



Malus kirghisorum Türüne Ait Elma Genotiplerinde Karaleke Hastalığına Toleransın Moleküler Markırlar ile Belirlenmesi

Araştırma Makalesi/Research Article

Atıf İçin: Uzun, A., Koçyiğit, Ş., Yılmaz, K U. (2023). Malus kirghisorum Türüne Ait Elma Genotiplerinde Karaleke Hastalığına Toleransın Moleküler Markırlar ile Belirlenmesi. Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi, 6(2):74-78.

To Cite: Uzun, A., Koçyiğit, Ş., Yılmaz, K U. (2023). Determination of Tolerance to Scab Disease in Apple Genotypes of Malus kirghisorum Species using Molecular Markers. Journal of Erciyes Agriculture and Animal Science, 6(2):74-78.

Aydın UZUN¹, Şeyma KOÇYİĞİT¹, Kadir Uğurtan YILMAZ²

¹Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Kayseri, Türkiye

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

*sorumlu yazar: aydinuzun@erciyes.edu.tr

Aydın UZUN ORCID ID: 0000-0001-9496-0640, Şeyma KOÇYİĞİT ORCID ID: 0000-0003-0309-2118,

Kadir Uğurtan YILMAZ ORCID ID: 0000-0001-7897-3898

Yayın Bilgisi

Geliş Tarihi: 31.09.2023

Revizyon Tarihi: 08.11.2023

Kabul Tarihi: 01.12.2023

doi: 10.55257/ethabd.1383793

Anahtar Kelimeler

Biyotik stres, Malus kirghisorum, Orta Asya, Venturia inaequalis

Keywords

Biotic stress, Malus, Central Asia, Venturia inaequalis

Özet

Elma üretiminde verim ve meyve kalitesini olumsuz etkileyen, biyotik ve abiyotik stres faktörleri bulunmaktadır. Karaleke (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) hastalığı bu noktada, en önemli biyotik stres faktörlerinden birisidir. Hastalığa karşı en kesin çözüm, dayanıklı elma çeşitlerinin geliştirilmesi ve kullanılmasıdır. Bu kapsamda karalekeye dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi için, hastalığa dayanıklı ebeveynlerin olması gereklidir. Bu çalışmada, Kırgızistan orijinli *M. kirghisorum* elma genotiplerinin moleküler markırlar ile karalekeye toleranslık durumları incelenmiştir. Sekiz karaleke dayanıklılık geni ile ilişkili toplam 12 adet markırla çalışılmıştır. Genotiplerde, bu markırlardan 2 ile 8 arasında bant elde edilmiştir. Genotipler arasında en fazla, dayanıklılık geni ile ilişkili markır için bant üreten MK112 genotipi iken, en az bant üreten MK114 ve MK118 olmuştur. Çalışma, *M. kirghisorum* genotipleri arasında karaleke toleransı bakımından yüksek düzeyde bir varyasyon olduğunu ortaya koymaktadır. Ortaya konulan sonuçlar, bu türdeki genotiplerin hastalık toleransları ve muhtemel ıslah materyali olarak kullanılabilme potansiyelleri konusunda bilgi vermektedir.

Determination of Tolerance to Scab Disease in Apple Genotypes of Malus kirghisorum Species using Molecular Markers

Abstract

There are biotic and abiotic stress factors in apple production that negatively affect yield and fruit quality. Scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) disease is one of the most important biotic stress factors in this regard. The best solution against the disease is the development and use of resistant apple cultivars. In this context, for developing scab-resistant cultivars, it is necessary to have disease-resistant parents. In this study, the tolerance to scab of *M. kirghisorum* apple genotypes originating from Kyrgyzstan was examined using molecular markers. A total of 12 markers associated with eight scab resistance genes were studied. Between 2 and 8 bands of these markers were obtained in the genotypes. Among the genotypes, MK112 genotype produced the most bands for the marker associated with the resistance gene, while MK114 and MK118 produced the least bands. The study reveals a high level of variation in scab tolerance among *M. kirghisorum* genotypes. The results provided prominent information about the disease tolerance of genotypes in this species and their potential to be used as breeding material.

1. GİRİŞ

Elma (*Malus domestica* Borkh.) yumuşak çekirdekli meyveler içerisinde dünyada en fazla üretimi yapılan türdür. Dünya üretimi 93 milyon tondan fazladır. Türkiye önemli bir üretici ülke konumunda olup, yıllık üretim 4.5 milyon ton civarındadır (FAO, 2021).

Orta Asya, elmanın önemli bir anavatan bölgesi olup çeşitlilik düzeyi yüksektir. Kırgızistan, Orta Asya'da elma için önemli bölgelerden biridir. Ancak bu genetik kaynaklarda özellikle insan kaynaklı kayıplar olduğu ve bu zengin çeşitliliğin gelecekte yok olabileceği üzerinde durulmaktadır (Dzunusova, 2008). Wilson ve ark. (2019), Orta Asya'daki karışık meyve ormanlarının son 50 yılda dramatik bir şekilde azaldığını ve sadece %5-10 civarında doğal hali ile korunabildiğini belirtmişlerdir. Karışık meyve ormanlarının en yüksek düzeyde Kırgızistan'da kalabildiği vurgulanmıştır (Djanibekov ve ark., 2016).

Kırgızistan'da kültürü yapılan *Malus domestica* yanında, *M. kirghisorum* da doğal olarak yetişen elma türlerinden biridir. Bu tür daha çok güney Kırgızistan'da 800-2000 m yükseltilerde diğer meyve türleri ile karışık olarak bulunmaktadır. Kırgızistan'da bulunan doğal elma populasyonları içerisinde meyve iriliği, rengi, olgunluk zamanı ile ilgili geniş bir varyasyon olduğu bildirilmiş ve bunlardan bazılarının meyve kalitesi olarak kültür elmalarına yakın düzeyde olduğu vurgulanmıştır. (Volk ve ark., 2009; Kubanichbek Turgunbaev, 2013, kişisel görüşme).

Bu bölgedeki elma materyallerinin, stres faktörlerine dayanıklılık, meyve özellikleri konularında katkı sunacak önemli bir kaynak olduğu belirtilmiştir (Forsline ve ark., 2010). Elma yetiştiriciliğinde problem oluşturan biyotik ve abiyotik kökenli birçok stres faktörü bulunmaktadır. Bunlardan biri de karaleke (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) hastalığıdır. Kültürel ve kimyasal mücadelesi zor olan

bu hastalığa karşı her yıl yoğun şekilde kimyasallar kullanılmaktadır. Böylece insan ve çevre sağlığı problemlerinin yanında, etmenin ilaçlara direnç kazanması gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Kimyasal kullanımını azaltmanın en önemli yolu ise dayanıklı çeşit ıslahı olarak belirtilmektedir (Kaçal ve Yıldırım, 2011). Bu çalışmada, Kırgızistan orijinli *M. kirghisorum* genotiplerinin elma karaleke hastalığına tolerans durumlarının moleküler markırlar yardımıyla ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Kırgızistan'ın farklı bölgelerine ait 18 adet *M. kirghisorum* genotipi çalışmada materyal olarak kullanılmıştır. Bunların yanında *M. domestica* türüne ait iki adet standart çeşit ("Demir" ve "Jonathan") çalışmada yer almıştır. DNA izolasyonu bitkilerden alınan genç yapraklardan Doyle ve Doyle (1990) tarafından bildirilen CTAB yöntemine göre yapılmıştır.

Çalışmada, genotiplerin karaleke hastalığına tolerans durumlarını belirlemek amacıyla, sekiz toleranslık geni ile ilişkili, SSR, SCAR ve RAPD markırlarına ait toplam 12 adet primer kullanılmıştır (Çizelge 1). Bu markırların PCR bileşenleri ve PCR döngü programları, Uzun ve ark. (2023) tarafından bildirilen yöntemlere göre yapılmıştır.

PCR ürünlerine 3µl yükleme bufferi eklenmiştir. Elde edilen karışım %2,5 agaroz jelde 2 saat boyunca 115 V elektrik akımı altında yürütülmüştür. Tüm elektroforez işlemlerinde agaroz jelle 5µl 100bp DNA ladder yüklenmiştir. Elektroforez işleminin ardından jeller görüntüleme cihazına alınarak jel görüntüleri UV altında bilgisayara alınarak bantlar kaydedilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan, toleranslık genleri, bu genlerle ilişkili markırlar ile bunların bağlanma sıcaklıkları (Co) ve bant uzunlukları (bp).

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan, toleranslık genleri, bu genlerle ilişkili markırlar ile bunların bağlanma sıcaklıkları (Co) ve bant uzunlukları (bp).

Dayanıklılık Geni		Markır Tipi	Markır İsmi	Annealing Sic. (C°)	Bant Uzunluğu (bp)	Kaynak
Güncel	Önceki					
<i>Rvi1</i>	<i>Vg</i>	SSR	CH01d03	50	136-160	Leibhard, (2003)
<i>Rvi4</i>	<i>Vh4</i>	SCAR	S22	55	1300	Hemmat et al., (2002)
<i>Rvi5</i>	<i>Vm</i>	SSR	Hi07h02	66	230-277	Patocchi et al., (2009)
<i>Rvi6</i>	<i>Vf</i>	SSR	CH-Vf1	64	166-180	Patocchi et al., (2009)
		SCAR	AL-07	60	466-724	Tartarini et al., (1999)
		SCAR	ACS-9	63	469	Kaymak et al., (2013)
<i>Rvi8</i>	<i>Vh2/Vh8</i>	SCAR	OPL19	62	430	Patocchi et al., (2009)
<i>Rvi11</i>	<i>Vbj</i>	RAPD	OPB08	41	710	Gygax et al., (2004)
<i>Rvi12</i>	<i>Vb</i>	SSR	Hi02d05	62	151-191	Padmarasu et al., (2014)
		SSR	Hi07f01	60	207-210	Patocchi et al., (2009)
		RAPD	B220	38	700	Erdin et al., (2006)
<i>Rvi15</i>	<i>Vr2</i>	RAPD	OPK14	35	750	Kaymak et al., (2016)

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada kullanılan *M. kirghisorum* genotipleri arasında karaleke toleransı bakımından önemli varyasyonlar belirlenmiştir. On sekiz *M. kirghisorum* ve 2 adet *M. domestica* türüne ait materyaller 2-8 arasında markıra ait bant üretmiştir (Çizelge 2). Öte yandan, Uzun ve ark. (2023) yaptıkları çalışmada, farklı elma türlerine ait genotiplerin 1-9 arasında markırda bant ürettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan 20 genotipin en az biri, bir markırda bant üretmiş olup, her markır için en az bir bant elde edilmiştir. En fazla markır için bant üreten genotip MK112 nolu genotip olup 8 markırda bant vermiştir. Bu genotip toplam 5 toleranslık genine ait markırda bant vermiş olup, Rvi4, Rvi8 ve Rvi15 genleri için bant vermemiştir. Moleküler markır

sonuçlarına göre bu genotip karalekeye en tolerant genotip olarak saptanmıştır. Bunun yanında MK108 ve MK111 nolu genotipler ise 7 markırda bant üretmişlerdir. Öte yandan, MK 114 ve MK118 nolu *M. kirghisorum* genotipi ile MD119 nolu *M. domestica* 'Jonathan' elması sadece 2 markır için bant üretmiş olup, hastalığa en hassas olabilecek elma materyalleri olarak belirlenmiştir. Bir diğer standart çeşit olan 'Demir' elma çeşidi ise 3 markırda bant üretmiştir. 'Jonathan' çeşidi karalekeye hassas çeşitlerden biri olarak belirtilmiştir (Belete ve Boyraz, 2017). Yine doğal inokulasyon koşullarında 'Jonathan' ve 'Demir' çeşitleri, hastalığa hassas grupta yer almışlardır (Kaymak ve ark., 2015). Bu iki çeşit, çalışmamızda en az sayıda markır için bant üreten materyallerden olup, elde edilen sonuçlar diğer çalışmalarla uyumludur.

Çizelge 2. İncelenen elma genotipleri için karaleke dayanımı ile ilgili farklı genlerle ilişkili markırlar için ürettikleri bant sayıları

G.N.	Türler	Rvi1	Rvi4	Rvi5	Rvi6			Rvi8	Rvi11	Rvi12			Rvi15	TB
		CH01d03	S22	Hi07h02	CH-Vf1	AL07	ACS-9	OPL19	OPB08	Hi02d05	Hi07f01	B220	OPK14	
MK101	<i>M. kirghisorum</i>	+		+		+	+	+	+				+	7
MK102	<i>M. kirghisorum</i>		+	+		+		+	+					5
MK103	<i>M. kirghisorum</i>			+		+	+	+	+					5
MK104	<i>M. kirghisorum</i>			+		+		+	+					4
MK105	<i>M. kirghisorum</i>			+			+	+	+					4
MK106	<i>M. kirghisorum</i>			+		+	+	+	+					5
MK107	<i>M. kirghisorum</i>	+		+		+	+	+				+		6
MK108	<i>M. kirghisorum</i>		+	+		+	+	+	+				+	7
MK109	<i>M. kirghisorum</i>			+		+	+	+	+			+		6
MK110	<i>M. kirghisorum</i>			+		+			+					3
MK111	<i>M. kirghisorum</i>			+	+	+	+		+	+	+			7
MK112	<i>M. kirghisorum</i>	+		+	+	+	+		+		+	+		8
MK113	<i>M. kirghisorum</i>			+		+		+	+					4
MK114	<i>M. kirghisorum</i>					+	+							2
MK115	<i>M. kirghisorum</i>			+			+	+	+					4
MK116	<i>M. kirghisorum</i>			+		+	+	+	+				+	6
MK117	<i>M. kirghisorum</i>			+			+		+					3
MK118	<i>M. kirghisorum</i>					+	+							2
MD119	<i>Malus domestica</i> 'Jonathan'			+		+								2
MD120	<i>M. domestica</i> 'Demir'			+		+			+					3

TB: Toplam Bant Sayısı

Rvi5 toleranslık geni ile ilişkili olan Hi07h02 SSR markırını kullanılan 20 materyalden 18 tanesinde, Rvi6 geni ile ilişkili AL-07 SCAR markırını 17 genotipte bant vermiştir. Bu iki markır hassas olarak belirtilen 'Jonathan' ve 'Demir' elma çeşitlerinde de bant üretmişlerdir. Bu durum, bir genotipin, bir toleranslık geni ile ilişkili markır için bant üretmesinin, genotipin hastalığa tolerans olduğu anlamına geleceğini göstermektedir. Zira, çok sayıda allel bir arada

toleranslığı sağlamakta olup, bir veya birkaç allel toleranslık için yeterli olamayabilecektir (Uzun ve ark., 2023). Benzer şekilde, daha önce yapılan bir çalışmada (Uzun ve ark., 2023) çalışmada 'Gala' ve 'Granny Smith' çeşitleri için Hi07h02 markırını bant elde edilmiştir. Ancak farklı araştırmacılar tarafından 'bunlar hastalığa hassas çeşitler olarak bildirilmiştir (Belete ve Boyraz, 2017; Papp ve ark., 2020). Choupannejad ve ark., (2018) Rvi2 genini karalekeye

hassas olan ‘Golab’ ve ‘Gala’ çeşitlerinde de belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu gen tarafından ifade edilen dayanıklılığın ayırt edici olmadığını ve önemli olamayacağını vurgulamışlardır. Diğer bir araştırmada ise, Rvi1 toleranslık geni taşıyan ‘Golden Delicious’ ve Rvi4 toleranslık genini taşıyan SR33t239 elma genotipi, orta veya ortanın üzerinde hastalık semptomu göstermiştir (Papp ve ark., 2020). Çalışmamızda Rvi11 geni ile ilişkili OPB08 markırını ise 16 genotip için bant üretmiştir.

Öte yandan, bazı dayanıklılık genleri ile ilişkili markırlar, çalışmada kullanılan genotiplerin çok azında bant vermiştir. Rvi12 geni ile ilişkili Hi02d05 SSR markırını MK111 nolu genotipte bant vermiştir. Bu genotip 7 bant ile toplamda en fazla bant üreten genotiplerden olup, nadir bantları taşımasından dolayı ayrıca değerli bulunmuştur. Bunun yanında ikişer genotipte bant üreten markırlar, Rvi4 geni ile ilişkili S22 SCAR markırını (MK102 ve MK108) ve Rvi12 geni ile ilişkili Hi07f01 SSR markırını (MK 111 ve MK 112) olmuştur. Ek olarak, CH01d03, B220 ve OPK 14 markırları ise 3 ‘er adet genotipte bant vermişler ve yine nadir sayılabilecek markırlar arasına girmişlerdir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, Kırgızistan orijinli ve doğal olarak yetişen yabani elma türlerinden biri olan, M. kirghisorum türünün karaleke hastalığına tolerans bakımından önemli varyasyonlar barındırdığını ortaya koymaktadır. Özellikle, çok sayıda toleranslık geni ile ilişkili markırları taşıyan genotipler, hastalığa dayanıklı çeşit ıslahı çalışmaları için önemli bir kaynak niteliğindedir. Çalışmamızda 7-8 farklı markır için bant üreten genotiplerin (MK112, MK101, MK108, MK111) diğer meyve özelliklerinin de belirlenmesi ve ıslah amaçlı kullanılabilecek potansiyellerinin incelenmesi faydalı olacaktır. Bu çalışmada moleküler markırlar kullanılmış olup, ayrıca biyolojik inokülasyon çalışmalarının yapılması, hastalık toleransı konusunda daha ayrıntılı bilgiler elde edilmesi için önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışmaya katkılarından dolayı Doç. Dr. Hasan PINAR, Dr. Merve Arefe YİĞİT, Nureddin Furkan ÇİFTÇİ ve Şule ALKAN’ a teşekkür ederiz. Bu yayına konu projeyi (Proje Kodu: FYL-2020-10206) destekleyerek, çalışmaların yürütülmesini sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine çok teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Belete, T., Boyraz, B., 2017. Critical Review on Apple Scab (*Venturia inaequalis*) Biology, Epidemiology, Economic Importance, Management and Defense Mechanisms to the Causal Agent. *Journal of Plant Physiology and Pathology* 5: 2.
- Choupannejad, R., Sharifnabi, B., Bahar, M., Talebi, M., 2018. Searching for resistance genes to *Venturia inaequalis* in wild and domestic apples in Iran. *Scientia Horticulturae* 232: 107–111.
- Djanibekov, U., Villamor, G.B., Dzhakypbekova, K., Chamberlain, J., Xu, J., 2016. Adoption of sustainable land uses in post-Soviet Central Asia: The case for agroforestry. *Sustainability (Switzerland)*, 8:1-16.
- Doyle, J.J., Doyle J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13–15.
- Dzunusova, M., Apasov, R., Mammadov, A., 2008. National Report on the State of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture in Kyrgyzstan, submitted by KR to the Second Report on the State of World’s Plant Genetic Resources for Food and Agriculture, FAO.
- Erdin, N., Tartarini, S., Broggini, G., Gennari, F., Sansavini, S., Gessler, C., Patocchi, A., 2006. Mapping of the apple scab-resistance gene *Vb*. *Genome* 49(10): 1238-1245. .
- FAO., 2021. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Forsline, P.L, Aldwinckle, H.S, Dickson, E.E., Luby, J.J., Hokanson, S.C., 2010. Collection, maintenance, characterization, and utilization of wild apples of central Asia. In: Janick J, Forsline PhL, Dickson E.E, Thompson M, Way R.D, (Eds). *Horticultural Reviews: wild apple and fruit trees of Central Asia*, vol 29. Wiley, New York, pp 1–61.
- Gygax, M., Gianfranceschi L., Liebhard R., Kellerhals M., Gessler C., Patocchi A., 2004. Molecular markers linked to the apple scab resistance gene *Vbj* derived from *Malus baccata* jackii. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 1702–1709. .
- Hemmat, M., Brown S.K., Weeden, N.F., 2002. Tagging and mapping scab resistance genes from R12740-7A apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127:365–370. .
- Kaçal, E., Yıldırım, F.A., 2011. Karalekeye Dayanıklı Elma Çeşit Islahındaki Gelişmeler (Advances in Breeding of Scab Resistant Apple Varieties) *Derim* 28(2): 14-26
- Kaymak, S., İşçi, M., Özgön, Ş., Özgönen, H., 2015. Determination of reaction levels of some apple genetic resources in Turkey to Apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.). *Bitki Koruma Bülteni* 56(2): 227 – 241.
- Kaymak S., Boyraz N., Daniels J., 2016. Molecular markers to evaluate genetic diversity among *Venturia inaequalis* isolates obtained from apple plantations in Isparta Province. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 40: 489-498. .
- Kaymak S., Kaçal E., Öztürk, Y., 2013. Screening breeding apple progenies with *Vf* apple scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) disease resistance gene specific molecular markers. *IOBC-WPRS Bulletin* 91: 361-365.
- Liebhard R.X., 2003. Genetic dissection of physiological traits and scab resistance in apple (*Malus x domestica* (Borkh.)) into quantitative trait loci using

- an SSR based genetic linkage map. PhD Thesis, Swiss Federal Institute of Technology, Zürich.
- Padmarasu, S., Sargent D.J., Jaensch M., Kellerhals M., Tartarini, S., Velasco, R., Troglio, M., Patocchi, A., 2014. Fine-mapping of the apple scab resistance locus *Rvi12 (Vb)* derived from 'Hansen's baccata# 2'. *Molecular Breeding* 34: 2119-2129. .
- Papp, D., Gao, L., Thapa, R., Olmstead, D., Khan, A., 2020. Field apple scab susceptibility of a diverse *Malus* germplasm collection identifies potential sources of resistance for apple breeding. *CABI Agriculture and Bioscience* 1: 16. .
- Patocchi, A., Frei, A., Frey, J., Kellerhals, M., 2009. Towards improvement of marker assisted selection of apple scab resistant cultivars: *Venturia inaequalis* virulence surveys and standardization of molecular marker alleles associated with resistance genes. *Molecular Breeding* 24: 337-347..
- Tartarini, S., Gianfranceschi, L., Sansavini, S., Gessler, C., 1999. Development of reliable PCR markers for the selection of the *Vf* gene conferring scab resistance in apple. *Plant Breeding* 118: 183-186. .
- Uzun, A., Koçyiğit, Ş., Pınar, H., Turgunbaev, K., Kaymak, S., 2023. Selection of Central Asian Apple Species for Scab Resistance Genes using Molecular Markers. *Zemdirbyste-Agriculture* 110 (3): 245-254.
- Volk, G.M., Richards, C.M., Henk, A.D., Reiley, A., Miller, D.D., Forsline L.P., 2009. Novel diversity identified in a wild apple population from the Kyrgyz Republic. *Hortscience* 44: 516-518
- Wilson B., Mills M., Kulikov M., Clubbe C., 2019. The future of walnut-fruit forests in Kyrgyzstan and the status of the iconic Endangered apple *Malus niedzwetzkyana*. *Oryx* 533: 415-423.