

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HACİHALİLOĞLU KAYISI ÇEŞİDİ GENOMUNUN *DE
NOVO* DİZİLENMESİ VE ANOTASYONU**

**Hazırlayan
Saffet TEBER**

**Danışman
Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Haziran 2019
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HACİHALİLOĞLU KAYISI ÇEŞİDİ GENOMUNUN *DE*
NO DİZİLENMESİ VE ANOTASYONU
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan
Saffet TEBER**

**Danışman
Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN**

**Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
(TUBİTAK) tarafından 214 0 400 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Haziran 2019
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Saffet TEBER



“Hacıhaliloğlu kayısı çeşidi genomunun *de novo* dizilenmesi ve anotasyonu” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Saffet TEBER



Danışman

Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN



Tarımsal Biyoteknoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Mehmet ARSLAN



Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN danışmanlığında Saffet TEBER tarafından hazırlanan “Hacihaliloğlu kayısı çeşidi genomunun *de novo* dizilenmesi ve anotasyonu” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Tarımsal Biyoteknoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

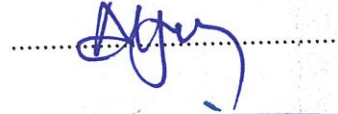
02 / 07 / 2019

JÜRİ:

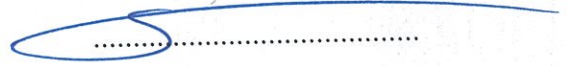
Danışman : Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN



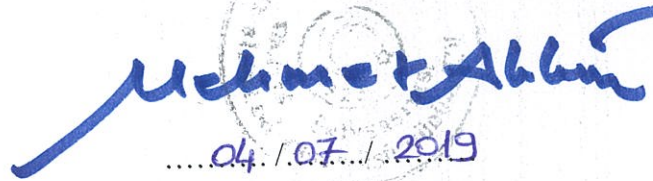
Üye : Prof. Dr. Aydın UZUN



Üye : Prof. Dr. Salih KAFKAS

**ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ^{19/38-04}04/07/2019 tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.



04 / 07 / 2019

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu yüksek lisans tezi Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Tez çalışması 30 ay süreyle, 01/04/2016 ve 01/04/2018 tarihleri arasında TÜBİTAK- 214O400 kodlu, Uluslararası AZERBAIJAN-ANAS projesinin bir parçası olarak yürütülmüştür. TÜBİTAK Tarım Orman ve Veteriner Araştırma Grubu'na ve Erciyes Üniversite'sine desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince bana her türlü yardımı sağlayan ve emeğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Kahraman Gürcan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Saffet TEBER

Haziran 2019, KAYSERİ

HACİHALİLOĞLU KAYISI ÇEŞİDİ GENOMUNUN *DE NOVO* DİZİLENMESİ VE ANOTASYONU

Saffet TEBER

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Haziran 2019
Danışman: Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN

ÖZET

Kayısı (*Prunus armeniaca*) zengin besin içeriği ve sevilen aroması ile insan diyetinin önemli gıdalarından biridir. Özellikle Türkiye için sosyal ve ekonomik olarak önemli olan tarımsal ürünlerden biridir. Son 20 yılda meyve ve orman ağaçları gibi birçok odunsu bitki dâhil, bitkisel ve hayvansal organizmanın genomu dizilenmiştir. Bu çalışmada Türkiye'nin en önemli kayısı çeşidi olan Hacihaliloğlu'nun genom analizleri yapılmıştır. Illumina dizileme teknolojileri ile Çift-Uç okumaları gerçekleştirmiştir. K-mer analizi yapılmış kayısı genomunun yaklaşık 270 milyon nükleotid uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Çift-Uç okumalarından Hacihaliloğlu çeşidinde kayısı genom büyüklüğünün 472 katı (472X) okuma gerçekleştirilmiştir. Ayrıca 4 ve 10 kilobaz (kb) uzunluğunda kütüphaneler kurularak Eş-Çift okumaları ve PacBio dizileme gerçekleştirilmiştir. Hacihaliloğlu 4 ve 10 kb uç okumalarından toplamda 382X okuma gerçekleştirilmiştir. PacBio sistemi ile yine Hacihaliloğlu kayısı çeşidi için 100X okuma gerçekleştirilerek toplam okuma kapsamı 954X olmuştur. Okumalar birleştirilerek önce kontigler daha sonra skafoldlar oluşturulmuş, kayısı genom büyüklüğüne denk gelen toplamda 270 milyon uzunlukta 4516 skafold elde edilmiştir. Elde edilen okumalar düzenlenip, GenBank'a kaydedildikten sonra kayısı çalışmalarında birçok özelliğin çalışılmasında kaynak olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kayısı, Tüm genom analizi, Plum Pox Virus, Şarka

**WHOLE GENOME *DE NOVO* SEQUENCING AND ANNOTATION OF
APRICOT VARIETY HACİHALİLOĞLU**

Saffet TEBER

**Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
Master Thesis, June 2019
Supervisor: Assoc. Prof. Kahraman GÜRCAN**

ABSTRACT

Apricot (*Prunus armeniaca*) with rich nutrient content and beloved aroma is an important food of human diet. Apricot is economically and socially important fruit in Turkey. In the last 20 years, genome analyses have been conducted for many animal organisms and plants including fruit and forest trees. In this study, Genome analyses of apricot cultivar Hacıhaliloğlu, was performed. Illumina Pair-End reads were produced for “Hacıhaliloğlu variety”. K-Mer analysis revealed that apricot genome was approximately 270 million nucleotides in length. Pair-End sequencing produced 472X reads of estimated genomes size of Hacıhaliloğlu variety. 4 and 10 kb Mate-Pair libraries construction and sequencing were performed for Hacıhaliloğlu and 382X reads were produced. Additionally, PacBio system was applied to obtain long reads for Hacıhaliloğlu and 100X reads were obtained. With addition of the Mate-Pair and PacBio reads, the total reads became 954X for Hacıhaliloğlu. Reads were assembled into contigs and subsequently into scaffolds, which resulted in obtaining high quality 4516 scaffolds in total length of estimated genome size of apricot, 270 million. After having deposited the reads into GenBank, the data will be useful to study economically important traits in apricot.

Keywords: Apricot, Whole genome sequencing, Plum Pox Virus, Sharka

İÇİNDEKİLER

HACİHALİLOĞLU KAYISI ÇEŞİDİ GENOMUNUN *DE NOVO* DİZİLENMESİ VE ANOTASYONU

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	ii
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1 Kaysının sistematığı ve ekonomik önemi.....	2
1.2 Kayısı ıslahı ve moleküler çalışmaları	3
1.3 Genom dizileme çalışmaları.....	7
1.4. Literatür Özeti.....	7
1.4.1. Meyve türlerinde genom dizileme çalışmaları	7
1.4.2. Orman ağaçlarında genom dizileme çalışmaları	12
1.4.3. Yağlık ağaçlarda genom dizileme çalışmaları.....	14
1.4.4. Diğer odunsu türlerde genom dizileme çalışmaları	16

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Materyal	18
2.2. Yöntem	18
2.2.1. DNA izolasyonu.....	18
2.2.2. DNA dizileme çalışmaları.....	19
2.2.2.1. Illimuna Çift-Uç (Pair-End) okumaları	19
2.2.2.2. Illimuna Eş-Çift (Mate-Pair) okumaları.....	20
2.2.2.3 PacBio (Tek Molekül, Gerçek Zaman) ile DNA dizileme.....	22
2.2.3 Biyoinformatik analizleri	23
2.2.3.1 Genom analizleri	23
2.2.3.2 Genom veri birleştirme.....	24
2.2.3.3 Genom anotasyonu.....	24

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. DNA dizi okumaları	25
3.1.1 Illimuna Çift-Uç (Pair-End) okuma sonuçları	25
3.1.2. Illimuna Eş-Çift (Mate-Pair) okuma sonuçları.....	26
3.1.3. İllimuna sonuçlarına göre K-mer analizi sonuçları.....	28
3.1.4. İlimuna okumalarından kontig oluşturma	29
3.1.5 İlimuna okumalarından Skafold oluşturma.....	31
3.1.6. PacBio (Tek Molekül, Gerçek Zaman) okuma sonuçları.....	33
3.2. Final genom birleştirme	34
3.3. Genom anotasyonu	37

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1.Tartışma	38
4.2.Sonuç ve Öneriler.....	42
KAYNAKÇA.....	43
EKLER.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	67



KISALTMALAR

bp	Baz Çifti
DNA	Deoksiribonükleik asit
Mb	Megabaz
nt	Nükleotit
Gb	Gigabaz
RNA	Ribonükleik asit
QTL	Kantitatif özellik lokusu
µL	Mikro litre
X	Okuma derinliği
LTR-TR	Uzun terminal tekrarlı retrotranspozon
°C	Sıcaklık birimi
ng	Nanogram
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PPV	Plum Pox Virus
LG	Bağlantı grubu
SSR	Basit dizi tekrarı
SSLP	Tek bir dizi uzunluk polimorfizmi
HRM	Yüksek çözünürlüklü erime
SNP	Tek nükleotit polimorfizmi
TE	Transposable element
WGD	Tüm genom duplikasyonu
ml	Mililitre
EtOH	Etanol
N	Normalite
NaOH	Sodyum hidroksit
nM	Nanomol
mRNA	Mesajcı RNA
ACO	Akonitat hidrataz

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Ekonomik olarak önemli Prunus cinsi meyve türlerinde ülkelerin üretim değerleri.....	3
Tablo 2. Hacıhaliloğlu çeşidinde Çift-Uç kütüphane kurularak elde edilen nükleotid dizi değerleri.....	25
Tablo 3. Hacıhaliloğlu çeşidinde Çift-Uç kütüphane kurularak elde edilen verilerin okuma değerleri.....	26
Tablo 4. Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinde eş-çift kütüphane kurularak elde edilen nükleotid dizi değerleri.....	26
Tablo 5. Okumaların kalite kontrol değerleri.....	28
Tablo 6. K-Mer analiz değerleri.....	29
Tablo 7. Elde edilen kontiglerin sayı ve uzunlukları.....	29
Tablo 8. Kontiglerin N10-N100 arasında uzunluk dağılımları.....	30
Tablo 9. Kontiglerin nükleotid içeriği ve GC oranı.....	31
Tablo 10. Skafold sonuçları.....	31
Tablo 11. Skafoldların N10-N100 arasında uzunluk dağılımları.....	32
Tablo 12. Skafoldların nükleotid içeriği ve GC oranı.....	32
Tablo 13. Final genom birleştirme analiz sonucu.....	35

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Hacihaliloğlu kayısı çeşidinde 4 kb ve 10 kb Eş-Çift kütüphaneleri kurularak elde edilen nükleotid dizi istatistik grafikleri A) Giga baz olarak toplam okuma uzunluğu; B) Toplam okuma sayısı. Okuma sayısı milyon değerinde verilmiştir. D) GC/TA oran grafiği. GC oranı mavi, TA oranı turuncu ile gösterilmiştir; D) Yüzde Q20 ve Q30 oranları.....	27
Şekil 2. K-Mer analiz dağılımı.....	28
Şekil 3. Kontiglerin uzunluk dağılımı ve Kontiglerde GC oran histogramı	30
Şekil 4. Skafold uzunluk dağılımı (sol) ve Skafold GC içerik histogramı	32
Şekil 5. Boşluk büyüklük dağılımı.....	33
Şekil 6. PacBio okuma uzunluk dağılımı.....	34
Şekil 7. PacBio tahmini insert uzunluk dağılımı.....	34
Şekil 8. Kumülatif uzunluk grafiği. Grafikte genom birleştirme analizine PacBio okumaları eklendikten sonra toplam uzunluğun 270 milyon civarına ulaştığı kontig sayısının azaldığı görülmektedir.	36
Şekil 9. Hacihaliloğlu Pair-End (sol) ve Mate-Pair (sağ) genom birleştirme analizinde GC içeriği.....	36
Şekil 10. Final genom birleştirme analizinde GC içeriği.....	37
Şekil 11. Blast analizleri sonucunda fonksiyonu belirlenen genlerin oranı.....	37

GİRİŞ

Kayısı (*Prunus armeniaca*), Türkiye'nin ekonomik ve sosyal olarak en önemli meyve türlerinden birisidir. Dünya kurutmalık kayısının %70'i Türkiye'den ihraç edilmekte olup, bu ticarettten yıllık yaklaşık 350 milyon dolar döviz girdisi sağlanmaktadır. Sadece Malatya ilinde 50 bine yakın aile kayısı tarımından gelir elde etmektedir.

2000 yılından sonra ekonomik olarak önemli olan birçok otsu ve odunsu bitkinin genomu dizilenmiştir. *Rosaceae* ailesi meyve türlerinin birçoğunu içermektedir, bu nedenle bu ailenin türleri dizileme çalışmalarının konusu olmuştur. Genom dizileme biyoloji ve tarım bilimlerinde bilgi artışında sıçrama yaratmıştır. Çok sayıda moleküler markörlerin keşfine imkân sağlayarak ıslah çalışmalarına ivme kazandırmıştır.

Kayısı, *Prunus* cinsi ve *Rosaceae* familyası için model bir organizmadır. Kayısı genomu oldukça küçüktür. Genomu 250-280 milyon baz çiftinden oluşur. Bu rakam *Arabidopsis thaliana*'nın iki katı, şeftali genomu ile aynı, elma genomunun (700 Mp) neredeyse yarısı, zeytin genomunun (1.8 Gb) 7'de 1'i, Arpa genomunun (5.1 Gb) 20'de 1'i civarındadır. Bu çalışmada Türkiye'nin ekonomik olarak en önemli çeşidi olan Hacihaliloğlu'nun DNA'sı dizilerek gen anotasyonları gerçekleştirilmiştir. Kayısı genom dizilemesi, *Prunus* ailesine özgü, Poliol Biyosentezi, Fenilpropanoid Metabolizması ve Şarka Dayanıklılığı Moleküler Mekanizması gibi moleküler yolların aydınlatılmasında ve kayısı ıslah konularında moleküler markör keşfine imkânlar sunacaktır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1 Kayısının sistematığı ve ekonomik önemi

Rosaceae, 100 alt cinsi ve 3000 türü ile ılıman iklim kuşağının ekonomik olarak en önemli üçüncü ailesidir, çok geniş genetik ve morfolojik zenginlik gösteren türlerden oluşur, meyveleri oldukça zengin varyasyon gösterir ve genelde genomları diploittir. Meyve karakteristikleri göz önünde tutulduğunda dört alt aileye ayrılır: *Rosoideae* (*Rosa*, *Fragaria*, *Potentilla* ve *Rubus*; $x=7$, 8 veya 9), *Prunoideae* (*Prunus*; $x=8$), *Spiraeoideae* (*Spiraea*; $x=9$) ve *Maloideae* (*Malus*, *Pyrus* ve *Cotoneaster*; $x=17$) (Potter vd. 2002).

Prunus ailesinde temel kromozom sayısı $x=8$ 'dir. Badem [*P. dulcis* D.A. Webb (önceki ismi: *P. amygdalus* Batsch)], şeftali [*P. persica* (L.) Batsch], kayısı (*P. armeniaca* L.), ve kiraz (*P. avium* L.) diploittir ve $2n = 2x = 16$ 'dır. Vişne (*P. cerasus* L.), *P. spinosa* L. ve *P. fruticosa* Pall. ise heksaploid olup $2n = 4x = 32$ 'dir. *Prunus* cinsinde 230 tür bulunur. Bu türlerin büyük bir çoğunluğu ılıman iklim kuşağına adapte olmuş ise de 35 türü eski dünya tropik kuşağına ve 25 türü ise yeni dünya tropik kuşağına endemiktir. *Prunus* cinsinde yer alan kayısı bu aile içinde ekonomik olarak önemli ağaç türlerinden biridir.

Türkiye, kayısı üretiminde dünya lideridir (Tablo 1.). Dünya kayısı üretimi 3 milyon tonu geçmiş olup, Türkiye 123.800 hektar alanda ürettiği 985.000 ton kayısı ile Dünya üretiminin % 18.8'ini karşılamaktadır (FAO, 2017). Türkiye'nin kayısı ihracat değerleri son yıllarda artarak 350 milyon dolar seviyesine ulaşmıştır (FAO, 2017).

Tablo 1. Ekonomik olarak önemli Prunus cinsi meyve türlerinde ülkelerin üretim değerleri (FAO, 2017)

Kayısı		Kiraz - Vişne		Badem		Şeftali - Nektarin		Erik	
Ülkeler	Üretim (ton)	Ülkeler	Üretim (ton)	Ülkeler	Üretim (ton)	Ülkeler	Üretim (ton)	Ülkeler	Üretim (ton)
Türkiye	985000	Rusya	204928	USA	1029655	Çin	14268339	Çin	6791974
Özbekis.	532565	Türkiye	181874	İspanya	255503	İspanya	1799685	Romanya	434390
İtalya	266372	Ukrayna	172270	Fas	116923	İtalya	1250721	USA	423200
Cezayir	256890	USA	115946	İran	111845	Yunanistan	938000	Sırbistan	330582
İran	239712	İran	104766	Türkiye	90000	USA	775189	İran	298893
Pakistan	178957	Sırbistan	91659	İtalya	79599	Türkiye	771459	Türkiye	291934
İspanya	162872	Macaristan	75469	Avustralya	75373	İran	422365	Şili	290175
Fransa	148500	Polonya	71598	Suriye	71813	Mısır	360723	Hindistan	269467
Afganistan	131816	Özbekistan	57069	Tunus	67000	Şili	332824	İtalya	206966
Fas	112538	Azerbaycan	36089	Cezayir	61943	Kore	295281	Fransa	205031

1.2 Kayısı ıslahı ve moleküler çalışmaları

Genetik kaynaklar ve ıslah açısından bakıldığında kayısıda en önemli sorunlar, düşük meyve verimliliği, ilkbahar geç donları, hastalık ve zararlılardır. 2-3 yılda bir görülen ilkbahar geç donları kayısı üretimini oldukça düşürmektedir. Aşağıda detaylı tartışıldığı üzere *Plum pox virüs* (PPV)'ü, Bulgarca köken alan ismi ile Şarka hastalığı, kayısının önemli sorunlarından biridir. Türkiye kayısılarının en önemli hastalıklarından diğeri *Monillia laxa*, en önemli zararlı ise *Capnodis tenebrionis* olduğu vurgulanmaktadır. Doksanlı yıllarda Monilya'ya dayanıklılık çalışmaları yapılmış ve sonuçları yayınlanmıştır (Gülcan vd. 1994; Mısırlı vd. 1995; Gülcan vd. 2002).

Erkencilik, verim ve meyve kalitesi açısından bazı ıslah çalışmaları da Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu'nda devam etmektedir. 1989'da başlatılan çalışmalarda yabancı çeşitlerle yerli çeşitler melezlenip meyve iriliği, meyve eti sertliği ve verim vb. bazı özellikler bakımından ıslah çalışmaları yürütülmüştür (Yıldız, 1995; Yıldız ve Kaşka, 1995). Ünal vd. (1999) soğuğa dayanıklı, geç çiçek açan kayısı çeşitlerinin melezleme ıslahı ile ilgili araştırmalar yapmıştır. Dumanoglu vd. (2019) Nevşehir zerdali (*Prunus armeniaca* L.) gen kaynaklarının soğuklara dayanıklılığını çalışmış, birçok genotipin yaygın kayısı çeşitlerinden soğuklara daha dayanıklı olduğunu rapor etmiştir.

Diğer önemli bir ıslah çalışma alanı ise kendine uyumsuzluk olup yapılan araştırmalarla kendine uyuşur ve uyumsuz çeşitler belirlenmiştir. Kurutmalık olanlar da dâhil olmak üzere birçok çeşidin kendisiyle uyumsuz olduğu saptanmıştır (Gülcan vd. 1994; Paydaş vd. 2006; Halasz vd. 2010; Yılmaz vd. 2010).

PPV sert çekirdekli meyvelerin en önemli viral hastalığıdır. Son çalışmalar Avrupa sert çekirdekli yetiştiriciliğini 80'li yıllarda yok eden iki PPV ırkının (D ve M) çıkış noktasının/genetik çeşitlilik merkezinin Türkiye olduğunu işaret etmektedir (Gürcan ve Ceylan, 2016ab; Gürcan vd., 2019). Ayrıca PPV'nin iki isolat grubu (PPV-T ve PPV-MIs) sadece Türkiye'de bulunmuştur (Ulubaş Serçe vd., 2009; Teber ve Gürcan, 2016; Teber vd., 2019). Diğer bitki virüs hastalıklarında olduğu gibi, PPV hastalığına karşı en etkili mücadele yöntemi dayanıklı çeşitler kullanmaktır. Kayısıda 10'a yakın Kuzey Amerika kayısı çeşidi dayanıklılık göstermekte olup bunlardan birkaç tanesi (Stark Early Orange, Goldrich, Harlayne, Stella) çalışmalarda sıklıkla dayanıklılık kaynağı olarak kullanılmaktadır (Kegler vd. 1998). Bu dayanıklı çeşitlerin Asya kökenli olduğu ve 19. yy başında Asya'dan Kuzey Amerika'ya götürüldüğü düşünülmektedir. ABD ve Avrupa'da ıslah çalışmaları 1950'lerden beri süre gelmektedir. 1998 yılında Kegler vd. 50 yıllık süre içerisinde *Prunus* familyasında yapılan Şarka'ya dayanıklılık ile ilgili 280 çalışmayı derleme olarak sunmuştur. Martinez-Gomez vd. (2000) kayısıda yapılan dayanıklılık çalışmalarını özetleyerek kayısıda tip ve çeşitlerin Şarka'ya dayanıklılık durumlarını listelemişlerdir. İspanya (Egea vd. 1999; Badanes ve Llacer, 2006), Yunanistan (Karayiannis vd. 1999, 2006, 2008), Fransa (Audergon vd. 1994), İtalya (Bassi vd. 1995) ve Çek Cumhuriyeti (Polak, 1994) kayısı Şarka ıslah çalışmalarının yürütüldüğü başlıca ülkelerdir. Şarka'ya dayanıklı 'Lito' ve 'Pandora' (Syrgiannidis ve Mainou, 1991), 'Leronda' (Polak vd. 1997) çeşidi geliştirilmiştir. ABD'de son otuz yılda gerçekleştirilen ıslah çalışmaları sonucunda 50 yeni çeşit piyasaya sürülmüştür. Bu çeşitler geliştirilirken PPV dayanımı göz önünde bulundurulmamıştır. Fakat hali hazırda PPV Amerika'da eradike edilmiş olmasına rağmen Amerika kayısı ıslahında bundan sonraki birincil hedefin, geliştirilen yeni çeşitlerin PPV'ye dayanıklı olması planlanmıştır (Ledbetter, 2010).

Türkiye'de Elibüyük ve Erdiller (1995), 7 kayısı çeşidini çalışmış ve dayanıksız olduklarını belirtmiştir. Çağlayan vd. (2004) Sakıt-2 ve 11/89 tipleri kaysı çeşidi ile 7 erik çeşidini çalışmış ve Şarka hastalığına dayanıksız olduklarını belirlemiştir.

Gürcan vd. (2015, 2019) Türkiye germplasmından bulunan 200'ün üzerinde kayısıyı çalışmış, 5 adet dayanıklı kayısı çeşidi belirlenmiş, geriye kalan çeşit ve tiplerin Şarka'ya dayanıksız olduğunu rapor etmiştir. Bu dayanıklı kayısıların 2 adeti (Kaniş ve Fracasso) Kuzey Amerika kökenli dayanıklılık karakterini göstermemektedir. Dayanıklılardan 4'ü Türkiye kayısısı olup, ikisine Erciyes etek dağlarından Lifos ve Cebir ismi verilmiştir. Diğer ikisine de Anadolu'da Asuların en büyük karumu (ticaret merkezi) olan Kaniş'e istinaden "Kaniş" ve "Karum" isimleri verilmiştir (Gürcan vd 2019). Bir başka çalışmada Şarka'ya dayanıklılık sağlamak amacıyla Asma (2010, 2011) Türkiye'nin önemli kurutmalık kayısı çeşitlerini, Kuzey Amerika'nın hastalığa dayanıklı çeşitleri ile çaprazlayarak melez bitkiler elde etmişlerdir. 225 kombinasyonda toplam 6.750 melez kayısı bitkisi arazi koşullarına aktarılmış, verim çağında bulunan yaklaşık 2.900 bitkide de fenolojik, pomolojik ve verim analizlerine devam edildiğini bildirilmiştir. Ulubaş Serçe vd. (2013) bu melez popülasyonlarının bazılarını SEO/Harlayne dayanıklılık lokusu ile bağlantılı 2 markör ile taramış ve 62 melez bitkinin SEO/Harlayne dayanıklılık lokusuyla bağlantılı markörleri taşıdığını belirlemişlerdir. Fakat fenotipik testlemeler yapılmadığı için bu melez bitkilerin dayanıklılık durumları netleştirilememiştir. Adana'da SEO/harlayne tipi dayanıklı çeşitler kullanılarak, dayanıklı çeşit geliştirmeye yönelik çalışmalar yapılmıştır (Ünek, 2015). Fenotipik testlemeler yapılmadığı için melezlerin dayanıklılık durumları net olarak belirtilmemiştir.

Kayısıda moleküler çalışmalar çoğunlukla PPV dayanıklılık genininin veya genlerini keşfetmek ve bu genlerle ilişkili markör belirleme üzerine yoğunlaşmıştır. Çeşitli kalıtım ve bağlantı analizi çalışmaları yapılmış ve kayısıda PPV dayanıklılığının tek bir genle (Rubio vd. 2007; Karayiannis vd. 2008; Llácer vd. 2008) 2 genle (Krska vd. 2002; Llácer vd. 2008) veya 3 gen ile (Llácer vd. 2008) kontrol edildiğini gösteren çalışmalar rapor edilmiştir. *Prunus davidiana*'dan gelen dayanıklılık çalışmaları hastalığın genetik kontrolünü daha karmaşık bir noktaya getirmiş, birçok dayanıklılık lokusu olduğunu göstermiştir (Marandel vd. 2009ab; Rubio vd. 2010). Dayanıklılığın genetik mekanizması ve dayanıklılığı kontrol eden lokusların sayısı tartışmalı olsa da, kayısı genomu birinci bağlantı grubunun üst kısmındaki bir major lokusun dayanıklılıkta oldukça etkili olduğunda fikir birliği söz konusudur. SEO'dan geliştirilen F1 popülasyonları üzerinde (Lambert vd. 2004, 2007) ve SEO melezi olan Lito'da

(Vilanova vd. 2003; Soriano vd. 2012) yapılan çalışmalar sonucunda Bağlantı Grubu 1 (Bağlantı Grubu-Linkage Group-LG) ve LG5'de minor QTL'ler rapor edilmiştir. LG1'deki major QTL başka çalışmalarla da kesinleştirilmiştir (Sicard vd. 2008; Lalli vd. 2008). Minor dayanıklılık lokuslarının LG3 (Lambert vd. 2007; Marandel vd. 2009a) ve LG5'de yer aldığı rapor edilmiştir (Lambert vd. 2007; Pilarova vd. 2010). Marandel vd. (2009a, 2009b) yaptıkları detaylı çalışmada QTL meta-analizi yaparak daha önceden yayınlanan 6 çalışmayı birleştirerek LG1 ve LG3 üzerinde 4 bölge tespit etmişlerdir.

PPVres ismi verilen ve LG1 üst kısmında yer alan dayanıklılık lokusunun PPV dayanıklılığının %70'ini oluşturduğu önerilmiştir (Dondini vd. 2011; Pilařová vd. 2010; Vera Ruiz vd. 2011). *PPVres* lokusu, 196 kb'lik bir bölgede bulunmakta; bu bölgede bulunan 5 bp'lik bir indelin fonksiyon kaybına ve dolayısıyla hassas çeşitlerde direnç geninin susturulmasına yol açtığı varsayılmıştır (Zuriaga vd. 2013, 2018; Decroocq vd. 2014; Mariette vd. 2016). MAS çalışmalarında kullanılmak üzere *PPVres* ile ilişkili bir dizi moleküler markör tanımlanmıştır. Öncelikle *PPVres* (PGS 1.21, 1.23 ve 1.24) ile birlikte yavru bitkilere aktarılan üç basit dizi tekrarı (SSR) markörü geliştirilmiş (Soriano vd. 2012) ve kayısı çeşit ve tiplerini taramak için kullanılmıştır (Decroocq vd. 2014, 2016; Rubio vd. 2014 Gürcan vd, 2015, 2019). Ayrıca, ana aday direnç genini içeren bölgedeki 5 bp'lik bölge için ZP002 adlı tek bir dizi uzunluk polimorfizmi (SSLP) işaretçisi geliştirilmiş ve PPV'lere bağlı iki tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır (Decroocq vd. 2014). Ek olarak, PGS 1.221, ZP002 ve PGS 1.24 marker lokusları için yüksek çözünürlüklü erime (HRM) analizleri geliştirilmiştir (Passaro vd. 2017).

Gürcan vd. (2015, 2019) yukarıda belirtilen markörlerin tamamını kullanarak Türkiye kayısılarını taramıştır. Markörler ve dayanıklılık arasındaki bağlantı ortaya konmuştur. PPV dayanıklılığı için fenotipik ve genotipik tarama arasında uyumsuzluklar olduğu rapor edilmiştir. Bu uyumsuzluk daha önceki çalışmalar ile de belirlenmiştir. Rubio vd. (2014), *PPVres* lokusu ile bağlı markörle (PGS1.21, PGS1.23 ve PGS1.24) 80 kayısı çeşit ve tipini genotiplendirmiş ve dayanıksız kültür çeşidi 'Alba' ve (1002)8-6 genotipinin, *PPVres* ilişkili markörleri gösterdiğini de bildirmiştir. Benzer şekilde, Decroocq vd. (2014), *PPVres* lokusu ile ilişkili markörlerin dayanıklı kayısı seçiminde tam olarak güvenilir olmadığını belirtmiştir.

1.3 Genom dizileme çalışmaları

Meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) (Adams vd. 2000), nematod (*C. elegans*) (*C. elegans* 1999), *Arabidopsis thaliana* (Arabidopsis Genome Initiative, 2000) ve insan (Venter vd. 2001) genomu ilk dizilenen canlılardır. 2000 yılından sonra çok sayıda canlının genomu dizilenmiştir (Chen vd. 2018). 2019 Haziran itibariyle GenBank'da Tamamlanan 16.784, Taslak halinde 190.993, Devam eden 93.075, Hedeflenen 1.082 proje. (<https://gold.jgi.doe.gov/>) Teknik yeterlilik, finansal durum ve hedefler dizilenecek bitki genomlarını belirlemede önemli noktalardır.

2000 yılında *Arabidopsis*'in genom dizi analizini rapor edilmiştir. Çiçekli bitki olan *Arabidopsis thaliana*, bitki genlerinin tanımlanması ve fonksiyonlarının belirlenmesi için önemli bir model sistemdir. Dizilenen bölgeler 125 megabazlık bir genom büyüklüğünü oluşturmuştur. *Arabidopsis*'in genomunun bir tüm genom duplikasyonu, bunu takiben gen kaybı ve geniş lokal gen duplikasyonları ile oldukça dinamik bir yapıda olduğu belirlenmiştir. *Arabidopsis* genomunun diğer dizilenen çok hücreli ökaryotlar olan *Drosophila* ve *Caenorhabditis elegans*'in fonksiyonel çeşitliliğine benzer şekilde 11,000 familyadan 25,498 protein kodlayan gen içerdiği anlaşılmıştır. *Arabidopsis*'i birçok yeni protein ailesine sahip iken aynı zamanda birkaç ortak protein ailesinden yoksun olduğu belirlenmiştir. Bu bir bitkinin ilk tam genom dizisi olmuştur (Arabidopsis Genome Initiative, 2001).

1.4. Literatür Özeti

1.4.1. Meyve türlerinde genom dizileme çalışmaları

İlk bitki genom analizi çalışmaları ile daha önce saf diploid olduğu düşünülen birçok bitki türlerinde aslında genom duplikasyon olaylarının yaygın olduğu anlaşılmıştır. Bu poliploidizasyon olayları bitki evriminde özellikle türlerin fonksiyonel kapasitesinin düzenlenmesi, adaptasyonu ve yayılması için önemli sonuçları olabilmektedir. Jaillon vd. (2007) asmanın (*Vitis vinifera*) homozigot genotipinden elde edilen yüksek kalitedeki genom sekans taslağını rapor etmiştir. Asma, Neolitik çağdan bugüne insanlığın kültürel mirasında önemli yeri olan bir bitkidir. Asma genomunun sekans taslağı, çiçekli bitkiler için dördüncü, odunsu türler için ikinci ve hem meyve olarak

hem de çiçek olarak kültüre alınan meyveler için ilktir. Asma genomu genom duplikasyonlarına maruz kalmamıştır, bu nedenle odunsu çiçekli bitkilerin atasal karakter ve genlerinin keşfine imkan sağlamaktadır. Yapılan analiz asma haploid içeriğine üç atasal genomun katkısını ortaya çıkarmıştır. Bu atasal düzenleme çoğu çift çenekli bitki için ortaktır fakat tek çenekli olan pirinç genomunda mevcut değildir. Dahası, çiçekli bitkilerin evriminde daha önce tanımlanan tüm genom duplikasyon olaylarının kronolojisi asma genomu ile açıklanabilmektedir (Jaillon vd. 2007).

Kültür elmasının (*Malus x domestica*) yüksek kaliteli genom analizi, elma genomunun yaklaşık 50 milyon yıl önce genom çapında duplikasyon geçirdiğini ve böylece dokuz atasal kromozomdan 17 kromozoma geçişine neden olduğunu göstermiştir. *Pyraea* ve *Malus* cinsinin filogenetik rekonstrüksiyonu, kültür elmasının progenitörü olarak *M. Sieversii* türü olduğunu göstermiştir. Meyve gelişimine dahil olduğu bildirilen gen ailelerindeki artış, *Pyraea*'a spesifik çanak yaprağın ve çiçek tablasının bazal kısmının gelişmesiyle oluşan yalancı meyve tipinin oluşmasına neden olduğu anlaşılmıştır (Velasco vd. 2010).

Tropikal ve subtropikal bölgelerde yetiştirilen, kültürü yapılan papaya meyve türü, besinsel faydaları ve tıbbi uygulamaları ile bilinir. Ming vd. (2008) virüse dirençli transgenik ilk ticari meyve ağacı olan 'SunUp' papaya çeşidinin taslak genom dizilemiştir. Papaya genomu *Arabidopsis* genomunun üç katıdır, ancak hastalık direnç gen analogları dâhil daha az sayıda gen içerir. Dizilenmiş beş genomun karşılaştırması papayada 13.311 adet genin olduğunu göstermiştir. Tipik olmayan bir genoma sahip papaya da genom duplikasyonlarının olmayışı, az sayıda gen kapasitesine neden olarak önerilmiştir. Bununla birlikte, ağaç evrimi, nişasta rezervlerinin biriktirilmesi, tropik iklim koşullarına adaptasyon ile ilişkili olduğu tahmin edilen genlerde ise çarpıcı amplifikasyonlar görülmüştür. Papaya, meyve ağacı fonksiyonel genomik çalışmaları için sayısız avantajlar sunar ve bu taslak genom dizisi, *Carica* türlerinin ayırt edici morfo-fizyolojik, tıbbi ve beslenme özelliklerinin temelini ortaya koyması için temel sağlama niteliğindedir (Ming vd. 2008).

Süs bitkisi ve meyve olarak 3,000 yıl önce Çin'de evcilleştirilen *Prunus mume* (mei), *Rosaceae*'nin *Prunus* alt familyası içinde genomu dizilenen ilk türlerden biridir (Zang vd. 2012). Genom büyüklüğünün 178 katı okuma verileri birleştirilerek 280 milyon

nükleotide sahip genom bir araya getirilmiştir. Skafoldların %83,9'u 8 kromozoma eklenmiştir. *P. mume* genomunu mevcut verilerle birleştirerek, *Rosaceae* ailesinin dokuz atasal kromozomunun yeniden yapılandırmasının yanı sıra üç ana alt ailede kromozom birleşme, bölünme ve duplikasyon tarihleri belirlenmiştir. Çeşitli dokularda transkriptom dizilenmiş, endodormansi ve erken çiçeklenme, bakteriyel enfeksiyona karşı dayanıklılık, çiçek kokusunun biyosentezinin düzenlenmesi dâhil gen yolları çalışılmıştır. *P. mume* genom dizisi, *Rosaceae* evrimini anlamamıza katkıda bulunmuş ve meyve ağaçlarının ıslahı için önemli veriler sağlamıştır (Zhang vd. 2012).

Portakal, insan sağlığı için önemli bir besin kaynağıdır ve büyük ekonomik değere sahiptir. Xu vd. (2013) tatlı portakalın (*Citrus sinensis*) genom taslağının kapsamlı analizi ortaya koymuştur. Tekrarlı elementler %20'sini oluşturduğu için; birleştirilmiş sekans tahmin edilen portakal genom büyüklüğünün %87,3 ünü kapsamıştır. Yarısi heterozigot durumda 29.445 protein kodlayan gen tahmin edilmiştir. İlave olarak yedi citrus genomunun karşılaştırmalı analizi ve ikiden fazla citrus türünün sekanslanmasına tatlı portakalın, mandarin ve pomelo arasında bir gerimelez hibritinden oluştuğu önerisine kanıt sunmuştur. Çalışmada C vitamini metabolizmasında bulunan genler üzerine odaklanılmıştır. Bu genom taslağı gelecekte birçok önemli citrus özelliğinin anlaşılması ve gelişmesi için değerli bir kaynağı temsil etmektedir (Xu vd. 2013).

Rosaceae, meyve üretimi yapılan grubun en önemlisidir ve ticari olarak önemli olan diğer cinsler (*Fragaria*, *Rosa*, *Rubus* ve *Prunus*) ile de evrimsel olarak yakın ilişkilidir. Diploid bir *Prunus* türü olan şeftali, genetik olarak en iyi karakterize edilmiş yaprağını döken ağaçlardan biridir. Verde vd. (2013) homozigot bir şeftali genotipinin yüksek kaliteli genom dizisini rapor etmiştir. Sanger dizileme ve tüm genom shotgun metodu kullanılarak kromozomların tam skalası elde edilmiştir. Protein kodlamayan RNA'ların yanı sıra, 27.852 protein kodlayan gen tahmin edilmiştir. 14 *Prunus* aksesyonu yeniden sekanslanarak, şeftali domestikasyon yolağı araştırılmıştır. Analizler şeftali genom çeşitliliğini önemli derecede şekillendiren büyük genetik daralmaların yaşandığını göstermektedir. Ayrıca, karşılaştırmalı analizler şeftalinin tüm genom duplikasyonuna maruz kalmadığını göstermiştir. Üzümde görülen üçlü atasal blokların şeftalide parça parça olsa da korunduğu görülmüştür (Verde vd. 2013).

Hurma ağacı (*Phoenix dactylifera* L.) tarımsal ve ekonomik önemi olan kültüre alınmış odunsu bir bitki türüdür. Al-Mssallem vd. (2013) hurmada bir üstün çeşidin ('Khalas') 605.4Mb boyutunda genomunu >%90 kapsama (~671Mb) dizilemiş ve genlerinin >%96'sını (~41,660 gen) belirlemiştir. Genomik dizi analizi *P. Dactylifera*'nın tüm genom antik duplikasyonlar ve çok büyük segmental duplikasyonlar geçirdiğini göstermiştir. Genetik çeşitlilik analizi, stres direncinin ve şeker metabolizması ile ilgili genlerin tek nükleotit polimorfizmlerin yoğunluğunun nispeten düşük olduğu kromozomal bölgelerde zenginleştiğini göstermektedir. Araştırmacılar transkriptomik verileri kullanarak hurma ağacının meyve gelişimi ve olgunlaşmasının altında yatan şeker metabolizmasını da rapor etmiştir. Geniş ölçekli genomik ve transkriptomik verileri sadece *P. Dactylifera*'da değil, aynı zamanda diğer *Arecaceae* bitkilerinde de daha ileri genomik çalışmaların önünü açacak niteliktedir (Al-Mssallem vd. 2013).

2014 yılında Avrupa armudu (*Pyrus communis*) 'Bartlett' çeşidinin genom taslağını sunulmuştur. Armut genomu ikinci nesil sekanslama teknolojisi (Roche 454) çalıştırılarak 2kb ve 7kb kütüphanelerin paired-end okumaları birleştirilerek oluşturulmuştur. 499 bazdan daha büyük 142,083 skafold (maksimum skafold uzunluğu 1.2Mb) üretilmiş, bu skafoltiler beklenen 600Mb *Pyrus* genomunun çoğunu temsil eden toplam 577,3Mb'ı kapsamaktadır. 'Louise Bonne de Jersey' ve 'Old Home'un yeniden sekansları kullanılarak toplamda aday 829,823 tek nükleotit polimorfizmi (SNPs) tespit edilmiştir. Daha önceki yapılan çalışmalarda genetik olarak haritalanan 2,279 SNP markırının, fiziksel haritada 171 Mb alana tekabül ettiği belirlenmiştir. Homoloji araştırması ile gen tahminine göre 43,419 varsayımsal gen tespit edilmiştir. Bunlardan 1219 âdeti (556 küme), diğer dizilenen bitki genomlarına kıyasla Avrupa armutlarına özgüdür. Çalışma ayrıca armut ve elmada (*Malus x domestica*) meyve yumuşamasını kontrol eden hücre duvarı ile ilişkili genlerin arasındaki ilişkinin kavranmasını sağlamıştır (Chagné vd. 2014). Yabani akraba kültür çeşitlerinin genetik iyileştirmeleri için değerli bir kaynaktır.

Wu vd. (2016), subtropikal Çin'de göreceli olarak hastalığa dirençli bir yabani muz olan *Musa itinerans*'ın *de novo* genom birleştirmesini rapor etmiştir. Birleştirilen genom boyutu genomun 75.2%'sini kapsamış, 32,456 tahmini protein kodlayan genleri içerdiği rapor edilmiş, toplam uzunluğu 462.1Mb olarak yayınlanmıştır. Yaklaşık 5.8 milyon yıl öncesindeki farklılaşmadan günümüze kadar *Musa itinerans* ve *Musa acuminata*

genomları korunmuş benzerlik göstermiştir. Gen ailesi genişlemeleri ve küçülmeleri ile bazı yolların fenotipik veya fizyolojik yenilikler arasındaki ilişkiler belirlenmiştir. Örnek olarak, atasal *Musaceae*'de odunsu ağaç tipinden otsuya geçiş, soğuk ve kuraklık toleransının artması ve hastalık direnci genlerinin azalması verilebilir. İki *Musa* türünde de kodlayan gen familyalarının çeşitlenmesini duplikasyonların kolaylaştırdığı bulunmuştur. *M. itinerans* popülasyon genomu tarihi analizi, dalgalanan popülasyon büyüklüğünün Pleistosen iklim salınımlarından kaynaklandığını ve Qiongzhou Boğazı'nın oluşumunun izole Hainan Adası'nda popülasyonun küçülmesini kolaylaştırabileceğini ortaya çıkarmıştır. *M. itinerans* genomunun nitelikli genom birleştirmesi muz ıslahına yönelik değerli moleküler kaynakların elde edilmesine imkan sağlayacak niteliktedir (Wu vd. 2016).

Shirasawa vd. (2017) yeni nesil dizileme teknolojisini kullanarak kiraz (*Prunus avium*) genom dizisini belirlenmiştir. Birleştirilen dizilerin toplam uzunluğu 272.4 Mb, N50 uzunluğu 219.6 kb olan 10.148 skafold dizisinden oluşturulmuştur. Diziler, k-mer analiz sonuçlarına göre, 352.9 Mb kiraz genomunun %77.8'ini kapsamaktadır. Ökaryotik genler ile >% 96.0 üzerinde kesişme tespit edilmiştir. 43.349 tam ve kısmi protein kodlayan genler tahmin edilmiştir. Kiraz ve şeftali genetik haritalarının karşılaştırılması, iki genom arasında yüksek sentez olduğunu ortaya çıkarmıştır. Kiraz skafoldları harita ve sentez temelli stratejiler kullanılarak birleştirilmiştir. Altı kültür çeşidinin tüm genom analizinde 1.016,866 SNP ve 162,402 insersiyon/ delesyon bulunmuştur, bunlardan %0,7 den fazlasının yıkıcı özellikte olduğu görülmüştür. Genomik bilgiler, agronomik olarak önemli genleri tanımlanmasına, kirazlar için genetik çalışmalar ve yetiştirme programlarının hızlandırılmasına yardımcı olacaktır.

Nicolas vd. (2017) en son dizileme ve optik haritalama teknolojilerini kullanarak, elma (*Malus domestica* Borkh.) genomunun yüksek kaliteli *de novo* birleştirilmesi yapılmıştır. Genomun yarısına denk gelen yüksek tekrar bölgeleri, bu ağaç genomunun daha önce karakterize edilmeyen bölgelerinin çalışılmasına imkân kılmış, 21 milyon önce büyük bir artış gösterdiği hesaplanan heterokromatik bölgelerde ultra tekrar sayısına sahip retrotranspozanlar (TE) tespit edilmiştir. TE bölgelerindeki ultra artış Çin'in Tian Shan dağlarındaki elma popülasyonunda belirlenmiş olup, bu bölge elmanın kültüre alındığı bölge olarak bilinmektedir. Bu nedenle TE artışının elma çeşitliliğinin oluşmasına neden olduğu gibi armuttan evrimsel ayrılığı ile de alakalı olabileceği ileri

sürülmüştür. Son olarak, genom çapında DNA metilasyon verileri, epigenetik işaretlerin, elma meyvesi gelişimi gibi önemli agronomik karakterlerin gelişimine etkili olduğunu göstermiştir (Nicolas vd. 2017).

Naibin vd. (2017) 117 farklı çeşit ve tipin genomunu dizileyerek elma genom varyasyon haritasını raporlamıştır. İpek yolu boyunca elmada türleşme ve domestikasyon olayları genomik kanıtlara dayandırılmıştır. Kültürü yapılan elmalar muhtemelen *M. sylvestris*'den köken alıp, Kazakistan kökenli *Malus sieversii* ile melezlenerek oluşmaktadır. Çin'in Xinjiang bölgesindeki *M. sieversii*, elma domestikasyonuna direk olarak katkı sağlamayan eski bir ekotip olarak tanımlanmıştır. Tat ve meyve karakterlerini içeren önemli meyve kalite karakterlerini kodlayan QTL bölgeleri belirlenmiştir. Domestikasyon öncesi oluşan meyve boyutunda artışa neden olduğu varsayılan 2 büyük duplikasyon olayı için kanıtlar sunulmuştur. Bu çalışma, elma evcilleştirmesinin ve evriminin genetik temelini ana hatlarıyla ortaya koymakta ve markör destekli seleksiyon ve elma ıslahının kolaylaştırılması için değerli bilgiler sağlamaktadır.

Mandarin (*Citrus reticulata*) dünya çapında en önemli turuncgillerden biridir. Mandarin domestikasyonu 4 bin yıldır mandarin yetiştiriciliğinin merkezlerinden biri olan Güney Çin'de ortaya çıkmıştır. Wang vd. (2018) Çin'in Nanling bölgesi etrafında mandarinin doğal yabani popülasyonu ve civarda yetiştirilen yerel çeşitleri toplanmış ve genom seviyesinde çalışmıştır. Mandarin domestikasyonunun genetik temelini anlamak için yabani mandarinin genom taslağı *de novo* birleştirilmiş ve 104 turuncgil genomunun genom analizi yapılmıştır. Kültürü yapılan mandarinlerde sitrik asit seviyesinin önemli derecede azaldığı bulunmuştur. Kuzey ve Güney Nanling dağlarında kültürü yapılan mandarinlerin iki grubunda (MD1 ve MD2) iki bağımsız domestikasyon olayının meydana geldiği belirlenmiştir. Muhtemelen mandarinin domestikasyonu boyunca seleksiyon altında olan sitrat içeriğinin düzenlenmesine akonitat hidrataz (*ACO*) genini de içeren büyük bir genomik farklılığın yol açtığı belirlenmiştir. Bu çalışma mevcut yabani mandarin popülasyonunun coğrafik orijini için kesin genetik kanıt sağlamıştır ve mandarinin evrim tarihi ve domestikasyonu üzerine ışık tutmuştur (Wang vd.2018).

1.4.2. Orman ağaçlarında genom dizileme çalışmaları

Tuskan vd. (2006), siyah kavak ağacı *Populus trichocarpa*'nın taslak genomunu açıklamıştır. 45.000'den fazla protein kodlaya gen tanımlanmıştır. Birleştirilen genomun analizi, 8000 genden oluşan bir duplikasyon olayının kavak genomunda korunduğunu göstermiştir. İkinci, daha eski bir duplikasyon olayının, *Populus* ve *Arabidopsis* türlerinin ayrışmasından önce gerçekleştiği varsayılmıştır. Nükleotid mutasyonlarının, rastgele oluşan tekrar bölgelerinin ve büyük kromozom katlanmalarının kavak genomunda Arabidopsise nazaran daha yavaş gerçekleştiği görülmüştür. *Populus*, Arabidopsisten daha fazla protein kodlayan gene sahiptir ve her *Arabidopsis* geni için ortalama 1.4 ile 1.6 *Populus* homoloğu içerir. Bununla birlikte, iki genomdaki protein domain frekansı benzerdir. *Populus*'ta aşırı gen artışlarının Lignoselülozik duvar biyosentezi, meristem gelişimi, hastalık direnci ve metabolit taşınımı ile ilişkili olduğu keşfedilmiştir (Tuskan vd. 2006).

Kozalaklı (iğne yapraklı) ağaçlar açık tohumlu bitkilerin çoğunluğunu oluşturmaktadır ve ormanlara 200 milyon yıldan fazla süredir hakim olup, büyük ekolojik ve ekonomik öneme sahiptir. Bu gruptaki ağaçların genomlarının büyüklüğü ve karmaşıklığı nedeniyle, genomların shot-gun dizilme ve birleştirme teknikleri oldukça zor olmaktadır. Nystedt vd. (2013) Norveç ladini (*Picea abies*) 20 GB genomunun taslak birleştirmesini gerçekleştirmiştir. Doğruluğu iyi desteklenmiş genlerin sayısı (28.354), 100 kat daha küçük genoma sahip *Arabidopsis thaliana*'nın gen sayısına benzer bulunmuştur. Çalışmada, açık tohumlular soyunda tam genom duplikasyonu olduğuna dair bir kanıt bulunamamıştır. Bunun yerine, kozalaklıların devasal genom büyüklüğünün, muhtemelen verimli bir eleme mekanizmasının eksikliğinden, uzun-uçlu tekrarlanabilir transpoze elemanların farklı bir setinin yavaş ve sabit birikiminden kaynaklandığı tahmin edilmiştir. *Pinus sylvestris*, *Abies sibirica*, *Juniperus communis*, *Taxus baccata* ve *Gnetum* genomunun karşılaştırmalı sekans analizi, transposable element çeşitliliğinin kozalaklılar arasında paylaşıldığını ortaya koymaktadır. Transposable elementlerin susturulması ile ilgili olan 24 nükleotid küçük RNA'ların ekspresyonu, konifer grubunda dokuya özgüdür ve diğer bitkilerden çok daha düşüktür. Çok sayıda uzun (10,000 baz çifti) intron, gen-benzeri fragman, karakterize edilmemiş uzun kodlamayan RNA'lar ve kısa RNA'lar da tanımlanmıştır. Norveç ladin genomu ormancılık ve ıslah için yeni genomik yollar açacak kapasitede bir çalışmadır (Nystedt vd. 2013).

Biol vd. (2013) beyaz ladin (*Picea glauca*)'in tüm genom analizini yayınlamıştır. Beyaz ladin Kuzey Amerika'nın ormanlarının yaygın kozalaklı bir ağacıdır ve ticari olarak değerli olan bu ağaç için genomik kaynakların sağlanması orman idaresi ve koruma çabalarının geliştirilmesinde yardımcı olacak niteliktedir. Çok büyük tekrar dizileri içeren ladin genomunu dizilemek ve birleştirmek, hâlihazırdaki teknolojinin sınırlarını zorlamaktadır. İki Illumina dizileme platformu ve ABySS bilgisayar programı kullanılarak tüm genom dizileme stratejisi kurulmuştur. 4,9 milyon skafold ve 20.8 giga bp taslak genom üretilmiştir. Skafoldların N50 değeri 20356 bp olmuştur. Okuma uzunluklarının artması ve uzun parçalardan çift taraflı okumaların yorumlanması birleştirmede büyük bir etkiye sahip olmuştur (Biol vd. 2013).

Aynı yıllarda, Zimin vd. (2014) farklı stratejiler kullanarak oldukça büyük genoma sahip olan (yaklaşık 22 Gb) olan loblolil çam (*Pinus taeda*) referans genom dizisini belirlemiştir. Dizi verilerinin çoğu, tek bir çam tohumu haploit dokusunun tek bir megagametofitinin tüm genom shotgun dizilemesi ile elde edilmiştir. Bu, mevcut DNA miktarını sınırlandırmasına rağmen, sonuçta elde edilen haploid sekans verileri, birleştirme için çok uygun olmuştur. Haploid sekans, parental diploid DNA'dan uzun eş-çift kütüphane fragmanları ile güçlendirilmiştir. Genom sekansının bitişikliğini ve biyolojik faydasını daha da geliştirmek için, ek olarak genom ve transkriptom birleştirme yöntemleri uygulanmıştır. Bu stratejilerin kombinasyonu, 20.95 milyar bazlık bir taslak genom dizisi ile sonuçlanmış ve N50 skafold boyutu 66,9 kb olarak bulunmuştur (Zimin vd.2014).

Gümüş huş (*Betula pendula*), 1 yıl içinde çiçeklenebilen bir model ağaçtır. Hızlı yaşam döngüsü, küçük (440-Mb) genomu ve gelişmiş germplazm kaynakları, huş ağacını orman biyoteknolojisi için çekici bir model haline getirmektedir. Bu nedenle Salojärvi vd. (2017) doğal bir *B. pendula* bireyinin nükleer genomunu birleştirip ve kromozomları belirlemişlerdir. Huş ağacı genomundaki paleohekzaploid olayı gen kopyaları zenginleştirdiği belirlenmiştir.

1.4.3. Yağlık ağaçlarda genom dizileme çalışmaları

Palm yağı (yağ hurması) en verimli yağ bitkisidir. Toplam dünya bitkisel yağ ekim arazisinin sadece %5'ini kaplamış olmasına rağmen, palm yağı bitkisel yağın %33'ünü ve dünyadaki yenilebilir yağın %45'ini oluşturmaktadır. Singh vd. (2013), dünya

çapında yağ üretiminin baskın kaynağı olan Afrika yağ hurması *Elaeis guineensis*'in 1.8 giga baz genom sekansını çalışmıştır. 30 doku türünden toplam 1.535 Gb birleştirilmiş dizi ve transkriptom verisi, en az 34,802 genini tahmin etmek için kullanılmıştır. Bu genler arasında yağ biyosentez genleri, WRINKLED1 (WRI1) homologları ve çekirdek içinde yüksek oranda ifade edilen diğer transkripsiyon düzenleyicileri vardır. Aynı çalışmada, kromozomu $2n = 32$ olan *E. guineensis* ile verimli hibritler üreten Güney Amerika yağ palmyesi *Elaeis oleifera*'nın taslak genomu da rapor edilmiştir (Singh vd. 2013).

Akdeniz zeytin ağacı (*Olea europaea* subsp. *Europaea*), kültüre alınmış ilk ağaçlardan olup, Akdeniz bölgesinde zeytinyağı kaynağı olarak önemli tarımsal öneme sahiptir. Evcilleştirilmiş çeşitler ve yabani akrabaları arasındaki fenotipik farklılıkların altında yatan moleküler temeller yeterince anlaşılmamıştır. Hem yabani hem de kültüre alınmış zeytin ağaçlarının 46 kromozomu vardır ($2n$). Cruz vd. (2016) yaptıkları çalışmada bin yıllık zeytin ağacının shot-gun DNA dizilenmesinde zeytin genomunun %95 (1.38 Gb) oranında birleştirilmiştir. Skaffol N50 büyüklüğü 443 kb olmuştur. Genom anotasyonu çeşitli aşamalarda yaprak, kök ve meyve dokularından RNA dizilimi ile desteklenmiş 56.349 adet protein kodlayan gen belirlenmiştir. CEGMA yolu kullanılarak oluşturulan tüm genom tahmin edilen zeytin genomunun %98,79'a ulaştığı belirlenmiştir. *O. europaea*'nın birleştirilmiş taslak genomu, bu önemli ağacın evrim ve evcilleştirme süreçleri için değerli bir kaynak oluşturmuş ve önemli fenotipik özelliklerin genetik temellerinin belirlenmesine olanak sağlama potansiyelindedir. Ayrıca, ıslah programlarını ve yeni çeşitlerin oluşumunu da geliştirecektir (Cruz vd. 2016).

Bir başka çalışmada, kültür zeytininin atası olarak düşünülen yabani zeytinin (*Olea europaea* var. *sylvestris*) genom dizilimi ve anotasyonu ortaya koyulmuştur (Unver vd. 2017). 50.000'den fazla protein kodlayan gen tespit edilmiştir. Yabani zeytinin genom analizi, yaklaşık 28 ve 59 milyon yıl önce Oleaceae soy-spesifik paleopoliploidi geçirdiğini göstermektedir. Bu olayların yağ biyosentezinde önemli rol oynayan genler ve gen ailelerinin işlevselliği ve gelişmesine katkı sağladığı tespit edilmiştir. FAD2, SACPD, EAR ve ACPTE gibi yağ biyosentezi genleri, yakın akraba yağ bitkisi susam ile karşılaştırıldığında zeytinde linoleik asit ve oleik asitin farklı gen ailesi birikiminden kaynaklandığı tahmin edilmiştir. Yabani zeytinde FAD2 gen ekspresyon seviyesinin transpozon elementten kaynaklanan bir siRNA tarafından düzenlendiği anlaşılmıştır.

FAD2 azalan ekspresyonu ve SACPD artan ekspresyonu muhtemelen zeytinde oleik asitin olağanüstü yüksek seviyelerdeki birikimini açıklamaktadır. Bu yüzden yabancı zeytin genom analizi, yağ biyosentezinin evrimine önemli bakış açısı sağlamış ve yağ bitkileri genomu için değerli bir kaynak olma niteliğindedir (Unver vd. 2017).

1.4.4. Diğer odunsu türlerde genom dizileme çalışmaları

Çikolatanın kaynağı ve ekonomik olarak önemli bir tropik meyve ağacı ürünü olan *Theobroma cacao*'nun taslak genomunu dizilenip, birleştirilmiştir (Xavier vd. 2011). Bu birleştirme ürünü genom tahmin edilen genom büyüklüğünün %76'sına tekabül etmekte olup transkriptom analizi ile keşfedilen tüm genlerin %82'si 10 adet *T. cacao* kromozomuna bağlanmıştır. Bu sekans bilgisinin analizi, kakao evrimi sırasında flavonoid ile ilişkili genlerde olduğu gibi bazı gen ailelerinin spesifik olarak genişlediği vurgulanmıştır. Ayrıca *T. cacao* ıslah için önemli aday gen kaynağı sağlamıştır. Bir atadan 11 adet kromozomun birleşmesiyle şekillenen 10 kromozomlu *T. Cacao* kromozom sayısı ile ilgili bir evrim senaryosu ileri sürülmüştür (Xavier vd. 2011).

Lau vd. (2016) yaygın olarak dikilmiş *Hevea brasiliensis* klonu, RRIM 600'ün kapsamlı genom analizini rapor etmişlerdir. *Euphorbiaceae* ailesinin bir üyesi olan *H. brasiliensis* Muell. Arg, yüksek kaliteli doğal kauçuğun ticari üretimi için kullanılan tek doğal kaynaktır. Doğal kauçuk lateks özelliği nedeniyle, birçok endüstriyel uygulama için üretilen sentetik muadilleri ile yer değiştirilemez kalitedir. Kauçuk biyosentezinin moleküler mekanizmaları hakkında bilgi eksikliği hala devam etmektedir. Genom, Illumina ve PacBio sekans verileri ile kauçuk genomunun yaklaşık 155 katı kapsamında DNA dizisi üretilmiş ve birleştirilmiştir. Birleştirilmiş genom tekrarlayan DNA sekansları nedeniyle kauçuk genomunun %72.5'inin kapsamakta olup 1.55 Gb uzunluğa sahiptir. Toplam 84.440 protein kodlayan gen tahmin edilmiştir. Karşılaştırmalı genomik analizler *H. brasiliensis* ve diğer *Euphorbiaceae* genomları arasında kuvvetli sentez olduğunu ortaya koymuştur. Veriler, *H. brasiliensis*'in yüksek düzeyde lateks üretme kapasitesinin, genomundaki kauçuk biyosenteziyle ilişkili genlerin genişlemesine ve lateksdeki bu genlerin yüksek ekspresyonuna atfedilebileceğini göstermektedir. Cap analizi gen ekspresyon verileri kullanılarak, kauçuk biyosentezi ile ilgili genlerin dokuya özgü transkripsiyon profillerini gösterilmiş ve alternatif

transkripsiyon düzenleme araçları ortaya konmuştur. Çalışma, *H. brasiliensis* biyolojisinin anlaşılmasına katkıda bulunmakta ve kauçuk ağacının gelecekteki agronomik gelişimi için değerli genomik kaynaklar sağlamaktadır (Lau vd. 2016).

Ginkgo biloba L. (Ginkgoaceae) en özgün bitkilerden biridir. Büyük bir genom, abiyotik ve biyotik streslere karşı üstün direnç / tolerans içeren büyüleyici bir özellik yelpazesine sahiptir. Üreme biyolojisi çalışmaları için ideal bir model türdür. Bununla birlikte, yüksek kaliteli bir genom diziliminin olmaması, biyolojisini ve evrimini anlamamıza engel olduğu düşünülmüş ve genom analizi Rui vd. (2016) tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 41.840 gen içeren 10.61 Gb genom dizisi bir araya getirilmiştir. Birleştirilmiş genom tahmini ginko genomunun %76.58'ini oluşturmuş ve uzun terminal tekrarlı retrotranspozonlar (LTR-RT'ler) özellikle yaygın olduğu rapor edilmiştir. LTR-RT'lerin yoğunluğu ve çeşitliliği, 16 ile 24 milyon yıl arasında kayda değer aşamalı birikime ve amplifikasyona dayalıdır. Büyük genom ve uzun intronlar da genom hacmine katkı sağlamıştır. Tüm genom dublikasyonu iki kez gerçekleşmiştir. Birincisinin ginkonun atası tohumlu bitkilerde gerçekleştiği görülürken, ikinci WGD'nin ginko türüne spesifik olduğu belirlenmiştir. Ginkgoya özgü güçlü direncin altında yatan çoklu savunma mekanizmaları ginkkoya özgü gen kümeleri ile açıklanmıştır. Bu çalışma, büyük genomların dizilenmesine ışık tutmaktadır. Genetik ve evrimsel araştırmalar için önemli bir çalışma niteliğindedir.

Kayısının yaklaşık 270 Mb büyüklüğünde olduğu tahmin edilen genomu birçok bitkinin genomuna göre oldukça küçüktür (Arumuganathan ve Earl, 1991). Bu tez çalışmasında kayısı tüm genomu dizileme çalışması yürütülerek kayısı ıslah çalışmalarında kullanılabilecek taslak genomun elde edilmesi hedeflenmiştir. Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinin DNA dizisi Illumina ve PacBio sistemleri ile dizilenmiş, okumalar birleştirilerek önce kontigler daha sonra skafoldlar oluşturulmuştur.

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan bitkisel materyal Hacihaliloğlu kayısı örneği Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü uygulama arazisinde yetişen ağaçlardan alınmıştır.

2.2. Yöntem

Kayısı bitkisinin genom boyutunun 250 – 280 Mb arasında olduğu tahmin edilmektedir. Aynı *Prunus* cinsi altında yer alan şeftali (*Prunus persica*) bitkisinin genom büyüklüğü 265 Mb, *Prunus mume* bitkisi genom büyüklüğü 280 Mb olarak rapor edilmiştir (Verde vd. 2013; Zhang vd. 2012). Özellikle kayısı genomunun içinde yer alan tekrar dizilerinin belirlenmesi için dizilemede kurulacak kütüphaneler büyük dizilerin üretilmesi önem arz etmektedir. Bu tekrar dizilerinin, genom veri birleştirme sürecinde çakıştırılması ve doğru biçimde birleştirilmesi için 4 kb ve 10 kb insert kütüphaneleri kurulması ve bu kütüphanelerin, Eş-Çift uç dizileme yöntemi ile dizilenmesi planlanmıştır. Ayrıca son yıllarda uzun dizi üretmek için sıkça kullanılan PacBio dizileme yöntemine başvurulmuştur.

2.2.1. DNA izolasyonu

Hacihaliloğlu çeşidinin DNA izolasyonu genom dizileme için uygun kalitede DNA elde etmek amacıyla DNeasy Plant Maxi (Qiagen) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Illumina nükleotid dizileme sistemlerine uygun olan toplamda 1 µl üzeri DNA A260/A280 oranı 1.8 civarı kalitede DNA tüm protokollerde elde edilmiştir. A260/A230 oranı 1.8 civarında olan DNA'lar jelde koşturularak DNA bütünlüğü kontrol edilmiştir.

2.2.2. DNA dizileme çalışmaları

2.2.2.1. Illimuna Çift-Uç (Pair-End) okumaları

Çift-Uç kütüphanelerinin oluşturulması ve kütüphanelerin dizilenmesi Nextera yöntemine göre yapılmıştır. Protokol özetle aşağıdaki sıralandığı gibi gerçekleştirilmiştir.

Genomik DNA'nın tagmentasyonu: 20 µl genomik DNA (toplamda 50 ng), kütüphane hazırlama kitiyle gelen 25 µl TD ve 5 µl TDE1 çözeltileriyle karıştırılıp, 5 dakika 37 °C'de tutulmak suretiyle gerçekleştirilmiştir.

DNA'nın saflaştırılması: Tagmentasyon sonrası enzimlerin uzaklaştırılması için reaksiyon Zymo DNA saflaştırma kiti kullanılmıştır. DNA saflaştırma aşaması Zymo DNA saflaştırma protokolüne göre yapılmıştır.

Tagmenente edilmiş DNA'nın PCR ile çoğaltılması: Bu aşamada saflaştırılmış DNA'ya indeksleme adaptörleri (i7 ve i5), sekanslama ve ortak adaptörler (P5 ve P7) eklenmiştir. Bunun için, 5 µl index adaptörü i7 ve 5 µl i5 adaptörü, saflaştırılmış DNA, 15 µl Nextera PCR karışımı ve 5 µl primer karışımı PCR tüpüne eklenip, 63 °C' primer bağlanma sıcaklığında 5 döngü PCR gerçekleştirilmiştir.

Kütüphanelerin temizlenmesi: Bir önceki aşamada PCR ile adaptörler bağlanan kütüphanenin arta kalan adaptör ve PCR bileşenlerinden temizlenmesi için AMPure XP beads kullanılmıştır. Bunun için AMPure XP beads protokolü takip edilmiş, özetle 30 µl AMPure XP beads kütüphane ile karıştırılmış magnetik tabaklar kullanılarak temizlik tamamlanmıştır.

Dizileme: 10 µl DNA kütüphanesi 2 µl 10 ml Tris ve %0.1 Tween 20 ile karıştırılıp, vortex ve santrüfuj aşamalarından sonra Illimuna yeni nesil dizileme cihaz tabağına yüklenmiştir.

2.2.2.2. Illimuna Eş-Çift (Mate-Pair) okumaları

Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinde Nextera® Mate Pair kütüphane kiti kullanılarak 4 kb ve 10 kb olmak üzere iki adet eş-çift kütüphane kurulmuş ve dizilenmiştir. Kütüphane oluşturmak için aşağıda belirtilen kit protokolünün aşamaları takip edilmiştir.

DNA'nın parçalara ayrılması: İlk aşamada DNA Mate Pair Tagment enzimi ve Tagment Buffer Mate Pair ile karıştırılıp, 55 °C'de 30 dakika tutularak, DNA parçalara ayrılmıştır.

DNA saflaştırılması: 1. aşama son ürünü Zymo Genomic DNA Clean kiti kullanılarak parçalara ayrılmış, DNA saflaştırılmıştır.

Parçalanmış DNA'nın tamiri: Bir önceki aşamada saflaştırılan DNA parçaları Strant Displacement Polimeraz enzimi, 10X bufer ve dNTP'ler kullanılarak, toplamda 50 µl hacime getirilmiş, 20 °C'de 30 dakika tutularak DNA'nın tamiri gerçekleştirilmiştir.

DNA saflaştırılması: Bu aşamada AMPure XP bead'leri kullanılarak DNA, bir önceki aşamadaki karışımdan saflaştırılmıştır. Bunun için özetle; reaksiyon karışımı, 40 µl AMPure XP beads ve 50 µl su ile karıştırılıp oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilip iki defa %70'lik EtOH ile yıkanmıştır.

Fragman seçimi: Eş-çift kütüphane oluşturmak için öncelikle 4 ve 10 kb'lık parçalar saflaştırılmıştır. Bunun için PippinPrep metodu kullanılmıştır. Öncelikle 30 µl saflaştırılmış DNA, PippinPrep %75 agaroz kasketinde koşturulmuştur. Kit protokolünün önerdiği üzere 4 kb büyüklüğünde parçalar için 60 dakika ve 10 kb büyüklüğünde parçalar için 95 dakika koşturulmuştur.

DNA saflaştırılması: Bu aşamada Zymo Genomic DNA Clean kit kullanılarak, kitin protokolüne göre DNA fragmanları saflaştırılmıştır.

Fragmanların halkasal forma dönüştürülmesi: Bunun için bir önceki aşamada saflaştırılan DNA, ligaz enzimi ve 10X bufer ve su eklenerek toplamda 300 µl'ye getirilmiş ve 30 °C'de 12 saat tutulmuştur.

Halkasal forma dönüşmemiş (linear) DNA parçalarının temizlenmesi: 9 µl Exonukleaz enzimi bir önceki reaksiyona eklenmiş, 37 °C’de 30 dakika ve 70 °C’de 30 dakika tutulup, 12 µl ligasyon durdurma çözeltisi eklenmiştir.

Dairesel DNA’nın parçalanması: Bu aşamada halkasal DNA, CovarisS220 kullanılarak 300-1000 bp uzunluktaki parçalara bölünmüştür. Bunun için bir önceki aşamadaki son ürün Covaris T6 tüpüne aktarılıp, S220 de cihazın kullanma kılavuzu ve Matepair kütüphane kurma protokolünde belirtilen koşullara ayarlanarak parçalanma gerçekleştirilmiştir.

Parçalanmış DNA’nı saflaştırılması: Bu aşamada Streptavidin Magenic Beads’ler kullanılarak parçalanmış DNA saflaştırılmıştır. Bunun için öncelikle magnetik boncuklar Matepair kütüphane kurma protokolünde belirtildiği gibi ön hazırlıktan geçirilmiş daha sonra 300 µl magnetik boncuk, 300 µl parçalanmış DNA ile karıştırılıp, 20 °C’de 15 dakika bekletilmiştir. Ardından Magnetik rak kullanılarak, 4 defa 200 µl Bead Wash çözeltisi ile yıkanmış ardından ilk kez resuspansiyon çözeltisi ile yıkanmıştır.

Uç tamiri: Bu aşamada fragmanların 3’ ve 5’ uçlarında oluşan tek iplik uçlar (overhangs) temizlenmiştir. Bu amaçla, bir önceki aşamada en son resuspansiyon çözeltisi ile yıkanan örnekler 100 µl Uç Onarım enzim karışımı eklenip 30 °C’de 30 dakika bekletilmiştir. Ardından magnetik rak kullanılarak, 4 defa 200 µl Bead Wash çözeltisi ile yıkanmış ardından ik kez resuspansiyon çözeltisi ile yıkanmıştır.

Poli-A (Adenin) kuyruk eklenmesi: Adaptör ligasyonu sonrasında fragmanların kendi uçları ile birleşmelerini önlemek için parçalara A dizisi eklenmiştir. Bunun için bir önceki aşamada boncuklara bağlı bulunan DNA parçaları 30 µl A-tailing reaksiyon karışımı eklenerek 37 °C’de 30 dakika bekletilmiştir.

Adaptörlerin bağlanması: 30 µl A-tailing reaksiyon karışımı, 2.5 µl ligasyon enzim karışımı, 4 µl su ve 1 µl DNA Adapter index karıştırılarak, 30 °C’de 10 dakika bekletilmiş, üzerine 5 µl ligasyon durdurma çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra magnetik rak kullanılarak, 4 defa 200 µl Bead Wash çözeltisi ile yıkanmış ardından iki kez resuspansiyon çözeltisi ile yıkanmıştır. Adaptör olarak; Read 15’ TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG ve Read 25’ GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG kullanılmıştır.

Kütüphanelerin çoğaltılması: Illumina Mate-pair kütüphane kurma protokolünde belirtildiği gibi 50 µl PCR karışımı hazırlanmış ve bir önceki aşama son ürünü ile karıştırılarak yine protokolde belirtilen PCR döngüsünde DNA amplifiye edilmiştir. Primer olarak Nextera Index Kit – PCR Primeri index 1 Read5’ CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGAT[TCGCCTTA]GTCTCGTGGGCTCGG ve index 2 Read5’ AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC[TAGATCGC]TCGTCCGCAGCGT kullanılmıştır.

Kütüphanelerin temizlenmesi: 45 µl PCR ürünü 30 µl AMPure XP boncukları ve Magnetik rak kullanılarak protokole göre saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Kütüphanelerin seyreltilmesi ve denatüre edilmesi: Bu aşama ile hazırlanmış DNA Illumina sistemine yüklenecek uygun konsantrasyona getirilmiştir. DNA kütüphane konsantrasyonlarının 2 nM civarında oldukları hesaplanmıştır. Buna göre DNA kütüphaneleri için 10 µl örnek 10 µl 0.2 N NaOH ile karıştırılmış, üzerine 200 mM Ph 7 Tris’den 10 µl eklenmiştir. Denatüre edilmiş DNA kütüphanesinin seyreltilmesi için 970 µl HT1 çözeltisi ilave edilmiştir. Seyreltilmiş kütüphaneleri yükleme konsantrasyonuna getirmek için, 117 µl seyreltilmiş örnek karışımına 1183 µl HT1 çözeltisi ilave edilmiştir ve Illumina yeni nesil dizileme cihazına yüklenmiştir.

2.2.2.3 PacBio (Tek Molekül, Gerçek Zaman) ile DNA dizileme

PacBio şirketinin geliştirmiş olduğu Tek Moleküler, Gerçek Zaman (Single Molecule, Real-Time- SMRT) DNA dizileme yöntemi uzun okumalar ürettiği için tercih edilmiştir. Genomu dizilenecek Hacihaliloğlu kayısı çeşidi için DNA örneği Delaware Üniversitesi’ne bağlı Delaware Biyoteknoloji Enstitüsü’ne gönderilmiştir. SMRT dizileme kısaca; öncelikle çift iplikli DNA kütüphanesi oluşturulur. Daha sonra saç tokası adaptörler bağlanarak çift iplikli DNA’ya bağlanır. Bu kütüphane SMRT Cell sisteminin ZMW (Zero Mode Waveguides) denilen bölmelerine yüklenir. Burada DNA ZMW’nin tabanına çöker ve polimeraz enzimi floresan işaretli nükleotidleri DNA’ya bağlar. Kütüphane difüzyon ile yüklendiği için tüm ZMW’lerin bir DNA molekülü içermeyebilir. Nükleotitlerin yaydığı floresan, gerçek zamanlı olarak bir kamera tarafından kaydedilir. Sadece floresan rengi kaydedilemez, aynı zamanda, nükleotid birleşimi arasındaki sürede (Interpulse duration-IPD) kaydedilir. Bir dizilemede,

polimeraz, örneğin bir 6-metil adenosin modifikasyonu gibi bir (epigenetik) modifikasyonu içeren nükleotidle karşılaştığında, IPD süresi metillenmemiş nükleoitde göre uzun olacaktır. SMRT dizileme sistemi her zaman dairesel template DNA kullanır, uzun instert içeren kütüphaneler sadece bir kez okunacakları için hata oranları yüksek olabilir. Fakat bu tek okumalar daha sonra eşleştirme yapılarak hata oranı minimum olan konsensüs okuma üretilmektedir.

2.2.3 Biyoinformatik analizleri

2.2.3.1 Genom analizleri

Genomik DNA izolasyonu ve yeni nesil dizileme reaksiyonunu takiben, elde edilmiş olan ham okumalar “veri birleştirme” analizinden önce filtreleme işlemine tabii tutulmuştur. Filtreleme işlemi; (i) düşük kaliteli ve kısa (<50 baz) dizilerin kaldırılması, (ii) adaptörlerin ham okumalardan çıkarılması, (iii) bakterial veya viral orijinli dizilerin kütüphaneden çıkarılması, (iv) >10% “N” sayıda baz içeren dizilerin atılması işlemi kapsamaktadır. Bu işlemin yanı sıra, organizmanın organel genomu (kloroplast ve mitokondri)’da analiz öncesi kütüphaneden çıkartılmıştır. Bu işlemleri; FASTX-Toolkit (Gordon ve Hannon, 2010) ve FastQC yazılımları ile gerçekleştirilmiştir. Böylece, k-mer analizi ile genom boyut belirlenmesi ve veri birleştirme analizine uygun yüksek kaliteli dizileri elde edilmiştir.

K-mer analizi

K-mer, dizi okumalarının bilgisayar ortamında iteratif olarak k uzunluğunda dizilere bölünmesidir. Elde edilen okumalar, seçilecek k-mer uzunluğuna (genellikle 17 veya 19) bölünmüş ve Poisson olasılık dağılımına uygun bir k-mer sıklık grafiği elde edilmiş ve böylece genom boyut tahmini gerçekleştirilmiştir.

Kalite Kontrol, Filtreleme ve Hata Düzeltmeleri

Genom birleştirme aşamasında oluşabilecek olası hataları minimum indirmek amacıyla aşağıdaki filtreleme işlemleri gerçekleştirilmiştir.

- a. Adaptör dizi kontaminasyonu olan okumaların filtrelenmesi
- b. polyA yapısına sahip okumaların filtrelenmesi

- c. PCR tekrarlarının (birebir aynı diziye sahip iki paired end okuması) filtrelenmesi
- d. Küçük insert kütüphanelerinde %40'ın üzerinde nükleotit kalite okuması 7'den düşük olan, büyük insert kütüphanelerinde %30'un üzerinde nükleotit kalite okuması 7'den düşük olan okumaların filtrelenmesi
- e. Küçük insert kütüphanelerinde 10bp üzerinde tekrarlayan okumaların filtrelenmesi

2.2.3.2 Genom veri birleştirme

250 baz Çift-Uç ve 150 baz 4 ve 10 kb insört uzunluğuna sahip olan kütüphanelerden elde edilmiş olan okumalar ve PacBio okumaları veri birleştirme analizinde kullanılmıştır. Bu analiz, *de brujin* algoritması temelli çalışan SOAPdenovo 2.00 (<http://soap.genomics.org.cn>) (Luo vd. 2012) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. SOAPdenovo yazılımı veri birleştirme işlemini 3 adımda gerçekleştirmiştir; (i) Kontig oluşturulması, (ii) Skafold oluşturulması ve (iii) Boşluk doldurma. 500 bazdan küçük insert kütüphanesinden elde edilen diziler 'kontig oluşturulmasında' kullanılmıştır. Daha sonra 1 kb ve daha üzeri Eş-Çift ve PacBio okumaları ile kontigler arasında ilişki kurulmuş ve skafoldlar oluşturulmuştur.

2.2.3.3 Genom anotasyonu

Kayısı genomunun içerdiği protein kodlayan gen sayısını Augustus 2.5.5 (Stanke ve Morgenstern, 2005) ve Genescan 1.0 (Burge ve Karlin, 1997) yazılımları kullanılmıştır.

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. DNA dizi okumaları

3.1.1 Illumina Çift-Uç (Pair-End) okuma sonuçları

DNA nextera kiti kullanılarak Hacihaliloğlu çeşidinde kütüphaneleri hazırlanmış ve Illumina yeni nesil dizileme cihazında fragmanlar, hem ileri hem geri olmak üzere iki yönde dizilenmiştir. Tablo 2’de okumada elde edilen değerler verilmiştir. Hacihaliloğlu çeşidi için yaklaşık ~472X nükleotid elde edilmiştir.

Tablo 2. Hacihaliloğlu çeşidinde Çift-Uç kütüphane kurularak elde edilen nükleotid dizi değerleri

Çeşit	Okuma sayısı	Toplam nükleotid	Genom temsili (coverage)
Hacihaliloğlu	528,547,741	132,665,482,991	~472X

GC ve AT oranları Tablo 3’de verilmiştir. Q30 değeri %70 ve Q20 değeri %80 üzerinde bulunmuştur. Bu değerler okuma kalitesinin iyi olduğunu göstermektedir. Çift-uç kütüphane okuma değerleri Tablo 3’de özetlenmiştir.

Tablo 3. Hacihaliloğlu çeşidinde Çift-Uç kütüphane kurularak elde edilen verilerin okuma değerleri

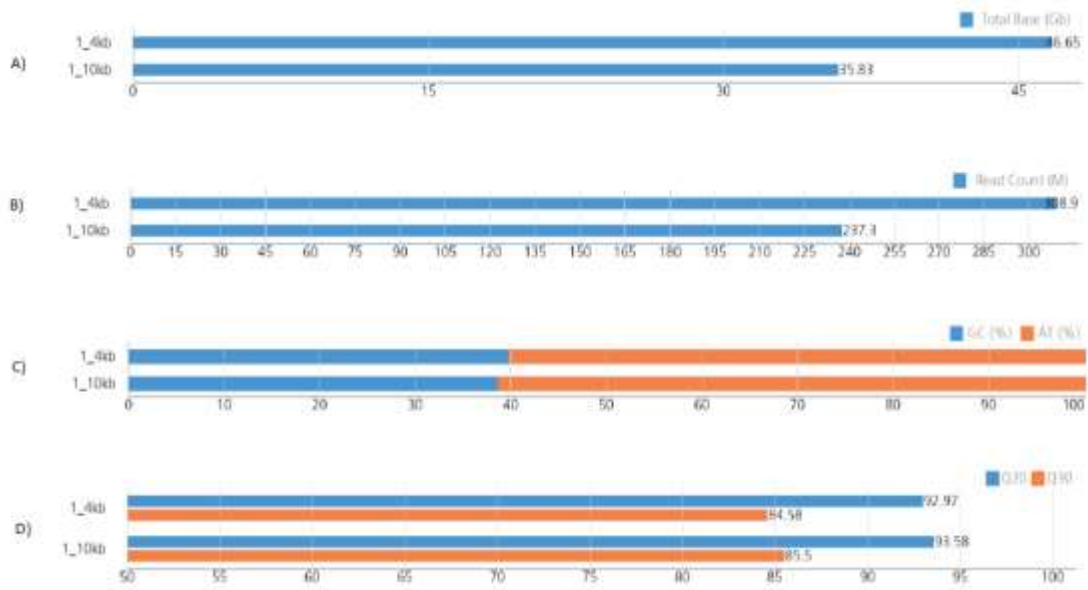
	GC (%)	AT (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
Hacihaliloğlu	38,71	61,29	81,8	73,6

3.1.2. Illumina Eş-Çift (Mate-Pair) okuma sonuçları

Hacihaliloğlu çeşidinde 4 ve 10 kb Eş-Çift kütüphaneleri kurulup dizilenmiştir. Dizileme sonucu ve istatistiki değerler Tablo 4. ve Şekil 1.'de verilmiştir. Hacihaliloğlu çeşidi 4 kb çift-uç kütüphanesinden yaklaşık 61 milyar okuma elde edilmiş olup bu değer kayısı genomunun yaklaşık 218 katına tekabül etmektedir. 10 kb'lik kütüphaneden ise 46 milyar nükleotid elde edilmiş olup, yine kayısı genomunun 165 katına denk gelmektedir. Her iki kütüphanenin Q20 değerinin %90 üzeri, Q30 değerinin ise %85 civarında olup dizileme kalitesinin başarı seviyesini göstermektedir.

Tablo 4. Hacihaliloğlu kayısı çeşidinde eş-çift kütüphane kurularak elde edilen nükleotid dizi değerleri

Kütüphane	Toplam okuma (baz çifti)	Genom temsili (X)	GC (%)	AT (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
4kb	61,259,729,976	218X	39,83	60,17	92,97	84,58
10kb	46,313,942,400	165X	38,69	61,31	93,58	85,49



Şekil 1. Hacihaliloğlu kayısı çeşidinde 4 kb ve 10 kb Eş-Çift kütüphaneleri kurularak elde edilen nükleotid dizi istatistik grafikleri A) Giga baz olarak toplam okuma uzunluğu; B) Toplam okuma sayısı. Okuma sayısı milyon değerinde verilmiştir. C) GC/TA oran grafiği. GC oranı mavi, TA oranı turuncu ile gösterilmiştir; D) Yüzde Q20 ve Q30 oranları

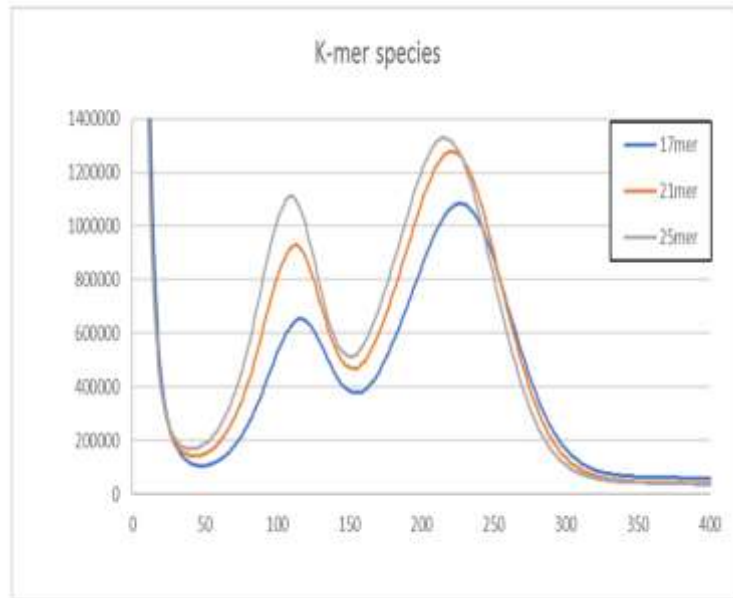
Illimuna sisteminde Hacihaliloğlu çeşidi için 4 ve 10 kb çift-uç kütüphanelerinden üretilen DNA dizilerinin kalitesi FastQC Version 0.11.7 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Okumaların kalitesi GC yüzdesi, Q20 ve Q30 yüzde değerleri elde edilerek teyit edilmiştir. FastQC programı kullanılarak kalite değeri düşük olan (yüksek oranda N içeren okumalar) toplam okumada havuzundan çıkarılmıştır. Tablo 5’de çift-uç ve eş-çift okumaların filtreleme işleminden önce ve sonra GC, Q20 ve Q30 değerleri verilmiştir. Tablo 5’de görüleceği gibi filtreleme işleminden sonra tüm okumaların Q20 değeri %90 üzerine çıkmıştır.

Tablo 5. Okumaların kalite kontrol değerleri

Örnek	Filtreleme	Toplam Baz	Okuma sayısı	GC(%)	Q20(%)	Q30(%)
1	Pre Filtered	98,296,122,518	391,618,018	39.41	83.49	77.39
	Post Filtered	65,578,072,722	261,267,222	38.55	92.63	88.60
1_4kb	Pre Filtered	61,259,729,976	405,693,576	40.34	87.84	77.15
	Post Filtered	18,526,200,590	136,834,710	38.99	97.51	92.78
1_10kb	Pre Filtered	46,622,702,016	308,759,616	39.67	88.02	77.84
	Post Filtered	14,558,547,825	109,093,708	37.98	97.62	92.95

3.1.3. İllimuna sonuçlarına göre K-mer analizi sonuçları

K-mer, dizi okumalarının bilgisayar ortamında iteratif olarak k uzunluğunda dizilere bölünmesidir. ELLYFISH programı kullanılarak elde edilen tüm okumalar, 17, 21 ve 25 k-mer uzunluğuna bölünmüştür ve Poisson olasılık dağılımına uygun bir k-mer sıklık grafiği elde edilmiş (Şekil 2) ve böylece genom boyut tahmin edilmiştir.



Şekil 2. K-Mer analiz dağılımı

Tablo 6. K-Mer analiz değerleri

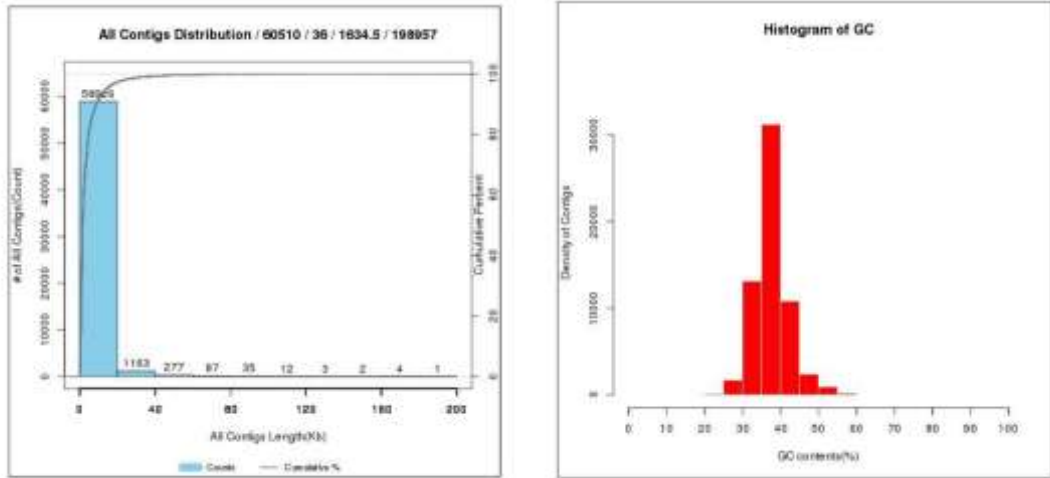
K-Mer uzunluk (bp)	K-Mer toplam	Tahmini pik derinliği	Tahmini genom büyüklüğü (bp)
17	61,389,641,143	227	270,438,948
21	60,343,708,269	221	273,048,454
25	59,297,805,865	216	274,526,879

3.1.4. İlimuna okumalarından kontig oluşturma

SOAPdenovo programı kullanılarak okumalar birleştirilmiştir. Kontig oluşturmada yeni sürümü olan SOAPdenovo2 kullanılmıştır. Bu program özellikle Illumina GA kısa okumalarını birleştirmek için özel olarak tasarlanmıştır. Hacihaliloğlu için üretilen tüm yüksek kalitedeki DNA (Tablo 7 ve Şekil 3) okumalarının birleştirilmesi sonucunda 243.546.957 baz uzunluğunda 60.510 adet kontig oluşturulmuştur. Kontiglerin ortalama uzunluğu 3.876 bazdır.

Tablo 7. Elde edilen kontiglerin sayı ve uzunlukları

Kontig sayısı	Kontig toplamı	N50	En uzun Kontig	En kısa Kontig	Ortalama uzunluk
60.510	243.546.957	8.556	198.957	36	3.876



Şekil 3. Kontiglerin uzunluk dağılımı ve Kontiglerde GC oran histogramı

Tablo 8’de kontiglerin istatistiki değerleri verilmiştir. Toplam uzunluğun %10’una denk gelen N10 ortalama uzunluğu 62.287 baz olan 377 kontigden oluşmuştur. N50 ise ortalama uzunluğu 18.420 baz olan 6372 adet kontig değerine denk gelmektedir. Şekil 3 ve Tablo 9’de kontiglerin nükleotid dağılımları ve GC oranları görülmektedir.

Tablo 8. Kontiglerin N10-N100 arasında uzunluk dağılımları

	Contig sayısı	Uzunluk	Ortalama uzunluk	Toplam uzunluk
N10	377	41,750	62,287	23,482,292
N20	1,135	24,150	41,330	46,910,262
N30	2,332	16,482	30,174	70,366,470
N40	4,022	11,846	23,326	93,820,194
N50	6,367	8,556	18,420	117,281,646
N60	9,627	6,016	14,618	140,732,757
N70	14,404	4,163	11,398	164,186,871
N80	21,382	2,553	8,775	187,638,345
N90	33,891	1,443	6,228	211,092,950
N100	60,510	36	3,876	234,546,957

Tablo 9. Kontiglerin nükleotid içeriği ve GC oranı

A sayısı	T sayısı	G sayısı	C sayısı	N sayısı	GC oranı
73,520,335	73,201,523	43,821,712	43,989,199	14,188	37.44%

3.1.5 İlimuna okumalarından Skafold oluşturma

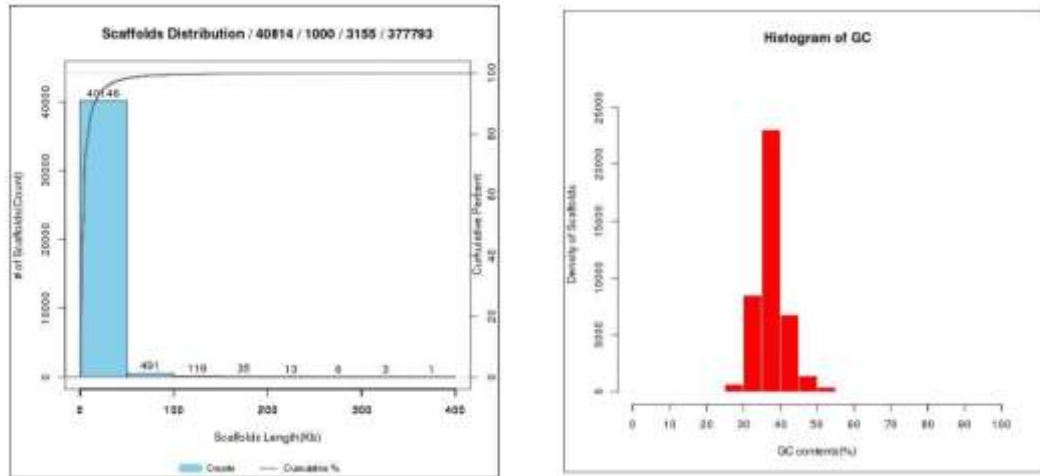
Skafold oluşturmada, problem, eş-çift (mate-pair) okumaları kullanarak, kontigleri kullanarak doğru düzen ve yönelimde birbirine bağlamaktır. Eş-çift okumalar, genomda aralarında bilinen bazı mesafelere (4 ve 10 kb) sahiptir. Boşlukların büyük çoğunluğu 5000 bazdan küçük oluğu belirlenmiştir.

Oluşturulan skafold sayısı Tablo 10.'da özetlenmiş, Şekil 4'de grafik olarak sunulmuştur. Toplamda 40.814 adet skafold üretilmiştir. Skafold N50 değerindeki skafold sayısı 16.269 olmuştur. Ortalama skafold uzunluğu 6.970 bazdır.

Skafold istatistiki değerleri Tablo 11'de verilmiştir. N10 değeri 201 skafold ile sağlanmıştır. N10'da yer alan 201 skafoldun ortalama uzunluğu 141.674'dir. N50 değeri ise ortalama uzunluğu 37.695 baz olan 3.774 adet skafold ile sağlanmıştır. Skafoldlarda GC oranı %37.44 olarak belirlenmiştir (Tablo 12, Şekil 4). Şekil 5'da skafoldlar arası boşluk büyüklük dağılımı verilmiştir.

Tablo 10. Skafold sonuçları

Scaffold sayısı	Scaffold toplamı	N50	En uzun Scaffold	En kısa Scaffold	Ortalama Scaffold Uzunluğu
40,814	284,504,597	16,269	377,793	1,000	6,970



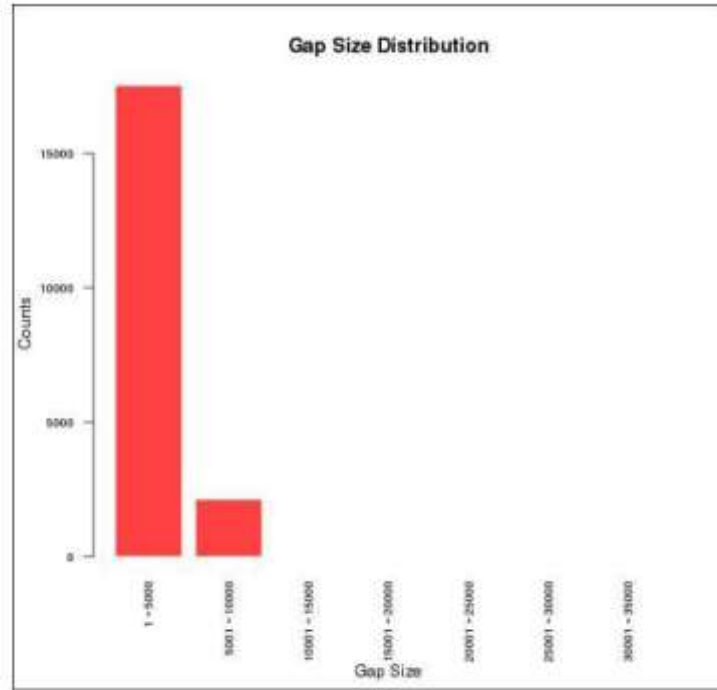
Şekil 4. Skafold uzunluk dağılımı (sol) ve Skafold GC içerik histogramı

Tablo 11. Skafoldların N10-N100 arasında uzunluk dağılımları

	Scaffold Sayısı	Uzunluk	Ortalama uzunluk	Toplam uzunluk
N10	201	92,680	141,674	28,476,654
N20	629	51,983	90,534	56,946,300
N30	1,312	34,004	65,060	85,359,560
N40	2,316	23,642	49,139	113,807,121
N50	3,774	16,269	37,695	142,264,181
N60	5,916	10,955	28,855	170,708,694
N70	8,967	7,662	22,210	199,157,370
N80	14,154	4,396	16,080	227,604,969
N90	21,667	2,621	11,817	256,055,183
N100	40,814	1,000	6,970	284,504,597

Tablo 12. Skafoldların nükleotid içeriği ve GC oranı

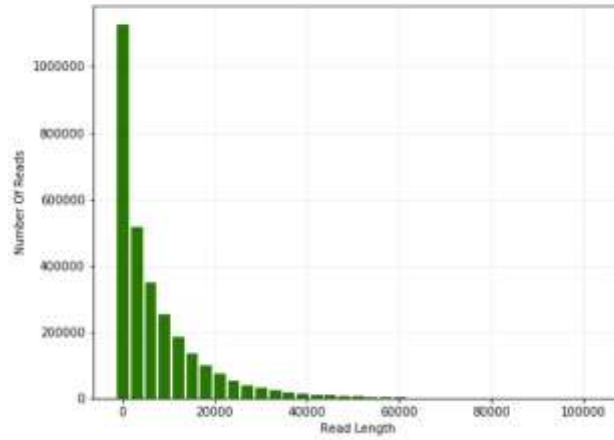
A sayısı	T sayısı	G sayısı	C sayısı	N sayısı	GC oranı
73,520,335	73,201,523	43,821,712	43,989,199	49,971,828	37.44%



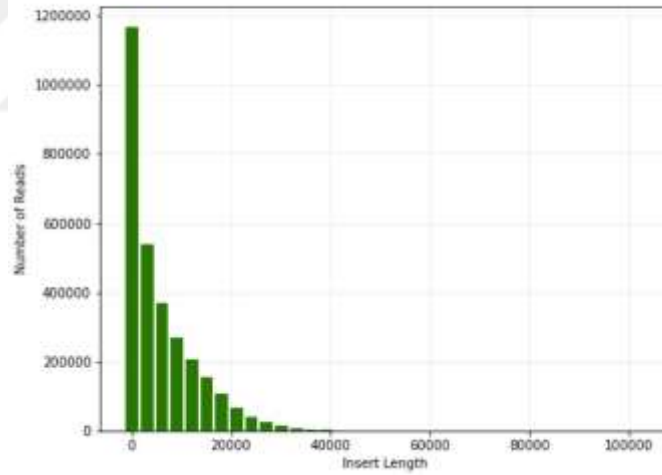
Şekil 5. Boşluk büyüklük dağılımı

3.1.6. PacBio (Tek Molekül, Gerçek Zaman) okuma sonuçları

PacBio SMRT Cell dizileme sonucuna 3 006 478 adet okuma üretilmiştir. Okumaların ortalama uzunluğu 8.862 nt, N50 okuma uzunluğu ise 17.750 nt olarak belirlenmiştir. Toplam okuma miktarı ise 26 642 680 231 nükleotid olup bu diğer kayısı genomunun yaklaşık 100 katına tekabül etmektedir. Okuma ve insert uzunluk dağılımları sırası ile Şekil 6 ve 7’de verilmiştir.



Şekil 6. PacBio okuma uzunluk dağılımı



Şekil 7. PacBio tahmini insert uzunluk dağılımı

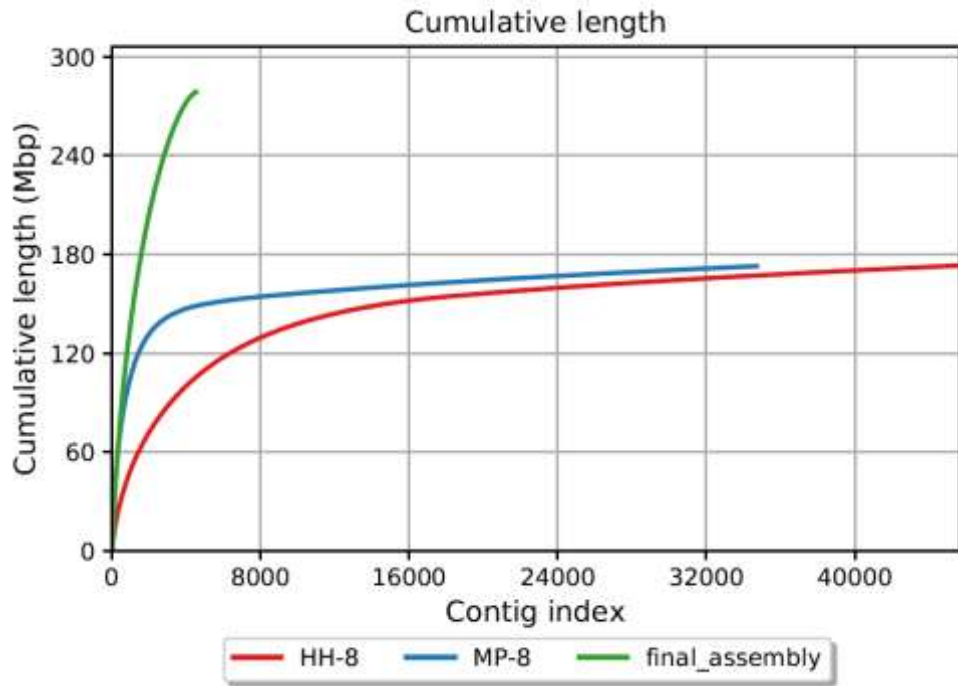
3.2. Final genom birleştirme

Önce sadece Çift-Uç okumaları birleştirilmiş, bu analiz HH-8 olarak adlandırılmıştır. Daha sonra Çift-Uç okumalarına Eş-Çift okumaları eklenmiş, bu analiz ise MP-8 olarak adlandırılmıştır. Son olarak PacBio dizilemeleri elde edildikten sonra DBG2OLC assembler kullanılarak MP-8 sonuçları PacBio okumaları ile birleştirilmiştir. Bu

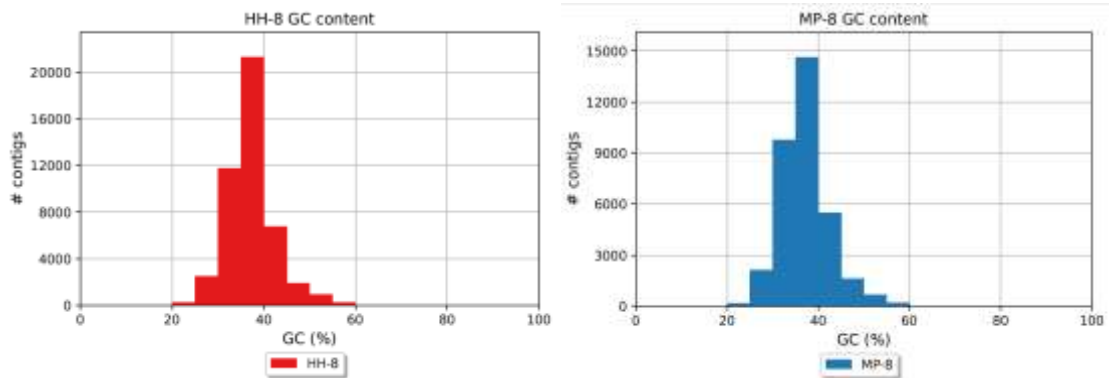
analizde final birleştirme ismi verilmiştir. Genom birleştirme analizi Tablo 13.'de özetlenmiş, toplamda 4,516 adet skafold üretilmiştir. Şekil 8'da PacBio okumaları eklendikten sonra artan skafold okuma uzunluğunu göstermektedir. HH-8, MP-8 ve final veri birleştirme analizi için GC oranı dağılımı sırasıyla Şekil 9 ve 10'da verilmiştir. PacBio okumaları eklendikten sonra yapılan final veri birleştirmede GC oranının %40 civarında yoğunlaşması artan birleştirme kalitesini göstermektedir.

Tablo 13. Final genom birleştirme analiz sonucu

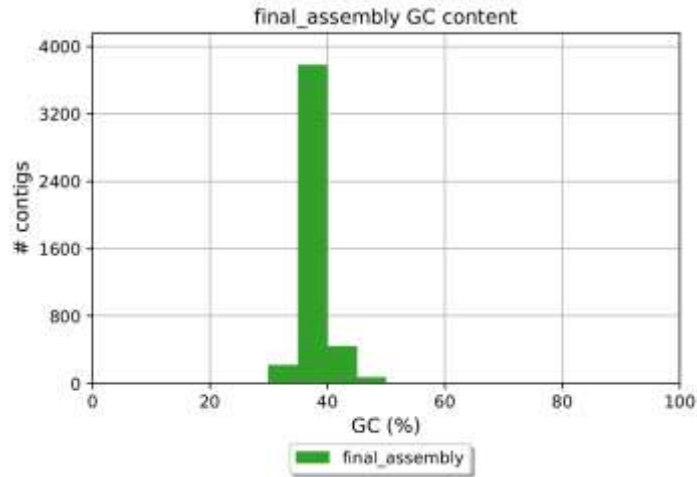
	(>= 0 bp)	(>= 1000 bp)	>= 5000 bp	>= 10000 bp	>= 25000 bp	>= 50000 bp
HH-8	954309	18047	7893	4341	1281	324
MP-8	1115982	8491	3441	2500	1474	823
PacBio	4516	4516	4497	4333	3536	2091
	(>= 0 bp)	(>= 1000 bp)	(>= 5000 bp)	(>= 10000bp)	(>= 25000bp)	(>= 50000bp)
HH-8	299668317	154341011	128992542	103776666	56817767	24277240
MP-8	307549681	154817987	144623518	137992346	121511734	98145033
PacBio	278452234	278452234	278378185	277066187	262725597	209591039
	GC (%)	N50	N75	L50	L75	Her 100 kb için # N
HH-8	37.32	14085	4853	2895	8075	301.43
MP-8	37.31	66595	17042	620	1861	7976.78
PacBio	37.56	85259	50372	1007	2077	0.00



Şekil 8. Kumülatif uzunluk grafiği. Grafikte genom birleştirme analizine PacBio okumaları eklendikten sonra toplam uzunluğun 270 milyon civarına ulaştığı kontig sayısında azaldığı görülmektedir.



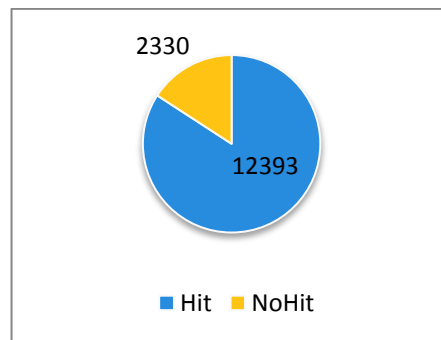
Şekil 9. Hacıhaliloğlu Pair-End (sol) ve Mate-Pair (sağ) genom birleştirme analizinde GC içeriği



Şekil 10. Final genom birleştirme analizinde GC içeriği

3.3. Genom anotasyonu

Kayısı genomunun içerdiği protein kodlayan gen bölgeleri Augustus 2.5.5 (Stanke ve Morgenstern, 2005) ve Genescan 1.0 (Burge ve Karlin, 1997) yazılımları kullanılmıştır. Daha sonra Kayısı skafoldları üzerindeki genlerin fonksiyonel tanımlamaları için blast algoritması kullanılarak analizler yapılmıştır. Bu amaç için NCBI veri bankasında mevcut olan bütün nükleotit, EST ve protein dizileri indirilmiştir. Elde edilen nükleotit ve EST dizileri blastn analizi ile kayısı genomunda taranmıştır. Blastn analizi sonucunda e-değeri en çok $1e^{-20}$ olan ve uzunluğu en az 300 baz olan diziler potansiyel kodlama yapan gen bölgesi olarak adlandırılmıştır. 14723 adet gen bölgesi belirlenmiş, Blastn analizi ile bunların 12393 adetinin fonksiyonu tahmin edilmiştir (Şekil 11). Fonksiyonu tanımlanan 12393 gen bölgesinin ilk 100 adetinin listesi Ek'de verilmiştir.



Şekil 11. Blast analizleri sonucunda fonksiyonu belirlenen genlerin oranı

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tartışma

Kayısı (*Prunus armeniaca*) Türkiye için sosyal ve ekonomik olarak önemli olan tarımsal ürünlerden biridir. Son 20 yılda birçok canlının genomu dizilenmiştir. Meve sineği (*Drosophila melanogaster*) (Adams vd. 2000), nemetod (*C. elagans*) (*C elagans* 1999), *Arabidopsis* (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000), insan (Venter vd. 2001), genomu ilk dizilenen canlılardır. Son on yılda ise literatür özetinde ve aşağıda bazı önemli özellikleri belirtilen odunsu türlerde genom dizileme çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmada Türkiye'nin en önemli kurutmalık kayısı çeşidi olan Hacihaliloğlu'nun genom analizleri yapılmıştır. Illumina dizileme teknolojileri ile Çift-Uç okumaları gerçekleştirmiştir. K-mer analizi yapılmış kayısı genomunun yaklaşık 270 milyon nükleotid uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Çift-Uç okumalarından Hacihaliloğlu çeşidinde kayısı genom büyüklüğünün ~472 katı (~472X) okuma gerçekleştirilmiştir. Hacihaliloğlu çeşidinde ayrıca 4 ve 10 kilobaz (kb) uzunluğunda kütüphaneler kurulmuş, Eş-Çift okumalar ve PacBio dizileme gerçekleştirilmiştir. Hacihaliloğlu 4 ve 10 kütüphane okumalarından sırasıyla ~218X ve ~165X okuma gerçekleştirilmiştir. PacBio sistemi ile yine Hacihaliloğlu kayısı çeşidi için 100X okuma gerçekleştirilerek toplam okuma kapsamı 954X olmuştur. Okumalar birleştirilerek önce kontigler daha sonra skafoldlar oluşturulmuş, son kerte de oldukça yüksek kalitede kayısı genom büyüklüğüne denk gelen toplamda 270 milyon uzunlukta 4516 skafold elde edilmiştir. Aynı prunus cinsi altında yer alan şeftali bitkisinin genom büyüklüğü 265 Mb, *Prunus mume* bitkisi genom büyüklüğü 280 Mb olduğu bilinmektedir (Verde vd. 2013; Zhang vd. 2012). Bu çalışmada belirlenen 270 milyon genom büyüklüğü beklenen değerlerle uyumludur.

Bu çalışmada üretilen dizi kapsamını değerlendirebilmek için diğer odunsu türlerin dizileme kapasitelerine bakmamız gerekmektedir. Kiraz genomu HiSeq 2000 sistemi ile 500 bp kütüphaneler kurularak dizilenmiş, 32.9 Gb (117X) okuma üretilmiş, bu okumalardan 114.8 kb den uzun 10,148 skaffold üretilmiş. Tüm genom analizinde 1.016,866 SNP ve 162,402 insersiyon/ delesyon bulunmuştur (Shirasawa vd. 2017). Verde vd (2013) şeftali genomunu sanger dizileme ile genomun yaklaşık 8.47X katında okuma üreterek dizilemiştir. Zhang vd (2012) Japon kayısısını yaklaşık 50 Gbp (178X) okuma üreterek dizilemiştir. Elma genomu 16,9X büyüklüğünde 26%'si çift uçlu Sanger okuması ile, 74%'si Roch 454 ile dizilenmiş olup, 122,146 adet kontig, 1,629 adet skafolta birleştirilmiştir (Velasco vd., 2010). Armut genomu Roche 454 sistemi ile 2kb ve 7kb kütüphaneler kullanılarak dizilenmiş, 23,058,965 okuma üretilmiş, bu okumalardan 499 bazdan uzun 142,083 skafold üretilmiş, toplamda armut genomunun 11,4X büyüklüğünde 8,204,442,728 nükleotid dizisi elde edilmiştir (Chagné vd. 2014). Muz genomu de novo olarak 120X derinlikte dizilenmiştir. Illumina Hiseq 2000 platformunda 2kb'den büyük 7194 skafold 74,2Gb temiz okumayla elde edilmiştir. Son birleştirmede 462.1 Mb uzunluğunda genom birleştirilmiş olup tüm genomun (615,2Mb) 75.2%'sini kapsamaktadır ve 32,456 tahmini protein kodlayan gen içerdiği rapor edilmiştir (Wu vd. 2016). Şeker portakalında Illumina GAII sistemi kullanılarak çeşitli DNA parça boyutlarından (300 bp, 2 kb, 10 kb ve 20 kb) 785 milyon okuma üretilmiştir. Bu sekans okumalarından SOAPdenovo programı kullanılarak 4,811 skafold elde edilmiştir. Birleştirilen skafoldların toplam uzunluğu 301.02 Mb büyüklüğe tekabül etmiştir (Xu vd. 2013). Yabani zeytin ağacı genomu 220 X kapsamla shotgun sekanslanmıştır. 228.62 skaffold üretilmiş, 1.48Gbp uzunluğundaki genomun sekans okumalarının bir araya getirilmesi için SOAPdenovo kullanılmıştır. Toplam 50,684 protein kodlayan gen tahmin edilmiş ve 47,124 gen RNA sekansı tarafından tespit edilmiştir. 31,245 gen pseudokromozomlar üzerine yerleşmiştir (Unver vd. 2017). Yabani mandarin genomu Illumina shotgun ile dizilenmiştir. 199,7 X kapsamla çeşitli insert kütüphanelerinden 64.2 Gb dizi üretilmiştir (Wang vd. 2018).

Yağ hurmasında Roche / 454 GS FLX Titanyum (Roche / 454) ve Sanger kombinasyonu kullanılarak yaklaşık 1.8 Gbp genom dizilenmiştir. Toplamda, 1.8-Gb yağ hurma genomunun yaklaşık 26x kapsamını temsil eden 46,8 milyar baz ham sekans üretilmiştir. Ortalama boyutu 150 kb olan 124,286 BAC klonu dizilenmiştir (Singh vd.

2013). Zeytin, Illumina sistemi kullanılarak yaklaşık $150 \times$ kapsamla dizilenmiştir (Cruz vd. 2016). Nicolas vd. 2017 elmayı üç farklı sistem kullanarak dizilemişlerdir. Illumina 2kb Çift Uç okumaları ile 72gb (120X) okuma, Illumina Nextera Eş-Çift (5kb) okumaların 58 gb (80X) ve PacBio ortalama uzunluğu olan 8,474 bp olan 2,837,045 adet okuma ile 24Gb (35X) üretmiştir.

Büyük genomlu orman ağaçlarından beyaz ladin genomu HiSeq 2000 ve MiSeq sistemi ile 250 bp ve 500 bp kütüphaneler kurularak dizilenmiş, ortalama uzunluğu 20 356 bp olan 4,9 milyon skafold, 20.8 giga bp taslak genomu olarak birleştirilmiştir (Birol vd 2013). Kauçuk genomu Illumina ve PacBio ile dizilenmiştir. 1.55 Gb skafold üretilmiş, toplam 84.440 protein kodlayan gen tahmin edilmiştir. Toplamda 288.84 Gb sekans verisi elde edilmiştir (Lau vd. 2016). Huş genomu Roche 454 sistemi (9X) ve PacBio (30X) ile dizilenmiştir. PacBio 6.000 bp'den uzun okumalar üretilmiştir. Toplam 3,4 milyon markörden oluşan ultra yüksek yoğunluklu bir genomik bağlantı haritası ile toplam 391 Mb skafold (440-Mb genomun tahmini olarak %89'u) üretilmiş, 14 kromozom üzerinde bağlantısı gösterilmiştir (Salojärvi vd. 2017).

Loblolil çamında Illumina GAIIx kullanılarak toplamda 22-Gb genomunun 64x kapsamına karşılık gelen, 1.4 trilyon baz elde edilmiştir. 23,2 Gb büyüklüğünde 14,4 milyon skafold elde edilmiştir. Boşluklar hariç, tüm kontiglerin toplam büyüklüğü 20,15 Gb olmuştur. En büyük skafold 8,891,046 bp'dir (Zimin vd. 2014). *P. abies* genomunu birleştirmek için, hem haploid hem de diploid bütün genom shot-gun verileri ve RNA dizilimi birleştirilmiştir. Toplam 20 gb genom uzunluğu elde edilmiştir. Önceki verilere göre genom büyüklüğünü 19.6Gb olarak hesaplanmıştır (Nystedt vd. 2013). Rui vd (2016) Ginko genomunu Illumina HiSeq 2000/4000 kullanarak Eş-çift ve Çift-Uç kütüphaneleri kurarak dizilemiştir. Ginko genomunun yaklaşık 320X katı okuma üretmişlerdir.

Yukarda özetlenen meyve ağaçları ve diğer odunsu bitkilerdeki genom dizilemeler göz önüne alındığında bu çalışmada üretilen kayısı genom büyüklüğünün 954X okuma kapsamı ile oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Her ne kadar orman ağaçlarında ve ginkoda daha fazla okuma üretilse de bu ağaçların genom büyüklüklerinin fazla olması nedeniyle kapsamaları orantısal olarak, kayısı genom kapsamından daha düşüktür. Bu çalışmada yürütülen stratejiye en yakın strateji Nicolas vd. (2017) tarafından elma

genomunu dizilemek için kullanılmıştır. İllimuna ve PacBio dizileme kombine edilmiştir. Kayısıya en yakın genom büyüklüğüne sahip kiraz ve japon kayısısı yine bu çalışmada üretilen okuma verilerinden oldukça düşük okumalarla birleştirilmiştir. Kayısıda skafoldlar henüz kromozomlara dağıtılmamış olsa da, tahmin edilen kayısı genom büyüklüğüne eşit miktarda (270 milyon) skafold elde edilmiştir. Skafoldlar kromozomlara dağıtılması ve genom anotasyonunun tamamlanması gibi eksik çalışmalar tamamlandıktan sonra kayısı genomu çok yüksek oranda okuma ile dizilenmiş olacaktır.

Genetik kaynaklar ve ıslah açısından bakıldığında kayısıda en önemli sorunlar, düşük meyve verimliliği, ilkbahar geç donları, hastalık ve zararlılardır. 2-3 yılda bir görülen donlar Malatya'da kayısı üretimini oldukça düşürmektedir. En önemli hastalıklarından biri Şarka olup 2006 yılında bu hastalığın Avrupa'da son 30 yılda tam 10 milyar dolar zarar oluşturduğu hesaplanmıştır (Cambra vd. 2006). Bu hastalık henüz kayısı merkezi olan Malatya'da görülmemiş ise de Tarım Bakanlığı'na yürütülen ve 2011 yılında rapor edilen geniş çaplı bir çalışmada hastalığın Malatya'nın komşusu Kayseri merkezinde dahi bulunduğu tespit edilmiştir (Akbaş vd. 2011). Şarka hastalığına neden olan Plum pox virus (PPV)'ün Avrupada üç ırkı yaygındır: Marcus (M), Dideron (D) ve Recombinant (Rec). Türkiye'de yapılan son çalışmalar bu PPV'nin Türkiye'de de yüksek genetik çeşitliliğinin olduğunu göstermiştir (Gürcan ve Ceylan 2016; Gürcan vd. 2018; Teber vd. 2019). Türkiye'de, Avrupa'da yaygın olan üç ırk (PPV-D, -M ve -Rec) Türkiye'de zengin genetik çeşitlilik gösterse de genomun yaklaşık 1566 bazında HC-Pro geninde rekombinasyon gösteren Türkiye ırkı (PPV-T) (Ulubaş Serçe vd. 2009) Türkiye'deki en yaygın PPV ırkıdır. Türkiye kayısılarında en önemli hastalıklarından diğeri *Monillia laxa*, en önemli zararlı ise *Capnodis tenebrionis* olduğu vurgulanmaktadır. Diğer önemli bir ıslah çalışma alanı ise kendine uyumsuzluk olup yapılan araştırmalarla kendine uyuşur ve uyumsuz çeşitler belirlenmektedir. Kurutmalık olanlar da dahil olmak üzere birçok çeşidin kendisiyle uyumsuz olduğu saptanmıştır (Paydaş vd. 2006; Halasz vd. 2010; Yılmaz vd. 2008, 2016).

Yukarıda belirtilen ıslah alanlarında ilerlemelerin sağlanmasında moleküler çalışmalar önemli yere sahiptir. Bu çalışmada üretilen kayısı genomu düzenlenip son haline getirilip, GenBank'a kaydedildikten sonra yukarıda belirtilen ıslah çalışmalarında ve yeni çalışmalarda moleküler araştırmalar için önemli kaynak niteliğinde olacaktır.

Genom dizileme çalışmaları sonucunda bitki genomlarında yer alan gen sayıları, gen yoğunluğu, transkripsiyon faktörleri, dayanıklılık genleri gibi birçok genom bileşenine dair bilgi üretilmiştir. Genom dizi analizi kısmen veya tamamen yapıldıktan sonra bu canlılarda onbinlerce SNP ile çalışmanın yolu açılmıştır; Mısırdaki yaprak yanıklığı çalışmasında 1.6 milyon SNP kullanılmış ve 32 QTL (quantitative trait loci) bölgesi bulunmuştur (Kump vd. 2011). Domuzda vücut gelişimini kodlayan genler 51.385 SNP ile (Fan vd. 2011), sığırlarda süt verimini belirleyen genler 56.000 SNP ile (Hayes vd. 2009) doğurganlık 10.000 SNP ile (Feugang vd. 2009) çalışılmıştır. Huang vd. (2010) pirinçte 3.6 milyon SNP keşfetmişler ve 15 QTL bölgesini SNP'lerle çalışmışlardır. Pirincin kültüre alınma tarihi 160.000 SNP lokusu ile çalışılmıştır (McNally vd. 2009). Arabidopsis'te 341.602 SNP ile bağlantı dengesizliği (Linkage disequilibrium) çalışılmıştır (Kim vd. 2007). Kayısı genomu kayısı çalışmalarında da büyük çaplı çalışmaların yapılmasına imkan sağlayacaktır.

4.2. Sonuç ve Öneriler

-Sonuç itibari ile, bu çalışmada Türkiye'nin en önemli kayısı çeşidi olan Hacihaliloğlu çeşidinin tüm genomu dizilenmiştir.

-Genom birleştirme yapılarak tahmin edilen tüm genoma denk gelen 270 milyon uzunluğunda skafoldlar üretilmiştir. Bununla beraber kayısı genom analiz çalışması henüz tamamlanmamıştır.

-Skafoldların koromozomlara göre düzenlenmesi, anotasyonunun tamamlanması ve GenBank'a kaydının yapılması gerekmektedir.

-Ayrıca ileri çalışmalarda çok sayıda farklı dokudan mRNA dizilerek çok sayıda gen keşfedilmesi ve bu genlerle genom anotasyonu zenginleştirilmesi gerekmektedir.

-Hacihaliloğlu genomunun ıslah çalışmalarında kullanılması için, kayısı ıslahı yapan araştırmacılarla iş birliğine gidilmesi iyi olacaktır.

KAYNAKÇA

- Adams, M.D., vd. 2000. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. **Science**, **287**: 2185-95.
- Akbaş, B., Değirmenci, K., Çiftçi, O., Kaya, A., Yurtmen, M., Uzunogulları, N., Çelik, N., Türkölmez, Ş., 2011. Update on Plum pox virus distribution in Turkey. **Phytopathologia Mediterranea**, **50**: 75–83.
- Al-Mssallem, I.S., Hu, S., Zhang, X., vd. 2013. Genome sequence of the date palm *Phoenix dactylifera* L. **Nature Communications**, **4**: 2274.
- Arabidopsis Genome Initiative, 2000. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. **Nature**, **408**: 796-815.
- Asma, B.M., 2010. “Melez Kayısıların Şarka Hastalığı’na (Plum Pox Virus, PPV) Dayanıklılık Durumlarının Saptanması, Sofralık ve Kurutmalık Yeni Kayısıların Islah Edilmesi Üzerine Araştırmalar (II. Dilim)”. İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Proje No: İ.Ü. BABP 2010/34, Malatya.
- Asma, B.M., 2011. Breeding Program For Plum Pox Virus Resistance In Turkey: Preliminary Results. *XV International Symposium on Apricot Breeding and Culture*, 20-24 June 2011, Erivan-Armenia.
- Audergon, J.M., Dosba, F., Karayiannis, I., Dicenta, F., 1994. “Amélioration de l’abricotier pour la résistance à la sharka”. **EPPO Bulletin**, **24**: 741–748.
- Arumuganathan, K., Earl, E.D., 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Molecular Biology Reporter**, **9**: 211–215.
- Birol, I., Raymond, A., Jackman, S.D., vd. 2013. Assembling the 20 Gb white spruce (*Picea glauca*) genome from whole-genome shotgun sequencing data. **Bioinformatics**, **29**: 1492–1497.
- Burge, C., Karlin, S., 1997. Prediction of complete gene structures in human genomic DNA **Journal of Molecular Biology**, **268**: 78-94.

- Badanes, M.L., Llácer, G., 2006. Breeding for resistance: breeding for Plum pox virus resistant apricots (*Prunus armeniaca* L.) in Spain. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, **36**: 323–326.
- Bassi, D., Bellini, E., Guerriero, R., Monastra, F., Pennone, F., 1995. “Apricot breeding in Italy”. **Acta Horticulturae**, **384**: 47–54.
- C. elegans* Sequencing consortium, 1999. Genome Sequence of the Nematode *C. elegans*: A Platform for Investigating Biology. **Science**, **282**: 2012–2018.
- Chen, F., Dong, W., Zhang, J., Guo, X., Chen, J., Wang, Z., Lin, Z., Tang, H., Zhang, L., 2018. The Sequenced Angiosperm Genomes and Genome Databases. **Frontiers in Plant Science** **9**: 418.
- Cambra, M., Capote, N., Myrta, A., Llácer, G., 2006. Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease. **EPPO Bulletin**, **36**: 202–204.
- Chagné, D., Crowhurst, R.N., Pindo, M., vd. 2014. The draft genome sequence of European pear (*Pyrus communis* L. “Bartlett”). **PLoS One**, **9**: e92644.
- Cruz, F., Julca, I., Gómez-Garrido, J., vd. 2016. Genome sequence of the olive tree, *Olea Europaea*. **Science**, **5**: 29.
- Çağlayan., K., Ulubaş Serçe., Ç, Gazel, M., Polat, A., Voight, E., 2004. Reaction of Some Turkish Plum and Apricot Cultivars to Plum Pox Virus. **Journal of Turkish Phytopathology**, **33** (1-3): 19-24.
- Decroocq, S., Chague, A., Lambert, P., Roch, G., Audergon, J.M., Geuna, F., Chiozzotto, R., Bassi, D., Dondini, L., Tartarini, S., Salava, J., Krška, B., Palmisano, F., Karayiannis, I., Decroocq, V., 2014. Selecting with markers linked to the PPVres major QTL is not sufficient to predict resistance to Plum Pox Virus (PPV) in apricot. **Tree Genetics and Genomes**, **10**: 1161–1170.
- Decroocq, S., Cornille, A., Tricon, D., Babayeva, S., Chague, A., Eyquard, J.P., Karychev, R., Dolgikh, S., Kostriysyna, T., Liu, S., Liu, W., Geng, W., Liao, K., Asma, B.M., Akparov, Z., Giraud, T., Decroocq, V., 2016. New insights into the history of domesticated and wild apricots and its contribution to Plum pox virus resistance. **Molecular Ecology**. **25**: 4712–4729.

- Dondini, L., Lain, O., Vendramin, V., Rizzo, M., Vivoli, D., Adami, M., Guidarelli, M., Gaiotti, F., Palmisano, F., Bazzoni, A., Boscia, D., Geuna, F., Tartarini, S., Negri, P., Castellano, M., Savino, V., Bassi, D., Testolin, R., 2011. Identification of QTL for resistance to plum pox virus strains M and D in Lito and Harcot apricot cultivars. **Molecular Breeding**, **27**: 289–299.
- Dumanoğlu, H., Erdoğan, V., vd. 2019. Spring late frost resistance of selected wild apricot genotypes (*Prunus armeniaca* L.) from Cappadocia region, Turkey. **Scientia Horticulturae**. **246**: 347 – 353.
- Egea, J., Burgos, L., Martínez-Gómez, P., Dicenta, F., 1999. Apricot breeding for sharka resistance at the CEBAS-CSIC, Murcia (Spain). **Acta Horticulturae**, **488**: 153-157.
- Elibüyük, S.O., Erdiller, G., 1995. The susceptibility of some apricot and plum varieties to Plum pox (Sharka) virus, **Acta Horticulturae**, **384**: 549–552.
- Fan, B., Onteru, S.K., Du, Z.Q., Garrick, D.J., Stalder, K.J., Rothschild, M.F., 2011. Genome-wide association study identifies loci for body composition and structural soundness traits in pigs. **PLoS ONE** **6**: e14726.
- FASTQC: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Feugang, J.M., Kaya, A., Page, G.P., Chen, L., Mehta, T., vd. 2009. Two-stage genome-wide association study identifies integrin beta 5 as having potential role in bull fertility. **BMC Genomics** **10**: 176.
- Gordon, A., Hannon, G.J., 2010. Fastx-toolkit. http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/index.html
- Gülcan R., Mısırlı, A., Saatçi, N., Demir, T., Asma, B.M., Sağlam, H., Özlem, H., 2002. Melez Kayıslarda Pomolojik ve Biyokimyasal Özelliklerin Saptanması ve *Sclerotinia laxa*'ya Dayanımın Doğal Koşullarda Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar, TÜBİTAK TARP–2031. Nolu Proje.
- Gülcan, R., Mısırlı, A., Demir, S.T., 1994. Hacıhaliloğlu Kayısı Çeşidinin Melezleme Yoluyla Monilya (*Sclerotinia* (*Monilinia*) *laxa* Aderh et Ruhl) Hastalığına Dayanıklılık Islahı Üzerinde Araştırma, TOAG–806, TÜBİTAK.

- Gürcan, K., Ceylan, A., 2016a. Strain identification and sequence variability of plum pox virus in Turkey. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **40**: 746-760.
- Gürcan, K., Ceylan, A., 2016b. Full-genome analysis of Plum pox virus D isolates from Turkey. **Acta Horticulturae**, **1163**: 75–84.
- Gürcan, K., Teber, S., Çağlayan., K., 2018. Further investigation of a genetically divergent group of plum pox virus-M strain in Turkey. **Journal of Plant Pathology**, **101 (2)**: 385–391.
- Gürcan, K., Çetinsığ, N., Pınar, H., Macit, T., 2019. Molecular and biological assessment reveals sources of resistance to Plum pox virus-Turkey strain in Turkish apricot (*Prunus armeniaca*) germplasm. **Scientia Horticulturae** **252**: 348-353.
- Gürcan, K., Öcal, N., Uğurtan Y.K., Ullah, S., Erdogan F.A., Zengin, Y., 2015. Evaluation of Turkish apricot germplasm using SSR markers: Genetic diversity assessment and search for Plum pox virus resistance alleles. **Scientia Horticulturae**, **193**: 155–164.
- Halasz, J., Pedryc, A., Ercisli, S., Yilmaz, K.U., Hegedüs, A., 2010. S-genotyping Supports the Genetic Relationships between Turkish and Hungarian Apricot Germplasm. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, **135**: 410-417.
- Hayes, B.J., Bowman, P.J., Chamberlain, A.J., Savin, K., Van Tassell, C.P., Sonstegard, T.S., Goddard, M.E., 2009. A validated genome wide association study to breed cattle adapted to an environment altered by climate change. **PLoS ONE** **4**: e6676.
- Huang, X., Wei, X., Sang, T., Zhao, Q., Feng, Q., vd, 2010. Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. **Nature Genetics**, **42**: 961–967.
- Jaillon, O., Aury, J.M., Noel, B., vd. 2007. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. **Nature**, **449**: 463-468.

- Karayiannis, I., Thomidis, T., Tsaftaris, A., 2008. Inheritance of resistance to Plum Pox Virus in apricot (*Prunus armeniaca* L.), **Tree Genetics and Genomes**, **4**: 143–148.
- Karayiannis, I., 2006. Progress in apricot breeding for resistance to Sharka Disease (Plum Pox Virus, PPV) in Greece. **Acta Horticulturae**, **717**: 93-96.
- Karayiannis, I., Mainou, A., Tsaftaris, A., 1999. Apricot breeding in Greece for fruit quality and resistance to plum pox virus. **Acta Horticulturae**, **488**: 111–117.
- Kim, S., vd. 2007. Recombination and linkage disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*. **Nature Genetics**, **39**: 1151–1155.
- Krska, B., Salava, J., Polák, J., Komínek, P., 2002. Genetics of resistance to Plum pox virus in apricot, **Plant Protection Science**, **38**: 180-182.
- Kegler, H., Fuchs, E., Gruntzig, M., Schwarz, S., 1998. Some results of 50 years of research on the resistance to plum pox virus. **Acta Virologica**, **42**: 200–215.
- Kump, K.L., vd. 2011. Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. **Nature Genetics**, **43**: 163–168.
- Lalli, D.A., Abbott, A.G., Zhebentyayeva, T.N., Badenes, M., Damsteegt, V., Polak, J., Krska, B., Salava, J., 2008. A genetic linkage map for an apricot (*Prunus armeniaca* L.) BC1 population mapping *plum pox virus* resistance. **Tree Genetics and Genomes**, **4**: 481–493
- Lau, N.S., Makita, Y., Kawashima, M., vd. 2016. The rubber tree genome shows expansion of gene family associated with rubber biosynthesis. **Scientific Reports**, **6**: 28594.
- Lambert, P., Dicenta, F., Rubio, M., Audergon, J.M., 2007. QTL analysis of resistance to sharka disease in the apricot (*Prunus armeniaca* L.) ‘Polonais’, ‘Stark Early Orange’ F1 progeny. **Tree Genetics and Genomes**, **3**: 299–309.
- Lambert, P., Hagen L.S., Arús, P., Audergon, J.M., 2004. Genetic Linkage Maps of Two Apricot Cultivars (*Prunus armeniaca* L.) Compared with the Almond Texas X Peach Earlygold Reference Map for *Prunus*. **Theoretical and Applied Genetics**, **108**: 1120–1130.

- Ledbetter, C.A., 2010. Apricot Breeding in North America, Current Status and Future Prospects. **Acta Horticulturae**, **862**: 85-92.
- Llácer, G., Badenes, M.L., Romero, C., 2008. Problems in the determination of inheritance of Plum Pox Virus resistance in apricot. **Acta Horticulturae**, **781**: 263-267.
- Luo, R., Liu, B., Xie, Y., Li, Z., Huang, W., Yuan, J., He, G., Chen, Y., Pan, Q., Liu, Y., vd. 2012. SOAPdenovo2: an empirically improved memory-efficient short-read de novo assembler. **GigaScience**, **1**: 18.
- Mcnally, K.L., Childs, K.L., Bohnert, R., Davidson, R.M., Zhao, K., vd. 2009. Genome wide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **106**: 12273–12278.
- Ming, R., Hou, S., Feng, Y., vd. 2008. The draft genome of the transgenic tropical fruit tree papaya (*Carica papaya* Linnaeus). **Nature**, **452**: 991-997.
- Marandel, G., Salava, J., Abbott, A. G., Candresse, T., Decroocq, V., 2009a. Quantitative trait loci meta-analysis of Plum pox virus in apricot (*Prunus armeniaca* L.): new insights on the organization and the identification of genomic resistance factors. **Molecular Plant Pathology**, **10**: 347-360.
- Marandel, G., Pascal, T., Candresse, T., Decroocq, V., 2009b. Quantitative resistance to Plum pox virus in *Prunus davidiana* P1908 linked to components of the eucariotic translation initiation complex. **Plant Pathology**, **58**: 425-435.
- Mariette, E.S., Wong Jun Tai, F., Roch, G., Barre, A., Chague, A., Decroocq, S., Groppi, A., Laizet, Y., Lambert, P., Tricon, D., Nikolski, M., Audergon, J.M., Abbott, A.G., Decroocq, V., 2016. Genome-wide association links candidate genes to resistance to Plum Pox Virus in apricot (*Prunus armeniaca*). **New Phytologist**, **209**: 773–784.
- Martinez-Gomez, P., Dicenta, F., Audergon, J.M., 2000. Behaviour of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars in the presence of sharka (plum pox potyvirus): a review. **Agronomie**, **20** (4): 407-422.

- Mısırlı, A., Gülcan, R., Tengiz, F., 1995. Monilya hastalık etmeni ile inokule edilmiş melez bireylerde fenolik maddelerin durumu, *II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi* 1: 139-143.
- Naibin. D., Yang, Bai., Honghe, S., vd. 2017. Genome re-sequencing reveals the history of apple and supports a two-stage model for fruit enlargement. **Nature Communications**, **8**: 249.
- Nicolas, D., Jean, M.C., Gareth, L., vd. 2017. High-quality de novo assembly of the apple genome and methylome dynamics of early fruit development. **Nature Genetics**, **49**: 1099-1106.
- Nystedt, B., Street, N.R., Wetterbom, A., vd. 2013 The Norway spruce genome sequence and conifer genome evolution. **Nature**, **497**: 579-584.
- Paydaş, S., Eti, S., Gulcan, R., Derin, K., Yilmaz, K.U., 2006. In Vitro Investigations on Polen Quality, Production and Self Incompatibility of Some Apricot Varieties in Malatya Turkey. **Acta Horticulturae**, **701**: 75-80.
- Pilarova, P., Marandel, G., Decroocq, V., Salava. J., Krška, B., Abbott, AG., 2010. Quantitative trait analysis of resistance to Plum pox virus in the apricot F1 progeny ‘Harlayne’ × ‘Vestar’. **Tree Genetics and Genomes**, **6**: 467–475.
- Potter, D., Gao, F., Bortiri P.E., Oh, S.H., Baggett, S., 2002. Phylogenetic relationships in Rosaceae inferred from chloroplast matK and trnL- trnF nucleotide sequence data. **Plant Systematics and Evolution**, **231**: 77–89.
- Passaro, M., Geuna, F., Bassi, D., Cirilli, M., 2017. Development of a high-resolution melting approach for reliable and cost-effective genotyping of PPVres locus in apricot (*P. armeniaca*). **Molecular Breeding**, **37**(6).
- Polák, J., 1994. Breeding to resistance to plum pox potyvirus in the Czech Republic. **EPPO Bulletin**, **24**: 781–782.
- Polák, J., Oukropec, I., Komínek, P., Krška, B., Bitóová, M., 1997. Detection and evaluation of resistance of apricots and peaches to Plum pox virus. **Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz.**, **104**: 466–473.

- Rubio, M., Audergon, J.M., Martínez-Gómez, P., Dicenta, F., 2007. Testing genetic control hypothesis for Plum pox virus (Sharka) resistance in apricot, **Scientia Horticulturae**, **112**: 361-365.
- Rubio, M., Pascal, T., Bachellez, A., Lambert, P., 2010. Quantitative trait loci analysis of *Plum pox virus* resistance in *Prunus davidiana* P1908: new insights on the organization of genomic resistance regions. **Tree Genetics and Genomes**, **6**: 291–304.
- Rubio, M., Ruiz, D., Egea, J., Martínez-Gómez, P., Dicenta, F., 2014. “Opportunities of marker-assisted selection for Plum pox virus resistance in apricot breeding program. **Tree Genetics and Genomes**, **10**: 513–525.
- Rui, G., Yunpeng, Z., He, Z., vd. 2016. Draft genome of the living fossil *Ginkgo biloba*. **Science**, **5**: 49.
- Salojärvi, J., Smolander, O.P., Nieminen, K., vd. 2017. Genome sequencing and population genomic analyses provide insights into the adaptive landscape of silver birch. **Nature Genetics**, **49**: 904-912.
- Shirasawa, K., Isuzugawa, K., Ikenaga, M., vd. 2017. The genome sequence of sweet cherry (*Prunus avium*) for use in genomics-assisted breeding. **Oxford**. **24**: 499–508.
- Sicard, O., Marandel, G., Soriano, J.M., Lalli, D.A., Lambert, P., Salava, J., Badenes, M., Abbott, A., Decroocq, V., 2008. Flanking the major plum pox virus resistance locus in apricot with co-dominant markers (SSRs) derived from candidate resistance genes. **Tree Genetics & Genomes**, **4**: 359–365.
- Singh, R., Ong-Abdullah, M., Low, L., vd. 2013. Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in Old and New Worlds. **Nature**, **500**: 335-341.
- Stanke, M., Morgenstern, B., 2005. AUGUSTUS: a web server for gene prediction in eukaryotes that allows user-defined constraints. **Nucleic Acids Research**, **33**(suppl 2): W465-W467.
- Soriano, J.M., Domingo, M.L., Zuriaga, E., Romero, C., Zhebentyayeva, T., Abbott, A.G., Badenes, M.L., 2012. Identification of simple sequence repeat markers

tightly linked to plum pox virus resistance in apricot. **Molecular Breeding**, **30**: 1017–1026.

- Syrgiannidis, G., Mainou, A., 1991. Two new apricot varieties resistant to sharka (plum pox) disease created by crossing, in: *Deuxièmes rencontres sur l'abricotier*, Avignon, France, p. 136.
- Teber, S., Ceylan, A., Gürcan, K., Candresse, T., Ulubaş Serçe, Ç., Akbulut, M., Kaymak, S., Akbaş, B., 2019. Genetic diversity and molecular epidemiology of the T strain of Plum pox virus. **Plant Pathology**, **68**: 755-763.
- Teber, S., Gürcan, K., 2016. Recombination analysis of 51 PPV isolates including 10 genomes of PPV-M Istanbul. **Acta Horticulturae**, **1163**: 85-92.
- Tuskan, G.A., DiFazio, S., Jansson, S. vd. 2006. The Genome of Black Cottonwood, *Populus trichocarpa*. **Science**, **313**: 1596-1604.
- Unver, T., Wu, Z., Sterckc, L., vd. 2017. Genome of wild olive and the evolution of oil biosynthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **114** (44): E9413-E9422.
- Ulubaş Serçe, Ç., Candresse, T., Svanella-Dumas, L., Krizbai, L., Gazel, M., Çağlayan, K., 2009. Further characterization of a new recombinant group of Plum pox virus isolates, PPV-T, found in orchards in the Ankara province of Turkey. **Virus Research**, **142**: 121-126.
- Ulubaş Serçe, Ç., Gazel, M., Çağlayan, K., Asma, B.M., Badenes, M.L., 2013. Screening for resistance to plum pox virus in some local Turkish apricot cultivars and their crosses by molecular markers. **Acta Horticulturae**, **1063**: 123-128.
- Ünal, M.S., Şahin, M., Ölmez, H., Çelik, B., Asma, B.M., Baş, M., 1999. Soğuklara Dayanıklı Geç Çiçek Açan Kurutmalık Kayısı Çeşitlerinin Melezleme Yolu ile Elde Edilmesi (Aşama I)", TAGEM/IY/96–06–02–014.
- Ünek, C., 2015. Şeftali, Nektarin ve Kayıslarda Şarka Hastalığına Dayanıklılık Islahı Üzerine Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi, Adana, Doktora Tezi.
- Velasco, R., Zharkikh, A., Affourtit, J., vd. 2010. The genome of the domesticated apple (*Malus x domestica* Borkh.). **Nature Genetics**, **42**: 833-839.

- Venter, J.C., vd. 2001. The sequence of the human genome. **Science**, **291**: 1304–1351.
- Verde, I., Abbott, A., Scalabrin, vd. 2013. The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution. **Nature Genetics**, **45**: 487-496.
- Vera Ruiz, E.M., Soriano, J.M., Romero, C., Zhebentyayeva, T., Terol, J., Zuriaga, E., Ll acer, G., Abbott, A.G., Badenes, M.L., 2011. Narrowing down the apricot Plum pox virus resistance locus and comparative analysis with the peach genome syntenic region. **Molecular Plant Pathology**, **12**: 535–547.
- Vilanova, S., Romero, C., Abbott, A.G., Ll acer, G., Badenes, M. L., 2003. An apricot F2 progeny linkage map based on SSR and AFLP markers, mapping PPV resistance and self-incompatibility traits. **Theoretical and Applied Genetics**, **107**: 239-247.
- Yıldız, A., 1995. Bazı Yerli ve Yabancı Kayısı  eşitlerinde Melezleme Islahı  zerine Araştırmalar.  ukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Doktora Tezi.
- Yıldız, A., Kaşka, N., 1995. Sofralık Kayısı Islah  alışmalarından Elde Edilen Umutlu Tiplerin Bazı Kalite  zellikleri. *Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi* 1: 125–129.
- Wang, L., He, F., Huang, Y., He, J., Yang, S., Zeng, J., Deng, C., Jiang, X., Fang, Y., Wen, S., Xu, R., Yu, H., Yang, X., Zhong, G., Chen, C., Yan, X., Zhou, C., Zhang, H., Xie, Z., Larkin, R.M., Deng, X., Xu, Q., 2018. Genome of Wild Mandarin and Domestication History of Mandarin. **Molecular Plant**, **11**: 1024–1037.
- Wu, W., Yang, Y.L., He, W.M., vd. 2016. Whole genome sequencing of a banana wild relative *Musa itinerans* provides insights into lineage-specific diversification of the *Musa* genus. **Scientific Reports**, **6**: 31586.
- Xavier, A., Jerome, S., Jean, M.A., vd. 2011. The genome of *Theobroma cacao*. **Nature Genetics**, **43**: 101-108.
- Xu, Q., Chen, L.L., Ruan, X., vd. 2013. The draft genome of sweet orange (*Citrus sinensis*). **Nature Genetics**, **45**: 59-68.

- Yılmaz, K.U., Başbuğ, B., Gürcan, K., Pınar, H., Halasz, J., Ercişli, S., Uzun, A., Cocen, E., 2016. S-Genotype profiles of Turkish apricot germplasm. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 1: 67–71.**
- Yılmaz, K.U., Taner, O., Şahin, M., Sağlam Okur, N., Öztürk, B., Çelik, B., 2010. Kendiyle Uyuşmaz Aprikoz (Şalak) ve Şekerpare Kayısı Çeşitleri İçin Uygun Tozlayıcıların Belirlenmesi. **Alatarım, 9: 8-13.**
- Yılmaz, K.U., 2008. Phenological, morphological and pomological characteristics of some local apricot genotypes and determination of their genetic relationships and self-incompatibility by molecular markers”. Cukurova Univ. Adana, Turkey (in Turkish), Phd. Thesis.
- Zhang, Q., Chen, W., Sun, L., vd. 2012. The genome of *Prunus mume*. **Nature Communications, 3: 1318.**
- Zimin, A., Stevens, K.A., Crepeau, M.W., vd. 2014. Sequencing and Assembly of the 22-Gb Loblolly Pine Genome. **Genetics, 196: 875–890.**
- Zuriaga, E., Romero, C., Blanca, J.M., Badenes, M.L., 2018. Resistance to Plum Pox Virus (PPV) in apricot (*Prunus armeniaca* L.) is associated with down-regulation of two MATHd genes. **BMC Plant Biology, 18: 1–13.**
- Zuriaga, E., Soriano, J.M., Zhebentyayeva, T., Romero, C., Dardick, C., Cañizares, J., Badenes, M.L., 2013. Genomic analysis reveals MATH gene(s) as candidate(s) for Plum pox virus (PPV) resistance in apricot (*Prunus armeniaca* L.). **Molecular Plant Pathology, 14: 663–77.**



EKLER

EK 1. Fonksiyonu tanımlanan 12393 gen bölgesinin ilk 100 adetinin listesi

Accession	Description	Query	
		Query#	Length
XP_008227773.1	XP_008227773.1 PREDICTED: 60S ribosomal protein L6-like [Prunus mume]	1	233
XP_008236940.1	XP_008236940.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103335693 [Prunus mume]	1	89
XP_007206805.1	XP_007206805.1 licodione synthase [Prunus persica] PRUPE_6G086200 [Prunus persica]	1	569
XP_008229287.1	XP_008229287.1 PREDICTED: elongation factor Ts, mitochondrial [Prunus mume]	1	369
XP_008238454.1	XP_008238454.1 PREDICTED: phosphatidylserine decarboxylase proenzyme 1, mitochondrial isoform X1 [Prunus mume] XP_016651243.1 PREDICTED: phosphatidylserine	1	431

	decarboxylase proenzyme 1, mitochondrial isoform X1 [Prunus mume] XP_016651244.1 PREDICTED: phosphatidylserine decarboxylase proenzyme 1, mitochondrial isoform X2 [Prunus mume]		
XP_008223006.1	XP_008223006.1 PREDICTED: probable E3 ubiquitin-protein ligase LUL4 [Prunus mume]	1	428
	XP_008226621.1 PREDICTED: proton pump-interactor 1 isoform X1 [Prunus mume] XP_008226622.1 PREDICTED: proton pump-interactor 1 isoform X1 [Prunus mume]		
XP_008226621.1	XP_016648617.1 PREDICTED: proton pump-interactor 1 isoform X2 [Prunus mume]	1	536
	XP_008241487.1 PREDICTED: uncharacterized acetyltransferase At3g50280-like [Prunus mume]		
XP_008241487.1		1	445
XP_008226490.1	XP_008226490.1 PREDICTED: G patch domain-containing protein 8 [Prunus mume]	1	635
	XP_007207513.1 uncharacterized protein LOC18772805 [Prunus persica] XP_008243990.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103342169 [Prunus mume] XP_008243992.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103342171 [Prunus mume] XP_021800995.1 uncharacterized protein LOC110745222 isoform X1 [Prunus avium] XP_021800997.1 uncharacterized protein LOC110745222 isoform X2 [Prunus avium] ONI03000.1		
XP_007207513.1		1	96

hypothetical protein PRUPE_6G232500 [Prunus persica]				
XP_008219247.2	XP_008219247.2	PREDICTED: VIN3-like protein 2 [Prunus mume]	1	629
XP_021830293.1	XP_021830293.1	uncharacterized protein LOC110770462 [Prunus avium]	1	515
XP_008243039.1	XP_008243039.1	PREDICTED: probable inactive 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase AOP2 [Prunus mume]	1	316
XP_008223351.2	XP_008223351.2	PREDICTED: probable pectinesterase/pectinesterase inhibitor 47 [Prunus mume]	1	289
XP_021832524.1	XP_021832524.1	disease resistance protein RPP8-like [Prunus avium]	2	224
XP_008224300.1	XP_008224300.1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC103324042 [Prunus mume]	1	376
XP_008224371.1	XP_008224371.1	PREDICTED: electron transfer flavoprotein subunit beta, mitochondrial [Prunus mume]	1	246
XP_008224139.1	XP_008224139.1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC103323897 [Prunus mume]		
XP_008224139.1	XP_008224140.1	PREDICTED: uncharacterized protein LOC103323897 [Prunus mume]	1	802

XP_008236921.1	XP_008236921.1 PREDICTED: SNF1-related protein kinase regulatory subunit gamma-1-like isoform X2 [Prunus mume]	1	323
XP_007219016.1	XP_007219016.1 uncharacterized protein LOC18784838 [Prunus persica] ONI23255.1 XP_007219016.1 hypothetical protein PRUPE_2G177700 [Prunus persica]	1	343
XP_016648776.1	XP_016648776.1 PREDICTED: germinal center kinase 1 [Prunus mume]	1	719
XP_008226678.1	XP_008226678.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103326248 [Prunus mume]	1	378
XP_021812548.1	XP_021812548.1 myosin heavy chain, skeletal muscle [Prunus avium]	1	65
XP_021814092.1	XP_021814092.1 LOW QUALITY PROTEIN: FIP1[V]-like protein [Prunus avium]	1	1484
XP_008241468.1	XP_008241468.1 PREDICTED: protein RALF-like 34 [Prunus mume]	1	175
ONI04053.1	ONI04053.1 hypothetical protein PRUPE_6G299400 [Prunus persica]	1	120
XP_008226716.1	XP_008226716.1 PREDICTED: dynein light chain LC6, flagellar outer arm [Prunus mume]	1	94
XP_008234014.1	XP_008234014.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103332996 isoform X2 [Prunus mume] XP_016650188.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103332996 isoform X2	1	203

	[Prunus mume]		
XP_016648092.1	XP_016648092.1 PREDICTED: U11/U12 small nuclear ribonucleoprotein 25 kDa protein [Prunus mume]	1	216
XP_008225088.2	XP_008225088.2 PREDICTED: monothiol glutaredoxin-S17 [Prunus mume]	2	464
XP_008230141.1	XP_008230141.1 PREDICTED: pentatricopeptide repeat-containing protein At3g46790, chloroplastic-like [Prunus mume]	1	316
XP_008234600.1	XP_008234600.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103333529 [Prunus mume]	1	162
XP_008242969.1	XP_008242969.1 PREDICTED: CBL-interacting serine/threonine-protein kinase 6 [Prunus mume]	1	432
XP_008234199.1	XP_008234199.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103333182 [Prunus mume]	1	499
XP_008225981.1	XP_008225981.1 PREDICTED: 17.6 kDa class I heat shock protein-like [Prunus mume]	1	160
XP_016650011.1	XP_016650011.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC107881220 [Prunus mume]	1	95
ONI01883.1	ONI01883.1 hypothetical protein PRUPE_6G164700 [Prunus persica]	1	240

XP_007222946.1	annexin D5 [Prunus persica]	ONI35192.1	hypothetical protein		
	PRUPE_1G521500 [Prunus persica]	ONI35193.1	hypothetical protein		
	PRUPE_1G521500 [Prunus persica]	ONI35194.1	hypothetical protein		
XP_007222946.1	ONI35195.1	hypothetical protein	PRUPE_1G521500 [Prunus persica]	1	317
	XP_006384178.1	hypothetical protein	POPTR_0004s09260g, partial [Populus trichocarpa]		
XP_006384178.1	ERP61975.1	hypothetical protein	POPTR_0004s09260g, partial [Populus trichocarpa]	1	103
XP_008236907.1	XP_008236907.1	PREDICTED: protein	RADIALIS-like 3 [Prunus mume]	1	106
XP_008244205.1	XP_008244205.1	PREDICTED: bifunctional protein	Fold 1, mitochondrial [Prunus mume]	1	365
XP_008224150.1	XP_008224150.1	PREDICTED: 50S ribosomal protein	L28, chloroplastic [Prunus mume]	1	154
	XP_016648757.1	PREDICTED: uncharacterized protein	LOC103326284 isoform X3 [Prunus		
XP_016648757.1	mume]			1	274
OIV92414.1	OIV92414.1	hypothetical protein	TanjilG_23014 [Lupinus angustifolius]	1	895
XP_008225065.1	XP_008225065.1	PREDICTED: tetraspanin-19-like	[Prunus mume]	1	177
XP_008352605.1	XP_008352605.1	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: uncharacterized	acetyltransferase	1	337

	At3g50280-like [Malus domestica]		
KVI02679.1	KVI02679.1 SUMO-conjugating enzyme Ubc9 [Cynara cardunculus var. scolymus]	1	81
KRH20918.1	KRH20918.1 hypothetical protein GLYMA_13G209400 [Glycine max]	1	293
XP_008246305.1	XP_008246305.1 PREDICTED: serine/threonine-protein kinase haspin [Prunus mume]	1	629
XP_007222578.1	XP_007222578.1 protein EXORDIUM [Prunus persica] ONI35177.1 hypothetical protein PRUPE_1G520700 [Prunus persica]	1	331
XP_021813719.1	XP_021813719.1 CASP-like protein 4C1 [Prunus avium]	1	182
XP_008241488.2	XP_008241488.2 PREDICTED: transcription factor HEC2 [Prunus mume]	1	159
CAN83316.1	CAN83316.1 hypothetical protein VITISV_023579 [Vitis vinifera]	1	81
XP_007210268.1	XP_007210268.1 probable methyltransferase PMT21 [Prunus persica] XP_020418887.1 probable methyltransferase PMT21 [Prunus persica] ONI05720.1 hypothetical protein PRUPE_5G021100 [Prunus persica]	1	647
XP_007199679.1	XP_007199679.1 cellulose synthase A catalytic subunit 4 [UDP-forming] [Prunus persica]	1	1056

	ONH93170.1 hypothetical protein PRUPE_8G216900 [Prunus persica]		
XP_016651583.1	XP_016651583.1 PREDICTED: UDP-glycosyltransferase 74F2-like [Prunus mume]	1	409
	XP_007218507.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2 7 [Prunus persica] ONI24295.1		
XP_007218507.1	hypothetical protein PRUPE_2G232800 [Prunus persica]	1	206
	XP_007204206.1 leucine aminopeptidase 1 [Prunus persica] ONH98710.1 hypothetical		
XP_007204206.1	protein PRUPE_7G262900 [Prunus persica]	1	597
ONI33610.1	ONI33610.1 hypothetical protein PRUPE_1G435700 [Prunus persica]	1	646
	XP_008243031.1 PREDICTED: DNA-directed RNA polymerase 3, chloroplastic [Prunus		
XP_008243031.1	mume]	1	929
XP_021801202.1	XP_021801202.1 putative B3 domain-containing protein Os03g0621600 [Prunus avium]	1	206
	XP_007214284.2 uncharacterized protein At4g26485 [Prunus persica] ONI11899.1		
XP_007214284.2	hypothetical protein PRUPE_4G133400 [Prunus persica]	1	192
XP_016646984.1	XP_016646984.1 PREDICTED: glutamate receptor 2.7-like [Prunus mume]	1	845

XP_008246283.1	PREDICTED: glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase 4, chloroplastic isoform X2 [Prunus mume]	1	595
XP_008226127.1	XP_008226127.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103325722 [Prunus mume]	1	382
XP_007223872.1	XP_007223872.1 protein MIZU-KUSSEI 1 [Prunus persica] XP_008220157.1 PREDICTED: protein MIZU-KUSSEI 1 [Prunus mume] ONI33700.1 hypothetical protein PRUPE_1G441600 [Prunus persica]	1	233
XP_010913891.1	XP_010913891.1 PREDICTED: CMP-sialic acid transporter 2 isoform X3 [Elaeis guineensis]	1	360
XP_008232977.1	XP_008232977.1 PREDICTED: pentatricopeptide repeat-containing protein At3g61520, mitochondrial [Prunus mume]	1	776
XP_008234218.1	XP_008234218.1 PREDICTED: 60S ribosomal protein L36-3-like [Prunus mume]	1	118
XP_021831077.1	XP_021831077.1 uncharacterized protein LOC110771138 [Prunus avium]	1	429
XP_007201041.1	XP_007201041.1 aminoacylase-1 isoform X2 [Prunus persica] ONH92575.1 hypothetical protein PRUPE_8G181800 [Prunus persica]	1	440
XP_008235605.1	XP_008235605.1 PREDICTED: glutathionyl-hydroquinone reductase YqjG [Prunus mume]	1	397

	XP_020424286.1 probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At2g24230		
XP_020424286.1	[Prunus persica] ONH98700.1 hypothetical protein PRUPE_7G262300 [Prunus persica]	1	868
XP_008229851.1	XP_008229851.1 PREDICTED: apoptosis-inducing factor homolog B [Prunus mume]	1	281
	XP_007223433.1 uncharacterized protein LOC18789810 [Prunus persica] ONI26300.1		
XP_007223433.1	hypothetical protein PRUPE_1G015800 [Prunus persica]	1	169
XP_008243017.1	XP_008243017.1 PREDICTED: eukaryotic translation initiation factor [Prunus mume]	1	803
XP_008221173.1	XP_008221173.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103321169 [Prunus mume]	1	155
XP_008224008.1	XP_008224008.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103323774 [Prunus mume]	1	89
	XP_007219433.1 3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase 1 isoform X1 [Prunus persica]		
XP_007219433.1	ONI23771.1 hypothetical protein PRUPE_2G207200 [Prunus persica]	2	178
XP_021805718.1	XP_021805718.1 uncharacterized protein LOC110749832 [Prunus avium]	1	340
XP_008235583.1	XP_008235583.1 PREDICTED: uncharacterized protein LOC103334402 [Prunus mume]	1	126
XP_008240291.1	XP_008240291.1 PREDICTED: WUSCHEL-related homeobox 1 [Prunus mume]	1	403

XP_020410811.1	XP_020410811.1 uncharacterized protein LOC109946680 isoform X2 [Prunus persica]	1	272
XP_021820508.1	XP_021820508.1 disease resistance response protein 206-like [Prunus avium]	1	121
XP_008221282.1	XP_008221282.1 PREDICTED: L10-interacting MYB domain-containing protein-like [Prunus mume] XP_008221283.1 PREDICTED: L10-interacting MYB domain-containing protein-like [Prunus mume] XP_008221284.1 PREDICTED: L10-interacting MYB domain-containing protein-like [Prunus mume] XP_008221285.1 PREDICTED: L10-interacting MYB domain-containing protein-like [Prunus mume]	1	362
XP_016649830.1	XP_016649830.1 PREDICTED: cleavage and polyadenylation specificity factor subunit 2 isoform X3 [Prunus mume]	1	360
ONI04539.1	ONI04539.1 hypothetical protein PRUPE_6G326900 [Prunus persica]	1	80
ONI04052.1	ONI04052.1 hypothetical protein PRUPE_6G299300 [Prunus persica]	1	191
XP_007199807.1	XP_007199807.1 diaminopimelate decarboxylase 1, chloroplastic [Prunus persica] ONH91092.1 hypothetical protein PRUPE_8G092300 [Prunus persica]	1	503
XP_020411595.1	XP_020411595.1 pentatricopeptide repeat-containing protein At1g71490 [Prunus persica] ONI35714.1 hypothetical protein PRUPE_1G551000 [Prunus persica] ONI35715.1	1	509

	hypothetical protein PRUPE_1G551000 [Prunus persica] ONI35716.1 hypothetical protein PRUPE_1G551000 [Prunus persica]		
XP_008246302.1	PREDICTED: probable receptor-like protein kinase At5g18500 [Prunus mume]		
XP_008246303.1	PREDICTED: probable receptor-like protein kinase At5g18500 [Prunus mume]		
XP_008246304.1	PREDICTED: probable receptor-like protein kinase At5g18500 [Prunus mume]		
XP_008246302.1	At5g18500 [Prunus mume]	1	510
XP_008223382.1	PREDICTED: probable prefoldin subunit 3 [Prunus mume]		
XP_021808795.1	probable prefoldin subunit 3 [Prunus avium]	1	190
XP_008227841.1	XP_008227841.1 PREDICTED: stachyose synthase-like [Prunus mume]	1	884
XP_008245297.1	XP_008245297.1 PREDICTED: protein LURP-one-related 15-like [Prunus mume]	1	213
ONI06225.1	ONI06225.1 hypothetical protein PRUPE_5G048400 [Prunus persica]	1	127
XP_008240163.1	PREDICTED: peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP17-2, chloroplastic [Prunus mume]		
XP_008240163.1	[Prunus mume]	1	271
ONI13000.1	ONI13000.1 hypothetical protein PRUPE_4G196700 [Prunus persica]	1	108

XP_020418551.1 uncharacterized protein LOC109948957 [Prunus persica] XP_020418552.1			
XP_020418551.1	uncharacterized protein LOC109948957 [Prunus persica]	1	641
XP_008221947.1	XP_008221947.1 PREDICTED: D-cysteine desulfhydrase 2, mitochondrial [Prunus mume]	1	457
XP_021802114.1	XP_021802114.1 GDSL esterase/lipase At4g16230-like [Prunus avium]	2	473

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Saffet Teber
Uyuđu: Türkiye (T.C)
Doğum Tarihi ve Yeri: 09.06.1993 - Kayseri
Medeni Durum: Bekar
e-mail: saffetteber@gmail.com
Yazışma Adresi: -

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü	2019
Lisans	Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü	2016

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
-	-	-
-	-	-

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

1. Gürcan, K., Teber, S. (2016). Genotyping by Sequencing (GBS) in Apricots and Genetic Diversity Assessment with GBS-Derived Single-Nucleotide Polymorphisms (SNPs). *Biochemical Genetics*, no.54, ss 854-885

2. Teber, S., Gürcan, K. (2016). Recombination analysis of 51 PPV isolates including 10 genomes of PPV M Istanbul. *Acta horticulture*, (1163), ss 85-92

3. Gürcan, K., Teber, S., Çağlayan, K. (2019). Further investigation of a genetically divergent group of plum pox virus-M strain in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, (101) 2: ss 385-391

4. Teber, S., Ceylan, A., Gürcan, K., Candresse, T., Ulubaş Serçe, Ç., Akbulut, M., Kaymak, S., Akbaş, B. (2019). Genetic diversity and molecular epidemiology of the T strain of Plum pox virus. *Plant Pathology*, 68: ss 755–763

Sempozyum ve Kongreler

1. Gürcan, K., Teber, S., Ceylan, A., Candresse, T., Akbulut, M., Ulubaş Serçe, Ç., Kaymak, S., Akbaş, B., Akbaş, L. (2018). PPV-T izolatlarının tüm genom analizi; Türkiye'de PPV-T izolatlarının kökeni ve yayılma rotası. *Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 14-17 Kasım 2018, Muğla, Türkiye, Özet Kitapçığı* ss 103

2. Teber, S., Uzun, A., Gürcan, K. (2018). Kutdiken limon (Citrus lemon) çeşidinde virom analizi. *Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 14-17 Kasım 2018, Muğla, Türkiye, Özet Kitapçığı* ss 91

3. Canbulat, O., Gürcan, K., Teber, S., Olmos, A., Ruiz García, A.B., Çağlayan, K. (2018). Kayısı (Prunus armeniaca) transkriptom veri analizi ile hastalık etmenlerinin belirlenmesi. *Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 14-17 Kasım 2018, Muğla, Türkiye, Özet Kitapçığı* ss 88

4. Çetinsığ, N., Canbulat, O., Köse, M.A., Teber, S., Caymaz, F., Gürcan, K. (2018). Yerel Kayısı (Prunus armeniaca) Popülasyonlarında Plum Pox Virüsü Dayanıklılığı ve Kendine Uyuşmazlığın Moleküler Markörler ile Belirlenmesi. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi 1. Bitki Islahı ve Genetiği Öğrenci Kongresi Niğde (Tukey), Özet Kitapçığı* ss 20

5. Teber, S., Gürcan, K. (2018) Hacıhaliloğlu Kayısı (Prunus armeniaca) Çeşidinin Tüm Kloroplast Genom Analizi. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi 1. Bitki Islahı ve Genetiği Öğrenci Kongresi Niğde (Tukey), Özet Kitapçığı* ss 18

6. Canbulat, O., Çetinsığ, N., Köse, M.A., Teber, S., Caymaz, F., Gürcan, K. (2018). Goji berry 'de in vitro Bitki Rejenerasyon Protokolünün Oluşturulması. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi 1. Bitki Islahı ve Genetiği Öğrenci Kongresi Niğde (Tukey), Özet Kitapçığı* ss 25

7. Gürcan, K., Teber, S., Yılmaz, K.U. (2016). Susceptibility of SEO Harlayne type resistant apricot cultivars to PPV T. *III International Symposium on Horticulture in Europe SHE2016, 17-21 October, 2016, Chania, Crete (Greece), Abstract book* ss 75

8. Gürcan, K., Teber, S. (2016). Türkiye Plum pox virus PPV Haritası. *Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi. Konya, Özet Kitapçığı* ss 765
9. Gürcan, K., Ceylan, A., Teber, S. (2015). Plum Pox Virus with a High Diversity are Prevalent in Turkey. *International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Disease of Fruit Crops. Japonya, 8-12 Haziran 2015, Abstract book* ss 49
10. Teber, S., Gürcan, K., Koç, A., Bostancı, D., Akçadağ, M., (2015). Natural Stone Fruit Hosts of Plum Pox Virus strain Turkey. *International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Disease of Fruit Crops. Japonya, 8-12 Haziran 2015, Abstract book* ss 48
11. Gürcan K., Teber Saffet., Canbulat O., Çağlayan K. (2017). Molecular characterization and genetic diversity of Plum pox virus strains in Thrace region of Turkey. *24th International Conference on Virus and Other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops. June 2017. Thessaloniki (Greece), Abstract book* ss 97