

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



ASMADA (*Vitis vinifera* L.) SSR MARKÖRLERİ KULLANARAK *Botrytis cinerea*'YA DAYANIKLIK GENLERİNİN KANTİTATİF ÖZELLİK LOKUS (QTL) HARİTALAMASI

Ayfer DALDAL

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OCAK 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



ASMADA (*Vitis vinifera* L.) SSR MARKÖRLERİ KULLANARAK *Botrytis cinerea*'YA DAYANIKLIK GENLERİNİN KANTİTATİF ÖZELLİK LOKUS (QTL) HARİTALAMASI

Ayfer DALDAL

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OCAK 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASMADA (*Vitis vinifera* L.) SSR MARKÖRLERİ KULLANARAK *Botrytis cinerea*'YA DAYANIKLIK GENLERİNİN KANTİTATİF ÖZELLİK LOKUS (QTL) HARİTALAMASI

Ayfer DALDAL

BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez TUBİTAK COST tarafından 120073 nolu proje ile desteklenmiştir.

OCAK 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ASMADA (*Vitis vinifera* L.) SSR MARKÖRLERİ KULLANARAK *Botrytis cinerea*'YA DAYANIKLIK GENLERİNİN KANTİTATİF ÖZELLİK LOKUS
(QTL) HARİTALAMASI**

Ayfer DALDAL

BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 18/01/2023 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Halil İbrahim UZUN

Doç. Dr. İlknur POLAT (Danışman)

Dr. Öğr. Üye. İbrahim ÇELİK

ÖZET

ASMADA (*Vitis vinifera* L.) SSR MARKÖRLERİ KULLANARAK *Botrytis cinerea*'YA DAYANIKLIK GENLERİNİN KANTİTATİF ÖZELLİK LOKUS (QTL) HARİTALAMASI

AYFER DALDAL

Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İlknur POLAT

18 Ocak 2023; 90 sayfa

Üzüm (*Vitis vinifera* L.), ekonomik olarak sofralık, kurutmalık, şaraplık, meyve suyu ve pekmez gibi pek çok değerlendirme olanağına sahip bir meyvedir. Türkiye, sahip olduğu ekolojik koşullar nedeniyle bağcılığa çok uygundur ve üretimde dünyada 5. sırada yer almaktadır. Üzüm üretimini en fazla sınırlandıran fungal hastalıklar olup en önemli fungal hastalıklardan birisi kurşuni küf (*Botrytis cinerea*)'tür. Kurşuni küf ile mücadelede günümüzde birçok fungusit kullanılmakta olup, ancak patojenin bu fungusitlere karşı dayanıklılık oluşturması nedeniyle hastalıkla mücadele giderek zorlaşmaktadır. Bu nedenle dayanıklı çeşitler ile yetiştiricilik yapmak önemlidir ve ıslah programları oluşturulmalıdır. Bununla birlikte, ıslah programında kullanılabilecek kurşuni küf hastalığına dayanıklılıkla ilişkili markör henüz yoktur. Moleküler markörlerin en etkili kullanıldığı alan, karmaşık kalıtıma sahip olan birden çok gen tarafından idare edilen kantitatif karakterler lokuslarının (QTL) haritalanması olmuştur. Üzerinde çalışılan dayanıklılık lokuslarına bağlantılı moleküler markör veya markörler geliştirildiği zaman, ıslahın her aşamasında dayanıklı ve duyarlı bitkiler birbirlerinden hızlı ve güvenli şekilde ayrılabilir. Günümüze kadar asmada kurşuni küfe dayanımıyla ilgili genetik haritalama çalışması yapılmadığı gibi herhangi bir moleküler markör de geliştirilmemiştir.

Çalışmamızda Kyoho x Yalova İncisi melezlemeleri ile elde edilen F1 genotipler, haritalama popülasyonu olarak kullanılmıştır. Kurşuni küfe dayanıklılık amacıyla oluşturulan F1 popülasyona ait 97 genotip üzerinde, ebeveynler ile bireyler arasındaki genetik ilişkiyi araştırmak amacıyla 350 adet SSR markörü kullanılmıştır. Bu markörlerden 19 tanesi polimorfik, 313 tanesi monomorfik bulunurken, 18 tanesinden amplifikasyon sağlanamamıştır. Polimorfik olan 19 SSR primerinden, toplam 44 allel elde edildiği ve bu allelerin tamamının polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Markör başına düşen ortalama allel sayısı ve ortalama polimorfik allel sayısı iki olarak bulunmuştur. Polimorfizm oranı %100 ve PIC değeri 0,71'dir. Analizler sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve dendrogramlar elde edilmiştir. SSR

markör sisteminde oluşturulmuş dendogramda, popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta Yalova incisi (anne), ikinci grupta ise Kyoho (baba) yer almıştır. Elde edilen dendrogramda Dice (1945)'ın benzerlik katsayısına göre benzerlik oranları 0,38 ile 0,92 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,58 olarak bulunmuştur. Bu sonuçları Neighbor-Joining (komşu ilişkisi) yöntemiyle elde edilen dendogram ve PCO (temel koordinat analizi) sonucuda desteklemiştir. Yalova incisi (anne) ve Kyoho (baba) segregasyon gösteren Toplam 17 markör Kruskal-Wallis analizlerinde kullanılmış ve hastalık dayanımıyla anlamlı derecede ilişkili olan markörler belirlenmiştir ($p<0.05$). Sonuç olarak toplam dört markörün hastalık dayanımıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir. %20-24'lük etki derecesine sahip QTL'ler tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Botrytis cinerea*, Genetik haritalama, SSR, QTL

JÜRİ: Doç. Dr. İlknur POLAT

Prof. Dr. Halil İbrahim UZUN

Dr. Öğr. Üy. İbrahim ÇELİK

ABSTRACT

QUANTITATIVE TRAIT LOCUS (QTL) MAPPING OF RESISTANCE GENES TO *Botrytis cinerea* USING SSR MARKERS in GRAPE (*Vitis vinifera* L.)

AYFER DALDAL

MSc Thesis in Horticultural Department

Supervisor: Doç. Dr. İlknur POLAT

18 January 2023; 90 page

Grape (*Vitis vinifera* L.) is a fruit that has economically to assess many such as table grapes, dried, wine, fruit juice and molasses. Turkey is ranked 5 th in table grape production in the world due to very suitable ecological conditions for viticulture. One of the most important fungal problems that limit the production of grapes is gray mold (*Botrytis cinerea*). Today, many fungicides are used to management with *B. cinerea*, nowadays however; it is getting very difficult since it becomes resistance to fungicides. Therefore, it is important to breed with resistant varieties and breeding programs should be established. However, there is no marker associated with resistance to lead mold disease that can be used in the breeding program yet. The most efficient usage area of molecular markers identification of quantitative characters loci (QTL) which managed multiple genes with complex inheritance. When the molecular marker or markers linked to the studied resistance loci are developed, resistant and susceptible plants can be separated from each other quickly and safely at all stages of breeding. Until today , no genetic mapping studies have been carried out on the resistance to gray mold in grapes and no molecular markers have been developed.

In our study, F1 genotypes obtained from Kyoho X Yalova İncisi hybrids were used as the mapping population. 350 SSR marker were used to investigate the genetic relationship between parents and individuals on 99 genotypes of the F1 population established for resistance to the gray mold. Of the markers, 19 polymorphic, 313 monomorphic, while amplification could not be achieved from 18 of them. It was determined that a total of 44 alleles were obtained from 19 polymorphic SSR primers and all of these alleles were polymorphic. The average number of alleles per marker and the average number of polymorphic alleles were found to be two. The polymorphism rate of marker is 100% and the PIC value is 0.71. As a result of the analyses, clustering analyses were performed with the UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) method using the similarity index and dendograms were obtained. In the dendogram created in the SSR marker system, the population was divided into two different groups. Yalova pearl (mother) was in the first group and Kyoho (father) was in

the second group. According to the similarity coefficient of Dice (1945), the similarity ratios varied between 0.38 and 0.92, and the matrix correlation (r) was found to be 0.58. These results were supported by the dendrogram obtained by Neighbor-Joining method and PCO (principal coordinate analysis). A total of 17 markers showing Yalova pearl (mother) and Kyoho (father) segregation were used in Kruskal-Wallis analyses and the markers significantly associated with disease resistance were determined ($p < 0.05$). As a result, a total of four markers were found to be associated with disease resistance. QTLs with an effect level of 20-24% were identified.

KEYWORDS: *Botrytis cinerea*, Genetic Mapping, SSR, QTL

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. İlknur POLAT
Prof. Dr. Halil İbrahim UZUN
Asst. Prof. Dr. İbrahim ÇELİK

ÖNSÖZ

Dünya’da günümüze kadar asmada kurşuni küfe dayanıklılık ilgili QTL haritalama çalışmasına rastlanmamıştır. Üzümde bu hastalık etmenine dayanıklılığın moleküler genetik mekanizmaları bilinmemektedir. Özellikle bu hastalık etmeninde dayanıklılığın hangi genler ya da moleküler mekanizmalar tarafından sağlandığı bilinmemektedir. Bu çalışma ile üzümde kurşuni küfe dayanıklılıkla ilgili bilgiler elde edilmiştir. Bu bilgilerin ileride yapılacak olan ıslah çalışmalarına ve bilim dünyasına katkı sağlayacağı umut edilmektedir.

Yüksek lisans hayatım boyunca bağ yetiştirme ıslahı ve tarımsal biyoteknoloji alanında bilgi, öneri ve değerli katkılarıyla beni yönlendiren, tez çalışma süreci ve yazımında yardımını esirgemeyen, tezimin her aşamasında sabırla bana yol gösteren ve yardımcı olan, akademik hayatı ve insan ilişkileriyle örnek aldığım çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. İlknur POLAT’a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, tezimin savunulmasındaki katkılarından dolayı değerli jüri üyeleri Sayın hocam Prof. Dr. Halil İbrahim UZUN’a ve Sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi İbrahim ÇELİK’e teşekkürlerimi borç bilirim.

Yüksek Lisans’a başlamamda öncü olan, lisans hayatımda her konuda beni destekleyen, azimle çalışmamı ve gelişmemi sağlayan, bilgi ve deneyimlerinden yararlanma şansı edindiğim Değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ersin POLAT’a teşekkürlerimi sunarım. Tezimin bazı uygulamalarını gerçekleştirdiğim BATEM’de, bana her zaman her konuda yardımcı olan çok Değerli hocam Görkem SÜLÜ’ye teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans hayatım boyunca gerek laboratuvar gerek arazi çalışmalarında her zaman yanımda olan canım arkadaşlarım meslektaşlarım Raziye Selin SOYTÜRK’e ve Selahattin UGRAL’a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca hayallerimi gerçekleştirmemde hep bana destek olan, başarılarımla gurur duyan, hergün kızları olmaktan dolayı şükrettiğim canım babam Osman DALDAL ve canım annem Asiye DALDAL’a teşekkürlerimi sunarım. Akademik hayatımda beni hep destekleyen, daha iyisini yapabileceğime benden çok inanan canım ablalarım Rahime DALDAL TOPRAK’a ve Feride DALDAL TURAN’a teşekkürlerimi sunarım. Her koşulda beni yüreklendiren canım kardeşlerim Sadiye DALDAL, Hüseyin DALDAL’a ve Müşra DALDAL’a teşekkür ederim.

Bu tez TÜBİTAK COST tarafından 120O73 nolu proje ile desteklenmiştir, bu nedenle TÜBİTAK’a da teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	13
2. KAYNAK TARAMASI	17
2.1. Dünya’da ve Türkiye’de Bağcılık.....	17
2.2. Bağcılıkta kurşuni küf (<i>botrytis cinerea</i>) hastalığı.....	18
2.3. Genetik Haritalama	19
2.4. Kantitatif Karakter Lokusu (QTL)	20
2.5. Asmada QTL ve Genetik Haritalama.....	21
3. MATERYAL VE METOD	27
3.1. MATERYAL	27
3.2. METOT	27
3.2.1. Haritalama Populasyonunun Oluşturulması.....	27
3.2.2. QTL Haritalama Çalışmaları.....	30
3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu	30
3.2.2.2. SSR Analizleri.....	32
3.2.2.3. Kurşuni Küf (<i>Botrytis cinerea</i>) ile ilişkili QTL belirleme	44
3.2.2.4. Kantitatif Karakter Lokusu (QTL) Analizleri.....	44
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	46
4.1. Haritalama Popülasyonunun <i>Botrytis cinerea</i> ’ya Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi	46
4.2. Haritalama Popülasyonunun SSR Markörle Taranması	50
4.3. QTL Haritalama Analizleri	74
4.3.1. Kruskal-Wallis Analizi.....	74
5. SONUÇLAR	78

6. KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Asmada (*Vitis vinifera* L.) SSR Markörleri Kullanarak *Botrytis cinerea*'ya Dayanıklılık Genlerinin Kantitatif Özellik Lokus (QTL) Haritalaması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

18/01/2023

Ayfer DALDAL

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Bp : Base pair

cM : Cantimorgan

dk : Dakika

ddH₂O : Distile-Deiyonize Su

gr : Gram

g : Rölatif santrifüj kuvveti

ml : Mililitre

mM : Milimolar

ng : Nanogram

sn : Saniye

μl : Mikrolitre

°C : Santigrad Derece

Σ : Toplam

% : Yüzde

Kısaltmalar

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism-Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi

BC : Backcross

CAPS : Cleaved Amplified Polymorphic

CTAB : Cetil Three Metil Amonyum Bromid

DH : Katlanmış Haploid

DNA : Deoksiribonükleik asit

EDTA : Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

HR : Çok Dayanıklı

HS : Çok Hassas

ISSR : Inter Simple Sequence Repeat-Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm

NIL : Yakın İzogenik Hatlar

OTL : Quantitative Trait Locus

PCA : Ebevyenler ve bireyler arası ilişkiyi gösteren temel koordinat analizi

PCR : Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCO : Ebevyenler ve bireyler arası ilişkiyi gösteren temel koordinat analizi

R : Dayanıklı

RAPD : Randomly Amplified Polymorphic DNA-Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism-Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi

RIL : Recombinant Inbred Lines

S : Hassas

SSR : Simple Sequence Repeat-Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatelitler

SCAR : Sequence Characterized Amplified Regions

SRAP : Sequence Related Amplified Polymorphism-Sekansa Bağlı Çoğaltılmış Polimorfizm

TRAP : Telomeric Repeat Amplification Protocol

TAE : Tris-Acetate

UPGMA: Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average

UV : Ultraviole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. (a) <i>B. Cinerea</i> izolatu (b)-(c) <i>B. cinerea</i> izolatu enjekte edilmiş yapraklar.....	28
Şekil 3.2. (a) Tissue Lyser II (Qiagen) kullanılarak örneklerin ezilmesi; (b) Örneklerin inkübe edilmesi; (c) Üzerine eşit hacimde (650 µl) 24: 1 oranında hazırlanmış olan kloroform: isonoml alkol'den eklenmesi; (d) 500 µl supernatant alınıp ve yeni tüpe aktarılması (e) Peletin 50 µl 20 mM Tris HCL (ph:8) solüsyonu ile çözündürülmesi.....	31
Şekil 3.3. Bazı genotiplerden edilen DNA'ların jel üzerinde görünümü.....	32
Şekil 3.4. (a) PCR ürünü hazırlanması; (b) PCR örnekleri cihaza konulması; (c) Agarın hassas terazi ile ölçülmesi; (d) 195 ml saf su, 5 ml TAE Buffer ve 4gr agarın beherde karıştırılması; (e) Jelin mikrodalgada eritilmesi; (f) Jelin tepsiye dökülmesi; (g) PCR örneklerin kuyucuklara yerleştirilmesi; (h)PCR ürünlerin görüntülendiği ve fotoğraf çekildiği cihaz.....	43
Şekil 4.1. VMC2B3 SSR primerinin agaroz jel görüntüsü.....	70
Şekil 4.2. SSR markörü ile anne-baba ve F1 bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendogram.....	71
Şekil 4.3. SSR markörü ile anne-baba ve F1 bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram.....	72
Şekil 4.4. SSR markörü ile anne-baba ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren temel koordinat analizi (PCO) sonucu oluşan desen.....	73
Şekil 4.5. SSR markörü ile anne-baba ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren temel koordinat analizi (PCA) sonucu oluşan desen.....	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye’de 2012 – 2021 yılları arasındaki sofralık, kurutmalık ve şaraplık üzüm üretim alanları(ha).....	17
Çizelge 2.2. Türkiye’de 2012 – 2021 yılları arasındaki sofralık, kurutmalık ve şaraplık üzüm üretimi (ton).....	18
Çizelge 3.1. Değerlendirme skalası.....	29
Çizelge 3.2. Hastalık direnci seviyeleri.....	29
Çizelge 3.3. SSR primer kombinasyonları, baz dizilimleri, referans bilgileri.....	32
Çizelge 3.4. SSR analizleri için uygulanacak olan PCR koşulları.....	42
Çizelge 4.1. Genotiplerin Ploidi Seviyeleri ve Direnç Seviyeleri.....	46
Çizelge 4.2. Kullanılan SSR primerlerinin toplam allel uzunluğu (bp), polimorfik allel uzunluğu (bp), monomorfik allel uzunluğu(bp), amplifikasyon elde edilemeyen.....	50
Çizelge 4.3. Polimorfik SSR primerlerinin toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC (Polymorphism information content) değerleri.....	69
Çizelge 4.4. Kruskal-Wallis Anne Analizi.....	74
Çizelge 4.5. Kruskal-Wallis Baba Analizi.....	75
Çizelge 4.6. SSR Markörlerin Genomdaki Pozisyonları.....	76
Çizelge 4.7. Markör adı, Kromozom sayısı, Lokasyon yeri, Forward- Reverse Primer sekans dizilimleri.....	76

1. GİRİŞ

Üzüm, yaprak döken odunsu asmaların (asmagiller (Vitaceae) familyasının) vitis cinsinden çiçekli bitki meyvesinin adıdır. Asma (*Vitis vinifera* L.), Rhamnales takımının üç familyasından yalnızca Vitaceae familyasından kültür asmalarının tümü *Vitis* cinsine aittir. *Vitis* cinsi, kromozom sayısı $2n=38$ olan *Euvitis* ve 40 olan *Muscadinia* diye adlandırılan alt cins oluşurken *Euvitis*, ürününden yararlanılan ve anaç olarak kullanılan 50 dolayında tür vardır. Türlerle ait binlerce varyete ve kültür çeşitleri vardır (Winkler ve vd. 1974).

Asmanın geniş ve iklim şartlarına kolay uyum sağlaması nedeniyle bağcılık dünyada tarih boyunca önemli yer taşıyan tarım kollarından biridir (Uzun 2015). Dünya üzerinde ekonomik olarak çok büyük bir önemi olan üzüm yetiştiriciliği ve üzümünden elde edilen ürünlerin çeşitliliği ve zenginliği, araştırmacıların üzüm hakkında birçok yönleri ile ele alınmasına ve üzerinde araştırmalar yapmasına yön vermiştir (Ağaoğlu 1999).

Üzüm; sofralık, pekmezlik, şaraplık, kurutmalık, meyve suyu ve diğer mamuller şeklinde değerlendirilir. Arazi değerlendirilmesi, toprak muhafazası, beslenme ve istihdam açısından faaliyet gösteren bu tarım kolu günümüzde de önemini devam ettirmektedir (Akçay 2014).

Sürekli olarak yabancı dölleme gerçekleştirmesiyle oluşan heterozigotik kalıtsal yapıyla tohumlardan elde edilen ebeveynler arasında yüksek genetik çeşitlilik meydana getirmiştir. Bu yüzden asmada çoğaltım olarak *Vitis vinifera* türüne ait çeşitlerinde vejetatif çoğaltım tercih edilmesiyle kökeni eski tarihlere dayanan çeşitlerin günümüze kadar ulaşılması sağlanmıştır. Dünyada yaklaşık 30.000 üzüm çeşidi olduğu tahmin edilmektedir. Bunlardan 15.000 civarında çeşidin genotipik açıdan farklı yapıda olabileceği düşünülmektedir (Alleweldt 1988).

2021 yılı verileri incelendiğinde, dünya üzüm üretimi 6.950.930 hektar alanda 78.034.332 ton olarak gerçekleşmektedir (FAO 2022). Türkiye’de 3.902.211 dekar alanda 1.856.929 ton sofralık üzüm, 1.430.160 ton kurutmalık üzüm, 382.911 ton şaraplık üzüm olmak kaydıyla toplam 3.670.000 ton üzüm üretilmiştir (TÜİK 2022).

Türkiye, üzümün (*Vitis* spp.) anavatanı içerisinde yer almaktadır. Bağcılığa elverişli birçok bölgesi bulunduğu için iklim ve topoğrafya faktörleri ele alınarak Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) teknikleri ile Türkiye’de bağcılığın yapılabileceği potansiyel alanlar araştırılmıştır. Bağcılıkta; güneşlenme süresi, rakım, sıcaklık, toplam yıllık yağış parametrelerine bakıldığında, Türkiye’nin %57,86’sı üzüm yetiştirmeye uygun, %40,46’sı uygun olmayan, %1,68’i ise su yüzeyi olarak belirlenmiştir (Alsancak Sırlı vd. 2015).

Türkiye, bağcılık kültüründe çok eski zamanlardan beri kültür asmasının (*V. vinifera* L.) genetik çeşitlilik bakımından zengin önemli gen merkezlerinden biridir (Kara

vd. 2016). Ülkemizde 1965 yılında “Milli Koleksiyon Bağı” kurularak ülkede bulunan asma genotiplerini koruma altında almak amaçlanmıştır. Ülkemizde bulunan asma genotipleri 1600’den fazla kültür çeşidi ve formu bulunmuştur. Bu asma genotipleri Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsündeki bağa aktarılmıştır ve günümüzde “Milli Koleksiyon Bağı”nda korunmaktadır (Çelik vd. 2010).

Üzüm yetiştiriciliğinde çeşit çok önemlidir. Bu nedenle, farklı ıslah teknikleri kullanarak kalite kriterleri yüksek, verimli, farklı üretici ve tüketici taleplerini karşılayabilecek çeşitler elde etmek amacıyla çalışmalar yoğunlaşmıştır. Ülkemizde ilk çalışmalar 1973 yılında Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsünde (Uslu ve Samancı 1998) iri taneli üzüm çeşidi, ilk turfandaki üzüm çeşidi ve son turfanda üzüm çeşitlerinin melezleme yoluyla elde edilmesi amaçlanmıştır. Daha sonra 1974 yılında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsünde (Gürnil vd. 1998) çalışmalara başlanmış ve beraberinde Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü de bu anlamda önemli katkılar yapmıştır ve yapmaya devam etmektedirler.

Üzüm gerek dünyada gerekse ülkemizde üretim ve ihracat bakımından en önemli meyve türlerinden birisidir. Dünyada en yaygın yetiştirilen ve değerlendirilen üzüm türü *Vitis vinifera* türüdür (Akçay 2014). Üzüm yetiştiriciliğinde sorun oluşturan birçok fungal hastalık bulunmaktadır. Kurşuni küf (*B. cinerea*) en önemli fungal hastalıklar arasında yer almaktadır (Williamson ve ark., 2007). Bununla birlikte, en yüksek riskli patojenlerden *B. cinerea*'ya Fungisit Dayanıklılık Eylem Komitesi (FRAC) tarafından, dünyada en fazla ekonomik kayba neden olduğu belirtilmiştir. Hastalıkla mücadelede birçok fungisit kullanılmakta, ancak patojenin bu fungusitlere karşı dayanıklılık oluşturması nedeniyle hastalıkla mücadele giderek zorlaşmaktadır (Angelini vd. 2012).

Kurşuni küf hastalığına neden olan *Botrytis cinerea* Fr. dünyanın birçok yerinde görülen fungal ve polifag bir etmen olup, *Vitis*'in da yer aldığı 200’den fazla türde saldırma ve koloni oluşturma yeteneğine sahiptir ve ciddi ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Elmer ve Reglinski 2006; Williamson vd. 2007). Bitkilerde gelişmesi için ideal bir beslenme yeri olan yaralı kısımlardan ve dokulardan giriş yapmakla beraber zararı meyve, çiçek, gövde, yaprak ve yaprak sapında zarar yapmaktadır (Coley-Smith vd. 1980; Rahman vd. 2019).

Kurşuni küf, yoğun spor verebilen ve hızlı yayılabilen bir patojendir. Ayrıca, heterokaryotik özellik göstermesi fungusitlere dayanıklılık kazanabilmesini kolaylaştırmakta ve sonuçta da hastalıkla mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Bilinçsiz ve gereksiz pestisit tüketimi hastalık etmeni mikro organizmalarda duyarlılık azalmasına neden olabilmektedir. Bir pestisite karşı duyarlılık azaldıkça, o pestisitinin etkililiğı de azalmaktadır. Üreticiler bu durumda kullandığı pestisitinin dozunu yükselterek aynı başarıyı yakalamaya çalışmaktadır. Bu durumda, dayanıklılık sorunu ortaya çıkmakta, daha fazla pestisit tüketilmektedir. Ekonomik açıdan maliyet artmakla beraber çevre kirliliğı ve insan sağığı açısından sorun teşkil etmektedir (Delen 2008).

Organizmanın genetik yapısında değişiklik olmadan kimyasal maddeye uyum sağlayarak pestisit duyarlılığında azalış görülür. Fakat dayanıklılıkta, organizmanın duyarlılığı genetik yapısındaki bir değişiklikle genelde geri dönüşü olmayan bireyler oluşmakta ve bu bireylere “mutant” denmektedir. Dayanıklılıkta en fazla etki eden faktörlerden biri, pestisitlerin dayanıklılık açısından oluşturduğu risk ve pestisitlerin kullanım biçimidir. Kontrolsüz ve bilinçsiz kullanım, dayanıklılığın daha hızlı oluşmasına neden olmaktadır (Brent ve Hollomon 2007; Samaras vd. 2016).

Hastalık dayanıklılarının ortaya çıkışıyla 20 yy. da bağcılıkta hastalıklara karşı dayanıklılık ıslahı çalışmaları başlamıştır. Geleneksel yöntemler kullanılarak başlanılan çalışmalar asma gibi çok yıllık bitkilerde görülen heterozigotik kalıtsal yapı, uzun gençlik kısırlığı süresi ve kendileme depresyonu nedeniyle uzun zaman almakta ve emek gerekmektedir. Asmada yeni bir çeşidin ıslah edilmesi için farklı kombinasyonlarda melezleme yapılması gerekmektedir. Asmada yapılan ıslah çalışmaları uzun zaman almakta ve yoğun iş gücüyle beraber masraf harcamaları çok fazla olmaktadır. Bu istenilmeyen olumsuz koşulları en aza indirmek için günümüzün en çok tercih edilen yöntemlerden biri olan biyoteknolojik yöntemlere yönelinmiştir. Asma ıslahında biyoteknolojik ve moleküler ıslah yöntemleri kullanılarak çok kısa sürede etkin sonuçlar alınmakta ve ıslah kavramı önemli bir değişim sürecine girmiştir. Biyoteknolojik yöntemlerin kullanılmasıyla asma ıslahının en önemli olumsuz faktörlerinden fungal hastalıklara karşı dayanıklılığın genetik tanımlanmasındaki gelişmeler hız kazanmıştır (Akkurt 2004).

Biyoteknolojik çalışmaların hız kazanmasıyla DNA kökenli markörler geliştirilmiştir. DNA markör teknolojisi, büyük ölçüde fenotipik varyasyona neden olan genetik faktörler hakkında bilgi edinmemizi sağlamaktadır. Çalışmalar birden fazla çok gen tarafından kontrol edilen QTL (Knatitatif Karakter Lokusu) haritalanmasıyla başlamıştır. Ayrıca, gene yakın moleküler markörlerin MAS (Markör Destekli Seleksiyon) uygulamalarında kullanılması ıslahçılara avantaj sağlamaktadır. Üzerinde çalışılan ıslah çalışmalarının her aşamasında dayanıklılık genleri ile ilgili duyarlı ve dayanıklı bitkilerin güvenli ve hızlı ayrımı moleküler markör veya markörler oluşturularak sağlanabilmektedir (Ren vd. 2000; Paquet vd. 2001).

Genetik haritalama yüksek organizmaların genomlarının kromozom olarak adlandırılan doğrusal (linear) üniteler halinde organize olması ve taşınması gerçeğinin tespit edilmesiyle ortaya çıkmıştır. Aynı kromozom üzerindeki birbirine yakın genetik markörlerin ebeveynlerden döllere birlikte hareketi veya genetik bağlantı olayı kromozom boyunca bulunan markörlerin diziliminin belirlenmesine olanak sağlamıştır (Paterson 1996). Genetik haritalama çalışmalarında, farklı tipte ve büyüklükte haritalama popülasyonları, markör sistemleri, istatistiksel yöntemler ve bilgisayar programları kullanılmaktadır. Her biri haritalamanın başarısında etkili olabilmektedir (Ferreira vd. 2006).

Genetik haritaların üretim hızı, bu bilginin bitki ıslahı programlarında kullanılma oranı çoğaldıkça artmıştır. Basit ve karmaşık kalıtıma sahip genlerin her ikisi de DNA markörleri tarafından kolayca belirlenebilmektedir (Tanksley vd. 1989; Tanksley 1993; Tanksley ve Nelson 1996). Moleküler markörlerin en etkili kullanıldığı alan, karmaşık kalıtıma sahip olan birden çok gen tarafından idare edilen kantitatif karakterlerin ıslahı olmuştur. Bitki ıslahı çalışmaları açısından kalite, verim ve verim unsurları, bitki boyu, kardeşlenme, çiçeklenme zamanı, bazı hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık gibi birçok karakter kantitatif olarak idare edilmekte ve bu unsurlar büyük öneme sahiptirler.

Bu çalışmanın amacı asmada kurşuni küf hastalık etmenine dayanıklılığın moleküler genetik esaslarının aydınlatılması hedeflenmiştir. İş gücü ve zamanı dikkate alarak QTL haritalamada F1 popülasyonu kullanılmıştır. Çalışmamızda, hassas ebeveyn olarak Yalova İncisi ve dayanıklı ebeveyn olarak Kyoho melezlemesinden geliştirilen yapıdaki 97 adet F1 genotipinden oluşan popülasyonu kullanılmıştır. Kodominant markörlerden birisi olan SSR (simple sequence repeats) markör kullanılmıştır. Populasyondaki polimorfizmi belirleyerek, bireylerin anne-baba ile olan ilişkilerini incelenmiştir. Dayanıklılıkla ilgili QTL'ler belirlenmiş ve bu QTL'lerde bulunan genlerin hastalık dayanıklılığıyla ilgili olup olmadığı biyoinformatik analizler yapılarak değerlendirilerek hastalık dayanımını hangi moleküler mekanizmaların kontrol ettiği aydınlatılmaya çalışılmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1 Dünya’da ve Türkiye’de Bağcılık

Bağcılık dünyada en elverişli iklim kuşağı olarak 20°-50° kuzey ve güney enlemleri arasındadır (Winkler vd. 1974). Türkiye, üzüm yetiştiriciliğinde en uygun coğrafi konuma sahip olan olan 36°-42° kuzey paralelleri ile 26°-45° doğu meridyenleri arasında yer almaktadır.

Türkiye’de üzüm üretim alanları değerlendirildiğine 2012 yılında 462.296 ha iken 2021 yılındaki üzüm üretim alanı 390.221 ha olduğu belirlenmiştir. 390.221 ha üzüm üretim alanının; 204.748 ha sofralık üzüm, 128.613 ha kurutmalık üzüm, 56.860 ha şaraplık üzüm üretimi alanı tespit edilmiştir.

Çizelge 2.1. Türkiye’de 2012 – 2021 yılları arasındaki sofralık, kurutmalık ve şaraplık üzüm üretim alanları (ha)

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Sofralık	227.279	277.261	229.894	229.234	206.794	191.034	190.306	186.245	182.189	173.507
Çekirdekli										
Sofralık	34.361	34.088	34.008	34.013	33.089	32.796	31.795	31.772	32.060	31.241
Çekirdeksiz										
Kurutmalık	66.093	65.093	62.814	61.164	57.410	55.805	60.001	54.289	54.321	51.643
Çekirdekli										
Kurutmalık	66.774	69.996	71.627	72.059	72.861	73.593	73.878	74.010	74.141	76.970
Çekirdeksiz										
Şaraplık	67.788	71.854	68.751	65.486	64.353	63.680	61.062	59.123	58.287	56.860
Toplam	462.296	468.792	467.093	461.956	435.227	416.907	417.041	405.439	400.998	390.221

Dünya’da 2021 yılında üzüm üretimi 6.950.930 hektar alanda 78.034.332 ton üzüm üretimi gerçekleşmiştir (FAO 2022). Türkiye’de üzüm üretim alanları verilerine bakıldığında 2012 yılında 4.622.920 da iken 2021 yılında 3.902.211 dekar alanda üretim yapıldığı görülmüştür.

Türkiye’de üzüm üretim miktarlarında değerlendirildiğine 2012 yılında 4.234.000 ton iken 2021 yılındaki üzüm miktarı 3.670.000 ton olduğu belirlenmiştir. 3.670.000 ton üzüm üretimin; 1.857.000 sofralık üzüm, 1.430.000 ton kurutmalık üzüm, 383.000 ton şaraplık üzüm üretimi yapılmıştır (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Türkiye’de 2012 – 2021 yılları arasındaki sofralık, kurutmalık ve şaraplık üzüm üretimi (ton)

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Sofralık	1.620	1.635	1.581	1.305	1.380	1.441	1.487	1.394	1.614	1.434
Çekirdekli										
Sofralık	600	498	586	586	610	668	458	656	604	423
Çekirdeksiz										
Kurutmalık	418	467	428	379	396	363	478	369	346	304
Çekirdekli										
Kurutmalık	1.196	957	1.136	955	1.141	1.240	1.046	1.230	1.188	1.126
Çekirdeksiz										
Şaraplık	401	455	445	424	473	488	464	451	456	383
Toplam	4.234	4.011	4.175	3.650	4.000	4.200	3.933	4.100	4.209	3.670

2.2. Bağcılıkta Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea*) Hastalığı

Bağcılıkta fungal hastalıkların başında gelen kurşuni küf hastalığına neden olan *Botrytis cinerea* Fr. (teleomorph: *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel), dünyanın birçok yerinde görülen fungal ve polifag bir etmen olup, *Vitis*’in da yer aldığı 200’den fazla türde saldırma ve koloni oluşturma yeteneğine sahiptir ve ciddi ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Elmer ve Reglinski 2006; Williamson vd. 2007). Bitkilerde gelişmesi

için ideal bir beslenme yeri olan yaralı kısımlardan ve dokulardan giriş yapmaktadırlar. Hastalık genellikle çiçek, meyve, gövde, yaprak ve yaprak sapında zarar yapmaktadır (Coley-Smith vd. 1980; Rahman vd. 2019).

Fırsatçı bir patojen olan *B. cinerea*, hem çürüten hem de canlı bitkiler üzerinde yaşam döngüsünü tamamlayabilmektedir. Bitkinin içine girişi sadece mekanik yolla değil, aksine litik enzimler ve toksik metabolitlerin salgılanmasına da bağlı olmaktadır (Van Kan, 2006). Enfeksiyon süreci boyunca *B. cinerea*, bitki yüzey penetrasyonu için bitki hücre duvarı polimerlerini ve besin dokusunu bozmak amacıyla, hücre duvarı bozucu bir dizi enzim (cell wall-degrading enzymes=CWDEs) salgılamaktadır (van Kan 2006; Williamson vd. 2007). Bu CWDE enzimleri arasında, birçok pektinazlar pektin ve pectate lyases, pektin methylesterases (PMEs), exopolygalacturonases (ekso-PG) ve endopolygalacturonases (endo-PG) yer almaktadır. Enfeksiyon sırasında bu enzimlerin çoğaldığı tespit edilmiştir (Ten Have vd. 2002; Kars ve Van Kan 2004). Patojen, patojenisiteyi etkileyen ve henüz bazıları tam olarak açıklanamamış çok sayıda enzim ve düşük molekül ağırlıklı bileşikler salgılar (Richard ve Hilditch 2009; Zhang vd. 2011).

Kurşuni küf, yoğun spor verebilen ve hızlı yayılabilen bir patojendir. Ayrıca, heterokaryotik özellik göstermesi fungusitlere dayanıklılık kazanabilmesini kolaylaştırmakta ve sonuçta da hastalıkla mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Bilinçsiz ve gereksiz pestisit tüketimi hastalık etmeni mikro organizmalarda duyarlılık azalmasına neden olabilmektedir. Bir pestisitte karşı duyarlılık azaldıkça, o pestisitinin etkililiği de azalmaktadır. Üreticiler bu durumda kullandığı pestisitinin dozunu yükselterek aynı başarıyı yakalamaya çalışmaktadır. Bu durumda, dayanıklılık sorunu ortaya çıkmakta, daha fazla pestisit tüketilmektedir. Ekonomik açıdan maliyet artmakla beraber çevre kirliliği ve insan sağlığı açısından sorun teşkil etmektedir (Delen 2008; Brent ve Hollomon 2007; Sanmaras vd. 2016).

2.3. Genetik Haritalama

Moleküler markörler genetik farklılığın ölçüsünü belirlemede etkili olarak kullanılabilir. (Tanksley 1983). Genetik haritalama, yüksek organizmaların genomlarının kromozom olarak adlandırılan doğrusal (linear) üniteler halinde organize olması ve taşınması gerçeğine dayanmaktadır. Aynı kromozom üzerinde yer alan birbirine yakın genetik markörlerin ebeveynlerden döllere birlikte hareketi veya genetik bağlantı olayı kromozom boyunca bulunan markörlerin diziliminin belirlenmesine olanak sağlamıştır (Paterson 1996). Genetik haritalama çalışmalarında, farklı tipte ve büyüklükte haritalama popülasyonları, markör sistemleri, istatistiksel yöntemler ve bilgisayar programları kullanılmaktadır. Her biri haritalamanın başarısında etkili olabilmektedir (Ferreira vd. 2006).

Genetik haritaların üretim hızı, bu bilginin bitki ıslahı programlarında kullanılma oranı çoğaldıkça artmıştır. Basit veya karmaşık kalıtıma sahip genlerin DNA markörleri

tarafından kolayca belirlenebilmektedir (Tanksley vd. 1989; Tanksley 1993; Tanksley ve Nelson 1996). Moleküler markörlerin kullanıldığı alanlardan birisi karmaşık kalıtıma sahip olan birden çok gen tarafından idare edilen kantitatif karakterlerin ıslahı olmuştur (Tanksley 1996).

2.4. Kantitatif Karakter Lokusu (QTL)

Kantitatif karakterler karmaşık karakter olup birden fazla gen tarafından kontrol edilmektedir. Moleküler markörlerin en etkili ve en çok kullanıldığı alandır. (Tanksley 1996). Kantitatif karakterler, her bir lokusun etki derecesinin farklı olması ve çevre şartlarından fazla etkilenmektedir (Paterson vd. 1988). Klasik metotlarla yapılan ıslah çalışmaları QTL'lerin belirlenmeleri ve aktarılmaları uzun yıllar sürmekle beraber oldukça zordur. Günümüzde geliştirilen moleküler markörler sayesinde yapılan detaylı genetik haritalama çalışmalarında her bir kromozom üzerindeki lokus yerleri ve lokusların etki dereceleri tespit edilmiştir. (Paterson vd. 1988; Lande ve Botstein 1989). Ayrıca, her bir QTL'in fenotipik varyans üzerindeki etki dereceleri ve QTL'ler arasındaki epistasi ilişkileri (Paterson vd. 1991; Lark vd. 1995) genetik haritalama çalışmaları sayesinde belirlenmiştir.

Bir QTL haritalama işlemi sıralanan şu adımlarda gerçekleştirilir:

1. Haritalama popülasyonu oluşturulmaktadır (F1, F2, DH, NIL, RIL, BC vb.).
2. Polimorfik markörler ile genotipleme yapıldıktan sonra bağlantı haritaları oluşturulur.
3. Fenotipleme yapıldıktan sonra en son aşama QTL analizleri yapılır (Fenotipik karakterler ile markörler arasındaki ilişkinin tespiti). Majör ve minör QTL'ler tanımlanır. Hangi kromozomda oldukları ve bir kromozom üzerinde lokalize oldukları yer tespit edilir (Bawonten 2014).

Genetik harita hazırlanmasında ilk aşama uygun ebeveynlerin seçimi ve açılım popülasyonunun hazırlanmasıdır. En yaygın olarak kullanılan açılım popülasyonları; rekombinant kendilenmiş hatlar (recombinant inbred lines=RILs), yakın isogenik hatlar (near isogenic lines=NILs), katlanmış haploid (DHL), F2 ve geri melez (backcross or advanced backcross) popülasyonlarıdır (Tanksley vd. 1989). Her bir haritalama popülasyonunun kendilerine has avantajı ve dezavantajı vardır.

Araştırmacı, popülasyonu elde edebilme süresine, kullanacakları markörün dominant veya kodominant olmasına, çalışmanın amacına göre uygun haritalama popülasyonuna karar vermek zorundadır. Tek yıllık bitkilerde değerli bir karakter tespit edildiği zaman bu özelliğe sahip olan hat genetik olarak başka bir saf hatla melezlenebilir, haritalama popülasyonu oluşturulur [F2, geri melez (BC), katlanmış haploid (DH), rekombinant kendilenmiş hat (RIL), yakın isogenik hat (NIL) vs.] ve karakter moleküler markörler yardımıyla haritalanır. Bu bilgi moleküler ıslahta sözü geçen karakteri üstün özellik taşıyan hat ve çeşitlere aktarmakta kullanılır. Bitkilerdeki birçok genetik

haritalama popülasyonları homozigot anaçlar arasında yapılan melezlemeden elde edilmiştir (Wu vd. 1992).

Genetik haritalamada çok yıllık bitkilerde normal yaşam döngülerinin uzun olması nedeniyle F1 bireylerinden oluşan popülasyon kullanıldığı ayrıca ebeveynler için ayrı haritalama oluşturulduğu belirtilmiştir (Vienne 2003). Çok yıllık bitkilerde genetik haritaların başarılı olması için ebeveynler arasındaki açılıma ve türlerin heterozigotluk seviyesi değerlendirilir (Cervera vd. 2001; Scott vd. 2005).

Haritalamada F1 popülasyonları, turuncgiller (Cristofani vd.2000; Roose 2000), vişne (Canlı 2004), kavak (Zhigunov vd. 2017), elma (Jensen vd. 2014; Ban ve Choi 2018), armut (Gabay vd. 2018) gibi birçok bitkide kullanılmıştır. Yine, üzümde tane rengi (Ren vd. 2000), çekirdeksizlik (Doligez vd. 2002), kamalı nematoda dayanıklılık (Walker ve Yin 2000), hastalıklara dayanıklılık (Yaşar 2005) gibi birçok karakter için yapılan haritalama çalışmalarında F1 popülasyonu başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

2.5. Asmada QTL ve Genetik Haritalama

Asma, kültürü yapılan ilk meyve türlerindendir. Genetik çeşitliliğe sahip olup tüketici istekleri sürekli değişmektedir. Tüketici isteklerine bağlı olarak ıslahçılar istenilen özelliklere sahip yeni çeşit elde etmeye ve var olan çeşitlere bazı özellikler kazandırmaya yönelmişlerdir (Arumuganathan ve Earle 1991).

Asma (*Vitis vinifera* L.), 483 Mbp/1C DNA'lık bir genoma sahiptir (Arumuganathan ve Earle 1991). Lodhi (1994), *Vitis* türleri, çeşitleri ve diğer *Vitis* cinsleri arasında DNA kapsamını belirlemek amacıyla gerçekleştirdiği çalışmasında, *Vitis* türlerinin ortalama kromozom büyüklüğünün 0.85-1.07 µm arasında olduğu tespit edilmiştir.

Asmada haritalama çalışmasında popülasyon seçiminde genellikle F1 bireyler ve çift yönlü yalancı melezlemeyle elde edilen bireyler (pseudo-testcross) tercih edilmektedir. Bunun nedeni asma bitkisi son derece heterozigot olduğundandır. Popülasyonun fenotipik verileri ve QTL saptaması için moleküler markör verileri birleştirilmeden önce dikkatle incelenmekte ve analiz yapılmaktadır.

Üzümlle ilgili ilk olarak Weeden ve ark. (1988) ve Mauro vd. (1992)'in RFLP markırı kullanılarak izoenzimler ile ilgili çalışmasında kullanılan yetersiz markör sistemlerinden dolayı sınırlı bilgilere ulaşılmasına neden olmuştur.

Lodhi vd. (1995) asmada ilk gerçek genetik bağlantı haritalama Cayuga White x Aurore çeşitlerinin çift yönlü yalancı melezleme tekniği kullanılmasıyla oluşturulan 60 F1 bireylerin oluşturulduğu popülasyonunda, 422 RAPD İLE 16 RFLP ve izoenzim markörleri kullanılmıştır. Ebeveynlere ait haritada markörler arasındaki uzaklık 6.1 cM olarak bulunmuştur. Cayuga White'a ait haritada 20 bağlantı grubuyla 214 markör 1.196

cM ve Aurore’e ait haritada 22 bağlantı grubuyla 255 markör ile 1.477 cM uzaklıkta olup kullanılan toplam 443 markör ile “Cayuga White” x “Aurore” bağlantı haritalarının orta derecede haritalama olduğu belirtilmiştir.

Asmada gerçekleştirilen genetik haritalama çalışmaları fungal, bakteriyel hastalıkların yanında çekirdeksizlik üzerine başlanılmış ve yoğun bir şekilde devam etmektedir. Ye vd. (1995) asmalarda külleme (*Uncinula necator*) hastalığına karşı dayanım için genetik harita oluşturmuşlardır. Popülasyon olarak iki interspesifik hibrit olan Horizon ve Illinois 547-1 kullanılmıştır. Melezleme sonucu elde edilen F1 popülasyonunda, 327 RAPD primer kullanılarak 42 adedi Horizon çeşidinde 19 bağlantı grubunda 1,099 cM yer alanı belirlenmiştir. Illinois 547-1 çeşidinde 48 bireyde 20 bağlantı grubunda 1,059 cM’lık yer alanı belirlenmiştir. 4 yıllık çalışma sonucunda dayanıklı Illinois çeşidinde 10 numaralı bağlantı grubunun bir bölgesinde küllemeye dayanımı etkileyen bir QTL taşıdığı belirtilmiştir.

Bouquet ve Danglot (1996) çekirdeksizlik karakterleriyle ilgili bir model ileri sürmüşlerdir. Bu modelde çekirdeksizliğin birbirinden bağımsız kalıtım gösteren 1 adet dominat gen (sdI, seed development inhibitör) ile 3 adet tamamlayıcı resesif gen tarafından kullanıldığını ileri sürmüşlerdir.

Dalbo (1998) siyah çürüklük ve siyah çürüklük hastalıklarına dayanımın kalıtımını araştırmak için Ye vd. (1995)’in oluşturduğu Horizon x Illinois 547-1 popülasyonu kullanmıştır. Ebeveynlere ait genetik haritalamada 20 adet bağlantı grubu belirlenmiştir. Çalışmada primer olarak RAPD primerleri kullanılmasının yanında, 30 mikrosatelit ve 4 STS (Sequence Tagged Sites) markörü kullanılmıştır. Haritalama sonucunda 10 adet homolog bağlantı grubu tespit edilmiştir. Haritalamada 451 markör birbirlerinden ortalama 7.5 cM yer almıştır. Küllemeye dayanımda en güçlü QTL Illinois çeşidinde 10 numaralı bağlantı grubu olduğu belirlenmiştir. Bu QTL’e yakın bağlı bir AFLP (AfAA69 ve bir RAPD markörü (CS25b)), CAPS markörlerine dönüştürülmüştür. Aynı dayanım kaynağının kullanıldığı melezlemelerde küllemeye hassas bireylerin oranının bu markörler sayesinde önemli ölçüde azaltılabileceği belirtilmiştir. Ayrıca küllemeye dayanımın bulunduğu QTL’nin bulunduğu bağlantı gruplarında siyah çürüklük için de bağlantı grupları bulunduğu belirtilmiştir.

1998 yılında üzüm genomu ve genetiği araştırmak için IGGP (International Grape Genome Program “Uluslararası Üzüm Genom Programı”) topluluğu bir araya gelmiştir. Bu topluluk sayesinde VCM (Vitis Microsatellite Consortium “Asma Mikrosatellit Birliği”) kurulmuştur. Fransa’da AgroGene S.A.’ın teşvikiyle birçok sayıda kodominant SSR markörler üretilmiştir (Anonymous 1998). Topluluğun en önemli hedefleri fiziksel haritalama ve bireysel haritalama projeleri için bağlantı sonuçlarının oluşturulması gelmektedir.

Dalbo vd. (2000) Horizon ve Illinois 547-1'in çift yönlü melezlenmesiyle oluşan 58 F1 bireyden oluşan popülasyonda 277 RAPD, 25 SSR, 4 CAPS ve 12 AFLP markörü kullanmışlardır. Horizon çeşidine ait haritada 153 markör 1.199 cM ve Illinois 547-1 çeşidine ait haritada ise 153 markör 1.470 cM uzaklıkta olup toplam 20 adet bağlantı grubu tespit edilmiştir.

Adam-Blondon vd. (2001) Sultana kökenli kısmen çekirdeksiz iki genotipin melezlenmesi ile elde edilen popülasyonda Lahogue vd. (1998) tarafından bulunan sdI genine bağlı RAPD markörleri ile BSA yöntemi çalışılmıştır. RAPD markörlerinden OPC-08 ve OPP-18 markörleri çekirdeksiz genotiplerde bulunmuş ve bu karakterle bağlantılı bir majör lokusun olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca OPC-08 RAPD markörü SCAR markörüne (SCC8) dönüştürülmüştür. Çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin erken seleksiyonu için moleküler markör sistemlerini esas alan haritalama araştırmaları yoğun şekilde çalışılmaktadır (Meredith 2001).

Blondon vd. (2001) çekirdeksiz x çekirdeksiz ve çekirdekli x çekirdekli bireylerin melezlenmesiyle elde edilen popülasyondan seçilen 81 adet birey kullanılmıştır. Çekirdekli ve çekirdeksiz bireylerde çekirdeksizliği tespit etmek için RAPD markörüyle Lahogue vd. (1988) tarafından geliştirilen sdI ile ana lokuslarda inceleme yapılmıştır. SCP18, SSC8'nin çekirdeksiz x çekirdeksiz bireylerde erken dönemde çekirdeksizliği tespit etmede faydalı olacağını belirtmektedirler.

Doligez vd. (2002) MTP2223-2 × MTP2121-30 arasındaki melezlemeyle edilen 139 F1 bireyden oluşan popülasyonda 301 markör kullanılmıştır. 250 AFLP, 44 SSR, 3 izoenzim, 2 RAPD ve 12 SCAR markörü oluşturulmuştur. Haritalama sonucu olarak 20 bağlantı grubunun 1.002 cM'lık yer aldığı belirtilmiştir.

Zyprian vd. (2002) fungal hastalıklardan külleme (*Uncinula necator*) ve mildiyö (*Plasmopara viticola*)'de bazı karakterlerle ilgili QTL çalışması yapılmıştır. Lemberger ve Regent çeşitlerinin melezlenmesiyle elde edilen popülasyonunda çalışmışlardır. Genlerin izole edilmesi için harita tabanlı klonlama yöntemini kullanarak bu çalışmayı gerçekleştirmişlerdir.

Grando vd. (2003) Moscato bianco' x *V. riparia* Wr63 melezlenmesiyle 81 bireyden oluşturulan haritalama çalışmasında toplam 338 markör AFLP, SSR ve SSCP kullanılmıştır. Moscato bianco ait haritada 20 bağlantı grubunda 1,639 cM yer almış, *V. riparia* Wr63 ait haritada ise 19 bağlantı grubunda 1,518 cM'da yer aldığı tespit edilmiştir.

Madini vd. (2003) *V. vinifera* L. ve *V. riparia* Michx. melezlenmesiyle elde edilen popülasyonda hastalığa dayanım ve kalite amaçlı ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere 350 AFLP ve mikrosatellit markörü kullanarak QTL bilgilerinin üretimine yönelik olarak her iki haritanın 1,150 cM'lık alanı kapsadığını tespit etmişlerdir.

Adam-Blondon vd. (2004) Syrah ve Grenache melezlenmesiyle elde edilen popülasyonda 346 adet SSR markörü kullanılmıştır. Ebeveynlerden en az birisi için bu markörlerin %84,4'ü polimorfik olduğu belirlenmiştir. Haritalama çalışmasında, toplamda 310 markörde başarı elde edilmiştir. Grenache haritasında, 178 markör 18 bağlantı grubunda 1,306 cM yer almıştır. Syrah haritasında 177 adet markör, 19 bağlantı grubunda 1,172 cM yer aldığını tespit etmişlerdir. Çalışmada toplam 310 markörde başarı elde etmişlerdir.

Yaşa (2005) Italia x Mercan'dan meydana getirilen F1 popülasyonunda 300 adet RAPD primeriyle test edilen çalışmada içinde çok düşük oranda (%37) polimorfizm tespit etmiştir. Italia çeşidine ait haritada 8 bağlantı grubu, OPI4c ve OPI4d arasında (5.0 cM) ve OPD3a ve OPD4a arasında (9.2 cM) gerçek bağlantı tespit edilmiştir. Mercan çeşidine ait haritada 6 bağlantı grubu, sc10826b ile OPM2a arasında (6.8 cM) tespit etmişlerdir.

İşçi (2006) Italia ve Mercan üzüm çeşitlerinin çift yönlü yalancı melezlenmesiyle elde edilen F1'lerde SSR VE AFLP markörleri kullanılarak genom haritasını kullanarak gerçekleştirmiştir. Haritalama aşamasında Mapmaker/Exp 3.0 paket programında 3.0 LOD değeri kullanılmıştır. Haritalamada ebeveynler ayrı olarak haritalanmıştır. Anneye ait haritada 6 bağlantı grubu, babaya ait haritada 1 bağlantı grubu tespit edilmiştir. Ebeveynlere ait 2 ayrı genetik bağlantı haritası bulunmuştur. Haritanın anaya ait 6, babaya ait 1 bağlantı grubu tespit etmişlerdir.

Akkurt vd. (2007) külleme ve mildiyö dayanımı ile ilgili çalışmada Regent x Lemberger popülasyonunu kullanmışlardır. Küllemeye dayanım ile ilgili ScORA7-760 ve ScORN3 SCAR markörlerinden sadece dirençli genotiplerde bulunmuştur. Mildiyö dayanımı ile ilgili 7 RAPD marköründen SCAR markör elde etmişlerdir. Bu markörlerin marköre dayalı seleksiyon yöntemiyle küllemeye dayanıklılık çalışmalarında kullanılabileceği bildirilmiştir.

Kozma vd. (2009) *V. amurensis* x *V. vinifera* hibritleriyle Kismish vatkana hibritleri olan BC3 ve BC4 hibritleriyle küllemeye dirençli çeşit elde etmiştir. BC5 bireylerinde dirençli genler tespit etmiştir.

Riaz vd. (2011) 5 farklı popülasyon üzerinde küllemeye dayanıklılıkla ilgili haritalama çalışması yapmışlardır. 5 farklı popülasyondan ilk dördü *M. rotundifolia*'ya ait melez bireylerden, kalan son bir popülasyon ise *V. romanetii*'ye ait 42 melez bireyden meydana gelmiştir. İlk popülasyonda 97 melez 137 SSR markör ile taranmıştır. Çalışmada mildiyö ve külleme ile ilgili olduğu bilinen 7 kromozoma bakılmıştır. Gen haritalama ve QTL analizlerinde farklı kromozomlarda dirençli lokuslar belirlenmiştir. İlk popülasyonda 97 melez 137 SSR markör çalışılmıştır. 18. kromozom üzerinde bulunan Run 2.1, Run 2.2 ve Ren 4, hastalıklara dirençli bölgeler olarak tespit edilmiştir. Haritalama çalışmasında farklı genetik yapıya sahip bireylerde küllemeye direnç geninin 18. Kromozom üzerinde yer aldığı tespit edilmiştir. 12. kromozomda bulunan Run1'in

18. kromozomda bulunan Run2 lokusunu kontrol eden bölge ile 12. kromozomda bulunan Run1'in aynı olup olmadığı tespit edilememiş fakat yapılacak çalışmalarla incelenmesi gerektiği belirtilmiştir. Çalışma sonucunda mildiyö ve küllemenin dayanıklılık sağlayan bölgelerin birbirleriyle bağlantılı olup olmadıklarını *V. romanetii* türlerine ait bireylerde araştırılması gerektiği önerilmiştir.

Moreira vd. (2011) Moscato Bianco x *Vitis riparia* melezlerinden 174 bireyli Populasyonda mildiyö enfeksiyonuna direnç ile ilişkili haritalama çalışmasında ve VRH3082 1-42 x SK77 5/3 melezlemesinden elde edilen 94 bireyli popülasyon oluşturmuşlardır. Çalışma sonucunda her iki popülasyonda farklı bağlantı gruplarında mildiyö dayanımı ile ilişkili QTL'ler tespit edilmiştir.

Di Gaspero vd. (2012) hastalıklara dayanıklılık ıslahında ebeveyn olarak kullanılan dayanıklı hatlardaki allelik dağılımlarını incelemek amacıyla Rpv3 dayanıklılık lokusu ile ilgili iki adet SSR markörde (UDV305 ve UDV737) çalışmışlardır. Araştırma sonucunda UDV737'nin 279 bp büyüklüğündeki alleli ile UDV305'in 299 bp büyüklükteki allelinin mildiyöye dayanıklılıkla ilişkili QTL bölgesinden tespit edilen Rpv3 geni ile bağlantılı olduğunu tespit etmişlerdir.

Zyprian vd. (2016), asma alanında geliştirilen genetik haritalama çalışmalarında, fungal hastalıklara dayanıklılık ıslahı, çekirdeksizlik özelliği gibi ıslah açısından önemli lokusların haritalamada lokalizasyonunu mümkün kıldığını bildirmişlerdir.

QTL analizleri yapılarak, bu lokusların popülasyon içerisinde dağılım gösteren fenotipik özellikler ile bağlantılarının tespit edilmesiyle incelenen özellikler ile sıkı ilişkili moleküler markörlerin belirlenmesi sağlanmıştır (Uzun vd. 2018).

Shidfar vd. (2019) araştırmasında hibrit popülasyonu elde etmek için dayanıklı 'Regent' ve hassas 'Boğazkere' çeşitlerini kullanılmışlardır. Elde edilen F1 bireylerden oluşan popülasyonu marköre dayalı seleksiyon yardımıyla külleme ve mildiyö enfeksiyonlarına dayanıklı hibritleri tespit etmeyi amaçlamışlardır. DNA temelli seleksiyonda Üç gen bölgesine ait altı markörün tamamı kullanılmıştır. Dayanıklı Rpv3 ve Ren3 lokusundaki 4 adet SSR markörü UDV15, VMCNG2f12, VMC7F2 ve UDV305 ve 2 adet SCAR markörü ScORNA7-760 ve ScORN3-R bu seleksiyonda kullanılmıştır. Araştırma sonucunda, mildiyö ve küllemeye hem dayanıklı genotip hem de tolere ve hassas genotipler tespit edilmiştir.

Akkurt vd. (2022) mildiyö hastalığına dayanıklılık amacıyla markör destekli seleksiyon yöntemiyle Alphonse Lavallée ve Regent melezlenmesiyle elde edilen 881 F1 hibrit bitkilerinde SSR markörü kullanmışlardır. Mildiyöye dayanıklılık ile ilişkili Rpv3 geni ile bağlantılı GF 18-06 ve GF 18-08 primerlerini kullanmıştır. GF 18-06 primeri ile toplam 881 bitkiden 874 adedi amplifikasyon ürünü bant tespit etmişlerdir. 390 bp allele

sahip melez bitkiler dayanıklı olarak belirlemişlerdir. GF18-08 ile toplam 848 melez bitki incelenmiş ve 844 adedi amplifikasyon ürünü bant tespit etmişlerdir. Bu primer ile de 399 bp allele sahip genotipler dayanıklı olarak belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda, Rpv3 geni ile bağlantılı olarak marköre dayalı seleksiyonda her iki primerin de başarı ile kullanılabilir olduğu tespit etmişlerdir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada TAGEM/BBAD/Ü/19/A1/P6/05 nolu proje kapsamında yer alan Yalova İncisi ve Kyoho genotipleri ve genotiplerin resiprokal melezlemeyle geliştirilen poliploidi seviyeleri farklı yapıdaki 97 adet F1 popülasyonu kullanılmıştır.

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

Kyoho, Japonya'da geliştirilmiş, Ishiharawase (*V. vinifera*) x Centennial (*V. labrusca*) melezi olan tetraploid (4n) bir çeşittir. Siyaha yakın, koyu mor taneli, verimli erkenci (Yang vd. 2017) ve *B. cinera*'ya dayanıklı (Rahman vd. 2019) üzüm çeşitlerindendir.

Fungal mikroorganizma olarak B05.10 izolatu (Wageningen Üniversitesi ve Araştırma Merkezi, Hollanda) ile ülkemiz üzüm bağlarından izole edilmiş ve virülensi yüksek bir izolat olmak üzere toplam 2 izolat kullanılmıştır. Kùltür ortamı olarak fungusun çoğaltılmasında PDA (Patates Dekstroz Agar) ortamı, MM besiyeri ve petriler kullanılmıştır.

3.2. Metot

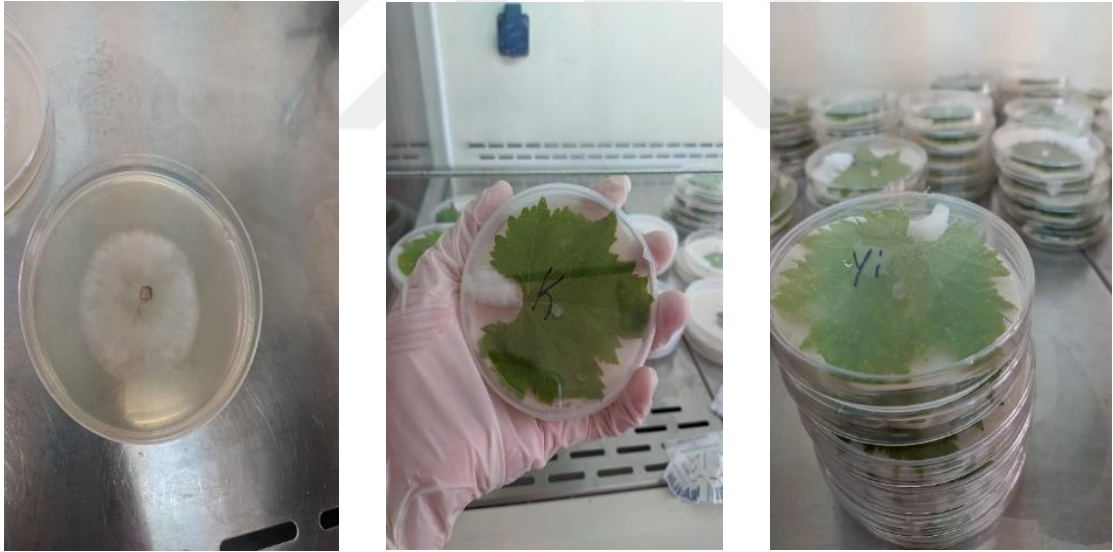
3.2.1. Haritalama popülasyonunun oluşturulması

Haritalama popülasyonu TAGEM/BBAD/Ü/19/A1/P6/05 nolu proje kapsamında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından oluşturulmuştur. Doku kùltürü ortamından sonra çıkarılan, ploidi düzeyi belirlenen bitkiler, alıştırma ortamına alınmış, daha sonra saksıda fidan dönemi boyunca besin elementi takviye edilmiş su ile sulanıp beslenilerek, 4-5 gerçek yapraklı duruma gelinceye kadar gerekli bakım işlemleri yürütülmüştür.

Haritalama için, ebeveynler ile Kyoho ve Yalova İncisi genotiplerinin melezlerinden geliştirilen 97 adet F1 genotipi olmak üzere toplam 99 genotipten oluşan popülasyon kullanılmıştır. Popülasyon triploid, tetraploid ve diploid bitkilerden oluşmaktadır.

Hastalık testlemeleri için B05.10 izolatu ile ülkemizde üzüm bağlarından izole edilmiş ve virülensi yüksek bir izolat olmak üzere toplam 2 izolat kullanılmıştır. Hastalık testlemeleri proje kapsamında Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde yapılmıştır. Kopartılmış yaprak testleri, haritalama populasyonunda yer alan ebeveynler ile melezlemelerinden elde edilen F1 aşamasındaki genotiplerden tesadüfen seçilen benzer yaş ve büyüklükteki yapraklar (sürgünlerin 3. ve 4. boğumundan) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapraklar her çeşidin 3 farklı bitkisinden, her birinden en az 10, toplamda en az 30 olacak şekilde toplanmıştır. Yapraklar ilk önce musluk suyunda, daha sonra steril destile suda yıkandı ve daha sonra hızlı bir şekilde içerisinde %0,8 su agar bulunan steril kaplara aktarılmıştır (Wan vd. 2015; Rahman vd. 2019).

Daha sonra steril destile su içerisinde 1.5×10^6 spor yoğunluğunda (Wan vd. 2015) hazırlanan *B. cinerea* konidi süspansiyonu yapraklar üzerine püskürtülmüştür. %90–100'lük nem sağlamak için kaplar koruyucu film ile kapatılmıştır. Kontrol yapraklarına ise steril destile su püskürtülmüştür. Tüm uygulamalar inokulasyon işleminden sonra ilk 24 saat boyunca karanlıkta, daha sonra ise 22°C'de 12 saat karanlık/12 saat aydınlık bir fotoperiyotta inkübe edilmiştir (Wan vd. 2015; Rahman vd. 2019).



(a)

(b)

(c)

Şekil 3.1. (a) *B. cinerea* izolatu (b)-(c) *B. cinerea* izolatu enjekte edilmiş yapraklar

Değerlendirmeler, inokulasyondan 4 gün sonra, her yapraktaki lezyonların kapladığı alana (%) göre (Şekil 3.1), 1–7 skalası kullanılarak yapılmıştır (Rahman ve ark., 2019) (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Değerlendirme skalası

Derece	Açıklama
1	Yaprak yüzeyinin %0,1-5'i lezyonla kaplı
2	Yaprak yüzeyinin %5,1-15'i lezyonla kaplı
3	Yaprak yüzeyinin %15,1-30'u lezyonla kaplı
4	Yaprak yüzeyinin %30,1-45'i lezyonla kaplı
5	Yaprak yüzeyinin %45,1-65'i lezyonla kaplı
6	Yaprak yüzeyinin %65,1-85'i lezyonla kaplı
7	Yaprak yüzeyinin %85,1-100'ü lezyonla kaplı

Daha sonra her bir genotipe ait hastalık indeksi (SI) aşağıdaki (Rahman ve ark., 2019) formülle (3.1.) belirlenmiştir.

$$SI = \frac{\sum (n.V)}{Z.N} \times 100 \quad (3.1.)$$

n: Değişik zarar gruplarına giren yaprak sayısı

V: Gruplara ayrılmış olan zarar dereceleri seviyeleri

N: Kontrole tabi tutulan bitki sayısı

Z: Sıfır grubu hariç grup adedi, aynı zamanda en yüksek skala değerinin grup değeri

Direnç seviyeleri, SI değerleri temelinde dört sınıfa ayrılmıştır (Rahman ve ark., 2019) (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Hastalık direnci seviyeleri

Açıklama	SI
Çok Dayanıkl (HR)	0–1.50
Dayanıkl (R)	1,51–3,50
Hassas (S)	3.51–5.50
Çok Hassas (HS)	5.51–7.0

3.2.2. QTL Haritalama Çalışmaları

3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu

Ebeveynler ve F1 populasyonu bitkilerinden alınan 0,5 g taze yaprak dokusundan Doyle ve Doyle (1990) CTAB (hexadecyltrimethyl ammonium bromide) methodu kullanılarak genomik DNA eldesi sağlanmıştır.

DNA izolasyon aşamaları:

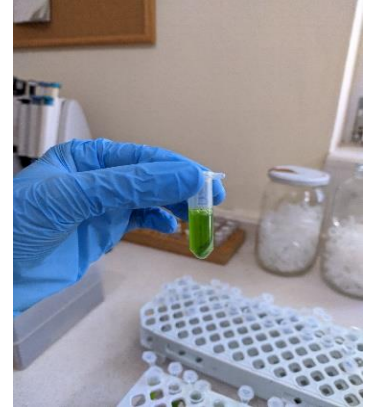
1. Her örnek için 0.2 g taze yaprak 0.6 ml ekstraksiyon çözeltisi [1.4 M of NaCl, 20 mM of EDTA, 100 mM of Tris-HCL (pH 8), 2% CTAB ve 1.2 µl of beta-mercaptoethanol] içinde yaprak bilye yardımıyla TissueLyser II ezilmiştir.
2. 1 dk. Vortex yapıldıktan sonra derin dondurucuda 20 °C’de 30 dk. bekletilmiştir.
3. Buzluktan alınıp çözüldükten sonra 1 dk vortex yapılmıştır.
4. Elde edilen karışım 60 °C’ de 15 dakika inkübe edildi. Her 5 dk’da tüpler alt üst edildikten sonra 1000 g’de 5 dk santrifüj yapılmıştır.
5. Sıvı kısımdan 650 µl alınıp, yeni eppendorf tüpe aktarıldıktan sonra üzerine eşit hacimde (650 µl) 24: 1 oranında hazırlanmış olan kloroform: isonaml alkol’den eklenip tüpler alt üst edilmiştir.
6. 15.000g’de 10 dk santrifüj edildikten sonra 500 µl supernatant alınıp ve yeni tüpe aktarılmıştır.
7. Üzerine 350 µl isopropanal eklenip (soğuk), pipetaj yapılmıştır ardından 15.000’de 10 dk santrifüj edilmiştir.
8. Dipteki pelete dikkat edilerek sıvı kısım döküldükten sonra pelet %70’lik alkol ile yıkanmıştır.
9. 15.00’de 5 dk santrifüj edildikten sonra sıvı kısım dökülüp tüpler kurumaya bırakılmıştır.
10. Pelet 50 µl 20 mM Tris HCL (ph:8) solüsyonu ile çözündürüldükten sonra -20 °C’de saklanmıştır.



(a)



(b)



(c)



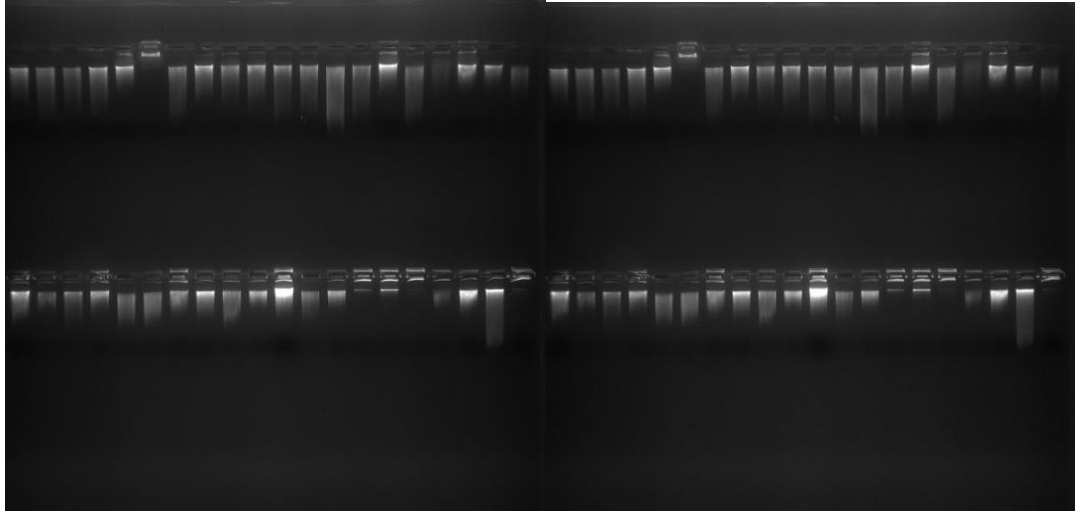
(d)



(e)

Şekil 3.2. (a) Tissue Lyser II (Qiagen) kullanılarak örneklerin ezilmesi; (b) Örneklerin inkübe edilmesi; (c) Üzerine eşit hacimde (650 μ l) 24: 1 oranında hazırlanmış olan kloroform: isonoml alkol'den eklenmesi; (d) 500 μ l supernatant alınıp ve yeni tüpe aktarılması (e) Peletin 50 μ l 20 mM Tris HCL (ph:8) solüsyonu ile çözündürülmesi

Lamda DNA kontrolü kullanarak ve interkalar boya ile boyayarak %1'lik agaroz jelde konsantrasyonları tespit edilerek DNA miktarına ve kalitesine bakılmıştır. DNA örnekleri yeni nesil dizileme teknolojisiyle de dizileneceğinden dolayı DNA saflığı ve kalitesi jel elektroforezi kullanılarak belirlendi ve ancak yeterli kalitede olan DNA örnekleri yeni nesil dizilemeye gönderilmiştir. İzole edilen DNA'ların tamamı -20 °C'de saklanmıştır.



Şekil 3.3. Bazı genotiplerden edilen DNA'ların jel üzerinde görünümü

3.2.2.2 SSR analizleri

SSR, 1-10 (genellikle 3-6) baz çifti arasında, kısa diziler halinde genomda rastgele dağılmış tekrar dizileridir. SSR, son yıllarda en fazla kullanılan mikrosatellit markör tekniği olmuştur. Genomda bol olması, yüksek polimorfizm göstermesi, Mendel kalıtımına uygunluğu, kodominantlık ve farklı laboratuvarlarda tekrar üretilebilir olması gibi özellikleri sayesinde bu markör tekniği çalışmamızda tercih edilmiştir. Öncelikle tüm SSR primerleri ebeveynlerde testlenerek ve polimorfizm gösteren markörler haritalama popülasyonuna uygulanmıştır. Çalışmamızda kullanmış olduğumuz 350 adet SSR primerinin baz dizilimleri ve referansları Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. SSR primer kombinasyonları, baz dizilimleri, referans bilgileri

Primer Adı	Forward primer	Reverse primer	Referans
VVIP60	GGGGAATAACTAAATTGAGGAT	GTATGAATGCGGATAGTTTG TG	Merdinoglu et al. 2005
VVIB01	TGACCCTCGACCTTAAAATCTT	TGGTGAGTGCAATGATAGTAG A	Merdinoglu et al. 2005
VRZAG83	GGCGGAGGCGGTAGATGAGAGGGCG	ACGCAACGGCTAGTAAATACA ACGG	Sefc et al. 1999
VRZAG79	AGATTGTGGAGGAGGGAACAAACCG	TGCCCCATTTCAAACTCCCT TCC	Sefc et al. 1999
VVMD7	AGAGTTGCGGAGAACAGGAT	CGAACCTTCACACGCTTGAT	Bowers et al. 1996
VRZAG62	GGTGAAATGGGCACCGAACACACGC	CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTC AGC	Sefc et al. 1999
VMC1B11	CTTTGAAAAATTCCTTCCGGGTT	TATTCAAAGCCACCCGTTCTCT	Vitis Microsatellite Consortium
VVIQ52	TAAAAGGATGGTAGATGACAGA	ACAGGAAAGTGTTCAATGGTT A	Merdinoglu et al. 2005
VVMD25	TTCCGTTAAAGCAAAAGAAAAAGG	TTGGATTGAAATTTATTGAGG GG	Bowers et al. 1999

Çizelge 3.3'ün devamı

VVS2	CAGCCCGTAAATGTATCCATC	AAATTCAAAATTCTAATTCAAC TGG	Thomas and Scott 1993
VVIH54	CCGCACTTGTGTTGAATTCAG	CAAACCGTTTTTACACCAGCAG	Merdinoglu et al. 2005
VRZAG112	CGTTTAAAGCCAGCTGAATCTTGGG	TGGCTCCATACTGCTTCACGTA GGC	Sefc et al. 1999
VVMD24	GTGGATGATGGAGTAGTCACGC	GATTTTAGGTTTCATGTTGGTGA AGG	Bowers et al. 1999
VVIN73	TACTTCACCTAACAATACAGCT	AATACATAAGGTGAAGATGCC T	Merdinoglu et al. 2005
VVIP31	TATCCAAGAGACAAATTCAC	TTCTCTTGTTTCTGCAAATGG	Merdinoglu et al. 2005
VRZAG29	ATAACCAGGACAAGTTATTCAGCC	ACCCAATTGACCATCTTTTATG CTG	Sefc et al. 1999
VVMD28	AACAATTCAATGAAAAGAGAGAG AGA	TCATCAATTCGTATCTCTATT GCTG	Bowers et al. 1999
VVMD32	TATGATTTTTTAGGGGGTGAGG	GGAAAGATGGGATGACTCGC	Bowers et al. 1999
VVMD27	GTACCAGATCTGAATACATCCGTAA GT	ACGGGTATAGAGCAAACGGTG T	Bowers et al. 1999
VVMD21	GGTTGTCTATGGAGTTGATGTTGC	GCTTCAGTAAAAAGGGATTGC G	Bowers et al. 1999
VRZAG67	ACCTGGCCCGACTCCTCTTGATGC	TCCTGCCGGCGATAACCAAGCT ATG	Sefc et al. 1999
VVIV37	TTTCTCCCTACTCTTAACCTC	GGTAGACCTTGAAATGAAGTA A	Merdinoglu et al. 2005
VMC4F3-1	AAAGCACTATGGTGGGTGTAAA	TAACCAATACATGCATCAAGG A	Di Gaspero et al. 2000
VVIV67	TATACTTCTCATAGGGTTTCC	TTGGAGTCCATCAAATTCATCT	Merdinoglu et al. 2005
VVMD5	CTAGAGCTACGCCAATCCAA	TATACCAAAAATCATATTCCTA AA	Bowers et al. 1996
VVIN16	ACCTCTATAAGATCCTAACCTG	AAGGGAGTGTGACTGATATTTT	Merdinoglu et al. 2005
VMC4F8	CATTTTCATAGGGTTTTACAGC	CTGCCAGTATACTGATTCCTCT C	NCBI
VMC5G7	CATTTGCTGGTGACTTTT	ACTACCCTCTCTTTCTCGC	Vitis Microsatellite Consortium
VVMD27	GTACCAGATCTGAATACATCCGTAA GT	ACGGGTATAGAGCAAACGGTG T	Bowers et al. 1999
VVIM63	AAGCCTTCTACTTGTGTTGATGA	ATTTGTTCTCAAACAGGCACAT	Merdinoglu et al. 2005
VMC3E5	GATTTGTCTTTACAAGGCGTTC	CCAGGAGACTTGCTTTGTATTT	Vitis Microsatellite Consortium
VMC2B1.1	GGCACATGAGCGATTACATTTT	TGAGCTTTGTGTGCACATTTT	NCBI
UDV-005	TGCCTATCTGCCAAAAATGA	CCCATTGAATGTGGATGACA	Di Gaspero et al. 2005
VMC7f2-2	TCCGACTTTGGGTAATAAGC	AAGATGACAATAGCGAGAGAG AA	Pellerone et al. 2001
VVIQ57	TGAACCTCTATCTCCATGTAG	TATGCCCTGTTACTATCTATGA	Merdinoglu et al. 2005
VVIN61	ATAATAGATGACGCCAAAGCAA	ATGAGCTACCTTCAAAATGACA	Merdinoglu et al. 2005
VChr1b	AGATGGGTGGCATTAGCAAG	TTATTTCCCTCCCTCGCTGT	Cipriani et al., 2008
VChr5c	CCCATCAGTTTGCCTATGAA	TTTGATCTTGTATTGTGCTGTT AC	Cipriani et al., 2008
VVIT68	GTGAATGAACAAAGTGGGAAAG	GGGTTGTTTCGTGTATTGTATG	Merdinoglu et al. 2005
UDV-053	GTTGGTGGCTTTCTTTTTGC	GGGAGAAAAAGGCATGGATA	Di Gaspero et al. 2005
VMC9B5	ATGCCCGAGAAGAGTCGAGAA	CTGCCGTTTGGGTAAGATGCT	Greek Vitis Database
VVIN40	GCTGATTTGACTCATGGATATT	TTCTTTGTTTCTCTGTTTCT	Merdinoglu et al. 2005
UDV-117	GGGTTTCCATCTCATTTTGTG	AAGTGTGGGCTTTGGAAATG	Di Gaspero et al. 2005
VVIN16	ACCTCTATAAGATCCTAACCTG	AAGGGAGTGTGACTGATATTTT	Merdinoglu et al. 2005
VMCNG2g7	CAACAGAATTCAAATGAAATGGA	CAAACAGCATAAATACACAAG GA	NCBI

Çizelge 3.3'ün devamı

UDV-109	AAAAGTAATATCACTAAGATATAGA ACA	TTTAAGAAAAGCAGGTGATG	Di Gaspero et al. 2005
VVC6	GGTTGAGGACTGACCATTGA	CACAATCCAAGAAGCATCCTAT	Decroocq et al. 2003
VRZAG79	AGATTGTGGAGGAGGGAACAAACCG	TGCCCCCATTTTCAAACCTCCCT TCC	Sefc et al. 1999
VVIN33	TGCCAAAGCAAGTATCAACATG	ATTTTGATCCCACCTAACTCTG	Merdinoglu et al. 2005
VMC4C6	CTCCATCCCTATCTCATCAG	CTCTAACACCCAATCTCACA	Di Gaspero et al. 2000
VMC1E8	CAGCGAGCTCTTGATTATTGT	GATCATAGCTTCAACGGCTTTT	Vitis Microsatellite Consortium
VVIP05	CCAACATTCAAGAGAAGCTTCA	TTTCATTATCCACAAGTAGGGT	Merdinoglu et al. 2005
VVIB01	TGACCCTCGACCTTAAATCTT	TGGTGAGTGCAATGATAGTAG A	Merdinoglu et al. 2005
VMCNG1D 3	TGAGGGGACACTGTGAGTTATC	CAGAATCTGGGCTTTATGCTTT	NCBI
VChr5b	CTTCTCGGTCATGGTCATTG	CTCCTTCCACCTCTGGTTCA	Cipriani et al., 2008
VMC3C7	AATTTGGCTAAGAAAGGA	AATATTGAGAAAATTTGTGTC	Vitis Microsatellite Consortium
UDV-077	TGGGGAAACAAAGAAACTGC	GAAGTGTATGTATGTATGGATG GATG	Di Gaspero et al. 2005
VVIN62	AACCTTAACAATTTGCTTCCAC	GGAAAACCTAGTTTTTACAGT	Merdinoglu et al. 2005
VVIV08	AAATTAACAATGGGCAAAGCTC	AGAAAAGAAAGTCCAGGTATG A	Merdinoglu et al. 2005
VVIQ44	CCCTTGATGATGGATCATTTA	TCTGAATATACATGCCATACTC	Merdinoglu et al. 2005
VVIP12	CTAAAAGCAAAACCCCATGATT	TTTAGTCTTAGGTCAAATTGCC	Merdinoglu et al. 2005
VMC9D3	GATTTGAAAGTCGAAAGCCAGG	TGCAAAGACTGTGAGATGAGG G	Greek Vitis Database
VChr2c	CTCAAAGCCCTCCAATTCAA	GGGCTCATGTGTCTGGAGTT	Cipriani et al., 2008
VMC7g3	TTACTAGTGCTGTCTGCTCCA	TGCTTCCTCTCTTCAACTTTCA	Pellerone et al. 2001
VMCNG2E 1	TTTGTGCTTCACTGTTCGTTTCG	TATGGAGGGAGACCGTTGTTC	NCBI
VVMD21	GGTTGTCTATGGAGTTGATGTTGC	GCTTCAGTAAAAAGGGATTGC G	Bowers et al. 1999
VVS16	TCAAACCTATTATTCAAACCAAAGTAC G	TCGATTCAACAAATTTAGAAA TATG	Pellerone et al. 2001
VMC2A3	ATTGAAACTCCGGAAGCTTAGG	CTTCGTGTAGAAGCTTCACAGG T	Vitis Microsatellite Consortium
VVIN74	TTGGTTGAGGGAAAAAGGAAAG	AAGAAATATGAGGTTGGGTGA G	Merdinoglu et al. 2005
VChr1a	TTCATACCTTGCAGGGAGCTA	TGATTCCATTCCCAAATTCA	Cipriani et al., 2008
VMC2C10-1	CCATGTTTCTATAGTTCTTCGGC	GATGTCCATATATTGGGTCTG	Vitis Microsatellite Consortium
VV6718	CCAAATCCACCTTTATCAAGCA	GGGGTTGACTACAATTATAAGT ATGC	NCBI
VChr9a	GCGACAGCATCACTTCAATC	GAATTGCCAAGGACAAGGAG	Cipriani et al., 2008
VVS2	CAGCCCGTAAATGTATCCATC	AAATTCAAAATTCTAATTCAAC TGG	Thomas and Scott 1993
VVIP02	CATTAAGTTAAGGCAACCACA	TCGAGTTGAAAGAAAATTGCC A	Merdinoglu et al. 2005
VMC4D9-2	CTCAATGCCAATGGCTTTCTTC	GTTCAAATGTCATGGCCCGTAG	NCBI
VMC8G3	TAGGGCGGAGATTTAACAGTCA	TCAACCAAACTCATTAAAGGG G	Adam-Blondon et al. 2004
VRZAG29	ATAACCAGGACAAGTTATTCAAGCC	ACCCAATTGACCATCTTTTATG CTG	Sefc et al. 1999
VMC8F10	TATGAAAGATGAATGGCTGCTC	AAGGGTGCTTGAAGGTTTATGT	Vitis Microsatellite Consortium
VMC2F10	AGATTCTTCTGATGGTGTGGG	ATCAGAGCTCCTCTTTCCTTCC	Vitis Microsatellite Consortium
VChr8a	ACCCACTGCCACTCTCTCAT	AAATCTCCGGGATCCTTTTG	Cipriani et al., 2008
VMC9H4_2	GCAGTTGATGCAAAACAACAGT	CACATCATTCATTGATGAGGCT	Greek Vitis Database

Çizelge 3.3'ün devamı

UDV-046	CGTCATGGCTTCTGCTCAT	TGATACCACAGTCTGCTGATT TT	Di Gaspero et al. 2005
VChr19a	TGGATTACCAATTGCTCTCA	CGAGGATACCAACAAGAATGA A	Cipriani et al., 2008
VMC2B3	TCTGTGAATTTGCAGAGACGC	GGCTCAGACACAAACATGACC T	Vitis Microsatellite Consortium
Vchr4a	CAACTGGGATCCAAGACCTC	CAGCTTCACAGGTAACCACA	Cipriani et al., 2008
VVIM43	GGTGTGTTTTCTGTGTTTGT	AGGATACATGCTGAAGAATAT G	Merdinoglu et al. 2005
VMC1F10	CATACAAGGAATTTACCCCA	ACCTCTGTGCTGTCTAACCA	Vitis Microsatellite Consortium
VChr13c	AGACCAAGGCAAGGTACT	AACACCGTTAGGCATACTCCA	Cipriani et al., 2008
VChr13b	TAAGCATTCTGGGCTTTTCC	TCGTCTATATGCGACCTTGG	Cipriani et al., 2008
VVMD5	CTAGAGCTACGCCAATCCAA	TATACAAAAATCATATTCCTA AA	Bowers et al. 1996
VVIN54	CCATAAATCCAACACAACACTT	TCTTTATGAAGGTATTGAGCTG	Merdinoglu et al. 2005
VRZAG21	TCATTCACCTACTGCATTCATCGGC	GGGGCTACTCCAAAGTCAGTTC TTG	Sefc et al. 1999
VVIQ67	TTGCTTTCAAACATCTCTGGT	ATATGGGAATCAAGTTCAGAG T	Merdinoglu et al. 2005
VVIV37	TTTTCTCCCTACTCTTAACTTC	GGTAGACCTTGAAATGAAGTA A	Merdinoglu et al. 2005
GT183H07	TTGCCAGTATAAATCTCATTG	TGCGGGTCTATAAACATAAG	NCBI
VMCNG1E 1	GTTACGCCATTGCTTGCAATTT	TTCCCCCTCTGTAGGGCAGTT	Vitis Microsatellite Consortium
VVIS70	CAAGCAAGGGAATCAAGAATC	AGCTCAGCATTGAATTCTTTCT	Merdinoglu et al. 2005
VVIQ61	TGTAACCTGCTAATCTTTCTGGG	GGAACAATGCTGGATAAGATG A	Merdinoglu et al. 2005
VMC7B1	CACGCAATCTCTCATTTCACAAA	TGGTTTAGGTGACCCAACTTT A	Pellerone et al. 2001
VMC4D4	GTCTTGTAATGGAACCAACTGC	AGATTGACCTGGACCTGAAACT	Di Gaspero et al. 2000
VV5799	CAGCGCCCTAACAGCAAAT	TGTTGGCCTATTGCCCTATC	NCBI
VVMD21	GGTTGTCTATGGAGTTGATGTTGC	GCTTCAGTAAAAAGGGATTGC G	Bowers et al. 1999
VVIP33	AAACAATGCTGTAACTGGAT	AGGGGGTGTTTAGTAATTTCAA	Merdinoglu et al. 2005
VChr16a	TTCATGTGTGACACCCCTTT	AATGTCCATGCTTCAAAATACC	Cipriani et al., 2008
VMC4B7-2	ATATTATTGGGAGACTTGAGAA	ATAGATAAGCCTGCACTACACT	Vitis Microsatellite Consortium
VMC2H3	AACCCGTTAGAAGGAAAAGAAA	GACATCATGTATAAGATGAAG GCA	Vitis Microsatellite Consortium
VChr18c	TGAAGCCCATTACAACCAAA	TGCAAATTAAGCCAAGTGTG	Cipriani et al., 2008
VMC5E9	ATCCAGAGCCATAACAGATTCA	TCACAGCTTCTCATTACCCTT	Vitis Microsatellite Consortium
VVIN75	TGTTAAGTGAGATGCAAGAGAA	AGACAGACACAGTAAATATTG C	Merdinoglu et al. 2005
VChr7a	TCCGTGTCACAAAGAACATGA	ATTAGGGCACTGCCTCTTCC	Cipriani et al., 2008
VVIV04	TTTCTCCGAGAGCACAAAAAAC	CGGATTTTCTCCCTCTTCATT	Merdinoglu et al. 2005
VChr8b	TGTGTGATGTTTTGTGATGG	TGAACCAAGTTCTAATTACAT TTCC	Cipriani et al., 2008
VMC3G7	ATTGAGATCTAGTCGAGAGGAGCA	GAAGGCAAATACCTCGACCAG T	Vitis Microsatellite Consortium
VMC1B11	CTTTGAAAATTCCTTCCGGGTT	TATTCAAAGCCACCCGTCTCT	Vitis Microsatellite Consortium
VMC2H10	TTCATTTCTCAGTTTCTCGG	TGCCACCTACACTGTGAGATTC	Vitis Microsatellite Consortium
VMC2H4	ACCAGGTGTGCTATAAGAATC	TCTCTGGAACATCCAATCAAC	Vitis Microsatellite Consortium

Çizelge 3.3'ün devamı

VMC3B10	TAATTCAGCTTCAAGGGCACAG	CTGATGTGATTTCACCACACTC TC	Vitis Microsatellite Consortium
UDV-093	CCATGCATTGTTTTCTTTTCTT	TCCATTGAAAGGCTTTTGG	Di Gaspero et al. 2005
VRZAG83	GGCGGAGGCGGTAGATGAGAGGGCG	ACGCAACGGCTAGTAAATACA ACGG	Sefc et al. 1999
VMC5G1-1	GAACTAAATGAAGCTGGAAGA	AAATTGCTTTGAATGAACACTG	Vitis Microsatellite Consortium
VVIS58	GATTTTCAATTTTGGTCTGGGC	ATCATTCTACTACTTCTCCGG	Merdinoglu et al. 2005
VVIM42A	AATGGTGGTAAAGTCTTTGCTG	TCTTCCAATAATACCAGCACTG	Merdinoglu et al. 2005
UDV-022	CCCTAGTCCAAAGAGATCATGT	CGGAGATTTCATAGATACATAC ACACA	Di Gaspero et al. 2005
VChr3a	CAATCATATGAGCAAGGCATGT	GCTTCCTGAAATTTGTGTCCA	Cipriani et al., 2008
VMC8B11	TTATTTGGTAATTATTGGAGTGA	ATGATAACAAAAGCAAAATAG AA	NCBI
VMC16D4	TAGAATACACAGGCCATATACAA	GGTTAGGATGCATATAGAAGA AG	Vitis Microsatellite Consortium
VVMD7	AGAGTTGCGGAGAACAGGAT	CGAACCTTCACACGCTTGAT	Bowers et al. 1996
VVIN70	AATACCATAGAGGAGAAAGCAA	TTCTCTTCCTAGCCATTTTCT	Merdinoglu et al. 2005
VMC8B5	AAAGGAGACATCTGCATCAT	GCCTTGATCTTCCTTCTAAT	Adam-Blondon et al. 2004
VChr18b	ATACGCAAATGATCACAGCA	CATTTTCTCCATGGCCTCAT	Cipriani et al., 2008
VVIQ66	CTTGCACTGCTTTCAACAATGA	ACCAATATGATGACTTTAGCCA	Merdinoglu et al. 2005
UDV-040	GTATGGGTGGGTGGGTGTGT	GGTAACTGGTGTGGGAATCAA	Di Gaspero et al. 2005
VVIH01	GGGCTTTGCTGCGATATTTATT	ACACAGAATACGCAACTTTGC A	Merdinoglu et al. 2005
VVIV67	TATAACTTCTCATAGGGTTTCC	TTGGAGTCCATCAAATTCATCT	Merdinoglu et al. 2005
VVIM93	CAACGTTTATTGTAAGAGCCTC	GCTTAGCTTGCTAGAACTTGA	Merdinoglu et al. 2005
VMC8F4.2	GCGTAAAGCATATTCAAGCATT	GAAGTTAGCGCAGATGAAAGA T	Adam-Blondon et al. 2004
VChr18a	TTCCACCCGGTAAATATGA	CATCCAAACATCACGCTGAG	Cipriani et al., 2008
VMC9F2	AAACATGATCTGATGCAGGTGA	CAACCTGTTGATGAAAGGGAA A	Greek Vitis Database
VChr5a	ACTTGCGAGTATTTGTTCTAAA	CCGCTTGTGAAGGTATCCA	Cipriani et al., 2008
VVIN31	GTTGAATAGTGTCATGTTGTG	GGATAGAATCACATTTGTAGCG	Merdinoglu et al. 2005
VVIB66	CCACTAGTGGTCAGAAAAGAAG	TTGTATTGTGTGCCTCTTCTCA	Merdinoglu et al. 2005
VMC1E12	GTGTGACCTTATGCAACACCAA	GCTACCACATGCAGACAGGT AGT	Vitis Microsatellite Consortium
UDV-062	CTTGTAAGGCCAAACATGC	CCCAAAGGTTGTGACCTGAT	Di Gaspero et al. 2005
VVMD32	TATGATTTTTAGGGGGTGAGG	GGAAAGATGGGATGACTCGC	Bowers et al. 1999
VMC1G7	GGGTCCACATAGGTAGGAGATT	AGCCCATAAAGGCCTTAAAAA C	Vitis Microsatellite Consortium
VVIB22	CCCTCCAATCTACATCCATGAA	CAGTGTGTTTCTTGATGGTCCA	Merdinoglu et al. 2005
VMC2E11	CTCAGGAAGGCCAAGCAAATAA	TTTCGGCATTGATATTCAACCA	Vitis Microsatellite Consortium
VMC2D9	TGAATCCGAATTGGGTCT	TCAACCCTCGTCTTTAGTC	Vitis Microsatellite Consortium
VVMD25	TTCCGTTAAAGCAAAAGAAAAAGG	TTGGATTTGAAATTTATTGAGG GG	Bowers et al. 1999
UDV-100	TTAATGGTTTGGGGACCTTG	CCCCCAAAATAGAGGCTAACTT	Di Gaspero et al. 2005
VMC3D12	TGTCACGTGGACATAGGGAG	ATACCAAAAGGGAAGCAAAAG	Vitis Microsatellite Consortium
UDV-020	TGTTGGTGTGTGTTGTACGTG	TGTTGGCCTGATGTTGAGAG	Di Gaspero et al. 2005

Çizelge 3.3'ün devamı

VVIP22	TTATCTGCTTAGGGAAAACGTA	AACACACCTTGAGAAAATAGC A	Merdinoglu et al. 2005
VVIM03	ACTTTGCACTTCCCCTTAAAAA	ATGGATATGCTGATAGTGATGT	Merdinoglu et al. 2005
VVIP60	GGGGAATAACTAAATTGAGGAT	GTATGAATGCGGATAGTTTGTG	Merdinoglu et al. 2005
VVIP77	GGGTACGAATTCTCATGTTATC	CCATCTTCAATGAATCAATCCC	Merdinoglu et al. 2005
VChr7c	CACCTCTCTGCCACCCATTT	GGTTGGAAATTCTAGGGCATT	Cipriani et al., 2008
VMC5H2	ACTCATTCCAACACGGAAAGG	CATTGCACCACTGCTTTTAGAC T	NCBI
VMC3E12	ATCAAAGGCCTAGGATTTACC	TGTGGCAAGCATTGTCTATTCT	Vitis Microsatellite Consortium
VVIB19	TGGATGTTCTTAAACCTTAAGT	GCATAAGGGCATTGTGGTAAAT	Merdinoglu et al. 2005
VVIM11	AAAAGCCCATTAAAGTGCCAATG	CCTATGAACTTATTGGGCTCTT	Merdinoglu et al. 2005
VVIN52	TTTTTGTCGACAACCAAGAAGG	CCATACACCTCACTAAATTCAG	Merdinoglu et al. 2005
B003	AAGCCCTAGAACAGACAAC	CTCCGCCAGATAGTGCAAAG	NCBI
VVIV33	AAAGAAAACGAGTTTGAAGGC	TGGGTGTTCTTGCTACTATAAT	Merdinoglu et al. 2005
VVIO61	TTTGGACAAAGAGAGGAAATGG	GCCATGTAAAGCAGAAACTAT C	Merdinoglu et al. 2005
VVIP72	ACTTTGAAGGGATCACATGAAT	GCATACGGCCTTAATATATGTT	Merdinoglu et al. 2005
VVIN56	GCCAAGTAGCCAAATTATAGAA	TTTATGCTCCGTGGTTTGAAT	Merdinoglu et al. 2005
VMC7h2	AAGGGGAAAGGTAGGGTGAGAG	GTCCAATCAGGACCGATGAGA A	Pellerone et al. 2001
VMC1C10	CACAGCTGTTCCAAGTCCCA	ACAAGCCTTCCGCCACTCTC	Vitis Microsatellite Consortium
VChr16b	ATAAGGCGCTGACTTTGTGA	CCAGGAGATCAACCACCATT	Cipriani et al., 2008
VVIN73	TACTTCACCTAACAATACAGCT	AATACATAAGGTGAAGATGCC T	Merdinoglu et al. 2005
VVIV22	AATGAGCTCTTCCAGAATACTA	ACAAAAAAGACAAGAGGGGT T	Merdinoglu et al. 2005
VMC1A5	GGCTACAACAACCTCTATTACCT	AATATCTCATTTTTTCCCTC	Vitis Microsatellite Consortium
VVMD28	AACAATTCAATGAAAAGAGAGAG AGA	TCATCAATTTCTGATCTCTATT GCTG	Bowers et al. 1999
VMC1A12	ATGTAATTACCGGTCATGAGTT	TTCTTGTTTTGCCTATCTATCC	Vitis Microsatellite Consortium
VMCNG1E 4-2	CAAAAGTTTAAACAAGGGAGCG	TGAGTGAACCTTTTGAGACAGCA	NCBI
VMC2A10	GAAGACCCATGAAGTTGACCTG	AAGAATTCACCGGCCAACTATC	Vitis Microsatellite Consortium
UDV-124	GCATCTTCTTCTCCCAACC	AGTGCATTTGTCAAAGTCGTG	Di Gaspero et al. 2005
VMC8E6	AAGGGGTTCATTTGATTGAGAG	CTTCATCCATCCTTACAGCTTA GA	Adam-Blondon et al. 2004
VMC2H12	ATGCAACGAATTTTCAGAAGGG	GAAGTGCTGAACCTTTTTTGA G	Vitis Microsatellite Consortium
VVIB72	TCAACTTAATTTCTGATCCGA	CCAATTGATGGAGTATACTCAT	Merdinoglu et al. 2005
VRZAG62	GGTGAAATGGGCACCGAACACACGC	CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTC AGC	Sefc et al. 1999
UDV-059	GAAGCATTTCAGTTGGTGTAGC	CCCATCAAGCATTTTGTGC	Di Gaspero et al. 2005
VMC3C11-1	GATGGATGCAACTCGAAAAAGA	CAAAGCGTTTAGCCAAAATC A	Vitis Microsatellite Consortium
VRZAG15	GGATTTTGGCTGTAGTTTGTGAAG	ATCTCAAGCTGGGCTGTATTAC AAT	Sefc et al. 1999
VVIB01	TGACCCTCGACCTTAAAACTTT	TGGTGAGTGCAATGATAGTAG A	Merdinoglu et al. 2005
VMC8C2	AAGGAATTTGGATACTGAAGGT	TGAAGACATCTACGTAGGTGA A	Adam-Blondon et al. 2004
UDV-063	CAAACCTGCCCTTCCTTTTTG	TTGCATATGCCACAAGTGATT	Di Gaspero et al. 2005

Çizelge 3.3'ün devamı

VMC2A12	CTGAAGAGGAAGAAAAATGAAG	TTGGAACATTTTGATCAGAACA	Vitis Consortium Microsatellite
VMC6G1	TGCATAGTGCTGTAGGCCATTG	TCTGTCATTGCTGTCCCTTTCA	Vitis Consortium Microsatellite
VMC8G9	AACATTATCAACAACATGGTTTTA	ATATTCATCCTTCCCATCACTA	Vitis Consortium Microsatellite
VVIB54	GTCAAACATACATGCACCAACA	ACCAATGAAACCTAAAAGAGG G	Merdinoglu et al. 2005
VVIO02	CTAATTATCAAAATCCTGGGCC	GACTAGGATCTTGACATGACAT	Merdinoglu et al. 2005
VMC6g10	CATCATTTCATCCAAATTATGTAG	TTTAGTAGGTTAGGGATACCAG T	NCBI
VVIQ52	TAAAAGGATGGTAGATGACAGA	ACAGGAAAGTGTTCATGGTT A	Merdinoglu et al. 2005
VVIM01	GAAGAATTTTAGGAGTTGGTCA	GAAGAGAAGCAAGAAGTGATA A	Merdinoglu et al. 2005
UDV-095	TTTCGATTTTCGATTTTCGATTTA	TTGAGCACTAAAATACGCAAA AA	Di Gaspero et al. 2005
VVIN94	CTGATCTCAGTGCATATGTTGA	TCTTTAGTAGTGCTTCAACTCG	Merdinoglu et al. 2005
VMC5G8	CATGCACATCTTGTTCCTCTCT	CATCATTGCTTCCAAAAGTCTC	Vitis Consortium Microsatellite
VChr17a	AGGAAGAGGATTGATCACCA	GTGCCAACCCCTTGCACTATT	Cipriani et al., 2008
VVMD27	GTACCAGATCTGAATACATCCGTAA GT	ACGGGTATAGAGCAAACGGTG T	Bowers et al. 1999
UDV-090	TCAATGAGGATTGCATGGAC	GTCCAACACCAAATCCAGGT	Di Gaspero et al. 2005
UDV-085	CTCCCAGTAACCATGGAAG	CACTGGATGAGATGGCAGAA	Di Gaspero et al. 2005
UDV-038	CCCAAGATGAAAACCAAGAGA	GAAATAAGGCCTTGTACCACTT G	Di Gaspero et al. 2005
VMC4G6	CCTTGAAGAGATGAGTTTGCTA	TATTTAACTTTGTGCCTCTGCT	Di Gaspero et al. 2000
VMC8D11	TGTTGAAGCTAGCATTGTCTCC	ATTCGTCTTTATGCCCATTTGT	Vitis Consortium Microsatellite
VMC2B11	AAGAAGGTGACACCAGCGGA	CCCCTCACCTGTACCAAA	Vitis Consortium Microsatellite
VMC7h3	TCAGATATTGAAGAACCACACA	ACTAGAAAATGCACAATCTCCC	Pellerone et al. 2001
VVIN78	TAAAGGACCATCTCAATGTTT	ACTGAGTATGGTGAGTATTGAT	Merdinoglu et al. 2005
VVIP10	GAAACTGGGCTGTTATTGTTGA	TGCCTTGACATTGTTTCATCC	Merdinoglu et al. 2005
UDV-050	TAATGGCCCCCTTACAACACC	AGCTTCACTGCCAAAGGATG	Di Gaspero et al. 2005
VVMD24	GTGGATGATGGAGTAGTCACGC	GATTTTAGGTTTCATGTTGGTGA AGG	Bowers et al. 1999
UDV-032	CATGCGTATGTGTTAGAGAGCA	CATGGCATGTGCTTTGTTAT	Di Gaspero et al. 2005
VVIF52	AGGGAATTGAAGAGAAACTGTT	TCTGCCAAGCAAATGAAAGAA A	Merdinoglu et al. 2005
VMCNG2H 2.2	CCAAGTCCACGTTTTTGTTT	CTACTACACTTCACCTCAATTA TG	NCBI
UDV-026	GGCTTGTTGGATGGGTTTT	GATGTGTGAGTGCATGTTTGC	Di Gaspero et al. 2005
VVMD25	TTCCGTAAAGCAAAAGAAAAAGG	TTGGATTTGAAATTTATTGAGG GG	Bowers et al. 1999
UDV-058	GGGCTCTGTTGTGCACTGTA	TCATCCTCATTCTGCTGGTG	Di Gaspero et al. 2005
UDV-116	CACCACTTCTTCAAGTCCCACT	AAGATTCATGCACCCTAATGA	Di Gaspero et al. 2005
VMC2H9	AAGCAAAGCAGACCACAACG	CCCAGCTCCTTAGCTCCTCA	Vitis Consortium Microsatellite
VMC7A4	TAAGGTGGATTAGTTTTGGGTC	AAACTCCAAAGCATCTGATTCT	Pellerone et al. 2001
UDV-075	TCACCTGTAGACCCAACAACC	GCCTCAGACCAAAGGAATGA	Di Gaspero et al. 2005
VChr12a	GCTTTAAATGTTAGATTAGGGCACTC	TCCATGTTGTTTGCTCTTTCC	Cipriani et al., 2008
VMC4F3-1	AAAGCACTATGGTGGGTGTAAA	TAACCAATACATGCATCAAGG A	Di Gaspero et al. 2000

Çizelge 3.3'ün devamı

VVC34	AGGATGAAATGACATGGATG	ACCCATGTTGATGAGTTCAC	Decroocq et al. 2003
A105	CAAAAACCCAAAGAACAAAA	CCAGGCAAGGTCATTCTCAC	NCBI
VMC6d12	CTCTCTTTTCCGAAATTGGGGT	ATTTTCCTGGAAACAAAGTGG	Arroyo and Zapater 2004
VMC5C1	TTCCCTTATGGGTTAGGTTTC	AGATCTTCCACCCAATGACTT	NCBI
VChr11b	TGAGTTGAGCTATTGGCTTTGA	AGCAACTCTGTCCATCCATGT	Cipriani et al., 2008
VMC8G6	TCAGTAATCACGAGCTTCCCG	TGGAGTGGGGATATGGAAATG	NCBI
TT251F02	TCCCTTTTTTATCTCTATCT	ATGGGTATTTATGGACACAA	NCBI
VVIV67	TATAACTTCTCATAGGGTTTCC	TTGGAGTCCATCAAATTCATCT	Merdinoglu et al. 2005
FAM140	AAGGGAAGAGAGGTATCGG	CCATAAACGAGAAGAAACAAA	Huang et al., 2011
FAM110	GGCTATTGATTCTAGCTCTTA	TACAAGCCGTCTATCCATT	Huang et al., 2011
FAM96	ATCATCTTCTGCCTCGAATA	TGGTGAAGGTTAGTGTGATCT	Huang et al., 2011
VVIQ52	TAAAAGGATGGTAGATGACAGA	ACAGGAAAGTGTTCATGGTT A	Merdinoglu et al. 2005
FAM63	AAATGCACTCGTCTCTTCAT	CGCTTGACCTTACATACTCC	Huang et al., 2011
VMC1G3-2	GATAGTTACCATACTTAGTCGGA	ACTTAGCTTCAGAAGAAAATA GA	Vitis Microsatellite Consortium
VChr15a	CAATCCCAACAGTTCCATGA	CGTTTTCTCCTTCGGACAAG	Cipriani et al., 2008
UDV-104	AATTTCTAGTGCAAACCACA	AAGCGCCATGTTCCTAAAA	Di Gaspero et al. 2005
FAM141	GAACCATAGACAAGACAAACAA	AAGAGAGAAGCAACGAAGAAC	Huang et al., 2011
FAM91	ATTATCGCAACCAAGATGTC	ATCAGCCTCTGTAAGTGGAA	Huang et al., 2011
FAM12	GAGAGAAGAGTGGTGGTGAA	CTCCGTGTAGCACCTTAAAT	Huang et al., 2011
FAM45	ATATAAGCCAAAGGTTTACA	CAAAGGATGGAAAGCATAAG	Huang et al., 2011
VRZAG112	CGTTTAAAGCCAGCTGAATCTTGGG	TGGCTCCATACTGCTTCACGTA GGC	Sefc et al. 1999
FAM18	AGAGAGCAAAGGAACATGAA	ACAAACCCTAACCTTAGCTC	Huang et al., 2011
FAM68	AAACCCTACCGAAGTCTCTC	CTTCTTCTTCGCTCTGTTA	Huang et al., 2011
VVIQ25	ATATTAACGAACAAAGGCACCA	GCAAAATATCCTGATATCGGAT	Merdinoglu et al. 2005
FAM122	AGAGGAAGAAGCACAAATCTC	AAAGAGTGGAGGAATCGG	Huang et al., 2011
FAM116	CTTCTATTTCTGGCACCTT	CTTCTGTGGAGGAAGAGTTG	Huang et al., 2011
FAM70	TGGCAATAGAAGAGGAGTGT	AACAACACTTCCAGTATGGG	Huang et al., 2011
VChr17b	CCAAAGCCGACAACCTTCTTC	CCGCCATAAACCTTAAACCT	Cipriani et al., 2008
VVIP31	TATCCAAGAGACAAATCCCAC	TTCTCTTGTTCCTGCAAATGG	Merdinoglu et al. 2005
VChr19b	TTTGTTAGGTGTTGTTACCCGTTA	ATCTTCTGGCCATGTGGTTC	Cipriani et al., 2008
FAM24	TCCATCTTCTTCTCGTGTTC	TTTGAAGAAACAGGGACTTG	Huang et al., 2011
VVIU20	ACAACCTTAATGCTTCTACCAA	TCACCATGGAGATTTTCTGTAG	Merdinoglu et al. 2005
VRZAG89	CCGCATCTTACCCATTAACAGTTTC	CCACAAGCTGCTTACTCCGCTC CGG	Sefc et al. 1999
FAM42	AAATTGATTTTCATCAGTGCC	CTATCATTTGTCGCTTTCCTC	Huang et al., 2011
VVIQ52	TAAAAGGATGGTAGATGACAGA	ACAGGAAAGTGTTCATGGTT A	Merdinoglu et al. 2005
VVMD8	TAACAAACAAGAAGAGGAAT	AGCACATCCACAACATAATG	Bowers et al. 1996
FAM135	AGGGTTGTGCTCTCTCTCAA	GATACTTCATCTGTTGCTTCTG	Huang et al., 2011
p3_VvAGL1 1	CTCCCTTTCCCTCTCCCTCT	AAACGCGTATCCCAATGAAG	Mejia et al., 2011

Çizelge 3.3'ün devamı

UDV-023	AATTTGGGAAAACAACTATACATACA	GAATCCGCACTTGAAGCATT	Di Gaspero et al. 2005
UDV-110	TCTTGGTGATGACTTATTTGCATT	AGCACTCCGGGCTTTTAACT	Di Gaspero et al. 2005
VVIC50	TTGTTAGCCACAATTCAAGAGG	TGTTATGGACAAGATGAAAGGC	Merdinoglu et al. 2005
VVIV37	TTTTCTCCCTACTCTTAACTTC	GGTAGACCTTGAAATGAAGTA	Merdinoglu et al. 2005
FAM92	TTGTACTTTGGTGACCTTT	ACCTTTGATAACCATTTGGG	Huang et al., 2011
VChr1a-2	TTCATACCTTGCAGGGAGCTA	TGGATGAACCAAACACACCT	Redesigned
FAM140-2	AAGGGAAGAGAGGTATCGG	AGGCCAAAACACAACCAAAC	Redesigned
VVMD25	TTCCGTAAAGCAAAGAAAAAGG	TTGGATTTGAAATTTATTGAGGG	Bowers et al. 1999
TT251F02-2	CGATCTCTCCCTCTCCCTCT	ATGGGTATTTATGGACACAA	Redesigned
VChr15a-2	CAATCCCAACAGTTCCATGA	GCTCGACAATGGGTATGTGTT	Redesigned
VVIV67	TATAACTTCTCATAGGGTTTCC	TTGGAGTCCATCAAATTCATCT	Merdinoglu et al. 2005
VMC8G3-2	TAGGGCGGAGATTTAACAGTCA	TCGATGATCATTGTGCCATT	Redesigned
UDV-009	CTCTCTAGTAATCCATAACAATGGTG	GGGTTTAATCCTCCATTTTCC	Di Gaspero et al. 2005
VChr18a-2	TTCCACCCGGTAAATATGA	GCTTCTGCATGGAGAGTTCA	Redesigned
UDV-062-2	CTTGTAAGGCCAAACATGC	GGCTAAACCCTCCTTTTGGA	Redesigned
VRZAG29	ATAACCAGGACAAGTTATCAAGCC	ACCCAATTGACCATCTTTTATGCTG	Sefc et al. 1999
VMC2D9-2	TGAATTCCGAATTGGGTCT	CCAGCCTTTTCTGAAATGAA	Redesigned
VChr17b-2	CCAAAGCCGACAACCTTCTTC	CAACTTGCTGTGGCACGTAT	Redesigned
VChr19a-2	TGGATTACCATTTGCCTCA	GTGGTAATGGCCCTCGAGTA	Redesigned
VVIM03-2	ACTTTGCACTTCCCTTAAAAA	AACTTGGTGATGGTGCAAT	Redesigned
VMC16D4-2	CCATGGAAAGTTTGAAATGA	TACGACTGGCACAAGCAAC	Redesigned
VVIP72-2	ACTTTGAAGGGATCACATGAAT	ATGTGGGTTGAGCTCCAGT	Redesigned
VRZAG62	GGTGAAATGGGCACCGAACACACGC	CCATGTCTCTCCTCAGCTTCTCAGC	Sefc et al. 1999
VVIS58-2	GATTTTCAATTTTGGTCTGGGC	CTTCCGGGTAGTGTGACAGG	Redesigned
VVS3-2	TGCCCTATCAATTAGTTCACCTA	TGTAGATGAATTAGCATTACCA	Redesigned
VVIN75-2	TGTTAAGTGAGATGCAAGAGAA	TTGCAATGCAGTATGGTGCT	Redesigned
VChr8a-2	ACCCACTGCCACTCTCTCAT	CACATGACTTTTTCTTTGTTGA	Redesigned
VVIH54	CCGCACTTGTGTTGAATTCAG	CAAACCGTTTTTACACCAGCAG	Merdinoglu et al. 2005
FAM70-2	GAAACACAACCCACAATCACA	AACAACACTTCCAGTATGGG	Redesigned
VVIQ25-2	ATATTAACGAACAAAGGCACCA	CACCTTGGGGGAAATTGAA	Redesigned
VVIB22-2	CCCTCCAATCTACATCCATGAA	GGACCATGGAACGACTGTTT	Redesigned
VVIV37	TTTTCTCCCTACTCTTAACTTC	GGTAGACCTTGAAATGAAGTA	Merdinoglu et al. 2005
VMC4H2	TTTTGTAAATAACTCTTCAAA	ATATTCCAACAACATCCT	NCBI
VVIS70-2	CAAGCAAGGGAATCAAGAATC	GGTCCCAGACTGTGAAGCTC	Redesigned
VVIM25	CTGACTGACCCTGACCTTTA	GTTTTCTCTCACTTTCACACG	Merdinoglu et al. 2005
RTAChr3-17a	GGAGCCATTAGAAAGAATCG	TACTGAAGTTGATGCCCTTTGTC	Zarouri et al (current publication)
RTAChr3-19b	AGTTCCTCCAACCCTTGTTTA	GCCTTCTCTGCTCTCTTTTG	Zarouri et al (current publication)

Çizelge 3.3'ün devamı

RTAChr4-9a	CAACTAATGTCTCATCCGCA	CTTTACCTCCTTGTCTCTCCAT	Zarouri et al (current publication)
RTAChr13-20a	GGCATACTACAGACTATCCTTCA	ATCACCCAAAACTCCCAT	Zarouri et al (current publication)
RTAChr15-4a	GCTTGCCGAGAGTTTTGC	GGATGGCGGATGCTTACA	Zarouri et al (current publication)
VVIV67	TATAACTTCTCATAGGTTTTCC	TTGGAGTCCATCAAATTCATCT	Merdinoglu et al. 2005
VVIP08	CTACACAGCCCAAGCACATA	AAGAACAAGTCCAAGTAAGG A	Merdinoglu et al. 2005
RTAChr19-11b	TAGTGCTACTCCACATGCACC	GGTATCAAAAAGAAGACCGTGT G	Zarouri et al (current publication)
RTAChr1-14a	TAACCTAAAACCTCCCTCTCCA	ACCCGATCCAATATGTCAAG	Zarouri et al (current publication)
RTAChr3-15a	GTGCAACCACCCAGTTTT	CCATTCTCTATATTACACACCT ACG	Zarouri et al (current publication)
FAM65	CCCTATCCAGCAGACACTAC	TTCATCTGGCTATACATCCC	Huang et al., 2011
VVIQ52	TAAAAGGATGGTAGATGACAGA	ACAGGAAAGTGTCAATGGTT A	Merdinoglu et al. 2005
FAM62-2	ACTTGGACTTCCAGAAGATG	GTCAGCAATGTTGTCATTTG	Redesigned
RTAChr15-3b	GAGTTACAATGGGTAAGAGGGA	ACCATCAAATTATAGGGACAC C	Zarouri et al (current publication)
RTAChr16-6b	GATAACTTGGGATGGAAATGGA	GGAGAGGAAATCTCTGTCATG G	Zarouri et al (current publication)
RTAChr17-15a	CAAACCTACAGGAACCGCAG	TTGAAGCCCTATTCTTATCTCC	Zarouri et al (current publication)
RTAChr2-11a	CTTCTGTTCCCTACATCCTTTG	TTGTTTTGCCTTGTCTTTG	Zarouri et al (current publication)
UDV-021-2	CGGTTGTCCAACAAGCAC	TGCGAGCACAAGAACTAGC	Redesigned
VRZAG67	ACCTGGCCCGACTCCTCTTGATGC	TCCTGCCGCGGATAACCAAGCT ATG	Sefc et al. 1999
RTAChr13-13b	GAAAAGTGTAAGGGGTATGC	CAGACAGCATGGAATGGAC	Zarouri et al (current publication)
RTAChr15-1b	TGAGAGCTTTGTGGATTCTAGG	GAAACAGTCGTTGGTCAATGTA	Zarouri et al (current publication)
RTAChr15-7a	TTTAGGTGGGAAGAATAGAGA	GTCCTGTCATTTTGTGTTATGC	Zarouri et al (current publication)
VMC1E11-2	GGGGTCCAATGTGGACTTTATC	TCTGAAGTACTCACTCCGCTAT TTT	Redesigned
RTAChr19-16b	GTCCTCTCATATCCAACAACCTATG	TGGGTGGAGTTTGTAAATGAAC	Zarouri et al (current publication)
VVIV36	GGTAATCCTTTAGGGTAGCTTG	TCAATTTCAACAGCAAGAGC	Merdinoglu et al. 2005
RTAChr9-13a	AGTTACAAGGAAGAAACACCC	GGACTAATATGGCCGTC AAC	Zarouri et al (current publication)
VRZAG67	ACCTGGCCCGACTCCTCTTGATGC	TCCTGCCGCGGATAACCAAGCT ATG	Sefc et al. 1999
RTAChr13-16a	TCTGTTGTCCAAATGCCTC	TGCAAAGAGTGTGGAGATAAA C	Zarouri et al (current publication)
RTAChr17-15b	CGACAACCTCTGATACACGATA	GCCATCAACGAGGACTACTAA C	Zarouri et al (current publication)
UDV-134-2	CTAAGAAAAGATTGTTTGAGTGAAA A	AACCAACTTAAGGAGGAGTGT TAGA	Redesigned
VVMD27	GTACCAGATCTGAATACATCCGTAA GT	ACGGGTATAGAGCAAACGGTG T	Bowers et al. 1999
RTAChr7-9	CCCATTCCTTAGATGACTCTGT	ATACCAATACCGTCCCTTTTC	Zarouri et al (current publication)
FAM104	TGGATCCTATTCTCTCTCA	AAATATTTCTAATACCCGACT	Huang et al., 2011
RTAChr11-11b	GCTTGTAGGTCTTTCTTGC	GCCATCTGTTTCAGGTCAA	Zarouri et al (current publication)
RTAChr13-23b	AAACATCAACTACCCACTGCTT	AATCACTCTTTTGGCACCTC	Zarouri et al (current publication)
UDV-021	TTGGATGTCCAACACACACA	TGCGAGCACAAGAACTAGC	Di Gaspero et al. 2005
UDV-128	TGCTTCAGAAATGAAGTTCGTC	TGGATGTTCTATGTGATGGA	Di Gaspero et al. 2005

Çizelge 3.3'ün devamı

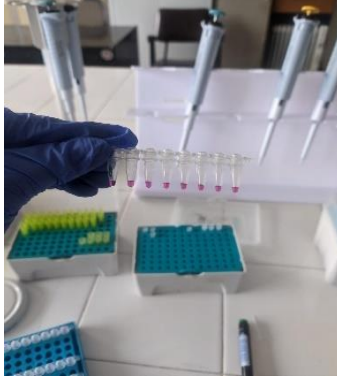
FAM62	CTAATCTCCAGCGAAACAAC	GTCAGCAATGTTGTCATTG	Huang et al., 2011
VMC1E11	GGGGTCCAATGTGGACTTTATC	CCATGAACAACAAACATGGCT T	NCBI
UDV-134	CTAAGAAAGAATTGTTTGAGTGAAA A	GGCCTAGCCAACCTTTTAAACT A	Di Gaspero et al. 2005
VVS3	TGCCCTATCAATTAGTTCACCTA	TCGACTTTGATATATTGATGAT T	Thomas and Scott 1993
VChr2b	CCTCCTGCGAACAAGTCTGT	GTTGCTGGATTTGTGGAAGG	Cipriani et al., 2008
VChr2a	GGTCCGCTTTTGAGAAGAAA	CATGTGAACGCGCTAAACAC	Cipriani et al., 2008
VChr6a	AATGTGAGCTTTGGGCTTG	CCAATTCTTCCATACCTCAAAA	Cipriani et al., 2008
VChr18d	TAGGTACGGTCCCAATGACC	TCGATCGATCATCTTCATCTCT	Cipriani et al., 2008
VChr17c	CCATGTTCCATCCCACTTCT	CGTACGTACAAAATCTTGGGAT AC	Cipriani et al., 2008
VChr10b	CCATGTCCAACCGAAACAAC	CAGAAATCTCGTGTCGCTCA	Cipriani et al., 2008
VChr11a	GGGATAAGGTGAAAGCCTCA	ATGCTTGGTATCTGGCAACC	Cipriani et al., 2008
VChr14a	AACCTGGGATGCTGAGAATG	TGCATGCATATGGATCTTGT	Cipriani et al., 2008
VChr14b	CAATTGAACACTTACACTACAATCA	TGTGACTAAAGGTTATTAGCAG GA	Cipriani et al., 2008
VChr13d	AATCTGACGCCATGAGGAAG	TCGTCTATATGCGACCTTGG	Cipriani et al., 2008
VChr15b	GGGTCCAATTCCTTTGGTT	CGAAAGACTCAATTGCCACA	Cipriani et al., 2008

SSR analizleri için uygulanan olan PCR koşulları, PCR protokolü ve döngü koşulları Peterlunger vd. (2003), Çakır ve Söylemezoğlu (2018) çalışmalarından bazı revizyonlar yapılarak uygulanmıştır. Reaksiyon koşulu Çizelge 3.4' de belirtilmiştir. Annealing dereceleri primerlere göre değiştirilmiştir. PCR cihazı olarak BlueRay Gradient PCR (Thermal Cycler) kullanılmıştır.

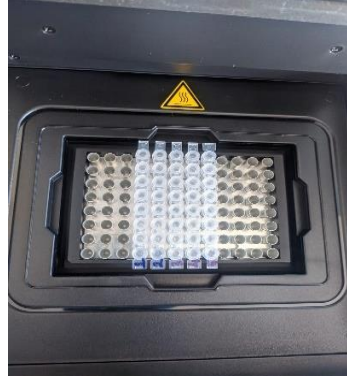
Çizelge 3.4. SSR analizleri için uygulanacak olan PCR koşulları

Kullanılan Kimyasal	Her Örnek için kullanılan miktar
2X PCR master mix	10 µl
Forward Primer (20 µM) (5 µl)	2 µl
Revers Primer (20 µM) (5 µl)	2 µl
ddH ₂ O	1 µl
DNA (50 ng/µl)	2 µl
Toplam Hacim	17 µl

94°	→	3 dk ön denatürasyon	} 35 döngü
94°	→	30 sn denatürasyon	
55°	→	30 sn bağlanma	
72°	→	1 dk polimerizasyon	
72°	→	10 dk son uzama	



(a)



(b)



(c)



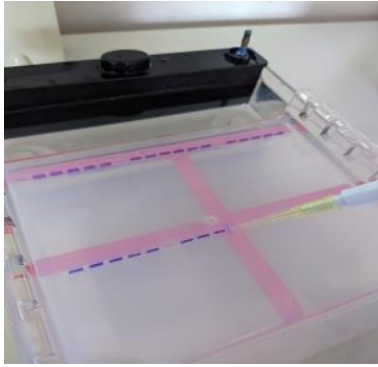
(d)



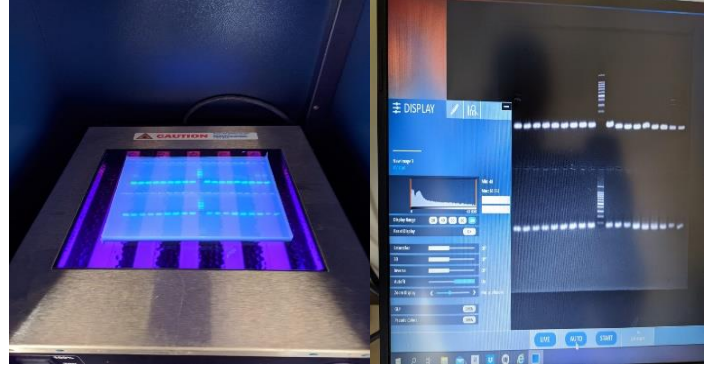
(e)



(f)



(g)



(h)

Şekil 3.4. (a) PCR ürünü hazırlanması; (b) PCR örnekleri cihaza konulması; (c) Agarın hassas terazi ile ölçülmesi; (d) 195 ml saf su, 5 ml TAE Buffer ve 4gr agarın beherde karıştırılması; (e) Jelin mikrodalgada eritilmesi; (f) Jelin tepsiye dökülmesi; (g) PCR örneklerin kuyucuklara yerleştirilmesi; (h)PCR ürünlerin görüntülediği ve fotoğraf çekildiği cihaz (BioVision)

Ebeveynler ve 97 adet F1 genotipi için PCR işleminden sonra PCR ürünleri %2,5'lik agaroz jel içerisinde 100 volt elektrik akımı altında 2 saat süreyle yürütüldü. BioVision UV Görüntüleme cihazı (Vilber UV Jel Görüntüleme Sistemi) ışığı altında görünebilmesi için DNA interkalar boya (Xpert Green DNA Stain Direct -GRiSP) kullanılmıştır. Şekil 3.4'de yapılan işlemler görülmektedir. Elde edilen bantların büyüklüklerini belirlemek amacıyla 100 bp'lik DNA ladder kullanılmıştır.

3.2.2.3. Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea*) ile İlişkili QTL Belirleme

Proje kapsamında ebeveynler ve haritalama popülasyonunda testlenen SSR markörünün vermiş olduğu alel verileri genetik bağlantı analizlerinde kullanılmıştır. Genetik bağlantı ve QTL analizlerinde sadece analizleri Genetik bağlantı analizleri Grattapaglia ve Sederof (1994) tarafından tanıtilen yalancı test çaprazlaması stratejisi (pseudo test cross strategy) kullanılarak yapılmıştır. Bu yaklaşımda popülasyon anne ya da babanın heterozigotluk durumuna göre (lm x ll) ya da (nn x np) kodları kullanılarak skorlanmıştır. Anne ve babanın her ikisinin de heterozigot olduğu durumda popülasyon (hk x hk) kodu kullanılarak skorlanmıştır.

Her iki markör için tüm bu skorları içeren bir dosya oluşturularak ve dosya Joinmap 4.0 (Van Ooijen 2006) programı kullanılarak analiz edilmiştir. Bağlantı grupları 3'ten büyük LOD değeri kullanılarak belirlenmiştir. Markörler arası uzaklık kosambi haritalama fonksiyonu kullanılarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada anne ve baba için iki ayrı genetik bağlantı haritası oluşturulmuş ve bu iki harita ortak açılım gösteren markörler kullanılarak birleştirilip birleştirilmiş genetik harita (integrated map) oluşturulmuştur. Birleştirme işlemi Joinmap 4.0 programı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.2.4. Kantitatif karakter lokusu (QTL) analizleri

Verilerin analizi için, jel görüntüleme sistemi kullanılarak elde edilen görüntülerden, bant varlığı durumunda (1), yokluğu durumunda (0) değerleri verilerek skor edilmiştir. Elde edilen markır verileri PAST (Paleontological Statistics) (<http://folk.uio.no/ohammer/past/>) bilgisayar paket programında analiz edilmiştir. Genotipler arasındaki benzerlikler elde edilen UPGMA dendrograma ve komşuluk ilişkisi analizine (neighbour joining) göre belirlenmiştir. Benzerlik indeksleri Dice (1945)'e göre hesaplanmıştır. Ayrıca, iki boyutlu grafik üzerinde genotipler arasındaki mesafeleri gösteren Temel Bileşenler Analizi (Principle Component Analizi=PCA) aynı program kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada kullanılmış olan 350 adet SSR primerlerin polimorfizm oranları Smith vd. (1997)'ne göre, primerlerden elde edilen polimorfik bant sayılarının, toplam bant sayısına bölünüp 100 ile çarpılması ile bulunmuştur. Yine, PIC (Polymorphism information content) değerleri Smith vd. (1997)'nin belirttiği gibi, aşağıdaki formüle (3.2.) göre hesaplanmıştır.

$$PIC = 1 - \sum f_i^2$$

(3.2.)

Polimorfizmin az olması nedeniyle haritalamada yeterli çözünürlük elde edilemediği için Kruskal-Wallis analizi yapılmıştır. Kruskal Wallis varyans analizi, normal dağılım göstermeyen gruplarda üç veya daha fazla sayıda grubun ortancaları arasındaki farklılığın anlamlılığını test amacıyla kullanılan parametrik olmayan bir yöntemdir. Sıralı (ordinal) veriler ile yapılan en az 3 grubun bulunduğu çalışmalarda da tek yönlü varyans analizinin parametrik olmayan karşılığı olan Kruskal Wallis varyans analizi kullanılabilir (DSinno 2015). Kruskal Wallis testi, parametrik olmayan iki grup hipotez testlerinden Mann-Whitney U yönteminin genişletilmiş biçimidir. Kruskal Wallis varyans analizi testi sonrası gruplar arası farklılık tespit edildiğinde, bu farklılığın nereden kaynaklandığını belirlenmesi gerekir. Farkı belirlemek için kullanılan çoklu karşılaştırma yöntemleri ve düzeltme yöntemlerinden hangisinin/hangilerinin kullanılacağına karar vermek oldukça önemlidir (McKight 2010).

QTL analizlerinde haritalanan her bir SSR markörünün patolojik test sonuçlarıyla olan ilişkileri değerlendirilmiştir. QTL'lerin belirlenmesi için analizlerin 1000 kez tekrarlandığı permutasyon testi uygulanmış ve LOD skoru için eşik değeri belirlenmiştir. Anlamlı ilişkide olan markörlerin yer aldığı lokus QTL olarak haritalanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Haritalama Popülasyonunun *Botrytis cinerea*'ya Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi

Çalışmada kurşuni küfe dayanıklılık amacıyla oluşturulan 97 adet F1 popülasyonuna ait genotipler ile anne ve baba dahil olmak üzere 99 adet genotip kullanılmıştır. Haritalama popülasyonunda kullanılan genotipler resiprokal melezlemeler sonucunda elde edilmiştir. Resiprokal melezleme, iki hat arasında melezlemeler karşılıklı olarak yapılmaktadır. Tetraploid yapıdaki Kyoho ve diploid yapıdaki Yalova incisi melezlemeleriyle genotipler aynı tutularak sadece eşeylerin yerleri değiştirilerek melezleme yapılmıştır. Resiprokal melezleme sonucu 97 F1 genotip elde edilmiştir.

Çizelge 4.1'de genotiplerin ploidi seviyeleri ve direnç seviyeleri verilmiştir. Resiprokal melezleme sonucu 39 adet diploid yapıda genotip, 50 adet triploid yapıda genotip, 8 adet tetraploid yapıda genotip elde edilmiştir. Yalova incisi (♀) ve Kyoho (♂) melezlemesiyle 36 adet diploid yapıda genotip, 16 adet triploid yapıda genotip ve 4 adet tetraploid yapıda genotip elde edilmiştir. Kyoho (♀) ve Yalova incisi (♂) melezlenmesiyle 3 adet diploid yapıda genotip, 34 adet triploid yapıda genotip ve 4 adet tetraploid yapıda genotip elde edilmiştir.

Melezlemeler sonucu elde edilen genotiplerin hastalık direnç seviyeleri istenilen düzeydedir. Genotiplerin Yalova incisi (♀) ve Kyoho (♂) melezlemesiyle elde edilen bireylerin hastalık direnç seviyeleri 22 genotip HR, 17 genotip R, 10 genotip HS ve 5 genotip S seviyesindedir. Kyoho (♀) ve Yalova incisi (♂) melezlenmesiyle elde edilen bireylerin hastalık direnç seviyeleri 18 genotip HR, 13 genotip R, 9 genotip HS ve 2 genotip S seviyesindedir. Bir kısmı Yalova incisi genotipinin hastalık hassasiyeti alırken, bir kısmı Kyoho genotipinin hastalık dayanımını almıştır.

Çizelge 4.1. Genotiplerin Ploidi Seviyeleri ve Direnç Seviyeleri

Örnek sayısı	Genotip	Melezleme Kombinasyonu	Ploidi	SI (İzolat-1) (Referans)	SI (İzolat-2)	Direnç Seviyesi
1	Kyoho (K)		Tetraploid	1,4	1,6	HR – R
2	Yalova İncisi (Yİ)		Diploid	5,2	5,8	S – HS

Çizelge 4.1'in devamı

3	1	Yİ x K	Diploid (YİxK)	6,2	6,6	HS
4	2	Yİ x K	Diploid	1,4	1,4	HR
5	3	Yİ x K	Diploid	1,8	1,6	R
6	4	Yİ x K	Diploid	1,0	1,2	HR
7	5	Yİ x K	Diploid	1,8	1,6	R
8	6	Yİ x K	Diploid	1,4	1,0	HR
9	8	Yİ x K	Diploid	1,8	1,6	R
10	9	Yİ x K	Diploid	1,2	1,0	HR
11	10	Yİ x K	Diploid	1,0	1,4	HR
12	11	Yİ x K	Diploid	1,6	2,0	R
13	12	Yİ x K	Diploid	1,4	1,0	HR
14	13	Yİ x K	Diploid	1,0	1,2	HR
15	14	Yİ x K	Diploid	1,2	1,4	HR
16	15	Yİ x K	Diploid	1,6	1,6	R
17	16	Yİ x K	Diploid	6,0	6,8	HS
18	17	Yİ x K	Diploid	2,4	2,6	R
19	18	Yİ x K	Diploid	3,2	3,4	R
20	20	Yİ x K	Diploid	5	5,2	S
21	21	Yİ x K	Triploid	2	2,8	R
22	22	Yİ x K	Tetraploid	4,6	5,2	R
23	23	Yİ x K	Tetraploid	1	1,4	HR
24	24	Yİ x K	Diploid	1,6	1,8	R
25	25	Yİ x K	Diploid	4,4	4,6	S
26	26	Yİ x K	Diploid	1,4	1,6	HR – R

Çizelge 4.1'in devamı

27	27	Yİ x K	Triploid	4,4	4,4	S
28	28	Yİ x K	Diploid	6,2	6,6	HS
29	29	Yİ x K	Diploid	1,2	1,2	HR
30	30	Yİ x K	Diploid	1	1,2	HR
31	31	Yİ x K	Diploid	5,6	6	HS
32	32	Yİ x K	Diploid	6,2	6,6	HS
33	33	Yİ x K	Diploid	3,6	4	S
34	34	Yİ x K	Diploid	3,2	3,4	R
35	35	Yİ x K	Triploid	5,8	6,2	HS
36	36	Yİ x K	Diploid	1,8	2	R
37	37	Yİ x K	Triploid	2,2	2,2	R
38	38	Yİ x K	Diploid	2,4	3	R
39	39	Yİ x K	Triploid	1,4	1,2	HR
40	40	Yİ x K	Triploid	2,2	2,6	R
41	41	Yİ x K	Tetraploid	2	2,2	R
42	43	Yİ x K	Diploid	1,4	1,6	HR – R
43	44	Yİ x K	Triploid	1,6	2	R
44	46	Yİ x K	Triploid	3,8	4	S
45	47	Yİ x K	Triploid	6,2	6,6	HS
46	48	Yİ x K	Triploid	6,6	6,2	HS
47	49	Yİ x K	Triploid	6,4	6	HS
48	51	Yİ x K	Diploid	3,8	4,2	R
49	52	Yİ x K	Triploid	1,2	1,4	HR
50	56	Yİ x K	Triploid	1,8	2,2	R
51	58	Yİ x K	Diploid	1,4	1,6	HR – R
52	59	Yİ x K	Diploid	5,6	5,8	HS
53	60	Yİ x K	Tetraploid	1,2	1,4	HR
54	61	Yİ x K	Triploid	1,2	1,2	HR

Çizelge 4.1'in devamı

55	62	Yİ x K	Triploid	1	1	HR
56	63	Yİ x K	Triploid	1	1,2	HR
57	64	KxYİ	Triploid	1	1,4	HR
58	65	YİxK	Triploid	1,2	1	HR
59	66	YİxK	Diploid	6,8	6,6	HS
60	67	KxYİ	Triploid	6,6	6,6	HS
61	68	KxYİ	Triploid	5,6	5,8	HS
62	69	KxYİ	Diploid	3,8	4	R
63	70	KxYİ	Triploid	1	1,4	HR
64	71	KxYİ	Triploid	1	1,2	HR
65	72	KxYİ	Triploid	1,2	1,2	HR
66	73	KxYİ	Triploid	4,2	4,4	R
67	74	KxYİ	Triploid	4,6	4,6	R
68	75	KxYİ	Triploid	1,6	18	R
69	76	KxYİ	Triploid	1,4	1,4	HR
70	77	KxYİ	Triploid	2,2	2,4	R
71	78	KxYİ	Triploid	2,4	2,2	R
72	79	KxYİ	Triploid	1	1,2	HR
73	80	KxYİ	Triploid	1,6	2	R
74	81	KxYİ	Triploid	2,6	3	S
75	82	KxYİ	Diploid	1,2	1,4	HR
76	83	KxYİ	Triploid	1	1,4	HR
77	84	KxYİ	Triploid	1,2	1,2	HR
78	85	KxYİ	Triploid	1,2	1,4	HR
79	86	KxYİ	Triploid	1,8	2	R
80	87	KxYİ	Triploid	6,6	6,4	HS
81	88	KxYİ	Tetraploid	5,4	5,8	S – HS
82	89	KxYİ	Triploid	1,2	1,4	HR
83	90	KxYİ	Triploid	1	1	HR
84	91	KxYİ	Triploid	1,4	1,2	HR
85	92	KxYİ	Tetraploid	3,4	3,6	R

Çizelge 4.1'in devamı

86	93	KxYİ	Triploid	5,6	5,4	HS
87	94	KxYİ	Triploid	6,2	6,6	HS
88	95	KxYİ	Diploid	1,8	2	R
89	96	KxYİ	Triploid	4	4,2	R
90	97	KxYİ	Tetraploid	1,4	1,2	HR
91	98	KxYİ	Triploid	6	6,4	HS
92	99	KxYİ	Triploid	3	3,2	R
93	100	KxYİ	Triploid	1	1,4	HR
94	101	KxYİ	Triploid	3,6	3,8	S
95	102	KxYİ	Tetraploid	6,4	6,6	HS
96	103	KxYİ	Triploid	3	3,4	R
97	104	KxYİ	Triploid	1,2	1,4	HR
98	105	KxYİ	Triploid	1,4	1,8	HR – R
99	106	KxYİ	Triploid	1	1,4	HR

4.2. Haritalama Popülasyonunun SSR Markörle Taranması

Çalışmada, kurşuni küfe dayanıklılık amacıyla oluşturulan F1 popülasyonuna ait 99 genotip üzerinde 350 adet SSR primeri kullanılarak, popülasyondaki bireylerin anne (hassas)-baba (dayanıklı) ile olan ilişkileri araştırılmıştır. Kullanılan SSR primerlerinin toplam allel uzunluğu (bp), polimorfik allel uzunluğu (bp), monomorfik allel uzunluğu(bp), amplifikasyon elde edilemeyenler Çizelge 4.2'de görülmektedir. Çalışmada kullanılan 350 adet SSR primerinden 19 tanesinden polimorfizm sağlanırken, 313 tanesi monomorfik bulunmuştur. 18 tanesinden ise amplifikasyon elde edilememiştir.

Çizelge 4.2. Kullanılan SSR primerlerinin toplam allel uzunluğu (bp), polimorfik allel uzunluğu (bp), monomorfik allel uzunluğu(bp), amplifikasyon elde edilemeyen

Primer sayısı	Primerin adı	Polimorfik		Monomorfik	Amplifikasyon elde edilemeyen
		Toplam allel uzunluğu (bp)	Polimorfik allel uzunluğu (bp)	Allel uzunluğu (bp)	
1	VMC2E11			110	

Çizelge 4.2'nin devamı

2	VMC3E5	120-130	120-130		
3	VVIN16			170-180	
4	VMC3D12	200-250	250		
5	B003	180-200	200		
6	VMC4F3-1			180-200	
7	VVIP60			320	
8	VMC4F8			150-130	
9	VVIM01			400	
10	VVIM63			250	
11	UDV-005			300	
12	VChr2c			150-160	
13	VVMD27	240-250	240-250		
14	FAM141			170-180	
15	VVIN61			300-320	
16	VRZAG79			120	
17	VVMD21			90-300	
18	VVIQ61			360	
19	VMC4D4			170	
20	VMC8g3			90-300	
21	VVIP33			120	
22	UDV-062	90-130-220	220		

Çizelge 4.2'nin devamı

23	UDV-077			90-160	
24	VVIP72			100	
25	VMC3C11-1			100-110	
26	VVIM03			360	
27	VVIO61			220	
28	VVIQ36			180	
29	VMC7H2			120	
30	VVIN56			190	
31	VVIV33			420	
32	VMC2D9			95-100	
33	UDV-100			250-260	
34	VVIB19			300-400-600	
35	VChr1c			100	
36	VMC7F2-2			150	
37	VMC2B1.1			100	
38	VRZAG83			190-205	
39	VChr2a			100	
40	TT251F02			200	
41	VMC5G7	200-210	200-210		
42	VVIN54			100-110	
43	VChr5a			250	

Çizelge 4.2'nin devamı

44	VVIN70			400	
45	RTAChr16-6b			250-300	
46	VVMD24			200	
47	VVIN31	140-150-160	140-150-160		
48	VVMD32			300-450-800	
49	VVIN78			160	
50	VChr7b			190	
51	VVIN73			250	
52	VMCNG2g7				Amplifikasyon yok
53	RTAChr7-9			250	
54	VVMD5			230	
55	VChr12a			150	
56	VVIH01			290	
57	VChr12b			170	
58	UDV-075			200	
59	VVIN40			300	
60	VMC4G6			130	
61	VVIP10			290-310	
62	VMC7h3			150	
63	UDV-038			300	

Çizelge 4.2'nin devamı

64	VVIB01			310	
65	FAM24			210	
66	VChr16b			300-550	
67	VV6718			220	
68	VMC2B3	190-250	250		
69	VrZAG64			220	
70	VChr1a			190	
71	VVIN74			300	
72	VVIV04			190	
73	VVIN52			200	
74	VVIS70			300	
75	UDV-026			140	
76	VMC8F10	200-210	200-210		
77	VMC8B5			150-310	
78	VMC9B5	230-240	240		
79	VMC2B11	170-180	170-180		
80	VChr1b			80-100	
81	VMC4f3.1			185	
82	UDV-090			180	
83	VChr5c			100	
84	VVIb09			270	

Çizelge 4.2'nin devamı

85	UDV-053			120	
86	VMC9H4_2			280-300	
87	VVIN62				Amplifikasyon yok
88	VVIQ66			90-300	
89	VVIB72			200	
90	VMC8E6	190-200-220	190-200		
91	VMCNG1E4-2	90-100-150- 200-290	90-100-150-200- 290		
92	VVIb10			80	
93	VMC2F10			80	
94	VMC4B7-2			90-310	
95	VMC1A5			90-280	
96	VV5799			230	
97	VVIb18			190	
98	VMC7B1			230-250-520	
99	VMCNG1E1				Amplifikasyon yok
100	GT183H07			300	
101	VVIV37		300-250	250-300	
102	VMC1E12			300-320	
103	RTAChr3-19b			280-320	

Çizelge 4.2'nin devamı

104	VRZAG21			90-220	
105	VVIM43			90-110	
106	VChr13c			170-190	
107	VChr13b				Amplifikasyon yok
108	VVIQ67			290	
109	VMC3C7				Amplifikasyon yok
110	VVMD7			250	
111	VMC7A4			110-120-170- 190	
112	VVIN75			200	
113	VMC2H12			150	
114	VRZAG62	200-250-380	380		
115	VVIV22			100	
116	VMCNG2E1				Amplifikasyon yok
117	UDV-058			220	
118	VChr15a				Amplifikasyon yok
119	VMC1G3-2			130	
120	FAM63			360	
121	VVIQ52			100	

Çizelge 4.2'nin devamı

122	FAM96			290	
123	UDV-104				Amplifikasyon yok
124	VVIb31			370	
125	VVIb32				Amplifikasyon yok
126	VVIb63			140	
127	VVIF52			270	
128	UDV-050			190	
129	VChr9a			250	
130	VChr8a			300-380	
131	VMC1F10			200-220	
132	VMC2C10-1			180-200	
133	VMCNG2H2.2	140-160	140-160		
134	VChr8b			100-800	
135	UDV-040			120-260-650	
136	VVIb68			170	
137	VMCNG1D3			160	
138	VChr16a			120	
139	VVIS58			300	
140	VVIM42A			260	
141	VChr3a			200-250	

Çizelge 4.2'nin devamı

142	VMC4C6			160	
144	VChr13a			150	
145	VVIP02			290	
146	VRZAG112			230	
147	VVIQ57			190	
148	VRZAG67			160-200	
149	VMC9H4_2			270-300-320-390	
150	VVS2			150	
151	VVIP31			220	
152	UDV-116			150	
153	VVIN33			300	
154	UDV-109			200	
155	VChr5b			190	
156	VMC1E8			200	
157	VMC1B11			180	
156	UDV-046			250	
157	VChr19a				Amplifikasyon yok
158	VMC9D3			220	
159	VMC6G1			200	

Çizelge 4.2'nin devamı

160	UDV-063			190-200	
161	VMC2A12			190	
162	VMC8C2			190-280	
163	VRZAG15			200	
164	VVIP22			360	
165	VVIP77			190	
166	VChr7c			110	
167	VMC5H2			200	
168	scu07vv			280	
169	VMC3B10			190	
170	UDV-020			200	
171	VMC1G7			190-200	
172	VMC9F2			180-210	
173	UDV-093			150	
174	VVib59			360	
175	VMC2H3			100-150	
176	VMC1A12			140	
177	VVIB66			120	
178	VChr16c			160	
179	VVIB54			200	
180	FAM91			150	

Çizelge 4.2'nin devamı

181	FAM12			380	
182	VVIO02			130	
183	UDV-085			160	
184	FAM45			390	
185	VMC6g10			200	
186	FAM140			280	
187	VVC34			250	
188	FAM18			150	
189	A105			230	
190	FAM68			300	
191	UDV-095				Amplifikasyon yok
192	VMC6d12			150	
193	VChr17c			120	
194	VVIN94			270	
195	VMC5C1			130	
196	FAM122			380	
197	VMC5G8			320	
198	VChr11b			150	
199	VChr18c			140	
200	VMC8G9			180	

Çizelge 4.2'nin devamı

201	VChr17a			190	
202	VVIM93				Amplifikasyon yok
203	VVIB22			300	
204	VVIQ25			180	
205	VChr6a			190	
206	VChr18d			200-280	
207	VVIb23			280-290	
208	VChr10b			140	
209	VChr11a			150-200	
210	VChr14a			160	
211	VChr14b			180	
212	VChr13d			500	
213	VChr15b			100-160	
214	FAM104			120	
215	RTAChr11- 11b			190	
216	RTAChr13- 23b			290	
217	UDV-021			150	
218	UDV-128			320-450	
219	FAM62				Amplifikasyon yok

Çizelge 4.2'nin devamı

220	VMC1E11			190-250	
221	UDV-134			180	
222	VVS3				Amplifikasyon yok
223	VChr2b			90-110	
224	VMC1E11-2			280	
225	RTAChr19- 16b			270	
226	VVIV36			240	
227	RTAChr9-13a			300	
228	VChr9b			160	
229	RTAChr13- 16a			230	
230	RTAChr17- 15b			300	
231	UDV-134-2			290	
232	VVMD6			150-200	
234	VVIb94			300	
235	FAM62-2			320	
236	RTAChr15-3b			310	
237	VVIc05			180	
238	RTAChr17- 15a			290	

Çizelge 4.2'nin devamı

239	RTAChr2-11a			280	
240	UDV-021-2			270	
241	VChr10a			140	
242	RTAChr13-13b			220	
243	RTAChr15-1b			310	
244	RTAChr15-7a			200-220	
245	RTAChr4-9a			290	
246	RTAChr13-20a			280-290	
247	RTAChr15-4a			280	
248	VVIV67			350	
249	VVIP08			300	
250	RTAChr19-11b			180	
251	RTAChr1-14a			200	
252	RTAChr3-15a			250	
253	UDV-020a			160	
254	FAM65			220	
255	VVIH54			180	
256	FAM70-2			300	
257	VVIQ25-2			290	

Çizelge 4.2'nin devamı

258	VVIB22-2			190-200-220	
259	VrZAG25			180	
260	VMC4H2				Amplifikasyon yok
261	VVIS70-2			200	
262	VVIM25			130	
263	RTAChr3-17a			180	
264	VVIc35			350-370	
265	VChr8a-2			290	
266	VVIN75-2			300	
267	VVS3-2			100	
268	VVIS58-2			280	
269	scu15vv			150	
270	VVIP72-2			250	
271	VMC16D4-2			230	
272	VVIM03-2			220	
278	VChr19a-2			200	
279	VMC2A10			90-120	
280	VChr17b-2			230	
281	VVMD25			240	
282	TT251F02-2			190	

Çizelge 4.2'nin devamı

283	VChr15a-2			230	
284	VVMD31			180	
285	VMC8G3-2			230	
286	UDV-009				Amplifikasyon yok
287	VChr18a-2			220-230-240	
288	UDV-062-2			230	
289	VRZAG29			100	
290	VMC2D9-2			120	
291	FAM140-2			180	
292	VChr1a-2			200	
293	FAM92			300-320	
294	scu16vv			250	
295	VVIC50				Amplifikasyon yok
296	UDV-110			190	
297	UDV-023			150	
298	P3_VvAGL11			140	
299	FAM135			390	
300	VVMD8			130	
301	FAM116			310	
302	FAM70			390	

Çizelge 4.2'nin devamı

303	VChr17b			150	
304	VMC9h4.2			280	
305	VChr19b			150	
306	VVIc46			90	
307	VVIU20			380	
308	VRZAG89			150	
309	FAM42			320	
310	VMC1g3.2			150	
311	VChr7a	150-160	150-160		
312	VMC3E12	150-200	150		
313	VMC16D4	90-110	90		
314	VMC7g3			120	
315	VVMD28			100-260	
316	VVIT68			280	
317	VMC2H4			210	
318	VMC1C10	150-170	150-170		
319	VMC2A3			190	
320	UDV-022			110	
321	VVC6			140	
322	UDV-059			150	
323	UDV-032			160	

Çizelge 4.2'nin devamı

324	VMC8D11			400	
325	VMC2H9			130	
326	VVIP05			400-300-290	
327	VVIM11			90	
328	VVIV08			380	
329	VMC4D9-2			250	
330	VVIP12			300	
331	VMC5E9			100	
332	VMC8B11			190	
333	VMC8F4.2			100	
334	VVS16			290	
335	VMC2H10			120	
336	VVIc51			160	
337	VVIQ44			220	
338	UDV-117			160	
339	VMC5G1-1			90-150	
340	UDV-124			200	
341	VChr4a			190	
342	VChr18b			170	
343	FAM110			280	
344	VVIc72			250	

Çizelge 4.2'nin devamı

345	VVi52			90	
346	VVi64				Amplifikasyon yok
347	VVi16			100	
348	VVi63			300	
349	VChr18a			160	
350	VMC8G6			150-170	

Primer başına düşen toplam allel sayısı ve polimorfik allel sayısı aynı bulunmuştur. Her bir primerden farklı allel sayıları elde edilmiştir. Primerlerin polimorfizm oranı %100 oranı bulunmuştur. SSR analizlerinde 19 SSR adet primerinden büyüklükleri 90-380 bp arasında değişen 33 adet allel elde edilmiş ve bu allelerin tamamı polimorfik bulunmuştur.

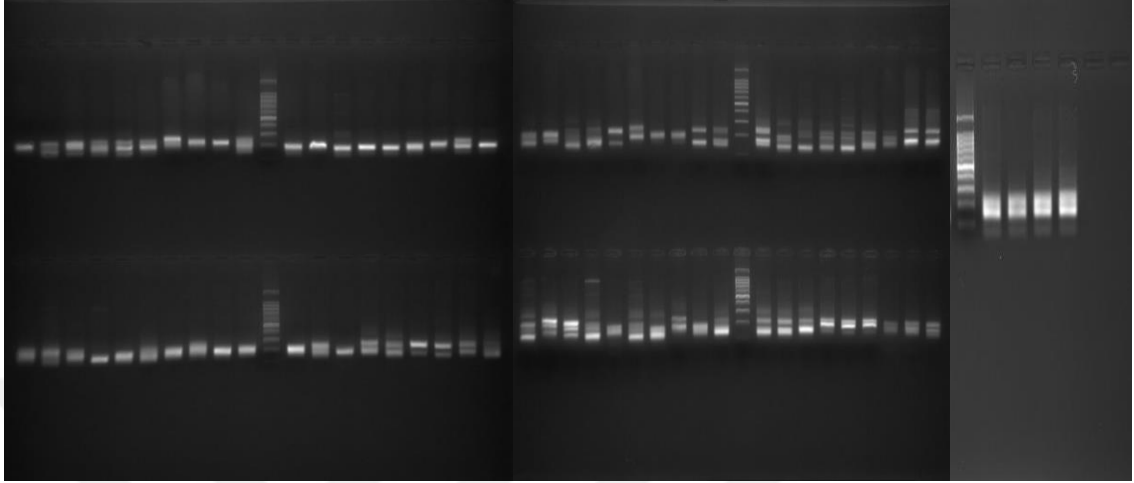
Polimorfizm primerlerde istenilen PIC oranı 0,7 üzerinde olmalıdır. Çalışmadaki polimorfik primerlerin PIC değerleri ise 0,43 ile 0,93 arasında değişim göstermiştir. VMC3E12 primeri 0,43 ile en düşük PIC değerine sahip iken VMC2B3 0,93 PIC değeriyle en yüksek değere sahip olmakla birlikte VMC1C10 0,85, VMC8F10 0,82, VMC2B11 0,80, VMC8E6 0,79 VE VVIN31-VMCNG2H2.2 0,78 değerleri takip etmektedir.

Değerlendirmeler polimorfizm sağlayan 19 adet SSR primeri üzerinden yapılmıştır. Değerlendirilmeler sonucunda her primer için toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC (Polymorphism information content) Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Polimorfik SSR primerlerinin toplam allel sayısı (adet), polimorfik allel sayısı (adet), polimorfik allel uzunluğu (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC (Polymorphism information content) değerleri

Primer adı	Allel sayısı	Polimorfik allel sayısı	Polimorfik allel uzunluğu (bp)	Polimorfizm oranı (%)	PIC
VMC3E5	2	2	120-130	100	0,74
VMC3D12	1	1	250	100	0,63
B003	1	1	200	100	0,56
VMC5G7	2	2	200-210	100	0,72
VVIN31	3	3	140-150-160	100	0,78
VMC2B3	1	1	250	100	0,93
VMC8F10	2	2	200-210	100	0,82
VMC9B5	1	1	240	100	0,62
VMC2B11	2	2	170-180	100	0,80
VMCNG1E4-2	5	5	90-100-150-200-290	100	0,74
VMC8E6	2	2	190-200	100	0,79
VVMD27	2	2	240-250	100	0,68
VMCNG2H2.2	2	2	140-160	100	0,78
VRZAG62	1	1	380	100	0,73
UDV-062	1	1	220	100	0,67
VMC3E12	1	1	150	100	0,43
VMC16D4	1	1	90	100	0,71
VChr7a	2	2	150-160	100	0,64
VMC1C10	1	1	170	100	0,85
Toplam	33	33	-	-	13,62
Ortalama	2	1,7	-	100	0,71

Çalışmada kullanılan polimorfik primerlerden PIC değeri 0,93 olan VMC2B3 primerinin agaroz jel görüntüleri Şekil 4.1’de verilmiştir.

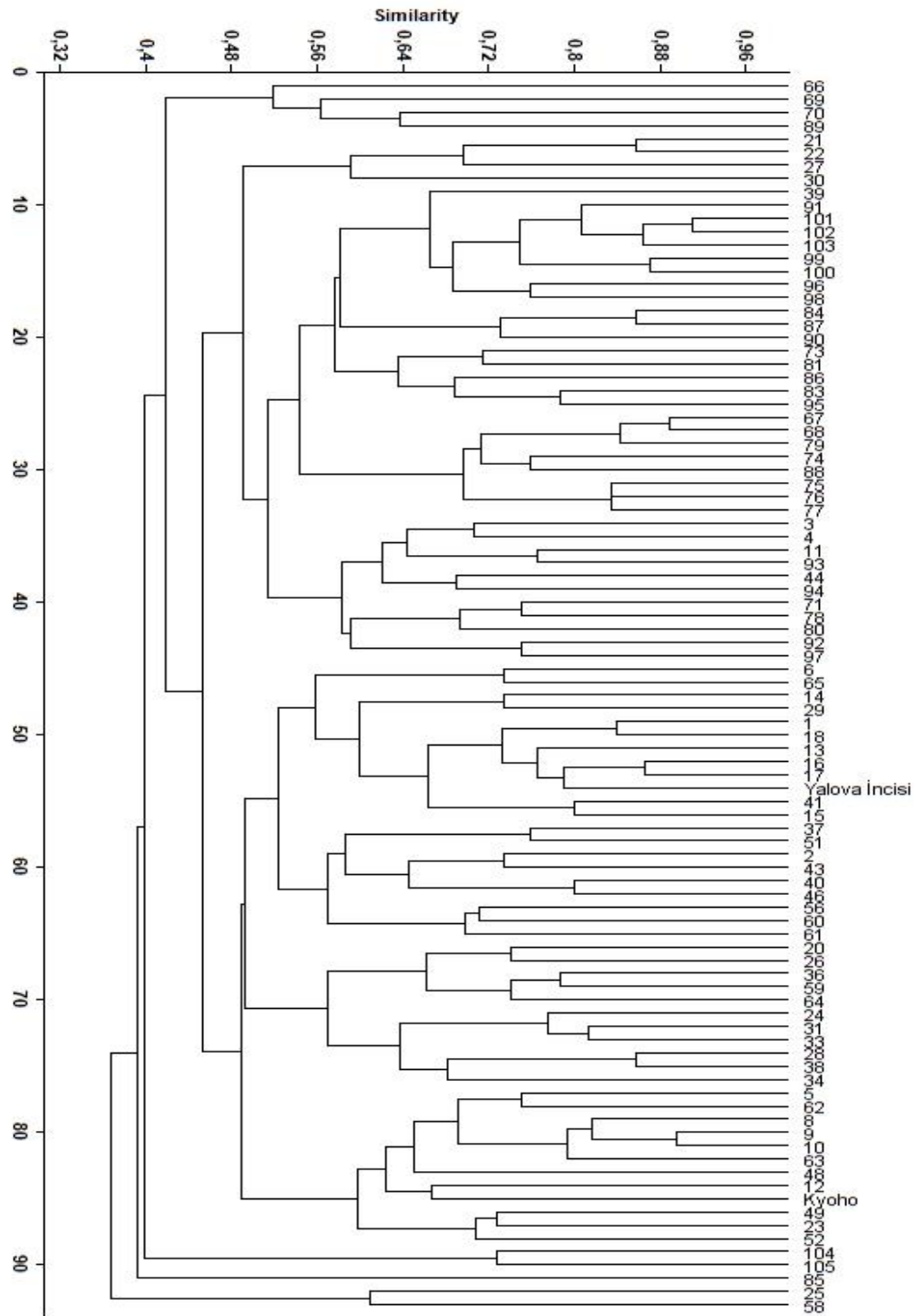


Şekil 4.1. VMC2B3 SSR primerinin agaroz jel görüntüsü

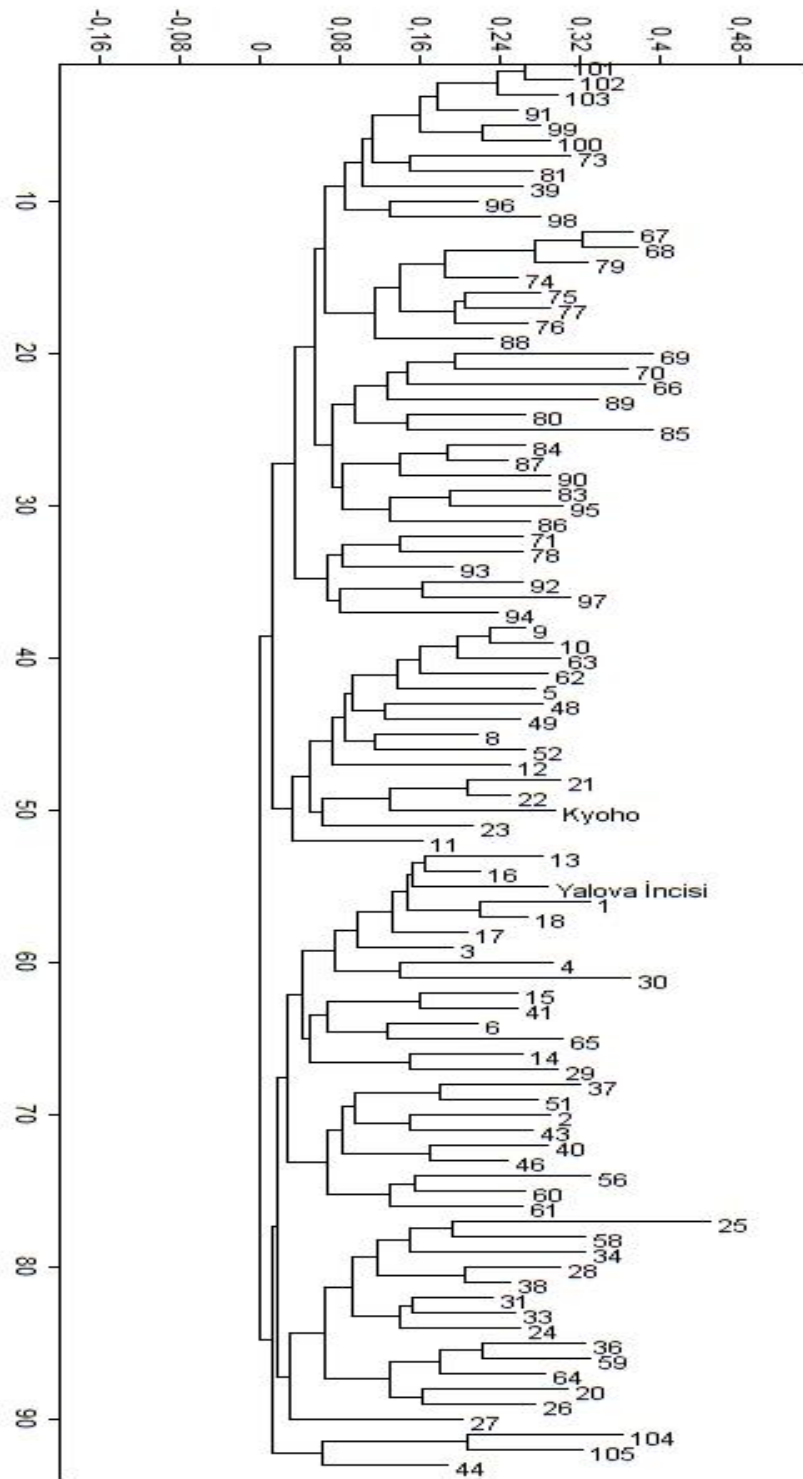
SSR analizleri sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve elde edilen dendrogram Şekil 4.2.’de verilmiştir. Dice (1945)’ın benzerlik katsayısına göre benzerlik oranları 0,38 ile 0,92 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,58 olarak bulunmuştur.

Dendograma göre popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta Yalova incisi (anne) yer alırken, ikinci grupta ise Kyoho (baba) yer almıştır. Birinci grupta en yüksek genetik benzerlik oranına 0,90 ile 101,102 genotipleri sahiptir. 16 ve 17 genotipleri 0,86 genetik benzerlik oranıyla benzerlik oranına 0,90 ile 9 ve 10 genotipleri sahiptir. 49 ve 23 genotipleri 0,73 Yalova İncisi (anne)’ya en yakın genotiplerdir.

İkinci grupta en yüksek genetik Neighbor-Joining (komşu ilişkisi) yöntemiyle elde edilen dendrogram aşağıda Şekil 4.3.’de verilmiştir. Yalova İncisi (anne) 13, 16, 1, 18, 17, 3, 4, 30, 15, 41, 6, 65, 14 ve 29 nolu genotipler aynı grupta yer almışlardır. Kyoho (baba) 9, 10, 63, 62, 5, 48, 49, 8, 52, 12, 21, 22 ve 23 nolu genotipler aynı grupta yer almışlardır.

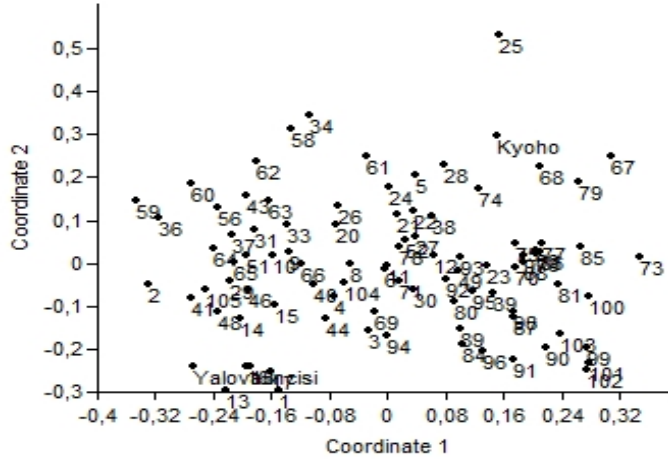


Şekil 4.2. SSR markörü ile anne-baba ve F1 bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren UPGMA yöntemiyle elde edilen dendrogram

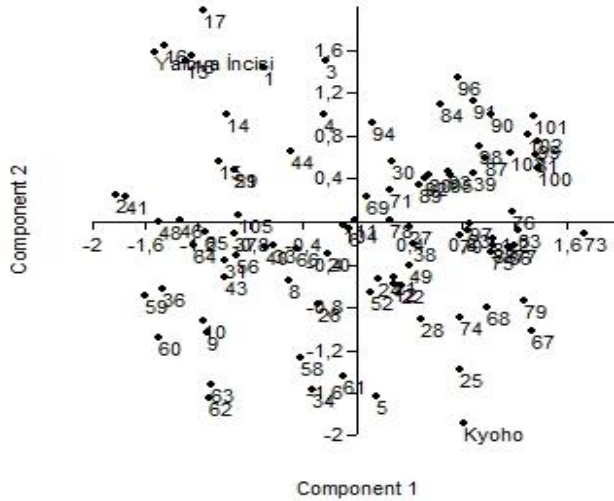


Şekil 4.3. SSR markörü ile ann-baba ve F1 bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren Neighbor-Joining yöntemiyle elde edilen dendrogram

PCO (temel koordinat analizi) sonucu Şekil 4.5'te verilmiştir. Yalova incisi (anne)'nin ve Kyoho (baba)'nın F1 popülasyonundaki en uzak iki genotip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. SSR markörü ile anne-baba ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren temel koordinat analizi (PCO) sonucu oluşan desen



Şekil 4.5. SSR markörü ile anne-baba ve bireyler arasındaki ilişkiyi gösteren temel koordinat analizi (PCA) sonucu oluşan desen

4.3. QTL Haritalama Analizleri

4.3.1. Kruskal-Wallis Analizi

Yalova incisi (anne) segregasyon gösteren Toplam 17 markör Kruskal-Wallis analizlerinde kullanılmış ve hastalık dayanımıyla anlamlı derecede ilişkili olan markörler belirlenmiştir ($p < 0.05$). Sonuç olarak toplam dört markörün hastalık dayanımıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir. En yüksek etki değerine sahip markör VMCNG1E4-2 markörü olarak belirlenmiş olup %24.39'lük etkiye sahiptir. UDV-062 ve VVIN31 markörleri sırasıyla 0.205128 ve 0.204646 etki değerlerine sahip olup dayanım kaynağı baba olarak belirlenmiştir. En düşük değere sahip VMC16D4 markörü 0.204081 etkiye sahiptir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Kruskal-Wallis Anne Analizi

Nr	Locus	K*	Signif.	Nr inf.	Mean-ll	Mean-lm	
1	VMC3E5_130	0,189	-	85	0,36	0,314286	
2	VMC3D12-250	0,367	-	46	0,333333	0,25	
3	VMC5G7-210	0,617	-	91	0,259259	0,34375	
4	VMC5G7-200	1,942	-	89	0,352941	0,190476	
5	VVIN31-150	3,492	*	86	0,185185	0,389831	0,204646
6	VMC2B3-250	0,374	-	77	0,293103	0,368421	
7	VMC9B5_240	0,77	-	90	0,257143	0,345455	
8	VMCNG1E4-2_90	4,145	**	82	0,105263	0,349206	0,243943
9	VMCNG1E4-2_150	1,607	-	82	0,245283	0,37931	
10	VMC8E6-190	0,134	-	51	0,25	0,296296	
11	VMC8E6-200	0,324	-	52	0,242424	0,315789	
12	VMCNG2H2.2_140	0,06	-	80	0,311111	0,285714	
13	VRZAG62_380	0	-	91	0,318182	0,319149	
14	UDV-062_220	4,271	**	91	0,435897	0,230769	0,205128
15	VMC16D4-90	4,29	**	91	0,428571	0,22449	0,204081
16	Vchr7a-150	1,694	-	55	0,375	0,205128	
17	VMC1C10-170	1,002	-	91	0,280702	0,382353	

Kyoho (baba) segregasyon gösteren Toplam 17 markör Kruskal-Wallis analizlerinde kullanılmış ve hastalık dayanımıyla anlamlı derecede ilişkili olan markörler belirlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.5). Sonuç olarak toplam bir markörün hastalık dayanımıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir. En yüksek etki değerine sahip markör VVIN31 markörü olarak belirlenmiş olup %21.07'lik etkiye sahiptir.

Çizelge 4.5. Kruskal-Wallis Baba Analizi

Nr	Locus	K*	Signif.	Nr inf.	Mean-nn	Mean-np	
1	VMC3E5-120	0,189	-	85	0,314286	0,36	
2	B003-200	0,651	-	87	0,37931	0,293103	
3	VVIN31-140	0,003	-	86	0,327586	0,321429	
4	VVIN31-160	3,375	*	88	0,384615	0,173913	0,210702
5	VMC8F10_200	0,471	-	55	0,290323	0,208333	
6	VMC8F10_210	0,768	-	55	0,212121	0,318182	
7	VMC2B11_170	0,038	-	91	0,326923	0,307692	
8	VMC2B11_180	0,16	-	87	0,340426	0,3	
9	VMCNG1E4-2_100	0,37	-	82	0,314815	0,25	
10	VMCNG1E4-2_200	0,007	-	82	0,288889	0,297297	
11	VMCNG1E4-2_290	0,057	-	82	0,292683	0,317073	
12	VVMD27_240	0,012	-	90	0,315789	0,326923	
13	VVMD27_250	0,076	-	91	0,333333	0,306122	
14	VMCNG2H2_2_160	0,03	-	79	0,3	0,282051	
15	VMC3E12-150	0	-	91	0,318182	0,318841	
16	VChr7a-160	1,016	-	55	0,2	0,32	

Markörlerden 12 markörün genomdaki pozisyonu tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). Markörlerin kromozomlardaki lokasyonları farklı yerlerde olduğu için fiziksel olarak haritalanmıştır.

Çizelge 4.6. SSR Markörlerin Genomdaki Pozisyonları

marker	bp	Mb	Kromozom lokasyon
>VMC2B3	18179400	18,1794	1. kromozom
>VMC5G7	8222941	8,222941	2. kromozom
>VVMD27	4472022	4,472022	5. kromozom
>VMC9B5	19752558	19,75256	5. kromozom
>VVIN31	17800420	17,80042	6. kromozom
>VChr7a	16741702	16,7417	7. kromozom
>VMC1C10	563536	0,563536	9. kromozom
>VMCNG1E4-2	5448330	5,44833	9.kromozom
>VMC3D12	8083693	8,083693	13. kromozom
>VMC2B11	20429749	20,42975	14. kromozom
>B003	5927868	5,927868	19. kromozom
>UDV-062	20924602	20,9246	19. kromozom

İlişkili bulunan 4 markörün kromozom sayısı, lokasyon yeri, sekans dizilimleri ve referans bilgileri verilmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Markör adı, Kromozom sayısı, Lokasyon yeri, Forward- Reverse Primer sekans dizilimleri

Marker adı	Kro m.	Lokasyon (bp)	Forward primer	Reverse primer	Referans
VVIN31	6	18.937.746	GTTGAATAGTGTCCATGT TGTG	GGATAGAATCACATTTGT AGCG	Merdinogl u et al. 2005
VMCNG1 E4-2	9	5.448.330	CAAAAGTTTAAACAAGG GAGCG	TGAGTGAAC TTTGAGAC AGCA	NCBI
UDV-062-2	19	21.594.816	CTTGGTAAGGCCAAACA TGC	GGCTAAACCCTCCTTTTG GA	Redesigne d
VMC16D 4	5	17.606.754	TAGAATACACAGGCCAT ATACAA	GGTTAGGATGCATATAG AAGAAG	Vitis Microsatellite Consortium

Kurşuni küf dayanıklılığının kalıtım esasları başta model bir bitki olan Arabidopsis olmak üzere nohut ve domateste araştırılmıştır. Bu bağlamda ilk olarak etilenden etkilenmeyen (insensitive) mutant Arabidopsis genotipinin (EIN2) *B. cinerea*'ya duyarlılığı artırdığı rapor edilerek bu hastalık etmenine dayanıklılığın etilen hormonu ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Thomma vd. 1999).

Bu konuda en kapsamlı çalışma Rowe ve Kliebenstein (2008) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada %2-12 arasında değişen etkilere sahip toplam 23 QTL belirlenmiştir. Bu çalışma, bitkilerde *B. cinerea* dayanıklılığının minör etkiye sahip QTL'ler tarafından kontrol edilen karmaşık bir kalıtıma sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca nohut ve domateste hastalık etmenine dayanıklılık sağlayan QTL'ler belirlenmiştir (Finkers vd. 2008; Anuradha vd. 2011).

Bir başka çalışmada asmada kütikül kalınlığının bu hastalık etmnine dayanıklılığı artırdığı rapor edilip %20 etkiye sahip bir adet QTL belirlenmiştir. Ayrıca asmada *B. cinerea*'ya dayanıklılıkla ilgili çalışma Peterlunger vd. (2003)'nın yapmış olduğu çalışmadır. Bu çalışmada, 1998 yılında Udine Üniversitesinde başlatılmış Avrupa asmalarında külleme, mildiyö ve kurşuni küf gibi hastalıklara dayanıklılık genlerini hedefleyen ıslah programı oluşturulmuştur. Bu programda, dayanıklı (R) ve hassas (S) genotiplerle farklı SxR ve RxR olacak şekilde melezleme kombinasyonları oluşturulmuştur. Çalışmada İtalya'da Friuli-Venezia Giulia bölgesine uygun çeşit geliştirmeye amaçlamışlardır. Ayrıca bu çalışmada asmada *B. cinerea* dayanıklılığını kontrol eden kantitatif karakter lokuslarının (QTL) haritalanması hedeflenmiş olmasına rağmen proje başlangıç aşamasında olduğu için ne bu hastalık etmeninin kalıtım esasları ne de dayanıklılık QTL'leri hakkında herhangi bir bilgi rapor edilememiştir.

Yaptığımız çalışmada yerli çeşidimiz Yalova incisi ve ticari çeşit Kyoho çeşidi ile resiprokal melezleme sonucu 97 genotip elde edildi. 350 SSR markörü kullanılarak kurşuni küfe dayanıklılıkla ilgili 19 polimorfik markör tespit edildi. 19 SSR marköründen genomdaki lokasyonları olarak 12 SSR markörün yeri tespit edildi. Markörlerin farklı kromozomlarda olduğu belirlenmiştir. Toplam 17 markör Kruskal-Wallis analizlerinde kullanılmış ve hastalık dayanımıyla anlamlı derecede ilişkili olan markörler belirlenmiştir. 17 markörden 4 markörün kurşuni küfle ilişkili olduğu tespit edildi. En yüksek etki değerine sahip markör VMCNG1E4-2 markörü olarak belirlenmiş olup %24.39'lük etkiye sahiptir.

Tüm bu araştırmalar değerlendirildiğinde *B. cinerea* dayanıklılığının kantitatif bir karakter olduğu belirlenmiş ve bu çalışmalar yüksek çözünürlüklü haritalar kullanılarak yapılan çalışmaların kurşuni küfe dayanıklılıkla ilgili ilişkisi açıklanabileceğini göstermektedir.

5. SONUÇLAR

Kurşuni küfe dayanıklılık amacıyla oluşturulan F1 popülasyonuna ait 97 genotipte, anne-baba ve bireyler arasındaki genetik ilişkiyi araştırmak amacıyla 350 SSR markörü kullanılmıştır.

350 SSR marköründen 19 tanesi polimorfik, 313 tanesi monomorfik bulunurken, 18 tanesinden amplifikasyon sağlanamamıştır. 19 polimorfik SSR marköründen, toplam 33 allel elde edildiği ve bu allelerin tamamının polimorfik olduğu tespit edilmiştir. SSR tekniğinde, markör başına düşen ortalama allel sayısı ve ortalama polimorfik allel sayısı 2 olarak bulunmuştur. SSR markörünün polimorfizm oranı %100 ve PIC değeri 0,71'dir.

SSR analizleri sonucunda benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) yöntemiyle kümeleme analizleri yapılmış ve elde edilen dendrogram Dice (1945)'in benzerlik katsayısına göre benzerlik oranları 0,38 ile 0,92 arasında değişim göstermiş, matrix korelasyonu (r) 0,58 olarak bulunmuştur.

Dendrograma göre popülasyon iki farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta Yalova incisi (anne) yer alırken, ikinci grupta ise Kyoho (baba) yer almıştır. Birinci grupta en yüksek genetik benzerlik oranına 0,90 ile 101,102 genotipleri sahiptir. 16 ve 17 genotipleri 0,86 genetik benzerlik oranıyla Yalova İncisi (anne)'ya en yakın genotiplerdir. İkinci grupta en yüksek genetik benzerlik oranına 0,90 ile 9 ve 10 genotipleri sahiptir. 49 ve 23 genotipleri 0,73 genetik benzerlik oranıyla Kyoho (baba)'ya en yakın genotiplerdir.

Neighbor-Joining (komşu ilişkisi) yöntemiyle elde edilen dendrogramda Yalova İncisi (anne) 13,16,1,18,17,3,4,30,15,41,6,65,14,29 genotipleri aynı grupta yer almışlardır. Kyoho(baba) 9,10,63,62,5,48,49,8,52,12,21,22,23 genotipleri aynı grupta yer almıştır.

PCO (temel koordinat analizi) sonucu değerlendirildiğinde Yalova incisi (anne)'nin ve Kyoho (baba)'nın F1 popülasyonundaki en uzak iki genotip olduğu tespit edilmiştir.

Yalova incisi (anne) segregasyon gösteren Toplam 17 markör Kruskal-Wallis analizlerinde kullanılmış ve hastalık dayanımıyla anlamlı derecede ilişkili olan markörler belirlenmiştir ($p < 0.05$). Sonuç olarak toplam dört markörün hastalık dayanımıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir. En yüksek etki değerine sahip markör VMCNG1E4-2 markörü olarak belirlenmiş olup %24.39'lük etkiye sahiptir. UDV-062 ve VVIN31 markörleri sırasıyla %20.51 ve %20.46 etki değerlerine sahip olup dayanım kaynağı baba olarak belirlenmiştir. En düşük değere sahip VMC16D4 markörü %20.40 etkiye sahiptir.

Kyoho (baba) segregasyon gösteren Toplam 16 markör Kruskal-Wallis analizlerinde kullanılmış ve hastalık dayanımıyla anlamlı derecede ilişkili olan markörler

belirlenmiştir ($p<0.05$). Sonuç olarak toplam bir markörün hastalık dayanımıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir. En yüksek etki değerine sahip markör VVIN31 markörü olarak belirlenmiş olup %21.07'lik etkiye sahiptir.

Genomdaki lokasyonların belirlenmesinde 12 markörün yeri tespit edilmiştir. Markörlerin kurşuni küf dayanıklılığıyla ilişkili olarak 12 markörün farklı kromozomlarda yer alması ve markör sayısının az olduğu tespit edilmiştir. Markörlerin kromozomlardaki lokasyonları farklı yerlerde olduğu için fiziksel olarak haritalanmıştır.

Araştırma sonucunda 350 SSR marköründen 19 polimorfik markör tespit edilmiştir. Kurşuni küf hastalık dayanımıyla anlamlı derecede ilişkili 4 QTL tespit edilmiştir. %20-24'lük etki derecesine sahip QTL'ler tespit edilmiştir.

Araştırma sonucunda asmada kurşuni küfe dayanıklılıkla ilişkili QTL yerlerinin belirlenmesinde katkıda bulunmuştur. Daha çok SSR markörü ve çeşitli markörlerle çalışılarak kurşuni küfe dayanıklılıkla ilişkili bilgilerin tespit edileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın, gelecekte ülkemizde yapılacak olan kurşuni küf hastalığına dayanıklı yerli çeşit geliştirme çalışmalarına hız kazandıracağı düşünülmektedir.

6.KAYNAKLAR

- Adam-Blondon, A. F., Roux, C., Claux, D., Butterlin, G., Merdinoglu, D., And This, P. 2004. Mapping 245 Ssr Markers On The Vitis Vinifera Genome: A Tool For Grape Genetics. *Theoretical And Applied Genetics*, 109(5), 1017-1027.
- Adam-Blondon, A. F., Lahogue-Esnault, F., Bouquet, A., Boursiquot, J. M., And This, P. 2001. Usefulness Of Two Scar Markers For Marker-Assisted Selection Of Seedless Grapevine Cultivars. *Vitis-Geilweilerhof*, 40(3), 147-156.
- Ağaoğlu, Y.S. 1999. Bilimsel Ve Uygulamalı Bağcılık, Cilt I Asma Biyolojisi. Kavaklıdere Eğitim Yayınları No.1, Ankara.
- Akçay, M. 2014. Üzüm Üretimi Ve Destekler. *Türktarım*, Eylül-Ekim Sayı:219, 16-19.
- AKKURT, M. 2004. Entwicklung molekularer Marker für Oidium (Uncinula necator): Resistenz bei der Weinrebe. PhD Thesis. Karlsruhe, Univ., Diss., 2004.
- Akkurt, M., Şenses, İ., Uzun, H. İ., Aktürk, B., Tozlu, İ. And Özer, N. 2022. Marker Assisted Selection (Mas) For Downy Mildew Resistance İn Grapevines Using Rpv3. 1 Associated Markers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50.1: 12708-12708.
- Alleweldt, G. And Possingham, J.V. 1988. Progress İn Grapevine Breeding. *Theoretical Applied Genetics*, 75: 669-673.
- Alpar R. 2018. Spor, Sağlık Ve Eğitim Bilimlerinden Örneklerle Uygulamalı İstatistik Ve Geçerlik-Güvenirlik. 5. Baskı Detay Yayıncılık.
- Alsancak Sırlı, B., Peşkircioğlu, M., Torunlar, H., Ozaydin, K.A., Mermer, A., Kader, S., Tuğaç, M.G., Aydoğmuş, O., Emeklier, Y., Yildirim, Y.E. Ve Kodal, S. 2015. Türkiye’de Üzüm (Vitis Spp.) Yetiştirmeye Uygun Potansiyel Alanların Coğrafi Bilgi Sistemleri (Cbs) Teknikleri Kullanılarak İklim Ve Topoğrafya Faktörlerine Göre Belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 24 (1):56-64.
- Angelini, R.M., Rotolo, C., Masiello, M., Pollastro, S., Ishii, H. And Faretra, F. 2012. Genetic Analysis And Molecular Characterisation Of Laboratory And Field Mutants Of Botryotinia Fuckeliana (*Botrytis Cinerea*) Resistant To Qo1 Fungicides. *Pest Manag Sci*, 68: 1231–1240.
- Anonim. 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları Cilt Iv. Tarımsal Araştırmalar Ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara.

- Anonim. 2022. Faostat. [Http://Www.Fao.Org/Faostat/En/#Data/Qc/](http://Www.Fao.Org/Faostat/En/#Data/Qc/) [Son Erişim Tarihi: 24.05.2022].
- Anonim. 2022. Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı. [Https://Biruni.Tuik.Gov.Tr/Medas/?Kn=92&Locale=Tr](https://Biruni.Tuik.Gov.Tr/Medas/?Kn=92&Locale=Tr) [Son Erişim Tarihi: 24.05.2022].
- Anonymous. 2008. [Http://Www.Vitaceae.Org](http://Www.Vitaceae.Org)
- Anuradha, C., Gaur, P. M., Pande, S., Gali, K. K., Ganesh, M., Kumar, J., And Varshney, R. K. 2011. Mapping Qtl For Resistance To Botrytis Grey Mould İn Chickpea. *Euphytica*, 182(1), 1-9.
- Arumuganathan, K. And E. D. Earle. 1991. Nuclear Dna Content Of Some Important Plant Species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9 (3): 208-218.
- Bouquet, A. And Y. Danglot. 1996. Inheritance Of Seedlessness İn Grapevine (*Vitis Vinifera* L.). *Vitis*, 35: 35-42.
- Bowers, J. E. 1990. Dna Fingerprint Analysis Of Some Wine Grape Cultivars. Msc. Thesis, University Of California.
- Brent K.J. And Hollomon D.W. 2007. Fungicide Resistance: The Assessment Of Risk. *Frac Monograph 2, 2nd Edition*, 52, Pp.
- Buck, S. And E. Zyprian. 2000. First Approaches Of Molecular Mapping İn A Model Population Derived From The Crossing Of The Grapevine Varieties ‘Regent’ X ‘Lemberger’. *Acta Horticulture*, No:528: 203-207.
- Callahan, M., Jin, Y., Gao, F., And Walker, M.A.2002. A Genetic Map Of *Vitis Rupestris* X *Muscadinia Rotundifolia* Locating Resistance To *Xiphinema* Index, The Dagger Nematod. *Plant Animal & Microbe Genome X Conference Abst.*
- Canaguier, A., Grimplet, J., Di Gaspero, G., Scalabrin, S., Duchêne, E., Choisne, N., And Berard, A. 2017. A New Version Of The Grapevine Reference Genome Assembly (12x. V2) And Of Its Annotation (Vcost. V3). *Genomics Data*, 14, 56.
- Canlı, F.A. 2004. Development Of A Second Generation Genetic Linkage Map For Sour Chery Using Ssr Markers. *Pakistan Journal Of Biological Sciences*, 7 (10), 1676-1683.
- Cervera, M.T., Storme, V., Ivens, B., Gusmao, J., Liu, B.H., Hostyn, V., Slycken, J.V., Montagu, M.V. And Boerjan, W. 2001. Dense Genetic Linkage Maps Of Three

- Populus Species (*Populus Deltoides*, *P. Nigra* And *P. Trichocarpa*) Based On Aflp And Microsatellite Markers. *Genetics*, 158: 787-809.
- Coely-Smith, J.R., Verhoeff, K. And Jarvis, W.R. (Eds.), 1980. The Biology Of Botrytis. *Academic Press*, P. 317.
- Conesa, A., Götz, S., García-Gómez, J. M., Terol, J., Talón, M., And Robles, M. 2005. Blast2go: A Universal Tool For Annotation, Visualization And Analysis In Functional Genomics Research. *Bioinformatics*, 21(18), 3674-3676.
- Cristofani, M.A., Machado, V.M., Novelli, A.A., De Souza, M.L. And Targon, P.N., 2000. Construction Of Linkage Maps Of *Poncirus Trifoliata* And *Citrus Sunki* Based On Microsatellite Markers. *Proc. Int. Citricult. IX Congr.* P. 175-178.
- Çakır, A. Ve Söylemezoğlu, G. 2018. Asmada (*Vitis Vinifera* L.) Klasik Melezleme Sonucu Elde Edilmiş F1 Genotiplerinin Ssr Metodu İle Ebeveyn Tayini. *Türk Tarım Ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(3), 348–354.
- Çelik, H., Kunter, B., Söylemezoğlu, G., Ergül, A., Çelik, H., Karataş, H., Özdemir, G. Ve Atak, A., 2010. Bağcılığın Geliştirilmesi Yöntemleri Ve Üretim Hedefleri. Türkiye Ziraat Mühendisliği V11. Teknik Kongresi, 493-513.
- Çetinkaya, N. And Ateş, F. 2016. Effect Of Leaf Removal And Foliar Applications On Powdery Mildew And Yield/Quality Of Grape İn Organic Viticulture. *The Journal Of Turkish Phytopathology*, 45: 73-86.
- Dalbo, M. A. 1998. Genetic Mapping, Qtl Analysis And Marker- Assisted Selection For Black Rot Disease Of Resistance Loci İn Grapes. Ph.D. Thesis, Cornell Univ.
- Dalbó, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F., Steinkellner, H., Sefc, K. M., And Reisch, B. I. 2000. A Gene Controlling Sex İn Grapevines Placed On A Molecular Marker-Based Genetic Map. *Genome*, 43(2), 333-340.
- Delen, N. 2008. Fungisitler. Nobel Yayıncılık, Ankara.
- Demirci, E. 1996. Fungusitlere Karşı Dayanıklılığın Gelişimi Ve Yönetimi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27 (4): 576-588.
- Di Gaspero, G., Copetti, D., Coleman, C., Castellarin, S.D., Eibach, R., Kozma, P., Lacombe, T., Gambetta, G., Zvyagin, A., Cindric, P., Kovács, L., Morgante, Doerge, R. W. And Craig, B. A. 2000. Model Selection For Quantitative Trait Locus Analysis İn Polyploids. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 97(14), 7951-7956.

- Di Gaspero, G., Copetti, D., Coleman, C., Castellarin, S. D., Eibach, R., Kozma, P., Lacombe, T., Gambetta, G., Zvyagin, A., Cindrić, P., Kovács, L., Morgante, M. And Testolin, R. 2012. Selective Sweep At The Rpv3 Locus During Grapevine Breeding For Downy Mildew Resistance. *Theoretical And Applied Genetics*, 124(2), 277-286.
- Dinno, A. 2015. Nonparametric Pairwise Multiple Comparisons In Independent Groups Using Dunn's Test. 15: 292-300.
- Doligez, A., Bouquet, A., Ballester, J., Farnos, M., Danglot, Y., Adam-Blondon, A.F., Roux, C., Domergue, P., And This, P. 2003. Qtls For Quality-Related Traits In Table Grapes. *Plant Animal & Microbe Genome X Conference Abst.*
- Doligez, A., Bouquet, A., Danglot, Y., Lahogue, F., Riaz, S., Meredith, C., Edwards, K.J., And This, P. 2002. Genetic Mapping Of Grapevine (*Vitis Vinifera* L.) Applied To The Detection Of Qtls For Seedlessness And Berry Weight. *Theoretical And Applied Genetics*, 105(5), 780-795.
- Doligez, A., Bouquet, A., Adam-Blondon, A.F., Cipriani, G., Laucou, V., Merdinoğlu, D., Meredith, C.P., Riaz, S., Roux, C., This, P. And Di Gaspero, G. 2006. An Integrated Ssr Map Of Grapevine Based On Five Mapping Populations. *Theor. Appl. Genet.*, 113 (3): 369-382.
- Doyle, J.J. And Doyle, J.L. 1990. Isolation Of Plant DNA From Fresh Tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Elmer, P.A.G. Ve Reglinsk, T. 2006. Biosuppression Of Botrytis Cinerea In Grapes. *Plant Pathology*, 55, 155-177.
- Fanizza, G., Lamaj, F., Costantini, L., Chaabane, R., And Grando, M.S. 2005. Qtl Analysis For Fruit Yield Components In Table Grapes (*Vitis Vinifera*). *Theor Appl. Genet.*, 111: 658- 664.
- Ferreira, A., Silva, M. F. D., And Cruz, C. D. 2006. Estimating The Effects Of Population Size And Type On The Accuracy Of Genetic Maps. *Genetics And Molecular Biology*, 29, 187-192.
- Finkers, R., Bai, Y., Van Den Berg, P., Van Berloo, R., Meijer-Dekens, F., Ten Have, A., Kan, J. V., Lindhout, P. And Van Heusden, A. W. 2008. Quantitative Resistance To Botrytis Cinerea From Solanum Neorickii. *Euphytica*, 159(1), 83-92.
- Fischer, B. M., Salakhutdinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K. J., Toepfer, R., And Zyprian, E. M. 2004. Quantitative Trait Locus Analysis Of Fungal Disease Resistance Factors On A Molecular Map Of Grapevine. *Theoretical And Applied Genetics*, 108(3), 501-515.

- Gabay, G., Dahan, Y., Izhaki, Y., Faigenboim, A., Ben-Ari, G., Elkind, Y. And Flaishman, M.A. 2018. High-Resolution Genetic Linkage Map Of European Pear (*Pyrus Communis*) And Qtl Fine-Mapping Of Vegetative Budbreak Time. *Bmc Plant Biology*,18:175.
- Grando, M. S., Frisinghelli, C., And Stefanini, M. 2000. Polymorphism And Distribution Of Molecular Markers İn A Segregating Population Derived From The Cross Moscato Bianco× *Vitis Riparia*. *Acta Horticulturae*, (528), 209-213.
- 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* Mchx. *Theoretical And Applied Genetics*, 106(7), 1213-1224.
- Grattapaglia, D. And Sederof, R. 1994. Genetic Linkage Maps Of *Eucalyptus Grandis* And *Eucalyptus Urophylla* Using A Pseudo-Testcross: Mapping Strategy And Rapd Markers. *Genetics*, 137:1121–1137.
- Gürnil, K., Usta, K., Özer, C. Ve Kebeli, N. 1998. Bazı Üzüm Çeşitleri Arasında Melezleme Yoluyla Çekirdeksiz Erkenci Ve Çekirdeksiz Son Turfanda Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Elde Edilmesi. 4. *Bağcılık Sempozyumu Bildirileri*, 87-96.
- Hall, T. A. 1999. Bioedit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor And Analysis Program For Windows 95/98/Nt. In *Nucleic Acids Symposium Series*, Vol. 41, No. 41, Pp. 95-98.
- Hartl, D. L. 1994. *Genetics, Third Edition*. Jones And Bartlett Publishers Int.
- İşçi, B. 2006. Asma (*Vitis Vinifera* L.)’Da Genom Haritalaması: Önemli Morfolojik Karakterlere Ve Fungal Kökenli Hastalıklara Yönelik AFLP Ve SSR Linkage Gruplarının Oluşturulması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 211 S.
- Jammali, S., Aguilar, J. D., Kuitche, E., And Ouangraoua, A. 2019. Splicedfalign: Cds-To-Gene Spliced Alignment And Identification Of Transcript Orthology Groups. *Bmc Bioinformatics*, 20(3), 133.
- Jensen, P.J., Fazio, G., Altman, N., Praul, C And Mcnellis, T.W. 2014. Mapping İn An Apple (*Malus X Domestica*) F1 Segregating Population Based On Physical Clustering Of Differentially Expressed Genes. *Bmc Genomics*, 2014, 15:261
- Kozma, Jr, P. And Dula, T. 2003. Inheritance Of Resistance To Downy Mildew And Powdery Mildew Of Hybrid Family *Muscadinia X V. Vinifera X V. Amurensis X Franco American Hybrid*. *Acta Hort.*, 603: 457-463.

- Lahogue, F., This, P., Adam-Blondon, A.F., And A. Bouquet, A. 1998. Identification Of Markers Linked To The Seedlessness Character In Grapevine. *Plant And Animal Genome VI Conference Abst.*
- Lander, E.S. And Botstein, D. 1989. Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using Rflp Linkage Maps. *Genetics*, 121, 185-199.
- Lark, K.G., Chase, K., Adler, F., Mansur, M.A. And Orf, J.H. 1995. Interactions Between Quantitative Trait Oci In Soybean In Wich Trait Variation At One Locus Is Conditional Upon A Specific Allele At Another. *Proc. Natl. Acad. Sc.*, 92, 4656-4660.
- Lodhi, M. A. 1994. Genetic Mapping And Genome Analysis Of Grape (*Vitis* Sp.). Ph.D. Thesis, Cornell University, 233 P.
- Lodhi, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F., Reisch, B. I., And Daly, M. J. 1995. A Molecular Marker Based Linkage Map Of *Vitis*. *Genome*, 38(4), 786-794.
- Madini, A., Marino, R., Sevini, F., Di Gaspero, G., Velasco, R. And Grando, M.S. 2003. *Mapping Defense-Related Genes And Qtls In Vitis. Plant And Animal Genome XI Conference Abst.*
- Mandl, K., Santiago, J. L., Hack, R., Fardossi, A., And Regner, F. 2006. A Genetic Map Of Welschriesling× Sirius For The Identification Of Magnesium-Deficiency By Qtl Analysis. *Euphytica*, 149(1), 133-144.
- Mckight P E, Najab J. 2010. Kruskal - Wallis Test. *The Corsini Encyclopedia Of Psychology.*, 1- 1p.
- Mejia, N. And Hinrichsen, P. 2003. A New, Highly Assertive Scar Marker Potentially Useful To Assist Selection For Seddlessness In Table Grape Breeding. *Acta Hort.*, 603: 559-564.
- Meredith, C. P. And Dangl, G.S. 1994. Clarifying The Identity Of Some California Winegrapes By Dna Profiling Proceedings. *American Society For Enology And Viticulture 45th Annual Meeting.*
- Meredith, C. P. 2001. Grapevine Genetics: Probing The Past And Facing The Future. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, Vol. 66, No: 1, 21-25.
- Milutinovic, M., Nikolic, D., Avramov, L., And Rakonjac, V. 1998. Recombination Of Some Characteristics In F1 Generation Of Grapevine. *In VII International Symposium On Grapevine Genetics And Breeding*, 528 , Pp. 641-644.

- Moreira, F. M., Madini, A., Marino, R., Zulini, L., Stefanini, M., Velasco, R., Kozma, P. And Grando, M. S. 2011. Genetic Linkage Maps Of Two Interspecific Grape Crosses (*Vitis* Spp.) Used To Localize Quantitative Trait Loci For Downy Mildew Resistance. *Tree Genetics And Genomes*, 7 (1): 153-167.
- Nelson, J. C. 1997. Qgene: Software For Marker-Based Genomic Analysis And Breeding. *Molecular Breeding*, 3(3), 239-245.
- Panstruga, R. And Kuhn, H. 2019. Mutual Interplay Between Phytopathogenic Powdery Mildew Fungi And Other Microorganisms. *Molecular Plant Pathology*, 20 (4), 463–470.
- Paterson, A. H., Lander, E. S., Hewitt, J. D., Peterson, S., Lincoln, S. E., And Tanksley, S. D. 1988. Resolution Of Quantitative Traits Into Mendelian Factors By Using A Complete Linkage Map Of Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Nature*, 335(6192), 721-726.
- Paterson, A.H. 1996. Making Genetic Maps. In: *Paterson Ah (Ed), Genome Mapping In Plants*, P. 23-37.
- Pauquet, J., Bouquet, A., This, P., And Adam-Blondon, A. F. 2001. Establishment Of A Local Map Of Aflp Markers Around The Powdery Mildew Resistance Gene Run1 In Grapevine And Assessment Of Their Usefulness For Marker Assisted Selection. *Theoretical And Applied Genetics*, 103(8), 1201-1210.
- Peterlunger, E., Di Gaspero, G., Cipriani, G., Sivilotti, P., Zulini, L., Marrazzo, M.T., Andreetta, D. And Testolin, R. 2003. Breeding Strategy For The Introgression Of Disease Resistance Genes Into European Grapevine. *Actahorticulture*, 603, 665-670.
- Rahman, M.U., Hanif, M., Wan, R., Hou, X., Ahmad, B. And Wang, X. 2019. Screening Vitis Genotypes For Responses To Botrytis Cinerea And Evaluation Of Antioxidant Enzymes, Reactive Oxygen Species And Jasmonic Acid In Resistant And Susceptible Hosts. *Molecules* 2019, 24, 5; Doi:10.3390/Molecules24010005.
- Reisch, B. 2001. Map-Based Cloning Of A Powdery Mildew Resistance Locus In Vitis. *Report To The American Vineyard Foundation*.
- Ren, Z., Lamikanra, O. And Lu, J. 2000. Identification Of A Rapd Marker Closely Linked To The Fruit Color In Muscadine Grapes (*Vitis Rotundifolia*). *Acta Horticulturae*, 528; 263-266.
- Riaz, S. And Walker, M.A. 2003. Extended Genetic Linkage Map Of A Vitis Rupestris And Muscadinia Rotundifolia Population And Comparisons With The International Vitis Vinifera Reference Map. *Genetics*.

- Riaz, S., Tenschler, A.C., Ramming, D.W. And 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.
- Richard, P. And Hilditch, S. 2009. D-Galacturonic Acid Catabolism In Microorganisms And Its Biotechnological Relevance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 82, 597-604.
- Roose, M.L. 2000. Linkage Mapping And Marker-Assisted Selection In Citrus. In: *Proc. Int. Soc. Citriculture. IX Cong.* Pp.69-70.
- Rowe, H. C. And Kliebenstein, D. J. 2008. Complex Genetics Control Natural Variation In *Arabidopsis Thaliana* Resistance To *Botrytis Cinerea*. *Genetics*, 180(4), 2237-2250.
- Samaras, A., Madesis, P., And Karaoglanidis, G. S. 2016. Detection Of Sdh B Gene Mutations In Sdh₁-Resistant Isolates Of *Botrytis Cinerea* Using High Resolution Melting (Hrm) Analysis. *Frontiers In Microbiology*, 7, 1815.
- Scott, L.J., Shepherd, M., Nikles, D.G. And Henry, R.J. 2005. Low Efficiency Of Pseudo-Test-Cross Mapping Design Was Consistent With Limited Genetic Diversity And Low Heterozygosity In Hoop Pine (*Araucaria Cunninghamii* Araucariaceae). *Tree Genetic Genomes*, 1:124–134.
- Sevini, F., Madini, A., Vecchione, A., Pertot, I., Dalla Serra, A., Versini, G., Velasco, R., M. S. Grando, M.S. And Marino, R. 2002. Qtl Mapping For Disease Resistance And Fruit Quality In Grape. In *VIII International Conference On Grape Genetics And Breeding*, 603 (Pp. 527-533).
- Sevini, F., R. Marino, And M. S. Grando. 2004. Mapping Candidate Genes And Qtls For Aroma Content In Grape. *Proc. Ist Int'l. Symp. On Grapevine. Acta Hort.*, 652: 439-446.
- Sevini, F., Madini, A., Vecchione, A., Pertot, I., Dalla Serra, A., Versini, G., Velasco, R., M. S. Grando, M.S. And Marino, R. 2002. Qtl Mapping For Disease Resistance And Fruit Quality In Grape. In *VIII International Conference On Grape Genetics And Breeding*, 603 (Pp. 527-533).
- Shidfar, M. 2014. Moleküler Markörlerin Bağcılıkta Külleme Ve Mildiyö Hastalıklarına Dayanıklı Çeşit Islahında, Marköre Dayalı Seleksiyon (Marker Assisted Selection-Mas) Amaçlı Kullanılması. Doctoral Dissertation, University Of Ankara.

- Shidfar, M., Akkurt, M., Atak, A., Ergül, A. And Söylemezoğlu, G. 2019. Evaluation Of Grapevine Resistance To Downy And Powdery Mildew İn Regent X Boğazkere Hybrid Population Segregating For Resistance Genes. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 18 (1): 181-188.
- Staub, J. E. And Serquen, F.C. 1996. Genetic Markers, Map Construction, And Their Application İn Plant Breeding. *Hortscience*, Vol: 31(5): 729-741.
- Striem, M. J., Ben-Hayyim, G. And Spiegel-Roy, P. 1996. Identifying Molecular Genetic Markers Associated With Seedlessness İn Grape. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121 (5): 758-763.
- Tanksley, S.D. 1983. Molecular Markers İn Plant Breeding. *Plant Biol Rep*, 1,3-8.
- Tanksley, S.D., Young, N.D., Paterson, A.H., Bonierbale, M.W. 1989. Rflp Mapping İn Plant Breeding: New Tools For An Old Science. *Biotechnology*, 7, 257-263.
- Tanksley, S.D. 1993. Mapping Polygenes. *Annual Rev. Genetic*, 27, 205–233.
- Tanksley, S.D. Ve Nelson, J.C. 1996. Advanced Backcross Qtl Analysis: A Method For The Simultaneous Discovery And Transfer Of Valuable Qtls From Unadapted Germplasm Into Elite Breeding Lines. *Theor Appl Genet*, 92:191–203.
- Ten Have, A., Tenberge, K.B., Benen, J.A.E., Tudzynski, P., Visser, J. And Van Kan, J.A.L. 2002. The Contribution Of The Cell Wall Degrading Enzymes To Pathogenesis Of Fungal Plant Pathogens. In: *Kempken, F. (Ed.), The Mycota XI, Agricultural Applications*, Pp. 341–358.
- Thomma, B. P., Eggermont, K., Tierens, K. F. J., And Broekaert, W. F. 1999. Requirement Of Functional Ethylene-Insensitive 2 Gene For Efficient Resistance Of Arabidopsis To Infection By Botrytis Cinerea. *Plant Physiology*, 121(4), 1093-1101.
- Uslu, İ. Ve Samancı, H. 1998. Melezleme İle Sofralık Yeni Üzüm Çeşitlerinin Elde Edilmesi. 4. *Bağcılık Sempozyumu*, 17-23.
- Uzun, H. İbrahim. 2015. Hasad Yayıncılık. Bağcılık El Kitabı, 7 S.
- Uzun, İ., Özer, N., Akkurt, M., Özer, C. Ve Aydın, S. 2018. Asmalarda Mildiyö Hastalığına Dayanıklılığın Marköre Dayalı Seleksiyon Ve Fenotipleme Yardımıyla Erken Teşhisi. Tübitak Proje No: 1150176.
- Van Kan, J. A. L. 2004. Extracellular Enzymes And Metabolites Involved İn Pathogenesis Of Botrytis Cinerea. In *Book Of Abstracts XIII International Botrytis Symposium*, Pp. 54-54.

- Van Kan J. 2006. Licensed To Kill: The Lifestyle Of A Necrotrophic Plant Pathoge. *Trends Plant Science*, 11, 247-253.
- Van Ooijen, J. W., And Kyazma, B. V. 2009. Mapqtl 6. Software For The Mapping Of Quantitative Trait Loci In Experimental Populations Of Diploid Species. *Kyazma Bv*.
- Vezzulli, S., Dolzani, C., Nicolini, D., Bettinelli, P., Migliaro, D., Gratl, V., Stedile, T., Zatelli, A., Dallaserra, M., Clementi, S., Dorigatti, C., Velasco, R., Zulini, L. And Stefanini, M. 2019. Marker-Assisted Breeding For Downy Mildew, Powdery Mildew And Phylloxera Resistance At Fem. *In Bio Web Of Conferences*, Vol. 13, P. 01002.
- Vienne, D. 2003. Construction Of Genetic Linkage Maps. *In: Molecular Markers In Plant Genetics And Biotechnology D. Vienne (Ed.) Science Publishers Inc*. Pp. 47-79.
- Walker, M. A. And Jin, Y. 2000. Breeding Vitis Rupestris X Muscadinia Rotundifolia Rootstocks To Control Xiphinema Index And Fanleaf Degeneration. *Proc. Of Vu. International Symp. On Grapevine Genetics And Breeding*, Vol 2. *Acta Horticulturae*, 528: 511-515.
- Wan, R., Hou, X., Wang, X., Qu, J., Singer S.D., Wang, Y., And Wang, X. 2015. Resistance Evaluation Of Chinese Wild Vitis Genotypes Against Botrytis Cinerea And Different Responses Of Resistant And Susceptible Hosts To The Infection. *Frontiers In Plant Science*, 6:854.
- Welter, L. J., Göktürk-Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R. And Zyprian, E. M. 2007. Genetic Mapping And Localization Of Quantitative Trait Loci Affecting Fungal Disease Resistance And Leaf Morphology In Grapevine (*Vitis Vinifera L*). *Molecular Breeding*, 20(4), 359-374.
- Wiedeman-Merdinoglu, S., Coste, P., Dumas, V., Haetty, S., Butterlin, G., Greif, C. And Merdinoglu, D. 2002. Genetic Analysis Of Downy Mildew Resistance Derived From Muscadinia Rotundifolia. *In VIII International Conference On Grape Genetics And Breeding*, 603 (Pp. 451-456).
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P. And Van Kan, J.A.L. 2007. Botrytis Cinerea: The Cause Of Grey Mould Disease. *Mol. Plant Pathol*, 8, 561–580.
- Winkler, A. J., Cook, J.A., Kliwer, W. M. And Lider, A.M. 1974. General Viticulture. Univ. Calif. Pres, 710 P.J

- Wu, K.K., Burnquist, W., Sorrells, M.E., Tew, T.L., Moore, P.H. And Tanksley, S.D. 1992. The Detection And Estimation Of Linkage İn Polyploids Using Single-Dose Restriction Fragments. *Theor Appl Genet.*, 83: 294-300.
- Yang, E., Drosou, F., Dourtoglou, E. G., Chatzilazarou, A. And Dourtoglou, V.G. 2017. Approaches To Outline The Aromatic Profile Of Kyoho Wines From South Korea. *Bio Web Of Conferences* 9, 02034, Doi: 10.1051/Bioconf/20170902034.
- Yaşa, Z. 2005. Asma (*Vitis Vinifera* L.)’Da Önemli Vegetatif Ve Generatif Karakterler İle Hastalıklara Dayanım Özelliklerine Yönelik Genom Haritalaması. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 123 S.
- Ye, G. N., Lodhi, M. A., Weeden, N. F. And Reisch, B. I. 1888. A Rapd Linkage Map For Grape And İdentification Of Major Qtl For Powdery Mildew Resistance. *Bard Project. Final Bard Report, Us*, 90, 54-67.
- Yurter, H. E. 2001. Gen Ekspresyon Analizinde Microarray Teknolojisinin Kullanımı. *Deu Tıp Fakültesi Dergisi Özel Sayısı*, 41-48s.
- Zavala, K., Mejia, N., Sagredo, B. And Hinrichsen, P. 2002. Consruction Of A Linkage Map For Apirenic Table Grapes And İdentification Of Markers Linked To Seedlessness. *In Plant Animal & Microbe Genome X Conference Abst*, Pp. 12-16.
- Zhang, L., Thiewes, H. And Van Kan J.A.L. 2011. The D-Galacturonic Acid Catabolic Pathway İn Botrytis Cinerea. *Fungal Genetics And Biology*, 48, 990-997.
- Zhigunov, A.V., Ulianich, P.S., Lebedeva, M.V., Chang, P.L., Nuzhdin, S. V. And Potokina, E.K. 2017. Development Of F1 Hybrid Population And The High-Density Linkage Map For European Aspen (*Populus Tremula* L.) Using Radseq Technology. *Bmc Plant Biology*, 2017, 17(Suppl 1):180.
- Zyprian, E. M., Salakhutdinov, I., Fischer, B., Akkurt, M. And Töpfer, R. 2002. Molecular Mapping Of Grapevine And Qtl Analysis Of Fungal Disease Resistances. *In Plant, Animal Genomes X Conference*, Pp. 12-16.
- Zyprian, E. M., Eibach, R., Akkurt, M. And Töpfer, R. 2005. Genetic Mapping Of Ssr Markers İn Grapevine For The Analysis Of Disease Resistance And Flavor Compounds. *In Plant, Animal And Microbe Genomes XIII Conference*.
- Zyprian, E., Ochßner, I., Schwander, F., Šimon, S., Hausmann, L., Bonow-Rex, M., Sanz, M., Grando, S.M., Wiedemann-Merdinoğlu, S., Merdinoğlu, D., Eibach, R. And Töpfer, R. 2016. Quantitative Trait Loci Affecting Pathogen Resistance And Ripening Of Grapevines. *Molecular Genetics And Genomics*, 291 (4): 1573-1594.

ÖZGEÇMİŞ

AYFER DALDAL

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2021-Devam Ediyor	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2015-2019	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya