

Bazı Melez Asma Genotiplerinin Küllemeye Duyarlılıklarının Küllemeye Dayanıklılıkla İlişkili Bazı Markörler ile İncelenmesi

Abdurrahim BOZKURT^{1*}  Adem YAĞCI² 

¹Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Erzincan

²Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tokat

*Sorumlu Yazar: abdurrahimbozkurt@hotmail.com

Geliş Tarihi: 18.03.2024 Düzeltme Geliş Tarihi: 18.04.2024 Kabul Tarihi: 18.04.2024

ÖZ

Bu çalışma 2022-2023 yılları arasında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezine ait seralarda yürütülmüştür. Çalışmada 6 adet Narince × Kishmish Vatkana (NKV) ve 66 adet Narince × Regent (NRG) melezi *Ren1*, *Ren3* ve *Ren9* lokusları yönünden MAS yöntemiyle küllemeye dayanıklılıkla ilişkili markörler ile taranmıştır. PCR amplifikasyon ürünleri agaroz jel üzerinde görüntülenerek, örnekler bant var (+) bant yok (-) olarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda; genlerin bant görüntü sonuçları genotipler arasında değişkenlik göstermiştir. NRG-7, NRG-146, NRG-183, NRG-195, NRG-196, NRG-197 ve NRG-200 genotiplerinin bant görüntü sonuçları, bu genotiplerde daha önce yapılmış olan külleme skorlamaları sonuçları ile uyumlu tespit edilmiştir. NRG-146 ve NRG-195 genotipleri; *Ren1*, *Ren3*, *Ren9*, NRG-7; *Ren3* ve *Ren9*, NRG-183 ve NRG-196; *Ren9*, NRG-197; *Ren1*, *Ren9*, ve NRG-200 genotipi *Ren1* ve *Ren3* lokusları bakımından bant (+) vermiştir. Son yıllarda, küllemeye karşı direnç genleri veya lokuslarının araştırılmasına olan ilgi artmış ve yeni direnç genleri veya lokusları keşfedilmiştir. *Ren* lokuslarında, külleme direncinden ve bunların etki mekanizmalarından hangi genlerin sorumlu olduğuna yönelik çalışmalar doğal olarak direnç genleri taşıyan üzüm çeşitlerinin geliştirilmesi, pestisit kullanımının azaltılması bakımından hayati derecede önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Direnç genleri, Melez genotipler, külleme (*Erysiphe necator*), Marköre dayalı seleksiyon.

Investigation of Powdery Mildew Susceptibility of Selected Hybrid Vine Genotypes Using Markers Associated with Powdery Mildew Resistance

ABSTRACT

The study was conducted in greenhouses belonging to Tokat Gaziosmanpaşa University, Agricultural Application and Research Center between 2022 and 2023. In the study, six Narince × Kishmish Vatkana (NKV) hybrids and 66 Narince × Regent (NRG) hybrids were screened for *Ren1*, *Ren3* and *Ren9* locus with markers related to powdery mildew resistance using the MAS method. The polymerase chain reaction (PCR) amplification products were visualised on an agarose gel, and the samples were examined to determine whether they exhibited a band (positive result) or not (negative result). The results of the study indicated that the band image results of the studied genes varied among the genotypes. The band image results of NRG-7, NRG-146, NRG-183, NRG-195, NRG-196, NRG-197 and NRG-200 genotypes were found to be compatible with the powdery mildew scoring results previously carried out on these genotypes. NRG-146 and NRG-195 genotypes; *Ren1*, *Ren3*, *Ren9*, NRG-7; *Ren3* and *Ren9*, NRG-183 and NRG-196; *Ren9*, NRG-197; *Ren1*, *Ren9* and NRG-200 genotypes gave bands (+) with respect to the *Ren1* and *Ren3* locus. In recent years, interest in the study of powdery mildew resistance genes or loci has increased and new resistance genes or locus have been discovered. Studies of the genes responsible for powdery mildew resistance and their mechanisms of action at the resistance locus are crucial to developing grape varieties that naturally carry resistance genes and reducing pesticide use.

Key words: Hybrid genotypes, Marker-based selection, Powdery mildew (*Erysiphe necator*), Resistance genes.

GİRİŞ

Külleme (*Erysiphe necator*) asmada verimi, meyve ve şarap kalitesini olumsuz etkileyen en önemli mantari hastalıkların başında gelmektedir (Pearson ve Gadoury, 1992; Feechan ve ark., 2011). *V. vinifera* türüne giren üzüm çeşitleri bu hastalığa karşı hassas olup (Gadoury ve ark., 2003), hassasiyet çeşitler arasında değişmektedir (Doster ve Schnathorst, 1985). Uygun hava koşullarının olduğu mevsimlerde veya sınırlı kontrol önlemleri uygulandığında, hastalık duyarlı çeşitler üzerinde şiddetli bir etki göstererek verim ve meyve kalitesinin düşmesine neden olabilmektedir (Halleen ve Holz, 2001). Asmanın vegetasyon periyodu içerisinde, külleme ile mücadelede çok yoğun miktarlarda fungusit uygulanmaktadır. Yoğun pestisit kullanımı hem insan hem de çevre sağlığını olumsuz etkilemekte ve aynı zamanda ciddi maliyetlere sebep olmaktadır (Belpoggi ve ark., 2006; Komárek ve ark., 2010; Pandey ve ark., 2020). Buna paralel olarak, hükümetler ve tüketiciler, azaltılmış pestisit uygulamaları da dahil olmak üzere daha sürdürülebilir üretim yöntemleri talep etmektedirler (Dumitriu ve ark., 2021). Bu nedenle omca verimini, meyve ve şarap kalitesini koruyan ve sürdürülebilir bağcılık için küllemeye karşı genetik olarak dirençli yeni üzüm çeşitlerinin geliştirilmesine yönelik ıslah çalışmaları başlatılmıştır (Einset ve Pratt 1975; Galet, 1998). ıslah çalışmaları 1870'lerin sonlarından itibaren başta filoksera olmak üzere, külleme ve mildiyö gibi hastalıklara dirençli çeşit geliştirilmesine yönelik olarak klasik melezleme ıslahı ile başlamıştır (Galet, 1998). Bu yöntemde amaca uygun seçilen ebeveynler ile genetik varyasyon meydana getirilmekte ve elde edilen genotipler arasından seçim yapılmaktadır (Alleweldt ve Possingham, 1988).

Klasik melezleme ıslahı ile birlikte ilerleyen yıllarda Marköre Dayalı Seleksiyon yöntemleri (MAS) kullanılmaya başlanmıştır (Michelmor ve ark., 1991; Pauquet ve ark., 2001; Zyprian ve ark., 2002; Grando ve ark., 2003; Marino ve ark., 2003). MAS uygulaması ile moleküler belirteçler kullanılarak genetik kaynakların genotiplendirilmesi ve optimize edilmiş melez kombinasyonlarının tanımlanması yapılmaktadır. Böylelikle ıslah süresinde 5-10 yıl gibi bir zaman tasarrufu sağlanmaktadır (Eibach ve Töpfer, 2015; Di Gaspero ve Foria, 2015). MAS tekniklerindeki ilerlemeler sayesinde örneğin, külleme direnci ile ilişkili bazı önemli özellikler için Kantitatif Özellik Lokusu (QTL) tanımlanmıştır (Fischer ve ark., 2004; Riaz ve ark., 2011; Pap ve ark., 2016). *Vitis* türlerinde direnç lokusları *Run* ve *Ren* olarak adlandırılan iki ana genden oluşmakta olup bu genler küllemeye karşı direnç sağlamaktadırlar (Agurto ve ark., 2107). Şimdiye kadar *Run* grubundan 5, *Ren* grubundan da 12 adet direnç geni tespit edilmiştir (SosaZuniga ve ark., 2022). Geçmişten günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucu küllemeye dirençli birçok çeşit geliştirilmiş olup bu çeşitlerden bazıları *Vitis* Uluslararası Çeşit Kataloğu (*Vitis* International Variety Catalogue) <https://www.vivc.de/> de yayınlanmıştır. Asma ıslahı günümüzde külleme dahil olmak üzere farklı direnç programları ile devam etmektedir (Burger ve ark., 2009; Eibach ve Töpfer, 2015; Di Gaspero ve Foria, 2015). Bu çalışmalarda dirençli çeşit ve genotiplerin erken dönemde belirlenmesi için çeşitli markörler kullanılmaktadır (Dalbó ve ark., 2001; Pauquet ve ark., 2001; Riaz ve ark., 2011; Vezzulli ve ark., 2019). Bu markörler yardımı ile külleme gibi hastalıklara dirençli tür ve çeşitlerin genetik testlemeleri yapılmış ve bu testlemelerde dirençle ilişkili genler ve allel büyüklükleri belirlenmiştir (Fischer ve ark., 2004; Monteiro ve ark., 2013; Zyprian ve ark., 2016; Shidfar ve ark., 2019; Yıldırım ve ark., 2019; Akkurt ve ark., 2022). Belirlenen bu lokuslar küllemeye dirençli çeşitlerin erken safhada belirlenmesine yardımcı olması bakımından önem arz etmektedir.

Bu çalışmada külleme skorlamaları sonucu, külleme enfeksiyonu düşük olan 72 adet genotipin MAS yöntemiyle küllemeye dayanıklılıkla ilişkili markörler ile ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışma materyalini ana ebeveyn olarak Narince üzüm çeşidi, baba ebeveynler olarak; Isabella, Regent ve Kishmish Vatkana üzüm çeşitlerinin kullanıldığı ve 2019 yılında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesinde başlatılan bir ıslah programı sonucunda elde edilen genotipler oluşturmaktadır. Bu genotipler 6 adet Narince × Kishmish Vatkana (NKV) melezi ile 66 adet Narince × Regent (NRG) melezinden oluşmaktadır.

Metot

Genotipler; *Ren1*, *Ren3* ve *Ren9* lokusları yönünden MAS yöntemiyle küllemeye dayanıklılıkla ilişkili markörler ile taranmıştır. PCR amplifikasyon ürünleri agaroz jel üzerinde görüntülenerek, örnekler bant var (+) bant yok (-) olarak incelenmiştir.

DNA izolasyonu

Genotiplerin sürgün uçlarındaki genç yapraklarından ortalama 150 mg doku alınarak steril ependorf tüplere aktarılmıştır. Daha sonra örnekler havanda ezilip ependorf tüplere konulmuştur. DNA izolasyonunda Piccolo ve ark. (2012) ile Alfonzo ve ark. (2012)'nin protokollerinden yararlanılmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Yaprak örnekleri alınan genotiplerin külleme hastalığına dirençli olup olmadıklarını belirlemek için, *Ren1*, *Ren3* ve *Ren9* olmak üzere üç lokus bölgesi seçilmiştir. Her bir lokus için kullanılan primerlere yönelik bilgiler Çizelge 1’de verilmiştir. Tüm PCR reaksiyonları 25 µl son hacimde hazırlanmıştır. 25 µl’lik reaksiyon hacminin içeriği: 0.125 U Taq DNA polimeraz (Fermentas), 2.5 µl 10 x Taq Buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8.8, 500 mM KCl and 0.8% Nonidet P-40), 10 pmol’lük (Macrogen) F ve R primerlerinden birer µl, 2.5 mM’lık dNTP (MBI Fermentas) 2.5 µl, 25 mM MgCl₂’den 2.5 µl, 1 µl 100-500 ng kalıp DNA eklenip 25 µl son hacim ddH₂O ile tamamlanmıştır. Her bir PCR reaksiyonunda, PCR çalışması yapılacak örneklerle beraber Regent ve Kishmish Vatkana çeşitleri Pozitif Kontrol (PK) olarak kullanılmıştır. Ayrıca bu her bir reaksiyonda kalıp DNA’nın olmadığı Negatif Kontrol (NK) olarak tanımlanan PCR mixi de kontaminasyon kontrolünde kullanılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan primerler ve özellikleri.

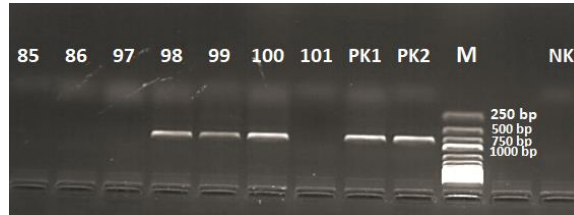
Lokus	Primer	Forward / Reverse primer	Referans
<i>Ren9</i>	CenGen6F	TGAATTTTGTCTTTAGGATTTGGA	Van Heerden ve ark., 2014
	CenGen6R	CACAAGAACAATTTCTACGCACA	
<i>Ren3</i>	ScORA7-760F	GAAACGGGTGTGAGGCAAAGGTGG	Akkurt ve ark., 2007
	ScORA7-760R	GGCCATTAGGAAATCAACATTAC	
<i>Ren1</i>	GF13-13F	GTGCATCTTCTTCTCCAACC	Pozharskiy ve ark., 2020
	GF13-13R	GCATTTGTCAAAGTCGTACTTC	

PCR aşamaları ve koşulları

PCR çalışması Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, İleri Teknoloji ve Uygulama Merkezi NGS laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, BIO RAD T100 Thermal Cycler marka ve model cihaz kullanılmıştır. PCR çalışması sonucu elde edilen ürünler %1’lik agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür. Yürütülen bu jelin görüntülenmesi aşamasında; belirlenen baz uzunluklarında amplifiye olduklarını kontrol etmek ve PCR örneklerinin dirençli olup olmadığını tespiti yapılmıştır (Çizelge 2, Şekil 1).

Çizelge 2. PCR aşamaları, koşulları ve döngü sayısı.

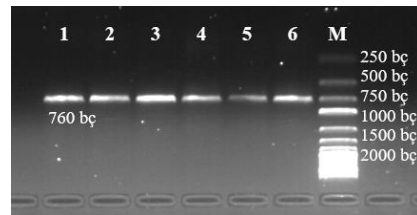
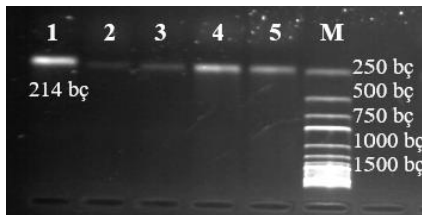
PCR aşamaları	PCR koşulları	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95 °C’de 7 dakika	30 döngü
Denatürasyon aşaması	94 °C’de 30 saniye	
Bağlanma aşaması	Primere özgü sıcaklığında (TA) 45 saniye	
Uzama aşaması	72 °C’de 30 saniye	
Son uzama aşaması	72 °C’de 5 dakika	

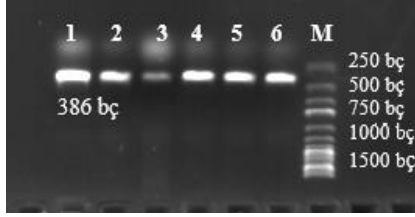


Şekil 1. *Ren3* lokusunun %1’lik agaroz jelde görüntüsü.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Marköre dayalı seleksiyon yöntemi ile genotipler; *Ren1*, *Ren3* ve *Ren9* lokusları bakımından PCR ile incelenmiştir. *Ren1*, *Ren3* ve *Ren9* lokuslarına özgü primerler ile yapılan PCR sonrasında *Ren1* geni için; 214 bç (bp) (Şekil 2), *Ren3* geni için; 760 bç (bp) (Şekil 3) ve *Ren9* geni için; 386 bç (bp)’lik PCR ürünü elde edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 2. *Ren1* lokusuna ait PCR görüntüsü.Şekil 3. *Ren3* lokusuna ait PCR görüntüsü.Şekil 4. *Ren9* lokusuna ait PCR görüntüsü.

GF13-13F ve GF13-13R markörleri kullanılarak külleme direnci lokusu *Ren1* geni için; 36 adet genotip, ScORA7-760F ve ScORA7-760R markörlerinin kullanıldığı *Ren3* lokusu için; 38 genotip ve CenGen6F ile CenGen6R markörlerinin kullanıldığı *Ren9* lokusu için; 40 genotip bant (+) vermiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Genotiplerde *Ren1*, *Ren3* ve *Ren9* lokuslarının dağılımı.

Sıra no	Genotip	<i>Ren1</i>	<i>Ren3</i>	<i>Ren9</i>	Sıra no	Genotip	<i>Ren1</i>	<i>Ren3</i>	<i>Ren9</i>
1	NKV-10	+	+	+	37	NRG-104	+	+	-
2	NRG-64	+	+	+	38	NRG-137	+	+	-
3	NRG-66	+	+	+	39	NRG-161	+	+	-
4	NRG-75	+	+	+	40	NRG-176	+	+	-
5	NRG-146	+	+	+	41	NRG-198	+	+	-
6	NRG-195	+	+	+	42	NRG-199	+	+	-
7	NRG-147	+	+	+	43	NRG-200	+	+	-
8	NRG-164	+	+	+	44	NRG-201	+	+	-
9	NRG-179	+	+	+	45	NRG-219	+	+	-
10	NRG-181	+	+	+	46	NRG-93	+	-	+
11	NKV-4	+	-	-	47	NKV-8	+	-	+
12	NRG-13	+	-	-	48	NKV-16	+	-	+
13	NRG-65	+	-	-	49	NRG-28	+	-	+
14	NRG-193	+	-	-	50	NRG-33	+	-	+
15	NRG-217	+	-	-	51	NRG-61	+	-	+
16	NRG-4	-	+	-	52	NRG-85	+	-	+
17	NRG-5	-	+	-	53	NRG-109	+	-	+
18	NRG-25	-	+	-	54	NRG-110	+	-	+
19	NRG-88	-	+	-	55	NRG-197	+	-	+
20	NRG-89	-	+	-	56	NRG-7	-	+	+
21	NRG-170	-	+	-	57	NRG-67	-	+	+
22	NRG-211	-	+	-	58	NRG-68	-	+	+
23	NRG-213	-	+	-	59	NRG-80	-	+	+
24	NKV-17	-	-	+	60	NRG-120	-	+	+
25	NRG-9	-	-	+	61	NRG-167	-	+	+
26	NRG-60	-	-	+	62	NRG-175	-	+	+
27	NRG-62	-	-	+	63	NRG-178	-	+	+
28	NRG-63	-	-	+	64	NRG-102	-	+	+
29	NRG-115	-	-	+	65	NKV-1	-	-	-
30	NRG-128	-	-	+	66	NRG-2	-	-	-
31	NRG-162	-	-	+	67	NRG-94	-	-	-
32	NRG-183	-	-	+	68	NRG-98	-	-	-
33	NRG-165	-	-	+	69	NRG-174	-	-	-
34	NRG-196	-	-	+	70	NRG-177	-	-	-
35	NRG-12	+	+	-	71	NRG-182	-	-	-
36	NRG-92	+	+	-	72	NRG-218	-	-	-

Lokusların dağılımı genotipler arasında değişkenlik göstermiştir. Şöyleki; NKV-10, NRG-64, NRG-66, NRG-75, NRG-146, NRG-195, NRG-147, NRG-164, NRG-179 ve NRG-181 genotipleri her üç lokus bakımından bant (+) vermiştir. NKV-4, NRG-13, NRG-65, NRG-193 ve NRG-217 genotipleri sadece *Ren1*, NRG-4, NRG-5, NRG-25,

NRG-88, NRG-89, NRG-170, NRG-211 ve NRG-213 sadece *Ren3*, NKV-17, NRG-9, NRG-60, NRG-62, NRG-63, NRG-115, NRG-128, NRG-162, NRG-183, NRG-165 ve NRG-196 genotipleri ise sadece *Ren9* lokusu için bant (+) vermişlerdir. NRG-12, NRG-92, NRG-104, NRG-137, NRG-161, NRG-176, NRG-198, NRG-199, NRG-200, NRG-201 ve NRG-219 genotipleri *Ren1* ve *Ren3*, NRG-93, NKV-8, NKV-16, NRG-28, NRG-33, NRG-61, NRG-85, NRG-109, NRG-110, NRG-197 genotipleri *Ren1* ve *Ren9*, NRG-7, NRG-67, NRG-68, NRG-80, NRG-120, NRG-167, NRG-175, NRG-178 ve NRG-102 genotipleri *Ren3* ve *Ren9* lokusları için bant (+) vermişlerdir. NKV-1, NRG-2, NRG-94, NRG-98, NRG-174, NRG-177, NRG-182, NRG-218 genotipleri ise herhangi bir lokus bakımından bant (-) vermemiştir (Çizelge 3).

Riaz ve ark., (2013), Özbekistan Muscat, Rizamat ve Katta-Kurgan çeşitlerinde 249 bp (sc47-18) ile 260 bp (VMCNg4e10.1) allel büyüklüklerini *Ren1* direnci ile ilişkili olarak tespit etmişlerdir. Pozharskiy ve ark., (2020), Alma-Ata çeşidi ve ebveyi Rizamat ile Muskat uzbekistansky çeşitlerinde 283 bp allel büyüklüğünü *Ren1* için dirençle ilişkili olarak belirlemiş, fakat çeşitlerde külleme enfeksiyonunun yüksek olmasından dolayı bu çeşitlerin dirençli olarak derecelendirilmediğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar Kazakistan çeşitlerinden olan Kyzyl tan, Kara koz, Muskat kazakhstankyi ve Aisulu çeşitlerinin külleme karşı hassas olduklarını ve *Ren1* için 214 bp'lik bir allel büyüklüğüne sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Çalışmada *Ren1* için tespit edilen 214 bp'lik allel büyüklüğü Pozharskiy ve ark., (2020)'ın bulguları ile kısmen benzerlik göstermektedir. Nitekim, *Ren1* lokusu için bant (+) veren NRG-193 külleme skorlamalarında ilk yıl hassas (S), 2'nci yıl ise dirençli olarak tespit edilirken, NRG-217, NRG-13 ve NKV-4 genotipleri her iki yılda da hassas (S) ve oldukça hassas (HS) gruplarda yer almışlardır. Benzer farklılıklar diğer bazı genotiplerde de tespit edilmiştir (Bozkurt, 2023).

İncelenen genotipler *Ren3* için 760 bp'lik bir amplifikasyon ürünü bant (+) vermiştir. Akkurt ve ark., (2007), ScORA7-760 ve ScORN3-R markörlerinin ağırlıklı olarak dirençli bireylerde amplifikasyon ürünleri ürettiğini ve hastalık direnci ile ilişkili olduklarını bildirmişlerdir. MAS'da özellikle ScORA7-760 markörünün çeşit veya genotiplerde külleme direnci ile ilgili gen piramitlemesini kolaylaştırarak için kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

Shidfar ve ark., (2019), Regent × Boğazkere kombinasyonundan elde ettikleri melezleri külleme ve mildiyöye direnç yönünden testledikleri çalışmada, *Ren3* lokusu için ScORA7-760 markörünü kullanmışlardır. Yapılan çalışmada 169 genotip içerisinde 54'nün *Ren3* lokusu için, 760 bp'lik bir allel boyutu gösterdiklerinden dolayı külleme karşı dirençli aday genotipler olarak seçildiklerini bildirmişlerdir.

Ren3 için 760 bp'lik bant (+) veren NRG-170, NRG-4, , NRG-199, NRG-179, NRG-198, ve NRG-201 genotipleri külleme skorlamaları sonuçlarında ilk yıl dirençli (R) ve oldukça dirençli (HR) grup arasında yer alırken, 2'nci yılındaki külleme skorlamalarında 7'nci haftadan sonra hassas olarak tespit edilmişlerdir. Yıldırım ve ark., (2019), *Ren3* lokusu için kullandıkları SCORA7 marköründen elde ettikleri sonuçlarda dirençle ilişkili 760 bp'lik fragmanın, Sugrate, Regent ve Phoenix çeşitleri dahil 10 çeşitte tespit edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada 360 bp'lik bant veren bazı genotiplerin, külleme skorlama sonuçlarında duyarlı olarak belirlendikleri rapor edilmiştir. Benzer bulgular yapılan bu çalışmada da tespit edilmiştir. *Ren3* lokusu için kullanılan ScORA7 markörü, incelenen genotiplerin tümünde 760 bp'lik allel büyüklüğü bant (+) vermiştir. Halbuki sera koşullarında 2 yıl boyunca yapılan suni inokulasyon sonuçları ile laboratuvar koşullarında elde edilen külleme skorlama sonuçları direnç yönünden bu genotiplerin tamamını teyit etmemiştir (Bozkurt, 2023).

Ren9 lokusu için incelenen genotiplerin tümü 386 bp'lik amplifikasyon ürünü bant (+) vermiştir. Bant (+) veren genotiplerden NRG-7, NRG-196, NRG-183 ve NRG-197 genotipleri sera koşullarında yapılan külleme skorlama sonuçlarında dirençli (R) olarak tespit edilmişlerdir. Diğer genotiplerin külleme skorlama sonuçları yıllara göre farklılıklar göstermiştir (Bozkurt, 2023). Makarkina ve ark., (2021), direnç lokusları *Ren3* ve *Ren9*'un varlığını belirlemek için yaptıkları çalışmada, 18'i çekirdeksiz olmak üzere 25 adet üzüm çeşidini incelemişlerdir. *Ren9* lokusu için CenGen6 markörü kullanıldığı çalışmada, 287 bp'lik allel büyüklüğü tespit edilerek bu çeşitlerin dirençli oldukları bildirilmiştir.

MAS; ekonomik, zaman kazandıran ve dirençli genotiplerin seçimi için yararlıdır. Fakat bağda doğal enfeksiyonların gözlemlenmesi, bitki fenotipinin güvenilir ve eksiksiz bir şekilde değerlendirilmesi dayanıklılık ıslah çalışmalarında dikkate alınmalıdır. Dirençli üzüm çeşitlerinin arazi koşullarındaki davranışlarına ilişkin görsel verilerin ıslah programlarını destekleyebileceğini göz önünde bulundurmak gerekir. Nitekim, bu bulgular çeşitlerin genel ve organa özgü direnç seviyesini açıklayan hastalık yönetimi stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır (Salotti ve ark., 2022).

SONUÇ ve ÖNERİLER


Sonuç olarak, NRG-7, NRG-146, NRG-183, NRG-195, NRG-196 ile NRG-197, ve NRG-200 genotiplerinin bant (+) görüntü sonuçları ile külleme skorlamaları sonuçları (Bozkurt, 2023) uyumlu olarak tespit edilmiştir. NKV-10, NRG-64, NRG-66, NRG-75, NRG-147, NRG-164 ve NRG-181 genotipleri her üç direnç lokusu bakımından bant (+) vermiş, fakat külleme skorlamaları her iki yılda farklılık göstermiştir. NRG-174 genotipi bant (-) göstermemiş, fakat külleme skorlamalarında dirençli olarak tespit edilmiştir. Bu genotiplerin külleme duyarlılık durumlarının moleküler düzeyde özellikle gen ifadesine göre daha detaylı incelenmesi gereklidir. Ayrıca külleme dayanıklılıkla ilişkilendirilen farklı gen kombinasyonlarından hangilerinin tek veya birlikte külleme karşı daha dayanıklılık sağladığına yönelik çalışmaların yapılması faydalı olacaktır.

Teşekkür: Bu çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu Başkanlığı tarafından 2022/09 nolu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Makalenin hazırlanmasında yazarlar aynı düzeyde katkı sağlamıştır.

YAZAR ORCID NUMARALARI

Abdurrahim BOZKURT  <http://orcid.org/0000-0001-7315-202X>

Adem YAĞCI  <http://orcid.org/0000-0002-3650-4679>

KAYNAKLAR

- Agurto, M., Schlechter, R.O., Armijo, G., Solano, E., Serrano, C., Contreras, R.A., Zúñiga, G.E., Arce-Johnson, P. 2017. RUN1 and REN1 pyramiding in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Crimson Seedless) displays an improved defense response leading to enhanced resistance to powdery mildew (*Erysiphe necator*). *Front. Plant Sci.* 8: 758.
- Akkurt, M., Şenses, İ., Aktürk, B., Tozlu, İ., Özer, N., & Uzun, H. 2022. Marker assisted selection (MAS) for downy mildew resistance in grapevines using Rpv3. 1 associated markers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50: 1.
- Akkurt, M., Welter, L., Maul, E., Töpfer, R., Zyprian, E. 2007. Development of SCAR markers linked to powdery mildew (*Uncinula necator*) resistance in grapevine (*Vitis vinifera* L. and *Vitis sp.*). *Molecular Breeding*, 19 (2), 103-111.
- Alfonzo, A., Lo Piccolo, S., Conigliaro, G., Ventrino, V., Burruano, S., & Moschetti, G. 2012. Antifungal peptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* AG1 active against grapevine fungal pathogens. *Annals of Microbiology*, 62 (4), 1593-1599.
- Alleweldt, G., & Posingham, J. V. 1988. Progress in grapevine breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 75, 669-673.
- Belpoggi, F., Soffritti, M., Guarino, M., Lambertini, L., Cevolani, D., Maltoni, C. 2006. Results of Long-Term Experimental Studies on the Carcinogenicity of Ethylene-Bis-Dithiocarbamate (Mancozeb) in Rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 982: 123-136.
- Bozkurt, 2023. Sarmalık yaprak üretimine yönelik külleme toleranslı yeni üzüm çeşitlerinin geliştirilmesi (Doktora Tezi), Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı, Bağ Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı, Tokat.
- Burger, P., Bouquet, A., Striem, M. J. 2009. Grape breeding. *Breeding plantation tree crops: Tropical species*, 161-189.
- Dalbó, M.A., Ye, G.N., Weeden, N.F., Wilcox, W.F., Reisch, B.I. 2001. Marker-assisted selection for powdery mildew resistance in grapes. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 12:, 83-89.
- Di Gaspero, G., Foria, S. 2015. Molecular grapevine breeding techniques. In *Grapevine breeding programs for the wine industry*. Woodhead Publishing, 23-37.
- Doster, M. A., & Schnathorst, W. C. 1985. Comparative susceptibility of various grapevine cultivars to the powdery mildew fungus *Uncinula necator*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36 (2), 101-104.

- Dumitriu, G.-D.; Teodosiu, C.; Cotea, V.V. 2021. Management of pesticides from vineyard to wines: Focus on wine safety and pesticides removal by emerging technologies. In *Grapes and Wine*; IntechOpen: London, UK, pp. 1-27.
- Eibach, R., Töpfer, R. 2015. Traditional grapevine breeding techniques. In *Grapevine breeding programs for the wine industry*. Woodhead Publishing, 3-22.
- Einset, J. and Pratt, C. 1975. Grapes. In: *Advances in Fruit Breeding*. J. Janick and J. N. Moore (Eds.), Purdue University Press, West Lafayette, Indiana, pp. 130-153.
- Feechan, A.; Kabbara, S. 2011. Dry, I.B. Mechanisms of powdery mildew resistance in the Vitaceae family. *Mol. Plant Pathol.*, 12: 263-274.
- Fischer, B.M., Salakhutdinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K.J., Töpfer, R., Zyprian, E.M. 2004. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 108: 501-515.
- Gadoury, D.M.; Seem, R.C.; Ficke, A.; Wilcox, W.F. 2003. Ontogenic resistance to powdery mildew in grape berries. *Phytopathology*, 93: 547-555.
- Galet, P. 1998. *Grape Varieties and Rootstock Varieties*. Oenopluromedia, Chaintré, France.
- Grando, M.S., Bellin, D., Edwards, K.J., Pozzi, C., Stefanini, M., and Velasco, R. 2003. Molecular linkage maps of *Vitis vinifera* L. and *Vitis riparia* Michx. *Theor. Appl. Genet.* 106: 1213-1224.
- Halleen, F., Holz, G., 2001. An overview of the biology, epidemiology and control of *Uncinula necator* (powdery mildew) on grapevine, with reference to South Africa. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 22: 111-121.
- Komárek, M., Čádková, E., Chrástný, V., Bordas, F., Bollinger, J.C. 2010. Contamination of vineyard Soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects. *Environ. Int.*, 36: 138-151.
- Marino, R., Sevini, F., Madini, A., Vecchione, A., Pertot, I., Serra, A.D., Versini, G., Velasco, R., and Grando, M.S. 2003. QTL mapping for disease resistance and fruit quality in grape. *Acta Hortic*, 603: 527-533.
- Michelmore, R.W., I. Paran, and R.V. Kesseli. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 9828-9832.
- Monteiro, F., Sebastiana, M., Pais, M. S., & Figueiredo, A. 2013. Reference gene selection and validation for the early responses to downy mildew infection in susceptible and resistant *Vitis vinifera* cultivars. *PLoS one*, 8 (9), e72998.
- Pandey, A., Jaiswar, S., Ansari, N.; Deo, S., Sankhwar, P., Pant, S., Upadhyay, S. 2020. Pesticide risk and recurrent pregnancy loss in Females of subhumid region of India. *Niger Med. J.*, 61: 55.
- Pap, D., Riaz, S., Dry, I.B., Jermakow, A., Tenschler, A.C., Cantu, D., Oláh, R., Walker, M.A. 2016. Identification of two novel powdery mildew resistance loci, Ren6 and Ren7, from the wild Chinese grape species *Vitis piasezkii*. *BMC Plant Biol.*, 16: 170.
- Pauquet, J., Bouquet, A., This, P., and Adam-Blondon, A.F. 2001. Establishment of a local map of AFLP markers around the powdery mildew resistance gene Run1 in grapevine and assessment of their usefulness for marker assisted selection. *Theor. Appl. Genet.* 103: 1201-1210.
- Pearson, R.C. and Gadoury, D.M. 1992. Grape powdery mildew. In: *Plant Diseases of International Importance*, Vol. III. Diseases of Fruit Crops (J. Kumar, H.S. Chaube, U.S. Singh and A.N. Mukhopadhyay, eds), pp. 129–146. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
- Piccolo SL, Alfonzo A, Conigliaro G, Moschetti G, Burrano S, Barone A. 2012. A simple and rapid DNA extraction method from leaves of grapevine suitable for polymerase chain reaction analysis. *Afr J Biotechnol* 11 (45), 10305-10309.
- Pozharskiy, A. S., Aubakirova, K. P., Gritsenko, D. A., Tlevlesov, N. I., Karimov, N. Z., Galiakparov, N. N., Ryabushkina, N. A. 2020. Genotyping and morphometric analysis of Kazakhstani grapevine cultivars versus Asian and European cultivars. *Genetics and Molecular Research*, 19 (1), 18482-18482.
- Riaz, S., Boursiquot, J.M., Dangl, G.S., Lacombe, T., et al., 2013. Identification of mildew resistance in wild and cultivated Central Asian grape germplasm. *BMC Plant Biol.* 13: 149.
- Riaz, S.; Tenschler, 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.
- Salotti, I., Bove, F., & Rossi, V. 2022. Field evaluation of grapevines resistant to downy and powdery mildews. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 50, p. 02003). EDP Sciences.
- Shidfar, M. 2014. Moleküler Markörlerin Bağlılıkta Külleme ve Mildiyö Hastalıklarına Dayanıklı Çeşit Islahında, Marköre Dayalı Seleksiyon (Marker Assisted Selection-Mas) Amaçlı Kullanılması (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.

- Sosa-Zuniga, V., Vidal Valenzuela, Á., Barba, P., Espinoza Cancino, C., Romero-Romero, J. L., Arce-Johnson, P. 2022. Powdery mildew resistance genes in vines: An opportunity to achieve a more sustainable viticulture. *Pathogens*, 11 (6), 703.
- Vezzulli, S., Dolzani, C., Nicolini, D., Bettinelli, P., Migliaro, D., Gratl, V., Stedile, T., Zatelli, A., Dallaserra, M., Clementi, S., ve ark. 2019. Marker-assisted breeding for downy mildew, powdery mildew and phylloxera resistance at FEM. *BIO Web Conf.*, 13, 01002.
- Vitis International Variety Catalogue. <https://www.vivc.de/>
- Yıldırım, Z., Atak, A., Akkurt, M. 2019. Determination of downy and powdery mildew resistance of some *Vitis* spp. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 34 (1), 15-24.
- Zyprian, E., Ochßner, I., Schwander, F., Šimon, S., Hausmann, L., Bonow-Rex, M., ... & Töpfer, R. 2016. Quantitative trait loci affecting pathogen resistance and ripening of grapevines. *Molecular Genetics and Genomics*, 291 (4), 1573-1594.
- Zyprian, E.; Eibach, R.; Töpfer, R.; 2002: Comparative Molecular Mapping of Fungal Disease Resistance Factors in Segregating Populations of Grapevine, 73-78. *Proc. VIIIth Int. Conf. Grape Genet. Breed.*, Kecskemét, Hungary.