tartışılmıştır. Çalışmada konusu geçen LG 05 bağlantı grubundaki Rpv11 lokusunun mildiyö için ıslah araştırmalarında kullanılması tavsiye edilmemektedir. Bu sebeple marköre dayalı seleksiyon yönteminin farklı gen bölgelerinde yeni dirençli çeşitlerin geliştirilmesi için iyi bir yöntem olduğu belirtilmektedir.

Gaforio vd. (2015), mildiyöye dayanıklılıklarını belirlemek için İspanya'nın farklı bölgelerinden *V. vinifera* çeşitlerini toplamıştır. İspanya'nın nemli bölgelerinden topladığı bazı çeşitlerden başka, genellikle *V. vinifera*'nın hassas çeşitlerini toplamıştır. Bu çeşitler diğer bölgelerden toplananlara göre daha iyi dayanıklılık göstermişlerdir. Çalışmada, Karadeniz bölgesinde yetişen bazı *V. labrusca* genotipleri ve Amerika'da nemli bölgelerde yetişen melez çeşitlerin, mildiyö ve külleme hastalıklarına *V. vinifera* çeşitlerinden daha dayanıklı olduğu görülmüştür.

Bove vd. (2016), mildiyöye karşı dayanıklı çeşitlerin kullanımı ile fungusit ilaçlarının kullanımını azaltmak için Muscadinia ve Amerikan *Vitis* çeşitlerinden gelen Rpv3, Rpv4, Rpv10, Rpv11 ve Rpv12 dayanıklılık genlerinin 16 asma genotipinde analizlerini yapmışlardır. Mildiyö semptomlarını gösteren inokülasyon alanlarının yüzdesi, hastalık ilerlemesi eğrisinin altındaki alan, inkübasyon uzunluğu, gecikme süresi, mildiyö lezyonu birimi başına üretilen spor kesesi, duyarlı çeşitler üzerine yeniden aşılama ile üretilen spor kesesinin enfeksiyon seviyesi, bulaşıcılık dayanıklılık bileşenleri yaprak yüzeyleri üzerinde yapay aşılama ile çalışmada değerlendirilmiştir. 2014 ve 2015 yıllarında sürme, çiçeklenme ve meyve dönemlerinde toplanan genç yapraklardan örnekler alınmıştır. Yukarıda saydığımız direnç bileşenleri, farklı genotiplerde ve farklı büyüme aşamalarında analiz edilmiş ve referans olarak alınan *V. vinifera* çeşidine göre önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler dirençli genotiplerde enfeksiyon ilerlemesini tahmin edebilen bir mildiyö modeli için kullanılmıştır.

Kosev vd. (2017), Rpv3, Rpv10 ve Rpv12 lokuslarıyla bağlantılı dayanıklılık ile ilişkili alellerin varlığının yanı sıra, genetik kimlikleri belirlemek amacıyla DNA markörlerin vasıtasıyla türler arası melezlemeyle elde edilen 18 yeni geliştirilmiş asma çeşidini analiz etmişlerdir. Araştırılan çeşitlerin mildiyöye karşı dayanıklılık seviyeleri yaprak yüzey analizi ile değerlendirilmiştir ve OIV tanımlayıcısı 452'ye göre puanlanmıştır. Bulgaristan'ın farklı bölgelerinden toplanan *Plasmopara viticola*'nın 7 izolatu, 7 DNA markörü ile karakterize edilip ayrıştırıldıktan sonra deneylerde kullanılmıştır. Varyans analizi, analiz edilen çeşitler arasında mildiyöye karşı direnç açısından önemli farklılıklar göstermiştir. Belirli Rpv'lerin varlığı ile direnç seviyesi arasında net bir korelasyon belirlenmiştir. 5 çeşit, Rpv3 ve Rpv12 bulunduran Droujba', 'Garant' ve 'Plevenskarosa',

Rpv12 bulunduran ‘Kajlashkirubin’, Rpv 10 ve Rpv3 bulunduran ‘Slava’, tüm *P. viticola* izolatları üzerinde 6.5 ila 8.25 arasında değişen ortalama OIV452 değerleri ile yüksek direnç seviyesi göstermiştir. Villard Blanc çeşidinden aktarılan sadece Rpv3’ü gen bölgesini taşıyan 14 çeşidin direnç seviyesi, kullanılan tüm *P. Viticola* izolatlarında ortalama OIV452 değerleri 1.75 ve 4.8 arasında olan izolatlar arasında önemli ölçüde değiştiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, mildiyöye karşı yüksek direnç gösteren üzüm ve şarap kalitesi çok iyi beş genotipi ortaya çıkarmıştır. Bu çeşitlerin, marköre dayalı seleksiyon yoluyla yapılan çalışmalarda dayanıklılıkla ilgili gen piramitleri için kullanılabileceği belirtilmiştir.

Foria vd. (2018) çalışmalarında, 76 çeşidin mildiyöye karşı direnç seviyesini değerlendirmek amacıyla dört yıl boyunca ortak bir deneme yürütmüşlerdir. Tüm çeşitler, doku ölümü ile bağlantılı destekleyici bağışıklık etkisi göstermiştir. 1-9 ölçeğinde, yaprak dayanıklılığı için OIV452 değerleri, kontrol *vinifera* çeşitlerinde ortalama 3.2, dayanıklı çeşitlerde ortalama 7.1 olarak görülmüştür. Genotip, yıl etkileşimleri direnç seviyesini önemli ölçüde etkilemiştir. Bazı dirençli genotipler, uzun yıl ortalamalarında OIV452 skalasında yüksek ortalama değer ve düşük varyans değeri göstermiştir. Diğer dirençli genotipler daha düşük ortalama OIV452 ve daha yüksek varyans göstermiştir. Rpv3 ile bağlantılı tepkiler yerli genetik kaynaklarda daha güçlü olmuştur. Son jenerasyon melezlemelerde bu tepkilerin zayıflama eğilimli olduğu görülmüştür.

Saifert vd. (2018), çalışmalarında, asmadaki Rpv1 ve Rpv3.1 direnç lokuslarını gen piramitlemede kullanmak için marköre dayalı seleksiyon yöntemini uygulamış ve Brezilya mildiyö izolatlarına karşı verdikleri direnci değerlendirmeyi hedeflemişlerdir. İki direnç lokusu için seçilen 23 bitki popülasyonu, Gf 2000-305-122 ve Gf.Ga-52-42 genotiplerinin melezlenmesinden elde edilmiştir. Popülasyon, dört mikrosatellit markörü ile genotiplenmiştir ve yaprak diskli biyo-analiz kullanılarak *P. viticola*’ya direnç için fenotiplenmiştir. Rpv1 ve Rpv3.1 piramitli lokusları içeren altı bitki, moleküler analiz ile tanımlanmıştır. Rpv1 + Rpv3.1, Rpv3.1 ve Rpv1 lokuslarını barındıran bitkiler, yaprak diski başına sırasıyla 12.8, 30.0 ve 33.1 sporangiofores göstermiştir. Direnç lokusu olmayan bitkiler yoğun bir spor çoğalımı göstermiştir. İki piramitli lokusun

ekspresyonunun fenotipik analizinde, en yüksek direnç seviyesini gösteren dört bitki, yalnızca ortalama 1.8 sporangiophores değeri göstermiştir. *P. viticola*'ya olan direncin arttığını doğrulayan Rpv1 ve Rpv3.1 lokuslarının piramitlenmesi ile yüksek verimli bir yöntem geliştirilmiştir. Seçilen kaliteli genetik materyaller, Brezilya'da asma ıslahı çalışmaları için yüksek potansiyel göstermektedir.

Eisenmann vd. (2019), mildiyöye dayanıklılık için ıslah edilen çoğu çeşitin, Rpv3 lokusu aracılığıyla dayanım gösterdiğini, bununla birlikte, bu lokusun yoğun kullanımına rağmen, Rpv3 aracılığıyla sağlanan dayanıklılık mekanizmasının az bilindiğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında, Rpv3 aracılığıyla oluşan savunma tepkilerini, iki farklı *P. viticola* izolatu vasıtasıyla avrRpv3⁺ ve avrRpv3⁻ ile aşılama sonrasında Rpv3⁺ ve Rpv3⁻ asma kültürlerinde araştırmışlardır. Karşılaştırmalı mikroskobik, metabolomik ve transkriptomik analizlere dayanarak sonuçlar, Rpv3-1 direncinin, fungitoksikstilbenler ve programlanmış hücre ölümü (PCD) sentezini tetikleyen ancak azaltılan fakat baskılanmamış patojen büyümesi ile sonuçlanan savunma sistemi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Rpv3-1'in savunma tepkisi sırasında önemli ölçüde yukarı regüle edilen genlerin kodlanmış protein dizisinin işlevsel açıklaması, patojen tanıma, sinyal iletimi ve savunma tepkilerinde varsayılan rolleri ortaya çıkarmıştır. Çalışmada, Rpv3-1'in direnç tepkisinin altında yatan mekanizmayı araştırmak için Rpv3 + ve avirulent ve virulent *P. viticola* izolatları ile aşılınmış duyarlı çeşitlerin histokimyasal, transkriptomik ve metabolomik analizlerini kullanmışlardır. Stilben biyosentezi ile ilişkili genlerin ifadeleri, mantar-toksik stilbenlerin birikimi, patojen büyüme inhibisyonu ve PCD arasında güçlü bir ilişki olduğu göstermiştir.

Vezzulli vd. (2019) çalışmalarında, "Merzling" (orta dirençli çeşit) ve "Teroldego" (hassas bir çeşit) melezlemesinden 136 F1 birey ile genetik, fenotipik ve gen ekspresyon verilerini, mildiyönün genetik temelini aydınlatmak için birleştirerek karakterize etmişlerdir. 192 mikrosatellit markörü ile daha iyi bir bağlantı haritası elde edilmiştir. Bireyler, mildiyö direnci ve 42 polifenol üretimi için taranmıştır. QTL haritalaması, mildiyö direncinin Rpv3-3 spesifik haplotip ile ilişkili olduğunu ve 30 fenolikle ilgili parametreye bağlı 46 yeni metabolik QTL tanımladığını göstermiştir. En uygun 95 aday genin bir listesi, stilbenoid ile ilişkili QTL'lerin spesifik olarak araştırılmasıyla

üretilmiştir. Rpv3-3 +/- genotiplerindeki 11 genin mildiyö direnç seviyesi ve stilbenoid birikiminde eşitsizlik gösteren ekspresyon analizi, stilbenoidbiyosentezi ve oligomerizasyonunun genetik kontrolü için önemli yeni adaylar ortaya çıkarmıştır. Bu bulgular, mildiyö direncinin büyük Rpv3-3 haplotip ve stilbenoid indüksiyonuna aracılık ettiğini vurgulamıştır.

Shidfar vd. (2019), yeni bir F1 popülasyonu elde etmek ve marköre dayalı seleksiyon yardımıyla külleme ve mildiyö enfeksiyonlarına dayanıklı hibritleri tespit etmek için araştırma yapmışlardır. Dayanıklı 'Regent' ve hassas 'Boğazkere' çeşitleri hibrit popülasyonu elde etmek için kullanılmıştır. Üç gen bölgesine ait altı markörün tamamı DNA temelli seleksiyonda yer almıştır. Dayanıklı olarak tespit edilen Rpv3 ve Ren3 lokusundaki 4 adet SSR (UDV15, VMCNG2f12, VMC7F2 ve UDV305) ve 2 adet SCAR (ScORNA7-760 ve ScORN3-R) markörleri bu seleksiyonda kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, mildiyö ve küllemeye dayanıklı, tolere ve hassas genotipler tespit edilmiştir. Özellikle 16 adet genotip gelecekteki ıslah programlarında kullanılmak üzere küllemeye dayanıklı olarak kayda geçmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada materyal olarak, ülkemizde ve yurtdışında üstün sofralık özellikleri nedeniyle yaygın olarak üretilen sofralık Alphonse Lavalée çeşidi ile mildiyö hastalığına dayanıklı şaraplık Regent çeşitleri ve bunların melezlenmesi sonucu elde edilen toplam 881 adet F1 genotip kullanılmıştır.

‘Regent’ üzüm çeşidi; 1967 yılında Diana (Silvaner x Müller-Thurgau) x Chambourcin çeşitleri arasında Almanya’da yapılan melezleme sonrası elde edilen siyah renkli ve çekirdekli şaraplık bir üzüm çeşididir. Külleme ve mildiyö hastalıklarına iyi derecede, kurşuni küf hastalığına orta-iyi derecede dayanıklı bir çeşittir. Kış soğuklarına karşı dayanımı da yüksektir. Hastalıklara dayanıklı oluşu ilaçlama masraflarını yaklaşık %60-80 oranında azaltmaktadır. Asmalarının gelişimi orta düzeyde olan orta-erkenci dönemde olgunlaşan bir üzüm çeşididir. Orta büyüklükteki salkımlar üzerindeki taneler küçük ile orta büyüklük arasındadır. ‘Regent’ çeşidi ticari kullanım amacıyla 1996 yılında tescil edilmiştir (Uzun vd. 2018).

‘Alphonse Lavalée’ çeşidi ülkemizde ve dünyada son yıllarda en çok tercih edilen kaliteli, iri taneli, çekirdekli ve siyah renkli ticari değeri yüksek sofralık üzüm çeşitlerindendir. Salkımları ve tanesi çok iri, tane rengi morumsu siyahtır ve orta erken dönemde olgunlaşır. Taneleri mantar hastalıklarına ve soğuğa karşı çok hassastır. Asmaların verimi yüksektir. Ülkemizde en yaygın yetiştirilen çeşitlerden biridir (Uzun vd. 2018).

3.2 Yöntem

Çalışmada, mildiyöye dayanıklılıkla ilişkili olarak, dayanıklı ‘Regent’ çeşidinden kaynaklanan Rpv3 lokusu ile sıkı bağlantılı iki adet primer kullanılmıştır. Marköre dayalı seleksiyon amaçlı kullanılan primerler Geilweilerhof Asma Islahı Enstitüsü’nde, asmanın

yayınlanmış fiziksel haritasından ilgili geni sınırlayan aralıkta geliştirilmiş, SSR primerleridir. Araştırmada kullanılan primer bilgileri, geliştirildiği SSR motifleri ve asma fiziksel haritasındaki pozisyonları çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Rpv3 lokusunda kullanılan markörler ile ilgili bilgiler

Lokus	Markör	12X Asma Fiziksel Haritasındaki Pozisyonu	SSR motifi	Forward Primer	Reverse Primer	Dayanıklılıkla İlişkili Allel Büyüklüğü (bp)
Rpv3	GF18-06	25.923.000	(AAG) 7	GGTCTCCTAG AAAGCCAAGC AA	TCCCTTTTCCC CTTGTCTCTCG	390
Rpv3	GF18-08	26.896.795	(AG)10	GACAATAGCG AGAGAGAATG GG	AGTTGGCTAAA ACCCTAGAGGC	399

DNA İzolasyonu:

Elde edilen F1 bitkilerinden, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) için DNA izolasyonları, sürgün ucundan itibaren 3. veya 4. yapraktan alınan 100 mg genç yaprak örneklerinde, ‘‘QIAGEN DNA İzolasyon Kiti’’protokolüne göre gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen DNA’lar PZR uygulamalarına kadar – 80 °C’de derin dondurucu da muhafaza edilmiştir. DNA saflık ve miktarları nanodrop ND 1000 spektrofotometre ile ölçülmüştür.

F1 bitkilerine ait yaprak örneklerinden izole edilen DNA’lar, çizelge 3.1’de ayrıntılı özellikleri verilen primerler ile PZR ortamında çoğaltılarak, çoğaltım ürünü bantlar elde edilmiştir (Biometra T-1 Thermocycler Biometra, Göttingen, Germany). Polimeraz Zincir Reaksiyonu için amplifikasyon koşulları ve reaksiyon koşulları aşağıdaki gibidir:

Amplifikasyon Koşulları:

DNA: 20-100 mg

Primer Çifti: 20-50 pmol

dNTP: 200-500 mM

MgCl₂: 1,5 mM

DNA Polimeraz: 0,5-1,5 Ünite

10X Bufer: 2,5 µl

Toplam Hacim: 25µl

Reaksiyon Koşulları:

4 dak. 94 °C

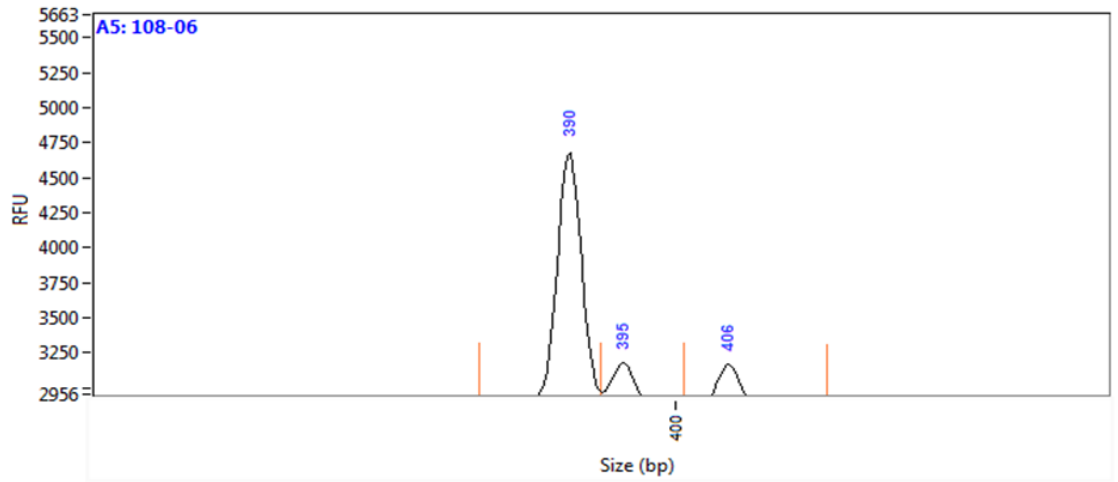
1 dak. 94 °C

1 dak. (Primerin Annealing Sıcaklığı) 35 döngü

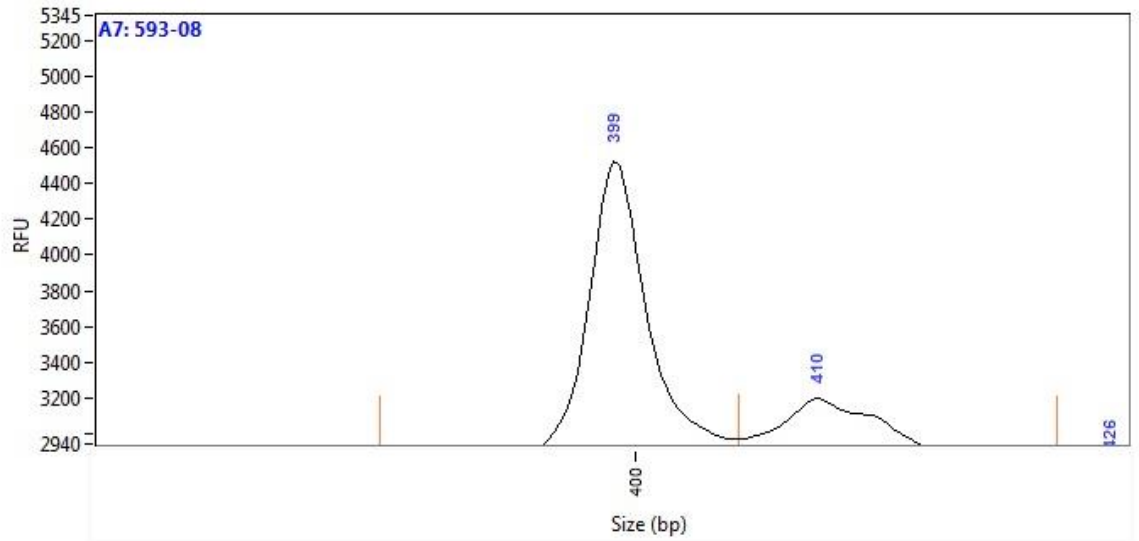
1 dak. 72 °C

6 dak. 72 °C

SSR ile elde edilen PZR ürünlerine ait fragment büyüklükleri Fragment Analyser (Advanced Analytical Technologies, Inc. IS, USA) cihazıyla belirlenmiştir. PZR ürünleri Fragment Analyser ile pik görüntüleri olarak ayrıldıktan sonra ProSize yazılımıyla piklerdeki allel büyüklükleri belirlenmiştir.



Şekil 3.1 Fragment Analyser cihazı ile elde edilen GF 18-06 markörüne ait allel büyüklük görüntüsü



Şekil 3.2 Fragment Analyser cihazı ile elde edilen GF 18-08 markörüne ait allel büyüklük görüntüsü

Fragment Analyser protokolü aşağıdaki gibi uygulanmıştır:

1. 96'lık plate'in her bir kuyucuğına 22 µl Dilution Buffer konulmuştur.
2. Her bir kuyucuğına 2 µl örnek konulup Dilution Buffer'la karışması için santrifüj edilmiştir.
3. 45 µl Seperation Jel 4,5 µl boya ile karıştırılıp cihazın jel tüpüne yüklenmiştir.
4. 80 ml ultra saf su, 20 ml Capillary Conditioning Solüsyon ile karıştırılıp cihaza yerleştirilmiştir.
5. 20 ml Inlet Buffer 80 ml ultra saf su ile karıştırılıp 96'lık plate içerisine her bir kuyucuk 1 ml olacak şekilde dağıtılmıştır ve Plate cihazın Inlet Buffer tepsisine yerleştirilmiştir.
6. Markör solüsyonu 96 kuyucuklu markör plate içerisine 30 µl olarak dağıtılmıştır ve üzerlerine 1'er damla mineral yağı eklenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırmada ana ebeveyn olarak kullanılan ‘Alphonse Lavallée’ ve baba ebeveyn ‘Regent’ çeşidine ait GF 18- 06 primeri ile elde edilen allel büyüklükleri ile melez bitkilerde tespit edilen allel profilleri çizelge 4.1’de verilmiştir. Rpv3 gen bölgesine sahip dayanıklı ebeveyn olan ‘Regent’ çeşidinde 384-390 bp, ‘Alphonse Lavallée’ çeşidinde 396-406-421 bp allel büyüklükleri belirlenmiştir. Genetik testlemesi yapılan toplam 881 melez bitkiden 874 adedi GF 18-06 primeri ile amplifikasyon ürünü bant vermiştir.

Mildiyöye dayanıklılık gen lokusu Rpv3 ile sıkı ilişkili allelleri taşıyan genotipler (390 bp) italik olarak işaretlenmiştir. Marköre dayalı seleksiyon sonucunda 390 bp allele sahip melez bitkiler dayanıklı aday sınıfında değerlendirilmiştir. Hassas ebeveyn olan ‘Alphonse Lavallée’den gelen 396, 406 ve 421 bp allele sahip bireyler hassas bireyler olarak sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.1).

Marköre dayalı seleksiyon amaçlı kullanılan diğer markör GF 18-08 primeri ile elde edilen allel büyüklükleri çizelge 4.1’de verilmiştir. Genetik testlemesi yapılan toplam 848 melez bitkiden 844 adedi GF 18-08 primeri ile amplifikasyon ürünü bant vermiştir. GF 18-08 primeri ile mildiyöye dayanıklı baba ebeveyn ‘Regent’ 393-399 bp, hassas ana ebeveyn Alphonse Lavaleé 390-396-406-420 bp büyüklüğünde allelik dağılım göstermiştir ve melez bitkiler her iki ebeveynden gelen allel büyüklükleri doğrultusunda bant vermişlerdir.

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri

MELEZ NO	GF 18-06 PRİMERİ İÇİN ALLEL BÜYÜKLÜKLERİ	GF 18-08 PRİMERİ İÇİN ALLEL BÜYÜKLÜKLERİ
<i>Regent</i>	384-390	393-399
A. Lavallecé	396-406-421	390-396-406-420
1	390-421	390-399
2	390-421	383-399
3	396-406	390-396
4	390-406	393-399
5	384-396	406-406
6	396-406	406-406
7	384-390-396	393-399
8	390-396	393-399
9	-	406-406
10	396-396	406-406
11	396-406	390-396
13	396-406	393-406
14	390-396-406	390-399
15	384-396	406-420
16	396-406	393-406
18	384-390	399-406
19	406-421	406-420
20	384-396	406-420
21	384-396	406-420
22	384-396	406-420
23	396-406	393-393
24	396-406	393-393
25	406-406	406-406
26	384-396	406-420
27	384-390	399-406
28	384-390	399-406
29	396-406	390-406
30	-	406-406
31	396-406	406-420
32	396-406	406-420
33	396-406	406-420
34	396-406-421	393-393
35	384-396	393-406
36	384-396	390-390
37	384-390	399-420
38	-	393-406
39	390-421	399-406
40	406-421	393-406-420
41	396-396	393-393
42	384-396	406-420
43	406-421	393-420
44	406-421	393-406
45	396-406	406-420
46	384-396	406-420
47	396-406	390-396

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

48	384-396	406-406
49	396-406	393-406
50	384-396	406-420
51	384-406	406-420
52	390-396	399-420
53	381-384-396	393-406
54	396-421	406-420
55	406-421	393-406
56	390-390	399-399
57	396-406-421	393-406
58	384-406	393-406
60	390-396	393-399
61	406-421	393-406
62	384-390-396	393-406
63	396-406	393-406
64	390-396	393-393
65	396-406	393-406
66	384-396	406-406
67	406-421	406-406
68	384-390	399-420
69	384-396-406	406-420
70	384-396	406-420
71	396-396	-
73	384-396	406-420
74	396-406-421	-
75	396-406	406-420
76	406-421	406-420
77	396-406	406-420
78	384-396-406	406-420
79	384-396	406-420
80	390-421	399-420
81	384-390-396	399-406
82	384-390-396	406-420
83	384-396-421	406-420
84	384-396	406-420
85	384-396	406-406
86	384-396	393-406
87	384-390-396	393-406
88	406-421	406-406
89	390-396	399-420
90	396-406	396-406
91	396-406	406-406
92	396-406	393-406
93	396-406	393-396
94	406-406	-
95	406-421	406-420
96	406-421	406-406
97	396-406	406-420

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

98	390-396	399-420
99	384-396	406-420
100	384-390-396	399-420
101	384-396	406-420
102	384-396	406-420
103	384-396	406-420
104	390-421	399-420
105	384-390	399-399
106	396-406	393-406
108	390-396-406	406-420
109	384-396	406-420
110	396-406	406-420
111	406-421	406-406
112	406-421	393-406
113	396-406	396-393
114	406-421	406-420
115	396-406	-
116	384-396	393-406
119	396-406	393-406-420
120	390-390	393-399
121	396-406-421	406-420
122	396-406-421	390-406
124	396-396	393-406
125	396-406	406-406
126	384-390	399-420
127	384-396	393-420
128	396-406	406-420
129	396-406	396-406-420
130	384-396	393-406
131	413-416	406-420
132	384-390	399-399
133	396-406	393-396
134	396-406	393-406-420
135	406-421	406-420
136	396-406-421	406-406
137	396-406	390-396
139	384-390-406	406-406
140	384-421	399-399
141	406-421	393-406
142	384-384	406-420
143	396-406	406-420
144	384-396	406-420
145	396-421	390-396
146	396-406	390-393
147	396-421	393-406
148	390-396	393-399
149	384-390	393-399
150	384-396	406-420

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

151	396-406	390-396
152	384-396	393-420
153	396-413	406-420
154	396-406	406-420
155	384-396	406-420
156	396-406	396-396
157	384-396	406-420
158	-	393-420
160	396-406	406-420
161	390-406	399-420
163	384-396	406-406
164	384-390	399-420
165	384-390	393-393
166	384-396-406	396-406
167	396-406	396-406
168	384-390	393-399
169	406-406	406-420
170	384-390	399-420
171	390-406	399-420
172	384-396	406-420
173	384-396	406-420
174	384-396	406-420
175	384-390	399-399
176	384-396	406-406
177	406-406	393-406
178	390-390	393-399
179	384-396	406-420
180	384-390	393-399
181	384-396	396-396
182	406-406	406-406
183	384-390	393-399
184	396-406	390-396
185	396-406	393-406
186	396-406	396-396
187	390-390	399-420
188	390-396	399-420
189	384-390	399-420
190	406-421	406-406
191	406-421	406-420
192	396-406	396-396
193	384-406	393-406
194	396-406	390-406
195	384-396	393-406
196	384-396	406-420
197	-	393-396
198	384-396	406-420
199	390-396	393-399
200	384-396	393-399

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

201	384-396	406-420
202	390-396	399-420
203	396-406	406-420
204	384-396	393-406
205	384-390	399-399
206	396-406	406-406
207	384-396	406-420
208	-	393-396
209	384-396	393-406
210	390-421	399-420
211	384-390	399-420
212	384-396	406-420
213	396-406	393-406
214	396-406	393-406
215	384-390	399-420
216	384-396	393-396
217	390-390	399-420
218	396-406	406-420
219	390-390	393-399
220	396-406	406-420
221	396-406	406-420
222	390-390	393-393
223	384-390	393-399
224	384-396	406-420
225	390-421	399-420
226	384-396	406-420
227	384-390	406-420
228	396-406	393-396
229	384-390-396	393-399
230	396-406	406-420
231	384-396	406-420
232	384-396	393-396
233	390-396	399-399
234	384-390	399-420
235	396-406	390-396
236	390-390	393-399
237	384-396-406	393-406
238	384-390	399-420
239	396-406	406-420
240	406-421	390-396
241	390-421	399-420
242	406-421	393-396-406
243	396-406	393-406
244	396-406	390-390
245	390-396	393-399
246	384-396	393-396-406
247	406-406	393-406
248	384-396-406	406-421

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

249	390-396	393-399
250	384-406	406-420
251	396-406	393-406
252	396-406	393-396
253	396-406-421	393-396
254	390-396	399-420
255	396-406	406-420
256	396-406	396-406
257	396-406	393-406
258	384-390	399-420
259	384-396-406	406-420
260	396-406	406-420
261	384-390	393-399
262	396-406	396-396
263	384-390	393-399
264	384-390	393-399
265	406-421	406-420
266	384-390	399-399
267	390-390	396-399
268	384-396	393-406
269	-	399-420
270	384-390-396	393-396
271	390-406	396-399
272	384-396-406	406-420
273	406-406	406-420
274	396-406	406-420
276	396-406	393-396-406
277	390-406	399-420
278	396-406	393-396
279	384-396	393-396
280	384-396	393-406
281	384-390	393-399
282	406-421	393-420
283	390-396	399-420
284	384-396	406-406
285	384-390-421	399-420
286	406-406	406-420
287	396-406	393-406
288	384-390	393-399
289	384-390	399-420
290	384-390	399-399
291	384-390-406	399-399
292	396-406-421	390-396
293	396-406	393-406
294	384-396	406-420
295	406-406	406-420
296	396-406-421	406-406
297	406-406	406-406

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

298	384-396	406-420
299	384-396	406-420
301	384-390	393-399
302	-	406-406
303	384-396	406-406
304	396-406	396-406
305	396-406	393-396
306	396-406	393-406
307	390-390	393-399
308	396-406	406-420
309	384-390	393-399
310	384-390	406-420
311	406-406	406-406
312	384-390	393-406
313	406-421	406-406
314	384-396	406-420
315	384-390	393-399
316	384-396	393-406
317	384-390	399-420
318	396-406	406-420
319	390-396	393-399
320	390-396-406	406-420
321	384-390	393-399
322	390-396-406	393-399
323	384-390	399-399
324	384-390-396	396-406
325	390-396	393-399
326	396-406	406-420
327	406-421	406-420
328	406-421	406-420
329	396-406	406-420
330	396-406	396-406
331	384-396	393-406
332	396-406	393-406
333	396-396	406-420
335	384-396	396-406
336	396-406	393-406
337	396-406	406-420
338	390-421	399-420
339	396-406-421	393-406
340	384-390	393-399
341	390-390	399-406
342	390-421	399-399
344	384-390	393-399
345	384-390	399-406
346	406-421	393-406
347	384-390	406-411
348	384-396	393-399

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

349	390-396-406	393-399
350	390-396-406	393-399
351	406-421	393-406
352	390-396	399-420
353	384-390-396	393-399
354	396-406	406-420
355	384-390	399-420
356	396-406	406-420
357	406-421	393-406
359	390-396	390-393
360	406-406	393-406
361	396-406	393-406
362	384-384	406-406
363	396-406	406-420
364	396-406	390-390
365	384-396	393-406
366	-	393-406
367	384-396	393-406
368	384-396	406-420
369	396-396	393-406
370	390-421	399-420
371	384-390-396	393-406
372	390-390	393-399
373	396-406	406-406
374	384-396	393-406
375	406-406	406-420
376	396-406	406-420
377	384-406	406-406
378	406-421	393-406
379	384-390-421	393-399
380	384-396	406-420
381	406-421	393-406
382	384-396	406-420
383	396-406	393-396
384	396-406	406-420
385	384-396	406-420
386	406-421	393-420
387	390-396	399-420
388	384-390	399-420
389	384-384	393-406
390	390-396	393-399
391	384-396-406	406-420
392	390-421	399-420
393	390-396	393-399
394	396-406	406-420
395	381-384-396	393-406
396	396-406	393-406
397	390-421	399-399

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

398	396-406-421	406-420
399	390-396	393-399
400	406-421	393-406-420
401	384-390-396	393-399
402	396-406	406-420
403	396-406	393-406
404	396-406	393-406
405	396-406-421	393-406
406	406-421	393-406
407	406-421	406-420
408	384-396	406-406
409	384-390	393-399
410	396-406	393-399
411	384-396	393-406
412	384-390	393-399
413	396-406	406-406
414	384-396	393-406
415	384-396	406-406
416	406-421	406-420
417	390-406	399-420
418	396-421	406-420
419	384-390-396	393-406
420	390-421	393-399
422	396-406	393-406
423	390-406	399-420
424	406-421	406-420
425	384-390-396	406-420
426	396-406	406-420
427	406-421	406-420
428	390-396	399-420
429	396-406	390-406
430	390-406	390-399
431	390-396	393-399
432	384-396	393-406
433	406-421	393-396
434	390-421	393-399
435	390-396	393-399
436	384-390	393-399
437	384-390	399-420
439	384-390	393-399
440	384-396	406-420
441	384-390-421	399-399
442	384-390	393-399
443	384-390	399-399
444	390-396	399-399
445	384-390	393-406
446	384-390	393-393
447	384-396	406-420

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

448	396-406	393-406
449	384-390	393-399
450	396-406	393-406
451	396-406	406-420
452	384-390	393-399
453	396-406	396-396
455	396-396	393-396
456	384-396	406-420
457	384-390	399-399
458	396-406	396-406
459	384-390	393-399
460	396-406	393-406
461	390-421	399-420
462	396-406	393-396
463	384-390	393-399
464	384-396-406	406-420
465	384-396	393-406
466	396-406	406-406
467	396-406-421	393-406
468	396-406	393-406
469	384-390	393-399
470	384-390	399-420
471	396-406	393-406
472	390-396	393-399
473	384-390	399-399
474	390-396	393-399
475	390-396	399-420
476	406-421	406-420
477	396-406	406-420
478	384-384	393-406
479	396-406	406-406
480	384-390	399-399
481	390-396	393-399
482	384-390	399-420
483	390-396	393-399
484	396-406	406-420
485	390-421	399-399
486	396-406	390-406
487	384-396-406	406-420
488	396-406	406-420
489	396-396	393-406
490	-	393-406
491	396-406-421	393-406
492	384-390	393-399
493	396-406	390-406
494	396-406	393-406
495	384-390	399-420
496	406-421	399-420

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

497	384-390-396	393-399
498	406-421	406-420
499	396-406	406-420
500	384-390	399-420
501	406-421	393-406
502	396-406	393-406
503	396-406	393-406
504	396-406	406-420
505	384-390	393-399
506	396-406	396-406
507	384-390	393-399
508	396-406	406-420
509	396-406	406-420
510	384-396	396-406
511	396-406-421	390-396
512	384-396	393-406
514	384-396	393-406
515	384-390	399-399
516	384-396	406-420
517	396-406	396-406
518	384-396	393-406
519	390-396	399-406
520	396-406	406-420
521	406-421	406-420
522	384-390	393-393
523	396-406	396-420
524	390-406	399-420
525	396-396	406-406
526	406-406	393-406
527	406-421	406-406
528	406-421	393-406
529	384-396	406-420
530	406-421	393-406
531	396-396	406-420
532	384-390	390-399
533	396-406-421	396-420
534	384-390	399-399
535	384-390-396	393-399
536	396-406	406-406
537	396-406	396-420
538	390-396	399-420
539	384-390	393-399
540	384-396-406	406-420
541	384-396	396-396
542	384-390-421	-
543	384-390	393-399
544	396-406-421	396-420
545	396-406	396-406

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

546	406-421	406-420
547	384-390	393-399
548	384-396-406	406-406
549	384-390	393-399
550	384-396	406-406
551	396-406	406-420
552	396-406	406-420
553	384-390	399-399
554	384-396	406-420
555	390-396	406-420
556	-	393-396
557	406-406	393-406
558	384-390	393-399
559	396-406	393-406
560	384-390-406	399-420
561	406-406	406-420
563	396-406-406	406-420
564	384-396	393-406
565	390-396-406	406-406
566	406-421	393-406
567	384-396	406-420
568	384-390	399-399
569	396-406	390-396
570	384-390-396	393-399
571	384-390	393-420
572	384-390-421	399-420
573	390-421	399-399
574	390-406	399-420
575	390-396	399-399
576	396-406-406	393-396
577	390-396	393-396
578	396-406	390-396
579	384-396-406	406-420
580	390-396	393-399
581	384-396	393-406
582	384-390	393-393
583	384-396	396-420
584	406-406	396-420
585	390-396-406	406-420
586	384-390	390-393-399
587	384-390	399-399
588	384-390	399-420
589	396-406	393-406
590	390-396	393-399
591	384-406	396-420
592	390-390	393-399
593	396-406	396-406
594	384-390	390-399

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

595	396-406	393-406
596	406-406	406-420
597	384-396	406-420
598	384-396	396-406
599	390-421	399-420
600	384-390-421	393-399
601	390-390	393-399
602	384-390	393-399
603	396-406	393-406
604	384-390-396	393-399
605	396-406	406-420
606	396-406	390-406
607	396-406-421	390-396
608	384-396	396-396
609	396-406	390-396
610	396-406	406-420
611	406-421	390-396
612	384-390	399-420
613	384-390	399-420
614	406-421	399-399
615	384-390-396	399-420
618	384-396	406-406
619	406-421	406-406
622	384-396	406-420
623	384-396	393-420
624	390-406	393-399
627	384-396	406-420
628	396-406	393-406
630	406-421	406-420
631	384-421	393-396
633	396-406	396-396
635	384-396	393-406
639	396-406-421	406-420
641	384-406-421	406-420
643	396-406	396-396
648	406-406	393-396
649	384-390-396	399-420
651	390-390	399-420
652	384-396	393-393
653	396-396	406-420
654	384-396	393-406
655	396-396	393-406
656	384-396	396-406
657	406-421	406-420
658	406-421	393-406
659	396-406	406-420
660	406-421	393-406
661	390-406	399-399

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

662	384-396	406-420
663	406-406	393-406
664	384-406	393-396
665	384-396-406	406-420
667	384-406	406-420
668	396-406	393-396
669	384-396	393-406
671	384-396	406-420
673	390-406	393-420
675	406-406	396-396
677	396-406	-
678	406-421	406-420
681	-	406-406
682	396-406	393-406
683	396-406	390-396
685	396-406	406-406
687	384-396	406-406
688	384-396	393-406
691	396-406	393-406
692	396-406	-
693	396-406	-
697	406-421	406-420
698	396-406	390-406
702	384-396	393-396
705	406-406	406-420
707	396-406	390-396
708	390-396	-
710	-	393-393
711	384-396	393-406
712	406-421	393-406
713	396-406	406-420
714	384-406	406-420
715	384-406	406-420
717	406-421	393-406
718	406-406	406-420
719	396-406	393-420
800	396-406	406-406
801	396-406	406-420
802	406-421	393-406
803	396-406	406-420
804	406-406	393-396
805	396-406	406-420
806	384-406	406-406
807	384-406	406-420
808	406-421	393-406
809	406-406	406-406
810	396-406	-
811	396-406-421	393-396

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

812	396-406	393-406
813	406-406	406-406
814	396-406	406-420
815	396-406	393-406
816	396-406	396-396
818	396-406	-
819	396-406	393-406
820	406-421	406-406
821	396-396	406-420
822	406-406	406-406
823	390-406	399-399
824	384-390	399-420
825	384-390	393-399
826	406-421	393-396
827	406-421	406-420
828	390-406	393-399
829	396-406	406-420
830	384-396	390-390
831	396-406	393-396
832	396-406	393-396
833	396-406	406-420
834	396-406	406-406
835	396-406	-
836	396-406	393-406
837	406-406	406-420
838	396-406	406-420
839	406-406	406-420
840	396-406	-
841	396-406	393-406
842	396-406	406-420
843	396-406	406-420
844	396-406	393-396
845	396-406	-
846	396-406	393-406
847	396-406	390-406
848	-	396-396
849	396-406	393-396
850	384-396	390-393
851	396-406	-
852	406-421	-
853	396-406	406-420
854	-	406-406
855	396-406	-
856	396-406	406-420
857	396-406	406-406
858	396-406	390-393
859	396-406	393-406
860	396-406-421	-

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

861	396-406	406-420
862	396-406	390-396
863	406-421	406-406
864	396-406-421	390-396
865	384-396	396-396
866	-	393-396
867	396-406	-
868	406-406	396-396
869	406-421	393-396
870	396-406	-
871	384-396	-
872	396-406	393-396
873	406-430	406-420
874	406-421	406-420
875	396-406	406-420
876	384-396	406-420
877	396-406	393-396
878	396-406	406-420
879	396-406	396-396
880	396-396	-
881	396-406	-
882	396-406	-
883	406-421	393-396
884	396-406	393-396
885	396-406	396-396
886	396-406	406-420
887	396-396	396-396
888	396-406-421	393-420
889	396-396	393-406
890	406-406	393-406
891	384-396	396-396
892	396-406	406-420
893	384-396	396-406
894	396-406	-
895	406-421	396-396
896	406-406	396-406
897	396-406	390-396
898	396-406-421	406-406
899	396-406	393-406
900	396-406	406-420
902	406-406	393-406
904	396-406	396-396
905	396-406	406-420
906	396-406	393-406
907	406-406	406-420
908	406-421	393-396
909	396-406	406-420
910	406-406	406-406

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

911	396-406	406-420
912	406-406	406-406
913	406-406	406-420
914	396-406	406-420
915	390-406	399-420
916	396-406	393-406
917	396-406	393-406
918	406-421	406-420
919	396-406	406-420
920	406-421	406-420
921	384-390	399
922	406-421	393-396
923	396-406	406-420
924	406-421	406-406
926	406-406	406-420
927	396-406	393-406
928	406-421	406-420
929	396-396	393-406
930	406-421	406-406
931	406-421	406-420
932	390-406	-
933	396-406	393-396
934	396-406	406-420
935	384-396	396-396
936	396-406	396-396
937	384-396	396-406
938	396-406	406-420
939	396-406	393-406
940	396-406	390-390
941	396-421	406-420
942	390-396	399-420
943	406-406	396-396
944	396-406-421	406-420
945	396-396	393-396
946	-	406-406
947	384-396	396-396
948	406-421	406-406
949	396-406-421	393-396
950	406-406	393-406
951	396-406	406-420
952	396-406	406-420
953	384-396	393-406
954	396-406-421	396-396
955	406-406	393-396
956	406-421	393-396
957	396-406	393-396
958	396-406	-
959	396-396	-

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

960	384-396	-
961	396-406-421	393-396
962	396-396	390-390
963	384-396-421	393-396
964	406-421	406-420
965	396-406	396-406
966	396-406	393-396
968	396-406-421	-
969	384-396	396-396
970	396-406-421	-
971	384-390	399-420
972	406-421	406-420
973	396-406	396-396
974	396-406	390-390
975	384-396-406	406-406
976	396-406	406-406
977	384-390-396	393-406
979	396-406-421	393-396
980	396-406	393-406
981	396-406	396-406
982	416-421	406-420
983	396-406-421	406-420
984	396-406-421	393-396
985	384-396	-
987	406-421	-
988	396-396	393-396
989	396-396	396-396
990	384-396	-
991	396-406	393-396
992	396-406	393-406
993	396-406	-
994	406-421	393-396
995	396-406	393-396
996	396-406	-
997	396-406-421	406-406
998	396-406	393-406
999	396-406	393-406
1000	396-406	406-420
1001	396-406	406-420
1003	384-396	-
1004	396-406-421	390-396
1005	-	393-396
1006	396-406	-
1008	396-406	-
1010	406-406	-
1011	396-406	396-406
1012	406-406	393-396
1013	406-421	-

Çizelge 4.1 GF 18-06 ve GF 18-08 primerleri ile elde edilen allel büyüklükleri
(devam)

1014	406-421	406-406
1015	396-406-406	396-396
1016	406-406	-
1017	396-406	390-390
1018	396-406	393-406
1019	406-421	-
1020	396-406	406-420
1021	396-406	396-406
1022	396-406	406-406
1023	406-421	406-406
1024	396-406	393-396
1028	396-406	-
1030	406-421	393-396
1032	396-406-421	406-406
1033	396-406	-
1034	396-406	-
1035	406-406	393-396
1036	406-406	396-406
1037	396-406	396-396
1038	396-406	-
1039	396-396	396-406
1042	406-421	390-390
1043	384-396	393-406
1044	396-406-421	396-406
1045	396-406	406-406
1046	406-421	406-406
1047	384-396-406	-
1048	396-406-421	406-420
1049	-	390-396
1050	396-406-406	-
1055	406-421	393-396
1056	406-421	393-396

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Mildiyö (*Plasmopara viticola* (Berk&Curt.)), Türkiye’de ve dünyada bağcılığı tehdit eden en önemli fungal hastalıklardan biridir. Yağışlı ve nemli havaları seven mildiyö patojeni, tüm yeşil akşamlarla birlikte meyveye de aşırı derecede zarar vermektedir. Mücadele için ülkemizde ekolojiye göre değişmekle birlikte 8-12 adet ilaçlama tekrarı gerekmektedir. Sık ilaç kullanımı, ilacın uygulama dozu ve miktarı insan sağlığı ile birlikte çevre sağlığına büyük ölçüde zarar vermektedir.

Özer vd. (2012), yaptıkları bir çalışmayla ülkemizde fungal enfeksiyonlara karşı dayanıklı çeşit geliştirmek için yapılan ıslah çalışmalarında klasik melezleme yönteminin tercih edildiğini belirtmişlerdir. Klasik melezleme yöntemi ile yapılan uygulamalar, asmalardaki gençlik kısırlığı döneminin uzun olması sebebiyle ortalama 15-25 yıl sürebilmektedir. Süreç, araştırmacılara zaman kaybı, iş gücü ve maddi açıdan çeşitli zorluklar yaşatmaktadır.

Klasik melezleme yönteminin dezavantajlarını yok etmek amacıyla özellikle son yıllarda biyoteknolojik uygulamalardan yararlanılmaktadır. Biyoteknolojik uygulamaların ıslah çalışmalarında kullanıldığı Marköre dayalı seleksiyon (MDS) yöntemi yoluyla hedeflenen karakterler ile bağlantılı moleküler markörler asma ıslahında kullanılarak net sonuçlara daha kısa sürede ulaşmak mümkün olmaktadır (Van Heerden vd. 2014).

Halen, asmalardaki *P. viticola*’ya direnç kaynağı olarak Kuzey Amerika ve Asya kökenli asma türleri bilinmektedir. Son yıllarda asma genomu ve DNA markör sistemlerindeki gelişmeler sonucu, *P. viticola*’ya dirençte genetik belirleyicilerden biri olarak Rpv olarak isimlendirilen (*Resistance to Plasmopora viticola*) lokuslar tespit edilmiştir (Kosev vd. 2017). Günümüze kadar mildiyöye dayanıklılıkla ilişkilendirilmiş olan gen bölgeleri sırasıyla; Rpv1 (Merdinoğlu vd. 2003), Rpv2 (Wiedeman-Merdinoglu vd. 2006), Rpv3 (Welter vd. 2007, Bellin vd. 2009, Van Heerden vd. 2014), Rpv4 (Welter vd. 2007), Rpv5-Rpv6 (Marguerit vd. 2009), Rpv7 (Bellin vd. 2009), Rpv8 (Blasi vd. 2011), Rpv9 (Moreira vd. 2011), Rpv10 (Schwander vd. 2012), Rpv11 (Fischer vd. 2004, Bellin vd.

2009, Schwander vd. 2012), Rpv12 (Venuti vd. 2013), Rpv13 (Moreira vd. 2011), Rpv14 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız dayanıklı ‘Regent’ çeşidi, 1996 yılında Almanya Geilweilerhof Asma Islahı Enstitüsü’nde külleme ve mildiyö hastalıklarına yüksek derecede dayanıklı olarak ıslah edilmiştir (Eibach ve Töpfer, 2003). Mildiyö hastalığına dayanıklılık ile ilişkili Rpv3 gen bölgesi ilk defa ‘Regent’ çeşidinin genetik haritasında 18 nolu kromozom üzerinde tanımlanmıştır (Fischer vd. 2004, Welter vd. 2007). Bianca çeşidinin kromozomunda da tespit edilen lokus, Bellin vd. (2009) tarafından Rpv3 olarak isimlendirilmiştir. Geilweilerhof Asma Islahı Enstitüsü’nde (Almanya) asmanın referans haritasından GF 18-08 ve GF 18-06 SSR primerleri mildiyö hastalığına dayanıklılıkla ilişkili olarak belirlenen Rpv3 gen bölgesinden geliştirilmiştir (Zyprian vd. 2016). ‘Regent’ haritasındaki Rpv3 lokusu ‘Regent x Red Globe’ melezleme popülasyonundan geliştirilen genetik haritada da doğrulanmıştır (Van Heerden vd. 2014). Bu çalışmada geliştirilen genetik haritada GF 18-08 ile aynı bölgede VMC7F2 SSR markörü 18 nolu kromozom üzerinde yer almıştır (Van Heerden vd. 2014). Daha sonra Zyprian vd. (2016) GF 18-08 markörünü VMC7F2 ile aynı SSR lokusunu çevreleyen sekans için spesifik olarak yeniden dizayn etmişlerdir. Araştırmacılar GF 18-08 primeri ile 399 bp büyüklüğündeki alleli dayanıklılıkla ilişkili olarak belirlemişlerdir. GF 18-08 primeri ile ‘Regent’ çeşidinde 393-399 bp allel dağılımı elde edilirken, diğer dayanıklılık ile ilişkili hibritlerde sırasıyla; ‘Villard Blanc’ (383-399 bp), Siebel 6468 (387-399 bp), Suberux (383-399 bp), GF.GA 47-42 (389-392 bp) allellerine sahip oldukları belirlenmiştir (Zyprian vd. 2016).

Araştırmamız sonucunda, ‘Regent’ çeşidi 393-399 bp büyüklüğünde amplifikasyon ürünü oluşturmuştur. Bu sonucun Zyprian vd. (2016) çalışmaları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz ve mildiyö hastalığına dayanıklılık ile ilişkili olarak markör destekli seleksiyonda kullanılan allel dağılımları, 1150176 numaralı TÜBİTAK projesinde (Uzun vd. 2018) yapay inokulasyon çalışmaları ile doğrulanmıştır. Söz konusu proje ile; yaprak disklerinde oluşan sporulasyon alanına göre dayanıklılık durumu için

skala oluşturulmuş [0: Son derece dayanıklı (ER), 0.1-1.0 mm²: Yüksek derecede dayanıklı (HR), 1.1-2 mm²: Dayanıklı (R), 2.1-10.0 mm²: Hassas (S); 10.1-15 mm², >15.1 mm²] ve melezler gruplandırılmıştır. Sporulasyon şiddeti ve sporulasyon alanına göre belirlenen iki skalaya göre melezlerin dayanıklılık durumları karşılaştırılmıştır (Uzun vd. 2018).

TÜBİTAK 1150176 nolu projede inokulasyon testleri sonrası dayanıklı olarak tespit edilen toplam 204 bitkiden 193 (%95) adedi araştırmamızda en az bir lokusunda 399 bp allele sahip olarak belirlenmiştir. Hassas vinifera çeşidi Alphonse Lavalée'den döllere aktarılan 390, 396, 406 ve/veya 420 bp allele sahip olan melezlerin, inokulasyon skrolama sonrası hassas kategorisinde değerlendirildikleri görülmüştür. Dayanıklılıkla sıkı ilişkili 399 bp alleli diğer alleller ile birlikte (örnek: 399-420, 399-396) aynı lokusta görüldüğünde, yapay inokulasyon skor sonucunun da dayanıklı olduğu belirlenmiştir.

'Regent' çeşidinden aktarılan diğer allel olan 393 bp alleli, Alphonse Lavalée çeşidinden aktarılan alleller ile birlikte aynı lokusta yer aldığı (390-393 bp, 393-396 bp, 393-420 bp veya 393-406 bp) skrolama sonuçları hassas olarak değerlendirilmiştir.

Saifert vd. (2018), Rpv1 Rpv3-1 dayanıklılık lokuslarının piramitlenmesi amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, GF 18-08 primerinin dayanıklılıkla ilişkili allel büyüklüğünü 392 bp olarak belirlemişlerdir. Rpv3-1 lokusunu taşıyan dayanıklı ebeveynin (GF. GA 52-42) GF 18-08 primeri ile 387-392 bp allellerine sahip olduğu belirlenmiştir ve 392 bp alleli taşıyan genotipler Rpv3-1 pozitif olarak değerlendirilmiştir. Araştırmamızda tespit ettiğimiz 399 bp allelinin Saifert vd. (2018) çalışmasında belirledikleri 392 bp allel ile örtüştüğü düşünülebilir. Nitekim allel büyüklükleri araştırmalarda kullanılan fragment analiz cihazlarına göre farklılık gösterebilmektedir.

Araştırmamızdan elde edilen genotipik tanımlamalar, inokulasyon denemeleri ile birlikte değerlendirildiğinde, 'Regent' çeşidinin ebeveyn olarak kullanıldığı melez kombinasyonlarında GF 18-08 primerinin Markör Destekli Seleksiyon çalışmalarında güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir.

Araştırmamızda Rpv3 mildiyö dayanıklılık lokusu ile ilişkili olarak kullanılan diğer primer GF 18-06 ile dayanıklı ebeveyn ‘Regent’ 384-390 bp allel büyüklüklerinde amplifikasyon ürünü vermiştir. Melez F1 bitkilerinin allelik dağılımlarının inokulasyon skortlama çalışmaları ile doğrulanması sonrasında, 390 bp allele sahip melez bitkilerin dayanıklı olarak sınıflandırıldığı görülmüştür. Dayanıklı olarak tespit edilen toplam 204 melez bitkiden 119 adedi (%58,3) en az bir lokusunda 390 bp allele sahip olarak belirlenmiştir.

Zyprian vd. (2016), GF 18-06 primerinin ‘Regent’ çeşidindeki allel büyüklüklerini, 381-387 bp olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar yalnızca 387 bp allelinin Rpv3 dayanıklılık özelliği ile ilişkili olarak sonuç verdiğini bildirmektedirler. Araştırma sonuçlarımız ile Zyprian vd. (2016)’nin bulguları arasında ‘Regent’ çeşidi için 3 bp’lik bir farklılık görülmektedir. Zyprian vd. (2016) tarafından belirtilen 387 bp allele karşılık olarak araştırmamızda dayanıklılık ile ilişkili olarak kullandığımız 390 bp allelini taşıyan melez bitkilerin, yapay inokulasyon skortlaması sonucunda dayanıklı kategorisinde oldukları belirlenmiştir. Yine Zyprian vd. (2016) tarafından belirtilen 381 bp allele karşılık olarak belirlediğimiz 384 bp ‘Regent’ alleli, diğer hassas ebeveyn allelleri ile birlikte lokusta yer aldığıda dayanıklılık özelliği ile ilişkilendirilememiştir.

Saifert vd. (2018), ‘GF 2000-305-122’ X ‘GF. GA 52-42’ melez kombinasyonuna ait 23 adet bitkide Rpv1 ve Rpv3-1 genlerinin piramitlenmesine yönelik gerçekleştirdikleri araştırmalarında, GF 18-06 primerini Rpv3-1 geninin işaretlenmesi amacıyla kullanmışlardır. Araştırmada, soy ağacında ‘Regent’ çeşidinden aktarılan Rpv3 lokusunu taşıyan ebeveyn ‘GF 2000-305-122’ 378-395 bp allel dağılımı göstermiştir. Yine soy ağacında ‘Villard Blanc’ Fransız hibridinden gelen Rpv3 lokusunu taşıyan ebeveyn ‘GF. GA 52-42’ 378-384 bp allellik dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmacılar 384 bp allelini taşıyan genotipleri Rpv3-1 pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamız sonucunda, Geilweilerhof Asma Islah Enstitüsü’nde geliştirilmiş ve Rpv3 geni ile sıkı ilişkili olarak marköre dayalı seleksiyon amaçlı kullanılan her iki primer, önceki araştırmalara benzer şekilde Rpv3 gen lokusu ile ilişkili olarak başarı ile kullanılabilir şeklinde belirtilmiştir. GF 18-08 primeri, inokulasyon skortlama çalışmaları

ile %95 oranında doğru sonuç verdiği için birinci derecede kullanılabilir olarak yorumlanmıştır. GF 18 06 primeri ile 390 bp alleli taşıdığı için dayanıklı olarak değerdendirilen genotiplerden %58,3'ü inokulasyon testleri sonrası dayanıklı olarak değerdendirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Agurto, M., Schlechter, R.O., Armijo, G., Solano, E., Serrano, C., Contreras, R.A., Zúñiga, G.E. and Arce-Johnson, P. 2017. RUN1 and REN1 Pyramiding in Grapevine (*Vitis vinifera* cv. Crimson Seedless) Displays an Improved Defense Response Leading to Enhanced Resistance to Powdery Mildew (*Erysiphe necator*) Frontiers in Plant Science, 8 (758).
- Akkurt, M., 2004. Entwicklung Molekularer Marker für Oidium (*Uncinula necator*) Resistenz bei der Weinrebe (Doctoral dissertation, Verlag nicht ermittelbar).
- Akkurt, M., Welter, L., Maul, E., Töpfer, R. and Zyprian, E. 2007. Development of SCAR Markers Linked to Powdery Mildew (*Uncinula necator*) Resistance in Grapevine (*Vitis vinifera* L.). Mol. Breed., 19: 103-111.
- Alleweldt, G. and Possingham, J.V. 1988. Progress in Grapevine Breeding. Theor. Appl. Genet, 75: 669-673.
- Anonim 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları Cilt IV. Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Anonim 2018. Web Sitesi: http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 Erişim Tarihi: 10.10.2019
- Anonim 2018a. Web Sitesi: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=104&locale=tr> Erişim Tarihi: 10.10.2019
- Anonim. 2019. Ticaret Bakanlığı Esnaf, Sanatkarlar ve Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü. 2018 Yılı Çekirdeksiz Kuru Üzüm Raporu, Ankara.
- Anonymous 2017. Web Sitesi: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> Erişim Tarihi: 12.10.2019
- Atak, A., Akkurt, M., Polat, Z., Celik, H., Kahraman, K. A., Akgül, D. S., Özer, N., Söylemezoğlu, G., Şire, G. and Eibach, R. 2017. Susceptibility to Downy Mildew (*Plasmopara viticola*) and Powdery Mildew (*Erysiphe necator*) of Different Vitis Cultivars and Genotypes. Ciência e Técnica Vitivinícola, 32 (1): 23-32.
- Barba, P., Cadle-Davidson, L., Harriman, J., C. Glaubitz, J, Brooks, S., Hyma, K and Reisch, B. 2013. Grapevine Powdery Mildew Resistance and Susceptibility Loci Identified on a High-Resolution SNP Map. Theor. Appl. Genet. (2014), 127 (1): 73-84.
- Barker, C. L., Donald, T., Pauquet, J., Ratnaparkhe, M.B., Bouquet, A., Adam-Blondon, A.F., Thomas, M.R and Dry, I. 2005. Genetic And Physical Mapping of the Grapevine Powdery Mildew Resistance Gene. Run1. Using a Bacterial Artificial Chromosome Library. Theor Appl Genet., 111: 370–377.
- Bellin, D., Peressotti, E., Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Adam-Blondon, A-F., Cipriani, G., Morgante, M., Testolin, R and Di Gaspero, G. 2009.

- Resistance to *Plasmopara viticola* in Grapevine ‘Bianca’ is Controlled by a Major Dominant Gene Causing Localised Necrosis at the Infection Site. *Theor. Appl. Genet.*, 120: 163–176.
- Bilgin, O. ve Korkut, K.Z. 2005. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticuma estivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Genetik Uzaklıklarının Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2 (3).
- Blasi, P., Blanc, S., Wiedemann-Merdinoglu, S., Prado, E., Rühl, E.H and Mestre, P. 2011. Construction of a Reference Linkage Map of *Vitis amurensis* and Genetic Mapping of Rpv8, a Locus Conferring Resistance to Grapevine Downy Mildew. *Theor. Appl. Genet.*, 123: 43-53.
- Bornet, B. and Branchard, M. 2001. Nonanchored Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers: Reproducible and Specific Tools for Genome Fingerprinting. *Plant Mol. Biol. Reporter*, 19: 209-215.
- Bove, F., Caffi, T., Gonzalez Dominguez, E. and Rossi, V. 2016. Resistance Components to *Plasmopara viticola* in Grapevine Genotypes. *Journal of Plant Pathology*, 2016 (4): 24-24.
- Buck, S. and Zyprian, E. 2000. First Approaches of Molecular Mapping in a Model Population Derived from the Crossing of the Grapevine Varieties ‘Regent’ x ‘Lemberger’. VII. International Symp. on Grapevine Genetics and Breeding. Montpellier. France. *Acta Horticulture*, 528: 203-207.
- Cadle-Davidson, L., Mahanil, S., Gadoury, D. M., Kozma, P. and Reisch, B. I. 2011. Natural Infection of Run1-Positive Vines by Naïve Genotypes of *Erysiphe necator*. *Vitis* 50 (4): 173-175.
- Çetinkaya, N. and Ateş, F. 2016. Effect of Leaf Removal and Foliar Applications on Powdery Mildew and Yield/Quality of Grape in Organic Viticulture. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 45: 73-86.
- Dalbo, M. A. 1998. Genetic Mapping, QTL Analysis and Marker-Assisted Selection for Disease Resistance Loci in Grapes. Ph.D. Thesis, Cornell Univ., Ithaca, NY.
- Dalbó, M.A., Ye, G.N., Weeden, N.F., Wilcox, W.F. and Reisch, B.I. 2001. Marker Assisted Selection for Powdery Mildew Resistance in Grapes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126 (1): 83–89.
- Demirci, E. 1996. Funguslara Karşı Dayanıklılığın Gelişimi ve Yönetimi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 27 (4): 576-588.
- Devran, Z. 2003. Moleküler İşaretleyicilerin Dayanıklılık Islahında Kullanılması. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü Derim Dergisi, 20 (1): 1-6.
- Di Gaspero, G., Copetti, D., Coleman, C., Castellarin, S.D., Eibach, R., Kozma, P., Lacombe, T., Gambetta, G., Zvyagin, A., Cindric, P., Kovács, L., Morgante, M and Testolin, R. 2012. Selective Sweep at the Rpv3 Locus During Grapevine Breeding for Downy Mildew Resistance. *Theor. Appl. Genet.*, 124:277–286.

- Donald, T. M., Pellerone, F., Adam-Blondon, A. F., Bouquet, A., Thomas, M. R. and Dry, I. B. 2002. Identification of Resistance Gene Analogs Linked to A Powdery Mildew Resistance Locus in Grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 104: 610-618.
- Eibach, R. and Töpfer, R. 2003. Success in Resistance Breeding: ‘Regent’ and its Steps into the Market, 687-692. *Proceedings of theVIIIth Int. Conf. Grape Genet. Breed. Kecskemet, Hungary.*
- Eisenmann, B., Czemmél, S., Ziegler, T., Buchholz, G., Kortekamp, A., Trapp, O. Rausch, T., Dry, I. and Bogs, J. 2019. Rpv3–1 Mediated Resistance to Grapevine Downy Mildew is Associated with Specific Host Transcriptional Responses and the Accumulation of Stilbenes. *BMC Plant Biology*, 19 (1): 343.
- Filiz, E. ve Koç, İ. 2011. Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (2): 207-214.
- Fischer, B. M., Slakhutdinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K. J., Töpfer, R. and Zyprian, E. M. 2004. Quantitative Trait Locus Analysis of Fungal Disease Resistance Factors on a Molecular Map of Grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 108: 501-515
- Foria, S., Magris, G., Morgante, M. And Di Gaspero, G. 2018. The Genetic Background Modulates the Intensity of Rpv3-dependent Downy Mildew Resistance in Grapevine. *Plant Breeding*, 137 (2): 220-228
- Gaforio L., Garcia-Munoz S., Cabello F. and Munoz-Orhanero G. 2011. Evaluation of Susceptibility to Powdery Mildew (*Erysiphe necator*) in *Vitis vinifera* varieties. *Vitis* 50 (3): 123–126.
- Gaforio, L., Cabello, F. and Organero, G.M., 2015. Evaluation of Resistance to Downy Mildew in Grape Varieties Grown in a Spanish Collection. *Vitis* (Special Issue) 54: 187-191.
- Gargın, S. ve Öztürk Y. 2012. Eğirdir Koşullarında Bazı Üzüm Çeşitlerinin Bağ Mildiyösüne (*Plasmopara viticola*) Karşı Reaksiyonlarının Araştırılması. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 6 (1): 134-136.
- Gupta, M., Chyi, Y.S., Romero-Severson, J. and Owen, J.L. 1994. Amplification of DNA Markers From Evolutionarily Diverse Genomes Using Single Primers of Simple Sequence Repeats. *Theor. Appl. Genet.*, 89: 998-1006.
- Hoffmann, S. Di Gaspero, G., Kovács, L., Howard, S., Kiss, E., Galbács, Z., Testolin, R. and Kozma, P. 2008. Resistance to *Erysiphe necator* in the Grapevine ‘Kishmish vatkana’ is Controlled by A Single Locus Through Restriction of Hyphal Growth. *Theor. Appl. Genet.*, 116: 427–438.
- Joshi, S.P., Gupta, V.S., Aggarwal, R.K., Ranjekar, P.K. and Brar, D. S. 2000. Genetic Diversity and Phylogenetic Relationship as Revealed by Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Polymorphism in the Genus *Oryza*. *Theor. Appl. Genet.*, 100: 1311-1320.

- Kara, Z., Sabır, A., Doğan, O. ve Eker, Ö. 2016. ‘Gök Üzüm’ (*Vitis vinifera* L.) Çeşidinin Ticari Potansiyeli ve Ampelografik Özellikleri. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel Sayı, 395-410.
- Katula-Debreceni, D., Lencsés, A.K., Szokea, A., Veresa, A., Hoffmann, S., Kozma, P., Kovács, L.G., Heszky, L. and Kiss, E. 2010. Marker-Assisted Selection for Two Dominant Powdery Mildew Resistance Genes Introgressed into a Hybrid Grape Population. *Scientia Horticulturae*, 126 (2010): 448–453.
- Kısmalı, İ. 1995. Ders Notları. E.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Bornova-İZMİR.
- Kosev, K., Simeonov, I., Ivanov, M., Nakov, Z. and Hvarleva, T. 2017. Phenotypic and Molecular Characterization of 18 Bulgarian Newly Bred Grapevine Varieties in Relation to the Irresistance to Downy Mildew. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31 (1): 68-74.
- Kozma, Jr, P. 2000. Winegrape Breeding for Fungus Disease Resistance. Proc. of VII. International Symp. on Grapevine Genetics and Breeding, 6-10 July 1998. *Acta Horticulturae*, Vol 2, No: 528 Montpellier, France.
- Kozma, Jr. P. and Dula, T. 2003. Inheritance of Resistance to Downy Mildew and Powdery Mildew of Hybrid Family *Muscadinia* x *V. vinifera* x *V. amurensis* x Franco-American hybrid. Proc. VIIIth Int’l. Congress on Grape. *Acta Hort.*, 603: 457-463.
- Kozma, P. Kiss, E., Hoffmann, S., Galbács, Zs. and Dula, T. 2009. Using the Powdery Mildew Resistant *Muscadinia rotundifolia* and *Vitis vinifera* ‘Kishmish vatkana’ for Breeding New Cultivars. *Acta Hort.* 827.
- Lodhi, M.A., Daly, M.J., Ye, G.N., Weeden, N.F. and Reisch, B.I. 1995. A Molecular Marker Based Linkage Map of *Vitis* Genome, 38:786–794.
- Luo, S. L., He, P. C., Zhou, P. and Zheng, X. Q. 2001. Identification of Molecular Genetic Markers Tightly Linked to Downy Mildew Resistant Genes in Grape. *Yichuanxuebao= Acta Genetica Sinica*, 28 (1): 76-82.
- Madini, A., Marino, R., Sevini, F., Di Gaspero, G., Velasco, R. and Grando, M.S. 2003. Mapping Defense-Related Genes and QTLs in *Vitis* Plant and Animal Genome XI Conference Abst. 11-15 January 2003, San Diego, CA, ABD.
- Marguerit, E., Boury, Christophe., Manicki, A., Donnart, Martine., Butterlin, G., Némorin, A., Wiedemann-Merdinoglu, S., Merdinoglu, D., Ollat, N and Decroocq, S. 2009. Genetic Dissection of Sex Determinism, Inflorescence Morphology and Downy Mildew Resistance in Grapevine. *Theor. Appl. Genet.*, 118:1261–1278.
- Marino, R., Sevini, F., Madini, A., Vecchione, A., Perlot, I., Della Serra, A., Versini, G., Velasco, R. and Grando, M. S. 2003. QTL Mapping for Disease Resistance and Fruit Quality in Grape. ISHS VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding. *Acta Horticulturae*, 603: 528-533.

- Molnar, S., Galbacs, Z., Halasz, G., Hoffman, S., Kiss, E., Kozma, P., Veres, A., Galli, Z., Szöke, A. and Heszky, L. 2007. Marker Assisted Selection For Powdery Mildew Resistance in a Grapevine Hybrid Family. *Vitis* 46 (4): 212–213.
- Moreira, F. M., Madini, A., Marino, R., Zulini, L., Stefanini, M., Velasco, R., Kozma, P. and Grando, M. S. 2011. Genetic Linkage Maps of Two Interspecific Grape Crosses (*Vitis* spp.) Used to Localize Quantitative Trait Loci for Downy Mildew Resistance. *Tree Genetics and Genomes*, 7 (1): 153-167.
- Merdinoğlu, D., Wiedeman-Merdinoğlu, S., Coste, P., Dumas, V., Haetty, S., Butterlin, G. and Greif, C. 2003. Genetic Analysis of Downy Mildew Resistance Derived from *Muscadinia rotundifolia*. *ISHS Acta: VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding. Horticulturae*. 603: 451-456.
- Ovesna, J., Polakova, K. and Leisova, L. 2002. DNA Analyses and their Applications in Plant Breeding. *Czech J. Genet. Plant Breed*, 38 (1): 29-40.
- Özcan, S., Gurel, E. ve Babaoğlu, M. 2001. Bitki Biyoteknolojisi (Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları). S. Ü. Vakfı Yayınları. 456s.
- Özer, C., Solak, E., Öztürk L. and Özer, N. 2012. The Development of Powdery Mildew-Tolerant Grape Cultivars with Standard Quality Characteristics by Crossbreeding. *African Journal of Agricultural Research*, 7: 1374-1380.
- Panstruga, R. and Kuhn, H. 2019. Mutual Interplay Between Phytopathogenic Powdery Mildew Fungi and Other Microorganisms. *Molecular Plant Pathology*, 20 (4), 463–470.
- Pauquet, L., Bouquet, A., This, P. and Adam-Blondon, A. F. 2001. Establishment of a Local Map of AFLP Markers around the Powdery Mildew Resistance Gene Run1 in Grapevine and Assessment of their Usefulness for Marker Assisted Selection. *Theor. Appl. Genet*, 103: 1201-1210.
- Reisch, B. 2001. Map-based Cloning of a Powdery Mildew Resistance Locus in *Vitis*. Report to the American Vineyard Foundation.
- Regner, F., Fradossi, A., Eisenheld, C., Stierschneider, I. and Haas, M. 2003. Genetic Analysis of a Segregating Population Derived by a Cross of Welschriesling x Sirius. *Proc. VIIIth Int'l. Congress on Grape. ActaHort.*, 603: 141-148.
- Riaz, S., Tenschler, A.C., Ramming, D.W. and Walker, M.A. 2011. Using a Limited Mapping Strategy to Identify Major QTLs For Resistance to Grapevine Powdery Mildew (*Erysiphe necator*) and their Use in Marker-Assisted Breeding. *Theor. Appl. Genet.*, 122: 1059–1073.
- Roberts, P.A. 2002. Concept and Consequences of Resistance in Plant Resistance to Parasitic Nematodes. *The Nature of Resistance in Plants to Nematodes. Phytopathology*, 55: 1159-1162.
- Saifert, L., Sánchez-Mora, F. D., Assumpção, W. T., Zanghelini, J. A., Giacometti, R., Novak, E. I., Vesco, L.L.D., Nodari, R.O., Eibach, R. and Welter, L. J. 2018. Marker-assisted Pyramiding of Resistance Loci to Grape Downy Mildew. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 53 (5): 602-610.

- Schwander, F., Eibach, R., Fechter, I., Hausmann, L., Zyprian, E and Topfer, R. 2012. Rpv10: A New Locus from the Asian *Vitis* Gene Pool for Pyramiding Downy Mildew Resistance Loci in Grapevine. *Theor. Appl. Genet.*, 124:163–176.
- Shidfar, M. 2014. Moleküler Markörlerin Bağcılıkta Külleme ve Mildiyö Hastalıklarına Dayanıklı Çeşit Islahında Marköre Dayalı Seleksiyon (Marker Assisted Selection-MAS) Amaçlı Kullanılması. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Shidfar, M., Akkurt, M., Atak, A., Ergül, A. and Söylemezoğlu, G. 2019. Evaluation of Grapevine Resistance to Downy and Powdery Mildew in Regent x Boğazkere Hybrid Population Segregating for Resistance Genes. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 18 (1): 181-188.
- Shirasawa, K., Monna, L., Kishitani, S. and Nishio, T. 2004. Single Nucleotide Polymorphisms in Randomly Selected Genes Among Japonica Rice (*Oryzasativa* L.) Varieties Identified by PCR-RF-SSCP. *DNA Research* 11: 275-283.
- Thomas, M.R. and Scott, N.S. 1993. Microsatellite Repeats in Grapevine Reveal DNA Polymorphisms When Analysed as Sequence-Tagged Sites (STSs). *Theoretical and Applied Genetics*, 86 (8): 985-990.
- Topaklı, F. ve Hepaksoy, S. 2019. Türkiye’deki Zeytin Çeşitlerinin Moleküler Analizlerinin Genel Değerlendirmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29 (2): 362-372.
- Uzun, İ., Özer, N., Akkurt, M., Özer, C. ve Aydın, S. 2018. Asmalarda Mildiyö Hastalığına Dayanıklılığın Marköre Dayalı Seleksiyon ve Fenotipleme Yardımıyla Erken Teşhisi. TÜBİTAK Proje No: 1150176; Antalya.
- Van Heerden, C.J., Burger, P., Vermeulen, A. and Prins, Renee. 2014. Detection of Downy and Powdery Mildew Resistance QTL in a ‘Regent’ × ‘Red Globe’ Population. *Euphytica*, 200 (2): 281-295.
- Venuti, S., Copetti, D., Foria, S., Falginella, L., and Hoffmann, S. 2013. Historical Introgression of the Downy Mildew Resistance Gene Rpv12 from the Asian Species *Vitis amurensis* Into Grapevine Varieties. *PLoS One*, 8 (4), e61228.
- Vezzulli, S., Dolzani, C., Nicolini, D., Bettinelli, P., Migliaro, D., Gratl, V., Stedile, T., Zatelli, A., Dallaserra, M., Clementi, S., Dorigatti, C., Velasco, R., Zulini, L. and Stefanini, M. 2019. Marker-assisted Breeding for Downy Mildew, Powdery Mildew and Phylloxera Resistance at FEM. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 13, p. 01002). EDP Sciences.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijnhabs, M., Van De Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995. AFLP: A New Technique for DNA Fingerprinting. *Nucleic Acid Res.* 21: 4407-4414.
- Weiland, J.J. and Yu, M.H. 2003. A Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) Marker Associated with Root-knot Nematode Resistance in Sugarbeet. *CropSci*, 43: 7213-7218.

- Welter, L.J., Göktürk- Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R. and Zyprian, M. E. 2007. Genetic Mapping and Localization of Quantitative Trait Loci Affecting Fungal Disease Resistance and Leaf Morphology in Grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Mol Breeding*, 20:359–374.
- Welter, L., Tisch, C., Kortekamp, A., Töpfer, R. and Zyprian, E. 2017. Powdery Mildew Responsive Genes of Resistant Grapevine Cultivar ‘Regent’. *Vitis*, 56: 181-188.
- Wiedemann-Merdinoğlu, S., Prado, E., Coste, P., Dumas, V., Butterlin, G., Bouquet, A. and Merdinoğlu, D. 2006. Genetic Analysis of Resistance to Downy Mildew from *Muscadinia rotundifolia*. 9th Int. Conf. Grape Genet. Breed., Udine, Italy.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nuc. Acids Res.* 18; 6531-6535.
- Yaşa, Z. 2005. Asma (*Vitis vinifera* L.)’da Önemli Vejetatif ve Generatif Karakterler ile Hastalıklara Dayanım Özelliklerine Yönelik Genom Haritalaması. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ye, G. N., Lodhi, M. A., Weeden, N. F. and Reisch, B. I. 1995. A RAPD Linkage Map for Grape and Identification of Major QTL for Powdery Mildew Resistance. BARD Project. Final BARD Report, US 1888-90: 54-67.
- Yıldırım, A. 2005. Molecular Marker Facilitated Pyramiding of Resistance Genes for Fungal Diseases of Wheat. Workshop on Genomics and Marker Assisted Selection (MAS) in Plant Breeding. 3-7 Ekim 2005 (Sunulu Bildiri), İzmir.
- Yıldırım, Z. 2016. Karadeniz ve Marmara Bölgelerinde Yetiştiriciliği Yapılan Farklı Asma Genotiplerinin Külleme ve Mildiyö Hastalıklarına Dayanıklılık Özelliklerinin Marköre Dayalı Seleksiyon Yöntemi ile Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Yıldırım, Z., Atak, A. and Akkurt, M. 2019. Determination of Downy and Powdery Mildew Resistance of some *Vitis* spp. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 34 (1): 15-24.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E. ve Erkoyuncu T.M. 2015. Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4 (2):1-12.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, J.A. and Labuda, D. 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, 20: 176–183.
- Zini, E., Dolzani, C., Stefanini, M., Gratl, V., Bettinelli, P., Nicolini, D., Betta, G., Dorigatti, C., Velasco, R., Letschka, T. and Vezzulli, S. 2019. R-Loci Arrangement Versus Downy and Powdery Mildew Resistance Level: A *Vitis* Hybrid Survey. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (14): 3526.
- Zyprian, E., Eibach, R., and Töpfer, R. 2003. Comparative Molecular Mapping of Fungal Disease Resistance and Agronomic Traits in Segregating Populations of

Grapevine. Plant and Animal Genome XI Conference Abst. 11-15 January 2003, San Diego, CA, ABD.

Zyprian, E., Eibach, R., Akkurt, M. and Töpfer, R. 2005. Genetic Mapping of SSR Markers in Grapevine for The Analysis of Disease Resistance and Flavor Compounds. Plant and Animal Genome XIII Conference Abst. San Diego. CA. ABD.

Zyprian, E., Ochßner, I., Schwander, F., Šimon, S., Hausmann, L., Bonow-Rex, M., Sanz, M., Grando, S.M., Wiedemann-Merdinoğlu, S., Merdinoğlu, D., Eibach, R. and Töpfer, R. 2016. Quantitative Trait Loci Affecting Pathogen Resistance and Ripening of Grapevines. *Molecular Genetics and Genomics*, 291 (4): 1573-1594.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İrem ŞENSES

Doğum Yeri : Eskişehir

Doğum Tarihi : 22.07.1989

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Eskişehir Fatih Anadolu Lisesi (2007)

Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü (2013)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (Eylül 2015-Ocak 2020)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Yerköy İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü (Temmuz 2015-Mart 2016)

Yozgat İl Tarım ve Orman Müdürlüğü (Mart 2016-Eylül 2016)

Şereflikoçhisar İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü (Eylül 2016-Eylül 2018)

Gölbaşı İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü (Eylül 2018-devam)