

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ASMADA MİLDİYÖ (*Plasmopara viticola*) HASTALIĞINA DAYANIKLILIK  
LOKUSLARI İLE İLİŞKİLİ SNP MARKÖRLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Esra SULUHAN**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAHÇE BİTKİLERİ**

**ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEMMUZ 2024**

**ANTALYA**

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ASMADA MİLDİYÖ (*Plasmopara viticola*) HASTALIĞINA DAYANIKLILIK  
LOKUSLARI İLE İLİŞKİLİ SNP MARKÖRLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Esra SULUHAN**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAHÇE BİTKİLERİ**

**ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEMMUZ 2024**

**ANTALYA**

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASMADA MİLDİYÖ (*Plasmopara viticola*) HASTALIĞINA DAYANIKLILIK  
LOKUSLARI İLE İLİŞKİLİ SNP MARKÖRLERİNİN BELİRLENMESİ

Esra SULUHAN  
BAHÇE BİTKİLERİ  
ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez TÜBİTAK tarafından 123O092 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEMMUZ 2024

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASMADA MİLDİYÖ (*Plasmopara viticola*) HASTALIĞINA DAYANIKLILIK  
LOKUSLARI İLE İLİŞKİLİ SNP MARKÖRLERİNİN BELİRLENMESİ

Esra SULUHAN  
BAHÇE BİTKİLERİ  
ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 12/07/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İlknur POLAT

[imza]

Prof. Dr. A. Naci ONUS

[imza]

Doç. Dr. İbrahim ÇELİK

[imza]

## ÖZET

### ASMADA MİLDİYÖ (*Plasmopara viticola*) HASTALIĞINA DAYANIKLILIK LOKUSLARI İLE İLİŞKİLİ SNP MARKÖRLERİNİN BELİRLENMESİ

Esra SULUHAN

Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İlknur POLAT

Temmuz 2024; 46 sayfa

Üzüm yetiştiriciliği yapılan alanlarda, fungal hastalıklar en önemli biyotik stres faktörlerinden biridir. Kyoho (*P. viticola*'ya dayanıklı) ile Yalova İncisi (*P. viticola*'ya hassas) melezinden elde edilen 77 adet F1 popülasyonu kullanılarak, tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tespit analizleri ve QTL haritalaması yapılarak üzümde mildiyö hastalık etmeni *P. viticola*'ya karşı dayanıklılığı kontrol eden QTL'ler üzüm genomunda haritalanmıştır.

Üzüm genomunda yer alan SNP markörlerinin CIM analizi sonucu hesaplanan LOD değerleri ve yüzde etki değerleri hesaplanmıştır. Analizler sonucunda toplam 11 adet QTL'in *P. viticola*'ya dayanıklılığı kontrol ettiği belirlenmiştir. SNP'lerin belirlenmesiyle detaylı polimorfizm taraması yapılmıştır. SNP analizleri sonucunda, dayanıklılıkla ilişkili güçlü QTL'lerin kromozom 7, 14, 16 ve 18 de (7. kromozomda 1 adet; 14. kromozomda 3 adet; 16. kromozomda 1 adet; 18. kromozomda 6 adet) yer alırken toplam 4 kromozomda yer alan QTL'lerin minimum %29,3 ve maksimum %100 etki değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda *P. viticola*'nın yapay inokülasyonundan sonra yapraklardaki sporulasyon yoğunluklarına göre ve sporulasyon alanına göre değerlendirmeler yapılmıştır. İnokülasyon skorlama sonuçları sporulasyon şiddeti ve sporulasyon alanı (Boso vd. 2014; Uzun vd. 2018) sonuçları 6 ana sınıf ayrımına göre değerlendirilmiştir. QTL'lere bağlantı gösteren SNP markörleri MAS çalışmalarında kullanılabilecek 5 adet CAPS markörüne çevrilmiş, uygun kesim enzimleri belirlenmiştir.

Verifikasyon çalışmaları için klasik testleme sonucu belli olan Alphonse Lavellée x Regent ve Yalova İncisi x Kyoho melezi F1 genotipler kullanılmıştır. Markörler, *P. viticola*'ya dayanıklılığın çoklu gen tarafından kontrol edilmesi nedeniyle tek bir primerle sonuç alınamayacağını göstermiştir. Bu nedenle, monomorfik band deseni sunan Chr 14 SNP ve Chr 16 SNP primerlerinden elde edilen PCR ürünlerinin, çok küçük bp mesafedeki bandların ayırımını sağlayan sistemler kullanılarak tekrar çalışılması uygun olacaktır. Chr 7 SNP için değerlendirme yapılabilmektedir ve moleküler testlemelerin klasik testlemelerle örtüşme oranları sporulasyon şiddetine göre %81, sporulasyon alanına göre ise %77 oranında paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

**ANAHTAR KELİMELEER:** Hastalığa dayanıklılık, Kyoho, *Plasmopara viticola*, SNP, *Vitis vinifera*

**JÜRİ:** Prof. Dr. İlknur POLAT

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Doç. Dr. İbrahim ÇELİK



## ABSTRACT

### IDENTIFICATION OF SNP MARKERS ASSOCIATED WITH RESISTANCE LOCI TO DOWNY MILDEW (*Plasmopara viticola*) DISEASE IN GRAPEVINE

Esra SULUHAN

MSc Thesis in Horticultural Department

Supervisor: Prof. Dr. Ilknur POLAT

July 2024; 46 pages

Fungal diseases are one of the most important biotic stress factors in grape growing areas. By using 77 F1 populations obtained from Kyoho (resistant to *P. viticola*) and Yalova İncisi (susceptible to *P. viticola*) crosses, single nucleotide polymorphism (SNP) detection analyses and QTL mapping were performed and the QTLs controlling resistance to *P. viticola*, the mildew disease agent in grapes, were mapped in the grape genome.

LOD values and percentage effect values calculated as a result of CIM analysis of SNP markers in the grape genome were calculated. As a result of the analyses, a total of 11 QTLs were determined to control resistance to *P. viticola*. Detailed polymorphism screening was performed by identifying SNPs. As a result of SNP analyses, it was determined that the strong QTLs associated with resistance were located on chromosomes 7, 14, 16 and 18 (1 on chromosome 7; 3 on chromosome 14; 1 on chromosome 16; 6 on chromosome 18), while QTLs located on a total of 4 chromosomes had minimum 29.3% and maximum 100% effect values.

As a result of the studies, evaluations were made according to the sporulation intensity and sporulation area on the leaves after artificial inoculation of *P. viticola*. Inoculation scoring results, sporulation intensity and sporulation area (Boso et al. 2014; Uzun et al. 2018) results were evaluated according to 6 main classes. SNP markers showing linkage to QTLs were translated into 5 CAPS markers that can be used in MAS studies, and appropriate cutting enzymes were determined.

Alphonse Lavellée x Regent and Yalova İncisi x Kyoho hybrid F1 genotypes were used for verification studies. Markers showed that no results could be obtained with a single primer since resistance to *P. viticola* is controlled by multiple genes. Therefore, it would be appropriate to re-run the PCR products obtained from Chr 14 SNP and Chr 16 SNP primers, which present a monomorphic band pattern, using systems that enable the separation of bands at very small bp distance. Chr 7 SNP could be evaluated and it was determined that the overlap rates of molecular tests with classical tests were 81% according to sporulation severity and 77% according to sporulation area.

**KEYWORDS:** Kyoho, *Plasmopara viticola*, Disease resistance, SNP, *Vitis vinifera*

**COMMITTEE:** Prof. Dr. İlknur POLAT

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Assoc. Dr. İbrahim ÇELİK



## ÖNSÖZ

Kyoho, dünya çapında üzüm yetiştiriciliğinde sahip olduğu özellikler ile dikkat çeken ve önemli bir biyotik stres faktörü olan mildiyö hastalık etmeni *P. viticola*'ya dayanıklılığı ile bilinen bir çeşittir. Bu hastalığa hassas Yalova İncisi ile melezlemesi sonucu geliştirilen F1 popülasyonu kullanılarak, *P. viticola*'ya karşı üzümde dayanıklılığın sağlanmasından sorumlu gen bölgelerinin tespiti için SNP analizi ve hastalık testlemeleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirme yapılması amaçlanmıştır. Ayrıca, QTL bölgelerinde bulunan genler ile hastalık direnci arasındaki ilişkiyi biyoinformatik analizler aracılığıyla belirleyerek dayanıklılığın moleküler genetik temellerini aydınlatmak hedeflenmiştir.

Yüksek Lisans öğrenimim sürecim boyunca, her zaman destekleri ve rehberliği ile beni yönlendiren değerli danışmanım Prof. Dr. İlknur POLAT'a, Yüksek Lisans tez çalışmalarım sırasında bilgi ve birikimlerini cömertçe paylaşan Doç. Dr. İbrahim ÇELİK'e ve samimiyeti, enerjisi ve pozitif bakış açısıyla daima öğrencilerine ve bana örnek olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. A. Naci ONUS'a minnettarlığımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimimi ve hayatımı ufuk açan sohbetleri ile eğlenceli hale getiren değerli meslektaşım Ziraat Mühendisi Melike TEKİN'e, her anıma tanıklık eden iyi ki tanıştık dediğim, küçük kardeşlerim olan Şenay KOCATEPE ve Arda ZENGİN'e, her şeye ve herkese rağmen birlikte eğlenebilmeyi başardığım, yan yana olduğumuz için hergün şükrettiğim, çalışkanlığı ve alanındaki bilgileriyle ışık saçan, yüksek lisans hayatıma renk katan değerli meslektaşım Ziraat Mühendisi Simge YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Farklı bir şehirde yüksek lisansa başlamayı istediğimde her zaman bana olan desteklerini yanımda hissettiğim, mesafelerin bir öneminin olmadığını bana öğreten, birlikte büyüdüğüm, birçok anı biriktirdiğim ve biriktirmeye devam edeceğim, yüksek lisans sürecimin kolay geçmesindeki kahramanlarım, değerli meslektaşlarım Ziraat Mühendisi Eda Nur TAŞ ve Ziraat Mühendisi Ege Yağız HİZANLIOĞLU iyi ki varsınız, teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın başlangıcından bu yana isteklerime ulaşmamda bana her zaman destek olan, hayatımda aldığım her karara saygı duyan, her zaman yanımda olan canım annem Döndü SULUHAN, babam Kemal SULUHAN, ablam Dr. Öğr. Üyesi Elmas YELKESEN ve kardeşim Ebrar SULUHAN'a ailem oldukları için teşekkür ederim.

Bu tez TÜBİTAK tarafından 123O092 nolu proje ile desteklenmiştir, bu yüzden TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
AKADEMİK BEYAN .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI .....	4
2.1. Dünya’da ve Türkiye’de Bağcılık Verileri .....	4
2.2. Bağcılıkta Mildiyö Hastalığı ve Yapılan Bazı Çalışmalar .....	6
2.3. SNP Markör Tespit Çalışmaları.....	9
3. MATERYAL VE METOT .....	12
3.1. Materyal .....	12
3.2. Metot.....	14
3.2.1. DNA İzolasyonu .....	14
3.2.2. GBS yöntemi ile nükleotid sekanslarının belirlenmesi, SNP’lerin tespit edilmesi ve geliştirilen CAPS markörün test edilmesi .....	15
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	18
5. SONUÇLAR .....	38
6. KAYNAKLAR .....	40
ÖZGEÇMİŞ	

## AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Asmada Mildiyö (*Plasmopara viticola*) Hastalığına Dayanıklılık Lokusları ile İlişkili SNP Markörlerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

12/07/2024

Esra SULUHAN

İmzası

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

%	: Yüzde
,	: Ondalık ayırıcı
°C	: Santigrad Derece
µl	: Mikrolitre
Bp	: Base pair
cM	: Cantimorgan
da	: Dekar
dk	: Dakika
g	: Gram
ha	: Hektar
kg	: Kilogram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
rpm	: Santrifüj kuvveti
sn	: Saniye

### Kısaltmalar

AB	: Avrupa Birliği
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi)
BC	: Backcross
CAPS	: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
CTAB	: Cetil Three Metil Amonyum Bromid

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

MAS : Marker Assisted Selection (Markör Destekli Seleksiyon)

QTL : Quantitative Trait Locus

RAPD : Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism (Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi)

SNP : Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)

SSR : Simple Sequence Repeat (Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatelitler)

TAE : Tris-Acetate-EDTA

UV : Ultraviöle

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. SNP tabanlı fiziksel harita.....	23
Şekil 4.2. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 1).....	24
Şekil 4.3. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 2).....	24
Şekil 4.4. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 3).....	24
Şekil 4.5. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 4).....	25
Şekil 4.6. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 5).....	25
Şekil 4.7. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 6).....	25
Şekil 4.8. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 7).....	26
Şekil 4.9. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 8).....	26
Şekil 4.10. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 9).....	26
Şekil 4.11. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 10).....	27
Şekil 4.12. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 11).....	27
Şekil 4.13. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 12).....	27
Şekil 4.14. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 13).....	28
Şekil 4.15. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 14).....	28
Şekil 4.16. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 15).....	28
Şekil 4.17. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 16).....	29
Şekil 4.18. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 17).....	29
Şekil 4.19. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 18).....	29
Şekil 4.20. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 19).....	30
Şekil 4.21. Kesim öncesi primerlerin agaroz jel görüntüsü.....	32
Şekil 4.22. Kesim sonrası SNP primerlerinin agaroz jel görüntüsü.....	33
Şekil 4.23. Chr 7 SNP kesim sonrası Yalova İncisi X Kyoho F1 genotipleri agaroz jel görüntüsü.....	33
Şekil 4.24. Chr 7 SNP kesim sonrası Alphonse Lavallée X Regent F1 genotipleri agaroz jel görüntüsü.....	34

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Dünyada'ki üzüm üretim istatistikleri (2017-2022).....	4
Çizelge 2.2. 2013-2023 yıllarındaki Türkiye'de üzüm üretim miktarı.....	5
Çizelge 2.3. 2013-2023 yılları Türkiye'deki üzüm üretim miktarı ve ithalat-ihracat istatistikleri.....	6
Çizelge 2.4. Mildiyö ( <i>Plasmopara viticola</i> ) hastalığına dayanıklılıkla ilişkili markörler ve taradığı gen bölgeleri.....	8
Çizelge 3.1. Materyaller listesi ve ploidi seviyeleri .....	11
Çizelge 3.2. Sporulasyon alanına göre dayanıklılık skalası.....	15
Çizelge 3.3. Sporulasyon şiddetine göre dayanıklılık skalası.....	16
Çizelge 4.1. Kyoho X Yalova İncisi lezyon alan ortalaması ve dayanıklılık derecesi skalası.....	18
Çizelge 4.2. Kyoho X Yalova İncisi hastalık şiddeti sonuçları.....	20
Çizelge 4.3. Belirlenen QTL'lerin lokasyonları ve LOD değerleri.....	31
Çizelge 4.4. SNP primerleri ve forward reverse baz dizilimleri ve kesim enzimleri.....	32
Çizelge 4.5. Alphonse Lavallée x Regent F1 genotipleri klasik testleme ve moleküler testleme sonuçları.....	35
Çizelge 4.6. Yalova İncisi X Kyoho F1 genotiplerinde klasik testleme ve moleküler testleme sonuçları.....	36

## 1. GİRİŞ

Üzüm (*Vitis vinifera* L.), anavatanı Kafkasya olan, Türkiye’inde kültür asmasının gen merkezi olduğu kabul edilen, *Vitis* cinsinin Vitaceae familyasına ait asma bitkisinin meyvesidir. Üzüm meyvesi su, şeker, mineraller, organik asitler, aromalar, vitamin, enzim ve fenolik bileşiklerden oluşmaktadır. Üzüm zengin besin içeriği nedeni ile insanların beslenmesinde yüzyıllardır yer almaktadır.

Dünya’da yaklaşık 30.000 adet üzüm çeşidi olduğu belirtilmektedir. Bunlardan yaklaşık 15.000 adet çeşidin genotipik açıdan farklılık teşkil ettiği düşünülmektedir (Alleweldt ve Possingham 1988). Asmanın genotip açısından farklı çeşitlerinin olmasında başlıca faktör yabancı döllenişmesi sonucunda heterozigotik kalıtsal yapıdan kaynaklanmaktadır.

Türkçedeki üzüm sözcüğü Asya Türkçesinde koparmak anlamına gelen ‘‘Üz’’ kökünden türemiştir. Üzümün, fonksiyonel bir gıda olması, beslenmedeki önemi, tıbbi alanlardaki yaygın kullanımı ve yüksek ekonomik değeri sebebiyle ülkemizde yetiştiriciliği ve tüketimi oldukça yaygındır (Anonim 1).

Türkiye’de üzüme verilen değerin bir göstergesi olarak, ülkemizde bulunan asma genotiplerinin tümünü koruma altında tutmak amacıyla, 1965 yılında çalışmalarına başlanan ‘‘Milli Koleksiyon Bağı’’ kurulmuş ve burada toplanan 1600’den fazla kültür çeşidi ve formu Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsündeki bağa aktarılmıştır ve burada muhafaza edilmektedir (Çelik vd. 2010).

Türkiye’de üzüm genellikle sofralık ve kurutmalık olarak değerlendirilmektedir. Kurutmalık ve sofralık üzüm üretimi ve tüketiminin yanında; işlenerek meyve suyu, sirke, şarap, pekmez yapımı gibi farklı alanlarda da değerlendirilmektedir (Ergül vd. 2017; Sümbül ve Yıldız 2022). Sofralık üzüm üretiminde ülkemizde Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidi dikkat çekmektedir.

Asma yetiştiriciliğini sınırlandıran, en önemli fungal hastalıklardan olan mildiyö (*Plasmopara viticola*) dünyanın birçok yerinde en fazla görülen hastalıklardandır (Merdinoglu vd. 2003; Bellin vd. 2009; Delmotte vd. 2014). Hastalığa neden olan etmen obligat parazittir, hem eşeyli hem de eşeysiz olarak iki türlü çoğalabilmektedir. Obligat parazit etmeninin, enfekte ettiği bitkinin yaşı, çeşidi ve ortam koşullarına göre inkübe etme süresi arasında paralellik bulunmaktadır. Bitki yetiştirme ortamında sıcaklık artışı olduğunda etmenin inkübasyon süresi azalmaktadır, özellikle 30°C ve üzeri sıcaklıklarda sporangiumlar canlılıklarını kaybederler. Ancak yüksek nemli dönemlerde sporangiumlar canlılıklarını 24 saate kadar koruyabilmektedir. Etmen 6°C’nin altında gelişemez. Parazit etmeni ile enfekte olmuş çiçeklerde kahverengileşme ve dökülme görülmektedir. Bu etmenin tanelere olan etkisi ise erken dönemde yıkıcı olsa da taneler olgunlaştıkça hassasiyetleri azalmaktadır. Hastalık şiddetine göre sürgünde kuruma ve lekelenme görülmektedir. Mildiyö hastalığı asmanın tüm yeşil kısımlarını ve ürünü doğrudan etkilediği için ekonomik zararı büyüktür (Anonim 2). Bu nedenle, bağlarda mildiyö hastalığı üreticilerin en çok çekindiği hastalıkların başında gelmektedir. Hastalıkla mücadelede kültürel uygulamalar önemlidir. Ayrıca, kimyasal uygulamalar yapılmaktadır, fakat genellikle hava koşulları ve kültürel işlemlere bağlı olarak çok yoğun fungusit kullanımı söz konusudur (Anonim 2; Yanar vd. 2015). Ayrıca, bu fungusitlerin

kullanımından sonra hasadın genellikle 14-21 gün beklemesi gerekmektedir. Çünkü, meyvelerde kalıntı sorunu oluşturmaktadır (Cangi vd. 2014; Yanar vd. 2015).

Bununla birlikte, dayanıklı çeşitlerle yetiştiricilik yapmak en etkin mücadeleler arasındadır. Fakat ıslah çalışmaları uzun ve zor bir süreçtir. DNA (Deoksiribonükleikasit) markörleri, fenolojik farklılıklara sebep olan genetik etmenlerle ilgili anlamlandırma yapmamızı sağlayarak ıslah çalışmalarında destek olmaktadır. Moleküler markörlerin etkin kullanıldığı alanlardan birisi de karmaşık kalıtıma sahip birden çok gen tarafından kontrol edilen kantitatif karakterlerin (quantitative trait locus=QTL) ıslahı olmuştur. Genetik harita hazırlanmasında ilk aşama uygun ebeveynlerin seçimi ve açılım popülasyonunun hazırlanmasıdır. En yaygın olarak kullanılan açılım popülasyonları; rekombinant kendilenmiş hatlar (recombinant inbred lines=RILs), yakın isogenik hatlar (near isogenic lines=NILs), katlanmış haploid (DHL), F1, F2 ve geri melez (backcross=BC or advanced backcross=ABC) popülasyonlarıdır (Tanksley vd. 1989). Tek yıllık bitkilerde değerli bir karakter tespit edildiği zaman bu özelliğe sahip olan hat genetik olarak başka bir saf hatla melezlenebilir, haritalama popülasyonu oluşturulur (F2, BC, DHL, RIL, NIL vs.) ve karakter moleküler markörler yardımıyla haritalanır (Wu vd. 1992). Çok yıllık bitkilerde ise, F1 bireylerinin genetik haritalama çalışmaları için uygun olduğunu ve bu yöntemde ana ve baba bitki için ayrı ayrı genetik harita oluşturulduğunu belirtmiştir (Vienne 2003). F1 popülasyonları kullanılarak oluşturulan haritalama çalışmaları, odunsu bitkilerde kullanımı, odunsu bitkilerin uzun süren yaşam döngüleri nedeniyle zamandan tasarruf edilmesi açısından daha çok tercih edilmektedir. Çok yıllık bitkilerde genetik bağlantı haritalarının kullanımı ebeveyn bitkilerdeki açılıma ve türlerarası heterozigotlukla yakından ilişkilidir (Scott vd. 2005). Haritalamada F1 popülasyonları, turunçgiller (Cristofani vd. 2000; Roose 2000), vişne (Canlı 2004), elma (Jensen vd. 2014; Ban ve Choi 2018), armut (Gabay vd. 2018) gibi birçok meyvede kullanılmıştır. Yine, üzümde tane rengi (Ren vd. 2000), çekirdeksizlik (Doligez vd. 2003), kamalı nematoda dayanıklılık (Walker ve Jin 2000), hastalıklara dayanıklılık (Yaşar 2005) gibi birçok karakter için yapılan haritalama çalışmalarında F1 popülasyonu başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Çalışmamızda, hassas ebeveyn olarak Yalova İncisi ve dayanıklı ebeveyn olarak Kyoho çeşidinin resiprokal melezlemelerinden geliştirilen F1 popülasyonu kullanılmıştır. Yalova İncisi, Hönüsü (*V. vinifera*) x Siyah Gemre (*V. vinifera*) melezidir (Uslu ve Samancı 1998). Kyoho, Japonya’da geliştirilmiş, Ishiharawase (*V. vinifera*) x Centennial (*V. labrusca*) melezi bir çeşittir (Yang vd. 2017).

Dünyada yaklaşık 365.000 ha alanda yetiştiriciliği yapılan Kyoho sofralık üzüm çeşidi birinci sırada yer almaktadır, en fazla Çin’de yetiştirilmektedir ve her geçen yıl üretim alanı artan sofralık üzüm çeşididir (Anonymous 2). Mildiyö hastalığına dayanıklılıkta *V. labrusca* türü önemlidir (Atak vd. 2017; Yıldırım vd. 2019). Ayrıca, *V. labrusca* türü ıslah çalışmalarında ebeveyn olarak *V. vinifera* ile melezlemelerde kullanıldığında verim ve kalite yönünden yüksek çeşitlerin elde edilme şansını artırmaktadır. Genellikle diğer yabani türlerle melezlemelerden elde edilen çeşitlerin kalite ve verim değerleri düşük olmaktadır. Yine, MAS amaçlı kullanılacak markörün *V. vinifera* x *V. labrusca* melezlemesiyle oluşturulan popülasyondan elde edilmesi markörün güvenilirliğini arttırmaktadır. Fakat, günümüze kadar MAS amaçlı kullanılan markörlerin elde edildiği popülasyonlarda *V. labrusca* yer almamaktadır. Ayrıca, Kyoho, dünyada en fazla yetiştirilen sofralık üzüm çeşidi olup, mildiyö hastalığına dayanıklı olduğu gibi aynı

zamanda yine çok önemli fungal hastalıklardan olan kuşuni küf (*Botrytis cinerea*) (Rahman vd. 2019) ve külleme (*Erysiphe necator*)'ye (Atak vd. 2017) de dayanıklıdır. Çalışmada dayanıklılık kaynağı olarak Kyoho'nun kullanılmış olması ve *V. labrusca* kanı taşıması çalışmamızı özgün kılmıştır.



## 2. KAYNAK TARAMASI

### 2.1. Dünya’da ve Türkiye’de Bağcılık Verileri

Üzüm (*Vitis vinifera* L.), ekonomik bir üretim modelinde birden fazla değerlendirme olanağına (sofralık, kurutmalık, şaraplık, meyve suyu yapımı vd.) sahip Türkiye ve Dünya açısından önemli bir meyvedir (Akçay 2014). Asmanın iklim şartlarına kolay uyum sağlaması nedeniyle bağcılık dünyada tarih boyunca önemli yer taşıyan tarım kollarından biridir (Uzun 2015). Dünya üzerinde üzüm yetiştiriciliği ve bu yetiştiriciliğin üreticiler ve tüketiciler için ekonomik öneme sahip olması bilimsel araştırmacıların dikkatinin bu alanda toplanmasına neden olmuştur (Ağaoğlu 1999).

2022 yılında Dünya’da toplam üzüm üretim alanı 6.730.179 ha, bu alanlarda yapılan toplam üzüm üretim miktarı 74.942.573 ton ve dekara verim 1.113 kg’dır (Çizelge 2.1). Dünyadaki üzüm üretim miktarları incelendiğinde 11.269.900 ton ile Çin 1. sırada yer almaktadır (Anonymous 1). Dünyada’ki lider üzüm üreticileri içerisinde yer alan Türkiye 4.165.000 ton üzüm üretimi ile 6. sırada yer almaktadır (Anonymous 1).

**Çizelge 2.1.** Dünyadaki üzüm üretim istatistikleri (2017-2022) (FAO 2024)

Yıllar	Üretim Alanı (ha)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (kg/da)
2017	6.836.781	73.549.310	1.075
2018	6.872.676	80.015.896	1.164
2019	6.912.409	77.087.415	1.115
2020	6.924.070	76.997.321	1.112
2021	6.729.198	73.524.196	1.092
2022	6.730.179	74.942.573	1.113

Türkiyede’ki toplam tarım alanı varlığının, 2023 yılı TÜİK verileri incelendiğinde 72.363.880,8 ha olduğu görülmektedir (Anonim 3). Toplam tarım alanı varlığı içerisinde %51,10 ile Meyveler, Sert Kabuklular, İçecek ve Baharat Bitkileri birinci sırada yer almaktadır. Bu kategorideki toplam 28 ürün içerisinde üzüm üretimi %9,19’luk bir paya sahiptir.

Türkiye’deki sofralık üzüm üretim istatistikleri incelendiğinde sofralık çekirdekli üzüm üretiminde sırasıyla Mersin, Hatay ve Gaziantep; sofralık çekirdeksiz üzüm üretiminde ise Manisa, Denizli ve Mersin lider illerdir (TÜİK 2024).

Çizelge 2.2’deki Türkiye 2023 yılı üzüm üretim verileri incelendiğinde toplam üretimin 3.400.000 ton olduğu ve sofralık üzüm üretiminin 1.799.050 ton ile toplam üretim içerisindeki payının %53 olduğu görülmektedir. Sofralık üzüm üretimini 1.304.344 ton (%38,36) ile kurutmalık üzüm üretimi ve 296.606 ton (%8,72) ile şaraplık

üzüm üretimi takip etmektedir. Ancak Çizelge 2.2’ de görüldüğü üzere Türkiye’deki 2023 yılı toplam üzüm üretim miktarı bir önceki yıla göre 765.000 ton azalmıştır. Bu duruma neden olarak üzüm yetiştiriciliğini sınırlandıran fungal hastalıklar öne sürülebilir.

**Çizelge 2.2.** 2013-2023 yıllarındaki Türkiye’de üzüm üretim miktarı (Ton) (TÜİK 2024)

	KURUTMALIK		SOFRALIK		ŞARAPLIK
	Çekirdeksiz	Çekirdekli	Çekirdeksiz	Çekirdekli	
<b>2013</b>	957.049	466.529	498.006	1.634.596	455.229
<b>2014</b>	1.135.947	427.533	586.164	1.580.585	445.127
<b>2015</b>	955.300	379.263	586.419	1.305.491	423.527
<b>2016</b>	1.141.130	395.732	610.484	1.380.120	472.534
<b>2017</b>	1.240.000	363.000	668.000	1.441.000	488.000
<b>2018</b>	1.046.345	477.746	458.061	1.487.201	463.647
<b>2019</b>	1.230.000	369.000	656.000	1.394.000	451.000
<b>2020</b>	1.188.139	346.360	603.724	1.614.332	456.353
<b>2021</b>	1.126.304	303.856	422.919	1.434.010	382.911
<b>2022</b>	1.334.283	347.525	556.500	1.543.359	383.333
<b>2023</b>	981.741	322.603	422.983	1.376.067	296.606

Üzüm, Türkiye’de iç piyasada tüketimi ile dikkat çekmektedir ve aynı zamanda önemli ihracat mallarından biridir. 2022 yılı toplam üzüm üretim miktarı 4.165.000 ton ve toplam üretimin %32,44’ ü ile ihracat yapılmaktadır. 2022 yılı toplam üzüm ihracatı 1.351.183 ton ve toplam üzüm ihracatının %43,06’sı AB-27 (Avrupa Birliği) ülkelerine yapılmaktadır (TÜİK 2024).

Türkiye’de üzüm üretiminde üretim kayıpları ve endüstriyel kayıplar toplam üretimin %8,21’i kadardır. Türkiye’deki kişi başı üzüm tüketim miktarı ise 2022 yılında 26,1 kg olmuştur (TÜİK 2024).

**Çizelge 2.3.** 2013-2023 yılları Türkiye'deki üzüm üretim miktarı ve ithalat-ihracat istatistikleri (TÜİK 2024)

	Toplam Üretim Alanı (da)	Toplam Üretim Miktarı (Ton)	İthalat (Ton)	İhracat (Ton)	Kişi Başına Tüketim (kg)
2013	4.687.922	4.011.409	14.579	971.040	32,7
2014	4.670.929	4.175.356	15.671	1.296.283	29,8
2015	4.619.557	3.650.000	14.303	1.003.453	26,3
2016	4.352.269	4.000.000	8.124	1.231.444	28,7
2017	4.169.068	4.200.000	9.297	1.396.531	27,1
2018	4.170.410	3.933.000	131.285	1.339.499	26,6
2019	4.054.387	4.100.000	11.460	1.196.791	28,4
2020	4.009.979	4.208.908	145.577	1.260.545	29,5
2021	3.902.211	3.670.000	124.454	1.383.637	21,4
2022	3.845.365	4.165.000	102.186	1.351.183	26,1
2023	3.778.482	3.400.000	-	-	-

## 2.2. Bağcılıkta Mildiyö Hastalığı ve Yapılan Bazı Çalışmalar

Üzüm mildiyösu olarak bilinen *Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni, Kuzey Amerika ve Avrupa'daki verim ve kaliteyi düşüren, hasat yapılmasını dahi engelleyen en zararlı üzüm patojeni olarak kabul edilmektedir. 1834 yılında ilk defa Amerika'da görülen bağ mildiyösu Fransa'daki bağlarda 1878 yılında görülmüş olup, 1882 yılına kadar Fransa'nın tamamına ve Avrupa'nın pek çok ülkesine yayılmıştır (Gargın ve Öztürk 2012). Bağcılıkta meyve kalitesi ve verimde azalmalara neden olan, mildiyö hastalığı etmeni, tüm asmaları konukçu olarak kullanmaktadır (Doğu 2019). Bağ mildiyösu, asmanın gelişim dönemi boyunca çevre koşullarının yağışlı, nemli ve ılıman iklim yaşanan yerlerde çok sık görülmektedir (Çelik vd. 1998).

Birçok canlı türü gibi bitkilerde stres faktörlerine karşı kendilerine farklı savunma teknikleri geliştirmişlerdir. Morfolojik ve fizyolojik olarak ayrabileceğimiz bu savunma mekanizmaları sayesinde bitkiler bünyelerindeki bileşikler ile patojen zararını minimumda tutmak için belirli salgılar üretmektedir (Koç vd. 2008; Değirmenci ve Ertunç 2010). Bitki savunma mekanizmalarının yeterli olmadığı durumlarda ve üreticinin ekonomik kaygılarının artması nedeniyle hastalıklar ile kimyasal mücadele tarımsal üretimde en çok tercih edilen savunma yöntemlerinden biri olmuştur.

Kimyasal fungusitler mildiyö ile mücadelede oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bakır esaslı fungusitlerin kullanımı Avrupa Komisyonu tarafından 2002 yılından beri sınırlandırılmış ve patojene direnç gösteren bazı sistemik fungusitler belirtilmiştir (Polat vd. 2020). Ancak bakırın, bağcılıkta 150 yıldan fazla, yılda 80 kg/ha oranlarında kullanılmış olması, birçok bağın üst topraklarında bakır birikmesine yol açmıştır (Rusjan vd. 2007; Akkurt vd. 2018).

Hastalıklarla mücadele üzüm ıslahında önemli bir amaç haline gelmiştir. Üzüm ıslahı, ıslahçılar tarafından faydalı alellerin bilinçli olarak seçilmesini içermektedir. Bu da ıslah materyallerindeki çeşitliliği azaltır. Şimdiye kadar, asma ıslah materyalindeki genetik çeşitlilik Kuzey Amerika *Vitis* spp. ve *V. vinifera*'dan elde edilmiştir, gen havuzları kısmi olarak araştırılmıştır (Pollefeys ve Bousquet 2003).

SNP, bitkilerinde dahil olduğu pek çok canlı türünde ortaya çıkan bir varyasyondur. SNP oluşmasında eklenme ve silinme (InDel) nükleotid dizisi değişimine neden olan temel nedenlerdendir; gen haritalamada, markörler yardımıyla ıslah ve harita temelli klonlama çalışmalarında etkili bir araç olarak kullanılmaktadır (Filiz ve Koç 2011).

You vd. (2013) çalışmalarında, *Epinephelus coioides* türünde, ticari olarak önemli olması nedeniyle üretim verimini arttırmak ve istenilen özellikleri taşıyan bireyleri belirlemek amacıyla yaptıkları dizileme ve haritalama sonucunda F1 harita popülasyonunda 25.892 SNP belirlemişlerdir. Cinsiyet ortalaması haritası, 1.581.7 cM'ı kapsayan toplam 4.608 SNP içermektedir ve SNP'ler arasındaki ortalama mesafenin 0.34 cM olduğunu saptamışlardır.

Atak vd. (2017) çalışmalarında, asma yetiştiriciliğinde sınırlandırıcı etkileri olan iki önemli mantar kökenli hastalıktan külleme (*Erysiphe necator*) ve mildiyö (*Plasmopara viticola*) ile mücadele için dayanıklı çeşitler elde edilmesi amacıyla kullanılacak 211 asma çeşidi ve genotipini toplamışlardır. Bu çeşitlerin hastalıklara dayanıklılıkları, 128 bitkide biyoteknolojik yöntemlerle ve 164 bitkide klasik hastalık testlemeleri ile tespit edilmiştir. 2 yıl boyunca süren çalışmalarında dayanıklılıkla ilişkili gen bölgeleri varlığı, 8 farklı markör ile araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar dayanıklı olduğu bilinen Regent ve Sugargate çeşitleri ile karşılaştırılmıştır. Yapılan analizler ile 128 adet asma tür ve çeşidinin kontrol çeşitlerle karşılaştırılması sonucunda 39 *V. vinifera* çeşit/genotipinde kontrol grubu ile aynı bant uzunluklarını verdiğini, 38 adet *V. labrusca* çeşit/genotipinde ise hiç ortak band elde edilemediğini bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan VMC7f2 markörünün en fazla sayıda çeşit/genotipte kontrol çeşitleri ile aynı band büyüklüklerini verdiği de gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda dayanıklı, toleranslı ve hassas olan çeşitler ve genotipler belirlenmiş, dayanıklı olarak toplam 24 çeşit/genotip seçilmiştir. Bu çeşit/genotiplerin 14 tanesi *V. labrusca*, 7 tanesi türler arası melez, 2 tanesi *V. vinifera* ve 1 tanesinde *V. rotundifolia* türüne mensup olduğunu tespit etmişlerdir.

Gaforio vd. (2015), İspanya'nın farklı bölgelerinden "El Encín" (IMIDRA, Madrid)'deki germplazm koleksiyonunda yer alan *V. vinifera* çeşitlerini mildiyöye dayanıklılıklarının tespiti için analizler yapmışlardır. Çalışmalarında "El Encín" koleksiyonunda yetiştirilen ve bir süre önce İspanya'nın farklı bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan 158 üzüm çeşidinin *P. viticola*'ya duyarlılıklarını hem alan analizleri ile hem de yaprak disk analizi ile belirlemeyi amaçlamışlardır. Kuzey İspanya'dan toplanan

materyallerin diğ er bölgelerden toplanan *V. vinifera* çeşitlerine göre *P. viticola*'ya daha dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir. Bitkilerin yetiştiği iklim koşullarının hastalık üzerindeki etkilerine ve hastalığ a duyarlı bitkilerde yapılacak olan kimyasal müdahale yerine dayanıklı çeşitlerle yetiştiricilik yapılmasını önermişlerdir.

**Çizelge 2.4.** Mildiyö (*Plasmopara viticola*) hastalığına dayanıklılıkla ilişkili markörler ve taradığı gen bölgeleri

Markör Adı	Primerlerin Baz Dizilimi (F ve R)	Kromozom Numarası	Taradığı Gen	Dayanıklılık Orjini	Referanslar
VMC1g3.2	F: GATAGTTACCATACTTAGTCGGA R: ACTTAGCTTCAGAAGAAAATAGA	12	Rpv1 ve Rpv3	<i>Muscadinia rotundifolia</i>	Merdinoglu vd. 2003
VMC7F2	F: TCCGACTTTGGGTAATAAGC R: AAGATGACAATAGCGAGAGAGAA	18	Rpv3 ve Rpv4	Bianca (Interspecific hybrid)	Bellin vd. 2009
VMC8g9	F: AACATTATCAACAACATGGTTTTA R: ATATTCATCCTTCCCATCACTA	12	Rpv1 ve Rpv6	<i>Muscadinia rotundifolia</i>	Wiedemann-Merdinoglu vd. 2006
UDV737	F: TTTGCATGCGATACCTGAAG R: TCCTGCAGCTGTTGACGATA	18	Rpv3	Chambourcin (Interspecific hybrid)	Tummala 2021
GF18-08	F: GACAATAGCGAGAGAGAATGGG R: AGTTGGCTAAAACCTAGAGGC	18	Rpv3.1	GF.GA-47-42 and Villard blanc (Interspecific hybrid)	Zyprian vd. 2016
GF18-06	F: GGTCTCCTAGAAAGCCAAGCAA R: TCCCTTTTCCCCTGTCTCG	18	Rpv3.1	GF.GA-47-42 and Villard blanc (Interspecific hybrid)	Zyprian vd. 2016

Fröbel vd. (2019) çalışmalarında, asmada yıkıcı etkilere sahip olan *P. viticola* zararlısına karşı kimyasal mücadelelerin tarımda sürdürülebilirlik ile ters düştüğünü ve ıslah yoluyla dayanıklı asma çeşitlerinin üretilmesine önem verilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Asma ıslahında MAS kullanılmaktadır, burada amaç geliştirilen direnç lokuslarını etiketleyen markörlerin kullanımı ile direnç lokuslarının kombinasyonunu en uygun şekilde yapmaktır. Bu çalışmada, Rpv10 taşıyıcıları üzerinde yapılan karşılaştırmalı RNA dizileme analizi, dirençli ve duyarlı asmalar arasındaki farklılıkları ortaya koyarak fenilalanin amonyum liyaz ve stilben sentaz gibi büyük gen kümelerinin hızlı aktivasyonunun önemini vurgulamışlardır. Çalışma sonucunda hastalığ a dirençli ve duyarlı asmalar arasındaki farkın, duyarlı genlerin miktar artışına ve erken sinyal iletiminin etkinliği sonucunda gerçekleştiğini tespit etmişlerdir.

Tummala (2021) çalışmasında, mildiyöye dayanıklı olduğu bilinen Chambourcin (*Vitis interspesifik* mezezi) ve hassas olan Cabernet Sauvignon (*V. vinifera*) çaprazlanarak elde edilen 267 F1 genotipinde mildiyö direnci ile ilgili alelleri tespit etmişlerdir. UDV730, UDV734, UDV736, UDV737 markörleri kullanılarak, Rpv3 direnç alelleri, MAS yoluyla yeni çeşitler elde edilmesi amacıyla incelenmiştir. Ayrıca Chambourcin'in soyağacı belirleme çalışmaları sonucunda, Joannes Seyve-11369 ve Plantet'in Chambourcin'in ebeveynleri olduğunu tespit etmişlerdir.

Fischer vd. (2004) çalışmalarında, Regent X Lemberger melezinden elde edilen 153 adet materyalde hem tarla uygulamaları hem de MAS uygulamaları ile mantari hastalıklara dayanıklı olduğu bilinen Regent ile hassas olduğu bilinen Lemberger çeşidinde, *Uncinula necator* için yapılan kantitatif karakter lokus analizinde 16. bağlantı grubu ve *P. viticola* için ise 9. ve 10. bağlantı grubunda dayanıklılık karşılaştırmalarını yapmışlardır. Toplamda 185 AFLP, 137 RAPD, 85 SSR ve 22 SCAR markörünü çalışmalarında kullanmışlardır.

### 2.3. SNP Markör Tespit Çalışmaları

SNP'ler, iki birey arasındaki belirli bir DNA parçasındaki tek baz farklılıklarını temsil eder. Popülasyon içinde yüksek değişim oranına sahiptirler ve bir nükleotidin varyantı olarak tanımlanabilirler. Genetik markör analizleri için geleneksel yöntemler, pahalı ve zaman alıcıdır. Bu nedenle, SNP, STS ve SSR gibi markörler geliştirilmiştir. SNP'lerin analizi, özellikle DNA mikroarray kullanımı gibi yüksek hacimli modern tekniklere dayanır. Diğer markörlerle karşılaştırıldığında, SNP'lerin kullanımı bu analizleri otomatikleştirebilir ve genotip analizlerinin verimliliğini arttırmaktadır. SNP'lerin temel avantajı, sınırsız sayıda ve ölçülebilir olmalarıdır ve insan SNP veri tabanı dört milyondan fazla SNP içermektedir. (Sönmezoğlu vd. 2010).

Sarcan (2018) çalışmasında, 94 adet F2 havuç bitkisi ile Wisconsin Üniversitesi'nde üretilen, Illumina HiSeq 2000 sistemi ve GBS yöntemi ile *ApeKI* enzimi kullanılarak üretilen F2 bitkilerine ait DNA parçalarının STACKS bilgisayar yazılımı ile analizini gerçekleştirmiştir. Elde ettiği genotipler ile genetik bağlantı haritası oluşturulmuş ve 13 adet bağlantı grubunda toplam 1.464 adet SNP markör keşfedilmiştir.

Çelik vd. (2016) çalışmalarında, anne baba dahil olmak üzere 95 ayçiçeği bitkisinde GBS yöntemi kullanarak elde ettikleri 271.445.770 okuma sonucunda F2 popülasyonunda 46.278 SNP lokusu tanımlamışlardır ve 7.646 SNP lokusunun doğruluğu tespit edilmiştir. Yaptıkları bu çalışma ayçiçeği ıslahında kullanılmak üzere önemli bir araç olarak nitelenmiş ve SNP tabanlı diğer araştırmalara örnek olacaktır.

Yılmaz (2016) çalışmasında, GemlikX Edincik Su melezlerinden elde edilen 121 adet F1 genotipinde yeni nesil dizileme ile SNP tespit etmeyi amaçlamıştır. GBS yöntemiyle Illumina HiSeq 2000 (Illumina, San Diego, CA) cihazında üretilen her bir melez ve ebeveynde nükleotid dizisi belirlenerek SNP tabanlı genetik bağlantı haritası oluşturulmuştur. Analiz sonucunda 10.941 SNP moleküler işaretleyicisi tespit etmiştir.

GBS tekniği yeni, esnek ve yeterince yüksek verimlidir ve şu anda mevcut olan

genotipleme teknolojilerinin maliyetinden çok daha ucuz ve aynı zamanda genomik seleksiyon veya genom çapında ilişkilendirme çalışmaları için kabul edilebilir belirteç yoğunluğu sağlama yeteneğine sahiptir. Bu yöntemin uyarlanması ile bitkilerde kullanılan dizilemenin hayvan genotiplerinde de SNP tespitinde kullanılmıştır. PstI enzimi, hayvan başına 1.4 milyon okuma üreten ve başlangıçta toplam 63.697 SNP'yi tanımlayan en iyi enzimdir. Donato vd. (2013) çalışmalarında, çağrı oranları %70'in altında olan SNP'lerin çıkarılmasından sonra, ortalama 48.1 kb mesafeye sahip tüm otozomlarda 51.414 SNP ve X kromozomunda ortalama 130.3 kb mesafede 1.143 SNP tespit etmişlerdir (Donato vd. 2013).

Sun vd. (2023) çalışmalarında, üzümde aroma ve kokunun yetiştiriciler ve ıslahçılar açısından önemli bir hedef olması nedeniyle *Vitis vinifera L. cv. Muscat Alexandria* ve *V. vinifera L. cv. Noel Gülü'nün* bir melezinden 13 bireyden oluşan bir F1 popülasyonunda iki yıl boyunca 149 norizoprenoid özelliğini incelemişlerdir. 568.953 SNP markörüne dayanarak, genom çapında ilişkilendirme analizi, 18 gene ait 27 aday SNP lokusunun, üzüm meyvesindeki norizoprenoid bileşenlerin konsantrasyonları ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Gardner vd. (2014), Golden delicious x Scarlet spur elma çeşitlerinin melezlenmesi sonucu elde edilen 89 adet melez bitkileri kullanarak toplamda 273 835 SNP moleküler işaretleyicisi tespit etmişlerdir. Çok farklı türde ve heterozigot bitkilerde de kullanılması uygun maliyetli olan ve güvenilir sonuçlar elde edildiği belirtilen GBS yöntemiyle, dizileme yapılarak, istenilen özelliklerin genetik bağlantı haritasına eklenmesi ve QTL'ler ile tanımlama yapmışlardır.

Lijavetzky vd. (2007) çalışmalarında, SNP keşfi için şaraplık ve sofralık 11 üzüm genotipinde çalışmalarını yürütmüşlerdir. Çalışmaları sonucunda 230 gen parçasının dizilenmiş ve her 64 bp'de bir SNP olmak üzere 1573 SNP keşfetmişlerdir. Analizler sonucu elde edilen dizilerin %83 oranında doğru temsil yeteneğine sahip olduğunu belirtmişlerdir. SNP keşfi genotip analizleri çeşit tanımlanmasında önemli bir yere sahiptir. Üzümdeki nükleotid çeşitliliğinin mısırdaki gibi polimorfik olması SNP analizlerine önem verilmesi gerektiğini göstermektedir.

Wang vd. (2022), Çinde yürütülen bu çalışmada, çeşitlerin ayırt edilmesi, yerli çeşitlerin korunması ve çeşit tescilinde kullanılmak üzere SNP tespiti ve geliştirilmesi amacıyla 304 üzüm örneğinin dizilenmesiyle elde edilen 4.241.729 SNP'den toplam 517 yüksek kaliteli lokus taranmıştır; bunlardan 442'si KASP belirteçleri olarak tasarlanmıştır. 304 dizilenmiş üzüm örneğini tamamen ayırt eden 27 belirteçten oluşan bir set program kullanılarak belirlendi ve 23 temsili üzüm çeşidine dayanarak 26 etkili belirteç taranmış ve 348 üzüm genotipinde %95,69 oranında etkin doğrulama yapılmıştır.

Xu vd. (2016), Kyoho ve Thompson melezlemesi sonucu elde edilen Summer Black üzümünde yürütülen bu çalışmada, üzümde erkencilik mekanizmasının aydınlatılması için yeniden dizileme yöntemi ile SNP'ler tespit edilmiştir. Toplamda, Summer Black kontrol genomunda 3.692.777 SNP ve 81.223 yapı varyasyonu tespit edilmiştir. Summer Black genomunda 3.823.464 SNP tespit edilmiştir. Kontrole göre fiziksel gözlemler sonucunda ise daha erken olgunlaşma, meyve ağırlığında ve antioksidan içeriğinde artışlar olduğu tespit edilmiştir.

Bhattarai vd. (2021) çalışmalarında, *Vitis rupestris Scheele* ve *Vitis riparia Michx.*, Kuzey Amerika asmaları, melezlemesinden oluşan F1 haritalama popülasyonunda mildiyö hastalığına dayanıklılık lokuslarının tespit edilmesi amacıyla, dizileme yoluyla genotipleme (GBS) yöntemi kullanılarak annede 1177 ve babada 1115 anlamlı markör (LOD  $\geq 14$ ) tespit etmişlerdir ve haritalama yapmışlardır. SNP markör temelli bu haritalama sonucunda anne ve babada tek tek hazırlanan haritaya ek olarak bütünleşik haritalamayı da değerlendirmeye almışlardır. *Plasmopara viticola* direnci için önemli bir kantitatif özellik lokusunu (QTL) hem sera hem de in vitro-üretilmiş yaprak direnci verilerini kullanarak *V. rupestris*'in 10. kromozomunda haritalamışlardır. Elde ettikleri harita doğrulamasını, asmada cinsiyet fenotipini kullanarak elde edilen haritalama ile yapmışlardır. Çalışma sonucunda mildiyö hastalığına çoklu direnç genlerinin (Rpv 28 ve Rpv 19) doğrulaması yapılmıştır.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Bitki materyali olarak, TÜBİTAK-COST 1200273 nolu proje kapsamında oluşturulan Yalova İncisi (hassas ebeveyn) ve Kyoho (dayanıklı ebeveyn) genotiplerinin resiprokal melezlemelerinden geliştirilen farklı ploidi (diploid, triploid ve tetraploid) yapıdaki ve hastalık testlemeleri yapılan 77 adet F1 genotipi ve ebeveynlerden oluşan haritalama popülasyonu kullanılmıştır. Çizelge 3.1’ de 77 adet materyalin listesi ve ploidi seviyelerine yer verilmiştir.

Kyoho, Japonya’da geliştirilmiş, Ishiharawase (*V. vinifera*) x Centennial (*V. labrusca*) melezi olan tetraploid (4n) bir çeşittir. Dünyadaki en önemli tetraploid üzüm çeşidi olan Kyoho; 12-15 gr dane ağırlığına, %18-20 Brix değerine sahip olan Asya’nın önemli üzüm çeşididir (Özalp ve Ergönül 2013). Siyaha yakın, koyu mor taneli, verimli erkenci (Yang vd. 2017), çekirdekli, meyvesi sulu ve tatlı (Özalp ve Ergönül 2013) ve *P. viticola*’ya dayanıklı (Atak vd. 2017; Yıldırım vd. 2019) üzüm çeşitlerindedir.

Yalova İncisi, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü’nde geliştirilmiş, Hönüsü (*V. vinifera*) x Siyah Gemre (*V. vinifera*) melezidir. Erkenci çeşitler arasında yer almaktadır. Tane kabuğu rengi beyaz, oval şekilli, iri (6-7 gr) ve verimli diploid (2n) bir çeşittir. Tane kabuğu orta kalınlıktadır. Salkım sıklığı orta, salkım şekli konik, silindriktir (Uslu ve Samancı 1998).

**Çizelge 3.1.** Materyallerin listesi ve ploidi seviyeleri

Örnek Sayısı	Genotip Adı	Ploidi Seviyesi	Örnek Sayısı	Genotip Adı	Ploidi Seviyesi
1	Kyoho (K)	Tetraploid	40	60	Tetraploid (YİxK)
2	Yalova İncisi (Yİ)	Diploid	41	61	Triploid (YİxK)
3	2	Diploid (YİxK)	42	67	Triploid (KxYİ)
4	3	Diploid (YİxK)	43	68	Triploid (KxYİ)
5	4	Diploid (YİxK)	44	69	Diploid (KxYİ)
6	5	Diploid (YİxK)	45	70	Triploid (KxYİ)
7	6	Diploid (YİxK)	46	71	Triploid (KxYİ)
8	8	Diploid (YİxK)	47	73	Triploid (KxYİ)
9	9	Diploid (YİxK)	48	74	Triploid (KxYİ)
10	10	Diploid (YİxK)	49	75	Triploid (KxYİ)

(Devamı Arkada)

Çizelge 3.1'in devamı.

11	11	Diploid (YİxK)	50	76	Triploid (KxYİ)
12	12	Diploid (YİxK)	51	77	Triploid (KxYİ)
13	15	Diploid (YİxK)	52	78	Triploid (KxYİ)
14	16	Diploid (YİxK)	53	79	Triploid (KxYİ)
15	17	Diploid (YİxK)	54	80	Triploid (KxYİ)
16	18	Diploid (YİxK)	55	81	Triploid (KxYİ)
17	19	Diploid (YİxK)	56	83	Triploid (KxYİ)
18	21	Triploid (YİxK)	57	84	Triploid (KxYİ)
19	24	Diploid (YİxK)	58	85	Triploid (KxYİ)
20	25	Diploid (YİxK)	59	86	Triploid (KxYİ)
21	27	Triploid (YİxK)	60	87	Triploid (KxYİ)
22	28	Diploid (YİxK)	61	88	Tetraploid (KxYİ)
23	29	Diploid (YİxK)	62	89	Triploid (KxYİ)
24	30	Diploid (YİxK)	63	90	Triploid (KxYİ)
25	33	Diploid (YİxK)	64	91	Triploid (KxYİ)
26	34	Diploid (YİxK)	65	92	Tetraploid (KxYİ)
27	37	Triploid (YİxK)	66	93	Triploid (KxYİ)
28	38	Diploid (YİxK)	67	94	Triploid (KxYİ)
29	39	Triploid (YİxK)	68	96	Triploid (KxYİ)
30	40	Triploid (YİxK)	69	97	Tetraploid (KxYİ)
31	41	Tetraploid (YİxK)	70	98	Triploid (KxYİ)
32	43	Diploid (YİxK)	71	99	Triploid (KxYİ)

(Devamı Arkada)

**Çizelge 3.1**'in devamı.

33	46	Triploid (YİxK)	72	100	Triploid (KxYİ)
34	47	Triploid (YİxK)	73	101	Triploid (KxYİ)
35	48	Triploid (YİxK)	74	102	Tetraploid (KxYİ)
36	49	Triploid (YİxK)	75	103	Triploid (KxYİ)
37	56	Triploid (YİxK)	76	104	Triploid (KxYİ)
38	57	Diploid (YİxK)	77	105	Triploid (KxYİ)
39	59	Diploid (YİxK)			

### 3.2. Metot

#### 3.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için bitki yaprak örnekleri CTAB tampon çözeltisinde ezilerek Doyle ve Doyle (1987)'e göre izolasyonlar gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA örneklerinin kalite ve miktarları agaroz jel sisteminde 100 V gerilim altında 30 dakika koşturulduktan sonra, UV ışık altında DNA'nın jel üzerindeki pozisyonuna bakılarak değerlendirme yapılmıştır. Her bir örnek için elde edilen DNA'nın daraltılmış kütüphanesi ddRAD metoduna göre modifiye edilerek hazırlanmıştır (Peterson vd. 2012).

#### DNA İzolasyonu Basamakları:

1. Çalışma materyali olan her bitkinin genç yapraklarından 0.2 g yaprak örneği konik eppendorf tüp içinde yaprak bilye yardımıyla QIAGEN TissueLyser II cihazı ile parçalanmıştır.

2. Parçalanması tamamlanan her bir örneğin üzerine 0.8 ml ekstraksiyon çözeltisi [1.4 M of NaCl, 20 mM of EDTA, 100 mM of Tris-HCL (pH 8), %2 CTAB ve 1.2 µl of beta-mercaptoethanol] eklenmiş ve 1 dk. Vortex işlemi yapılarak -20 °C'de 30 dk. bekletilmiştir.

3. Derin dondurucudan çıkarılan eppendorf tüplerin çözünmesi beklendikten sonra 1 dk. Vortex işlemi yapılmıştır.

4. Vortex işlemi sonrası tüpler 65 °C'de her 5 dakikada bir alt üst edilerek toplamda 15 dk. inkübe edilmiştir.

5. İnkübasyon sonrasında 15.000 rpm'de 5 dakika santrifüj işlemi yapılmıştır.

6. Sıvı kısımdan 600 µl alınıp, yeni eppendorf tüpe aktarılmış ve sonrasında üzerine eşit hacimde 24:1 oranında hazırlanmış olan kloroform: isonaml alkolden eklenip tüpler alt üst edilmiştir.

7. 15.000 rpm'de 10 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj edilen örneklerde tüpün alt kısmında kloroform ve üst fazında ise DNA'nın bulunduğu sıvı bulunmaktadır. Tüpün içerisinde bulunan üst faz (süpernatant kısım) yeni tüpe aktarılmış ve üzerine 350 µl isoproponal eklenerek, pipetaj işlemi yapılmıştır. 30 dk. derin dondurucuda bekletilmiştir.

8. Derin dondurucudan çıkarılan tüpler 15.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.

9. Dipteki pelete dikkat edilerek eppendorf tüplerdeki sıvı kısım döküldükten sonra pelet %70'lik alkol ile yıkanmış ve 15.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra sıvı kısım tekrar dökülerek tüpler kurumaya bırakılmıştır.

11. Oda sıcaklığında kurutma işleminden sonra pelet 50 µl 20 mM Tris HCL (ph:8) solüsyonu ile çözündürülmesi sonrasında -20 °C'de saklanmıştır.

### **3.2.2. GBS yöntemi ile nükleotid sekanslarının belirlenmesi, SNP'lerin tespit edilmesi ve geliştirilen CAPS markörün test edilmesi**

Bu yöntemde kısaca, her bir asma yaparağından elde edilmiş DNA'lar kesim enzimleri *VspI* (ATTAAT) and *MspI* (CCGG) ile eşzamanlı kesilmiş ve sonrasında manyetik boncuklar ile temizlik ve büyüklük ayrımı yapılmıştır (300-600 bp). Temizlenen DNA'lara barkod içeren adaptörler eklenmiş ve bu adaptörler ligase enzimi ile kesim enziminin overhang kısımlarına bağlanmıştır. Ardından tekrar temizleme işlemi gerçekleştirilerek PCR aşamasına hazır hale getirilmiştir. Temizlenen ürünlerin 5' ve 3' uçlarına Illumina chiplerine bağlanmasını sağlayacak diziler spesifik PCR işlemi ile eklenmiş ve zenginleştirilmesi sağlanmıştır. PCR bitimini takiben en son temizlik ve büyüklük ayrımı yapılarak bireysel DNA'lara ait kütüphaneler agaroz jel sisteminde kontrol edilmiştir. İstenen büyüklük (350-550 bp) aralığında smear yapı gösteren kütüphaneler uygun yoğunlukta (equimolar concentration and size) birleştirilerek Illumina HiSeq SBS sisteminde 2\*150 bp okumaya tabii tutulmuştur.

Dizileme işlemi sonrasında fastq dosyaları öncelikle "je-suite" programı ile demultiplex edilmiştir. Daha sonra, her bir örneğe ait bireysel fastq dosyası "fastp" algoritması kullanılarak Illumina adaptörlerinden ve düşük kalite okumalarından arındırılmıştır. Temizlenen okumalar "bwa" programı kullanılarak referans asma genomuna hizalanmıştır. Hizalanan her bir örneğe ait "bam" dosyası "freebayes" programına beslenerek 15X coverage filtresi ile SNP'ler ortaya çıkarılmıştır. Bu işlem sonucunda elde edilen her bir genotipe ait "vcf" dosyası "vcfcombine" ile birleştirilecek ve TASSEL programında kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Dizileme ile genotipleme analizlerinin ilk adımı, üzüm genomunun uygun kesim enzimleriyle kesilmesi ve GBS kütüphanesi oluşturulmuştur. Bu kesim işlemi için üzüm genomuna uyumluluğu önceki çalışmalara göre belirlenen ApeKI kesim enzimi kullanılmıştır (Guo vd. 2019). Bu yöntemde kısaca, her bir asma yaparağından elde

edilmiş DNA'lar kesim enzimler ile eşzamanlı kesilmiş ve sonrasında manyetik boncuklar ile temizlik ve büyüklük ayırımı yapılmıştır. Temizlenen DNA'lara barkod içeren adaptörler eklenmiş ve bu adaptörler ligase enzimi ile kesim enziminin overhang kısımlarına bağlanmıştır. Ardından tekrar temizleme işlemi gerçekleştirilerek PCR aşamasına hazır hale getirilmiştir.

Kesilen genomik dizilere adaptör dizilerin bağlanması ve dizilerin bir yeni nesil dizileme platformu olan Illumina HiSeq 2000 ile dizilenmiştir (Elshire vd. 2011). Temizlenen ürünlerin 5' ve 3' uçlarına Illumina chiplerine bağlanmasını sağlayacak diziler spesifik PCR işlemi ile eklenmiş ve zenginleştirilmesi sağlanmıştır. PCR bitimini takiben en son temizlik ve büyüklük ayırımı yapılarak bireysel DNA'lara ait kütüphaneler agaroz jel sisteminde kontrol edilmiştir. İstenen büyüklük (350-550 bp) aralığında smear yapı gösteren kütüphaneler uygun yoğunlukta (equimolar concentration and size) birleştirilerek Illumina HiSeq SBS sisteminde 2\*150 bp okumaya tabii tutulmuştur.

Oluşturulan yeni nesil diziler Stacks (Catchen vd. 2011) ve Tassel GBS (Glaubitz vd. 2014) programı kullanılarak analiz edilmiştir. GBS analizleri sonucunda bulunan SNP markörlerinin yerleri dikkate alınarak FASTA formatına çevrilmiştir. Bu işlem için BioEdit (Hall vd. 2011) programı kullanılmıştır. Bu analizler, her bir genotipe ait dizilerin barkotlar yardımıyla hizalanmasını ve hizalanan dizilerden etiket diziler oluşturularak bu etiket dizilerin üzüm genomunda haritalanmasını kapsamaktadır. Böylelikle hem geliştirilen SNP markörlerinin genomdaki yeri hem de her bir bireyin bu SNP bakımından genotipi belirlenmiştir.

Geliştirilen CAPS markörün test edilmesi amacıyla klasik hastalık testleme sonuçları belli olan hem projemizdeki materyaller hem de Alphonse Lavallée X Regent melezlemelelerinden elde edilen F1 materyaller (Uzun vd. (2018)'nin 1150176 numaralı TÜBİTAK projesinden elde edilmiştir) kullanılarak moleküler analiz sonuçları ile karşılaştırma yapılmıştır. Genotiplerin klasik hastalık teslemeleri, koparılmış yapraklar üzerinde suni inokülasyon çalışmaları ve dayanıklılığın belirlenmesi yapılmıştır. Koparılmış yapraklar üzerinde dayanıklılığın belirlenmesi hem sporulasyon yoğunluğuna bağlı sporulasyon şiddetini belirleyerek hem de sporulasyon alanını ölçerek gerçekleştirilmiştir. Sporulasyon alanına göre değerlendirmede Özer vd. (2021) tarafından oluşturulan ve aşağıda verilen skala kullanılmıştır (Çizelge 3.2). Sporulasyon şiddetine göre değerlendirme dayanıklılık skalası (Boso vd. 2006) dikkate alınarak genotiplerin dayanıklılık düzeyine göre gruplandırılmıştır. Skala Çizelge 3.3'de verilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Sporulasyon alanına göre dayanıklılık skalası (mm<sup>2</sup>)

Alan Skala	
0	Son Derece Dayanıklı (ER)
0.1-1.0	Yüksek Derecede Dayanıklı (HR)
1.1-2	Dayanıklı (R)
2.1-10.0	Hassas (S)
10.1-15	Yüksek Derecede Hassas (HS)
≥ 15.1	Son Derece Hassas (ES)

**Çizelge 3.3.** Sporulasyon şiddetine göre dayanıklılık skalası (%)

<b>Hastalık Şiddeti Skala</b>	
<b>0</b>	Son Derece Dayanıklı (ER)
<b>0,1-5.0</b>	Yüksek Derecede Dayanıklı (HR)
<b>5,1-25.0</b>	Dayanıklı (R)
<b>25,1-50.0</b>	Hassas (S)
<b>50,1-75.0</b>	Yüksek Derecede Hassas (HS)
<b>75,1-100</b>	Son Derece Hassas (ES)

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Gaforio vd. (2015)'in çalışmalarında belirttiği üzere *V. labrusca* genotipleri ve Amerika'da nemli bölgelerde yetişen melez çeşitlerin, mildiyö ve külleme hastalıklarına *V. vinifera* çeşitlerinden daha dayanıklı olduğu bizimde çalışmamızda materyal olarak kullandığımız Kyoho'nun *V. labrusca* kanı taşıması mildiyö hastalığına dayanıklılık genlerinin varlığını ve dayanıklı genlere sahip olduğu bilinen genotipler ile ıslah çalışmalarının önemini göstermiştir.

Üzüm genomunu daha detaylı tarayabilmek amacıyla çalışmada SNP'lerden yararlanılmıştır. SNP, canlıların birçoğunda görülen, ortaya çıkmasında eklenme ve silinmelerle birlikte nükleotidlerde meydana gelen değişimler ve bu değişimlerin markörler yardımıyla ıslah çalışmalarında kullanılan etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Filiz ve Koç 2011). Son yıllarda, tek nükleotiddeki farklılıkları ayırabilen bu yöntem oldukça önemli olmuştur ve kullanımı asmada da hızla artmaktadır (Emanuelli vd. 2013; Zyprian vd. 2016). Çalışmada, hassas ebeveyn olarak Yalova İncisi ve dayanıklı ebeveyn olarak Kyoho melezlemesinden geliştirilen F1 popülasyonu üzerinde, mildiyö (*P. viticola*) hastalığına dayanıklılık lokusları ile ilişkili SNP markörleri belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda *P. viticola*'nın yapay inokülasyonundan sonra sporülasyon yoğunluklarına göre direnç seviyesi açısından puanlandırılmıştır. Kyoho X Yalova İncisi yapraklardaki lezyon alan ortalaması ve dayanıklılık değerlendirmesi sonucunda toplam 77 genotipten (14 genotip kurudu) 63 adedinde çalışma yapılmış olup, dayanıklı olduğunu bildiğimiz Kyoho'nun da dahil olduğu 17 birey (%27) son derece dayanıklı, 12 birey (%19,04) yüksek derecede dayanıklı, 7 birey (%11,11) dayanıklı, Yalova İncisi'nin de dahil olduğu 23 birey (%36,50) hassas ve 4 birey (%6,34) yüksek derecede hassas olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

63 adet bireyde yapılan hastalık şiddeti analizlerinden elde edilen sonuçlar ise şu şekildedir; Kyoho'nun da dahil olduğu 17 birey (%27) son derece dayanıklı, 7 birey (%11,11) yüksek derecede dayanıklı, 17 birey (%27) dayanıklı, Yalova İncisinde dahil olduğu grupta 11 birey (%17,46) hassas, 9 birey (%14,28) yüksek derecede hassas ve 2 birey (%3,17) son derece hassas olarak nitelendirilmiştir (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.1.** Kyoho X Yalova İncisi lezyon alan ortalaması ve dayanıklılık derecesi

Sıra no	Örnek No	Alan Ortalama (mm <sup>2</sup> )	Dayanıklılık Derecesi
1	2	0,00	Son Derece Dayanıklı
2	4	0,00	
3	6	0,00	
4	8	0,00	
5	10	0,00	
6	11	0,00	
7	12	0,00	
8	16	0,00	
9	18	0,00	
10	21	0,00	
11	24	0,00	
12	25	0,00	
13	27	0,00	
14	29	0,00	
15	30	0,00	
16	73	0,00	
17	<b>KYOHO</b>	0,00	
18	96	0,20	Yüksek Derecede Dayanıklı
19	77	0,23	
20	1	0,24	
21	49	0,32	
22	19	0,37	
23	80	0,48	
24	3	0,48	
25	5	0,49	
26	67	0,70	
27	41	0,72	
28	89	0,78	
29	59	0,87	
30	78	1,08	Dayanıklı
31	17	1,15	
32	36	1,24	
33	38	1,47	
34	93	1,66	
35	90	1,84	
36	63	1,87	

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.1'in devamı.

37	15	2,01	Hassas	
38	61	2,16		
39	64	2,32		
40	86	2,70		
41	40	2,83		
42	84	2,90		
43	102	3,02		
44	Y. İNCİSİ	3,03		
45	88	3,13		
46	74	3,35		
47	105	4,26		
48	76	4,30		
49	62	4,38		
50	81	4,72		
51	34	4,80		
52	87	4,86		
53	68	5,78		
54	85	6,92		
55	83	7,34		
56	75	7,68		
57	99	8,24		
58	91	8,35		
59	104	8,39		
60	103	10,80		Yüksek Derecede Hassas
61	100	11,04		
62	69	13,00		
63	70	14,07		

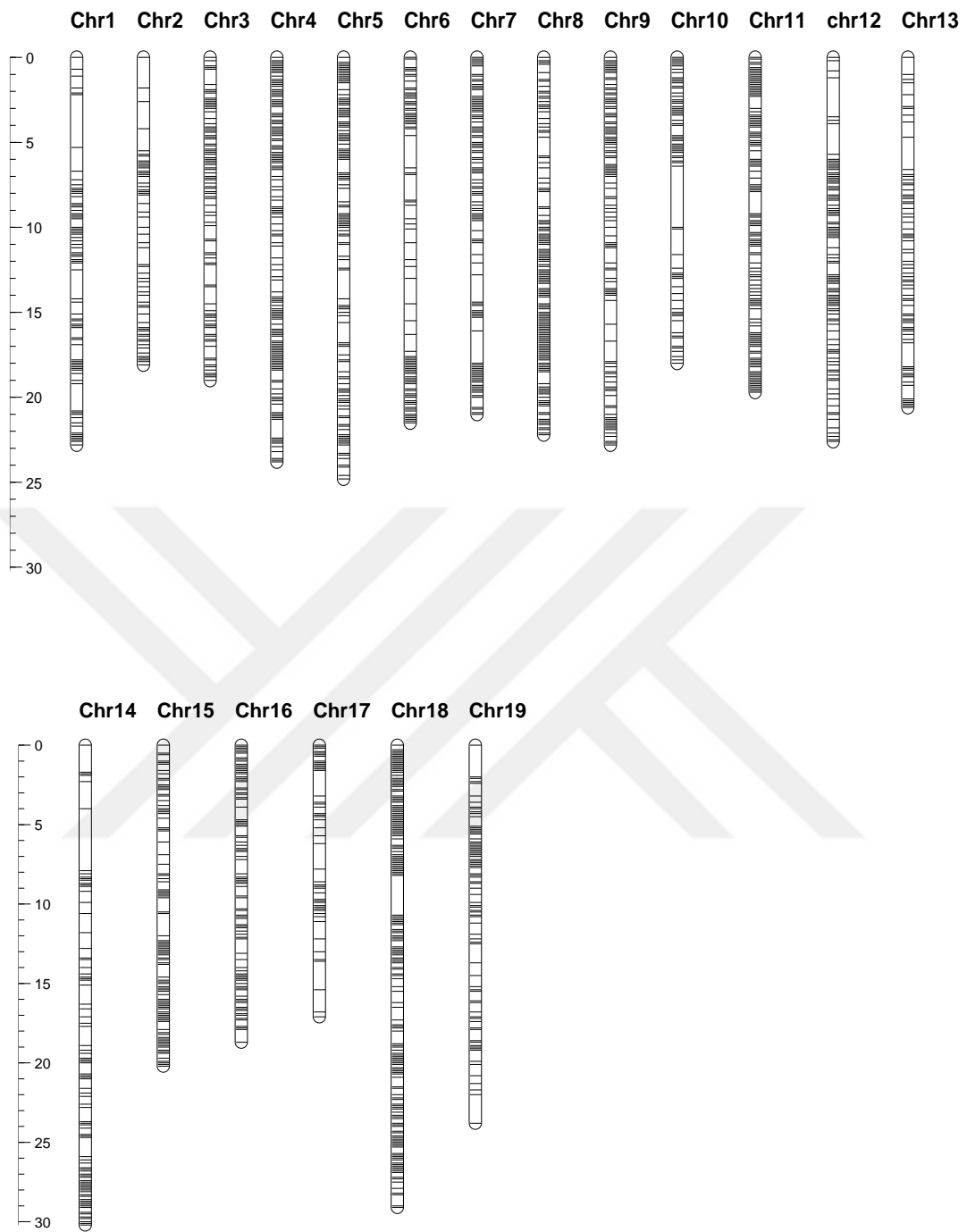
**Çizelge 4.2.** Kyoho X Yalova İncisi hastalık şiddeti sonuçları (%)

Sıra no	Örnek No	Hastalık şiddeti (%)	Hastalık şiddeti (%)
1	2	0,00	Son Derece Dayanıklı
2	4	0,00	
3	6	0,00	
4	8	0,00	
5	10	0,00	
6	11	0,00	
7	12	0,00	
8	16	0,00	
9	18	0,00	
10	21	0,00	
11	24	0,00	
12	25	0,00	
13	27	0,00	
14	29	0,00	
15	30	0,00	
16	73	0,00	
17	<b>KYOHO</b>	0,00	
18	1	2,50	Yüksek derecede Dayanıklı
19	3	2,50	
20	5	2,50	
21	19	2,50	
22	41	2,50	
23	89	3,75	
24	49	5,00	
25	77	7,50	Dayanıklı
26	80	7,50	
27	17	10,00	
28	67	10,00	
29	78	12,50	
30	96	12,50	
31	15	15,00	
32	38	18,33	
33	36	18,75	
34	93	20,00	
35	74	22,50	
36	84	22,50	

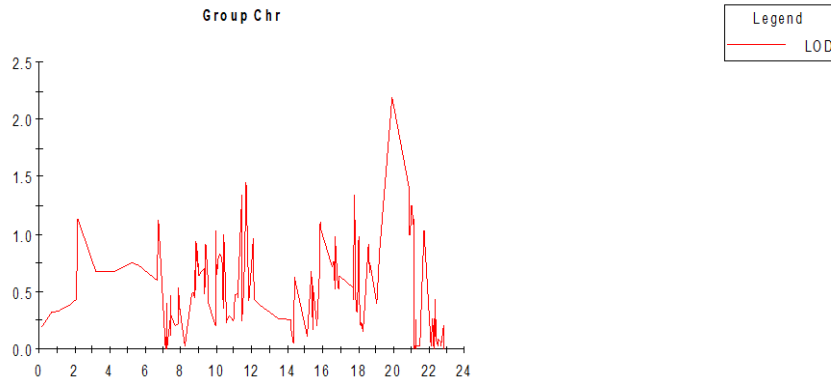
(Devamı Arkada)

Çizelge 4.2'nin devamı.

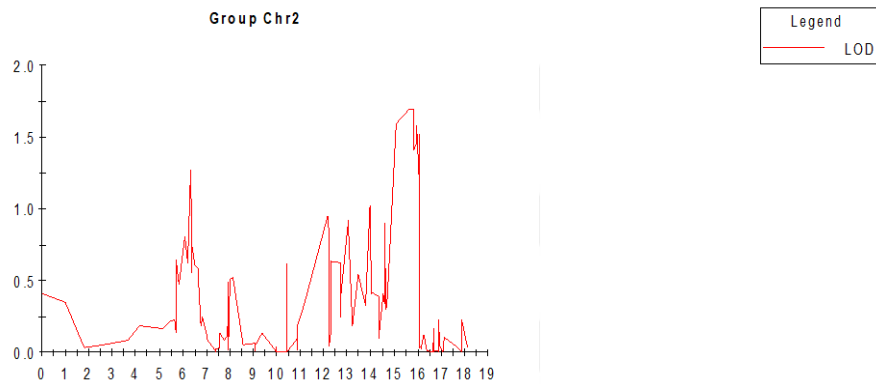
37	86	22,50	Dayanıklı
38	59	25,00	
39	63	25,00	
40	90	25,00	
41	91	25,00	
42	88	26,25	Hassas
43	34	27,50	
44	102	30,00	
45	64	33,75	
46	62	37,50	
47	81	40,00	
48	105	40,00	
49	104	45,00	
50	40	45,00	
51	76	48,75	
52	<b>Y. İncisi</b>	48,75	
53	103	55,00	Yüksek Derecede Hassas
54	99	55,00	
55	75	58,75	
56	68	59,17	
57	69	60,00	
58	87	61,25	
59	61	62,50	
60	85	67,50	
61	100	75,00	
62	70	80,00	
63	83	92,50	



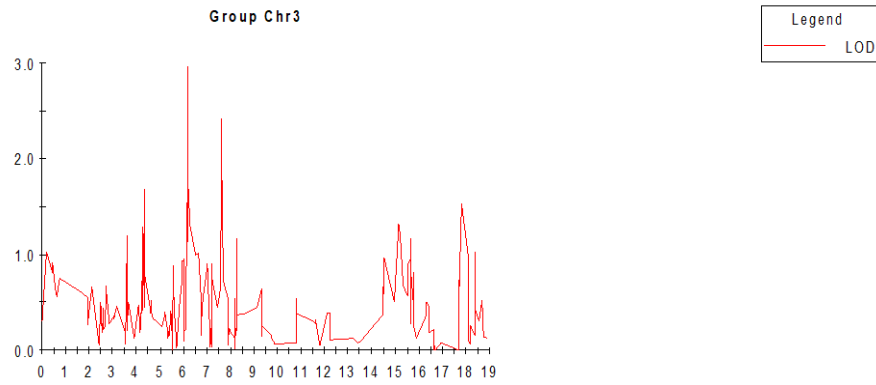
Şekil 4.1. SNP tabanlı fiziksel harita



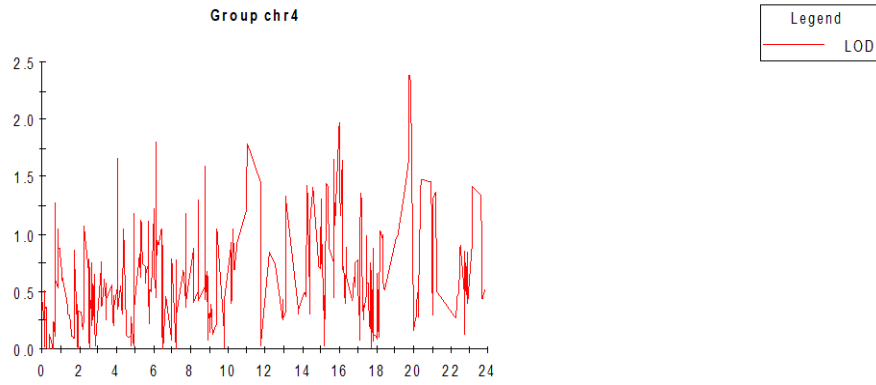
Şekil 4.2. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 1)



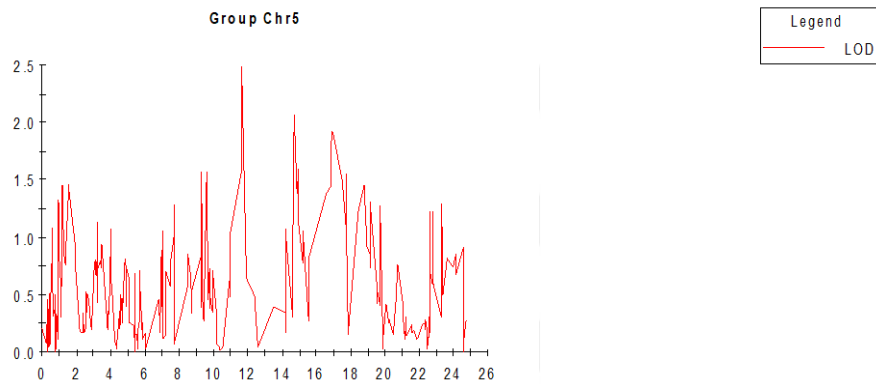
Şekil 4.3. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 2)



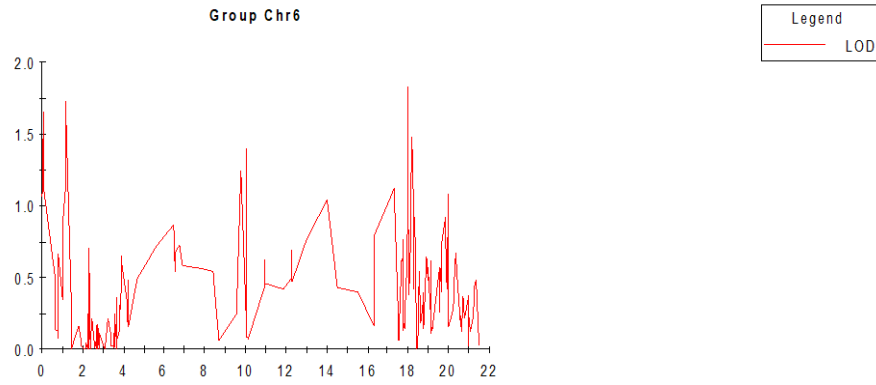
Şekil 4.4. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 3)



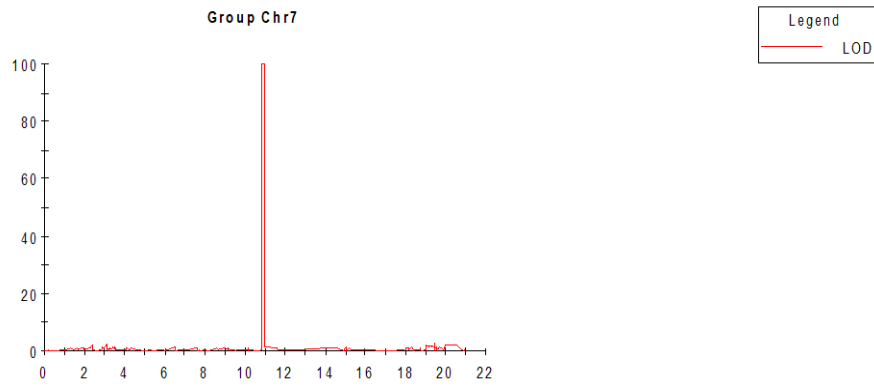
Şekil 4.5. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 4)



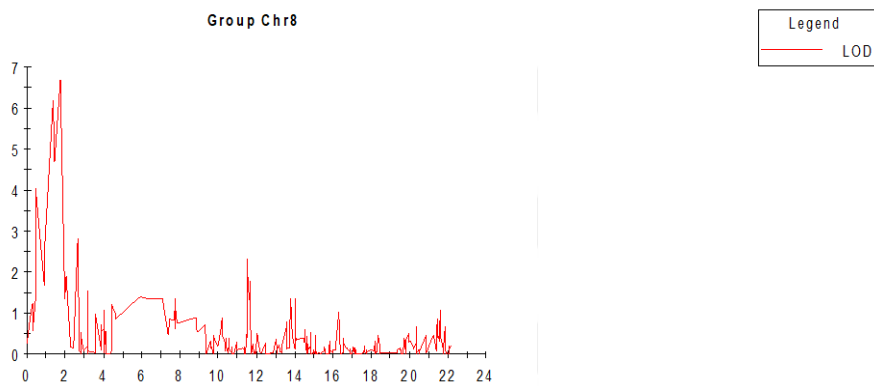
Şekil 4.6. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 5)



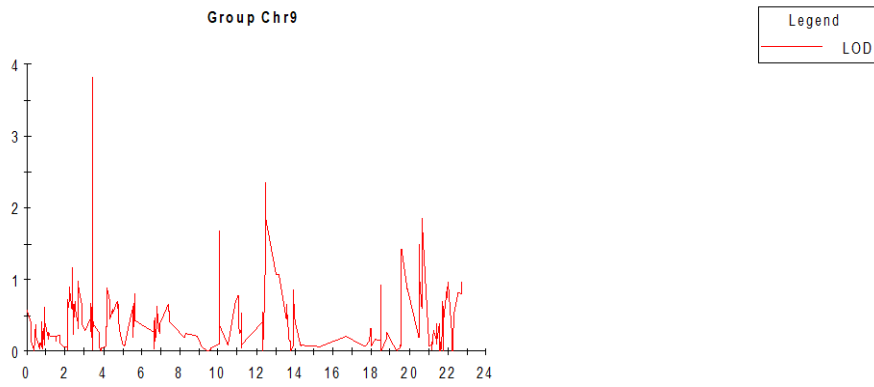
Şekil 4.7. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 6)



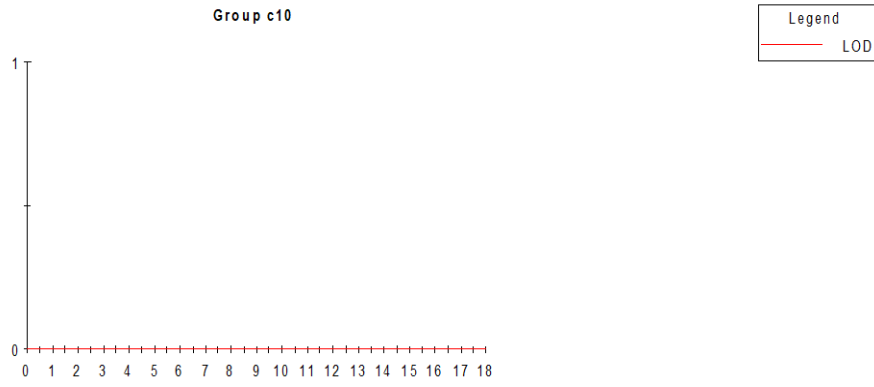
Şekil 4.8. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 7)



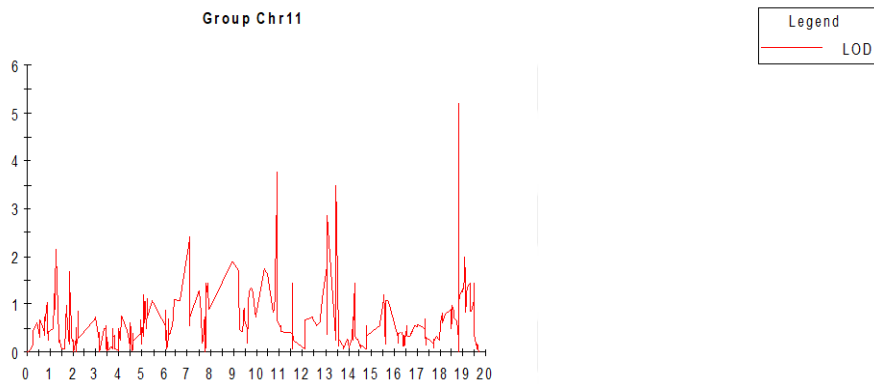
Şekil 4.9. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 8)



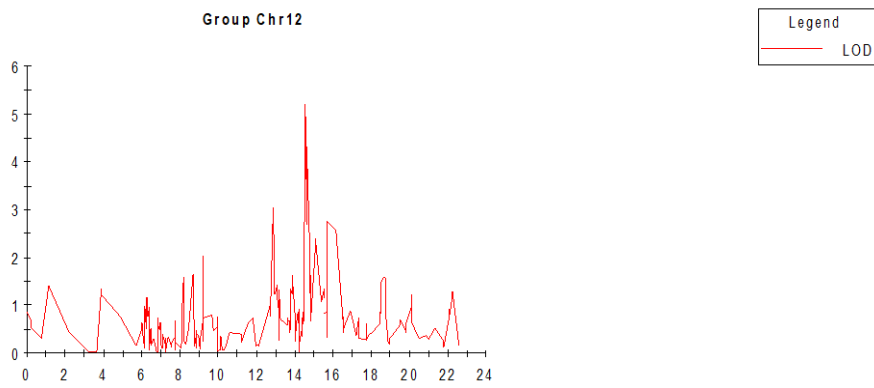
Şekil 4.10. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 9)



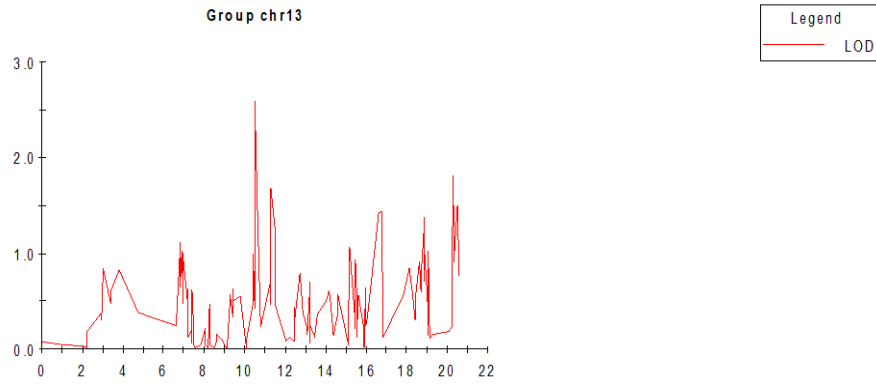
Şekil 4.11. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 10)



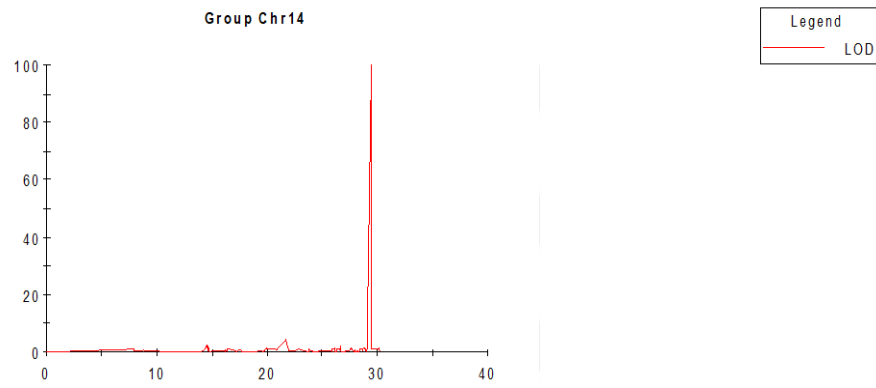
Şekil 4.12. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 11)



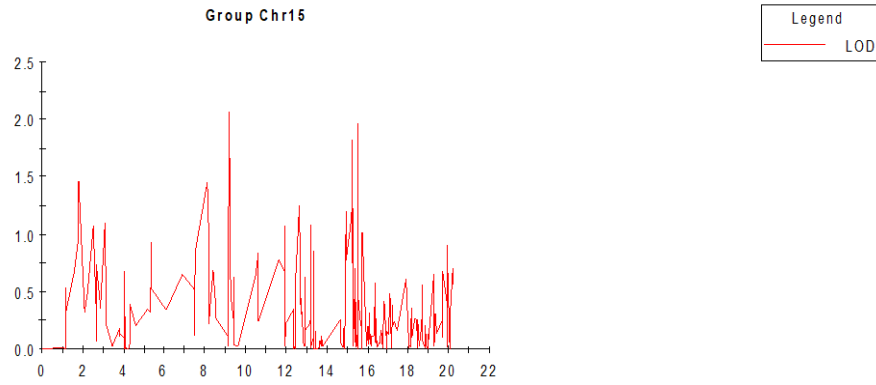
Şekil 4.13. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 12)



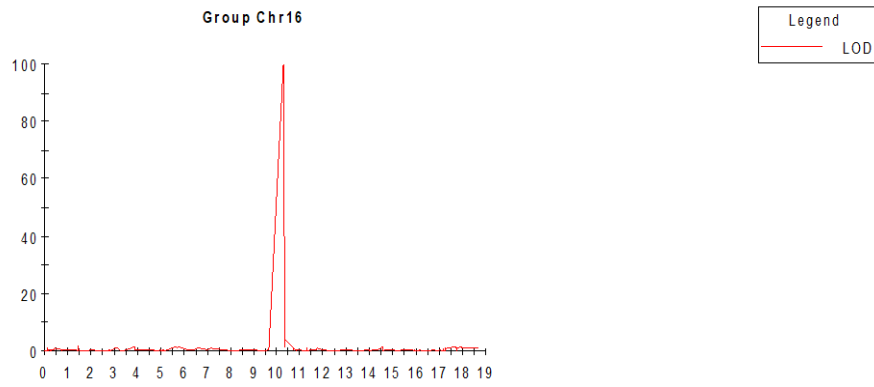
Şekil 4.14. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 13)



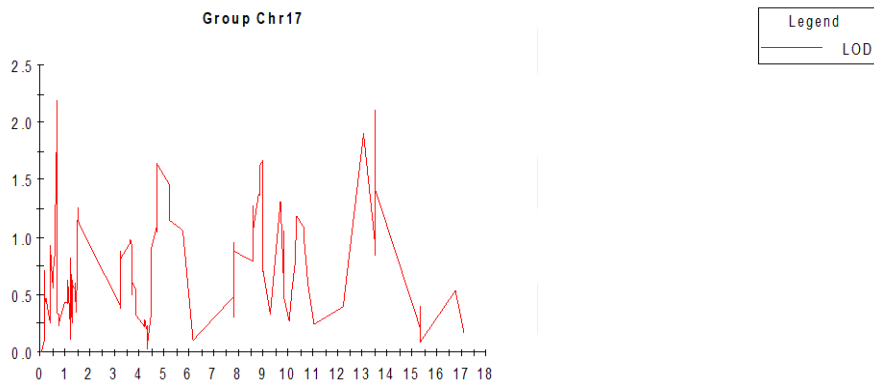
Şekil 4.15. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 14)



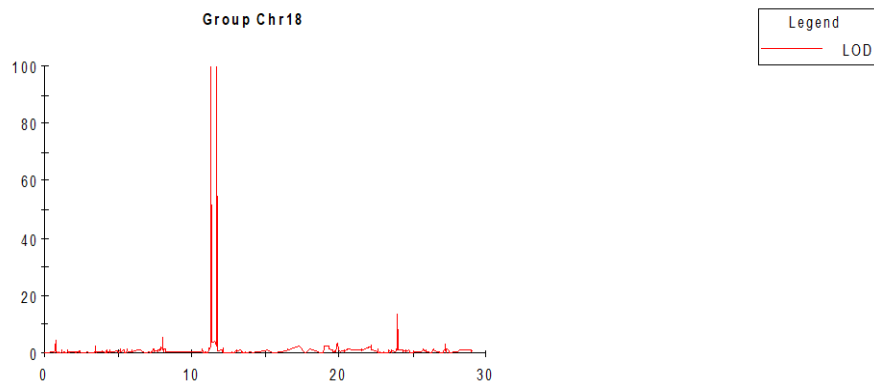
Şekil 4.16. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 15)



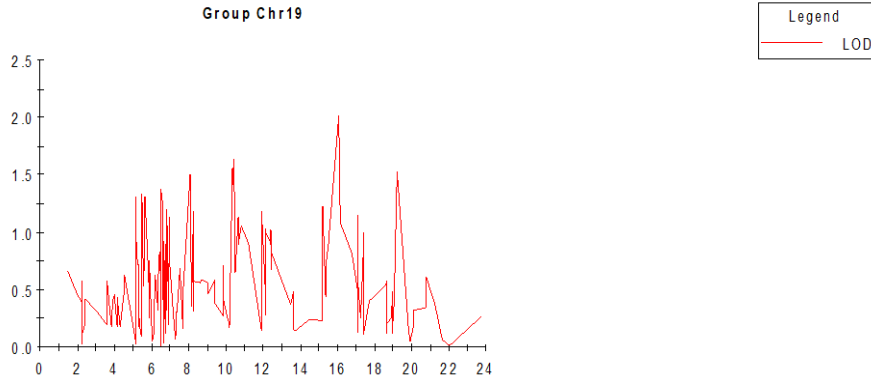
Şekil 4.17. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 16)



Şekil 4.18. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 17)



Şekil 4.19. QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 18)



**Şekil 4.20.** QTL'lerin LOD değerleri grafiği (Kromozom 19)

Şekil 4.2- Şekil 4.20 arasında verilen grafiklerde yer alan 7, 8, 11, 12,14 16 17 ve 18. kromozomlarda *P. viticola*'ya dayanıklılıkla ilişkilendirilen güçlü QTL'ler tespit edilmiştir.

Çalışmalar kapsamında mildiyöye dayanıklılığı kontrol eden QTL'lerin üzüm genomunda haritalanabilmesi için yüksek çözünürlüklü SNP verileri kullanılmıştır. QTL analizlerinde MapQTL programında yer alan CIM (kompozit aralık haritalama programı) kullanılarak yapılmıştır. LOD değeri 3'den büyük lokuslar QTL olarak değerlendirilmiştir. Çizelge 4.3'da üzüm genomunda yer alan SNP markörlerinin CIM analizi sonucu hesaplanan LOD değerleri ve yüzde etki değerleri yer almaktadır. Analizler sonucunda toplam 11 adet QTL'in *P. viticola*'ya dayanıklılığı kontrol ettiği belirlenmiştir. Çizelge 4.3' da, toplam 4 kromozomda yer alan QTL'lerin etki değerleri incelendiğinde minimum %29,3 ve maksimum %100 değerlerine sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.3 incelendiğinde 11 adet *P. viticola* hastalığına dayanıklılığı kontrol eden QTL'lerin yüzde etkileri verisinde 4 adet %100 etkiye sahip QTL listelenmiştir.

**Çizelge 4.3.** Belirlenen QTL'lerin lokasyonları, LOD değerleri

QTL Adı	Grup	Kromozom Lokasyonu	LOD	% Exp
Mr7.1	Chr7	10800732	99,99	<b>100</b>
Mr14.1	Chr14	21610628	4,26	70
Mr14.2	Chr14	29403464	99,99	<b>100</b>
Mr14.3	Chr14	14569280	3,05	31,9
Mr16.1	Chr16	10263968	99,99	<b>100</b>
Mr18.1	Chr18	767326	4,81	74,5
Mr18.2	Chr18	7971115	3,19	68,4
Mr18.3	Chr18	11265938	5,4	79,3
Mr18.4	Chr18	19868374	3,54	29,3
Mr18.5	Chr18	23992103	13,84	91,3
Mr18.6	Chr18	11720927	99,99	<b>100</b>

Haritalama populasyonundaki genotip sayısı da önemlidir. Asmada, mildiyö fungal hastalığına dayanıklılık sağlayan genle yakın ilişkili markör elde etmek amacıyla 280 adet RAPD primerlerinden yararlanılmış ve 60 adet F1 genotipi haritalama populasyonu olarak kullanılmıştır (Luo vd. 2001). Peterlunger vd. (2003), Avrupa asmalarında külleme, mildiyö ve kurşuni küf gibi hastalılarda dayanıklılığı araştırmak amacıyla, genotip sayısı birkaç taneyle 136 arasında değişen farklı populasyonlar oluşturmuş ve 371 adet SSR primeri kullanmıştır. Dayanıklı çeşitlerle yetiştiricilik yapmak en etkin mücadeleler arasındadır. Bununla birlikte, ıslah çalışmalarında, biyotik/abiyotik stres koşullarına dayanık/tolerant çeşit elde etme çalışmalarının en önemli kısmını genotiplerin testlenmesi ve sonuçların değerlendirilmesi oluşturmaktadır (Uzun vd. 2018). Bu kapsamda, moleküler markörleri kullanarak karmaşık kalıtıma sahip olan birden çok gen tarafından idare edilen kantitatif karakterlerin (QTL) haritalanması (Tanksley 1983; Buck vd. 2000; Madini vd. 2003; Riaz vd. 2003; Ferreira vd. 2006; Welter vd. 2007), gene yakın moleküler markörlerin elde edilmesi ve MAS amaçlı kullanımı ıslahçılara büyük avantajlar sağlamaktadır (Mejia vd. 2003). Bu amaçla, asma yetiştiriciliğinde büyük sorun olan önemli fungal hastalıklardan külleme ve mildiyö hastalıkları için birçok çalışma yürütülmüş (Pauquet vd., 2001; Reisch, 2001) ve MAS amaçlı kullanılacak markörler elde edilerek ıslah çalışmalarında kullanımı sağlanabilmiştir (Pauquet vd. 2001; Vezzulli vd. 2019; Akkurt vd. 2022).

Regent x Lemberger çeşidinin melezlemesiyle elde edilen mildiyöye dayanıklılıkla ilişkili Rpv3, Rpv4 ve Rpv11 genlerin; 18, 4 ve 5 numaralı kromozom üstünde olduğu bulunmuştur (Bellin vd. 2009; Welter vd. 2007; Fischer vd. 2004; Uzun vd. 2018). Bu tez çalışması sonucunda da mildiyöye dayanıklılıkla ilişkilendirilen QTL'lerin ve tespit edilen SNP markörlerinin 18. kromozomda yer aldığı sonucu literatürdeki çalışmalar ile çalışmamızın paralellik gösterdiğini ve daha önceki çalışmalarda tespit edilmiş olan kromozomlardan farklı olarak 7, 14 ve 16. kromozomda da *P. viticola*'ya dayanıklılıkla ilişkilendirilen genlerin varlığının tespit edilmesi çalışmayı özgün kılmaktadır.

SNP analizi yapılan Yalova İncisi x Kyoho melezi genotipler F1 genotipleri verifikasyon için kullanılmıştır. Belirlenen primelerle yapılan PCR çalışmaları ve kesim enzimi sonucundan elde edilen ürüne göre genotiplerin dayanıklılık ve hassaslık durumu belirlenmiştir. Chr18 için kesim enzimi çalışmamıştır, bu nedenle sonuç verilememiştir. Bununla birlikte, Mr14.1, Mr14.2, Mr14.3 ve Mr16.1 için monomorfik band elde edilmiştir (Şekil 4.21). Agaroz jelde bantlar arasındaki mesafenin az olması durumunda ayırt etmek zorlaşmakta ve monomorfik olarak görülebilmektedir. Bu nedenle, yalnız Chr 7 için değerlendirme yapılabilmektedir ve moleküler testlemelerin klasik testlemelerle örtüşme oranları % olarak tespit edilmiştir.

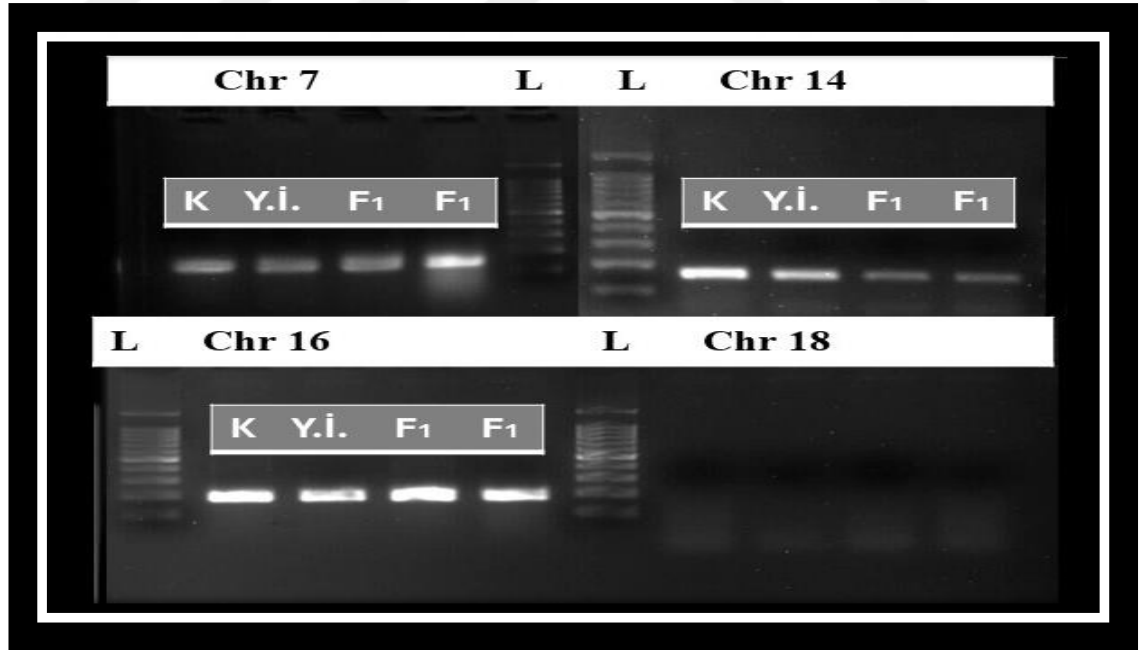
Çalışmada monomorfik band elde ettiğimiz Chr 14 SNP ve Chr 16 SNP markörlerinde kullanılan kesim enziminin değiştirilmesi ile bundan sonraki çalışmalarda daha başarılı sonuçlar elde edilebileceği öngörülmektedir.

Çalışmada elde edilen SNP primerleri ve kesim enzimleri Çizelge 4.4'de yer verilmiştir. 4 farklı SNP primeri için 3 farklı kesim enzimi kullanılmıştır.

Çizelge 4.4. SNP primerleri ve forward reverse baz dizilimleri ve kesim enzimleri

SNP Primerleri	Forward Reverse Baz Dizilimleri	Kesim Enzimleri
<b>Chr7_SNP</b>	F: TTTTGTCAAGGCTAGTCC R: ATTTGGGATAAAAATTGGATCAC	BglII
<b>Chr14_SNP</b>	F: GGTGCAAACCTTTATATTCATGA R: CTTGTTCTATCACGTGAATCAAAT	PmlI
<b>Chr16_SNP</b>	F: CTCTGAGGAATTTTCTAGTAATGT R: CCAAATCTAGATTCAGAGACCCTAA	ApoI HF
<b>Chr18_SNP</b>	F: TTAGATGATGCTATCCGGATA R: CAGAGGATATGAACCCACTAC	ApoI HF

Primerlerden Chr18 SNP ile yapılan PCR çalışmalarında amplifikasyon elde edilememiştir. Kesim öncesi Chr7 SNP, Chr14 SNP, Chr16 SNP ve Chr 18 SNP primerinin agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 4.21’de verilmiştir. Şekil 4.22’de ise kesim enzimlerine göre ebeveynlerin vermiş olduğu band desenleri görülmektedir.

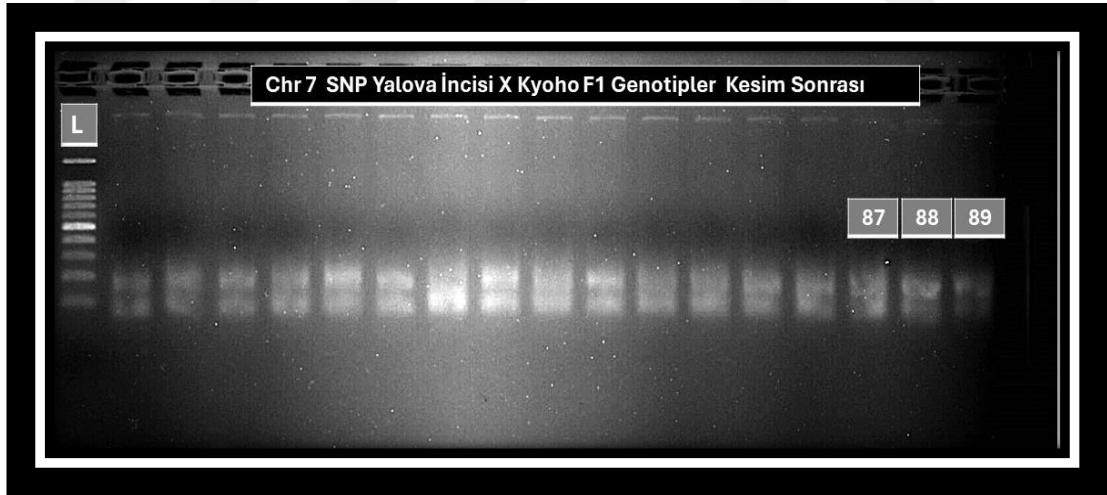


Şekil 4.21. Kesim öncesi primerlerin agaroz jel görüntüsü (Chr7: 190 bp; Chr14: 190-200 bp; Chr16: 200-210 bp) (L: Ladder; K: Kyoho; Y.İ. : Yalova İncisi)

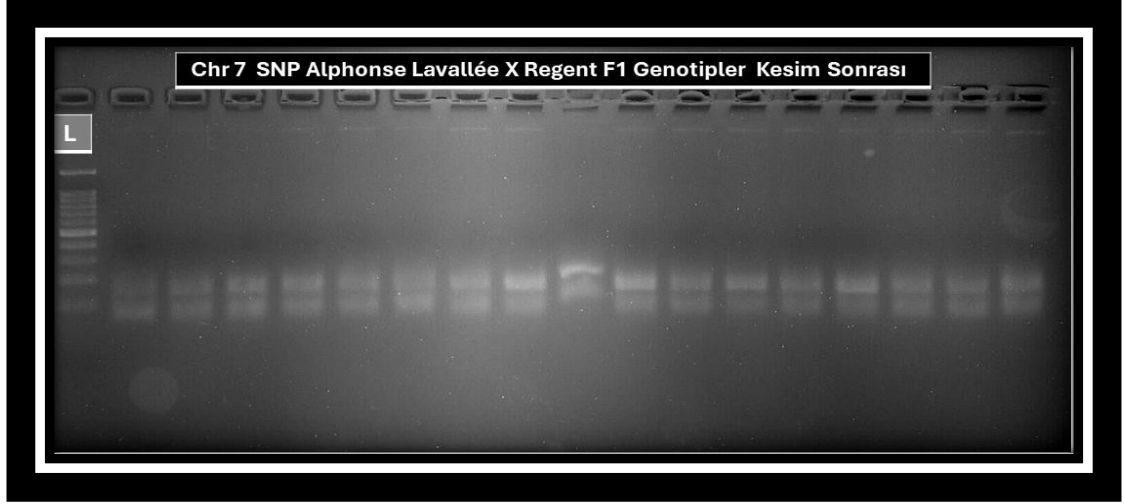


**Şekil 4.22.** Kesim sonrası SNP primerlerinin agaroz jel görüntüsü (AL: Alphonse Lavallée, L: Ladder, K: Kyoho, Y.İ. : Yalova İncisi, R: Regent)

Chr 7 SNP primeri ile kesim sonrası agaroz jel görüntüsünde K, Yİ, AL ve R genotiplerinden *P. viticola*'ya hassas olan genotipler (Yİ ve AL) kesim sonrasında tek band gözlemlenmiştir; dayanıklı olan genotiplerde (K ve R) ise çift band gözlemlenmiştir. Bu değerlendirmeler ışığında dayanıklılık skalası oluşturulmuş ve F1 genotiplerinde okumalar yapılmıştır.



**Şekil 4.23.** Chr 7 SNP kesim sonrası Yalova İncisi X Kyoho F1 genotipleri agaroz jel görüntüsü (L: Ladder)



**Şekil 4.24.** Chr 7 SNP kesim sonrası Alphonse Lavallée X Regent F1 genotipleri agaroz jel görüntüsü (L: Ladder)

Şekil 4.22’de belirlenen hastalığa dayanıklılık skalasına göre yapılan değerlendirmeler sonucunda, Yalova İncisi X Kyoho bazı F1 genotiplerinde yapılan Chr 7 SNP kesim sonrası agaroz jel görüntülerine Şekil 4.23’ de yer verilmiştir. 87,88 ve 89 numaralı örnekler hassas olarak değerlendirilmiştir. Şekil 4.24’de ise Alphonse Lavallée X Regent F1 genotipleri agaroz jel görüntüsünde, skalaya göre yapılan değerlendirme sonucunda şekilde yer alan genotiplerin dayanıklı olduğu görülmektedir.

*P. viticola*’ya dayanıklılıkla ilgili yapılan çalışmalarda dayanıklılık genlerinin 4, 5, 12 ve 18. kromozomlarda bulunduğu tespit edilmiştir (Bellin vd. 2009; Welter vd. 2007; Fischer vd. 2004; Uzun vd. 2018). Yapılan bu tez çalışması sonucunda ise *V. vinifera*’da *P. viticola*’ya dayanıklılıkla ilişkilendirilen genlerin 7, 14, 16 ve 18. kromozomlarda yer aldığı tespit edilmiştir.

Tummala (2021) çalışmasında, mildiyöye dayanıklılık orijini Chambourcin (*Vitis interspesifik* melezi) olan 267 F1 genotipinde mildiyö direnci ile ilgili alelleri tespit etmişlerdir. 18. Kromozomda yer alan Rpv3 geni ile bizim çalışmamızda *P. viticola* dayanıklılıkla ilişkili güçlü QTL’lerin yer aldığı 18. kromozom sonucu çalışmanın literatürde yer alan diğer çalışmalarla paralellik gösterdiğini bildirmektedir.

Chr 7 SNP ile tespit edilen Yalova İncisi X Kyoho F1 genotiplerinde klasik testlemelerle örtüşme oranları sporolasyon şiddetine göre %81, sporolasyon alanına göre ise %77 oranında olması geliştirilen markörün etkinlik oranının yüksek olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.5). Alphonse Lavallée X Regent F1 genotiplerinde klasik testlemelerle örtüşme oranları sporolasyon şiddetine ve sporolasyon alanına göre %87,5 olarak tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Alphonse Lavallée x Regent F1 genotipleri klasik testleme ve moleküler testleme sonuçları

Sıra No	Örnek No	Klasik Testleme Sonuçları		Moleküler Testleme Sonuçları		
		Sporulasyon Şiddeti	Sporulasyon Alanı	Chr7 SNP (BgII)	Chr14 SNP (Pml)	Chr16 SNP (Apol HF)
1	Regent	R	HR	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
2	Alphonse Lavallée	ES	ES	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
3	1	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
4	2	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
5	9	S	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
6	14	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
7	64	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
8	187	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
9	205	HR	HR	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
10	211	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
11	225	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
12	233	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
13	264	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
14	266	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
15	291	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
16	318	S	R	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
17	319	HR	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
18	359	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
19	412	HR	ER	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
20	410	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
21	441	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
22	443	HR	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
23	449	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
24	481	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
25	492	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
26	497	R	HR	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
27	500	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
28	507	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
29	524	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
30	539	R	HR	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
31	542	ER	ER	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
32	612	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik

(ER: Son derece dayanıklı, HR: Yüksek derece dayanıklı, R: Dayanıklı, S: Hassas, HS: Yüksek derecede hassas, ES: Son derece hassas)

**Çizelge 4.6.** Yalova İncisi X Kyoho F1 genotiplerinde klasik testleme ve moleküler testleme sonuçları

Sıra No	Örnek No	Klasik Testleme Sonuçları		Moleküler Testleme Sonuçları		
		Sporulasyon Şiddeti	Sporulasyon Alanı	Chr7 SNP (BgII)	Chr14 SNP (PmII)	Chr16 SNP (Apol HF)
1	Yalova İncisi	S	S	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
2	Kyoho	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
3	2	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
4	3	HR	HR	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
5	4	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
6	5	HR	HR	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
7	6	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
8	8	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
9	10	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
10	11	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
11	12	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
12	15	R	S	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
13	16	ER	ER	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
14	17	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
15	18	ER	ER	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
16	87	HS	S	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
17	88	S	S	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
18	89	HR	HR	Hassas	Monomorfik	Monomorfik
19	90	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
20	91	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
21	93	R	R	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
22	96	R	HR	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
23	99	HS	S	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
24	100	HS	HS	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
25	102	S	S	Dayanıklı	Monomorfik	Monomorfik
26	103	S	HS	Hassas	Monomorfik	Monomorfik

(ER: Son derece dayanıklı, HR: Yüksek derece dayanıklı, R: Dayanıklı, S: Hassas, HS: Yüksek derecede hassas, ES: Son derece hassas)

SNP analizi yapılan Yalova İncisi x Kyoho melezi genotipleri ve Alphonse Lavallée X Regent F1 genotipleri de verifikasyon için kullanılmıştır. Belirlenen primelerle yapılan PCR çalışmaları ve kesim enzimi sonucundan elde edilen ürüne göre genotiplerin dayanıklılık ve hassaslık durumu belirlenmiştir. CHR 18 SNP için kesim enzimi ve primer çalışmamıştır, bu nedenle sonuç verilememiştir. Bununla birlikte, Chr 14 SNP ve CHR 16 SNP için monomorfik band elde edilmiştir (Şekil 4.22). Agaroz jelde bantlar arasındaki mesafenin az olması durumunda ayırt etmek zorlaşmakta ve monomorfik olarak görülebilmektedir. Bu nedenle, yalnız Chr 7 SNP için değerlendirme

yapılabilmiştir ve moleküler testlemelerin klasik testlemelerle örtüşme oranları sporolasyon şiddetine göre %81, sporolasyon alanına göre ise %77 oranında paralellik olarak tespit edilmiştir.

Bhattarai vd. (2021) çalışmalarında, *Vitis rupestris Scheele* ve *Vitis riparia Michx* melezlemesinden oluşan F1 haritalama populasyonunda mildiyö hastalığına dayanıklılık lokuslarının tespit edilmesi amacıyla, dizileme yoluyla genotipleme (GBS) yöntemini kullanmışlardır. Elde ettikleri haritaların verifikasyonu sonucunda %66,5 doğrulama yapabilmişlerdir. Bu çalışmada ise GBS ile dizilenen üzüm genomundan yüksek çözünürlükteki SNP tabanlı fiziksel harita elde edilmiştir. Yapılan moleküler testlemelerin klasik testlemelerle örtüşme oranları sporolasyon şiddetine göre %81, sporolasyon alanına göre ise %77 oranında olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalarında kullandıkları *V.riparia* ve *V.rupestris* melezlemeleri sadece mildiyö hastalığına dayanıklılık amacı ile değil aynı zamanda filoksera ve bağcılıktaki diğer önemli hastalıklara da dayanıklılık ıslahında kullanılmaktadır.

Genellikle asmada diğer yabani türlerle melezlemelerden elde edilen çeşitlerin kalite ve verim değerleri düşük olmaktadır. Yine, MAS amaçlı kullanılacak markörün *V. vinifera* x *V. labrusca* melezlemesiyle oluşturulan popülasyondan elde edilmesi markörün güvenilirliğini arttırmaktadır. Fakat, günümüze kadar MAS amaçlı kullanılan markörlerin elde edildiği popülasyonlarda *V. labrusca* yer almamaktadır. Ayrıca, Kyoho, dünyada en fazla yetiştirilen sofralık üzüm çeşidi olup, mildiyö hastalığına dayanıklı olduğu ve dayanıklılık ıslahında yaygın olan bazı türlerin dışında çalışmamızda Kyoho (*V.labrusca*) dayanıklılık gen kaynağının kullanılması literatüre özgünlük katmaktadır.

SNP analizi yapılan Yalova İncisi x Kyoho melezi genotipleri ve Alphonse LavalléeX Regent F1 genotipleri ile verifikasyon sonrasında; Yalova İncisi x Kyoho melezi klasik testleme sonucunda 8 hassas genotip tespit edilmiştir. Moleküler testleme sonucunda ise 6 adet hassas genotip doğrulanmıştır.

## 5. SONUÇLAR

Dünyada üzüm yetiştiriciliği yapılan alanlarda en önemli biyotik stres faktörlerinden birisi olan fungal hastalıklardan mildiyö hastalık etmeni *P. viticola*'dır. Çalışmamızda, dayanıklı olduğu bilinen Kyoho ile hassas Yalova İncisi melezinden geliştirilen F1 popülasyonunu kullanarak, SNP analizleriyle QTL haritalaması ile üzümde *P. viticola*'ya dayanıklılığı sağlayan gen bölge/bölgelerini belirlemek ve QTL bölgelerindeki yer alan genlerin dayanıklılıkla olan ilgilerinin biyoinformatik analizlerle SNP'ler belirlenerek dayanıklılığın moleküler genetik temellerini aydınlatmak hedeflenmiştir.

Toplam 63 adet bireyde yapılan sporolasyon şiddeti analizleri sonucunda Kyoho'nun da dahil olduğu 17 birey (%27) son derece dayanıklı, 7 birey (%11,11) yüksek derecede dayanıklı, 17 birey (%27) dayanıklı, Yalova İncisi'nde dahil olduğu grupta 11 birey (%17,46) hassas, 9 birey (%14,28) yüksek derecede hassas ve 2 birey (%3,17) son derece hassas olarak nitelendirilmiştir. Sporolasyon alanına göre yapılan değerlendirmeler sonucunda toplam 63 bireyden dayanıklı olduğunu bildiğimiz Kyoho'nun da dahil olduğu 17 birey (%27) son derece dayanıklı, 12 birey (%19,04) yüksek derecede dayanıklı, 7 birey (%11,11) dayanıklı, Yalova İncisi'nin de dahil olduğu 23 birey (%36,50) hassas ve 4 birey (%6,34) yüksek derecede hassas olarak tespit edilmiştir.

SNP analizleri sonucunda, tüm asma genomunu kapsayan toplam 15.215 adet temiz (clean) SNP markörü belirlenmiş ve bu markörler QTL analizlerinde kullanılmıştır. Toplam 627 adet markörü içeren ve toplam 911.3 cM uzunluğunda olan bir genetik bağlantı haritası oluşturulmuştur ve genetik harita üzüm genomunun 19 kromozomunu kapsamaktadır. Kromozom 2 en düşük çözünürlüğe (136.17 kb/SNP) sahip olmasına rağmen kromozom 7 en yüksek çözünürlüğe (45.17 kb/SNP) sahiptir. Analizler sonucunda toplam 12 adet QTL in mildiyöye dayanıklılığı kontrol ettiği belirlenmiştir.

QTL'lere bağlantı gösteren SNP markörleri MAS çalışmalarında kullanılabilir 5 adet CAPS markörüne çevrilmiş, uygun kesim enzimleri belirlenmiştir. Verifikasyon çalışmaları için klasik testleme sonucu belirlenmiş olan Alphonse Lavellée x Regent ve Yalova İncisi x Kyoho melezi F1 genotipler kullanılmıştır. Markörler, *P. viticola*'ya dayanıklılığın çoklu gen tarafından kontrol edilmesi nedeniyle tek bir primerle sonuç alınamayacağını göstermiştir. Bu nedenle, monomorfik band deseni sunan Chr 14 SNP ve Chr 16 SNP primerlerinden elde edilen PCR ürünlerinin, çok küçük bp mesafedeki bandların ayrımını sağlayan sistemler kullanılarak tekrar çalışılması uygun olacaktır. Chr 7 SNP için değerlendirme yapılabilmektedir ve moleküler testlemelerin klasik testlemelerle örtüşme oranları sporolasyon şiddetine göre %81, sporolasyon alanına göre ise %77 oranında paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Klasik testleme sonucunda Yalova İncisi x Kyoho melezi genotiplerden 8 genotip hassas olarak tespit edilmiştir. Moleküler testleme sonucunda ise 6 adet hassas genotip tespit edilmiştir.

Çalışmalar kapsamında mildiyöye dayanıklılığı kontrol eden QTL'lerin üzüm genomunda haritalanabilmesi için yüksek çözünürlüklü SNP verileri kullanılmıştır. QTL analizlerinde MapQTL programında yer alan CIM (kompozit aralık haritalama programı) kullanılarak yapılmıştır. LOD değeri 3'den büyük lokuslar QTL olarak

değerlendirilmiştir. Analizler sonucunda toplam 11 adet QTL'in *P. viticola*'ya dayanıklılığı kontrol ettiği belirlenmiştir. Toplam 4 kromozomda yer alan QTL'lerin etki değerleri incelendiğinde minimum %29,3 ve maksimum %100 değerleri görülmektedir.

Çalışma sonuçlarına göre 7, 14, 16 ve 18. kromozomlarda *P. viticola*'ya dayanıklılıkla ilişkilendirilen (7. kromozomda 1 adet; 14. kromozomda 3 adet; 16. kromozomda 1 adet; 18. kromozomda 6 adet) güçlü QTL'ler tespit edilmiştir. Önceki çalışmalarda üzüm genotiplerinde tespit edilen *P. viticola*'ya dayanıklılık genlerinin, bu çalışmada tespit edilen kromozomlardan farklı olması literatüre katkı açısından önem taşımaktadır. Monomorfik band deseni elde ettiğimiz Chr 14 SNP, Chr 16 SNP ve band elde edemediğimiz Chr 18 SNP ile farklı kesim enzimleri kullanılarak sonraki çalışmalarda başarılı sonuçlar elde edilebileceği ve literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y.S. 1999. Bilimsel ve uygulamalı bağcılık. Cilt I Asma Biyolojisi. Kavaklıdere Eğitim Yayınları No.1, Ankara.
- Akçay, M. 2014. Üzüm üretimi ve destekler. *Türktarım*, Eylül-Ekim Sayı:219, 16-19.
- Akkurt, M., Şenses, İ. M. ve Erdoğan, Ü. 2018. Türkiye’de organik bağcılığın son durumu ve gelişme olanakları. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 6(11), 1511-1516.
- Akkurt, M., Şenses, İ., Uzun, H. İ., Aktürk, B., Tozlu, İ. and Özer, N. 2022. Marker assisted selection (MAS) for downy mildew resistance in grapevines using Rpv3. 1 associated markers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50.1: 12708-12708.
- Alleweldt, G. and Possingham, J.V. 1988. Progress in grapevine breeding. *Theoretical Applied Genetics*, 75: 669-673
- Anonim 1: <https://www.karasaban.net/tarih-oncesi-ve-antik-caglarda-uzum-bagcilik-ve-sarapcilik/> [Son erişim tarihi: 19.05.2024].
- Anonim 2: Bağ mildiyösü. TAGEM-Zirai Mücadele Teknik Talimatları, Cilt IV, 265-270. [Son erişim tarihi: 12.05.2024].
- Anonim 3: TÜİK. <https://www.tuik.gov.tr/> [Son erişim tarihi: 12.05.2024].
- Anonymous 1: FAO. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Son erişim tarihi: 12.05.2024].
- Anonymous 2: OIV. “Distribution of the world’s grapevine varieties”, – 53p. <http://www.oiv.int/public/medias/5888/en-distribution-of-the-worlds-grapevinevarieties.pdf>. [Son erişim tarihi: 12.05.2024].
- Atak, A., Akkurt, M., Polat, Z., Çelik, H., Kahraman, K. A., Akgül, D. S., Özer, N., Söylemezoğlu, G., Şire, G. 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.
- Ban, S.H. and Choi, C. 2018. Development of an apple F1 segregating population genetic linkage map using genotyping-by-sequencing. *Plant Breeding Biotechnology*, 6(4):434-443.
- Bellin, D., Peresotti E., Meerdinoglu, 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 infection site. *Theoretical and Applied Genetics*, 75, 669-673.
- Bhattacharai, G., Fennell, A., Londo, J. P., Coleman, C., Kovacs, L. G. 2021. A novel grape downy mildew resistance locus from *Vitis rupestris*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 72(1), 12-20.
- Boso, S., Alonso-Villaverde, V., Gago, P., Santiago J. L. and Martínez, M. C. 2014. Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) of different *Vitis* varieties.

*Crop Protection*, 63, 26-35

- 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'. *Acta Horticulture*, 528: 203-207.
- Cangi, R., Yanar, Y., Yağcı, A., Topçu, N., Sucu, S. and Dulgeroglu, Y. 2014. The effect of picking period and brining applications on fungicide residue levels in brined vine leaves production. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University*, 31: 23-30.
- Canlı, F.A. 2004. Development of a second generation genetic linkage map for sour chery using SSR markers. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7 (10): 1676-1683.
- Catchen, J., Hohenlohe, P. A., Bassham, S., Amores, A., and Cresko, W. A. 2013. Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology*, 22(11), 3124-3140.
- Celik, I., Bodur, S., Frary, A. and Doganlar, S. 2016. Genome-wide SNP discovery and genetic linkage map construction in sunflower (*Helianthus annuus* L.) using a genotyping by sequencing (GBS) approach. *Molecular Breeding*, 36, 1-9.
- Cristofani, M.A., Machado, V.M., Novelli, A.A., De Souza, M.L. and Targon, P.N. 2000. Construction of linkage maps of *Poncirus trifoliata* and *Citrus sunki* based on microsatellite markers. Proc. Int. Citricult. IX Congr. p. 175-178.
- Çelik, H., Ağaoğlu, Y. S., Fidan, Y., Marasali, B. ve Söylemezoğlu, C. 1998. Genel Bağcılık SUNFİDAN AŞ Mesleki Kitaplar Serisi No: 1 253s.
- Çelik, H., Kunter, B., Söylemezoğlu, G., Ergül, A., Çelik, H., Karataş, H., Özdemir, G. ve Atak, A. 2010. Bağcılığın geliştirilmesi yöntemleri ve üretim hedefleri. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi. 493-513.
- De Donato, M., Peters, S. O., Mitchell, S. E., Hussain, T. and Imumorin, I. G. 2013. Genotyping-by-sequencing (GBS): a novel, efficient and cost-effective genotyping method for cattle using next-generation sequencing. *PloS One*, 8(5), e62137.
- Değirmenci, K. ve Ertunç, F. 2010. Virüs enfeksiyonları ile mücadelede gen susturulması ve uygulamaları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 8, 35-52.
- Delmotte, F., Mestre, P., Schneider, C., Kassemeyer, H., Kozma, P., Cervera S., Rouxel, M. and Deliere, R. 2014. Rapid and multiregional adaptation to host partial resistance in plant pathogenic oomycete: Evidence from European populations of *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew. *Infection, Genetics and Evolution*, 27: 500-508.
- Doğu, D. M. 2019. Bazı *Plasmopara viticola* izolanlarının fenotipik ve moleküler karakterizasyonu. Yüksek Lisans tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ, 114 s.
- Doligez, A., Bouquet, A., Ballester, J., Farnos, M., Danglot, Y., Adam-Blondon, A., -F Roux, C., Domergue, P. and This, P. 2003. QTLs for quality-related traits in table grapes. Plant Animal & Microbe Genome X Conference Abst. 12-16 Ocak 2002, San Diego, CA, ABD
- Doyle, J.J. and Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13.

- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., et al. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One* 6:e19379. doi: 10.1371/journal.pone.0019379
- Emanuelli, F., Lorenzi, S., Grzeskowiak, L., Catalano, V., Stefanini, M., Troglio, M., Myles, S., Martinez-Zapater, J.M., Zyprian, E., Moreira, F.M. and Grandó M.S. 2013. Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grapes. *BMC Plant Biology*, 13:39.
- Ergönül, O. ve Orhan Özalp, Z. 2013. Asma ıslahında poliploidi çalışmaları. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 14(2): 103-107.
- Ergül, A., Çakır Aydemir, B. ve Yüksel Özmen, C. 2017. Asma biyoteknolojisi alanında gelişmeler. *TÜRKTOB Dergisi*, 24, 12-14.
- Ferreira, A., Silva, M. F. D. and Cruz, C. D. 2006. Estimating the effects of population size and type on the accuracy of genetic maps. *Genetics And Molecular Biology*, 29, 187-192.
- Filiz, E. ve Koç, İ. 2011. Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 207-214.
- Fischer, B. M., Salakhutdinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K. J., Toepfer, R. and Zyprian, E. M. 2004. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, 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.
- Gabay, G., Dahan, Y., Izhaki, Y., Faigenboim, A., Ben-Ari, G., Elkind, Y. and Flaishman, M.A. 2018. High-resolution genetic linkage map of European pear (*Pyrus communis*) and QTL fine-mapping of vegetative budbreak time. *BMC Plant Biology*, 18:175.
- Gardner, K. M., Brown, P., Cooke, T. F., Cann, S., Costa, F., Bustamante, C. and Myles, S. 2014. Fast and cost-effective genetic mapping in apple using next-generation sequencing. *G3 (Bethesda)*, 4(9): 1681-1687.
- Gargın, S. ve Öztürk, Y. 2013. Eğirdir koşullarında bazı üzüm çeşitlerinin bağ mildiyösüne (*Plasmopara viticola* (Berk. et. Curt.)) karşı reaksiyonlarının araştırılması. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, (1): 134-136.
- Glaubitz JC, Casstevens TM, Lu F, Harriman J, Elshire RJ, Sun Q. and Buckler ES. 2014. TASSEL-GBS: a high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *PLoS One*, 9:e90346
- Guo, D. L., Zhao, H. L., Li, Q., Zhang, G. H., Jiang, J. F., Liu, C. H. and Yu, Y. H. 2019. Genome-wide association study of berry-related traits in grape (*Vitis vinifera* L.) based on genotyping-by-sequencing markers. *Horticulture Research*, 6(1), 11.
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In Nucleic acids symposium series (Vol. 41, No. 41, pp. 95-98). [London]: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000.
- Jensen, P.J., Fazio, G., Altman, N., Praul, C. and McNellis, T.W. 2014. Mapping in an

- apple (*Malus x domestica*) F1 segregating population based on physical clustering of differentially expressed genes. *BMC Genomics*, 15:261
- Koç, E. ve Üstün, A. S. 2008. Patojenlere karşı bitkilerde savunma ve antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 24(1), 82-100.
- Langcake, P. 1981. Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol,  $\epsilon$ -viniferin,  $\alpha$ -viniferin and pterostilbene. *Physiological Plant Pathology*, 18(2), 213-226.
- Langcake, P. and Pryce, R. J. 1976. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiological Plant Pathology*, 9(1), 77-86.
- Lijavetzky, D., Cabezas, J. A., Ibáñez, A., Rodríguez, V. and Martínez-Zapater, J. M. 2007. High throughput SNP discovery and genotyping in grapevine (*Vitis vinifera* L.) by combining a re-sequencing approach and SNPlex technology. *BMC genomics*, 8, 1-11.
- Lodhi, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F., Reisch, B. I. and Daly, M. J. 1995. A molecular marker based linkage map of *Vitis*. *Genome*, 38(4), 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. *Acta Genetica Sinica*, 28, 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 Abstract.
- Mejia, N. and Hinrichsen, P. 2003. A new, highly assertive SCAR marker potentially useful to assist selection for seedlessness in table grape breeding. *Acta Horticulturae*, 603: 559-564.
- Merdinoglu D., Wiedeman-Merdinoglu S., Coste P., Dumas V., Haetty S., Butterlin G., Greif C., Adam-Blondon A.F., Fouquet A. and Pauquet J. 2003. Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia*. *Acta Horticulturae*, 603, 451-456.
- Özalp, O., ve Ergönül, O. 2013. Bağcılıkta poliploidi çalışmaları. *Trakya Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 14 (2), 103-107.
- Pauquet, J., 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. *Theoretical And Applied Genetics*, 103(8), 1201-1210.
- Peterlunger, E., Di Gaspero, G., Cipriani, G., Sivilotti, P., Zulini, L., Marrazzo, M.T., Andretta, D. and Testolin, R. 2003. Breeding strategy for the introgression of disease resistance genes into European grapevine. *Actahorticulture*, 603, 665-670.
- Polat, İ., Ünlü, A., Keçeci, M. and Özdemir, M. 2020. Efficiency of zeolite as alternative product for controlling downy mildew (*Plasmopara viticola*) in table grape. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 47(3), 93-103.
- Pollefeys, P. and Bousquet, J. 2003. Molecular genetic diversity of the French-American

- grapevine hybrids cultivated in North America. *Genome*, 46(6), 1037-1048.
- Rahman, M.U., Hanif, M., Wan, R., Hou, X., Ahmad, B. and Wang, X. 2019. Screening *Vitis* genotypes for responses to *Botrytis cinerea* and evaluation of antioxidant enzymes, reactive oxygen species and jasmonic acid in resistant and susceptible hosts. *Molecules*, 24, 5; doi:10.3390/molecules24010005
- Ren, Z., Lamikanra, O. and Lu, J. 2000. Identification of a RAPD marker closely linked to the fruit color in muscadine grapes (*Vitis rotundifolia*). *Acta Horticulturae*, 528; 263-266.
- Riaz, S. and Walker, M.A. 2003. Extended genetic linkage map of a *Vitis rupestris* and *Muscadinia rotundifolia* population and comparisons with the International *Vitis vinifera* Reference Map. Genetics, ASEV 54th Annual Meeting Reno, Nevada.
- Roberts, P. A. 2002. Concept and consequences of resistance in plant resistance to parasitic nematodes (e. ds JL Starr, R. Cook and J. Bridge). CAB International Pub. UK.
- Roose, M.L. 2000. Linkage mapping and marker-assisted selection in Citrus. In: Proc. Int. Soc. Citriculture. IX Cong. pp.69-70.
- Rusjan, D., Strlič, M., Pucko, D. and Korošec-Koruza, Z. 2007. Copper accumulation regarding the soil characteristics in Sub-Mediterranean vineyards of Slovenia. *Geoderma*, 141(1-2), 111-118.
- Sarcan, O. 2018. SNP moleküler işaretlerine dayalı havuç genetik haritasının geliştirilmesi. Doktora tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, 61 s.
- Scott, L.J., Shepherd, M., Nikles, D.G. and Henry, R.J. 2005. Low efficiency of pseudo-test-cross mapping design was consistent with limited genetic diversity and low heterozygosity in hoop pine (*Araucaria cunninghamii* Araucariaceae). *Tree Genetic Genomes*, 1:124–134.
- Sönmezoğlu, Ö. A., Yıldırım, A., Güleç, TE ve Kandemir, N. 2010. Markör destekli seçimin buğday ıslahında kullanımı. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1: 105-112.
- Sun, Q., He, L., Sun, L., Xu, H. Y., Fu, Y. Q., Sun, Z. Y., Pan, Q. H. 2023. Identification of SNP loci and candidate genes genetically controlling norisoprenoids in grape berry based on genome-wide association study. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1142139.
- Sümbül, A. ve Yıldız, E. 2022. Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan sofralık, kurutmalık ve şaraplık üzümlerin üretim projeksiyonu. *Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 5(1), 17-22.
- Tanksley, S.D. 1983. Molecular markers in plant breeding. *Plant Biology Reporter*, 1,3-8.
- Tanksley, S.D., Young, N.D., Paterson, A.H. and Bonierbale, M.W. 1989. RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science. *Biotechnology*, 7, 257-263.
- 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, USA.

- Uslu, İ. ve Samancı, H. 1998. Melezleme ile sofralık yeni üzüm çeşitlerinin elde edilmesi. 4. Bağcılık Simpozyumu, 17-23.
- Uzun, H. İ. (2015). Bağcılık El Kitabı. Antalya, Türkiye: Hasad Yayıncılık 7., 85. s.
- 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.
- 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
- Vienne, D. 2003. Construction of genetic linkage maps. In: Molecular Markers in Plant Genetics and Biotechnology D. Vienne (ed.) Science Publishers Inc. pp. 47-79.
- Walker, M.A. and Jin, Y. 2000. Breeding *Vitis rupestris* x *Muscadinia rotundifolia* rootstocks to control *Xiphinema index* and fanleaf degeneration. *Acta Horticulturae*, 528: 511-515.
- Wang, F. Q., Fan, X. C., Zhang, Y., Lei, S. U. N., Liu, C. H. and Jiang, J. F. 2022. Establishment and application of an SNP molecular identification system for grape cultivars. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(4), 1044-1057.
- Welter, L. J., Göktürk-Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R. and Zyprian, E. M. 2007. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Molecular Breeding*, 20(4), 359-374.
- Wu, K.K., Burnquist, W., Sorrells, M.E., Tew, T.L., Moore, P.H. and Tanksley, S.D. 1992. The detection and estimation of linkage in polyploids using single-dose restriction fragments. *Theoretical Applied Genetics*, 83: 294-300.
- Xu, Y., Gao, Z., Tao, J., Jiang, W., Zhang, S., Wang, Q. and Qu, S. 2016. Genome-wide detection of SNP and SV variations to reveal early ripening-related genes in grape. *PLoS One*, 11(2), e0147749.
- Yanar, Y., Cangi, R. ve Ozata, K., 2015. The determination of pesticide residue levels in brined vine leaves produced in Tokat Province. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 27(Özel sayı): 267-275
- Yang, E., Drosou, F., Dourtoglou, E. G., Chatzilazarou, A. and Dourtoglou, V.G. 2017. Approaches to outline the aromatic profile of Kyoho wines from South Korea. BIO Web of Conferences 9, 02034, DOI: 10.1051/bioconf/20170902034
- Yaşar, Z. 2005. Aşma (*Vitis vinifera* L.)'da önemli vegetatif ve generatif karakterler ile hastalıklara dayanım özelliklerine yönelik genom haritalaması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.
- 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.
- Yılmaz, K. (2016). Zeytinde (*Olea europaea* L.) yeni nesil DNA dizileme teknolojisi ile geliştirilen SNP moleküler işaretleyicilerine dayalı genetik haritanın oluşturulması. Doktora Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, 48 s.

- You, X., Shu, L., Li, S., Chen, J., Luo, J., Lu, J., Mu, Q., Bai, J., Xia, Q., Chen, Q., vd. 2013. Construction of high-density genetic linkage maps for orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* using multiplexed shotgun genotyping. *BMC Genetics*, 14, 1-8.
- Zyprian, E., Ochßner, I., Schwander, F., Šimon, S., Hausmann, L., Rex, M. and Töpfer, R. 2016. Quantitative trait loci affecting pathogen resistance and ripening of grapevine. *Molecular Genetics and Genomics*, 291:1573-1594.



# ÖZGEÇMİŞ

**Esra Suluhan**

## ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2022-2024	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2019-2022	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara