



**BAZI ASMA GENOTİPLERİNDE MİLDİYÖ
HASTALIĞI ENFEKSİYON SEYRİ VE ÖNEMLİ
STİLBENLERİN BİRİKİMİ ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR**

Mehmet Fatih KUMAŞOĞLU

**Yüksek Lisans
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Nuray ÖZER
2020**

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI ASMA GENOTİPLERİNDE MİLDİYÖ HASTALIĞI ENFEKSİYON SEYRİ VE
ÖNEMLİ STİL BENLERİN BİRİKİMİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Mehmet Fatih KUMAŞOĞLU

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Nuray ÖZER

TEKİRDAĞ-2020

Her hakkı saklıdır.



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde eksiksiz biçimde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Mehmet Fatih KUMAŞOĞLU

İMZA



Bu tez NKÜBAP. tarafından NKUBAP.03.YL.19.224 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Prof. Dr. Nuray ÖZER danışmanlığında, Mehmet Fatih KUMAŞOĞLU tarafından hazırlanan “Bazı Asma Genotiplerinde Mildiyö Hastalığı Enfeksiyon Seyri ve Önemli Stilbenlerin Birikimi Üzerine Araştırmalar” başlıklı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından 16.07.2020 tarihinde Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Nuray ÖZER

İmza:

Üye : Prof. Dr. Mehmet Erhan GÖRE

İmza:

Üye : Doç. Dr. Nagehan Desen KÖYÇÜ

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç.Dr. Bahar UYMAZ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans

BAZI ASMA GENOTİPLERİNDE MİLDİYÖ HASTALIĞI ENFEKSİYON SEYRİ VE ÖNEMLİ STİLBENLERİN BİRİKİMİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Mehmet Fatih KUMAŞOĞLU

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuray ÖZER

Bu çalışmada 6 farklı asma genotipinin [lokal şaraplık Karasakız, lokal sofralık Müşküle, melez sofralık Tekirdağ Sultani (ItaliaXSuperior Seedless), salamuralık melezler 119, 154 ve 200 (NarinceXRegent)] *Plasmopara viticola* tarafından oluşturulan mildiyö hastalığına karşı dayanıklılıkları detaylı olarak incelenmiştir. Denemeler süresince koparılmış yaprakların alt yüzeyine etmenin sporangium süspansiyonunun damlatılması şeklinde inokulasyon yapılmıştır. Öncelikle inokulasyondan bir hafta sonra etmenin yapraklarda oluşturduğu sporulasyon alanı (mm²) stereomikroskopta ölçülmüş, sporulasyon alanına göre, 200 son derece dayanıklı (ER), Müşküle ve 154 yüksek düzeyde dayanıklı (HR), 119 dayanıklı (R), Karasakız hassas (S) ve Tekirdağ Sultani yüksek derecede hassas (HS) olarak değerlendirilmiştir. Lezyonlar üzerinde bulunan sporangium sayısı ile sporulasyon alanı arasında önemli derecede pozitif bir ilişki bulunmuştur. Floresan mikroskopta yapılan gözlemlerde inokulasyondan 48 saat sonra en düşük enfekteli stoma sayısı 200 no'lu genotipte belirlenmiş, bunu Müşküle ve 154 takip etmiştir. Etmenin vesikülü inokulasyondan 24 saat sonra tüm genotiplerin yapraklarında çimlenmiş ve primer hif oluşturmuştur, bununla birlikte 200 nolu genotipte inokulasyondan 48 saat sonra vesikülün çim borusundan uzayan hifi mezofilin hücrelerarası boşluklarına yayılmamıştır. Müşküle, 119 ve 154'de aynı sürede bu yayılma gerçekleşse de inokulasyondan 72 saat sonra etmenin gelişimi kısıtlanmıştır. Hassas genotiplerde ise inokulasyondan 72 saat sonra uzun dallanmış hiflere sahip patojen miselyum oluşturmuş ve damarlar arası boşlukları doldurmuştur. Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC)'de ölçümü yapılan üç stilben grubu bileşiğin (resveratrol, ε-viniferin ve pterostilben) miktarı inokulasyondan sonra artan zaman dilimlerinde dayanıklı genotiplerde önemli derecede artış göstermiştir. Resveratrolün miktarı değişen düzeylerde dayanıklı bulunan genotiplerde inokulasyondan 72 saat sonra yüksek miktarda bulunurken, bu sürede en yüksek ε-viniferin miktarı 200 (ER) nolu genotipte tespit edilmiştir. Müşküle (HR) ve 154 (HR) ise diğer dayanıklı genotiplere göre daha yüksek miktarda pterostilben içermiştir. Bu çalışma *P. viticola*'ya karşı dayanıklılıkları ilk kez test edilen Müşküle, 119, 154 ve 200'de patojenin enfeksiyonu süresince hastalığın ilerlemesini sınırlayan savunma mekanizmasının teşvik edildiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Plasmopara viticola*, asma yaprağı, dayanıklılık, resveratrol, viniferin, pterostilben

2020, 40 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

RESEARCHES ON INFECTION PROCESS OF DOWNY MILDEW DISEASE AND ACCUMULATION OF IMPORTANT STILBENES IN SOME GRAPEVINE GENOTYPES

Mehmet Fatih KUMAŞOĞLU

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Nuray ÖZER

In this study, the resistance of 6 different grapevine genotypes [local wine grape Karasakız, local table grape Müşküle, cross table grape Tekirdağ Sultani (ItaliaXSuperior Seedless), brined crosses 119, 154 and 200 (NarinçeXRegent)] to mildew disease caused by *Plasmopara viticola* was investigated in detail. During the experiments, inoculation was performed by dropping the sporangium suspension of the pathogen to the abaxial surface of detached leaves. The sporulation area (mm²) on leaves at a week after inoculation was first measured under a stereomicroscope, 200 was found as extremely resistant (ER), Müşküle and 154 as highly resistant (HR), 119 as resistant (R), Karasakız as sensitive (S) and Tekirdağ Sultani as highly sensitive (HS). A significant positive correlation was determined between the number of sporangium on the lesion and sporulation area. In the observation with a fluorescent microscope, the lowest number of infected stomata by pathogen at 48 hours after inoculation was determined in the genotype 200, Müşküle and 154 followed it. The vesicle of the pathogen germinated and developed primary hypha in the leaves of all genotypes at 24 hours after inoculation, however, in genotype 200, the primary hypha of vesicle did not spread into the intercellular spaces of the mesophyll at 48 hours after inoculation. Although this spread occurred at this process in Müşküle, 119 and 154, the development of the pathogen was restricted at 72 hours after inoculation. Pathogen with long branched hypha having many haustoria developed mycelia and covered the intercostal field in sensitive genotypes at 72 hours after inoculation. The amount of three stilbene compound (resveratrol, ϵ -viniferin and pterostilbene), which was measured in high pressure liquid chromatography (HPLC), significantly increased in resistant genotypes at increasing time periods after inoculation. The amount of resveratrol was found to be high in 72 hours after inoculation in genotypes which are resistant to pathogen at different level, while the highest amount of ϵ -viniferin was determined in genotype 200 (ER) during this period. Müşküle (HR) and 154 (HR) contained higher amounts of pterostilbene than that of other resistant genotypes. This study shows that the defense mechanism that limits the progression of the disease during the infection of the pathogen was induced in Müşküle, 119, 154 and 200 whose resistance against *P. viticola* was tested for the first time.

Key words: *Plasmopara viticola*, grapevine leave, resistance, resveratrol, viniferin, pterostilben

2020, 40 pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGE DİZİNİ	iv
ŞEKİL DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. Asma Genotipleri.....	13
3.1.2. İzolat.....	13
3.2. Yöntem	14
3.2.1. İnokulum Çoğaltılması	14
3.2.2. Dayanıklılık Testleri	16
3.2.3. Sporulasyonun Belirlenmesi.....	16
3.2.4. Mikroskopik Gözlemler.....	17
3.2.5. Önemli Stilbenlerin Belirlenmesi	18
3.3. Deneme Deseni ve İstatistik Analiz.....	18
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	19
4.1. <i>P. viticola</i> 'nın Yapraklarda Oluşturduğu Sporulasyon Alanı ve Sporangium Sayısı... 19	
4.2. <i>Plasmopara viticola</i> 'nın Yapraklardaki Enfeksiyon Süreci	20
4.2.1. Enfekteli Stoma Sayısı.....	21
4.2.2. <i>P. viticola</i> 'nın Yapraklarda Gelişme Dönemleri	22
4.3. <i>P. viticola</i> 'nın Enfeksiyonu Süresinde Yapraklarda Oluşan Stilben Grubu Bileşikler	22
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	30
7. KAYNAKLAR	32
8. EKLER.....	39
9. ÖZGEÇMİŞ.....	40

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 4.1. Farklı üzüm genotiplerinde inokulasyondan 7 gün sonra tespit edilen sporulasyon alanı ve lezyondaki sporangium sayısı	19
Çizelge 4.2. Etmenin inokulasyonundan sonraki farklı zaman aralıklarında farklı genotiplerin yapraklarındaki enfekteli stoma sayısı	21
Çizelge 4.3. Etmenin inokulasyonundan sonraki farklı zaman aralıklarında farklı genotiplerin yapraklarında gelişim dönemlerinin varlığı.....	24



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1.1. Mildiyö hastalığının yapraklar üzerinde oluşturduğu belirtiler.....	3
Şekil 3.1. Denemede kullanılan üzüm genotiplerinden örnekler	14
Şekil 3. 2. İnokulumun çoğaltılması işlemleri.....	15
Şekil 3.3. Dayanıklılık testleri	16
Şekil 3.4. Boyama işlemleri.....	17
Şekil 4.1. Tekirdağ Sultani ve 200 no'lu genotiplere ait yapraklarda oluşan sporulasyon alanları	20
Şekil 4. 2. Enfekteli ve sağlam stomalar	20
Şekil 4.3. <i>P. viticola</i> 'nın stomadan giriş yaptıktan sonraki gelişme dönemleri,	23
Şekil 4.4. Etmenin inokulasyonundan sonraki farklı zaman aralıklarında farklı genotiplerin yapraklarında belirlenen stilben grubu bileşikler	25

SİMGELER VE KISALTMALAR

μg	: Mikrogram
μm	: Mikrometre
μmol	: Mikromol
ml	: Mililitre
TA	: Taze ağırlık



TEŞEKKÜR

Bu çalışmamın gerçekleştirilmesinde iki yıl boyunca çalışmamın planlanmasından sonuçlanmasına kadar bana rehberlik eden, yol gösteren, her sorun yaşadığımda zamanını ayırıp yanımda olan ve kıymetli deneyimlerini benimle paylaşan, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen, tatil günlerinde bile benimle çalışan Sayın hocam Prof. Dr. Nuray ÖZER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda kullandığım salamuralık genotipleri temin eden Prof. Dr. Halil İbrahim Uzun'a, şaraplık ve sofralık genotipleri aldığımız Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü'ne ve Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü müdürü Sayın Dr. Cengiz ÖZER'e, çalışmamın birçok aşamasında yardımlarını esirgemeneyen ve her zaman destek olan yüksek lisans eğitimime birlikte başladığım arkadaşım Tuğçe GÜÇLÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım ve yüksek lisans eğitimi aldığım süre boyunca beni bugünlere getiren, desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen ailem, annem, babam ve canım kardeşime, minnet ve şükranlarımı sunarım.

Temmuz, 2020

Mehmet Fatih KUMAŞOĞLU
Ziraat Mühendisi

1. GİRİŞ

Asmanın veya üzümün milyonlarca yıllık geçmişinin var olduğu bilinmektedir. Milattan önce 3500 yıllarında bağın yeryüzünde oluşu yapılan araştırmalar ve arkeolojik çalışmalardan elde edilen fosiller ve taşlar üzerine yapılan kabartma üzüm resimlerinden anlaşılmaktadır (Kumral, 2010). Asmanın anavatanı Hazar Denizi'nin güneyi, Kafkasya ve Kuzey Doğu Anadolu yöreleri olarak bilinmektedir. Yapılan araştırmalara göre milyonlarca yıl önce asma dünyanın birçok yöresinde yetişmektedir (Çalkan Sağlam ve Sağlam, 2018).

Bağcılık dünyada tarımın en temel faaliyet kollarından birisi olup, üzüm taneleri sofralık, şaraplık ve kurutmalık olarak, yaprakları ise salamuralık olarak değerlendirilmektedir. Ülkemizle birlikte Orta Doğu ve Balkan ülkelerinde yaygın olan salamuralık genotiplerin yaprakları ülkemizde de sevilen dolma yapımında kullanılmaktadır (Doğan vd., 2015). Hem taze hem de salamura şeklinde kullanılan asma yaprağı düşük kalorili, yüksek miktarda diyet lif, kalsiyum, fosfor, fenolik bileşik, A, K1 ve C vitamini açısından oldukça zengindir. (El Nehir, Kavas ve Karakaya, 1997). Narince, Sultani Çekirdeksiz, Yapıncak ve Emir üzüm çeşitleri salamura asma yaprağı üretimi için daha uygundur. Türkiye'de son yıllarda salamura asma yaprağı üretimi ve tüketimi sürekli artmaktadır. Hazır gıda sektörü ve batı ülkelerinde son yıllarda yaprak dolmasına olan talep artmaktadır (Cangı ve Yağcı, 2017). Ülkemizde ayrıca üzüm suyu, papara, koruk suyu, pelverde, pekmez, köme, köfter, dilme, bastık, çek çek, rakı, konserve, sirke, turşu, tarhana, pestil, vb. gibi hiç bir ülkede görülemeyecek kadar farklı şekillerde de değerlendirilmektedir (Adınır, 2011)

Üzüm içeriğinde yüksek oranda şeker bulunması nedeniyle kalori değeri yüksek bir besin maddesidir. Ayrıca, kalsiyum, potasyum, sodyum ve demir gibi mineral maddeler yönünden zengin olduğu gibi, bazı vitaminler (A, B1, B2, Niasin ve C vitaminleri) yönünden de önemli bir kaynak olarak kabul edilmektedir (Çelik, Ağaoğlu, Fidan, Marasalı ve Söylemezoğlu, 1998).

Üzüm ve üzümde elde edilen gıdalar sağlıklı ve dengeli beslenmeye, özellikle büyüme çağındaki çocuk ve gençler için içeriğindeki zengin bileşimleriyle katkı sağlarlar. Son yıllarda analiz tekniklerinde olan gelişmeler ile birlikte üzüm ve üzümde elde edilen

ürünlerin bileşiminde sağlık açısından çok yararlı ve bazı rahatsızlıkları engelleyebilen yeni maddeler keşfedilmiştir. Bunlardan en önemlisi güçlü bir antioksidan olan fenol bileşikleridir ve özellikle siyah üzüm kabuğunda ve çekirdeklerde bulunur. Bu bileşiklerin kalp-damar rahatsızlıklarını önlediği, kötü kolesterolü düşürdüğü ve hatta fiziksel ve zihinsel yaşlanmayı geciktirdiği, yazılı ve görsel basındaki yayınlarda ön plana çıkmaktadır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2006).

Dünyada bağ üretimi yapan ülkeler arasında ülkemiz, 417.041 ha alan ile 4. sırada, 3.933.000 ton üzüm üretimi ile 6. sırada yer almaktadır (Food and Agriculture Organization. [FAO], 2018). Ülkemizde Doğu Anadolu Bölgesi'nin yüksek kısımları ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nin sahil kısmı hariç diğer bölgelerde bağcılık yapılmaktadır. Ege Bölgesi'nde çekirdeksiz sofralık üzüm, İç Anadolu Bölgesi ile Trakya Bölgesi'nde genellikle şaraplık üzüm, Marmara Bölgesi'nin diğer bölümlerinde sofralık üzüm yetiştirilmektedir (Çelik, 1998). Tekirdağ ilinde şaraplık üzüm üretim alanı 25.167 dekar, üretim miktarı 26.594 ton, sofralık üzüm üretim alanı ise 12.800 dekar, üretim miktarı ise 12.964 ton'dur (Türkiye İstatistik Kurumu [TUIK], 2019).

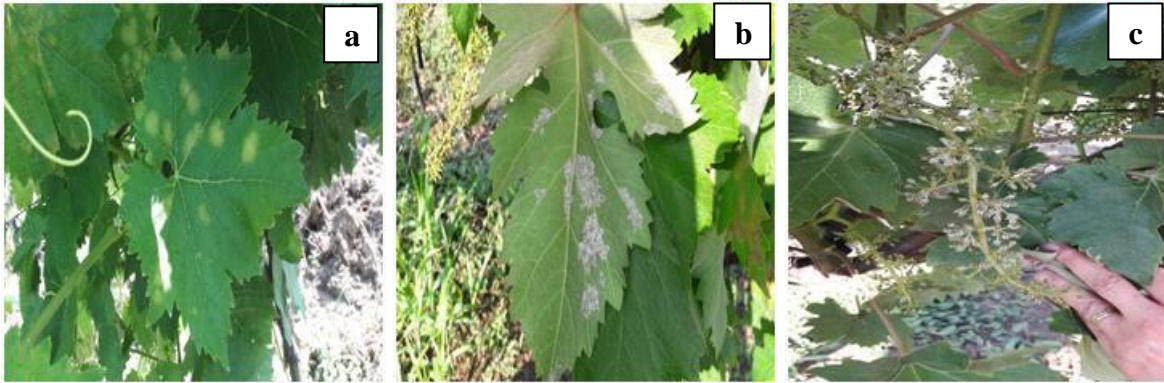
Bağcılık için elverişli bir iklimi ve konumu bulunan ülkemiz, zengin bir gen potansiyeline sahiptir. Ülkemizde, bağcılık için iklim koşullarının uygun olması çok geniş çeşit ve tip zenginliğini ortaya çıkarmıştır. Üzümlerde çekirdeksizlik, erkencilik, geçcılık, verim ve kalite yüksekliği çok önemli genetik karakterler olup, bu karakterler ilk defa Anadolu'nun lokal çeşitlerinde ortaya çıkmış ve yayılmıştır. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nca yapılan çeşit belirleme çalışmalarında ülkemizde 1200'ü aşkın üzüm çeşidi veya tipinin mevcut olduğu belirtilmektedir (Alsancak Sırlı vd., 2015)

Bağcılık önemli hastalıklar ile karşı karşıyadır. Bu hastalıklardan en fazla ekonomik kayba yol açan külleme, kurşuni küf, odun hastalıkları gibi dünyada da üzümlerde yaygın olarak görülen, *Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis Berl. & De Toni tarafından oluşturulan mildiyö hastalığıdır (Lafon ve Clerjeau 1988; Gessler, Pertot ve Perazzoli, 2011).

Obligat bir etmen olan *Plasmopara viticola*, Chromista alemi, Oomycota şubesi Oomycetes sınıfı, Peronosporales takımının Peronosporaceae familyasında *Plasmopara* cinsine ait bir türdür (Anonim, 2020a). *P. viticola* tarafından oluşturulan mildiyö hastalığı özellikle nemli iklim koşullarının olduğu yıllarda şiddetli epidemilere ve önemli verim

kayıplarına neden olmaktadır. Patojen obligat bir parazit olup, sporangiumlarından çıkan zoosporları yapraklardaki stomaların yakınına doğru hareket etmekte, çimlenmekte ve 20°C’de 3 saat içinde stomalardan giriş yapmaktadır (Gessler vd., 2011). Uygun iklim koşullarında salkımlara da geçerek çiçek ve salkım kurumalarına neden olmaktadır.

Mildiyö tüm yeşil aksamda görülür. İlk belirtiler etmenin enfeksiyonundan 5-7 gün sonra meydana gelir. Etmen yaprakların üst yüzeyinde yağ lekeli benzeri lekeler oluşturur (Şekil 1.1 a), yaprakların alt yüzeyinde etmenin sporangium ve sporangioforlarından oluşan keçemsi beyaz bir örtü görülür (Ash, 2000) (Şekil 1.1 b). Çiçeklerde enfeksiyon geliştiğinde çiçekler kısa zamanda kurur ve dökülürler. Salkımlar seyrek taneli olurlar. Taneler küçükken hastalığa karşı hassastır ve erken dönemde sporulasyon oluşabilir (Şekil 1.1 c), olgunlaştıkça hastalığa karşı dayanıklılıkları artar. Hastalıklı taneler su kaybederek buruşurlar. Buruşan taneler beyaz taneli asma çeşitlerinde koyu renge, renkli çeşitlerde ise lacivertimsi renge döner. Hastalık yaprak dökülmesi ile birlikte, üzümde kalite kaybı ve ürünün tamamen yok olması ve genç sürgünlerde zayıflama ve ölüme kadar giden belirtilere de neden olabilmektedir (Selim, 2013).



Şekil 1.1. Mildiyö hastalığının yapraklar üzerinde oluşturduğu belirtiler (a), yaprak altındaki sporulasyon (b) ve taneler üzerindeki sporulasyon (c)

Hastalığın nemli iklim koşullarına sahip bölgelerde hemen her yıl görülmekte ve kontrolünde yoğun olarak fungisitler kullanılmaktadır. Kullanılan fungisitler arasında phenylamide, strobilurin, cymoxanil, phosphonate ve dithiocarbamate etkili maddeler

bulunmakla birlikte, etmen birçok fungusite karşı dayanıklılık kazanmış durumdadır (Blum, Waldner ve Gisi, 2010; Chen vd., 2007; Gisi, 2002; Matasci, Gobbin, Sharer, Tomm ve Gessler, 2008) ki bu da etmenin kimyasal kontrolünü önemli derecede kısıtlamaktadır. Ayrıca fungusitlerin bilinçsizce kullanımı sonucu ortaya çıkan kalıntı problemi de insan sağlığı için önemli bir tehlike oluşturmaktadır. Bu nedenle çok sayıda fungal hastalığın kontrolünde olduğu gibi bağda mildiyö hastalığına karşı alternatif mücadele olarak dayanıklı genotiplerin kullanımı büyük önem taşımaktadır. Söz konusu hastalığa karşı dayanıklılığın belirlenmesi uzun yıllardır etmenin yapraklara suni inokulasyonu yoluyla belirlenmekte, patojenin gelişimi için optimum koşulları sağlaması ve pratik olması açısından daha ziyade koparılmış yapraklar kullanılmakta ve bu testlerle elde edilen sonuçların sera ve tarladan elde edilen sonuçlarla son derece uyumlu olduğu bildirilmektedir (Bellin vd., 2009; Boso, Martínez, Unger ve Kassemeyer, 2006; Boso, Alonso-Villaverde, Gago, Santiago ve Martínez, 2014; Caddle-Davidson, 2008; Calon nec vd., 2013; Gaforio, Cabello, F. ve Muñoz Organero, 2015; Marchive vd., 2013; Projongiai, Poolsawat, Pornbungkerd, Wongkaew ve Tantasawatt, 2014; Zyprian vd., 2016). Bu çalışmalarda hastalık değerlendirilmelerinde farklı skalalar kullanılmış, sporangium sayımları yapılmış ya da enfekteli yaprak alanı yüzdesi belirlenmiştir. Son yıllarda ise özellikle skala ile değerlendirmelerin gözlemciye bağlı olarak değişebildiği ve böylelikle farklı sonuçların ortaya çıkmasına neden olduğu için sporulasyon alanı yazılım programı kullanılarak mm² olarak ölçülmektedir (Bove, Baveresco, Caffi ve Rossi, 2019; Bove ve Rossi, 2020).

Islah programları çerçevesinde elde edilen genotiplerin mildiyö hastalığına karşı reaksiyonlarının belirlenmesinde sporulasyon düzeyinin yanı sıra konukçu patojen ilişkileri dikkate alınarak yapılan değerlendirmeler dayanıklılık düzeyinin daha detaylı olarak ortaya çıkarılmasını sağlamaktadır. Bu bağlamda hastalık etmeninin stomalardan giriş yapmasından itibaren gelişim aşamaları ve stilben gurubu fitoaleksinlerin oluşum düzeyi önemli kriterlerdir.

Hastalık etmeni hassas genotipin yapraklarının stomalarından giriş yaptıktan 2-4 saat sonra enfeksiyon başlamakta, 72 saat sonra haustoryumlar, 96 saat sonra sporangiforlar oluşmakta, dayanıklı genotipte ise inokulasyondan 24 saat sonra çim tüpü oluşmakta ancak stomaların kapanması nedeniyle sporulasyon durmaktadır (Alonso-Villaverde, Voinesco, Viret, Spring ve Gindro, 2011; Gindro, Pezet ve Viret, 2003).

Asma yapraklarındaki stoma sayısı çevre koşullarına ve genotiplere göre değişmekle birlikte (Rogiers, Hardie ve Smith, 2011), stoma sayısı ile mildiyö enfeksiyonu arasında pozitif bir ilişki olduğu ve etmenin stomalardaki gelişme evrelerinin belirlenmesinin dayanıklılıkta önemli bir kriter olduğu bildirilmektedir (Gindro vd., 2003; Gindro, Spring, Pezet, Richter ve Viret, 2006; Gómez-Zeledón, Kaiser, M. ve Spring, O., 2017; Kortekamp, Wind ve Zyprian, 1998; Paolocci, Muganu, Alonso-Villaverde ve Gindro, 2014; van Leeuwen, Roby, Alonso-Villaverde ve Gindro, 2013).

Asmada mildiyöye karşı dayanıklılıkta biomarker olarak nitelendirilen stilben grubu fitoaleksiner, Vitaceae familyasında bulunan bitkilerde biyotik ve abiyotik streslere karşı savunma bileşikleri olarak görev yapmaktadırlar (Langcake, 1981). Stilbenler *P. viticola*'nın miselyum gelişimini, sporangiumdan zoospor çıkışını baskı altına almakta ve bu bileşiklerin birikimi dayanıklı olanlarda hızlı bir şekilde olurken hassas genotiplerde gecikmektedir (Pezet, Gindro, Viret ve Richter, 2004a, Pezet, Gindro, Viret ve Spring, 2004b). Stilbenler arasında ilk önce tanımlanan bileşik resveratrol'dür (Bounassisi vd., 2017). Bununla birlikte Avrupa kökenli asma genotiplerinde yapılan çalışmalar resveratrol ve diğer stilben grubu bileşik olan piceid'in hassas genotiplerde artış gösterdiğini dayanıklı olanlarda resveratrolün viniferinlere ve pterostilbene dönüştüğünü (Alonso-Villaverde vd., 2011; Gindro vd., 2006; Paolocci vd., 2014; Pezet vd., 2004a), viniferinler ve pterostilbenin miktarı ile hastalık şiddeti arasında negatif bir ilişki olduğunu (Bellow, Latouche, Brown, Poutaraud ve Cerovic, 2012; Malacarne vd., 2011; van Leeuwen vd., 2013) göstermiştir. Bu nedenle stilben grubu bileşiklerin belirlenmesine yönelik çalışmalarda daha ziyade viniferinler ve pterostilbenin varlığı üzerinde durulmuştur. Son yıllarda yapılan bir çalışmada ϵ -viniferinin δ viniferinden daha önce kendisini gösterdiği tespit edilmiş (Chitarrini vd., 2017), bazı araştırmacılar (Wang, Wu, Zhang ve Lu, 2018) ϵ -viniferin ve pterostilben üzerinde durmuştur. Nitekim resveratrol'ün ϵ -viniferine dimerizasyonunda, dayanıklılıkta rol oynayan peroksidaz enziminin (Fröbel, Dudenhöffer, Töpfer ve Zyprian, 2019), pterostilbene dönüşümünde ise kinazların (Vezzuli vd., 2019) rol oynadığını bildirilmektedir.

Ülkemizde bulunan bazı üzüm genotiplerinin mildiyö hastalığına karşı dayanıklılığına yönelik çalışmalar bulunmakla birlikte (Atak 2017, Atak vd. 2017a, Mermer-Doğu, 2019; Yıldırım, Atak ve Akkurt, 2019) etmenin farklı genotiplerde gösterdiği enfeksiyon sürecine ilişkin bir araştırma ile karşılaşılmamıştır. Yine mildiyö enfeksiyonundan sonra yapraklarda bazı fenolik bileşiklerin (gallik asit, rutin hidrat ve klorogenik asit) tespiti ile ilgili az sayıda

Çalışma bulunmakta (Atak, Göksel ve elik 2017b; Atak ve Göksel, 2019) olup, etmenin enfeksiyon aşamalarının ve önemli stilbenlerin (ϵ -viniferin ve pterostilben) asma genotiplerinde belirlenmesine yönelik bir çalışma ile karşılaşılamamıştır.

Bu tez çalışması kapsamında, bazı lokal (Karasakız ve Müşküle) genotipler ile birlikte melez (Tekirdağ Sultani, 119, 154 ve 200 no'lu) genotiplerin *P. viticola*'ya karşı dayanıklılık düzeylerini belirlemektir. Çalışmada ayrıca genotiplerin dayanıklılık düzeyleri ile etmenin belirli zaman aralıklarında gelişim süreci ve savunmada önemli rol oynayan bazı stilben grubu bileşiklerin birikiminin ortaya konması amaçlanmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bağda farklı skalaların kullanımı, sporangium sayımı, enfekteli alan yüzdesinin belirlenmesi ya da sporulasyon alanının ölçülmesi gibi kriterler dikkate alınıp, etmenin yapraklara inokulasyonundan 6-9 gün sonra, *P. viticola*'ya dayanıklılığın belirlenmesine yönelik çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Bellin vd., 2009; Boso vd., 2006; Boso vd., 2014; Bove vd., 2009; Bove ve Rossi, 2020; Caddle-Davidson, 2008; Calonnec vd., 2013; Gaforio vd., 2015; Marchive vd., 2013; Projongiai vd., 2014; Zyprian vd., 2016). Bununla birlikte çalışmamızda etmenin enfeksiyon süreci ve önemli stilbenlerin oluşumu dikkate alındığından, kaynak özetlerinde rutin dayanıklılık çalışmalarından ziyade tez konusu ile ilgili kaynaklar kronolojik sıraya göre açıklanmıştır.

Pezet vd. (2003), hassas üzüm çeşidi Chasselas yapraklarına mildiyö etmeni *P. viticola*'nın inokulasyonundan bir hafta sonra alınan yaprak örneklerinde, trans δ -viniferinin en yüksek miktarda (155.68 $\mu\text{g/g}$ taze ağırlık-bundan sonra TA olarak verilecektir) bulunduğunu bunu trans ε -viniferin (86.61 $\mu\text{g/g}$ TA)'in izlediğini bildirmektedirler.

Pezet vd. (2004a), resveratrol, viniferinler ve pterostilbenin zoospor çimlenmesi hassas Chasselas ve dayanıklı Solaris genotiplerinde hastalık oluşumu üzerine etkisi konusunda gerçekleştirdikleri çalışmalarında, zoospor çimlenmesine en yüksek oranda toksik etki gösteren bileşikler sıralandığında ilk sırayı δ -viniferinin aldığını bunu pterostilben ve ε -viniferinin izlediğini, resveratrolün çok düşük toksik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Hastalık oluşumunu engelleme yönünden ise, pterostilben ilk sırayı almış, δ -viniferin ve ε -viniferinin sırasıyla ikinci ve üçüncü sırada yer almıştır. Hassas ve dayanıklı genotiplerin yapraklarında söz konusu bileşiklerin konsantrasyonu incelendiğinde, dayanıklı genotipte özellikle inokulasyondan 24, 48 ve 72 saat sonra tüm stilben grubu bileşiklerin miktarı (saatler için sırasıyla resveratrol: 10.39, 762.92, 407.42 $\mu\text{mol/TA}$; ε -viniferin: 0.41, 61.75, 268.86 $\mu\text{mol/TA}$; pterostilben: 0, 0, 0.177 $\mu\text{mol/TA}$) hassas genotipe göre yüksek -olmuş, hassas genotipte pterostilben tespit edilmemiştir.

Pezet vd. (2004b), 9 adet asma genotipine ait yaprak disklerine *P. viticola*'yı püskürtme yoluyla inokulasyon yaparak 6 gün sonra sporangium sayımı yapılmış, yine tüm yaprağa damlatma yoluyla inokulasyon yaparak, inokulasyondan 4, 7, 24 ve 48 saat sonra önemli stilbenlerin varlığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar dayanıklı genotipler olan

Bronner, Solaris, ve IRAC 2091'de sporulasyonun oluşmadığını, hassas genotiplerden Chasselas, Gamay, Gamaret'de yoğun sporulasyon meydana geldiğini ve Pinot Noir, Seyval Blanc ve Johanniter'de orta düzeyde sporulasyon oluştuğunu bildirmektedirler. Çalışmada, inokulasyondan 4, 7 saat sonra resveratrolün hassas ve dayanıklı genotiplerde bulunabildiği, viniferinlerin az miktarda oluştuğu, 24 saat sonra hassas genotiplerin yüksek miktarda piceide içerdiği, bununla birlikte dayanıklı genotiplerde yüksek miktarda ϵ -viniferin ve δ -viniferinin oluştuğu, 48 saat sonra hassas genotipler olan Chasselas ve Gamay'da yüksek miktarlarda piceide ve düşük konsantrasyonda viniferinlerin oluştuğu, dayanıklı olanlarda ise özellikle ϵ -viniferinin yüksek miktarda olduğu (230 $\mu\text{mol/TA}$) tespit edilmiştir. Yine daha az hassas olan Seyval Blanc ve Johanniter genotiplerinde yüksek düzeyde hassas genotiplere göre daha fazla miktarda viniferinlerin oluştuğu ileri sürülmektedir.

Gindro vd. (2006), 42 asma çeşidinin, *P.viticola*'ya karşı dayanıklılığını, patojenin sporangium süspansiyonunu çeşitlere ait yaprak disklerine püskürtme yoluyla inokule ettikten 6 gün sonra sporangium yoğunluğu, 48 saat sonra stomada kaloz birikimi, δ -viniferin ve ϵ -viniferinin düzeyini tespit ederek test etmişlerdir. Araştırmacılar 42 çeşidi sporangium yoğunluğuna göre çok dayanıklı, dayanıklı, az hassas, hassas ve çok hassas olarak gruplamışlardır. Sonuç olarak çalışmada çok dayanıklı çeşitlerde stomada kaloz birikiminin ve ϵ -viniferinin miktarının oldukça yüksek olduğunu (>100 $\mu\text{mol/mg TA}$) bunu δ -viniferinin izlediğini (>80 $\mu\text{mol/mg TA}$) bildirilmekte ve bu tür testlerin ıslah çalışmalarında sürenin azalmasına katkıda bulunacağı ileri sürülmektedir.

Jürges, Kassemeyer ve Dürrenberger (2009), Avrupa'ya ait *Vitis vinifera* Müller-Thurgau, *Vitis sylvstris* Ketsch (yabani), Asya'ya ait *Vitis amurensis* (Sibirya), *Vitis coignetiae* (Kore), *Vitis ficifolia* (Japonya), *Vitis quinquangularis* (Çin Cumhuriyeti), *Vitis Jacquemontii* (Pakistan) ve Kuzey Amerika türlerinden *Vitis ruperstris*, *Vitis riparia*, *Vitis californica* ayrıca *Vitis vinifera* melezlerinden Merzling ve *Vitis vinifera* Amerikan türlerinden oluşan melezleri kullanarak *Vitis* türleri ile *P. viticola* arasındaki konukçu patojen ilişkilerini incelemişlerdir. Çalışmada patojene ait inokulum hassas genotip Müller-Thurgau'da çoğaltılmış diğer *Vitis* türlerinin yapraklarından yaprak diski alınarak, püskürtme yoluyla inokulasyon gerçekleştirilmiş, aniline blue ile boyama yapılarak mezofil dokusunun kolonizasyonu floresan mikroskopta, acridine orange ile boyama yapılarak elektron mikroskopunda stoma bekçi hücrelerinin morfolojisi incelenmiştir. Araştırmacılar Kuzey Amerika ve Sibirya'ya ait türlerde fungus gelişiminin engellendiğini, Avrupa'ya ait türlerde

etmen tarafından kolonizasyonun yüksek olduğu Müller-Thurgau ve yabancı Avrupa *Vitis sylvestris* (Ketsch) hariç diğer yabancı türlerde miselyumun bekçi hücreleri boyunca stomaya giriş yapmadığını bununda bu türlerde ki savunma genlerinin etkisiyle ortaya çıktığını belirtmektedirler.

Unger, Bueche, Boso ve Kassemeyer (2007), dayanıklılığın belirlenmesinde enfekteli stoma sayısının önemli olduğunu bildirmekte ve inokulasyondan sonra patojenin gelişim sürecinin dayanıklı ve hassas genotiplerde farklılık gösterdiğini belirtmektedirler. Araştırmacılar hassas genotiplerde patojenin gelişim sürecinin 6 farklı dönemde olduğunu tespit etmişlerdir ve bunlardan S1’de inokulasyondan 6 saat sonra hif oluşumu olmadan vesikül oluştuğunu, S2’de vesikülden hızlı bir şekilde çimlenip hif oluştuğunu (bu dönemde inokulasyondan 6 saat sonra oluşmaktadır), S3’de inokulasyondan 24-30 saat sonra vesikülden uzayan hifin mezofil tabakasının hücreler arası boşluklarına ulaştığını, S4’de inokulasyondan 42-48 saat sonra dallanan ve hücreler arası boşluklara yayılan ve çok sayıda haustoryumu olan hifin oluştuğunu, S5’de 72 saat sonra hiflerden miselyumun oluştuğunu, S6’da 96 saat sonra damarlar arası alanların miselyum ile dolduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada dayanıklı genotiplerde dönemler arası geçişin yavaş seyrettiği S5 döneminin de daha az yoğun görüldüğü ileri sürülmektedir. Godard, Siacanin, Viret ve Gindro (2009), Unger vd. (2007)’nin metodunu kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmalarında, hassas genotiplerde yukarıda adı geçen dönemlerden S1’in inokulasyondan 15 saat sonra, S2’nin 24 saat, S3’ün 48 saat sonra S4 ve S5 dönemlerinin 72 saat sonra oluştuğunu 7 gün sonra ise yaprağın alt yüzeyinde gözle görülebilir sporulasyon meydana geldiğinin bildirmektedirler.

Alonso-Villaverde vd. (2011) bir adet hassas (Chasselas), iki adet dayanıklı (Solaris: Merzang x (Asperavi severneyiXMuscat Ottanel), IRAC 2091: GamaretXBronner) *V. vinifera* çeşidi ve *P. viticola*’ ya total dayanıklılık gösteren *Muscadina rotundifolia*’da hücresel düzeyde enfeksiyonun ilerlemesini ve stilben grubu fitoaleksinlerin birikimini incelemişlerdir. Çalışmada etmenin sporangium süspansiyonu koparılmış yapraklara püskürtme yoluyla inokule edilerek, inokulasyondan 6 gün sonra sporangium sayımları yapılmıştır. Stilben grubu fitoaleksinlerin tespiti ve elektron mikroskop incelemeleri için koparılmış yapraklara sporangium süspansiyonunu damlatma yoluyla inokulasyon gerçekleştirilmiş, inokulasyondan 24 ve 72 saat sonra elektron mikroskopunda incelemeler yapılmış, 24, 48 ve 72 saat sonra stilben grubu fitoaleksinlerin miktarı belirlenmiştir. Araştırmacılar hassas çeşit Chasselas’da enfeksiyon sürecinin hızlı bir şekilde tamamlandığını, dayanıklı çeşitlerde vesikülde şekil

bozukluğu, az sayıda haustoryum oluşumu veya haustoryumda bozulma şeklinde patojen enfeksiyonunu kısıtlayan durumların ortaya çıktığını, *M. rotundifolia*'da ise vesikül oluşumunun dahi görülmediğini bildirmektedirler. Çalışmada dayanıklı çeşit Solaris'te resveratrol, δ -viniferin ve ϵ -viniferinin teşvik edildiği ancak, ϵ -viniferinin en yüksek miktarda (200 $\mu\text{mol/mg TA}$) üretildiği, IRAC 2091'de ise 72 saat sonra pterostilbenin en yüksek miktara ulaştığı (120 $\mu\text{mol/mg TA}$), *M. rotundifolia*'da ise tüm fitoaleksinlerin dayanıklı çeşitlerde bulunandan 22-32 kez yüksek olduğu bildirilmektedir.

Malacarne vd. (2011), Merzling (*V. vinifera* X *V. rupestris* ve *V. lincecumii*) X *V. vinifera* cv. Teroldego melezlemesinden oluşan 106 genotipi sera koşullarında *P. viticola* ile inokule ettikten 10 gün sonra % sporulasyon alanını belirleyerek ve OIV (The International Organization of Vine and Wine) 452 (Anonim, 2009) skalasını kullanarak gruplara ayırmışlar, inokulasyondan 6 gün sonra HPLC-DAD-MS'de stilben grubu bileşiklerin miktarını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar 106 genotipten 18'inin yüksek düzeyde, 66'sının düşük düzeyde stilben grubu bileşikler ürettiğini, 22'sinin ise söz konusu bileşikleri üretmediklerini bildirmektedirler. Yüksek düzeyde stilben grubu bileşikleri üretenlerde (en düşük şiddette sporulasyon gösterenler) resveratrol, ϵ -viniferin ve pterostilben miktarı sırasıyla 3.18-27,93 $\mu\text{g/g TA}$ (13.92-122.27 $\mu\text{mol/mg TA}$), 1.50-14.1 $\mu\text{g/g}$ (3.30-30.83 $\mu\text{mol/mg TA}$) ve 0.10-4.29 $\mu\text{g/g}$ (0.39-16.74 $\mu\text{mol/mg TA}$) arasında değişmiştir. Düşük düzeyde stilben grubu bileşik üreten (yüksek sporulasyonlu) genotiplerde sadece resveratrol [1.50-14.1 $\mu\text{g/g TA}$, (3.30-30.83 $\mu\text{mol/mg TA}$)] üretimi görülmüş diğerlerine rastlanmamıştır.

Vrhovsek vd. (2012), Malacarne vd. (2011) in kullandığı genotiplerden üçünü (F1 genotip 21/122, F1 genotip 21/123, Merzling) seçerek sera koşullarında inokulasyondan 48 saat ve 6 gün sonra farklı stilben grubu bileşikleri belirlemişlerdir. Araştırmacılar, HPLC ve DAD-MS de yaptıkları ölçümlerde dayanıklı genotiplerde 48 saat sonra resveratrol, ϵ -viniferin ve pterostilbenin sırasıyla 1.7 $\mu\text{g/g}$ (7.44 $\mu\text{mol/mg TA}$), 11.1 $\mu\text{g/g TA}$ (24.42 $\mu\text{mol/mg TA}$) ve 0.9 $\mu\text{g/g}$ (3.51 $\mu\text{mol/mg TA}$) miktarlarında bulunduğunu, hassas genotiplerde üç bileşiğinde bulunmadığını bulunduğunu bildirmişlerdir.

Van Leeuwen vd. (2013), 10 adet mildiyöye dayanıklı Cabernet Frank klonlarının koparılmış yapraklarına patojenin sporangium süspansiyonunu damlatma yoluyla inokulasyon yaparak 72 saat sonra stilben grubu bileşiklerin tayinini yaprak disklerine püskürtme yoluyla inokulasyon yaparak 7 gün sonra sporangium sayısını belirlemişlerdir. Araştırmacılar

sporulasyonun en düşük olduğu klonda δ -viniferinin en yüksek miktarda (13.4 $\mu\text{g/g}$) olduğunu bunu ϵ -viniferin [11.8 $\mu\text{g/g}$ TA (25.96 $\mu\text{mol/mg}$ TA)]'in izlediğini bildirmektedirler.

Paolocci vd. (2014), 5 asma genotipine (Aleatiro, Canaido nero, Romanesco, Trebbiana giallo ve Terebbiano toscano) ait koparılmış yapraklar üzerine patojenin sporangium süspansiyonunu püskürtme yoluyla inokulasyon yaparak 7 gün sonra sporulasyon alanı yüzdesini, damlatma yoluyla inokulasyon yaparak 24, 48 ve 72 saat sonra enfekteli stoma sayısını ve 72 saat sonra stilben grubu bileşiklerin miktarını belirlemişlerdir. Çalışmada en düşük enfekteli alan yüzdesi, enfekteli stoma sayısı Trebbiana giallo'da belirlenmiştir. Araştırmacılar inokulasyondan 48 saat sonra patojenin Trebbiana giallo hariç tüm genotiplerde benzer gelişme gösterdiğini, 72 saat sonra Trebbiana giallo ve Romanesco' da gelişimin oldukça yavaşladığını ancak δ -viniferin ve ϵ -viniferinin düşük miktarda görüldüğünü pterostilbenin ise sadece Romanesco'da ancak yine düşük miktarda olduğunu bildirmektedirler.

Chitarrini vd. (2017), mildiyöye dayanıklı Bianca genotipinde, dayanıklılık belirleyicisi olan bileşik epid (LC-MS/MS ile), fenol (LC-MS/M ile) primer bileşikler ve uçucu bileşiklerin (GC-MS ile) varlığını incelemişlerdir. Araştırmacılar, patojeni yaprak disklerine damlatma yoluyla inokule etmişler ve 12, 24, 48 ve 96 saat sonra sözü edilen bileşik gruplarının varlığını belirlemişlerdir. Çalışmada test edilen ϵ -viniferinin miktarının inokulasyondan 12, 24, 48 ve 96 saat sonra artış göstererek [sırasıyla 0.50 $\mu\text{g/g}$ TA (1.10 $\mu\text{mol/mg}$ TA), 1.06 $\mu\text{g/g}$ TA (2.33 $\mu\text{mol/mg}$ TA), 3.63 $\mu\text{g/g}$ TA (7.98 $\mu\text{mol/mg}$ TA), 4.48 $\mu\text{g/g}$ TA (9.85 $\mu\text{mol/mg}$ TA)] biriktiği, yine resveratrolün özellikle 96 saat sonra artış gösterdiği [sırasıyla 1,67 $\mu\text{g/g}$ TA (7.31 $\mu\text{mol/mg}$ TA), 0.65 $\mu\text{g/g}$ TA (2.85 $\mu\text{mol/mg}$ TA) , 0.86 $\mu\text{g/g}$ TA (3.76 $\mu\text{mol/mg}$ TA), 2.04 $\mu\text{g/g}$ TA (8.92 $\mu\text{mol/mg}$ TA)] belirtilmektedir $\mu\text{g/g}$ TA (25.96 $\mu\text{mol/mg}$ TA).

Wang vd. (2018) mildiyöye hassas, *V. vinifera*, Thompson Seedless ve bağışık *Muscadinia rotundifolia* Noble genotiplerinin yapraklarına patojeni püskürtme yoluyla inokulasyondan 2, 12, 24, 72 saat 5 ve 8 gün sonra bazı stilben gurubu bileşiklerin varlığını UPLC-ES/MS/MS' de belirlemişlerdir. Araştırmacılar resveratrol'ün bağışık *M. rotundifolia* Noble'da 12 saat sonra en yüksek düzeye [1.45 $\mu\text{g/g}$ TA (6.35 $\mu\text{mol/mg}$ TA)] ulaştığını sonraki günlerde biraz azaldığını, pterostilbenin 5 gün sonra en yüksek düzeye [0.018 $\mu\text{g/g}$

TA, 0.07 µmol/mg TA)], ε-viniferinin 8. günde en yüksek düzeye [0.080 µg/g TA(0.18 µmol/mg TA)] ulaştığını, hassas Thompson Seedless'de ise üç bileşiminde çok daha düşük miktarda olduğunu bildirmektedirler. Çalışmada ayrıca Noble'da salisilik asit, metil jasmonat ve absisik asit gibi fitohormonların miktarının arttığı, stilben birikiminin fitohormonlar tarafından düzenlendiği ileri sürülmektedir.

Vezzuli vd. (2019), dayanıklı genotiplerde stilben üretimi ile ilgili genlerin varlığını incelemişlerdir. Araştırmacılar mildiyöye dayanıklılık düzeyi ve stilben birikimindeki farklılık gösteren Rpv3-3 +/- genotiplerindeki 11 genin analizi ile stilben biyosentezinin genetik kontrolünün mümkün olabileceğini ileri sürmektedirler.

Ülkemizde bazı farklı genotiplerin mildiyö hastalığına karşı reaksiyonlarının değerlendirilmesine yönelik az çalışma bulunmaktadır. Bunlardan üçünde (Atak, 2017; Atak vd., 2017 a; Yıldırım vd., 2019) serada bulunan bitkilerin yaprak altlarına etmenin sporangium süspansiyonu 5-6 gün aralıklarla iki kez püskürtülmüş, değerlendirmeler görsel skalaya göre yapılmış, *V. labrusca*'ya ait genotiplerin etmene karşı dayanıklılık gösterdiği bildirilmiştir. Diğerinde ise koparılmış yapraklara ve yaprak disklerine sporangium süspansiyonunu damlatma yoluyla inokulasyon yapılmış (Mermer-Doğu, 2019), yine görsel skala kullanılarak değerlendirmeler gerçekleştirilmiş, Çavuş ve Isabella genotipleri son derece dayanıklı bulunmuştur.

Mildiyöye karşı dayanıklılıkta fenolik maddelerin rolü ile ilgili az sayıda araştırma bulunmaktadır. Atak vd. (2017b), yılında yaptıkları çalışmada 21 farklı genotipi sera koşullarında inokule ederek, 45 gün sonra yapraklara fenolik maddelerden gallik asit ve rutin hidratın miktarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar en yüksek gallik asit ve rutin hidrat miktarının etmene karşı dayanıklılık gösteren, sırasıyla *Vitis rotundifolia* (Supargate) ve *Vitis vinifera* (Red Globe)'da belirlendiğini dayanıklılık ile fenolik madde miktarı arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar daha sonraki yılda yaptıkları çalışmalarında (Atak ve Göksel, 2019) 2 adet *V. labrusca*, 11 adet *V. vinifera* genotipini sera koşullarında mildiyö ile inokule ettikten 1 ay sonra yapraklarda fenolik maddelerden chlorogenic asit ve rutin hidratın miktarını belirlemişlerdir. Çalışmada Fx1-1 genotipinin hem mildiyöye dayanıklı hem de her iki fenolik maddeyi en yüksek oranda içerdiği bildirilmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

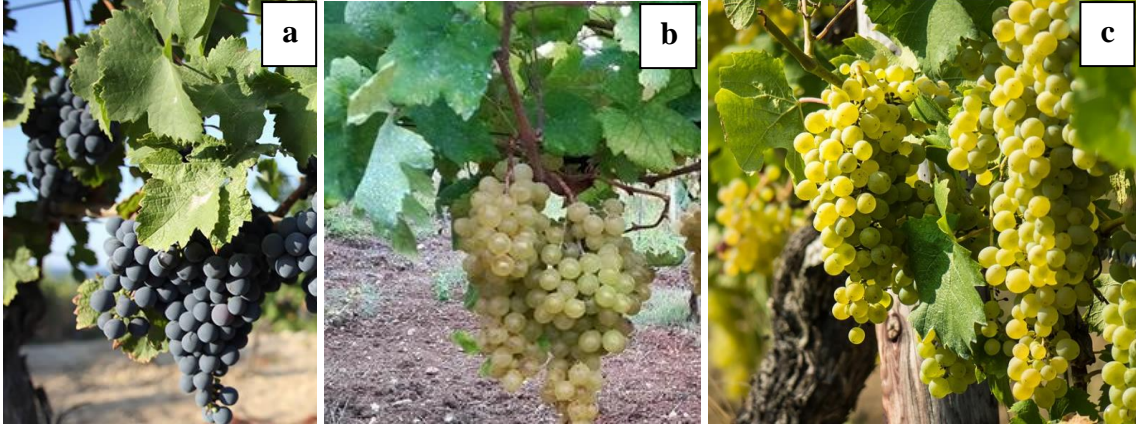
3.1.1. Asma Genotipleri

Bu çalışmada Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nde bulunan biri şaraplık (Karasakız), ikisi sofralık (Müşküle ve Tekirdağ Sultani) genotipleriyle birlikte TÜBİTAK 1120226 nolu projeden elde edilen 119, 154 ve 200 nolu (RegentXNarince) salamuralık genotipler kullanılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan lokal asma genotiplerinden şaraplık Karasakız, siyah renkli, yuvarlak taneli, ortalama çekirdek sayısı 2-3, kalın kabuklu, tatlı aromalı ve sık salkımlı bir üzümdür. Çanakkale Bölgesi'nde yetiştirilmekte ve genellikle açık kırmızı şarap, rose şarap, kanyak yapımında kullanılmaktadır (Şekil 3.1 a). Sofralık olarak tüketilen lokal genotip Müşküle beyaz renkli, elipsoidal taneli, ortalama çekirdek sayısı 1-3, kalın kabuklu, tatlı aromalı ve orta sıklıkta bir salkıma (Şekil 3.1 b) sahiptir. Bu genotip İznik, Geyve civarında yetiştirilmektedir (Boz vd., 2012). Diğer melez sofralık genotip olan Tekirdağ Sultani (ItaliaXSuperior Seedless) sarı-yeşil renkli, yuvarlak taneli, salkım sıklığı orta (Şekil 3.1 c) ve misket aromasına sahiptir (Anonim, 2020 b). Salamuralık 3 genotip ise (119, 154, 200) Regent X Narince melezidir. Regent mildiyö hastalığına yüksek derecede dayanıklı olup, Rpv1, Ren 3 ve Ren 9 dayanıklılık genlerini içermektedir (Eibach, Zyprian, Welter ve Töpfer, 2007; VIVC 2020). Narince Tokat yöresinde yetiştirilen ve yaprakları özellikle salamuralık olarak kullanılan lokal bir asma genotipidir. Söz konusu genotiplerden, Karasakız, Müşküle ve Tekirdağ Sultani genotiplerinden alınan çelikler içerisinde torf, kum ve perlit bulunan (1:1:1 hacim/hacim) saksılarda (23X21,5 cm, çapXyükseklik) serada çoğaltılmıştır. Salamuralık genotiplere ait yapraklar ise, yukarıda adı geçen proje çerçevesinde Antalya'dan temin edilmiştir.

3.1.2. İzolat

Testlerde mildiyöye karşı hassas olan Cabernet Sauvignon (Delmas et al. 2016; Delmotte et al. 2014) genotipinin yapraklarındaki tek bir lezyondan elde edilen izolat kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Denemede kullanılan üzüm genotiplerinden örnekler. a: Karasakız (Anonim 2020 c), b: Müşküle (Anonim, 2020 d), c: Tekirdağ sultani (Anonim, 2020 e)

3.2. Yöntem

3.2.1. İnokulum Çoğaltılması

Denemeler süresince ilk önce -80°C 'de saklanan inokulum Cabernet Sauvignon genotipinde çoğaltılarak taze inokulum hazırlanmıştır. Bu amaçla söz konusu genotipin genç yaprakları koparılıp (üstten 3. ve 4.), %70'lik alkol ile dezenfekte edilmiş (Şekil 3.2 a) ve steril su ile durulandıktan (Şekil 3.2 b) sonra steril kurutma kağıtları üzerine yerleştirilmiştir (Şekil 3.2 c). Dezenfekte edilen yapraklar daha sonra içinde steril saf su ile ıslatılmış kurutma kağıdı bulunan küvetlere (26X18X3 cm, uzunluk, genişlik ve yükseklik) yerleştirilmiştir. Yapraklar üzerine derin dondurucudan alınmış ve üzerine saf su ilave edilerek 2 saat süre ile zoospor çıkışı için orbital sallayıcıda (Biosan) (Şekil 3.2 d) sallanarak 4×10^5 sporangium/ml konsantrasyonuna (Alonso-Villaverde vd., 2011; Boso vd., 2006) ayarlanmış sporangium süspansiyonu el spreyi ile püskürtülmüştür (Şekil 3.2 e). Ayrıca küvetlerin kapakları da saf su ile ıslatılarak alüminyum folyo ile kapatılmış ve 24 saat süre ile 22°C 'de karanlıkta (Liu vd. 2015) bekletilip (Şekil 3.2 f) daha sonra polietilen torbalara yerleştirilerek aynı sıcaklıkta 10 gün süre ile 16 saat ışık 8 saat karanlık düzeninde inkübe edilmiştir (Şekil 3.2 g) ve sporulasyon sağlanmıştır (Şekil 3.2 h). Yaprakları içeren küvetler polietilen torbalara yerleştirilirken, patojenin direkt olarak ışığı maruz kalmasını önlemek için her bir küvetin üzerine kendi boyutunda tek kat nemlendirilmiş kurutma kağıdı içeren boş bir küvet yerleştirilmiştir.



Şekil 3. 2. İnokulumun çoğaltılması işlemleri, a ve b: Yaprak dezenfeksiyonu işlemi, c: Dezenfekte edilmiş yaprakların kurutulması, d: İnokulumun orbital sallayıcıda hazırlanması, e: İnokulumun yapraklar üzerine püskürtülmesi, f: Karanlıkta 24 saat süre ile bekletilen küvetler, g: 24 saat sonra polietilen torbalara yerleştirilen küvetler, h: Sporulasyon

3.2.2. Dayanıklılık Testleri

Serada çeliklerden üretilmiş genotiplerin sürgün ucundan itibaren 3. ve 4. yapraklar kopararak (şekil 3.3 a) ve inokulumun çoğaltılması bölümünde belirtildiği şekilde dezenfekte edildikten sonra içinde %0.8'lik su agarı (Oxoid) bulunan steril petri kaplarına yaprak altları st kısma gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Çoğaltılan inokulumdan vakum pompası (KIF Lab) ile toplanan (Gindro vd. 2006; Gindro vd. 2012) (şekil 3.3 b) ve inokulumun çoğaltılması bölümündeki gibi hazırlanan sporangium sporulasyonundan bir yaprak üzerine on adet sporangium süspansiyonu damlatılıp (20 μ l) (şekil 3.3. c) ve benzer şekilde (inokulasyon yapılmış petrilerin üzerine nemli kurutma kağıdı bulunan boş petri yerleştirilmiştir) yedi gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Her genotip için on damla damlatılan bir yaprak içeren üç petri kullanılmıştır.



şekil 3.3. Dayanıklılık testleri a: Serada üretilen genotipler, b: Cabernet sauvignon üzerinde çoğaltılan inokulumun vakum pompası ile toplanması, c: Steril petrilerdeki su agarı üzerine yerleştirilmiş yaprakların alt kısmına inokulumun damlatılması

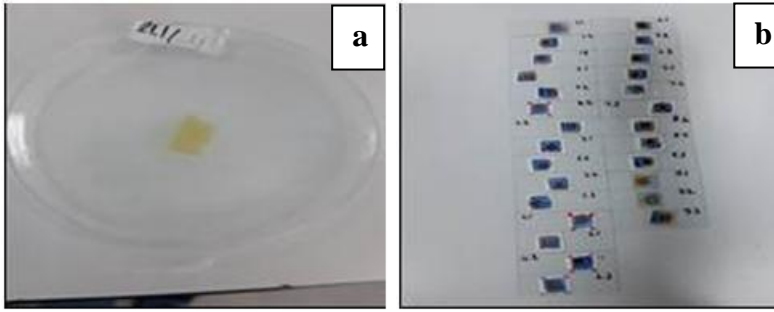
3.2.3. Sporulasyonun Belirlenmesi

İnokulasyondan 7 gün sonra her bir damladaki sporulasyon, fotoğraf makinesi atamanlı stereo mikroskopda (LEICA ES6D) görüntülenmiş ve yazılım programı (LAS Software) kullanılarak sporulasyon alanı (mm^2) llmştr (Bove vd. 2019; Bove ve Rossi, 2020). Genotiplerin dayanıklılık düzeyleri zer, Uzun, Akkurt, zer ve Aydın (2018) tarafından oluşturulan skalaya göre belirlenmiştir (Son derece dayanıklı-ER: 0-0.05 mm^2 , yüksek derecede dayanıklı-HR: 0.1-1 mm^2 , dayanıklı-R: 1.1-2 mm^2 , hassas-S: 2.1-10 mm^2 ,

yüksek derecede hassas-HS: 10.1-15 mm², son derecede hassas-ES: >15.1 mm²). Ayrıca her bir tekrardan 5 adet sporulasyonlu alan kesilerek üzerine 1 ml fizyolojik su (9 g NaCl 1 l destile su) ilave edilmiş, böylelikle sporangiumların sağlıklı bir şekilde sayılabilmesi için zoosporların serbest kalması engellenmiştir (Sakr vd., 2008). 1 da süre ile elle çalkalandıktan sonra Thoma lamında sporangium sayımları gerçekleştirilmiş ve mm³'deki sporangium sayısı belirlenmiştir (Kim Khiook vd., 2013; Zyprian vd., 2016).

3.2.4. Mikroskobik Gözlemler

Etmenin enfeksiyon seyrini belirlemek amacıyla inokulasyondan 15, 24, 48 ve 72 saat sonra her tekrardan 2 adet 0,5 cm²'lik yaprak diskleri alınarak ependorflara yerleştirilmiş üzerine 1 ml 1 M KOH solusyonu eklenerek, 60°C'de su banyosunda 15 da süre ile bekletilmiş, içerisindeki KOH alınarak yeniden 1 M KOH solusyonu eklenmiştir. KOH solusyonunun değiştirilmesi işlemi yapraktan klorofil kaybolana dek (3 gün) tekrarlanmıştır (Şekil 3.4 a). Üç gün sonra yapraklar destile su 15 dakika süre ile 3 kez durulanmıştır. Yaprak örnekleri lam üzerine alınarak kurulanmış ve üzerine %0.05 oranında aniline blue (Sigma) içeren 0.067 M K₂HPO₄ (pH 8) ile boyanarak (Şekil 3.4. b) floresan mikroskopta Leica DM 1000) incelenmiştir (kullanılan filtre A (UV) excitation 340 nm, emission 380 nm ve stop filter LP 425 nm) (Godard et al. 2009; Gindro vd., 2003).



Şekil 3.4. Boyama işlemleri, a: KOH uygulamasından sonra renkleri açılmış yaprak parçası, b: Aniline blue ile boyanmış yapraklar

3.2.5. Önemli Stilbenlerin Belirlenmesi

İnokulasyondan 24, 48 ve 72 saat sonra yapraklardaki inokule edilmiş alanlardan (her tekrardan 1 adet) alınarak tartılmıştır ve ependorf tüplere (1,5 ml) yerleştirilerek üzerine 100 µl metanol ilave edilmiştir. Kapalı tüpler daha sonra 60°C’de 10 da sallayıcı su banyosunda (Nüve) çalkalanmış, daha sonra 5 da süre ile buz üzerinde soğutulmuştur (Godard vd. 2009; Pezet vd., 2003). Metanolik ekstraktlar (40 µl) resveratrol, ε-viniferin ve pterostilbenin varlığı açısından Namık Kemal Üniversitesi NABİLTEM laboratuvarında Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC)’de analizi yapılmıştır (Godard vd., 2009).

Stilben grubu bileşiklerin analizinde Shimadzu (Kyoto, Japonya) Prominence LC 20AT HPLC sistemi, SPD-M20A photodiode array detector ile kullanılmıştır. Sistem, otomatik numune örnekleyici (SIL-20 ACHT), pompa ünitesi (LC-20 AD), degazer (DGU-20A5R), kolon fırını (CTO10ASVP) ünitelerini içermektedir. Resveratrol, viniferin ve pterostilben Inertsil ODS-3 (5 µm, 250 x 4.6 mm i.d.) kolonla, gradient sistemde 289 nm DAD dedektör ile tespit edilmiştir. Mobil faz olarak, asetonitril (HPLC saflığında, Sigma) ve ultra saf su (60:40) kullanılmıştır. Çözücüler HPLC cihazına yerleştirilmeden önce, 0.45 µm’lik gözenek çaplı membran filtreden (Macherey Nagel, Düren, Almanya) geçirilerek süzölmüş ve akabinde ultrasonic su banyosunda 10-15 dk. bekletilerek çözönmüş gazlardan arındırılmıştır. Mobil faz akış hızı 1,5 mL/dk, kolon fırını sıcaklığı 30°C’de analiz süresi 22 dk’ya ayarlanmıştır. Örnekler, 0.45 µm’lik PTFE şırınga filtreden (Chromafil Xtra, Macherey Nagel, Düren, Almanya) süzölmüş ve amber renk viallere alındıktan sonra, otomatik numune örnekleyicisine (SIL-20 AC HT) yerleştirilerek 40 µL enjeksiyon yapılmıştır. Sonuçlar µmol/mg TA (Cihazdan elde edilen µg/mg TA değerinin bileşiğin moleköl ağırlığına bölünüp 1000 ile çarpılması ile elde edilmektedir) olarak verilmiştir.

3.3. Deneme Deseni ve İstatistik Analiz

Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrarlı olarak yürütölmüştür (Karman, 1971). Deneme sonucunda elde edilen veriler, SPSS programı kullanılarak varyans analizine tabii tutulmuştur ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testi ile belirlenmiştir (p<0.05). Sporulasyon alanı ile sporangium sayısı arasındaki ilişki Pearson korelasyon katsayısı kullanılarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. *P. viticola*'nın Yapraklarda Oluşturduğu Sporulasyon Alanı ve Sporangium Sayısı

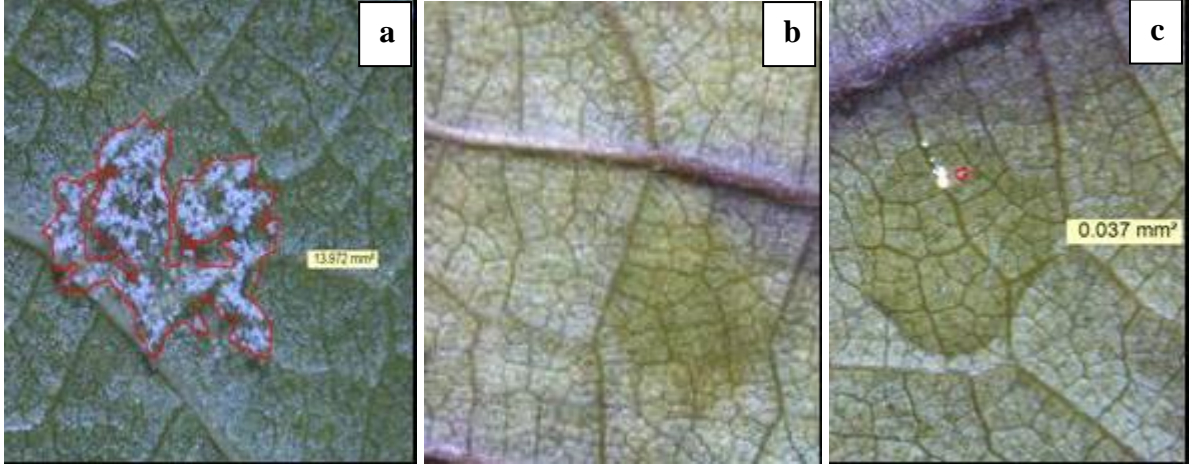
P. viticola farklı genotiplerin yapraklarına inokule edildikten 7 gün sonra oluşturduğu sporulasyon alanı mm² olarak ölçülmüş, ayrıca lezyon üzerinde oluşan sporangium sayıları belirlenmiştir. Etmen en geniş sporulasyon alanını Tekirdağ Sultani genotipinde oluşturmuş (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1 a), bunu Karasakız genotipi izlemiştir. Her iki çeşitin yapraklarında oluşan sporulasyon alanı arasında istatistiki olarak önemli derecede farklılık olduğu belirlenmiştir. Müşküle ve 200 no'lu genotipte ise tekrarların çoğunda sporulasyon olmamış (Şekil 4.1 b, birkaç lezyonda önemli derecede dar bir sporulasyon alanı meydana gelmiştir (Şekil 4.1 c). Söz konusu genotipler sporulasyon alanına göre reaksiyon gruplarına ayrılmış Tekirdağ Sultani genotipi yüksek derecede hassas (HS), Karasakız hassas (S), 119 dayanıklı (R), 154 ve Müşküle yüksek derecede dayanıklı (HR), 200 no' lu genotip ise son derecede dayanıklı (ER) olarak gruplandırılmıştır. Sporangium sayıları dikkate alındığında yine en yüksek sporangium sayısı Tekirdağ Sultani genotipinde meydana gelmiş ve bunu Karasakız genotipi izlemiştir. Etmen 200 no' lu genotipte diğer genotiplere göre önemli derecede düşük miktarda sporangium üretmiştir. Sporulasyon alanı ile sporangium sayısı arasında önemli derecede ($r= +0.99$, $p<0.01$) korelasyon olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı üzüm genotiplerinde inokulasyondan 7 gün sonra tespit edilen sporulasyon alanı ve lezyondaki sporangium sayısı (\pm Standart Hata)

Genotip	Sporulasyon Alanı (mm ²) *	Sporangium Sayısı/mm ³ *
Karasakız	8.036 \pm 0.08 b**	49.19 \pm 1.19 b
Müşküle	0.089 \pm 0.00 e	4.15 \pm 0.59 d
Tekirdağ Sultani	14.770 \pm 0.12 a	117.93 \pm 1.57 a
119	1.478 \pm 0.02 c	12.44 \pm 1.03 c
154	0.919 \pm 0.01 d	5.75 \pm 0.01 d
200	0.004 \pm 0.00 e	1.17 \pm 0.00 e

*Her bir değer 3 tekkerrürün ortalamasıdır.

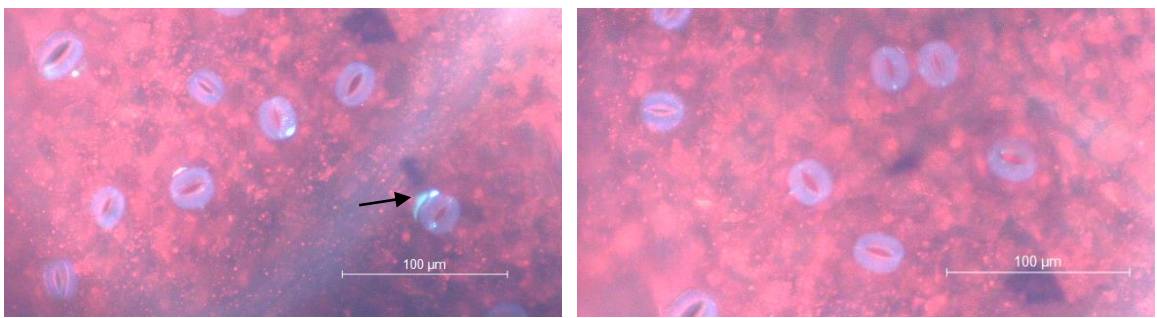
**Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.1. Tekirdağ Sultani (a) ve 200 no'lu [b (sporulasyon oluşmamış) ve c (çok dar sporulasyon)] genotiplere ait yapraklarda oluşan sporulasyon alanları

4.2. *Plasmopara viticola*'nın Yapraklardaki Enfeksiyon Süreci

Çalışmamızda sporulasyon alanı dikkate alınarak dayanıklılık düzeyleri belirlenmiş genotiplerde *P. viticola*'nın oluşturduğu enfeksiyon süreci incelenmiştir. Enfeksiyon süresinin belirlenmesinde inokulasyonda 15, 24, 48 saat sonra yapraklardaki enfekteli stoma sayısı (Şekil 4.2) ve yine 15, 24, 48, 72 saat sonra etmenin yaprak üzerinde gelişme dönemleri dikkate alınmıştır.



Şekil 4. 2. Enfekteli (Sol) ve sağlam (Sağ) stomalar (Stoma üzerindeki okun gösterdiği parlak kısımlar etmenin varlığını göstermektedir)

4.2.1. Enfekteli Stoma Sayısı

Altı farklı asma genotipinin koparılmış yapraklarına patojenin inokulasyonundan 15 sa sonra en yüksek enfekteli stoma sayısı Karasakız genotipinde görülmüş bunu Tekirdağ Sultani izlemiştir (Çizelge 4.2). Bu süreçte enfekteli stoma sayısı ise Müşküle, 119, 154, 200 nolu genotiplerde önemli derecede düşük olmuştur. İnokulasyondan 24 saat sonra ise en yüksek enfekteli stoma sayısı Karasakız'da belirlenmiştir. 119 ve Tekirdağ Sultani genotipleri sırasıyla 2. ve 3. sırada yer almakla birlikte aynı istatistiksel grupta bulunmuşlardır. Bu süre içinde yine Müşküle, 154 ve 200 nolu genotiplerin yapraklarında diğerlerine göre önemli derecede düşük sayıda enfekteli stoma gözlenmiş en az sayıda enfekteli stoma 200 no' lu genotipte belirlenmiştir. İnokulasyondan 48 saat sonra en fazla sayıda enfekteli stoma Tekirdağ Sultani genotipinde gözlenmiş bunu Karasakız takip etmiştir.

Çizelge 4.2. Etmenin inokulasyonundan sonraki farklı zaman aralıklarında farklı genotiplerin yapraklarındaki enfekteli stoma sayısı (\pm Standart Hata)

Genotip	Süre (saat)	Enfekteli Stoma Sayısı*
Karasakız	15	121.67 \pm 0.88 de**
	24	134.33 \pm 1.20 c
	48	141.00 \pm 1.53 b
Müşküle	15	98.33 \pm 0.88 j
	24	109.00 \pm 1.73 h
	48	119.67 \pm 0.33 e
Tekirdağ Sultani	15	110.33 \pm 1.45 gh
	24	121.33 \pm 1.76 de
	48	147.67 \pm 0.88 a
119	15	101.33 \pm 2.03 i
	24	122.67 \pm 0.88 de
	48	133.33 \pm 1.86 c
154	15	98.33 \pm 1.20 j
	24	114.00 \pm 2.08 fg
	48	124.67 \pm 0.33 d
200	15	93.67 \pm 0.88 k
	24	97.00 \pm 1.52 jk
	48	114.67 \pm 0.67 f

*Her bir değer 3 tekkerrürün ortalamasıdır.

**Birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre önemlidir ($p < 0.05$).

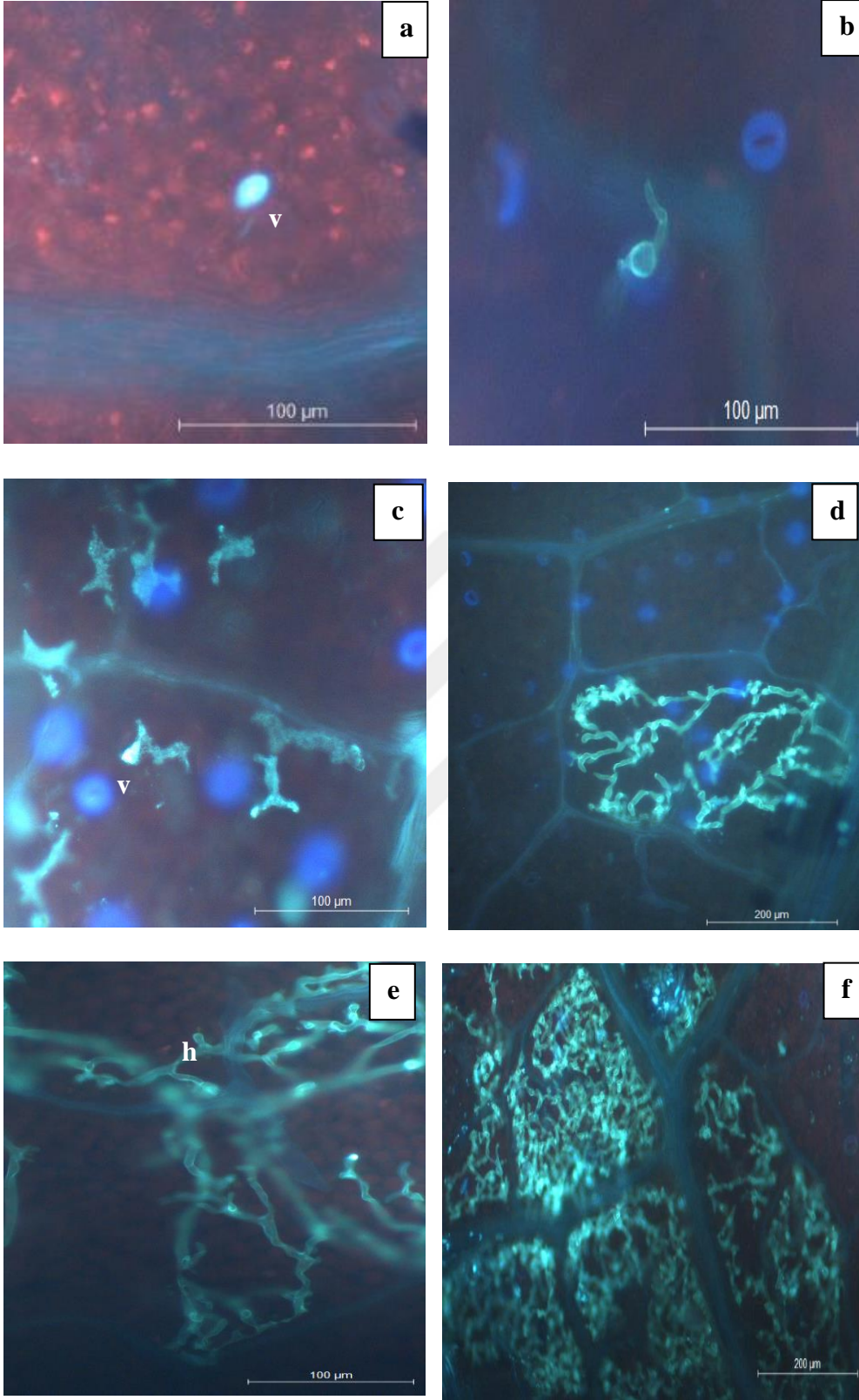
Karacakız ve Tekirdağ Sultani genotiplerine göre daha düşük olmakla birlikte, diğer genotiplere göre önemli derecede daha yüksek enfekteli stoma sayısı 119 no' lu genotipte tespit edilmiştir. Bu sürede en az sayıda enfekteli stoma 200 no'lu genotipte belirlenmiştir.

4.2.2. *P. viticola*'nın Yapraklarda Gelişme Dönemleri

Araştırmamızda, farklı genotiplerin yapraklarına patojenin inokulasyonundan 15, 24, 48 ve 72 saat sonra gelişim dönemleri tespit edilmiştir. Patojenin inokulasyonundan 15 saat sonra tüm genotiplerde vesikül (S1) oluşumu (patojenin üremesinin başladığını gösteren kamçısını kaybetmiş zoospor tipi) gözlenmiştir (Şekil 4.3 a ve Çizelge 4.3). İnokulasyondan 24 saat sonra vesikülün tüm genotiplerde çimlendiği (S2) belirlenmiştir (Şekil 4.3 b). İnokulasyonu takip eden 48 saat sonra ise 200 no'lu genotip hariç diğer tüm genotiplerde vesikülden uzayan hifin yaprak mezofil hücreleri arasında yayıldığı (S3) gözlenmiştir (Şekil 4.3 c, Çizelge 4.3). Karacakız ve Tekirdağ Sultani genotiplerinde, inokulasyondan 72 saat sonra dallanan ve hücreler arası boşluklarda yayılan hifin fazla sayıda haustoryum oluşturduğu (S4) (Şekil 4.3 d ve e) ve hiften miselyumun oluşarak damarlar arası boşlukları doldurduğu (S5) (Şekil 4.3. f) belirlenmiştir. Müşküle, 119 ve 154 no'lu genotiplerinin yapraklarında ise etmen S4 ve S5 dönemlerine ulaşamamıştır (Çizelge 4.3).

4.3. *P. viticola*'nın Enfeksiyonu Süresinde Yapraklarda Oluşan Stilben Grubu Bileşikler

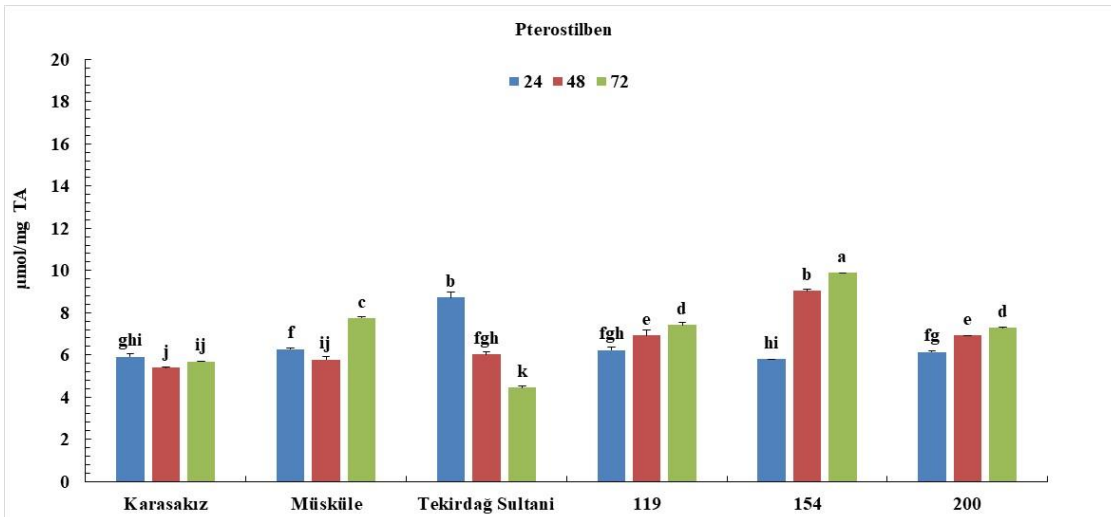
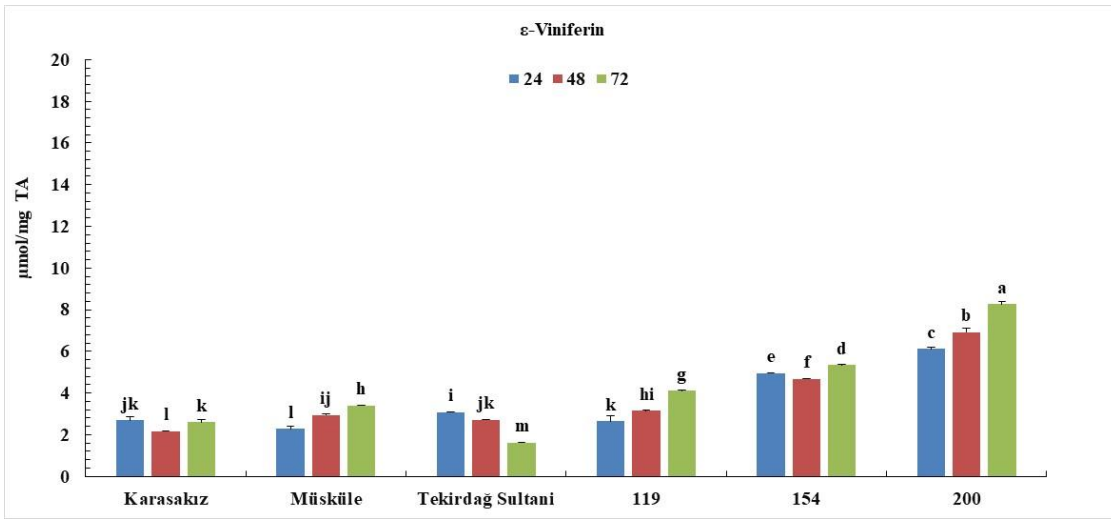
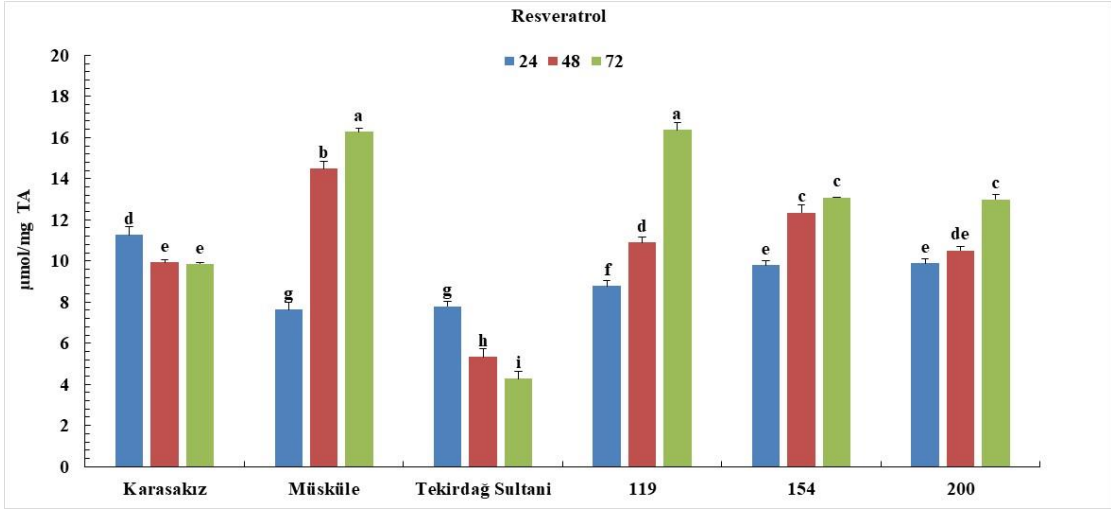
Çalışmada *P. viticola*'nın yapraklara inokulasyonundan 24, 48, 72 saat sonra, önemli stilben grubu bileşiklerinden resveratrol, ϵ -viniferin ve pterostilbenin üretimi ($\mu\text{mol/mg TA}$) Şekil 4.4'de görülmektedir (İlgili değerlerin $\mu\text{g/mg TA}$ karşılığı Ek Çizelge 1'de verilmiştir). Şekil 4.4'de de görüldüğü gibi inokulasyondan 24 saat sonra en yüksek resveratrol miktarı. Karacakız genotipinin yapraklarında bulunmakla birlikte inokulasyondan 48 ve 72 saat sonra azalma gösterdiği belirlenmiştir. Tekirdağ Sultani genotipinde her üç süreçte oldukça düşük resveratrol miktarının olduğu görülmüş inokulasyondan 72 saat sonra en düşük resveratrol miktarı bu genotipte tespit edilmiştir. Müşküle, 119, 154, 200 no' lu genotiplerde inokulasyon 24, 48 ,72 saat sonra resveratrol miktarında artış gözlenmiş, bununla birlikte 154 no' lu genotipte 48 ve 72 saat sonra oluşan resveratrol miktarları istatistiki olarak farklılık göstermemiştir. 72 saat sonra en yüksek resveratrol miktarı 119 no' lu genotipte belirlenmiş bunu Müşküle, 154 ve 200 no'lu genotipler izlemiştir.



Şekil 4.3. *P. viticola*'nın stomadan giriş yaptıktan sonraki gelişme dönemleri, a: Vesikül (S1), b: Çimlenmiş vesikül (S2), c: Çimlenmiş vesikülden uzayan hif (S3), d ve e: Haustoryum oluşturan hif (S4), f: Damarlar arası boşlukları dolduran hif (S5), v: Vesikül, h: Haustoryum

Çizelge 4.3. Etmenin inokulasyonundan sonraki farklı zaman aralıklarında farklı genotiplerin yapraklarında gelişim dönemlerinin varlığı

Genotip	Süre (saat)	Dönemler				
		S1	S2	S3	S4	S5
Karasakız	15	+	+			
	24		+			
	48			+		
	72				+	+
Müşküle	15	+				
	24	+				
	48	+				
	72		+	+		
Tekirdağ Sultani	15	+	+			
	24		+			
	48			+		
	72				+	+
119	15	+				
	24		+			
	48			+		
	72			+		
154	15	+				
	24	+				
	48		+			
	72			+		
200	15	+				
	24	+				
	48	+				
	72		+			



Şekil 4.4. Etmenin inokulasyonundan sonraki farklı zaman aralıklarında farklı genotiplerin yapraklarında belirlenen stilben grubu bileşikler. Sütunlar üzerinde farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre önemlidir ($P < 0.05$)

Etmenin gelişimi süresince farklı genotiplerin yapraklarındaki ϵ -viniferin üretimi incelendiğinde Karasakız genotipinde inokulasyondan 48 saat sonra söz konusu stilbenin miktarının azaldığı, 72 saat sonra ise inokulasyondan 24 saat sonra oluşan düzeye yakın bir değere ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 4.4). Sofralık Tekirdağ Sultani çeşidinde ise inokulasyondan 24, 48 ve 72 saat sonra önemli derecede bir azalma belirlenmiş, 72 saat sonra en düşük ϵ -viniferin bu genotipin yapraklarında üretilmiştir. Müşküle, 119 ve 200 no' lu genotiplerde inokulasyondan sonraki sürelerde artış gözlenmiş, 154 no' lu genotipte inokulasyondan 48 saat sonra biraz azalma meydana gelse de 72 saat sonra başlangıçtakinden daha fazla miktarda ϵ -viniferin oluştuğu görülmüştür. İnokulasyondan 48 ve 72 saat sonra en yüksek ϵ -viniferin miktarı 200 no' lu genotipte belirlenmiştir.

Etmenin enfeksiyon süresince, patojene tepki olarak farklı genotiplerin yapraklarında oluşan pterostilben miktarına bakıldığında inokulasyondan 72 saat sonra en düşük miktar Tekirdağ Sultani genotipinde tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Bu evrede en yüksek pterostilben miktarı ise 54 no'lu genotipte tespit edilmiş bunu Müşküle, 119 ve 200 no' lu genotipler izlemiştir. Karasakız genotipinde pterostilben miktarında inokulasyondan sonra azalma meydana gelmiş, 72 saat sonra artış göstermiş ancak 24 ve 48 saat sonra oluşan miktarlar ile arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. ($P < 0.05$)

5. TARTIŞMA

Bağda mildiyö hastalığına neden olan *P. viticola*'nın kontrolünde dayanıklı çeşit kullanımı büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla gerek dış ülkelerde gerekse ülkemizde ıslah çalışmaları yürütülmekte, elde edilen melez bitkiler ve her ülkeye ait lokal genotipler test edilmektedir. Çalışmamızda daha önce söz konusu patojene karşı dayanıklılığı bilinmeyen bir şaraplık (Karasakız), birisi lokal (Müşküle), diğeri melez olan (Tekirdağ Sultani) iki sofralık, üçü melez salamuralık (119, 154, 200) olmak üzere 6 genotip kullanılmıştır. Genotiplerin yapraklarına patojenin sporangium süspansiyonu damlatılarak 7 günlük inkübasyon periyodundan sonra Bove vd., 2019 ve Bove ve Rossi (2020) tarafından önerildiği gibi sporulasyon alanı mm² olarak ölçülmüş ve Özer vd. (2016) tarafından oluşturulan skala kullanılarak dayanıklılık düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca lezyonlar üzerindeki sporangium sayımları yapılmıştır. Çalışma sonucunda sofralık üzümlerden Müşküle yüksek derecede dayanıklı (HR), salamuralık genotiplerden, 154 HR ve 200 son derece dayanıklı olarak (ER) değerlendirilmiştir. Sporangium sayımları dikkate alındığında Müşküle ve salamuralık genotip 154' de benzer sayıda sporangium belirlenmiş, 200 no' lu genotipte ise oldukça düşük miktarda sporangium sayısı (11.6 sporangium/mm³) tespit edilmiştir. Sporangium alanı ile lezyon üzerindeki sporangium sayısı arasında pozitif ve önemli derecede korelasyon belirlenmiştir. Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda, orta düzeyde sporulasyon meydana gelen genotiplerde 27.66 – 87.66 sporangium/mm³ bulunduğu bildirilmektedir (Pezet vd., 2004b).

Dayanıklılığın belirlenmesinde, sporulasyon alanı yada sporulasyon yoğunluğu kadar, enfeksiyon sürecindeki enfekteli stoma sayısı, etmenin gelişimi ve stilben grubu bileşiklerin birikiminin belirlenmeside oldukça önemlidir.

Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda düşük enfeksiyon alan yüzdesine sahip genotiplerde inokulasyondan 24 saat sonra enekteli stoma sayısının hassas olanlara göre daha az sayıda olduğu belirtilmektedir (Paolucci vd., 2014). Çalışmamızda da 24 ve 48 saat sonra en az enfekteli stoma sayısı son derece dayanıklı 200 no' lu genotipte görülmekle birlikte, değişen düzeylerde dayanıklılık gösteren Müşküle, 119 ve 154 no' lu genotiplerde enfekteli stoma sayısı hassas genotiplere göre oldukça düşük olmuştur.

Araştırmamızda hastalık etmeninin dayanıklı ve hassas genotiplerde enfeksiyon sürecini izlemek için inokulasyondan 24, 48 ve 72 saat sonra floresan mikroskopta gözlemler yapılmıştır. Yapılan gözlemler sonucunda Godard vd. (2009)'un da belirttiği gibi hassas genotipler Karasakız ve Tekirdağ Sultani' de inokulasyondan 15 saat sonra vesikül oluşumu (S1), 24 saat sonra çimlenmiş vesiküller (S2), 48 saat sonra mezofil tabakasının hücreler arası boşluklara uzayan hifler (S3), 72 saat sonra hücreler arası boşluklara uzanan haustoryum oluşturan hifler (S4) ve hiflerden miselyum oluşumu (S5) ve 7 gün sonra ise geniş bir alana sahip sporulasyon gözlenmiştir. Son derece dayanıklı genotip olarak belirlenen 200' de 72 saat sonra sadece S2 döneminin, yüksek derecede dayanıklı Müşküle ve 154' de, dayanıklı 119' da bu süreçte S3 dönemine kadar olan dönemlerin bulunduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlarla uyum içerisindedir (Alonso-Villaverde vd., 2011; Gindro et al. 2003 Gómez-Zeledón vd., 2017; Jürges vd., 2009; Liu vd., 2015; Kortekamp vd., 1998; Unger vd., 2007).

Daha önce bağ mildiyösu etmenine karşı dayanıklılık mekanizması çerçevesinde önemli rol oynayan stilben grubu bileşiklere yönelik yapılan çalışmalarda, dayanıklı genotiplerde resveratrolün oksidize olmuş türevlerinin (ϵ ve δ viniferin, pterostilben), enfeksiyon bölgelerinde hızlı bir şekilde biriktiği ancak hassas genotiplerde resveratrolün de bulunabildiği hatta piecid'e dönüşebildiği ve her iki stilbenin toksik etkiye sahip olmadığı, ϵ ve δ viniferin ve pterostilbenin etmene karşı son derece toksik olduğu bildirilmektedir (Pezet vd., 2003, Pezet vd., 2004 a ve b). Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda da, resveratrolün hem mildiyöye dayanıklı, hem de hassas genotiplerde bulunabildiği ancak dayanıklı genotiplerde, inokulasyondan sonraki saatlerde ϵ -viniferin daha yüksek miktarda biriktiği ileri sürülmüştür (Alonso-Villaverde vd., 2011; Gindro vd., 2006; Malacarne vd., 2011; Paolucci vd., 2014; Van Leuwen vd., 2013). Bazı araştırmacılar ise bazı dayanıklı genotiplerde pterostilbenin ön plana çıktığını bildirmektedirler (Alonso-Villaverde vd., 2011; Paolucci vd., 2014). Bazıları hassas genotiplerde inokulasyondan 48 saat sonra her üç bileşiğin de bulunmadığını (Vrhovsek vd., 2012), bazıları ise ϵ -viniferin ve resveratrolün (Chitarrini vd., 2017) veya üç bileşiğin de (Wang vd., 2018) inokulasyondan sonra artış gösterdiğini belirtmektedir. Çalışmamızda ise stilben grubu bileşiklerden resveratrol hassas ve dayanıklı genotiplerin tümünde tespit edilmiş, bununla birlikte hassas genotiplerde özellikle Tekirdağ Sultani'de önemli derecede azalma göstermiştir. Son derece dayanıklı genotip olan 200'de, yüksek derecede dayanıklı Müşküle, 154 ve dayanıklı 119'dan daha düşük düzeyde resveratrol üretimi olduğu görülmüştür. Bununla birlikte ϵ -viniferin miktarı en fazla miktarda

200 (ER)'de tespit edilmiştir. Sofralık üzümlerden Müşküle'de ise inokulasyondan 72 saat sonra Tekirdağ Sultani'ye göre önemli derecede yüksek miktarda birikmiştir. Araştırmamızda pterostilben, 72 saat sonra salamuralık genotip 154 (HR)'de sofralık genotiplerden Müşküle' de en yüksek miktarda birikmiştir.

Mildiyöye karşı dayanıklılık yönünden enfeksiyon süresince oluşan stilben grubu bileşiklerin miktarı, kullanılan yöntem ve genotiplere göre farklılık gösterebilmektedir. Stilbenlerin dayanıklı çeşitlerde birikimi çoğunlukla inokulasyondan 48 ve 72 saat sonra belirlenmiştir. 48 saat sonra dayanıklı genotiplerde yapılan ölçümlerde resveratrol miktarının 3.76-762.92 $\mu\text{mol/mg TA}$, ϵ -viniferin miktarının 7.98-500 $\mu\text{mol/mg TA}$, pterostilben miktarının ise 0-10 $\mu\text{mol/mg TA}$ arasında değiştiği bildirilmektedir (Chitarrini vd., 2017, Gindro vd., 2006, Pezet vd., 2004a ve b, Vrhovsek vd., 2012). İnokulasyondan 72 saat sonra ise dayanıklı genotiplerde resveratrol miktarının 5.03-407.97 $\mu\text{mol/mg TA}$, ϵ -viniferinin 0.9-268.86 $\mu\text{mol/mg TA}$, pterostilben miktarının 0.012-119 $\mu\text{mol/mg TA}$ arasında olduğu belirtilmektedir (Alonso-Villaverde vd., 2011, Pezet vd., 2004a, Van Leuwen vd., 2012, Wang vd., 2018). Çalışmamızda dayanıklı genotiplerde gerek inokulasyondan 48 saat sonra gerekse 72 saat sonra tespit edilen resveratrol, ϵ -viniferin ve pterostilben miktarları daha önce elde edilen verilerle uyum içerisinde olmuş, hatta yurt dışında çalışılan bazı genotiplerden daha yüksek veriler elde edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bağda mildiyö hastalığının kontrolünde kullanılan genotiplere karşı etmenin dayanıklılık kazanması nedeniyle, dayanıklı genotiplerin kullanımı alternatif mücadele yöntemleri içinde önemli bir yer tutmaktadır. Dayanıklı genotiplerin belirlenmesinde pratik olması açısından yaprak testleri gerçek sonuçlar vermektedir. Bu testlerde genotiplerin reaksiyonları, genellikle çeşitli skalalar kullanılarak yapılmaktadır. Ancak etmenin enfeksiyon sürecinin izlenmesi ve dayanıklılıkta önemli rol oynayan stilben grubu bileşiklerin belirlenmesi sonuçların daha güvenilir olmasını sağlamaktadır. Yurt dışında bu tür çalışmalar yapılmış olmakla birlikte ülkemizde yetiştirilen bazı lokal ve melez genotiplerin bu kapsamda mildiyö etmenine karşı reaksiyonları ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir.

Çalışmamızda en yüksek sporulasyon alanı melez sofralık genotip olan Tekirdağ Sultani'de tespit edilerek yüksek derecede hassas grubunda sınıflandırılmıştır. Müşküle, 119, 154 ve 200 no'lu genotipler değişen düzeylerde dayanıklılık [sırasıyla yüksek derecede dayanıklı (HR), dayanıklı (R) ve son derece dayanıklı (ER)] göstermişlerdir. Daha sonraki aşamada yine inokulasyondan 7 gün sonra yapraklardaki sporulasyon alanlarında bulunan sporangium sayımları yapılmış ve sporulasyon alanı ile önemli derecede pozitif ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Floresan mikroskopta yapılan incelemeler sonucunda 48 saat sonra en düşük enfekteli stoma sayısı 200'de belirlenmiş, etmen bu genotipte vesikül oluşturup çimlendikten sonra ilerleyememiştir. Yine, sporulasyon alanına göre değişen düzeylerde dayanıklı bulunan genotiplerden Müşküle, 119 ve 154'de inokulasyondan 48 saat sonra enfekteli stoma sayısı hassas genotiplere göre önemli derecede bulunmuş, etmenin bu genotiplerde az sayıda vesikülden uzayan hiflerinin mezofil hücrelerine yayıldığı ancak haustoryum içeren hiflerini ve damarlar arası boşluklara yayılan miselyumunu oluşturamadığı görülmüştür.

Çalışmamızda, dayanıklılıkta önemli rol oynayan stilben grubu bileşiklerden resveratrol, ϵ -viniferin ve pterostilbenin inokulasyondan 24, 48, 72 saat sonra birikimi belirlenmiştir. HPLC'de yapılan ölçümlerde her üç bileşiğin dayanıklı bireylerde artan zaman süresince daha fazla biriktiği, hassas genotiplerde ise azaldığı belirlenmiştir. 72 saat sonunda en yüksek resveratrol miktarı sofralık genotiplerden Müşküle (yüksek derecede dayanıklı)'de

salamuralık genotiplerden 119 (dayanıklı)'da tespit edilmiştir. ϵ -viniferinin salamuralık genotip 200 (son derece dayanıklı)'de en yüksek miktarda biriktiği görülmüştür. Pterostilben ise salamuralık genotip 154 (yüksek derece dayanıklı)'de en yüksek miktarda birikmiş bunu sofralık Müşküle (yüksek derece dayanıklı) izlemiştir.

Dayanıklılıkta rol oynayan stilbenlerin birikim miktarı genotiplere göre farklılık gösterse de dayanıklı genotiplerde artan düzeyde birikmektedir. Çalışmamızda farklı düzeylerde dayanıklılık gösteren genotiplerde test edilen resveratrol, ϵ -viniferin ve pterostilben inokulasyondan sonraki artan zaman dilimlerinde artış gösterse de zoospor çimlenmesini önemli derecede engellediği bilinen ϵ -viniferinin son derece dayanıklı genotipte en yüksek miktarda ve yine aynı özelliğe sahip pterostilbenin yüksek derecede dayanıklı genotiplerde diğer genotiplere göre daha yüksek miktarda bulunduğu belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda, test edilen genotiplerden farklı derecelerde dayanıklı bulunan Müşküle (sofralık), 119,154 ve 200 (salamuralık)'de dayanıklılık mekanizmasının da teşvik edildiği belirlenmiştir. Bu bağlamda, yeni ıslah edilen salamuralık genotiplerden özellikle 200 no'lu genotip ümitvar bulunmuştur. Ayrıca kullanılan değerlendirmelerin ülkemizde yapılan ıslah çalışmaları süresi azaltması açısından fide dönemi testleri olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Adınır, M. (2011). *Salamuralık Yaprak Toplanan Omcalardaki Koruk Üzümün (Vitis Vinifera) Turşu Olarak Değerlendirilmesi*, (Yüksek Lisans Tezi), Gazi Osmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Alonso-Villaverde, V., Voinesco, F., Viret, O., Spring, J. L. ve Gindro, K. (2011). The effectiveness of stilbenes in resistant Vitaceae: Ultrastructural and biochemical events during *Plasmopara viticola* infection process. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(3), 265-274.
- Alsancak Sırlı, B., Peşkircioğlu, M., Torunlar, H., Özaydın, K. A., Mermer, A., Kader, S., Tuğaç, M. G., Aydoğmuş, O., Emeklier Y., Yıldırım, Y. E. ve Kodal S. (2015). Türkiye’de Üzüm (*Vitis* spp.) Yetiştirmeye Uygun Potansiyel Alanların Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) Teknikleri Kullanılarak İklim ve Topoğrafya Faktörlerine Göre Belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 24(1), 56-64.
- Anonim (2009) Descriptor list for grapevine varieties and *Vitis* species, 2nd edn. OYce International de la Vigne et du Vin (OIV), Paris
- Anonim (2020a). *Plasmopara viticola* (grapevine downy mildew). Erişim adresi: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/41918>.
- Anonim (2020b). *T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Çeşitler ürünler*. Erişim adresi: https://arastirma.tarimorman.gov.tr/bagcilik/Menu/17/Cesitler_-_Urunler
- Anonim (2020c). *Türkiye'nin şarap hazinesi*. Erişim adresi <http://fulyakirtunc.weebly.com/tuumlrkiyenin-350arap-hazinesi.html>
- Anonim (2020d). *Geyve Müşküle üzümü (yalı üzümü) hasatı yapılıyor*. Erişim adresi <https://geyveyoresi.com/geyve-muskule-uzumu-yali-uzumu-hasati-yapiliyor/> (erişim tarihi, 27.06.2020)
- Anonim (2020e). *Tekirdağ Sultani üzüm fidanı*. Erişim adresi <https://www.alibotanik.com/urun/tekirdag-sultani-uzum-fidani> (erişim tarihi, 27.06.2020)
- Ash, G. (2000). Downy mildew of grape. *The Plant Health Instructor*. doi: 10.1094/PHI-I2000-1112-01.
- Atak, A. (2017). Determination of downy mildew and powdery mildew resistance of some grape cultivars. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 38(1), 11-17.
- Atak, A., Akkurt, M., Polat, Z., Çelik, H., Kahraman, K. A., Akgül, D. S., Özer, N., Söylemezoğlu, G., Şirel, G. ve Eibach, R. (2017a). Susceptibility to downy mildew

- (*Plasmopara viticola*) and powdery mildew (*Erysiphe necator*) of different *Vitis* cultivars and genotypes. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 32(1) 23-32.
- Atak, A., Göksel, Z. ve Çelik, H. (2017b). Relations between downy/powdery mildew diseases and some phenolic compounds in *Vitis* spp. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 41(1), 69-81.
- Atak, A. ve Göksel, Z. (2019). Farklı *Vitis* türlerine mensup üzüm çeşit/genotiplerinde bazı fenolik madde değişimlerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 56(2), 153-161
- Bellin, D., Peresotti E., Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Adam-Blondon A. F., Cipriani, G., Morgante, M., Testolin, R. ve di Gaspero, G. (2009). Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at infection site. *Theoretical and Applied Genetics*, 120, 163-176.
- Bellow, S., Latouche, G., Brown, C., Poutaroud, A. ve Cerovic, Z. G. (2012). *In vivo* localization at cellular level of stilbene fluorescence induced by *Plasmopara viticola* in grapevine leaves. *Journal of Experimental Botany*, 63(10), 3687-3708.
- Blum, M., Waldner, M., & Gisi, U. (2010). A single point mutation in the novel PvCesA3 gene confers resistance to the carboxylic acid amide fungicide mandipropamid in *Plasmopara viticola*. *Fungal Genetics and Biology*, 47(6), 499–510.
- Boso, S., Alonso-Villaverde, V., Gago, P., Santiago J. L. ve Martínez, M. C. (2014). Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) of different *Vitis* varieties. *Crop Protection*, 63, 26-35.
- Boso, S., Martínez, M. C., Unger, S. ve Kassemeyer, H. H. (2006). Evaluation of foliar resistance to downy mildew in different cv. Albariño clones. *Vitis*, 45(1), 23-27.
- Bove, F., Bavaresco, L., Caffi, T. ve Rossi, V. (2019). Assessment of resistance components for improved phenotyping of grapevine varieties resistant to downy mildew. *Frontiers in Plant Science*, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01559>.
- Bove, F., ve Rossi, V. (2020). Components of partial resistance to *Plasmopara viticola* anable complete phenotypic characterization of grapevine varieties. *Scientific Reports* (10). 585, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57482-0>
- Boz, Y., Uysal, T., Yaşasın, A. S., Gündüz, A., Avcı, G. G., Sağlam, M., Kıran, T. ve Öztürk, L. (2012). *Türkiye Asma Genetik Kaynakları*. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Müdürlüğü Yayınları, Tekirdağ
- Buonassisi, D., Colombo, M., Migliaro, D., Dolzani, C., Peressotti, E., Mizzotti, C., Velasco, R., Masiero, S., Perazzoli, M. ve Vezzuli, S. (2017). Breeding for grapevine downy

- mildew resistance: a review of ‘omics’ approaches. *Euphytica*, 213 (Article 103), 1-21. doi: 10.1007/s10681-017-1882-8.
- Cabaroğlu, T. ve Yılmaztekin, M. (2006, Kasım 23-24). *Üzümün Bileşimi ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri*. Buldan Sempozyumu Bildirileri Cilt 1, Türkiye, Erişim adresi: <http://ademoger.com/makalelerim/E1.pdf>
- Caddle-Davidson, L. (2008). Variation within and between *Vitis* spp. for foliar resistance to the downy mildew pathogen *Plasmopara viticola*. *Plant Disease*, 92(11), 1577-1584.
- Cangı, R., Yağcı A. (2017). Bağdan Sofraya Yemeklik Asma Yaprak Üretimi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(Özel Sayı), 137-148.
- Chen, W. J., Delmotte, F., Richard-Cervera, S., Douence, L., Greif, C. ve Corio-Costet, M. F. (2007). At least two origins of fungicide resistance in grapevine downy mildew populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(16), 5162–5172.
- Chitarrini, G., Soini, E., Riccadonna, R., Franceschi, P., Zuluni, L., Masuero, D., Vecchione, A., Stefanini, M., di Gaspero, G., Mattivi, F. ve Vrhovsek, U. (2017). Identification of biomarkers for defense response to *Plasmopara viticola* in a Resistant Grape Variety. *Frontiers in Plant Science*, 8(Article 1524), 1-11. doi: 10.3389/fpls.2017.01524.
- Calonnec, A., Wiedemann-Merdinoglu, S., Delière, L., Cartolaro, P., Schneider, C. ve Delmotte, F. (2013). The reliability of leaf bioassays for predicting disease resistance on fruit: a case study on grapevine resistance to downy and powdery mildew. *Plant Pathology*, 62(3), 533–544.
- Çalkan Sağlam, Ö. ve Sağlam, H. (2018). İnsanlık tarihinde üzümün önemi. *Journal of Agriculture I*(2), 1-10.
- Çelik, S. (1998). *Bağcılık (Ampeloloji)*. Cilt 1. İstanbul: Anadolu Matbaa Ambalaj San. ve Tic. LTD. ŞTİ.
- Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Marasalı, B. ve Söylemezoğlu, G. (1998). *Genel Bağcılık*. Ankara: Sunfidan A.Ş.
- Delmas, C. E. L., Fabre, F., Jolivet, J., Mazet, I. D., Cervera, S. R., Deliere, L. ve Delmotte, F. (2016). Adaptation of a plant pathogen to partial host resistance: selection for greater aggressiveness in grapevine downy mildew. *Evolutionary Applications*, 9(5), 709-725.
- Delmotte, F., Mestre, P., Schneider, C., Kassemeyer, H., Kozma, P., Cervera S., Rouxel, M. ve Deliere, R. (2014). Rapid and multiregional adaptation to host partial resistance in plant pathogenic oomycete: Evidence from European populations of *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew. *Infection, Genetics and Evolution*, 27, 500-508.

- Dogan, Y., Nedelcheva, A., Łuczaj, L., Drăgulescu, C., Stefkov, G., Maglajlić, A., Ferrier, J., Papp, N., Hajdari, A., Mustafa, B., Dajić-Stevanović, Z. ve Pieroni, A. (2015). Of the importance of a leaf: the ethnobotany of sarma in Turkey and the Balkans. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 11 (26), 1-15. doi: 10.1186/s13002-015-0002
- Eibach, R., Zyprian, E., Welter, L. ve Töpfer, R. (2007). The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis*, 46(3), 120–124.
- El Nehir, S., Kavas, A. ve Karakaya, S. (1997). Nutrient Composition of Stuffed Vine Leaves: A Mediterranean Diatery. *Journal of Food Quality*, 20(4), 337- 341. doi: 10.1111/j.1745-4557.1997.tb00476.x
- Food and Agriculture Organization. (2018). *FAO statistical databases*. Erişim adresi: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Fröbel, S., Dudenhöffer, J., Töpfer, R. ve Zyprian, E. (2019). Transcriptome analysis of early downy mildew (*Plasmopara viticola*) defense in grapevines carrying the Asian resistance locus Rpv10. *Euphytica*, 215(Article 28), 1-21. doi:10.1007/s10681-019-2355-z.
- Gaforio, L., Cabello, F. ve Muñoz Organero, G. (2015). Evaluation of resistance to downy mildew in grape varieties grown in a Spanish collection. *Vitis*, 54(Special Issue): 187-191.
- Gessler, C., Pertot, I. ve Perazzoli, M. (2011). *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(1), 3-44.
- Gindro, K., Alonso-Villaverde, V., Voinesco, F., Spring J. L., Viret, O. ve Dubuis, P. (2012). Susceptibility to downy mildew in grape clusters: New microscopical and biochemical insights. *Plant Physiology and Biochemistry* 52, 140-146.
- Gindro, K., Pezet, R. ve Viret, O. (2003). Histological study of the responses of two *Vitis vinifera* cultivars (resistant and susceptible) to *Plasmopara viticola* infections. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41(9), 846-853.
- Gindro, K., Spring, J. L., Pezet, R., Richter, H. ve Viret, O. (2006). Histological and biochemical criteria for objective and early selection of grapevine cultivars resistant to *Plasmopara viticola*. *Vitis*, 45(4), 191–196.
- Gisi, U. (2002). Chemical control of downy mildews. *In Advances in downy mildew research* (1st ed.) (119–159), Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Godard, S., Slacanin, I., Viret, O. ve Gindro, K. (2009). Induction of defence mechanisms in grapevine leaves by emodin- and antraquinone-rich plant extracts and their conferred resistance to downy mildew. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(9), 827-837.

- Gómez-Zeledón, J., Kaiser, M. ve Spring, O. (2017). Exploring host-pathogen combinations for compatible and incompatible reactions in grapevine downy mildew. *European Journal of Plant Pathology*, 149, 1–10
- Jürges, G., Kassemeyer, H. ve Dürrenberger, M. (2009). The mode of interaction between *Vitis* and *Plasmopara viticola* Berk. & Curt. Ex de Bary depends on the host species. *Plant Biology*, 11(6), 886-898.
- Karman, M. (1971). *Bitki koruma araştırmalarında genel bilgiler. denemelerin kuruluşu ve değerlendirme esasları*. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, Mesleki Kitaplar Serisi, İzmir.
- Kim Khioak, I. L., Schneider, C., Heloir, M. C., Bois, B., Daire, X., Adrian, M. ve Trouvelot, S. (2013). Image analysis methods for assessment of H₂O₂ production and *Plasmopara viticola* development in grapevine leaves: Application to the evaluation of resistance to downy mildew. *Journal of Microbiological Methods*, 95(2), 235–244.
- Kortekamp, A., Wind, R. ve Zyprian, E. (1998). Investigation of the interaction of *Plasmopara viticola* with susceptible and resistant grapevine cultivars. *Journal of Plant Disease and Protection*, 105(5), 475–488.
- Kumral, F. (2010). *Cumhuriyet'in ilk yıllarında İzmir'de bağ ve bağcılık*. (Yüksek Lisans Tezi), Dokuz Eylül Üniversitesi Atatürk İlkeleri ve İnkılap Tarihi Enstitüsü, İzmir.
- Lafon R, Clerjeau M (1988). Downy mildew. *In Compendium of grape diseases* (11–13). St. Paul: APS Press.
- Langcake, P. 1981. Disease resistance of *Vitis* spp. and the production of the stress metabolites resveratrol ϵ -viniferin, α -viniferin ve pterostilbene. *Physiological Plant Pathology*, 18, 213-226.
- Liu, R., Wang L., Zhu, J., Chen, T., Wang, Y. ve Xu, Y. (2015). Histological responses to downy mildew in resistant and susceptible grapevines. *Protoplasma*, 252(1), 259–270.
- Malacarne, G., Vrhovsek, U., Zulini, L., Cestaro, A., Stefanini, M., Mattivi, F., Delledonne, M., Velasco, R. ve Moser C. (2011). Resistance to *Plasmopara viticola* in a grapevine segregating population is associated with stilbenoid accumulation and with specific host transcriptional responses. *BMC Plant Biology*, 11(Article 114), 1-13. 12 Ağustos 2011, <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/11/114>.
- Marchive, C., Léon, C., Kappel, C., Cautos-Thévenot, P., Corio-Costet, M. F., Delrot, S. ve Lauvergeat, V. (2013). Over-expression of VvWRKY1 in grapevines induces expression of jasmonic acid pathway-related genes and confers higher tolerance to the downy mildew. *Plos One*, 8(1), 1-8, doi: 10.1371/journal.pone.0054185.

- Matasci, C.L., Gobbin, D., Schärer, H. J., Tamm, L., & Gessler C. (2008) Selection for fungicide resistance throughout a growing season in populations of *Plasmopara viticola*. *European Journal of Plant Pathology*, 120, 79–83.
- Mermer-Doğu, D. (2019). *Bazı Plasmopara viticola izolatlarının fenotipik ve moleküler karakterizasyonu* (Doktora Tezi), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Özer, N., Uzun H. İ., Akkurt M., Özer C. ve Aydın S. (2018, October 4-7). *Sporulation area analysis for resistance assessment to downy mildew in grapevine leaves*. Paper presented at the Ninth International Scientific Agriculture Symposium 'Agrosym', 713.
- Paolocci, M., Muganu, M., Alonso-Villaverde, V. ve Gindro, K. (2014). Leaf morphological characteristics and stilbene production differently affect downy mildew resistance of *Vitis vinifera* varieties grown in Italy. *Vitis*, 53(3), 155-161.
- Pezet, R., Gindro, K., Viret, O. ve Richter, H. (2004a). Effects of resveratrol, viniferins and pterostilbene on *Plasmopara viticola* zoospore mobility and disease development. *Vitis*, 43(3), 145-148.
- Pezet, R., Gindro, K., Viret, O. ve Spring, J. L. (2004b). Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 65(6): 297-303.
- Pezet, R., Perret C., Jean-Denis, J. B., Tabacchi, R., Gindro, K. ve Viret, O. (2003). δ -Viniferin, a resveratrol dehydrodimer: One of the major stilbenes synthesized by stressed grapevine leaves. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51(18), 5488-5492
- Projongiai, T., Poolsawat, O., Pornbungkerd, P., Wongkaew, S. ve Tantasawatt, P. A. (2014). Evaluation of grapevines for resistance to downy mildew (*Plasmopara viticola*) under laboratory and field conditions. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 35(1), 43-50.
- Rogiers, S. Y., Hardie, W. J. ve Smith, J. P. (2011). Stomatal density of grapevine leaves (*Vitis vinifera* L.) responds to soil temperature and atmospheric carbon dioxide. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(2), 147-152.
- Sakr, N., Mireille, D., Tourvieille, J., Walser, P., Vear, F. ve Tourvielle, D. L. (2008). Variation in form and size of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew) zoosporangia. *Mycological Progress*, 7(4), 257-265.

- Selim M (2013). *Elicitation of grapevine defense responses against Plasmopara viticola, the causal agent of downy mildew*. (Doktora Tezi). Giessen Üniversitesi, Germany.
- Türkiye İstatistik Kurumu, (2019). TÜİK, Erişim adresi: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>
- Unger, S., Bueche, C., Boso, S. ve Kassemeyer, H.H., (2007). The course of colonization of two different *Vitis* genotypes by *Plasmopara viticola* indicates compatible and incompatible host-pathogen interactions, *Phytopathology* 97, 780-786.
- van Leeuwen, C., Roby, J. P., Alonso-Villaverde, V. ve Gindro, K. (2013). Impact of clonal variability in *Vitis vinifera* cabernet franc on grape composition, wine quality, leaf blade stilbene content, and downy mildew resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(1), 19-24.
- Vezzulli, S., Malacarne, G., Masuero, D., Vecchione, A., Dolzani, C., Goremykin, V., Mehari, Z. H., Banchi, E., Velasco, R., Stefanini, M., Vrhovsek, U., Zulini, L., Franceschi, P. ve Moser, C. (2019). The Rpv3-3 haplotype and stilbenoid induction mediate downy mildew resistance in a grapevine interspecific population. *Frontiers in Plant Science*. 10(Article 234), 1-12, doi: 10.3389/fpls.2019.00234.
- Vrhovsek, U., Malacarne, G., Masuero, D., Zulini, L., Guella, G., Stefanini, M., Velasco, R ve Mattivi, F. (2012). Profiling and accurate quantification of *trans*-resveratrol, *trans*-piceid, *trans*-pterostilbene and 11 viniferins induced by *Plasmopara viticola* in partially resistant grapevine leaves. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18, 11-19.
- VVIC, (2020). *Vitis international variety catalogue*. [http:// vivc.de](http://vivc.de). Accessed 25 June 2020.
- Wang, C., Wu, J., Zhang, Y. ve Lu, J. (2018). *Muscadinia rotundifolia* ‘Noble’ defense response to *Plasmopara viticola* inoculation by inducing phytohormone-mediated stilbene accumulation. *Protoplasma*, 255(8), 95–107. doi: 10.1007/s00709-017-1118-8.
- Yıldırım, Z., Atak, A. ve Akkurt, M. (2019). Determination of downy and powdery mildew resistance of some *Vitis* spp. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 34(1) 15-24.
- Zyprian, E., Ochßner, I., Schwander, F., Šimon, S., Hausmann, L., Bonow-Rex, M., Moreno-Sanz, P., Grando, M. S., Wiedemann-Merdinoglu, S., Merdinoglu, D., Eibach, R. ve Töpfer, R. (2016). Quantitative trait loci affecting pathogen resistance and ripening of grapevines. *Molecular Genetics and Genomics*, 291(4), 1573-1594.

8. EKLER

Ek Çizelge 1. Etmenin inokulasyonundan sonraki farklı zaman aralıklarında farklı genotiplerin yapraklarında belirlenen stilbene grubu bileşikler ($\mu\text{g/g TA}$)

Genotipler	İnokulasyondan Sonraki Süre (saat)	Bileşikler ($\mu\text{g/g TA}$)*		
		Resveratrol	ϵ -Viniferin	Pterostilbene
Karasakız	24	2.57 \pm 0.09 d**	1.22 \pm 0.07 jk	1.52 \pm 0.03 ghi
	48	2.26 \pm 0.03 e	0.98 \pm 0.05 l	1.38 \pm 0.00 j
	72	2.25 \pm 0.02 e	1.18 \pm 0.01 k	1.46 \pm 0.01 ij
Müşküle	24	1.73 \pm 0.09 g	1.03 \pm 0.05 l	1.61 \pm 0.02 f
	48	3.31 \pm 0.08 b	1.34 \pm 0.03 ij	1.48 \pm 0.04 ij
	72	3.72 \pm 0.03 a	1.54 \pm 0.01 h	1.98 \pm 0.00 c
Tekirdağ Sultani	24	1.78 \pm 0.06 g	1.40 \pm 0.01 i	2.23 \pm 0.07 b
	48	1.22 \pm 0.09 h	1.23 \pm 0.08 jk	1.54 \pm 0.03 fgh
	72	0.97 \pm 0.08 i	0.73 \pm 0.01 m	1.14 \pm 0.02 k
119	24	2.01 \pm 0.06 f	1.20 \pm 0.13 k	1.60 \pm 0.04 fgh
	48	2.49 \pm 0.06 d	1.43 \pm 0.02 hi	1.77 \pm 0.04 e
	72	3.74 \pm 0.08 a	1.86 \pm 0.08 g	1.90 \pm 0.05 d
154	24	2.23 \pm 0.06 e	2.25 \pm 0.08 e	1.48 \pm 0.04 hi
	48	2.82 \pm 0.08 c	2.13 \pm 0.00 f	2.32 \pm 0.01 b
	72	2.99 \pm 0.00 c	2.43 \pm 0.09 d	2.53 \pm 0.03 a
200	24	2.26 \pm 0.05 e	2.78 \pm 0.04 c	1.57 \pm 0.05 fg
	48	2.40 \pm 0.04 de	3.14 \pm 0.08 b	1.77 \pm 0.00 e
	72	2.96 \pm 0.05 c	3.76 \pm 0.05 a	1.87 \pm 0.02 d

*Her bir değer 3 tekkerrürün ortalamasıdır.

**Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre önemlidir ($p<0.05$).

9. ÖZGEÇMİŞ

20.08.1995 yılında Malatya'nın Arapgir ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Malatya'da tamamladı. 2014-2018 yılları arasında Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümünden mezun oldu. 2018 yılında yüksek lisans eğitimine başladı. TÜBİTAK tarafından desteklenen 1120226 nolu ve "Salamuralık Yapraklı ve Mildiyö Hastalığına Dayanıklı Yeni Üzüm Çeşitleri Geliştirme" isimli 1001 projesinde 2019-2020 yılları arasında bursiyer öğrenci olarak sera ve laboratuarda çalıştı.

