

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ YETİŞTİRME VE ISLAHI ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bazı F₁ Asma Genotiplerinin Külleme (*Uncinula necator*) ve
Mildiyö (*Plasmopara viticola*) Hastalıklarına Dayanıklılıklarının
Skorlanması ve Çekirdeksiz Genotiplerin Markör Destekli
Seleksiyon İle Belirlenmesi**

YEŞİM DOYĞACI

KOCAELİ 2022

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ

Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez/proje çalışmada,

- Bu tezin/projenin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu,
- Çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı,
- Bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi,
- Bu çalışmanın Kocaeli Üniversitesi'nin abone olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun olduğunu,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Tezin/Projenin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez/proje çalışması olarak sunmadığımı,

beyan ederim.

☐ Bu tez/proje çalışmasının herhangi bir aşaması hiçbir kurum/kuruluş tarafından maddi/alt yapı desteği ile desteklenmemiştir.

☐ Bu tez/proje çalışması kapsamında üretilen veri ve bilgiler Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından Asma Genetik Kaynaklarının Karşılıklı Değerlendirilmesi ve Sofralık Üzüm Islahı ad'lı proje kapsamında maddi/alt yapı desteği alınarak gerçekleştirilmiştir.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....
Yeşim DOYĞACI

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI

Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda belirtilen koşullarla kullanıma açma izninin Kocaeli Üniversitesi'ne verdiğimi beyan ederim. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanımı bana ait olacaktır.

Tezin kendi özgün çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim kurulu tarafından yayınlanan **“Lisanüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricinde YÖK Ulusal Tez Merkezi/ Kocaeli Üniversitesi Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- ☐ Enstitü yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.
- ☐ Enstitü yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 6 ay ertelenmiştir.
- ☐ Tezim ile ilgili gizlilik kararı verilmemiştir.

.....
Yeşim DOYĞACI

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her anında bana yol gösteren, denetleyen, bilgileriyle destekleyen ve sözleriyle motive eden tez danışmanlarım, Sayın. Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm Ebru ÖZER UYAR ve Sayın Doç. Dr. Arif ATAĞ' a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü moleküler biyoloji laboratuvarındaki çalışmalarım sırasında deneyim, bilgi ve yardımlarından faydalandığım Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü hocalarından Doç. Dr. Murat AKKURT' a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmamın başından sonuna kadar yardımları ve sevgi dolu yaklaşımlarıyla destek olan güler yüzlü, Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü' nde görev yapan mesai arkadaşlarım Yük. Ziraat Mühendisi Gülhan GÜLBASAR KANDİLLİ ve Yük. Ziraat Mühendisi Özlem BOZTEPE' ye teşekkür ederim.

Her zaman ve her konuda yanımda olan, tez süresi boyunca sabır gösteren, hayat arkadaşım, sevgili eşim Halil İbrahim DOYĞACI' ya, çocuklarım Aras Umut DOYĞACI ve Enes Bulut DOYĞACI' ya, kardeşim Nezih OZARKAN' a, sevgilerini hiç esirgemeyen değerli anneme, babama, beni destekleyen tüm dostlarıma yürekten teşekkür ederim.

Nisan – 2022

Yeşim DOYĞACI

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ.....	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
3. MALZEME VE YÖNTEM	15
3.1.Malzeme.....	15
3.2.Yöntem.....	19
3.2.1.F ₁ üzüm genotiplerinin külleme (<i>Uncinula necator</i>) ve mildiyö (<i>Plasmopara viticola</i>) hastalıklarına dayanıklılıklarının skorlanması	19
3.2.2.Çekirdeksiz genotiplerin MDS ile belirlenmesi	20
4. BULGULAR.....	25
4.1.F ₁ melez genotiplerin külleme ve mildiyö hastalıklarına ait skorlamaları	25
4.2.Genotiplerin Markör Destekli Seleksiyon (MDS) yöntemi ile çekirdeksizliğinin belirlenmesi.....	39
4.2.1.Genotiplerden DNA izolasyonu	39
4.2.2.Genotiplerden izole edilen DNA'nın PZR ile çoğaltılması.....	47
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR.....	63
EKLER	72
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER.....	76
ÖZGEÇMİŞ.....	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	a. Salkımda külleme hastalığı, b. Yaprakta külleme hastalığı	5
Şekil 2.2.	a.Yaprak üst yüzeyinde mildiyö hastalığı, b. Yaprak alt yüzeyinde mildiyö hastalığı.....	5
Şekil 3.1.	Denemede kullanılan F ₁ melez üzüm genotiplerinin genel görüntüsü.....	16
Şekil 3.2.	Denemede kullanılan genotiplere ait ebeveynler; a) Bronx Seedless, b) Crimson Seedless, c)Beyaz Çavuş, d)Yalova Çekirdeksizi, e)Red Globe, f)Ruby Seedless, g)86/1, h)K-77.	19
Şekil 3.3.	DNA izolasyonu ve MDS için genotiplere ait yaprak örneklerinin alınması	20
Şekil 3.4.	Genotiplerin DNA izolasyonu.	21
Şekil 3.5.	İzole edilen DNA' ların miktar ve saflıklarının Nanodrop spektrofotometre ile ölçülmesi.....	22
Şekil 3.6.	PZR işleminin yapıldığı Biorad T-100 Thermal Cycler cihazı.....	23
Şekil 3.7.	Kapiller Elektforez işleminin yapıldığı AATI Fragment Analyzer Cihazı	24
Şekil 4.1.	B20-154 nolu genotipe ait yaprak örneği (Külleme skoru-1).....	32
Şekil 4.2.	B20-111 nolu genotipe ait yaprak örneği (Külleme skoru-3).....	32
Şekil 4.3.	B16-171 nolu genotipe ait yaprak örneği (Külleme skoru-5).....	33
Şekil 4.4.	B10-190 nolu genotipe ait yaprak örneği (Külleme skoru-7).....	33
Şekil 4.5.	Külleme ve Mildiyö skoru 0 olan bir genotipe ait yaprak örneği	34
Şekil 4.6.	B16-242 nolu genotipe ait yaprak örneği(Mildiyö skoru-1).....	34
Şekil 4.7.	B20-162 nolu genotipe ait yaprak örneği (Mildiyö skoru- 3).....	35
Şekil 4.8.	B21-81 nolu genotipe ait yaprak örneği (Mildiyö skoru-5).....	35
Şekil 4.9.	B21-51 nolu genotipe ait yaprak örneği (Mildiyö skoru- 7).....	36
Şekil 4.10.	B5 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri	36
Şekil 4.11.	B10 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri.....	37
Şekil 4.12.	B16 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri.....	37
Şekil 4.13.	B20 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri.....	38
Şekil 4.14.	B21 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri.....	38
Şekil 4.15.	B-16 serisine ait melez üzüm genotiplerinin %1' lik agaroz jel görüntüsü.....	40
Şekil 4.16.	B-20 serisine ait melez üzüm genotiplerin %1' lik agaroz jel görüntüsü.....	40
Şekil 4.17.	B-20 serisine ait bazı genotiplerin PZR sonrası %2' lik agaroz jel görüntüsü.....	47

Şekil 4.18.	B-16 serisine ait bazı genotiplerin PZR sonrası %2' lik agaroz jel görüntüsü.....	48
Şekil 4.19.	B-21 serisine ait bazı genotiplerin PZR sonrası %2' lik agaroz jel görüntüsü.....	48
Şekil 4.20.	B10-167 nolu melez üzüm genotipine ait ATTI cihaz görüntüsü.....	54
Şekil 4.21.	Beyaz Çavuş çeşidine ait ATTI cihaz görüntüsü.....	55
Şekil 4.22.	B21-104 genotipine ait ATTI cihaz görüntüsü	55
Şekil 4.23.	B16-151 genotipine ait ATTI cihaz görüntüsü	55

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 3.1.	Çalışmada kullanılan melezleme kombinasyonları ve ebeveynler	16
Tablo 4.1.	B5 (Bronx Seedless X K-77) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları	25
Tablo 4.2.	B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları	26
Tablo 4.3.	B16 (Yalova Çekirdeksizi X Red Globe) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları	27
Tablo 4.4.	B20 (Bronx Seedless X 86/1) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları	29
Tablo 4.5.	B21 (Ruby Seedless X 86/1) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları	30
Tablo 4.6.	Her iki hastalığa da ÇD olan genotipler ve hastalığa ait skorlama sonuçları	39
Tablo 4.7.	B10 serisi melez genotiplere ait DNA'ların miktarları ve saflıkları	41
Tablo 4.8.	B16 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları	42
Tablo 4.9.	B20 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları	44
Tablo 4.10.	B21 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları	45
Tablo 4.11.	B10 serisi genotiplerine ait allel büyüklükleri (bp)	49
Tablo 4.12.	B16 serisi genotiplerine ait allel büyüklükleri (bp)	50
Tablo 4.13.	B20 serisi genotiplerine ait allel büyüklükleri (bp)	52
Tablo 4.14.	B21 serisi genotiplerine ve referans çeşitlere ait allel büyüklükleri (bp)	53
Tablo 4.15.	Potansiyel çekirdeksiz melez üzüm genotipleri	56
Tablo 4.16.	Potansiyel çekirdeksiz mantari hastalıklara dayanıklı melez üzüm genotipleri ve hastalıklara ait skorlama sonuçları	57

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

bp	: Base pair (Baz çifti)
°C	: Santigrat Derece
cM	: Santi Morgan
dak	: Dakika
ha	: Hektar
µL	: Mikrolitre
mL	: Mililitre
ng	: Nanogram
%	: Yüzde
nm	: Nanometre
V	: Volt

Kısaltmalar

ABKMAE	: Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan Parça Uzunluk Polimorfizmi)
ANOVA	: Analysis of variance (Varyans analizi)
ÇD	: Çok Dayanıklı
ÇH	: Çok Hassas
D	: Dayanıklı
DNA	: Deoksiribo Nùkleik Asit
H	: Hassas
LG	: Linkage group (Bağlantı grubu)
MDS	: Markör Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection)
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
RNAse	: Ribonùkleaz-A
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)
rpm	: Revolution Per Minute (Dakikadaki Dönüş Sayısı)
SDI	: Seed Development Inhibitor (Tohum Geliştirme İnhibitörü)
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Region (Dizisi Karakterize edilmiş çoğaltılmış bölgeler)
SSR	: Simple Sequence Repeat (Basit Dizi Tekrarları)
T	: Tolerant
QTL	: Quantitative Trait Loci (Kantitatif Özellik Lokusu)

Bazı F₁ Asma Genotiplerinin Külleme (*Uncinula necator*) ve Mildiyö (*Plasmopara viticola*) Hastalıklarına Dayanıklılıklarının Skorlanması ve Çekirdeksiz Genotiplerin Markör Destekli Seleksiyon İle Belirlenmesi

ÖZET

Ülkemiz asmanın gen merkezi olup, eski ve köklü bir bağcılık kültürüne sahiptir. Dünya da bağcılığı kısıtlayan verim ve kalite kayıplarına neden olan en önemli hastalık etmenleri arasında; mildiyö (*Plasmopara viticola*) ve külleme (*Erysiphe necator* syn. *Uncinula necator*) yer almaktadır. Çekirdeksizlik üzümde aranan en önemli kalite kriterlerinden birisidir.

Bu çalışmada ‘Asma Genetik Kaynaklarının Karşılıklı Değerlendirilmesi ve Sofralık Üzüm Islahı’ isimli Güney Kore ve Türkiye İkili İşbirliği projesi kapsamında 2019 yılında gerçekleştirilen melezleme çalışmalarından elde edilen F₁ melez üzüm genotipleri kullanılmıştır. Çalışma; F₁ melez üzüm genotiplerinin külleme (*Uncinula necator*) ve mildiyö (*Plasmopara viticola*) hastalıklarına dayanıklılıklarının skorlanması ve çekirdeksiz genotiplerin markör destekli seleksiyon (MDS) ile belirlenmesi olmak üzere iki ana aşamadan oluşmuştur.

Külleme ve mildiyö hastalıklarına karşı melez genotiplerin dayanıklılık seviyelerini belirlemek amacıyla her bir fidandan olgunluğa erişmiş rastgele seçilen dört- beş yaprak üzerinde, enfeksiyonların kaplama alanı baz alınarak Descriptors for Grapevine (*Vitis spp.*) (OIV-452, 455 ve 456)’ e göre tüm yaprak alanında gözlemlenen hastalık lezyonlarının yüzdesine göre belirlenmiştir. Toplamda 475 adet melez üzüm genotipi skorlanmış ve 31 adet genotip hem külleme hem de mildiyö hastalığına karşı çok dayanıklı olarak tespit edilmiştir.

Markör destekli seleksiyon ile çekirdeksiz melez genotiplerin belirlenmesi için 5U_VviAGL11 isimli SSR markörü kullanılmıştır. Araştırmanın sonucunda 351 genotip arasından potansiyel çekirdeksiz 136 adet birey tespit edilmiştir. Toplamda 136 potansiyel çekirdeksiz melez üzüm genotipinin 77 adedi hem külleme hem de mildiyö hastalığına çok dayanıklı ya da dayanıklı olarak belirlenmiştir. Belirlenen 77 adet melez genotip gelecekteki ıslah çalışmalarında külleme ve mildiyöye dayanıklı yeni çeşitlerin ülke bağcılığına kazandırılması amacıyla kullanılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Çekirdeksizlik, Dayanıklılık, Külleme, MDS, mildiyö, *Vitis vinifera* L.

Scoring the Resistance of Some F₁ Grapevine Genotypes to Powdery Mildew (*Uncinula necator*) and Downy Mildew (*Plasmopara viticola*) Diseases and Determination of Seedless Genotypes by Marker Assisted Selection

ABSTRACT

Our country is the gene center of the vine and has an old and deep rooted viticulture culture. Among the most important disease factors that restrict viticulture in the world and cause yield and quality losses; downy mildew (*Plasmopara viticola*) and powdery mildew (*Erysiphe necator* syn. *Uncinula necator*). Seedless is one of the most important quality criteria sought in grapes.

In this study, F₁ hybrid grape genotypes obtained from crossing studies carried out in 2019 within the scope of the South Korea and Turkey Bilateral Cooperation project named "Mutual Evaluation of Grape Vine Genetic Resources and Breeding of Table Grape" were used. Studies; It consisted of two main stages: scoring the resistance of F₁ hybrid grape genotypes to powdery mildew (*U. necator*) and downy mildew (*P. viticola*) diseases and determining seedless genotypes by marker assisted selection (MAS).

In order to determine the resistance levels of hybrid genotypes against powdery mildew and downy mildew diseases, on four to five randomly selected leaves from each young plant(seedling), on the whole leaf area according to Descriptors for Grapevine (*Vitis spp.*) (OIV-452, 455 and 456) based on the coverage area of the infections determined by the percentage of disease lesions observed. A total of 475 hybrid grape genotypes were scored and 31 genotypes were determined to be very resistant to both powdery mildew and downy mildew disease.

SSR marker *5U_VviAGL11* was used to identify seedless hybrid genotypes with marker assisted selection. As a result of our research, one hundred and thirty-six potential seedless individuals were identified among three hundred and fifty-one genotypes. In total, seventy-seven of one hundred and thirty-six potential seedless hybrid grape genotypes were determined as very resistant to both powdery mildew and downy mildew. The determined seventy-seven hybrid genotypes will be used in future breeding studies to gain new cultivars resistant to powdery mildew and mildew to the country's viticulture.

Keywords: Seedlessness, Resistance, Powdery Mildew, MAS, Downy Mildew, *Vitis vinifera* L.

1. GİRİŞ

Ülkemiz dünyadaki en elverişli iklim kuşağı üzerinde bulunmakta ayrıca asmanın gen merkezleri arasında yer almaktadır. Ülkemizde bağcılık çok eskilere dayanan ve günümüze kadar önemini sürdüren tarım dallarından birisidir. Bağcılık kültürünün Anadolu’da M.Ö. 3500 yıllarına kadar dayandığı bilinmektedir (Çelik, 1998). Türkiye’de üzüm üreticileri, ülke ekonomisine son derecede önemli katkıda bulunmaktadır. Bağcılığın tarım ürünleri arasındaki yeri bölgelere göre farklılık göstermekle beraber ülkemizin hemen her bölgesinde güçlü bir bağcılık potansiyeli mevcuttur (Çelik ve ark., 1998). Türkiye’de yaklaşık 401 bin ha alanda, 4.2 milyon ton üzüm üretimi yapılmaktadır. Bu üretimin yaklaşık %43’ünü çekirdeksiz üzüm üretimi oluşturmaktadır (TÜİK, 2020). Üretilen çekirdeksiz üzümün 1/3 ü yaş olarak, 2/3 ü ise kurutmalık olarak değerlendirilmektedir. Türkiye dünyada üzüm üretim alanı bakımından beşinci sırada, üretim bakımından ise altıncı sırada yer almaktadır (FAO, 2020).

Dünya bağcılığının en önemli hastalık etmenleri arasında; mildiyö (*Plasmopara viticola*) ve külleme (*Erysiphe necator* syn. *Uncinula necator*) yer alır. Külleme ve mildiyö hastalıkları, asmanın gelişimini sınırlandırarak önemli derecede verim ve kalite kayıplarına sebep olmaktadır. Fungal hastalıklardan korunmak amacıyla bir vejetasyon döneminde 7-14 arasında ilaçlama yapılması zorunludur. Hatta bazı sofralık üzüm üreticileri bu sayıyı bir vejetasyon periyodunda 15 ve üzeri ilaçlamaya kadar çıkarmaktadırlar. Bu da bağcılıkta önemli bir girdiye sebep olurken, aynı zamanda kullanılan kimyasallar hava, su kaynakları ve toprakta ciddi kirlenmelere sebep olmaktadır (Karabat ve Atış, 2009, Lu ve diğ., 2020). Ancak bazen bu ciddi ilaçlama uygulamalarına rağmen sonuçlar istenildiği gibi olmamaktadır. Bu durum aynı zamanda insan sağlığını tehdit edebilecek boyutta ilaç kalıntısı riskine de sebep olabilmektedir (Nicolopoulou-Stamati ve diğ., 2016). Hem ilaçlamaları minimum düzeye indirmek, hem de insan sağlığını korumak amacıyla hastalıklara dayanıklı veya tolerant çeşitlerin geliştirilebilmesi için dünyanın farklı ülkelerinde ıslah çalışmaları yürütülmektedir (Yıldırım ve diğ., 2019).

Külleme (*Uncinula necator*) erken meyve oluşum döneminde yapraklarda ve meyvede gelişim gösteren, uygun iklim ve çevre koşullarına göre farklı seviyelerde zarara neden

olan önemli bir fungal hastalıktır. Tanelerin olgunlaşmasında gecikme, verim ve kalitede azalma gibi hastalığın şiddetine bağlı olumsuz etkileri bulunmaktadır (Pool ve diğ.,1984; Calonnec ve diğ., 2004; Stummer ve diğ., 2005).

Mildiyö ise özellikle yüksek yağış alan bölgelerde bulunan bağlarda ciddi sorunlara neden olan bir fungal hastalıktır (Kennelly ve diğ., 2005). Nemli yaprak yüzeyi ve 20-25°C ortam sıcaklığı mildiyö gelişimi için en uygun koşullardır. Mildiyö hastalığı da külleme gibi bağlarda verim ve kaliteyi olumsuz etkileyen bir hastalıktır (Salinari ve diğ., 2007; Chen ve diğ., 2020).

Yoğun bağ alanlarına sahip ülkeler, özellikle hastalıklara dayanıklı Amerikan kökenli *Vitis* türlerini gen kaynağı olarak kullanmaya başlamışlardır. Klasik melezleme ıslahı yöntemiyle Amerikan kökenli *Vitis* türleri ile *Vitis vinifera*'nın kalite özellikleri birleştirmeye çalışmışlardır. Son yıllarda organik ürünlere talebin gittikçe artmasıyla beraber organik üzüm yetiştiriciliğinde de ciddi bir artış meydana gelmiştir. Üzüm piyasasındaki bu gelişmelerden dolayı hastalıklara dayanıklı veya tolerant çeşitlere talep günden güne artmaktadır (Akkurt, 2004).

Çekirdeksizlik, taze meyve veya kuru üzüm olarak doğrudan tüketime yönelik asma meyvelerinde en değerli kalite özelliklerinden biri olmuştur (Ledbetter ve Ramming, 1989). Ülkemizde ve dünyada çekirdekiz üzüm çeşitlerine olan talep günden güne artmaktadır ve sonuç olarak yeni çekirdeksiz sofralık üzüm çeşitlerinin geliştirilmesine yönelik ıslah çalışmalarına ihtiyaç da benzer şekilde artmaktadır. İç ve dış pazara sunulan ana çeşidimiz Ege Bölgesi'nde yaygın olarak yetiştirilen Sultani Çekirdeksiz'dir. Asma ıslahı çalışmalarında; biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık, çekirdeksizlik, erkenci ve geççi çeşitlerin elde edilmesi gibi çalışmalar öncelikli konular arasındadır (Ergül, 1994). Klasik ıslah çalışmaları ile istenilen bu özelliklerin bir arada toplanması oldukça uzun yıllar gerektirmektedir. Tane boyutu, meyve kabuğu rengi ve salkım boyutu gibi özelliklerin fenotipik değerlendirmesine dayanan seçimler için asmanın verime yatmasını beklemek gerekir (melezlemelerden sonra en az üç yıl beklemek gerekir). Bununla birlikte, duyuşal ve/veya spesifik enstrümantal analiz gerektiren gevreklik, aroma ve asitlik gibi diğer değerlendirmelerin elde edilmesi birkaç mevsim daha fenotipik stabilite gerektirmektedir (Ledbetter ve Ramming, 1989). Bitki biyoteknolojisi son yıllarda bitki ıslahının hızlandırılmasında önemli olanaklar sağlamaktadır. DNA

moleküler belirteçleri kullanılarak yapılan seçimde, bitki gelişiminin çok erken aşamalarından itibaren ve meyve gelişimi ile olgunlaşma sürecinden tamamen bağımsız olarak istenilen özelliklerin seçimi yapılabilir. Yoğun emek ve uzun zaman gerektiren klasik ıslah çalışmalarına yardımcı olmak amacıyla, markör destekli seleksiyon ve doku kültürü uygulamaları günümüzde sıklıkla kullanılan tekniklerdir (Değirmenci ve Marasalı Kunter, 2007).

Klasik ıslah çalışmaları, melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen geniş popülasyon içerisinde arzu edilen özelliklere ait genotiplerin seçimi esasına dayanmaktadır. Asma gibi heterozigotik kalıtsal yapıya sahip çok yıllık bitkilerde uzun süren bir gençlik kısırılığı dönemi vardır (İşçi, 2008). Markör Destekli Seleksiyon (MDS) fenotipik seçilimin markörün genotipine dayalı olarak yapıldığı seleksiyon tekniğidir. MDS klasik ıslahta her geçen gün büyük önem kazanmakta ve başarı oranı giderek artmaktadır. MDS, ekonomik olarak önem arz eden, birden fazla gen veya lokus tarafından kontrol edilen, karakterlerin daha hızlı bir şekilde belirlenmesini sağlayan klasik ıslaha yardımcı bir tekniktir (Hvarleva ve diğ., 2009). MDS ile klasik ıslah çalışmaları daha kısa sürede tamamlanabilmekte ve hedef popülasyon büyüklüğü de klasik ıslaha göre daha küçük olmaktadır. Melez bitkilerin henüz çimlenme aşamasında hedefe yönelik seleksiyonuna imkan sağladığı için zamandan, paradan ve emekten büyük oranda tasarruf sağlamaktadır. Bu teknik kullanılarak çekirdeksizlik ve hastalıklara dayanıklılık gibi istenen özellikleri taşıyan genotipler seçilebilmekte, diğer genotipler ise elenebilmektedir.

Bu tezin amaçlarından biri F₁ melez üzüm popülasyonunun külleme (*Uncinula necator*) ve mildiyö (*Plasmopara viticola*) hastalıklarına dayanıklılık bakımından skorlanarak potansiyel dayanıklı genotiplerin belirlenmesi diğer amacı ise farklı *Vitis* türlerine ait üzümlerin melezlenmesi sonucunda elde edilen F₁ melez üzüm genotipleri içerisinde çekirdeksiz olabilecek genotiplerin marköre dayalı seleksiyon yöntemi ile belirlenmesidir. Kısaca bu çalışma ile hem çekirdeksiz hemde külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklı/tolerant melez genotipler belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Asmalar, *Rhamnales* takımının *Vitaceae* familyasına ait bitkiler olup, kültür asmalarının tümü *Vitis* cinsine aittir. *Vitis* cinsinin *Euvitis* (2n=38) ve *Muscadinia* (2n=40) olmak üzere iki alt cinsi bulunmaktadır. *Euvitis*, anaç olarak kullanılan ve ürünlerinden yararlanılan binlerce varyete ve kültür çeşidine sahiptir. *Vitis vinifera* L. *Euvitis* cinsinin en önemli türüdür (Winkler ve diğ., 1974).

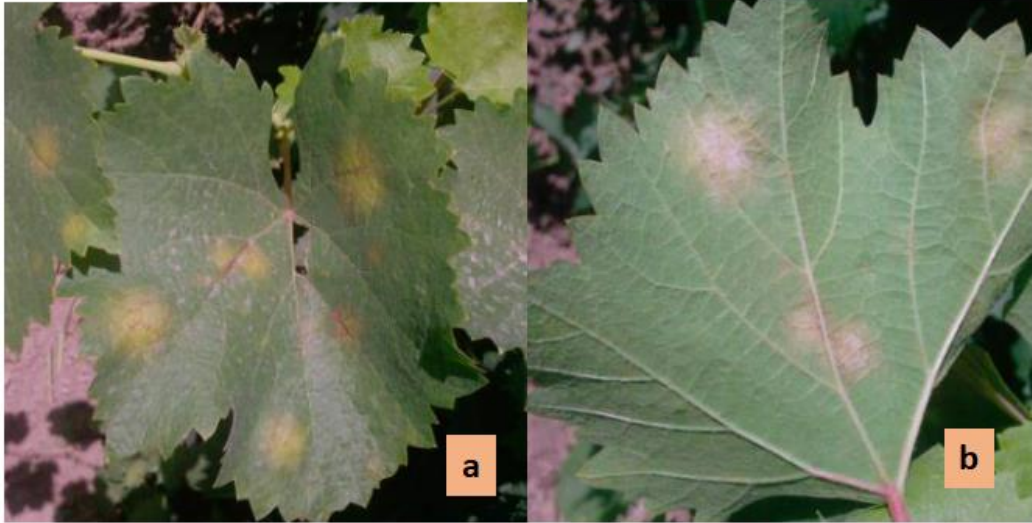
Üzüm (*Vitis spp.*) Akdenize kıyısı olan eski dünya ülkelerinde ilk yetiştirilen meyveler arasındadır (Zohary ve Hoph, 2000). Ülkemizde asmanın gen merkezlerinden biri olup, çok zengin bir üzüm koleksiyonuna sahiptir. Ülkemizde asmanın meyvesi olan üzüm sofralık, şaraplık, meyve suyu ve kurutmalık gibi birçok farklı şekilde tüketilmektedir. Sofralık üzüm yetiştiriciliği ülkemizde Ege Bölgesi başta olmak üzere Marmara ve Akdeniz Bölgelerinde oldukça yaygındır.

Asma hastalıklarının başında gelen ve bağcılığı sınırlandıran önemli iki hastalık; mildiyö (*Plasmopara viticola*) ve külleme (*Erysiphe necator* syn. *Uncinula necator*) dir. Bu iki mantari hastalık yeşil yaprakları ve meyveleri etkilerek; üzüm verimini, sıra ve şarabın kalitesini düşürmektedir (Gadoury ve diğ., 2001).

Külleme hastalığının (Şekil1-1a,b) belirtileri yaprak yüzeyinde beyaz tozlu düzensiz grimsi beyaz kloroz ve meyve, sap ve dal yüzeyinde beyaz tozlu siyah ağ çizgileri olarak ortaya çıkmaktadır (Reisch ve Pratt 1996, He, 1999). Mildiyö hastalığının (Şekil 2.1.a,b) belirtileri yaprak yüzeyinde sarımsı, yağlı lezyonlar olarak ortaya çıkmaktadır (He, 1999, Brown ve diğ.; 1999 a ve b; Emmett ve diğ.; 1992). Mildiyö hastalığı, yaprak dökülmesine neden olarak genel canlılığın azalmasına, kış yaralanmasına ve hatta hassas asmaların ölümüne neden olur (He, 1999, Brown ve diğ., 1999 a ve b).



Şekil 2.1. a. Salkımda külleme hastalığı, b. Yaprakta külleme hastalığı



Şekil 2.2. a. Yaprak üst yüzeyinde mildiyö hastalığı, b. Yaprak alt yüzeyinde mildiyö hastalığı

Külleme ve mildiyö hastalıklarının sporülasyon şiddetinin görsel skala ile skorlanması geleneksel bir yöntem olup hastalık direncinin değerlendirilmesinde farklı skalalar da kullanılmaktadır. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılan OIV-452 ölçeği olup, yaprakların değerlendirilmesi için tasarlanmış bir ölçektir (Gómez-Zeledón ve diğ.; 2013; Bove ve diğ.; 2019).

Külleme hastalığı bağcılık için birincil öneme sahip kabul edilmektedir (Gessler ve diğ.; 2011). *P. viticola* zoosporları ilk olarak stomalardan geçtiği için stoma bulunan tüm yeşil kısımlar patojene duyarlıdır (Kortekamp ve diğ., 1998). Hastalığı kontrol altına almak için kapsamlı bir mantar ilacı programı gerekmektedir; ancak aşırı pestisit kullanımı çevre kirliliğine, kalıntı toksisiteye ve patojenin dirençli suşlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Chen ve diğ., 2007; Gisi, 2002, Matasci ve diğ., 2008; Blum ve diğ., 2010). Bu durum insan sağlığı açısından ciddi sorunlara yol açmaktadır. Pestisitlerin azaltılması, çevre koruma, insan sağlığı ve gıda güvenliği açısından büyük önem arz etmektedir (Hoffmann ve diğ., 2007; Deliere ve diğ., 2010; Riaz ve diğ., 2011). Alternatif olarak, ıslah çalışmaları sonucunda elde edilen yeni asma genotipleri, pestisit uygulamasını azaltmakta ve bağcılığın sürdürülebilirliğine önemli bir katkı sağlamaktadır.

Vitis türlerinin mantar hastalıklarına duyarlılıkları arasında büyük farklılıklar vardır. Birkaç *Vitis* türü ve türler arası melez bireyler, birçok mantari hastalığa karşı yüksek direnç sahiptirler. Örneğin, *V. vinifera* oldukça duyarlı olarak kabul edilirken, *V. labrusca*, *V. riparia* ve *V. rupestris* gibi Amerikan türleri çok daha az duyarlıdır. Bununla birlikte, türler ve çeşitler hastalıklara karşı duyarlılıkları bakımından farklılık göstermektedir (Wan ve diğ., 2007). Doğal olarak dirençli ve yüksek kaliteli çeşitler yetiştirilir ve seçilirse, üzümler kimyasal ilaçlama yapılmadan başarıyla yetiştirilebilir. Son yıllarda mildiyö ve külleme hastalıklarına dayanıklı veya tolerant çeşitler elde etmek için farklı ıslah çalışmaları yapılmıştır (Hajdu, 2007; Cindric ve diğ., 2009; Lisek, 2014). 20. yüzyılın başlarında klasik melezleme ıslahı çalışmalarıyla dayanıklı yeni çeşitler geliştirilmek amacıyla Fransa başta olmak üzere dünyada Amerikan kökenli, hastalıklara dayanıklı/tolerant *Vitis* türleri gen kaynağı olarak kullanılmaya başlanmıştır. *V. vinifera*'nın kalite özellikleri ile Amerikan *Vitis* türlerindeki dayanıklılık özelliği birleştirilmeye çalışılmıştır (Akkurt, 2004). Bu çalışmaların sonucunda Vignoles ve Baco noir gibi birçok türler arası "Fransız-Amerikan" melezleri ortaya çıkmıştır. Pek çok araştırmacı, küllemeye dirençli genleri izole ederek bunları kaliteli yeni çeşitlere eklemek için büyük bir çaba sarf etmektedir (Akkurt ve diğ., 2007; Barker ve diğ., 2005; Coleman ve diğ., 2009; Dalbo ve diğ., 2001; Di Gaspero ve diğ., 2007; Eibach ve diğ., 2007; Hoffmann ve diğ., 2008; Mahanil ve diğ., 2007; Molnar ve diğ., 2007; Welter ve diğ., 2007).

Ülkemizde de hastalıklara dayanıklı yeni üzüm çeşitlerinin elde edilmesine yönelik çalışmalar 2000'li yılların başlarında başlamış ve bu kapsamda Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından bazı yeni çeşitler tescil edilerek ülke bağcılığına kazandırılmıştır. Bu çalışmalarda *V.labrusca* ve *V.vinifera* türleri arasında melezlemeler yapılmış ve çalışmaların sonucunda elde edilen yeni dayanıklı/tolerant çeşitlerin sofralık kullanıma uygun olmadığı daha çok şaraplık amaçlı olduğu bildirilmiştir (Özer ve diğ., 2012).

Külleme etkeni olan *Eriysphe necator* (Schw.) Burr., (eşanlamlı *Uncinula necator*) sadece *Vitis* cinsindeki bitkileri etkileyen zorunlu bir parazittir. Yüzelli yıldan fazla bir süredir külleme hastalığı, üzüm üretimini etkileyen ve sınırlandıran en önemli hastalıkların başında gelmektedir (Pirrello ve diğ., 2019). 1850'lerden bu yana, Avrupa'daki birkaç büyük salgına yanıt olarak bu hastalık üzerine araştırmalar yapılmıştır. Hastalık hem doğrudan (ürün kayıpları) hem de dolaylı (düşük asma gücü) zararlara neden olmaktadır. Orta ve yoğun şiddetli hastalık salgınları, verimde azalmaya (düşük meyve ağırlığı), gecikmiş meyve olgunluğuna ve değişen şarap bileşimine yol açmaktadır (Calonnec ve diğ., 2004; Gadoury ve diğ., 2001). Hastalıkların hafifletilmesine yönelik mevcut yöntem, fungusitlerin 7 ila 14 gün arayla tekrarlanması gerektirmektedir. Kimyasal ilaçlar hem meyve üzerinde hem de uygulanan çevrede kalabileceğinden dolayı hem insan sağlığına hem de çevreye büyük zararlar verebilmektedir (Lu ve diğ., 2020). Külleme, asmanın tüm yer üstü kısımlarını etkileyebilmekte; asma fenolojik aşamalarını geciktirebilmekte, çiçeklenme, meyve tutumu gibi dönemlerini uzatabilmektedir (Valdés-Gómez ve diğ., 2011). Ayrıca hastalığın seyri ilerledikçe meyvelerde çatlama meydana gelmekte ve pazarlanabilirlik yönünden meyveler olumsuz etkilenmektedir (Jarvis ve diğ., 2002).

Calonnec ve diğ., (2012) tarafından, tarlada meyve üzerinde hastalık direncini tahmin etmek ve asma yaprağı biyo-tahlillerinin güvenilirliğini değerlendirmek için bir araştırma yapmışlardır. Mildiyö ve külleme dayanıklılığını tespit etmek için çeşitli asma kantitatif özellik lokuslarının (QTL'ler) etkinliğini, biyo-tahlillerle ve mildiyö için iki yıllık bir arazi deneyi ile değerlendirmişlerdir. Arazide hastalık şiddetini OIV- 452 skalasını kullanarak tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmanın, yapraklar üzerinde biyo-tahlillerin

kullanılmasının, salkımların mildiyöye karşı dayanıklılık seviyesini doğruladığını bildirmişlerdir.

Boso ve diğ., (2014) farklı *V. vinifera* çeşitlerinin ve diğer *Vitis* türlerinin tarla, sera ve laboratuvar testlerinde mildiyö hastalığına duyarlılıklarını üç yıllık bir süre boyunca karşılaştırmışlardır ve farklı derecelerde duyarlılık tespit etmişlerdir. En duyarlı *V. vinifera* çeşitleri 'Treixadura' ve 'Albariño' olurken 'Cabernet Sauvignon', 'Mencía' ve 'Chasselas Doré' nin en az duyarlı olan çeşitler olduğunu bulmuşlardır. Farklı çeşitlerin mildiyöye duyarlılığının daha iyi bilinmesinin, yetiştiricilerin daha dirençli çeşit ve tipleri seçmesine olanak tanıyacağının sonucuna varmışlardır.

Calonnec ve diğ.,(2004) yaptıkları çalışmada Cabernet Sauvignon çeşidi ve 1999'da Sauvignon blanc için hastalık şiddeti ve verimi (meyvelerin ve şıranın); ile hastalık şiddeti ve şarap kalitesi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Üzüm salkımlarını omca üstünde, hastalıklı meyvelerin oranlarını yansıtan 0-4'lük bir görsel ölçek ile;salkımları C0, görünür külleme yok; C1, <%25 hastalıklı meyveler; C2, %26-50 hastalıklı meyveler; C3, %51-80 hastalıklı meyveler; C4, >%80 hastalıklı meyveler olacak şekilde skorlamışlardır. Üzümlerin (hastalık karakterizasyonu, ağırlık, şeker ve antosiyanin içeriği) ve onlardan üretilen şarabın analizlerini (antosiyanin, tanen içeriği ve asitlik) hastalıklardan farklı oranlarda etkilenen örnekler üzerinde yapmışlardır. Üzüm verimi üzerine küllemenin etkisine bakmışlar ve hastalıklı meyvelerin yüzdesindeki artışın salkım başına düşen meyve sayısında azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca küllemenin meyvelerin tane tutumundan sonraki süreçte etkili olduğu ve büyüme evresi boyunca kalitesini önemli oranda etkileyebileceğini bildirmişlerdir.

Wan ve diğ., (2007), *Vitis* spp. gen havuzu içinde külleme ve mildiyö hastalıklarına direnci belirlemek amacıyla 13 adet *Vitis* türü içerisinde 66 adet genotip üzerinde hastalıkların seyrini doğal koşullar altında incelemişlerdir. Her bir hastalığa karşı direncin değerlendirilmesi için her genotip veya çeşitten 150 yaprağı rastgele seçmişlerdir. Her yapraktaki semptomları, tüm yaprak üzerindeki tahmini lezyon yüzdesine dayalı olarak 0 ile 7 arasında derecelendirmişlerdir (He, 1994; Wang ve diğ., 1998): Derece 0 = semptom yok, 1 = %0,1-5,0; 2 = %5,1-15,0; 3 = %15,1-30,0; 4 = %30,1- %45,0; 5 = %45,1-65,0; 6 = %65,1-85,0; 7 = %85,1-100,0. Bu dereceleri daha sonra bir duyarlılık indeksine (SI) dönüştürmüşlerdir. Her genotipin direnç seviyesini, SI değerine göre beş kategoride

derecelendirmişlerdir: SI = 0.0 aşırı dirençli; SI = 0.1-5.0 yüksek dirençli; SI = 5.1-25.0 dirençli; SI = 25.1-50.0 duyarlı; SI = 50.1-100.0 yüksek derecede duyarlı. Buna göre 66 genotipten 46'sının küllemeye, 28'inin mildiyöye ve 19'unun her iki hastalığa da dirençli olduğunu tespit etmişlerdir.

Wu ve diğ., (2011), çalışmalarında Red Globe'un her iki hastalıkta da yüksek duyarlılığa sahip olduğunu tespit etmişler, ayrıca *V.labrusca* ile yapılan melezlemelerden elde edilen melez genotiplerin daha yüksek bir dayanıklılığa sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Atak ve diğ., (2017) külleme ve mildiyö hastalıklarına karşı dayanıklı olduğu düşünülen 26 adet *V. labrusca* genotipi ile toplam 35 adet üzüm genotip ve çeşidinin her iki hastalığa da dayanıklılık seviyelerini belirlemeye çalışmışlardır. Çeşitleri ve genotipleri oldukça dayanıklı, çok dayanıklı, dayanıklı, hassas ve çok hassas olmak üzere beş kategoride sınıflandırmışlardır. 35 çeşit/genotip arasından doğal enfeksiyon sonucuna göre, beşinin oldukça dayanıklı, sekizinin çok dayanıklı, ondördünün dayanıklı, beşinin hassas ve son olarak üçünün çok hassas olduğunu tespit etmişlerdir. Genel olarak, çeşitlerin/genotiplerin mildiyö hastalığına karşı dayanıklılık seviyesini, küllemeden çok daha yüksek bulmuşlardır. 35 çeşit/genotipin mildiyö değerlendirmesi açısından, dokuzunun tamamen dayanıklı ve 22 çok dayanıklı ve dördünün dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir. *V. labrusca* genotiplerinin diğer türlere göre daha dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde farklı amaçlarla sofralık üzüm çeşitlerinin eldesine yönelik ıslah çalışmaları Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü (ABKMAE)'nde 1973 yılında başlamıştır. 1988 yılında Yalova Çekirdeksizi, 1991 yılında Ergin Çekirdeksizi, 1997 yılında Samancı Çekirdeksizi tescil edilmiştir (Uslu ve Samancı, 1998). Bu ıslah çalışmasından şu ana kadar 12 üzüm çeşidi tescil edilerek ülke bağcılığına kazandırılmıştır (Söylemezoğlu ve diğ., 2020). Diğer bir ıslah çalışması Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nde 1974 yılında başlamıştır. Barış, Tekirdağ Çekirdeksizi, Reçel Üzümlü ve Güz Üzümlü bu ıslah programı kapsamında tescil edilen başlıca çeşitlerdir (Gürnil ve diğ., 1998).

Çekirdeksizlik kavramı ilk olarak Pearson (1932) ve Stout (1936) tarafından tanımlanmıştır. Çekirdeksiz üzüm çeşitleri çekirdeksizliğin çeşidine göre iki ana gruba

ayrılabilir (Stout, 1936; Pratt, 1971). Birincisi döllenme ve embriyonun gelişiminin gerçekleştiği ancak tohum gelişiminin zamanından önce genetik olarak kontrol edilen mekanizmalar sonucunda durdurulduğu stenospermokarpik tane tutumudur (Stout, 1936; Ledbetter ve Ramming, 1989; Kovaleva ve diğ., 1997). Diğeri ise partenokarpik tane tutumu olup tohum taslaklarının yapısına göre iki grupta incelenmektedir. Stimülatif partenokarpi çiçek tozlarının uyarıcı etkisi sonucu oluşmaktadır. Diğeri partenokarpik tane tutumu vejetatif partenokarpi olup tohum taslaklarının kusurlu yapısından kaynaklanmaktadır. Stimülatif partenokarpik tane tutumu ilk olarak Black Corint çeşidinde, vejetatif partenokarpik tane tutumu White ve Red Corint çeşitlerinde tanımlanmıştır (Ledbetter ve Ramming, 1989; Değirmenci ve Kunter, 2007).

Stabil bir stenospermokarpi fenotipi olarak 'Kishmish' olarak bilinen birkaç eski Orta Asya asma çeşidi ve bundan üretilen çeşitler gösterilmektedir. Bunlar arasında, sofralık üzüm yetiştirme programlarında çekirdeksizliğin ana kaynağı olan 'Sultani çekirdeksiz' veya 'Thompson Seedless' (Dangl ve diğ., 2001) olarak da bilinen beyaz meyveli 'Kishmish' bulunmaktadır (Adam-Blondon ve diğ., 2001; Ibanez ve diğ., 2009; Ibanez ve diğ., 2015). Bu nedenle stenospermokarpi çalışmaları, genellikle tohum kabuğu lignifikasyonundan yoksun, yumuşak ve genellikle algılanamayan tohum izleri üreten 'Sultani çekirdeksiz' ve 'Sultani çekirdeksiz' türevli çeşitlere odaklanmıştır.

Embriyo genellikle canlı kalırken, çiçeklenmeden 3-4 hafta sonra tespit edilen endosperm dejenerasyonunun derecesi ve tohum izlerinin nihai boyutu, genetik arka plana bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Pearson, 1932; Stout, 1936; Barritt, 1970). Sultani çekirdeksiz'deki stenospermokarpi, maternal tohum kabuğu dokularının gelişimindeki kusurlarla ilişkilendirilmiştir (Malabarba ve diğ., 2017).

Embriyo gelişimi çeşidin genetik özelliklerine bağlı olarak değişik safhalarda durabilmekte (Ledbetter ve Ramming, 1989; Gribaudo ve diğ., 1993) ve buna bağlı olarak farklı sınıflandırmalar yapılabilir. Olmo ve Barris (1973) çekirdeksizliği tohumun jilette kesilebilme durumu ve tohum ağırlığına göre sınıflandırmışlardır. Merin ve diğ.(1983), melezleme çalışması sonucunda F₁ generasyonunun çekirdeksizliklerinin belirlenmesinde tanelerin polifenol içeriklerine göre ayırım yapmışlardır. Ledbetter ve Shonnard (1991) çalışmalarında çekirdek ağırlığı 20 mg ve daha az olanlar ile çekirdek büyüklüğü iki mm ile daha küçük olanlar şeklinde değerlendirmişlerdir.

Son yıllarda melezleme çalışmalarında çekirdeksiz genotiplerin ön seleksiyonu marköre dayalı seleksiyon yardımı ile erken safhalarda yapılabilir. Marköre dayalı seleksiyon asma gibi uzun gençlik kısırlığına sahip olan bireylerde istenilen karakterlerin ön seleksiyonunda önemli avantajlar sunmaktadır (Hvarleva ve diğ., 2009).

Striem ve diğ., (1996) çalışmalarında RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA- Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) tekniğini kullanarak Flame seedless ve Early Muscat çeşitlerinin melezlemesinden oluşan 82 adet (39 çekirdeksiz ve 43 çekirdekli) genotipin analizini yapmışlardır. On iki adet markörde çekirdeksizliğe ilişkin özelliklerde önemli korelasyonlar saptamışlardır. Markör destekli seleksiyon ile çekirdekli genotiplerin %44' ünü elemişlerdir.

Bouquet ve Danglot (1996) araştırmalarında çekirdeksizliğin kalıtımının şimdiye kadar öne sürülen sayısız hipotezden hiçbirinin, ister çekinik ister baskın temellere dayansın, tatmin edici olmadığından bahsetmişlerdir. Asmadaki çekirdeksizliği, baskın bir düzenleyici gen tarafından kontrol edilen, birbirinden bağımsız olarak üç çekinik genin ifadesinin olduğu karmaşık bir sisteme dayandığı hipotezini öne sürmüşlerdir. Bu hipotezlerini, bilimsel literatürlerde yayınlanan diğer sonuçlarla karşılaştırmışlar ve asmada çekirdeksizlik kalıtımı üzerine daha fazla çalışma için teorik bir temel olarak kullanılacak kadar tutarlı olarak görmüşlerdir. Bu baskın lokus daha sonra Tohum Geliştirme İnhibitörü (SDI-Seed Development Inhibitor) olarak adlandırılmıştır (Lahogue ve diğ., 1998).

Lahogue ve diğ. (1998) çalışmalarında Sultani çekirdeksiz çeşidindeki çekirdeksizliğin döllenmenin gerçekleştiği ancak tohumların daha sonra gelişmediği tür çekirdeksizlik tipine örnek olarak verilebileceğinden bahsetmişlerdir. Bu özelliğin, *I* adlı dominant bir gen tarafından düzenlenen üç tamamlayıcı resesif gen tarafından kontrol edilebileceğini öne sürmüşlerdir. İki kısmen çekirdeksiz genotiplerin çaprazlama ile elde edilen soyda *I* genine bağlı RAPD markörlerini araştırmak amacıyla Bulk segregant analiz yöntemini kullanılmıştır. *I* ile sıkı bir şekilde bağlantılı görünen iki RAPD markörü belirlemişlerdir (sırasıyla 0.7 ve 3.5 cM'de). En yakın markörü, SCC8 adlı kodominant SCAR markör geliştirmek için kullanmışlardır. Bu ikinci markör, ya potansiyel olarak çekirdekli genotipleri elemek ya da çekirdeksiz bireyleri seçmek için son derece önemli görülmüştür. Gerçekten de, popülasyonun tüm çekirdekli bireylerinin homozigot scc8-

/scc8⁻ olduğu ve tüm çekirdeksiz bireylerin homozigot SCC8⁺/SCC8⁺ olduğunu tespit etmişlerdir. SCC8 markörü çekirdeksizliğin daha detaylı bir şekilde incelenmesi için de kullanılmıştır. SCAR markörün ANOVA analizi ile tohumun kuru maddesinin fenotipik varyasyonunun en az %78,7'sini ve tohumun yaş ağırlığının fenotipik varyasyonunun en az %64,9'undan sorumlu olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlarla araştırmacılar, bir ana genin ve ayrıca çekirdeksizliğin ifadesini kontrol eden diğer tamamlayıcı resesif genlerin varlığını da doğrulamışlardır.

Son yirmi yılda asmalarda moleküler belirteçlerin geliştirilmesinde önemli ilerleme kaydedilmiştir. Farklı çekirdeksiz ebeveyn kombinasyonlarından elde edilen kantitatif özellik lokusları (QTL) haritalarında asmalarda tane büyüklüğü ve çekirdeksizlik ile ilgili bağlantı grupları tespit edilmiştir. SDI, QTL bağlantı grubu (LG- Linkage group) 18 üzerinde konumlandırmış ve tohum içeriği parametrelerindeki fenotipik varyansın %70'e kadarını açıklamıştır (Fanizza ve diğ., 2005; Cabezas ve diğ., 2006; Mejía ve diğ., 2007; Costantini ve diğ., 2008).

Cabezas ve diğ. (2006), çekirdekli *V. vinifera* çeşidi “Dominga” ile çekirdeksiz “Autumn Seedless” çeşidinin melezlenmesinden elde edilen F₁ kombinasyonundan bir genetik harita geliştirmiştir. QTL haritasında, bağlantı grubu 18' in çekirdeksizlik özelliği ile ilişkili olduğunu tespit etmişler ve VMC7f2 markörünü bu QTL bölgesi ile yakından ilişkili SSR markörü olarak rapor etmişlerdir. VMC7f2 markörünün, ıslahta çekirdeksiz bireylerin erken tespiti için MDSde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Costantini ve diğ. (2008), üzüm asmalarında tane boyutu ve olgunlaşma süresi için QTL analizlerinden sonra bu bulguyu doğrulamış ve VMC7f2'yi SDI lokusu ile yakından ilişkili markör olarak tanımlamışlardır.

Akkurt ve diğ., (2012) “Muscat Hamburg” x “Sultani” hibrit popülasyonunda VMC7f2 marköründen gelen 198 bp alelinin F₁ neslinde çekirdeksizlik ile yakından ilişkili olduğunu bulmuş ve erken seleksiyonda MDS için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Karaağaç ve diğ., (2012) çekirdeksiz bireylerin seçiminde 198 bp alleli ve VMC7f2 markörünün başarılı bir şekilde kullanılabileceğini ve popülasyon büyüklüğü boyutunun bu markör kullanılarak %54'e düşürülebileceğini belirtmişlerdir.

Genetik bağlantıya ve varsayılan homolojiye dayanılarak, bölgedeki diğer genler için asma *AGAMOUS-LIKE 11* (*VviAGL11*= *AGAMOUS-LIKE 3*, *VviAG3*= *MINICHROMOSOME MAINTENANCE1*, *AGAMOUS*, *DEFICIENS* ve *SERUM RESPONSE FACTOR 5*, *VvMADS5*), SDI aday geni olarak önerilmiştir (Costantini ve diğ., 2008; Mejia ve diğ., 2011). Bu varsayım, *Arabidopsis thaliana*'da ovül morfogenezini ve tohum kabuğu farklılaşmasını kontrol eden SEEDSTICK (STK, At4g09960) olarak da bilinen MADS-box geni *AGL11* ile homolojisi dikkate alınarak yapılmıştır (Pinyopich ve diğ., 2003; Mizzotti ve diğ., 2014). Asma *VviAGL11* homolog proteinlerinin tohum morfogenezinde bir rolü olduğu gösterilmiştir (Malabarba ve diğ., 2017). Moleküler analizler, *VviAGL11*'in çekirdeksiz mutant haplotipinde (*sdi*+) iki sessiz olmayan tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlamıştır (Mejia ve diğ., 2011; Malabarba ve diğ., 2017).

Mejia ve diğ., (2011) sofralık üzüm çeşitlerinde, çekirdeksizliğin *VviAGL11* geninin ifadesinin susturulmasına neden olan kısa 'ekleme' ve 'çıkarma'lardan (INDELs) kaynaklandığı tespit etmişler ve *VviAGL11* geninin çekirdeksizlikten sorumlu gen olabileceğini belirtmişlerdir.

Ayrıca araştırmacılar, çekirdeksiz (*sdi*+) bireylerin tanelerinde veya çekirdekli bireylerin çekirdeklerine kıyasla azalmış *VviAGL11* ifadesinin, çekirdeksizliğin kökeni ile ilgili olduğunu bildirilmiştir (Mejia ve diğ., 2011; Ocarez ve Mejia, 2016; Malabarba ve diğ., 2017). Bu hipotezin devamında, *VviAGL11*'in çekirdeksiz alelinin kodlamayan bölgelerinde gözlenen dizi polimorfizmleri, yanlış ifadeye ve çekirdeksizliğe neden olan olası mutasyonlar olarak bildirilmiştir (Mejia ve diğ., 2011; Di Genova ve diğ., 2014). Yanlış ifade hipotezini doğrulamak için daha sonraki bir çalışmada, Ocarez ve Mejia (2016), *VviAGL11*'in promotör bölgesindeki birkaç olası gen dönüşüm olayını, düzenli çekirdek üreten Sultani çekirdeksiz' in somatik varyantlarında stenospermokarpinin tersine çevrilmesiyle ilişkilendirmişlerdir. Yanlış ifade hipotezinin SDI mutasyonunun baskın doğasını açıklamada sınırlamaları olduğunu ve ayrıca çekirdek dokularında *VviAGL11* ifadesinin azaldığı gerçeği tutarlı bir şekilde kanıtlanamamıştır (Mejia ve diğ., 2011; Ocarez ve Mejia, 2016; Malabarba ve diğ., 2017).

Bergamini ve diğ. (2013) *VvAGL11*'in MDS'de "tanısal" gücünü değerlendirmek ve doğrulamak için kendi üzüm koleksiyonlarından 475 adet melez F₁ genotipi üzerinde

derinlemesine bir analiz yapmışlardır. Bu 475 adet genotipten sadece sekiz adet genotipi yanlış pozitif olarak tespit etmişlerdir. Çekirdeksiz çeşitlerin tamamının bu alleli içerdiğini ve *V. vinifera* L. melezlerinde negatif stenospermokarpinin erken seçimi için bu markörün %100 etkili bir araç olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Ocarez ve diğ.(2020) tarafından yapılan çalışmada toplam 573 F₁ bireyinin çekirdeksizliğini belirlemek için 20K SNP çipini kullanmışlar ve iyi bir QTL haritalama analizi için dört mevsim boyunca genotipleri fenotipik olarak karakterize etmişlerdir. Sonuç olarak, 5U_VviAGL11 SSR markörünün p3_VviAGL11 SSR marköründen daha bilgilendirici olduğunu tespit etmişlerdir. Yeni, 5U_VviAGL11 markörünün daha bilgilendirici, sağlam ve analiz edilmesinin daha kolay olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmalarında Sultani Çekirdeksizi ve Crimson Seedless' ı referans olarak kullanmışlar ve 319 bp' lik allelin çekirdeksizliği tanımladığını ifade etmişlerdir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Malzeme

Araştırmada, bitkisel materyal olarak “Asma Genetik Kaynaklarının Karşılıklı Değerlendirilmesi ve Sofralık Üzüm Islahı” isimli Güney Kore ve Türkiye İkili İşbirliği projesi kapsamında 2019 yılında amaca uygun belirlenen ana ve tozlayıcı çeşitlerle melezleme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen meyvelerden çıkarılan çekirdeklerden, F₁ melez üzüm genotipleri elde edilmiştir. Bu F₁ melez üzüm genotipleri çalışmanın ana materyalini oluşturmaktadır. Denemenin takibi açısından kombinasyonlardan elde edilen her F₁ melez bireye özgü kodlama yapılmıştır. Yapılan kodlamada kullanılan harf melezlemenin yapıldığı yılı temsil ederken, sağ tarafındaki ilk sayı kombinasyon numarasını, en sağdaki sayı ise genotip numarasını belirtmektedir. Çalışmada B5 (Bronx Seedless X K-77), B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş), B16 (Yalova Çekirdeksizi X Red Globe), B20 (Bronx Seedless X 86/1) ve B21 (Ruby Seedless X 86/1) melezleme kombinasyonlarından elde edilmiş olan F₁ melez üzüm genotipleri kullanılmıştır. Denemede kullanılan F₁ genotiplerin enstitü fidanlığındaki genel görüntüsü Şekil 3.1’ de verilmiştir. Çalışmaların büyük bir kısmı Yalova Atatürk Bahçe Kütürleri Merkez Araştırma Enstitü içerisinde yer alan fidanlık, deneme serası, doku kültürü ve biyoteknoloji laboratuvarlarında yürütülmüştür.



Şekil 3.1. Denemede kullanılan F₁ melez üzüm genotiplerinin genel görüntüsü

Çalışmada kullanılan melezleme kombinasyonları, ve ebeveynlere ait özellikler Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan melezleme kombinasyonları ve ebeveynler

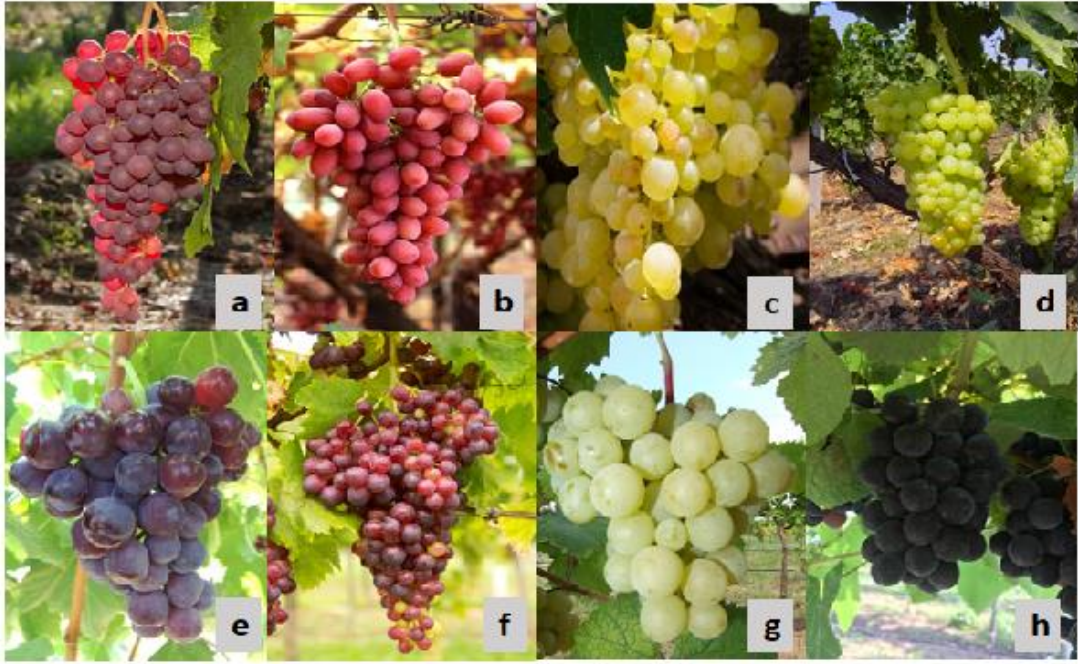
Kombinasyon Kodu	Ana Ebeveyn	Tozlayıcı
B-5	Bronx Seedless: (Goff X Iona X Sultani çekirdeksiz kombinasyonunda elde edilmiş türlerarası bir melezdir (Şekil 3.2.a). Foxy renkli ve çekirdeksiz meyvelere sahiptir.	K-77; (<i>V.labrusca</i>): Bu üzüm ABKMAE Yalova seleksiyon ıslahı tarafından seçilmiştir (Şekil 3.2.h). <i>V.labrusca</i> türüne mensup olan bu genotip mantari hastalıklara karşı dayanıklı, siyah renkli, çekirdekli ve yoğun misket aromalı tanelere sahiptir. Oldukça verimli olup üzüm suyu yapımına uygundur.

Tablo 3.1. (Devam) Çalışmada kullanılan melezleme kombinasyonları ve ebeveynler

Kombinasyon Kodu	Ana Ebeveyn	Tozlayıcı
B-10	Crimson Seedless: taneleri eliptik, kırmızı renkli ve iridir (3,7 gr.) (Şekil 3.2.b). Salkım çok iri (670 gr.), kanatlı konik şeklinde ve sıktır. Çekirdeksiz, orta geççi bir çeşittir. İri taneli ve sert meyve eti yapısıyla sofralık özelliği yüksek bir çeşittir.	Beyaz Çavuş: Sarımsı yeşil, hafif oval, iri ve 1-2 çekirdekli tanelere sahiptir (Şekil 3.2.c). Çeşide özgü aroması vardır. Salkımları dallı silindirik şeklinde ve iri/çok iridir. Orta erken olgunlaşan ve kısa budamaya uygun bir çeşittir.
B-16	Yalova Çekirdeksizi: 1990 yılında ABKMAE Müdürlüğü'nde tescil edilmiştir. Tane oval, beyaz, iri (4-5 gr.) ve ince kabukludur (Şekil 3.2.d). Tane eti az sulu ve gevrekli. Çekirdeksiz (stenospermokarpik) yapıda taneleri vardır. Salkım orta büyük (250-300 gr), konik ve orta sıktır. Erkenci bir çeşittir. Asmaları kuvvetli gelişir, orta verimlidir. Uzun budamaya uygundur. Hasat dönemine yakın tane ucunda bazen çatlama görülmektedir.	Red Globe: 1980 yılında Kaliforniya' da tescil edilmiştir. Tane özellikleri yuvarlak hafif eliptik, pembemsi kırmızı çok iridir (12-14 gr.) (Şekil 3.2.e). Salkım şekli konik, büyüklüğü çok iri (1000 gr.), sıklığı dolgundur. Çekirdek sayısı 3-4 olup, nötral bir tadı vardır. Olgunlaşması orta mevsimde olup kısa budamaya uygundur.

Tablo 3.1. (Devam) Çalışmada kullanılan melezleme kombinasyonları ve ebeveynler

Kombinasyon Kodu	Ana Ebeveyn	Tozlayıcı
B-20	Bronx Seedless	86/1: Hafızali X Muscat Reine des Vignes melezidir. <i>Vitis vinifera</i> L. türüne mensup melez üzüm genotipi olup beyaz renkli, çekirdekli ve misket aromalıdır (Şekil 3.2.g). Yalova ABKMAE tarafından yürütülen melezleme ıslahı çalışmalarında elde edilmiştir. Çiçek yapısı itibari ile fizyolojik dişi olup kendi çiçek tozları ile tozlanamamaktadır. Mutlaka tozlayıcı çeşide ihtiyaç duyarlar. Bu çiçek yapısı sayesinde melezleme çalışmalarında emaskulasyona ihtiyaç duymazlar. Çiçeklenme zamanında yağışlı geçmesi halinde yoğun boncuklanma görülür. Oldukça erken dönemde olgunlaşan taneleri ince kabukludur.
B-21	Ruby Seedless: tane özellikleri kırmızı renkli, iri taneli ve çekirdeksizdir (Şekil 3.2.f). Salkımları çok iri dallı silindirik şeklindedir. Orta erken olgunlaşır ve kısa budamaya uygun bir çeşittir.	86/1



Şekil 3.2. Denemede kullanılan genotiplere ait ebeveynler; a) Bronx Seedless, b) Crimson Seedless, c) Beyaz Çavuş, d) Yalova Çekirdeksizi, e) Red Globe, f) Ruby Seedless, g) 86/1, h) K-77.

Çalışmalar; F₁ melez üzüm genotiplerinin külleme (*Uncinula necator*) ve mildiyö (*Plasmopara viticola*) hastalıklarına dayanıklılıklarının skorlanması ve çekirdeksiz genotiplerin markör destekli seleksiyon (MDS) ile belirlenmesi olmak üzere iki ana safhadan oluşmaktadır.

3.2. Yöntem

3.2.1. F₁ Üzüm Genotiplerinin Külleme (*Uncinula Necator*) ve Mildiyö (*Plasmopara Viticola*) Hastalıklarına Dayanıklılıklarının Skorlanması

Külleme ve mildiyö hastalıklarına karşı genotiplerin duyarlılık seviyelerini belirlemek amacıyla saksılarda köklendirilmiş F₁ melez üzüm fidanları kullanılmıştır. Sürgünlerde on yaprak oluştuğunda bu fidanlar enstitüdeki üzüm parsellerine yakın uygun bir yere, doğal ortamlara bırakılmış, herhangi bir yapay aşılama yapılmamış, külleme ve mildiyö hastalık etmenleri tarafından doğal inokülasyon yöntemi ile enfekte olması sağlanmıştır. Bu aşamada fidanlara herhangi bir fungusit uygulaması yapılmamış ve yapraklardaki külleme ve mildiyö enfeksiyonları günlük olarak kontrol edilmiştir.

Genotiplerdeki külleme ve mildiyö enfeksiyonları her bir fidandan olgunluğa erişmiş rastgele seçilen dört, beş yaprak üzerinde, enfeksiyonların kaplama alanı baz alınarak Descriptors for Grapevine (*Vitis spp.*) (OIV-452, 455 ve 456) ' nin EK-A'da açıklanan prosedürüne göre tüm yaprak alanında gözlemlenen hastalık lezyonlarının yüzdesi hesaplanarak belirlenmiştir (OIV, 2009).

3.2.2. Çekirdeksiz Genotiplerin MDS ile Belirlenmesi

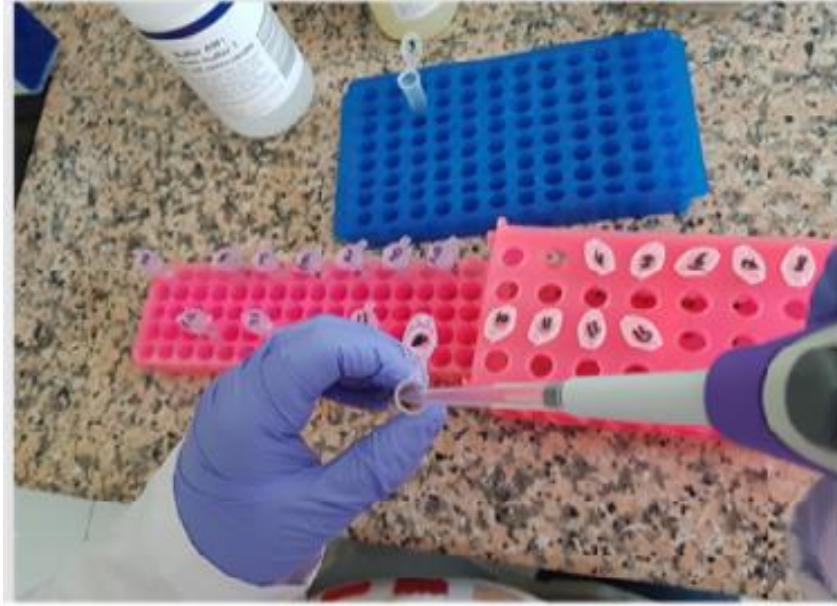
MDS ile çekirdeksiz genotiplerin belirlenmesi amacıyla genotiplere ait yaprak örnekleri 2.0 mL'lik ependorf tüplere Şekil 3.3' de gösterildiği şekilde alınmış ve örnekler analiz edilene kadar -80 °C' de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. DNA izolasyonu ve MDS için genotiplere ait yaprak örneklerinin alınması

DNA izolasyonu için öncelikle yaprak dokuları iyice homojenize edilmiştir. Bu amaçla önce her biri 2.0 mL'lik yüksek basınca dayanıklı plastik tüp içerisine 100 mg yaprak örneği ve bir adet metal bilye konulmuş, daha sonra yaklaşık 30 saniye sıvı azot içerisine daldırılmıştır. Sıvı azottan çıkarılan örnekler toz haline gelene kadar Qiagen marka Tissuelyser- II parçalayıcı kullanılarak parçalanmıştır. Qiagen marka DNeasy Plant mini kit ile yapılan DNA izolasyonu kit protokolüne (DNeasy Plant Handbook, 2016) uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4). DNA izolasyon protokolü EK-B' de verilmiştir. İzole edilen DNA'lar kullanılacağı zamana kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Elde

edilen DNA' nın kalitesi ve miktarını belirlemek amacıyla hem agaroz jel elektroforezinde yürütme işleme hem de Nanodrop spektrofotometre ile ölçüm işlemleri gerçekleştirilmiştir. DNA'lar 200 ml %1' lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek görüntülenmiştir. Herbir kuyucuğa 3 μ L 6X Loading Dye boya ve 5 μ L DNA karıştırılarak yükleme yapılmış ve örnekler 30 dak. 100 V' ta yürütülmüştür. Implen marka N-60 Touch model Nanodrop spektrofotometre'de absorbans değerleri ölçülerek (Şekil 3.5) belirlenmiştir. Nanodrop spektrofotometre ile miktar (ng/ μ l) ve saflık tayinleri yapılan DNA örneklerinde, son hacim 10 ng/ μ l olacak şekilde seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir. DNA miktar ve saflığında sorun görülen melez genotiplerin DNA izolasyon işlemleri tekrar edilmiştir.



Şekil 3.4. Genotiplerin DNA izolasyonu.



Şekil 3.5. İzole edilen DNA' ların miktar ve saflıklarının Nanodrop spektrofotometre ile ölçülmesi.

İzole edilen DNA örneklerinin PZR'ları *5U_VviAGL11* SSR markörü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmada kullanılan primerler

İleri (forward) primer: 5'-CGC CCATTC TCT CTC GCT AT-3'

Ters (reverse) primer: 5'-GTG CAA AAA CGC GTA TCC CA-3'

şeklindedir (Ocarez ve diğ., 2020).

PZR için; 15–200 ng DNA, 10 pmol ileri (forward) primer, 10 pmol ters (revers) primer, 12.5 µL 'master mix' olmak üzere son hacim 25 µl olacak şekilde karışım hazırlanmış ve Biorad T-100 Thermal Cyclers (Şekil 3.6) cihazında aşağıdaki programa göre PZR işlemi gerçekleştirilmiştir.

PZR programı:

1. 94 °C 3 dak

- | | | |
|----|-------|--------|
| 2. | 94 °C | 1 dak |
| 3. | 55 °C | 1 dak |
| 4. | 72 °C | 2 dak |
| 5. | 72 °C | 10 dak |

(2,3 ve 4 nolu basamaklar 35 döngü tekrarlanarak uygulanmıştır.)



Şekil 3.6. PZR işleminin yapıldığı Biorad T-100 Thermal Cycler cihazı

PZR amplifikasyonu sonrası PZR ürünlerinin çoğalıp çoğalmadığını kontrol etmek amacıyla %2'lik agaroz jele 5U_VviAGL11 primeri için lokuslara ait PZR ürünleri 10 µL yüklenerek Vilber E-Box görüntüleme sistemi kullanılarak lokuslara ait jel görüntüleri alınmıştır. Her bir jelin ilk kuyucuğuna 10 µL DNA Ladder (50-1000 bp) yüklenmiş ve bant büyüklükleri bu ladder yardımı ile tespit edilmiştir. Çalışmayan örnekler için PZR tekrar edilmiştir. PZR ürünleri DNA fragment analiz sisteminde kapiller elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Kapiller Elektroforez işlemi AATI Fragment Analyzer cihazında (Şekil 3.7) Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü Moleküler Genetik

Laboratuvarında yapılmıştır. PZR ürünleri Fragment Analyzer cihazında pik görüntüleri elde edildikten sonra, ProSize yazılımıyla piklerdeki allel büyüklükleri belirlenmiştir.



Şekil 3.7. Kapiller Elektforez işleminin yapıldığı AATI Fragment Analyzer Cihazı

4. BULGULAR

4.1. F₁ Melez Genotiplerin Külleme ve Mildiyö Hastalıklarına Ait Skorlamaları

F₁ melez üzüm genotiplerinin doğal inokülasyon sonucunda külleme (*Uncinula necator*) ve mildiyö (*Plasmopara viticola*) hastalıklarına ait skorlama sonuçları Tablo 4.1.- Tablo 4.5’ te verilmiştir.

Tablo 4.1. B5 (Bronx Seedless X K-77) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları

Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
B5-2	1	3	B5-58	3	0
B5-3	1	1	B5-59	3	3
B5-4	3	1	B5-61	5	1
B5-5	1	1	B5-62	5	1
B5-6	1	5	B5-67	1	5
B5-7	3	3	B5-69	3	3
B5-8	3	3	B5-70	3	1
B5-9	1	3	B5-71	5	1
B5-10	3	3	B5-81	1	3
B5-11	1	1	B5-82	1	1
B5-15	5	1	B5-84	3	1
B5-16	1	1	B5-93	1	1
B5-17	1	0	B5-95	3	3
B5-18	1	0	B5-97	3	3
B5-19	3	1	B5-100	0	1
B5-20	3	3	B5-104	1	1
B5-21	3	5	B5-105	5	3
B5-22	1	3	B5-109	3	3
B5-24	1	1	B5-111	3	3
B5-25	3	1	B5-114	1	3
B5-26	3	3	B5-117	5	1
B5-27	3	3	B5-122	5	5
B5-29	3	3	B5-125	3	1
B5-31	5	3	B5-127	1	5
B5-32	3	1	B5-128	1	3
B5-33	3	3	B5-129	3	0
B5-35	1	5	B5-130	3	1
B5-37	3	1	B5-133	7	3

Tablo 4.1. (Devam) B5 (Bronx Seedless X K-77) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları

B5-39	5	1	B5-135	3	3
B5-41	3	5	B5-136	3	3
B5-49	3	1	B5-138	1	3
B5-52	5	1	B5-139	3	0
B5-46	1	3	B5-137	3	3

Tablo 4.2. B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları

Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
B10-127	7	5	B10-196	1	3
B10-129	7	5	B10-198	3	1
B10-132	5	3	B10-199	3	1
B10-133	5	3	B10-200	5	1
B10-134	5	5	B10-203	5	3
B10-136	7	3	B10-204	5	1
B10-137	5	5	B10-205	3	5
B10-138	7	3	B10-207	1	3
B10-141	5	1	B10-209	7	3
B10-145	5	3	B10-213	3	1
B10-146	5	3	B10-214	3	5
B10-147	3	5	B10-215	3	3
B10-149	5	1	B10-216	3	5
B10-151	5	1	B10-217	1	3
B10-154	5	1	B10-218	5	1
B10-155	5	1	B10-220	3	3
B10-157	3	1	B10-221	5	3
B10-158	5	1	B10-222	7	3
B10-160	5	1	B10-223	1	1
B10-161	5	1	B10-224	5	1
B10-162	3	3	B10-226	3	3
B10-164	3	3	B10-227	3	1
B10-165	5	3	B10-229	3	1
B10-166	5	3	B10-230	3	1
B10-167	5	3	B10-231	3	0
B10-168	3	1	B10-232	3	1
B10-169	3	3	B10-234	3	1
B10-170	7	5	B10-237	3	1
B10-171	5	3	B10-238	3	1

Tablo 4.2. (Devam) B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skollama sonuçları

Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
B10-172	5	3	B10-246	3	1
B10-173	5	5	B10-247	3	1
B10-174	3	1	B10-253	5	1
B10-175	3	0	B10-264	5	1
B10-178	5	3	B10-265	7	3
B10-180	5	3	B10-270	5	3
B10-181	1	1	B10-273	5	3
B10-182	5	1	B10-277	1	3
B10-183	5	3	B10-284	3	1
B10-185	5	1	B10-290	5	3
B10-186	5	3	B10-296	1	3
B10-187	1	5	B10-302	5	5
B10-190	7	3	B10-327	3	1
B10-193	3	3	B10-329	1	1
B10-194	1	3	B10-333	3	0
B10-196	1	3	B10-337	5	1

Tablo 4.3. B16 (Yalova Çekirdeksizi X Red Globe) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skollama sonuçları

Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
B16-2	3	3	B16-173	5	1
B16-8	3	5	B16-174	3	3
B16-9	3	3	B16-176	3	3
B16-15	5	3	B16-177	1	1
B16-16	3	5	B16-178	1	3
B16-18	3	5	B16-182	3	3
B16-22	3	3	B16-183	3	3
B16-27	3	3	B16-184	3	5
B16-28	1	5	B16-185	3	3
B16-29	3	3	B16-186	5	3
B16-30	3	3	B16-187	3	3
B16-38	3	3	B16-188	3	5
B16-39	3	3	B16-189	3	3
B16-41	1	3	B16-190	7	3
B16-43	3	3	B16-191	5	1
B16-58	1	5	B16-192	3	3

Tablo 4.3. (Devam) B16 (Yalova Çekirdeksizi X Red Globe) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları

Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
B16-68	3	3	B16-196	3	3
B16-76	3	3	B16-197	3	3
B16-85	3	1	B16-198	3	3
B16-87	3	1	B16-200	5	3
B16-88	3	1	B16-201	3	5
B16-104	5	3	B16-203	3	3
B16-108	3	1	B16-204	3	5
B16-109	1	3	B16-205	3	3
B16-126	3	1	B16-208	1	5
B16-128	3	1	B16-210	3	3
B16-134	3	1	B16-211	1	3
B16-135	5	3	B16-212	5	3
B16-140	3	1	B16-213	5	3
B16-142	3	1	B16-214	1	3
B16-143	1	1	B16-215	3	3
B16-144	1	1	B16-216	1	3
B16-145	3	5	B16-217	3	3
B16-146	1	1	B16-218	3	3
B16-147	3	3	B16-219	3	3
B16-148	1	5	B16-221	5	3
B16-149	3	1	B16-222	5	3
B16-150	1	1	B16-223	3	3
B16-151	5	1	B16-225	3	1
B16-154	5	1	B16-226	1	3
B16-155	3	3	B16-227	5	3
B16-156	3	3	B16-228	3	1
B16-157	3	1	B16-230	3	1
B16-159	5	1	B16-231	3	0
B16-160	5	3	B16-232	3	3
B16-162	3	1	B16-233	3	3
B16-163	3	1	B16-234	3	1
B16-164	3	1	B16-236	3	1
B16-165	5	5	B16-237	5	3
B16-167	3	1	B16-238	3	3
B16-168	1	5	B16-239	0	1
B16-169	3	3	B16-240	3	1
B16-170	3	3	B16-241	3	3
B16-171	5	1	B16-242	0	1
B16-172	1	3			

Tablo 4.4. B20 (Bronx Seedless X 86/1) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları

Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
B20-62	1	3	B20-136	3	3
B20-64	1	1	B20-138	3	1
B20-67	3	3	B20-139	1	3
B20-68	1	3	B20-140	3	1
B20-69	1	5	B20-141	3	5
B20-70	3	3	B20-142	3	3
B20-71	5	3	B20-145	1	3
B20-72	1	1	B20-146	1	3
B20-73	1	1	B20-147	1	3
B20-74	1	3	B20-148	3	1
B20-76	3	3	B20-149	3	3
B20-77	3	3	B20-150	5	1
B20-80	5	5	B20-151	1	0
B20-81	3	3	B20-153	1	0
B20-82	3	3	B20-154	1	0
B20-83	3	3	B20-156	1	0
B20-84	1	3	B20-161	3	0
B20-85	1	1	B20-162	0	3
B20-87	3	3	B20-163	3	0
B20-88	3	3	B20-165	1	0
B20-90	3	5	B20-166	5	1
B20-93	1	3	B20-167	3	1
B20-95	5	3	B20-168	3	0
B20-96	3	3	B20-171	3	1
B20-97	3	3	B20-172	3	1
B20-98	3	3	B20-175	1	3
B20-99	3	3	B20-180	3	3
B20-101	3	3	B20-181	3	3
B20-105	3	3	B20-187	3	1
B20-107	3	3	B20-188	5	3
B20-110	3	3	B20-190	5	1
B20-111	3	1	B20-194	3	5
B20-113	1	3	B20-206	3	3
B20-114	1	3	B20-220	3	1
B20-115	3	3	B20-222	1	3
B20-116	3	3	B20-228	3	3
B20-117	1	5	B20-230	3	3
B20-118	1	5	B20-235	3	3

Tablo 4.4. (Devam)B20 (Bronx Seedless X 86/1) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları

Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
B20-119	5	3	B20-259	1	3
B20-120	3	3	B20-286	3	1
B20-121	5	3	B20-296	3	3
B20-122	3	1	B20-323	3	1
B20-124	3	3	B20-355	1	1
B20-125	3	3	B20-379	1	3
B20-126	3	3	B20-399	3	3
B20-127	3	3	B20-422	3	1
B20-128	3	5	B20-423	7	5
B20-129	3	5	B20-425	3	5
B20-130	5	5	B20-427	3	1
B20-131	3	3	B20-435	3	5
B20-132	3	3	B20-437	5	3
B20-133	3	1	B20-451	1	3
B20-135	3	5			

Tablo 4.5. B21 (Ruby Seedless X 86/1) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları

Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
21-4	3	5	21-103	1	3
21-7	3	1	21-104	3	3
21-11	3	5	21-105	3	5
21-20	3	5	21-106	5	3
21-28	3	5	21-107	3	3
21-31	3	3	21-109	3	3
21-35	3	1	21-110	3	5
21-37	1	5	21-111	1	3
21-40	1	3	21-113	1	3
21-42	3	7	21-114	3	3
21-44	1	3	21-116	3	3
21-47	3	3	21-117	3	3
21-51	1	7	21-119	1	5
21-56	1	5	21-120	3	3
21-57	3	5	21-123	3	3
21-58	3	3	21-124	3	5
21-60	3	3	21-125	3	3
21-62	5	5	21-126	3	3

Tablo 4.5. (Devam) B21 (Ruby Seedless X 86/1) serisi melez genotiplere ait külleme ve mildiyö skorlama sonuçları

Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
21-63	1	3	21-127	3	3
21-64	3	5	21-128	3	3
21-65	3	5	21-129	1	3
21-66	3	3	21-130	1	3
21-67	3	5	21-131	3	3
21-68	1	3	21-132	3	3
21-69	3	3	21-133	3	3
21-70	3	3	21-134	1	5
21-71	5	3	21-135	3	3
21-72	3	3	21-136	1	5
21-73	3	5	21-137	3	5
21-74	3	3	21-138	3	5
21-75	3	5	21-139	3	3
21-76	1	3	21-140	1	3
21-78	3	5	21-141	1	3
21-79	3	5	21-142	1	5
21-81	1	7	21-143	3	1
21-82	3	3	21-144	3	3
21-83	3	5	21-146	1	3
21-84	3	5	21-147	3	3
21-86	3	5	21-148	3	3
21-89	3	3	21-149	1	5
21-90	1	5	21-150	3	3
21-91	1	5	21-151	3	1
21-92	3	3	21-152	3	3
21-95	3	3	21-153	3	3
21-96	1	5	21-154	3	3
21-97	1	3	21-155	3	3
21-99	3	3	21-156	3	5
21-100	3	3	21-158	3	3
21-101	1	5	21-159	1	5
21-102	3	3	21-160	1	5

Bazı genotiplerin külleme (*Uncinula necator*) hastalığına ait skorlanan yaprak örneklerinin görüntüsü Şekil 4.1- Şekil 4.5’ de verilmiştir.



Şekil 4.1. B20-154 nolu genotipe ait yaprak örneği (Külleme skoru-1)



Şekil 4.2. B20-111 nolu genotipe ait yaprak örneği (Külleme skoru-3)



Şekil 4.3.B16-171 nolu genotipe ait yaprak örneği (Külleme skoru-5)



Şekil 4.4. B10-190 nolu genotipe ait yaprak örneği (Külleme skoru-7)



Şekil 4.5. Külleme ve Mildiyö skoru 0 olan bir genotipe ait yaprak örneği

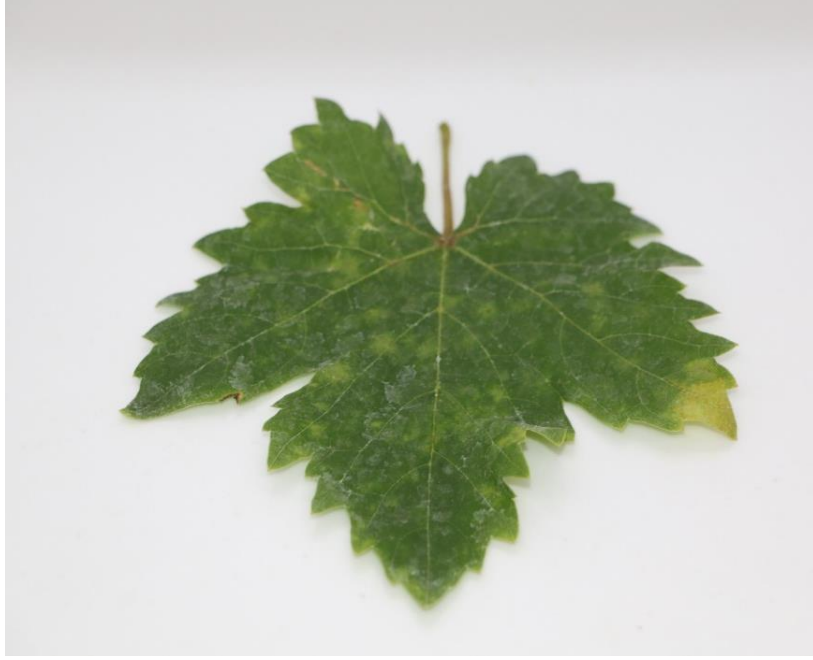
Bazı genotiplerin mildiyö (*Plasmopara viticola*) hastalığına ait skorlanan yaprak örneklerinin görüntüsü Şekil 4.6- Şekil 4.9’ da verilmiştir.



Şekil 4.6. B16-242 nolu genotipe ait yaprak örneği(Mildiyö skoru-1)



Şekil 4.7. B20-162 nolu genotipe ait yaprak örneği (Mildiyö skoru- 3)

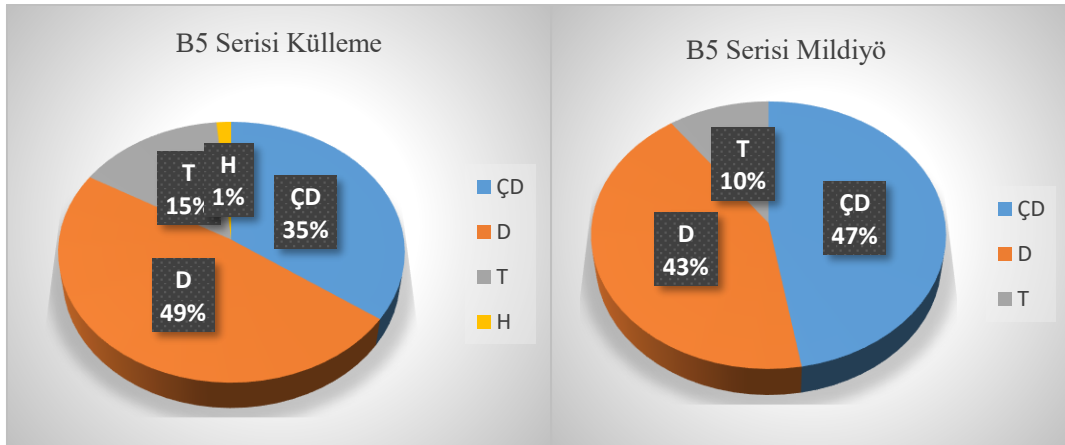


Şekil 4.8. B21-81 nolu genotipe ait yaprak örneği (Mildiyö skoru-5)



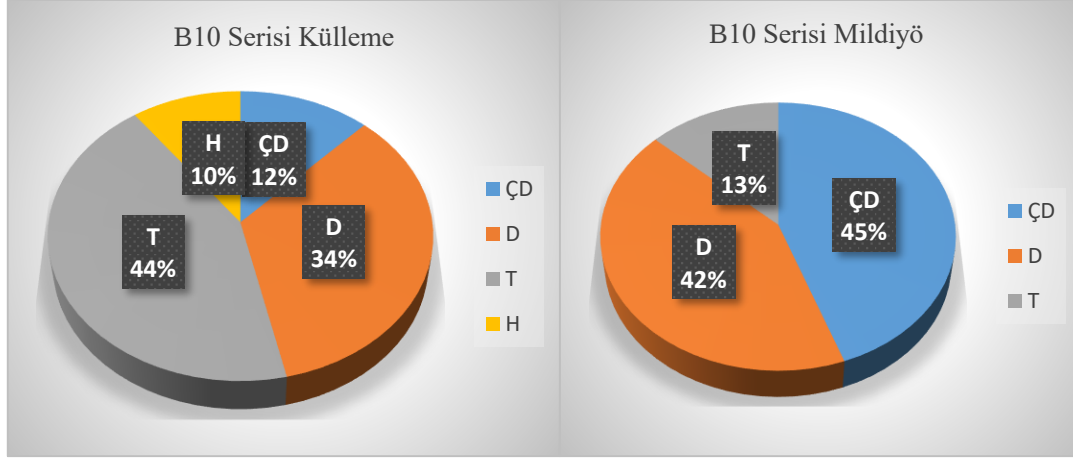
Şekil 4.9. B21-51 nolu genotipe ait yaprak örneği (Mildiyö skoru- 7)

Araştırmada kullanılan melez üzüm genotiplerinin B5 (Bronx Seedless X K-77) serisinde külleme hastalığına karşı 23 adet genotip çok dayanıklı (ÇD), 32 adet genotip dayanıklı (D), on adet genotip tolerant (T), bir adet genotip hassas (H) olarak; mildiyö hastalığına karşı 31 adet genotip ÇD, 28 adet genotip D, yedi adet genotip ise T olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.10).



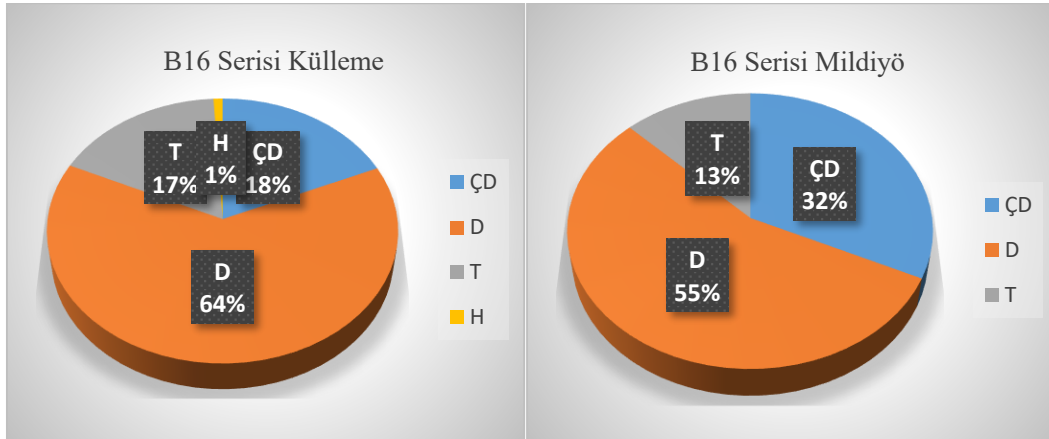
Şekil 4.10. B5 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri

B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş) serisinde külleme hastalığına karşı 11 adet genotip ÇD, 31 adet genotip D, 39 adet genotip T, dokuz adet genotip H olarak; mildiyö hastalığına karşı 40 adet genotip ÇD, 38 adet genotip D, 12 adet genotip ise T olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.11).



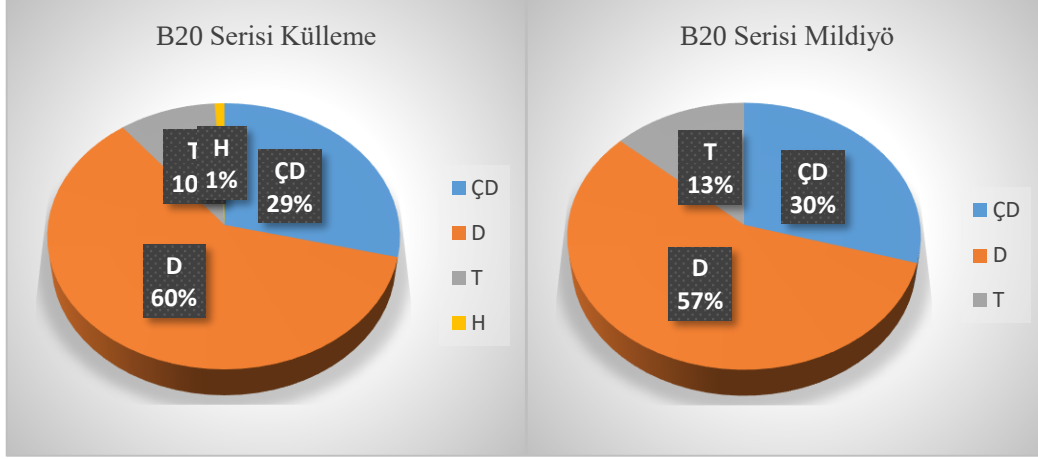
Şekil 4.11.B10 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri

B16 (Yalova Çekirdeksizi X Red Globe) serisinde külleme hastalığına karşı 20 adet genotip ÇD, 69 adet genotip D, 19 adet genotip T, bir adet genotip H olarak; mildiyö hastalığına karşı 35 adet genotip ÇD, 60 adet genotip D, 14 adet genotip ise T olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.12.).



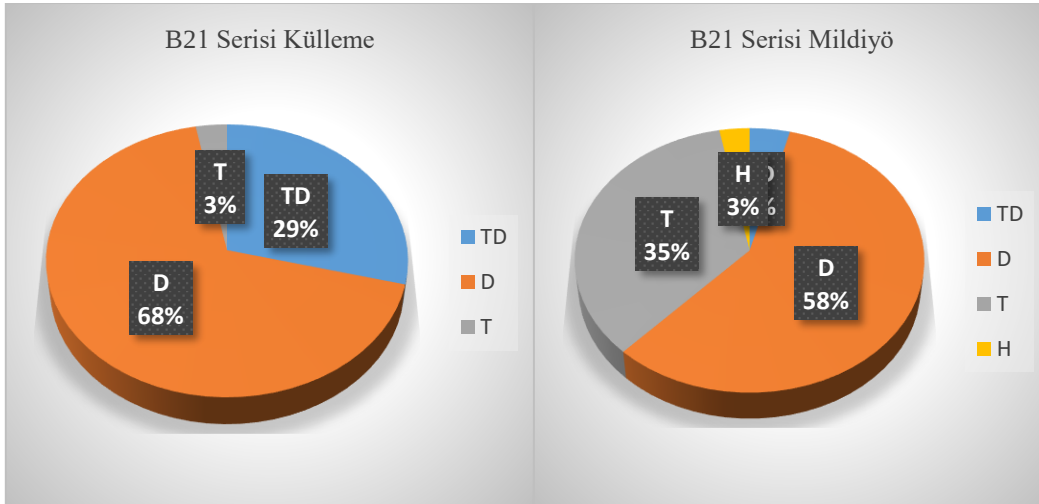
Şekil 4.12.B16 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri

B20 (Bronx Seedless X 86/1) serisinde külleme hastalığına karşı 30 genotip ÇD, 63 adet genotip D, on adet genotip T, bir adet genotip H olarak; mildiyö hastalığına karşı 31 adet genotip ÇD, 60 adet genotip D, 14 adet genotip ise T olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13.B20 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri

B21 (Ruby Seedless X 86/1) serisinde külleme hastalığına karşı 29 adet genotip ÇD, 68 adet genotip D, üç adet genotip T; mildiyö hastalığına karşı dört adet genotip ÇD, 58 adet genotip D, 35 adet genotip ise T ve üç adet genotip ise H olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. B21 serisi külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık yüzdeleri

Araştırmada kullanılan melez üzüm genotiplerinden; B5 (Bronx Seedless X K-77) serisinden 11 adet, B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş) serisinden üç adet, B16

(Yalova Çekirdeksizi X Red Globe) serisinden yedi adet ve B20 (Bronx Seedless X 86/1) serisinden on adet genotip her iki hastalığa da ÇD olarak tespit edilmiştir. Bu genotiplerin külleme ve mildiyö hastalıklarına ait skorumları Tablo 4.6’ da verilmiştir. B21 (Ruby Seedless X 86/1) serisinden her iki hastalığa da ÇD olan genotip tespit edilememiştir.

Tablo 4.6. Her iki hastalığa da ÇD olan genotipler ve hastalığa ait skorumları

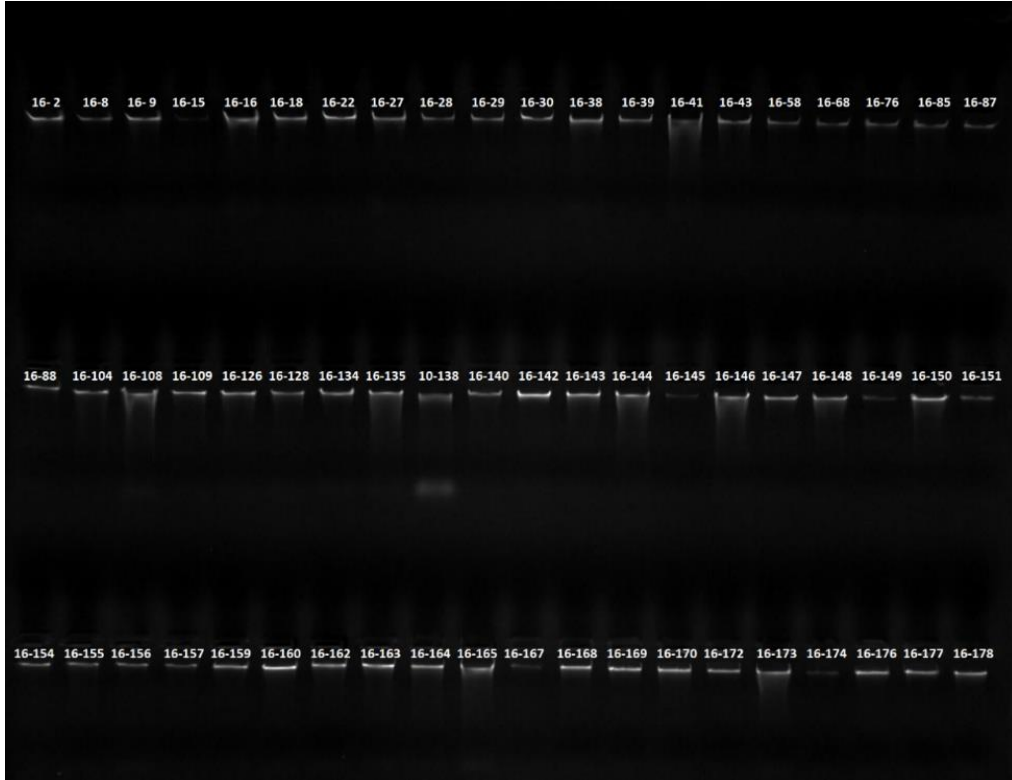
Genotip No	Külleme	Mildiyö	Genotip No	Külleme	Mildiyö
5-3	1	1	16-146	1	1
5-5	1	1	16-150	1	1
5-11	1	1	16-177	1	1
5-16	1	1	16-239	0	1
5-17	1	0	16-242	0	1
5-18	1	0	20-64	1	1
5-24	1	1	20-72	1	1
5-82	1	1	20-73	1	1
5-93	1	1	20-85	1	1
5-100	0	1	20-151	1	0
5-104	1	1	20-153	1	0
10-181	1	1	20-154	1	0
10-223	1	1	20-156	1	0
10-329	1	1	20-165	1	0
16-143	1	1	20-355	1	1
16-144	1	1			

Araştırmada kullanılan melez üzüm genotiplerinden her iki hastalığa da ÇD/ - olarak B5 (Bronx Seedless X K-77) serisi %35,48, B20 (Bronx Seedless X 86/1) serisi %32,25, B16 (Yalova Çekirdeksizi X Red Globe) serisi %22,58 ve B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş) serisi %9,67 oranında tespit edilmiştir. B5 (Bronx Seedless X K-77) serisi ait genotipler diğer genotiplere göre ön plana çıkmıştır.

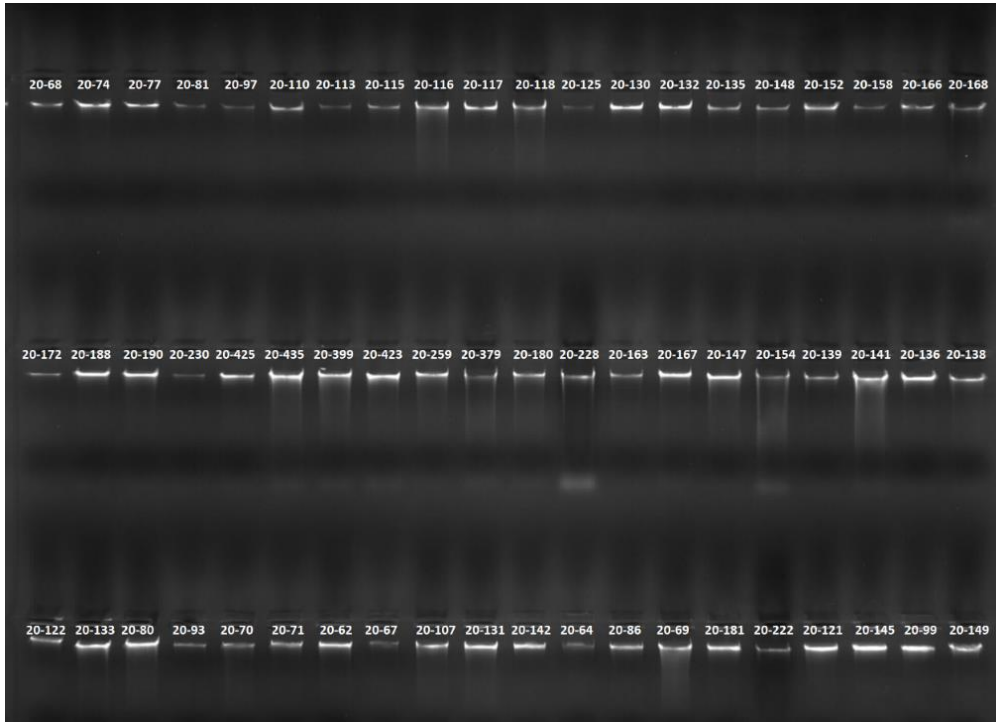
4.2. Genotiplerin Markör Destekli Seleksiyon (MDS) Yöntemi ile Çekirdeksizliğinin Belirlenmesi

4.2.1. Genotiplerden DNA İzolasyonu

Genotiplerden DNA izolasyonu kit protokolüne göre izole edilen DNA’lar %1’lik agaroz jel elektroforez yöntemiyle kontrol edilmiştir. Bazı genotiplere ait %1’ lik agaroz jel elektroforezi görüntüsü Şekil 4.15-4.16’da verilmiştir.



Şekil 4.15. B-16 serisine ait melez üzüm genotiplerinin %1' lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.16.B-20 serisine ait melez üzüm genotiplerin %1' lik agaroz jel görüntüsü

Bu işlemi takiben izole edilen DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları NanoDrop spektrofotometre ile belirlenmiştir. Spektrofotometre ölçümlerinde A260/A280 oranı 1,7 ve 2,1 arasında yer alan DNA'lar saf/bulaşıksız olarak değerlendirilmiştir. Saflık değeri bu değerlerin dışında kalan genotiplerin DNA'ları tekrar izole edilmiş ve agaroz jel elektroforozinde görüntülenmiştir. Genotiplere ait DNA konsantrasyonları ve saflıklarının Nanodrop ölçümleri Tablo 4.7.- 4.10' da verilmiştir.

Tablo 4.7. B10 serisi melez genotiplere ait DNA'ların miktarları ve saflıkları

Genotip no	Kons.(ng/μL)	A260/A280	Genotip no	Kons.(ng/μL)	A260/A280
B10-127	127,25	1,82	B10-199	52,60	1,68
B10-129	25,95	1,91	B10-200	112,50	1,79
B10-132	31,35	1,71	B10-203	35,40	1,71
B10-133	33,30	1,80	B10-204	151,15	1,79
B10-134	48,45	1,76	B10-205	874,00	1,77
B10-136	39,50	1,85	B10-207	66,00	1,75
B10-137	38,30	1,81	B10-209	82,15	1,77
B10-138	66,45	1,84	B10-213	32,25	1,78
B10-141	222,50	1,87	B10-214	43,70	1,82
B10-145	110,55	1,84	B10-215	24,95	1,73
B10-146	105,30	1,75	B10-216	105,40	1,78
B10-147	29,75	1,91	B10-217	14,30	1,82
B10-149	25,30	1,80	B10-218	66,55	1,72
B10-151	31,60	1,88	B10-220	11,95	1,84
B10-154	37,10	1,70	B10-221	24,65	1,86
B10-155	40,80	1,73	B10-222	35,30	1,88
B10-157	95,35	1,90	B10-223	42,15	1,89
B10-158	39,85	1,80	B10-224	51,50	2,14
B10-160	20,45	1,70	B10-226	32,00	1,74
B10-161	13,70	1,69	B10-227	51,90	1,86
B10-162	65,00	1,74	B10-229	45,45	1,70
B10-164	67,35	1,78	B10-230	42,45	1,88
B10-165	11,75	1,72	B10-231	59,75	1,86
B10-166	25,30	1,72	B10-232	33,45	1,94
B10-167	13,65	1,68	B10-234	52,50	1,81
B10-168	50,75	1,91	B10-237	17,05	1,85
B10-169	41,45	1,75	B10-238	31,80	1,95
B10-170	103,45	1,73	B10-246	88,90	1,85

Tablo 4.7. (Devam) B10 serisi melez genotiplere ait DNA'ların miktarları ve saflıkları

B10-171	51,95	1,87	B10-247	56,90	1,75
B10-172	18,25	1,71	B10-253	77,25	1,69
B10-173	26,75	1,77	B10-264	68,15	1,80
B10-174	37,05	1,70	B10-265	207,85	1,83
B10-175	23,25	1,74	B10-270	26,75	1,83
B10-178	52,90	1,81	B10-273	18,10	1,69
B10-180	47,50	1,81	B10-277	60,55	1,78
B10-181	48,20	1,72	B10-284	42,90	1,87
B10-182	24,20	1,82	B10-290	29,50	1,78
B10-183	13,35	1,81	B10-296	21,65	1,81
B10-185	38,35	1,89	B10-302	22,80	1,80
B10-186	48,30	1,96	B10-307	32,45	1,77
B10-187	121,55	1,77	B10-309	42,55	2,13
B10-190	23,90	1,87	B10-327	52,10	1,82
B10-193	17,90	1,92	B10-329	63,20	1,74
B10-194	23,85	1,97	B10-333	169,20	1,86
B10-196	57,60	1,85	B10-337	45,50	1,87
B10-198	37,40	1,94			

Tablo 4.8. B16 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları

Genotip no	Kons.(ng/μL)	A260/A280	Genotip no	Kons.(ng/μL)	A260/A280
B16-2	58,25	1,89	B16-173	132,80	1,75
B16-8	23,95	1,75	B16-174	18,95	1,74
B16-9	66,20	1,85	B16-176	38,85	1,77
B16-15	71,35	2,03	B16-177	36,20	1,76
B16-16	121,25	1,79	B16-178	66,45	1,79
B16-18	55,70	1,87	B16-182	18,05	1,77
B16-22	47,70	1,79	B16-183	54,95	1,83
B16-27	65,75	1,73	B16-184	28,75	1,82
B16-28	44,00	1,86	B16-185	13,55	1,68
B16-29	25,75	1,68	B16-186	19,75	1,77
B16-30	25,65	1,82	B16-187	15,00	1,72
B16-38	62,85	1,72	B16-188	134,60	1,83
B16-39	58,00	1,84	B16-189	71,90	1,67
B16-41	124,05	1,83	B16-190	35,30	1,76

Tablo 4.8. (Devam) B16 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları

B16-43	45,20	1,81	B16-191	64,75	1,86
B16-58	98,65	1,97	B16-192	13,25	1,84
B16-68	31,75	1,86	B16-196	85,10	1,79
B16-76	27,05	1,77	B16-197	122,25	1,83
B16-85	28,25	1,82	B16-200	43,95	1,71
B16-87	22,95	1,90	B16-201	77,45	1,82
B16-88	31,10	1,82	B16-201	104,25	1,83
B16-104	34,40	1,73	B16-203	54,35	1,79
B16-108	151,25	1,86	B16-204	130,90	1,81
B16-109	52,45	1,87	B16-205	49,05	1,78
B16-126	60,25	1,80	B16-208	81,30	1,83
B16-128	41,85	1,84	B16-210	23,75	1,72
B16-134	74,45	1,91	B16-211	25,10	1,74
B16-135	77,10	1,86	B16-212	103,95	1,86
B16-138	164,95	1,93	B16-213	85,80	1,76
B16-140	35,65	1,70	B16-214	18,15	1,79
B16-142	64,45	1,72	B16-215	139,30	1,77
B16-143	62,95	1,79	B16-216	93,25	1,93
B16-144	125,70	1,76	B16-217	59,55	1,76
B16-145	20,85	1,76	B16-218	78,10	1,84
B16-146	153,50	1,77	B16-219	106,10	1,82
B16-147	42,05	1,86	B16-221	20,60	1,73
B16-148	83,15	1,83	B16-222	30,30	1,86
B16-149	26,50	1,85	B16-223	39,55	1,77
B16-150	81,40	1,75	B16-225	109,35	1,72
B16-151	26,60	1,71	B16-226	77,05	1,82
B16-154	30,15	2,04	B16-227	33,50	1,71
B16-155	25,85	1,80	B16-228	51,65	1,81
B16-156	34,10	1,69	B16-230	36,70	1,71
B16-157	17,35	1,85	B16-231	51,65	1,73
B16-159	45,60	1,76	B16-232	91,40	1,77
B16-160	61,20	1,80	B16-233	94,60	1,77
B16-162	69,00	1,90	B16-234	103,35	1,75
B16-163	34,05	1,77	B16-236	38,90	1,74
B16-164	32,85	1,76	B16-237	58,75	1,82
B16-165	169,50	1,74	B16-238	63,95	1,74
B16-167	21,25	1,74	B16-239	133,20	1,76

Tablo 4.8. (Devam) B16 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları

B16-168	51,15	1,89	B16-240	93,20	1,72
B16-169	34,30	1,79	B16-241	88,15	1,78
B16-170	47,00	1,78	B16-242	52,00	1,81
B16-172	36,25	1,96			

Tablo 4.9. B20 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları

Genotip no	Kons.(ng/μL)	A260/A280	Genotip no	Kons.(ng/μL)	A260/A280
B20-62	78,20	1,84	B20-136	121,40	1,85
B20-64	41,85	1,96	B20-138	114,55	1,99
B20-67	28,25	1,92	B20-139	123,40	1,84
B20-68	26,95	1,82	B20-140	255,15	1,89
B20-69	169,55	1,81	B20-141	114,85	1,79
B20-70	45,35	1,81	B20-142	47,15	1,87
B20-71	54,35	1,92	B20-145	71,05	1,72
B20-72	109,10	1,88	B20-146	221,85	1,94
B20-73	165,75	1,78	B20-147	87,10	1,87
B20-74	48,80	1,93	B20-148	23,20	1,83
B20-76	23,45	1,76	B20-149	182,35	1,93
B20-77	33,55	1,86	B20-150	225,10	1,81
B20-80	106,45	1,88	B20-151	108,40	1,91
B20-81	30,90	1,94	B20-153	142,60	2,00
B20-82	63,95	1,88	B20-154	224,00	1,87
B20-83	100,30	1,85	B20-156	46,30	1,87
B20-84	33,55	1,85	B20-161	121,45	1,83
B20-85	47,60	1,87	B20-162	153,85	1,84
B20-87	44,15	1,96	B20-163	275,45	1,80
B20-88	129,00	1,89	B20-165	75,20	1,78
B20-90	83,65	1,76	B20-166	24,55	1,79
B20-93	17,40	1,92	B20-167	52,80	1,91
B20-95	73,60	1,88	B20-168	246,15	1,84
B20-96	59,55	1,78	B20-171	165,25	1,79
B20-97	8,95	1,95	B20-172	16,30	1,84
B20-98	415,70	1,91	B20-175	274,40	1,93
B20-99	58,15	1,80	B20-180	73,70	1,86
B20-101	97,55	1,80	B20-181	88,40	1,81
B20-105	81,80	1,73	B20-187	198,05	1,96

Tablo 4.9. (Devam) B20 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları

B20-107	118,80	1,86	B20-188	76,95	1,90
B20-110	30,40	1,93	B20-190	60,30	1,89
B20-111	294,30	1,89	B20-194	137,95	1,80
B20-113	37,10	1,87	B20-206	176,50	1,93
B20-114	321,20	1,80	B20-220	58,85	1,97
B20-115	26,55	1,75	B20-222	372,65	1,92
B20-116	99,15	1,83	B20-228	388,65	1,85
B20-117	45,40	1,91	B20-230	13,90	1,91
B20-118	123,95	1,86	B20-235	43,05	1,85
B20-119	193,60	1,80	B20-259	60,30	1,87
B20-120	260,95	1,79	B20-286	78,60	1,91
B20-121	86,45	1,84	B20-296	132,00	1,89
B20-122	46,05	1,78	B20-323	122,80	1,91
B20-124	164,95	1,86	B20-355	155,85	1,76
B20-125	10,75	1,82	B20-379	169,30	1,84
B20-126	67,05	1,84	B20-399	77,15	1,77
B20-127	251,95	1,88	B20-422	281,65	1,88
B20-128	98,30	1,98	B20-423	88,45	1,87
B20-129	290,60	1,82	B20-425	48,15	1,76
B20-130	39,75	1,98	B20-427	93,25	1,88
B20-131	120,05	1,83	B20-435	94,95	1,77
B20-132	42,20	1,94	B20-437	98,80	1,87
B20-133	102,85	1,81	B20-451	135,00	1,89
B20-135	22,90	1,91			

Tablo 4.10.B21 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları

Genotip no	Kons.(ng/μL)	A260/A280	Genotip no	Kons.(ng/μL)	A260/A280
B21-4	80,60	1,84	B21-102	23,50	1,86
B21-7	34,25	1,89	B21-103	199,55	1,83
B21-11	51,40	1,78	B21-104	32,20	2,00
B21-20	58,50	1,75	B21-105	68,85	1,85
B21-28	93,65	1,74	B21-107	97,90	1,97
B21-31	90,80	1,74	B21-109	33,00	1,93
B21-35	168,05	1,81	B21-110	451,80	1,72
B21-37	346,10	1,83	B21-111	109,50	1,81
B21-40	131,65	1,84	B21-113	126,05	1,82

Tablo 4.10. (Devam). B21 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları

B21-42	156,50	1,84	B21-114	136,55	1,81
B21-42	49,85	1,71	B21-116	203,40	1,85
B21-44	49,85	1,74	B21-106	155,65	1,87
B21-47	106,35	1,80	B21-117	140,45	1,79
B21-51	111,00	1,81	B21-119	152,00	1,93
B21-56	48,70	1,74	B21-120	228,90	1,78
B21-57	102,40	1,75	B21-123	75,15	1,76
B21-58	128,85	1,80	B21-124	423,70	1,94
B21-60	64,60	1,90	B21-125	154,55	1,82
B21-62	111,15	1,82	B21-126	113,45	1,83
B21-63	174,45	1,75	B21-127	279,85	1,93
B21-64	69,80	1,81	B21-128	105,70	1,97
B21-65	275,20	1,82	B21-129	152,85	1,73
B21-66	120,15	1,78	B21-130	436,35	1,76
B21-67	274,85	1,76	B21-131	76,85	1,78
B21-68	217,95	1,74	B21-132	152,60	1,73
B21-69	213,95	1,80	B21-133	108,55	1,74
B21-70	12,00	1,86	B21-134	82,25	1,99
B21-71	153,35	1,84	B21-135	196,45	1,82
B21-72	258,60	1,70	B21-136	90,40	1,72
B21-73	103,05	1,92	B21-137	101,45	1,76
B21-74	104,20	1,88	B21-138	102,40	1,79
B21-75	78,70	1,85	B21-139	152,80	1,80
B21-76	77,45	1,73	B21-140	103,20	1,78
B21-78	171,55	1,78	B21-141	43,40	1,80
B21-79	68,75	1,70	B21-142	151,10	1,82
B21-81	47,10	1,87	B21-143	119,35	1,84
B21-82	96,55	1,87	B21-144	119,15	1,74
B21-83	39,70	1,84	B21-146	137,90	1,80
B21-84	58,10	1,84	B21-147	228,25	1,82
B21-86	352,50	1,86	B21-148	97,05	1,84
B21-89	72,40	1,99	B21-149	66,30	1,92
B21-90	112,00	1,74	B21-150	96,70	1,82
B21-91	33,20	1,71	B21-151	66,05	1,88
B21-92	311,55	1,73	B21-152	111,90	1,79
B21-95	280,70	1,84	B21-153	122,30	1,79
B21-96	35,70	1,84	B21-154	93,75	1,73

Tablo 4.10. (Devam). B21 serisi melez genotiplere ait DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları

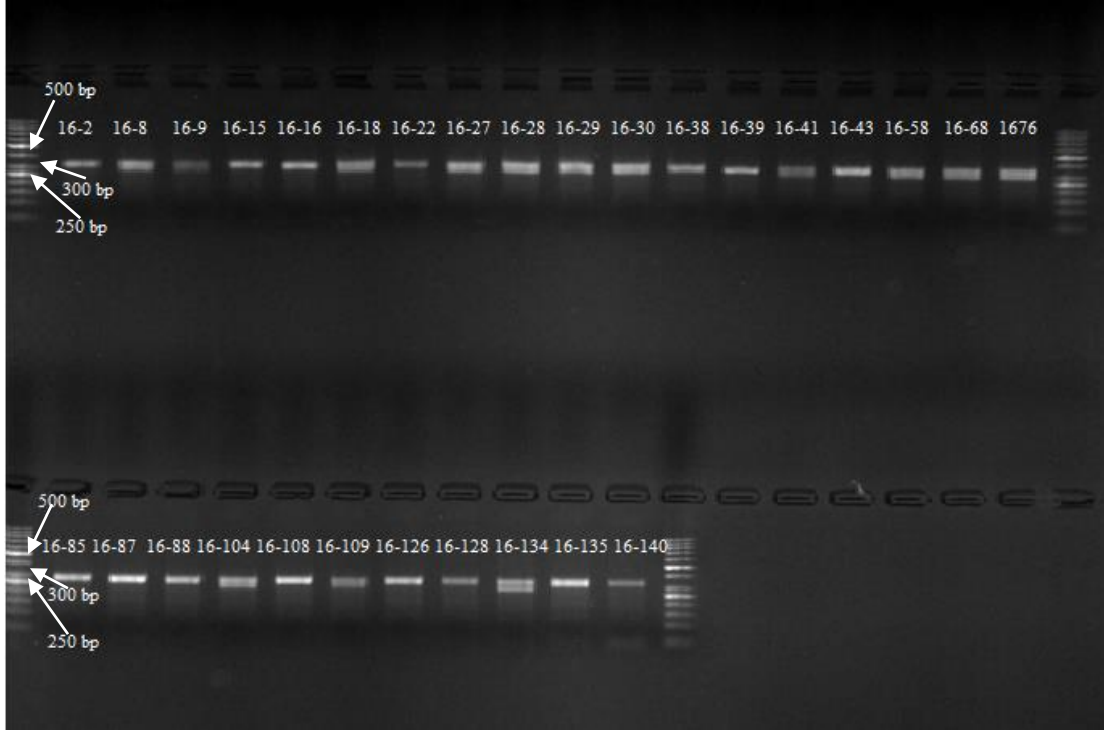
B21-97	40,55	1,93	B21-156	72,40	1,78
B21-99	609,80	1,83	B21-158	96,80	1,75
B21-100	71,25	1,73	B21-159	55,05	1,73
B21-101	42,60	1,85	B21-160	122,55	1,83
B21-155	50,55	1,80			

4.2.2. Genotiplerden İzole Edilen DNA'nın PZR ile Çoğaltılması

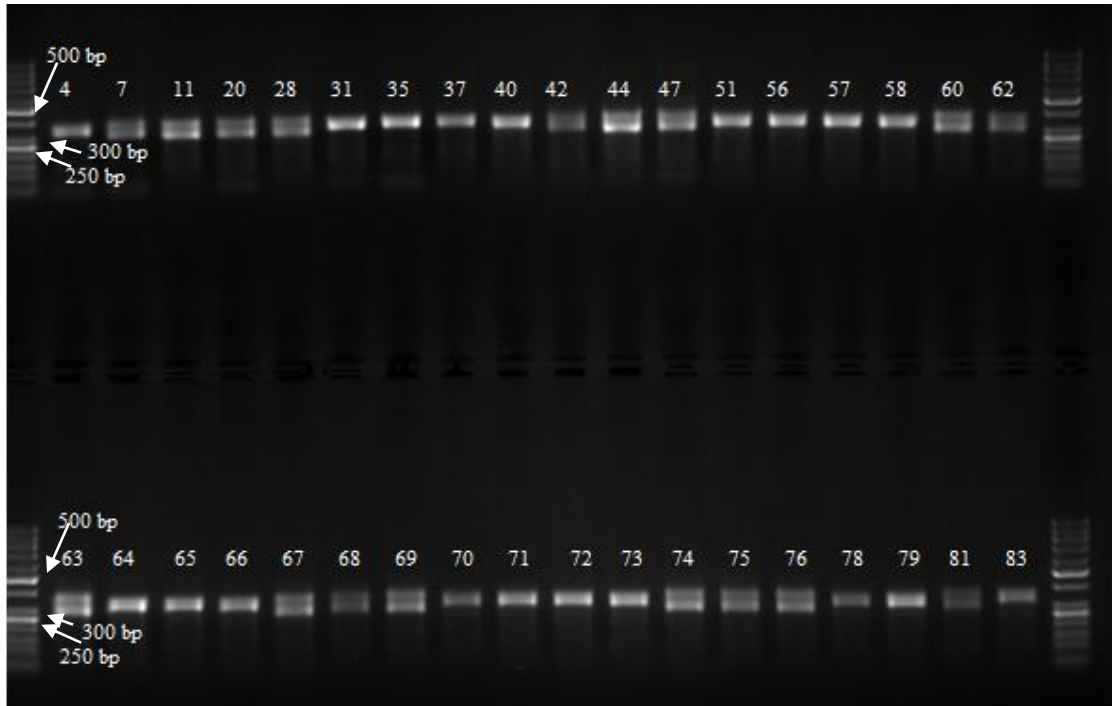
İzole edilen DNA'ların PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. Bazı melez üzüm genotiplerine ait %2' lik agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 4.17.-4.20.' de verilmiştir. Bantlar 318 bp'de görüntülenmiştir.



Şekil 4.17. B-20 serisine ait bazı genotiplerin PZR sonrası %2' lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.18. B-16 serisine ait bazı genotiplerin PZR sonrası %2' lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.19. B-21 serisine ait bazı genotiplerin PZR sonrası %2' lik agaroz jel görüntüsü

PZR ürünlerinin DNA fragment analiz sisteminde kapiller elektroforez işlemine tabi tutularak lokuslara ait allel büyüklükleri Tablo 4.11-4.15’ te verilmiştir. Allel sayıları bir ile dört arasında değişmiş olup genotipe göre farklılık göstermiştir. Allel büyüklükleri 218 bp ile 466 bp arasında değişmiştir.

Tablo 4.11. B10 serisi genotiplerine ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)				Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)			
	Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4		Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4
10-127	287	296	327		10-209	317	325		
10-129	284	294	315	325	10-213	313	323		
10-132	316	326			10-214	314	324		
10-133	317	324			10-215	317	399	463	
10-136	317	325	398		10-216	316	324		
10-137	285	294	306	317	10-217	293	315		
10-138	314	324			10-218	320	331		
10-145	283	292	323		10-220	317	324	399	461
10-147	317				10-221	311	321		
10-149	314	324			10-222	312	322		
10-155	317	325			10-223	316	324		
10-157	317	325	399		10-224	283	292		
10-158	284	293	314	324	10-225	283	293		
10-160	293				10-226	284	294	314	324
10-161	314	324			10-227	283	291	303	314
10-162	293	315			10-229	284	293	305	316
10-164	293	316			10-230	283	293	305	315
10-165	285	294	307	317	10-231	284	294	306	317
10-166	284	293	305		10-232	316			
10-167	315	324			10-234	284	293	305	316
10-168	283	293			10-237	283	292	313	323
10-169	284	293	314	324	10-238	313	322		
10-170	317	325			10-240	315	326		
10-171	284	294	315	325	10-243	284	293	305	316
10-172	286	295	316	326	10-246	316	323		
10-173	316	324	399	462	10-247	293			
10-174	317				10-252	314	324		
10-175	284	293	305	316	10-253	314	324		
10-178	314	321			10-256	312	324		
10-204	317	324	399		10-333	315	323		
10-207	284	293	314	324	10-337	316	324	399	

Tablo 4.11.(Devam). B10 serisi genotiplerine ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)				Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)			
	Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4		Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4
10-180	314	325			10-259	286	295	316	326
10-181	316	324			10-264	314	325		
10-182	293				10-270	313	324		
10-183	284	293	314	324	10-273	293	316		
10-185	313	323			10-277	318	325		
10-187	314	325			10-284	283	292	304	315
10-190	315	325			10-289	285	294	317	431
10-193	285	294	306	317	10-290	284	293	314	323
10-194	317	325	399	462	10-292	284	294		
10-196	314	325			10-296	293			
10-199	284	293			10-302	316	324		
10-200	317	325	401	463	10-323	312	323		
10-203	293	303	316		10-327	316	324		

Tablo 4.12 . B16 serisi genotiplerine ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)				Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)			
	Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4		Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4
16-9	286	310			16-169	287	315		
16-15	284	307			16-170	314	323		
16-16	286	314			16-172	286	310		
16-18	310	323			16-173	316	325		
16-22	316	324			16-174	314	323		
16-27	314	322			16-176	286	314		
16-28	307				16-177	292	320		
16-29	282	291	302	314	16-178	282	291	302	313
16-30	285	314			16-182	314	323		
16-38	287	314			16-183	286	314		
16-39	314	325			16-184	310	322		
16-41	315	324			16-186	315	322		
16-43	312	320			16-187	287	315		
16-58	310	323			16-188	287			
16-68	286	314			16-189	315	323		
16-76	286	310			16-191	287	311		
16-167	311	324			16-241	323			
16-168	311	323			16-242	318	328		

Tablo 4.12. (Devam) B16 serisi genotiplerine ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)				Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)			
	Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4		Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4
16-85	286	314			16-192	311	324		
16-87	311	323			16-197	316	324		
16-88	315	323			16-200	317	325		
16-104	315	323			16-201	189	317		
16-108	312	325			16-203	286	315		
16-109	286	315			16-204	288	316		
16-126	286	315			16-205	290	301	312	
16-128	279	307			16-208	286	310		
16-134	315	323			16-211	288	316		
16-135	309	322			16-212	288	317		
16-140	287	311			16-213	281	308		
16-142	314	322			16-215	286	314		
16-143	314	323			16-216	289	313		
16-144	285	309			16-217	311	324		
16-145	286	314			16-218	288	317		
16-146	313	322			16-219	288	312		
16-147	316	324			16-221	317	325		
16-148	310	323			16-222	285	313		
16-149	315	324			16-225	308			
16-150	287	311			16-226	319	327		
16-151	286	315			16-227	297			
16-154	288	312			16-228	283	304		
16-155	286	311			16-230	318	326		
16-156	310	323			16-231	291			
16-157	313	321			16-232	318	326		
16-159	285	313			16-233	291	318		
16-160	311	324			16-234	290			
16-162	287	311			16-237	319			
16-163	287	316			16-238	291			
16-164	287	315			16-239	290			
16-165	316	325			16-240	291			

Tablo 4.13. B20 serisi genotiplerine ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)				Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)			
	Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4		Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4
20-62	315				20-133	327			
20-64	323	330			20-135	315			
20-67	312				20-136	326			
20-68	312	312			20-138	326			
20-69	316	351	382		20-141	326			
20-70	303	313	321	331	20-142	315			
20-71	317	326			20-145	324	358	386	
20-73	325				20-148	328	339		
20-74	314	324			20-149	324			
20-76	326	392			20-151	318	326		
20-77	312	322			20-152	327			
20-80	325				20-156	315			
20-83	318	326			20-161	313			
20-85	325				20-163	330	336		
20-87	313	325			20-165	312	323		
20-88	313	325			20-166	313	324		
20-90	314	326			20-167	316	326		
20-93	314				20-188	319	326		
20-95	313	324			20-190	323			
20-96	312				20-194	315	326		
20-99	313	322			20-206	315	325		
20-101	312	321	331		20-220	333			
20-105	325				20-222	324			
20-107	313				20-259	320	332		
20-115	314	322			20-323	320	332		
20-118	327				20-355	330	335		
20-119	313	388			20-379	327			
20-121	315	325			20-399	330	336	365	373
20-122	325				20-423	331	337		
20-124	315	323			20-425	310	322	339	363
20-126	326				20-427	312	323		
20-128	319	326			20-435	313	323		
20-130	309	319			20-437	312	323		
20-132	313	323			20-451	318			

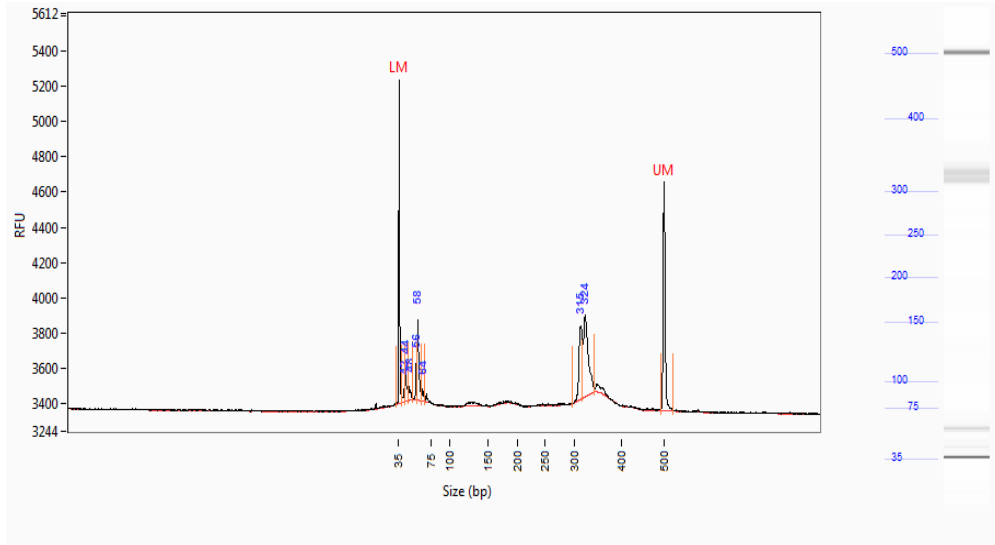
Tablo 4.14. B21 serisi genotiplerine ve referans çeşitlere ait allel büyüklükleri(bp)

Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)				Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)			
	Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4		Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4
21-4	326				21-104	317	325		
21-7	332				21-105	316	326		
21-11	322				21-106	318	326		
21-20	318	326			21-107	315	326		
21-28	323				21-109	314	325		
21-31	318	332			21-110	316	326		
21-35	322	335			21-111	319	327		
21-37	323				21-114	318	326		
21-40	327				21-116	318	333		
21-42	326	332			21-117	317	331		
21-44	317	328			21-118	324	329		
21-47	326				21-119	314	325		
21-51	320	334			21-120	314	325		
21-56	318				21-122	317	353		
21-57	315	326			21-123	315	392		
21-58	315	328			21-124	318	332		
21-60	322				21-125	325			
21-62	319	328			21-126	325	351	360	387
21-63	321	335			21-127	326	332		
21-64	318	326			21-128	317			
21-65	318	326			21-130	322			
21-66	326				21-131	318	326		
21-67	318	326			21-132	319	326		
21-68	319				21-133	319	328		
21-71	319				21-134	318	332		
21-72	316	327			21-135	318	332		
21-73	318	332			21-136	318	327		
21-74	307				21-137	327	332		
21-75	320	332			21-138	326	332		
21-76	316	327			21-139	314	325		
21-78	326				21-140	317	325		
21-79	318	326			21-141	314	324		
21-81	326				21-142	321	358		
21-82	315	326			21-143	316	324		
21-83	314	325			21-144	312	322		
21-84	329				21-146	316	324		

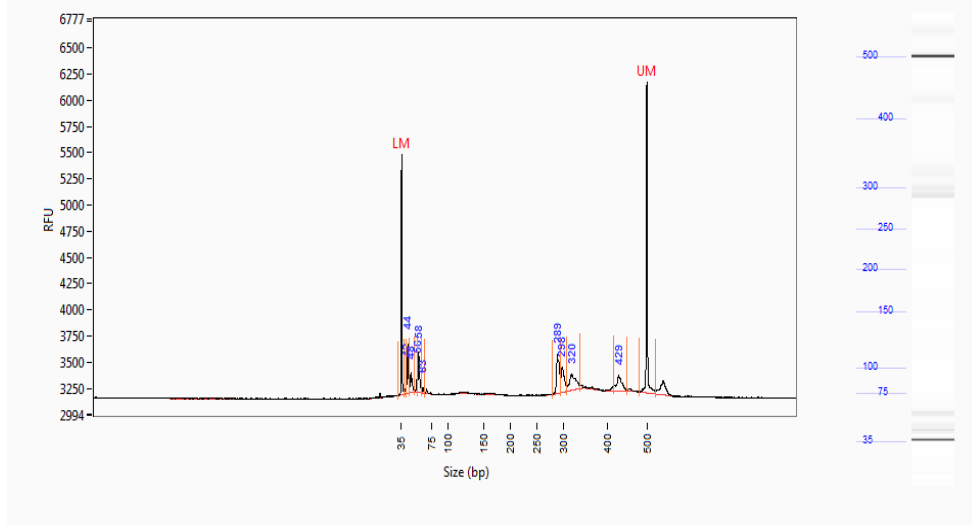
Tablo 4.14.(Devam) B21 serisi genotiplerine ve referans çeşitlere ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)				Genotip No	Allel Büyüklükleri (bp)			
	Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4		Allel 1	Allel 2	Allel 3	Allel 4
21-88	325	331			21-148	306			
21-89	306	317	320	331	21-149	324	361	390	
21-90	323	334			21-150	316	321	331	
21-91	327	333			21-151	316	325	408	
21-92	325	332			21-152	319	320	393	
21-95	320	333			21-153	324	359	389	
21-96	326				21-154	316	324	352	399
21-97	316	325			21-155	324	361	390	
21-99	327				21-156	315	325		
21-100	306	317	321	331	21-158	316	407		
21-101	318	332			21-159	325	361	391	
21-102	316	330			21-160	316	324	407	466
21-103	314	326			K-77	282	313		
Sultani Çekirdeksizi	318				Crimson Seedless	287	296	318	
Beyaz Çavuş	290	298			Yalova Çekirdeksizi	286	296	318	

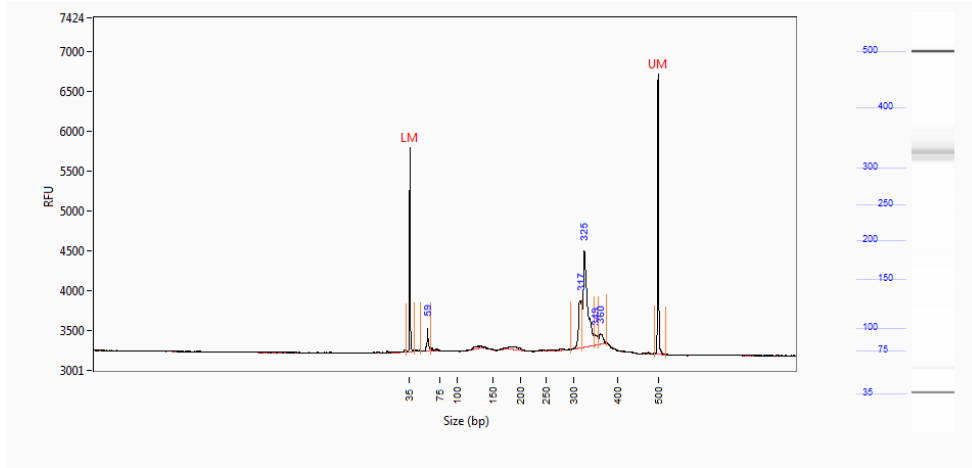
PZR ürünlerinin DNA fragment analiz sisteminde kapiller elektroforez işlemi allel görüntüleri Şekil 4.20- 4.23' te verilmiştir.



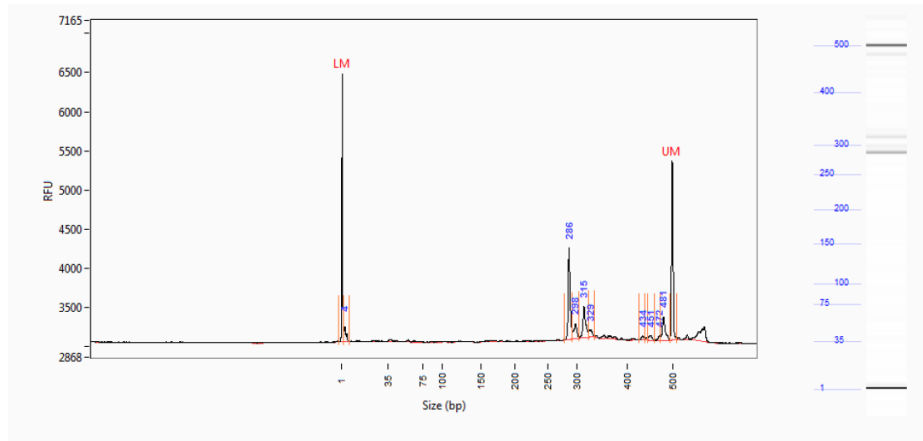
Şekil 4.20. B10-167 nolu melez üzüm genotipine ait ATTI cihaz görüntüsü



Şekil 4.21. Beyaz Çavuş çeşidine ait ATTI cihaz görüntüsü



Şekil 4.22. B21-104 genotipine ait ATTI cihaz görüntüsü



Şekil 4.23. B16-151 genotipine ait ATTI cihaz görüntüsü

Melez üzüm genotiplerine ait AATI Fragment Analyzer cihazındaki allel büyüklükleri incelenmiş ve Ocarez ve diğ. (2020) tarafından belirtildiği gibi Sultani Çekirdeksiz'in de bant verdiği 318 bp' lik allel büyüklüğü ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda toplamda 351 genotipten 136 melez üzüm genotipi potansiyel çekirdeksiz olarak bulunmuş ve Tablo 4.15' te verilmiştir.

Tablo 4.15 Potansiyel çekirdeksiz melez üzüm genotipleri

Genotip No	Genotip No	Genotip No	Genotip No	Genotip No	Genotip No	Genotip No	Genotip No
10-129	10-181	10-240	16-126	16-204	21-20	21-89	21-128
10-132	10-190	10-243	16-134	16-211	21-31	21-97	21-131
10-133	10-193	10-246	16-147	16-212	21-44	21-100	21-132
10-136	10-194	10-259	16-149	16-218	21-56	21-101	21-133
10-137	10-200	10-273	16-151	16-221	21-57	21-102	21-134
10-147	10-204	10-277	16-163	16-226	21-58	21-104	21-135
10-155	10-209	10-284	16-164	16-230	21-62	21-105	21-136
10-157	10-215	10-289	16-165	16-232	21-64	21-106	21-140
10-162	10-216	10-302	16-169	16-233	21-65	21-107	21-143
10-164	10-217	10-327	16-173	16-237	21-67	21-110	21-146
10-167	10-220	10-333	16-186	16-242	21-68	21-111	21-150
10-170	10-223	10-337	16-187	20-71	21-71	21-114	21-151
10-171	10-229	16-22	16-189	20-83	21-72	21-116	21-152
10-172	10-230	16-41	16-197	20-128	21-73	21-117	21-154
10-173	10-231	16-88	16-200	20-151	21-76	21-122	21-156
10-174	10-232	16-104	16-201	20-188	21-79	21-123	21-158
10-175	10-234	16-109	16-203	20-451	21-82	21-124	21-160

Potansiyel çekirdeksiz olarak tespit edilen melez üzüm genotipleri külleme ve mildiyö hastalığına dayanıklılıkları yönünden değerlendirilmiş ve potansiyel çekirdeksiz ve mantari hastalıklara dayanıklı genotipler belirlenerek bu genotiplerin külleme ve mildiyö hastalıklarına ait skorumları Tablo 4.16' da verilmiştir. Toplamda 136 olası çekirdeksiz melez üzüm genotipinin 77 adedi hem külleme hemde mildiyö hastalığına ÇD ya da D olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.16. Potansiyel çekirdeksiz mantari hastalıklara dayanıklı melez üzüm genotipleri ve hastalıklara ait skorlama sonuçları

Çekirdeksiz Genotip No	Külleme Skoru	Mildiyö Skoru	Çekirdeksiz Genotip No	Külleme Skoru	Mildiyö Skoru
10-157	3	1	16-22	3	3
10-162	3	3	16-41	1	3
10-164	3	3	16-88	3	1
10-168	3	1	16-109	1	3
10-169	3	3	16-126	3	1
10-174	3	1	16-134	3	1
10-175	3	0	16-147	3	3
10-181	1	1	16-149	3	1
10-193	3	3	16-163	3	1
10-194	1	3	16-164	3	1
10-215	3	3	16-169	3	3
10-217	1	3	16-187	3	3
10-220	3	3	16-189	3	3
10-226	3	3	16-197	3	3
10-223	1	1	16-203	3	3
10-229	3	1	16-211	1	3
10-230	3	1	16-218	3	3
10-232	3	1	16-226	1	3
10-234	3	1	16-230	3	1
10-246	3	1	16-232	3	3
10-277	1	3	16-233	3	3
10-284	3	1	16-242	0	1
10-327	3	1	20-83	3	3
10-333	3	0	20-151	1	0
20-451	1	3	21-123	3	3
21-31	3	3	21-128	3	3
21-44	1	3	21-131	3	3
21-58	3	3	21-132	3	3
21-68	1	3	21-133	3	3
21-72	3	3	21-135	3	3
21-76	1	3	21-140	1	3
21-82	3	3	21-143	3	1
21-89	3	3	21-146	1	3
21-97	1	3	21-150	3	3
21-100	3	3	21-151	3	1
21-111	1	3	21-152	3	3
21-114	3	3	21-154	3	3
21-116	3	3	21-158	3	3
21-117	3	3			

5. TARTIŞMA

Ülkemizde bağcılığı tehdit eden en önemli iki fungal hastalık külleme ve mildiyö hastalıklarıdır. Hastalığı kontrol altına almak için bir vejetasyon dönemi içerisinde yedi ila 14 kez ilaçlama yapılması gerekmekte olduğu araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Karabat ve Atış, 2009; Lu ve diğ., 2020). Bu nedenle özellikle bu iki hastalık etmenine dayanıklı çeşit geliştirme ıslahına yönelik çalışmalar ülkemiz için büyük önem arz etmektedir.

Melezleme ıslahı sonucunda geliştirilen farklı ebeveynlere sahip F₁ melez üzüm genotiplerinin külleme (*U. necator*) ve mildiyö (*P. viticola*) hastalıklarına dayanıklılıklarının skorlanması çalışmanın amaçlarından birisidir.

Çalışmanın melez üzüm genotiplerinin külleme ve mildiyöye dayanıklılıklarının skorlanması kısmında B5 (Bronx Seedless X K-77) serisinden 66 adet genotip, B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş) serisinden 90 adet genotip, B16 (Yalova Çekirdeksizi X Red Globe) serisinden 109 adet genotip, B20 (Bronx Seedless X 86/1) serisinden 105 adet genotip, B21 (Ruby Seedless X 86/1) serisinden 100 adet genotip olmak üzere toplamda 470 adet melez üzüm genotipinin hastalıklara dayanıklılık seviyeleri belirlenmiştir.

Asma hastalıklarının başında gelen ve bağcılığı sınırlandıran önemli iki hastalık; mildiyö (*P. viticola*) ve külleme (*E. necator* syn. *U. necator*)' dir. Külleme ve mildiyö hastalıklarının sporülasyon şiddetinin görsel skala ile skorlanması yaygın bir yöntem olup hastalık direncinin değerlendirilmesinde kullanılabileceği, ayrıca farklı skalaların da bu amaçla kullanılabildiği ve bu skalalar arasında yaygın olarak kullanılan OIV-452 ölçeğinin yapraklarda hastalık skorlaması için tasarlanmış uygun bir ölçek olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Gómez-Zeledón ve diğ., 2013; Bove ve diğ., 2019).

Wan ve diğ. (2007), *Vitis* spp. gen havuzu içinde külleme ve mildiyö hastalıklarına direnci belirlemek amacıyla 13 adet *Vitis* türü içerisinde 66 adet genotip üzerinde hastalıkların seyrini doğal koşullar altında incelemişlerdir. 0-7 skalasını kullanmışlar ve bu skalaya göre yaptıkları skorlamada 66 genotipten 46'sının küllemeye, 28'inin mildiyöye ve

19'unun her iki hastalığa da dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Callonec ve diğ., (2012) tarafından yapılan araştırmada Descriptors for Grapevine (*Vitis spp.*) OIV skalası kullanılarak genotiplerin külleme ve mildiyö hastalık enfeksiyonları tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada da genotiplerdeki külleme ve mildiyö enfeksiyonlarının skorlaması OIV-455, OIV- 456 ve OIV-452 skalasına göre genotiplerin dayanıklılıkları belirlenmiştir. Toplam 470 adet genotipten 31 adet melez üzüm genotipi her iki hastalığa (külleme ve mildiyö) ÇD olarak tespit edilirken, külleme hastalığına; B5 serisinden bir genotip, B10 serisinden dokuz genotip, B16 serisinden bir genotip ve B20 serisinden bir genotip, mildiyö hastalığına ise B21 serisinden üç adet genotip hassas olarak tespit edilmiştir.

Wan ve diğ., (2007), *V. vinifera* hastalıklara oldukça duyarlı olarak kabul edilirken, *V. labrusca*, *V. riparia* ve *V. rupestris* gibi Amerikan türleri çok daha az duyarlı olduğunu, tür ve çeşitlerin hastalıklara karşı duyarlılıkları bakımından farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. Boso ve diğ., (2014), farklı *Vitis* türleri arasında külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık bakımından farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da *V. vinifera*, *V. labrusca* ve türler arası melezlerin ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlardan elde edilen melez üzüm genotiplerin külleme ve mildiyöye dayanıklılıkları belirlenmiştir. Bu genotiplerden B5 (Bronx Seedless X K-77) serisindeki genotiplerin %16,6' sı, B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş) serisindeki genotiplerin %3,33' ü, B16 (Yalova Çekirdeksizi X Red Globe) serisindeki genotiplerin %6,42' si, B20 (Bronx Seedless X 86/1) serisindeki genotiplerin %9,61' inin her iki hastalığa da ÇD oldukları tespit edilmiş olup kombinasyonlara ait genotiplerin dayanıklılık/tolerantlıklarında farklılıklar gözlenmiştir.

Sonuçların Wu ve diğ. (2011) ve Atak ve diğ., (2017) tarafından yapılan çalışmalarda bulunan sonuçlar ile büyük oranda benzerlik gösterdiği görülmüştür. Araştırmacılar çalışmalarında *V. labrusca* türüne ait genotiplerin daha yüksek dayanıklılığa sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmada kullanılan B5 serisi ebeveynlerinden K-77 genotipi *V. labrusca* türüne mensuptur. Çalışmada her iki hastalığa da ÇD olan genotiplerin çoğunu bu ebeveynin kombinasyonları oluşturmaktadır.

Wu ve diğ. (2011), çalışmalarında Red Globe'un her iki hastalıkta da yüksek duyarlılığa sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş)

serisindeki genotiplerden dokuz adedinin külleme hastalığına, B21 (Ruby Seedless X 86/1) serisindeki genotiplerden üç adet genotipin mildiyö hastalığına hassas olduğu saptanmıştır. Bu farklılığın melezleme kombinasyonlarında farklı ebeveynlerin kullanılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Üzümlerde çekirdeksizlik tüketici tarafından arzu edilen ve pazarlama şansını arttıran en önemli kalite özelliklerinden biridir. Dünyada ve ülkemizde artan talepler doğrultusunda çekirdeksiz üzüm ıslahı da günden güne artmaktadır. Bu çalışmada melezleme ıslahı ile elde edilmiş F₁ genotiplerinin çekirdeksizliği erken seleksiyon ile belirlenmiştir.

MDS, ekonomik olarak önem arz eden, birden fazla gen veya lokus tarafından kontrol edilen, karakterlerin daha hızlı bir şekilde belirlenmesini sağlayan klasik ıslaha yardımcı bir teknik olduğu, melezleme çalışmalarında çekirdeksiz genotiplerin ön seleksiyonu MDS yardımı ile erken safhalarda yapılabildiği ve asma gibi uzun gençlik kısırlığına sahip olan bireylerde istenilen karakterlerin ön seleksiyonunda önemli avantajlar sunduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Değirmenci ve Maraslı Kunter, 2007; Hvarleva ve diğ., 2009). Striem ve diğ., (1996) çalışmalarında RAPD tekniğini kullanarak 82 adet (39 çekirdeksiz ve 43 çekirdekli) genotipin analizini yapmışlar ve MDS ile çekirdekli genotiplerin %44' ünü elemişlerdir. Karaağaç ve diğ., (2012) çekirdeksiz bireylerin seçiminde VMC7f2 markörünün başarılı bir şekilde kullanılabileceğini ve popülasyon büyüklüğü boyutunun bu markör kullanılarak %54'e düşürülebileceğini belirtmişlerdir. Asmalarda çekirdeksizliği; Mejia ve Hinrichsen (2003); Bergamini ve diğ., (2013); Ocarez ve diğ., (2020) MDS yardımı ile belirlemeye çalışmışlardır. Bu çalışmada da çekirdeksizlik özelliği MDS ile belirlenmeye çalışılmış ve çekirdeksiz genotiplerin erken seleksiyonu için, SSR markörü kullanılmış ve B10 (Crimson Seedless X Beyaz Çavuş) serisinden 88 adet genotip, B16 (Yalova Çekirdeksizi X Red Globe) serisinden 98 adet genotip, B20 (Bronx Seedless X 86/1) serisinden 68 adet genotip, B21 (Ruby Seedless X 86/1) serisinden 97 adet genotip olmak üzere toplamda 351 adet melez üzüm genotipinin MDS ile genotiplerin çekirdeksizlik durumları belirlenmiştir.

Ocarez ve diğ., (2020) çalışmalarında Sultani Çekirdeksiz ve Crimson Seedless çeşitlerini referans çeşitler olarak kullanmış olup, bu çalışmada da Sultani Çekirdeksiz ve Crimson Seedless çeşitleri referans olarak kullanarak potansiyel çekirdeksiz melez genotipler tespit edilmiştir.

Çalışmada DNA izolasyonları, birçok araştırmacı (Zohlami ve diğ., 2009; Jahnke ve diğ., 2009; Conner ve diğ., 2017) tarafından tercih edilen Qiagen firmasının bitkiler için özel olarak geliştirdiği Bitki DNA izolasyon kiti ile yapılmış ve yüksek saflıkta DNA elde edilmiştir. İzole edilen DNA'ların miktar ve saflık derecelerine ait spektrofotometre ölçüm sonuçları incelendiğinde değerlerin 1,65 ile 2,14 arasında değiştiği ve istenen oranlarda olduğu belirlenmiştir. Melez genotiplerden izole edilen DNA' lar çalışmanın sonraki basamaklarında çekirdeksizlikle ilişkili markörün genotiplerde mevcudiyetini belirlemede sorunsuz bir şekilde kullanılmıştır.

Mejía ve diğ., (2011) sofralık üzüm çeşitlerinde, *VviAGL11* geninin çekirdeksizlikten sorumlu gen olabileceğini belirtmişlerdir. Bergamini ve diğ., (2013) *VvAGL11*'in MDS'de tanısıl gücünü değerlendirmek ve doğrulamak için kendi üzüm koleksiyonlarından 475 adet melez F1 genotipi üzerinde derinlemesine bir analiz yapmışlardır. Yaptıkları çalışmayla *VviAGL11* markörünün negatif stenospermokarpinin erken seçimi için kullanılabileceğini doğrulamışlardır. Yapılan bu çalışmada çekirdeksizliğin erken seleksiyonu için *VviAGL11* gen bölgesi taranmış ve potansiyel çekirdeksiz melez genotipler seçilmiştir.

Yapılan diğer bir araştırmada, Ocarez ve diğ.(2020) *5U_VviAGL11* markörünü kullanmış ve Sultani Çekirdeksiz' de çekirdeksizliğin 319 bp'lik allel büyüklüğünde tanımlandığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da benzer şekilde Sultani Çekirdeksiz' e ait olan 318 bp allel büyüklüğündeki bantlar elde edilmiş ve bu bantları taşıyan melez genotipler potansiyel çekirdeksiz genotipler olarak kabul edilmiştir. Kapillar sistemle elde ettiğimiz bant büyüklükleri arasında yer yer 1 bp fark olmakla birlikte bu durumun farklı ortam ve farklı cihazların kullanımından kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Lakshminarayana ve diğ., 2007). 318 bp'lik allel büyüklüğü ile ilişkili olarak toplam 351 melez genotipten 136 melez üzüm genotip olası çekirdeksiz olarak bulunmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde ve dünyada sofralık olarak tüketilen yeni çekirdekiz üzüm çeşitlerine olan talep günden güne artmaktadır. Bu talep yeni çekirdeksiz sofralık üzüm çeşitlerinin geliştirilmesine yönelik ıslah çalışmalarının sayısının da artmasına neden olmaktadır. Ayrıca tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de hem insan hem de çevre sağlığına olan bilinç giderek artmakta ve buna paralel olarak organik olarak yetiştirilebilecek yeni çeşitler daha fazla talep görmektedir. Bu talepleri karşılayabilmek içinde bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklılık veya hassasiyetin nedenleri ve mekanizmaları üzerine uzun yıllardır araştırmalar devam etmektedir. Her yıl dayanıklılık üzerinde yapılan çalışmalarda yeni gen bölgeleri keşfedilmektedir. Bu genleri duyarlı çeşitlere aktaran farklı ıslah çalışmaları başlatılmaktadır. Bu çalışma sonucunda bağcılık için çok önemli olan külleme ve mildiyö hastalığına karşı melez üzüm genotiplerinin dayanıklılık seviyeleri ile çekirdeksizlik durumları tespit edilmiştir. Hem hastalıklara dayanıklı hem de çekirdeksiz olarak 77 melez genotip seçilmiştir. Potansiyel olarak hem çekirdeksiz hem de mildiyö ve küllemeye ya dayanıklı olarak belirlenen bu melez genotiplerin gelecekte ıslah çalışmalarında meyve özellikleri belirlenerek çeşit adaylarının ortaya konması sağlanmıştır. Çeşit aday potansiyeli düşük olanlar ise sonraki ıslah çalışmalarında hastalıklara dayanıklılık ve çekirdeksizlik özellikleri nedeniyle ebeveyn olarak kullanılabileceklerdir.

KAYNAKLAR

- Adam-Blondon, A.F., Lahogue-Esnault, F., Bouquet, A., Boursiquot, J.M., This, P. (2001). Usefulness of Two SCAR Markers for Marker-Assisted Selection of Seedless Grapevine Cultivars. *Vitis*. (40) 147-155.
- Akkurt, M. (2004). Entwicklung molekularer Marker für Oidium (*Uncinula necator*)-Resistenz bei der Weinrebe. Ph.D. Diss. Karlsruhe T.H. Deutschland. 117 s.
- Akkurt, M., Welter, L., Maul, E., Topfer, R., and Zyprian, E. (2007). Development of SCAR Markers Linked to Powdery Mildew (*Uncinula necator*) Resistance in Grapevine (*Vitis vinifera* L. and *Vitis* sp.). *Mol. Breed.* 19:103-111.
- Akkurt, M., Çakır, A., Shidfar, M., Çelikkol, B.P., and Söylemezoğlu, G. (2012). Using SCC8, SCF27 and VMC7f2 Markers in Grapevine Breeding for Seedlessness Via Marker Assisted Selection. *Genet. Mol. Res.* 11 (3): 2288-2294 DOI: 10.4238/2012.August.13.2
- Anonim, (2014). <https://www.tuik.gov.tr/> Türkiye İstatistik Kurumu Resmi Web Sitesi.(Ziyaret tarihi:16.02.2022).
- Barker, C. L., Donald, T., Pauquet, J., Ratnaparkhe, M. B., Bouquet, A., Adam-Blondon, A. F., Thomas, M. R., and Dry, I. (2005). Genetic and Physical Mapping of The Grapevine Powdery Mildew Resistance Gene, *Run1*, Using a Bacterial Artificial Chromosome Library. *Theor. Appl. Genet.* 111:370-377. DOI 10.1007/s00122-005-2030-8
- Barritt, B.H. (1970). Ovule Development in Seeded and Seedless Grapes. *Vitis* 9: 7-14
- Bergamini, C., Cardone, M.F., Anaclerio, A., Perniola, R., Pichierri, A., Genghi, R., Alba, V., Forleo, L.R., Caputo, A.R., Montemurro, C., Blanco, A. & Antonacci, D. (2013). Validation Assay of p3_VvAGL11 Marker in a Wide Range of Genetic Background for Early Selection of Stenospermocarpy in *Vitis vinifera* L. *Mol. Biotechnol.* 54(3), 1021-1030. DOI 10.1007/s12033-013-9654-8
- Blum, M., Waldner, M., & Gisi, U. (2010). A Single Point Mutation in The Novel PvcSa3 Gene Confers Resistance to The Carboxylic Acid Amide Fungicide Mandipropamid in *Plasmopara viticola*. *Fungal Genetics and Biology*, 47(6), 499–510. DOI: 10.1016/j.fgb.2010.02.009
- Boso, S., Alonso-Villaverde, V., Gago, P., Santiago, J.L., Martínez, M.C., (2014). Susceptibility to Downy Mildew (*Plasmopara viticola*) of Different *Vitis* Cultivars. *Crop Protec.*, 63, 26-35. DOI: 10.1016/j.cropro.2014.04.018
- Bouquet, A., Danglot, Y., (1996). Inheritance of Seedlessness in Grapevine (*Vitis Vinifera* L.), *Vitis* (35) 35-42.

- Bove, F., Bavaresco, L., Caffi, T., Rossi, V. (2019). Assessment of Resistance Components for Improved Phenotyping of Grapevine Varieties Resistant To Downy Mildew. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1559. DOI: 10.3389/fpls.2019.01559
- Brown, M. V., Moore, J. N., Mcnew, R. W., Fenn, P. (1999 a). Inheritance of Downy Mildew Resistance in Table Grapes. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 124, 262-267. DOI: 10.21273/JASHS.124.3.262
- Brown, M. V., Moore, J. N., Fenn, P., Mcnew, R. W. (1999 b). Evaluation of Grape Germplasm for Downy Mildew Resistance. *Fruit Var. J.* 53, 22-29.
- Cabezas, J.A., Cervera, M.T., Ruiz-Garcia, L., Carreno, J., Martinez-Zapater, J.M. (2006) A Genetic Analysis of Seed and Berry Weight in Grapevine. *Genome* 49: 1572-1585. DOI: 10.1139/g06-122
- Calonnec, A., Cartolaro, P., Poupot, C., Dubourdieu, D., Darriet, P. (2004). Effects of *Uncinula necator* on The Yield and Quality of Grapes (*Vitis vinifera* L.) and Wine. *Plant Pathol.*, 53, 434–445. DOI:10.1111/j.0032-0862.2004.01016.x
- Calonnec, A., Wiedemann-Merdinoglu, S., Delière, L., Cartolaro, P., Schneider, C., Delmotte, F. (2012). The Reliability of a Leaf Bioassays for Predicting Disease Resistance on Fruit a Case of Study on Grapevine Resistance to Downy and Powdery Mildew. *Plant Pathol.* 62, 533-544. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2012.02667.x
- Chen, W. J., Delmotte, F., Richard-Cervera, S., Douence, L., Greif, C., & Corio-Costet, M. F. (2007). At Least Two Origins of Fungicide Resistance in Grapevine Downy Mildew Populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(16), 5162–5172. DOI: 10.1128/AEM.00507-07
- Chen, M., Brun, F., Raynal, M., Makowski, D. (2020). Forecasting Severe Grape Downy Mildew Attacks Using Machine Learning. *PLoS One*, 15(3) e0230254. DOI: 10.1371/journal.pone.0230254
- Cindric, P., Korac, N., Kovac, V., (2009). Grape Breeding for Fungal Resistance Using North American and Asian Donor Genotypes. *Acta Hort.*, 827, 631-634. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.827.111
- Coleman, C., Copetti, D., Cipriani, G., Hoffmann, S., Kozma, P., Kovacs, L., Morgante, M., Testolin, R., and Di Gaspero, G. (2009). The Powdery Mildew Resistance Gene *REN1* Co-segregates with an NBS-LRR Gene Cluster in Two Central Asian Grapevines. *BMC Genet.* 10:89. DOI :10.1186/1471-2156-10-89
- Costantini, L., Battilana, J., Lamaj, F., Fanizza, G., Grando, M.S. (2008). Berry and Phenology-Related Traits in Grapevine (*Vitis vinifera* L.): from Quantitative Trait Loci to Underlying Genes. *BMC Plant Biol* 8:38. DOI: 10.1186/1471-2229-8-38

- Çelik, H., Ağaoğlu, Y. S., Fidan, Y., Marasalı, B. ve Söylemezoğlu, G. (1998). *Genel Bağcılık*, Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi, 1, Ankara,
- Çelik, S. (1998) *Bağcılık (Ampeloloji)*, Cilt: 1. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri, Tekirdağ.
- Dangl, G.S., Mendum, M.L., Prins, B.H., Walker, M.A., Meredith, C.P., Simon, C.J. (2001). Simple Sequence Repeat Analysis of a Clonally Propagated Species: A Tool for Managing a Grape Germplasm Collection. *Genome*, 44 (3): 432-438. DOI: 10.1139/g01-026
- Dalbo, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F., Wilcox, W. F., and Reisch, B. I. (2001). Marker-Assisted Selection for Powdery Mildew Resistance in Grapes. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 126:83-89. DOI: 10.21273/JASHS.126.1.83
- Değirmenci, D., Kunter Marasalı, B. (2007). Üzümlerde Çekirdeksizlik ve Islah Amaçlı Kullanımı. *Alatarım*, 6 (1): 10 – 17.
- Deliere, L., Miclot, A.S., Sauris, P., Rey, P., Calonnec, A. (2010). Efficacy of Fungicides with Various Modes of Action in Controlling the Early Stages of an *Erysiphe necator*-Induced Epidemic. *Pest Manag. Sci.*, 66, 1367-1373. DOI: 10.1002/ps.2029
- Di Gaspero, G., Cipriani, G., Adam-Blondon, A. F., and Testolin, R. (2007). Linkage maps of grapevine displaying the chromosomal locations of 420 microsatellite markers and 82 markers for R-gene candidates. *Theor. Appl. Genet.* 114:1249-1263. DOI:10.1007/s00122-007-0516-2
- Di Genova, A., Almeida, A.M., Munoz-Espinoza, C., Vizoso, P., Travisany, D., Moraga, C., Pinto, M., Hinrichsen, P., Orellana, A., Maass, A. (2014). Whole Genome Comparison between Table and Wine Grapes Reveals a Comprehensive Catalog of Structural Variants. *BMC Plant Biology* 14, 7
- DNeasy Plant Handbook, 2016. www.qiagen.com/HB-1166
- Eibach, R., Zyprian, E., Welter, L., Topfer, R. (2007). The Use of Molecular Markers for Pyramiding Resistance Genes in Grapevine Breeding. *Vitis* 46, 120-124.
- Emmett, R. W.; Wick, T. J.; Magarey, P. A. (1992). Downy mildew of grapes. In: J. Kumar, H. S. Chaube, U. S. Singh, A. N. Mukopadhyay (Eds): Plant Diseases of Fruit Crops, 90-128. Presentice Hall, Englewood Cliffs, N. J.
- Ergül, A. (1994). Bağcılıkta Kombinasyon Islahı Üzerinde Araştırmalar: Bazı Şaraplık Üzüm Çeşitlerinde Tozlayıcı Çeşitlerin Döl Verimine Etkileri. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü. (Basılmamış Yüksek Lisans Tezi). 144 s., Ankara.

- Fanizza, G., Lamaj, F., Costantini, L., Chaabane, R. & Grando, M.S., (2005). QTL analysis for fruit yield components in table grapes (*Vitis vinifera*). *Theor. Appl. Genet.* 111(4), 658-664. DOI: 10.1007/s00122-005-2016-6.
- FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Statistics database, Available online: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>, Ziyaret tarihi (12 Eylül 2021).
- Gadoury, D.M.; Seem, R.C.; Pearson, R.C.; Wilcox, W.F.; Dunst, R.M. (2001). Effects of powdery mildew on vine growth, yield, and quality of concord grapes. *Plant Dis.*, 85, 137–140.
- Gessler, C., Pertot, I., & Perazzoli, M. (2011). *Plasmopara viticola*: A review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(1), 3–44.
- Gisi, U. (2002). Chemical control of downy mildews. In P. T. N. Spencer, U. Gisi, & A. Lebeda (Eds.), *Advances in downy mildew research* (pp. 119–159). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Gómez-Zeledón, J., Zipper, R., & Spring, O. (2013). Assessment of phenotypic diversity of *Plasmopara viticola* on *Vitis* genotypes with different resistance. *Crop Protection*, 54, 221– 228. DOI: 10.1016/j.cropro.2013.08.015.
- Gribaudo, I., Zanetti, R., Botta, R., Vallania, R., Eynard, I. (1993). In Ovulo Embryo Culture of Stenospermic Grapes. *Vitis* (32): 9-14.
- Gürnil, K., Usta, K., Özer, C., Kebeli, N. (1998). Bazı Üzüm Çeşitleri Arasında Melezleme Yolu ile Çekirdeksiz Erkenci ve Son Turfanda Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Elde Edilmesi. 4.Bağcılık Sempozyumu Bildirileri: 87-90, 20-23 Ekim 1998, Yalova.
- Hajdu, E., (2007). Breeding of table grape cultivars in Hungary and beyond our national borders. *Hung. Agric. Res.*, 4, 4-9.
- He, P. C.; (1999). *Viticulture*. China Agriculture Press, Beijing, China.
- Hoffmann, S., Cindric, P., Kozma, P.Jr., (2007). Breeding resistant cultivars to downy and powdery mildew. XXX. World Congress of Vine and Wine. http://www.oiv2007.hu/documents/viticulture/314_breeding_resistente_cultivars_to_1_.pdf .
- Hoffmann, S., Di Gaspero, G., Kovacs, L., Howard, S., Kiss, E., Galbacs, Z., Testolin, R., and Kozma, P. (2008). Resistance to *Erysiphe necator* in the grapevine 'Kishmish vatkana' is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth. *Theor. Appl. Genet.* 116:427-438. DOI: 10.1007/s00122-007-0680-4.

- Hvarleva, T., Tarpomanova, I., Hristova-Cherbadji, M., Hristov, M., Bakalova, A., Atanasov, A., Atanasov, I. (2009). Toward marker assisted selection for fungal disease resistance in sunflower, Utilization of H. Bolanderi as a source of resistance to downy mildew, *Biotechnol. and Biotechnol. Eq.* 23(4): 1427-1430.
- Ibáñez, J., Vélez, M.D., De Andrés, M.T., Borrego, J. (2009). Molecular markers for establishing distinctness in vegetatively propagated crops: a case study in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics* 119: 1213-1222. DOI: 10.1007/s00122-009-1122-2.
- Ibáñez, J., Carreño, J., Yuste, J., Martínez-Zapater, J.M. (2015). *Grapevine breeding and clonal selection programmes in Spain*. In AG Reynolds, ed, *Grapevine Breeding Programs for the Wine Industry*. Woodhead Publishing, Oxford, pp 183-209.
- İşçi, B. (2008). Asmada QTL (Kantitatif Karakter Lokus) Analizi. *Anadolu, J. of AARI* 18 (2), 11 – 37.
- Jarvis, W.R., Gubler, W.D., Grove, G.G. (2002). Epidemiology of powdery mildews in agricultural pathosystems. In: Bélanger RR, Bushnell WR, Dik AJ, Carver TLW, eds. *The Powdery Mildews: A Comprehensive Treatise*. St Paul, MN, USA: APS Press, 169–99.
- Karaağac, E., Vargas, A.M., De Andrés, M.T., Carreño, I., Ibáñez, J., Carreño, J. & Cabezas, J.A., (2012). Marker assisted selection for seedlessness in table grape breeding. *Tree Genet. Genomes* 8(5), 1003-1015. DOI:10.1007/s11295-012-0480-0.
- Karabat, S., Atış, E. (2009). Manisa ili bağ alanlarında tarımsal ilaç kullanımı konusunda üreticilerin tutum ve davranışları. *Türkiye 7. Bağcılık ve Teknolojileri Sempozyumu*, 5-9 Ekim, Salihli, Manisa:206-215.
- Kennelly, M.M., Gadoury, D.M., Wilcox, W.F., Magarey, P.A., Seem, R.C. (2005). Seasonal development of ontogenic resistance to downy mildew in grape berries and rachises. *Phytopathology.*, 95:1445-1452. DOI: 10.1094/PHYTO-95-1445.
- Kortekamp, A., Wind, R., Zyprian, E. (1998). Investigation of the interaction of *Plasmopara viticola* with susceptible and resistant grapevine cultivars. *Journal of Plant Disease and Protection*, 105(5), 475–488.
- Kovaleva, L.V., Smirnova, N.K., Milyaeva, E.L. (1997). Seedlessness: Structure and metabolic activity of *Vitis vinifera* L female gametophyte (cv Kishmish chernyi). *Russian Journal of Plant Physiology* 44: 368-373.
- Lahogue, F., This, P., Bouquet, A. (1998). Identification of Codominant SCAR Markör Linked to the Seedlessness Character in Grapevine. *Theor. Appl. Genet.*, 97: 950-959.

- Lakshminarayana, R., Vemireddy, S.A., Javaregowda, N. (2007). Capillary Electrophoresis Is Essential for Microsatellite Marker Based Detection and Quantification of Adulteration of Basmati Rice (*Oryza sativa*). *J. Agric. Food Chem.* 55: 8112–8117. DOI. 10.1021/jf0714517.
- Ledbetter, C.A., Ramming, D.W. (1989). Seedlessness in Grapes. *Horticultural Reviews*, 11:159-184.
- Ledbetter, C.A., Shonnard, C.B. (1991). Berry and Seed Characteristics Associated with Stenospermocarpy in *Vinifera* Grapes. *Journal of Horticultural Science*. 66 (2): 247-252.
- Lisek, J. (2014). Evaluation of yield and healthiness of twenty table grapevine cultivars grown in Central Poland. *J. Horti. Res.*, 22, 101-107.
- Lu, W., Newlands, N. K., Carisse, O., Atkinson, D. E., Cannon, A.J. (2020). Disease Risk Forecasting with Bayesian Learning Networks: Application to Grape Powdery Mildew (*Erysiphe necator*) in Vineyards. *Agronomy*, 10, 622. DOI:10.3390/agronomy10050622.
- Mahanil, S., Reisch, B. I., Owens, C. L., Thipyapong, P., and Laosuwan, P. (2007). Resistance gene analogs from *Vitis cinerea*, *Vitis rupestris*, and *Vitis* hybrid *Horizon*. *Am. J. Enol. Vitic.* 58:484-493.
- Malabarba, J., Buffon, V., Mariath, J.E.A., Gaeta, M.L., Dornelas, M.C., Margis-Pinheiro, M., Pasquali, G., Revers, L.F. (2017). The MADS-box gene *Agamous-like 11* is essential for seed morphogenesis in grapevine. *J Exp Bot* 68: 1493-1506. DOI: 10.1093/jxb/erx025.
- Matasci, C. L., Gobbin, D., Schärer, H. J., Tamm, L., & Gessler, C. (2008). Selection for fungicide resistance throughout a growing season in populations of *Plasmopara viticola*. *European Journal of Plant Pathology*, 120, 79–83. DOI: 10.1007/s10658-007-9190-0.
- Mejia, N., Gebauer, M., Munoz, L., Hewstone, N., Munoz, C., Hinrichsen, P. (2007). Identification of QTLs for seedlessness, berry size, and ripening date in a seedless x seedless table grape progeny. *American Journal of Enology and Viticulture* 58: 499-507.
- Mejía, N., Soto, B., Guerrero, M., Casanueva, X., Houel, C., Miccono, M.A., Ramos, R., Cunff, L.L., Boursiquot, J.M., Hinrichsen, M., Adam-Blondon, A.F. (2011). Molecular, Genetic And Transcriptional Evidence For A Role Of *Vvagl11* in Stenospermocarpic Seedlessness in Grapevine. *BMC Plant Biology* 2011. 11:57 <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/11/57>.
- Merin, U., Rosenthal, I., Lavi, U. (1983). A Chemical Method for the Assessment of Grapes According to Their Seed Content. *Vitis* (22): 306-310.

- Mizzotti, C., Ezquer, I., Paolo, D., Rueda-Romero, P., Guerra, R.F., Battaglia, R., Rogachev, I., Aharoni, A., Kater, M.M., Caporali, E., Colombo, L. (2014). SEEDSTICK is a master regulator of development and metabolism in the Arabidopsis seed coat. *PLoS Genet.* 10(12):e1004856. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004856
- Molnar, S., Galbacs, Z., Halasz, G., Hoffmann, S., Kiss, E., Kozma, P., Veres, A., Galli, Z., Szoke, A., and Heszky, L. (2007). Marker assisted selection (MAS) for powdery mildew resistance in a grapevine hybrid family. *Vitis* 46:212-213.
- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., Hens, L., (2016). Chemical pesticides and human health: The urgent need for a new concept in agriculture. *Front Public Health*, 4, 148. DOI:10.3389/fpubh.2016.00148
- Ocarez, N., Mejia, N. (2016). Suppression of the D-class MADS-box AGL11 gene triggers seedlessness in fleshy fruits. *Plant cell reports* 35, 239-254, DOI:10.1007/s00299-015-1882-x.
- Ocarez, N., Jiménez, N., Núñez, R., Perniola, R., Marsico, A. D., Cardone, M. F., Bergamini, C., Mejía, N. (2020). Unraveling the Deep Genetic Architecture for Seedlessness in Grapevine and the Development and Validation of a New Set of Markers for *VviAGL11*- Based Gene-Assisted Selection. *Genes*, 11, 151; DOI:10.3390/genes11020151
- Olmo, H.P., Barris, C. (1973). Obtention de Raisins de Table Pynes. O.I.V. Symposium International sur les Raisins de Table. Limassol. Chypre. 16-21. Juillet. Paper No:20,17p.
- OIV; (2009). OIV Descriptor List for Grape Varieties and Vitis Species (2nd ed.). O. I. V. (Off. Int. Vigne Vin), Paris
- Özer, C., Solak, E., Öztürk, L., Özer, N., (2012). The development of powdery mildew-tolerant grape cultivars with standard quality characteristics by cross breeding. *African Journal of Agricultural Research*. 7(9):1374-1380.
- Pearson, H.M. (1932). Parthenocarpy and Seed Abortion in *Vitis vinifera*. *Proc. Amer. Soc.Hort. Sci.* 29:169
- Pinyopich, A., Ditta, G.S., Savidge, B., Liljegren, S.J., Baumann, E., Wisman, E., Yanofsky, M.F. (2003). Assessing the redundancy of MADS-box genes during carpel and ovule development. *Nature* 424: 85-88. DOI: 10.1038/nature01741
- Pirrello, C., Mizzotti, C., Tomazetti, T.C., Colombo, M., Bettinelli, P., Prodorutti, D., Peressotti, E., Zulini, L., Angeli, G., Stefanini, M. (2019). Emergent Ascomycetes in viticulture: An interdisciplinary overview. *Front. Plant Sci.*, 10, 1394. DOI: 10.3389/fpls.2019.01394
- Pool, R.M., Pearson, R.C., Welser, M.J., Lakso, A.N., Seem, R.C. (1984). Influence of

powdery mildew on yield and growth of Rosette grapevines. *Plant Dis.*, 68, 590–593. DOI: 10.1094/PD-69-590

Pratt, C. (1971). Reproductive Anatomy in Cultivated Grapes - A Review. *American Journal of Enology and Viticulture* 22, 92-109

Reisch, B. I., Pratt, C., (1996). *Grapes*. In: J. Janick, J. N. Moore (Eds): Fruit Breeding. Vine and Small Fruit Crops, Vol. 2, 197-369. Wiley, New York.

Riaz, S., Tenscher, A.C., Ramming, D.W., Walker, M.A., (2011). Using a limited mapping strategy to identify major QTLs for resistance to grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) and their use in marker-assisted breeding. *Theor. Appl. Genet.*, 122, 1059–1073. DOI: 10.1007/s00122-010-1511-6

Salinari, F., Giosue, S., Rossi, V., Tubiello, F.N., Rosenzweig, C., Gullino, M.L. (2007). Downy mildew outbreaks on grapevine under climate change: elaboration and application of an empirical-statistical model. *EPPO Bulletin.*, 37:317-326. DOI: 10.1111/j.1365-2338.2007.01126.x

Söylemezoğlu, G., Çelik, H., Kunter, B., Ünal, A., Özer, C., Kiracı, M.A., Akkurt, M., Boz, Y., Karaman, H. T. (2020). Türkiye Ziraat Mühendisliği IX. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-1 Bağcılıkta Mevcut Durum Ve Gelecek. ISBN-978-605-01-1321-1. sf 610-647.

Striem, M.J., Ben-Hayyim, G., Spiegel-Roy, P. (1996). Identifying Molecular Genetic Markers Associated with Seedlessness in Grape. *J. Amer.Soc. Hort. Sci.* 121(5): 758-763. DOI: 10.21273/JASHS.121.5.758

Stout, A.B. (1936). Seedlessness in Grapes. *Technical Bulletin*, No:238.

Stummer, B.E., Francis, I.L., Zanker, T., Lattey, K.A., Scott, E.S. (2005). Effects of powdery mildew on the sensory properties and composition of Chardonnay juice and wine when grape sugar ripeness is standardised. *Aust. J. Grape Wine Res.*, 11:66–76. DOI:10.1111/j.1755-0238.2005.tb00280.x

Uslu, İ., Samancı, H. (1998). Melezleme İle Yeni Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Elde Edilmesi. 4. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri: 17-23, 20-23 Ekim 1998, Yalova.

Valdés-Gómez, H., Gary, C., Cartolaro, P., Lolas-Caneo, M., Calonnec, A. (2011). Powdery mildew development is positively influenced by grapevine vegetative growth induced by different soil management strategies. *Crop Prot.* 30, 1168–1177. DOI: 10.1016/j.cropro.2011.05.014

Wan, Y., Schwaninger, H., He, P., Wang, Y. (2007). Comparison of resistance to powdery mildew and downy mildew in Chinese wild grapes. *Vitis* 46 (3), 132–136

Welter, L. J., Gokturk-Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Topfer, 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.). *Mol. Breed.* 20:359-374. DOI: 10.1007/s11032-007-9097-7

Winkler, A.J., Cook, J.A., Kliewer, W.M. and Lider, L.A. (1974). *General Viticulture*. Univ.Calif. Press, Berkeley and Los Angeles, 710 p.

Wu, X., Liu, N., Zhang, J., Wang, Y., (2011). Field natural identification of resistance of grape resources from USA and Xinjiang of China to primary fungi diseases. *J. Fruit Sci.* 28, 998- 1009.

Yıldırım, Z., Atak, A., Akkurt, M. (2019). Determination Of Downy And Powdery Mildew Resistance Of Some *Vitis* Spp. *Ciência Téc. Vitiv.* 34(1) 15-24. DOI: 10.1051/ctv/20193401015

Zohary, D., Hopf, M. (2000). *The Domestication Of The Plants In The Old World: The Origin And Spread Of Cultivated Plants In West Asia, Europe And Nile Valley*. 3rd Edn. Oxford University Press, Oxford.

EKLER

EK -A

Tablo A.1. OIV Skala

Skala	Ölçek Belirtileri/Reaksiyonu (Külleme-Powdery Mildew)	Ölçek Belirtileri/Reaksiyonu (Mildiyö-Downy Mildew)	Konak yanıtı
1	Çok düşük (küçük noktalar veya semptom yok; ne görünür sporlanma ne de miselyum)	Çok düşük (küçük nekrotik noktalar veya semptom yok; ne sporulasyon ne de miselyum)	Çok Dayanıklı(ÇD)
3	Düşük (sınırlı lezyonlar < 2 cm çapında; sınırlı sporülasyon ve miselyum; Uncinula'nın varlığı yalnızca yaprağın kenarının hafif bir kıvrılmasıyla gösterilir)	Düşük (çapı < 1 cm olan küçük nekrozlar; küçük sporlanma veya miselyum)	Dayanıklı(D)
5	Orta (nekrozlar genellikle 2–5 cm çapla sınırlıdır))	Orta (1–2 cm çapında küçük nekrozlar; az çok sporlanma; düzensiz misel oluşumu)	Tolerant(T)
7	Yüksek (geniş nekrozlar; güçlü sporlanma ve bol miselyum)	Yüksek (geniş lezyonlar; güçlü sporlanma ve bol miselyum;aşağıdan yaprak dökümü)	Hassas(H)
9	Çok yüksek (çok geniş sınırsız nekrozlar veya yaprağın tamamı nekrozlarla kaplı; güçlü sporlanma ve bol miselyum)	Çok yüksek (geniş nekrozlar veya yaprağın tamamı nekrozlarla kaplı; güçlü sporlanma ve yoğun miselyum; çok erken yaprak dökümü)	Çok Hassas(ÇH)

EK -B

DNA İzolasyon Protokolü

1. İçerisinde örnek bulunan tüpe 400 µl AP1 Tampon çözeltisi ve 4µl RNase A çözeltisi ilave edilmiştir.
2. Tüpteki karışım güçlü bir şekilde vorteks yardımı ile çalkalanmıştır.
3. Tüp 65 °C'de ki sıcak su banyosunda 10 dakika inkübe edilir ve inkübasyon sırasında tüp 2-3 kez alt-üst edilerek karıştırılmıştır.
4. Sıcak su banyosundan çıkarılan tüpe 130µl P3 Tampon çözeltisi ilave edilerek karıştırılmış ve buz banyosunda 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
5. Buz üzerindeki inkübasyondan sonra tüp 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
6. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant içerisinde mini spin filtreler bulunan 2mL'lik tüpe aktarılmış. Tüp 14.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.
7. Santrifüj sonrası tüpün altında toplanan içerisinde DNA bulunan süpernatant temiz bir eppendorf tüpe aktarılmıştır. Temiz tüpe aktarılan içerisinde DNA bulunan çözeltinin hacminin 1,5 katı AW1 Tampon çözeltisi ilave edilerek tüp nazik bir şekilde karıştırılmıştır.
8. Tüp içerisindeki karışımdan 650 µl içerisinde beyaz filtre bulunan tüpe aktarılmış ve 800 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpte geriye kalan karışımda santrifüj sonrası filtrelili tüpe aktararak tekrar DNA bağlı beyaz filtrelili tüpler temiz bir tüpe yerleştirilmiştir. Tüpe 500µl AW2 Tampon çözeltisi eklenerek 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüpün altındaki süpernatant dökülmüştür.
9. Filtreye tekrar 500µl AW2 Tampon çözeltisi eklenerek 14000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.
10. Filtrede bağlı olan DNA'ların çözelti ortamına alınması için filtre temiz bir tüpe yerleştirilmiştir. Tüpe 65 °C'de bekletilen AE Tampon çözeltisinden 100µl eklenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dakika bekletilen tüp 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiş ve DNA lar tüpte toplanmıştır.

EK-C

AATI Fragment Analyzer Protokolü

1. 96'lık bir plate'in her bir kuyucuğuna 22 μ L Dilution Buffer konulmuştur.
2. Her bir kuyucuğa 2 μ L örnek konulup Dilution Buffer'la karışması için santrifüj edilmiştir.
3. 45 μ L Seperation Jel 4,5 μ L boya ile karıştırılıp cihazın jel kısmına yüklenmiştir.
4. 80 mL ultra saf su 20 ml Capillary Contioning Solüsyon ile karıştırılıp cihaza yerleştirilmiştir.
5. 20 mL Inlet Buffer 80 ml ultra saf su ile karıştırılıp özel 96'lık plate içerisinde her bir kuyucuk 1 mL olacak şekilde dağıtılmış ve plate Inlet Buffer tepsisine yerleştirilmiştir.
6. Marker solüsyonu özel 96 kuyucuklu marker plate içerisinde 30 μ L olarak dağıtılmış ve 1'er damla mineral yağ üzerlerine eklenmiştir.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

1. Atak, A., Aydın, B., **Doyğacı, Y.**, Doğan, A., Yıldırım, K.C., Kaya, E. (2014). Farklı Geofit Cinslerinin Genomik Dna Miktar ve Saflıklarının Belirlenmesi. Bahçe 43 (1–2): 1 – 8
2. Atak, A., Kahraman, K.A., **Doyğacı, Y.**, Şire, G.G. (2015). Kiwifruit Breeding and Obtaining New Cultivars in Turkey. Acta horticulturae, 1096, ISHS
3. Atak, A., Kahraman, K.A., **Doyğacı, Y.**, Kandilli, G.G. (2017). Kiwifruit (Actinidia spp.) breeding studies and new cultivar candidates in Turkey. IX International Symposium on Kiwifruit 1218, 117-122
4. Atak, A., **Doyğacı, Y.**, Kandilli, G.G., Şen, A. (2018). Determination of Flower Characteristics of some Kiwifruit Genotypes (Actinidia Spp.) Obtained with Breeding Program. International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences 2 (1), 7-12
5. Atak, A., Şen, A. **Doyğacı, Y.**, Kandilli, G.G., (2019). Determination of live seed rates of hybrid genotypes obtained by hybridization of different grape species and cultivars. Akademik Ziraat Dergisi 8 (2), 149-156
6. Kahraman, K.A., Atak, A., **Doyğacı, Y.**, Kandilli, G.G., Şen, A. (2022). Preliminary selection studies in the kiwifruit breeding program in Turkey: characteristics of some selected kiwifruit genotypes. DOI:10.17660/ActaHortic.2022.1332.11

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Eskişehir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Eskişehir’de tamamladıktan sonra 1998 yılında Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nde lisans eğitimine başladı. 2003 yılında lisans eğitimini tamamladı. 2004 yılında Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümünde tezsiz yüksek lisansını tamamladı. 2007-2012 yılları arasında Çanakkale Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü’nde Mikrobiyoloji, mikotoksin ve biyoteknoloji laboratuvarlarında görev almıştır. 2012 yılından itibaren Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü’nde Bağcılık bölümünde görev yapmaktadır. Enstitüde bağcılık ve biyoteknoloji ağırlıklı olarak çalışmalarına devam etmektedir. Evli ve iki çocuk annesidir.