

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI ERİK VE KIRAZ GENOTİPLERİNİN SSRs (SIMPLE SEQUENCE
REPEATS)'A DAYALI GENETİK KARAKTERİZASYONU**

Özge KÖSE

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2013

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI ERİK VE KİRAZ GENOTİPLERİNİN SSRs (SIMPLE SEQUENCE REPEATS)'A DAYALI GENETİK KARAKTERİZASYONU

Özge KÖSE

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. E. Sümer ARAS

Türkiye, hem erik hem de kiraz üretimi ve ihracatı açısından dünyada önemli bir ülkedir. Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü bünyesindeki koleksiyondan seçilen kiraz için; 13 adet yerli ve 3 adet referans çeşit (*Prunus avium* L.), erik için ise 6 adet yerli 2 adet referans çeşitlerinin (*Prunus domestica* L.) bulunduğu bu tez çalışmasında, 5 SSR (Simple Sequence Repeat) lokusu ile toplamda 24 genotipin genetik tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Araştırmada *Prunus* türlerinden geliştirilmiş 5 SSR lokusu kullanılarak 24 genotipde elde edilen toplam allel sayısı 57'dir. En düşük allel sayısı 6 allel ile UCDCH-13 lokusunda tespit edilirken, en yüksek allel sayısı 16 olarak UCDCH-17 lokusunda tespit edilmiştir. Alleller ortalaması 11.4 olarak bulunmuştur. Elde edilen verilere göre; benzer, homonim ve sinonim genotiplere rastlanılmamıştır. Ülkemiz erik ve kiraz kaynaklarının SSR düzeyinde tanımlanmasına yönelik gerçekleştirilen bu çalışma bulguları, ileride yürütülecek diğer çalışmalara ön veri oluşturacaktır.

Haziran 2013, 43 sayfa

Anahtar Kelimeler: Erik, Kiraz, SSR, Moleküler Karakterizasyon, Türkiye

ABSTRACT

GENETIC CHARACTERIZATION OF SOME PLUM AND CHERRY GENOTYPES BASED ON SSRs (SIMPLE SEQUENCE REPEATS)

Master Thesis

Özge KÖSE

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. E. Sümer ARAS

Turkey is a significant country in the world in terms of its production and exportation of both plum and cheery. In this thesis study, which includes 13 domestic and 3 reference varieties (*Prunus avium* L.) for cheery; 6 domestic and 2 reference varieties (*Prunus domestica* L.) for plum selected from collection within the structure of Erzinçan Horticultural Research Institute, genetic descriptions of total 24 genotypes were realized by 5 SSR (Simple Sequence Repeat) locus. In the research, the total number of alleles obtained in 24 genotypes by using 5 SSR locus developed from *Prunus* species is 75. While determining the lowest alleles number by 6 alleles in UCDCH-13 locus, the maximum alleles number was determined as 16 in UCDCH-17 locus. Average number of alleles was found as 11.4. According to the data obtained; similar homonym and synonym genotypes were not observed. These study findings that were realized towards the SSR level description of the plum and cherry resources of our country shall form pre-data to other studies that shall be carried out in the future.

June 2013, 43 pages

Key Words: Plum, Cheery, SSR, Molecular Characterization, Turkey

TEŞEKKÜR

Bu konuda bana alıŐma olanağı veren, danışman hocam Sayın Prof. Dr. E. Sumer ARAS'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), Sayın Hocam Prof. Dr. Ali ERGÜL'e (Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü) en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tezimin kontrolü ve yazımı aşamasında, yardım ve katkılarından dolayı öncelikle Dr. Melike BAKIR, Uzm. Bio. Pelin ÇELİKKOL ve Öğr. Gör. İlker BÜYÜK'e, yardıma ihtiyaç duyduğumda hep yanımda olan Sinem DEMİREL'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan, başta sevgili ablam Zeynep KÖSE'ye ve çok değerli aileme en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Özge KÖSE

Ankara, Haziran 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	4
2.1 DNA Markörler	5
2.1.1 Hibridizasyona dayalı DNA markörler.....	5
2.1.2 PCR (Polymerase Chain Reaction) = PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)'a dayalı DNA markörler	6
2.1.2.1 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Rastgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı).....	6
2.1.2.2 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı).....	6
2.1.2.3 Mikrosatelitler (SSR, Simple Sequence Repeats).....	7
3. KAYNAK ÖZETLERİ	8
3.1 Kiraz ve Erik Türlerinin Genetik Tanımlamasına Yönelik SSR ve Diğer DNA Markörlerle Yürütülen Araştırmalar	8
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
4.1 Materyal	16
4.2 Yöntem	17
4.2.1 DNA izolasyonu	17
4.2.2 SSR allel bölgelerinin PCR (Polymerase Chain Reaction) aracılığı ile çoğaltılması.....	18
4.2.2.1 Çalışmada kullanılan SSR primerleri	18
4.2.3 PCR ürünlerinin kapiller elektroforezi ve allel verilerinin görüntülenmesi ..	19
4.2.4 Genetik analizler	20
5. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	22

5.1 DNA İzolasyonu.....	22
5.2 SSR Lokuslarının PCR Reaksiyonu ve Allel Görüntülerinin Alınması.....	24
5.3 Genetik Analizler	26
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ.....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı)
bp	Base pair (Baz çifti)
cDNA	Complementary DNA (Tamamlayıcı DNA)
cpDNA	Chloroplast DNA (Kloroplast DNA)
CTAB	Cetyl trimethylammonium bromide
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EtBr	Ethidium bromide (Etidyum bromür)
H _e	Expected heterozygosity (Beklenen heterozigotluk)
H _o	Observed heterozygosity (Gözlenen heterozigotluk)
ISSR	Inter-Simple Sequence Repeat
LiCl	Lityum klorür
MgCl ₂	Magnezyum klorür
mM	Milimol
µl	Mikrolitre
M	Mol
n	The number of alleles (Allel sayısı)
ng	Nanogram
nSSR	Nuclear simple sequence repeats (Çekirdek basit dizi tekrarları)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
PI	Probability of Identity (Tespit olasılığı)
PVP	Polyvinylpyrrolidone
r	The estimated frequency of null allele (Tahmin edilen sessiz allel frekansı)
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA (Rastgele çoğaltılmış DNA farklılığı)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş parça uzunluğu farklılığı)

RNase	Ribonükleaz
rpm	Revolution Per Minutes (Dakikadaki dönüş sayısı)
SLS	Sample Loading Solution
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit dizi tekrarları)
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA Tamponu
TE	Tris-EDTA Tamponu
Tm	Primerin DNA'ya bağlanma sıcaklığı
UPGMA	Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Tezin moleküler çalışmasının yöntem aşamalarının genel görünümü.....	20
Şekil 5.1 Araştırmada kullanılan bazı çeşitlere ait DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforez görünümü.....	22
Şekil 5.2 PCR'da çoğaltılmış SSR lokusunun (UCDCH-17 lokusu) agaroz jel ortamında görünüşü	25
Şekil 5.3 Kirazda UCDCH-17 primeri kapiller elektroforezdeki heterozigot allel görüntüsü	25
Şekil 5.4 Erikte UCDCH-31 primeri kapiller elektroforezdeki homozigot allel görüntüsü	26
Şekil 5.5 Erik ve kiraz çeşitlerine ait genetik ilişki dendogramı	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Tezde kullanılan kiraz ve erik çeşitleri	16
Çizelge 4.2 Kullanılan primerlere ait bilgiler	19
Çizelge 5.1 Kiraz örneklerine ait DNA miktar ve saflık derecelerinin iki tekrarlı okuma verileri	23
Çizelge 5.2 Erik örneklerine ait DNA miktar ve saflık derecelerinin iki tekrarlı okuma verileri	24
Çizelge 5.3 Kiraz ve erik çeşitlerinin 5 lokustaki allel büyüklükleri (bp)	27
Çizelge 5.4 Çalışılan lokuslardaki allel sayıları (n), beklenen heterozigotluk (He), gözlenen heterozigotluk (Ho), tespit olasılığı (PI) değeri ve sessiz (null) allel frekansı (erik kiraz için iki farklı dendogram yap).....	28
Çizelge 5.5 Çalışılan lokuslardaki allel büyüklükleri (bp) ve allel frekansları (%).....	28
Çizelge 5.6 Çalışılan lokuslardaki allel büyüklükleri (bp) ve allel frekansları (%).....	29
Çizelge 5.7 Genetik benzerlik indeksi	31

1. GİRİŞ

Türkiye coğrafi konumu nedeniyle, pek çok meyve türleri için oldukça elverişli bir iklime ve bitki gen kaynakları çeşitliliği açısından da zengin bir biyolojik çeşitliliğe sahiptir. Bu bakımdan Türkiye, bahçe bitkileri kültürünün oluşum yeridir. Ayrıca dünyada yetişen birçok meyve türünün anavatanı konumundadır (Ağaoğlu vd. 1997). Bahçe Bitkileri'ne ait türler arasında önemli bir grubu oluşturan meyveler; üretim değerleri, yetiştirilme alanları ve ihracattaki payı ile büyük önem taşımaktadır (Özçağırın vd. 2005). Bunlar içerisinde yer alan erik ve kiraz türleri ülkemizde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Gül ve Akpınar 2006).

Eriğin anavatanı Anadolu'yu da kapsayan Kafkasya ve Hazar Denizi çevresi olduğu ve buradan dünyaya yayıldığı düşünülmektedir (Eremin 1978). Erik, ülkemizde güneydoğudan başlayıp Orta Anadolu'dan geçerek Akdeniz ve Ege Bölgesi'ne kadar uzanan çeşitli ekocoğrafik koşullarda yaygın olarak yetiştirilmektedir (Özbek 1978a).

Türkiye'de bulunan erik türleri; *Prunus cerasifera* Ehrh., *Prunus domestica* L., *Prunus institia* L., *Prunus spinosa* L. ve *Prunus salicina* Lindley ve *Prunus simonii* carr. olarak bildirilmektedir (Davis 1972). Bu türlerden Avrupa erikleri (*P.domestica* L.) kurutmalık, sofralık ve kısmen de konservelik olarak; Japon erikleri (*P. salicina* Lindl.) sofralık olarak; *P. institia* L. çeşitleri taze ve konservelik olarak, kiraz erikleride denilen *P.cerasifera* Ehrh. ise dış ülkelerde anaç olarak kullanılmasına rağmen yurdumuzda yeşil dönemde sofralık olarak kullanılmaktadır (Özçağırın, 1976).

Türkiye, erik yetiştiriciliği bakımından 230.000 tonluk üretim ile Çin, Sırbistan, ABD, Romanya ve Şili gibi ülkelerin ardından dünyada 8. sırada yer almaktadır (Anonymous 2010). Özellikle kurutmalık özelliğe sahip Stanley erik çeşidi ile can-papaz grubu (*Prunus cerasifera*) yeşil erikler ihracatımızın önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (FAO 2010).

Kirazın (*Prunus avium* L.) anavatanı güney Kafkasya, Hazar Denizi ve Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'dir. Bu gen merkezinden batıya ve doğuya doğru yayılarak dünya

üzerinde geniş bir alanı kaplamıştır. Ülkemizde yabancı olarak Kuzey Anadolu (Karadeniz) Dağları'nda, Toroslar'da ve özellikle Doğu Toroslar'da bol miktarda yabancı kiraza rastlanmaktadır (Özbek 1978b).

Kirazlar olgunluk zamanlarına göre çok erkenci, erkenci, orta mevsim ve geççiler olmak üzere sınıflandırılabilir. Türkiye'de yetişen ve yetiştirilmeleri önerilen önemli kiraz ve vişne çeşitleri ise; *Turfanda Kara*, *Kara Bodur*, *Dalbastı Kirazı*, *Napolyon*, *Bing*, *Windsor*, *Lambert*, *Black Eagle*, *Black Tartarian*, *Bigarreau Jaboulay* ve *Turca*'dır (Özçağırın vd. 2005).

Dünyada kirazın ekonomik olarak yetişebileceği alanlar yaygın olmayıp, kiraz yetiştiriciliği belli ülkelerin sınırlı bölgelerinde yapılmaktadır. Ülkemizde ise kiraz yetiştiriciliği için ekolojik koşulların elverişli olduğu geniş sayılabilecek alanlar bulunmaktadır. Kiraz yetiştiriciliğinde ekolojik yönden büyük bir potansiyele sahip olan ülkemizde üretim bakımından son yıllarda hızlı artışların olduğu gözlenmektedir. Türkiye, Dünya kiraz üretiminde ilk sırada yer alır (417.905 ton). Türkiye'yi; ABD 287.305, İran 255.500, İtalya 115.476 ve İspanya 80.300 tonla takip etmektedir (Anonymous 2010).

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de meyve türlerine ait gen kaynaklarının belirlenmesi amacı ile koleksiyon oluşturma ve bunlar içerisinde daha üstün özellikli bireylerin seleksiyonuna yönelik çalışmalar uzun yıllardır yapılmaktadır. Bitki gen kaynaklarımızın zenginliği kadar, tanımlanması ve korunması da büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda biyoteknolojide görülen hızlı gelişmeler, bitki genetik kaynaklarına ait çalışma alanlarının tümünde, özellikle genetik çeşitliliğin muhafazası, üretimi, yenilenmesi, karakterizasyonu, ıslah ve çeşit geliştirme gibi amaçlar doğrultusunda kullanımında doğrudan ve çok büyük katkılar sağlamıştır. Bu amaçla kullanılan metotlar dikkate alındığında; bunların genetik yapısının değişmeyen kalıp materyali DNA'yı baz alan teknikler olduğu görülmektedir. DNA markörler olarak adlandırılan bu teknikler ise genel olarak; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple

Sequence Repeats), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SNP (Single Nucleotide Polymorphism) şeklinde gruplandırılmaktadır.

Mikrosatellit veya bitkideki kullanımı ile SSR (Simple Sequence Repeat) markörlerin; uluslararası veri paylaşımı, kodominat olması, yüksek polimorfizm göstermesi, tekrar edilebilir olması, türler arası geçişkenlik özelliklerine sahip olması genetik kaynakların tanımlanmasında bu markörleri ön plana çıkarmaktadır (Weber ve May 1989, Yamamoto vd. 2001, Wünsch ve Hormaza 2004).

Bu tezde Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü bünyesindeki koleksiyondan kiraz için; 13 adet yerli ve 3 adet referans çeşit, erik için ise 6 adet yerli 2 adet referans çeşit seçilmiştir. Çeşitlerde 5 SSR (Simple Sequence Repeat) lokusu ile genetik tanımlamalar gerçekleştirilmiştir. Tezde allel büyüklükleri (DNA kimlik verileri) tespit edilirken, çeşitler arası genetik ilişkiler, homonim ve sinonim durumları belirlenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

Prunus cinsi temel olarak; erik ve kayısıların yer aldığı *Prunophora*, şeftali ve bademlerin yer aldığı *Amygdalus*, kiraz ve vişnelerin yer aldığı *Cerasus* olmak üzere üç ana alt cins (subgenera) ayrılmaktadır. *Prunophora* alt cinsi; erikleri içeren *Euprunus* ve kayısıları içeren *Armeniaca* olmak üzere iki seksiyona ayrılmaktadır (Rehder 1947). Erik türleri gen merkezlerine göre; Avrupa-Asya türleri, Uzak Doğu türleri ve Amerikan türleri olmak üzere 3 grup içinde toplanmaktadır (Özvardar ve Önal 1990). Avrupa’da, *P. domestica* L. en önemli meyve çeşitlerinden biri olmakla birlikte, 2000 yıldan fazla süredir yetiştirilmektedir. Bir başka Avrupa eriği olan *P. insititia* L. türü kökeninin ise daha eski çağlara dayandığı düşünülmektedir. Myrobalan eriği (*P. cerasifera* Ehrh.) bir Avrupa eriğidir ve muhtemelen orijini Kafkasya ve Kırım Bölgesi’dir (Eremin 1978). Asya kökenli eriklerin başında ise Çin kökenli ve eski bir tür olan Japon eriği grubu *P. salicina* Lindl. yer almaktadır (Hedrick 1911). Üçüncü grubu oluşturan kuzey Amerika kökenli erikler ise; *P. americana* Marsh., *P. Hortulana* Bailey, *P. Munsoniana* Wight & Hedr., *P. Angustifolia* Marsh. ve *P. maritima* Marsh. (Okie 1987) türlerini içermektedir.

Kiraz ise birçok ılıman iklim meyve türünün yer aldığı *Rosaceae* familyasına dahildir. Bu türler, bitkiler aleminde *Rosales* takımı, *Rosaceae* familyası, *Prunoideae* alt familyası, *Prunus* cinsi ve *Cerasus* alt cinsi içersinde yer almaktadır. *Cerasus* alt cinsinde *Eucerasus*, *Microcerasus*, *Pseudocerasus* ve *Mahaleb* grupları bulunmaktadır (Özçağırın vd. 2005). Avrupa’da, Romanya ve Gürcistan yabani kiraz ağaçları Batı Avrupa ve merkezde farklılaşarak ortaya çıkmıştır. Asya kıtasının bir bölümü, özellikle Kuzey Irak, Ukrayna ve Kafkasya dağlarının güneyinde doğal olarak yetişmektedir. (Tavaud vd. 2001). Modern tarzda yetiştirilmiş kiraz kökeninin Hazar ve Karadeniz’in çevresi olduğuna ve buradan yayıldığına inanılır. Kiraz, ılıman Akdeniz ve hatta subtropikal bölgelerde, İspanya’nın kuzey bölgelerinden Rusya’nın güneydoğusuna kadar dünya genelinde 40’den fazla ülkede yaygın şekilde ticari olarak yetiştirilmektedir (Hedrick vd. 1915).

Prunus cinsinde kromozom sayısı $n=8$ olup, erik türleri bu esas kromozom sayısına göre diploit ($2n=16$), tetraploit ($2n=32$) veya hekzaploit ($2n=48$) genom yapısına sahiptir. Japon erikleri ise (*P. salicina*) diploid, Avrupa eriklerinden olan *P. domestica* ve *P.*

insititia gibi birçok çeşit hekzaploiddir. Myrobalan eriği (*P. cerasifera*) ise diploittir (Salesses vd.1994). Diploit erik genomu yaklaşık 280 Mbp büyüklüğündedir. Hekzaploid *P. domestica* genom büyüklüğü ise yaklaşık 883 Mbp olarak tespit edilmiştir (Arumuganathan ve Earle 1991).

Prunus avium diploid bir genoma (AA, $2n=2x=16$) ve küçük haploid genom boyutuna (338 Mbp) sahiptir. *Arabidopsis thaliana* genomunun yaklaşık iki katı büyüklüğündedir (145Mbp) (Arumuganathan ve Earle 1991).

2.1 DNA Markörler

DNA markörler, bir tür içerisinde bulunan farklı bireylerde dizi polimorfizmi gösteren DNA bölgeleridir ve çeşitlilik tespitinde günümüzde en sık kullanılan yöntemdir (Liu, 1998). Polimeraz Zincir Reaksiyonu'nun (PZR) keşfinden sonra genetik çalışmalarda PZR temelli markörler daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Karry Mullis tarafından 1985 yılında ilk kez ortaya konulan bu teknoloji sayesinde genomun özgün bölgelerinin in vitro şartlarda çoğaltılabilmesi ve elektroforez teknikleri ile görüntülenmesi mümkün hale gelmiştir. DNA teknolojisi ve moleküler biyolojideki hızlı gelişmeye paralel olarak daha ekonomik, kolay ve polimorfik olmalarından dolayı özellikle PZR temelli DNA markör sistemleri (RFLP, RAPD, EST, STS, SSCP, AFLP, STR ve SNP) genetik çalışmalarda daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Weber ve May 1989, Liu 1998).

2.1.1 Hibridizasyona dayalı DNA markörler

Bu grupta yer alan markörlerin en önemlisi RFLP tekniğidir. RFLP analizi birbirini takip eden şu basamaklardan oluşmaktadır:

- I. DNA izolasyonu
- II. Restriksiyon endonükleazlarla genomik DNA'nın kesilmesi
- III. DNA fragmentlerinin agaroz jel elektroforezi ile ayrılması
- IV. 'Southern Blot' tekniği ile uygun bir membrana aktarılması

V. Radyoaktif işaretili prob ile hibridizasyonun yapılması ve sonuçların değerlendirilmesi (Chawla 2009).

RFLP tekniği yüksek seviyede polimorfizm gösterir. Ayrıca farklı çevre koşullarında avantajlar sağlar. Bununla birlikte, bu yöntemde karışık bant örnekleri sonuçların değerlendirilmesinde zorluklara neden olabilir (Striem vd 1990).

2.1.2 PCR (Polymerase Chain Reaction) = PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)'a dayalı DNA markörler

2.1.2.1 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Rastgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı)

RAPD nükleotid dizilimi rasgele seçilmiş primerler kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu olup, nükleotid dizi bilgisine sahip olmaksızın polimorfizmin belirlenmesini sağlar (Temizkan ve Arda 2008).

Yöntem 9-10 baz uzunluğundaki rastgele primerlerin, kalıp DNA'nın iki iplikçiği üzerinde, birbirine karşıt iki farklı noktada tamamlayıcılarını bularak, bu ara bölgenin PCR çoğaltılmasını esas alan polimorfizmden oluşmaktadır (Welsh ve McClelland 1990).

2.1.2.2 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı)

AFLP tekniği restriksiyon enzimleri ile kesilmiş DNA fragmentlerinin seçici amplifikasyonu temeline dayanır. Çoklu bantlar, tesadüfi bölgelerde DNA markörleri içeren amplifikasyon reaksiyonunda oluşturulur. AFLP analizleri ile heterozigot ve homozigot bireyler arasındaki farklılık tespit edilebilmektedir (Vos vd. 1995).

AFLP polimorfizm oranı çok yüksek olan bir tekniktir ve hedef alınan DNA bölgesi kısmen bilinir. Parmak izi analizlerinden daha çok genetik ilişkilerin ortaya konulması

amacı ile kullanılan bu teknik genomda oldukça geniş bir bölgeyi tarar (Söylemezoglu vd. 2005).

2.1.2.3 Mikrosatellitler (SSR, Simple Sequence Repeats)

Bu yöntem 1989 yılında Litt ve Lutty tarafından geliştirilmiştir. Genetik haritalama ve populasyon çalışmaları için ideal DNA markörleridir. Bitki genomu boyunca rastgele dağılmış di-, tri-, tetra-, penta-nükleotit gibi kısa tekrar dizileridir. (AT)_n, (GA)_n, (AGG)_n ve (AAAC)_n gibi örnekler verilebilir. Burada n, ardışık tekrar sayısıdır (Chawla 2009).

Mikrosatellitlerin, biyolojinin güçlü genetik belirteçlerinden biri olduğu kanıtlanmıştır. Mikrosatellitlerin diğer moleküler belirteçlere göre avantaj sağlayan özellikleri vardır. Bu özellikler; kodominant olması, yüksek polimorfizm göstermesi, her lokus için fazla sayıda allel üretebilmesi, aynı cinse ait türler arasında ve aynı familyaya ait cinsler arasında transfer edilebilir olması, uluslararası veri tabanlarının karşılaştırmasına olanak sağlamasıdır (Batley vd. 2007).

3. KAYNAK ÖZETLERİ

SSR belirteçler kullanılarak kiraz ve erikte gerçekleştirilen önemli araştırmalara ait kaynak özetleri aşağıda sunulmuştur.

3.1 Kiraz ve Erik Türlerinin Genetik Tanımlamasına Yönelik SSR ve Diğer DNA Markörlerle Yürütülen Araştırmalar

Boritzki vd. (2000), Neighbour– Joining analiz metodu ile 128 kiraz materyalinin genetik karakterizasyonlarını tespit etmek için 13 SSR primeri ve 10 AFLP primer çiftikombinasyonlarını kullanmışlardır. Çalışma sonucunda her AFLP primer çiftinde tespit edilen lokus sayısı 5-26 arasında olduğu belirlenmiştir.

Cantini vd. (2001), yaptıkları çalışmada SSR markörleri kullanarak, Amerika Tarım Araştırma Servisi (USDA/ARS) Geneva, N.Y., koleksiyonunda yer alan, toplamda 75 bireyi oluşturan vişne (*Prunus cerasus* L.), *Prunus fruticosa* Pall. ve hibritlerinin DNA parmak izlerini çıkararak tanımlamışlardır. Kiraz, vişne ve şeftali genomundan elde edilen 10 adet SSR lokus çifti ile yüksek polimorfizm elde edilmiştir. Araştırmada tüm mikrosatellitlerin her lokusunda 4-16 arasında farklı olası allel tespit edilmiştir.

Dirlewanger vd. (2002), yaptıkları çalışmada “Merrill O’Henry” şeftali çeşidinden elde edilen mikrosatellit markörlerin polimorfizmi öncelikli olarak kiraz olmak üzere birçok yakın türde denenmiştir. Araştırmada şeftali için her lokusta 1 ile 9 arasında allel bulunurken (ort. 4,2), kiraz için her lokustaki allel sayısı 1 ile 6 arasında değişmektedir (ort. 2.8). Melez türlerdeki amplifikasyon *Prunus* türleri içinde test edilmiştir: *Prunus avium* L. (kiraz ve mazzard), *Prunus cerasus* L. (vişne), *Prunus domestica* L. (Avrupa eriği), *Prunus amygdalus* Batsch. (badem), *Prunus armeniaca* L. (kayısı), *Prunus cerasifera* Ehrh. (Myrobalan eriği) ve yakın türler arası SSR markörlerin kullanılabilmesi açıklanmıştır.

Aranzana vd. (2003), şeftali ve kiraz için geliştirilen 109 mikrosatellit primer çifti badem x şeftali F2 melezlerinde çalışılarak *Prunus* haritası yapılması amaçlanmıştır.

Araştırmacılar, biri dışında hepsinin amplifikasyon ürünler verdiğini ve amplifiye fragment boyutlarının her mikrosatellit için beklenen aralıkta bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu ürünlerden 87'sinde polimorfizm gözlenmiştir (%80). Son olarak; *Prunus* haritasının 522 cm mesafesinin 342 markör kapsadığını belirtmişlerdir.

Schueler vd. (2003), *Prunus persica*'nın SSR bankasından 20 lokus çiftini seçerek *Prunus avium* türünde polimorfik mikrosatellit dizi içeren 7 lokus tanımlamışlardır. 75 yabani kiraz ağacı popülasyonunda beklenen heterozigotluk değer 0,39 ile 0.77 arasında bulunurken, SSR lokuslar için 4-9 arasında allel sayısı tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar 13 kiraz çeşidini de analiz ederek, bunlardan 12'sini de ayırıt etmişlerdir.

Ahmad vd. (2004), tarafından yapılan araştırmada 25'i kiraz (*Prunus avium* L.) ve 3'ü şeftaliden (*Prunus persica* L.) geliştirilen 28 mikrosatellit lokusu kullanılarak; erikler arası (*Prunus salicina* Lindl.) çoklu melezlemelerden elde edilen 6 pluot, 14 erik ve Kaliforniya'da ticari olarak kullanılan 1 pluot çeşidinin genetik analizleri yapılmıştır. Araştırmacılar hemde 7 kayısı çeşidini plumcot ve pluotların ebeveynlerini araştırmak amacıyla kullanmış, kiraz markörlerinin %80'inin erik ve pluotlarda çalıştığı kanıtına ulaşmışlardır. Ayrıca çalışılan SSR lokusları için; erik ve pluotlarda lokus başına 4.3 allel ve toplamda 100 allel tespit edilmiştir. Araştırmacılar kullanılan SSR markörlerin seçilen türleri başarı ile tanımladığını belirtirken, pluotların allel dağılımında allellerin %83'ünün erikten geldiğini, kayısıdan ise herhangi bir allel gelmediğini belirtmişlerdir. Plumcotlar için ise; plumcota ait 49 allelden 25'inin erikten, 18'inin kayısıdan geldiğini ayrıca 6'sının hem erikte hem kayısıda bulunduğunu tespit etmişlerdir. 168 SSR marköre dayalı dendogramda; pluot ve erik çeşitleri arasında yakın dağılım gözlenirken, pluot ve eriklerin kayısıdan uzak dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Dördüncü tür olan plumcot ise kayısı ve erik arasında fakat bunlardan bağımsız bir şekilde yer almıştır. Araştırmacılar son olarak bu sonuçların, SSR markörlerin erik çeşitlerinin ve çeşitlilik analizlerinin belirlenmesi için değerli belirteçler olduğunu gösterdiğini vurgulamışlardır.

Decroocq vd. (2004), hekzaploid eriklerin SSR markör ile tanımlanması yönüyle önem taşıyan bu araştırmada, hekzaploid *Prunus domestica* ile 3 Avrupa erik türünün (*Cacanska najbolja*, *Cacanska rana*, *Cacanska leptica*) kloroplast ve nüklear SSR

markörler ile olası ebeveyn ilişkisini araştırmışlardır. Bu çeşitlerin ebeveyni olduğu düşünülen Wangenheim ve Pozegaca çeşitlerini tanımlamışlardır. Kullanılan SSR lokusları her bir lokusta 6 allele kadar polimorfizm göstermiştir. Çalışmada *Prunus domestica* türünden geliştirilen cDNA mikrosatellit markörleri kullanılmış ve bu çeşitlerin Stanley çeşidinden köken aldığı önceki çalışmalarına göre de doğrulanmıştır. Ayrıca Wangenheim çeşidinin ana veya baba ebeveynlerinden biri olamayacağı, tozlayıcı çeşidin ise Ruth gerstetter olabileceği öne sürülmüştür.

Rohrer vd. (2004), kiraz ve şeftaliden geliştirilen 15 mikrosatellit lokusunu Kuzey Amerika kökenli erikleri (*Prunus section prunocerasus*) tanımlamak amacıyla kullanmışlardır. Araştırmacılar ortalama allel sayısını 12.4 olarak bulmuş ve toplamda 186 allel elde etmişlerdir. Jaccard benzerlik oranına göre UPGMA dendogramı ile filogenetik ilişkileri tespit etmişlerdir.

Ohta vd. (2005), çiçeklenmiş kirazlar (*Prunus subgenus cerasus*) arasındaki genetik çeşitliliği şeftali, kiraz ve vişneden geliştirilen 85 SSR markörü ile 15 taksona ait 144 bireyde karakterize etmişlerdir. Araştırmacılar 85 SSR marköründen 25'inin tüm örneklerde çoğaldığını belirlemişlerdir. Çiçekli kirazlar arasındaki genetik varyasyonun, şeftali ve kiraz çeşitlerinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. *Incisae*'nin 4 taksonu yakından ilişkili olarak bulunmuştur. *P. maximowiczii* ve *P. pendula*'nın diğer Japon taksonlardan uzak olduğu bulunmuştur. Bu iki birey dışındaki tüm bireylerde 9 SSR lokusu ayırt edilmiştir. Ayrıca her takson üzerinde lokus başına ortalama allel sayısının 1.9 ile 7.7 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu sonuçların morfolojik sınıflandırma ile iyi uyum içinde olduğunu bildirmişlerdir.

Schueler vd. (2006), *Prunus avium* populasyonunda iki kontrast gen lokusu olan nükleer mikrosatellitler ve S-lokusundaki genetik çeşitlilik ve konumsal genetik yapısını incelemişlerdir. Araştırmalarına göre; S lokusu (15 allel) mikrosatellitlerden (4-12allel) daha yüksek çeşitlilik göstermiştir. S-allel frekans dağılımı beklenen eşit dağılımdan önemli ölçüde farklı olmasına rağmen, S-lokuslu mikrosatellitlere nazaran daha yüksek bir homojenlik göstermiştir. Ayrıca populasyon içindeki gen dağılımının yüksek olduğunu belirtmişlerdir ($\sigma_g = 106$ m).

Qiao vd. (2007), 24 RAPD, 10 ISSR, 21 SSR markör ile 56 erik genotipini (54 Japon eriği, 2 Avrupa eriği) analiz etmişlerdir. Oluşturulan dendogramda Japon ve Avrupa erikleri birbirinden farklı dağılım göstermiştir. Ayrıca Japon eriklerinin grup içi benzerlik oranı 0.286 ile 0.730 arasında değişmiştir. UPGMA analizi sonucunda populasyon 6 gruba ayrılırken, Amerika ve Japon kökenli erikler bir alt grup, Güney Çin kökenli erikler bir alt grup, Kuzey Çin kökenli erikler ise diğer bir alt grupta yer almıştır. Çalışma sonunda araştırmacılar, erik genetik tanımlamalarında üçlü markör kombinasyon kullanım yönteminin etkili ayrımlar sağladığını vurgulamışlardır.

Depypere vd. (2009), 5 erik (*Prunus cerasifera*, *Prunus domestica*, *Prunus institia* ve *Prunus x fruticans*) çeşidinde endokarp ve yaprak morfometrik özellikleri ile AFLP markörleri kullanılarak tanımlama çalışmaları yapmışlardır. *Prunus* taksonomisinde endokarp morfometrisinin başarılı bir yöntem olduğunu ancak; *Prunus cerasifera* ve *Prunus domestica* ile *Prunus institia* ve *Prunus x fruticans* ayırımında yetersiz olduğunu belirtmişlerdir. Diğer taraftan yaprak morfometrisinin *Prunus cerasifera* ve *Prunus domestica*'nın ayırımında yeterli olduğunu fakat *Prunus institia* ve *Prunus x fruticans* arasındaki tanımlamalarda yetersiz olduğunu belirtmişlerdir. AFLP tanımlamalarından elde ettikleri sonuçlara göre 3 farklı gruba ulaşmışlardır. İlk grup; *Prunus cocomilia* genotipi ve *Prunus cerasifera*, ikinci grup; *Prunus domestica* ve *Prunus institia* türlerinin tüm genotipleri, üçüncü grup ise *Prunus spinosa* ve *Prunus x fruticans* genotiplerinin tamamı olarak belirtilmiştir.

Hayashi vd. (2009), araştırmacılar yaptıkları çalışmada şeftali ve kayısıdan geliştirilen 58 SSR markörü kullanarak, 19 kayısı, 22 Japon eriği (*Prunus salicina* Lindl.) ve 26 Japon kayısı (*Prunus mume* Sieb.et Zucc) türlerine ait toplamda 67 genotipte genetik tanımlama çalışmaları yapmışlardır. Kayısıda toplam 97 allel elde edilirken, Japon eriğindeki genetik bulgular; He ve Ho değerleri sırasıyla 0.67 ve 0.77 olarak tespit edilmiş ve 12 SSR lokusu için toplam allel sayısı 73 olarak bulunmuştur. Japon kayısısında ise; toplam 84 allel elde edilirken He ve Ho değerleri sırasıyla 0.62 ve 0.59 olarak tespit edilmiştir.

Lacis vd. (2009), Letonya Meyve Yetiştiriciliği Enstitüsü ve İsveç Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genetik ve Bitki Islahı Bölümü'nde bulunan 2 kiraz gen kaynağı koleksiyonunun ön taramasını yaparak karşılaştırmışlardır. 126 kiraz (*Prunus avium* L.) genotipini 3 adet polimorfik SSR primer çiftleri ile analiz etmişlerdir. SSR lokuslar için 4-10 arasında farklı olası allel tespit edilmiştir. Heterozigot oranının 0,431 ile 0.809 ve ayırım gücünün 0,631 ile 0,894 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Ayrıca her iki koleksiyonda da aynı allel profili ile 16 aynı grup belirlenmiştir. Bu çalışmada test edilen 3 primer çiftinin, kiraz gen kaynaklarının ön karakterizasyonu için kullanılabilir olduğunu açıklamışlardır.

Ilgın vd. (2009), araştırmacılar 1 Avrupa ve 13 Japon eriği olmak üzere toplamda 14 erik çeşidinde AFLP analizleri gerçekleştirmişlerdir. Araştırmada AFLP ayırım gücü 0.577 ile 1.347 arasında değişirken, polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.412 ile 0.829 (ortalama 0.601) arasında bulunmuştur. UPGMA analizi sonucunda eriklerin tamamı 7 ana gruba ayrılmıştır. Ayrıca en yüksek benzerlik Globe Sun ve October Sun çeşitleri arasında belirlenirken, en düşük benzerlik President ve Queen Rosa ikili grubu arasında görülmüştür.

Türkoğlu-Çelik (2009), Ordu ili doğal florasında yabani kiraz vişne populasyonu içerisinde seçilen 108 anaç aday genotip morfolojik ve moleküler olarak karaktere edilmiştir. Morfolojik olarak tanımlanması yapıldıktan sonra kiraz, vişne ve mahlep genotipleri arasından seçilen toplamda 52 genotip ve 3 referans çeşiti için 12 SSR primeri kullanılarak moleküler karakterizasyon çalışması yapılmıştır. Moleküler çalışma sonucunda kiraz, vişne ve mahlep genotipleri arasında benzer ve homonim genotiplere rastlanmazken, vişne genotipleri arasında 2 sinonim durum tespit edilmiştir.

Turkoglu vd. (2010), önceden *Prunus* türlerinden geliştirilen 10 SSR lokusu, *P. avium*, *P. cerasus*, *P. mahlep*, *P. angustifolia*'ya ait 23 anaç arasındaki genetik ilişkileri incelemek için analiz edildi. Her SSR lokusu başına allel sayısı 8 ile 12 arasında değişmiştir. Genetik benzerliğe dayalı çizilen dendograma göre; *P. laurocerasus*'un en az genetik çeşitliliğe sahip olduğunu, *P. avium*'un *P. cerasus* ile en yakın genetik ilişkiliye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Çelikkol (2011), Türkiye’de bulunan erik çeşitlerinin genetik karakterizasyonuna yönelik olarak yapılan bu çalışmada; 17 yerli ve 7 yabancı çeşidin SSR’a (Simple Sequence Repeats) dayalı genetik karakterizasyonu toplamda 8 SSR lokus kullanılarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda toplam 76 allel tespit edilirken, en yüksek allel sayısı şeftali lokusu olan UDAP96-019 ve kayısı lokusu olan UDAP-404’dan, heterozigotluk oranı (Ho) ise kiraz lokusu olan UCDCH-13’den tespit edilmiştir. Erik popülasyonuna ait genetik benzerlik değerlendirildiğinde en yüksek benzerlik (%100) Hacı – Papaz 2 çeşitleri arasında görülürken, bunları % 87.5 benzerlikle Foca can - Kebap ve Tohumluk- Aynalı ikili çeşit grupları izlemiştir.

Gharahlar vd. (2011), Bu çalışmada İran’da ISSR markörleri kullanılarak 6 adet *Prunus* türü ile (*Prunus avium* L., *Prunus cerasus* L., *Prunus mahaleb* L., *Prunus incana* Pall., *Prunus microcarpa* Boiss., *Prunus brachypetala* Boiss.) alt tür olan *Cerasus*’un genetik çeşitliliği araştırılmıştır. 12 ISSR primerleri ile 151 polimorfik bantlar tespit edilmiştir. Çalışmada *P. avium* ve *P. microcarpa* arasında en az benzerlik gözlenmiştir (0,04). Araştırma sonunda tüm genotipler arasındaki benzerlik oranı 0,28 olarak bulunmuştur.

Gulen vd. (2010), 4 AFLP ve 6 SSR primerleri kullanarak 78 yerel kiraz çeşidinde genetik çeşitlilik analizini gerçekleştirmişlerdir. UPGMA analizi sonucunda oluşturulan dendograma göre; çeşitler aralarında 18 farklı gruba ayrılmış ve en yüksek benzerlik oranı %70 olarak bulunmuştur. Sonuçların yerel Türk kiraz çeşitlerinin geniş bir genetik çeşitliliğe sahip olduğunu ve bu sonuçların ileriki çalışmalara kaynak niteliğinde olduğunu vurgulamışlardır.

Ercisli vd. (2011), yabani kiraz ağaçları (*Prunus avium* L.) Çoruh Vadisi dahil olmak üzere Türkiye’nin kuzey kesiminde bol miktarda bulunmaktadır. Araştırmacılar, genetik varyasyonun saptanması amacıyla 10 SSR primeri kullanarak Çoruh Vadisi’nde farklı ortamlardan toplanan 18 yabani kiraz genotiplerinin analizini yapmışlardır. Çalışmada, toplam 46 allelde ortalama 4,6 allel/lokus belirlenmiştir. Araştırmada en yüksek polimorfizmi PSA12A02 primeri, en düşük polimorfizmi ise CPSCT010, UDAP-404 primerleri göstermiştir. Çalışmalar sonucunda, 18 kiraz çeşidinde morfolojik ve

fenolojik özelliklere göre net bir ayrım gösterilememiştir. Çizilen dendogramda 7 farklı dallanma gözlenmiştir.

Horvath vd. (2011), Fransız Milli Erik Koleksiyonu'nda bulunan 80 erik (*Prunus domestica* L.) türünü 19 kantitatif özellikleri ile birlikte değerlendirdi. 3 erik türünde (*P. domestica* L., *Prunus cerasifera* Ehrh. ve *Prunus spinosa* L.) ek olarak genetik çeşitlilik ve genetik yapı cpDNA markör ve 5 SSR lokusu kullanılarak belirlenmiştir.

Acunalp (2012), yaptıkları çalışmada *Prunus* türlerinden geliştirilmiş 9 SSR lokusunu kullanmışlardır. En yüksek alel sayısı 11 olarak UCDCH-17 lokusunda tespit edilmiş, lokuslardaki alel ortalaması ise 6.77 olarak bulunmuştur. 45 genotipde elde edilen toplam alel sayısı 61'dir. Dendogram incelendiğinde ise, genel olarak 2 ana dallanma gözlemlenmektedir. 0905 Ziraat, 0878 Kadi, Bing, Karabodur, M.K. Paşa Napolyonu, Yalancı Napolyon, Elifli, Karagevrek, Gilli, Lapins genotipleri bir grupta yer alırken, geriye kalan 35 örnek kendi aralarında farklı gruplar oluşturmuştur Referans çeşitler kendi içlerinde homojenlik göstermeyip dendogram boyunca Türk çeşitleri içinde dağılmış durumdadırlar.

Stanys vd. (2012), araştırmada toplamda 31 adet olmak üzere; 20 Litvanya kiraz çeşidi ve 11 yabancı orijinli kiraz çeşitlerinin genetik analizi 14 SSR markör kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlara göre, yalnızca Van ve Dniprovka çeşitleri için PS05C03 lokusu hariç hepsinin amplifikasyon ürünler verdiği tespit edilmiştir. Ayrıca 20 Litvanya kiraz çeşidinde 74 polimorfik allel tanımlanırken her lokustaki allel sayısı 2 ile 11 arasında değişmektedir (ort. 5.29). 11 yabancı orijinli çeşitte 67 polimorfik allel tanımlanmıştır. Her lokustaki allel sayısı ise 2 ile 8 arasında değişmiştir (ort. 4.8).

Turet-Sayar vd. (2012), 23 mikrosatellit (SSR) markör kullanarak, toplamda 15 kiraz çeşidinin genetik çeşitliliğini araştıran araştırmacılar; markörler arasında en fazla bilgi veren 9 markörün polimorfik bantlar verdiği tespit etmişlerdir. Locus başına ortalama allel sayısı 5.4'tür. UPGMA analizine göre çeşitlerin tamamı 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci grup Lapins, Sweetheart, Ferrovia, Northwunder, Bing, Canada Giant, Yalova905 ve Yalova904 çeşitlerini içerirken, ikinci grup ise Regina, A900, YLV900H,

Malatyadalbasti, 0900Ziraat, Kazancıoğlu ve Stella çeşitlerini içermiştir. Birinci grupta en yüksek benzerlik; 0.839 oranıyla Bing ve Northwunder arasında, en düşük benzerlik 0.200 oranıyla Sweetheart ile Yalova905 türleri arasındadır. İkinci grupta ise en yüksek benzerlik 0900Ziraat ve Kazancıoğlu arasında (0.973), en düşük benzerlik ise Regina ile YLV0900H arasındadır (0.486).

Turkoglu vd. (2012), araştırmalarında *Prunus avium*, *Prunus cerasus* ve *Prunus mahaleb* türlerinden oluşan 58 *Prunus* türünü; 12 SSR markör kullanarak karakterize etmişlerdir. Locus başına allel sayısı 6 ile 12 arasında değişirken, ortalama allel sayısı 9’dur. En düşük allel sayısı UDP96-019 lokusunda, en yüksek allel sayısı ise PS12A02 lokusundadır. Genetik uzaklık analizleri katılımları 3 gruba ayırmıştır. İlk grup *Prunus avium* türlerinden, ikinci grup *Prunus cerasus* türlerinden ve son grup ise *Prunus mahaleb* türlerinden oluşmuştur. Çizilen dendograma göre, *Prunus cerasus* ve *Prunus mahaleb* türlerinin aksine *Prunus avium* türleri daha farklı bir ayırım göstermiştir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, 2012-2013 yılları arasında Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

4.1 Materyal

Tezde bitkisel materyal olarak; ülkemiz kiraz ve erik gen kaynaklarına ait 13 kiraz çeşidi ile birlikte 3 adet referans çeşit (Lapins, Bing, Rainer) (*Prunus avium* L.), 6 adet erik çeşidi ile birlikte 2 adet referans çeşit (Stanley ve Obilnaja) (*Prunus domestica* L.) olmak üzere toplam 24 genotip kullanılmıştır. Çeşitlere ait sürgün uçları ve genç yapraklar ‘Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü’ araştırma koleksiyonundan temin edilmiştir. Çalışılan kiraz ve erik çeşitleri ve referans çeşitler Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Deney reaksiyonlarının kontrolü ve tez sonuçlarının diğer araştırmalardaki erik ve kiraz veri tabanları ile karşılaştırılması için kullanılan referans çeşitler çizelge 4.1’de (*) ile gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Tezde kullanılan kiraz ve erik çeşitleri

KIRAZ						ERİK		
No	Çeşit adı	İller	No	Çeşit adı	İller	No	Çeşit adı	İller
1	24 CHE 001	Erzurum	9	24 CHE 009	Erzurum	1	24 PLU 001	Erzurum
2	24 CHE 002	Van	10	24 CHE 010	Erzurum	2	24 PLU 002	Iğdır
3	24 CHE 003	Erzurum	11	24 CHE 011	Van	3	24 PLU 003	Gümüşhane
4	24 CHE 004	Erzurum	12	24 CHE 012	Van	4	24 PLU 004	Gümüşhane
5	24 CHE 005	Van	13	24 CHE 013	Erzurum	5	24 PLU 005	Gümüşhane
6	24 CHE 006	Erzurum	14*	Rainer		6	24 PLU 006	Gümüşhane
7	24 CHE 007	Van	15*	Bing		7*	Stanley	
8	24 CHE 008	Van	16*	Lapins		8*	Obilnaja	

4.2 Yöntem

Tezde kullanılan yöntem temel olarak aşağıdaki 4 aşamadan oluşmaktadır:

1. DNA izolasyonu,
2. SSR allel bölgelerinin PCR aracılığı ile çoğaltılması,
3. PCR ürünlerinin kapiller elektroforezi ve allel verilerinin görüntülenmesi,
4. Genetik analizler

4.2.1 DNA izolasyonu

Ankara Üniversitesi Merkez Laboratuvarına getirilen 24 genotipe ait genç yapraklar bu tezde kullanılmak üzere soğuk ortamda -80°C 'de muhafaza edilmiştir. Genotiplere ait DNA izolasyonları aşağıda metot açıklaması verilen Lefort vd. (1998) yöntemine göre yapılırken, DNA kalite ve miktar ölçümleri için %1'lik agaroz jel ve ND-100 spektrofotometre kullanılmıştır.

1. Genç yapraklar sıvı azot ile birlikte havanda ezildi.
2. Toz haline gelen yaprak örneklerinden yaklaşık 100 mg alınarak 2 µl ependorf tüplere aktarıldı.
3. Tüplerin üzerine 1 ml DNA ekstraksiyon solüsyonu (örnek başına 10 µl 2-Merkaptoethanol içerir) eklendi.
4. 65°C 'de ara sıra çalkalanarak 15 dk bekletildi. Daha sonra oda koşullarında soğutuldu.
5. 0,5 ml kloroform/isoamil alkol (24:1) karışımı eklenerek, 30 dk buz üzerinde bekletildi.
6. Örnekler oda sıcaklığında 14.000 rpm hızında 5 dakika santrifüj edildi.
7. Üst sıvı (süpernatant), temiz bir ependorf tüpe aktarıldı ve üzerine 0,8 ml isopropanol eklendi.
8. Gece boyu -20°C bekletildikten sonra, 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
9. Üst sıvı uzaklaştırılarak, pellet (alt katı) üzerine 1 ml % 70'lik ethanol eklenerek, 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi,
10. DNA, 50–100 µl H_2O 'da çözüldü,

11. Her 100 µl için 1 µl RNase-A (Applichem; 100mg/ml) eklenerek, 37°C'de 15 dk bekletilerek, RNA uzaklaştırıldı.

İzolasyonda kullanılan DNA ekstraksiyon solüsyonunun içeriği (50 ml hacim için): 4 ml EDTA (50 mM, pH 8,0), 2 ml TRIS (50 mM, pH 8,0), 10 ml LiCl (4M), 1 g CTAB (% 1), 2 g PVP (% 2), 0.5 ml TWEEN 20 (% 0,5), Kloroform/isoamil alkol (24:1) (hacim: hacim), RNase-A (Applichem); 100mg/ml.

4.2.2 SSR allel bölgelerinin PCR (Polymerase Chain Reaction) aracılığı ile çoğaltılması

PCR reaksiyonu; 15–200 ng DNA, 5 pmol ileri (forward) primer, 5 pmol floresan işaretlemiş ters (revers) primer, 0,5 mM toplam dNTP, 0,5 ünite Go Taq DNA Polymerase (Promega) (1,5 mM MgCl₂ içermekte), 3 µl buffer (5x buffer) olmak üzere 15µl'de gerçekleştirilmiştir. DNA çoğaltımı için Biometra Thermocycler cihazları kullanılmıştır.

DNA çoğaltımı için kullanılan PCR programı:

1. 94 °C'de 3 dk,
2. 94 °C'de 1 dk
3. 48 – 66 °C'de 1 dk (primerin bağlanma derecesine bağlı olarak değişmektedir)
4. 72 °C'de 2 dk
5. 72 °C'de 10 dk olmak üzere toplam 35 döngü olarak uygulanmıştır.

PCR sonrası lokuslara ait PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde kontrol edildikten sonra, amplifikasyonu gerçekleşmiş örneklerde kapilleri elektroforez aşaması gerçekleştirilmiştir.

4.2.2.1 Çalışmada kullanılan SSR primerleri

16 kiraz ve 8 erik çeşidinin genetik analizleri için *Prunus* türlerinden geliştirilen 5 adet SSR lokusu kullanılmıştır. Bu lokuslar şeftaliden geliştirilen UDP96-001 (Cipriani vd. 1999), PCHGMS1 (Sosinski vd. 2000) ve kirazdan geliştirilen UCDCH-13, UCDCH -

17, UCDCH-31 (Struss vd. 2003) SSR lokuslarıdır. Her lokusa ait ileri (forward) primer D4 (mavi), D3 (yeşil) ve D2 (siyah) renklerde floresan boyalar ile işaretlenmiş olup primerlere ait baz dizileri, kullanılan floresan boya ve Tm (°C) değerleri çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Kullanılan primerlere ait bilgiler

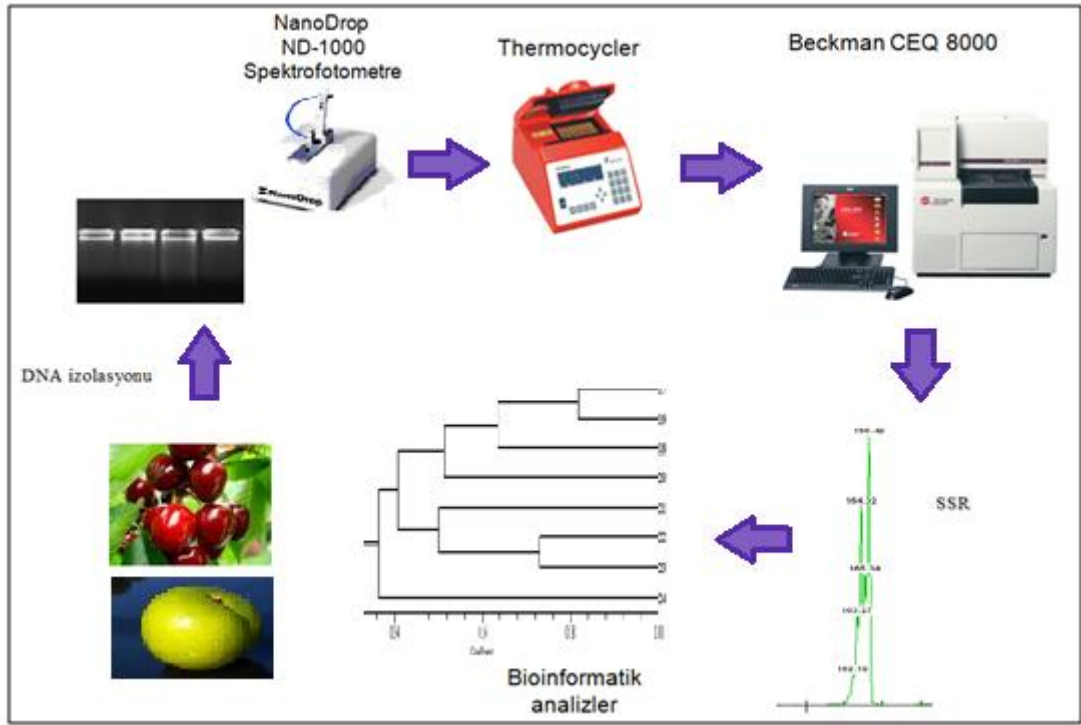
No	Lokus Adı	Primer Dizileri (5’..3’)	Floresan boya rengi	Tm (°C)
1	PCHGMS1 F**	ggg taa ata tgc cca ttg tgc aat c	D2 (Siyah)	55
	PCHGMS1 R	gga tca ttg aac tac gtc aat cct c		
2	UDP96-001 F**	agt ttg att ttc tga tgc atc c	D2 (Siyah)	55
	UDP96-001 R	tgc cat aag gac cgg tat gt		
3	UCDCH-13 F**	acc cgc tta ctc agc tga ac	D3 (Yeşil)	58
	UCDCH-13 R	tta gca cta agc ctt tgc tgc		
4	UCDCH-17 F**	tgg act tca ctc att tca gag a	D4 (Mavi)	58
	UCDCH-17 R	act gca gag aat ttc cac aac ca		
5	UCDCH-31 F**	tcc gct tet ctg tga gtg tg	D3 (Yeşil)	58
	UCDCH-31 R	cga tag ttt cct tcc cag acc		

** : Floresan işaretli

4.2.3 PCR ürünlerinin kapiller elektroforezi ve allel verilerinin görüntülenmesi

Amplifikasyonu gerçekleştirilen SSR lokuslarına ait PCR ürünleri %2’lik agaroz jelde yürütüldükten sonra, işaretlemede kullanılan floresan (Prologo, Wellred işaretli primerler, Fransa) boyalara göre (örneğin; D4, D3, D2) örnekler değişik oranlarda 20 µl SLS (Sample Loading Solution) ile seyreltikten sonra üzerlerine, Genomelab DNA Size Standard Kit-400 (0.4 µl) eklenmiştir. Örneklerle ait karışımlar CEQTM 8000 Genetik Analiz Sistemi’nde elektroforez edilmiş ve analizleri gerçekleştirilmiştir.

SSR kapilleri elektroforez yönteminde uygulama aşamalarının genel görünümü, şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Tezin moleküler çalışmasının yöntem aşamalarının genel görünümü

Tezde kiraz için; Lapins, Bing, Rainer, erik için; Stanley ve Obilnaja çeşitleri referans çeşit olarak kullanılırken, verilerin doğruluğundan emin olmak için reaksiyonlar iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

4.2.4 Genetik analizler

Tezde, her lokus için genetik parametreler; allel sayısı (n), allel frekansı (%), beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho), tahmin edilen sessiz allel (null) frekansı (r) ve tespit olasılığı (PI) değerleri IDENTITY 1.0 (Wagner ve Sefc 1999) programı kullanılarak Paetkau vd. (1995) yöntemine göre hesaplanmıştır. Sonrasında benzerlik indeksleri belirlenerek, genetik ilişki dendogramı UPGMA metoduna göre (Sneath ve Sokal 1973) oluşturulmuştur. İncelenen parametrelere göre kullanılan programlar ise şu şekilde sıralanabilir:

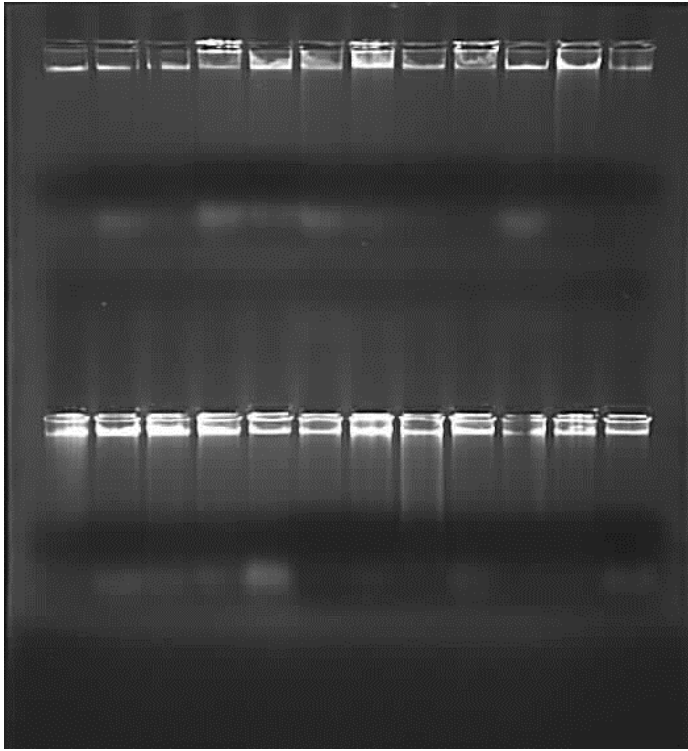
- **Genetik parametreler:** IDENTITY 1.0 (Wagner ve Sefc 1999) [her lokusa ait allel sayısı, allel frekansı, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI, Probability of Identity)] programı ile,

- **Benzerlik oranı indeksi:** Microsat (Minch vd. 1995) programı ile,
- **Dendogram:** UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means) yöntemi kullanılarak NTSYS (versiyon 2.02g, Exeter Software, Setauket, NY) programı ile belirlenmiştir (Rohlf 2004).

5. ARAŞTIRMA BULGULARI

5.1 DNA İzolasyonu

Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforezi görüntüleri Şekil 5.1'de, spektrofotometrik ölçümleri (NanoDrop ND-1000) ise kiraz örnekleri için çizelge 5.1'de, erik çeşitleri için ise çizelge 5.2' de verilmiştir.



Şekil 5.1 Araştırmada kullanılan bazı çeşitlere ait DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforez görünümü

Çizelge 5.1 Kiraz örneklerine ait DNA miktar ve saflık derecelerinin iki tekrarlı okuma verileri

No	Çeşit	DNA miktarı ng/µl	A260	A280	DNA saflığı A260/280
1	24 CHE 001	1419,92	28,398	14,837	1,91
		1365,15	27,303	14,349	1,90
2	24CHE002	2174,61	43,492	22,636	1,92
		2176,50	43,53	22,627	1,92
3	24 CHE 003	2445,33	48,907	25,609	1,91
		2445,53	48,911	25,654	1,91
4	24 CHE 004	2658,09	53,162	27,044	1,97
		2658,89	53,818	27,542	1,95
5	24 CHE 005	1828,08	36,562	20,657	1,77
		1773,88	35,478	20,154	1,76
6	24 CHE 006	1807,05	36,141	20,489	1,76
		2878,55	57,571	28,369	2,03
7	24CHE 007	2128,75	42,575	21,715	1,96
		2123,81	42,476	21,568	1,97
8	24 CHE 008	2049,81	40,996	23,912	1,71
		2082,45	41,649	24,332	1,71
9	24CHE009	2722,79	54,456	30,167	1,81
		2776,17	55,523	30,749	1,81
10	24 CHE 010	2112,34	42,247	24,973	1,69
		2137,38	42,748	25,47	1,68
11	24 CHE 011	1537,14	30,743	18,542	1,66
		1580,69	31,614	19,1	1,66
12	24 CHE 012	1211,61	24,232	12,96	1,87
		1268,65	25,373	13,511	1,88
13	24 CHE 013	1147,01	22,94	12,877	1,78
		1193,49	23,87	13,399	1,78
14	Rainer	928,94	18,579	8,799	2,11
		945,13	18,903	9,03	2,09
15	Bing	710,07	14,201	6,912	2,05
		731,19	14,624	7,113	2,06
16	Lapins	2292,17	45,843	22,258	2,06
		2315,48	46,31	22,55	2,05

Çizelge 5.2 Erik örneklerine ait DNA miktar ve saflık derecelerinin iki tekrarlı okuma verileri

No	Çeşit	DNA miktarı ng/µl	A260	A280	DNA saflığı A260/280
1	24 PLU 001	913,03	18,261	9,506	1,92
		938,49	18,77	9,818	1,91
2	24 PLU 002	1463,1	29,262	14,484	2,02
		1905,49	38,11	19,262	1,98
3	24 PLU 003	1912,15	38,243	19,288	1,98
		1125,7	22,514	11,732	1,92
4	24 PLU 004	1161,49	23,23	12,092	1,92
		1583,89	31,678	16,25	1,95
5	24 PLU 005	1610,97	32,219	16,561	1,95
		3089,96	61,799	30,948	2,00
6	24 PLU 006	3155,6	63,112	31,727	1,99
		2037,86	40,757	20,648	1,97
7	Stanley	2056,7	41,134	20,813	1,98
		1361,44	27,229	13,856	1,97
8	Obilnaja	1435,67	28,713	14,597	1,97
		1052,08	21,042	9,641	2,18

PCR reaksiyonlarında kullanılacak nükleik asitlerde; saflık (A260/A280) oranının yaklaşık 1,8–2,0 olması tercih edilmektedir. Bulgulardaki DNA saflık oranları genel olarak bu sınırlar içerisinde yer alırken, diğer taraftan jel görüntülerinde kırksız bir bant oluşumu izolasyonların başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini göstermektedir (Şekil 5.1).

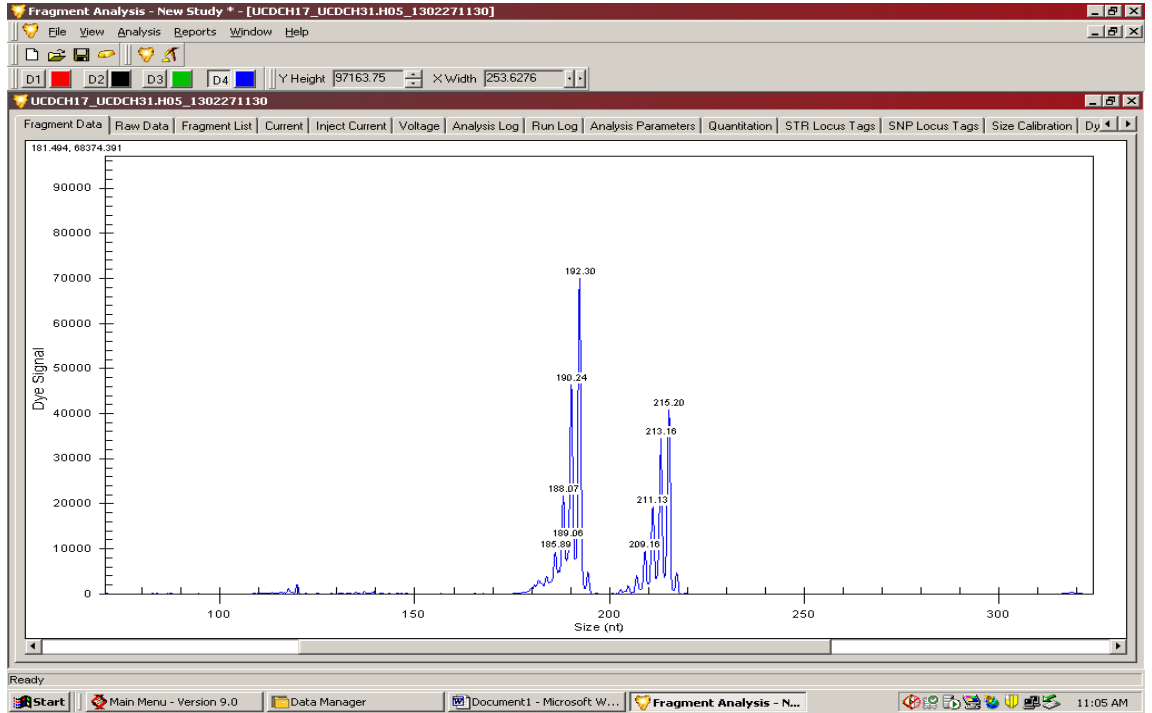
5.2 SSR Lokuslarının PCR Reaksiyonu ve Allel Görüntülerinin Alınması

Çalışılan lokusun PCR ürünleri metot bölümünde de belirtildiği üzere; önce %2'lik agaroz jelde kontrol edilmiştir (Şekil 5.2). Daha sonrada CEQ™ 8000 Genetik Analiz Sistemi'nde elektroforez edilmiştir. Her lokustaki allel büyüklükleri (bp) pik verisi olarak sistemin fragment analiz programı ile belirlenmiştir.

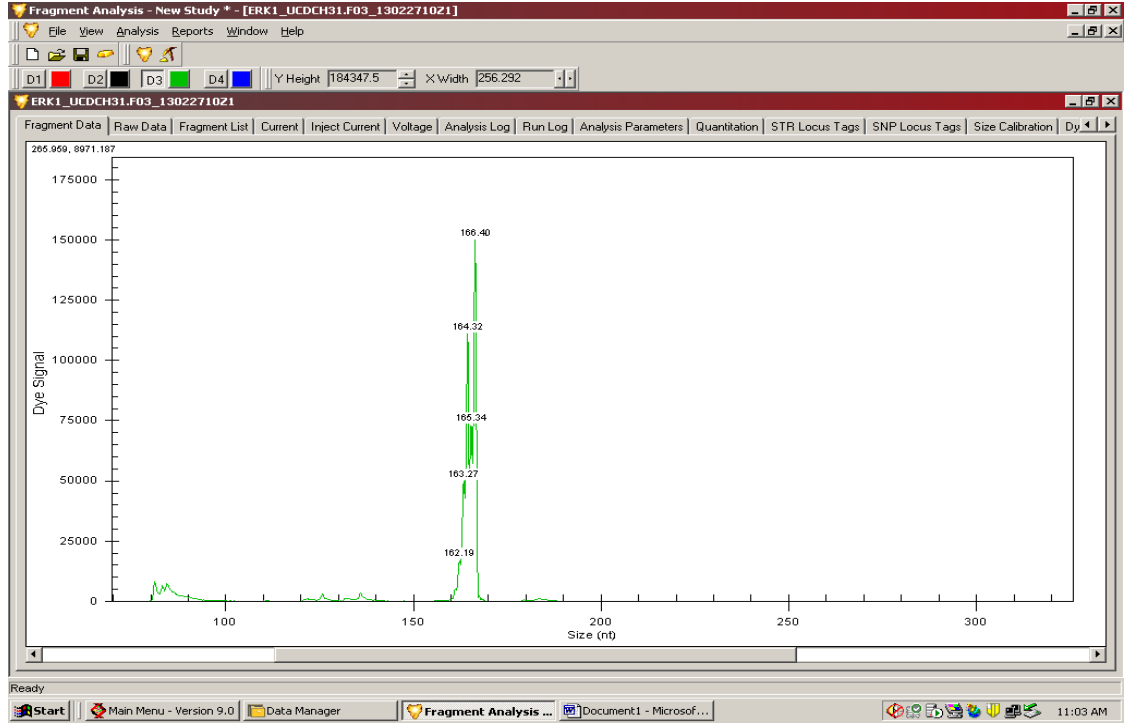


Şekil 5.2 PCR’da çoğaltılmış SSR lokusunun (UCDCH-17 lokusu) agaroz jel ortamında görünüşü

Şekil 5.3 ve 5.4’de bazı SSR lokuslarına ait allel profillerini gösteren piklerden örnekler görülmektedir.



Şekil 5.3 Kirazda UCDCH-17 primeri kapiller elektroforezdeki heterozigot allel görüntüsü



Şekil 5.4 Erikte UCDCH-31 primeri kapiller elektroforezdeki homozigot allel görüntüsü

5.3 Genetik Analizler

Primerler itibari ile çeşitlerde tespit edilen her bir lokusa ait allel büyüklüğü baz çifti (bp, basepair) olarak çizelge 5.3’de sunulmuştur. Ayrıca Lapins, Bing, Rainer, Stanley ve Obilnaja çeşitleride referans çeşitler olarak örneklerle beraber analiz edilmiştir.

Çizelge 5.3 Kiraz ve erik çeşitlerinin 5 lokustaki allel büyüklükleri (bp)

SSR Lokusları											
No	Çeşitler	UCDCH-13		UCDCH-17		UCDCH-31		PCHGMS1		UDP96-001	
KİRAZ											
1	24CHE001	136	136	198	206	130	130	138	138	97	109
2	24CHE002	128	136	188	198	130	134	130	138	105	109
3	24CHE003	128	136	186	186	130	130	130	138	109	109
4	24CHE004	128	136	202	202	134	140	140	184	109	123
5	24CHE005	128	136	202	202	134	142	140	184	109	123
6	24CHE006	128	136	198	198	134	134	130	138	109	109
7	24CHE007	122	136	198	198	134	134	130	138	109	109
8	24CHE008	126	136	198	198	130	134	138	138	109	123
9	24CHE009	128	136	198	198	132	132	138	138	101	125
10	24CHE010	128	136	192	204	130	134	138	152	101	125
11	24CHE011	128	136	192	198	122	134	130	138	115	123
12	24CHE012	128	136	188	204	130	130	130	130	109	123
13	24CHE013	128	136	188	200	130	134	136	156	123	123
14	Lapins	126	132	192	214	120	138	140	184	123	123
15	Bing	128	136	190	190	120	120	140	184	125	125
16	Rainer	128	136	188	202	120	128	130	138	123	123
ERİK											
1	24PLU001	128	136	146	156	164	164	166	174	97	101
2	24PLU002	128	136	156	156	164	164	164	164	101	101
3	24PLU003	128	132	146	156	164	164	164	174	97	101
4	24PLU004	128	134	148	148	164	164	164	164	97	103
5	24PLU005	128	132	136	152	166	166	164	174	95	101
6	24PLU006	128	132	154	154	164	170	174	182	95	95
7	Stanley	128	132	156	156	164	170	174	182	95	101
8	Obilnaja	128	136	136	186	150	164	170	174	99	99

Lokuslar itibari ile, allel sayıları (n), beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho) oranları, tespit olasılığı değeri (PI) ve sessiz (null) allel frekansı (r) çizelge 5.4’de sunulmuştur.

Çizelge 5.4 Çalışılan lokuslardaki allel sayıları (n), beklenen heterozigotluk (He), gözlenen heterozigotluk (Ho), tespit olasılığı (PI) değeri ve sessiz (null) allel frekansı

Lokuslar	Allel Sayıları	Beklenen Heterozigotluk (He)	Gözlenen Heterozigotluk (Ho)	Tespit olasılığı (PI)	Sessiz (null) allel frekansı (r)
UCDCH-13	6	0.656	0.958	0.308	-0.182
UCDCH-17	16	0.894	0.500	0.035	0.208
UCDCH-31	13	0.836	0.500	0.084	0.183
PCHGMS1	12	0.849	0.750	0.0699	0.053
UDP96-001	10	0.833	0.583	0.088	0.136
Toplam	57	4.068	3.291	-	-
Ortalama	11.4	0.813	0.658	-	-

Bulunan genetik parametrelerden, allel sayılarına bakıldığında UCDCH-13 lokusunda 6 allel gözlenirken, UCDCH-17 lokusunda 16, UCDCH-31 lokusunda 13 allel, PCHGMS1 lokusunda 12 allel, UDP96-001 lokusunda 10 allel tespit edilmiştir. 5 SSR lokusunda toplamda 57 allel bulunmuştur. PI değerleri ise 0.0699 ile 0.308 arasında değişmiştir. Null allel frekansı UCDCH-13 lokuslarında negatif değerli olup, UCDCH-17, UCDCH-31, PCHGMS1 ve UDP96-001 lokuslarında ise 0.053-0.208 arası değer vermiştir. 5 lokusa ait allel frekans değerleri çizelge 5.5’de sunulmuştur.

Çizelge 5.5 Çalışılan lokuslardaki allel büyüklükleri (bp) ve allel frekansları (%)

No	UCDCH-13	Allel Frekansı	UCDCH-17	Allel Frekansı	UCDCH-31	Allel Frekansı
1	122	0.0208	136	0.0416	120	0.0833
2	126	0.0416	146	0.0416	122	0.0208
3	128	0.4166	148	0.0416	128	0.0208
4	132	0.1041	152	0.0208	130	0.0208
5	134	0.0208	154	0.0416	132	0.0416
6	136	0.3958	156	0.1250	134	0.2291
7			186	0.0625	138	0.0208
8			188	0.0833	140	0.0208
9			190	0.0416	142	0.0208
10			192	0.0625	150	0.0208

Çizelge 5.5 Çalışılan lokuslardaki allel büyüklükleri (bp) ve allel frekansları (%)
(devam)

11			198	0.2291	164	0.2291
12			200	0.0208	166	0.0416
13			202	0.1041	170	0.0416
14			204	0.0416		
15			206	0.0208		
16			214	0.0208		

Çizelge 5.6 Çalışılan lokuslardaki allel büyüklükleri (bp) ve allel frekansları (%)

No	PCHGMS-1	Allel Frekansı	UDP96-001	Allel Frekansı
1	130	0.1666	95	0.0833
2	136	0.0208	97	0.0833
3	138	0.2708	99	0.0416
4	140	0.0833	101	0.1666
5	152	0.0208	103	0.0208
6	156	0.0208	105	0.0208
7	164	0.1250	109	0.2500
8	166	0.2083	115	0.0208
9	170	0.2083	123	0.2291
10	174	0.1250	125	0.0833
11	182	0.0416		
12	184	0.0833		
13				

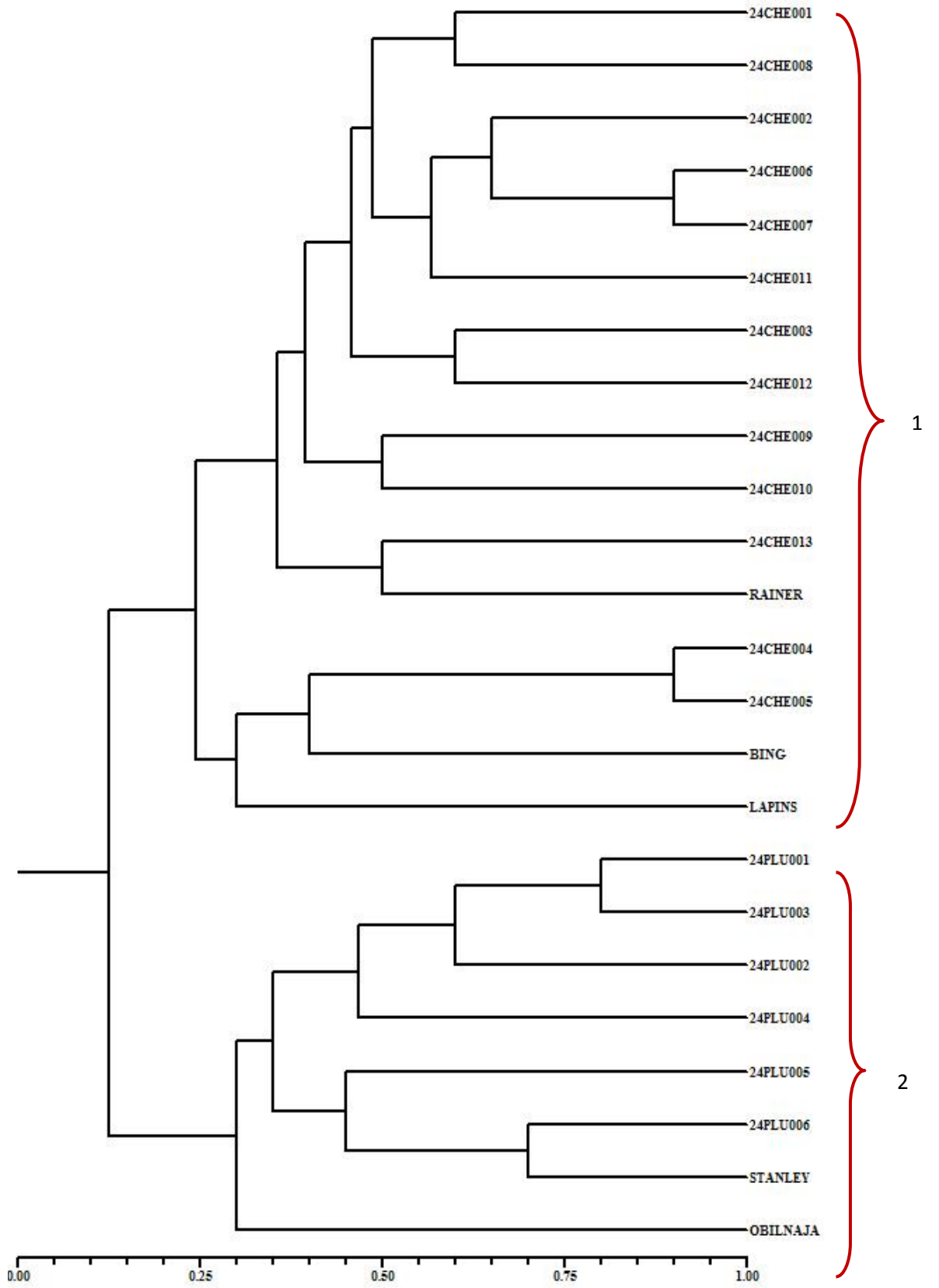
Primerler itibari ile allel frekans büyüklükleri dikkate alındığında; UCDCH-13'de 128, UCDCH-17'de 198, UCDCH-31'de 134 ve 164, PCHGMS-1'de 138, UDAP96-001'de 109 allelleri en çok görülen alleller olarak tespit edilmiştir.

16 kiraz ve 8 erik çeşidi olmak üzere toplamda 24 çeşidinin 5 SSR lokusu ile analizleri sonucu bulunan; aynı genotip (isim ve SSR lokuslarındaki allel büyüklükleri aynı), sinonim (farklı isimle adlandırılan fakat SSR lokuslar itibari ile birbiri ile aynı genotipler) ve homonim (aynı isimle adlandırılan fakat SSR lokuslar itibari birbirinden farklı genotipler) genotipler bulunmamaktadır.

Genotiplere ait genetik benzerlik indeksi ve genetik ilişki dendogramı sırası ile izelge 5.7 ve Şekil 5.5’de sunulmuştur.

Çizelge 5.7 Genetik benzerlik indeksi

	24CHE001	24CHE002	24CHE003	24CHE004	24CHE005	24CHE006	24CHE007	24CHE008	24CHE009	24CHE010	24CHE011	24CHE012	24CHE013	LAPINS	BING	RAINER	24PLU001	24PLU002	24PLU003	24PLU004	24PLU005	24PLU006	STANLEY	OBILNAJA
24CHE001	1																							
24CHE002	0.5	1																						
24CHE003	0.5	0.6	1																					
24CHE004	0.2	0.4	0.3	1																				
24CHE005	0.2	0.4	0.3	0.9	1																			
24CHE006	0.4	0.7	0.6	0.4	0.4	1																		
24CHE007	0.4	0.6	0.5	0.3	0.3	0.9	1																	
24CHE008	0.6	0.6	0.4	0.4	0.4	0.6	0.6	1																
24CHE009	0.4	0.4	0.3	0.2	0.2	0.5	0.4	0.5	1															
24CHE010	0.3	0.5	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.5	1														
24CHE011	0.3	0.6	0.4	0.4	0.4	0.6	0.5	0.5	0.4	0.5	1													
24CHE012	0.4	0.6	0.6	0.4	0.4	0.4	0.3	0.4	0.2	0.4	0.4	1												
24CHE013	0.2	0.5	0.3	0.4	0.4	0.3	0.2	0.4	0.2	0.4	0.4	0.5	1											
LAPINS	0	0	0	0.3	0.3	0	0	0.2	0	0.1	0.2	0.1	0.2	1										
BING	0.1	0.2	0.2	0.4	0.4	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	1									
RAINER	0.2	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	1								
24PLU001	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0	0.2	0.2	1							
24PLU002	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0	0.2	0.2	0.6	1						
24PLU003	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.8	0.6	1					
24PLU004	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0.1	0.1	0.4	0.5	0.5	1				
24PLU005	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3	0.3	0.5	0.2	1			
24PLU006	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3	0.2	0.4	0.2	0.4	1		
STANLEY	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5	0.5	0.6	0.2	0.5	0.7	1	
OBILNAJA	0.1	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	1



Şekil 5.5 Erik ve kiraz çeşitlerine ait genetik ilişki dendogramı

Genetik ilişki dendogramı incelendiğinde, dendogramın temel olarak iki gruba ayrıldığı (Grup 1 ve 2) gözlemlenmektedir. Erik ve kiraz türleri farklı iki gruba ayrılmış olup her iki grupta kendi içinde iki dallanma göstermiştir. 1. gruptaki kiraz örnek kendi aralarında farklı gruplar oluştururken; 24 PLU 001, 24 PLU 002, 24 PLU 003, 24 PLU 004, 24 PLU 005, 24 PLU 006, Stanley ve Obilnaja erik genotipleri ikinci grupta yer almış ve Obilnaja genotipi (referans çeşit) farklı bir dallanma göstermiştir (şekil 5.5). Erik ve kiraz populasyonuna ait genetik benzerlik değerlendirildiğinde ise en yüksek benzerlik (%90) 24 CHE 004– 24 CHE 005 çeşitleri ve 24 CHE 006- 24 CHE 007 (%90) arasında görülürken, bunları % 80 benzerlikle 24 PLU 001- 24 PLU 003 çeşitleri izlemiştir (Çizelge 5.7). Genotipler arası genel benzerlik oranı ise yaklaşık %40 olarak bulunmuştur.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye'de bulunan kiraz ve erik türleri; çeşitli ekocoğrafik koşullara iyi uyum sağlaması nedeniyle Anadolu'da büyük bir çeşitlilik göstermektedir. Bu türler genetik çeşitlilik için önemli nitelikte olup, gen kaynaklarının ulusal koleksiyonlar olarak saklanması ve tanımlanmasında büyük önem taşımaktadır. Bu tez çalışmasında; erik ve kiraz genetik kaynaklarının belirlenmesi, tanımlanması ve korunması amacı ile Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü bünyesindeki koleksiyondan 13 adet yerli ve 3 adet referans kiraz çeşidi (*Prunus avium* L.), 6 adet yerli 2 adet referans erik çeşidinin (*Prunus domestica* L.) genetik karakterizasyonu mikrosatellit (SSR) markörler kullanılarak yapılmıştır. Bu tezin sonuçları ve sonuçlara yönelik tartışma yönleri gerek genetik gerekse tarımsal açıdan aşağıda verildiği yönleri ile değerlendirilebilir.

16 kiraz ve 8 erik çeşidinin genetik analizleri için *Prunus* türlerinden geliştirilen 5 adet SSR lokusu kullanılmıştır. Bu lokuslar şeftaliden geliştirilen UDP96-001 (Cipriani vd. 1999), PCHGMS1 (Sosinski vd. 2000) ve kirazdan geliştirilen UCDCH-13, UCDCH-17, UCDCH-31 (Struss vd. 2003) SSR lokuslarıdır. Diğer araştırmalarda (Mnejja vd. 2005, Wunsch 2009) olduğu gibi bu çalışmada da SSR markörlerin *Prunus* türler arası geçişkenliğini yani; bir türde bulunan SSR markörlerin diğer *Prunus* türlerinde kullanımını (cross-transferable=geçişkenliği) (cross-amplification) göstermektedir.

Tezde 5 SSR lokusu kullanılarak 24 genotipde elde edilen toplam allel sayısı 57'dir. En düşük allel sayısı 6 allel ile UCDCH-13 lokusunda tespit edilirken, en yüksek allel sayısı 16 olarak UCDCH-17 lokusunda tespit edilmiş, alleller ortalaması ise 11.4 olarak bulunmuştur. Diğer lokusların allel sayıları ise; UCDCH-31 için 13, PCHGMS1 için 12 ve UDP96-001 için 10 olarak bulunmuştur. Araştırmada, beklenen heterozigotluk (H_e) ve gözlenen heterozigotluk (H_o) oranı ortalaması sırasıyla 0.81 ve 0.65 olarak bulunmuştur. UCDCH-13 lokusunda gözlenen heterozigotluk (H_o) değeri en yüksek değer olarak bulunurken (0.95); UCDCH-17 lokusunda ise beklenen heterozigotluk (H_e) değeri (0.65) en yüksek değer olarak bulunmuştur. Null allel frekansı UCDCH-13 lokusunda negatif değerlikli olup (-0.182); UCDCH-17, UCDCH-31, PCHGMS1, UDP96-001 lokuslarında ise sırasıyla 0.208, 0.183, 0.053, 0.136 değerlerini vermiştir.

Bu lokuslarda, null allellerin frekansı (r) değerlerinin düşük olması null allel varlığı olasılığını düşürmektedir (Çizelge 5.4).

Lokuslar açısından önemli olan diğer bir parametre ise, her bir allele ait frekans dağılımıdır. Lokuslarda en fazla görülen allellere bakıldığında; UCDCH-13 lokusunda 0.4166 allel frekansı ile 128, UCDCH-17 lokusunda 0.2291 allel frekansı ile 198, UCDCH-31 lokusunda 0.2291 allel frekansı ile 134 ve 164, PCHGMS1 lokusunda 0.2708 allel frekansı ile 138, UDAP96-001 lokusunda 0.2500 allel frekansı ile 109 allelleri en fazla frekansı vererek genotipler arasında en çok görülen alleller olmuşlardır.

Tezde tespit edilen genetik parametreler (n, He, Ho, vd.) diğer araştırmalar ile karşılaştırıldığında; tezde kullanılan UDP96-001 lokusu, *Prunus* türleriyle yapılan çalışmada 11 allel (Turkoglu vd. 2010) vermiştir. Seçilen kiraz (*Prunus avium* L.) çeşitlerinin SSR markör tabanlı genetik çeşitliliği araştırmasında UDP96-001 lokusu 6 allel verirken (Ercisli vd. 2011), Schueler ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı kiraz popülasyonunun genetik yapısı çalışmasında 4 allel vermiştir. *Prunus cerasus* türleri arasındaki genetik çeşitliliği araştırmak için kullanılan SSR markörlerden UDP96-001 lokusu bu çalışmada 11 allel verirken (Ohta vd. 2005), tüylü kiraz çeşitlerinin kullanıldığı bir çalışmada ise 6 allel vermiştir (Zhang vd. 2008). Bu tezde ise UDP96-001 lokusu 10 allel vermiştir.

Şeftali kökenli SSR lokusu olan PCHGMS1, Türk kayısı çeşitlerinde 5 allel (Ho: 0.827, He : 0.672) verirken (Akpınar vd. 2010), İspanya'nın Güneydoğu Bölgesi'ndeki yerel kayısı çeşitlerinde ise 2 allel vermiştir (Martinez-Mora vd. 2009). *Prunus* türleriyle yapılan bir çalışmada ise PCHGMS1 lokusu 11 allel verirken He ve Ho değerleri sırasıyla 0.72 ve 0.34 olarak bulunmuştur (Turkoglu vd 2010). Tezde kullanılan PCHGMS1 lokusu, şeftalide SSR lokuslarıyla karakterizasyon çalışmasının yapıldığı bir araştırmada ise 4 allel verirken, He değeri 0.54 olarak bulunmuştur (Sosinski vd. 2000). Cheng ve arkadaşlarının 2009 yılında şeftali üzerine yaptığı çalışmada ise bu lokus 4 allel vermiş, He değeri 0.381 olarak bulunmuştur. Bu araştırmadaki genotiplerde ise PCHGMS1 lokusundan elde edilen veriler (allel sayısı:12, He : 0.849, Ho: 0.750) daha yüksek bulunmuştur.

SSR ve AFLP markörlerin kullanıldığı kiraz çeşitlerinin genetik çeşitliliği araştırmasında; UCDCH-13 lokusu 2 allel vermiştir (Struss vd. 2003). Kiraz türleriyle yapılan bir diğer çalışmada ise 7 allel vermiştir (Turkoglu vd. 2012). Kiraz-vişne türleriyle yapılan bir çalışmada ise yine 7 allel vermiştir (Türkoğlu-Çelik 2009). Bu araştırmadaki genotiplerde ise bu lokus 6 allel vermiştir.

UCDCH-17 lokusu için kirazda yürütülen çalışmada 4 allel verirken (Ercisli vd. 2011), *Prunus* türleriyle yapılan bir çalışmada ise 8 allel vermiştir (Turkoglu vd. 2010). Kiraz çeşitlerinin genetik çeşitliliği araştırmasında SSR ve AFLP markörlerin kullanıldığı çalışmada ise UCDCH-17 lokusu 3 allel vermiştir (Struss vd. 2003). Bu araştırmada ise UCDCH-17 lokusundan elde edilen allel sayısı (16) diğer çalışmalara göre daha yüksek bulunmuştur.

UCDCH-31 lokusunda ise yine kirazda yürütülen çalışmada 4 allel verirken (Ercisli vd. 2011), *Prunus* türleriyle yapılan bir çalışmada ise 8 allel vermiştir (Turkoglu vd. 2010). Bizim çalışmamızda ise UCDCH-31 lokusu 13 allel vermiştir.

En düşük PI değeri ile UCDCH-17 (0.035) markörü; çalışılan mikrosatellit markörler arasında en fazla bilgi verici markör olup, araştırmamızdaki genotipleri en iyi şekilde ayırt etmiştir.

Erik ve kiraz popülasyonuna ait genetik benzerlik sonuçlarına göre; en yüksek benzerlik (%90) 24 CHE 004– 24 CHE 005 çeşitleri ve 24 CHE 006- 24 CHE 007 çeşitleri (%90) arasında görülürken, bunları % 80 benzerlikle 24 PLU 001- 24 PLU 003 çeşitleri izlemiştir (Çizelge 4.6). Referans çeşitlere bakıldığında; yapılan bir çalışmada Lapins ve Bing benzerliği %62 bulunurken (Turet-Sayar vd. 2012) bu tezde ise %30 oranında bulunarak hemen hemen her iki çalışma birbirini destekler niteliktedir.

Sonuç olarak; Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü'nden alınan 16 kiraz ve 8 erik genotipinin genetik tanımlanmasına yönelik yapılan bu tezde, çeşitler arası benzerlikler oranları bulunarak, türler arası benzerlikler belirlenmiştir. Tez bulgularının, günümüzde ve gelecekte yürütülecek benzer kapsamlı çalışmalara ve diğer kiraz araştırmalarına ışık tutacağı ümit edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Anonymous, 2010. FAO Statistical Databases, Agriculture, Agriculture and Food Trade, Plum Export in The World, <http://www.fao.org>.
- Acunalp, S. 2012. Ekonomik Öneme sahip yerli kiraz (*Prunus avium* L.) genotiplerinin SSRs (Simple Sequence Repeats)' a dayalı genetik karakterizasyonu.
- Ağaoğlu, Y.S., Çelik, H., Çelik, M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay, A., Halloran, N., Köksal, A.İ. ve Yanmaz, R. 1997. Genel Bahçe Bitkileri. T.C. A.Ü.Z.F. Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No: 4, Ankara.
- Ahmad, R., Potter, D. and Southwick, S.M. 2004. Identification and characterization of plum and pluot cultivars by microsatellite markers. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, Vol. 79, pp. 164-169.
- Akpınar, A.E., Koçal, H., Ergül, A., Kazan, K., Şelli, M.E., Bakır, M., Aslantaş, Ş., Kaymak, S. and Sarıbaş, R. 2010. SSR-based molecular analysis of economically important Turkish apricot cultivars. Genetics and Molecular Research, Vol. 9 (1), pp. 324-332.
- Aranzana, M. J., Pineda, A., Cosson, P., Dirlwanger, E., Ascasibar, J., Cipriani, G., Ryder, C. D., Testolin, R., Abbott, A., King, G. J., Iezzoni, A. F. and Arus, P. 2003. A set of simple-sequence repeat (SSR) markers covering the prunus genome. Theoretical and Applied Genetics, 106(5), 819-825.
- Armuganathan, K. and Earle, E. D. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. Plant Mol. Biol. Rep, (3); 208-218.
- Batley, J., Jewell, E. and Edwards, D. 2007. Automated Discovery of Single Nucleotide Polymorphism and Simple Sequence Repeat Molecular Genetic Markers, Plant Bioinformatics Methods and Protocols. Vol:406; pp. 473-494.
- Boritzki, M., Plieske, J. and Struss, D. 2000. Cultivar identification in sweet cherry (*Prunus avium* L.) using AFLP and microsatellite markers. Acta Horticulturae, 538, 505-510.
- Brookfield, J.F.Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. Molecular Ecology, Vol. 5 ; pp. 453-455.
- Cantini, C., Iezzoni, A.F., Lamboy, W., Boritzki, M. and Struss, D. 2001. DNA fingerprinting of tetraploid cherry germplasm using simple sequence repeats. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 126, 205-209.
- Çelikkol, B.P. 2011. Önemli erik (*Prunus* sp.) gen kaynaklarının SSRs (simple sequence repeats)'a dayalı genetik karakterizasyonu.

- Chawla, H.S. 2009. Introduction to plant biotechnology. Enfield, New Hampshire, 357-361, USA.
- Cipriani, G., Lot, G., Huang, W.G., Marrazzo, M.T., Peterlunger, E. and Testolin, R. 1999. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch): isolation, characterisation and cross-species amplification in *Prunus*. *Theor. Appl. Genet.* 99, 65-72.
- Davis, P.H. 1972. Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol:4, Edinburgh Üniv. Press. 1972.
- Decroocq, V., Hagen L.S., Favé, M.G., Eyquard, J.P. and Pierronnet, A. 2004. Microsatellite markers in the hexaploid *Prunus domestica* species and parentage lineage of three European plum cultivars using nuclear and chloroplast simple-sequence repeats. *Molecular Breeding*, Vol. 13, 135-142.
- Depypere, L., Chaerle, P., Breyne, P., Mijnsbrugge, V.K. and Goetghebeur, P. 2009. A combined morphometric and AFLP based diversity study challenges the taxonomy of the European members of the complex *Prunus* L. section *Prunus*. *Plant Systematics Evolution*, Vol. 279, pp. 219-231.
- Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M. J., Poizat, C., Zanetto, A., Arús, P. and Laigret, F. 2002. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry *Prunus avium* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 105, 127-138.
- Ercisli, S., Agar, G., Yildirim, N., Duralija, B., Vokurka, A. and Karlidag, H. 2011. Genetic diversity in wild sweet cherries (*Prunus avium*) in Turkey revealed by SSR markers. *Genet. Mol. Res.* 10(2): 1211-1219.
- Eremin, V.G. 1978. Genetic potential of species *Prunus cerasifera* Ehrh. its use in breeding. *Acta Horticulturae*, Vol. 74, 61-65.
- Gharahlar-Shahi, A., Zamani, Z., Fatahi, R. and Bauzari, N. 2011. Estimation of genetic diversity in some Iranian wild *Prunus* subgenus *Cerasus* accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) *Biochemical Systematics and Ecology*. 39:826-833.
- Gulen, H., Ipek, A., Ergin, S. and Akcay, M.A. 2010. Assesment of genetic relationships among 29 introduced and 49 local sweet cherry accessions in Turkey using AFLP and SSR markers. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 85, 427-431.
- Gül, M. ve Akpınar, M.G. 2006. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(1), 15-27.
- Hayashi, K., Shimazu, K., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Nishitani, C., and Yamamoto, T. 2009. Genetic diversity of mume, apricot and Japanese plum cultivars assessed by SSR markers. *Acta Horticulturae*, Vol. 814, pp. 629-634.

- Hedrick, U.P. 1911. The Plums of New York. Rep NY State AgriExp Stn, 611.
- Hedrick, U.P. 1915. The history of cultivated cherries. In: Hedrick UP (ed.) The Cherries of New York, JB Lyon, Albany, USA, pp 3964
- Hovarth, A., Balsemin, E., Barbot, J., Christmann, H., Manzano, G., Reynet, P., Laigret, F. and Mariette, S. 2011. Phenotypic variability and genetic structure in plum (*Prunus domestica* L.), cherry plum (*P. cerasifera* Ehrh.) and sloe (*P. spinosa* L.). *Scientia Horticulturae*. 129, 283-293.
- Ilgin, M., Kafkas, S. and Ercişli, S. 2009. Molecular characterization of plum cultivars by AFLP markers. *Biotechnol. & Biotechnol. Equipment*, Vol. 23,1189-1193.
- Lacis, G., Rshal, I., Ruisa, S., Trajkovski, V. and Lezzoni, A. F. 2009. Assessment of genetic diversity of Latvian and Swedish sweet cherry (*Prunus avium* L.) genetic resources collections by using SSR (microsatellite) markers. *Scientia Horticulturae* 121, 451–457.
- Lefort, F., Lally, M., Thompson, D. and Douglas, G.C. 1998. Morfolojical traits microsatellite fingerprinting and genetic relatedness of a stand of elite oaks (*Q. Robur* L.) at Tuallynally, Ireland. *Silvae Genetica*, 47, 5-6.
- Martínez-Mora, C., Rodríguez, J., Cenis, J. L. and Ruiz-García, L. 2009. Genetic variability among local apricots (*Prunus armeniaca* L.) from the Southeast of Spain, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 7(4), 855-868
- Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D.B., Feldman, M. and Cavalli-Sforza, L.L. 1995. Microsat (version 1.4d): A computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data. Stanford. California, University of Stanford.
- Mnejja, M., Garcia-Mas, J., Howad, W. and Arús, P. 2005. Development and transportability across *Prunus* species of 42 polymorphic almond microsatellites. *Molecular Ecology. Notes* 5, 531-535.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia University Press, New York, 106-107.
- Ohta, S., Katsuki, T., Tanaka, T., Hayashi, T., Sato, Y. I., Yamamoto, T., 2005. Genetic variation in flowering cherries (*Prunus* subgenus *Cerasus*) characterized by SSR markers. *Breeding Science*. 55, 415-424.
- Okie, W.R. 1987. Rootstocks for fruit crops, Plum rootstocks. R.C. Rom and R.F. Carlson. Wiley, Newyork, 321-360.
- Özbek, S. 1978a. Özel Meyvecilik (Kışın Yaprağını Döken Meyve Türleri), Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları; Ders kitabı:11, Adana, 221-253.

- Özbek, S. 1978b. Özel Meyvecilik (Kışın Yaprağını Döken Meyve Türleri). Ç. Ü. Zir. Fak. Yayınları 128, Ders Kitabı, 486.
- Özçağırın, R. 1976. Türkiye’de Mevcut Erik Türlerinin Teşhisi ve Bunlardan *Prunus cerasifera* Ehrh. Türüne Ait Bazı Çeşitlerin (can erikleri) Meyve Özellikleri, Ege Üni., Zir. Fak. Yayınları No:276, Bornova, İzmir 127-138.
- Özçağırın, R., Ünal, A., Özeker, E. ve İsfendiyaroğlu, M., 2005. Ilıman İklim Meyve Türleri Sert Çekirdekli Meyveler Cilt-I. Ege Üni. Zir. Fak. Yayınları 553. Ders Kitabı, 161-203.
- Özvardar, S. ve Önal, K. 1990. Erik Yetiştiriciliği. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı Yayın No: 23 Yalova.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. and Strobeck, C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology*, 4, 347-354.
- Qiao, Y.S., Fang, J.G., Cong, Y., Zhou, J. and Zhang, Z. 2007. Analysis of genetic diversity of Japanese plum cultivars based on RAPD, ISSR and SSR Markers. *Acta Horticulturae*, 763, 177-183.
- Rehder, A. 1947. Manual of cultivated trees and shrubs, 2nd edition, Macmillan Company, Newyork, USA, 452-481.
- Rohlf, F.J. 2004. *TPSDIG. Ver. 1.39*. Stony Brook, NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York.
- Rohrer, J.R., Ahmad, R., Southwick, S.M. and Potter, D. 2004. Microsatellite analysis of relationships among North American plums (*Prunus* sect. *Prunocerasus*, *Rosaceae*). *Plant Systematics and Evolution*, 244, 69-75.
- Salesses, G., Grasselly, C. and Bernhard, R. 1994. Utilisation des espèces indigènes et exotiques pour l’amélioration des *Prunus* cultivés, variétés et porte-greffe. *CR Acad Agri Fr*, 80, 77-88.
- Schueler, S., Tusch, A., Schuster, M. and Ziegenhagen, B., 2003. Characterization of microsatellites in wild and sweet cherry (*Prunus avium* L.) -markers for individual identification and reproductive processes. *Genome*, 46, 95-102.
- Schuler, S., Tusch, A. and Scholz, F. 2006. Comparative analysis of the within-population genetic structure in wild cherry (*Prunus avium* L.) at the self-incompatibility locus and nuclear microsatellites. *Molecular Ecology*. 15, 3231-3243.
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco, CA, USA.

- Sosinski, B., Gannavarapu, M., Hager, L.D., Beck, L.E., King, G.J., Ryder, C.D., Rajapaskse, S., Baird, W.V., Ballard, R.E. and Abbott, A.G. 2000. Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. Theor. Appl. Genet. 101, 421-428.
- Söylemezoglu, G., Boz, Y., Özer, C., Çelik, H., Türkoglu, M. ve Ergül, A. 2005. İskenderiye Misketi Üzüm Çesidinin Ülkemiz Misket Grubu Çesitleri ile AFLP'ye Dayalı Genetik Benzerlikleri Üzerinde Bir Arastırma. Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu.
- Stanys, V., Baniulis, D., Morkunaite-Haimi, S., Siksnianiene, J.B., Frercks, B., Gelvonauskiene, D., Stepulaitiene, I., Staniene, G. and Siksnianas, T. 2012. Characterising the genetic diversity of Lithuanian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using SSR markers. Scientia Horticulturae. 142, 136-142.
- Striem, M.J., Spiegel-Roy, P., Ben-Hayyim, G., Beckmann, J. and D., Gidoni. 1990. Genomic DNA fingerprinting of *Vitis vinifera* by the use of multi-loci probes. Vitis 29: 223-227.
- Struus, D., Ahmad, R., Southwick, S.M. and Boritzki, M. 2003. Analysis of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.) using SSR and AFLP markers. J.Amer.Soc.Hort.Sci. 128, 904-909.
- Tavaud, M., Zanetto, A., Santi, F. and Dirlewanger, E. 2001. Structuration of genetic diversity in cultivated and wild cherry trees using AFLP markers. Acta Horticulturae, 546; 263-269.
- Temizkan, G. ve Arda, N. 2008. Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler. İstanbul, 115-117. Türkiye.
- Tunaoğlu, R. ve Keskin G. 2004. Teae-Bakı Erik Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü sayı 7 Nüsha 9.
- Turet- Sayar, M., Turkeç and A., Demir, T. 2012. Identification of sweet cherry Cultivars (*Prunus avium* L.) and Analysis of Their Genetic Relationship Using Microsatellite DNA Fingerprinting. Journal of Agricultural Science. Vol 4, No 8.
- Türkoglu, Z., Bilgener, S., Ercisli, S., Bakır, M., Koc, A., Akbulut, M., Gerçekcioglu, R., Gunes, M. and Esifken, A. 2010. Simple sequence repeat-based assessment of genetic relationship among *Prunus* rootstocks. Genet. Mol. Res. 9(4): 2156-2165.
- Türkoglu, Z., Bilgener, S., Ercisli and Yıldırım, N. 2012. Simple sequence repeat (SSR) analysis for assessment of genetic variability in wild cherry germplasm. Journal of Applied Botany and Food Quality 85, 229 – 233.
- Türkoğlu-Çelik, Z. 2009. Ordu ilinden selekte edilen kiraz-vişne anaç aday bitkilerin morfolojik ve moleküler karakterizasyonu.

- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995. AFLP: A New Technique for DNA Fingerprinting. *Nucl. Acid. Res.*, 23: 4407–4414.
- Wagner, H.W. and Sefc, K.M. 1999. IDENTITY 1.0. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Science, Vienna.
- Weber, J.L. and May, P.E. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*, 44; 388-396.
- Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18; 7213-7218.
- Wünsch, A. and Hormaza, J.I. 2004. Molecular evaluation of genetic diversity and Sallele composition of local Spanish sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51; 635–641.
- Wünsch A. 2009. Cross-transferable polymorphic SSR loci in *Prunus* species. *Scientia Horticulturae*, 120; 348–352.
- Yamamoto, Y., Kobayashi, Y. and Matsumoto, H. 2001. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. *Plant Physiol*, 125; 199–208.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Özge KÖSE

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 16.03.1989

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Yabancı Dil Ağırlıklı Batıkent Lisesi (2007)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi- Biyoloji Bölümü (2011)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji
Anabilim Dalı (Eylül 2011-Temmuz 2013)