

GANOS DAĞLARI DOĞAL FLORASINDAN TOPLANAN *Vitis* TÜRLERİNİN BAĞ ANTRAKNOZU (*Elsinoe ampelina*) ve KURŞUNİ KÜF (*Botrytis cinerea*) HASTALIKLARINA DAYANIKLILIKLARININ MOLEKÜLER OLARAK BELİRLENMESİ

Nihan ŞAHİN^{1*}, Serkan CANDAR², Elman BAHAR³, İlknur KORKUTAL⁴, Demir KÖK⁵

¹Araş. Gör. Dr., Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ; ORCID: 0000-0002-3204-9082

²Dr., Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Tekirdağ; ORCID: 0000-0002-2608-8691

³Prof. Dr., Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ; ORCID: 0000-0002-8842-7695

⁴Prof. Dr., Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ; ORCID: 0000-0002-8016-9804

⁵Prof. Dr., Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ; ORCID: 0000-0001-5879-8535

ÖZ

Bağ antraknozu (*Elsinoe ampelina*) ve kurşuni küf (*Botrytis cinerea*), ülkemizde yaygın olarak görülen bağ hastalıkları arasındadır. Bu hastalıklar tüm yeşil aksamı etkilemekle beraber; özellikle üzüm tanesinde ciddi hasarlara yol açmaktadır. Ayrıca silkme gibi bazı fizyolojik bozukluklara da neden olabilmekte, omcanın kurumasına bile sebep olmaktadır. Bu hastalıklara karşı kültürel ve kimyasal mücadele yöntemleri geliştirilmiştir, ancak genetik dayanıklılık veren genlerin bulunması en etkin yöntem olarak kabul edilmektedir. Dayanıklılık kaynağının belirlenmesi ve aktarılması ile ilgili ıslah çalışmaları uzun soluklu ve maliyetli çalışmalarlardır. Buna rağmen uzun vadede kimyasal mücadeleye göre ekonomik ve çevresel etkilerinin daha az olduğu bilinmektedir. Klasik ıslah dayanıklılık ıslahında melezleme ya da seleksiyon gibi uzun zaman gerektiren yöntemlerden faydalankılmaktadır. Günümüzde ise genetik çalışmalarında kaydedilen ılerlemeler, özellikle *Vitis* sp. gibi detaylı çalışılmış türlerde, dayanıklılık sağlayan genlerin iyi tanımmasını, bu genlerin tespitine yaranan moleküller belirteçlerin geliştirilmesini ve ıslah süreçlerinin hızlanması sağlamıştır. Bu araştırmada bağcılıkın antik zamanlardan beri neredeyse kesintisiz devam ettiği Ganos Dağları doğal florasından toplanan *Vitis* türlerinde moleküller belirteçler yardımcıla bağ antraknozu ve kurşuni küf hastalıklarına dayanıklı genotipler araştırılmıştır. Çalışmada toplam 43 genotip incelenmiş, tekli dominant bir gen tarafından idare edilen bağ antraknozuna dayanıklılık ile ilişkili bir SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) belirteci ve kurşuni küfe dayanıklılık ile ilişkilendirilmiş bir SSR (Simple Sequence Repeats) belirteci kullanılmıştır. Çalışma sonucunda bağ antraknozuna dayanıklılık geni ile ilişkilendirilmiş bölgeyi taşıyan 6 genotip, kurşuni küf dayanıklılık ile ilişkilendirilmiş bölgeyi taşıyan 2 genotip tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Elsinoe ampelina*, *Botrytis cinerea*, SCAR, SSR, Ganos Dağları

DETERMINATION OF THE RESISTANCE TO VINEYARD ANTHRACNOSE (*Elsinoe ampelina*) AND GRAY MOLD (*Botrytis cinerea*) DISEASES VIA MOLECULAR MARKERS ON *Vitis* SPECIES COLLECTED FROM THE NATURAL FLORA OF THE GANOS MOUNTAINS

ABSTRACT

Anthracnose of grape (*Elsinoe ampelina*) and gray mold (*Botrytis cinerea*) are among the common vineyard diseases in Turkey. Although these diseases affect all green parts of plants; they cause serious damage especially to grapes. In addition, these can cause some physiological disorders such as flower or fruit shedding and even cause the vine to dry out. Cultural and chemical control methods have been developed against these diseases but finding genetic resistance genes is considered the most effective method. Breeding studies related to determining the source of resistance and transferring the resistance are long-term and costly studies. Despite this, it is known that its economic and environmental effects are less than chemical control in the long term. In classical breeding, long-term methods such as hybridization or selection are used in resistance breeding. Today, advances in genetic studies have enabled the well-recognition of genes that provide resistance, the development of molecular markers for the detection of these genes, and the acceleration of breeding processes, especially in species that have been studied in detail, such as *Vitis* sp. In this research, genotypes resistant to anthracnose of grape and gray mold diseases were investigated via molecular markers in *Vitis* species collected from the natural flora of Ganos Mountains, where viticulture has been continuing almost uninterruptedly since ancient times. A total of 43 genotypes were examined in the study, and a SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) marker associated with resistance to bond anthracnose administered by a single dominant gene and a SSR (Simple Sequence Repeats) marker associated with gray mold resistance were used. As a result of the study, 6 genotypes carrying the region associated with the vine anthracnose resistance gene and 2 genotypes carrying the region associated with gray mold resistance were determined.

Keywords: *Elsinoe ampelina*, *Botrytis cinerea*, SCAR, SSR, Ganos Mountains

*Sorumlu yazar / Corresponding author: nihansahin@nku.edu.tr

GİRİŞ

Bağcılık çalışmalarında gen kaynaklarının tanımlanması ve korunması çalışmalarına bakıldığından temel olarak; doğal gen kaynaklarının kullanımı son yıllarda ön plana çıkmaktadır. Diğer bir yönyle hibrit bitkiler elde edilmeden önce, ebeveyn olarak kullanılması düşünülen doğal gen kaynağı olan bitkilerin daha üstün özelliklere sahip olup olmadığı genetik olarak karakterize edilmelidir. Yeni çeşitlerin tanımlanması; doğru melezleme kombinasyonunun kontrolü ve bu çeşitlerin çoğaltımı aşamasında, ıslahçı araştırmacıların, kurumların ve hatta ülkelerin haklarının korunması açısından da büyük önem taşımaktadır [1].

Son yıllarda, asmada hastalıklara karşı direnci araştırmak için çeşitli moleküller yaklaşımalar kullanılmaktadır. Bu sayede konukçu-patojen etkileşimlerinde yer alan mekanizmalarındaki bilgiler artmıştır [2]. *Elsinoe ampelina*'nın yol açtığı bağ antraknozu ve *Botrytis cinerea*'nın yol açtığı kurşunu kükürbastırdır.

Elsinoe ampelina kaynaklı bağ antraknozu özellikle dünyanın nemli bölgelerinde olmak üzere yıkıcı etkilere sebep olmaktadır. *E. ampelina* sürgünlerde esas olmak üzere meyveler ve genç dokularda hasara yol açar, bitkinin canlılığını ve verimi etkiler. Hastalık döngüsünde patojen-konukçu mekanizmaları tam olarak anlaşılamamış olsa da *E. ampelina*'nın son genom dizisi verileri, evrimini, patojenite mekanizmalarını ve efektör repertuarını anlamak için daha ileri çalışmalarla temel oluşturmaktadır [3, 4]. Mortensen [5], *V. vinifera* ve *V. labrusca*'da yaptığı çalışmada bağ antraknozuna dayanıklılığın 3 bağımsız genin kontrolü altında olduğunu bildirmiştir. Teoriye göre An1 ve An2 dominant genlerinin duyarlılığı sebep olduğunu An3 tekli dominant geninin ise dayanıklılık kaynağı olduğu öne sürülmüştür. Bağ antraknozuna dayanıklılığın kalitiminin oldukça yüksek olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir [6-11]. Wang vd. [12] OPJ13-300 RAPD belirteci ile bağ antraknozuna dayanıklılık geninin ilişkili olduğunu bildirmiştir. Fakat daha sonra yedi farklı melez kombinasyonuyla yapılan başka bir çalışmada dayanıklılık geni ile RAPD belirteci arasında bir ilişki kurulamamıştır [13]. Daha sonra Kim vd. [14] tarafından geliştirilen SCAR belirtecinin (SCAR15/OPB151247) antraknoza dayanıklılık lokusuyla ilişkili olduğunu bildirilmiştir ve daha sonra çeşitli araştırmalarda doğrulanmıştır [15-17]. Birçok meyvede ve sebzede hasara yol açan *Botrytis cinerea* asmada da salkım çürüklüğünün etmeni olmakla beraber nemli koşullarda bitkinin diğer kısımlarında da kısmi zararlara yol açabilmektedir

[18]. Hasat sonrası ciddi oranda kalite kayıplarına yol açan kurşunu küfe dayanıklılık mekanizması tam olarak açıklanmamış olsa da bazı Kitinaz ve β-1,3-glukanaz gibi PR (patojen ilişkili) proteinleri [19] ve fenilpropanoid yolu gibi sekonder metabolit aktiviteleri [20] *B. cinerea* dayanıklılığı ile ilişkilendirilmiştir. Di Gaspero ve Cipriani [2] PR proteinlerinden faydalananarak rgVrip064 belirteci kurşunu küfe dayanıklılıkla ilişkilendirmiştir.

Bu çalışma kapsamında Ganos Dağları doğal florasından toplanan 43 asma örneği *Elsinoe ampelina* ve *Botrytis cinerea* dayanıklılıkları açısından moleküler belirteçler yardımcıyla taramıştır.

MATERIAL VE METOT

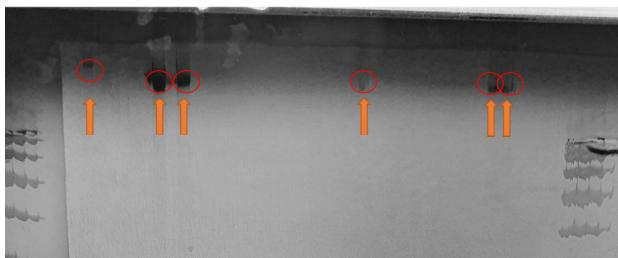
Çalışma kapsamında daha önce Korkutal vd. [21] ve Bahar vd. [22] tarafından bildirilen coğrafi konumlarda yapılan survey çalışması sonucunda belirlenen 43 asmadan toplanan yaprak örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. DNA eldesi için toplanan taze yaprak örnekleri parçalanarak Doyle ve Doyle [23]'a göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA'ların kalite ve miktarları %1 TBE (Tris-Borat-EDTA) agaroz jelde (w/v) yürütülerek incelenmiş, daha sonra örnekler 1/10 oranında TE (Tris-EDTA) tamponu ile seyreltilerek kullanılmıştır. Çalışmada bağ antraknozuna dayanıklılık ile ilişkilendirilmiş Kim vd. [14] tarafından geliştirilen SCAR15 SCAR belirteci ve kurşunu küfe dayanıklılık ile ilişkilendirilmiş Di Gaspero ve Cipriani [2] tarafından geliştirilen rgVrip064 SSR belirteçlerinden faydalanyılmıştır. PCR işlemleri için ~10 µg örnek DNA, 1,25U Taq polimeraz enzimi (DreamTaq, Thermo Fisher), 1X reaksiyon tamponu (DreamTaq Buffer, Thermo Fisher), her nükleotitten 0.2 µM olmak üzere dNTPmix (dATP, dCTP, dGTP ve dTTP), ve her iki yönden 1 µM olmak üzere primer ve ddH₂O kullanılarak hazırlanan reaksiyon karışımı kullanılmıştır. PCR reaksiyonları 5 dakika 94°C ilk denatürasyon sonrasında 94°C'de 45 saniye denatürasyon, 60°C (SCAR15) ve 58°C (rgVrip064) sıcaklıklarında 45 saniye bağlanma ve 72°C'de 1 dakika 15 saniye uzatma olacak şekilde 40 döngü olarak gerçekleştirilmiş, tüm döngüler sonunda 72°C'de 15 dakika son uzatma işlemi için tutulmuştur. PCR işlemleri sonrasında elde edilen SCAR15 belirtecinin ürünleri yatay elektroforezde %3 TBE agaroz jelde 10 V/cm olacak şekilde 1.5 saat yürütülmüştür. rgVrip064 belirtecinin ürünleri ise dikey elektroforezde %6 poliakrilamat jelde 15 V/cm olacak şekilde 3 saat yürütülmüştür. Elektroforez sonrasında agaroz jeller RedSafe boyası ile boyanarak, poliakrilamat jeller gümüş boyama yöntemi ile

boyanarak görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır. SCAR15 belirteci için ~1247 bç bant gösteren, rgVrip064 belirteci için ise ~650 bç bant gösteren genotipler tespit edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

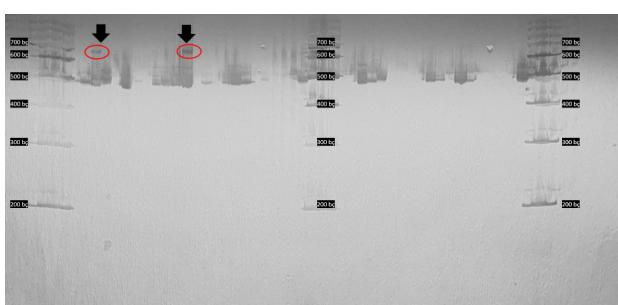
Bağ antraknozuna dayanıklılıkla ilgili SCAR belirteci Kim vd. [14] tarafından geliştirilmiştir. SCAR15 belirtecinin 1247 bç bantının dayanıklılıkla ilgili olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda incelenen genotipler arasında 6, 14, 16, 21, 35 ve 36 numaralı genotiplerin bu banti taşıdığı tespit edilmiştir (Şekil 1).

Zini vd. [24] ve Raffeiner vd. [25] çalışmalarında bağ antraknozuna dayanıklılığın tespitinde SCAR15 belirtecenin faydalananmış ve sonuçların ilişkili olduğunu bildirmiştirlerdir. Di Gaspero ve Cipriani [2] çalışmalarında kurşunu küp hastalığına dayanıklılığın tespiti için rgVrip064 belirtecinin etkili bir şekilde kullanılabileceğini bildirmiştirlerdir. Çalışmamızda incelenen genotipler bu belirteç ile taranmış ve dayanıklılık ile ilişkilendirilmiş ~650 bç bandına 3 ve 12 numaralı genotiplerde rastlanmıştır (Şekil 2).



Şekil 1. SCAR15 belirteci kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin poliakrilamat jel görüntüsü

Figure 1. Polyacrylamide gel image of PCR products obtained using the SCAR15 marker



Şekil 2. rgVrip064 belirteci kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin poliakrilamat jel görüntüsü

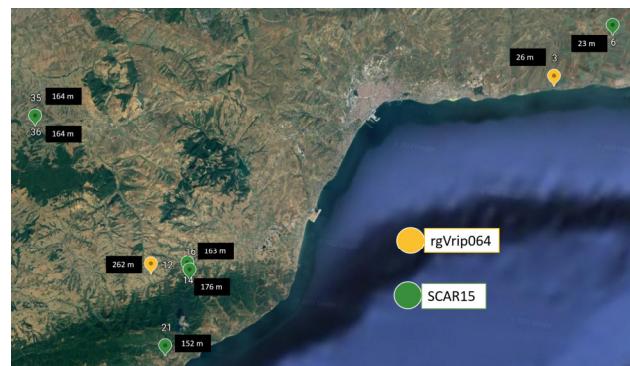
Figure 2. Polyacrylamide gel image of PCR products obtained using the rgVrip064 marker

Di Gaspero vd. [26], Welter vd. [27] ve Di Gaspero ve Cipriani [2] çalışmalarında rgVrip064 belirtecinin kurşunu küp ile ilişkili olduğunu

bildirmiştir. Bunun yanında Welter vd. [27] rgVrip064 belirtecinin külleme ile de ilişkili olabileceğini önermiştir.

Çalışma kapsamında toplanan ve incelenen belirteçlerin ilgili bantlarının gözlendiği genotipler 3, 6, 12, 14, 16, 21, 35 ve 36. genotiplerin toplandığı alanlar ve yükseklikler harita üzerinde Şekil 3'te gösterilmiştir.

Toplanan örneklerin 23 metreden 262 metreye kadar farklı yüksekliklerden alınmış olması dayanıklılık kaynağı açısından yükseklik ilişkisiz görülmüştür. Fakat örneklerin tamamı dere içleri gibi bulunan nemli alanlardan toplanmıştır.



Şekil 3. Çalışmada incelenen genotiplerin toplandığı alanlar ve bulundukları rakımlar

Figure 3. The areas where the genotypes examined in the study were collected and their altitudes

SONUÇ

Doğal asma germplazmazı benzersiz alleller açısından hem sofralık hem de şaraplık üzüm ıslahı açısından önemli kaynaklardır [28]. Daha önceki çalışmalar sonucunda [22, 29, 30] ümitvar olarak belirlenen bu genotiplerin ıslah programlarına dahil edilmeden önce birbirleriyle ve bölgede yaygın olarak kültürü yapılan çeşitlerle genetik ilişkilerinin detaylı olarak tespit edilmesi, önemli tarımsal özellikleri ve hastalık-zararlılara dayanıklılık ile ilişkili genetik potansiyellerinin anlaşılması gerekmektedir. Özellikle patojen dayanıklılığı genlerine sahip, doğal floradan elde edilen dioik *Vitis* genetik materyallerin *Vitis vinifera* tabanlı yeni varyetelerin elde edilmesi amaçlanan ıslah programlarında kullanılmasında döllenme biyolojisinin moleküller belirteçlerle tespit edilmesi ıslah süresinin kısalması ve maliyetinin azalmasında önemli avantaj sağlayabilir [31].

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile incelenen genotiplerin ilgili özelliklerinin ıslah çalışmaları kapsamında değerlendirilmesi mümkün olabilir. Çalışma kapsamında incelenen genotiplerin bazlarının taşıdıkları bağ antraknozu ve kurşunu küp

hastalıklarına dayanıklılıkla ilişkilendirilmiş allellerini taşıdıkları belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından Öncelikli Alan Projeleri kapsamında desteklenen NKUBAP.03.ÖNAP.20.264 no.lu “Ganos Dağları Doğal Florasında Bulunan *Vitis* Türlerinin Genitör Olma Potansiyellerinin Moleküller Yöntemlerle Belirlenmesi” projesinin bir parçasıdır.

KAYNAKLAR

1. Karauz, A. 2013. Melezleme ıslahı ile elde edilen bazı üzüm çeşitlerinin ebeveyn analizleri ve çekirdeksiz fertlerin marköre dayalı seleksiyonu (Doktora Tezi). Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Tekirdağ, s:90.
2. Di Gaspero, G., Cipriani, G. 2003. Nucleotide binding site/leucine-rich repeats, Pto-like and receptor-like kinases related to disease resistance in grapevine. Molecular Genetics and Genomics, 269(5):612-623.
3. Braga, Z.V., R.F. dos Santos, Amorim, L., Apuzzato-da-Glória, B. 2019. Histopathology of infection and colonisation of *Elsinoë ampelina* on grapevine leaves. European Journal of Plant Pathology, 154(4):1009-1019.
4. Li, Z., Dos Santos, R.F., Gao, L., Chang, P., Wang, X. 2021. Current status and future prospects of grapevine anthracnose caused by *Elsinoe ampelina*: An important disease in humid grape-growing regions. Molecular Plant Pathology, 22(8):899-910.
5. Mortensen, J. 1981. Sources and inheritance of resistance to anthracnose in *Vitis*. Journal of Heredity, 72(6):423-426.
6. Poolsawat, O., Mahanil, S., Laosuwan, P., Wongkaew, S., Tharapreukpong, A., Reisch, B., Tantasawat, P. 2013. Inheritance of downy mildew (*Plasmopara viticola*) and anthracnose (*Sphaceloma ampelinum*) resistance in grapevines. Genetics and Molecular Research, 12(4):6752-6761.
7. Wang, Y., Liu, Y., He, P., Lamikanra, O., Lu, J. 1998. Resistance of Chinese *Vitis* species to *Elsinoë ampelina* (de Bary) shear. HortScience, 33(1):123-126.
8. Jayasankar, S., Li, Z., Gray, D. 2000. *In-vitro* selection of *Vitis vinifera* ‘Chardonnay’ with *Elsinoe ampelina* culture filtrate is accompanied by fungal resistance and enhanced secretion of chitinase. Planta 211(2):200-208.
9. Kono, A., Sato, A., Ban, Y., Mitani, N. 2013. Resistance of *Vitis* germplasm to *Elsinoë ampelina* (de Bary) Shear evaluated by lesion number and diameter. HortScience 48(12):1433-1439.
10. Louime, C., Lu, J., Onokpise, O., Vasanthaiyah, H.K., Kambiranda, D., Basha, S.M., Yun, H.K. 2011. Resistance to *Elsinoë ampelina* and expression of related resistant genes in *Vitis rotundifolia* Michx. grapes. International Journal of Molecular Sciences, 12(6):3473-3488.
11. Han, R., Yin, W., Ahmad, B., Gao, P., Li, Z., Wang, X. 2021. Pathogenesis and immune response in resistant and susceptible cultivars of grapevine (*Vitis* spp.) against *Elsinoe ampelina* infection. Phytopathology®, 111(5):799-807.
12. Wang, X., Wang, Y., Zhou, P., Zheng, X. 2000. Identification of RAPD markers linked to anthracnose resistant gene in wild grapes native to China. Scientia Agricultura Sinica, 33(6):13-18.
13. Poolsawat, O. 2010. Pathogen diversity, resistance and development of molecular markers for resistance genes to *Sphaceloma ampelinum*, the causal agent of grape scab (anthracnose). Doctoral Thesis, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima.
14. Kim, G.H., Yun, H.K., Choi, C.S., Park, J.H., Jung, Y.J., Park, K.S., Dane, F., Kang, K.K. 2008. Identification of AFLP and RAPD markers linked to anthracnose resistance in grapes and their conversion to SCAR markers. Plant Breeding 127(4):418-423.
15. Barros, L.B., Biasi, L.A., Carisse, O., De Mio, L.L.M. 2015. Incidence of grape anthracnose on different *Vitis labrusca* and hybrid cultivars and rootstocks combination under humid subtropical climate. Australasian Plant Pathology 44(4):397-403.
16. Wang, Q., Zhang, Y., Gao, M., Jiao, C., Wang, X. 2011. Identification and expression analysis of a pathogenresponsive PR-1 gene from Chinese wild *Vitis quinquangularis*. African Journal of Biotechnology, 10(75):17062-17069.
17. Li, S., Li, Z., Zhao, Y., Zhao, J., Luo, Q., Wang, Y. 2020. New disease-resistant, seedless grapes are developed using embryo rescue and molecular markers. 3 Biotech, 10(1):1-12.
18. Albayrak, S. 2017. Bağda kurşunu küf (*Botrytis cinerea* Pers.) hastalığı ve mücadeleşi (Yüksek Lisans Tezi). Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Erzurum, s:89.

- 19.Jacobs, A.K., Dry, I.B., Robinson, S.P. 1999. Induction of different pathogenesis-related cDNAs in grapevine infected with powdery mildew and treated with ethephon. *Plant Pathology*, 48(3):325-336.
- 20.Xu, D., Deng, Y., Xi, P., Yu, G., Wang, Q., Zeng, Q., Jiang, Z., Gao, L. 2019. Fulvic acid-induced disease resistance to *Botrytis cinerea* in table grapes may be mediated by regulating phenylpropanoid metabolism. *Food Chemistry*, 286:226-233.
- 21.Korkutal, I., Bahar, E., Kök, D., Şahin, N., Uysal, T., Özalp, Z., Yaşasın, A., Candar, S., Alço, T., İşin, M. 2018. Collecting genetic materials and isolating DNAs of grapevine (*Vitis* spp.) as naturally grown in Ganos mountains. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 31(1):5-15.
- 22.Bahar, E., Korkutal, İ., Şahin, N., Sağır, F.S., Demir, K., Ergönül, O., Uysal, T., Özalp, Z.O. 2019. Ganos dağları doğal florasında bulunan kültür asmlarının (*Vitis vinifera* L.) moleküller ve ampelografik karakterizasyonu. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1):92-102.
- 23.Doyle, J.J., Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1):11-15.
- 24.Zini, E., Raffeiner, M., Di Gaspero, G., Eibach, R., Grando, M.S., Letschka, T. 2014. Applying a defined set of molecular markers to improve selection of resistant grapevine accessions. 11. International Conference on Grapevine Breeding and Genetics, 1082.
- 25.Raffeiner, M., Zini, E., Letschka, T. 2019. Analisi di accessioni di vite con marcatori molecolari associati a geni di resistenza a filossera, antracnosi e tumore batterico. *Laimburg Journal*, 1.
- 26.Di Gaspero, G., Cipriani, G., Adam-Blondon, A.F., Testolin, R. 2007. Linkage maps of grapevine displaying the chromosomal locations of 420 microsatellite markers and 82 markers for R-gene candidates. *Theoretical and Applied Genetics*, 114(7):1249-1263.
- 27.Welter, L.J., Göktürk Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R., Zyprian, E.M. 2007. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Molecular Breeding*, 20(4):359-374.
- 28.Aradhya, M.K., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.-M., Walker, M.A., Meredith, C.P., Simon, C.J. 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. *Genetical Research*, 81(3):179-192.
- 29.Korkutal, İ., Bahar, E., Kök, D., Şahin, N., Uysal, T., Özalp Z.O., Yaşasın, A.S., Candar, S., Alço, T., İşin, M.A. 2017. Ganos dağlarında doğal olarak bulunan asmlara (*Vitis* spp.) ait genetik materyallerin toplanması ve DNA izolasyonlarının yapılması. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 31(1):5-15.
- 30.Kök, D., Bahar, E., Korkutal, I., Bal, E., Alço, T., Candar, S., Yaşasın, A.S. 2018. Ganos dağlarında doğal olarak yetişen üzüm tiplerinin (*V.vinifera* L.) fitokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 15(3):52-60.
- 31.Costantini, L., Moreira, F.M., Zyprians, E., Martínez-Zapater, J.M., Grando, M.S. 2009. Molecular maps, QTL mapping & association mapping in grapevine, in *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*, K.A. Roubelakis-Angelakis, Editor. Springer Netherlands: Dordrecht. pp:535-563.