

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ESKİŞEHİR VE KAYSERİ İLLERİ ASMA GEN KAYNAKLARININ SSRs
(Simple Sequence Repeats)'a DAYALI GENETİK KARAKTERİZASYONU**

MİNA SHİDFAR

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2008

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ESKİŞEHİR VE KAYSERİ İLLERİ ASMA GEN KAYNAKLARININ SSRs
(Simple Sequence Repeats)'a DAYALI GENETİK KARAKTERİZASYONU

Mina SHİDFAR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

Bağcılık için yerkürenin en elverişli iklim kuşaklarından biri üzerinde bulunan Türkiye, asmanın gen merkezi olmasının yanı sıra son derece eski ve köklü bir bağcılık kültürüne de sahiptir. Eskişehir ili iklimi birinci derecede şaraplık üzüm yetiştiriciliği için uygundur. Kayseri ilinde ise; sofralık ve çekirdekli kurutmalık üzüm yetiştiriciliği ile ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada, Eskişehir ve Kayseri illerinde yetiştirilmekte olan 39 çeşit ile 2 referans çeşit olmak üzere toplam 41 çeşidin genetik analizleri 15 SSR lokusu (VVMD5, VMC2C3, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVIH54, VVMD31, VrZAG83, VRG1) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan 14 primerde çeşitler arası yeterli ayırım sağlanırken VRG1 lokusunda yüksek orandaki null allel şüphesinden dolayı dendoğram 14 lokus ile oluşturulmuş; 4 sinonim ve 1 homonim çeşit tespit edilmiştir. Lokuslarda gözlenen allel sayısı 2 ile 12 arasındadır.

Temmuz 2008, 69 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Vitis vinifera* L., Moleküler Tanımlama, Kayseri, Eskişehir, SSR, Türkiye

ABSTRACT

Master Thesis

GENETIC CHARACTERIZATION of GRAPEVINE GERMPLASM in ESKIŞEHİR
AND KAYSERİ PROVINCES BASED on SSR MARKERS(Simple SequenceRepeat)

Mina SHİDFAR

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

Turkey, is one of the most important area for viticulture because of its suitable climatic zone, being valuable grape germplasm resources, has very long viticulture history. Eskişehir's climate is suitable for wine grape growing but Kayseri's appropriated not only for wine grape growing, and also for table and raisn grapes. In this study, 39 grape genotips grown in Eskişehir and Kayseri and 2 reference cultivars genetically characterized using 15 SSR locus (VVMD5, VMC2C3, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVIH54 VVMD31, VrZAG83, VRG1). However clustring established just with 14 locus because of high frequency of null allele on VRG1 locus, indicated 4 synonym and 1 homonym genotypes. Number of alleles per locus ranged between 2 and 12.

July 2008, 69 pages

Key Words: *Vitis vinifera* L., Molecular Identification, Kayseri, Eskişehir, SSR, Turkey

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarımı yönlendiren, araőtırmalarımnda bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar beőeri iliőkilerde de engin fikirleriyle yetiőme ve geliőmeme katkıda bulunan, çalıőmalarım süresince maddi manevi desteklerini esirgemeyen değerli hocam sayın Prof.Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU'na Bahçe Bitkileri Bölüm başkanı teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez izleme komitesinde olmayı kabul ettikleri için sayın Prof.Dr. Birhan KUNTER'e ve Doç.Dr. Ali ERĐÜL'e de teşekkür ederim.

Çalıőmalarım sırasında tekniksel anlamda önemli katkılarda bulunan, yönlendiren sevgisini esirgemeyen, yaptığım bu tezde materyal temini sağlayan, Doç.Dr. Ali ERĐÜL'e ve Zir. Müh. Funda YILMAZ, Arş. Gör. Semra SOYDAM ve Zir. Yük. Müh. Javad JAVADI SABER başta olmak üzere Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez laboratuvarı Bitki Biyoteknolojisi grubunun diğer çalıőanlarına en içten teőekkürlerimi sunarım.

Başta Dr. Murat AKKURT olmak üzere, Dr. Gölge SARIKAMIŐ ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyeleri, elemanları ve diğer idari personeline, yine çalıőmalarım sırasında katkılarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Kamil KARATAŞ ve Zehra ÇINAR'a bana desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tezimin her aőamasında ve hayatım boyunca her türlü maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana yurt dıőında okuma imkânı sağlayan, zor anlarımda bana sabırlı bir şekilde sevgilerini gösteren canım aileme, en içten dileklerimle teşekkür ediyorum.

Mina SHİDFAR

Ankara Temmuz 2008

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1 Dünya ve Türkiye Bağcılığı.....	3
2.2 Asma Gen Kaynaklarının Tanımlanması.....	6
2.2.1. Protein Markörler (İzoenzimler).....	6
2.2.2. DNA Markörler.....	7
2.2.2.1 Hibridizasyona Dayalı DNA Markörler.....	8
2.2.2.2 PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)'na Dayalı DNA Markörler.....	9
2.2.2.2.1 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....	9
2.2.2.2.2 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	10
2.2.2.2.3 SSR (Simple Sequence Repeat).....	11
2.3 Verilerin Yorumlanması.....	13
2.4 SSR Tekniğinin Bağcılıkta Kullanım Alanları	14
2.5 Bağcılıkta SSR Tekniğinin Kullanılarak Yapılan Araştırmalar	15
3.MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1 Materyal.....	24
3.2 Yöntem.....	28
3.2.1 DNA İzolasyonu.....	28
3.2.2 SSR Allellerinin PCR ile Çoğaltılması.....	29
3.2.3 SSR Primerleri.....	30
3.2.4 PCR Ürünlerinin Kapillar Elektroforezi.....	32
3.2.5 Allel Değerlerinin Belirlenmesi ve Genetik Analizler	32

4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	34
4.1 DNA İzolasyonu.....	34
4.2 Genetik Parametreler	38
4.3 Benzerlik Oranı İndeksi.....	49
4.4 Genetik ilişki Dendogramı.....	50
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	52
5.1 Genetik Parametreler.....	52
5.2 Aynı Genotip, Sinonim ve Homonim Çeşitlerin Belirlenmesi.....	53
5.3 Genetik ve Ekocoğrafik İlişkilendirme.....	54
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	69

SİMGELER DİZİNİ

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı)
bp	Base pair (Baz çifti)
CTAB	Hekzadesil Trimetil-Amonyum Bromür
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi-Nüklezid Trifosfat
EDTA	Etilen Diamine Tetra Asetik Asit
H _e	Expected heterozygosity (Beklenen heterozigotluk)
H _o	Observed heterozygosity (Gözlenen heterozigotluk)
Kb	kilo baz
M	Mol
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
mM	Milimol
n	The number of alleles (Allel sayısı)
OIV	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (Uluslararası Bağcılık ve Şarapçılık Organizasyonu)
PBR	Plant Breeders Rights (Bitki ıslahçı hakları)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
PI	Probability of Identity (Tespit olasılığı)
PIC	Polymorphism Information Content (Polimorfik bilgi içeriği)
PVP	Polyvinylpyrrolidone
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA (Rastgele çoğaltılmış DNA farklılığı)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş parça uzunluğu farklılığı)
RNase	Ribonükleaz
r	The estimated frequency of null allele (Tahmin edilen sessiz allel frekansı)
rpm	Dakikadaki dönüş sayısı
SSR	Simple Sequence Repeat (Basit dizi tekrarları)

TBE	Tris-Borik Asit-EDTA Çözeltisi
TE	Tris-EDTA Çözeltisi
UPOV	The International Union for the Protection of New Varieties of Plants (Yeni Bitki Çeşitlerinin Korunmasına İlişkin Uluslararası Birlik)
µl	Mikrolitre
VMC	Vitis Microsatellite Consortium (Vitis Mikrosatelit Konsorsiyumu)
VNTR	Variable Number Tandem Repeats(Farklı basit dizi tekrarları)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.a “AT“ tekrarlarına ait 3 farklı allelinin genom boyunca dağılımı, görünümü b.....	12
Şekil 2.2 Kapilar elektroforezde 3 SSR lokusunun aynı ekranda görünümü.....	13
Şekil 4.1 İzolasyon sonucu elde edilen DNA’ların %1’lik agaroz jel elektroforez görünümü.....	34
Şekil 4.2 PCR ürününün agaroz jel üzerindeki görünümü.....	38
Şekil 4.3 Kapilar elektroforezde homozigot allel görüntüsü.....	39
Şekil 4.4 Kapilar elektroforezde heterozigot allel görüntüsü.....	39
Şekil 4.5 Kapilar elektroforezde 1 heterozigot, 2homozigot allel görüntüsü.....	40
Şekil 4.6 Çeşitlere ait genetik ilişki dendogramı.....	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Eskişehir ve Kayseri illerine ait bağcılık açısından (2006-2007)yılların iklim özellikleri.....	5
Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan Kayseri ve Eskişehir illeri üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler.....	25
Çizelge 3.2 SSR primerlerinin dizileri, florasan işaretleri ve Tm değerleri.....	31
Çizelge 4.1 Çeşitlere ait DNA miktar ve saflık derecelerinin üç okuma verileri.....	35
Çizelge 4.2 Eskişehir ve Kayseri çeşitlerinin 14 lokustaki allel büyüklükleri(bp).....	41
Çizelge 4.3 Çalışılan lokuslardaki allel sayıları (N),beklenen heterozigotluk (He),gözlenen heterozigotluk (Ho),tespit olasılığı (PI) değeri ve sessiz (null) allel frekansı.....	45
Çizelge 4.4 Allel frekansları.....	46
Çizelge 4.5 Benzer, Sinonim ve Homonim çeşitler.....	48
Çizelge 4.6 Benzerlik indeksi.....	49

1. GİRİŞ

Asma türleri içerisinde en önemlisi olan *Vitis vinifera* L. türü, dünya üzüm üretiminin tamamına yakınına karşılık gelmektedir. Türün ilk olarak Kafkasya ve Anadolu'da kültüre alındığı ve Anadolu'nun türün çeşitlilik merkezi olduğu son araştırmalarla ortaya konmuştur (Arroya-Garcia *et al.* 2006, Ergül *et al.* 2006). Tür içerisinde çeşitler, tipler, klonlardan oluşan gerek genetik gerek ekolojik anlamda önemli bir açılım söz konusudur. *Vitis vinifera* L. türü içinde, en az 30.000 civarında isimlendirilmiş çeşidin bulunabileceği ve bunlardan yaklaşık 15.000'nin genotipik olarak farklı olabileceği düşünülmektedir (Allewelt 1997).

Asma gen potansiyelinin ortaya çıkarılması ve mevcut popülasyon içinden farklı değerlendirme amaçlarına uygun üzüm çeşitlerinin belirlenmesine yönelik ampeografik çalışmalar uzun yıllardır sürdürülmektedir. Oraman (1941), Kısakürek 1956, İstar (1959 Oraman ve Ağaoğlu (1969), Fidan vd. (1972), Fidan ve Fidan (1976), Marasalı (1986), Kara (1990), Gürsöz (1993), Kaplan (1995), Akkurt ve Fidan (1998), Türkkan ve Ağaoğlu (1999), Kader (2005), Dilli ve Kader (2005). Yürütülen ampelografi çalışmalarına ek olarak, izoenzim düzeyinde tanımlama çalışmaları bulunmaktadır. Ancak gerek ampeografik parametrelerin gerekse enzimatik ayrımların yetersizlikleri nedeni ile; son on yılda ise hızlı ve etkili sonuçlar verebilecek DNA markörlerin kullanımına yönelilmiştir.

Dünyada asma gen kaynaklarının tanımlanmasında ön plana çıkan moleküler markörler ise temel olarak; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polimorfizm DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ve SSR (Simple Sequence Repeat) tekniklerinden oluşmaktadır.

Bunlardan SSR (Simple Sequence Repeat=Basit dizi tekrarları)(Mikrosatelit) markörler yüksek tanımlama kabiliyeti, tekrarlanma oranının çok yüksek oluşu, üniversal veri tabanlarında kullanılabilmesi, kodominat oluşu vb. gibi özellikleri nedeni ile gerek dünyada gerekse ülkemizde en yaygın kullanılan markörler arasındadır.

Ülkemizde asma gen potansiyelinin tanımlanmasına yönelik bu güne dek yapılan araştırmalara bakıldığında ise; hemen hemen tüm molekülerin kullanıldığını (Ergül 2000, Ergül vd. 2002a, Ergül *et al.* 2002b, Ergül vd. 2006, Vouillamoz *et al.* 2006, Şelli vd. 2007, Karaağaç-tez 2006, Karataş *et al.* 2007, Karataş ve Ağaoğlu 2008, Söylemezoğlu 2001, 2005, Söylemezoğlu vd. 2001) görmekteyiz. Bunun yanı sıra “Milli Koleksiyon Bağı” gen kaynaklarının SSR markörler düzeyinde topluca tanımlama çalışmaları ile devam etmektedir.

Ulusal asma gen kaynaklarımızın SSR markörler düzeyinde tanımlanmasının bir bölümü olarak gerçekleştirilen bu tezde; Orta Kuzey tarım bölgesinde yer alan “Eskişehir” iline ait 25 çeşit ile Orta Güney tarım bölgesi içerisinde yer alan “Kayseri” iline ait 14 üzüm çeşidi ile 2 referans çeşit olmak üzere toplam 41 üzüm çeşidinin SSR tekniği ile genetik tanımlamaları yapılarak bu iki ille ait çeşitlerin SSR markörlere dayalı genetik parametreleri ile kimlik tanımları belirlenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Dünya ve Türkiye Bağcılığı

Dünyada bağcılık; üzümün sofralık, şaraplık-şıralık ve kurutmalık vb. gibi çok çeşitli değerlendirme şekillerine sahip olması nedeniyle dünya üzerinde çok geniş alanlarda yetiştiriciliği yapılan ekonomik öneme sahip en önemli tarımsal faaliyetler içinde yer almaktadır (Çelik vd. 1998). 2006 yılı FAO verilerine göre dünya bağ alanları 7.453.445 ha olup, üzüm üretimi ise 66.413.393 ton dur. Üzüm üretiminde söz sahibi olan ülkelerin başında ise; İtalya, Fransa, İspanya, Çin, ABD, Türkiye, İran, Arjantin, Şili ve Avustralya gelmektedir. Bu on ülke 42,020,241 tonluk üzüm üretimiyle dünya üzüm üretiminin %69'unu gerçekleştirmektedir. Alan olarak İspanya ilk sırada yer alırken, İspanya'yı Fransa, İtalya, Türkiye ve Çin izlemektedir. Alan olarak (550,000.00 ha) 4.sırada, üretim (4.000.000 ton) açısından 6. sırada yer alan Türkiye, dünya bağcılığı içerisinde önemli bir yere sahiptir (<http://faostat.fao.org>.2006).

Ülkemizde, Doğu Anadolunun rakımı yüksek bölgeleri ile Doğu Karadenizin çok yağış alan alanları dışındaki bölgelerde bağcılık ekonomik önemi yüksek tarım kollarından birisidir. Tarım Bölgelerine göre bağ alanı ve üretim değerleri incelendiğinde ise; önem sırasına göre Ege, Akdeniz, Orta Güney, Güney Doğu, Orta Doğu, Orta Kuzey, Marmara, Karadeniz ve Kuzey Doğu bölgelerinin geldiği görülmektedir.

Orta Kuzey tarım bölgesinde yer alan Eskişehir ilinin iklimi serin ve vejetasyon süresi nispeten kısa olduğundan geç olgunlaşan üzüm çeşitlerinin yetiştiriciliğine elverişli değildir. Ancak bu bölge vejetasyon döneminde gece ve gündüz sıcaklıkları arasındaki yüksek farklılık, şıradada daha yüksek asit oluşumu ile birlikte, siyah çeşitlerde daha koyu renklenme sağladığından bu bölgenin iklimi birinci derecede şaraplık üzüm yetiştiriciliği için uygundur.

Orta Güney tarım bölgesinde yer alan Kayseri ili ise; Birinci derecede şaraplık ve şıralık üzüm üretimi için elverişli olmakla birlikte sofralık ve çekirdekli kurutmalık üzüm çeşitleri de yaygın olarak yetiştirilmektedir (Çelik vd. 1998).

Çizelge 2.1 2006-2007 yıllarına ait iki ilin iklim özelliklerini göstermektedir (Meteoroloji Araştırma ve Bilgi İşlem Daire Başkanlığı 2008).

Çizelge 2.1 Eskişehir ve Kayseri illerine ait bağcılık açısından önemli iklim özellikleri(Meteoroloji Araştırma ve Bilgi İşlem Daire Başkanlığı 2008).

İLLR	Rakım (m)	Yıl.Ort. Sıc.(°C)	EST (Gün- Derece)	Gelişme Dönemi (Gün)	Donlu Günler (n)	Şiddetli Donlu günler	En düşük sıcaklık (°C)	Toplam Yağış (mm)	Gelişme döneminde Yağış (mm)	Yağışlı günler (n)	Donlu günlerin başlangıç	sonu
Orta Kuzey Eskişehir 789												
2006	-	10.4	1408	219.7	127	98.9	-27.8(30.01.2006)	323.2 Ort.(29.3)	128.1	96	14.0	1.5
2007	-	12.4		226.3	123	94.3	-10.8(29.11.2007)	388.4 Ort.38.84	135.3	92	10.0	2.0
Orta Güney Kayseri 1093												
2006	-	10.25	1356	223.47	114	118.2	-18.6(31.01.2006)	419.73 Ort.34.97	146.8	96	17.0	0.5
2007	-	11.32		229.5	129	112.5	-8.9(29.10.2007)	422.8 Ort.35.23	147.1	91	16.0	1.0

Ort: ortalama

2.2 Asma Gen Kaynaklarının Tanımlanması

Asma gen kaynaklarının tanımlanması amacıyla yürütülen çalışmaların temel hedefleri; sahip olunan gen kaynağının korunması ve ıslah çalışmalarında kullanılmasıdır. Morfolojik markörler, kolay elde edilebilmeleri ve bazı durumlarda kullanımlarının mutlak gerekli olmasına karşın, çevresel faktörlerden (sıcaklık ve stres gibi) etkilenebilmektedir. Fenotipik özelliklerin, genetik kontrol mekanizmasının tam bilinmemesi, yetersiz varyasyon ve bitkilerde aranılan bazı fenotipik özelliklerin ortaya çıkışının uzun zaman alması, bitki ıslahçıları daha hızlı ve doğru karar vermekte yardımcı olan, DNA markör sistemlerine yönelen sınırlayıcı etkenlerdir (Meredith 1992, Thomas *et al.* 1993). Morfolojik markörlerin sayılan bu olumsuz etkileri nedeniyle son yıllarda DNA düzeyinde bilgi veren moleküler markör sistemleri geliştirilmiştir.

Bu kapsamda, asma dahil bitki türlerinde kullanılan moleküler markörler, protein ve DNA markörleri olarak gruplandırılmaktadır.

2.2.1 Protein Markörler (İzoenzimler)

Hücreye özgü bir enzimin aynı biyokimyasal olayları katalize eden ve değişik genler tarafından kodlanan, farklı elektrik yüklü çoklu formları izoenzim olarak tanımlanmaktadır (Rothwell 1988). Bir enzimin uygun substrat ve kofaktörler ile gerçekleştirilen reaksiyon ürünlerinin, ürüne özgü uygun boyama ve elektroforez yöntemleri ile açığa çıkarılması izoenzim/protein markörlerin araştırılma tekniğinin temelini oluşturmaktadır.

Bitkilerde ekstraksiyon kaynağına göre genel olarak, total protein (non enzimatik) veya izoenzim (enzimatik) analizi şeklinde uygulama alanı bulan bu markörler, son 20-30 yıllık dönemde genetik markörler alanında sağlanan gelişmenin temelini oluşturmaktadır. İzoenzimlerin bitkilerde kullanımı; çeşit tanımlama, hibrit bitkilerin

analizi, genetik haritalamalarda belirlenen izoenzim lokuslarına dayalı bağlantı (linkage) analizlerinin ortaya çıkarılması, izoenzim formlarının katılımının incelenmesi şeklinde gruplandırılmaktadır.

Asmalarda ise izoenzim polimorfizmi, anaç (Walker ve Boursiquot 1992), çeşit (Wolfe 1976, Arulsekar ve Parfitt 1986, Bachmann ve Blaich 1988, Ağaoğlu vd. 1995, 1998) ve ekotip tanımlamaları (Çalışkan ve Ağaoğlu 1998, Çalışkan 1997, Ağaoğlu vd. 1999), F₁ hibrit tanısı (Chaparro *et al.* 1989, Parfitt ve Arulsekar 1989) ile linkage analizlerinde (Weeden *et al.* 1988, Lodhi *et al.* 1995) değişik araştırmacılar tarafından kullanılmıştır.

Morfolojik karakterlere göre çok daha etkili kullanılabilmeyle birlikte sıcaklık, stres koşulları, hastalık vb. faktörlerden etkilenmeleri, ayrıca etkili oldukları yer ve mevsimsel değişimlere göre farklılık göstermeleri ile izoenzim sistemlerinin (lokus ve allellerin) sayıca azlığı, bu markörlerin başlıca dezavantajları olarak kabul edilmektedir (Meredith 1992, Thomas *et al.* 1993).

2.2.2 DNA Markörler

Tanımlama çalışmalarında daha doğru ve kesin sonuçlar veren ve bitki ıslahında ve özellikle asmada genetik çalışmaların sınırlarını genişleten bu markörler;

1. Hibridizasyona dayalı DNA markörler,
 2. PCR (Polimerase Chain Reaction)'a dayalı DNA markörler,
- olmak üzere başlıca iki teknoloji dalında gelişim göstermiştir.

2.2.2.1 Hibridizasyona dayalı DNA markörler

Bu grupta yer alan markörlerin en önemlisi RFLP tekniğidir. Restriksiyon endonükleaz'larla kesilen genomik DNA fragmentlerinin (parçacıklarının), agaroz jel elektroforezi ile ayrılarak, 'southern blot' tekniği ile uygun bir membrana aktarılması ve radyoaktif işaretlenmiş bir prob ile hibridizasyonunun yapılarak bitki tür veya çeşidine özgü restriksiyon bantlarının 'fragmentlerinin' belirlenmesi, yöntemin başlıca aşamalarını oluşturmaktadır.

Bireyler arasındaki genomik farklılığın yanında, restriksiyon bölgesinde meydana gelebilecek bazı değişimleri (mutasyon vb.), metilasyonlar (Chao *et al.* 1989) ile eşit olmayan 'crossing-over' ve replikasyon kaymaları (Schlötterer ve Tautz 1992) polimorfizimin diğer kaynaklarıdır.

Tekniğin en önemli aşaması uygun problemlerin seçimidir. Bu amaçla, rastgele genomik veya cDNA kütüphanelerinden oluşturulan, homolog ve heterolog problemler kullanılmaktadır (Striem *et al.* 1990, Gogorcena *et al.* 1993, Kochert 1994). Problemlerin 'multi-locus' problemlerden daha çok, az kopyalı (lower-copy) problemler olması önerilmektedir (Bowers 1992).

Bir çok bitki türünde olduğu gibi asmalarda da RFLP analizleri; türler arası (Bourquin *et al.* 1995) ve *Vitis vinifera* L. türüne ait çeşitler ile anaçların genetik benzerliklerinin ortaya çıkarılması (Bourquin *et al.* 1992, 1993, Bowers *et al.* 1993, Marasalı 1995, Bowers *et al.* 1996), hibrit analizi (Guerra ve Meredith 1995), linkage gruplarının oluşturulması ve genom haritalaması (Mauro *et al.* 1992, Lodhi *et al.* 1995) gibi konularda yoğunlaşmıştır.

2.2.2.2 PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)'a dayalı DNA markörler

PCR tekniğinin devreye girmesi ile (Mullis *et al.* 1986), spesifik DNA segmentlerinin *in vitro* amplifikasyonunu içeren DNA analizlerinde önemli bir aşama sağlanmıştır. Daha sonraları sıcaklığa dayanıklı (thermostable) DNA polimerazların ortaya çıkarılması ile devreye giren otomatik 'thermocycler'lar teknikde yöntem aşamalarını çok kolaylaştırırken, bu yenilikler PCR markörler olarak tanımlanan DNA markörlerin geliştirilmesinde temel oluşturmuştur. Bugün uygulama ve temel prensipleri itibariyle çok değişik PCR markörler bitki ıslahında yaygın kullanılmaktadır. Bunlardan asma genom analizlerinde kullanılan en önemli markörler aşağıda verilmiştir.

- RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA),
- AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism),
- SSRs (Simple Sequence Repeats)

2.2.2.2.1 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

PCR uygulamaları başlangıçta, belirli DNA segmentlerinin selektif çoğaltımı üzerine yönlendirilmiş ve baz dizilişi bilinen bölgelerin primer çiftleri ile amplifikasyonu ön plana çıkmıştır. Ancak ilgili dizilerin belirlenmesinde karşılaşılan güçlükler ve genomda yalnız kısıtlı bölgelerdeki taramalardan doğan yetersizlikler, uygulamaya rastgele oligonükleotidlerin (primerlerin) kullanıldığı daha kolay ve etkili yöntemlerin sunulmasını sağlamıştır (Ergül 2000, Ağaoğlu ve ark 2000).

Bu amaçla; 1990'lı yılların başında birbirinden bağımsız iki bilim adamı grubu tarafından, günümüzde yaygın kullanıma giren, prensip olarak aynı fakat farklı adlandırılan 'random amplified polymorphic' DNA (RAPD) (Williams *et al.* 1990) ve

‘arbitrarily-primed PCR (AP-PCR)’ (Welsh ve McClelland 1990) teknikleri geliştirilmiştir.

RAPD olarak daha çok kullanılan teknik; uygulama çalışmalarında başlıca iki aşamayı içermektedir. Bunlar DNA ekstraksiyonu ve PCR aşamalarıdır. RAPD ve diğer DNA markörlerde başarılı sonuçlara ulaşmak bitkisel materyal ile uygun miktar ve kalitede DNA ekstraksiyonuna bağlıdır.

2.2.2.2 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

Genomik DNA’dan elde edilen selektif PCR amplifikasyonunu içeren bu teknik başlıca üç uygulama aşamasından oluşmaktadır.

Bunlar:

- DNA’nın spesifik restriksiyon enzimleri ile (ECoR1/Mse I) kesimi ve kesim bölgelerine uygun adaptörlerin takılması,
- Ligaz edilen bu adaptörlere uygun primerler oluşturularak ön selektif aşamanın gerçekleştirilmesi,
- Ön selektif ürünleri üzerinden selektif reaksiyonların gerçekleştirilerek sonuçların görüntülenmesi (Vos *et al.* 1995).

AFLP tekniği, asma tür, anaç ve çeşitlere ait genetik ilişkilerin ortaya çıkarılması (Sensi *et al.* 1996, Martinez-Zapater *et al.* 1998, Sefc *et al.* 1998c, Cabezas *et al.* 1998, Cervera *et al.* 1998, Labra *et al.* 1999, 2001, Fossati 2001, Imazio *et al.* 2002, Söylemezoğlu ve ark. 2005, Ergül *et al.* 2006), ekotip ve klonal polimorfizmin belirlenmesi (Cervera *et al.* 1998, Hinrichsen *et al.* 1998, Imazio *et al.* 2002) ve genetik haritalama (Dalbo *et al.* 1998, Pauquet *et al.* 1998) çalışmalarında kullanılmaktadır.

2.2.2.2.3 SSR (Simple Sequence Repeats)

VNTR(s) (Variable Number Tandem Repeats) markörler farklı uzunlukta tekrar dizilerini içeren minisatellit (20 kb kadar uzunluktaki tekrar üniteleri) ve mikrosatellit (2-4 baz uzunluğundaki bitki genomunda bulunan (GA)_n, (CA)_n, (AT)_n, (ATA)_n, (CTT)_n ve (GATA)_n gibi çekirdek dizilerini içeren 100' bp den küçük tekrar üniteleri) markörleri içermektedir. Mikro ve minisatellit markörler aynı zamanda STMSs (sequence-tagged mikrosatellites), STRs (short tandem repeats: omurgalı canlılarda mikrosatellit), AMP-FLPs (amplified fragment length polymorphism: omurgalı canlılarda minisatellit) ve SSRs (bitkilerde mikrosatellit) olarak bilinmektedir (Kochert 1994, Staub *et al.* 1996).

Bitkilerde yaygın kullanılan SSRs markörler, çekirdek tekrar dizilerinden hareketle türe özgü tespit edilen lokus bölgelerine yönelik primerlerin kullanımı ile allel polimorfiziminin saptanması esasına dayanmaktadır.

Asmada yaklaşık son yıllarda yapılan çalışmalarla değişik araştırmacılar tarafından 400'e yakın SSR lokusu tespit edilmiş olup (Thomas ve Scott 1993, Thomas *et al.* 1994, Bowers *et al.* 1996, Sefc *et al.* 1997), bu yöndeki çalışmalar (Scott *et al.* 1998, Bowers *et al.* 1999) devam etmektedir.

SSR tekniği uygulamalarında; genom boyunca tekrarlanan dizilerin iki yanından primerlerce PCR'da çoğaltılması ve jel ortamında görüntülenmesi (Şekil 2.1) veya kapilar elektroforez (otomatik dizi analizi sisteminde) büyüklüklerine göre sıralanması esasına dayanır. Sonuçların görüntülenmesi ise, radyoaktif işaretleme, gümüş boyama veya otomatik dizi analizi sistemi ile olur. Otomatik dizi analizi sisteminde allel büyüklükleri, floresan işaretli primer yardımıyla, pikler şeklinde görülür (Şekil 2.2).

a) Genomda allel dağılımı

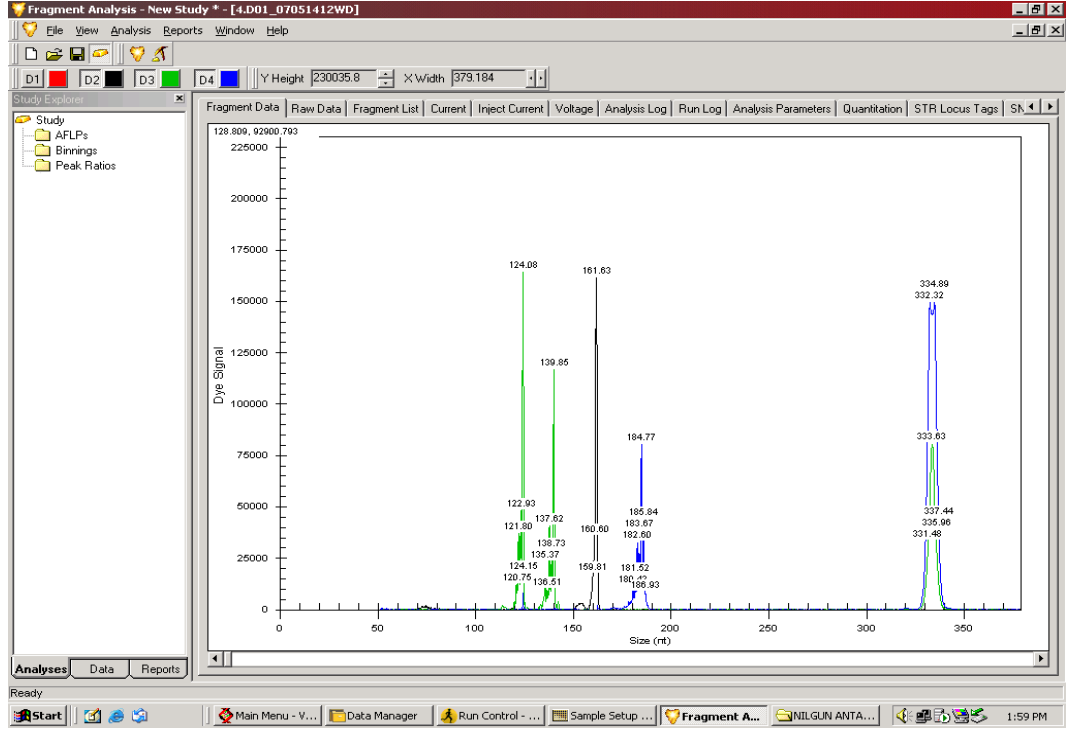
..*.....ATATATATATATA(AT)n.....*.....ATATATATATATATAT(AT)n.....
Allel 1 Allel 2
.....**.....**
.....*.....ATATATATATATA(AT)n.....
Allel 3
.....**.....

Primer ileri :*
Primer geri :*

b) Genom yapısı-allel görünümü ve sayısı

<i>Genom yapısı</i>	<i>Allel Görünümü</i>	<i>Allel sayısı</i>
Diploid homozigot	Allel 1 ve Allel 2 aynı uzunlukta PCR ürünü oluşturur(tek bant, tek pik)	1
Diploid heterozigot	Allel 1 ve Allel 2 farklı uzunlukta PCR ürünü oluşturur(çift bant, çift pik)	2
Triploid ve ya poliploidi	Allel 1, Allel 2 ve Allel 2 farklı uzunlukta PCR ürünü oluşturur(iki ve ya daha fazla bant, iki veya daha fazla bant)	2' den fazla

Şekil 2.1.a “AT“ tekrarlarına ait 3 farklı allelinin genom boyunca dağılımı, görünümü b.



Şekil 2.2 Kapilar elektroforezde 3 SSR lokusunun aynı ekranda görünümü (Soldan sağa: yeşil (VVMD5): heterozigot, siyah (VVS2): homozigot, mavi (ZAG62): homozigot)

2.3 Verilerin Yorumlanması

Bantlar veya pikler elde edildikten sonra farklı programlar kullanılarak:

- Allel verileri(kimlik tanısı) ham verileri ve yuvarlanmış veriler,
- Allel frekansından yararlanılarak tespit olasılığı (PI, Probability of Identity),
- Heterozigotluk oranı (beklenen(H_e), gözlenen(H_o)),
- Ebeveyn ilişkisi,
- Null(Sahte) allel verileri

elde edilirken genotipler arası genetik benzerlik oranlarına göre ilişki dendogramları oluşturulur.

2.4 SSR Tekniğinin Bağcılıkta Kullanım Alanları

SSR markörler asma ıslahında; *Vitis* cinsinde evrimsel gelişimin moleküler analizi, *Vitis vinifera* L. çeşitlerinin ve Amerikan asma anaçlarına ait gen kaynaklarının belirlenmesi, çeşitler, ekotipler, klonlar, melezleme sonucu elde edilen çeşitlerin tanımlanması ile sinonim ve homonimlerin tespit edilmesi, orijin belirleme, melezleme ıslahında hibrit bitki tanısı, pedigri analizi ve genetik haritalama ile markör yardımı ile seleksiyon gibi değişik amaçlara yönelik olarak kullanılmaktadır (Ergül 2000).

Sonuç olarak, asma çeşitlerinden mikrosatelit profillerin oluşturulmasında toplanan bilgiler, farklı perspektiflere göre değerlendirilebilir. Bunlar;

- a) Gen bankası yönetimi
 - Çeşitlerin kimlik tespiti,
 - Sinonimlerin tespiti,
 - Pedigri oluşturulması.
- b) Mikrosatelit markörlerin değerlendirilmesi
 - Polimorfizm seviyesi,
 - Allel frekansı,
 - Sessiz (null) allellerin frekansı,
- c) Asmalarda gen havuzunun tanımlanması
 - Genetik farklılık,
 - Allelik ve genotipik bileşim,
 - Gen havuzları arasındaki farklılık,
- d) Kümeleme analizi
 - Benzerliğin kurulması veya uzaklık ölçümleri,
 - Fenogram oluşturulmasıdır.

(Karaağaç 2006)

2.5 Bağcılıkta SSR Tekniği Kullanılarak Yapılan Araştırmalar

Asma mikrosatelit çalışmalarının ilk rneği Thomas and Scott (1993) tarafından gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar 26 *Vitis vinifera* L. eşidi ile bazı *Vitis* türlerinde VVS (VVS2, VVS5 gibi) primerlerini kullanarak genetik tanımlamalar gerçekleştirilmiştir. Thomas *et al.*(1994) anaçlarda yürüttükleri çalışmada ise; 5A Teleki ve 5 BB'nin aynı DNA profiline sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Vignani *et al.* (1996), Sangiovese eşidinin 12 klonunda, 7 mikrosatelit lokusu(VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD8, VVMS2, VVMS4 ve VVMS29) kullanarak kolonal ayrımları tanımlamaya çalışmışlardır. Araştırmacılar 11 klonun aynı allel profiline sahip olduğunu, bir klonun ise (SG 8T) farklı bir genetik yapı gösterdiğini belirlemişlerdir.

Sefc *et al.* (1997) 24 mikrosatelit lokusu kullanarak yürüttükleri araştırmalarında bazı çeşitlerin ebeveyn-hibrit ilişkilerini; Cabernet Sauvignon(Cabernet franc x Sauvignon blanc), Neuburger (Silvaner×Veltliner rot), Blauburger (Portugieser blau×Blaufrnkisch), Zweigelt (Blaufrnkisch×St. Laurent) ve Müler-Thurgau (Rheinriesling×Chassels de Courtiller) olarak belirlemişlerdir.

Sefc *et al.* (1998a) 66 Avusturya eşidinde ve asma anacında 10 mikrosatelit lokusu kullanarak yaptıkları çalışmada; çeşitlerde genetik farklılık verilerini 0.53–0.87 arasında; anaçlarda ise 0.29 ila 0.96 arasında tespit etmişler, anaç-çeşit benzerlik değerlerini ise 0.7–0.91 arasında belirlemişlerdir. Yine Sefc *et al.* (1998b), kuru üzüm üretiminde kullanılan çeşitlerde, taze ve kuru zmden SSR markörlerle tanımlama yaparak adına doğru üretimi kontrol etmişlerdir.

SSR markörlerinin bağcılık açısından pratik sonuçlarından birisi ise, Müler-Thurgau çeşidine ait ebeveyn kombinasyonunun Rheinriesling x Chasselas de Courtillier

olduğunun ortaya çıkarılmasıdır (Sefc *et al.* 1997). Ancak aynı markörler kullanılarak yürütülen çalışmaların sonucunda ise, bu çeşidin melezleme kombinasyonunun "Riesling x Madeleine Royal" olduğu öne sürülmüştür (Dettweiller *et al.* 2000).

Yine Sefc *et al.* (1997) tarafından SSR markörler kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada Cabernet Sauvignon çeşidinin ebeveynlerinin Cabernet franc ve Sauvignon blanc çeşitleri olduğu tespit edilirken, Bowers *et al.* (1997) bu çeşide ait melezleme kombinasyonunun Cabernet franc x Sauvignon blanc olduğunu kesinleştirmişlerdir.

58 anacın genetik tanımlanması amacı ile; 7 SSR lokusu kullanan (Lin ve Walker 1998) özellikle kambiyum dokularından DNA izole ederek asma anaçlarının dinlenme döneminde başarı ile tanımlanabileceğini göstermişlerdir.

Maletic *et al.* (1999) araştırmalarında SSR markörlerle tanımladıkları bazı çeşitlere ek olarak, Hırvatıca olarak isimlendirilen Hırvat çeşidi ile İtalya'nın Croatia çeşidinin olası benzerliklerini araştırmışlardır. Kullandıkları 9 SSR lokusu verilerine bu iki çeşidin farklı çeşitler olduğunu belirlemişlerdir.

Sánchez-Escribano *et al.* (1999) tarafından 43 sofralık üzüm (*Vitis vinifera* L.) koleksiyonunda SSR markörlerle yapılan denemede, 8 lokus (VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVS5, VVMD5, VVMD6 ve VVMD7) incelenmişler ve 14 çeşidi, allel büyüklükleri bakımından aynı bulmuşlardır.

Merdinoğlu *et al.* (2000) tarafından yapılan çalışmada, üç farklı moleküler markör tekniği (RAPD, AFLP, SSR) *Vitis vinifera*'nın 12 çeşidine ait 21 klonun testinde kullanılmıştır. Her çeşit kendine özgü bantlar ile çeşitlerin ayrımı sağlanmış ve bir dendogram oluşturulmuştur. Bu dendogramda 7 grup belirlenmiştir.

Beyaz Riesling çeşidinin 10 farklı klon genotipinde genetik polimorfizmini incelemek için RAPD, SSR ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) markörler kullanan Regner *et al.* (2000a) SSR ve ISSR markörleri ayırım gücü ve tekrarlanabilirliği açısından klon tanımlamalarında kullanılabilecek markörler olarak önermişlerdir. Yine Regner *et al.* (2000b) yaptıkları bir çalışmada, 300'den fazla farklı asma çeşidinin ve *Vitis silvestris*'in 20 farklı genotipinin SSR analizi sonucunda, *V. silvestris* ve *V. vinifera* önemli genetik farklılıklarını tespit etmişlerdir.

Dangl *et al.* (2001) USDA (The United States Department of Agriculture) Ulusal Gen Bankası'ndan 40 tip 41 çeşit kullanarak SSR tabanlı yaptıkları tanımlama çalışmalarında; yeni sinonim gruplar belirlerken, bilinen sinonimleri de doğrulamışlardır.

“Schiave” grubuna ait 10 üzüm çeşidinde AFLP ve SSR analizleri gerçekleştiren, Fossati *et al.* (2001), çeşit tanımlamalarında iki tekniğin ayırım gücünü aynı bulmuşlardır. Hinrichsen *et al.* (2001) ise Amerika ve Şili gen kaynaklarından bazı çeşitlerin genetik ilişkilerini SSR markörler kullanarak araştırmışlardır. Araştırmacılar koleksiyonlarda Merlot olarak bilinen çeşitleri Carmenère olduğu, Cabernet franc olarak bilinen çeşidin Carmenère olduğu tespit edilmiştir.

Crespan and Milani (2001), misket çeşitlerinde 2 izoenzim ve 25 mikrosatelit lokusu kullanarak yaptıkları çalışmada, 44'ü sinonim durumu tespit etmişlerdir. Diğer taraftan araştırmacılar; 3 adet mutant Moscato bianco genotipini ayırt ederken, Moscato bianco ve İskenderiye Misketi çeşitlerinin misket grubu içerisinde en eski çeşitler (ata çeşitler) olabileceğini belirtmişlerdir.

Regner *et al.* (2001), tarafından çeşitli *Vitis* türlerinden alınan 1200 adetten fazla asmanın genotipinin belirlenmesi SSR, InterSSR, AFLP ve RAPD gibi çeşitli teknikler kullanılarak yapılmıştır. En polimorfik 6 markör lokusu ile tüm asma çeşitlerinin ayrılabilirliğini belirten araştırmacılar, şu an asma fidanlıkları ve yetiştiriciler için çeşit

kimlik tespitinde 10 SSR lokusunun kullanıldığını ifade etmişlerdir. Avusturya’da yetiştirilen asma çeşitleri arasındaki genetik akrabalığı daha iyi anlayabilmek için 300’den fazla çeşidin 40’tan fazla SSR markörlerle tanımlanmasını uygun görmüşlerdir. Bazı üzüm çeşitlerinin orijinlerinin belirlenmesi yanında, Veltliner ve Pinot ailelerinin de kimlik tespitini de yapmışlardır.

22 Pinot noir ve 22 Chardonnay klonunda 92 mikrosatelit markör kullanılarak gerçekleştirilen bir araştırmada; 92 markörden 8’i Pinot noir klonlarını ve Chardonnay’in 4 klonunu ayırt etmişlerdir. Ayrıca araştırmada 7 Pinot noir ve 5 Chardonnay klonu kesin şekilde birbirinden ayırt edilmiştir (Riaz *et al.* 2001).

Fransa ve İtalya’nın kuzey batısından alınan ve sinonim olduğu düşünülen 31 çeşitte yapılan RAPD ve SSR analizleri sonucunda 16 tanesinin sinonim olduğu belirlenmiştir. Buna göre, Fransa’nın “Verdese” çeşidinin İtalya’nın “Bianver” ile, yine Fransa’nın “Chatus” çeşidinin İtalya’nın “Neiret” çeşidi ile ve Fransa’nın “Gouais blanc” çeşidinin İtalya’nın “Preveiral” ve “Liseiret” çeşitleri ile sinonim olduğu tespit edilmiştir (Schneider *et al.* 2001).

Reale *et al.* (2002) SSR ile; “Tintilia” ve “Bovale” çeşitleri arasındaki sinonim ilişkisini araştırmışlardır. 13 SSR lokusu kullanan araştırmacılar(VVS2, VVS3, VVS4, VVS5, VVMD6, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VVMD32, VVMD36, ssrVrZAG62 ve ssrVrZAG79) iki çeşit içerisinde benzerliklere rastlarken, çeşitler arası birbirinin sinonimi olan genotipler tespit edememişlerdir.

Ulanovsky *et al.* (2002) sinonim ve homonim olduğu düşünülen genotipleri de içeren 39 genotip üzerinde 66 RAPD ve 4 mikrosatelit lokusu incelemiştir. Sonuçta, Moristell ile Monastel çeşitlerinden biri; Moturana ile Ribadavia; Concejón ile Monastel’in biri ve çalışılan Muscat çeşitlerinden çoğu sinonim olarak belirlenmiştir.

Vignani *et al.* (2002) 8 farklı mikrosatelit lokusu kullanarak “Sangiovese” çeşidinin klonlarında polimorfizm araştırmışlar, klonların temel olarak 3 gruba ayrıldığını belirlemişlerdir.

Bir Arjantin çeşidi olan Torrontés riojano ile bu çeşide fenotipik olarak çok benzeyen Moscatel amarillo çeşidi ve Torrontés’in 2 tipi, üzerinde 20 SSR lokusu kullanarak genetik analizler gerçekleştiren Agüero *et al.* (2003) 4 çeşidinde birbirinden farklı olduğunu belirlemişlerdir.

Aradhya *et al.* (2003) tarafından 222 kültür (*Vitis vinifera* L.) ve 22 yabani (*V. vinifera ssp. sylvestris*) asma genotipi ve 8 mikrosatelit lokusu kullanılarak yürütülen araştırmada; gruplar arasında çeşitli akrabalıklar ortaya çıkarılırken, *occidentalis*, *pontica* ve *orientalis* eko-coğrafik gruplanmasını destekler nitelikte 3 grup ve bunlara bağlı 16 alt genetik grup tespit etmişlerdir.

Crespan *et al.* (2003) ampeleografik verilere göre sinonim oldukları öne sürülen bazı İtalyan çeşitlerinin ampeleografik, ampeleometrik, izoenzimler, mikrosatelit DNA markörler ve kimyasal analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar morfolojik verilere göre sinonim bulunan çeşitlerde sinonim durumunun doğru olduğunu SSR düzeyinde kanıtlarken, sinonim çeşitleri: Prosecco lungo ve Tocai nostrano; Aleatico, Vernaccia di Pergola ve Moscatello nero; Bianchetta trevigiana, Vernassiana, Vernanziana ve Senese; Pedevenda ve Verdise; Malvasia bianca lunga ve Fresia; Ranaccio ve Grenache olduğunu belirtmişlerdir.

Fatahi *et al.* (2003) esas olarak 62 İran çeşidinin genetik ilişkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar bu genotipler içerisindeki sinonim ve homonimleri ortaya çıkartırken, çalıştıkları popülasyonda 3 klonal grubu (Askari, Bidane ve Yaghoti) belirlemişlerdir.

Ibáñez *et al.* (2003) yaptığı çalışmada, daha önce morfolojik ve izoenzimatik olarak ayırt edilen 111 adet İspanyol *Vitis vinifera* L. genotipini yanlış isimlendirmeleri ortadan kaldırmak, ve tanımlamak amacı ile 13 mikrosatelit lokus (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVS2, VVS5, VVS29, ssrVrZAG29, ssrVrZAG62, ssrVrZAG67, ssrVrZAG83, ssrVrZAG79 ve ssrVrZAG112) kullanarak analiz etmişler ve 96 genotipin birbirinden farklı genetik yapıya sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Çekirdek ve kloroplast SSR'ı kullanarak toplam 10 (6 İtalyan ve 4 İspanyol) yabancı asma popülasyonu (*Vitis vinifera* ssp. *silvestris*) genotipinde polimorfizm araştıran Imazio *et al.* (2003), İspanyol popülasyonları arasında, düşük haplotip zenginliği ve yüksek derecede genetik uzaklık tespit etmişlerdir. Diğer taraftan araştırmada yapılan İtalyan ve İspanyol popülasyonları arasındaki genetik akrabalık analizleri; yabancı bu iki popülasyon arasında yüksek genetik farklılığın olduğunu göstermiştir.

103 *Vitis.vinifera*, 6 *Vitis* cinsinde 12 lokus kullanarak SSR tanımlamaları gerçekleştiren Lefort *et al.* (2003), özellikle ssrVvUHC12, ssrVvUHC29 lokuslarının allel verme (30'ar allel) sayısı açısından çok polimorfik olduğunu tespit etmişlerdir.

İspanya asma gen kaynaklarından alınan 176 genotipin 6 mikrosatelit markör ile (VVS2, VVMD5, VVMD7, ssrZAG47, ssrZAG62 ssrZAG79) analizi sonucu 163 genotipin farklı çeşit olduğu tespit edilirken, en etkili primerin VVMD5 olduğu vurgulanmıştır (Martín *et al.* 2003).

Pinto-Carnide *et al.* (2003), Kuzey Portekiz'den alınan 12 asma genotipini RAPD ve mikrosatelitlerle tanımlamışlardır. 6 mikrosatelit lokusu ile toplam 38 allel elde edilmiştir. Sonuç olarak çalışılan çeşitler arasında akrabalık gözlenmiş ve sinonim varlığı tartışılmıştır. Buna göre, Aragonez'in (Tinta Roiz) İspanyol çeşit olan Tempranillo ile aynı olduğu teyit edilmiştir.

İtalya ve Fransa’da yetişen 30 üzüm çeşidinde, morfolojik özellikler, ampelografik tanımlamalar, agronomik gözlemler ve şarap yapılarına dayanan daha önceki çalışmalarda sinonim oldukları belirtilen 22 çeşidin RAPD ve mikrosatelit markörlerle analizi yapılmış ve İtalyan ve Alp’lerin batısındaki Fransız çeşitlerinin sinonim oldukları ortaya çıkmıştır (Schneider *et al.* 2003).

İspanyol “Parraleta”nın 12 ve “Graciano” çeşidinin 2 genotipini belirlemek için Montaner *et al.* (2004) tarafından yapılan çalışmada, 6 farklı mikrosatelit lokus (VVS2, VVMD5, VVMD7, ssrVrZAG47, ssrVrZAG62 ve ssrVrZAG79) kullanılmış, “Parraleta”nın ismine doğruluğu ve bu çeşidin “Graciano” çeşidinin sinonimi olmadığı vurgulanmıştır.

This *et al.* (2004), farklı laboratuvarlarda elde edilmiş mikrosatelit profillerin karşılaştırılmasını yapmak amacıyla, 7 ülkeden 10 araştırmacı ile 46 üzüm çeşidini 6 lokusta (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 ve VrZAG79) incelemiştir. Bu çalışmada kullanılan 6 markör, gelecekteki asma çeşit analizi için asgari standart markör seti olarak kabul edilmesi önerilmiş ve diğer çeşitlerin, burada sunulan kodlu referans allellerle tanımlanabileceği belirtilmiştir.

Goto-Yamamoto *et al.* (2006), 9 yeni mikrosatelit markör geliştirmiştir. Bu markörler ve 8 bilinen mikrosatelit markörle 2 adet *Vitis labrusca* çeşidi, *Vitis riparia* ve *Vitis rotundifolia* ile birlikte Japon ve Çin çeşitlerini (*Vitis vinifera* L.) de kapsayan 8 adet doğu çeşidini, 7 adet batı çeşidiyle karşılaştırmıştır. Araştırma sonucunda *Vitis* türleriyle birlikte doğu ve batı çeşitleri açık bir şekilde ayrılmıştır.

Türkiye, Ermenistan ve Gürcistan asma koleksiyonlarından bazı çeşitlerle 12 mikrosatelit lokusu (VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD28, VVMD31, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79, VVS2, VMC2C3, VMC2H4, VMC5A1) kullanılarak (Vouillamoz *et al.* 2006) tarafından yürütülen çalışmada, ülke çeşitleri arasında genetik

benzerlikler tespit edilirken, Türk çeşitlerinden Dımışkı, Luvanek, Morek, Sungurlu ve Vilki çeşitlerinde 3 allel tespit edilmiştir.

Arroyo-Garcia *et al.* (2006) ise yaklaşık 10 ülkeden topladıkları 1000'in üzerinde kültür ve yabani çeşitlerinde yaklaşık 35 yerli ile 135 *Vitis vinifera ssp.silvestris* genotipleri Türkiye'de araştırmaya dahil edilmiştir. Kloroplast SSR ile yaptıkları çalışmalarda üzümün iki orjininden birinin Anadolu diğzerinin ise İspanya olarak (şaraplık çeşitler) olduğunu tespit etmişlerdir.

Karaağaç (2006) 48 üzüm çeşidinde (*Vitis Vinifera* L.) 17 mikrosatelit markör(VVS2-VVMD5-VVMD7-VVMD24-VVMD25-VVMD27-VVMD28-VVMD31-VVMD34-VrZAG62-VrZAG79-VVIB23-VMC3B10-VMC6F1-VMC2C3-VMC2H4-VMC5A1) kullanarak yürüttüğü çalışmada; allel sayısını 13 ila 4 arasında (VVS2-VMC6F1), ortalama beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranını ise 0.720 ve 0.689 olarak bulmuştur. Ayrıca araştırmada; Dusuzu ile Dımışkı çeşitleri birbirine sinonim bulunmuştur.

Najafi *et al.* (2006), İran'ın 5 farklı bölgesinden (Azerbaycan, Gazvin, Kordestan, Horasan ve Fars) toplanan 136 üzüm çeşidi ile 36 Avrupa çeşidinde 9 SSR marker (VVMD5-VVMD7-VVMD21-VVMD24-VVMD25-VVMD27-VVMD28-VVMD32-VVMD36) kullanılarak yapmış oldukları araştırmada 84 polimorfik allel elde edilirken, İran ve Avrupa'nın çeşitlerinin genetik dağılımında keskin farklılıkların tespit edilebildiğini bildirmişlerdir.

Doulaty Baneh *et. al* (2007), İran'a ait yabani asma popülasyonu ile kültür çeşitleri arasında kloroplast SSR polimorfizmini incelemişlerdir. 69 kültür ve 63 yabani asma genotipde kullandıkları kloroplast SSR markörleri farklı etkinlik göstermişlerdir. Bunlardan; ccmp3 ve ccmp10 kültür çeşitlerinde, ccmp3 ise yalnız yabani genotiplerde yüksek polimorfizm gösterdiği tespit edilmiştir.

Upadhyay *et al.* (2007), Hindistan çeşit ve anaç gen kaynaklarını AFLP ve SSR markörler ile analiz etmişlerdir. Çalışmada 21 asma anacına ait 7 SSR lokusundan toplam 56 allel belirlenmiştir.

Şelli *et al.* (2007), Dimrit ve Gemre genotiplerinin 8 SSR (VVS2-VVMD5-VVMD7-VVMD24-VVMD27-VVMD28-VrZAG62-rZAG79) lokusu ile genetik analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Araştırma sonucunda; Dimrit ve Gemre genotiplerinin genel olarak farklı birer grupsal dağılım gösterdiği, çeşitlerin ekocoğrafik dağılım ve genetik benzerliklerinin ise tamamen birbirinden bağımsız olduğunu belirtmişlerdir.

Dilli (2008), Bu çalışmada, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nce klon seleksiyonu sonucu seçilmiş Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidine ait 5 tip, Pembe Gemre, Osmanca, İpek üzüm çeşitlerine ait 9 klon ve Ege Bölgesi için önemi olan 15 yerel çeşit ile 2 referans çeşit olmak üzere toplam 31 üzüm çeşidinin (*Vitis vinifera* L.) SSR genetik analizleri 16 mikrosatelit markör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmacı klonal düzeyde polimorfiklik yakaladıklarını bildirmişlerdir

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma, 2006–2008 yılları arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Moleküler Biyoloji laboratuvarı ile Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1 Materyal

Araştırmada, Eskişehir ve Kayseri illeri merkezleri ve ilçelerinden, Tekirdağ'daki Milli Koleksiyon Bağı'na aktarılan 39 çeşit ve 2 adet referans çeşit olmak üzere toplam 41 üzüm çeşidi kullanılmıştır. Çalışılan 41 genotipe ait bazı ampelografik özellikler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Araştırmada kullanılan 39 üzüm çeşidi ile 2 referans çeşidin sürgünleri ve genç yaprakları, 'Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü' bünyesindeki 'Milli Koleksiyon Bağı'ndan temin edilmiştir.

Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan Eskişehir ve Kayseri illeri üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler

N o	DNA No	İl Kodu	Çeşit adı	Bağ Sıra No	Sinonim	Salkım şekli	Tane Şekli	Tane rengi	Tat	Kabuk Kalınlığı	Tane İçi	Çekirdek adedi	Olgunluk
1	159	Eskişehir	Aksıdoğan	574	Bal bal, Kendi Biyen	Seyrek Silindirik	Yuvarlak	Beyaz	Orta	Kalınca	Sulu	4-5	Eylül Sonu
2	186	Eskişehir	Akfestiken	577	-	SıkSilindirik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	Kalın	Etli	3-4	Eylül Başı
3	31	Eskişehir	Altınbaş	560	Gelin Üzümü	SıkSilindirik	Yuvarlak	Beyaz(kımalı)	Tatlı	Orta	Gevrek etli	2-3-5	Ağustos ortası
4	185	Eskişehir	Kara Üzüm	526	Ayaş Üzümü	Silindirik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	İnce	Sulu	2-4	Ekim Başı
5	115	Eskişehir	Koyun Gözü	569	-	Konik	Yuvarlak	Mor	Tatlı	Orta	Sulu	2	Eylül Sonu
6	106	Eskişehir	Siyah Büzgülü	568	Hasandede	Silindirik	Uzun elips	Siyah kırmızı	-	Orta	Sulu gevrek	2	Eylül Sonu
7	95	Eskişehir	Siyah Fesdiken	567	-	Uzun Konik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	İnce	Sulu	3	Eylül Sonu
8	126	Eskişehir	Siyah Üzümü	570	-	Konik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	Orta	Sulu	3-4	Eylül Sonu
9	135	Eskişehir	Su Üzümü	571	Akpüskül	Uzun Silindirik	Söbü	Beyaz	Orta	Kalın	Etli	3	Ağustos Sonu
10	5	Eskişehir	Akkekre	607	Aloğlu	S. Konik	Söbü	Beyaz	Tatlı	Orta	Etli	2-4	Eylül Sonu
11	39	Eskişehir	Alibeyli	561	-	S.Silindirik	Oval	Kırmızı	Orta	Kalınca	Etli sert	2-3	Ağustos Ortası
12	22	Eskişehir	Amasya	559	-	İri Konik	Söbü	Beyaz	Tatlı	Kalın	Etli gevrek	2	Ağustos Başı
13	4	Eskişehir	Beylerce	557	-	Konik	Söbü	Beyaz(kımalı)	Tatlı	Orta	Gevrek sulu	2	Eylül Sonu
14	143	Eskişehir	Büzgülü	552	-	Sık Silindirik	Elips	Siyah(kırmızı)	Orta	Orta	Sulu	2-3	Ağustos Ortası
15	58	Eskişehir	Çavuş	563	-	Konik	Söbü	Beyaz kımalı	Tatlı	Kalın	Gevrek etli	2	Ağustos Sonu
16	168	Eskişehir	Gece Karası	575	-	Sık Konik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	Orta	Sulu	3	Ağustos Ortası
17	15	Eskişehir	İri Kara	558	-	Konik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	Orta	Sulu gevrek	3	Eylül Sonu
18	23	Eskişehir	Kedi Kuyruğu	609	-	SıkSilindirik	Uzun elips	Beyaz	Tatlı	İnce	Sulu	2-3	Ekim Başı

Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan Eskişehir ve Kayseri illeri üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler (devam).

No	DNA No	İl Kodu	Bağ Sıra No	Çeşit adı	Sinonim	Salkım şekli	Tane Şekli	Tane rengi	Tat	Kabuk Kalınlığı	Tane İçi	Çekirdek adedi	Olgunluk
19	66	Eskişehir	564	Koyun Gözü	-	Uzun Silindirik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	Kalın	Etli sulu	3-4	Eylül Sonu
20	14	Eskişehir	608	Narinci	-	Konik	Yuvarlak	Kırmızı	Tatlı	Orta	Sulu gevrek	2-3	Ağustos ortası
21	30	Eskişehir	610	Narinci	-	Konik	Elips	Kırmızı	Tatlı	Orta	Sulu gevrek	2-3	Ağustos ortası
22	49	Eskişehir	562	Razakı	Tilki kuyruğu	Dallı konik	Elipsoid	Beyaz kınalı	Tatlı	Kalın	Sert etli	2-3	Eylül sonu
23	75	Eskişehir	565	Sert kabuk	-	Konik	Söbü	Beyaz	Orta	Kalın	Eti sulu	3	Eylül sonu
24	177	Eskişehir	576	Siyah hevenk	-	Sık Silindirik	Söbü	Siyah	Tatlı	Orta	Etli	1-3	-
25	152	Kayseri	973	Siyah sidoğan	-	Sık Silindirik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	Kalın	Etli Sulu	2-3	Eylül sonu
26	756	Kayseri	943	Beyaz buludu	-	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	İnce	Etli sulu	2-3	Ekim başı
27	780	Kayseri	946	Cıvıklık	Şireder	Dallı Konik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	Orta	Sulu	2-3	Ekim başı
28	821	Kayseri	953	Deve dişi	Göğ suaybi	Silindirik	Elips	Beyaz	Tatlı	Orta	Etli sulu	3-4	Ekim ortası
29	834	Kayseri	957	Göğ buludu	-	-	İri Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	İnce	Etli gevrek	3-4	Ekim sonu
30	828	Kayseri	955	Hanımdudağı	-	Basık konik	Elips	Beyaz	Tatlı	İnce	Etli gevrek	2	Eylül ortası
31	793	Kayseri	948	İldeş	Bozbağ	-	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	-	-	2-3	Ekim sonu
32	818	Kayseri	952	Kabuğu kalın	-	Silindirik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	Kalın	Etli	2-3	Ekim sonu
33	831	Kayseri	956	Kara burcu	-	Konik	-	Siyah	Tatlı	İnce	Çok sulu	1-2	-

Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan Eskişehir ve Kayseri illeri üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler (devam).

No	DNA No	İl Kodu	Bağ Sıra No	Çeşit adı	Sinonim	Salkım şekli	Tane Şekli	Tane rengi	Tat	Kabuk Kalınlığı	Tane İçi	Çekirdek adedi	Olgunluk
34	796	Kayseri	949	Kara evlek	-	Konik	-	Siyah	Tatlı	Orta	Etli	2-3	Ağustos sonu
35	809	Kayseri	951	karalık	büzgülü	Konik	Elips	Siyah	Tatlı	Orta	Etli sulu	2-3	Eylül ortası
36	806	Kayseri	950	Kokulu göğçek	-	Dallı Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	-	Sulu	1-2	Ekim ortası
37	783	Kayseri	947	Küt küt	-	Silindirik	Elips	Beyaz	Tatlı	Orta şeffaf	Etli sulu	3-4	Ekim ortası
38	770	Kayseri	945	Siyah buludu	-	Konik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	İnce	Etli sulu	2-3	Ekim başı
39	767	Kayseri	944	Şıradar	-	Dallı konik	Söbü	Siyah	Tatlı	Orta	Sulu	2-3	Ekim başı
40	C.Sauvignon	Kalecik	-	C.Sauvignon	-	Uzun Konik-Silindirik	Yuvarlak	Mavi gri siyah	Otsu tad	Kalın	-	1-3	Eylül sonu
41	Merlot	Kalecik	-	Merlot	-	Piramidal-Silindirik	yuvarlak	Mavi-Siyah	Hafif Aromalı	-	-	2-3	Ağustos ortası

3.2 Yöntem

Araştırmada izlenen yöntem temel olarak 4 aşamadan oluşmaktadır.

- DNA izolasyonu
- SSR allellerinin PCR ile çoğaltılması
- PCR ürünlerinin kapillar elektroforezi
- Allel değerlerinin belirlenmesi ve genetik analizler

3.2.1 DNA izolasyonu

DNA izolasyonu Lefort *et al.* (1998) yöntemine göre yapılmıştır. Çeşitlerin taze sürgünlerinden, genç ve yarı genç yapraklarından alınan örneklerle DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyonda izlenen aşamalar aşağıda belirtilmiştir. Buna göre;

1. Genç yaprak veya sürgün ucu, sıvı azotla havanda iyice ezildi,
2. Toz haline gelen yaprak örneğinden yaklaşık 100mg alınarak 2 ml ependorf tüplere aktarıldı,
3. Tüplerin üzerine 1 ml DNA ekstraksiyon solüsyonu (örnek başına 10 µl 2-Merkaptoethanol içerir) ilave edildi ve homojen hale gelinceye kadar karışması sağlandı,
4. Su banyosunda 65 °C'de arasıra çalkalayarak 15 dakika bekletildi,
5. Üzerine 0,5 ml kloroform/isoamil alkol (24:1) karışımı eklendi, iyice çalkalandı ve 30 dakika buz üzerinde bekletildi,
6. Oda sıcaklığında, 5 dakika 14.000 rpm hızında santrifüj edildi,
7. Ependorf tüpün üst kısmındaki sıvı, diğer bir temiz ependorf tüpe aktarıldı,
8. Üzerine 0,8 ml isopropanol eklendi,
9. 15–20 dakika buz üzerinde tutuldu ve 1 dakika 14.000 rpm hızında santrifüj edildi ve bir gece –20 °C bekletildi,
10. Üst sıvı uzaklaştırılır,
11. Alt katı (pellete) üzerine 1 ml % 70'lik ethanol eklendi ve 2 dakika 14.000 rpm hızında santrifüj edildi,

12. Eklenen etanol uzaklaştırıldı ve ependorf tüpün ağzı açık bırakılarak alkolün tamamen uçması sağlandı,
13. DNA, 50-100 µl H₂O (nuclease free)'da çözüldü, gece boyu +4 °C'de tutularak DNA'nın çözülmesi sağlandı,
14. Her 100 µl için 1 µl RNase-A eklenerek, 37 °C'de 15 dakika etüvde bekletildi.
Rnase-A (Sigma R9009); 10 mg/ml

Ekstraksiyon solüsyonu (50 ml için):

- 2 ml TRIS (50 mM, pH 8,0)
- 4 ml EDTA (50 mM, pH 8,0)
- 10 ml LiCl (4M)
- 1 g CTAP (% 1)
- 2 g PVP (% 2)
- 0,5 ml TWEEN 20 (% 0,5)

3.2.2 SSR allellerinin PCR ile çoğaltılması

PCR'da SSR bölgelerinin çoğaltılması; 15–200 ng DNA, 5 pmol ileri (forward) primer, 5 pmol florosan işaretlemiş ters (revers) primer, 0.5 mM toplam dNTP, 0.5 unit Go Taq DNA Polymerase (Promega) (1,5 mM MgCl₂ içermekte), 1 µl buffer 10x buffer olacak şekilde toplam 10µl PCR karışımı ile gerçekleştirilirken, kullanılan PCR programı ise;

1. 94 °C' de 3 dk,
2. 94 °C' de 1 dk,
3. 48 - 66 °C'de 1 dk,
4. 72 °C' de 2 dk,
5. 72 °C' de 10 dk 2.- 4. basamaklar toplamda 35 döngü olacak şekilde uygulanmıştır.

3.2.3 SSR Primerleri

Çalışmada, minimum standart set olarak kabul gören VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 ve VrZAG79 mikrosatelit lokusları da dahil olmak üzere toplam 15 SSR primeri (VVMD5, VMC2C3, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVIH54 VVMD31, VrZAG83, VRG1) kullanılmıştır. Her lokusa ait ileri(forward) primer D4 (mavi), D3 (yeşil) ve D2 (siyah) renklerde fluoresan işaretlenmiş olup primerlere ait baz dizileri, kullanılan Primerlerin dizileri, fluoresan boya ve Tm değerleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 SSR primerlerinin dizileri, florasın işaretleri ve Tm değerleri

	Lokus adı	Primer dizileri(5'...3')	Fluoresan Boya	Tm(°C)
1	VrZAG79F**	agattgtggaggaggaacaaccg	D3(Yeşil)	66
	VrZAG79-R	tgccccattttcaaacctctcc		
2	VVIH54 F**	ccgcactgtgtgaattcag	D2(Siyah)	55
	VVIH54 R	caaaccgttttacaccagcag		
3	VVMD24-F**	gtggatgatggagtagtcacgc	D4(Mavi)	55
	VVMD24-R	gatttaggtcatgttggaagg		
4	VVMD7-F**	agagttgggagaacaggat	D3(Yeşil)	55
	VVMD7-R	cgaaccttcacacgcttgat		
5	VVMD28-F**	aacaattcaatgaaaagagagagaga	D3(Yeşil)	55
	VVMD28-R	tcatcaattcgtatctctattgctg		
6	VVMD27-F**	gtaccagatctgaatacctcgaagt	D2(Siyah)	55
	VVMD27-R	acgggtatagagcaaacggtg		
7	VMC2H4 F**	accaggtgtgcctataagaatc	D3(Yeşil)	50
	VMC2H4 R	tctctggaacatccaatcaac		
8	VVIB01 F**	tgacctgaccttaaatctt	D4(Mavi)	55
	VVIB01 R	tggtgagtgcaatgatagtaga		
9	ZAG 83 F**	ggcggaggcggtagatgagaggcg	D4(Mavi)	66
	ZAG 83 R	acgcaacggctagtaatacaacgg		
10	VVS2-F**	cagcccgtaaatgtatccatc	D4(Mavi)	55
	VVS2-R	aaattcaaaattctaattcaactgg		
11	VVMD5-F**	ctagagctacgccaatccaa	D2(Siyah)	55
	VVMD5-R	tataccaaaaatcatattcctaaa		
12	VrZAG62-F**	ggtgaaatgggcaccgaacacgc	D4(Mavi)	55
	VrZAG62-R	ccatgtctctcctcagcttctcagc		
13	VVMD31-F**	cagtggtttttctaaagttcaagg	D2(Siyah)	55
	VVMD31-R	ctctgtgaaagaggaagagacgc		
14	VMC2C3 F**	tgcaatcccattattatctctt	D2(Siyah)	48
	VMC2C3 R	aatatttgtagaatggtgctttt		
15	VRG1 F**	aaggttctcctccggcgataacc	D2(Siyah)	55
	VRG1 R	ccattggtaaataaagtccc		

** : Florasan işaretli, D: Dye (boya)

3.2.4 PCR ürünlerinin kapiller elektroforezi

PCR aşaması tamamlanan SSR lokuslarına ait ürünler %2'lik agaroz jelde, elektroforeze tabi tutularak amplifikasyon kontrolü yapılmıştır. Daha sonra PCR ürünleri SLS (Sample loading solution) solusyonu ile uygun oranlarda (20µl) seyreltikten sonra, karışıma Genomelab DNA Standard Kit-400 (0.4µl) eklenmiş ve CEQ 8800XL capillary DNA analysis system (Beckman Coulter, Fullerton, CA) sisteminde elektroforez edilmiştir. Pik büyüklükleri ise sisteme ait fragment analizi yazılımları ile tespit edilmiştir. Araştırmada Cabernet Sauvignon ve Merlot çeşitleri referans çeşit olarak kullanılırken, verilerin doğruluğundan emin olmak için reaksiyonlar en az iki defa tekrar edilmiştir.

3.2.5 Allel değerlerinin belirlenmesi ve genetik analizler

Araştırmada; genetik parametreler olarak allel sayısı (n), allel frekansı, beklenen (H_e) ve gözlenen heterozigotluk (H_o), tahmin edilen sessiz allel (null) frekansı (r) ve tespit olasılığı (PI, Probability of Identity) tespit edilmiştir. Beklenen heterozigotluk $1 - \sum p_i^2$ şeklinde hesaplanarak genetik farklılık ölçümü yapılmıştır. Buradaki p_i değeri, çalışılan örnekteki "i" ninci allelin frekansını göstermektedir (Nei 1987). Gözlenen heterozigotluk ise, heterozigot genotiplerle analiz edilen toplam genotip arasındaki orandır. Null allel varlığının tahmini, $(H_e - H_o)/(1 + H_e)$ şeklinde hesaplanmıştır (Brookfield 1996).

Tespit olasılığı (PI) (Paetkau *et al.* 1995) iki rastgele seçilmiş bireylerin aynı SSR profile sahip olma olasılığını ifade etmektedir. Bu değer, $\sum p_i^4 + \sum \sum (2p_i p_j)^2$ şeklinde hesaplanır. Burada p_i ve p_j , sırasıyla "i" ve "j" allellerinin frekansını göstermektedir. Daha sonra benzerlik indeksleri belirlenerek, genetik ilişki dendogramı oluşturulmuştur. İncelenen parametrelere göre kullanılan programlar ise şu şekilde sıralanabilir:

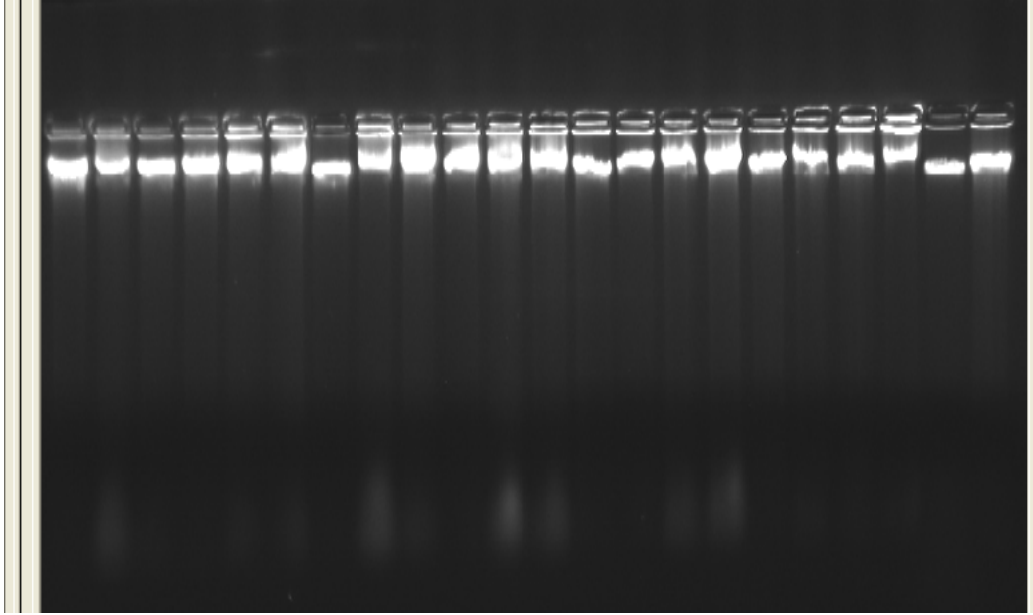
- **Genetik parametreler:** IDENTITY 1.0 programı ile (her lokusa ait allel sayısı, allel frekansı, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI, Probability of Identity)) (Wagner and Sefc 1999).
- **Benzerlik oranı indeksi:** Microsat programı ile (Minch *et al.* 1995).
- **Dendogram:** UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means) yöntemi kullanılarak NTSYS (versiyon 2.02g, Exeter Software, Setauket, NY) programı ile belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA'ların, saflık ve miktar değerleri önce %1'lik agaroz jelde kontrol edililip (Şekil4.1), daha sonra NanoDrop ND-1000 spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Őlçümlerde A260 değeri miktarı, A260/280 oranı ise DNA'nın saflığını belirlemede kullanılmakta olup, oranın 1.8-2.1 arasında olması DNA'nın PCR reaksiyonları için kullanılabilir düzeyde olmasını ifade etmektedir.



Şekil 4.1 İzolasyon sonucu elde edilen DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforez görünümü

Çizelg 4.1 Çeşitlere ait DNA miktar ve saflık derecelerinin üç okuma verileri

No	DNA No	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
1	159	1405,84	28,117	14,364	1,96
	159	1353,26	27,065	13,913	1,95
	159	1369,41	27,388	13,997	1,96
2	186	3821,67	76,433	40,086	1,91
	186	3879,74	77,595	40,814	1,90
	186	3941,45	78,829	41,375	1,91
3	31	1451,99	29,04	14,358	2,02
	31	1447,61	28,952	14,298	2,02
	31	1461,84	29,237	14,265	2,05
4	185	1060,79	21,216	10,847	1,96
	185	1076,35	21,527	11,042	1,95
	185	992,17	19,843	10,083	1,97
5	115	967,8	19,356	9,745	1,99
	115	951,04	19,021	9,583	1,98
	115	956,87	19,137	9,648	1,98
6	106	790,08	15,802	7,823	2,02
	106	784,25	15,685	7,748	2,02
	106	782,26	15,645	7,737	2,02
7	95	3312,76	66,255	35,205	1,88
	95	3370,3	67,406	35,809	1,88
	95	3304,9	66,098	35,096	1,88
8	126	2441,99	48,84	25,82	1,89
	126	2513,08	50,262	26,591	1,89
	126	2482,26	49,645	26,29	1,89
9	135	2659,51	53,19	27,353	1,94
	135	2711,47	54,229	28,158	1,93
	135	2649,85	52,997	27,379	1,94
10	5	2507,18	50,144	26,448	1,90
	5	2538,44	50,769	26,531	1,91
	5	2491,55	49,831	26,064	1,91
11	39	805,06	16,101	7,991	2,01
	39	820,72	16,414	8,169	2,01
	39	815,22	16,304	7,966	2,05
12	22	587,19	11,744	6,127	1,92
	22	595,17	11,903	6,227	1,91
	22	608,26	12,165	6,327	1,92
13	4	2731,30	54,626	29,971	1,82
	4	2736,49	54,73	29,937	1,83
	4	2767,38	55,348	30,381	1,82

Çizelg 4.1 Çeşitlere ait DNA miktar ve saflık derecelerinin üç okuma verileri (devam)

No	DNA No	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
14	143	2223,13	44,463	22,337	1,99
	143	2232,69	44,654	22,429	1,99
	143	2223,22	44,464	22,351	1,99
15	58	1850,50	37,01	18,061	2,05
	58	1985,07	39,701	19,408	2,05
	58	2012,04	40,241	19,735	2,04
16	168	2400,39	48,008	24,394	1,97
	168	2696,43	53,929	28,037	1,92
	168	2502,17	50,043	25,572	1,96
17	15	1283,05	25,661	13,854	1,85
	15	1286,16	25,723	13,916	1,85
	15	1296,44	25,929	14,069	1,84
18	23	646,38	12,928	6,956	1,86
	23	640,13	12,803	6,912	1,85
	23	640,58	12,812	6,903	1,86
19	66	3767,37	75,347	40,678	1,85
	66	3767,24	75,345	40,771	1,85
	66	3752,98	75,06	40,545	1,85
20	14	1203,19	24,064	11,612	2,07
	14	1194,84	23,897	11,492	2,08
	14	1207,07	24,141	11,643	2,07
21	30	1132,81	22,656	11,189	2,02
	30	1096,00	21,92	10,884	2,01
	30	1128,99	22,58	11,205	2,02
22	49	479,66	9,593	4,905	1,96
	49	483,00	9,66	4,941	1,96
	49	471,21	9,424	4,824	1,95
23	75	3590,82	71,816	38,593	1,86
	75	3569,08	71,382	38,19	1,87
	75	3530,10	70,602	37,892	1,86
24	177	2150,95	43,019	22,681	1,90
	177	2162,18	43,244	22,85	1,89
	177	2152,00	43,04	22,725	1,89
25	152	2820,25	56,405	30,046	1,88
	152	2813,41	56,268	30,095	1,87
	152	2815,11	56,302	30,074	1,87
26	756	879,11	17,582	9,339	1,88
	756	909,69	18,194	9,142	1,99
	756	893,56	17,871	9,471	1,89

Çizelge 4.1 Çeşitlere ait DNA miktar ve saflık derecelerinin üç okuma verileri (devam)

No	DNA No	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
27	780	1966,78	39,336	20,428	1,93
	780	1938,54	38,771	20,07	1,93
	780	1918,05	38,361	19,814	1,94
28	821	3878,13	77,563	41,21	1,88
	821	3849,03	76,981	40,837	1,89
	821	3841,67	76,833	40,753	1,89
29	834	1487,75	29,755	15,6	1,91
	834	1503,04	30,061	15,805	1,90
	834	1482,21	29,644	15,555	1,91
30	828	591,00	11,82	6,043	1,96
	828	589,74	11,795	6,031	1,96
	828	590,74	11,815	6,054	1,95
31	793	2485,52	49,71	25,785	1,93
	793	2518,66	50,373	26,119	1,93
	793	2506,48	50,13	25,974	1,93
32	818	2548,04	50,961	27,147	1,88
	818	2547,38	50,948	27,049	1,88
	818	2560,60	51,212	27,179	1,88
33	831	1972,85	39,457	20,656	1,91
	831	1969,90	39,398	20,648	1,91
	831	1990,59	39,812	20,948	1,90
34	796	1980,50	39,61	21,126	1,87
	796	2003,61	40,072	21,446	1,87
	796	1976,95	39,539	21,103	1,87
35	809	1045,58	20,912	10,242	2,04
	809	1041,05	20,821	10,203	2,04
	809	1037,01	20,74	10,148	2,04
36	806	1909,33	38,187	19,59	1,95
	806	1916,13	38,323	19,69	1,95
	806	1918,07	38,361	19,663	1,95
37	783	633,94	12,679	7,131	1,78
	783	641,94	12,839	7,205	1,78
	783	647,63	12,953	7,34	1,76
38	770	2392,88	47,858	25,208	1,90
	770	2424,22	48,484	25,687	1,89
	770	2385,94	47,719	25,178	1,90
39	767	537,40	10,748	5,923	1,81
	767	545,23	10,905	6,025	1,81
	767	538,28	10,766	5,912	1,82

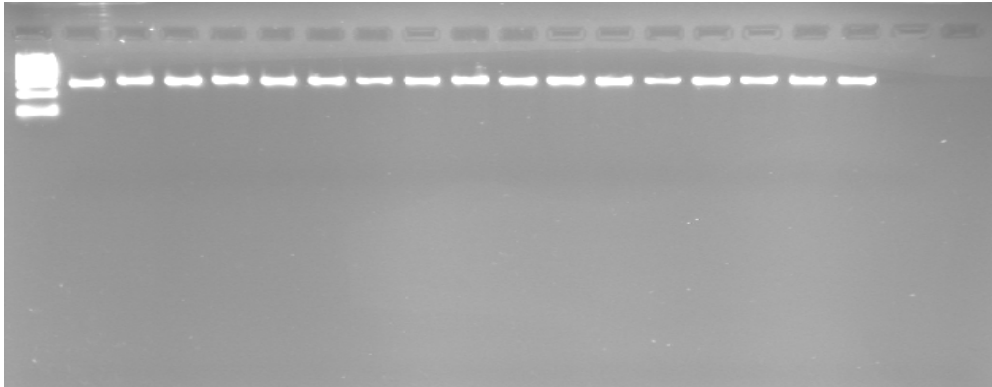
Çizelge 4.1 Çeşitlere ait DNA miktar ve saflık derecelerinin üç okuma verileri (devam)

No	DNA No	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
40	Cabernet Sauvignon	1263,02	25,69	13,156	1,92
		1282,97	24,65	13,414	1,91
		1225,23	24,505	12,814	1,91
41	Merlot	1419,69	28,394	15,838	1,79
		1438,82	28,776	16,185	1,78
		1430,68	28,614	16,177	1,77

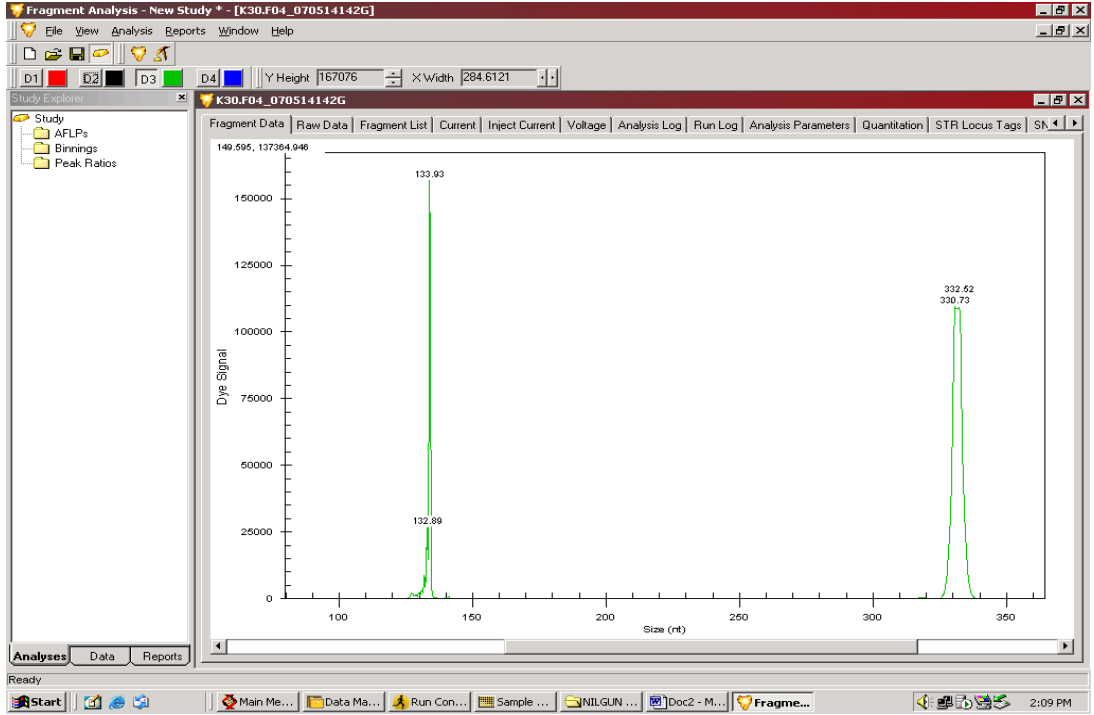
Çizelge 4.1'den de görüleceği üzere her bir DNA dan gerçekleştirilen üç ölçümden, DNA miktar ve saflık oranlarının PCR koşulları için yeterli olduğu anlaşılmaktadır.

4.2 Genetik parametreler

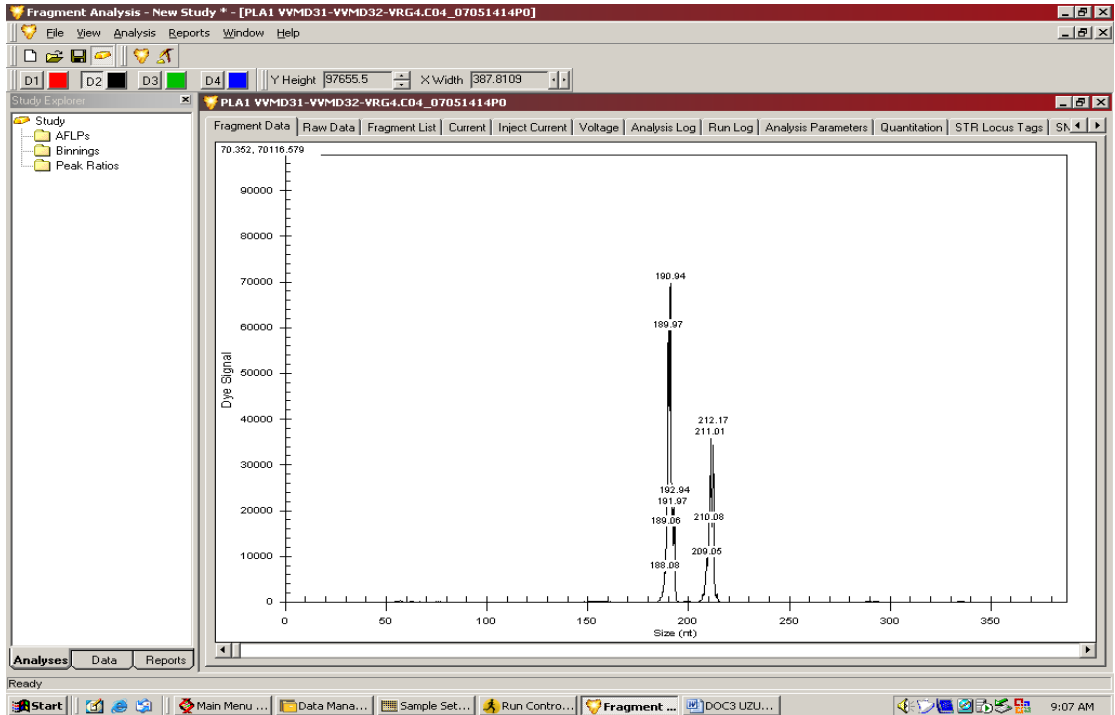
Metot bölümünde de belirtildiği üzere; PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde kontrol edildikten (Şekil 4.1) sonra çalışan lokuslar CEQ 8800 DNA kapilleri dizi analizinde elektroforez edilmiştir. Her lokustaki allel büyüklükleri pik verisi olarak sistemin fragment analiz programı ile belirlenmiştir (Şekil 4.2-4.4).



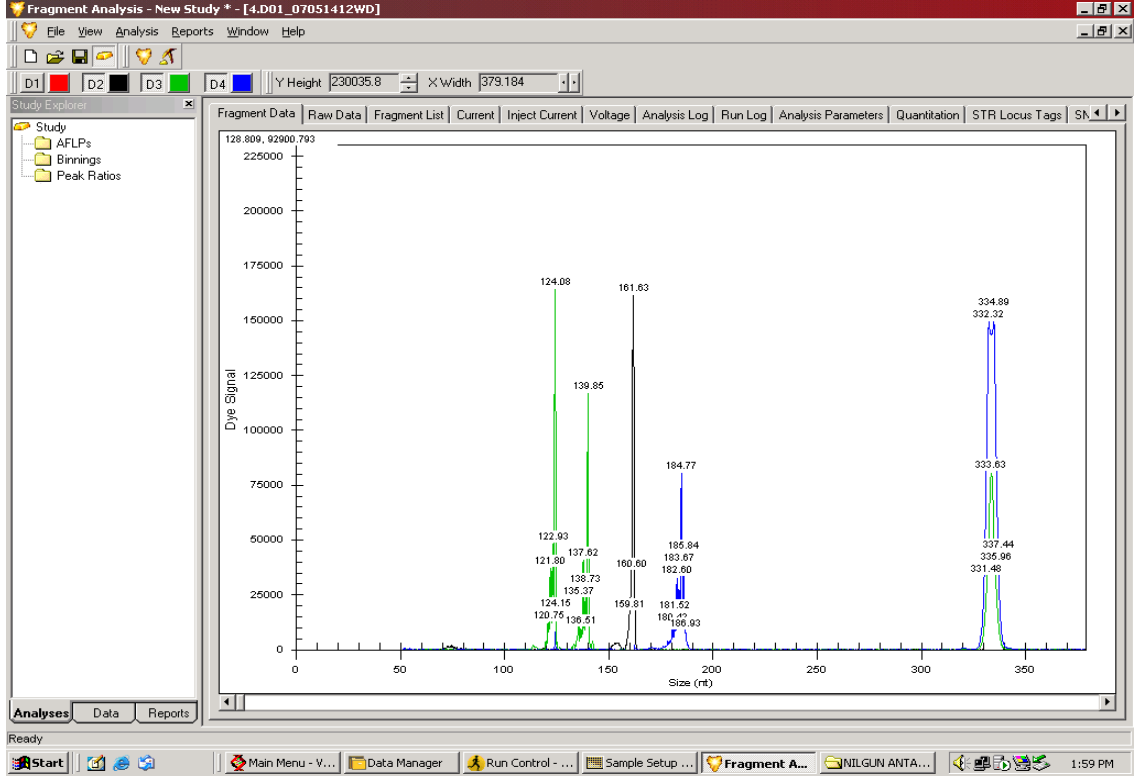
Şekil 4.2 PCR ürününün agaroz jel üzerindeki görünümü



Şekil 4.3 Kapilar elektroforezde homozigot allel görüntüsü



Şekil 4.4 Kapilar elektroforezde heterozigot allel görüntüsü



Şekil 4.5 Kapiler elektroforezde 1 heterozigot, 2 homozigot allel görüntüsü

Uygun PCR koşulları ve iyi amplifiye olmuş lokusların elektroforezi ile; örnek jel ve piklerden de görüldüğü üzere sağlıklı okumaları sağlayacak, pik büyüklüklerine ulaşılırken homozigot ve heterozigot alleller kolaylıkla tespit edilmiştir.

Primerler itibari ile çeşitlerde tespit edilen allel büyüklükleri ise Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2 Eskişehir ve Kayseri illerine ait 14 lokustaki allel büyüklükleri (bp)

Mikrosatelit lokuslar									
NO	Çeşitl	VVMD5	VVMD5	VMC2C3	VMC2C3	VrZAG79	VrZAG79	VVMD24	VVMD24
1	159	233	237	163	163	238	246	207	207
2	186	233	233	167	167	242	250	207	207
3	31	223	223	163	163	238	250	207	207
4	185	233	233	167	167	238	246	207	207
5	115	233	239	167	195	254	254	207	207
6	106	233	233	167	195	246	250	207	207
7	95	233	237	167	191	254	254	207	207
8	126	233	233	167	167	238	242	207	207
9	135	233	233	163	167	250	250	207	217
10	5	233	233	167	191	246	256	207	215
11	39	229	233	167	195	242	246	207	211
12	22	233	233	163	167	250	258	207	217
13	4	223	237	167	167	246	250	211	215
14	143	233	233	167	195	246	250	207	207
15	58	233	237	163	167	246	250	205	205
16	168	229	233	167	195	238	246	207	207
17	15	233	233	167	167	238	242	207	207
18	23	223	233	167	167	246	248	207	211
19	66	233	233	167	167	238	242	207	207
20	14	223	237	163	163	242	258	207	215
21	30	233	237	163	167	250	258	205	215
22	49	223	229	163	163	242	250	207	207
23	75	233	233	163	167	250	250	207	215
24	177	233	233	167	195	246	250	207	207
25	152	225	233	163	167	238	258	207	211
26	756	233	237	163	167	254	254	207	209
27	780	233	237	167	191	254	254	207	207
28	821	233	233	167	195	242	246	207	207
29	834	229	237	163	163	238	250	207	211
30	828	233	233	163	167	250	250	207	207
31	793	233	243	163	163	248	250	207	215
32	818	233	237	167	191	254	254	207	209
33	831	233	237	167	191	254	254	205	205
34	796	233	233	163	167	250	250	207	207
35	809	233	233	163	167	250	250	207	207
36	806	233	237	163	167	242	258	207	207
37	783	229	233	163	167	238	242	207	207
38	770	233	237	167	191	254	254	207	209
39	767	233	233	163	167	238	248	207	215
40	CS(R)	229	237	163	177	246	246	207	217
41	M(R)	223	233	167	177	258	258	207	211

R:Referans çeşit

M:Merlot

CS:Cabernet Sauvignon

Çizelge 4.2 Eskişehir ve Kayseri illerine ait 14 lokustaki allel büyüklükleri (bp)
(devam)

Mikrosatelit lokuslar									
NO	Çeşit	VVMD27	VVMD27	VVMD28	VVMD28	VVS2	VVS2	VrZAG62	VrZAG62
1	159	177	183	239	257	133	143	202	204
2	186	183	183	243	243	137	143	196	200
3	31	183	193	235	247	135	135	186	194
4	185	177	177	233	243	137	145	188	200
5	115	177	183	243	277	137	143	188	204
6	106	177	183	233	243	137	143	188	200
7	95	177	183	243	277	137	143	188	204
8	126	177	183	233	243	143	145	188	200
9	135	177	183	233	233	137	143	188	200
10	5	177	177	233	247	137	145	188	196
11	39	177	183	243	257	143	153	188	188
12	22	179	183	233	243	131	133	188	200
13	4	173	183	243	257	133	143	188	200
14	143	177	183	233	243	137	143	188	200
15	58	183	183	235	257	143	143	194	200
16	168	177	177	233	257	143	143	188	188
17	15	177	183	233	243	143	145	188	200
18	23	177	181	233	233	123	135	190	200
19	66	177	183	233	243	143	145	188	200
20	14	179	183	247	257	143	145	188	200
21	30	179	181	243	247	133	137	188	204
22	49	173	183	233	257	133	135	186	188
23	75	177	183	233	233	137	143	188	200
24	177	177	183	233	243	137	143	188	200
25	152	177	183	235	257	135	135	188	194
26	756	177	183	243	277	137	143	188	204
27	780	177	183	243	277	137	143	188	204
28	821	177	183	257	257	137	143	188	200
29	834	179	183	235	235	135	143	200	204
30	828	177	183	233	233	133	137	188	200
31	793	181	181	233	247	133	137	200	204
32	818	177	183	243	273	137	143	188	204
33	831	177	183	243	277	137	143	188	204
34	796	177	183	233	233	133	137	188	200
35	809	177	183	233	233	133	137	188	200
36	806	179	183	235	243	143	143	188	202
37	783	179	183	235	257	135	137	200	200
38	770	177	183	243	277	137	143	188	204
39	767	177	181	233	233	135	143	188	202
40	CS (R)	173	187	233	235	139	151	188	194
41	M(R)	187	189	227	233	139	151	194	194

R:Referans çeşit

M:Merlot

CS: Cabernet Sauvignon

Çizelge 4.2 Eskişehir ve Kayseri illerine ait çeşitlerinin 14 lokustaki allel büyüklükleri (bp) (devam)

Mikrosatelit lokuslar									
NO	Çeşitl	VVIB01	VVIB01	VMC2H4	VMC24	VVM7	VVM7	VVIH4	VVIH4
1	159	296	296	204	214	246	246	160	168
2	186	292	296	214	220	246	246	150	174
3	31	296	296	200	214	236	246	164	164
4	185	292	292	214	214	244	246	174	174
5	115	296	296	214	218	244	244	150	168
6	106	292	296	214	220	244	244	174	174
7	95	296	296	214	218	244	246	150	168
8	126	292	296	214	220	244	246	174	174
9	135	292	296	206	214	244	246	164	174
10	5	292	296	214	214	244	244	158	174
11	39	292	292	202	220	236	244	164	164
12	22	292	292	200	216	246	250	164	164
13	4	292	296	214	224	246	246	164	176
14	143	292	296	214	220	244	244	174	174
15	58	292	296	206	210	246	246	158	164
16	168	296	296	214	220	244	246	174	174
17	15	292	296	214	220	244	244	174	174
18	23	292	296	206	214	230	246	174	174
19	66	292	296	214	220	244	246	174	174
20	14	292	292	200	214	236	250	164	178
21	30	292	292	200	214	236	244	164	164
22	49	292	296	200	214	236	246	164	176
23	75	292	296	206	214	244	246	164	174
24	177	292	296	214	220	244	246	174	174
25	152	296	296	200	214	236	246	164	174
26	756	296	296	214	218	244	246	150	168
27	780	296	296	214	218	244	246	150	168
28	821	292	296	214	220	244	244	164	174
29	834	292	296	214	214	244	250	164	164
30	828	292	296	198	198	240	246	164	164
31	793	292	292	204	214	244	246	150	164
32	818	296	296	214	218	244	246	150	164
33	831	296	296	214	218	244	246	150	168
34	796	292	296	198	198	240	246	164	164
35	809	292	296	198	198	240	246	164	164
36	806	292	296	214	214	236	246	150	164
37	783	292	292	214	220	246	250	164	164
38	770	296	296	214	218	244	246	150	168
39	767	292	296	200	214	244	246	174	174
40	CS (R)	292	292	212	220	236	236	164	178
41	M(R)	292	296	198	212	236	244	164	164

R:Referans çeşit

M:Merlot

CS:Cabernet Sauvignon

Çizelge 4.2 Eskişehir ve Kayseri illerine ait çeşitlerinin 14 lokustaki allel büyüklükleri
(bp) (devam)

Mikrosatelit lokuslar							
NO	Çeşitler	VVMD31	VVMD31	VrZAG83	VrZAG83	VRG1	VRG1
1	159	209	211	185	191	225	225
2	186	209	215	185	191	213	213
3	31	203	211	185	191	197	197
4	185	209	211	185	191	197	225
5	115	195	215	185	191	197	197
6	106	209	209	185	191	197	197
7	95	195	215	185	191	197	197
8	126	209	209	185	191	203	225
9	135	209	211	185	185	197	225
10	5	209	211	187	191	197	197
11	39	209	215	185	191	197	197
12	22	209	209	191	191	197	197
13	4	209	211	185	187	203	231
14	143	209	209	185	191	197	197
15	58	209	209	191	191	231	231
16	168	209	211	191	191	225	225
17	15	209	209	185	191	203	225
18	23	209	211	191	191	197	197
19	66	209	209	185	191	203	225
20	14	211	211	187	191	203	203
21	30	211	211	185	187	203	203
22	49	203	211	185	191	203	225
23	75	209	211	185	185	197	225
24	177	209	211	185	191	197	197
25	152	209	213	185	191	203	203
26	756	195	215	185	191	197	197
27	780	195	215	185	191	197	197
28	821	209	209	185	191	197	225
29	834	211	211	185	191	211	211
30	828	209	211	185	191	197	197
31	793	195	209	185	185	197	197
32	818	195	215	185	191	197	197
33	831	195	215	185	191	197	197
34	796	209	211	185	191	197	197
35	809	209	211	185	191	197	197
36	806	195	211	185	187	213	213
37	783	209	211	185	191	225	225
38	770	195	215	185	191	197	197
39	767	209	211	185	191	225	225
40	C.S (R)	205	209	197	197	197	197
41	M(R)	211	215	191	197	203	203

R:Referans çeşit

M:Merlot

CS: Cabernet Sauvignon

Çalışılan lokuslardaki allel sayıları, heterozigotluk oranları, tespit olasılığı değeri ve sessiz (null) allel frekansı Çizelge 4.3’de sunulmuştur.

Çizelge 4.3 Çalışılan lokuslardaki allel sayıları (N),beklenen heterozigotluk (He),gözlenen heterozigotluk (Ho),tespit olasılığı (PI) değeri ve sessiz (null) allel frekansı

Lokuslar	Allel sayıları (N)	Beklenen heterozigotluk (He)	Gözlenen heterozigotluk (Ho),	Tespit olasılığı (PI) değeri	Sessiz (null) allel frekansı (r)
VVMD5	7	0.5556	0.5609	0.301	-0.003
VMC2C3	5	0.6362	0.6829	0.311	-0.028
VrZAG79	8	0.8280	0.6585	0.095	0.092
VVMD24	6	0.4806	0.4390	0.327	0.028
VVMD27	8	0.6829	0.8536	0.259	-0.101
VVMD28	9	0.7807	0.7560	0.137	0.013
VVS2	10	0.7718	0.8780	0.144	-0.051
VrZAG62	8	0.7233	0.9024	0.197	-0.103
VVIB01	2	0.4973	0.5365	0.623	-0.026
VMC2H4	12	0.7489	0.8292	0.125	-0.046
VVMD7	6	0.6763	0.7317	0.278	-0.033
VVIH54	8	0.7230	0.5121	0.206	0.122
VVMD31	7	0.7043	0.7317	0.226	-0.016
VrZAG83	4	0.5874	0.8048	0.430	-0.136
Toplam	100	9,3963	9.8773	3.659	
Ortalama	7.1428	0,6711	0,7055	0,261	

VVMD5, VMC2C3, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVIH54, VVMD31, VrZAG83 SSR lokusları itibari ile allel sayıları sırası ile 7, 5, 8, 6, 8, 9, 10, 8, 2, 12, 6, 8, 7, 4 olarak tespit edilmiştir.(He) ve (Ho) değerleri değişkenlik gösterirken, PI değerleri ise 0.095-0.623 arasında değişmiştir. Null allel frekansı genel olarak 0.05 arasında bulunmuştur.

VVMD5, VMC2C3, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVIH54, VVMD31, VrZAG83 SSR lokuslarına ait allel frekansları Çizelge 4.4’de sunulmuştur.

Çizelge 4.4 Allel frekansları

No	VVMD5	Allel Frekansı	VMC2C3	Allel Frekansı	ZAG79	Allel Frekansı
1	223	0.08537	163	0.31707	238	0.13415
2	225	0.01220	167	0.50000	242	0.12195
3	229	0.07317	177	0.02439	246	0.17073
4	233	0.63415	191	0.07317	248	0.03659
5	237	0.17073	195	0.08537	250	0.26829
6	239	0.01220			254	0.17073
7	243	0.01220			256	0.01220
9					258	0.08537

No	VVMD24	Allel Frekansı	VVMD27	Allel Frekansı	VVMD28	Allel Frekansı
1	205	0.06098	173	0.03659	227	0.01220
2	207	0.70732	177	0.36585	233	0.34146
3	209	0.03659	179	0.07317	235	0.09756
4	211	0.07317	181	0.06098	239	0.01220
5	215	0.08537	183	0.41463	243	0.25610
6	217	0.03659	187	0.02439	247	0.06098
8			189	0.01220	257	0.13415
9			193	0.01220	273	0.01220
11					277	0.07317

Çizelge 4.4 Allel frekansları (devam)

No	VVS2	Allel Frekansı	ZAG62	Allel Frekansı	VVIB01	Allel Frekansı	VMC2H4	Allel Frekansı
1	123	0.01220	186	0.02439	292	0.46341	198	0.08537
2	131	0.01220	188	0.41463	296	0.53659	200	0.08537
3	133	0.10976	190	0.01220			202	0.01220
4	135	0.10976	194	0.07317			204	0.02439
5	137	0.26829	196	0.02439			206	0.04878
6	139	0.02439	200	0.28049			210	0.01220
7	143	0.35366	202	0.03659			212	0.02439
8	145	0.07317	204	0.13415			214	0.45122
9	151	0.02439					216	0.01220
10	153	0.01220					218	0.08537
							220	0.14634
							224	0.01220

No	VVMD7	Allel Frekansı	VVIH54	Allel Frekansı	VVMD31	Allel Frekansı	ZAG83	Allel Frekansı
1	230	0.01220	150	0.12195	195	0.10976	185	0.43902
2	236	0.12195	158	0.02439	203	0.02439	187	0.06098
3	240	0.03659	160	0.01220	205	0.01220	191	0.46341
4	244	0.037805	164	0.39024	209	0.42683	197	0.03659
5	246	0.40244	168	0.08537	211	0.29268		
6	250	0.04878	174	0.31707	213	0.01220		
7			176	0.02439	215	0.12195		
8			178	0.02439				

Primerler itibari ile dikkate alındığında en yüksek allel frekansı; VVMD5’de:233, VMC2C3’de:167, VrZAG79’da: 250, VVMD24’de: 207, VVMD27’de:183, VVMD28’de: 233, VVS2’de: 143, VrZAG62’de: 188, VVIB01’de: 296, VMC2H4’de:214, VVMD7’de:246, VVIH54’de: 164, VVMD31’de:209 ve VrZAG83’de 191 olarak tespit edilmiştir.

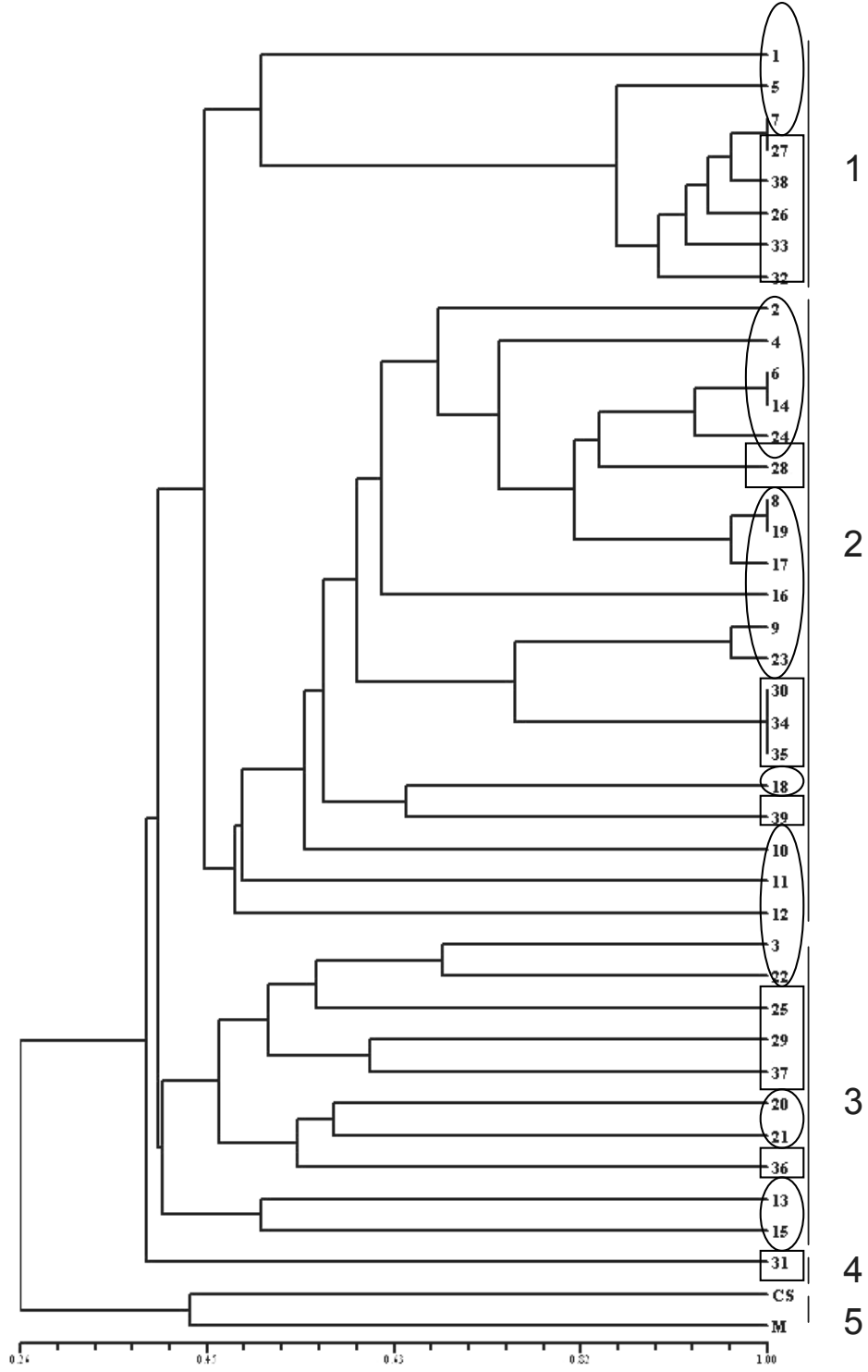
Araştırma kullanılan 39 üzüm çeşidinin sinonim ve homonim durumları Çizelge 4.5’de sunulmuştur.

Çizelge 4.5 Benzer, Sinonim ve Homonim çeşitler

	Çeşit Adı/Çeşit no/İl	Benzerlik Oranı
Aynı Genotipler	Yok	-
Sinonim Çeşitler		
1.durum	Siyah Fesdiken/7/Eskişehir	%100
	Cıvıklık/27/Kayseri	
2. durum	Siyah Üzüm/8/Eskişehir	%100
	Koyungözü/19/Eskişehir	
3. durum	Siyah Büzgülü/6/Eskişehir	%100
	Büzgülü/14/Eskişehir	
4. durum	Hanım Dudağı/30/Kayseri	%100
	Kara Evlek/34/Kayseri	
	Karalık/35/Kayseri	
Homonim Çeşitler		
1. durum	Narinci/20/Eskişehir	% 0.571
	Narinci/21/Eskişehir	

Aynı çeşitler bulunmazken, dört sinonim(farklı isimle adlandırılan fakat tüm lokuslarda SSR allel büyüklükleri aynı olan çeşitler) ve bir homonim (aynı isimle adlandırılan fakat en az bir lokus da SSR allel büyüklükleri farklı olan çeşitler) durum tespit edilmiştir.

4.4 Genetik İlişki Dendogramı



Kayseri çeşitleri

Eskişehir çeşitleri

Şekil 4.6 Çeşitlere ait genetik ilişki dendogramı

Çeşitlerdeki %100 benzerlik gösteren sinonim çeşitlerin dışındaki genotiplerde benzerlik oranlar %92.9 ile %96.4 arasında değişim gösterirken, dendogramda çeşit dağılımı 5 grupta gerçekleşmiştir (Şekil 4.5).

grup1: 1, 5, 7, 27, 38, 26, 33, 32,

grup 2: 2,4,6,14,24,28,8,19,17,16,9,23,30,34,35,18,39,10,11,12,

grup3:3,22,25,29,37,20,21,36,13,15

grup 4:31,

grup 5: C.Sauvignon,Merlot

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1 Genetik Parametreler

Araştırmada kullanılan 41 çeşidin 15 SSR lokusu ile taranması sonucu toplam elde edilen allel sayısı 100 olup ortalama allel değeri 7.1428 bulunmuştur. Çalışılan lokuslar değerlendirildiğinde, VMC2H4 lokusu 12 allel ile en çok allel veren lokus olmuş, bunu 10 allel ile VVS2 ve 9 allel ile VVMD28 lokusları izlemiştir. VMC2H4 lokusu Goto-Yamamoto et al. (2006), Vouillamoz et al. (2006) tarafından yapılan çalışmalarda da yüksek sayıda allel veren lokuslar arasında yer almaktadır. En az allel veren lokus ise 2 allel ile VVIB01 lokusu olmuştur (Çizelge 4.2, 4.3).

Ortalama beklenen heterozigotluk (H_e) ve gözlenen heterozigotluk (H_o) ortalama değerleri sırası ile 0.6711 ve 0.7055 olarak tespit edilmiştir. VVMD5, VMC2C3, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVIH54, VVMD31, VrZAG83 SSR lokuslarına ait her bir H_e ve H_o değerleri göz önüne alındığında VVMD5, VMC2C3, VVMD27, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVMD31, VrZAG83 lokusların beklenen şekilde H_o yüksek bulunurken, VrZAG79, VVMD24, VVMD28, VVIH54 lokuslarında ise H_o , H_e ye göre küçük bir farkla düşük bulunmuştur. Ancak null allel değerleri dikkate alındığında bu değerlerin pozitifte olsa küçük olması lokuslarda null allel şüphesini ortadan kaldırmaktadır. Bu sonuçlar (Ibáñez *et al.* 2003, Costantini *et al.* 2005, Martinez *et al.* 2006, Santana *et al.* 2007) gibi araştırmacıların sonuçları ile uyumludur. Söz konusu araştırmacılar bazı SSR lokuslarında (H_e) değerini kısmi olarak yüksek ve null allel frekansları (r) pozitif (r : yaklaşık 0.1 den küçük) bulmalarına karşın null allel varlığından şüphelenmemişlerdir.

Diğer taraftan tezde yalnızca allel değerleri verilen (Çizelge 4.2) VRG1 primerinin ön istatistik analizleri sonucu çok yüksek oranda null(sahte) allel frekansı verdiği (r : 0.3'den büyük) saptanmış ve bu nedenle genetik analizlere dahil edilmemiştir.

Lokuslar açısından önemli olan diğer bir parametre ise her bir allele ait frekans dağılımıdır. Frekans dağılımı açısından lokuslar göz önüne alındığında; VMC2H4 lokusunda

0.45122 allel frekansı ile 214 alleli en çok görülen alleldir. Aynı şekilde 41 genotipte, en fazla rastlanan allel VVMD28 lokusunda 0.34146 allel frekansı ile 233, VVS2 lokusunda 0.35366 allel frekansı ile 143, VrZAG79 lokusunda 0.26829 allel frekansı ile 250, VVMD7 lokusunda 0.40244 allel frekansı ile 246, VrZAG62 lokusunda 0.41463 allel frekansı ile 188, VVIH54 lokusunda 0.39024 allel frekansı ile 164, VVMD5 lokusunda 0.63415 allel frekansı ile 233, VVMD31 lokusunda 0.42683 allel frekansı ile 209, VVMD24 lokusunda 0.70732 allel frekansı ile 207, VMC2C3 lokusunda 0.50000 allel frekansı ile 167 ve en az allel veren lokus olan VVIB01 lokusunda ise 0.53659 allel frekansı ile 296 allelleri en sık rastlanan alleller olmuştur. Bu allellerin Cabernet ve Merlot referans çeşitlerinde de görülmelerinden dolayı bu allellerin yalnızca Türk çeşitlerine ait alleller olmadıklarını söyleyebiliriz (Çizelge 4.4).

PI (tanımlama olasılığı) göz önüne alındığında, en bilgi verici lokus 12 allel ile VMC2H4 lokusu (0.125) iken en az bilgi verici lokus ise 2 allel ile VVIB01 lokusudur (0.623) (Çizelge 4.3).

Araştırmada analiz edilen genetik parametreler (allel sayısı, allel frekansı, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI) göz önüne alındığında en etkili lokuslar olarak VMC2H4 ve VVS2 lokusları belirlenmiştir.

5.2 Aynı Genotip, Sinonim ve Homonim çeşitlerin belirlenmesi

Birçok araştırmacı üzüm genotiplerinde homonim ve sinonim çeşitlerin belirlenmesinde SSR markörleri kullanmışlardır. (Ibáñez *et al.* 2003, Martín *et al.* 2003, This *et al.* 2004, Vouillamoz *et al.* 2006, Şelli *et al.* 2007). Analiz edilen üzüm çeşitlerine bakıldığında isim ve SSR lokuslarındaki allel büyüklükleri açısından “aynı genotip’lere rastlanmamıştır. Aynı isme sahip fakat genetik olarak birbirlerinden farklı olan ve homonim çeşit olarak adlandırılan çeşitler ise: Narinci (20) 608-26 ile Narinci (21) 610-26 olarak tespit edilmiştir.

Farklı isme sahip ancak genetik açıdan %100 benzer bulunan çeşitler yani sinonim olarak bulunan çeşitler ise; Siyah Fesdiken(7) - Cıvıklık (27), Siyah Üzüm (8) - Koyungözü (19),

Siyah Büzgülü (6)-Büzgülü (14), Hanım Dudağı(30) - Kara Evlek (34) – Karalık(35). Araştırmada toplam bir sinonim durumu 4 homonim durumu tespit edilmiştir. Homonim gösteren çeşitlere bakıldığında iki Narinci genotipin genetik açıdan farklı olduğu görülmekte, bu ise aynı çeşite ait iki farklı tipin olabileceğine işaret etmektedir. Sinonimler değerlendirildiğinde her iki ilden de (7-27 genotipler Eskişehir-Kayseri, 8-19 genotipler Eskişehir-Eskişehir, 6-14 genotipler Eskişehir-Eskişehir, 30-34-35 Kayseri) sinonim çeşitlere rastlanmıştır. Araştırmamıza benzer şekilde, Türk çeşitlerinde sinonim ve homonim genotiplerin yaygınlığı daha önceki araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir (Ergül 2006, Karağaç 2006, Vouillamoz *et al.* 2006, Şelli *et al.* 2007, Karataş *et al.* 2007).

5.3 Genetik ve Ekocoğrafik İlişkilendirme

Genotiplere ait genetik benzerlikler incelendiğinde sinonim çeşitlerin (%100 benzerlik gösteren) dışındaki genotiplerde en yüksek benzerlik oranı %96.4 (38-27 ve 7, 9-23nolu genotipler) olarak saptanmışken, 24 numaralı çeşit 6 ve 14 numaralı genotiplere %92.9 oranında benzerlik göstermektedir ve diğer çeşitlerin birbirlerine benzerlik oranları %89.3 ün altındadır. En düşük benzerlik oranı referans çeşitler (Cabernet Sauvignon, Merlot) ile Türk çeşitleri arasında gözlenmiştir (Çizelge 4.5).

Genotiplere ait dendogram incelendiğinde temel olarak 5 grup oluşmuş referans çeşitler (grup 5) ve Türk çeşitlerinden (grup 1, 2, 3, 4) uzak bir dağılım göstermiştir. Çeşitlerin dendogram dağılımları yetiştirme bölgeleri ile karşılaştırıldığında genel olarak birbirlerinden tam anlamı ile bağımsızlık gösterdiği söylenemez. Şekil 4.5 incelendiğinde; Eskişehir genotiplerinin özellikle grup 1, 2 ve 3 bölgesinde bir araya toplandığı Kayseri genotiplerinin ise özellikle grup1 bunun yanı sıra kısmen grup 2 ve 3’de toplandığı bazı genotiplerin ise dendogram boyunca dağılım gösterdiği görülmektedir.

Dendogramda dikkati çeken diğer ilişkilendirmeler ise şu şekilde açıklanabilir:

Bununla birlikte aynı isimle adlandırılan fakat ismlendirmelerindeki farklılıktan(Beyaz, Göğ, Siyah) dolayı homonim grubuna katılmayan Kayseri çeşitleri Buludu genotipleri (Siyah buludu, Beyaz buludu, Göğ buludu) dendogramda ikili gruplar oluşturmamış ve genellikle uzak dağılım göstermişlerdir. Diğer taraftan, Siyah Buludu 38 no.lu genotipinin

%100 oranında benzer çeşitler olan 7 nolu Siyah Fesdiken ve 27 nolu Cıvıklık çeşitlerine %96.4 oranında yüksek bir benzerlik göstermesi bu çeşitlerin ortak kökenden gelebileceği fikrini doğurmuştur. Benzer şekilde 24 no.lu Siyah Hevenk genotipinin %100 benzer çeşitlerden 6 no.lu Siyah Büzgülü ve 14 nolu Büzgülü genotipine %92.9 oranında benzerlik göstermesi de aynı fikri çağrıştırmaktadır. Aynı durum 9 no.lu Su Üzümü genotipi ile 23 no.lu Sert Kabuk genotipi arasında da mevcuttur.

Sonuç olarak; Bölge üzüm çeşitlerinin genetik karakterizasyonu anlamında ilk olma niteliği taşıyan bu çalışmada; Eskişehir bölgesine ait 25 çeşit ile Kayseri bölgesine ait 14 çeşit ile 2 referans olmak üzere toplam 41 çeşidin SSR'a dayalı kimlik tanımları tamamlanarak 4 sinonim ve 1 homonim durum tespit edilmiştir.

Ayrıca Eskişehir ve Kayseri çeşitlerinin genetik parametreleri tanımlanıp benzerlik ilişkileri ortaya konurken, ileriki dönemlerde bu çeşitlerle yürütülecek olan çalışmalara tekniksel ve genetik tanımlamalarla ilgili veriler oluşturulmuştur. Tez sonuçlarının ışık tutacağı çalışmaları yalnızca bu iki il ile sınırlı olmayıp, Ülke bağıcılığı ile ilgili yürütülecek moleküler, ıslah, çoğaltma çalışmaları içinde karşılaştırmalı olarak kullanılacak veri bilgilerini içermektedir.

KAYNAKLAR

- Agüero, C.B., Rodríguez, J.G., Martínez, L.E., Dangl, G.S. and Meredith, C.P. 2003. Identity and Parentage of Torrontés Cultivars in Argentina. *Am. J. Enol. Vitic.* 54(4); 318-321.
- Ağaoğlu, Y.S. Söylemezoğlu, G., Ergül, A. ve Çalışkan M. 1995. Ülkemizde yetiştirilen bazı sofralık üzüm çeşitlerinin izoenzim bantlarından yararlanılarak Elektroforez tekniği ile tanımlanmaları. Türkiye 2. Bahçe Bitkileri Ulusal Kongresi. Cilt 2. Sebze- Bağ-Süs Bitkileri, S:567–571, 3–6 Ekim 1995, Adana.
- Ağaoğlu Y.S., Marasalı, B. ve Ergül, A. 1998. Asma ıslahında son gelişmeler. IV. Bağcılık Sempozyumu. S: 9–16. 20–23 Ekim 1998, Yalova.
- Ağaoğlu, Y.S., Söylemez oğlu G., Çalışkan, M. ve Ergül, A. 1999. Türkiye’de yetiştirilen Razakı üzüm çeşidi ekotiplerinin elektroforetik tanımlamaları üzerinde araştırmalar. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. 14–17 Eylül, s: 398–394. Ankara.
- Ağaoğlu , Y.S., Marasalı, B. ve Ergül, A. 2000. Asmalarda (*Vitis vinifera* L. cvs.) RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tekniği ile moleküler karakterizasyon. Ankara Üniv. Arş. Fonu 96-11-01-02 no.lu Proje Sonuç Raporu, Ankara.
- Akkurt, M. ve Fidan, Y. 1998. Meram (Konya) İlçesi Bağcılığı ve Yörede Yetişen üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi üzerinde Bir Araştırma. 4. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri. 345-349s. Yalova.
- Alleweldt, G. 1997. Genetics of grapevine breeding. *Progress in botany.*, 58:442-454.
- Anonymous. 2008 Meteoroloji Araştırma ve Bilgi İşlem Daire Başkanlığı.
- Anonymous. 2006. Faostat.fao.org.
- Aradhya, M.K., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.M., Walker, M.A., Meredith, C.P. and Simon, C.J. 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. *Genet. Res. Camb.* 81; 179–192.

- Arroyo-Garcia, R., L. Ruiz-Garcia, L. Boulling, R. Ocete, M. A. López, C. Arnold, A. Ergul, G. Söylemezoğlu, H. İ. Uzun, F. Cabello, J. Ibáñez, M. K. Aradhya, A. Atanassov, I. Atanassov, S. Balint, J. L. Cenis, L. Costantini, S. Gorislavets, M. S. Grando, B. Y. Klein, P. McGovern, D. Merdinoglu, I. Pejic, F. Pelsy, N. Primikirios, V. Risovannaya, K. A. Roubelakis-Angelakis, H. Snouss, P. Sotiri, S. Tamhankar, P. This, L. Troshin, J. M. Malpica, F. Lefort, and J. M. Martinez-Zapater 2006. Genetic evidence for the existence of independent domestication events in grapevine. *Molecular Ecology*, 15(12), 3707-3714.
- Arulsekhar, S.D. and Parfitt, D.E. 1986. Isoenzyme analysis procedure for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachia and fig. *Hort Science* 21 (4); 928-933.
- Bachmann, D. and Blaich, R. 1988. Isoelectric focusing of grapevine peroxidases as a tool for ampelography. *Vitis* 27; 147-155.
- Bourquin, J.C., Tournier, P., Otten, L. and Walter, B. 1992. Identification of sixteen grapevine rootstocks by RFLP and RFLP analysis of nuclear DNA extracted from the wood. *Vitis* 31; 157-162.
- Bourquin, J.C., Sonko, A., Otten, L. and Walter, B. 1993. Restriction fragment length polymorphism and molecular taxonomy in *Vitis vinifera* L.. *Theor. Appl. Genet.* 87; 431-438.
- Bourquin, J.C., Otten, L. and Walter, B. 1995. PCR-RFLP analysis of *Vitis*, *Ampelopsis* and *Parthenocissus* and its application to the identification of rootstocks. *Vitis* 34 (2); 103-108.
- Bowers, J.E. 1992. DNA fingerprint analysis of some wine grape cultivars. M. Sc. Thesis, (unpublished). University of California, Davis (1992), 106p, USA.
- Bowers, J.E, Bandman, E.B. and Meredith, C.P. 1993. DNA fingerprint characterization of some wine grape cultivars. *Amer. J. Enol. Vitic.* 44 (3); 266-274.
- Bowers, J. E., Dangl, G.S., Vignani, R. and Meredith, C.P. 1996. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L). *Genome* 39; 628–633.
- Bowers, J.E. and Meredith, C.P. 1997. The parentage of a classic wine grape, Cabemet Sauvignon. *Nat. Genetics* 16(1): 84–87.

- Bowers, J. E., Dangl, G.S. and Meredith, C.P. 1999. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *Am. Vitic.*, 50 (3); 243–246.
- Brookfield J.F.Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Mol Ecol* 5; 453-455.
- Cabezas, J.A., Cervera, M.T., Sancho, J., Martinez de Toda, F. and Martinez-Zapater, J.M. 1998. AFLP-based characterization of grapevine cultivars from La Rioja (Spain). VIIème Symposium International sur la Genetique et L'Amèlioration de la Vigne. P1.3. Rèsumès (Posters), 6-10 Juillet 1998, Montpellier.
- Cervera, M.T., Cabezas, J.A., Cenis, J.L., Espinas, E., Sella, J., Cabella, F. and Martinez Zapater, J.M. 1998. AFLP-based identification of clonal selections derived from the same grapevine variety. VIIème Symposium International sur la Genetique et L'Amèlioration de la Vigne. P1.5. Rèsumès (Posters), 6-10 Juillet 1998, Montpellier.
- Chao, S., Sharp, P.J., Worlend A.J., Warham, E.J., Koeber, R.M.D. and Gale, M.D. 1989. RFLP-based genetic maps of wheat homeologous group 7 chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 78; 495-504.
- Chaparro, J. X., Goldy, R.G., Mowrey, B.D. and Werner, D.J. 1989. Identification of *Vitis vinifera* L.X. *Muscadinia rotundifolia* small hybrids by starch gel electrophoresis. *Hort Science* 24 (1); 128-130.
- Costantini, L., Monaco, A., Vouillamoz, J.F., Forlani, M. and Grando, M.S. 2005. Genetic relationships among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). *Vitis* 44 (1); 25–34.
- Crespan, M. and Milani, N. 2001. The Muscats: A molecular analsis of synonyms, homonyms and genetic relationship within a large family of grapevine cultivars. *Vitis* 40 (1); 23-30.
- Crespan, M., Cancellier, S., Costacurta, A., Guist, M., Carraro, R., Stefano, R. And Santangelo, S. 2003. Contribution to the clearing up of synonymies in some groups of Italian grapevine cultivars. *Proc. VIIIth IC on Grape, Acta Horticulturae.* No: 603; 275-289.
- Çalışkan, M. 1997. Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Çavuş Üzümü Tiplerinin Elektroforez Yöntemleri İle Tanımlamaları Üzerinde Bir Araştırma. A.Ü. Fen Bilimleri Enstütüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmamış), 61s, Ankara.
- Çalışkan, M. ve Ağaoglu, Y.S. 1998. Türkiye'de yetiştirilen bazı Çavuş üzümü tiplerinin Elektroforez yöntemi ile tanımlanmaları üzerinde bir araştırma. 4.Bağcılık Sempozyumu, Bildiriler, 20-23 Ekim 1998, s. 152-158, Yalova.

- Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Marasalı, B. ve Söylemezoğlu, G. 1998. Genel Bağcılık. Sunfidan A.S. Mesleki Kitaplar Serisi. 253 s, Ankara.
- Dalbo, M.A., Ye,G.-N., Weeden, N.F. and Reisch, B.I. 1998. QTL analysis of disease resistance in interspecific hybrid grapes. VIIème Symposium International sur la Genetique et L'Amèlioration de la Vigne. C2.13. Rèsumès (Communications Orales). 6-10 Juillet 1998, Montpellier.
- Dangl, G.S., Mendum, M.L., Prins, B.H., Walker, A.M., Meredith, C.P. and Simon C.J. 2001.Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: A tool for managing a grape germplasm collection. Genome 44; 432–438.
- Dettweiller, E., Jung, A., Zyprian, E. and Töpfer, R. 2000. Grapevine cultivar Müller-Thurgau and its true to type descent. Vitis 39(2); 63-65.
- Dilli, Y. 2005. Yöresel Germe Çeşitleriyle Pembe Germe Klonlarının Ampelografik Nitelikleri ile Verim ve Kalite Özelliklerinin Karşılaştırılması Üzerinde Bir Araştırma. Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri. Tekirdağ.
- Dilli, Y. 2008. Ege Bölgesindeki Bazı Önemli Üzüm Çeşitleri, Tipleri Ve Klonlarının Mikrosatelit (SSR) Markörleriyle Karakterizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 94s.
- Doulaty Baneh, A.H., Mohammadi, S.A., Labra, M., Nazemi, A., De Mattia, F., Mardi. M., Chloroplast microsatellites markers to assess genetic diversity in wild and cultivated grapevines of İnan 2007. Pakistan Journal of Biological Sciences 10 (11): 1855-1859.
- Ergül. A. 2000. Asmalarda (*Vitis vinifera* L. ctv.) genomik DNA parmak izi analizi ile Moleküler karakterizasyon Ankara Üniversitesi. Fen Bil. Ens, Doktora Tezi, Ankara.
- Ergül, A. Marasalı, B. and Ağaoğlu, Y.S. 2002a. Molecular discrimination and identification of some Turkish grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) by RAPD markers. Vitis 41 (3);159 -160.
- Ergül, A., Aras, S., Söylemez oğlu, G. ve Ağaoğlu, Y.S. 2002b. Kalecik karası üzüm çeşidi klonlarında AFLP (Ampified Fragment Length Polymorphism) tekniği ile polimorfizmin belirlenmesi. Türkiye V. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu. 5- 9 Ekim 2002. s.3 1–3 7. Cappadocia, Nevşehir.

- Ergül, A., Kazan, K., Aras, S., Çevik, V., Çelik, H., Söylemezoğlu, G. 2006, AFLP analysis of genetic variation within the two economically important Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) varietal groups. *Genome*, 49: 467-475.
- Fatahi, R., Ebadi, A., Bassil, N., Mehlenbacher, S.A and Zamani, Z. 2003. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 42 (4); 185–192.
- Fidan, Y., Eriş, A. ve Tamer, M. S. 1972. Güdül İlçesi Bağcılığı Gelişme İmkanları ve Önemli Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Vasıfları Üzerinde Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı, 21: 495-524, Ankara.
- Fidan, I., ve Fidan, Y. 1976. Gülnar İlçesi Bağcılığı, Yetiştirilen Bazı Sofralık, Şaraplık, Pekmezlik ve Kurutmalık Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Vasıfları Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat fakültesi Yayınları: 591. Ankara.
- Fossati, T., Labra, M., Castiglione, S., Failla, O., Scienza, A. and Sala, F. 2001. The use of AFLP and SSR molecular markers to decipher homonyms and synonyms in grapevine cultivars: the case of varietal group known as “Schiave”. *Theor. Appl. Genet.* 102; 200-205.
- Gogorcena, Y., Arulsekar, S., Dandekar, A.M. and Parfitt, D.E. 1993. Molecular markers for grape characterization. *Vitis* 32; 183-185.
- Goto-Yamamoto, N., Mouri, H., Azumi, M. and Edwards, K.J. 2006. Development of grape microsatellite markers and mikrosatellite analysis including oriental cultivars. *Am. J. Enol. Vitis.* 57 (1); 105-108.
- Guerra, B. and Meredith, C.P. 1995. Comparison of *Vitis berlandieri* x *Vitis riparia* rootstock cultivars by restriction fragment length polymorphism analysis. *Vitis* 34 (2); 109-112.
- Gürsöz, S. 1993. GAP Alanına Giren Güneydoğu Anadolu Bölgesi Bağcılığı ve Özellikle Şanlıurfa İlinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Nitelikleri ile Verim ve Kalite Unsurlarının Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (Doktora Tezi). Adana.
- Hinrichsen, P., Narvaez, C., Valenzuela, J., Munoz, C., Bowers, J. and Meredith, C.P. 1998. Fingerprinting of grape cultivars grown in Chile using a set of microsatellite loci. VIIème Symposium International sur la Genetique et L'Amèlioration de la Vigne. P1.8. Rèsumès (Posters), 6-10 Juillet 1998, Montpellier.

- Hinrichsen, P., Narváez, C., Bowers, J.E., Boursiquot, J.M., Valenzuela, J., Muñoz, C. and Meredith, C.P. 2001. Distinguishing Carmenère from similar cultivars by DNA typing. *Am. J. Enol. Vitic.* 52 (4); 396-399.
- İştar, A. 1959. Akdeniz Bölgesi ve Bilhassa İçel Bağcılığı ve bu Bölgede Yetiştirilen Başlıca Üzüm Çeşitlerinin Ampelografileri ile İçel İli Bağcılığının Geliştirilmesi İmkanları Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 149. Ankara.
- Ibañez, J. and Eeuwijk, F.A. 2003. Microsatellite profiles as a basis for intellectual property in grape. *Proc. VIIIth IC on Grape, Acta Horticulturae* 603; 41-47.
- Ibañez, J., Andrés, M.T., Molino, A. and Borrego, J. 2003. Genetic study of key Spanish grapevine varieties using microsatellite analysis. *Am. J. Enol. Vitic.* 54 (1); 22-30.
- Imazio, S., Labra, M., Grassi, F., Winfield, M., Bardini, M., Failla, O., and Scienza, A. 2002. Molecular tools for clone identification: the case of the grapevine cultivar raminer. *Plant Breed.* 121: 531-535.
- Imazio, S., Grassi, F., Scienza, A., Sala F. and Labra, M. 2003. *Vitis vinifera ssp. silvestres*: The state of health of wild Italian and Spanish populations estimated using nuclear and chloroplast SSR analysis. *ISHS Acta Horticulturae* 603: VIIIth International Conference on Grape Genetics and Breeding, April 2003, Keshkemet, Hungary. isozyme polymorphism in grape. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 113(5); 765-769.
- Kader, S. ve Öztürk, H. 2005. Razakı Üzüm Çeşidinde Klon Seleksiyonu Çalışması Sonucunda Seçilen Klonların Ampelografik Özellikleri ile Göz Verimliliklerinin Belirlenmesi. Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri. Tekirdağ.
- Kaplan, N. 1995. Diyarbakır ve Mardin İllerinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Saptanması Üzerine Bir Araştırma. II. Bahçe Bitkileri Kongresi. 529-533s. Adana.
- Kara, Z. 1990. Tokat Yöresinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi üzerinde Araştırmalar (Doktora Tezi). 318s. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Ankara.
- Karaağaç, E. 2006 Gaziantep ili asma gen potansiyelinin SSR (simple sequence repeats) markörlerle moleküler analizi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri anabilim dalı, doktora tezi.

- Karataş, H, Değirmenci, D., Velasco, R., Vezzulli, S., Bodur, Ç., ve Ağaoğlu, Y. S. 2007. Microsatellite fingerprinting of homonymous grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties in neighboring regions of South-East Turkey. *Scientia Horticulturae* 114: 164-169.
- Karataş, H, Ağaoğlu, Y. S. 2008. Genetic diversity among Turkish local grape accessions (*Vitis vinifera* L.) using RAPD markers. *Hereditas*. 145(2):58-63.
- Kısakürek, H. 1956 İzmir ve Manisa Bağlarında Yetiştirilen Önemli Üzüm Çeşitlerinde İstihsal Standardizasyonu ve Standart Çeşitlerin Ampelografik Vasıfları Üzerinde Araştırmalar, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 88, Ankara, 119, 1956.
- Kochert, G. 1994. RFLP Technology. In: Phillips, R.L. and Vasil, I. K. (eds). *DNA-Based Markers in Plants*. p. 8-38. Kluwer Academic Publishers, USA.
- Labra, M., Failla, O., Fossati, T., Castiglione, S. Scienza, A. and Sala, F. 1999. Phylogenetic analysis of grapevine cv. Ansonica growing on the island of Giglio, Italy, by AFLP and SSR markers. *Vitis* 38 (4); 161-166.
- Labra, M., Winfield, M., Ghiani, A., Grassi, F., Sala, F., Scienza, A., and Failla, O. 2001. Genetic studies on Trebbiano and morphologically related varieties by SSR and AFLP markers. *Vitis*, 40: 187–190.
- Lefort, F., Lally, M., Thompson, D. ve Douglas, G.C. 1998. Morphological traits microsatellite fingerprinting and genetic relatedness of a stand of elite oaks(*Q. Robur* L.) at Tuallynally, Ireland. *Silvae Genetica* 47, 5-6.
- Lefort, F., Pelsy, F., Schehrer, L., Scott, K.D. and Merdinoglu, D. 2003. Assessment of two highly polymorphic microsatellite loci in 103 accessions of *Vitis* species. *J. Int. Sci. Vigne*, 37 (2); 67-74.
- Lin, H. and Walker, M.A. 1998. Extracting DNA from cambium tissue for analysis of grape rootstocks. *HortScience* 32 (7); 1264-1266.
- Lodhi, M.A., Daly, M. A., Weeden, N.F. and Reisch, B.L 1995. A molecular marker based linkage map of *Vitis*. *Genome*, 38; 786-794.
- Maletic, E., Sefc, K.M., Steinkellner, H., Kontic, J.K. and Pejic, I. 1999. Genetic characterization of Croatian grapevine cultivars and detection of synonymous cultivars in neighboring regions. *Vitis* 38 (2); 79-83.

- Marasalı, B. 1986. Ankara Koşullarında Bazı Yerli Standart Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi). Ankara.
- Marasalı, B. 1995. Üzüm çeşitlerinin RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) tekniği ile moleküler tanımlanması. Workshop: "Biyoteknoloji ve Bitki Islahı" 17-19 Nisan 1995. *Bildiriler* s: 163-168, Can Ofset, Bornova, İzmir.
- Martin, J.P., Borrego, J., Cabello, F. and Ortiz, J.M. 2003. Characterization of the Spanish diversity grapevine cultivars using sequence-tagged microsatellite site markers. *Genome* 46; 1-9.
- Martinez, L. E., Cavagnaro, P. F., Masuelli, R. W. and Zuniga, M., 2006. SSR-based assessment of genetic diversity in South American *Vitis vinifera* varieties. *Plant science* 170 (2006); 1036-1044.
- Martinez-Zapater, J.M., Cabezas, J.A. and Cervera, M.T. 1998. AFLPs in genetic identification and genome analysis of grapevine. VIIème Symposium International sur la Genetique et L'Amélioration de la Vigne. C2.3. Rèsumès (Communications Orales). 6-10 Juillet 1998, Montpellier.
- Mauro, M.-C., Strefeler, M., Weeden, N.F. and Reisch, B.I. 1992. Genetic analysis of Restriction Fragment Length Polymorphism. *J. of Heredity* 83; 18-21.
- Merdinoğlu, D., Butterlin, G., Baur, C., Balthazard, J., Bouquet, A. and Boursiquot, J.M. 2000. Comparison of RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for genetic diversity analysis in *Vitis vinifera* L.. *Acta Horticulturae*, 528; 193-197.
- Meredith, C.P. 1992. DNA fingerprinting: What is the true identity of your grapes?. *Grapes Growing*. November- December p. 27-31.
- 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, Stanford University.
- Montaner, C., Martin, J. P., Casanova, J., Marti, C., Badia, D., Cabello, F. and Ortiz, J. M. 2004. Application of microsatellite markers for the characterization of Parraleta: an autochthonous Spanish grapevine cultivar. *Scientia Horticulturae*, 101; 343-347
- Mullis, K.B., Faloona, F., Scharf, S. J., Saiki, R.K., Horn, G.T. and Erlick, H.A. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51; 263-273.

- Najafi, J., Alipanah, L., Ghareyazie, B., Mohammadi, S.A., Hagh nazari, A. and This, P. 2006. Genetic diversity of Iranian and some of European grapes revealed by microsatellite markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, 4(1), 423-429.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolution genetics*, 106-107. Columbia University Pres, New York.
- Oraman, M. N. 1941. Çavuş Üzümünün Vatanı, Ampelografisi ve Biyolojisi Üzerinde Bir Araştırma. *Yük. Ziraat Enstitüsü Çalışmalarından Sayı: 114*. Ankara.
- Oraman, M. N. ve Ağaoğlu, Y. S. 1969. Türkiye Bağcılığının Bugünkü Durumu, Geliştirme İmkanları ve Memleketimizde Mevcut Başlıca Sofralık, Kurutmalık ve Şaraplık Üzüm Çeşitleri Üzerine Bir Araştırma. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Yayın No: 348. Bilimsel Araştırma ve İncelemeler: 221*. Ankara.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. ve Strobeck, C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.* 4, 347-354.
- Parfitt, D.E. and Arulsekhar, S. 1989. Inheritance and isoenzyme diversity for GPI and PGM among grape cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114 (3); 486-491.
- Pauquet, J., Adam-Blondon, A.F., Rousseau, S., Peros, J.P. and Bouquet, A. 1998. Tagging a *Muscadinia rotundifolia*-originated powdery mildew resistance gene in *Vitis vinifera*. VIIème Symposium International sur la Genetique et L'Amélioration de la Vigne. P2.10(a). Résumés (Posters), 6-10 Juillet 1998, Montpellier.
- Pinto-Carnide, O., Martin, J.P., Leal, F., Castro, I., Guedes-Pinto, H. and Ortiz, J.M. 2003. Characterization of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars from northern Portugal using RAPD and mikrosatellite markers. *Vitis* 42 (1); 23-25.
- Reale, S., Pilla, F. and Angiolillo, A. 2002. Molecular characterization of an autochthonous grape cultivar of Central Italy. *Proceedings of the XLVI Italian Society of Agricultural Genetics-SIGA Annual Congress Giardini Naxos, Italy, 18-21 September*.
- Regner, F., Wiedeck, E. and Staldbauer, A. 2000a. Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers. *Vitis* 39 (3); 103-107.
- Regner, F., Staldbauer, A., Eisenheld, C. and Kaserer, H. 2000b. Consideration about the evolution of grapevine and the role of Traminer. *Proc. VIIth Int. Symp. On Grapevine Genetics and Breeding. Acta Hort.* 528; 177-179.

- Regner, F., Staldbauer, A. and Eisenheld, C. 2001. Molecular markers for genotyping grapevine and for identifying clones of traditional varieties. Proc. Int. Symp. On Molecular Markers. Acta Hort. 546; 331-342.
- Riaz, S., Garrison, K.E., Dangl, G.S. and Meredith, C.P. 2001. Mikrosatellite markers for the differentiation of clones of ancient grape cultivars. Plant & Animal Genomes IX Conference. Town & Country Hotel. San Diego, CA.
- Rothwell, N.V. 1988. Understanding Genetics. Fourth Edition, Oxford University Press, 70p. UK.
- Sánchez-Escribano, E.M., Martín, J.P., Carreño, J. and Cenis, J.L. 1999. Use of sequence-tagged microsatellite site markers for characterizing table grape cultivars. Genome 42; 87-93.
- Santana, J. C., Hidalgo, E. De Lucas, A. I., Recio, P., Ortiz, J. M., Martín, J. P., Yuste, J., Arranz, C. and Rubio, J. A. 2007 Identification and relationships of accessions grown in the grapevine (*Vitis vinifera* L.) Germplasm Bank of Castilla y León (Spain) and the varieties authorized in the VQPRD areas of the region by SSR-marker analysis Genet Resour Crop Evol (2008) 55:573–583.
- Schlötterer, C. and Tautz, D. 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA. Nucl. Acids. Res. 20; 211-215.
- Schneider, A., Carra, A., Akkac, A., This, P., Laucau, V. and Botta, R. 2001. Verifying synonymies between grape cultivars from France and Northwestern Italy using molecular markers. Vitis 40 (4); 197-203.
- Schneider, A., Carra, A., Boccacci, P., Akkac, A. and Botta, R. 2003. Amplographic surveys and analysis using molecular markers for verification of synonym of minor grapes. Source Vignevini. Gruppo Calderini Edagricole Srl, Bologna, Italy. 30 (1/2); 103-111.
- Scott, K.D., Lee, L.S., Dow, T. and Hery, R.J. 1998. Isolation and characterization of new grape microsatellites. VIIème Symposium International sur la Genetique et L'Amélioration de la Vigne P2.12. Résumés (Posters), 6-10 Juillet 1998, Montpellier.
- Sefc, K.M., Steinkellner, H., Wagner, H.W., Glössl, J. and Regner, F. 1997. Application of microsatellite markers to parentage studies in grapevine. Vitis 36 (4); 179-183.

- Sefc, K.M., Regner, F., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998a. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 37 (1); 15-20.
- Sefc, K.M., Guggenberger, S., Regner, F., Lexer, C., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998b. Genetic analysis of grape berries and raisins using microsatellite markers. *Vitis* 37 (3); 123-125.
- Sefc, K.M., Regner, F., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998c. Monitoring der genetischen Variabilität und Pedigreestudien bei Weinreben, Bericht über die 49. Arbeitstagung der Vereinigung Österreichischer Pflanzenzüchter, pp 71-73.
- Sensi, E., Vignani, R., Rodhe, W. and Biricolti, S. 1996. Characterization of genetic biodiversity with *Vitis vinifera* L, Sangiovese and Colorino genotypes by AFLP and ISTR DNA marker technology. *Vitis* 35 (4); 183-188.
- Söylemezoğlu, G. 2001. Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Sofralık ve Şaraplık Üzüm Çeşitlerinin İzoenzimlerden Yararlanılarak Teşhisleri. *Gıda Dergisi*. Sayı 2001/6, 451-459. Ankara.
- Söylemezoğlu, G. Ağaoğlu, Y.S. and Uzun, H.İ. 2001. Ampelographic Characteristics and Isozymic Analysis of *Vitis vinifera* spp. sylvestris. in Southwestern Turkey. *Biotechnology & Technological Equipment*. 15/2001/2.106-113. Diagnosis Press. ISSN 1310-2818.
- Söylemezoğlu, G., Çelik, H., Boz, Y., Özer, C., Türkoğlu, M. ve Ergül, A. 2005. Amerikan Asma anaçlarında Genetik Benzerliklerin AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Tekniği ile Moleküler Düzeyde Belirlenmesi. *Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu*. 19-23. Eylül 2005. Tekirdağ.
- Söylemezoğlu, G., Boz, Y., Özer, C., Çelik, H., Türkoğlu, M. ve Ergül, A. 2005. İskenderiye Misketi Üzüm Çeşidinin Ülkemiz Misket Grubu Çeşitleri ile AFLP'ye Dayalı Genetik Benzerlikleri Üzerinde Bir Araştırma. *Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu*. 19-23. Eylül 2005. Tekirdağ.
- Staub, J.E., Serquen, F.C. and Gupta, M. 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hortscience* Vol: 31(5): 729-74 1.
- Striem, M. J., Spiegel-Roy, P., Ben-Hayyim, G., Beckmann, J. and Gidoni, D. 1990. Genomic DNA fingerprinting of *Vitis vinifera* by use of multi-loci probes¹. *Vitis* 29; 223-227.

- Şelli, F., Bakır, M., İnan, G., Aygün, H., Boz, Y., Yaşasın, A.S., Özer, C., Akman, B., Söylemezoğlu, G., Kazan, K. ve Ergül, A. 2007 Simple sequence repeat-based assessment of genetic diversity in Dimrit and Gemre grapevine accessions from Turkey, *Vitis* 46 (4), 182-187.
- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Constantini, L., Crespan, M., Dangl, G.S., Eisenheld, C., Ferreria-Montteiro, F., Grando, S., Ibáñez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhães, R., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L. and Maul, E. 2004. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 109; 1448-1458.
- Thomas, M.R. and Scott, N.S. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). *Theor. Appl.*
- Thomas, M.R., Cain, P. and Scott, N.S. 1994. DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Mol. Biol.* 25; 939-949.
- Türkkan, S. ve Ağaoğlu, Y. S., 1999. İncesu (Kayseri) Bağcılığının Bugünkü Durumu ve Yörede Yetişen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Ankara Üniversitesi Basımevi. 1018-1022s. Ankara.
- Ulavonsky, S., Gogorcena, Y., Martinez de Toda and Ortiz, J. M. 2002. Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae* 92; 241-254.
- Upadhyay, U., Mamtha D. S., Reddy S., Deokar, K. and Karibasappa, G.S. 2007 AFLP and SSR marker analysis of grape rootstock in Indian germplasm, National Reasearch Centre for Grapes, Manjari Farm, Pune, India.
- Vignani, R., Bowers, J.E. and Meredith, C.P. 1996. Mikrosatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinifera* "Sangiovese". *Scientia Horticulturae* 65; 163-169.
- Vignani, R., Scali, M., Masi, E. and Cresti, M. 2002. Genomic variability in *Vitis vinifera* L. "Sangiovese" assessed by microsatellite and non-radioactive AFLP.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., and Zabeau, M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23; 4407-4414.

- Vouillamoz, J.F., McGovern, P.E., Ergül, A., Söylemezoğlu, G., Tevzadze, G., Meredith, C.P. and Grando, M.S. 2006. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genetic Resources* 4(2); 144–158.
- Wagner, H. W. and Sefc, K. M. 1999. *Identity 1.0*. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Science, Vienna.
- Walker, M.A. and Boursiquot, J.-M. . 1992. Ampelographic and isozyme data correcting the misnaming of the grape rootstock S04 at the University of California, Davis. *Am. J. Enol. Vitic.* 43; 261-265.
- Weeden, N.F., Reisch, B.L and Martens, M.E. 1988. Genetic analysis of isozyme polymorphism in grape. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 113(5); 765-769.
- Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acids Res.* 18 (24); 7213- 7218.
- Williams, J.G.K., Rubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research*, 18(22); 6531-6535.
- Wolfe, W.H. 1976. Identification of grape varieties by isozyme banding patterns. *Amer. J. Enol. Vitic.* 43; 261-265.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mina SHİDFAR
Doğum Yeri : İRAN- Urumiye
Doğum Tarihi : 24.05. 1981
Medeni Hali :Bekâr
Yabancı Dili :İngilizce, Arapca, Türkiye Türkçesi

Eğitim Durumu

Lise : Resalat lisesi-Urumiyeh
Lisans : Urumiye üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü (2000-2004)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (Şubat 2006-Ağustos 2008)

Yayımları

1. Sheedfar,F., M.Shidfar, M.Kamrani & M.Maham (2007)” Experimental Consolida Orientalis poisoning in mice”. 6th IC-TST (International Congress of Turkish Society of Toxicology) Antalya, Turkey.