



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/yyufbed>



Araştırma Makalesi

Narince x Regent Melezi F1 Genotiplerinin Mildiyö ve Külleme Hastalıklarına Dayanıklılığının Moleküler Markörlerle Belirlenmesi

İlknur POLAT^{*1,2}, Esra SULUHAN¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 07059, Antalya, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi, Elmalı Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, 07700, Antalya, Türkiye

İlknur POLAT, ORCID No: 0000-0001-9841-847X, Esra SULUHAN, ORCID No: 0009-0004-4682-0941

*Sorumlu yazar e-posta: ilknurpolat@akdeniz.edu.tr

Makale Bilgileri

Geliş: 01.04.2024
Kabul: 28.06.2024
Online Ağustos 2024

DOI:10.53433/yyufbed.1462684

Anahtar Kelimeler

Bağcılık,
Dayanıklılıkla ilişkili genler,
Külleme,
MAS,
Mildiyö,
PCR

Öz: Asma yetiştiriciliğinde hastalıklar bakımından en önemli sorun, fungal hastalıklardan olan külleme (*Uncinula necator*) ve mildiyö (*Plasmopara viticola*) ile mücadeledir. Hastalıklarla mücadelede en etkin yöntemlerden birisi dayanıklı çeşitlerle yetiştiricilik yapmaktır. İslah çalışmalarında moleküler yöntemlerle seleksiyon yapmak hem zaman hem de güvenilirlik açısından önemlidir. Bu çalışmada, Narince x Regent melezlemesi sonucu elde edilen F1 genotiplerinde mildiyö ve külleme hastalıklarına dayanıklılık/duyarlılık durumları moleküler markörler kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada ebeveyn olarak Narince (♀), Regent (♂) ve 31 adet F1 genotipi olmak üzere toplamda 33 adet genotipte yapılan moleküler testlemelerde, mildiyöye dayanıklılık ile ilişkili Rpv3 geni ile bağlantılı UDV737 ve GF18-06 primelleriyle yapılan analizlerde 21 genotip dayanıklı olarak tespit edilmiştir. Küllemeye dayanıklılıkta Ren9-Ren3 genleriyle bağlantılı ScORA7 ve GF15-66 primerleriyle yapılan analizlerde 18 adet F1 genotip dayanıklı bulunmuştur. Bununla birlikte, her iki hastalığa da dayanıklı 14 genotip tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan markörler, ıslah çalışmasında piramitleme için önemli faydalar sağlamıştır.

Determination of Resistance to Mildew and Powdery Mildew Diseases of Narince x Regent Cross F1 Genotypes by Molecular Markers

Article Info

Received: 01.04.2024
Accepted: 28.06.2024
Online August 2024

DOI:10.53433/yyufbed.1462684

Keywords

Downy mildew,
MAS,
PCR,
Powdery mildew,
Resistance related genes,
Viticulture

Abstract: The most important problem in grapevine cultivation is the control of fungal diseases such as powdery mildew (*Uncinula necator*) and downy mildew (*Plasmopara viticola*). One of the most effective methods in the defence against diseases is cultivation with resistant varieties. In breeding studies, selection by molecular methods is important in terms of both time and reliability. In this study, the resistance/sensitivity of F1 genotypes obtained from Narince x Regent crosses to mildew and powdery mildew diseases were investigated by using molecular markers. In the molecular tests performed on a total of 33 genotypes including Narince (♀), Regent (♂) as parents and 31 F1 genotypes in the study, 21 genotypes were found to be resistant in the analyses performed with UDV737 and GF18-06 primers linked to the Rpv3 gene associated with resistance to mildew. In the analyses performed with ScORA7 and GF15-66 primers linked to Ren9-Ren3 gene associated with powdery mildew resistance, 18 F1 genotypes were found resistant. However, 14 genotypes resistant to both diseases were identified. The markers we used have provided significant benefits for pyramiding in breeding.

1. Giriş

Asma (*Vitis vinifera* L.), dünyanın en eski kültür bitkilerinden birisidir. Avrupa kıtasına özgü olan *V. vinifera* L. türü, insanlık tarihi ile birlikte kıtalar arasında yayılmış ve farklı iklim koşullarına yüksek uyum yeteneği sayesinde bağcılık kültürünün zenginleşmesinde büyük rol oynamıştır (Uzun, 2015; Kunter & Keskin, 2018; Sucu & Yağcı, 2020).

TÜİK Bitkisel Üretim Verilerine göre Türkiye’de meyveler, içecek ve baharat bitkileri içerisinde üzüm üretim miktarı incelendiğinde 2022 yılında 4.165.000 ton, 2023 yılında ise 3.400.000 ton üretim yapılmıştır. Bağcılığın ve üzümde elde edilen ürünlerin Türkiye ekonomisinde önemli bir yeri vardır. 2022 yılında üzüm üretim miktarı, toplam meyveler, içecek ve baharat bitkileri üretim miktarı içerisindeki oranı %15.5 olmuştur. 2023 yılı üzüm üretim miktarı bir önceki yıla göre %18.4 azalmıştır (TÜİK, 2024). Üretim miktarındaki bu azalmanın en büyük sebeplerinden birisi üzümde üretim dengesizliğine ve kalite kaybına neden olan mildiyö hastalığıdır (Anonim, 2024).

Bağcılıkta üretimi sınırlandıran en önemli hastalıklardan *Plasmopora viticola* (Berk. Et Curt) Berl et de Toni’ nin neden olduğu mildiyödür (Akçalı & Demiray, 2020). *Plasmopora viticola* Kuzey Amerika ve Avrupa’da en tahripkâr üzüm patojeni olarak kabul edilmektedir. İlk olarak 1834 yılında Amerika’da görülen bağ mildiyösü daha sonra Avrupa’da Fransa’daki bağlarda 1878 yılında görülmüş ve 1882 yılına kadar Avrupa’nın pek çok ülkesine yayılmıştır (Gargin & Öztürk, 2013). Hastalık yaprakların üzerinde yuvarlak ve yağ lekesi görünümünde belirti gösterir, yaprakların alt kısmında beyazımsı bir tabaka oluşur ilerleyen dönemde tüm yaprağı kaplayabilir. Yağmurlu havalardan sonra yaprakların nemli kalması veya çiğ görülen zamanlarda hastalık salgına dönüşür. Mildiyö hastalığı bulaştığında salkımlarda uçtan çürümeye neden olarak verim ve kalitede düşüslere neden olur bu yüzden mildiyö mücadelesi çiçeklenme ile koruk dönemi öncesinde titizlikle yapılmalıdır (Uzun, 2015).

Külleme (*Uncinula necator* (Schw.) Burr.) hastalığına neden olan obligat hastalık etmeni, sıcak ve kurak iklim koşullarında her yıl görülür. Gündüzleri sıcak olan ve akşamları serin olan yerlerde hastalığın görülme sıklığı artar. Hastalık omcanın tüm yeşil aksamında etkili olur. Bulaştığı aksamlarda grimsi, beyaz tozlu, pudramsı bir görüntüye sebep olur. Hastalığın erken dönemlerinde asma yapraklarının üst yüzeyinde yağ lekesine benzeyen lekeler görülür. Koruk döneminde hastalığa yakalanan omcadaki tanelerin gelişimleri olumsuz etkilenir (Anonim, 2008).

Asmanın meyvesi kadar yaprakları da ekonomik değere sahiptir. Özellikle ülkemizde son yıllarda asma yaprağı taze olarak pazarlandığı gibi salamuralık olarak da pazar değeri yüksek bir ürün haline gelmiştir (Cangi & Yağcı, 2017). Sultani Çekirdeksiz, Narince (Cangi ve ark., 2011) ve Yapıncak (Ertürk, 2009) yaprakları en fazla değerlendirilen çeşitlerdendir. Bununla birlikte yapraklarda pestisit kalıntısı önemli bir sorundur. Ertürk (2009), çalışmasında külleme, mildiyö gibi hastalıklarda kullanılan fungusitlerin salamura ve taze yaprak olarak kullanılan Yapıncak üzüm çeşidindeki kalıntı miktarlarını incelemiştir. Üzüm yetiştiriciliğini kısıtlayan külleme ve mildiyö hastalıklarına karşı uygulanabilecek entegre mücadele yöntemlerinin insan sağlığına zararlarını ortaya koymuştur.

Bütün bitkilerde olduğu gibi üzümde de hastalık ve zararlılar ile çevre koşullarına dayanıklılık elde etmek, doğal seleksiyonla ortaya çıkmış bireylerin korunması, bunlardan daha üstün özellikleri taşıyanların ortaya çıkarılması ya da istenen özelliklerin bir bitkide toplanması ancak belirli ıslah yöntemlerini uygulamakla elde edilebilir (İşçi, 2008). Teknolojinin gelişmesi ile biyoteknolojik yöntemlerin asma ıslahında kullanılmaya başlanması ve asma yetiştiriciliğinde karşılaşılan olumsuz sonuçlar doğuran mantari hastalıklara dayanıklılığın genetik tanımlanmasına yönelik araştırmalara hız kazandırmıştır (Dalbó ve ark., 2001; Luo ve ark., 2001; Pauquet ve ark., 2001; Fischer ve ark., 2004; Akkurt ve ark., 2007). Moleküler çalışmalar çeşitlerin hastalığa dayanım sağlayan genlerin mevcut olup olmadığı konusunda bilgi vermesinin yanında dayanıklılık derecesini belirlemede yetersiz kalmakta ve fenotipik gözlemlerle desteklenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Çeşidin hastalığa dayanım durumu ve dayanım derecesi konusunda da daha sağlıklı sonuçlar elde edilmesi ve klasik ıslahta yaşanacak zaman kayıplarının önlenmesine yardımcı olacaktır (Uzun ve ark., 2018).

Bağda hastalıklara dayanıklılık çalışmaları hastalıklara dayanıklı yeni çeşit elde edilmesi ve elde edilen çeşitlerde külleme için dayanıklılıkla ilişkili 9 gen (Pauquet ve ark., 2001; Akkurt ve ark., 2007) ve mildiyö için 31 genin varlığının tespit edilmesi (Merdinoglu ve ark., 2003; Fischer ve ark., 2004; Welter ve ark., 2007; Bellin ve ark., 2009; Marguerit ve ark., 2009; Moreira ve ark., 2011; Schwander ve ark., 2012; Venuti ve ark., 2013; Sargolzaei ve ark., 2020; Zendler ve ark., 2020) önem kazanmıştır. Hastalıklarla ilişkili genler, dayanıklılık kaynakları olan asma çeşit/türlere ve buldukları

kromozomlara göre değişmektedir. Regent x Lemberger çeşidinin melezlemesiyle oluşturulan haritalama popülasyonunda, mildiyöye dayanıklılıkla ilişkili Rpv3, Rpv4 ve Rpv11 genlerin, sırasıyla 18, 4 ve 5 numaralı kromozom üstünde olduğu bulunmuştur (Fischer ve ark., 2004; Welter ve ark., 2007; Bellin ve ark., 2009; Uzun ve ark., 2018).

Bu çalışmada Narince x Regent melezlemelerinden elde edilen 33 adet F1 genotiplerin külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılıklarının moleküler düzeyde tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan toplam 33 adet bitkisel materyal, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi bağ parsellerinde bulunan Narince, Regent ve Narince x Regent melezlemesinden elde edilen F1 genotipleridir. 2021 yılında tamamlanan “Salamuralık Yapraklı ve Mildiyö Hastalığına Dayanıklı Yeni Üzüm Çeşitleri Geliştirme” isimli ve 1180226 proje numaralı 1001-TÜBİTAK tarafından desteklenen proje sonucu elde edilmiştir. Ayrıca, klasik olarak yapılan testlemelerde mildiyö hastalığına karşı dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (Uzun & Özer, 2021). Çalışmada kullanılan bitkisel materyallerin özellikleri şöyledir:

Ana ebeveyn Narince; beyaz-sarı renkte, çekirdekli, yaprakları seyrek tüylü ve beşgen yapıda bir üzüm çeşididir. Tokat yöresinde yapılan bağcılıkta üretim değerleri ile ve farklı kullanım alanlarının olması yönüyle ön plana çıkmaktadır. Kullanım alanı bakımından yaprakları ülkemizde genellikle salamura yapımında kullanılsa da elde edilen üzümler şıra, şarap yapımı ve sofralık tüketiminde de ön plandadır. Narince üzüm çeşidi mildiyö ve külleme hastalıklarına karşı oldukça hassastır (Cangi & Yağcı, 2017; Uzun & Özer, 2021).

Baba ebeveyn Regent; bağcılıktaki önemli hastalıklara (külleme, mildiyö ve kurşuni küf) olan yüksek dayanımı ile ön plana çıkmaktadır. Ayrıca, yaprakları tüysüz ve az dilimlidir (Uzun & Özer, 2021).

2.2. Yöntem

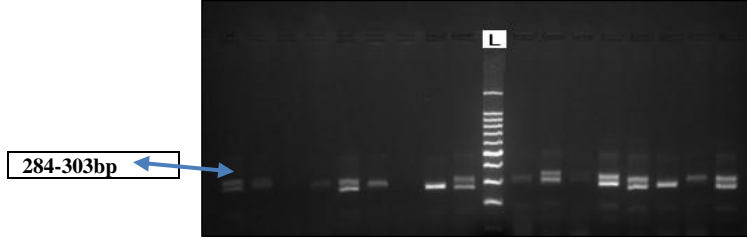
Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi bağ parsellerinden 2019 yılında dikilen ve kordon terbiye sistemi uygulanmış olan 33 adet asmadan alınan genç yaprak örnekleri, Bahçe Bitkileri Moleküler Biyoloji Laboratuvarında CTAB metodu (Doyle & Doyle, 1990) uyarlanarak DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA örneklerinin kalitelerinin kontrol edilmesi için %1'lik agaroz jel elektroforezde 40 dk 100 V'da yürütülmüştür. DNA örneklerinin çoğaltılması için PCR (Polymerase Chain Reaction) tekniği kullanılmıştır. PCR ürünleri mildiyö için UDV737 (Tummala, 2021) ve GF18-06 (Akkurt ve ark., 2022), külleme için ScORA7 (Akkurt ve ark., 2007) ve GF15-66 primerleri (Zendler ve ark., 2020) kullanılarak çoğaltılmıştır. Primerlerin baz dizimleri Çizelge 1 ve Çizelge 2'de verilmiştir. PCR çoğaltımında 16 µL reaksiyon hacim olacak şekilde hazırlanan örneklerde 2 µl DNA, 4 µl ileri ve geri primerler ve son olarak 10 µl master mix (Fermentas) kullanılmıştır. PCR çalışması Blue Ray Termal Cyler cihazı kullanılarak; 3 dakika 94°C de ön denatürasyon işleminden sonra ayrılma (denatürasyon) işlemi için 94°C de 30 saniye, 55 °C de 45 saniye birleşme (annealing) ve uzama (extension) 72°C de 1 dk ve 35 döngü olacak şekilde yapılmıştır. Son olarak 72 °C de 5 dakika uzama aşaması gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde 2 saat 100 V da yürütülmüştür. Jel UV ışığı altında (Vilber UV Gel Documentation System) görüntülenerek fotoğflanmıştır.

3. Bulgular

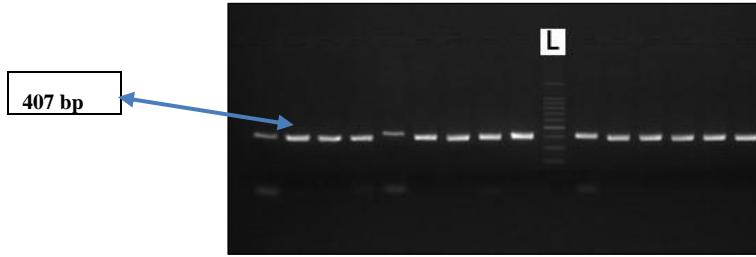
Mildiyö ve külleme hastalıklarına moleküler düzeyde dayanıklılık/duyarlılık bakımından 33 adet genotipte incelemeler yapılmıştır. Mildiyö hastalığına dayanıklılık ile ilişkilendirilmiş Rpv3 gen varlığının tespiti için yapılan analizler sonucunda UDV737 primeri ile yapılan moleküler çalışmalar sonucunda mildiyö hastalığına dayanıklı 22 adet (%70.96) dayanıklı F1 genotip tespit edilmiştir. GF18-06 primeri ile yapılan testlemeler sonucunda mildiyöye dayanıklı 27 adet (%87) genotip tespit edilmiştir (Çizelge 3). ScORA7 primeri ile 760 bp büyüklüğünde amplifikasyon ürünü veren, küllemeye dayanıklılık ile ilişkilendirilmiş Ren3 gen varlığının saptandığı, 18 adet (%58) F1 genotip tespit

edilmiştir (Şekil 4). GF15-66 primeri ile elde edilen PCR analizi sonucunda külleme hastalığı dayanıklılık sağlayan Ren9 geniyle ilişkili band 330 bp'dir ve 25 adet (%80.60) dayanıklı F1 genotip tespit edilmiştir (Şekil 3).

33 adet genotipte yapılan moleküler testlemelerde mildiyöye dayanıklılık ile ilişkili Rpv3 geni ile bağlantılı UDV737 ve GF18-06 primelerleriyle yapılan analizlerde 21 adet F1 genotipin dayanıklı olduğu, küllemeye dayanıklılık ile ilişkili Ren3 ve Ren9 geni ile bağlantılı ScORA7 ve GF15-58 primerleriyle yapılan moleküler analizlerde küllemeye dayanıklı 18 genotip ve her iki hastalığa da dayanıklı 14 genotip tespit edilmiştir (Çizelge 3). Mildiyö ve külleme hastalıklarına dayanıklı F1 genotip sayısının primerlere göre dağılımını ve her iki primer için de elde edilen ortak dayanıklı genotiplerin sayısı Şekil 5'de sunulmuştur.



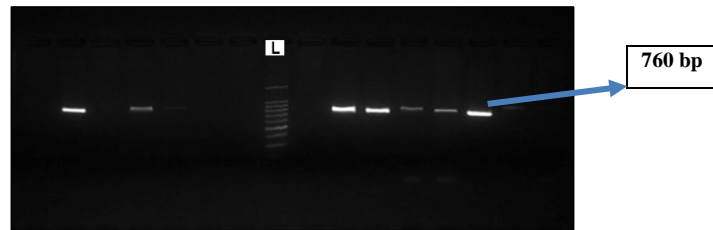
Şekil 1. UDV737 primerine ait band deseninin jeldeki görünümü. L: DNA ladder.



Şekil 2. GF18-06 primerine ait band deseninin jeldeki görünümü. L: DNA ladder.



Şekil 3. GF15-58 primerine ait band deseninin jeldeki görünümü. L: DNA ladder.



Şekil 4. ScORA7 primerine ait band deseninin jeldeki görünümü. L: DNA ladder.

Çizelge 1. Mildiyö hastalığıyla ilişkili kullanılan markörler, baz dizilimleri, ilgili gen ve allel büyüklükleri (bp)

| Markör Adı | Primerlerin Baz Dizilimi (F ve R) | Allel Büyüklükleri (bp) | Elde Melezler | Edildiği | İlgili Gen |
|------------|---|---|-------------------------------------|----------|-------------|
| UDV737 | F: TTTGCATGCGATACCTGAAG R: TCCTGCAGCTGTTGACGATA | 291/301 (Hassas) 284/303 (Dayanıklı) | Cabernet Sauvignon x Chambourcin | | <i>Rpv3</i> |
| GF18-06 | F: GGTCTCCTAGAAAGCCAAGCAA R: TCCCTTTCCCCTTGTCTCG | 417 (Hassas) 407 (Dayanıklı) | Alphonse Lavallee x Regent | | <i>Rpv3</i> |

Çizelge 2. Külleme hastalığıyla ilişkili kullanılan markörler, baz dizilimleri, ilgili gen ve allel büyüklükleri (bp)

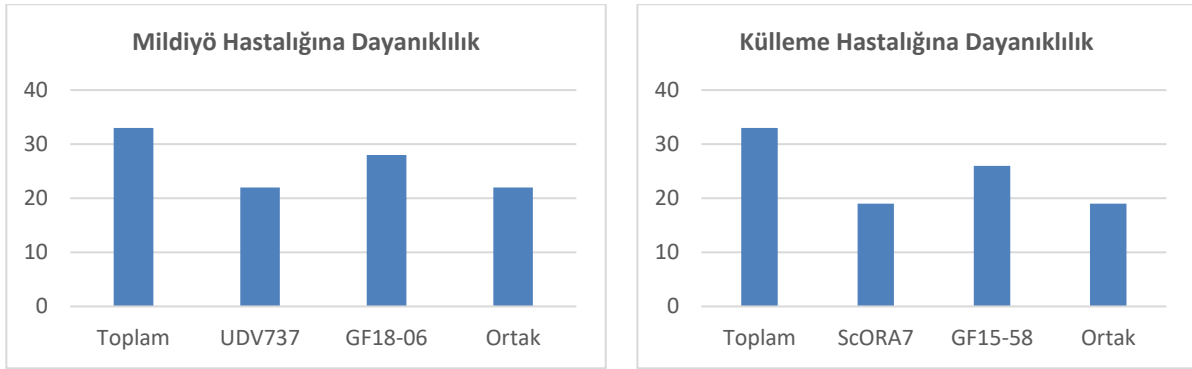
| Markör Adı | Primerlerin Baz Dizilimi (F ve R) | Allel Büyüklükleri (bp) | Elde Melezler | Edildiği | İlgili Gen |
|------------|---|-------------------------|--------------------------------|----------|--------------------------|
| ScORA7 | F: GAAACGGGTGTGAGGCAAAGGTGG R: GGCCATTAGGAAATCAACATTAC | 760 (Dayanıklı) | Lemberger x Regent | | Külleme dayanıklı QTL |
| GF15-58 | F: TTTTAGGAGAAGGAAGCGACAG R: TTTAGGGTGTGATTGCAGATTG | 330 (Dayanıklı) | Cabernet Sauvignon x Regent | | <i>Ren9</i> |

Çizelge 3. Moleküler markörlerle testleme sonuçları

| Genotipler | Moleküler Markörler | | | |
|-------------|----------------------------------|-----------|----------------------------------|-----------|
| | Mildiyö Hastalığına Dayanıklılık | | Külleme Hastalığına Dayanıklılık | |
| | UDV737 | GF18-06 | ScORA7 | GF15-58 |
| Narince (♀) | Hassas | Hassas | Hassas | Hassas |
| Regent (♂) | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-1 | Dayanıklı | Dayanıklı | Hassas | Hassas |
| F1-2 | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-3 | Hassas | Hassas | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-4 | Dayanıklı | Dayanıklı | Hassas | Dayanıklı |
| F1-5 | Dayanıklı | Dayanıklı | Hassas | Hassas |
| F1-6 | Dayanıklı | Dayanıklı | Hassas | Dayanıklı |
| F1-7 | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-8 | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-9 | Hassas | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-10 | Hassas | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-11 | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-12 | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-13 | Dayanıklı | Dayanıklı | Hassas | Dayanıklı |
| F1-14 | Dayanıklı | Hassas | Hassas | Dayanıklı |
| F1-15 | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-16 | Hassas | Hassas | Hassas | Hassas |
| F1-17 | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-20 | Hassas | Hassas | Hassas | Hassas |
| F1-21 | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-22 | Hassas | Dayanıklı | Hassas | Dayanıklı |
| F1-23 | Hassas | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |
| F1-24 | Dayanıklı | Dayanıklı | Hassas | Dayanıklı |
| F1-25 | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı | Dayanıklı |

Çizelge 3. Moleküler markörlerle testleme sonuçları (devam)

| Genotipler | Moleküler Markörler | | | |
|------------|----------------------------------|----------|----------------------------------|----------|
| | Mildiyö Hastalığına Dayanıklılık | | Külleme Hastalığına Dayanıklılık | |
| | UDV737 | GF18-06 | ScORA7 | GF15-58 |
| F1-26 | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl |
| F1-27 | Hassas | Dayanıkl | Hassas | Hassas |
| F1-28 | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl |
| F1-29 | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl |
| F1-30 | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl |
| F1-31 | Hassas | Dayanıkl | Hassas | Hassas |
| F1-32 | Dayanıkl | Dayanıkl | Hassas | Dayanıkl |
| F1-33 | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl | Dayanıkl |



Şekil 5. Mildiyö ve külleme hastalıklarına dayanıklı genotip sayısının primerlere göre dağılımı.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmanın amacı, Narince x Regent melezlemesinden elde edilen F1 genotiplerinin mildiyö ve külleme hastalıklarına karşı dayanıklı olup olmadıklarını moleküler markörlerle belirlemektir. Külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılıkla ilişkili markörler ile PCR analizleri yapılarak, söz konusu hastalıklara dayanıklı olma olasılığı yüksek genotipler, marköre destekli seleksiyon (Marker Assisted Selection-MAS) tekniği ile erken dönemde teşhis edilebilmektedir (Söylemezoğlu ve ark., 2012).

Asmada görülen heterezigotik yapı popülasyondaki istenen karakterin yeterince bulunamamasına, gençlik kısırılığının uzun olması ise ıslah programlarının 15-18 yıl gibi çok uzun sürmesine neden olmaktadır. Bu nedenle, daha kısa sürede, daha ekonomik ve klasik ıslahı destekleyen güvenilir sonuçlar elde etmek amacıyla MAS çalışmalarında kullanılacak markörleri geliştirmek önemlidir (Pauquet ve ark., 2001; Akkurt ve ark., 2007 ve 2022). Her iki hastalık için de pek çok QTL haritalama çalışmaları yapılmış ve MAS amaçlı kullanılacak markörler geliştirilmiştir (Blasi ve ark., 2011; Sapkota ve ark., 2019; Tummala, 2021; Akkurt ve ark., 2007 ve 2022).

Islah programlarında MAS amaçlı kullanılacak moleküler markörden en fazla doğrulukta sonuçlar elde etmek için, öncelikle markörün dayanıklılık geniyle çok yakın ilişkili olması önemlidir (Tanksley, 1983; Choi ve ark., 2020). Bu nedenle, kullanılacak markörün geliştirildiği haritalama popülasyonundaki dayanıklı ebeveyn de önemlidir. Çalışmamızdaki her iki hastalık için de dayanıklılıkla ilişkili olarak farklı tür/çeşitlerde ve kromozomlarda bulunan genler tespit edilmiştir (Donald ve ark., 2002; Barker ve ark., 2005; Sargolzaei ve ark., 2020).

Bu çalışmada, Narince x Regent melezlemesinden elde edilen F1 genotiplerinde mildiyöye dayanıklılık ile ilişkili Rpv3 geni ile bağlantılı UDV737 ve GF18-06 primerleri, külleme hastalığına dayanıklılık ile ilişkili Ren3 ve Ren9 geni ile bağlantılı ScORA7 ve GF15-58 primerleri kullanılmıştır. Regent, külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklı Diana (Silvane × Müller-Thurgau) × Chambourcin melezlemesi elde edilen bir çeşittir (Eibach & Töpfer, 2003; Zandler ve ark., 2020). Araştırmada kullanılan primerlerden GF18-16, ScORA7 ve GF15-58, dayanıklı genotip olarak

Regent'in kullanıldığı melezlemelerden oluşturulan haritalama popülasyonlarından geliştirilmiştir. UDV737 primeri ise, Regent'in elde edildiği ve dayanıklılık sağlayan genin aktarılmış olduğu Chambourcin çeşidinin kullanıldığı haritalama popülasyonundan elde edilmiştir. Asma genotiplerinin dayanıklılık durumlarını belirlemek amacıyla pek çok çalışmada kullanılmışlardır. Di Gaspero ve ark. (2012) 265 Avrupa çeşidi, 82 yabancı tür ve Kuzey Amerika kökenli 233 üzüm hattında gerçekleştirilen analizler sonucunda Rpv3 gen varlığı tespit edilerek, melezlemeler sonucu dayanıklılık genlerine sahip olan çeşitlerin belirlenmesinde UDV737 primerinin MAS için uygun olduğunu belirtmiştir. Polat & Suluhan (2024), Regent x Manisa Sultanı melezlemelerinden elde edilen F1 genotiplerin külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık durumlarının tespitinde önemli bulmuştur. Yıldırım ve ark. (2019), külleme hastalığına dayanıklılıkla ilişkili genleri tespit etmek amacıyla ScORA7 primerini de kullanmışlar ve dayanıklı/hassas genotipleri ayırt edebilmişlerdir.

Bu çalışmada kullanılan materyaller, temin edildiği TÜBİTAK projesinde (Uzun & Özer, 2021) mildiyö hastalığına dayanıklı olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen ümitvar genotiplerde klasik testleme yapılmış, genotiplerin yüksek derecede mildiyö hastalığına dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Verilen literatürdeki klasik testleme sonuçları ile yaptığımız moleküler analiz sonuçları genel olarak paralellik göstermektedir. Bu çalışmada da salamura yapmak için kullanılan Türkiye'nin önemli üzüm çeşitlerinden olan Narince ve üzüm yetiştiriciliğinde hastalıklarla mücadelede dayanıklılığı kanıtlanmış olan Regent kullanılması sonucunda, üzümün ekonomik öneminde düşüşe sebep olan ilaç kalıntısı sorunlarının aşılmasında önemli olacaktır. Elde edilen dayanıklı çeşitlerin ticari olarak üretime katkı sağlayabilme imkânı bulunmaktadır. Çalışmamızda, dayanıklı ebeveyn olarak Regent ve hassas ebeveyn olarak Narince üzüm çeşitlerinin melezlenmesiyle dayanıklılığın bir sonraki nesillere aktarımını ve elde edilen F1 genotiplerinde yapılan moleküler analizler sonucunda külleme ve mildiyö hastalıklarının her ikisine de dayanıklı olan 14 genotipin varlığı tespit edilmiştir. Farklı türler ve genotiplerde yapılan hastalık testlemeleri moleküler analizler ile desteklenerek yeni çeşitlerin elde edilmesinin amaçlanması Türkiye üzüm yetiştiriciliği için olumlu etkiler sağlayabilecektir.

Teşekkür

Çalışmada kullanılan materyaller, Prof. Dr. H. İbrahim UZUN'un yürütücülüğünü yaptığı TÜBİTAK (proje no:118O226) tarafından desteklenen projeden elde edilmiştir. Yazarlar olarak hem TÜBİTAK'a hem de proje yürütücülerine teşekkür ederiz.

Kaynakça

- Akçalı, E., & Demiray, S. T. (2020). Akdeniz Bölgesinde bağ mildiyösü hastalığı (*Plasmopara viticola*) ile mücadelede Fluopicolide+ Fosetyl-Al (Profler®)'in alt dozlarının biyolojik etkinliğinin belirlenmesi. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 30(2), 229-233. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.697623>
- Akkurt, M., Welter, L., Maul, E., Töpfer, R., & Zyprian, E. (2007). Development of SCAR markers linked to powdery mildew (*Uncinula necator*) resistance in grapevine (*Vitis vinifera* L. and *Vitis* sp.). *Molecular Breeding*, 19(2), 103-111. <https://doi.org/10.1007/s11032-006-9047-9>
- Akkurt, M., Şenses, I., Aktürk, B., Tozlu, I., Özer, N., & Uzun, H. (2022). Marker assisted selection (MAS) for downy mildew resistance in grapevines using Rpv3. 1 associated markers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50(1). <https://doi.org/10.15835/nbha50112708>
- Anonim. (2008). *Zirai mücadele teknik talimatları Cilt IV*. Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara. Erişim tarihi: 12.03.2024. <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/Teknik%20tal%C4%B1matlar%202008/C%C4%B0LT%204.pdf>
- Anonim. (2024). *Bağlardaki mildiyö hastalığı üzüm üretimini ciddi oranda düşürdü*. Alışehir Manşet 13 Ocak 2024 tarihli. Erişim tarihi: 16.03.2024. <https://www.alasehirmanset.com/baglardaki-mildiyo-hastaligi-uzum-uretimini-ciddi-oranda-dusurdu/12949/>
- Barker, C. L., Donald, T., Pauquet, J., Ratnaparkhe, M. B., Bouquet, A., Adam-Blondon, A.F., ... & Dry, I. (2005). Genetic and physical mapping of the grapevine powdery mildew resistance gene, RUN1, using a bacterial artificial chromosome library. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 370-377. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2030-8>

- Bellin, D., Peresotti, E., Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Adam-Blondon A.F., Cipriani, G., ... & di Gaspero G. (2009). Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at infection site. *Theoretical and Applied Genetics*, 75, 669-673. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1167-2>
- Blasi, P., Blanc, S., Wiedemann-Merdinoglu, S., Prado, E., Rühl, E. H., Mestre, P., & Merdinoglu, D. (2011). Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of Rpv8, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. *Theoretical and Applied Genetics*, 123, 43-53. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1565-0>
- Cangi, R., & Yağcı, A. (2017). Bağdan sofraya yemeklik asma yaprak üretimi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6, 137-148. <https://doi.org/10.17100/nevbittek.288316>
- Cangi, R., Admır, M., Yağcı, A., Topçu, N., & Sucu, S. (2011). Salamuralık yaprak üretilen bağlarda farklı üretim modellerinin ekonomik analizi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(2), 77-84.
- Choi, Y. R., Lee, J. Y., Hwang, S., & Kim, H. U. (2020). PCR-based InDel marker associated with powdery mildew-resistant MR-1. *Agronomy*, 10(9), 1274-1283. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091274>
- Dalbó, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F., Wilcox, W. F., & Reisch, B. I. (2001). Marker-assisted selection for powdery mildew resistance in grapes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(1), 83-89. <https://doi.org/10.21273/JASHS.126.1.83>
- Di Gaspero, G., Copetti, D., Coleman, C., Castellarin, S. D., Eibach, R., Kozma, P., ... & Testolin, R. (2012). Selective sweep at the Rpv3 locus during grapevine breeding for downy mildew resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, 124, 277-286. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1703-8>
- Donald, T. M., Pellerone, F., Adam-Blondon, A. F., Bouquet, A., Thomas, M. R., & Dry, I. B. (2002). Identification of resistance gene analogs linked to a powdery mildew resistance locus in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 610-618. <https://doi.org/10.1007/s00122-001-0768-1>
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Eibach, R., & Töpfer, R. (2003). Success in resistance breeding: "Regent" and its steps into the market. *Proceedings of the VIIIth Int. Conf. Grape Genetic Breeding Kecskemét, Hungary*, 687-692.
- Ertürk, A. (2009). *Tekirdağ ilinde yetiştirilen yapıncak üzüm çeşidinin yapraklarında salamura öncesi ve sonrası fungusit kalıntı miktarları*. (Yüksek Lisans tezi), Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, Türkiye.
- Fischer, B. M., Salakhutnov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K. J., Töpfer, R., & Zyprian, E. (2004). Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 108, 501-515. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1445-3>
- Gargin, S., & Öztürk, Y. (2013). Eğirdir koşullarında bazı üzüm çeşitlerinin bağ mildiyösüne (*Plasmopara viticola* (Berk. et. Curt.)) karşı reaksiyonlarının araştırılması. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1(1), 134-136.
- İşçi, B. (2008). Asmada QTL (kantitatif karakter lokus) analizi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 18(2), 11-37.
- Kunter, B., & Keskin, N. (2018, Temmuz). *Üzümün antioksidan ve ayurvedik önemi*. Uluslararası Avrasya Doğal Beslenme ve Sağlıklı Yaşam Zirvesi, Ankara, Türkiye.
- Luo, S. L., He, P. C., Zhou, P., & Zheng, X. Q. (2001). Identification of molecular genetic markers tightly linked to downy mildew resistant genes in grape. *Acta Genet. Sinica*, 28(1), 76-82.
- Marguerit, E., Boury, C., Manicki, A., Donnart, M., Butterlin, G., Némorin, A., ... & Decroocq, S. (2009). Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 118(7), 1261-1278. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-0979-4>
- Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Coste, P., Dumas, V., Haetty, S., Butterlin, G., & Greif, C. (2003). Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia*. *Acta Horticulturae*, 60, 451-456. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.603.57>
- Moreira, F. M., Madini, A., Marino, R., Zulini, L., Stefanini, M., Velasco, R., ... & 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 & Genomes*, 7, 153-167. <https://doi.org/10.1007/s11295-010-0322-x>
- Pauquet, J., Bouquet, A., This, P., & 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. *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 1201-1210. <https://doi.org/10.1007/s001220100664>
- Polat, İ., & Suluhan, E. (2024). Marker-assisted selection to determine downy and powdery mildew resistance in 'Manisa Sultanı' × 'Regent' crossing population using Rpv3.1 and Ren9 gene associated markers. *Acta Horticulture*, 1385, 65-72. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2024.1385.9>
- Sapkota, S., Chen, L-L., Yang, S., Hyma, K. E., Cadle-Davidson, L., & Hwang, C-F. (2019). Construction of a high-density linkage map and QTL detection of downy mildew resistance in *Vitis aestivalis*-derived 'Norton. *Theoretical and Applied Genetics*, 132, 137-147. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3203-6>
- Sargolzaei, M., Maddalena, G., Bitsadze, N., Maghradze, D., Bianco, P.A., Failla, O., ... & De Lorenzis, G. (2020). Rpv29, Rpv30 and Rpv31: Three novel genomic loci associated with resistance to *Plasmopara viticola* in *Vitis vinifera*. *Frontiers in Plant Science*, 11, 562432. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.562432>
- Schwander, F., Eibach, R., Fenchter, I., Hausmann, L., Zyprian, E., & Töpfer, R. (2012). Rpv10: a new locus from the Asian vitis gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 124, 163-176. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1695-4>
- Söylemezoğlu, G., Ergül, A., Akkurt, M., & Çakır, A. (2012). *Asmalarda külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklı çeşit ıslahında marköre dayalı seleksiyon (marker assisted selection-MAS) yöntemi ile hızlandırılmış seleksiyon*, (Kesin Raporu. Proje No: 09B4347002). Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi <https://dspace.ankara.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/20.500.12575/72374/09B4347002%20kesin%20rapor.pdf?sequence=1>
- Sucu, S., & Yağcı, A. (2020). Farklı anaçlar üzerine aşılı şaraplık üzüm çeşitlerinde fidan randıman ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 790-801. <https://doi.org/10.35193/bseufbd.690371>
- Tanksley, S. D. (1983) Molecular markers in plant breeding. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1, 3-8. <https://doi.org/10.1007/BF02680255>
- Tummala, K. S. (2021). *Marker-assisted selection to determine the introgression of Rpv-3 mediated downy mildew resistance in 'Chambourcin' X 'Cabernet Sauvignon' grapevine population*. (Graduate Theses), Missouri State University. <https://bearworks.missouristate.edu/theses/3652>
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (2024). Erişim tarihi: 07.03.2024. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/>
- Uzun, H. İ. (2015). *Bağcılık el kitabı*. Hasad Yayıncılık.
- Uzun, İ., Özer, N., Akkurt, M., Özer, C., & Aydın, S. (2018). *Asmalarda mildiyö hastalığına dayanıklılığın marköre dayalı seleksiyon ve fenotipleme yardımıyla erken teşhisi*. TÜBİTAK Proje No: 1150176; Antalya
- Uzun H. İ., & Özer, N. (2021). *Salamuralık yapraklı ve mildiyö hastalığına dayanıklı yeni üzüm çeşitleri geliştirme*. TÜBİTAK Proje No: 1180226.
- Venuti, S., Copetti, D., Foria, S., Falginella, L., Hoffmann, S., Bellin, D., ... & di Gaspero, G. (2013). Historical intogression of downy mildew resistance gene Rpv12 from the Asian species *Vitis amurensis* into grapevine varieties. *PlosOne*, 4, 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061228>
- Welter, L. J., Göktürk Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R., & Zyprian, E. (2007). Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Molecular Breeding*, 20, 359-374. <https://doi.org/10.1007/s11032-007-9097-7>
- Yıldırım, Z., Atak, A., & Akkurt, M. (2019). Determination of downy and powdery mildew resistance of some *Vitis* spp. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 34(1), 15-24. <https://doi.org/10.1051/ctv/20193401015>

Zendler, D., Töpfer, R., & Zyprian, E. (2020). Confirmation and fine mapping of the resistance locus Ren9 from the grapevine cultivar 'Regent'. *Plants*, 10(1), 24.
<https://doi.org/10.3390/plants10010024>