T.C.

TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI

Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü

PROJE SONUÇ RAPORU

MELEZLEME ISLAHI İLE ÇEKİRDEKSİZ ÜZÜM ÇEŞİTLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

TAGEM/BBAD/B/20/A1/P6/2070

PROJE LİDERİ

Yeşim DOYĞACI

ARAŞTIRMACILAR

Dr. Özlem BOZTEPE

Dr. Gülhan GÜLBASAR KANDİLLİ

Dr. Abdulbaki ŞEN

Dr. Yılmaz BOZ

Dr. Zühtü POLAT

Doç.Dr. Arif ATAK

Prof. Dr. Murat AKKURT

Tuğba Nur BEYAZTAŞ

Zeliha ORHAN ÖZALP

Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÇALKAN SAĞLAM

ATATÜRK BAHÇE KÜLTÜRLERİ MERKEZ ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

OCAK 2025 / YALOVA

ÖNSÖZ

Ülkemiz; bağcılık için dünyanın en uygun iklimine sahip coğrafyalarından biri olması nedeniyle hem yaşayan bir bağ kültürüne sahip hem de önemli bir asma gen merkezi olma avantajına sahiptir. Ayrıca Türkiye dünya üzüm üretiminde önemli konuma sahip ülkelerden biridir. Bağcılığın geniş alanlarda yapılan bir tarımsal üretim olması, yurtiçi tüketim ve ihracatta önemli katma değerlere sahip olması bu sektörün ekonomik önemini vurgulamaktadır.

Piyasa taleplerindeki hızlı değişim, tüketici tercihlerinin sağlık ve sürdürülebilirlik temel anlayışına göre şekillenmesi, uluslararası ticaret politikalarındaki değişiklikler üzüm üretim ve tüketim taleplerindeki dinamikleri değişken kılmaktadır. Dünyada bağcılık alanlarını şekillendiren başlıca faktör iklimdir ve her geçen yıl iklim değişikliğinin olası etkileri üreticilerin çeşit seçimini yöneten başlıca aktörlerden biri olmaya devam etmektedir. Bu durum asma ıslah çalışmalarına yönelik uyarıcı etkinin yanı sıra, ıslah çalışmalarındaki basamakları hızlandıran yeni metotların ortaya çıkmasını da kaçınılmaz hale getirmiştir. Bu kapsamda, biyoteknoloji ve doku kültürü alanındaki ilerlemeler, üzüm verimliliğini ve kaliteyi artırmada etkili rol oynayan metotlar olarak ortaya çıkmıştır. Teknolojinin sunduğu yeni yöntemleri klasik asma ıslah süreçlerine entegre etmek, hem meyve kalitesinin iyileştirilmesini hem de biyotik ve abiyotik stres koşullarına karşı dayanıklı üzüm çeşitlerinin daha hızlı geliştirilmesini mümkün kılmaktadır.

Piyasanın talep ettiği çekirdeksizlik ve hastalıklara dayanıklılık kriterleri dikkate alınarak yapmış olduğumuz çalışmayla; klasik melezleme çalışmalarına embriyo kurtarma ve Marköre Dayalı Seleksiyon yöntemlerini entegre ederek yeni genotipler elde edilmiştir.

Araştırmanın gerçekleştirilmesi ve raporun hazırlanması sürecinde katkıda bulunan başta proje ekibi olmak üzere, Enstitü personeline ve Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğüne teşekkür ederim. Elde edilen verilerin, tüm bağcılık sektörü paydaşları ve üreticiler için faydalı olmasını temenni ediyorum.

Yeşim DOYĞACI

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ 2
İÇİNDEKİLER 3
KISALTMA TANIMLARI 4
ÇİZELGELER LİSTESİ 5
ŞEKİLLER LİSTESİ 6
ÖZET 7
1. GİRİŞ 9
2. LİTERATÜR ÖZETİ 12
2.1. Doku Kültürü Çalışmaları ile İlgili Genel Bilgiler 12
2.1. Çekirdeksizlik Çalışmaları ile İlgili Genel Bilgiler 17
2.2. Külleme Hastalığı ile İlgili Genel Bilgiler 20
3. MATERYAL VE METOT 24
3.1. Materyal 24
3.2. Metot 26
3.2.1. Melezleme Çalışmaları 26
3.2.2. Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları 27
3.2.2.1. Embriyo Canlılık Oranları (%) 29
3.2.2.2. Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı (%) 29
3.2.3. Markör Destekli Seleksiyon Çalışmaları 30
3.2.3.1. DNA İzolasyon ve Ölçümleri 30
3.2.3.2. PZR reaksiyonlarının hazırlanması ve PZR İşlemi 30
3.2.4. Doğal Koşullarda Yürütülecek Külleme Hastalığı İle İlgili Testleme Çalışmaları: 33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 36
4.1. Bulgular 36
4.1.1. Doku Kültürü Analizlerine Ait Bulgular 36
4.1.1.1. 2020 Yılına Ait Çalışmalar 36
4.1.1.2. 2021 Yılına Ait Çalışmalar 40
4.1.1.3. 2022 Yılına Ait Çalışmalar 43
4.1.1.4. 2023 Yılına Ait Çalışmalar 46
4.1.2. Moleküler Analizlere Ait Bulgular 50
4.1.2.1. Genotiplerden DNA izolasyonu 50
4.1.2.2. Genotiplerden İzole Edilen DNA' ların PZR ile Çoğaltılması 52
4.1.3. Doğal Koşullarda Yürütülen Külleme Hastalığı İle İlgili Testleme Çalışmalarına Ait Bulgular 67
4. SONUÇ 71
5. KAYNAKÇA 73
6. ÖZGEÇMİŞ 79
7. EL BROŞÜR (LİFLET) ÖRNEĞİ 88
8. PROJE SONUÇLARININ UYGULAMAYA AKTARILMA PLANI 89

KISALTMA TANIMLARI

Kısaltma	Açıklama
mm	Milimetre
m	Metre
g	Gram
kg	Kilogram
ppm	milyonda bir birim
M.Ö.	Milattan Önce
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
ha	Hektar
OIV	Uluslararası Bağ ve Şarap Örgütü
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
syn	Sinonim
RUN	Resistance of *Uncinula necator*
REN	Resistance of *Erysphe necator*
TSÇKM	Toplam Suda Çözünür Kuru Madde
QTL	Kantitatif Karakter Lokus
RFLP	Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluk Çeşitliliği
RAPD	Rastgele Arttırılmış Polimorfik Dna
SSR	Basit Dizi Tekrarları
AFLP	Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı
SCAR	Diziyle Karakterize Edilmiş Güçlendirilmiş Bölge
CAPS	Bölünmüş Güçlendirilmiş Polimorfik
cDNA	Tamamlayıcı DNA
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
MAS	Markör Destekli Seleksiyon
6-BA	6-Benzil Adenin
NAA	Naftalin Asetik Asit
GA	Giberellik Asit
bp	Baz çifti
NB-LRR	Nükleotit bağlama- lösin açısından zengin tekrar
RLKC	Reseptör Benzeri Protein Kinazlar
LG	Lokus
RNA	Ribonükleik asit
RNA-seq	RNA dizeleme
NaClO	Sodyum hipoklorit
IAA	Indol asetik asit
pH	Hidrojen potansiyeli
µl	Mikrolitre
pmol	Pikomol
Ç.sizi	Çekirdeksiz
TBDO	Tam bitkiye dönüşüm orani
ECO	Embriyo canlılık oranı
I	İmmün
HR	Oldukça dayanıklı
R	Dayanıklı
S	Duyarlı
HS	Oldukça duyarlı
Y. Ç.	Yalova Çekirdeksizi
K.V.	Kismish Vatkana
R.G.	Red Globe
E.X.	Exalta
M.B.	Muscat Bailey A
MARS	Mars Seedless

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3.1. E20A Besi Ortamı 28
Çizelge 3.2. 5U-VviAGL11 SSR primerine ait baz dizileri ve PZR Tm Değerleri 31
Çizelge 3.3. Külleme Hastalığı ile ilişkili markörler, özellikleri ve referans alınan yayınlar 31
Çizelge 3.4. Hasat Edilen Genotiplerde İncelenen Özellikler. 33
Çizelge 3.5. Salkım Şekline Ait Kriterler 34
Çizelge 3.6.Salkım Sıklığına Ait Kriterler 34
Çizelge 3.7.Tane Şekline Ait Kriterler 34
Çizelge 3.8. Tane Kabuk Rengine Ait Kriterler 35
Çizelge 4.1. 2020 Yılında Melezleme Çalışmalarından İzole Edilen Çekirdek Sayısı (Adet) 36
Çizelge 4.2. 2020 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Canlı Embriyo Sayısı (Adet) 37
Çizelge 4.3. 2020 Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Genotiplerde Embriyo Canlılık Oranları (%). 38
Çizelge 4.4. 2020 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Bitki Sayıları (Adet). 38
Çizelge 4.5. 2020 Yılında Melezleme Çalışmalarından Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı (%). 39
Çizelge 4.6. 2021 Yılında Melezleme Çalışmalarından İzole Edilen Çekirdek Sayısı (Adet) 40
Çizelge 4.7. 2021 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Canlı Embriyo Sayısı (Adet) 41
Çizelge 4.8. 2021 Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Genotiplerde Embriyo Canlılık Oranları (%). 41
Çizelge 4.9. 2021 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Bitki Sayıları (Adet). 42
Çizelge 4.10. 2021 Yılında Yapılan Çalışmalarda Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı (%). 42
Çizelge 4.11. 2022 Yılında Melezleme Çalışmalarından İzole Edilen Çekirdek Sayısı (Adet) 43
Çizelge 4.12. 2022 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Canlı Embriyo Sayısı (Adet) 44
Çizelge 4.13. 2022 Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Genotiplerde Embriyo Canlılık Oranları (%). 44
Çizelge 4.14. 2022 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Bitki Sayıları (Adet). 45
Çizelge 4.15. 2022 Yılında Yapılan Çalışmalarda Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı (%). 45
Çizelge 4.16. 2023 Yılında Melezleme Çalışmalarından İzole Edilen Çekirdek Sayısı (Adet) 46
Çizelge 4.17. 2023 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Canlı Embriyo Sayısı (Adet) 46
Çizelge 4.18. 2023 Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Genotiplerde Embriyo Canlılık Oranları (%). 47
Çizelge 4.19. Kombinasyonların yıllara göre melezlemelerden elde edilen genotip sayısı (Adet) 47
Çizelge 4.20. Genotiplere ait DNA konsantrasyonları ve saflıkları 51
Çizelge 4.21. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin 5U-VviAGL11 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp) 53
Çizelge 4.22. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin UDV020a SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp) . 55
Çizelge 4.23. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin VMC9h4.2 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp) 56
Çizelge 4.24. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin GF15-28 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp) ... 57
Çizelge 4.25. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin GF15-39 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp) ... 58
Çizelge 4.26. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin GF15-41 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp) ... 60
Çizelge 4.27. Melezlemeler Sonucunda Elde Edilen Genotiplerden *VviAGL11* ile İlişkili Olarak Tespit Edilen Genotipler ve Kombinasyonları 61
Çizelge 4.28. Melezlemelerden Elde Edilen Genotiplerden *Ren1* ile İlişkili Bulunan Genotipler ve Kombinasyonları 63
Çizelge 4.29. Melezlemelerden Elde Edilen Genotiplerden *Ren3* ile İlişkili Bulunan Genotipler ve Kombinasyonları 65
Çizelge 4.30. Melezlemerden Elde Edilen Genotiplerin Hastalık Şiddetine Ait Sonuçları 67
Çizelge 4.31. Melezlemelerden Elde Edilen Genotiplerde Doğal İnokülasyon Sonucunda Dayanıklı Olarak Tespit Edilen Genotipler ve Kombinasyonları 68
Çizelge 4.32. Külleme hastalığına potansiyel dayanıklı/tolerant genotipler 68
Çizelge 4.33. Meyve kalite analizleri 70

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Dünya üzüm üretim miktarları 9
Şekil 3.1. a. Autumn Royal, b.Yalova Çekirdeksizi, c. Crimson Seedless 24
Şekil 3.2. a. Kismish Vatkana, b.Exalta, c. Red Globe 25
Şekil 3.3.a. Muscat Bailey A, b.Mars Seedless, c. Kismish Rozavyi 25
Şekil 3.4. Emaskülasyon çalışmaları 26
Şekil 3.5. Tozlama için kullanılan çiçek tozları 26
Şekil 3.6. Tozlama ve keseleme işlemi 27
Şekil 3.7. E20A ortamına izole edilen çekirdekler 27
Şekil 3.8. Kök ve üst aksamları oluşan bitkicikler 29
Şekil 3.9. Enstitü fidanlığında ve araziye aktarılmış melez genotipler 29
Şekil 4.1. Melezlemelerden ele edilen genotiplerden izole edilen DNA'lara ait %1' lik agaroz jel görüntüsü 50
Şekil 4.2. Melezlemelerden ele edilen genotiplerden izole edilen DNA'lara ait %1' lik agaroz jel görüntüsü ... 50
Şekil 4.3. Melezlemelerden ele edilen genotiplerden izole edilen DNA'lara ait %1' lik agaroz jel görüntüsü 50
Şekil 4.4. Melezlemelerden ele edilen genotiplerden izole edilen DNA'lara ait %1' lik agaroz jel görüntüsü 50
Şekil 4.5. Bazı genotiplerin UDV020a markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü 52
Şekil 4.6. Bazı genotiplerin VMC9h4.2 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü 52
Şekil 4.7. Bazı genotiplerin GF15-28 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü 52
Şekil 4.8. Bazı genotiplerin GF15-39 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü 53
Şekil 4.9. Bazı genotiplerin GF15-41 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü 53
Şekil 4.10. Bazı genotiplerin ScORA7-760 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü 53
Şekil 4.11. Bazı genotiplerin 5U_VviAGL11 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü 53

ÖZET

MELEZLEME ISLAHI İLE ÇEKİRDEKSİZ ÜZÜM ÇEŞİTLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Dünyada ve ülkemizde en yaygın yetiştiriciliği yapılan çeşitler özel aroma ve lezzete sahip olan *Vitis vinifera* L. türüne ait olan çeşitlerdir. Taze olarak tüketilen üzümlerde çekirdeksizlik, verim, kalite ve hastalıklara dayanıklılık pazarlama şansını artıran ve tüketici tarafından arzu edilen önemli özellikler arasındadır.

Bu araştırmada klasik ıslah metodunun yanında embriyo kurtarma tekniği ve marköre dayalı seleksiyon çalışmaları bir arada kullanılmıştır. Çalışmanın ilk yılı olan 2020 yılında yirmi iki kombinasyonda melezleme çalışması yapılmış daha sonraki yıllarda öne çıkan kombinasyonlarda çalışmalar devam etmiştir. Tüm yıllardan elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, dişi ebeveyn olarak 'Yalova Çekirdeksizi' çeşidinin kullanıldığı kombinasyonların, hem gelişen embriyo yüzdesi hem de fide sayısı açısından diğer çeşitlerden daha iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Tozlamadan sonraki hafta sayısına göre örnekleme zamanını belirlemek için yapılan çalışmalarda, yedinci ve sekizinci haftalar, tüm yıllarda diğer haftalara göre öne çıkan haftalar olarak belirlenmiştir.

Melezlemeler sonucunda elde edilen genotiplerde erken seleksiyon aşamasında çekirdeksizlik ve külleme hastalığına dayanıklılık durumları moleküler markörler ile incelenmiştir. Ayrıca doğal koşullarda külleme hastalığıyla ile ilgili testleme çalışmalarıda yürütülmüştür. Markör destekli seleksiyon ile çekirdeksiz F_1 genotiplerin belirlenmesi için 5U_VviAGL11 SSR markörü kullanılmıştır. Araştırmanın sonucunda yetmiş yedi genotip arasından potansiyel çekirdeksiz yirmi bir adet melez genotip tespit edilmiştir. Külleme hastalığının moleküler markörlerle taranması sonucunda elde edilen allel büyüklükleri incelendiğinde, çalışmamızda toplamda yetmiş yedi genotipten VMC9h4.2 markörü ile on bir adet genotip, UDV020a markörü ile on üç adet genotip, GF15-28 markörü ile on iki adet genotip, GF15-39 markörü ile on üç adet genotip, GF15-41 markörü ile on bir adet genotip külleme hastalığına potansiyel dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir. Doğal koşullarda yürütülen külleme hastalığına ilişkin testlemelerde ise doksan yedi genotipten potansiyel dayanıklı (R) olarak yirmi üç genotip, duyarlı (S) olarak yirmi dört ve çok duyarlı (HS) olarak elli genotip belirlenmiştir

Anahtar Kelimeler: *Vitis* spp, SSR, Çekirdeksizlik, Embriyo Kurtarma.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF SEEDLESS GRAPE CULTIVARS BY CROSS-BREEDING

The most commonly cultivated varieties in the world and our country belong to the *Vitis vinifera* L. species, which have a unique aroma and flavour. Seedlessness, yield, quality, and disease resistance in freshly consumed grapes are among the essential characteristics that increase the marketing chance and are desired by the consumer.

This study used embryo rescue techniques and marker-based selection studies with the classical breeding method. In the first year of the study, 2020, crossbreeding studies were conducted in twenty-two combinations, and studies continued in the following years in the prominent combinations. Considering the results obtained from all years, it was determined that the combinations in which the 'Yalova Çekirdeksizi' variety was used as the female parent gave better results than other varieties in terms of both the percentage of developing embryos and the number of seedlings. In the studies that determined the sampling time according to the number of weeks after pollination, the seventh and eighth weeks were prominent compared to other weeks in all years.

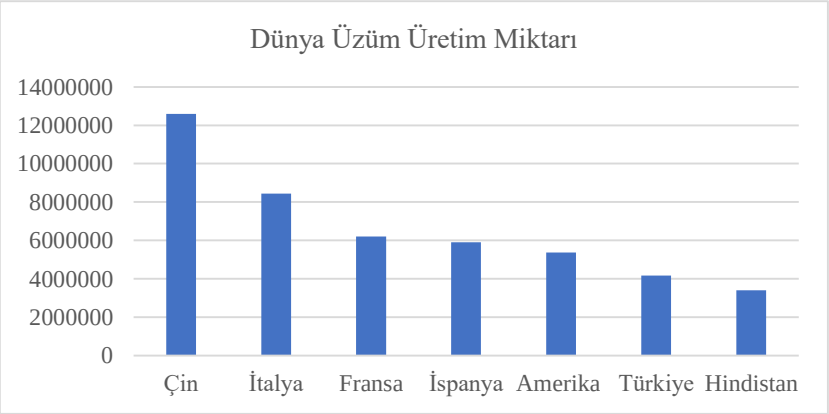
In the genotypes obtained from crossbreeding, seedlessness and resistance to powdery mildew disease were examined with molecular markers in the early selection stage. In addition, testing studies were carried out on powdery mildew under natural conditions. 5U_VviAGL11 SSR marker was used to determine seedless F1 genotypes with marker-assisted selection. As a result of the research, twenty-one potential seedless hybrid genotypes were identified among seventy-seven genotypes. When the allele sizes obtained as a result of screening powdery mildew with molecular markers were examined, out of a total of seventy-seven genotypes in our study, eleven genotypes with VMC9h4.2 marker, thirteen genotypes with UDV020a marker, twelve genotypes with GF15-28 marker, thirteen genotypes with GF15-39 marker, and eleven genotypes with GF15-41 marker were identified as potentially resistant/tolerant to powdery mildew. In tests conducted on powdery mildew under natural conditions, out of ninety-seven genotypes, twenty-three were determined as potentially resistant (R), twenty-four as susceptible (S) and fifty as very susceptible (HS).

Keywords: *Vitis* spp, SSR, Seedlessness, Embryo rescue.

1. GİRİŞ

Ülkemiz dünyada üzüm yetiştiriciliğine en uygun iklim kuşağında yer almakta olup, binlerce yıllık geçmişe dayanan bir bağcılık kültürüne sahiptir. Ülkemiz coğrafi konumu itibari ile farklı iklim tipleri ve toprak yapıları sayesinde zengin *Vitis* tür, çeşit ve genotipine sahiptir (Çelik 1998). Türkiye dünya çapında ileri gelen üzüm üreticileri arasında yer almakta olup bağcılık, ülke ekonomisinin kalkınması açısından stratejik öneme sahiptir. (Zohary ve Hoph 2000). Asmanın meyvesi olan üzüm sofralık, kurutmalık, şaraplık, pekmez, meyve suyu, pestil gibi bir çok tüketim alanında kullanılarak bağcılığın günümüze kadar önemini yitirmemesini sağlamıştır.

Dünyada üzüm üretimine bakıldığında yaklaşık 6.7 milyon ha alanda 73.5 milyon ton üretim yapıldığı bildirilmektedir. Bu üzümün yaklaşık 30.1 milyon tonluk kısmı sofralık üzüm olarak üretilmektedir. Üretim miktarları incelendiğinde, Çin 12,6 milyon ton ile dünyada en fazla üretim miktarına sahip ülke konumundayken, bunu 8,43 milyon ton ile İtalya, 6,2 milyon ton ile Fransa, 5,9 milyon ton ile İspanya takip etmektedir. Türkiye, 4,16 milyon ton ile Amerika'nın ardından altıncı sırada yer almaktadır (FAO, 2024). Çin, Hindistan, Türkiye, ABD, İtalya ve Şili önemli sofralık üzüm üreticisi ülkelerdir.



Şekil 1.1. Dünya üzüm üretim miktarları

Tüketici taleplerindeki değişimler, değişen hükümet politikaları, toplum ve çevre sağlığı konusundaki farkındalığın artması, küresel iklim değişiklikleri, asma genomunun daha iyi anlaşılması ile beraber asma ıslahı çalışmaları bilim insanları için her geçen gün daha önemli hale gelmektedir. Modern tekniklerin yardımıyla tüketici tercihlerine uygun yeni çeşitlerin geliştirilmesi, asma ıslah çalışmalarının ana hedefi olmuştur. Asmada ıslah çalışmaları ilk olarak şaraplık üzümlerde başlamış, on dokuzuncu yüzyılın sonlarına doğru sofralık üzümleri de kapsayacak şekilde ilerlemiştir. Yirminci yüzyılda çeşitli kurum ve kuruluşlar sofralık üzümler üzerinde farklı ıslah çalışmalarına başlamış ve bu çalışmalar neticesinde yeni üzüm çeşitleri geliştirilmiştir. Bu yeni çeşitler dünya çapında sofralık üzüm endüstrisinin gelişmesine katkıda bulunmuştur. Amerika Birleşik Devletleri, Uzak Doğu, Avrupa ve Avustralya gibi yirminin üzerindeki ülkede tüketici taleplerine uygun sofralık üzüm ıslah çalışmaları yoğun bir şekilde devam etmektedir (Atak, 2024).

Hastalık ve zararlılara, ekstrem iklim koşullarına dayanıklılığın yanında verimi yüksek, kaliteli ve çekirdeksiz çeşitler üreticiler ve tüketiciler tarafından tercih edilmektedir. Çekirdeksiz üzüm piyasasında önemli bir yere sahip olan ülkemizin yeni üzüm çeşitleri geliştirme çalışmalarındaki sürekliliği, modern teknolojileri

kullanması rekabet edebilirliğimiz açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle üzüm ıslahında öncelikli konulardan bir tanesi sofralık kalitesi yüksek yeni çeşitler geliştirmektir.

Dünya üzüm piyasasında özellikle çekirdeksiz, taneleri iri, meyve eti sert, aromalı ve hastalıklara tolerant/dayanıklı olan çeşitlere talepler daha ön plana çıkmaktadır. Biyoteknolojideki gelişmelerle beraber asmanın önemli özellikleri ile ilişkili gen bölgeleri belirlenerek daha kısa sürede üstün özelliklerde yeni üzüm çeşitlerinin geliştirilmesi mümkün hale gelmeye başlamıştır (Atak,2024).

Hibrit genotiplerin, doğal popülasyonlara nazaran önem kazanmasının nedeni; ebeveynlerine ait istenilen özelliklerin, uzun süren ıslah programları ile bu genotiplerde toplanmasıdır. Erkenci ya da geççi, farklı renklerde çekirdeksiz veya çekirdekli üzümlerin pazar payı daha yüksektir. Sofralık üzüm üretiminde lider konumundaki ülkeler alternatif yeni çeşitlerin geliştirilmesi ile birlikte pazar paylarını arttırmaya çalışmaktadırlar (Ergül,1994).

Mantari hastalıkların başında gelen külleme hastalığı dünyada olduğu gibi ülkemizde de bağcılığı önemli derecede etkilemektedir. Bu hastalıklardan korunmak amacıyla yoğun ilaçlamalar yapılmaktadır. Mantari hastalıklardan korunma açısından sürdürülebilirliğe yönelik her geçen gün talep artmaktadır. Hastalıklara dayanıklı asma çeşitlerinin ıslahı, fungisit girdilerinin daha iyi yönetilmesi için önemli bir strateji oluşturmaktadır.

Geleneksel melezleme ıslahı programlarında çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin yalnızca tozlayıcı olarak kullanılmaları elde edilen genotiplerde çekirdeksizlik oranının düşük olmasına (%0-55) neden olmaktadır (Pommer ve diğ., 1995; Spiegel-Roy ve diğ., 1990). Klasik ıslah yöntemlerinde çekirdeksiz birey elde etmek için, ana ebeveyn çekirdekli çeşit, tozlayıcı olarak ise çekirdeksiz çeşitler kullanılmakta ve düşük oranlarda sağlıklı çekirdeksiz bireyler elde edilebilmektedir. Embriyo kültürü ile ana ebeveyn olarak kullanılan çekirdekli çeşitler yerine, çekirdeksiz çeşitler de kullanılabilmekte ve çekirdeksiz üzüm elde etme olasılığı artmaktadır (Cain ve diğ., 1983).

Dünya çapında bağcılıkta en önemli sorunlardan biri, asmaların patojenlere karşı duyarlılığıdır. Dünya bağcılığı kadar ülkemiz bağcılığını da sınırlandıran külleme hastalığı fungal hastalıkların başında gelmektedir. Asmaları bu hastalıklardan korumak için vegetasyon dönemi boyunca yoğun ilaçlamalar yapılmaktadır. Kullanılan kimyasal ilaçlar çok ciddi bir maliyet kaybı oluşturmakla beraber çevre ve insan sağlığı üzerinde de ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Verim kayıpları ve pestisitlerin dolaylı olumsuz etkileri de dahil olmak üzere ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hastalık ve zararlılardan kaynaklanan ürün kayıpları tarımsal üretimi olumsuz etkileyen en önemli faktörlerden biri olup, üreticiler yüksek maliyetli ilaçlarla hastalıkları önlemeye çalışmaktadır ancak kullanılan kimyasalların kalıntıları üründe ve toprakta bozulmadan kalabilmektedir. Bu kalıntılar zamanla çevreyi, insan ve diğer organizmaların sağlığını ciddi şekilde tehdit etmeye başlamıştır. (Şehirali ve Özgen, 2010).

Kombinasyon ıslahı, uzun bir soluklu çalışmalar olup istenilen özellikte bireylerin elde edilmesi için geniş popülasyonlardan seçilim yapılmasını gerektirmektedir. Bu uzun soluklu çalışmalar yoğun işgücü gerektirmektedir. Heterozigotik yapıya sahip olan asma gibi çok yıllık bitkilerde ıslah çalışmalarında amaca uygun genotiplere ulaşmak daha zor olmaktadır. Günümüzde biyoteknolojik alanda her geçen gün ortaya çıkan yenilikler istenilen hedeflere ulaşmayı mümkün hale getirmektedir. Marköre Dayalı Seleksiyon (MDS = MAS = Marker Assited Selection) ile geniş popülasyonlar içerisinden amaca uygun özellikteki genotiplerin seçilmesi bu sürecin minimuma inmesine yardımcı olmaktadır (Ergül,1994).

Günümüzde biyoteknolojinin sağladığı imkanlar sonucunda melezlemelerden hemen sonra elde edilen melez genotiplerin ilk yaprakları kullanılarak çekirdekli yada çekirdeksiz oldukları marköre dayalı seleksiyon yardımı ile çok kısa sürede öğrenilebilmektedir. Geleneksel ıslah çalışmalarında asma gibi çok yıllık bitkilerdeki heterozigotik kalıtsal yapı amaca uygun bireyleri elde etmeyi zorlaştıran bir faktördür. Marköre Dayalı Seleksiyon (MDS = MAS = Marker Assited Selection) ile popülasyon içerisinden istenen özellikteki genotiplerin seçilmesi uzun ıslah sürecini minimuma indirmeye yardımcı olmaktadır. Hastalıklara dayanıklılık ve çekirdeksizlik seleksiyonları marköre dayalı seleksiyonun kullanıldığı en önemli çalışmaların başında gelmektedir. Islah programlarındaki, bitkisel üretimin ve ürünlerdeki kalitenin arttırılması açısından önemli çalışmalardır.

Asma ıslahının temel amaçları, asmanın genetik özelliklerini iyileştirerek hem verim hem de kaliteyi artırmaktır. Bu süreçte hastalık ve zararlılara dayanıklılık, değişen çevresel koşullara dayanıklı genotiplerin geliştirilmesi, üretim sürekliliğini sağlamada büyük rol oynamaktadır. Üzümler için erkencilik/geççilik özellikleri lezzet, dayanıklılık, renk, irilik ve verim gibi birçok üstün özelliğin kazandırılması hedeflenmektedir. Dejenere olmuş veya hastalıklı çeşitlerin saflaştırılması, yerel bağcılık için ekonomik bir fayda sağlamaktadır. Son yıllarda pazar talepleri doğrultusunda iri taneli, çekirdeksiz ve aynı zamanda kaliteli üzüm çeşitleri elde edilmesi öncelikli hedefler arasında yer almaktadır. Bu hedefler, modern ıslah teknikleri ve geleneksel yöntemlerin bir arada kullanılmasıyla gerçekleştirilmekte, aynı zamanda bölgesel ve küresel bağcılık sektörüne katkı sağlanmaktadır (Spiegel- Roy ve diğ., 1985; Meredith, 2001).

Bu çalışmada, çekirdeksiz çeşitlerin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlardan elde edilen F_1 bireyler için embriyo kurtarma tekniği uygulanarak, uygun örnek alma zamanının belirlenmesi planlanmıştır. Yapılan melezleme çalışmalarından elde edilen F_1 genotiplerin, moleküler markörler ile taranarak, çekirdeksiz, külleme hastalığına dayanıklı olan bireylerin erken dönemde seleksiyonu hedeflenmiştir. Kombinasyonlardan elde edilen F_1 bitkilerde erken seleksiyon için 1 adet çekirdeksizlik, 7 adet külleme ile ilişkili markör kullanılmıştır. Ayrıca doğal koşullarda külleme hastalığı ile ilişkili testleme çalışmaları yapılarak küllemeye dayanıklı/tolerant potansiyel genotipler tespit edilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Türkiye'de iri taneli sofralık üzüm çeşitlerinin elde edilmesine yönelik melezleme ıslah çalışmaları 1973 yılında Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde başlatılmıştır. Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde 1988 yılında Yalova Çekirdeksizi (Beyrut Hurması x Perlette), 1991 yılında Ergin Çekirdeksizi (Beyrut Hurması x Perlette) tescil edilmiştir (Uslu ve Samancı, 1998). Islah çalışmaları günümüze kadar devam etmiş son olarak Atak 77, İsmetbey, Pembe 77, Arifbey, Yalova Beyazı çeşitleri de tescil edilerek üretime sunulmuştur (Atak ve Kahraman, 2012). Yeni çekirdeksiz çeşitlerin eldesine yönelik bir diğer çalışma 1974 yılında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsünde yapılmıştır. Melezleme çalışmaları sonucunda, Barış (Cardinal x Beauty Seedless), Tekirdağ Çekirdeksizi (Alphonse Lavellée x Sultani çekirdeksiz), 2/B-56 (Elhamra x Perlette), 3/A-261 (Emperor x Sultani çekirdeksiz) çeşitleri tescil edilmiştir (Gürnil ve diğ., 1998). 2011 yılında, dört yeni çeşit adayının da tescil başvuruları yapılarak Tekirdağ Sultanı, Tekirdağ Misketi, Bozbey ve Güz Gülü isimleri ile tescil edilmişlerdir (Özer ve diğ., 2012). 2016 yılında Özer beyazı, Cengizbey, Süleymanpaşa Beyazı, Gürnil, Gönülçelen, Emirali, Kebeli; 2023 yılında Saklıkara, Aksıdağan, Alço ve Gümüş 59 çeşitleri tescil edilmiştir. Diğer bir çalışma ile Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından 2016 yılında Spil Karası, Manisa pembesi, Lidya, Ecem ve Mesir çeşitleri; 2017 yılında ise Efem ve Beyra; 2023 yılına Borsa Karası, Reşat; 2024 yılında Ada İncisi çeşitleri tescil edilmiştir.

2.1. Doku Kültürü Çalışmaları ile İlgili Genel Bilgiler

Bitkilerin tohumlarından veya tohum taslaklarından izole edilen embriyoların belli besi ortamlarda kültüre alınması işlemine embriyo kültürü denilmektedir. 1904 yılında Hanning Cochlearia (Kaşıkotu) bitkisinin tohumlarından embriyolarının izole edilmesi ve embriyoları besi ortamında geliştirmesiyle ilk embriyo kültürü çalışmasını gerçekleştirmiştir. Ramming ve diğ., 1983, embriyo gelişmesinin zayıf olması yada embriyo aborsiyonlarının gözlenmesi gibi durumlarda embriyo kültürü önem kazandığını vurgulamışlardır. *Vitis* türlerinin erken olgunlaşan çeşitlerinde uygulanmış ve bu çeşitlerin dişi birey olarak kullanılması Embriyo kurtarma tekniği ile sağlanmıştır (Ramming ve diğ., 1984). Embriyo kurtarma tekniği ile stenospermokarpik üzüm çeşitlerinden izole edilen embriyolar uygun besi ortamlarında geliştirilerek yeni genotipler elde edilebilmektedir. Bu teknikle, çekirdeksiz x çekirdeksiz üzüm melezlemelerinden elde edilen genotiplerin çekirdeksiz olma oranının artırılması mümkün olabilmektedir (Singh ve diğ., 1992). Asma ıslahında çekirdeksizlik çalışmalarının yanısıra haploid, triploid ve tetraploid bitki eldesine yönelik çalışmalarda, ayrıca *Vitis* türleri arasında melezlemelerin yapılması, çekirdeksizlik ile soğuk ve fungal hastalıklara dayanım amacıyla yürütülen çalışmalarda da embriyo kültürü kullanılmaktadır (Li ve diğ., 2015). Islah çalışmalarında çekirdeksizlik stenospermokarpi ya da partenokarpi olarak elde edilir. Stenospermik çeşit eldesine yönelik olarak yapılan çekirdekli x çekirdeksiz melezlemelerinde elde edilen fertlerin en fazla % 30-40 ı çekirdeksiz olmakta bu populasyon içerisinden seçim yapma başarı şansını nispeten azaltmaktadır. (Yamashita, 1998).

Çekirdeksiz üzümlerin çoğu stenospermokarpik yapıya sahip olduklarından döllenme sonrasında belirli bir dönemden sonra embriyo gelişimi durmaktadır ve tohum gelişememektedir. Bu nedenle çekirdeksiz çeşitlerin belli bir döneme kadar gelişen tohum taslaklarının alınarak in vitro teknikler ile çimlenme oranının ve bitkiye dönüşebilen embriyoları arttırmaya yönelik çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Erken olgunlaşan çeşitlerde dormansinin erken tamamlandığı, üzüm tanelerinin olgunlaşması ile embriyo dormansisi arasında güçlü bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir (Horiuchi ve diğ., 1991).

Son yıllarda in vitro embriyo tekniğinin kullanımı yoluyla stenospermokarpik bir çeşitten aborsiyon öncesinde izole edilen tohum taslakları ve embriyonun yetiştirilebilmesi (Ramming, 1990), çekirdeksiz üzümlerin geleneksel melezleme ıslahı çalışmalarında ana ebeveyn olarak kullanılmalarını mümkün kılmaktadır.

Spiegel-Roy ve ark., 1990 yılında yapmış oldukları araştırmada çekirdekli (ana ebeveyn) ve çekirdeksiz (tozlayıcı) melezlemelerinden elde ettikleri hibrit genotipler, 5 yıl boyunca çekirdekli ve çekirdeksiz meyve taşıyan melezlerin sayısı açısından analiz etmişlerdir. Tüm yıllar boyunca popülasyonların dağılımı 3:1 oranına çok yakın bulunmuştur. Birbirini takip eden yıllarda yapılan iki bağımsızlık testi etkileşim olmadığını göstermiştir. Bu sonuçlara dayanarak, tohumsuzluk kalıtımının iki tamamlayıcı resesif gene bağlı olduğunu varsaymışlardır. Çekirdeksiz olarak değerlendirilen genotiplerin sadece %30.7'si gözle görülür tohum izleri olmadan meyve vermiştir. Stenospermokarpik meyveye sahip melezler, meyvedeki tohum izlerinin kapsamı ve doğasına bağlı olarak araştırmacılar tarafından iki alt sınıfa ayrılmıştır. Tanede zar zor fark edilebilen küçük kalıntılara sahip çekirdek izi taşıyan hibritlerin yüzdesinin, çekirdeksiz olarak kabul edilen hibritlerin toplamının %26,4'ü ile %35,1'i arasında farklı yıllarda değiştiği bulunmuştur. Bu, çekirdekli x çekirdeksiz melezlemelerden elde edilen toplam hibrit genotiplerin yalnızca %6,5-8,3'üne tekabül etmektedir. Araştırmacılar, hibrit genotiplerde, 0,2 ppm NAA ilave edilen ER besi ortamında, embriyo kurtarma tekniğini kullanmışlardır. Çekirdeksiz ebeveynlerin ovül ve embriyolarını kültüre alan in vitro yöntemin (Emershad ve Ramming 1984; Spiegel-Roy ve diğ., 1985) yardımıyla, iki çekirdeksiz ebeveyn arasında yapılan melezlemelerden çok yüksek oranda çekirdeksiz hibrit genotip elde edildiğini vurgulamışlardır.

Boz ve diğ., (2002), yaptıkları çekirdeksiz × çekirdeksiz melezleme çalışmaları sonucunda oluşan ovül ve embriyolardan tam bitki eldesi olanaklarını araştırmışlardır. Embriyo kurtarma tekniğinde en uygun ortamı belirlemek için E20A ve ER (Emershad and Ramming) ortamlarını kombine etmişlerdir. Melezleme çalışmalarında, son tozlamadan 42. ve 52. Günler arasında alınan örneklerden en iyi sonucu elde ederken, E20A ortamının embriyo kurtarma çalışmalarında kullanılabileceği belirtmişlerdir.

Liu ve diğ., (2003), çekirdeksiz × çekirdeksiz melezlerinden yeni genotipler elde etmek için embriyo kurtarma tekniğini kullanmışlardır. Bu çalışmada, Çekirdeksiz Sun muscat, Merbein Seedless ve Marroo Seedless çeşitlerinin kendi kendine tozlanan tanelerinden elde edilen embriyolar, çiçeklenmeden 30, 43, 60 ve 70 gün sonra bazıları gibberellik asit (GA3) ve indol-3-asetik asit (IAA) ile desteklenmiş çeşitli ortamlarda kültüre alınmıştır. Ortamdaki aktif kömürün (AC) kurtarılmış embriyolar üzerindeki etkisini de araştırmışlardır. En kuvvetli ovül gelişim, tam çiçeklenmeden 30 ve 43. günlerde kültüre alınan ovüllerde gözlenmiş, ancak tam çiçeklenmeden 60 ve 70. günlerde kültüre alınan ovüllerden daha fazla embriyo kurtarıldığını belirtmişlerdir.

Tian ve diğ., (2008) yaptıkları çalışmada hastalıklara dirençli çekirdeksiz çeşitlerin geliştirilmesi için bir araştırma yapmışlardır. Melezleme, ana ebeveyn olarak *V. vinifera* ve tozlayıcı olarak yabani Çin *Vitis spp*. kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çekirdeksiz dişilerden hibrit bitkiler geliştirmek için *in vitro* embriyo kurtarma tekniğini kullanmışlardır. Emerald Seedless X Beichun çaprazlamasından *in vitro* embriyo kurtarma ve bitki geliştirme için etkili bir protokol geliştirmişlerdir. Ovüller, tozlaşmadan 7 hafta sonra olgunlaşmamış tanelerden çıkarılmış ve %6,0 şeker ve %0,3 aktif kömür ile desteklenmiş çift fazlı ER ortamında kültüre alınmıştır. Bu çalışmada geliştirilen optimize parametreler ile yaklaşık %34,0, %91,2 ve %77,4 oranında embriyo oluşumu, embriyo çimlenmesi ve bitki gelişimi elde etmişlerdir.

Ji ve diğ., (2013), yaptıkları çalışmada embriyo kurtarma yöntemiyle yeni çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin ıslahını amaçlamışlardır. 1) Çekirdeksiz *Vitis vinifera* çeşitleri ve yabani Çin *Vitis spp* arasında melezleme; 2) iki çekirdeksiz çeşitle melezleme ve 3) farklı ploidy üzümleri arasında melezleme çalışmaları yapmışlardır. Genotip, örnekleme zamanları ve ortamın önemli rol oynadığı belirtmişleridir. Ruby Seedless × Black Olimpia melezleme kombinasyonundan %23 başarı elde etmişler, Pink Seedless × Beichun melezleme kombinasyonundan ise %1 başarı elde etmişlerdir. Çalışma sonucunda 11 çekirdeksiz üzüm hattı, 3 triploid ve 2 haploid üzüm hattı elde etmişlerdir.

Ji ve diğ., (2015), yeni hibrit triploid genotipler elde etmek için tetraploid ve diploid üzüm çeşitleri arasında beş çaprazlama yapmışlardır. Ayrıca, hibrit triploid üzüm bitkilerinin geliştirilmesinde iki farklı *in vitro* embriyo kurtarma ve ekim yöntemini karşılaştırmışlardır. Sonuçlar, *in vitro* kültür yoluyla elde edilen tüm melezlerin tohum çimlenme oranları (%0-61.2) ekim yoluyla elde edilenlerden (%0-42.0) daha yüksek bulunmuştur. Ploidi seviyesinin belirlenmesi, 'Ruby Seedless (2n) x Black Olympia (4n)' ve 'Big black (2n) x Kyoho (4n)' melezlerinden elde edilen üç hattın triploid olduğunu ve 'Big black (2n) x Kyoho (4n)' melezinden elde edilen bir hattın Menezes ve diğ., (2014), yaptıkları çalışmada, Superior Seedless ve Thompson Seedless melezlemesi sonucunda melez genotiplerin *in vitro* gelişiminin değerlendirilmesini amaçlamışlardır. Kültür ortamına 30 g/L sükroz, 0,1 g/L miyo-inositol, 0,002 g/L glisin, 0,1 mg/L indolasetik asit (IAA), 6,5 g/L agar eklemiş ve pH 5,7'ye ayarlamışlardır. 90 gün sonra çalışmalarını değerlendirmişlerdir. *In vitro* kültürünün 60 günlük süresini, en yüksek embriyo değerlerinin (yaklaşık %50) yanı sıra daha yüksek çimlenme (%47,3) ile sonuçlandığını belirtmişlerdir.

Xu ve diğ. (2014), yapmış oldukları çalışmada muskat üzümlerindeki tetraploidleri/aneuploidleri karakterize etmek ve bunları 3x çekirdeksiz muskat üzümü yetiştiriciliğinde kullanmayı amaçlamışlardır. *Vitis rotundifolia* Michx (4x) ve aneuploidler de dahil olmak üzere toplam 16 poliploid tanımlamışlardır. Genotiplerin ploidi durumu flow sitometrisi ve kromozom sayımı ile doğrulanmıştır. Poliploid genotipler morfolojik olarak daha erken tomurcuklanmaları, daha zayıf vejetatif büyümeleri, daha kısa boğum araları, daha yeşil ve kalın yaprakları, daha az sulu sapları ve daha erken olgunlaşmaları ile diploid muskat kökenli genotiplerden ayırt edilmiştir. Daha ileri araştırmalarında, poliploidlerin daha düşük polen canlılığına sahip olduğunu ve daha fazla yüzen tohuma sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Zhu ve diğ., (2020), çekirdeksiz çeşitler ile soğuğa dayanıklı çekirdeksiz veya çekirdekli çeşitler arasında dokuz melezleme kombinasyonu üzerinde çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarında soğuğa dayanıklı çekirdeksiz üzüm gen kaynağı oluşturmak için embriyo kurtarma ve moleküler markör destekli seleksiyon tekniklerinden yararlanmışlardır. Ayrıca, farklı ebeveynlerin ve ekzojen hormonların kullanımının embriyo kurtarma başarısı üzerindeki etkilerini ve yeni bir çekirdeksiz çeşit için en uygun örnekleme zamanını incelemişlerdir. Embriyo gelişimi için ortam olarak çift fazlı MM3 (modifiye ER) ve embriyo çimlenmesi ve bitki oluşumu için ortam olarak katı faz WPM kullanılarak embriyo kurtarma yoluyla toplam 473 yeni üzüm genotipinin elde etmişlerdir. Çekirdeksiz Perlette, Qinhong No.2, Ruby Seedless ve Qinhong No.10 çeşitlerinin embriyo kurtarma için en uygun ana ebeveynler olduğunu ve soğuk dayanıklı çekirdeksiz Jupiter çeşidinin (bir *V. vinifera*×*V. labrusca* melezi) tozlayıcı ebeveyn olduğunu tespit etmişlerdir. En iyi embriyo geliştirme ortamı, 500 mg/L CH, 1 mmol/L serin, 0,5 mg/L GA3, 1,0 mg/L IAA ve 0,5 mg/L 6-BA içeren MM3'ü tespit etmişlerdir. En iyi embriyo çimlenmesi ve bitkicik oluşumu ortamı, 0,2 mg/L 6-BA ve 0,1 mg/L IAA içeren WPM'yi tespit

etmişlerdir. Qinxiu için embriyo kurtarma için en iyi örnekleme zamanı, tam çiçeklenmeden 42 gün sonra olduğunu bildirmişlerdir.

Li ve diğ., (2020a) yaptıkları melezleme çalışmalarından elde edilen genotiplerde, en uygun örnek alma zamanını belirlemişlerdir. Geçci çeşitlerin embriyonun daha yavaş aborsiyona uğraması sonucunda ana ebeveyn olarak kullanılmasının daha iyi sonuç verdiğini belirlemişlerdir. Crimson Seedless üzüm çeşidinin Ruby Seedless üzüm çeşidine çekirdek izi küçük olduğundan dolayı melezleme çalışmalarında başarısının düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Hastalıklara dayanıklılık ile ilgili olarak ise S382-615 markörünün en iyi sonuçları verdiğini belirtmişlerdir.

Li ve diğ., (2020b) yaptıkları çalışmada 'Thompson Seedless' üzümünde embriyo aborsiyonu sırasında fenotip, endojen hormonlar ve ovüllerin iç hücresel yapısındaki değişimleri incelemişlerdir. Yeni çekirdeksiz genotipler elde etmek için stenospermokarpik üzümleri ana ebeveyn olarak kullanmışlardır. Anormal ovüllerin tohum kabuklarının çiçeklenmeden 38 ila 42 gün sonra kahverengiye döndüğünü belirtmişlerdir. 'Thompson Seedless' için *in vitro* embriyo kültürü için en uygun örnekleme zamanını tam çiçeklenmeden 39 gün sonra olduğunu belirtmişlerdir. 5 mg/L eksojen brassinolidin (BR)' in embriyo kurtarmayı, embriyo çimlenmesini ve 'Flame Seedless'ın poliembriyoni oluşumunu desteklediğini tespit etmişler aynı zamanda, 1 µM 6-BA içeren WPM ortamı embriyoların normal bitkicikler halinde çimlenmesine yardımcı olmuş ve anormal bitkicik gelişim yüzdesini azalttığını belirtmişlerdir. Ana ebeveyn olarak stenospermokarpik üzümlerin hastalığa dirençli Çin yabani üzümleriyle çaprazlanmasıyla toplam 3573 melez ovül ve 402 F1 genotip elde edilmiş, bunlardan 212'si çekirdeksiz, 23'ü ise hastalığa dirençli olduğunu moleküler markörlerle tespit etmişlerdir.

Ergönül ve diğ., (2021) tarafından yapılan çalışmada erkenci olarak bilinen, çekirdeklerinde çimlenme sorunu olabilecek üzüm çeşitleri ile boş çekirdekli olan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinin farklı melezleme kombinasyonlarından elde edilen çekirdekleri, embriyo canlılıklarındaki değişimler incelenmiştir. Trakya İlkeren çeşidinin ana ebeveyn olduğu kombinasyonlardan elde edilen çekirdeklerde normal çimlendirme ile % 2.6 çimlenme oranı elde edilirken in vitro da bu oran % 51.1 ile % 72.4 arasında değişiklik göstermiştir. Çalışmada Trakya İlkeren çeşidi için embriyo kültüründe optimum izolasyon süresi son tozlamadan sonraki altıncı hafta olarak belirlenmiş. *In vivo* şartlarda Cardinal çeşidinin çeşidinin ana ebeveyn olduğu kombinasyonlardan elde edilen çekirdeklerde çimlenme oranları % 2.9'da kalırken son tozlamadan 7 hafta sonra kültüre alınan çekirdekler % 70.6 gibi oranda canlı embriyo oluşturmuşlardır. Velika çeşidinin ana ebeveyn olduğu kombinasyonlardan elde edilen çekirdeklerden normal çimlendirme şartlarında % 4.14 çimlenme oranı elde edilirken 8. ve 6. haftalarda kültüre alınan embriyoların canlılığı sırasıyla % 66.7 ve % 61.1 oranında tespit edilmiştir. 8. haftada daha yüksek canlı embriyo oranı elde edilmiş olmasına rağmen 6. haftadan izole edilen embriyoların gelişimlerinin iyi olduğu tespit edilmiştir.

Giancaspro ve diğ. (2022), çalışmalarında, embriyo gelişimi, embriyo çimlenmesi,köklenmesi ve bitkicik oluşumundan oluşan üç adımlı bir *in vitro* kültür protokolü uygulayarak stenospermokarpik sofralık üzüm melezlerinin olgunlaşmamış ovüllerinden yaşayabilir bitkiler rejenerasyonunu amaçlamışlardır. Ebeveyn genotiplerinin (altı "çekirdeksiz × çekirdeksiz" melezleme), ovül örnekleme zamanının (tozlamadan 30, 40, 50 gün sonra) ve embriyo çimlenmesinin indüksiyon derecesinin (4, 6, 8 hafta) ovül döllenmesi, embriyo gelişimi ve çimlenmesi, köklenmesi ve bitkicik oluşumu üzerindeki etkisi, her bir kombinasyon melezi için en iyi kurtarma zamanını belirlemek üzere değerlendirmişlerdir. Optimize ettikleri protokolde tozlamadan 40 gün sonra için

olgunlaşmamış ovül izolasyonunu ve 8 hafta boyunca embriyo çimlenmesinin indüksiyonunu içermektedir. En verimli embriyo çimlenmesi Thompson, Superior ve Regal çeşitlerinin melezlerinden elde edilmiştir, buna karşın en yüksek canlı bitki yüzdesi Luisa × Thompson melezlerinin tozlamadan 50 gün sonra izole edilen ovüllerinden elde edilmiştir. Bu şekilde optimize edilmiş bir protokolün, gelecekteki çekirdeksiz üzüm ıslah programlarının verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için yararlı olabileceğini rapor etmişlerdir.

Chu ve diğ., (2023) yılında yaptıkları çalışmada, embriyo kurtarma tekniğini kullanarak soğuğa dayanıklı yeni çekirdeksiz üzüm geliştirmek amacıyla, ana ebeveyn olarak stenospermokarpik çeşitler, baba ebeveyn olarak çekirdekli soğuğa dayanıklı çeşitler seçilmiştir. Araştırmada, 14 hibrit kombinasyonun embriyo kurtarma için genotip, örnekleme zamanı ve kültür ortamındaki en iyi durumlarını rapor etmişlerdir. Bu araştırmada, örnekleme için üç hibrit kombinasyon seçilmiş ve baba ebeveyn ile ana ebeveyn arasındaki farklı fenolojik aşamalara göre farklı örnekleme zamanları seçilmiştir. Bu çalışmada 14 melezleme kombinasyonundan toplam 5807 adet tohum taslağı ve 427 adet genotip elde etmişlerdir. 14 kombinasyon arasında embriyoların ortalama gelişim oranı %19,6 ve kombinasyonların ortalama fide oranı %8,1 bulunmuştur. Çekirdeksizliği belirlemek için GLSP1-569 moleküler markörü kullanmışlardır. Soğuğa dayanıklılığın belirlenmesinde 717 bp uzunluğunda bant veren S241-717 moleküler markörünü kullanılmıştır. Sonuçları, 91 hibrit genotipin çekirdeksiz özelliklere sahip olduğunu ve 18 hibrit genotipin soğuğa karşı dayanıklılığa sahip olduğunu göstermiştir.

Luo ve diğ., (2023) yaptıkları çalışmada çekirdeksiz üzüm embriyosu kurtarmanın başarısı birçok faktöre bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Ebeveyn genotiplerinin embriyo kurtarma üzerindeki etkilerini incelemek için, ana ebeveyn olarak dokuz stenospermokarpik çekirdeksiz üzüm ve tozlayıcı ebeveyn olarak üç çekirdeksiz veya çekirdekli üzüm kullanarak onbir melezleme kombinasyonu gerçekleştirmişlerdir. Her bir ana bitkinin en uygun örnekleme zamanında, hibrit ovüller katı-sıvı bifazik MM3 ortamında kültüre alınmıştır. Daha sonra, embriyolar çıkarılmış, çimlenme ve fide oluşumu için bir WPM ortamına aktarmışlardır. 'Jupiter' tozlayıcı ebeveyn olduğunda, 'Perlette'nin en yüksek embriyo gelişimi, çimlenme ve fide oluşumu oranlarına sahip olduğunu ve bunu 'Kunxiang Seedless'ın izlediğini; 'Su-67' tozlayıcı ebeveyn olduğunda, 'FZ42'nin en yüksek embriyo gelişim oranına sahip olduğunu; 'Beichun' tozlaycı ebeveyn olduğunda, 'Fresno Seedless'ın en iyi embriyo kurtarma sonuçlarına sahip olduğunu ve bunu 'Qinhong No.10'un izlediğini belirtmişlerdir. Sonuçlarında ana ve tozlayıcı ebeveynin embriyo kurtarma üzerinde belirli bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Chiaromonte ve diğ., (2023) yapmış oldukları araştırmada, 2017-2021 döneminde sofralık üzüm programı çerçevesinde yürütülen 39 çeşit ve 41 melezleme kombinasyonu kullanılarak embriyo oluşumu, çimlenme ve büyüme ile bitkicik gelişimi gibi çeşitli faktörler değerlendirilerek, üzüm embriyo kültürü protokolü optimize etmişlerdir. Çekirdeksiz ebeveynlerin farklı kombinasyonları arasındaki melezlerin embriyo tutumu değerlendirilmiş ve ovüllerden çıkarılan embriyo gelişim oranları çoğunlukla %3,5 ila 35,5 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Tozlamadan sonraki 43-62 gün aralığında farklı örnekleme zamanlarında örnekler arasında önemli farklılıklar göstermezken, uygulanan protokolle geliştirilen embriyoların oranı, asma genotipinin embriyo kurtarma tekniğinin verimliliğini önemli ölçüde etkilediğini belirtmişlerdir.

Cui ve diğ., (2024), çalışmalarında, erkek ebeveynleri 'Beichun' çeşidi ve çekirdeksiz bir çeşit olan 'Venus Seedless' olmak üzere beş stenospermokarpik çekirdeksiz üzüm çeşidini içeren sekiz melezleme kombinasyonu oluşturmuşlardır. Her ana ebeveyn için optimum örnekleme zamanında hasat edilmiş ve *in vitro* embriyo kültürüne tabi tutulmuştur. Çekirdeksiz üzüm embriyo kurtarma tekniğinin verimliliğini artırmak için, katı ve katı-sıvı

difazik MM3 embriyo gelişim ortamının, çeşitli ebeveyn genotiplerinin ve ovül kültürünün süresinin embriyo kurtarma üzerindeki etkisine ilişkin karşılaştırmalı bir analiz yürütmüşlerdir. Ek olarak, elde edilen genotiplerde çekirdeksizliği SCF27-2000 markörünü kullanılarak markör destekli seleksiyon (MAS) uygulanmışlardır. 'Perlette' ve 'Qinhong No.1' çeşitleri embriyo kurtarma için uygun ana ebeveynler olarak ortaya çıkmıştır. Özellikle ana ebeveynin embriyo kurtarma üzerindeki etkisi tozlayıcı ebeveynden daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. 'Perlette' × 'Venus Seedless' ve 'Qinhong No.1' × 'Venus Seedless' kombinasyonları için embriyo gelişimi, büyüme ve fide oluşumu oranları 10 haftalık ovül kültüründe en başarılı olduğunu tespit etmişlerdir.

Li ve diğ.,(2024) çalışmalarında, çekirdeksiz üzümlerin embriyo gelişimini ve aborsiyonlarını etkileyen fizyolojik nedenleri, çekirdeksiz üzümlerin önceki embriyo kurtarma tekniklerine dayanarak araştırmışlardır. 'Thompson Seedless' 'Flame Seedless' üzüm, 'Heshi Seedless' üzüm ve 'Ruby Seedless' üzüm olmak üzere doğal olarak tozlaşan 4 Avrasya çekirdeksiz üzüm çeşidinin dört ovülü çalışmada kullanılmıştır. En iyi embriyo kurtarma döneminde izole edilmiş ovüllerde endojen poliamin içeriğindeki, ekzojen poliamin içeriğindeki ve ekzojen poliaminlerin uygun kombinasyonundaki değişimler belirlenmiştir. Ayrıca, farklı ekzojen poliamin içeriklerinin farklı çekirdeksiz üzüm embriyolarının çimlenme ve fide oranı üzerindeki etkisi analiz edilmiştir. En iyi embriyo kurtarma döneminde, ovül sayısının poliamin içeriği üzerinde farklı etkileri olduğunu 4 ovüllü çekirdeksiz üzüm çeşitlerinde, yüksek poliamin içeriğinin embriyonik gelişimde daha yararlı olduğunu tespit etmişlerdir. Ovüllerde, poliamin içeriğindeki artış ovülün büyümesi ve gelişimi için yararlı olduğunu ve farklı ekzojen poliamin oranlarının embriyonik gelişim üzerinde farklı etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Putresin (Put), embriyonik gelişim üzerinde en büyük etkiyi göstermiştir.

2.1. Çekirdeksizlik Çalışmaları ile İlgili Genel Bilgiler

Üzümlerde, çekirdek oluşumu esas alınarak üzüm çeşitlerindeki tane tutumunu; stenospermokarpik, partenokarpik, normal tane tutumu ve boş çekirdekli tane tutumu olarak dört ana grupta incelenebilir. Çekirdeksizlik, ilk olarak Pearson (1932) ve Stout (1936) tarafından tanımlanmıştır. Çekirdeksizlik ıslahına yönelik melezleme çalışmalarında; geleneksel melezleme ıslah programlarında elde edilen genotiplerde istenilen çekirdeksizlik oranını düşük olmaktadır. Stenospermokarpik asma genotiplerinin çekirdeklerinin başarılı bir şekilde kültüre alınması sonucunda çekirdeksiz çeşitler ana ebeveyn olarak kullanılmaya başlanmış ve çekirdeksiz x çekirdeksiz melezleme çalışmalarında çekirdeksizlik oranının artmasına olanak sağlanmıştır (Cain ve diğ. 1983; Emershad ve Ramming 1984; Perl ve diğ. 2000).

Asmalarda stenospermokarpik ve partenokarpik olmak üzere iki tip çekirdeksizlik görülmektedir. Partenokarpik tane tutumunda tozlanma gerçekleşir ancak döllenme olmaksızın çekirdeksiz taneler oluşur. Partenokarpik tane tutumu Corinth üzüm çeşidinde görülmektedir. Stenospermokarpik meyve tutumunda ise tanelerin oluşabilmesi için tozlanma ve bunu takiben döllenmeye gerek vardır. Döllenme sonucunda başlangıçta çekirdekler oluşmakta, fakat daha sonra genetik olarak kontrol edilen mekanizmalarla integümentlerin gelişmesi engellenerek endosperm ve embriyo kesesi dejenere olmasına neden olmakta bu nedenle çekirdeklerin gelişmesi durmaktadır. (Ledbetter ve Ramming 1989, Değirmenci ve Kunter 2007).

Stabil bir stenospermokarpi fenotipi olarak 'Kishmish' olarak bilinen birkaç eski Orta Asya asma çeşidi ve bundan üretilen çeşitler gösterilmektedir. Bunlar arasında, sofralık üzüm yetiştirme programlarında çekirdeksizliğin ana kaynağı olan 'Sultani çekirdeksiz' veya 'Thompson Seedless' (Dangl ve diğ., 2001) olarak da bilinen beyaz meyveli 'Kishmish' bulunmaktadır (Adam-Blondon ve diğ., 2001; Ibanez ve diğ., 2009; Ibanez ve

diğ., 2015). Bu nedenle stenospermokarpi çalışmaları, genellikle tohum kabuğu lignifikasyonundan yoksun, yumuşak ve genellikle algılanamayan tohum izleri üreten 'Sultani çekirdeksiz' ve 'Sultani çekirdeksiz' türevli çeşitlere odaklanmıştır.

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

Çekirdeksizlik kalıtımı için farklı teoriler öne sürülmüştür. Constantinescu ve diğ., (1972) ile Dundik ve Molver (1976) bir resesif genin, Spigel-Roy ve diğ., (1990) iki resesif genin çekirdeksizlikten sorumlu olduğunu tespit etmişlerdir. Weinberger ve Harmon (1964), birkaç resesif gen; Loomis ve Weinberger (1979) ile Pospisilova ve Patenik (1988) ardından Sato ve diğ., (1994) ise yaptıkları çalışmada beş dominant gen tarafından çekirdeksizlik mekanizmasının kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Ledbetter ve Burges (1994) üç dominant genin çekirdeksizliği kontrol ettiğini rapor etmişlerdir. Bouqet ve Danglot, 1996 yapmış oldukları çalışmada bir dominat gen tarafından giberellin sentezi yönetilerek, üç çekinik gen üzerinde etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

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

Lahogue ve diğ., (1998) çalışmalarında Sultani çekirdeksiz çeşidindeki çekirdeksizliğin döllenmenin gerçekleştiği ancak tohumların daha sonra gelişmediği tür çekirdeksizlik türüne örnek olarak verilebileceğinden bahsetmişlerdir. Bu özelliğin, *I* adlı dominant bir gen tarafından düzenlenen üç tamamlayıcı resesif gen tarafından kontrol edilebileceğini öne sürmüşlerdir. İki adet kısmen çekirdeksiz genotipin çaprazlama ile elde edilen soyun *I* genine bağlı RAPD markörlerini araştırmak amacıyla Bulk segregant analiz yöntemini kullanılmıştır. *I* ile sıkı bir şekilde bağlantılı görünen iki RAPD markörü belirlemişlerdir. En yakın markörü, SCC8 adlı kodominant SCAR markör geliştirmek için kullanmışlardır. Bu ikinci markör, ya potansiyel olarak çekirdekli genotipleri elemek ya da çekirdeksiz bireyleri seçmek için son derece önemli görülmüştür. Gerçekten de, popülasyonun tüm çekirdekli bireylerinin homozigot scc8-/scc8- olduğu ve tüm çekirdeksiz bireylerin homozigot SCC8+/SCC8+ olduğunu tespit etmişlerdir. SCC8 markörü çekirdeksizliğin daha detaylı bir şekilde incelenmesi için de kullanılmıştır. SCAR markörün ANOVA analizi ile tohumun kuru maddesinin fenotipik varyasyonunun en az %78,7'sini ve tohumun yaş ağırlığının fenotipik varyasyonunun en az %64,9'undan sorumlu olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlarla araştırmacılar, bir ana genin ve ayrıca çekirdeksizliğin ifadesini kontrol eden diğer tamamlayıcı resesif genlerin varlığını da doğrulamışlardır.

Adam-Blondon ve diğ., (2001) yaptıkları çalışmada, 81 adet genotipte *SCP18* ve *SCC8* markörlerinin çekirdeksiz × çekirdeksiz melezlerinde çekirdeksizliği tespit etmek için etkinliğini araştırmışlardır. Sonuç olarak *SCP18* markörü çekirdeksizliğin belirlenmesinde *SCC8* markörü kadar başarılı olamamıştır. Bazı çekirdeksiz bireylerde *SCC8* markörü etkili bir şekilde çalışmamıştır. Bu çekirdeksiz çeşitlerin ortaya çıkmasında rol oynayan mutasyonlar, bu nedenle ya *sdI* genini ya da çekirdeksizlik özelliğinin genetik kontrolünde yer alan başka bir yeri etkilemiş olabileceği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

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

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

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

Akkurt ve diğ., (2013), VMC7f2, SCC8 ve SCF27 markörleri ile Hamburg misketi × Sultani Çekirdeksiz melezlemesinden elde edilen 314 adet F_1 genotipi taramışlardır. Markörler ile yapılan taramalar neticesinde 190 adet F_1 genotipin çekirdeksiz olabileceği belirenmiş, 124 tanesinde ise çekirdeksizlik ile ilişkili allele rastlanmamıştır.

Conner, (2015) çalışmasında p3-VvAGL11 markörünün *Euvitis* × *Muscadine* melezlerinde çekirdeksiz genotiplerin seçimi için kullanılabilirliğinin araştırmıştır. Ayrıca araştırmacı *p3-VvAGL11* bölgesinin 3 allelde etkili olduğu bildirilmiştir. p3-VvAGL11'in ayırt edici gücünü ortaya koymak için farklı genetik analizler yapılmıştır. Bu analizlerde *VviAGL11*, 194-206 ve 216 bp'in düzenleyici bölgesinde 3 alel göstermiş ve 216 bp alel içeren çeşitler çekirdeksiz olarak kabul edilmiştir. Ayrıca *Euvitis*'te 214 bp'de görüntü veren tüm genotipler çekirdeksiz olmuştur. Bu allel hiçbir çekirdekli genotipte görülmemiştir. 2 bp'lik bu farkın, ekipman ve kullanılan standartlardan kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

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

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

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

Bergamini ve diğ. (2013) *VviAGL11'*in MDS'de "tanısal" gücünü değerlendirmek ve doğrulamak için kendi üzüm koleksiyonlarından 475 adet melez F1 genotipi üzerinde derinlemesine bir analiz yapmışlardır. Bu 475 adet genotipten sadece sekiz adet genotipi yanlış pozitif olarak tespit etmişlerdir. Çekirdeksiz çeşitlerin tamamının bu alleli içerdiğini ve *V. vinifera* L. melezlerinde negatif stenospermokarpinin erken seçimi için bu markörün %100 etkili bir araç olarak kullanılabileceğini ifade etmişleridir.

Ocarez ve diğ.(2020) tarafından yapılan çalışmada toplam 573 F1 bireyinin çekirdeksizliğini belirlemek için 20K SNP çipini kullanmışlar ve iyi bir QTL haritalama analizi için dört mevsim boyunca genotipleri fenotipik olarak karakterize etmişlerdir.

Asmada çekirdeksiz meyve oluşumundan MAD-BOX geni olan *AGAMOUS-LIKE11* (*VviAGL11*) sorumludur. *VviAGL11* genini karakterize etmek amacıyla yapmış oldukları çalışmada, *VroAGL11* geninin *Muscadine* üzüm türlerinde çekirdek farklılaşmasını kontrol ettiğini göstermişlerdir (Rahman ve diğ., 2021).

Wang ve diğ.,(2023) yapmış oldukları çalışmada, *VviAGL11* geninin tek nükleotid polimorfizm (SNP) bölgesine (Chr18: 26889437 (A/C)) dayanan KASP_VviAGL11 ve VviAGL11_410 markörlerini geliştirmişler ve bunları 101 çeşit ve 81 F1 melezi test ederek daha önce bildirilen SSR markörleri p3_VvAGL11 ve 5U_VviAGL11 ile karşılaştırmışlardır. Sonuçlar, önerilen her iki markörün de üzümlerde çekirdeksizlik özelliği ile yakından ilişkili olan A alelini tespit etmede %100 doğruluk oranları elde ettiğini, p3_VvAGL11 ve 5U_VviAGL11'in ise yanlış pozitif üretme eğilimleri nedeniyle daha düşük doğruluk oranlarına sahip olduğunu göstermiştir. Böylece, yeni çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin geliştirilmesi için temel teknik destek sağlamak üzere, merkezi bir bileşen olarak KASP_VviAGL11 markörüne odaklanarak çekirdeksiz üzümler için moleküler MAS sürecini optimize ettiklerini bildirmişlerdir.

2.2. Külleme Hastalığı ile İlgili Genel Bilgiler

Külleme hastalığı, omçanın tüm yeşil organlarında (yaprak, sap, sürgün, salkım) görülmektedir. Yaprakların her iki yüzeyi de her yaşta enfeksiyona duyarlıdır. Miselyum, konidiosporlar grimsi, beyaz tozlu veya pudramsı görünüştedir. Hastalıklı yapraklar kenardan içe doğru kıvrılıp yaşlandıkça kalınlaşmakta ve gevrekleşmektedir. Sürgünler yeşilken enfekteli kısımlar siyaha yakın koyu kahverengi, kışın ise bu lekeler kırmızımsı kahverengine dönüşmektedir. Koruk döneminde hastalığa yakalanan taneler küçük kalarak gelişememektedir. Erken oluşan enfeksiyonlarda çiçekler meyve bağlayamamaktadır. Taneler henüz tam büyüklüğünü almadan hastalığa yakalanırsa, tane sap doğrultusunda çatlamakta ve çekirdek gözükmektedir.

Hastalıktan dolayı renkli çeşitler tam rengini alamazken beyaz çeşitlerde tane üzerinde sarımsı kahverenginde ağ şeklinde lekeler oluşmakta ve böyle salkımların satış kalitesi düşmektedir (Gökçe ve diğ.,2008). Külleme hastalığının belirtileri yaprak yüzeyinde beyaz tozlu düzensiz grimsi beyaz kloroz ve meyve, sap ve dal yüzeyinde beyaz tozlu siyah ağ çizgileri olarak ortaya çıkmaktadır (Reisch ve Pratt 1996, He, 1999).

Buck ve Zyprian (2000) "Regent" ve "Lemberger" çeşitleri arasındaki melezlemelerden elde edilen 150 bireylik popülasyon arasından 47 genotip seçmişlerdir. Seçilen bu genotiplerde genom haritalaması için RAPD markörleri kullanmışlar ve hastalıklarla ilişkili olan 11 bağlantı grubu tespit etmişlerdir.

Pauquet ve diğ. (2001), *Run1* geni ile bağlantılı AFLP belirteçlerini seçmek için 157 genotipten oluşan bir BC5 popülasyonu kullanılmıştır. On üç AFLP markörü seçilmiş ve *Run1* gen bölgesi için bir harita oluşturulmuştur. Bu 13 markörden 10' unun direnç geni ile ko-segregasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Run1 taşıyan genotiplerin seçimi için bu 13 AFLP markörünün kullanışlılığı, 22 adet *Run1* taşıyan dayanıklı ve 16 adet duyarlı genotipten oluşan bir popülasyonda analiz edilerek değerlendirilmiştir. Analiz edilen 13 markörden üçünün tüm duyarlı genotiplerde bulunmadığı ve tüm dirençli bireylerde mevcut olduğu ve bu nedenle küllemeye dirençli asma çeşitlerinin markör destekli seçimi için iyi üç AFLP markörü bulunmuştur. Bu üç AFLP markörünün marköre dayalı seleksiyon amaçlı kullanılabileceğini ve bu markörlerin geniş populasyonlarda denenmesi gerektiğini rapor etmişlerdir.

Donald ve diğ. (2002), yabani üzüm türü *Muscadinia rotundifolia'* dan *Vitis vinifera* L.'ye aktarılan külleme direnci lokusu *Run1* ile RFLP taramak için toplu bir segregant analiz stratejisinde kullanılmıştır. Üç RGA (Resitent Gen Analogs= dayanıklı gen analok)ların *Run1* lokusuna sıkıca bağlı olduğu bulunmuştur. DNA örneklerini *EcoR I* enzimini kullanılarak kesmişler ve analiz açısından daha kolay olan CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) markörlere dönüştürmüşlerdir. Markörlerden ikisi (GLP1-12 ve MHD145) 167 melez genotipte dayanıklılık fenotipi ile eşleşirken, üçüncü markör (MHD98) *Run1* lokusundan 2,4 cM'lik bir konuma eşlenmiş olduğunu bildirmişlerdir.

Akkurt ve diğ., (2007), Regent" (dayanıklı) "Lemberger" (duyarlı) asma çeşitlerinin çaprazlanmasından elde edilen bir test popülasyonunda külleme (*Uncinula necator*) direnci için ana QTL bölgesine bağlı altı rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) marköründen dizi karakterize edilmiş çoğaltılmış bölge markörleri (SCAR'lar) geliştirmişlerdir. ScORA7-760 markörü hastalık direnci ile ilişkili bulunmuştur ve markör destekli seleksiyon için uygun olduğu belirtilmiştir.

Agurto ve diğ., 2017, çalışmalarında hem *RUN1* hem de *REN1* direnç lokuslarını taşıyan P09-105/34'ü, sırasıyla *Muscadinia rotundifolia* ve *Vitis vinifera* 'Dzhandzhal Kara' ile geri melezlemesinden *Erysiphe necator'a* karşı duyarlı ticari sofralık üzüm çeşidi 'Crimson Seedless' ile çapraz tozlamışlardır. Geleneksel ıslah yoluyla *RUN1 REN1'e* dirençli genotipler geliştirmişler ve bunları markör destekli seleksiyonla belirlemek amacıyla UDV020a markörünü kullanmışlardır.

Zendler ve diğ., 2017 yılında moleküler analizleri kolaylaştırmak için amacıyla 'Regent' asma çeşidinde daha önce rapor edilen *E. necator'a* karşı bir direnç lokusu olan *Ren3* üzerinde araştırmalarını gerçekleştirmişlerdir. İlişkili bölge Kromozom 15 üzerinde yaklaşık yedi Mb'lik bir aralığı kapsamaktadır. Araştırmacılar bu aralığı sınırlandırmak için 'Regent' X 'Lemberger' ve 'Regent' X 'Cabernet Sauvignon' melezlemelerinden elde edilen popülasyonlarda haritalama uygulamışlardır. Tamamlayıcı olarak, 'Regent' 9

'Lemberger' melez genotiplerinin *E. necator* enfeksiyon seviyelerini, hastalık süresince farklı zamanlarda puanlamışlardır. *Ren3* tarafından kodlanan direnç mekanizmasını araştırmak üzere mikroskobik çalışmalar için koparılmış yaprak enfeksiyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. *Ren3* lokusundaki rekombinantlar üzerinde yapılan yaprak deneylerinin sonuçları, kromozom 15 üzerinde, bir değil iki farklı genetik bölgenin *E. necator'a* karşı aşırı duyarlı tepkiye yol açtığını göstermiştir.

Veikondis ve diğ., (2018) çalışmalarında, mikrosatellit (SSR) markörleri ve Kantitatif Özellik Lokusları (QTL) yaklaşımını kullanarak Güney Afrika'da 'Kishmish Vatkana' ve 'Villard Blanc' fungal hastalık direnç genlerinin etkinliğini doğrulamak ve genetik olarak karakterize etmeyi hedeflemişlerdir. Ft'Sunred Seedless' x 'Kishmish Vatkana' melezlemesinden elde edilen genotip, 'Kishmish Vatkana'nın *Renl* külleme lokusunu barındırdığı bilinen Kromozom 13 için kısmi bir bağlantı haritası oluşturmak için kullanılmıştır. Bu lokusun etkinliği doğrulanmış ve gözlenen fenotipik varyansın %44,8 ila %57,7'sini açıklamıştır. Ft'Villard Blanc' x 'G1-6604'elde edilen genotip, 'Villard Blanc'ın fungal direnç genlerini barındırdığı bildirilen kromozom 15 ve 18 için kısmi bağlantı haritaları oluşturmak için kullanılmıştır. Külleme QTL'si (*Ren3*) 'Villard Blanc'ın 15. kromozomu üzerinde doğrulanmış ve gözlenen fenotipik varyansın %18,9 ila %23,9'unu açıklamıştır. 'Villard Blanc'ın 18. kromozomu (*Rpv3*) üzerindeki mildiyö direnci QTL'si de doğrulanmış ve gözlemlenen fenotipik varyansın %19,1 ila %21,2'sini açıklanmıştır.

Yıldırım ve diğ., (2019) yaptıkları çalışmada, seksen farklı *Vitis* çeşidinin/genotipinin mildiyö ve küllemeye karşı dayanıklılık/tolerantlık bakımından, inokülasyon gözlemleri ile birlikte Markör Destekli Seleksiyon kullanılarak değerlendirmişlerdir. Farklı *Vitis* genetik kaynakları için farklı direnç lokuslarını (*Run1, Rpv1, Ren1, Rpv3, Ren3*) içeren 6 SSR ve 1 SCAR markör kullanmışlardır. Çeşitlerin/genotiplerin 8 tanesi mildiyöye, 7 tanesi küllemeye ve 4 tanesi de her iki hastalığa karşı dirençli olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, hastalık inokülasyon gözlemleri ile beraber incelendiğinde, 'Köfteci Üzümü' (*Vitis labrusca*) ve 'Giresun 3' (*Vitis labrusca*) en dayanıklı çeşit/genotip olarak tespit edilmiştir.

Prazzoli ve diğ.,(2019) yılında yapmış oldukları çalışmada, Gürcistan, Ermenistan ve Azerbaycan'dan yüz asma genotipini, mildiyö ve külleme direnci ile genetik çeşitlilik ve ilişki analizi için yaygın olarak kullanılan yirmi bir adet SSR markörü ile taramışlardır. Popülasyon genetik yapısına bakıldığında, Ermeni ve Azerbaycan genotipleri aynı kümede ve homojen bir veri setinin Orta Asya üzüm çeşitlerinin arasında yer almıştır. Gürcistan genotipleri ise ayrı bir grup oluşturmuştur. *Erysiphe necator'a* karşı dirençle ilişkili olan ve 'Kishmish vatkana', 'Dzhandzhal kara' ve diğer Orta Asya çeşitlerinde *Ren1* lokusunu çevreleyen SSR alellerinin örüntüsü, külleme direnci açısından değerlendirildiğinde çok yüksek puanlar alan Azerbaycan popülasyonuna ait üç çeşitte tespit edilmiştir.

Ruiz-García ve diğ.,(2021) yılında Monastrell (mildiyöye duyarlı ve küllemeye karşı orta dirençli X Regent (*Rpv3* ve *Ren3* lokuslarını taşıyan) melezlemesinden elde edilen 28 yeni genotipte araştırmalarını yapmışlardır. İncelenen 28 genotipten 20'si *Ren 3* ile ilişkili SSR aleli GF15-42 (199 bp), 19'u GF15-28 (341 bp), 21'i GF15-30 (446 bp) ve 21'i VChr15CenGen06 (283 bp) için pozitif tespit edilmiştir. Tüm bu alelleri taşıyan 19 genotipin küllemeye karşı muhtemelen dirençli olduğu kabul edilmiştir. Dokuz genotip (4_136, 5_022, 5_033, 5_107 genotipleri,6_018, 6_025, 6_046, 6_080 ve 6_125) hem *Rpv3* hem de *Ren3* için dirençle ilişkili SSR alellerini taşıdığı tespit edilmiş ve her iki hastalığa da dirençli kabul edilmiştir.

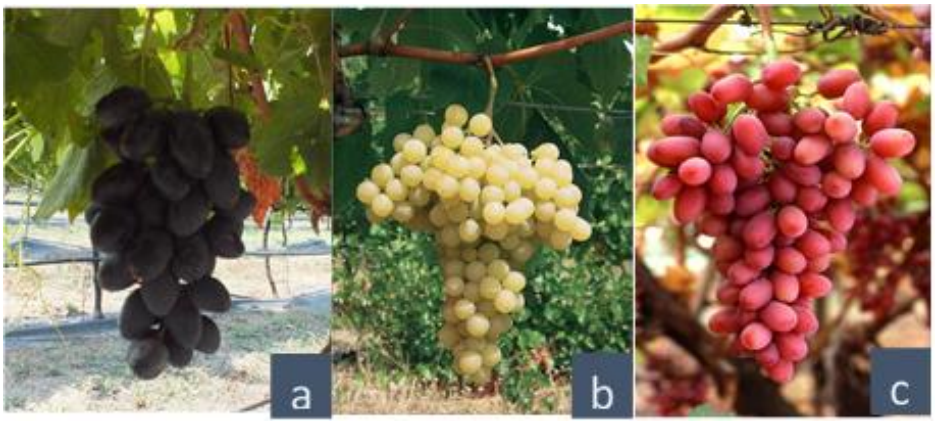
Ricciardi ve diğ., (2024), 13 SSR lokusu ve fenotipik (yapay patojen inokülasyonu) analizine dayanarak mildiyö ve küllemeye dirençli genotipleri belirlemek ve Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP) profillerinde Genom Çapında İlişkilendirme Analizi (GWAS) yoluyla mildiyö ve külleme direnci ile ilişkili lokusları tanımlamak için Kafkasya ve komşu bölgelerdeki asma germplazmının (kültür ve yabani) çeşitliliğini araştırmışlardır. SSR analizi ile 88 genotipten 16'sı için dirençli aleller ortaya çıkarmıştır. Fenotipik veriler ile 7 adet mildiyö ve 31 adet külleme dirençli genotip tanımlanmıştır. GWAS analizi ile kromozom 15 ve 16 üzerinde bulunan (*Rpv36* ve *Rpv37* olarak adlandırılan) mildiyö direnci ile ilişkili iki yeni lokus ve kromozom 6 ve 17 üzerinde bulunan (*Ren14* ve *Ren15* olarak adlandırılan) külleme direnci ile ilişkili iki lokus tanımlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

Proje, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı bünyesinde faaliyet gösteren Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne ait bağlar ile Doku Kültürü ve Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütülmüştür. Ayrıca marköre dayalı seleksiyon çalışmalarının bir kısmı Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarında yapılmıştır.

3.1. Materyal

Projede bitkisel materyal olarak bağ koleksiyon parseli ve yüksek sistem bağ parselinde bulunan çekirdeksiz çeşit olarak Crimson Seedless, Autumn Royal, Mars Seedless, Yalova Çekirdeksizi, Kishmish Vatkana, Kishmish Rozavyi, Exalta; çekirdekli çeşit olarak Red Globe ve Muscat Bailey A çeşitleri kullanılmıştır. Çekirdekli çeşitler sadece tozlayıcı olarak çekirdeksiz çeşitler ise ana veya tozlayıcı olarak kullanılmıştır. Ebeveyn olarak kullanılan çeşitlerin önemli özellikleri şu şekildedir;



Şekil 3.1. a. Autumn Royal, b.Yalova Çekirdeksizi, c. Crimson Seedless

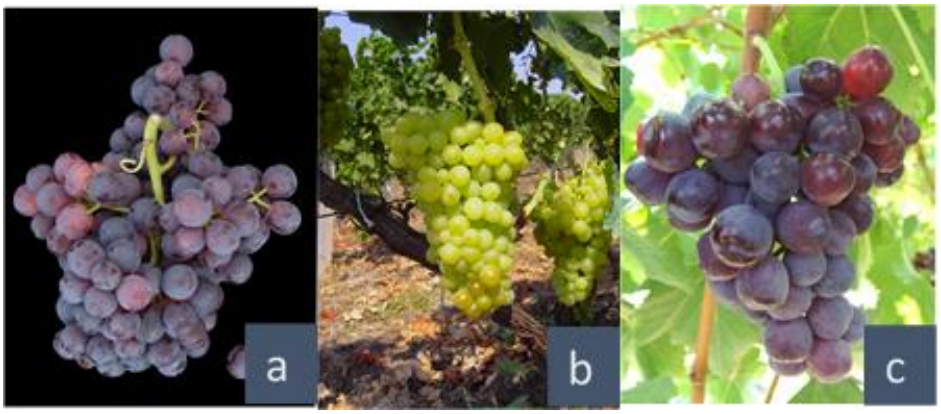
Autumn Royal: D. Ramming ve R. Tarailo tarafından USDA-ARS, Fresno, California'da Autumn Black C74-1 melezlemesinden elde edilen çekirdeksiz bir çeşittir. Geç tomurcuklanma ve geç olgunlaşma dönemine sahiptir. Salkımı büyük, silindirik-konik, orta yoğunluktadır. Büyük meyveler, mavi-mor bir renk tonu ile oval-elipsoidaldir. Kabuğu orta derecede kalın, yarı saydamdır. Meyve eti gevrek, tadı nötrdür. Kısa budamaya uygundur fakat uzun bir budama ile yüksek verim elde edilebilmektir. Yüksek nem koşullarında hasattan sonra tanelerde çatlama ve kopmaya karşı hassas olan bu çeşit nakliyeye orta dayanıklıdır (Şekil 3.1. a.).

Yalova Çekirdeksizi: 1990 yılında Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından tescil ettirilen çeşitte, tane oval, beyaz, iri (4-5 g) ve ince kabukludur. Tane eti az sulu ve gevrektir. Çekirdeksiz (stenospermokarpik) yapıda olan bu üzümün salkımları orta büyük (250-300 g), konik ve orta sıkılıktadır (Çelik, 2002). Asmaları kuvvetli gelişir, orta verimlidir. Uzun budamaya uygundur. Hasat dönemine yakın tane ucunda bazen çatlama görülmektedir (Şekil3.1. b.).

Crimson Seedless: Kaliforniya'daki USDA-FRESNO'da C33-199 ile Emperor melezlemesinden elde edilmiştir. Tane özellikleri eliptik, kırmızı ve iridir (3,7 g). Salkım ağırlığı ortalama 670 g'dır. Salkım kanatlı konik şeklinde ve sıktır. Karışık budamaya uygundur. Orta mevsim tomurcuklanma ve geç olgunlaşma dönemine sahip kuvvetli gelişen bir çeşittir. Tamamen çekirdeksiz ve güzel görünümlü bir salkım yapısına sahiptir. Fakir topraklarda iyi gelişim gösterebilir. Bilezik alma ile meyvelerin ağırlığında hafif artışlar elde edilir, ancak bu da olgunlaşmanın gecikmesine neden olmaktadır. Salkımlar daha homojen bir renge ulaşabilmeleri için farklı zamanlarda hasat edilmelidir (Şekil3.1. c.).

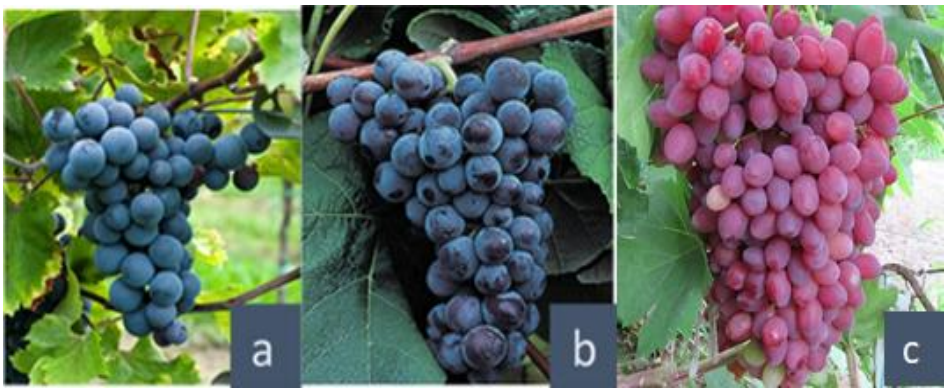
Kismish Vatkana: Vassarga Chernaya × Sultani Çekirdeksiz melezlemesinden elde edilen, hastalıklara tolerant çekirdeksiz kırmızımsı pembe renkte bir çeşittir. Anavatanı Özbekistan olan bu çeşit sofralık ve kurutmalık olarak değerlendirilmektedir (Şekil3.2.a.).

Exalta: Bu çeşit 1966 yılında Hamburg misketi ve Perlette üzüm çeşitlerinin melezlenmesiyle elde edilmiştir. Misket aromalı oval şekilli beyaz renkli taneleri olan çekirdeksiz bir çeşittir (Şekil 3.2.b.).



Şekil 3.2. a. Kismish Vatkana, b.Exalta, c. Red Globe

Red Globe: 1981'de Davis'teki California Üniversitesi'nde Albert T. Koyama ve Hardnold P. Olmo tarafından L 12 80 (İmparator × Hunisia LI) × S45 48 (L 12 80 × Nocera) melezlemesinden elde edilmiştir. Tane özellikleri yuvarlak hafif eliptik, pembemsi kırmızı çok iridir (12-14 gr.). Salkım şekli konik, büyüklüğü çok iri (1000 gr.), sıklığı dolgundur. Çekirdek sayısı 3-4 olup, nötral bir tadı vardır. Olgunlaşması orta mevsimde olup kısa budamaya uygundur(Şekil3.2.a.) (Çelik, 2002).



Şekil 3.3.a. Muscat Bailey A, b.Mars Seedless, c. Kismish Rozavyi

Muscat Bailey A: Zenbei Kawakami tarafından 1927 yılında Bailey *(Vitis lincecumii* × *Triumph)* × Hamburg misketinin melezlemesinden elde edilmiştir. Misket aromalı çekirdekli bir çeşit olup hastalıklara tolerant bir çeşittir (Şekil 3.3.a).

Mars Seedless: James N. Moore tarafından 1972 yılında yapılan Fredonia *(V.labrusca)* × Arkansas 1339 *(V.vinifera)* melezlemesinden elde edilen genotiplerden 1975 yılında seçilerek tescil ettirilmiştir. Mavimsi siyah renkte hafif aroması vardır. Çekirdeksiz olup yüksek sıcaklığa ve kuraklığa tolerant bir çeşittir (Şekil 3.3.b).

Kismish Rozavyi: Külleme ve mildiyö hastalıklarına tolerant kırmızımsı pembe renkte çekirdeksiz bir çeşittir (Şekil 3.3.c).

3.2. Metot

Projenin ilk yılında aşağıda belirtilmiş olan 24 farklı kombinasyonda melezleme çalışmaları yapılmıştır. Daha sonraki yıllarda en başarılı bulunan kombinasyonlarda melezleme çalışmalarına devam edilmiştir**.** Kombinasyonlarda *in vitro* embriyo kurtarma tekniği kullanılmıştır. Uygulama sonrası elde edilen genotiplerde çekirdeksizliğin tespiti *VviAGL11* gen bölgesi kullanılarak ve külleme hastalığının tespiti için 7 adet moleküler markör kullanılarak taranmıştır. Araziye sık dikim olarak dikilmiş ve fazla budama yapılmadan markörlerle elde edilen sonuçlar test edilmiştir. Ayrıca doğal koşullarda külleme hastalığı ile ilişkili testleme çalışmaları yürütülmüştür.

3.2.1. Melezleme Çalışmaları

Melezleme çalışmalarında ana ebeveyn olarak kullanılan üzüm çeşitlerinde emaskülasyon işlemi (her salkımda yaklaşık 100 çiçek) gerçekleştirilmiştir. Çeşitler çiçek açmaya 2-3 gün kala (korollaların tepesinin sararmaya başladığı devre) erkek organlar ve korollalar dişicik tepesine zarar vermeden emasküle edilmiş, erkek organları alınmamış hiç bir çiçek bırakılmayacak şekilde kontrol edilmiştir. Emasküle edilen salkımlar yabancı tozlanmaya engel olacak nitelikteki keselerin içine alınmıştır.



Şekil 3.4. Emaskülasyon çalışmaları

Tozlayıcı çeşitlerden alınan çiçek tozları ya tozlanmanın yapılacağı gün alınmış ya da daha önce alınan çiçek tozları tozlama zamanına kadar laboratuvarda kuru ve serin bir ortamda muhafaza edilmiştir**.**



Şekil 3.5. Tozlama için kullanılan çiçek tozları

Çiçek tozlarının içeresinde bulunduğu polietilen torba içerisine emasküle edilmiş salkımın alınıp torbanın çalkalanmasıyla tozlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem anthesis için en uygun zaman olan sabah erken saatlerde gerçekleştirilmiş olup 2 gün arayla 2-3 defa uygulanmıştır. Ebeveynlerin isimleri ve tozlanma tarihinin yazıldığı etiket bağlanan salkımlar yabancı tozlanma tehlikesinin geçtiği ana kadar torba içerisinde kalmıştır.



Şekil 3.6. Tozlama ve keseleme işlemi

Stenospermokarpik çekirdeksiz çeşitlerde embriyo belli bir dönemden sonra gelişememektedir. Bunu önlemek için emaskülasyon ve yapay tozlama işlemlerinden sonra embriyo kurtarma tekniğinden yararlanılmıştır. Melezle çalışması yapılmış olan salkımların son tozlama tarihinden itibaren 42. gün ile 70. gün arasında hasadı gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları

Hasattan sonra salkımlardan ayrılan taneler akan su altında 20 dk. bekletilmiştir. Ardından %70'lik etil alkolde 3 dk, içerisine 1-2 damla %0.1'lik tween 20 damlatılan %20'lik Sodyum Hipoklorit (NaClO) çözeltisinde 10 dk. yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Her defasında meyveler 3 kez steril saf su ile durulanıp, dikim işleminde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Dezefeksiyon işlemleri güvenlik kabininde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.7. E20A ortamına izole edilen çekirdekler

Sterilizasyon işleminden sonra ovuller izole edilerek E20A besin ortamına dikilmiştir. İlk dikimden 8 hafta sonra ovullerde gelişimini sürdüren zigotik embriyolar, steril koşullarda binoküler mikroskop altında çıkarılarak tekrar E20A besin ortamına dikilmiştir. E20A ortamı 10^{-2} mg/l IAA, 30 mg/l Benzimidazole ile modifiye edilerek ve PH 5.9 olacak şekilde ayarlanmıştır. E20A ortamı besin içeriği Çizelge 3.1 'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. E20A Besi Ortamı

	Bileşik	**Kullanılan Miktar**
1.	NH_4NO_3	619
2.	$CaCl_2.2H_2O$	156,5
3.	$MgSO_4.7\ H_2O$	206
4.	KH_2PO_4	71
5.	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	25
6.	$NaH_2PO_4.\ 4H_2O$	19
7.	$(NH_4)_2SO_4$	17
8.	KCl	3,5
9.	H_3BO_3	1,575
10.	$MnSO_4.4\ H_2O$	11,065
11.	$ZnSO_4.7\ H_2O$	1,812
12.	KI	0,345
13.	$Na_2MoO_4.\ 2\ H_2O$	0,094
14.	$CuSO_4.5\ H_2O$	0,008
15.	$CoCl_2.\ 6\ H_2O$	0,008
16.	$FeSO_4.\ 7\ H_2O$	27,8
17.	Na_2 EDTA	37,3
18.	Nicotinic Acid	0,7
19.	Pyridoxin HCl	5,5
20.	Thiamine HCl	0,6
21.	Calcium Pantothenate	0,5
22.	Biotine	0,005
23.	Myo-inisitol (meso	50,3
24.	Glycine	0,1
25.	KNO_3	1075
26.	Sakkaroz	20000
27.	Agar	8000
28.	PVP	10
29.	IAA	10^{-2}
30.	Benzimidazole	30
31.	pH	5,9

Ovül ve embriyoların, sıcaklığı 25±1°C'de kontrol edilen iklim odasında 8 saat karanlık 16 saat aydınlık fotoperiyotta, 4000 lux aydınlatma şiddeti veren lambalar altında gelişmelerinin devamı sağlanmıştır. Embriyo geliştirme ortamında kök ve üst aksamları oluşan bitkicikler, içinde torf perlit karışımı bulunan saksılara dikilmiş, üzerleri plastik bardaklarla örtüldükten sonra iklim odasına yerleştirilmiş, burada yaklaşık 10 gün muhafaza edilmiştir. 10. gün sonunda kademeli olarak çadırlar kaldırılarak üzerleri tamamen açılmış ve dış ortama alışma süreçleri tamamlanmıştır.



Şekil 3.8. Kök ve üst aksamları oluşan bitkicikler

3.2.2.1. Embriyo Canlılık Oranları (%)

Embriyo kültürü çalışmaları sonucunda elde edilen bitkilerde çekirdek izolasyonundan 6-10 hafta arasında embriyo canlılık oranları (ECO) (%) aşağıdaki formülle kullanılarak hesaplanmıştır.

$$ECO\ (\%) = (\text{Canlı embriyo sayısı} / \text{İzole edilen çekirdek sayısı}) \times 100$$

3.2.2.2. Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı (%)

Embriyo kültürü çalışmalarında elde edilen tam bitkiye dönüşüm oranı (TBDO) %, aşağıdaki formül olarak hesaplanmıştır.

$$TBDO\ (\%) = (\text{Tam Bitki Sayısı} / \text{İzole Edilen Çekirdek Sayısı}) \times 100$$

Üzerleri tamamen açılan bitkiler kontrollü iklim odasında 15 gün süren alıştırma aşamasının ardından, toprak/torf/perlit (2/1/1) karışımıyla doldurulan saksılara aktarılmışlardır. Saksılar ilk önce enstitü serasına oradan da fidanlığa alınmıştır. Saksılarda gerekli kültürel bakımları yapılan bitkiler, daha sonra araziye aktarılmışlardır.



Şekil 3.9. Enstitü fidanlığında ve araziye aktarılmış melez genotipler

3.2.3. Markör Destekli Seleksiyon Çalışmaları

3.2.3.1. DNA İzolasyon ve Ölçümleri

Araştırmada kullanılacak olan genotiplerin DNA izolasyonları Qiagen firmasının DNeasy Plant Mini Kit kullanılarak ve çalışma kit prosedürüne uygun şekilde yapılmıştır. Yaprak dokularının iyice homojenize edilmesi için her biri 2.0 ml yüksek basınca dayanıklı plastik tüp içerisine 100 mg yaprak örneği ve 1 adet metal bilye atıldıktan yaklaşık 30 saniye sıvı azot içerisine daldırılmıştır. Sıvı azottan çıkarılan örnekler doku parçalayıcı ile toz haline gelene kadar parçalanmıştır. Kitle yapılan işlemlerin sırası ile aşağıdaki gibidir:

- Toz haline getirilmiş örneklere 400 µl AP1 Tampon çözeltisi ve 3µl RNAse çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpteki karışım vorteks yardımı ile karıştırılmıştır.
- Tüp 65^0 C'de ki sıcak su banyosunda 20 dakika inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sırasında tüp 2-3 kez alt-üst edilerek karıştırılmıştır.
- Sıcak su banyosundan çıkarılan tüpe 130µl P3 Tampon çözeltisi ilave edilerek karıştırılmıştır ve buz banyosunda 5 dakika inkübe edilmiştir.
- İnkübasyondan sonra tüpler 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant 2ml'lik mini spin filtreli tüpe aktarılmıştır. Tüpler 14.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiş, santrifüj sonrası tüpün altında toplanan içerisinde DNA'lar temiz bir eppendorf tüpe aktarılmıştır.
- Temiz tüpe aktarılan içerisinde DNA bulunan çözeltinin hacminin 1,5 katı AW1 Tampon çözeltisi ilave edilerek tüp nazik bir şekilde karıştırılmıştır.
- Tüp içerisindeki karışımdan 650µl içerisinde beyaz filtre bulunan tüpe aktarılarak ve 800 rpm'de 1 dakika santfifüj edilmiştir. Tüpte geriye kalan karışımda santrifüj sonrası filtreli tüpe aktarılarak tekrar DNA bağlı beyaz filtreli tüpler temiz bir tüpe yerleştirilmiştir. Tüpe 500µl AW2 Tampon çözeltisi eklenerek 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek santrifüj sonrası tüpün altındaki süpernatant dökülmüştür. Filtreye tekrar 500µl AW2 Tampon çözeltisi eklenerek 14000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası filtrede tampon kalıntısı kalmamasına dikkat edilmiştir.
- Filtrede bağlı olan DNA'ların çözelti ortamına alınması için filtre temiz bir tüpe yerleştirilerek tüpe 65 ^{0}C'de bekletilen AE Tampon çözeltisinden 100µl eklenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dakika bekletilen tüp 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- Tüp içerisinde toplanan DNA'lar kullanılacağı zamana kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Elde edilen DNA kalite ve miktar ölçümleri amacıyla %1'lik agaroz jelde yürütülmüş ve spektrofotometre'deabsorbans değerleri ölçülerek iki şekilde kontrol edilmiştir.

3.2.3.2. PZR reaksiyonlarının hazırlanması ve PZR İşlemi

Çekirdeksiz üzüm ıslahında marköre dayalı seleksiyon amaçlı kullanım olanaklarının belirlenmesinde çekirdek gelişimini engelleyici lokus (Seed Development İnhibitor Locus-SDI)'a karşılık gelen *VvAGL11* lokusu, çekirdeksizlik için öne çıkan gen bölgesi olarak tanımlanmıştır (Ocarez ve diğ., 2020). Forward ve reverse primerlere ait baz dizisi ve Tm değerleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. 5U-VviAGL11 SSR primerine ait baz dizileri ve PZR Tm Değerleri

Lokus Adı	Primer Dizileri (5'…3')	Tm (ºC)
5U_VviAGL11-F	5′ - CGC CCATTC TCT CTC GCT AT - 3′	55
5U_VviAGL11-R	5′ - GTG CAA AAA CGC GTA TCC CA - 3′	55

PZR için; 15–200 ng DNA, 10 pmol ileri (forward) primer, 10 pmol ters (revers) primer, 12.5 µL 'master mix' olmak üzere son hacim 25 µl olacak şekilde hazırlanmış ve Biorad T-100 Thermal Cycler (Şekil 3.9) cihazında aşağıdaki programa göre PZR işlemi gerçekleştirilmiştir (Ocarez ve diğ., 2020).

PZR programı, 94 ^{0}C 3 dak, 94 ^{0}C 1 dak, 55 ^{0}C 1 dak, 72 ^{0}C 2 dak, 72 ^{0}C 10 dak. 2,3 ve 4 nolu basamaklar 35 döngü tekrarlanarak uygulanmıştır.

Dayanıklılıkla ilişkili literatürde belirlenmiş gen bölgeleri ile bağlantılı bant büyüklüklerine (allel büyüklüklerine) göre hassas ve dayanıklı bireyler genotipik düzeyde belirlenmiştir. Bu amaçla kullanılan markörler ve özellikleri Çizelge 3.3' te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Külleme Hastalığı ile ilişkili markörler, özellikleri ve referans alınan yayınlar

Markör ve özelliği	Bağlantılı olduğu hastalık	Referans alınan yayın
VMC9h4.2 SSR Marker Kodominant	Külleme (*Ren1*)	Hoffmann. S.. Di Gaspero. G.. Kovács. L.. Howard. S.. Kiss. E.. Galbács.. Z. Testolin. R.. Kozma. P. 2008. Resistance to Erysiphe necator in the grapevine 'Kishmish vatkana' is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth. Theor Appl Genet 116; 427–438.
UDV020a SSR Marker Kodominant	Külleme (*Ren1*)	Katula-Debreceni. D.. Lencsés. A.K.. Szokea. A.. Veresa. A.. Hoffmann. S.. Kozma. P.. Kovácsc. L.G.. Heszkya. L.. Kiss. E. 2010. Marker-assisted selection for two dominant powdery mildew resistance genes introgressed into a hybrid grape population. Scientia Horticulturae.
ScORA7-760 SCAR Marker Dominant	Külleme (*Ren3*)	Murat Akkurt, Leocir Welter, Erika Maul, Reinhard Töpfer and Eva Zyprian 2007: Development of SCAR markers linked to powdery mildew (Uncinula necator) resistance in grapevine (Vitis vinifera L. and Vitis sp.). Mol. Breeding 19:103-111.
GF15-39, GF15-41, GF15-28 SSR Marker Kodominant	Külleme (*Ren3*)	Zendler, D., Schneider, P., Töpfer, R., Zyprian, E. (2017). Fine mapping of Ren3 reveals two loci mediating hypersensitive response against Erysiphe necator in grapevine. Euphytica, 213, 68.

Asma yaprak örneklerinden izole edilen DNA' lar, ilişkili oldukları belirtilen primerler ile PZR ortamında çoğaltılarak, çoğaltım ürünü bantlar elde edilmiştir. PZR için;

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

PZR programı, 4 dak. 94 °C,1 dak. 94 °C, 1 dak. Primerin Annealing Sıcaklığı °C, 1 dak. 72 °C, 6 dak. 72 °C . 2,3 ve 4 nolu basamaklar 35 döngü tekrarlanarak uygulanmıştır.



Şekil 3.9. PZR işleminin yapıldığı Biorad T-100 Thermal Cycler cihazı

PZR amplifikasyonu sonrası PZR ürünlerinin çoğalıp çoğalmadığını kontrol etmek amacıyla %2'lik agaroz jele lokuslara ait PZR ürünleri 10 µL yüklenerek Vilber E-Box görüntüleme sistemi kullanılarak lokuslara ait jel görüntüleri alınmıştır. Her bir jelin ilk kuyucuğuna 10 µL DNA Ladder (50-1000 bp) yüklenmiş ve bant büyüklükleri bu ladder yardımı ile tespit edilmiştir. Çalışmayan örnekler için PZR tekrar edilmiştir. PZR ürünleri DNA fragment analiz sisteminde kapiller elektroforez işlemine tabi tutulmuştur.



Şekil 3.10. Kapiller Elektroforez işleminin yapıldığı Fragment Analiz Cihazı

Kapiller Elektroforez işlemi Fragment Analiz cihazında (Şekil 3.10) Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü Moleküler Genetik Laboratuvarında protokole uygun şekilde yapılmıştır. PZR ürünleri Fragment Analiz cihazında pik görüntüleri elde edildikten sonra, ProSize yazılımıyla piklerdeki allel büyüklükleri belirlenmiştir.

AATI Fragment Analyzer Protokolü

- 96'lık bir plate'in her bir kuyucuğuna 22 µl Dilution Buffer konulmuştur.
- Her bir kuyucuğa 2 µl örnek konulup Dilution Buffer'la karıştırılmıştır.

- 45 µl Seperation Jel 4,5 µl boya ile karıştırılıp cihazın jel kısmına yüklenmiştir.
- 80 ml ultra saf su 20 ml Capillary Contioning Solüsyon ile karıştırılıp cihaza yerleştirilmiştir.
- 20 ml Inlet Buffer 80 ml ultra saf su ile karıştırılıp özel 96'lık plate içerisin'e her bir kuyucuk 1 ml olacak şekilde dağıtılmış ve plate Inlet Buffer tepsisine yerleştirilmiştir.
- Marker solüsyonu özel 96 kuyucuklu marker plate içerisin'e 30 µl olarak dağıtılmış ve 1'er damla mineral yağ üzerlerine eklenmiştir.

3.2.4. Doğal Koşullarda Yürütülecek Külleme Hastalığı İle İlgili Testleme Çalışmaları:

Külleme hastalığına karşı genotiplerin duyarlılık seviyelerini belirlemek amacıyla kendi kalemleri üzerinde, köklendirilmiş asma fidanları kullanılmıştır. Sürgünlerde 4 - 5 yaprak oluştuğunda bu fidanlar enstitüdeki asma parsellerinde doğal ortamlara bırakılarak ve etmenler tarafından enfekte edilmesi sağlanmıştır. Bu aşamada fidanlara herhangi bir fungisit uygulanmamış ve yapraklardaki külleme enfeksiyonları günlük olarak kontrol edilmiştir.

Genotiplerin külleme enfeksiyonları 25-30 gün sonra Wang ve diğ., 1995'e göre değerlendirilmiştir. Bu amaçla her bir fidandan olgunluğa erişmiş 2 yaprak üzerinde, enfeksiyonların kaplama alanı baz alınarak 0-7 skalasına göre (0: infeksiyon yok, 1: %0.1 - 5, 2: %5.1 – 15, 3: %15.1 – 30, 4: %30.1 – 45, 5: %45.1 – 65, 6: %65.1 – 85, 7: %85 – 100) skorlama yapılmıştır. Elde edilen bu skala değerlerinden Tawsend-Heuberger formülüne göre (Σ (skala değeri * o skalaya giren yaprak sayısı) / (toplam yaprak sayısı * en yüksek skala değeri) * 100)) yüzde hastalık şiddeti hesaplanmıştır. Hastalık şiddeti hesaplandıktan sonra varyans analizi yapılmış ve ortalamalar arasındaki farklar LSD (0.05) testine göre istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel değerlendirmenin yanında hastalık şiddeti 0 ise bitkiler immün (I), %0.1 – 5 arasında ise oldukça dayanıklı (HR), %5.1 – 25 arasında ise dayanıklı (R), %25.1 – 50 arasında ise duyarlı (S), %50 – 100 arasında ise oldukça duyarlı olarak gruplandırılmıştır.

Bitkiler araziye aktarılırken sık dikim (3x1m aralıklarla) dikilmiştir. Tek gövde ve az budama yapılmıştır. Meyve veren bitkilerde;

Meyve veren bitkiler hasat dönemine yaklaşıldığında refraktometre ile üzümlerde suda çözünebilir kuru madde (S.Ç.K.M. %) birikimi, titre edilebilir asitlik (g/L) saptanmış; tat, tane rengi, olgunluk kriterleri açısından hasat yapılabilir genotipler belirlenmiştir. Hasat edilen genotiplerde incelenen özellikler Çizelge 4' de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Hasat Edilen Genotiplerde İncelenen Özellikler.

Salkım Özellikleri	**Tane Özellikleri**	**Diğer Özellikler**
Şekil *	Şekil *	SÇKM (Suda Çözünebilir Kuru Madde)
Ağırlık	Kabuk Rengi *	Toplam Asit
Sıklık *	Ağırlık	Olgunluk İndisi
Uzunluk	Tane Eni	
	Tane Boyu	

* OIV Tanımlayıcı Skalaları Referans Alınarak Yapılan Ölçümler.

Salkım Ağırlığı: Hasat zamanı alınan salkımların tartılmasıyla ölçümlerin g cinsinden yapıldığı analizdir.

Salkım Uzunluğu: Salkımın en üst ve en altta bulunan taneleri arasındaki mesafeyi kapsayan (salkım

sapı hariç) ve hasat döneminde uygulanan salkım uzunluğu (cm) ölçümüdür.

Salkım Şekli: OIV 208 tanımlayıcı skalasına göre hasat zamanı yapılan salkım şekli gözlemidir.

Çizelge 3.5. Salkım Şekline Ait Kriterler

Silindirik	1
Konik	2
Huni Şeklinde	3

Salkım Sıklığı: OIV 204 skalasına göre her yıl hasat döneminde yapılan olan salkım sıklığı gözlemidir. Sınıflandırma aşağıdaki skalaya göre yapılmıştır (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6.Salkım Sıklığına Ait Kriterler

Çok Gevşek (Taneler belirgin şekilde ayrı, tane saplarının çoğu görünür durumda)	1
Gevşek (Taneler birbirlerine hafif temasta, tane saplarının bir kısmı görünür)	3
Orta (Taneler hareket edebilecek sıklıkta, tane sapı görünmüyor)	5
Yoğun (Taneler hareket edemeyecek sıklıkta)	7
Çok Yoğun (Tane şekli sıkılıktan bozulmuş durumda)	9

100 Tane Ağırlığı (g): Salkımların her tarafından rastgele olarak alınan 100 adet tane sapsız olarak tartılarak tane ağırlığı hesaplanmıştır.

Tane Eni (cm): Tanelerin tam iriliklerine ulaştıkları hasada yakın bir tarihte kumpas yardımıyla tanenin eninin ölçülmesi suretiyle yapılmıştır.

Tane Boyu (cm): Tanelerin tam iriliklerine ulaştıkları hasada yakın bir tarihte kumpas yardımıyla tanenin boyunun ölçülmesi suretiyle yapılmıştır.

Tane Şekli: Bu gözlemler salkımın orta kısmında bulunan, deforme olmamış tanelerden yapılmış ve OIV 223 tanımlayıcı skalası kullanılmıştır (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7.Tane Şekline Ait Kriterler

Basık		1
Küre		2
Geniş Eliptik		3
Dar Eliptik		4
Silindirik		5

Geniş Yumurta		6
Yumurta		7
Ters yumurta		8
Boynuz		9
Parmak		10

Tane Kabuk Rengi: Olgunluk döneminde salkımın ortasından alınan tanelerde yapılan bu ölçüm OIV 225 skalasına göre uygulanmıştır (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. Tane Kabuk Rengine Ait Kriterler

Yeşil sarı	1
Gül rengi	2
Kırmızı	3
Gri	4
Koyu Kırmızı Menekşe	5
Mavi siyah	6

Toplam Asitlik (%): Titrimetrik yöntemle (Cemeroğlu, 2007) ulaşılan değerin 0,15 ile çarpılmasıyla elde edilmiştir.

Olgunluk indisi (şıradaki SÇKM/genel asit): % SÇKM değerinin % toplam asitlik değerine bölünmesiyle elde edilen değerdir. Bu ölçümler erkenciliğin belirlenmesi amacıyla yapıldığında erkenci çeşitler ile, geççiliğin belirlenmesi amacıyla yapıldığında ise geççi çeşitler ile kıyaslanmıştır.

Suda Çözünür Kuru Madde (SÇKM) (%): Üzüm tanelerinin elle sıkılmasıyla elde edilen meyve suyu örneğinde dijital refraktometre ile saptanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Doku Kültürü Analizlerine Ait Bulgular

4.1.1.1. 2020 Yılına Ait Çalışmalar

Projenin ilk yılında toplam 24 kombinasyonda çalışılmış ana ebeveynlerden Mars Seedless çeşidiyle 23 Mayıs 2020 tarihinde emaskülasyon işlemlerine başlanmış sonrasında baba çeşitlerden alınan çiçek tozları ile yapay tozlamalar yapılmıştır. Çalışmanın ilk yılı olan 2020 yılında, tozlamadan sonraki altıncı ve onuncu haftalarda örnekler alınarak 22 farklı melez kombinasyonunda embriyo kurtarma çalışmaları yürütülmüş ve aynı çalışmalar 2021, 2022 ve 2023 yıllarında özellikle ebeveynler/kombinasyonlar arasında en iyi sonucu veren kombinasyonlarla tekrarlanmıştır.

Melezleme çalışmaları neticesinde 2020 yılında toplam 24 kombinasyondan 2790 adet çekirdek elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Elde edilen çekirdeklerin tamamı embriyo kültürü çalışmaları için E20A besin ortamlarına belirtilen haftalarda steril koşullarda aktarılmışlardır. Autumn Royal çeşidini tozlamadan sonra salkım tanelerinde meydana gelen dökülmelerden dolayı embriyo elde edilememiştir. 19 Haziran 2020 tarihinde Yalova ilinde meydana gelmiş olan şiddetli yağışa bağlı olarak dökülmenin olduğu düşünülmektedir. Autumn Royal çeşidine ait kombinasyonlar 2021 yılında tekrarlanmıştır.

Çizelge 4.1. 2020 Yılında Melezleme Çalışmalarından İzole Edilen Çekirdek Sayısı (Adet)

	İzole Edilen Çekirdekler					
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7.hafta**	**8.hafta**	**9.hafta**	**10.hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	120	155	162	40	20	497
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	51	65	48	27	15	206
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	32	40	37	41	11	161
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	27	43	21	9	9	109
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	109	96	88	42	35	370
Yalova Ç.sizi x Red Globe	5	8	7	3	0	23
Yalova Ç.sizi x Exalta	43	48	38	25	9	163
Crimson Seedless x Exalta	5	10	17	10	0	42
Crimson Seedless x Mars Seedless	7	17	10	16	0	50
Crimson Seedless x Yalova Ç.sizi	6	15	18	9	0	48
Crimson Seedless x K. Vatkana	5	12	19	9	0	45
Crimson Seedless x K. Rozavyi	15	111	70	8	0	204
Crimson Seedless x Red Globe	3	12	20	13	0	48
Crimson Seedless x Muscat Bailey A	8	16	17	15	0	56
Mars Seedless x Red Globe	3	10	3	0	0	16
Mars Seedless xMuscat Bailey A	8	13	12	5	0	38
K. Vatkana x Red Globe	33	41	30	17	6	127
K. Vatkana x Muscat Bailey A	27	38	17	5	4	91
K. Rozavyi x Red Globe	25	30	20	25	5	105
K. Rozavyi x Muscat Bailey A	9	10	5	0	0	24
Exalta x Red Globe	67	72	81	50	16	286

Exalta x Muscat Bailey A	20	35	17	9	0	81
Autumn Royal x Red Globe	-	-	-	-	-	-
Autumn Royal x Muscat Bailey A	-	-	-	-	-	-
Toplam	628	897	757	378	130	2790

Çizelge 4.1 incelendiğinde, melezleme çalışmaları sonucunda en çok 162 adet çekirdek ile tozlamadan 8 hafta sonra izole edilen Yalova Çekirdeksizi X Crimson Seedless kombinasyonundan elde edilmiştir. Bazı örnek alma zamanlarında hiç çekirdek elde edilmezken, en az çekirdek kombinasyonların 10. haftasında alınan örneklerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.2. 2020 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Canlı Embriyo Sayısı (Adet)

Canlı Embriyo Sayısı						
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7.hafta**	**8.hafta**	**9.hafta**	**10.hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	15	17	20	12	2	66
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	13	15	14	8	0	50
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	5	9	9	10	5	38
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	6	10	12	1	0	29
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	19	13	20	17	0	69
Yalova Ç.sizi x Red Globe	0	5	5	1	0	11
Yalova Ç.sizi x Exalta	8	16	13	4	0	41
Crimson Seedless x Exalta	0	0	3	1	0	4
Crimson Seedless x Mars Seedless	0	1	2	3	0	6
Crimson Seedless x Yalova Ç.sizi	0	2	4	0	0	6
Crimson Seedless x K. Vatkana	0	0	3	0	0	3
Crimson Seedless x K. Rozavyi	0	5	12	0	0	17
Crimson Seedless x Red Globe	0	1	8	0	0	9
Crimson Seedless x Muscat Bailey A	0	0	2	0	0	2
Mars Seedless x Red Globe	0	2	0	0	0	2
Mars Seedless xMuscat Bailey A	1	2	3	0	0	6
K. Vatkana x Red Globe	5	12	8	2	0	27
K. Vatkana x Muscat Bailey A	9	11	5	0	0	25
K. Rozavyi x Red Globe	6	7	4	6	0	23
K. Rozavyi x Muscat Bailey A	0	1	0	0	0	1
Exalta x Red Globe	13	17	18	11	0	59
Exalta x Muscat Bailey A	3	5	2	0	0	10
Toplam	103	151	167	76	7	504

2020 yılında yapılan melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen çekirdeklerden izole edilen canlı embriyo sayıları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Buna göre en fazla canlı embriyo sayısı toplamda 151 embriyo ile 7. haftada alınan örneklerden izole edilmiştir. En az izole edilen embriyo ise 7 adet ile 10. haftada alınan örneklerden elde edilmiştir. Kombinasyonlar arasındaki farklılıklara bakıldığı zaman, en fazla canlı embriyo 69 adet ile Yalova Çekirdeksizi X Kismish Rozavyi melezleme kombinasyonundan elde edilirken, en az canlı embriyo 1 adet ile Kismish Rozavyi X Muscat Bailey A melezleme kombinasyonundan elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. 2020 Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Genotiplerde Embriyo Canlılık Oranları (%).

Embriyo Canlılık Oranları(%)					
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7.hafta**	**8.hafta**	**9.hafta**	**10.hafta**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	13	11	12	30	10
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	25	23	29	30	0
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	16	23	24	24	45
Yalova Ç Ç.sizi x K. Vatkana	22	23	57	11	0
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	17	14	23	40	0
Yalova Ç.sizi x Red Globe	0	63	71	33	0
Yalova Ç.sizi x Exalta	19	33	34	16	0
Crimson Seedless x Exalta	0	0	18	10	0
Crimson Seedless x Mars Seedless	0	6	20	19	0
Crimson Seedless x Yalova Ç.sizi	0	13	22	0	0
Crimson Seedless x K. Vatkana	0	0	16	0	0
Crimson Seedless x K. Rozavyi	0	5	17	0	0
Crimson Seedless x Red Globe	0	8	40	0	0
Crimson Seedless x Muscat Bailey A	0	0	12	0	0
Mars Seedless x Red Globe	0	20	0	0	0
Mars Seedless xMuscat Bailey A	13	15	25	0	0
K. Vatkana x Red Globe	15	29	27	12	0
K. Vatkana x Muscat Bailey A	33	29	29	0	0
K. Rozavyi x Red Globe	24	23	20	24	0
K. Rozavyi x Muscat Bailey A	0	10	0	0	0
Exalta x Red Globe	19	24	22	22	0
Exalta x Muscat Bailey A	15	14	12	0	0

Çizelge 4.3 incelendiğinde, embriyo canlılığı açısından en yüksek oran %71 ile Yalova Çekirdeksizi x Red Globe kombinasyonunun 8. haftasından izole edilen örneklerden elde edilmiştir. Crimson seedless çeşidinin ana ebeveyn olduğu kombinasyonlar diğer ana ebeveynler ile kıyaslandığında daha düşük orana sahip kombinasyonlar olmuştur.

Çizelge 4.4. 2020 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Bitki Sayıları (Adet).

Elde Edilen Bitki Sayıları						
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7.hafta**	**8.hafta**	**9.hafta**	**10.hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	-	-	10	1	-	11
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	-	-	1	2	-	3
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	-	-	1	2	2	5
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	-	-	4	-	-	4
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	-	1	-	-	-	1
Yalova Ç.sizi x Red Globe	-	1	2	-	-	3
Yalova Ç.sizi x Exalta	-	-	1	-	-	1
Crimson Seedless x Exalta	-	-	-	-	-	0
Crimson Seedless x Mars Seedless	-	-	-	-	-	0

Crimson Seedless x Yalova Ç.sizi	-	-	-	-	-	0
Crimson Seedless x K. Vatkana	-	-	-	-	-	0
Crimson Seedless x K. Rozavyi	-	-	-	-	-	0
Crimson Seedless x Red Globe	-	1	-	-	-	1
Crimson Seedless x Muscat Bailey A	-	-	-	-	-	0
Mars Seedless x Red Globe	-	-	-	-	-	0
Mars Seedless xMuscat Bailey A	-	-	-	-	-	0
K. Vatkana x Red Globe	-	2	1	-	-	3
K. Vatkana x Muscat Bailey A	-	-	-	-	-	0
K. Rozavyi x Red Globe	-	-	-	-	-	0
K. Rozavyi x Muscat Bailey A	-	-	-	-	-	0
Exalta x Red Globe	-	-	-	-	-	0
Exalta x Muscat Bailey A	-	-	-	-	-	0
Toplam	-	5	20	5	2	32

Çizelge 4.4'te örnek alma zamanlarına göre elde edilen bitki sayıları verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, en çok bitki 8. haftada alınan örneklerden elde edilirken, 6. haftada hiçbir melezleme konmbinasyonunda bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. En çok bitki 10 adet ile Yalova Çekirdeksizi xCrimson Seedless kombinasyonunun 8. haftasından elde edilmiştir.

Çizelge 4.5. 2020 Yılında Melezleme Çalışmalarından Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı (%).

	Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı(%)				
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7.hafta**	**8.hafta**	**9.hafta**	**10.hafta**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	0	0	6	3	0
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	0	0	2	7	0
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	0	3	5	18
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	0	0	19	0	0
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	0	1	0	0	0
Yalova Ç.sizi x Red Globe	0	13	29	0	0
Yalova Ç.sizi x Exalta	0	0	3	0	0
Crimson Seedless x Exalta	0	0	0	0	0
Crimson Seedless x Mars Seedless	0	0	0	0	0
Crimson Seedless x Yalova Ç.sizi	0	0	0	0	0
Crimson Seedless x K. Vatkana	0	0	0	0	0
Crimson Seedless x K. Rozavyi	0	0	0	0	0
Crimson Seedless x Red Globe	0	8	0	0	0
Crimson Seedless x Muscat Bailey A	0	0	0	0	0
Mars Seedless x Red Globe	0	0	0	0	0
Mars Seedless xMuscat Bailey A	0	0	0	0	0
K. Vatkana x Red Globe	0	5	3	0	0
K. Vatkana x Muscat Bailey A	0	0	0	0	0
K. Rozavyi x Red Globe	0	0	0	0	0
K. Rozavyi x Muscat Bailey A	0	0	0	0	0
Exalta x Red Globe	0	0	0	0	0

Exalta x Muscat Bailey A	0	0	0	0	0

Çizelge 4.5 incelendiğinde melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen bitkilerde, embriyodan bitkiye dönüşüm oranı en yüksek oran %29 ile Yalova Çekirdeksizi x Red Globe kombinasyonunun 8. haftasında alınan örneklerinden elde edilmiştir. Uygulanan tüm melezleme kombinasyonlarından, 6. haftada alınan örneklerden elde edilen embriyolardan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir.

2020 yılında 24 farklı kombinasyonla yapılan embriyo kurtarma çalışmalarında (haftalar ayrı ayrı değerlendirildiğinde), en iyi sonuçlar, tozlamadan sonra 7. ve 8. haftalarda E20A ortamına ekilen 'Yalova Çekirdeksizi X Red Globe' kombinasyonuna ait embriyolardan elde edilmiştir. Özellikle 'Yalova Çekirdeksizi X Red Globe' kombinasyonu diğer tüm kombinasyonlara kıyasla gelişen embriyo yüzdesi (%) açısından en iyi kombinasyon olmuştur. Fide sayısı sonuçlarına baktığımızda, Yalova Çekirdeksizi'nin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlardan diğer kombinasyonlara göre daha fazla fide elde edilmiştir. Ortalama olarak, en yüksek fide sayısı 8 haftada elde edilirken, özellikle 6 haftada hiç fide elde edilmemiştir. 2020 yılında elde edilen sonuçlara göre, özellikle 'Crimson Seedless' çeşidinin dişi ve ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlarda çok düşük sayıda embriyo geliştiği için, bu kombinasyonlar sonraki yıllarda embriyo kurtarma programından çıkarılmıştır. Bunların dışında, istenilen embriyo gelişimi sayısına ulaşılamayan birkaç kombinasyonda da sonraki yıllarda değişiklikler yapılmıştır.

4.1.1.2. 2021 Yılına Ait Çalışmalar

2021 yılı emaskülasyon çalışmalarına fenolojik gözlemler sonucunda 7 Haziran tarihinde Yalova Çekirdeksizi çeşidiyle başlanmıştır. Melezleme çalışmaları neticesinde 2021 yılında toplam 11 kombinasyondan 3350 adet çekirdek elde edilmiştir (Çizelge 4.6). Crimson Seedless'ın ana ebeveyn olduğu kombinasyonlar Crimson Seedless'ın çekirdek izlerinin çok küçük olması ve 2020 yılında yapılan çalışmalarda izole edilen embriyoların az olması nedeniyle 2021 yılındaki kombinasyonlardan çıkarılmıştır. Elde edilen çekirdeklerin tamamı embriyo kültürü çalışmaları için yapay besin ortamlarına (E20A) aktarılmışlardır.

Çizelge 4.6. 2021 Yılında Melezleme Çalışmalarından İzole Edilen Çekirdek Sayısı (Adet)

	İzole Edilen Çekirdekler					
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	56	160	130	36	10	392
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	48	150	128	29	15	370
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	32	90	70	40	28	260
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	60	102	65	10	26	263
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	25	117	23	6	19	190
Yalova Ç.sizi x Red Globe	24	55	22	9	10	120
Yalova Ç.sizi x Exalta	40	102	64	19	15	240
Autumn Royal x Red Globe	0	16	15	9	0	40
Autumn Royal x Muscat Bailey A	0	18	12	10	0	40
K. Vatkana x Red Globe	112	350	280	95	60	897

K. Vatkana x Muscat Bailey A	104	213	155	30	38	540
Toplam	501	1373	964	293	221	3352

Çizelge 4.6 incelendiğinde, melezleme çalışmaları sonucunda en çok 350 adet çekirdek ile tozlamadan 7 hafta sonra izole edilen Kismish Vatkana X Red Globe kombinasyonundan, bazı örnek alma zamanlarında hiç çekirdek elde edilmezken, en az çekirdek 6 adet ile Yalova Çekirdeksizi x K.Rozavyi melezleme kombinasyonunun 9. haftasında alınan örneklerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.7. 2021 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Canlı Embriyo Sayısı (Adet)

	Canlı Embriyo Sayısı					
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	4	29	25	2	0	60
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	5	18	16	1	0	40
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	17	18	5	2	42
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	5	17	16	0	0	38
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	0	20	5	0	0	25
Yalova Ç.sizi x Red Globe	0	12	3	0	0	15
Yalova Ç.sizi x Exalta	2	27	25	2	0	56
Autumn Royal x Red Globe	0	0	0	0	0	0
Autumn Royal x Muscat Bailey A	0	0	0	0	0	0
K. Vatkana x Red Globe	18	30	25	14	9	96
K. Vatkana x Muscat Bailey A	12	20	25	3	2	62
Toplam	46	190	158	27	13	434

2021 yılında yapılan melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen çekirdeklerden izole edilen canlı embriyo sayıları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Buna göre en fazla canlı embriyo sayısı toplamda 190 embriyo ile 7. haftada alınan örneklerden izole edilmiştir. Bazı haftalar ve kombinasyonlardan hiç canlı embriyo elde edilememiştir. En az izole edilen embriyo ise 1 adet ile 9. haftada alınan Yalova Çekirdeksizi x Muscat Bailey A kombinasyonundan elde edilmiştir. Kombinasyonlar arasındaki farklılıklara bakıldığı zaman, en fazla canlı embriyo 30 adet ile Kismish Vatkana x Red Globe kombinasyonundan elde edilmiştir. Autumn royal çeşidinin ana ebeveyn olduğu kombinasyonlarda hiçbir haftada canlı embriyo elde edilememiştir.

Çizelge 4.8. 2021 Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Genotiplerde Embriyo Canlılık Oranları (%).

	Embriyo Canlılık Oranları(%)				
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	7	18	19	6	0
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	10	12	13	3	0
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	19	26	13	7
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	8	17	25	0	0
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	0	17	22	0	0
Yalova Ç.sizi x Red Globe	0	22	14	0	0

Yalova Ç.sizi x Exalta	5	26	39	11	0
Autumn Royal x Red Globe	0	0	0	0	0
Autumn Royal x Muscat Bailey A	0	0	0	0	0
K. Vatkana x Red Globe	16	9	9	15	15
K. Vatkana x Muscat Bailey A	12	9	16	10	5

Çizelge 4.8 incelendiğinde, en yüksek oran %39 ile Yalova Çekirdeksizi x Exalta kombinasyonunun 8. haftasından izole edilen örneklerden elde edilirken en düşük oran %3 ile Yalova Çekirdeksizi x Muscat Bailey A kombinasyonunun 9 haftasında olmuştur. Autumn Royal çeşidinin ana olduğu kombinasyonlardan canlı embriyo elde edilememiştir.

Çizelge 4.9. 2021 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Bitki Sayıları (Adet).

Elde Edilen Bitki Sayısı						
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	-	1	2	-	-	3
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	-	3	3	-	-	6
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	-	2	3	2	-	7
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	-	1	1	-	-	2
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	-	-	1	-	-	1
Yalova Ç.sizi x Red Globe	-	2	3	-	-	5
Yalova Ç.sizi x Exalta	-	-	2	-	-	2
Autumn Royal x Red Globe	-	-	-	-	-	0
Autumn Royal x Muscat Bailey A	-	-	-	-	-	0
K. Vatkana x Red Globe	-	2	2	1	-	5
K. Vatkana x Muscat Bailey A	-	-	2	-	-	2
Toplam	0	11	19	3	0	33

Çizelge 4.9'te örnek alma zamanlarına göre elde edilen bitki sayıları verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, en çok bitki 8. haftada alınan örneklerden elde edilirken, 6. haftada hiçbir melezleme konmbinasyonunda bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. En çok bitki 7 adet ile Yalova Çekirdeksizi x Mars Seedless kombinasyonundan elde edilmiştir.

Çizelge 4.10. 2021 Yılında Yapılan Çalışmalarda Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı (%).

Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı(%)					
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	0	1	2	0	0
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	0	2	2	0	0
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	2	4	5	0
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	0	1	2	0	0
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	0	0	4	0	0
Yalova Ç.sizi x Red Globe	0	4	14	0	0
Yalova Ç.sizi x Exalta	0	0	3	0	0
Autumn Royal x Red Globe	0	0	0	0	0
Autumn Royal x Muscat Bailey A	0	0	0	0	0
K. Vatkana x Red Globe	0	1	1	1	0
K. Vatkana x Muscat Bailey A	0	0	1	0	0

Çizelge 4.10 incelendiğinde 2021 yılı melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen bitkilerde, embriyodan bitkiye dönüşüm oranı en yüksek oran %14 ile Yalova Çekirdeksizi x Red Globe kombinasyonunun 8. haftasında alınan örneklerinden elde edilmiştir. Uygulanan tüm melezleme kombinasyonlarından, 6. ve 10. haftada alınan örneklerden elde edilen embriyolardan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir.

Embriyo gelişim oranları kombinasyon ortalamalarına göre karşılaştırıldığında, en başarılı kombinasyonlar sırasıyla 'Yalova Çekirdeksizi X Exalta' ve 'Yalova Çekirdeksizi X Mars Seedless' oldu. 'Autumn Royal X Red Globe' ve 'Autumn Royal X Muscat Bailey A' kombinasyonlarından embriyo gelişimi ve fide elde edilmemiştir. Fide sayısı açısından en başarılı hafta sekizinci hafta olurken, en başarılı kombinasyon 'Yalova Çekirdeksizi X Muscat Bailey A' kombinasyonu olmuştur. 2021'de 2020'ye kıyasla daha az kombinasyon olmasına rağmen, embriyo kurtarma çalışmalarından daha fazla fide elde edilmiştir.

4.1.1.3. 2022 Yılına Ait Çalışmalar

2022 yılı emaskülasyon çalışmalarına fenolojik gözlemler sonucunda 30 Mayıs tarihinde Yalova Çekirdeksiz çeşidiyle başlanmıştır. Melezleme çalışmaları neticesinde 2022 yılında toplam 10 kombinasyondan 2080 adet çekirdek elde edilmiştir (Çizelge 4.5). 2022 yılında, özellikle denemenin ilk iki yılının sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, ana ebeveyn olarak ‘Yalova çekirdeksizi’, ‘Exalta’ ve ‘Kishmish Vatkana’ çeşitlerinin kullanıldığı kombinasyonlarla embriyo kurtarma çalışmaları yürütülmüştür. Elde edilen çekirdeklerin tamamı embriyo kültürü çalışmaları için yapay besin ortamlarına (E20A) aktarılmışlardır.

Çizelge 4.11. 2022 Yılında Melezleme Çalışmalarından İzole Edilen Çekirdek Sayısı (Adet)

İzole Edilen Çekirdek Sayısı						
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	20	85	70	60	15	250
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	8	37	30	10	3	88
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	7	10	15	5	3	40
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	17	50	30	8	0	105
Yalova Ç.sizi x Red Globe	20	100	120	45	30	315
Yalova Ç.sizi x Exalta	16	80	90	50	20	256
Exalta x Red Globe	16	92	100	26	16	250
Exalta x Muscat Bailey A	14	80	90	17	15	216
K. Vatkana x Red Globe	20	104	140	64	12	340
K. Vatkana x Muscat Bailey A	12	71	100	26	11	220
Toplam	150	709	785	311	125	2080

Çizelge 4.11 incelendiğinde, melezleme çalışmaları sonucunda en çok 140 adet çekirdek ile tozlamadan 8 hafta sonra izole edilen Kismish Vatkana X Red Globe kombinasyonundan, 10 haftada Yalova Çekirdeksizi x K. Vatkana kombinasyonundan hiç çekirdek elde edilmezken, en az çekirdek 3 adet ile Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A ve Yalova Çekirdeksizi x Mars Seedless melezleme kombinasyonlarının 10. haftasında alınan örneklerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.12. 2022 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Canlı Embriyo Sayısı (Adet)

Canlı Embriyo Sayısı						
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	1	10	9	2	0	22
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	1	9	8	1	0	19
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	1	2	0	0	3
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	3	6	4	1	0	14
Yalova Ç.sizi x Red Globe	1	11	14	4	1	31
Yalova Ç.sizi x Exalta	2	10	12	2	0	26
Exalta x Red Globe	3	10	13	5	0	31
Exalta x Muscat Bailey A	2	12	17	2	0	33
K. Vatkana x Red Globe	4	15	21	5	0	45
K. Vatkana x Muscat Bailey A	2	7	13	2	0	24
Toplam	19	91	113	24	1	248

2022 yılında yapılan melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen çekirdeklerden izole edilen canlı embriyo sayıları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelge incelendiğinde en fazla canlı embriyo sayısı toplamda 113 embriyo ile 8. haftada alınan örneklerden izole edilmiştir. En az embriyo saysısı 1 adet ile 10. Haftadaki kombinasyonlardan izole edilmiştir. Bazı haftalar ve kombinasyonlardan hiç canlı embriyo elde edilememiştir. Kombinasyonlar arasındaki farklılıklara bakıldığı zaman, en fazla canlı embriyo 21 adet ile Kismish Vatkana x Red Globe kombinasyonundan elde edilmiştir.

Çizelge 4.13. 2022 Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Genotiplerde Embriyo Canlılık Oranları (%).

Embriyo Canlılık Oranları(%)					
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	5	12	13	3	0
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	13	24	27	10	0
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	10	13	0	0
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	18	12	13	13	0
Yalova Ç.sizi x Red Globe	5	11	12	9	3
Yalova Ç.sizi x Exalta	13	13	13	4	0
Exalta x Red Globe	19	11	13	19	0
Exalta x Muscat Bailey A	14	15	19	12	0
K. Vatkana x Red Globe	20	14	15	8	0
K. Vatkana x Muscat Bailey A	17	10	13	8	0

Çizelge 4.13 incelendiğinde, en yüksek oran %27 ile Yalova Çekirdeksizi x Muscat Bailey A kombinasyonunun 8. haftasından izole edilen örneklerden elde edilirken en düşük oran %3 ile Yalova Çekirdeksizi x red globe kombinasyonunun 10 ile Yalova Çekirdeksizi xCrimson Seedless 9. haftasında olmuştur.

Çizelge 4.14. 2022 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Bitki Sayıları (Adet).

Elde Edilen Bitki Sayısı						
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	-	0	2	-	-	2
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	-	2	3	-	-	5
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	-	1	2	-	-	3
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	-	1	1	-	-	2
Yalova Ç.sizi x Red Globe	-	3	3	-	-	6
Yalova Ç.sizi x Exalta	-	0	2	-	-	2
Exalta x Red Globe	-	1	1	-	-	2
Exalta x Muscat Bailey A	-	1	2	-	-	3
K. Vatkana x Red Globe	-	2	3	-	-	5
K. Vatkana x Muscat Bailey A	-	0	2	-	-	2
Toplam	0	11	21	0	0	32

Çizelge 4.14'te örnek alma zamanlarına göre elde edilen bitki sayıları verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, en çok bitki 8. haftada alınan örneklerden elde edilirken, 6. 9. Ve 10. haftalarda hiçbir melezleme konmbinasyonunda bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. En çok bitki 6 adet ile Yalova Çekirdeksizi x Red Globe kombinasyonundan elde edilmiştir. Tüm kombinasyonlarda en fazla bitki 8. Haftada izole edilen embriyolardan elde edilmiştir.

Çizelge 4.15. 2022 Yılında Yapılan Çalışmalarda Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı (%).

Tam Bitkiye Dönüşüm Oranı (%)					
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	0	0	3	0	0
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	0	5	10	0	0
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	10	13	0	0
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	0	2	3	0	0
Yalova Ç.sizi x Red Globe	0	3	3	0	0
Yalova Ç.sizi x Exalta	0	0	2	0	0
Exalta x Red Globe	0	1	1	0	0
Exalta x Muscat Bailey A	0	1	2	0	0
K. Vatkana x Red Globe	0	2	2	0	0
K. Vatkana x Muscat Bailey A	0	0	2	0	0

Çizelge 4.15 incelendiğinde 2022 yılı melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen bitkilerde, embriyodan bitkiye dönüşüm oranı en yüksek oran %13 ile Yalova Çekirdeksizi x Mars Seedless kombinasyonunun 8. haftasında izole edilen örneklerinden elde edilmiştir. Uygulanan tüm melezleme kombinasyonlarından, 6., 9.ve 10. haftada alınan örneklerden elde edilen embriyolardan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir.

Yedinci ve sekizinci haftalarda, 'Yalova Çekirdeksizi X Mars Seedless' kombinasyonu en başarılı sonuçları vermiştir. Haftaların ortalama embriyo gelişim yüzdesi dikkate alındığında, en başarılı sonuçlar sırasıyla sekizinci ve yedinci haftalarda elde edilmiştir, bu da önceki yıllarda elde edilen sonuçlara benzer bulunmuştur.

4.1.1.4. 2023 Yılına Ait Çalışmalar

2023 yılı melezleme çalışmalarına Yalova koşullarında fenolojik gözlemler sonucunda 5 Haziran Yalova Çekirdeksizi çeşidiyle başlanmıştır. Melezleme çalışmaları neticesinde 2023 yılında toplam 10 kombinasyondan 1598 adet çekirdek elde edilmiştir (Çizelge 4.16). Elde edilen çekirdeklerin tamamı embriyo kültürü çalışmaları için yapay besin ortamlarına (E20A) aktarılmışlardır.

Çizelge 4.16. 2023 Yılında Melezleme Çalışmalarından İzole Edilen Çekirdek Sayısı (Adet)

	İzole Edilen Çekirdekler					
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	20	90	50	20	12	192
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	12	69	63	16	10	170
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	10	10	9	6	35
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	10	40	30	15	10	105
Yalova Ç.sizi x Red Globe	28	57	66	43	21	215
Yalova Ç.sizi x Exalta	20	66	60	10	0	155
Exalta x Red Globe	17	62	54	10	7	150
Exalta x Muscat Bailey A	12	45	42	9	8	116
K. Vatkana x Red Globe	26	72	81	40	21	240
K. Vatkana x Muscat Bailey A	18	75	77	35	15	220
Toplam	163	585	533	207	110	1598

Çizelge 4.16 incelendiğinde, melezleme çalışmaları sonucunda en çok 90 adet çekirdek ile tozlamadan 7 hafta sonra izole edilen Yalova Çekirdeksizi xCrimson Seedless kombinasyonundan, 10 haftada Yalova Çekirdeksizi x Exalta ve 6. Hafta Yalova Çekirdeksizi x Mars Seedless kombinasyonlarından hiç çekirdek elde edilmezken, en az çekirdek 10 hafta 6 adet ile Yalova Çekirdeksizi x Muscat Bailey A kombinasyonundan alınan örneklerden elde edilmiştir. Toplamda en fazla 585 adet çekirdek ile 7. haftada elde edilmiştir. En fazla izole edilen çekirdek sayısı 240 adet ile Kismish Vatkana x Red Globe kombinasyonu olmuştur.

Çizelge 4.17. 2023 Yılında Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Canlı Embriyo Sayısı (Adet)

	Canlı Embriyo Sayısı					
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**	**Toplam**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	2	22	12	3	1	40
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	0	11	12	2	0	25
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	2	2	1	0	5
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	0	8	5	1	0	14
Yalova Ç.sizi x Red Globe	2	14	19	9	1	45
Yalova Ç.sizi x Exalta	3	15	14	0	0	32
Exalta x Red Globe	0	11	9	0	0	20
Exalta x Muscat Bailey A	0	12	10	1	0	23
K. Vatkana x Red Globe	1	15	21	5	1	43
K. Vatkana x Muscat Bailey A	1	12	9	2	0	24
Toplam	9	122	113	24	3	271

2023 yılında yapılan melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen çekirdeklerden izole edilen canlı embriyo sayıları Çizelge 4.17'de verilmiştir. Buna göre en fazla canlı embriyo sayısı toplamda 122 embriyo ile 7. haftada alınan örneklerden izole edilmiştir. En az embriyo saysısı 3 adet ile 10. Haftada alınan örneklerden izole edilmiştir. Bazı haftalar ve kombinasyonlardan hiç canlı embriyo elde edilememiştir. Kombinasyonlar arasındaki farklılıklara bakıldığı zaman, en fazla canlı embriyo 22 adet ile Yalova Çekirdeksizi xCrimson Seedless kombinasyonundan 7. Haftada izole edilen çekirdeklerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.18. 2023 Melezleme Çalışmalarından Elde Edilen Genotiplerde Embriyo Canlılık Oranları (%).

	Embriyo Canlılık Oranları(%)				
Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**6. hafta**	**7. hafta**	**8.hafta**	**9. hafta**	**10. hafta**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	10	24	24	15	8
Yalova Ç.sizi x Muscat Bailey A	0	16	19	13	0
Yalova Ç.sizi x Mars Seedless	0	20	20	11	0
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	0	20	17	7	0
Yalova Ç.sizi x Red Globe	7	25	29	21	5
Yalova Ç.sizi x Exalta	15	23	23	0	0
Exalta x Red Globe	0	18	17	0	0
Exalta x Muscat Bailey A	0	27	24	11	0
K. Vatkana x Red Globe	4	21	26	13	5
K. Vatkana x Muscat Bailey A	6	16	12	6	0

Çizelge 4.18 incelendiğinde, en yüksek oran %29 ile Yalova Çekirdeksizi x Red Globe kombinasyonunun 8. haftasından izole edilen örneklerden elde edilirken en düşük oran %4 ile Kismish Vatkana x Red Globe kombinasyonunun 6. Haftasında olmuştur. Bazı haftalarda hiç canlı embriyo izole edilememiştir.

2023 yılında iklim koşullarından dolayı ülkemiz genelinde yoğun bir külleme ve mildiyö hastalığı meydana gelmişdir. Her ne kadar laboratuvara getirmiş olduğumuz örneklerie yüzey strerilizasyonu işlemi uygulamış olsak da izole edilen embriyolardan yoğun enfeksiyon nedeniyle bitki elde edilememiştir.

Çizelge 4.19. Kombinasyonların yıllara göre melezlemelerden elde edilen genotip sayısı (Adet)

Kombinasyonlar (Ana x Tozlayıcı)	**Elde Edilen Genotip Sayısı 2020**	**Elde Edilen Genotip Sayısı 2021**	**Elde Edilen Genotip Sayısı 2022**	**TOPLAM**
Yalova Ç.sizi xCrimson Seedless	11	3	2	16
Yalova Ç.siz ix Muscat Bailey A	3	6	5	14
Yalova Ç.sizi Mars Seedless	5	7	3	15
Yalova Ç.sizi x K. Vatkana	4	2	2	8
Yalova Ç.sizi x K.Rozavyi	1	1	-	2
Yalova Ç.sizi x Red Globe	3	5	6	14
Yalova Ç.sizi x Exalta	1	2	2	5
Crimson Seedless x Red Globe	1	-	-	1
K. Vatkana x Red Globe	3	5	5	13
K. Vatkana x Muscat Bailey A	0	2	2	4
Exalta x Red Globe	0	-	2	2
Exalta x Muscat Bailey A	0	-	3	3
Toplam	**32**	**33**	**32**	**97**

Çizelge 4.19 İncelendiğinde birinci yıl toplamda 32 adet bitkiden 11 adet bitki ile en fazla bitki Yalova Çekirdeksizi x Crimson Seedless kombinasyonundan elde edilmiştir. Bunu 5 adet bitki ile Yalova Çekirdeksizi x Mars Seedless kombinasyonu takip etmiştir. İkinci yıl toplamda 33 adet bitkiden 7 adet bitki ile en fazla bitki Yalova Çekirdeksizi x Mars Seedless kombinasyonundan elde edilmiş olup bunu 6 adet bitki ile Yalova Çekirdeksizi x Muscat Bailey A kombinasyonu izlemiştir. Üçüncü yıl ise toplamda 32 adet bitkiden 6 adet bitki ile Yalova Çekirdeksizi x Red Globe kombinasyonundan elde edilmiştir. Üç yılın toplamında en fazla bitki sayısı Yalova Çekirdeksizi x Mars Seedless kombinasyonundan elde edilmiştir. En az bitki ise melezlemerin ilk yılında 1 adet bitki ile Crimson Seedless x Red Globe komnasyonundan elde edilmiştir. Daha sonraki yıllarda Crimson Seedless kombinasyonunun ana ebeveyn olduğu kombinasyonlar çalışmadan çıkarılmıştır.

Tüm yıllardan elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, dişi ebeveyn olarak 'Yalova Çekirdeksizi' çeşidinin kullanıldığı kombinasyonların, hem gelişen embriyo yüzdesi hem de fide sayısı açısından diğer çeşitlerden daha iyi sonuçlar verdiğini göstermiştir. Tozlamadan sonraki hafta sayısına göre örnekleme zamanını belirlemek için yapılan çalışmalarda, sekizinci ve yedinci haftalar, tüm yıllarda diğer haftalara göre çok daha iyi sonuçlar vermiştir.

Luo ve diğ., (2023) embriyo kurtarma üzerindeki ebeveyn genotiplerinin etkilerini incelediler, dişi ebeveyn olarak dokuz stenospermokarpik çekirdeksiz üzüm ve tozlayıcı olarak üç çekirdeksiz veya çekirdekli üzüm kullanarak onbir farklı melezleme kombinasyonu gerçekleştirmişlerdir. 'FZ42' ana ebeveyn olduğunda, 'Su-67' tozlayıcı ebeveyn olarak 'Jupiter'den daha iyi olduğunu; 'Perlette' ana ebeveyn olduğunda, 'Jupiter' ve 'Su-67' tozlayıcı ebeveyn olarak önemli bir fark göstermediğini, bu da baba genotipin embriyo kurtarma üzerinde belirli bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçları ile benzerlik göstermektedir; başarı oranı ebeveynlerin kombinasyonlarına ve hatta ebeveynin ana veya tozlayıcı olarak kullanılmasına bağlı olarak değişebilmektedir.

Cui ve diğ., (2024) tarafından yürütülen başka bir embriyo kurtarma çalışmasında, embriyo kurtarma çalışmamızla benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmalarında, biri çekirdekli ('Beichun') ve biri çekirdeksiz ('Venus Seedless') olmak üzere iki çeşit erkek ebeveyn olarak kullanılmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde, özellikle seçilmiş kombinasyonların başarıda çok etkili olduğunu bildirmişlerdir. Ana olarak seçilen ebeveynin embriyo kurtarma başarı oranına etkisinin tozlayıcı ebeveyne göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ancak yapmış olduğumuz çalışmadan farklı olarak 10. hafta, çalışmalarında kullandıkları kombinasyon ve embriyo kurtarma tekniği açısından diğer haftalara göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Bazı embriyo kurtarma çalışmalarında elde edilen farklı sonuçlar, araştırmacıların farklı örnekleme dönemlerinden ve ovüllerin büyüme ve gelişme aşamalarındaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir.

Embriyo kurtarma çalışmalarında başarı oranının ana ebeveynlerin olgunluğuyla yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir. Erken olgunlaşan çeşitlerin embriyoları daha erken kaybolmakta ve istenilen gelişimi gösterememekte, bunun sonucunda embriyo kurtarma çalışmalarında istenilen başarı oranına ulaşılamamaktadır. Geç olgunlaşan çeşitlerin embriyo kurtarma çalışmalarında erken olgunlaşan çeşitlere göre daha yüksek bir başarı oranına sahip olduğu daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir (Cui ve diğ.(2024), Pommer ve diğ., (1995)). Bu bulgulara ek olarak, çalışmamızda geç dönemde olgunlaşan 'Red Globe' ve 'Muscat Bailey A' gibi tozlayıcı çeşitlerden yüksek başarı oranı elde edilmiştir.

Araştırmacılar, büyük meyveli geç olgunlaşan 'Crimson Seedless' üzüm çeşidinin, daha küçük çekirdek ovülleri nedeniyle embriyo kurtarma çalışmalarında çok düşük bir canlılık oranına sahip olduğunu bildirmiştir (Zhu ve diğ.,(2020), Cui ve diğ.,(2024), Nookaraju ve diğ., (2007)). Benzer şekilde, 2020 yılında yapmış olduğumuz melezleme çalışmalarında, 'Crimson Seedless' üzüm çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlarda, diğer kombinasyonlara kıyasla çok daha düşük embriyo canlılığı tespit edilmiştir.

Chiaromonte ve diğ. (2023), embriyo kurtarma çalışmalarında, 4 yıl boyunca farklı çekirdeksiz ebeveyn kombinasyonları arasındaki çaprazlamaların embriyo kurtarma tekniğiyle çıkarılan ovüllerden embriyo gelişim oranlarını incelemişlerdir. Çalışmalarında, kombinasyona bağlı olarak %3,5 ila %35,5 arasında değişen başarı oranlarına ulaşmışlardır. Çalışmamızda olduğu gibi asma çeşitlerinin ve genotiplerinin embriyo kurtarmanın başarı oranını önemli ölçüde etkilediğini bildirmişlerdir.

Değiştirilmiş embriyo kurtarma tekniğini kullanan Giancaspro ve diğ. (2022), olgunlaşmamış ovülleri tozlamadan 40 gün sonra besin ortamına ekmişler ve embriyonun 8 hafta boyunca gelişmesine izin vermişlerdir. Çalışmalarının sonucunda, 'Thompson', 'Superior' ve 'Regal' üzüm çeşitlerinin melezlerinden en yüksek embriyo gelişimini elde ettiler. En yüksek embriyo gelişimi yüzdesi, 'Luisa x Thompson' kombinasyonundan tozlamadan 50 gün sonra alınan ovaryumlardan elde edilmiştir. Yapmış oldukları çalışmada özellikle çeşit ve örnek alma zamanına dayalı sonuçların çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Tian ve diğ. (2008), embriyo kurtarma çalışmalarında ana ebeveyn olarak *V. vinifera'yı* ve tozlayıcı ebeveyn olarak hastalığa dayanıklı yabani Çin *Vitis spp.*'yi kullanmışlardır. Çalışmalarında tozlaşmadan 7 hafta sonra, embriyolar modifiye edilmiş besin ortamında geliştirilmiştir ve embriyo oluşumu, embriyo çimlenmesi ve bitki gelişimi oranları sırasıyla %34,0, %91,2 ve %77,4 olarak elde edilmiştir. Protokollerini diğer melez kombinasyonlarına uyguladıklarında; Genotipin embriyo oluşumunu, embriyo çimlenmesini ve bitki gelişimini önemli ölçüde etkilediğini ve tüm melezlemelerde farklı başarılar elde edildiğini bildirmişlerdir. Bulmuş oldukları sonuç, hastalıklara dayanıklı yeni çekirdeksiz çeşitlerin ıslah çalışmalarında embriyo kurtarma yöntemi seçildiğinde, kullanılan besin ortamının yanı sıra kombinasyonların da başarı oranını artırmada etkili olabileceğini göstermektedir. Yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçları da bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Li ve diğ., (2024), doğal olarak tozlanan 4 Avrasya çekirdeksiz üzüm çeşidiyle embriyo kurtarma çalışmaları yürütmüşlerdir. Çekirdeksiz üzümlerin embriyo gelişimini ve aborsiyonlarını etkileyen fizyolojik nedenler arasında bazı endojen bileşiklerin olduğu bildirmişlerdir. Bunlar arasında poliamin içeriğindeki değişim incelendiğinde, özellikle yüksek miktarda endojen poliamin içeriğinin embriyoların büyümesini ve gelişimini desteklediği bildirilmiştir. Bu durumda, farklı çekirdeksiz üzümler ana ebeveyn olarak kullanıldığında, farklı miktarlarda ekzojen poliaminlerin sentezlenebileceği ve farklı embriyo kurtarma verimliliğinin elde edilebileceği bildirilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada ana ebeveyn olarak kullanılan farklı üzüm çeşitlerinden elde edilen farklı embriyo kurtarma başarı oranları bu durumla ilişkili olabilir.

4.1.2. Moleküler Analizlere Ait Bulgular

4.1.2.1. Genotiplerden DNA izolasyonu

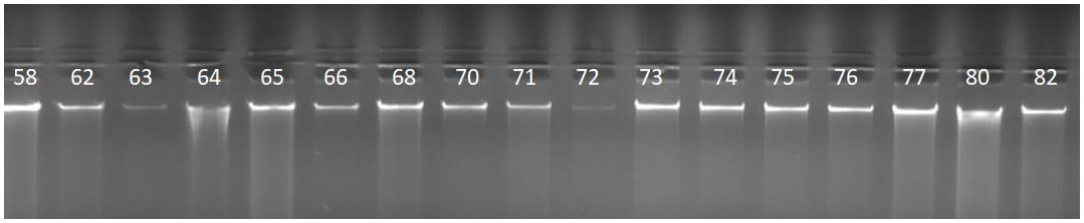
Melezlemeler sonucunda elde edilen geotiplere ait yaprak örnekleri alınmış ve DNA izolasyonları kit protokolüne göre izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu işlemi takiben izole edilen DNA'ların konsantrasyonları ve saflıklarını belirlemek amacıyla NanoDrop spektrofotometre ölçümleri ve %1 lik agaroz jelde yürütme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen genotiplere ait %1' lika garoz jel görüntüsü Şekil 4.1 , 4.2, 4.3 ve 4.4' de verilmiştir.



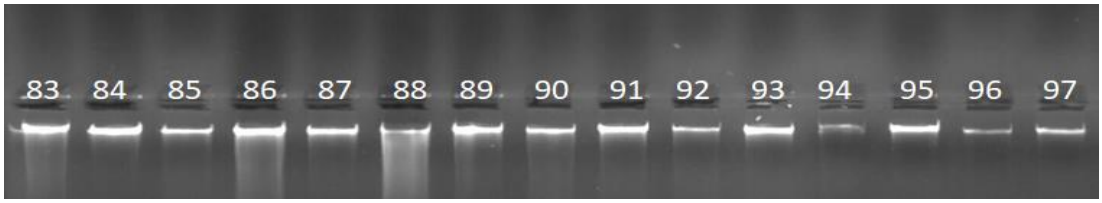
Şekil 4.1. Melezlemelerden ele edilen genotiplerden izole edilen DNA'lara ait %1' lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.2. Melezlemelerden ele edilen genotiplerden izole edilen DNA'lara ait %1' lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.3. Melezlemelerden ele edilen genotiplerden izole edilen DNA'lara ait %1' lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.4. Melezlemelerden ele edilen genotiplerden izole edilen DNA'lara ait %1' lik agaroz jel görüntüsü

Melezlemelerden elde edilen genotiplere ait DNA konsantrasyonları ve saflıklarının Nanodrop spektrofotometre ölçümleri Çizelge 4.19' da verilmiştir. Nanodrop spektrofotometre ölçümleri A260/A280 oranı 1,7 ve 2,1 arasında yer alan DNA'lar saf/bulaşıksız olarak kabul edilmiştir. Saflık değeri bu değerlerin dışında kalan genotipler için DNA izolasyon işlemi tekrar edilmiş ardından konsantrasyon ve saflık ölçümleri yapılmıştır.

Çizelge 4.20. Genotiplere ait DNA konsantrasyonları ve saflıkları

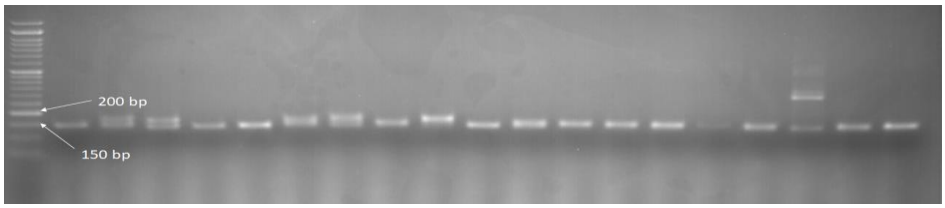
Genotip No	Konsantrasyon (ng/µL)	A260/A280	Genotip No	Konsantrasyon (ng/µL)	A260/A280
3	131,10	1,88	55	113,00	1,74
4	120,05	2,07	56	99,50	1,78
5	101,65	1,93	57	63,85	1,98
8	80,85	1,92	58	69,50	2,10
9	108,45	1,85	62	84,65	1,85
10	39,60	2,03	63	45,15	1,84
12	48,65	1,86	64	99,05	1,89
13	92,60	1,78	65	89,50	1,80
15	129,00	1,84	66	55,65	1,93
16	109,65	1,88	68	49,85	1,99
17	61,00	1,88	70	48,55	1,88
18	65,00	2,00	71	87,55	1,82
22	71,85	1,87	72	85,50	1,83
23	52,05	1,94	73	101,50	1,98
24	89,35	1,87	74	130,55	1,81
26	79,50	1,85	75	110,65	1,90
27	32,75	1,74	76	106,95	1,84
28	44,80	1,89	77	78,65	1,78
30	28,25	1,75	80	69,55	1,82
31	57,35	1,82	82	78,50	1,99
32	65,50	1,85	83	80,6	1,84
33	121,20	1,78	84	34,25	1,89
34	110,05	2,01	85	51,4	1,78
35	100,5	1,93	86	92,8	1,75
36	86,55	1,92	87	122,7	1,83
37	38,45	1,95	88	45,6	1,9
40	59,70	2,02	89	67,75	1,86
42	58,40	1,89	90	49,55	1,75
43	101,0	1,78	91	58,8	1,77
44	115,00	1,79	92	47,25	1,89
45	87,65	1,90	93	89,75	2

Çizelge 4.20. (Devam) Genotiplere ait DNA konsantrasyonları ve saflıkları

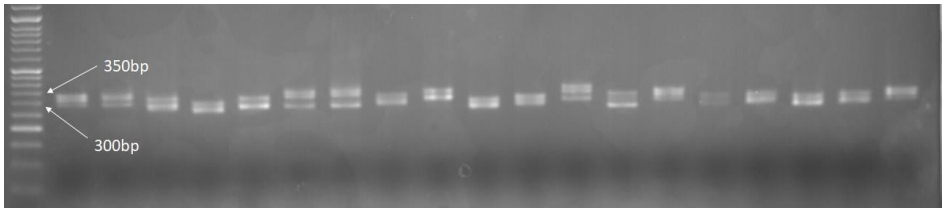
Genotip No	Konsantrasyon (ng/µL)	A260/A280	Genotip No	Konsantrasyon (ng/µL)	A260/A280
47	83,05	1,94	94	106,45	1,92
48	78,40	1,95	95	88,65	1,97
50	39,60	2,13	96	111,85	1,78
51	46,75	1,96	97	102,55	1,87
53	56,60	1,98			

4.1.2.2. Genotiplerden İzole Edilen DNA' ların PZR ile Çoğaltılması

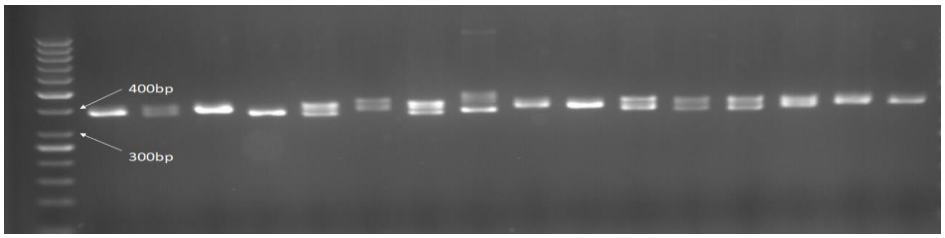
İzole edilen DNA'ların PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. Bazı genotiplerine ait %2' lik agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 4.4.-4.10.' da verilmiştir.



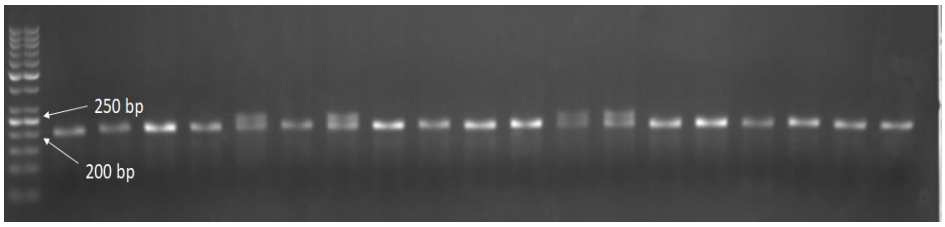
Şekil 4.5. Bazı genotiplerin UDV020a markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü



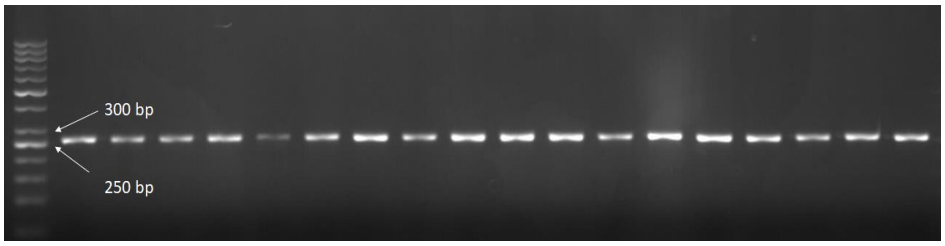
Şekil 4.6. Bazı genotiplerin VMC9h4.2 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.7. Bazı genotiplerin GF15-28 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü



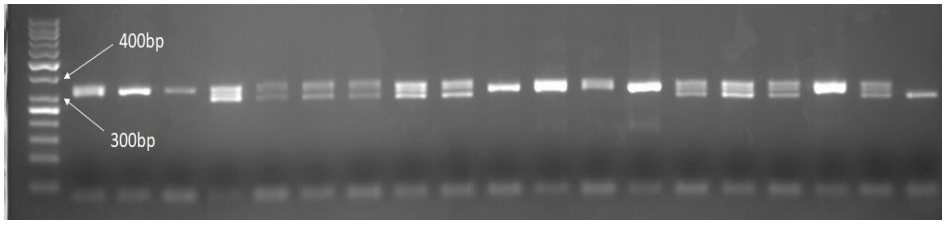
Şekil 4.8. Bazı genotiplerin GF15-39 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.9. Bazı genotiplerin GF15-41 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.10. Bazı genotiplerin ScORA7-760 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.11. Bazı genotiplerin 5U_VviAGL11 markörüne ait PZR işleminin %2 lik agaroz jel görüntüsü

PZR ürünlerinin DNA fragment analiz sisteminde kapiller elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Çekirdeksizlik ile ilişkili lokusa ait allel büyüklükleri Çizelge 4.21' de verilmiştir.

Çizelge 4.21. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin 5U-VviAGL11 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel büyüklükleri (bp)		Genotip No	Allel büyüklükleri(bp)	
	Allel 1	Allel 2		Allel 1	Allel 2
3	326	326	55	325	331
4	332	332	56	306	318
5	322	322	57	323	334
8	312	326	58	327	333

Çizelge 4.21(Devam). Melezlemelerden elde edilen genotiplerin 5U-VviAGL11 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel büyüklükleri (bp)		Genotip No	Allel büyüklükleri (bp)	
	Allel 1	Allel 2		Allel 1	Allel 2
9	318	326	62	325	332
10	318	332	63	320	333
12	322	335	64	326	326
13	323	323	65	318	325
15	327	327	66	327	327
16	326	332	68	306	318
17	318	328	70	318	332
18	326	326	71	318	330
22	320	334	72	314	326
23	318	318	73	318	325
24	315	326	74	316	326
26	315	328	75	318	326
27	322	322	76	315	326
28	318	328	77	314	325
30	321	335	80	316	326
31	318	326	82	318	327
32	318	326	83	318	326
33	326	326	84	318	333
34	318	326	85	327	331
35	326	326	86	324	329
36	318	318	87	314	325
37	316	327	88	314	325
40	318	332	89	327	353
42	307	307	90	315	392
43	320	332	91	318	332
44	316	327	92	325	325
45	326	326	93	325	351
47	318	326	94	326	332
48	326	326	95	318	318
50	315	326	96	322	322
51	314	325	97	318	326
53	329	329	Sultani Çekirdeksiz	318	318
Yalova Çekirdeksizi	296	318	Red globe	326	332

AATI Fragment Analyzer cihazındaki yapılan analizler sonucunda elde dilen genotiplere ait allel büyüklükleri incelenmiş ve Ocarez ve diğ. (2020) tarafından belirtildiği gibi Sultani Çekiredeksiz'in bant verdiği 318 bp' lik allel büyüklüğü ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda toplamda 77 genotipten 21 adet genotip potansiyel çekirdeksiz olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.22. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin UDV020a SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip	Allel büyüklükleri (bp)		Genotip	Allel büyüklükleri(bp)	
No	Allel 1	Allel 2	No	Allel 1	Allel 2
3	144	161	55	140	161
4	147	166	56	136	145
5	149	161	57	135	159
8	178	178	58	161	298
9	161	166	62	151	174
10	145	177	63	142	155
12	146	177	64	136	161
13	141	149	65	147	177
15	144	178	66	146	178
16	147	147	68	157	191
17	144	144	70	149	168
18	149	161	71	136	298
22	143	143	72	142	167
23	148	148	73	143	186
24	145	145	74	149	161
26	137	145	75	157	175
27	138	298	76	157	187
28	147	161	77	149	146
30	156	175	80	137	158
31	157	175	82	145	187
32	139	147	83	157	185
33	137	146	84	143	187
34	143	187	85	147	169
35	135	143	86	137	158
36	137	168	87	145	161
37	147	147	88	136	157
40	138	146	89	145	175
42	134	158	90	144	187
43	134	161	91	138	169
44	141	305	92	144	161
45	136	176	93	141	161
47	147	161	94	144	158
48	147	176	95	145	185
50	150	177	96	151	169
51	148	178	97	144	176
53	141	161			

Külleme hastalığı ile ilişkili UDV020a SSR markörüne ait PCR ürünlerinin allel büyüklükleri Çizelge 4.22' de verilmiştir. AATI Fragment Analyzer cihazındaki yapılan analizler sonucunda elde dilen genotiplere ait allel büyüklükleri incelenmiş ve 161 bp' lik allel büyüklüğü ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda toplamda 77 genotipten 13 adet genotip potansiyel külleme hastalığına dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir.

Külleme hastalığı ile ilişkili VMC9h4.2 SSR markörüne ait PCR ürünleri allel büyüklükleri Çizelge 4.23' de verilmiştir.

Çizelge 4.23. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin VMC9h4.2 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	**Allel büyüklükleri**		**Genotip No**	**Allel büyüklükleri**	
	Allel 1	**Allel 2**		**Allel 1**	**Allel 2**
3	283	292	55	295	330
4	283	327	56	281	310
5	328	328	57	277	295
8	290	294	58	280	330
9	299	344	62	277	315
10	296	349	63	273	342
12	299	314	64	282	294
13	323	323	65	289	296
15	273	273	66	283	298
16	292	293	68	281	331
17	290	306	70	294	329
18	283	345	71	277	295
22	281	312	72	281	294
23	317	342	73	292	310
24	296	312	74	292	295
26	295	309	75	280	329
27	290	423	76	281	310
28	283	341	77	281	295
30	297	312	80	296	305
31	287	291	82	296	310
32	302	308	83	296	296
33	281	320	84	292	332
34	308	327	85	274	295
35	297	321	86	277	312
36	283	294	87	283	295
37	311	311	88	296	312
40	296	331	89	280	297
42	283	295	90	276	311
43	285	322	91	292	327

Çizelge 4.23. (Devam) Melezlemelerden elde edilen genotiplerin VMC9h4.2 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel büyüklükleri		Genotip No	Allel büyüklükleri	
	Allel 1	Allel 2		Allel 1	Allel 2
44	281	294	92	283	308
45	288	329	93	282	326
47	283	329	94	275	292
48	292	311	95	294	318
50	303	310	96	272	293
51	274	296	97	289	306
53	274	283	Kishmish vatkana	274	283

AATI Fragment Analyzer cihazındaki yapılan analizler sonucunda elde dilen genotiplere ait allel büyüklükleri incelenmiş ve Hoffmann vd. (2008) tarafından belirtildiği gibi Kishmish vatkana' nın bant verdiği 283 bp' lik allel büyüklüğü ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda toplamda 77 genotipten 12 adet genotip potansiyel külleme hastalığına dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir.

Külleme hastalığı ile ilişkili GF15-28 SSR markörüne ait PCR ürünleri allel büyüklükleri Çizelge 4.24' de verilmiştir.

Çizelge 4.24. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin GF15-28 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel büyüklükleri(bp)		Genotip No	Allel büyüklükleri(bp)	
	Allel 1	Allel 2		Allel 1	Allel 2
3	348	388	55	356	367
4	344	430	56	374	390
5	345	387	57	372	389
8	362	386	58	388	434
9	345	384	62	372	414
10	373	386	63	386	386
12	390	390	64	344	375
13	375	387	65	340	365
15	374	390	66	357	396
16	362	376	68	387	426
17	371	388	70	361	372
18	343	388	71	341	387
22	369	390	72	329	344
23	374	374	73	375	403
24	388	423	74	331	346
26	359	383	75	373	387
27	387	434	76	372	389

Çizelge 4.24.(Devam) Melezlemelerden elde edilen genotiplerin GF15-28 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel büyüklükleri(bp)		Genotip No	Allel büyüklükleri(bp)	
	Allel 1	Allel 2		Allel 1	Allel 2
28	343	372	77	385	403
30	-	-	80	375	389
31	352	365	82	389	389
32	372	372	83	373	390
33	372	415	84	362	387
34	390	415	85	367	398
35	373	416	86	377	412
36	344	372	87	345	395
37	338	388	88	396	412
40	363	371	89	380	397
42	339	379	90	376	411
43	345	388	91	292	327
44	387	433	92	308	344
45	374	388	93	345	377
47	387	387	94	375	392
48	372	372	95	394	418
50	370	387	96	372	393
51	364	387	97	369	396
53	343	386	Regent	360	344

AATI Fragment Analyzer cihazındaki yapılan analizler sonucunda elde dilen genotiplere ait allel büyüklükleri incelenmiş ve Zendler vd. (2017) tarafından belirtildiği gibi 344 bp' lik allel büyüklüğü ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda toplamda 77 genotipten 12 adet genotip potansiyel külleme hastalığına dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir.

Külleme hastalığı ile ilişkili GF15-39 SSR markörüne ait PCR ürünleri allel büyüklükleri Çizelge 4.25' de verilmiştir.

Çizelge 4.25. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin GF15-39 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel büyüklükleri (bp)		Genotip No	Allel büyüklükleri(bp)	
	Allel 1	Allel 2		Allel 1	Allel 2
3	209	216	55	195	215
4	210	210	56	200	220
5	199	199	57	200	219
8	196	196	58	194	200
9	196	210	62	198	198
10	198	198	63	198	198
12	201	201	64	208	208

Çizelge 4.25. (Devam) Melezlemelerden elde edilen genotiplerin GF15-39 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel büyüklükleri (bp)		Genotip No	Allel büyüklükleri(bp)	
	Allel 1	Allel 2		Allel 1	Allel 2
13	199	199	65	200	214
15	199	284	66	197	197
16	197	204	68	197	197
17	199	199	70	194	229
18	208	214	71	199	215
22	198	198	72	191	199
23	199	199	73	192	214
24	199	211	74	192	215
26	197	218	75	180	229
27	198	198	76	191	215
28	200	210	77	181	211
30	199	199	80	196	205
31	200	214	82	198	218
32	199	199	83	196	219
33	200	200	84	198	198
34	200	200	85	199	216
35	198	198	86	187	212
36	199	210	87	199	208
37	199	199	88	196	212
40	196	214	89	180	197
42	200	220	90	186	214
43	209	289	91	199	199
44	198	198	92	199	210
45	201	207	93	198	209
47	202	210	94	186	212
48	186	200	95	198	198
50	162	247	96	172	194
51	197	197	97	189	206
53	197	210	Regent	209	209

AATI Fragment Analyzer cihazındaki yapılan analizler sonucunda elde dilen genotiplere ait allel büyüklükleri incelenmiş ve Zendler ve diğ. (2017) tarafından belirtildiği gibi 209 bp' lik allel büyüklüğü ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda toplamda 77 genotipten 13 adet genotip potansiyel külleme hastalığına dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir.

Külleme hastalığı ile ilişkili GF15-41 SSR markörüne ait PCR ürünleri allel büyüklükleri Çizelge 4.26' de verilmiştir.

Çizelge 4.26. Melezlemelerden elde edilen genotiplerin GF15-41 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel büyüklükleri (bp)		Genotip No	Allel büyüklükleri	
	Allel 1	Allel 2		Allel 1	Allel 2
3	264	264	55	269	269
4	265	265	56	269	269
5	268	268	57	268	268
8	267	267	58	269	269
9	269	269	62	270	270
10	275	275	63	269	269
12	268	268	64	264	264
13	269	269	65	261	261
15	267	267	66	271	271
16	269	269	68	269	269
17	270	270	70	269	269
18	264	264	71	270	270
22	267	267	72	268	268
23	268	268	73	267	267
24	267	267	74	270	270
26	270	270	75	267	267
27	268	268	76	268	268
28	264	264	77	271	271
30	269	297	80	272	272
31	269	269	82	272	272
32	270	270	83	270	270
33	269	269	84	269	269
34	268	268	85	274	274
35	268	268	86	277	277
36	271	271	87	263	263
37	270	270	88	276	276
40	267	274	89	269	269
42	268	268	90	276	276
43	264	264	91	267	267
44	270	270	92	265	265
45	270	299	93	264	264
47	265	265	94	272	272
48	268	268	95	269	269
50	269	269	96	271	271

Çizelge 4.26 (Devam) Melezlemelerden elde edilen genotiplerin GF15-41 SSR markörüne ait allel büyüklükleri (bp)

Genotip No	Allel büyüklükleri (bp)		Genotip No	Allel büyüklükleri	
	Allel 1	Allel 2		Allel 1	Allel 2
51	269	269	97	274	274
53	265	265	Regent	264	264

AATI Fragment Analyzer cihazındaki yapılan analizler sonucunda elde dilen genotiplere ait allel büyüklükleri incelenmiş ve Zendler ve diğ. (2017) tarafından belirtildiği gibi 264 bp' lik allel büyüklüğü ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda toplamda 77 genotipten 11 adet genotip potansiyel külleme hastalığına dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir.

ScORA7 markörü ile yapılan analizler sonucunda yalnızca Regent çeşidinde bant görülmüştür diğer genotiplerde bant görülmemiştir.

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

MDS, ekonomik olarak önem arz eden, birden fazla gen veya lokus tarafından kontrol edilen, karakterlerin daha hızlı bir şekilde belirlenmesini sağlayan klasik ıslaha yardımcı bir teknik olduğu, melezleme çalışmalarında çekirdeksiz genotiplerin ön seleksiyonu MDS yardımı ile erken safhalarda yapılabildiği ve asma gibi uzun gençlik kısırlığına sahip olan bireylerde istenilen karakterlerin ön seleksiyonunda önemli avantajlar sunduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Değirmenci ve Marasalı Kunter, 2007; Hvarleva ve diğ., 2009). Bu çalışmada da MDS ile çekirdeksiz ve küllemeye dayanıklık erken seleksiyon ile belirlenmiştir.

Çizelge 4.27. Melezlemeler Sonucunda Elde Edilen Genotiplerden *VviAGL11* ile İlişkili Olarak Tespit Edilen Genotipler ve Kombinasyonları

Kullanılan Markör	İlişkili Gen	Dayanıklılıkla İlişkili Allel Büyüklüğü (bp)	Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)	Tespit Edilen Allel Büyüklüğü	
5U-VviAGL11	*VviAGL11*	318	10 (Y.Ç. X K.V.) *	318	332
			17 (Y.Ç. X M.B.)	318	328
			23 (C.R. X R.G.)	318	318
			28 (Y.Ç. X K.V.)	318	328
			31 (Y.Ç. X R.G.)	318	326
			32 (Y.Ç. X MARS S.)	318	326
			34 (K.V. X R.G.)	318	326
			36 (Y.Ç. X MARS S.)	318	318
			40 (Y.Ç. X R.G.)	318	332
			47 (K.V. X R.G.)	318	326
			56 (Y.Ç. X R.G.)	306	318

Çizelge 4.27. (Devam) Melezlemeler Sonucunda Elde Edilen Genotiplerden *VviAGL11* ile İlişkili Olarak Tespit Edilen Genotipler ve Kombinasyonları

Kullanılan Markör	İlişkili Gen	Dayanıklılıkla İlişkili Allel Büyüklüğü (bp)	Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)	Tespit Edilen Allel Büyüklüğü	
5U-VviAGL11	*VviAGL11*	318	68 (Y.Ç. X M.B.)	306	318
			70 (Y.Ç. X MARS S.)	318	332
			73 (Y.Ç. X K.V.)	318	325
			75 (Y.Ç. X R.G.)	318	326
			82 (E. X R.G.)	318	327
			83 (E. X R.G.)	318	326
			84 (E. X M.B.)	318	333
			89 (K.V. X R.G.)	318	353
			91(K.V. X R.G.)	318	332
			95 (Y.Ç. X MARS S.)	318	318

*Y.Ç. Yalova Çekirdeksizi, K.V. Kishmish Vatkana, R.G. Red Globe, E. X. Exalta, M.B. Muscat Bailey A, MARS S. Mars Seedless

Striem ve diğ., (1996) çalışmalarında RAPD tekniğini kullanarak 82 adet (39 çekirdeksiz ve 43 çekirdekli) genotipin analizini yapmışlar ve MDS ile çekirdekli genotiplerin %44' ünü elemişlerdir. Karaağaç ve diğ., (2012) çekirdeksiz bireylerin seçiminde VMC7f2 markörünün başarılı bir şekilde kullanılabileceğini ve popülasyon büyüklüğü boyutunun bu markör kullanılarak %54'e düşürülebileceğini belirtmişlerdir. Asmalarda çekirdeksizliği; Mejia ve Hinrichsen (2003); Bergamini ve diğ., (2013); Ocarez ve diğ., (2020) MDS yardımı ile belirlemeye çalışmışlardır. Bu araştırmada da çekirdeksizlik özelliği MDS ile belirlenmeye çalışılmış ve çekirdeksiz genotiplerin erken seleksiyonu için, 5U- VviAGL11 SSR markörü kullanılmış ve yapılan melezlemeler sonucunda toplamda 77 adet melez üzüm genotipinin MDS ile genotiplerin olası çekirdeksizlik durumları belirlenmiştir.

Meija ve diğ., (2011), üç sezon boyunca gerçekleştirdikleri ilişkilendirme analizlerinde, çekirdek ve tane ağırlığındaki fenotipik varyasyonun sırasıyla %78'ini ve %44'ünü açıklamışlardır. Ayrıca genetik deneyler, düzenleyici bölgenin fenotip üzerinde kodlama bölgesine göre daha büyük bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Transkripsiyonel analiz, *VviAGL11*'in düzenleyici bölgesinin varsayılan rolüne ek destek sağlamıştır. Bunun ifadesi, çekirdek gelişiminin önemli aşamalarında çekirdeksiz genotiplerde ortadan kaldırılmıştır. Bu sonuçlar, *VviAGL11*'i genetik transformasyona dayalı ileri analizler için fonksiyonel bir aday gene dönüştürmüştür. Islah amacıyla intragenik işaretleyiciler, işaretleyici destekli seçim için ayrı ayrı test edilmiş ve en iyi işaretleyiciler, transkripsiyon başlangıç bölgesine en yakın olanlar olarak belirlenmiştir.

Bergamini ve diğ., (2013) yaptıkları çalışma, çekirdeksizlik yetiştirme programları için *VviAGL11*'in validasyon tahlili, *VviAGL11* lokusunun çekirdeksizlikteki rolünün belirlenmesinden bu yana verimliliği ve kullanışlılığının en derin analizi olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada olduğu gibi çekirdeksizliğin tespiti için p3_VviAGL11 işaretleyicisini kullanmışlar ve bu markörün çekirdeksizliğin belirlenmesi amacıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Mejía ve diğ., (2011) sofralık üzüm çeşitlerinde, *VviAGL11* geninin çekirdeksizlikten sorumlu gen olabileceğini belirtmişlerdir. Bergamini ve diğ., (2013) *VviAGL11*'in MDS'de tanısal gücünü değerlendirmek ve doğrulamak için kendi üzüm koleksiyonlarından 475 adet melez F1 genotipi üzerinde derinlemesine bir analiz

yapmışlardır. Yaptıkları çalışmayla *VviAGL11* markörünün negatif stenospermokarpinin erken seçimi için kullanılabileceğini doğrulamışlardır. Yapılan bu çalışmada çekirdeksizliğin erken seleksiyonu için *VviAGL11* gen bölgesi taranmış ve potansiyel çekirdeksiz melez genotipler seçilmiştir.

Yapılan diğer bir araştırmada, Ocarez ve diğ.(2020) 5U_VviAGL11 markörünü kullanmış ve Sultani Çekirdeksiz' de çekirdeksizliğin 319 bp'lik allel büyüklüğünde tanımlandığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da benzer şekilde Sultani Çekirdeksiz' e ait olan 318 bp allel büyüklüğündeki bantlar elde edilmiş ve bu bantları taşıyan melez genotipler potansiyel çekirdeksiz genotipler olarak kabul edilmiştir. Kapillar sistemle elde ettiğimiz bant büyüklükleri arasında yer yer 1 bp fark olmakla birlikte bu durumun farklı ortam ve farklı cihazların kullanımından kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Lakshmınarayana ve diğ., 2007). 318 bp'lik allel büyüklüğü ile ilişkili olarak toplam 77 melez genotipten 21 melez üzüm genotip olası çekirdeksiz olarak bulunmuştur.

Külleme dünya ve ülkemiz bağcılığını tehdit eden en önemli fungal hastalıkların başında gelmektedir. Farklı bağ bölgelerine göre değişmekle beraber hastalığın kontrolü için bir vejetasyon dönemi boyunca hastalığın seyrine bağlı olarak 7-14 kez ilaçlama yapılması gerekmektedir. Külleme ve mildiyö hastalıkları üzümün kalitesini etkileyerek verimini önemli derecede azaltmaktadır. Bu nedenle özellikle külleme ve mildiyö hastalık etmenlerine karşı dayanıklı/tolerant çeşit geliştirmeye yönelik ıslah çalışmaları büyük önem arz etmektedir.

Vitis vinifera' nın ekili bitkilerinde gözlemlenen direnç geni *Ren1* olarak adlandırılmaktadır. *Ren1* ilk olarak Hoffman ve diğ., (2008) tarafından 1920'lerden beri Orta Asya'da ekilen 'Kishmish vatkana' ve 'Dzhandzhal kara'da belirlenmiştir. Hoffmann ve diğ., (2008) tarafından UDV020a belirteci için 161 bp allel boyutuna sahip bireyler ve VMC9h4.2 belirteci için 283 bp alel boyutuna sahip bireyler *Ren1* ile ilişkilendirilmiştir. *Ren 1*, daha önce yabani Kuzey Amerika üzümlerinde ve bunların türler arası melezlerinde bulunan direnç genlerinin aksine kromozom 13'te tespit edilmiştir (Coleman ve diğ, 2009). Çalışmamızda, her iki markörü de *Ren 1* ile ilişkili olarak test ettik. Ayrıca bu markörlerin dışında GF15-28, GF15-39, GF15-41 markörleri de *Ren 3* ile ilişkili olarak kullanılmıştır.

Çizelge 4.28. Melezlemelerden Elde Edilen Genotiplerden *Ren1* ile İlişkili Bulunan Genotipler ve Kombinasyonları

Kullanılan Markör	**İlişkili Gen**	**Dayanıklılıkla İlişkili Allel Büyüklüğü (bp)**	**Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)**	**Tespit Edilen Allel Büyüklüğü**	
UDV020a	*Ren1*	161	3 (Y.Ç. X K.V.)	144	161
			5 (Y.Ç. X K.V.)	149	161
			9 (K.V. X R.G.)	161	166
			18 (Y.Ç. X M.B.)	149	161
			28 (Y.Ç. X K.V.)	147	161
			43 (Y.Ç. X M.B.)	134	161
			47 (K.V. X R.G.)	147	161
			53 (K.V. X R.G.)	141	161
			55 (Y.Ç. X M.B.)	140	161
			64 (Y.Ç. X M.B.)	136	161
			87 (K.V. X R.G.)	145	161

Çizelge 4.28. (Devam) Melezlemelerden Elde Edilen Genotiplerden *Ren1* ile İlişkili Bulunan Genotipler ve Kombinasyonları

Kullanılan Markör	İlişkili Gen	Dayanıklılıkla İlişkili Allel Büyüklüğü (bp)	Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)	Tespit Edilen Allel Büyüklüğü	
UDV020a	*Ren1*	161	92 (K.V. X M.B)	144	161
			93 (K.V. X M.B)	141	161
VMC9h4.2	*Ren1*	283	3 (Y.Ç. X K.V.)	283	292
			4 (Y.Ç. X MARS S.)	283	327
			18 (Y.Ç. X M.B.)	283	345
			28 (Y.Ç. X K.V.)	283	341
			36 (Y.Ç. X MARS S.)	283	294
			47 (K.V. X R.G.)	283	329
			53 (K.V. X R.G.)	274	283
			64 (Y.Ç. X M.B.)	283	294
			87 (K.V. X R.G.)	283	295
			92 (K.V. X M.B)	283	308
			93 (K.V. X M.B)	283	326

VMC9h4.2 marköründen elde edilen allel büyüklükleri incelendiğinde, çalışmamızda toplamda 77 genotipten 11 adet genotip potansiyel külleme hastalığına dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir. UDV020a marköründe ise, 77 genotipten 13 adet genotip potansiyel külleme hastalığına dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir.

Agurto ve diğ., (2017) yapmış oldukları çalışmalarında P09-105/34 × *Vitis vinifera* 'Crimson Seedless' melezleme kombinasyonlarından elde ettikleri genotiplerde külleme hastalığına dayanıklılığı tespit amacıyla *UDV020a* markörünü kullanmışlardır. Külleme hastalığına dayanıklılığın belirlenmesinde *Ren 1* ile ilişkili olarak bu markörün kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Veikondis ve diğ, (2018), yapmış oldukları çalışmada Kishmish Vatkana (*Ren1*) × Villard Blanc (*Ren3, Rpv1*) melezlemesinden elde ettikleri melez bieylerde *UDV020a* markörünü kullanmışlar ve bu markörün *Ren 1* ile ilişkili külleme hastalığına dayanıklılığı tespit etmek için kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

Yıldırım ve diğ., (2019) yaptıkları çalışmalarında Karadeniz ve Marmara bölgelerinde yetiştirilen asma genotiplerinin külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılığının Markör Destekli Seleksiyon (MDS) ile belirlemişlerdir. Çalışmalarında UDV020a ve VMC9h4.2 markörlerini kullanmışlardır. Araştırmalarının sonucunda 128 genotipten küllemeye dayanıklı olarak 22 aday genotip belirlemişlerdir ve bu markörlerin *Ren1* ile ilişkili olarak kullanılabileceğini bildirmişleridir.

Çizelge 4.29. Melezlemelerden Elde Edilen Genotiplerden *Ren3* ile İlişkili Bulunan Genotipler ve Kombinasyonları

Kullanılan Markör	İlişkili Gen	Dayanıklılıkla İlişkili Allel Büyüklüğü (bp)	Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)	Tespit Edilen Allel Büyüklüğü	
GF15-28	*Ren 3*	344	4 (Y.Ç. X MARS S.)	344	430
			5 (Y.Ç. X K.V.)	344	387
			9 (K.V. X R.G.)	344	384
			18 (Y.Ç. X M.B.)	344	388
			28 (Y.Ç. X K.V.)	344	372
			36 (Y.Ç. X MARS S.)	344	372
			43 (Y.Ç. X M.B.)	344	388
			53 (K.V. X R.G.)	344	386
			64 (Y.Ç. X M.B.)	344	375
			87 (K.V. X R.G.)	344	395
			92 (K.V. X M.B)	308	344
			93(K.V. X M.B)	344	377
GF15-39	*Ren 3*	209	3 (Y.Ç. X K.V.)	209	216
			4 (Y.Ç. X MARS S.)	209	209
			9 (K.V. X R.G.)	196	209
			18 (Y.Ç. X M.B.)	209	214
			28 (Y.Ç. X K.V.)	200	209
			36 (Y.Ç. X MARS S.)	199	209
			43 (Y.Ç. X M.B.)	209	289
			47 (K.V. X R.G.)	202	209
			53 (K.V. X R.G.)	197	209
			64 (Y.Ç. X M.B.)	209	209
			87 (K.V. X R.G.)	199	209
			92(K.V. X M.B)	199	209
			93 (K.V. X M.B)	198	209
GF15-41	*Ren3*	264	3(Y.Ç. X K.V.)	264	264
			4 (Y.Ç. X MARS S.)	264	264
			18 (Y.Ç. X M.B.)	264	264
			28 (Y.Ç. X K.V.)	264	264
			43 (Y.Ç. X M.B.)	264	264
			47 (K.V. X R.G.)	264	264
			53 (K.V. X R.G.)	264	264
			64 (Y.Ç. X M.B.)	264	264
			87 (K.V. X R.G.)	264	264

Çizelge 4.29. (Devam) Melezlemelerden Elde Edilen Genotiplerden *Ren3* ile İlişkili Bulunan Genotipler ve Kombinasyonları

Kullanılan Markör	**İlişkili Gen**	**Dayanıklılıkla İlişkili Allel Büyüklüğü (bp)**	**Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)**	**Tespit Edilen Allel Büyüklüğü**	
GF15-41	*Ren3*	264	92 (K.V. X M.B)	264	264
			93 (K.V. X M.B)	264	264

GF15-28, GF15-39, GF15-41 markörleri Ren 3 ile ilişkilendirilmiştir. GF15-28 marköründen elde edilen allel büyüklükleri incelendiğinde 77 genotipten 12 adet genotip, GF15-39 marköründen elde edilen allel büyüklükleri incelendiğinde 13 adet genotip, GF15-41 marköründen elde edilen allel büyüklükleri incelendiğinde 11 adet genotip potansiyel külleme hastalığına dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir.

Zendler ve diğ., (2017) yapmış oldukları çalışmada GF15-28 markörünü dayanıklılığı tespit etmek amacıyla kullanmışlar ve 342 bp'de bant görüntüsü elde etmişlerdir. Ilnitskaya ve diğ., (2019) yapmış oldukları çalışmada melezlemelerden elde ettikleri genotipleri aynı markörü kullanarak taramışlar ve 344 bp'de bant elde etmişlerdir. Araştırmacıların yapmış oldukları çalışmalarda 1, 2 bp'lik farkın farklı ortamlarda ve kullanmış oldukları farklı ekipmandan kaynaklanabileceği daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda GF15-28 markörü ile yapmış olduğumuz tarama da 344 bp' de bant görüntüsü elde ettik.

Zyprian ve diğ., 2016 yılında GF.GA-47-42 ('Bacchus' × 'Seyval') × 'Villard blanc (Seibel 6468 × Seibel 6905; syn. 'Subereux') melezleme çalışmasından elde ettikleri genotiplerde külleme hastalığına dayanıklığı belirlemek amacıyla GF15-28 markörünü kullanmışlar ve bu markörün dayanıklılıkla ilişkili olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

Zendler ve diğ., (2017) yapmış oldukları çalışmada, GF15-39 markörünü test etmişler ve bu markörle 209 bp'de bant veren bireylerin küllemeye hastalığına dayanıklılıkla ilişkili olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Zendler ve diğ., (2020) yapmış oldukları çalışmada, Regent × Cabarnet Sauvignon melezlemelerinden elde edilen genotipleri *GF15-41* markörünü kullanarak taramışlardır. Bu markör ile 261 bp'de bant veren genotiplerin küllemeye hastalığına dayanıklı olabileceğini rapor etmişler ve *GF15-41* markörünün *Ren3* bölgesinde dayanıklılık ile ilişkili olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Akkurt ve diğ., 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada, ScORA7 markörünün külleme hastalığına dayanıklılığın belirlenmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar ScORA7 markörü ile 760 bp büyüklüğünde bant veren genotipleri küllemeye dayanıklı olarak değerlendirmişlerdir.

Eibach ve diğ., (2007), *Ren3* ile ilişkili ScORA7 markörünün küllemeye dayanıklılıkla ilişkili olduğunu ve bu markörün külleme hastalığının erken seleksiyonunda kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada, melezlemeler sonucunda elde edilen 77 adet genotipte, *ScORA7* markörü ile yapılan taramalarda 760bp'da bant veren genotip belirlenememiştir. Metotta bahsedilen tüm PCR protokolleri uygulanmış ayrıca farklı birçok PCR protokolü oluşturulmuş, uygulanmış fakat bu markör ile tek bant, 760 bp'da, markörün izole edildiği ve referans çeşit olarak kullanılan Regent üzüm çeşidinde tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada kombinasyonlarımızda Regent bulunmadığı için, bu markörden bant elde edememiş olabileceğimiz düşünülmektedir.

4.1.3. Doğal Koşullarda Yürütülen Külleme Hastalığı İle İlgili Testleme Çalışmalarına Ait Bulgular

Melezlemeler sonucunda elde edilen genotiplerinin doğal inokülasyon sonucunda külleme (*Uncinula necator*) hastalığı skorlamaları enfeksiyonların kaplama alanı baz alınarak 0-7 skalasına göre (Wang ve ark., 1995) değerlendirilmiştir. Elde edilen bu skala değerlerinden Tawsend-Heuberger formülüne göre (Σ (skala değeri * o skalaya giren yaprak sayısı) / (toplam yaprak sayısı * en yüksek skala değeri) * 100)) yüzde hastalık şiddeti hesaplanmıştır. Hastalık şiddetine ait sonuçlar Çizelge 4.30'da verilmiştir.

Çizelge 4.30. Melezlemerden Elde Edilen Genotiplerin Hastalık Şiddetine Ait Sonuçları

Genotip No	Ortalama %	Hastalık Şiddeti	Genotip No	Ortalama %	Hastalık Şiddeti	Genotip No	Ortalama %	Hastalık Şiddeti
1	100	HS	34	42	S	67	50	S
2	85	HS	35	71	HS	68	42	S
3	14	R	36	25	R	69	71	HS
4	25	R	37	25	R	70	25	R
5	25	R	38	100	HS	71	25	R
6	85	HS	39	71	HS	72	42	S
7	100	HS	40	85	HS	73	14	R
8	42	S	41	42	S	74	71	HS
9	14	R	42	71	HS	75	85	HS
10	25	R	43	25	R	76	71	HS
11	71	HS	44	42	S	77	100	HS
12	42	S	45	28	S	78	75	HS
13	50	S	46	71	HS	79	85	HS
14	100	HS	47	14	R	80	71	HS
15	71	HS	48	71	HS	81	100	HS
16	71	HS	49	42	S	82	85	HS
17	42	S	50	25	R	83	85	HS
18	25	R	51	42	S	84	71	HS
19	42	S	52	71	HS	85	50	S
20	100	HS	53	25	R	86	71	HS
21	50	S	54	100	HS	87	25	R
22	25	R	55	42	S	88	14	R
23	85	HS	56	71	HS	89	71	HS
24	50	S	57	85	HS	90	50	S
25	100	HS	58	85	HS	91	42	S
26	85	HS	59	85	HS	92	14	R
27	100	HS	60	71	HS	93	25	R
28	14	R	61	25	R	94	42	S
29	71	HS	62	100	HS	95	71	HS

Çizelge 4.30. (Devam) Melezlemerden Elde Edilen Genotiplerin Hastalık Şiddetine Ait Sonuçları

Genotip No	Ortalama %	Hastalık Şiddeti	Genotip No	Ortalama %	Hastalık Şiddeti	Genotip No	Ortalama %	Hastalık Şiddeti
30	25	R	63	100	HS	96	71	HS
31	85	HS	64	25	R	97	85	HS
32	42	S	65	42	S			
33	42	S	66	50	S			

Çizelge 4.30. incelendiğinde toplamda 97 genotipten olası Dayanıklı (R) olarak 23 genotip, Duyarlı (S) olarak 24 ve Çok Duyarlı (HS) olarak 50 genotip tespit edilmiştir. İmmun (I) ve Çok dayanıklı (HR) genotip tespit edilememiştir.

Çizelge 4.31. Melezlemelerden Elde Edilen Genotiplerde Doğal İnokülasyon Sonucunda Dayanıklı Olarak Tespit Edilen Genotipler ve Kombinasyonları

Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)	Ortalama %	Hastalık Şiddeti	Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)	Ortalama %	Hastalık Şiddeti
3 (Y.Ç. X K.V.)	14	R	47 (K.V. X R.G.)	14	R
4 (Y.Ç. X MARS S.)	25	R	53 (K.V. X R.G.)	25	R
5 (Y.Ç. X K.V.)	25	R	61 (Y.Ç. X M.B.)	25	R
9 (K.V. X R.G.)	14	R	64 (Y.Ç. X M.B.)	25	R
10 (Y.Ç. X K.V.)	25	R	70 (Y.Ç. X MARS S.)	25	R
18 (Y.Ç. X M.B.)	25	R	71 (Y.Ç. X MARS S.)	25	R
22 (K.V. X R.G.)	25	R	73 (Y.Ç. X K.V.)	14	R
28 (Y.Ç. X K.V.)	25	R	87 (K.V. X R.G.)	25	R
30 (Y.Ç. X M.B.)	25	R	88 (K.V. X R.G.)	14	R
36 (Y.Ç. X MARS S.)	25	R	92 (K.V. X M.B)	14	R
37 (Y.Ç. X M.B.)	25	R	93 (K.V. X M.B)	25	R
43 (Y.Ç. X M.B.)	25	R			

Hem markör hemde doğal inakülasyon sonucunda Çizelge 4.32' de verilen genotipler potansiyel külleme hastalığına dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.32. Külleme hastalığına potansiyel dayanıklı/tolerant genotipler

Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)	Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)
3 (Y.Ç. X K.V.)	43 (Y.Ç. X M.B.)
4 (Y.Ç. X MARS S.)	47 (K.V. X R.G.)
5 (Y.Ç. X K.V.)	53 (K.V. X R.G.)
9 (K.V. X R.G.)	64 (Y.Ç. X M.B.)
18 (Y.Ç. X M.B.)	87 (K.V. X R.G.)

Çizelge 4.32 .(Devam) Külleme hastalığına potansiyel dayanıklı/tolerant genotipler

Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)	Dayanıklı Aday Genotip (Kombinasyon)
28 (Y.Ç. X K.V.)	92 (K.V. X M.B)
36 (Y.Ç. X MARS S.)	93 (K.V. X M.B)

Külleme hastalığının görülme sıklığı son yıllarda oldukça artmıştır. İklim koşulları ve fungisitlerin etkinliğinin azalması bu artışın olası nedenleri olarak öne sürülmüştür (Staudt, 1997; Dean ve Gray, 2008; Yıldırım ve diğ., 2002). Oliveira ve Cunha (2015), bu patojenlerin çeşitliliğinin *Vitis* türlerinin hastalık direncini de etkileyebileceğini bildirmiştir. Külleme hastalığı bağlarda, özellikle sıcak ve nemli iklim bölgelerinde, verim ve kalitede ciddi kayıplara neden olmaktadır. Kültürel uygulamaların yanı sıra mantari hastalıkları önlemek için yoğun fungusit ilaçları kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalara göre, pestisit kalıntılarının hem insan sağlığı hem de çevre üzerinde çok büyük olumsuz etkileri bulunmaktadır (Nicolopoulou-Stamati ve diğ., 2016).

Wan ve diğ. (2007), *Vitis* spp. gen havuzu içinde külleme ve mildiyö hastalıklarına direnci belirlemek amacıyla 13 adet *Vitis* türü içerisinden 66 adet genotip üzerinde hastalıkların seyrini doğal koşullar altında incelemişlerdir. 0-7 skalasını kullanmışlar ve bu skalaya göre yaptıkları skorlamada 66 genotipten 46'sının küllemeye, 28'inin mildiyöye ve 19'unun her iki hastalığa da dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Callonec ve diğ., (2012) tarafından yapılan araştırmada OIV skalası kullanılarak genotiplerin külleme ve mildiyö hastalık enfeksiyonları tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada da genotiplerdeki külleme enfeksiyonlarının skorlaması 0-7 skalasına göre belirlenmiştir. Toplam 97 adet genotipten 23 adet genotip külleme hastalığına Dayanıklı (R) olarak tespit edilmiştir.

Wan ve diğ., (2007), *V. vinifera* hastalıklara oldukça duyarlı olarak kabul edilirken, *V. labrusca, V. riparia* ve *V. rupestris* gibi Amerikan türleri çok daha az duyarlı olduğunu, tür ve çeşitlerin hastalıklara karşı duyarlılıkları bakımından farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir.

Boso ve diğ., (2014), farklı *Vitis* türleri arasında külleme ve mildiyö hastalıklarına dayanıklılık bakımından farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da *V. Vinifera* ve türler arası melezlerin ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlardan elde edilen melez üzüm genotiplerin küllemeye belirlenmiştir ve kombinasyonlara ait genotiplerin dayanıklılık/tolerantlıklarında farklılıklar gözlenmiştir.

Wu ve diğ. (2011), çalışmalarında üzere toplam 89 üzüm genotipnin mildiyö (*Plasmopara viticola*), antraknoz (*Sphaceloum ampelinum*) ve küllemeye (*Uncinula necator*) karşı direnci incelemişlerdir. Sonuç olarak, *V. vinifera'* nın 56 çeşidi arasında üç tür mantar hastalığına karşı direncin farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Bu farklılığın farklı genotiplerin kullanılmış olmasından kaynaklandığı vurgulamışlar ve Amerikan yabani üzümü, asmada hastalık direnci ıslahı için önemli bir gen kaynağı olduğunu vurgulamışlardır.

Yapmış olduğumuz çalışmada farklı kombinasyonlarda farklı dayanıklılık/tolerentlık seviyeleri tespit edilmiştir. Dayanıklı/tolerant ebeveynlerin kullanıldığı melezleme kombinasyonlarından elde edilen genotiplerin diğer genotiplere göre dayanıklılık/tolerantlık seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Yalova Çekirdeksizi x Kishmish Vatkana kombinasyonundan 5 adet genotip, Yalova Çekirdeksizi X Muscat Bailey A kombinasyonundan 6 adet genotip, Yalova Çekirdeksizi X Mars Seedless kombinasyonundan 4 adet genotip, Kishmish Vatkana X Red Globe kombinasyonundan 6 genotip, Kishmish Vatkana X Muscat Bailey A kombinasyonundan 2 adet genotip küllemeye dayanıklı olarak tespit edilmiştir.

Meyve veren bitkiler hasat dönemine yaklaşıldığında refraktometre ile üzümlerde suda çözünebilir kuru madde (S.Ç.K.M. %) birikimi, titre edilebilir asitlik (g/L) saptanmış; tat, tane rengi, olgunluk kriterleri açısından hasat yapılabilir genotipler belirlenerek kalite analizleri yapılmıştır.

Çizelge 4.33. Meyve kalite analizleri

Genotip No	**23**	**31**	**18**	**46**	**47**	**14**	**17**
Salkım Şekli	1	1	2	1	2	1	2
Salkım Ağırlığı (g)	285,8	62	104,2	210	120	185,8	228
Salkım Eni (cm)	9,8	5	7,9	6,6	8,5	7,5	12
Salkım Boyu (cm)	19,4	11,9	13,2	19,3	20	12,2	24
Salkım Sıklığı	5	3	3	5	3	5	5
Tane Ağırlığı (g)	3,5	2,6	4,86	3,4	4,4	2,88	1,4
Tane Eni (mm)	18,08	15,21	16,2	16,76	19,09	16,55	10,95
Tane Bouyu (mm)	18,91	15,3	16,84	18,03	19,45	14,92	11,12
Tane Şekli	6	2	1	2	2	2	2
Tane Kabuk Rengi	1	1	1	5	5	1	6
Çekirdek Durumu*	1	1	2	2	1	1	1
Özel tat/aroma**	1	0	1	2	0	1	0
ŞÇKM (%)	19	16,4	19	17,9	19,7	22,4	16,3
Asitlik (g/L)	0,93	0,67	0,93	0,55	0,95	0,59	0,79
Olgunluk indeksi (%)	20,43	24,47	20,43	32,54	20,73	37,96	20,63

*Çekirdeklilik durumu 1- çekirdeksiz, 2- Çekirdekli

**Özel tat/ aroma 0- aroma yok, 1- misket aromalı, 2- foxy aromalı

4. SONUÇ

Üzüm çeşitlerinin embriyo kurtarme tekniği ile 4 yıllık performansını değerlendirdiğimizde, ana ebeveyn olarak seçilen 'Yalova çekirdeksizi' çeşidinin özellikle embriyo gelişim yüzdesi (%) açısından daha başarılı sonuçlar vermiştir. 'Kismish Vatkana' çeşidi de örnekleme zamanına bağlı olarak bazı haftalarda iyi sonuçlar göstermiştir. Tozlayıcı çeşit olarak seçilen 'Red Globe', 'Mars Seedless', 'Muscat Bailey A' ve 'Crimson Seedless' çeşitlerinin, gelişen embriyo yüzdesi (%) ve fide sayısı açısından en iyi sonuçları veren üzüm çeşitleri olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu çeşitler arasında Mars Seedless ve Muscat Bailey A çeşitlerinin türler arası melez çeşitler olması da önem arz etmektedir. Bu durum, gelecekte embriyo kurtarma çalışmalarında daha fazla türler arası melezlerin kullanılmasıyla daha başarılı sonuçlar elde edilebileceğini de göstermektedir.

Embriyo kurtarma çalışmalarında başarı oranı, seçilen kombinasyon ile olgunlaşmamış ovüllerin hazır besin ortamına alınma zamanına bağlı olarak önemli ölçüde değişebilmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, bu başarı oranıyla ilişkili koşulların önemini doğrulamıştır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda üzüm ıslahçılarının daha yüksek başarı oranına sahip kombinasyonları tercih etmeleri gerektiği ortaya çıkmıştır. Yalova Çekirdeksizi, Kishmish Vatkana ve Exalta çeşitlerinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlarda örnekleme zamanı olarak 7. hafta ve 8. haftada izole edilen çekirdekler diğer haftalara göre başarılı bulunmuştur. Bu sonuçlar, özellikle geleneksel yöntemlerle sağlıklı bitki elde edilemeyen kombinasyonlarla ilgili çalışmalarda yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda özellikle çekirdeksiz bir çeşidin (Yalova Çekirdeksizi) öne çıktığı ve başarı oranını arttırdığı gözlenmiş olsa da embriyo kurtarma çalışmalarında başarı oranını etkileyen birçok faktör olduğu ve tüm faktörlerin dikkate alınarak *in vitro* ve sonrasında mümkün olan en iyi koşulların sağlanması ile başarı oranı farklı çeşitlerde de artabilecektir.

Yapmış olduğumuz çalışmada hem markörlerle hemde doğal koşullarda gerçekleştirilen testleme çalışmalarıyla küllemeye potansiyel olarak dayanıklı/tolerant on dört genotip tespit edilmiştir.

Ayrıca çekirdeksizliğin erken seleksiyonu amacı ile melezlemelerden elde edilen genotipler 5U_VviAGL11 SSR markörü kullanılarak taranmış ve 21 adet potansiyel çekirdeksiz genotip belirlenmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen bütün sonuçları birleştirdiğimizde 28 (Yalova Çekirdeksizi X Kismish Vatkana), 36 (Yalova Çekirdeksizi X Mars Seedless), 47 (Kismish Vatkana X Red Globe) nolu genotipler hem çekirdeksiz hemde külleme hastalığına dayanıklı/tolerant aday genotipler olarak tespit edilmiştir.

PROJE ÇIKTILARINDAN BEKLENEN FAYDA VE EKONOMİYE KATKISI

Türkiye çekirdeksiz üzüm üretiminde dünya pazarında önde gelen ülkeler arasındaalır.. Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından ıslah edilen üzüm çeşitleri farklı bölgelerde üretilmektedir. Erkencilik yönünden önem kazanan bazı çeşitlerimiz ülke ekonomisine önemli katkıda bulunmaktadır.

Külleme gibi bağcılığı önemli ölçüde sınırlandıran ve ciddi verim/kalite kayıplarına neden olan mantari hastalıklarından korunmada çevre dostu ve sürdürülebilir uygulamalara yönelik talep her geçen gün artmaktadır. Hastalıklara dayanıklı asma çeşitlerinin ıslahı ile birlikte fungisit girdileri daha iyi yönetilebilecek ve uygulamalar önemli oranda azaltılabilecektir. Proje çıktısı olarak melezlemelerinden elde edilen bazı çekirdeksiz ve külleme hastalığına dayanıklı/ tolerant genotipler bulunmaktadır. Bu genotiplerin ileriki zamanlarda meyve özellikleri incelenecektir. Elde edilen genotiplerin verim ve kaliteyi arttırması hemde mantari hastalıklarla mücadele yönünden ülke ekonomisine önemli girdilerinin olması beklenmektedir. Pazarın isteğine uygun, hastalıklara dayanıklı, verimi ve kalitesi yüksek yeni bir yarıyol materyali ya da çeşit elde edilmesi durumunda özel sektöre veya yurt dışında faaliyet gösteren tarımsal şirketlere satışı söz konusu olabilecektir.

2022 yılında üzüm ihracatı 223 bin tona ulaşarak 176,5 milyon dolar döviz geliri sağlamıştır. Sofralık üzüm ihracatı 2023 yılında 146 bin ton karşılığında 139 milyon dolar olarak gerçekleşmiştir. Geliştirmekte olduğumuz çeşit veya çeşit adaylarının ülke ekonomimizin gelirlerine destek olması beklenmektedir.

5. KAYNAKÇA

ADAM-BLONDON, A.F., LAHOGUE-ESNAULT, F., BOUQUET, A., BOURSİQUOT, J.M., THİS, P. (2001). Usefulness of Two SCAR Markörs for Markör-Assisted Selection of Seedless Grapevine Cultivars. *Vitis, 40*, 147-155.

AGURTO, M., SCHLECHTER, R., O., ARMİJO, G., SOLANO, E., SERRANO, C., CONTRERAS, R.A., ZÚÑİGA GUSTAVO, E., ARCE-JOHNSON, P., (2017). *RUN1* and *REN1* Pyramiding in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Crimson Seedless) displays an improved defense response leading to enhanced resistance to Powdery Mildew (*Erysiphe necator*). Front. Plant Sci., 12 May 2017 Sec. Plant Pathogen Interactions, Volume 8 - 2017 |https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00758

AKKURT, M., WELTER, L., MAUL, E., TÖPFER, R. AND ZYPRİAN, E., **(**2007). Development of SCAR markers linked to powdery mildew (*Uncinula necator*) resistance in grapevine (*Vitis vinifera L. and Vitis sp*.). *Molecular Breeding*, *19*(2): 103-111.

AKKURT, M., ÇAKIR, A., SHİDFAR, M., ÇELİKKOL, B.P., AND SÖYLEMEZOĞLU, G. (2012). Using SCC8, SCF27 and VMC7f2 Markers in Grapevine Breeding for Seedlessness Via Marker Assisted Selection. *Genet. Mol. Res,. 11* (3), 2288-2294. DOI: 10.4238/2012.August.13.2.

ATAK, A. VE KAHRAMAN, K.A., (2012). Breeding studies and new table grapes in Turkey. E3 Journal of Agricultural Research and Development Vol. 2(3). pp. 080-085.

ATAK, A., (2024). Dünyada Güncel Sofralık Üzüm Islah Çalışmaları. Bahçe 53 (Özel Sayı 1): 14–22(2024). https://doi.org/10.53471/bahce.1481771

BARRİTT, B.H. (1970). Ovule Development in Seeded and Seedless Grapes. *Vitis, 9*, 7-14.

BERGAMİNİ, C., CARDONE, M.F., ANACLERİO, A., PERNİOLA, R., PİCHİERRİ, A., GENGHİ, R., ALBA, V., FORLEO, L.R., CAPUTO, A.R., MONTEMURRO, C., BLANCO, A. & ANTONACCİ, D. (2013). Validation Assay of p3_VvAGL11 Marker in a Wide Range of Genetic Background for Early Selection of Stenospermocarpy in *Vitis vinifera* L. *Mol. Biotechnol., 54*(3), 1021-1030. DOI 10.1007/s12033-013-9654-8.

BOZ, Y., KEBELİ, N., ÖZER, C., (2002). Çekirdeksiz Üzüm Çeşitlerinden Yeni Hibritlerin Elde Edilmesinde Embriyo Kültürünün Kullanılması Üzerinde Araştırmalar. Türkiye V. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu Bildiriler, 5-9 Ekim 2002, s:53-56

BOUQUET, A., DANGLOT, Y., (1996). Inheritance of Seedlessness in Grapevine (*Vitis Vinifera* L.), *Vitis, 35*, 35-42.

BUCK, S. VE ZYPRİAN, E., (2000). First Approaches of Molecular Mapping in a Model Population Derived from The Crossing of The Grapevine Varieties 'Regent' x'Lemberger'. Proc. of VII. International Symp. on Grapevine Genetics and Breeding, Montpellier, France, (1998), Vol 2, Acta Horticulture, No:528 203-207.

CABEZAS, J.A., CERVERA, M.T., RUİZ-GARCİA, L., CARRENO, J., MARTİNEZ-ZAPATER, J.M. (2006). A Genetic Analysis of Seed and Berry Weight in Grapevine. *Genome, 49*, 1572-1585. DOI: 10.1139/g06-122.

CAİN, D.W., EMERSHAD, R.L. AND TARAİLO, R.E., (1983). *In ovulo* embryo culture and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.). *Vitis, 22*: 9-14.

CHİAROMONTE E, BOTTALİCO G, LANOTTE P, CAMPANALE A, MONTİLON V, MORANO M, (2023). A large-scale validation of an Improved embryo-rescue protocol for the Obtainment of New table-grape seedless genotypes. Plants. 2023;12(19):3469. https://doi.org/10.3390/plants12193469.

CHU,Y., Lİ, M., Lİ, R., ZHANG, K., QİU, P., YUAN, X., HAN, Y., LİU, X., XU, Y., AND LİU, G., (2023**).** Embryo Rescue Breeding of New Cold-Resistant,Seedless Grapes. Horticulturae, 9, 992. https://doi.org/10.3390/horticulturae9090992

COLEMAN, C., COPETTİ, D., CİPRİANİ, G., HOFFMANN, S., KOZMA, P., KOVÁCS, L., MORGANTE, M., TESTOLİN, R. AND Dİ GASPERO, G., **(**2009). The powdery mildew resistance gene REN1 Co-Segregates with an NBS-LRR gene cluster in two central Asian grapevines. *BMC Genetics*, *10*(1): 1-20. https://doi.org/10.1186/1471-2156-10-89.

CONNER, P., **(**2015). Development of a DNA marker for seedlessness in Euvitis× Muscadinia hybrids. Final Report Grant Code: SRSFC Project# 2015-18 Research Proposal Name, Mailing and Email Address of Principal Investigator (s).

COSTANTİNİ, L., BATTİLANA, J., LAMAJ, F., FANİZZA, G., GRANDO, M.S. (2008). Berry and Phenology-Related Traits in Grapevine (*Vitis vinifera* L.): from Quantitative Trait Loci to Underlying Genes. *BMC Plant Biol., 8,* 38. DOI: 10.1186/1471-2229-8-38.

CONSTANTİNESCU, G.A., PENA, A. AND INDREAS, A., (1972). Inheritance of some qualitative and quantitative characters in the progeny of crosses between functionally female (Gynodynarnic) and Apyrene (Androdynamic) varieties. [Romanian] probl. *Genet. Teoret. Appl.,* 7: 213-241.

CUİ XQ, LİU Q, LUO Y, ZHU P, GUAN P, ZHANG J. (2024). Study on influencing factors of embryo rescue and germplasm innovation in seedless grape. Plant Cell Tiss Org.;157:24. https://doi.org/10.1007/s11240-024-02738-0.

ÇELİK, S., (1998). Bağcılık (Ampeloloji). Cilt: 1, Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri, 425s Tekirdağ.

ÇELİK, H., AĞAOĞLU, Y. S., FİDAN, Y., MARASALI, B. VE SÖYLEMEZOĞLU, G., (1998). Genel Bağcılık. Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi: 1, Ankara.253s.

ÇELİK, H., **(**2002). Üzüm Çeşit Kataloğu. SUN Fidan A.Ş., Ankara, 137 s., ISBN:9759312603.

Dİ GENOVA, A., ALMEİDA, A.M., MUNOZ-ESPİNOZA, C., VİZOSO, P., TRAVİSANY, D., MORAGA, C., PİNTO, M., HİNRİCHSEN, P., ORELLANA, A., MAASS, A. (2014). Whole Genome Comparison between Table and Wine Grapes Reveals a Comprehensive Catalog of Structural Variants. *BMC Plant Biology,14,* 7.

DANGL, G.S., MENDUM, M.L., PRİNS, B.H., WALKER, M.A., MEREDİTH, C.P., SİMON, C.J. (2001). Simple Sequence Repeat Analysis of a Clonally Propagated Species: A Tool for Managing a Grape Germplasm Collection. *Genome, 44* (3), 432-438. DOI: 10.1139/g01-026.

DEĞİRMENCİ, D., KUNTER MARASALI, B., (2007). Üzümlerde Çekirdeksizlik ve Islah Amaçlı Kullanımı. Alatarım,6 (1): 10 – 17.

DONALD, T. M., PELLERONE, F., ADAM-BLONDON, A. F., BOUQUET, A., THOMAS, M. R., DRY, I. B., (2002). Identification Of Resistance Gene Analogs Linked To A Powdery Mildew Resistance Locus in Grapevine. Theor. Appl. Genet. 104, 610-618

DUNDİK, N.A. AND MOLNER, M.G. (1976). Inheritance of seedlessness in grape in the south of the Ukrainian SSR. [Russ.] Ref. Zhumal 5.55. *118*: 105-113.

EİBACH, R., ZYPRİAN, E., WELTER, L., & TOPFER, R., (2007). The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. VITIS-GEILWEILERHOF - 46(3), 120.

EMERSHAD, R.L., RAMMİNG, D.W., (1984). *In ovulo* Embryo Culture of *Vitis vinifera* L. cv. Thompson Seedless. Amer. J. Bot. (71): 873-877.

ERGÖNÜL, O., ÖZER, C., ORHAN ÖZALP, Z., UYSAL, T. VE KORKUTAL, İ., **(**2021). Erkenci üzüm çeşitlerinde (*Vitis vinifera* L.) embriyo kültür ve embriyo canlılığı üzerine çalışmalar. KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi, *24*(1): 65-71, DOI:10.18016/ksutarimdoga.vi.700139

ERGÜL, A. (1994). Bağcılıkta Kombinasyon Islahı Üzerinde Araştırmalar: Bazı Şaraplık Üzüm Çeşitlerinde Tozlayıcı Çeşitlerin Döl Verimine Etkileri. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü. (Basılmamış Yüksek Lisans Tezi). 144 s., Ankara.

FANİZZA, G., LAMAJ, F., COSTANTİNİ, L., CHAABANE, R. & GRANDO, M.S., (2005). QTL analysis for fruit yield components in table grapes (*Vitis vinifera*). *Theor. Appl. Genet., 111*(4), 658-664. DOI: 10.1007/s00122-005-2016-6.

FAO, 2024, https://www.fao.org/faostat/en/ (Erişim tarihi: 15 kasım 2024)

GİANCASPRO A, MAZZEO A, CARLOMAGNO A, GADALETA A, SOMMA S, FERRARA G. (2022). Optimization Of an *İn Vitro* Embryo Rescue Protocol For Breeding Seedless Table Grapes (*Vitis Vinifera* L.) in Italy. Horticulturae.;8:121. Https://Doi. Org/10.3390/Horticulturae8020121.

GÖKÇE, A.Y., KARAHAN,A., PALA, H., GÖKALP, K., ERTEN, L., ÇELİKER, M., UZUNOĞULLARI, N. (2008). Bağ Hastalıları. Aydemir, M (Ed.) Zirai Mücadele Teknik Talimatları 4. Cilt (257-279). Ankara.

GÜRNİL, K., USTA, K., ÖZER, C., KEBELİ, N., (1998). Bazı Üzüm Çeşitleri Arasında Melezleme Yolu ile Çekirdeksiz Erkenci ve Son Turfanda Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Elde Edilmesi. 4.Bağcılık Sempozyumu Bildirileri: 87-90, 20-23 Ekim 1998, Yalova.

HANNİNG, E., (1904). Zur Physiologie Pflanzenlicher Embryonem, I Uberdie Kultur von Crucifen-Embryonen ausser-halb des Embryosacks,*Z Bot*, 62(1904) 45-80

HE, P. C. (1999). *Viticulture*. China Agriculture Press, Beijing, China.

HOFFMANN, S., Dİ GASPERO, G., KOVÁCS, L., HOWARD, S., KİSS, E., GALBÁCS, Z., TESTOLİN, R. AND KOZMA, P., (2008). Resistance to *Erysiphe Necator* in the grapevine 'Kishmish Vatkana' is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth. *Theoretical and Applied Genetics*, *116*: 427-438.

HORİUCHİ,S., KUROOKA, H., FURUTA, T. (1991). Studies on the embryo dormancy in grape. J. Japanese Soc. Hort. Sci.,60(1):1-7.

HVARLEVA, T., TARPOMANOVA, I., HRİSTOVA-CHERBADJİ, M., HRİSTOV, M., BAKALOVA, A., ATANASOV, A., ATANASOV, I. (2009). Toward marker assısted selection for fungal disease resistance in sunflower, Utilization of H. Bolanderi as a source of resistance to downy mildew, *Biotechnol. and Biotechnol. Eq.*, *23*(4), 1427-1430.

IBÁÑEZ, J., VÉLEZ, M.D., DE ANDRÉS, M.T., BORREGO. J. (2009). Molecular markers for establishing distinctness in vegetatively propagated crops: a case study in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics*, *119*, 1213-1222. DOI: 10.1007/s00122-009-1122-2.

IBÁÑEZ, J., CARREÑO, J., YUSTE, J., MARTÍNEZ-ZAPATER, J.M. (2015). Grapevine breeding and clonal selection programmes in Spain. Reynolds, A.G., (Ed), *Grapevine Breeding Programs for the Wine Industry*. (183-209). Oxford :Woodhead Publishing.

ILNİTSKAYA, E.T., MAKARKİNA, M V., TOKMAKOV, S.V., & NAUMOVA, L.G. (2019). Testing of DNA markers linked to the *Ren3* gene for resistance of grape varieties to oidium. Fruit growing and viticulture in the South of Russia, (56), 84-92.

Jİ, W., Lİ Z. Q., ZHOU, Q., YAO, W. K. AND WANG, Y. J., (2013). Breeding new seedless grape by means of in vitro embryo rescue. *Genet Mol. Res*,2013 Mar 26 .*12*(1): 859-69. doi: 10.4238/2013.March.26.1. PMID: 23613194.

Jİ, W., Lİ , G.R., LUO, Y.X., MA, X.H., WANG, M. AND REN, R., (2015). In vitro embryo rescue culture of F1 progenies from crosses between different ploidy grapes. Genetics and Molecular Research 14 (4): 18616-18622. DOI http://dx.doi.org/10.4238/2015.December.28.10

KARAAĞAC, E., VARGAS, A.M., DE ANDRÉS, M.T., CARREÑO, I., IBÁÑEZ, J., CARREÑO, J. & CABEZAS, J.A., (2012). Marker assisted selection for seedlessness in table grape breeding. *Tree Genet. Genomes*, *8*(5), 1003-1015. DOI:10.1007/s11295-012-0480-0.

LAHOGUE, F., THİS, P., BOUQUET, A. (1998). Identification of Codominant SCAR Markör Linked to the Seedlessness Character in Grapevine. *Theor. Appl. Genet.*, *97*, 950-959.

LEDBETTER, C.A., RAMMİNG, D.W., (1989). Seedlessness in Grapes. Horticultural Revives, 11:159-184.

LEDBETTER, C.A., BURGOS, L. (1994). Inheritance of stenospermocarpic seedlessness in *Vitis vinifera* L. J. Hered. 85, 157-160.

Lİ, S., Lİ, Z., ZHAO, Y., ZHAO, J., LUO, Q. AND WANG, Y., (2020a), New disease-resistant, seedless grapes are developed using embryo rescue and molecular markers, *3 Biotech*, *10*(1): 1-12. https://doi.org/10.1007/s13205-019-1993-0

Lİ, S., LİU, K., YU, S., JİA, S., CHEN, S., FU, Y., SUN, F., LUO, Q. AND WANG, Y. **(**2020b). The Process of embryo abortion of stenospermocarpic grape and it develops into plantlet in vitro using embryo rescue. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *143*(2): 389-409. https://doi.org/10.1007/s11240-020-01926-y

Lİ, Z., Lİ, T., WANG, Y. AND XU, Y., (2015). Breeding New Seedless Grapes Using in Ovulo Embryo Rescue and Marker-Assisted Selection, *In Vitro* Cellular and Developmental Biology - Plant, *51*(3): 241-248. https://doi.org/10.1007/s11627-015-9677-x

Lİ G, Lİ K, HAN F, GAO H, WANG L. (2024). **Study on the relationship between the changes in polyamine content and seedless grapes embryo rescue breeding.** Front Plant Sci.;15. https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1362989.

LİU, S. M., SYKES, S. R. AND CLİNGELEFFER, P.R**.** (2003), Improved in ovulo embryo culture for stenospermocarpic grapes (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Agricultural Research*, *54*(9): 869-876.

LOOMİS, N.H. AND WEİNBERGER, J.H. (1979). Inheritance studies of seedlessness in grapes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 104(2): 181-184.

LUO Y, CUİ X, ZHU P, ZHANG J. (2023). Effects of parental genotypes on embryo rescue of seedless grape hybrid. New Zeal J Crop Hort.;1–12. https://doi.org/10. 1080/01140671.2023.2214367

MALABARBA, J., BUFFON, V., MARİATH, J.E.A., GAETA, M.L., DORNELAS, M.C., MARGİS-PİNHEİRO, M., PASQUALİ, G., REVERS, L.F. (2017). The MADS-box gene Agamous-like 11 is essential for seed morphogenesis in grapevine. *J Exp Bot, 68*, 1493-1506. DOI: 10.1093/jxb/erx025.

MEJİA, N., GEBAUER, M., MUNOZ, L., HEWSTONE, N., MUNOZ, C., HİNRİCHSEN, P. (2007**).** Identification of QTLs for seedlessness, berry size, and ripening date in a seedless x seedless table grape progeny. *American Journal of Enology and Viticulture, 58,* 499-507.

MEJÍA, N., SOTO, B., GUERRERO, M., CASANUEVA, X., HOUEL, C., MİCCONO, M.A., RAMOS, R., CUNFF, L.L., BOURSİQUOT, J.M., HİNRİCHSEN, M., ADAM-BLONDON, A.F. (2011). Molecular, Genetic And Transcriptional Evidence For A Role Of Vvagl11 in Stenospermocarpic Seedlessness in Grapevine. *BMC Plant Biology, 11*, 57.

MENEZES, E. F. DE, SİLVA, E. M. E, YANO-MELO, A. M., LEÃO, P. C. DE S. AND MELO, N. F. DE, **(**2014). Immature embryo rescue and in vitro development evaluation of intraspecific hybrids from Brazilian seedless grapevine "Superior X Thompson" Clones. *American Journal of Plant Sciences, 05*(13), 1956-1960. https://doi.org/10.4236/ajps.2014.513209

MEREDİTH, C. P. (2001). Grapevine Genetics: Probing the Past and Facing the Future. Agriculturae Conspectus Scientificus, Vol. 66, No: 1, 21-25.

MİZZOTTİ, C., EZQUER, I., PAOLO, D, RUEDA-ROMERO, P., GUERRA, R.F., BATTAGLİA, R., ROGACHEV, I., AHARONİ, A., KATER, M.M., CAPORALİ, E., COLOMBO, L. (2014). SEEDSTICK is a master regulator of development and metabolism in the Arabidopsis seed coat. *PLoS Genet. 10* (12), 1-15. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004856.

NOOKARAJU A, BARRETO MS, KARİBASAPPA GS, AGRAWAL DC. (2007). Synergistic effect of CPPU and benzyladenine on embryo rescue in six stenospermocarpic cultivars of grapevine. Vitis.;46:188–91.

OCAREZ, N., MEJİA, N. (2016). Suppression of the D-class MADS-box AGL11 gene triggers seedlessness in fleshy fruits. *Plant cell reports, 35*, 239-254. DOI:10.1007/s00299-015-1882-x.

OCAREZ, N., JİMÉNEZ, N., NÚÑEZ, R., PERNİOLA, R., MARSİCO, A. D., CARDONE, M. F., BERGAMİNİ, C., MEJÍA, N. (2020). Unraveling the Deep Genetic Architecture for Seedlessness in Grapevine and the Development and Validation of a New Set of Markers for *VviAGL11*- Based Gene-Assisted Selection. *Genes, 11*, 151. DOI:10.3390/genes11020151.

ÖZER, C., AYDIN, S., KİRACI, M.A., ERGÖNÜL, O., YAŞASIN, A.S., SOLAK, E., ESER, Ü., ÖZTÜRK, L., (2012). "Grape Breeding Studies By Hybridization at Tekirdağ Viticulture Research Station", 36th World Congress of Vine and Wine, June 18th - 22nd 2012, İzmir/Turkey.

PAUQUET, J., BOUQUET, A., THIS, P., ADAM-BLONDON, A. F., (2001). Establishment Of A Local Map Of Aflp Markers Around The Powdery Mildew Resistance Gene Run1 İn Grapevine And Assessment Of Their Usefulness For Marker Assisted Selection. Theor. Appl. Genet. 103, 1201-1210

PRAZZOLİ M. L., LORENZİ S., PERAZZOLLİ, M., TOFFOLATTİ, S., FAİLLA, O., AND GRANDO, M. S.,(2019). Identification of disease resistance-linked alleles in *Vitis vinifera* germplasm. BIO Web of Conferences 13, 01004. https://doi.org/10.1051/bioconf/20191301004

PEARSON HM (1932). Parthenocarpy and Seed Abortion in *Vitis vinifera*. Proc. Amer. Soc.Hort. Sci. 29:169.

PİNYOPİCH, A., DİTTA, G.S., SAVİDGE, B., LİLJEGREN, S.J., BAUMANN, E., WİSMAN, E., YANOFSKY, M.F. (2003). Assessing the redundancy of MADS-box genes during carpel and ovule development. *Nature, 424*, 85-88. DOI: 10.1038/nature01741.

PERL, A., SAHAR, N., SPİEGEL-ROY, P., GAVİSH, S., ELYASI, R., ORR, E., BAZAK, H., (2000). Conventional and Biotechnological Approaches in Breeding Seedless Table Grapes. Acta Horticulturae 528: 613-618

POMMER, C.V., RAMMİNG D.W. AND EMERSHALD R.L., **(**1995). Influence of grape genotype, ripening season, seed trace size and culture date on in ovule embryo development and plant formation, Biotechnology and Plant Physiology- Bragantia 54 (2): 237- 249.

POMMER CV, RAMMİNG DW, EMERSHAD RL. (1995).Influence of grape genotype, ripening season, seed trace size, and culture date on in ovule embryo development and plant formation. Bragantia.;54:237–49. https://doi. org/10.1590/S0006-87051995000200002.

POSPİLOVA, D., PALENİK, V. (1988), Heredity of seedlessness in grapes. Genetics, Sletchteni, 24:325-332

RAHMAN, M.A., BALASUBRAMANİ, S.P. AND BASHA, S.M. **(**2021). Molecular Characterization and phylogenetic analysis of MADS-Box gene VroAGL11 associated with sStenospermocarpic seedlessness in Muscadine grapes. *Genes*, *12:*232. https://doi.org/10.3390/genes 12020232

RAMMİNG, D.W. EMBRYO CULTURE. MOORE, J.N. AND JANİCK, J., (EDİTORS)., (1983). In methods in fruit breeding, 136-142.

RAMMİNG, D.W. AND EMERSHAD, R.L., (1984). Embryo culture of earlyripening seeded grape genotypes. HortScience 19:594.

RAMMİNG, D.W., (1990). The use of embryo culture in fruit breeding. HortScience 25(4):393–398

RİCCİARDİ, V., CRESPAN, M., MADDALENA, G., MİGLİARO, D., BRANCADOR, L., MAGHRADZE, D.,FAİLLA, O., TOFFOLATTİ, S. L.AND GABRİELLA DE LORENZİS. (2024). Novel loci associated with resistance to downy and powdery mildew in grapevine. Front. Plant Sci. 15:1386225. doi: 10.3389/fpls.2024.1386225

RUİZ-GARCÍA, L., GAGO, P., MARTÍNEZ-MORA, C., SANTİAGO, J. L., J. FERNÁDEZ-LÓPEZ, D., MARTÍNEZ, M. C., AND BOSO, S.,(2021). Evaluation and Pre-selection of New Grapevine Genotypes Resistant to Downy and Powdery Mildew, Obtained by Cross-Breeding Programs in Spain. Front. Plant Sci. 12:674510. doi: 10.3389/fpls.2021.674510

SATO, A., YAMANE, H., YAMADA, M., YOSHİNAGA, K., (1994). Inheritance of seedlessness in grapes. [Japan.] J. Japan Soc. Hort. Sci. 63, 1-7.

REİSCH, B. I., PRATT, C., (1996). Grapes. J. Janıck, J. N. Moore (Ed.), *Fruit Breeding- Vine and Small Fruits* (3 rd ed.) , (197-369). New York: John Wiley & Sons.

SİNGH, Z., BRAR, S.J.S. (1992). *In Vivo* Development of Ovule in Seedless and Seeded Cultivars of Grapes (*Vitis Vinifera* L.): A Particular Reference to in Ovulo Embryo Culture. Vitis 31:77-82.

SPİEGEL-ROY, P., SAHAR, N., BARON, J. AND LAVİ, U., **(**1985). In vitro culture and plant formation from grape cultivars with abortive ovules and seeds. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *110*(1): 109-112

SPİEGEL-ROY, P., SAHAR, N., BARON, Y. AND SAHAR, N. **(**1990). Inheritance of seedlessness in Seeded × Seedless progeny of *Vitis vinifera* L. *Vitis*, *29*: 79-83.

STOUT A (1936). Seedlessness in grapes. vol 238. New York Agr Exp Stat Technol Bull, Geneva, New York.

STRİEM, M.J., BEN-HAYYİM, G., SPİEGEL-ROY, P. (1996). Identifying Molecular Genetic Markörs Associated with Seedlessness in Grape. *J. Amer.Soc. Hort. Sci., 121*(5), 758-763. DOI: 10.21273/JASHS.121.5.758.

ŞEHİRALİ, S. VE ÖZGEN, A.M., (2010). Bitki Islahı. Ankara Üniversitesi Yayınları No: 269, Yayın No: 1582, Ders Kitabı: 534, ISBN: 978-975-482-882-5

TİAN, L., WANG, Y., NİU, L. AND TANG, D., (2008). Breeding of Disease-Resistant Seedless Grapes Using Chinese Wild *Vitis* spp. I. In vitro Embryo rescue and plant development. *Scientia Horticulturae*, *117*: 136-141. 10.1016/j.scienta.2008.03.024.

USLU, İ. VE SAMANCI, H., **(**1998). Melezleme ile yeni sofralık üzüm çeşitlerinin elde edilmesi. 4. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri, 17-23, 20-23 Ekim 1998, Yalova.

XU, X., LU, J., BRADLEY, F. (2014). Applications of Polyploids in Muscadine Grape (*Vitis Rotundifolia* michx.) Breeding. Paper presented at the Xth Intl. Conf. on Grapevine Breeding and Genetics. Proceedings,. 411-417.

VEİKONDİS, R., BURGER, P., VERMEULEN, A., VAN HEERDEN, C. J.AND PRİNS, R., (2018). Confirmation of the effectiveness and genetic positions of disease resistance loci in 'Kishmish Vatkana' (Renl) and 'Villard Blanc' (*Ren3* and *Rpv3*). *South African Journal of Enology and Viticulture*, *39*(2), 185-195.

WANG, F. Q., LU, B. I. A. N., QİU, P. P., SHUO, G. U. O., GUO, J. H., GUO, C. S., ... & YAN, X. U. (2023). Development and application of KASP marker for high throughput detection of the seedless trait in grapevine. *Journal of Integrative Agriculture*, *22*(11), 3269-3283.

WEİNBERGER, J.H., HARMON, F.N., (1964). Seedlessness in Vinifera Grapes. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 85, 270-274.

YAMASHİTA, H., (1998). " A study for breeding of triploid grapes ", Ph . D. Thesis, Osaka Prefecture Univ ., Sakai, Osaka, Japan.

YILDIRIM, Z., ATAK, A., AKKURT, M. (2019). Determination Of Downy And Powdery Mıldew Resıstance Of Some *Vitis* Spp. *Ciência Téc. Vitiv*. *34(1)* 15-24. DOI: 10.1051/ctv/20193401015.

ZENDLER, D., SCHNEİDER, P., TÖPFER, R., ZYPRİAN, E. (2017). Fine mapping of Ren3 reveals two loci mediating hypersensitive response against Erysiphe necator in grapevine. Euphytica, 213, 68.

ZHU P, GU B, Lİ P, SHU X, ZHANG JX. (2020). New cold-resistant, seedless grapes developed using embryo rescue and marker-assisted selection. Plant Cell Tiss Org.;140(3):551–62. https://doi.org/10.1007/s11240-019-01751-y.

ZOHARY, D., AND HOPF, M., (2000). The Domestication Of The Plants İn The Old World: The Origin And Spread Of Cultivated Plants İn West Asia, Europe And Nile Valley, 3rd Edn. Oxford University Press, Oxford.

6. ÖZGEÇMİŞ



ATATÜRK BAHÇE KÜLTÜRLERİ MERKEZ ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ/ YALOVA

YEŞİM DOYĞACI

Biyolog

EĞİTİM

Doktora 2023-Devam Uludağ Üniversitesi Bahçe Bitkileri A.B.D.

Yüksek Lisans 2019-2022 Kocaeli Üniversitesi Bahçe Bitkileri A.B.D.

Lisans 1998-2003 Ege Üniversitesi Fen Fakültesi- Biyoloji Bölümü

YABANCI DİL İngilizce / YÖKDİL 61,25

İŞ TECRÜBESİ

2012- Araştırmacı, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü - YALOVA

2007-2012 Biyolog, Çanakkale Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü- ÇANAKKALE

HAKKIMDA

1980 Yılında Eskişehir'de doğmuştur. 2003 Yılında ise Ege Üniversitesi Fen Fakültesi'nden mezun olmuştur. Tezsiz Yüksek Lisans Eğitimini Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümünde tamamlamıştır. Tezli yüksek lisansına Kocaeli Üniversitesi Bahçe Bitkileri Yetiştirme ve Islahı Ana Bilim Dalında tamamlamıştır. 2023 Yılında başladığı doktora çalışmasına Uludağ Üniversitesi Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda devam etmektedir.

İLETİŞİM

Adnan Menderes Mah. Beyazıt Cad. 4/6
Merkez / Yalova
TÜRKİYE

Yeşim.doygaci@tarimorman.gov.tr

0226 814 25 20-21-22



TAGEM
AR-GE & İNOVASYON
ATATÜRK BAHÇE KÜLTÜRLERİ MERKEZ ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ/ YALOVA

Dr. ÖZLEM BOZTEPE

Ziraat Yüksek Mühendisi

EĞİTİM

- **Doçentlik**
- **Doktora** 2015-2024 — Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri A.B.D
- **Yüksek Lisans** 2008-2012 — Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
- **Lisans** 2004-2008 — Trakya Üniversitesi, Ziraat Fakültesi (Bahçe Bitkileri Alt Programı)

YABANCI DİL İngilizce / YÖKDİL 71,25

İŞ TECRÜBESİ

- 2018- Araştırmacı, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü - YALOVA
- 2012-2018 Araştırmacı, Fındık Araştırma Enstitüsü - GİRESUN
- 2010-2011 Öğretim Görevlisi, PamukkaleÜniversitesi Çal Meslek Yüksek Okulu - DENİZLİ

HAKKIMDA

2008 Yılında Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden mezun olmuştur. Yüksek Lisans Eğitimini Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalında 2012 yılında Bağcılık konusunda tamamlamıştır. Doktora eğitimini, yine Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalında Asma Islahı ve Moleküler Çalışmalar üzerine uyguladığı tez ile 2024 yılında tamamlamıştır.

İLETİŞİM

Süleyman Bey Mahallesi Cengiz Koçal Caddesi Merkez / Yalova
TÜRKİYE

ozlem.boztepe@tarimorman.gov.tr

0226 814 25 20-21-22



Dr. Gülhan GÜLBASAR KANDİLLİ

Ziraat Yüksek Mühendisi

EĞİTİM

Doçentlik

Doktora Ankara Üniversitesi
2021 Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Çukurova Üniversitesi
2009 Ziraat Fakültesi

Lisans Çukurova Üniversitesi
1998- 2002 Ziraat Fakültesi

YABANCI DİL İngilizce YDS 73,75

İŞ TECRÜBESİ

2013-2024 Mühendis, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü - YALOVA

2003-2013 Mühendis, Adana İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

2002-2003 Mühendis, Sivas İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

1998-2002 Teknisyen, Adana İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

HAKKIMDA

1978 Yılında Zile'de doğmuştur. 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden mezun olmuştur. Yüksek Lisans Eğitimini Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Bölümünde tamamlamıştır. Doktora eğitimini Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Yetiştirme ve Islahı Ana Bilim Dalında tamamlamıştır.

İLETİŞİM

Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü 77102 YALOVA

gulhan.gulbasarsire@tarimorman.go

0226 814 25 20/1252



ATATÜRK BAHÇE KÜLTÜRLERİ MERKEZ ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ / YALOVA

Dr. Abdulbaki ŞEN

Ziraat Yüksek Mühendisi

EĞİTİM

Doktora 2019-2024 — Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü / Bahçe Bitkileri A.B.D. / Bağ Yetiştiriciliği ve Islahı B.D.

Yüksek Lisans 2013-2015 — Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü / Bahçe Bitkileri A.B.D. / Bağ Yetiştiriciliği ve Islahı B.D.

Lisans 2010-2013 — Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi / Bahçe Bitkileri Bölümü

Yabancı Dil — İngilizce YÖKDİL 87,5 (2022) / YDS 71,25 (2022)

İŞ TECRÜBESİ

- İl Tarım ve Orman Müdürlüğü / Zonguldak (2006 – 2010 / Ziraat Teknisyeni)
- Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü / Tokat (2010 - 2013 / Ziraat Teknikeri)
- Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
  Bahçe Bitkileri Araştırmaları Daire Başkanlığı-Bağcılık Ç.G. / Ankara (2013 – 2016 / Zir. Yük. Müh.)
- Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü / Bağcılık Bölümü / YALOVA (2016 -.... / Araştırmacı)

HAKKIMDA

2005 yılında Çankırı Ziraat Meslek Lisesinden mezun olduktan sonra 2006 yılında Tarım ve Orman Bakanlığında göreve başlamıştır.

Halen Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü / Bağcılık Bölümünde Bağ-Kivi Islahı ve Yetiştirme Tekniği konularında araştırmacı olarak çalışmaktadır.

İLETİŞİM

Süleymanbey Mah., 77100 Merkez / YALOVA

abdulbaki.sen@tarimorman.gov.tr

0226 814 25 20-21 / 1211



ATATÜRK BAHÇE KÜLTÜRLERİ MERKEZ ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ/ YALOVA

DR. Yılmaz BOZ

Enstitü Müdürü

EĞİTİM

Doçentlik

Doktora Trakya Üniversitesi Üniversitesi
1992-1996 Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Ondokuz Mayıs Üniversitesi
1986-1988 Fen Bilimleri Enstitüsü

Lisans Ondokuz Mayıs Üniversitesi
1982-1986 Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü

İŞ TECRÜBESİ

2012- DEVAM Enstitü Müdürü, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü - YALOVA

2000-2012 Enstitü Müdürü Bağcılık Araştırma Enstitüsü - TEKİRDAĞ

1988-2000 Mühendis, Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü TEKİRDAĞ

1987-1988 Mühendis, Tarım İl Müdürlüğü ŞANLIURFA

HAKKIMDA

- İlk, orta ve lise öğrenimini Trabzon'da tamamladı. - 1982 yılından Samsun 19 mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümüne girdi 1986 yılında iyi derecede mezun olup, aynı yıl Yüksek lisans eğitimine başladı. - Girdiği memuriyet sınavında başarı gösterip 6 Mayıs 1987 tarihinde Şanlıurfa Tarım İl Müdürlüğünde mühendis unvanlı olarak göreve başladı, - Aynı yıl Şanlıurfa narlarının morfolojik ve pomolojik özelliklerinin belirlenmesi isimli master

İLETİŞİM

Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü
Süleymanbey Mahallesi Yalı Cad. No:53
Merkez / Yalova 77102 TÜRKİYE

yilmaz.boz@tarimorman.gov.tr

0226 814 25 20

KİŞİSEL BİLGİLER		
Adı Soyadı	Zühtü POLAT	
Ünvanı	Mühendis	
Doğum Tarihi ve Yeri	01.03.1980-Suşehri/SİVAS	

EĞİTİM BİLGİLERİ	
Doktora	
Üniversite Adı	Ankara Üniversitesi
Akademik Birim/ Mezuniyet Yılı	Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma ABD-2014-2019
Y. Lisans	
Üniversite Adı	Namık Kemal Üniversitesi
Akademik Birim/ Mezuniyet Yılı	Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma ABD-2008-2010
Lisans	
Üniversite Adı	Uludağ Üniversitesi
Akademik Birim/ Mezuniyet Yılı	Ziraat Fakültesi Bitki Koruma-1998-2003

Y. DİL BİLGİLERİ				
Yabancı Dil / Derecesi	KPDS	ÜDS	TOEFL	IELTS
İngilizce YDS:65 YÖKDİL:73,75				

GÖREV YERLERİ	Tarih / Unvan / Kurum
• 2007-Devam/ Ziraat Mühendisi/ Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Ens. YALOVA • 2002–2007/ Ziraat Mühendisi/ İlçe Tarım Müdürlüğü Karacabey/BURSA • 1998–2002/ Ziraat Teknisyeni/ İlçe Tarım Müdürlüğü Akıncılar/SİVAS	

ENSTİTÜDE ÇALIŞTIĞI BÖLÜM / BİRİM ve ÇALIŞMA KONULARI	
Çalıştığı Bölüm/Birim	Bitki Sağlığı Bölümü
Çalışma Konuları	Bitki Fungal hastalıkları, Fungisit direnci

- Doç. Dr. Arif ATAK : https://avesis.uludag.edu.tr/arifatak

- Prof. Dr. Murat AKKURT : https://avesis.ankara.edu.tr/akkurt

Tuğba Nur BEYAZTAŞ

Doğum Tarihi ve Yeri **:24/07/1993**

İletişim Bilgileri **:** Yalova İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

Tlf: 0226 813 59 76,

e-mail: tugbanur.adiguzel@tarim.gov.tr

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Ziraat Mühendisliği/Tarımsal Biyoteknoloji	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi	2017
Yüksek Lisans	Fen Bilimleri Enstitüsü/Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	Bursa Uludağ Üniversitesi	2022

Yüksek Lisans Tez Başlığı ve Tez Danışmanı

Yüksek Lisans Tezi : Bazı Bal Yemişi Çeşitlerinin (*Lonicera ceaerulea*) Mikroçoğaltım Performanslarının Belirlenmesi

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nuray AKBUDAK

MESLEKİ DENEYİM

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Laborant	Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü	2012-2014
Laborant	Eskişehir Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü	2014-2018
Mühendis	Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü	2018-2021
Mühendis	Yalova Tarım ve Orman İl Müdürlüğü	2021-Halen

ZELİHA ORHAN ÖZALP

Doğum Tarihi	Çanakkale- 1978
Adres:	Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü P.K.:7 Karadeniz Mahallesi, Eski Malkara Yolu Caddesi No:4, 59200 Süleymanpaşa/TEKİRDAĞ
Telefon:	0 282 261 2042
Faks :	0 282 262 4061
E-Posta :	zeliha.orhanozalp@tarimorman.gov.tr

Eğitim

Ülke	Okul	Bölüm	Ünvan	Mezuniyet Yılı
Türkiye	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	Ziraat Yüksek Mühendisi	2007
Türkiye	Ankara Üniversitesi	Bahçe Bitkileri	Ziraat Mühendisi	2003

İş Tecrübesi

Kurum	Ülke	Bölüm	Pozisyon	Yıl
Çanakkale Tarım ve Orman İl Müdürlüğü	Türkiye	Bitkisel Üretim ve Bitki Sağlığı Şubesi	Mühendis	2020-
Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü	Türkiye	Islah ve Genetik Bölümü	Araştırmacı	2011-2020
Geyikli Çok Programlı Lisesi	Türkiye		Ücretli Öğretmen	2008-2009
S.S.215 No'lu Ezine Zeytin ve Zeytinyağı Tarım Satış Kooperatifi (TARİŞ)	Türkiye		Zeytinyağı Eksperi	2008
S.S.Gerlengeç Köyü Tarımsal Kalkınma Kooperatifi-Biga	Türkiye		Tarım Danışmanı	2006-2007

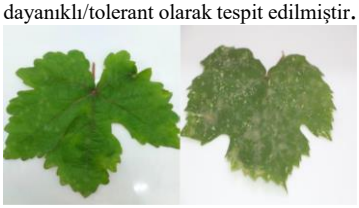
Araştırma Konuları

- Asma Islahı,
- Biyoteknoloji,
- Klon Seleksiyonu
- Yetiştirme Tekniği,

Adı Soyadı	**Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÇALKAN SAĞLAM**
Unvan	Zir. Yük. Müh.
Telefon/e-mail	
Çalıştığı Kurum	Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi (Emekli Öğretim Üyesi)
Doktora	
Üniversite Adı	Ege Üniversitesi
Akademik Birim/Mezuniyet Yılı	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri A.B.D./2005
Y.Lisans	
Üniversite Adı	Ege Üniversitesi
Akademik Birim/Mezuniyet Yılı	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri A.B.D./1998
Lisans	
Üniversite Adı	Ege Üniversitesi
Akademik Birim/Mezuniyet Yılı	Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Bölümü / 1994

7. EL BROŞÜR (LİFLET) ÖRNEĞİ

Külleme hastalığının moleküler markörlerle taranması sonucunda elde edilen allel büyüklükleri incelendiğinde, çalışmamızda toplamda 77 genotipten VMC9h4.2 markörü ile 11 adet genotip, UDV020a markörü ile 13 adet genotip, GF15-28 markörü ile 12 adet genotip, GF15-39 markörü ile 13 adet genotip, GF15-41 markörü ile 11 adet genotip külleme hastalığına potansiyel dayanıklı/tolerant olarak tespit edilmiştir.



Doğal koşullarda yürütülen külleme hastalığına ilişkin testlemelerde ise 97 genotipten olası Dayanıklı olarak 23 genotip, Duyarlı olarak 24 ve Çok Duyarlı olarak 50 potansiyel genotip belirlenmiştir. Melezlemelerden elde edilen genotiplerden 28, 36, 47 nolu genotipler hem çekirdeksiz hemde külleme hastalığına dayanıklı/tolerant aday genotip olarak tespit edilmiştir.



Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Süleyman Bey Mah. 77100-YALOVA

Telefon: 0 (226) 8142520-21
Faks: 0 (226) 8141146
e-posta:yalova.arastirma@tarimorman.gov.tr



T.C.
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI
Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

MELEZLEME ISLAHI İLE ÇEKİRDEKSİZ ÜZÜM ÇEŞİTLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Yeşim DOYĞACI
Dr. Özlem BOZTEPE
Dr. Gülhan GÜLBASAR KANDİLLİ
Dr. Abdulbaki ŞEN
Dr. Yılmaz BOZ
Dr. Zühtü POLAT
Doç Dr. Arif ATAK
Prof. Dr. Murat AKKURT
Tuğba Nur BEYAZTAŞ
Zeliha ORHAN ÖZALP
Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÇALKAN SAĞLAM

YALOVA-2024

Bu çalışmada, çekirdeksiz çeşitlerin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlardan elde edilen F_1 bireyler için embriyo kurtartma tekniği uygulanarak, uygun örnek alma zamanının belirlenmiştir.



Çalışmada ana ebeveyn olarak;
Yalova Çekirdeksizi, Crimson Seedless, Kismish Vatkana, Kismish Rozavyi, Exalta, Mars Seedless, Autumn Royal

Tozlayıcı olarak;
Yalova Çekirdeksizi, Crimson Seedless, Kismish Vatkana, Kismish Rozavyi, Exalta, Mars Seedless, Red Globe ve Muscat Bailey A çeşitleri kullanılmıştır.

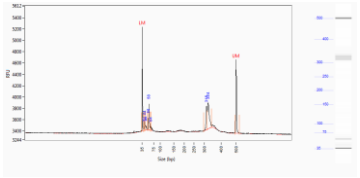
Tüm yıllardan elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, dişi ebeveyn olarak 'Yalova Çekirdeksizi' çeşidinin kullanıldığı kombinasyonların, hem gelişen embriyo yüzdesi hem de fide sayısı açısından diğer çeşitlerden daha iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.



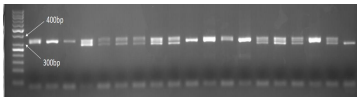
Tozlamadan sonraki hafta sayısına göre örnekleme zamanını belirlemek için yapılan çalışmalarda, yedinci ve sekizinci haftalar, tüm yıllarda diğer haftalara göre öne çıkan haftalar olarak belirlenmiştir.



Yapılan melezleme çalışmalarından elde edilen F_1 genotiplerin, moleküler markörler ile taranarak, çekirdeksiz, külleme hastalığına dayanıklı olan bireyler erken dönemde seleksiyonla tespit edilmiştir.



Çekirdeksizliğin belirlenmesi için 5U-*VviAGL11* SSR markörü ile yapılan taralamalarda 77 genotipten 21 adet genotip potansiyel çekirdeksiz olarak tespit edilmiştir.



8. PROJE SONUÇLARININ UYGULAMAYA AKTARILMA PLANI

Proje Adı:	Melezle Islahı ile Çekirdeksiz Üzüm Çeşitlerinin Geliştirilmesi

PSUP Hedefi:

- Proje sonunda toplamda embriyo kurtarma çalışması ile doksan yedi adet genotip elde edilmiştir.
- Çalışma sonunda ayrıca farklı yönleri ile ilerideki ıslah çalışmalarında yararlanılabilecek gen kaynakları elde edilmiştir.
- Çalışma sonunda elde edilen genotiplerin kalite parametrelerinin belirlenmesi süreci "Sofralık Üzüm Islahı'' projesi kapsamında yapılacaktır. Dolayısıyla buradan elde edilen tüm bitkiler belirtilen projeye materyal olarak aktarılacaktır.
- Uzun süren ıslah çalışmalarının biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılarak ıslah süresinin kısaltılılarak potansiyel çekirdeksiz ve külleme hastalığına dayanıklı/tolerant genotipler MDS ile belirlenmiştir.

ÇIKTILARIN UYGULAMAYA AKTARILMASI VE YAYGINLAŞTIRILMASI

- Proje sonuçları özetlenerek bölge üreticileri için broşür, liflet, çiftçi mektubu v.b. basılı materyaller haline getirilecek bölgedeki kamu ve özel yayım kuruluşları aracılığıyla üreticilere ulaştırılacaktır
- Hazırlanan proje sonuç raporu, ilgili tüm kurum ve kuruluşlarla paylaşılacaktır.
- Proje sonuçları Türkiye Bağcılık ve Teknolojileri Sempozyumu ve Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi'nde bildiri olarak sunulacaktır.

YÖNETİM DÜZENİ

Adı Soyadı	**Araştırmacıların Projeye Katkıları**		
	Yapılan Faaliyetlerdeki Sorumlulukları	**Projede Çalışma Süresi (Ay)**	**Katkı Oranı (%)**
Yeşim DOYĞACI	Klasik (Kombinasyon Islahı) Melezleme Çalışmaları, Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları, Bitkisel materyallerin bakımı, SSR Markör ile Çekirdeksizliğin ve Külleme Hastalığına Dayanıklılığın Belirlenmesi, Külleme hastalığının doğal koşullarda testleme çalışmaları Gelişme ve sonuç raporlarının yazımı	60	20
Dr. Özlem BOZTEPE	Klasik (Kombinasyon Islahı) Melezleme Çalışmaları, Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları, Bitkisel materyallerin bakımı, SSR Markör ile Çekirdeksizliğin ve Külleme Hastalığına Dayanıklılığın Belirlenmesi, Bitkisel materyallerin bakımı	50	14
Dr. Gülhan GÜLBASAR KANDİLLİ	Klasik (Kombinasyon Islahı) Melezleme Çalışmaları, Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları, Bitkisel materyallerin bakımı, Bitkisel materyallerin bakımı, Külleme hastalığının doğal koşullarda testleme çalışmaları, Gelişme ve sonuç raporlarının yazımı	50	14
Dr. Abdulbaki ŞEN	Klasik (Kombinasyon Islahı) Melezleme Çalışmaları, Bitkisel materyallerin bakımı, Gelişme ve sonuç raporlarının yazımı	50	13
Dr. Yılmaz BOZ	Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları, sonuç raporlarının yazımı	12	5
Dr. Zühtü POLAT	Külleme hastalığının doğal koşullarda testleme çalışmaları, sonuç raporlarının	12	5

	yazımı		
Doç.Dr. Arif ATAK	Klasik (Kombinasyon Islahı) Melezleme Çalışmaları, Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları, Bitkisel materyallerin bakımı, SSR Markör ile Çekirdeksizliğin ve Külleme Hastalığına Dayanıklılığın Belirlenmesi, sonuç raporlarının yazımı	48	13
Prof. Dr. Murat AKKURT	SSR Markır ile Çekirdeksizliğin ve Külleme Hastalığına Dayanıklılığın Belirlenmesi,	12	5
Tuğba Nur BEYAZTAŞ	Klasik (Kombinasyon Islahı) Melezleme Çalışmaları, Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları	12	5
Zeliha ORHAN ÖZALP	Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları	10	3
Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÇALKAN SAĞLAM	Embriyo Kurtarma Tekniği Çalışmaları	10	3

Sıra	Proje Çıktıları	Çıktıların Uygulamaya Aktarılma Mekanizmaları
1	Farklı çekirdeksiz X çekirdeksiz kombinasyonların melezlemelerinden elde edilecek melez genotiplerin embriyo kurtarma tekniği ile başarı oranları	Proje bulgularından oluşan embriyo kurtarma çalışmalarının verileri ile ‘ Embryo recovery(rescue) studies in different *Vitis* species’ isimli yayın BMC Plant Biology dergisinde yayınlanmıştır.
2	Elde edilebilecek yeni çekirdeksiz külleme hastalığına dayanıklı/tolerant üzüm çeşit adayları	Islah çalışmaları, özellikle çok yıllık bitkilerde uzun zaman almaktadır. Yürütülen 5 yıllık projede yalnızca bitkiler geliştirilmiş olup, süreç içerisinde genotiplerin hepsinde ürün görülemediğinden tüm genotiplerde kalite analizleri yapılamamıştır. Geliştirilen üzüm genotiplerinin kalite parametreleri açısından değerlendirilmesi çalışmaları “Sofralık Üzüm Islahı” isimli projede yapılacaktır. Detaylı değerlendirmeler neticesinde çekirdeksiz ve iri taneli yeni üzüm çeşitleri ortaya konmuş olacak, uygun görülenler tescile sunulacaktır.
3	Proje ile elde edilecek diğer genotipler	İlerideki melezleme çalışmalarında genetik kaynak olarak muhafaza edilmesini sağlayacaktır.
4	Sonuç Raporu	Hazırlanan proje sonuç raporu, ilgili tüm kurum ve kuruluşlarla paylaşılacaktır.
5	Broşür, liflet, çiftçi mektubu v.b. basılı materyaller	Enstitümüzde düzenlenecek bağcılık ile ilgili her türlü eğitim, toplantı, tarla günü v.b. etkinliklerde katılımcılara dağıtılacaktır.
6	Makale, Bildiri ve Yayınlar	Proje çalışmaları içerisinde elde edilen veriler ile makale ve bildiriler hazırlanarak ulusal veya uluslararası platformlarda paylaşılacaktır.

Adı Soyadı: Yeşim DOYĞACI
Görevi: Biyolog
Tarih: 31.12.2024
İmza: