



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI *Ribes* L. (Grossulariaceae) TAKSONLARININ  
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Ayşe Gül ÇELENK

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

Danışman

Doç. Dr. Tamer ÖZCAN

İmzası

Nisan, 2015

İSTANBUL

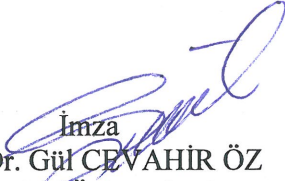
Bu çalışma 13/04/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Botanik programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi:**



İmza

Doç. Dr. Tamer ÖZCAN (Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



İmza

Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



İmza

Prof. Dr. Mahmut ÇALIŞKAN  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



İmza

Doç. Dr. Gülriz BAYÇU  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



İmza

Doç. Dr. Gülşah ÇOBANOĞLU  
Marmara Üniversitesi  
Fen Edebiyat Fakültesi

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterlięinin 14821 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca, bilgi ve deneyimleriyle beni destekleyen ve yönlendiren değerli hocam Doç. Dr. Tamer ÖZCAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimde kullandığım bitkilerin temininde bana yol gösterici olan Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi Dekan Yardımcısı Prof. Dr. Salih TERZİOĞLU'na, tecrübelerinden yararlandığım Prof. Dr. Ömer Naci SOYKAN'a, arazi çalışmalarında yanımda bulunan ve desteğini esirgemeyen kuzenim Eda Soykan'a, Trabzon ve Rize'deki arazi çalışmalarında gayretlerinden ötürü Murat FİDAN, Fatih ERDOĞAN ve Arif ATACAN'a, Bursa ve çevresindeki arazi çalışmalarında yardım eden ağbim Mahir Sinan ÇELENK'e, Doğu Karadeniz'deki arazi çalışmalarım sırasında misafirperverlikleri ve yardımseverlikleri için bölge sakinlerine en içten teşekkürlerimi sunarım.

Moleküler çalışmalarında Sayın Doç. Dr. Yelda ÖZDEN ÇİFTÇİ, Sayın Dr. Hülya AKDEMİR, ve Öğr. Gör. Veysel SÜZERER'e uzun deney saatleri boyunca ilgi ve alakalarını esirgemedikleri için teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında yardımını ve manevi desteğini esirgemeyen, SEM ve herbaryum çalışmalarında ayrıca katkıda bulunan değerli arkadaşım Araş. Gör. Almila ÇİFTÇİ'ye çok teşekkür ederim.

Yine çalışmalarım esnasında katkıda bulunan sevgili arkadaşlarım Şener ÇETİN, Tolga AKYÜZ, Alican AKYÜZ, Deniz KÖM, Berk BAŞTUĞ, Bahar İLİK ve Kemal KURAL'a çok teşekkür ederim.

Ve son olarak; yaşamım boyunca bana her alanda göstermiş oldukları sevgi ve fedakarlıkları için sevgili aileme sonsuz teşekkürler ederim.

Nisan, 2015

Ayşe Gül ÇELENK

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

|                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖNSÖZ.....                                                                          | i   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                   | ii  |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                                                  | iv  |
| TABLO LİSTESİ .....                                                                 | vi  |
| SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ .....                                                     | vii |
| ÖZET.....                                                                           | ix  |
| SUMMARY .....                                                                       | xi  |
| 1. GİRİŞ .....                                                                      | 1   |
| 2. GENEL KISIMLAR .....                                                             | 4   |
| 2.1. <i>RIBES</i> L. CİNSİNİN MORFOLOJİSİ.....                                      | 4   |
| 2.2. <i>RIBES</i> L. CİNSİNİN TAKSONOMİSİ .....                                     | 5   |
| 2.3. <i>RIBES</i> L. CİNSİNİN ÖNEMİ.....                                            | 7   |
| 2.4. MOLEKÜLER MARKÖRLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ .....                                 | 7   |
| 2.4.1. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU .....                                            | 8   |
| 2.4.1.1. <i>Standart PZR Programı</i> .....                                         | 9   |
| 2.4.1.2. <i>PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi</i> .....                                | 9   |
| 3. MALZEME VE YÖNTEM .....                                                          | 11  |
| 3.1. ARAZİ ÇALIŞMALARI.....                                                         | 11  |
| 3.2. BİTKİ MATERYALLERİNİN MORFOLOJİK ANALİZLER İÇİN HAZIR<br>HALE GETİRİLMESİ..... | 12  |
| 3.3. BİTKİ MATERYALLERİNİN MOLEKÜLER ANALİZLER İÇİN HAZIR<br>HALE GETİRİLMESİ.....  | 15  |
| 3.4. TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM) .....                                       | 16  |
| 3.5. GENOMİK DNA İZOLASYONU VE MİKTAR TAYİNİ .....                                  | 17  |
| 3.6. SSR REAKSİYONU .....                                                           | 18  |
| 3.7. POLİAKRİLAMİD JEL ELEKTROFOREZİ (PAGE).....                                    | 20  |
| 3.7.1. Poliakrilamid Jel Hazırlığı .....                                            | 20  |
| 3.7.2. Poliakrilamid Jelin Gümüş Nitrat ile Boyanması .....                         | 21  |
| 3.7.3. Poliakrilamid Jel Elektrofrezinde Kullanılan Çözeltilerin İçerikleri .....   | 22  |

|                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.7.3.1. %6'lık Poliakrilamid Jel Çözeltisi .....                               | 22        |
| 3.7.3.2. Gümüş Nitrat Çözeltisi .....                                           | 22        |
| 3.7.3.3. %10'luk Asetik Asit Çözeltisi .....                                    | 22        |
| 3.7.3.4. Geliştirme (Developing) Çözeltisi .....                                | 22        |
| 3.7.3.5. Sodyum Tiyosülfat Çözeltisi .....                                      | 22        |
| 3.7.3.6. %25'lik Amonyum Persülfat Çözeltisi.....                               | 22        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                                                        | <b>23</b> |
| 4.1. SEM BULGULARINA GÖRE TOHUM NUMUNELERİNİN YÜZEY<br>MİKROMORFOLOJİLERİ ..... | 23        |
| 4.2. SSR VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....                                     | 30        |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>                                                | <b>33</b> |
| 5.1. SSR ANALİZLERİ SONUCU ELDE EDİLEN DENDOGRAMIN<br>DEĞERLENDİRİLMESİ .....   | 33        |
| 5.2. RİBES ÖRNEKLERİNİN TOHUM YÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRMESİ .                    | 36        |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                          | <b>38</b> |
| <b>EKLER.....</b>                                                               | <b>41</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                                            | <b>47</b> |

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

|                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1: <i>Ribes</i> taksonlarının Türkiye'deki yayılışları. ....                                                                                | 6  |
| Şekil 3.1: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40811). ....                                                                                              | 13 |
| Şekil 3.2: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40812). ....                                                                                              | 13 |
| Şekil 3.3: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40813). ....                                                                                              | 13 |
| Şekil 3.4: <i>R. uva-crispa</i> L. (ISTF No: 40814). ....                                                                                           | 13 |
| Şekil 3.5: <i>R. biebersteinii</i> Berl. ex DC. (ISTF No: 40815). ....                                                                              | 14 |
| Şekil 3.6: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40816). ....                                                                                              | 14 |
| Şekil 3.7: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40817). ....                                                                                              | 14 |
| Şekil 3.8: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40818). ....                                                                                              | 14 |
| Şekil 3.9: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40819). ....                                                                                              | 15 |
| Şekil 3.10: <i>R. biebersteinii</i> Berl. ex DC. (ISTF No: 40820). ....                                                                             | 15 |
| Şekil 3.11: <i>Ribes</i> taksonlarının 10 örneğine ait gDNA, B: Belirteç. ....                                                                      | 18 |
| Şekil 4.1: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40813), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000). ....                 | 24 |
| Şekil 4.2: (ISTF No: 40814), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000). ....                                      | 25 |
| Şekil 4.3: <i>R. biebersteinii</i> Berl. ex DC. (ISTF No: 40815), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000). .... | 26 |
| Şekil 4.4: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40811), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000). ....                 | 27 |
| Şekil 4.5: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40816), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000). ....                 | 28 |
| Şekil 4.6: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40818), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000). ....                 | 29 |
| Şekil 4.7: <i>R. alpinum</i> L. (ISTF No: 40819), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000). ....                 | 30 |

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 4.8:</b> 10 <i>Ribes</i> L. taksonundan elde edilen dendogram ..... | 32 |
|------------------------------------------------------------------------------|----|

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa No

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 2.1:</b> PZR çalışması için gerekli olan tüm bileşenler. ....                | 8  |
| <b>Tablo 3.1:</b> Herbaryum örneklerinin ISTF numaraları. ....                        | 11 |
| <b>Tablo 3.2:</b> Moleküler analizlerde kullanılan taksonların ISTF numaraları. ....  | 16 |
| <b>Tablo 3.3:</b> Genomik DNA'ların derişimleri. ....                                 | 18 |
| <b>Tablo 3.4:</b> Amplifikasyon reaksiyonunda kullanılan bileşikler. ....             | 19 |
| <b>Tablo 3.5:</b> SSR analizinde kullanılan primer çiftlerinin baz dizileri.....      | 19 |
| <b>Tablo 4.1:</b> SEM ile fotoğrafları çekilen tohumların ISTF numaraları. ....       | 23 |
| <b>Tablo 4.2:</b> 10 farklı <i>Ribes</i> örnekleri arasındaki benzerlik oranları..... | 31 |

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

| Simgeler          | Açıklama                       |
|-------------------|--------------------------------|
| APS               | : Amonyum Persülfat            |
| dH <sub>2</sub> O | : Distile Su                   |
| dk                | : Dakika                       |
| g                 | : Gram                         |
| HCl               | : Hidroklorik Asit             |
| KCl               | : Potasyum Klorür              |
| L                 | : Litre                        |
| Mg                | : Magnezyum                    |
| mg                | : Miligram                     |
| MgCl <sub>2</sub> | : Magnezyum Klorür             |
| ml                | : Mililitre                    |
| mM                | : Milimolar                    |
| ng                | : Nanogram                     |
| pH                | : Asitlik veya Bazlık Derecesi |
| rpm               | : Dakikada Döngü Sayısı        |
| sn                | : Saniye                       |
| U                 | : Ünite                        |
| UV                | : Ultraviyole                  |
| V                 | : Volt                         |
| Λ                 | : Lambda                       |
| %                 | : Yüzde işareti                |
| °C                | : Derece Santigrat             |
| μl                | : Mikrolitre                   |

| Kısaltmalar | Açıklama                                      |
|-------------|-----------------------------------------------|
| AFLP        | : Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi      |
| ALP         | : Amplikon Uzunluk Polimorfizmi               |
| bç          | : Baz çifti                                   |
| CAPS        | : Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik DNA Dizileri |
| dATP        | : Deoxy Adenosine Trifosfat                   |
| dCTP        | : Deoxy Cytidine Trifosfat                    |
| dGTP        | : Deoxy Guanosine Trifosfat                   |
| DNA         | : Deoksiribonükleik Asit                      |
| dNTP        | : Deoksiribonükleosid Trifosfat               |
| dTTP        | : Deoxy Thymidine Trifosfat                   |
| ESTs        | : İfade Edilmiş Dizi Etiketleri               |
| F           | : Forward (İleri)                             |
| gDNA        | : Genomik DNA                                 |
| ISSR        | : Basit İç Dizi Tekrarları                    |

|              |                                                            |
|--------------|------------------------------------------------------------|
| <b>ISTE</b>  | : İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu     |
| <b>ISTF</b>  | : İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu           |
| <b>IZEF</b>  | : Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu          |
| <b>KATO</b>  | : Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi Herbaryumu |
| <b>L.</b>    | : Linne                                                    |
| <b>MVSP</b>  | : Çok Değişkenli İstatiksel Paketi                         |
| <b>PAGE</b>  | : Poliakrilamid Jel Elektroforezi                          |
| <b>PZR</b>   | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu                              |
| <b>R</b>     | : Reverse (Geri)                                           |
| <b>RAPD</b>  | : Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA                      |
| <b>RFLP</b>  | : Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi                  |
| <b>RNAse</b> | : Ribonükleaz                                              |
| <b>SEM</b>   | : Taramalı Elektron Mikroskopu                             |
| <b>SNP</b>   | : Tek Nükleotit Polimorfizmi                               |
| <b>SSCP</b>  | : Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi                     |
| <b>SSR</b>   | : Basit Dizi Tekrarları                                    |
| <b>STS</b>   | : Dizisi Etiketlenmiş Alanlar                              |
| <b>TAE</b>   | : Tris / Acetate / EDTA                                    |
| <b>Taq</b>   | : <i>Thermus aquaticus</i>                                 |
| <b>TBE</b>   | : Tris / Borate / EDTA                                     |
| <b>TEMED</b> | : Tetramethyl Ethylene Diamine                             |
| <b>UPGMA</b> | : Çift Grup Aritmetik Ortalama Metodu                      |
| <b>UPLC</b>  | : Ultra Performans Sıvı Kromatografisi                     |
| <b>ZTBB</b>  | : Zeytinburnu Tıbbi Bitkiler Bahçesi                       |

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### BAZI *Ribes* L. (Grossulariaceae) TAKSONLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Ayşe Gül ÇELENK

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tamer ÖZCAN

Dünya’da çeşitli *Ribes* L. taksonları ve kültür varyetelerinde; mikrosatellit (SSR) ISSR, RAPD, AFLP ve diğer markör çeşitlerine dayalı genotip analizleri ve zararlı böceklere dirençli ırkların seleksiyonuna ilişkin birçok araştırma yayınlanmış olmasına karşın, Türkiye’de doğal yayılış gösteren taksonlar ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlıdır.

Bu nedenle ülkemizde geniş yayılış gösteren ve farklı türlere ait zengin yerel populasyonlar ve çeşitli kültür varyeteleriyle temsil edilen *Ribes* taksonlarında, söz konusu çeşitliliğin PZR’ye dayalı SSR moleküler markör tekniği kullanılarak aydınlatılması ve cinsin moleküler karakterizasyonuna katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında; arazi gezileri düzenlenmiştir. Ulaşılabilen taksonlardan alınan örnekler preslenerek kurutulmuş, dekontaminasyon işleminden geçirilerek herbaryum materyali haline getirilmiştir. Taksonlara ait tohum numunelerinin yüzey mikromorfolojileri SEM (Taramalı Elektron Mikroskopu) kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen bulgular; yeterince araştırılmamış taksonların kimliklendirilmesinde sabit ve güvenilir veriler sunmuştur.

Bu çalışma kapsamında doğal populasyonlarından toplanan 5 *Ribes alpinum* L., 2 *Ribes bieberstenii* Berl. ex DC., 1 *Ribes uva-crispa* L. ve ZTBB’den alınan 2 *Ribes rubrum* L. taksonlarının yaprak örneklerinden taksonomik sınırları ve tür içi varyasyonları gözlemlemek amacıyla genomik DNA’lar izole edilmiş, SSR primerleri kullanılarak genetik materyal PZR ile çoğaltılmış, poliakrilamid jel elektroforezinde yürütülmüş, bant profillerindeki farklılıklar analiz edilerek dendrogramları hazırlanmış, taksonlar arasındaki polimorfizm ve genotipik varyasyonlar ortaya konmuştur. Çalışmadaki

verilere dayanarak, *Ribes* örneklerinin türler arası ve tür içi düzeylerde taksonomik ve filocoğrafik ilişkilerini gösteren bir ayırımı sağlanmıştır. Elde edilen bulguların *Ribes* cinsinin taksonomisine katkı sağlamasının yanısıra, Anadolu'daki *Ribes* gen havuzunun karakterizasyonunda ve ıslah çalışmalarında uygun genotiplerin seçilmesi amacıyla tamamlayıcı veriler olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Nisan 2015, 59 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** *Ribes*, Polimorfizm, Karakterizasyon, Filogenetik, Mikromorfoloji.

## **SUMMARY**

**M. Sc. THESIS**

### **MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME *Ribes* L. (Grossulariaceae) TAXA**

**Ayşe Gül ÇELENK**

**İstanbul University**

**Institute of Graduate Studies in Science and Engineering**

**Department of Biology**

**Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Tamer ÖZCAN**

Although a vast number of studies on genotype analysis based upon microsatellite (SSR), ISSR and RAPD, AFLP and other marker kinds, and the selection of races that are resistant to harmful insects have been made in diverse *Ribes* L. taxa and culture varieties around the world, studies on naturally growing taxa in Turkey have been quite limited.

For this reason, the aim of this study is that the diversity of the species are to be clarified by using SSR molecular marking techniques based upon PCR, and the molecular characterization of the species are to be contributed in the rich local populations belonging to different species and showing a wide spread in Turkey, and moreover *Ribes* taxa represented in diverse culture varieties.

Field excursions were organized in the focus and scope of the study. Samples taken from reached taxa were dried by pressing operation and transformed into herbarium material by passing through decontamination process. The surface micromorphologies of the taxa seed samples were analyzed by use of SEM (Scanning Electron Microscope). The findings of this study have presented stable and reliable data regarding the identification of the taxa that have not been studied sufficiently until today.

In the scope of this study, for the purpose of observing the taxonomic boundaries and intraspecific variations, the genomic DNA's were extracted, the genetic material was reproduced with PCR by use of SSR primers and amplified on the polyacrylamide gel electrophoresis, the differences on the tape profiles were analysed and their dendrograms were prepared, and finally the polymorphism amongst the taxa and the

genotypic variations were determined through the leaf samples of 5 *Ribes alpinum* L., 2 *Ribes bieberstenii* Berl. ex DC., 1 *Ribes uva-crispa* L., all obtained from natural populations and 2 *Ribes rubrum* L. taxa taken from ZTBB. On the basis of the findings of this study, a segregation showing the taxonomical and phylogeographical relationships of the *Ribes* samples at specific and intraspecific levels has been suggested. The findings of this study have contributed to the taxonomy of the *Ribes* species and are considered to be useful information to be applied as complementary data to select the proper genotypes in the breeding programs and for the characterisation of the *Ribes* gen pool in Anatolia as well.

April 2015, 59 pages.

**Keywords:** *Ribes*, Polymorphism, Characterization, Phylogenetic, Micromorphology.

## 1. GİRİŞ

Türkiye, mevcut bitkisel çeşitliliği yönünden oldukça dikkate değer ve zengin bir floraya sahiptir. Bu zenginlik; üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güney Batı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşma merkezlerinin Anadolu'da bulunması, habitat çeşitliliği ile ekolojik ve fitocoğrafik özelliklerinden dolayı tür endemizminin yüksek oluşundan ileri gelmektedir (Tan, 1992). Üzümsü meyva olarak kullanılmakta olan taksonların birçoğu da Türkiye'de doğal olarak yetişmektedir. Bu meyvalar vitamin ve mineral içerikleri bakımından zengin, insan sağlığı açısından da önemli olup gıda sektöründeki kullanımı da giderek artmaktadır. Üzümsü meyvalara sahip familyalardan biri de Grossulariaceae'dir (Güvenç ve Kendir, 2012). Frenk üzümü (*Ribes* L.), bir Grossulariaceae familyası cinsidir ve içerisinde 200'e yakın farklı türü barındırır. Kuzey Yarımküre'nin ılıman bölgelerinde doğal olarak bulunan Frenk Üzümlü, özellikle Kuzey Amerika'nın ılıman bölgelerinde, Avrasya ve And Dağları çevresinde çeşitlilik gösterir. Çeşitliliğin en fazla görüldüğü kıta Kuzey Amerika (yaklaşık 70 tür) olup, Avrupa kıtasında bugüne kadar 16 farklı tür sınıflandırılmıştır. Avrupa türlerinin yalnızca birkaç tanesi, Kuzeybatı Afrika'nın Akdeniz Bölgesi'nde bulunmaktadır. Bu bitki birbiri ardına sıralı, yalın, genellikle palmatsız loblu yapraklara sahip, stipulasız ya da yaprak sapına bitişik küçük kulakçıkları (stipula) bulunan bir çalıdır. Frenk üzümünün, çiçek durumu salkımsıdır ve çiçekleri hermafrodit ya da dioik, aktinomorf, epigindir. Hipantiyumun genellikle renkli olduğu göze çarpar. Çanak yaprağı ve çiçek yaprağı 4-5 adet ve bağımsızdır. Anter ise 4-5 adettir ve çiçek yapraklarının ardında bulunur. Ovaryum 2 karpelli, plasentasyon parietal ve alt tarafta birleşmiş, çok sayıda tohum taslağına sahiptir. Üzümsü meyvanın ucunda kaliks kalıcı olup, tohumları bol endospermlidir (Chamberlain, 1972).

*Ribes*'in çok sayıda altcins sınıflandırılması teklif edilmiş olsa da, Janczewski (1907) ve Berger (1924), *Ribes* ve *Grossularia*'ya farklı iki grup olarak yaklaşmış ve *Ribes* L. cinsine ait 9 altcins tespit etmiştir (Messinger ve diğ.,1999). *Ribes* ve

*Grossularia*'nın monofiletik kökenleri, 18-26S nukleuslu rDNA, ITS, ETS bölgeleri, kloroplasttaki psbA-trnH genler arası aralıklar (Schultheis ve diğ., 2004) baz alınarak önerilmiştir. Diğer yandan *Ribes*'in altcins analizlerinde ITS bölgelerinin sekans bulguları, *Berisia*, *Calobotrya*, *Coreosma* ve *Grossularia*'nın *Ribes* içinde başlıca aynı atadan gelen birkaç grup olduğunu açıklığa kavuşturmuştur (Messinger ve diğ., 1999).

Editörlüğünü P. H. DAVIS'in yaptığı Türkiye Florası adlı eserde *Ribes rubrum* L., *R. biebersteinii* Berl. ex DC., *R. nigrum* L., *R. uva-crispa* L., *R. alpinum* L., *R. orientale* Desf., *R. multiflorum* Kit. ex Romer & Schultes olmak üzere Türkiye'de 7 tür yer almaktadır (Chamberlain, 1972). Bu türlere ilave olarak 2001 yılında Lütfi Behçet tarafından Doğu Anadolu Bölgesi'nde *R. anatolica* Behçet yeni tür olarak yayınlanmıştır (Behçet, 2001). Türkiye'de *Ribes* L. cinsine ait 8 tür yetişmekte olup, birçok türü florada kültür bitkisi olarak yer almaktadır. Ülkemizde doğal yayılış gösteren *Ribes* taksonları ile ilgili kısıtlı sayıda çalışma olmasına karşın son yıllarda bu sayının artış gösterdiği dikkat çekmektedir. Frenk üzümünden (*Ribes* L.) üretilen reçel ve marmelatın fitokimyasal özelliklerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmada, frenk üzümü meyvalarının değerlendirilme yöntemlerinden olan reçel ve marmelata işlenmesi ve elde edilen ürünlerin depolama süresince toplam fenolik madde, toplam antosiyanin ve antioksidan kapasitesi gibi beslenme ve sağlık açısından son derece önemli fitokimyasal özelliklerindeki değişimleri incelenmiş ve besleyici özellikleri ortaya konulmuştur (Kaya ve Esin, 2011). Kaplan ve Akbulut (2006) Samsun Çarşamba Ovası koşullarına uygun frenk üzümü çeşitlerinin belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, suda çözünebilir kuru madde bakımından siyah frenk üzümünün, kırmızı frenk üzümlerine göre daha büyük değere sahip olduğu, buna karşın titrasyon asitliği bakımından ise, kırmızı frenk üzümünün, siyah frenk üzümlerinden daha yüksek değer gösterdiğini bildirmiştir. Kendir ve diğ. (2011), UPLC yöntemi ile *Ribes uva-crispa* L. yapraklarında rutin ve klorojenik asit tayini ve antioksidan etkinin belirlenmesi üzerine, Dinç ve diğ. (2011) ise, CWT sinyal yöntemi ile *Ribes uva-crispa* L. yapraklarında rutin ve klorojenik asitin kantitatif analizi üzerine farmasötik botanik ve vejetatif organlarda ve meyvalarda bazı morfolojik karakterler (Eyduran ve Ağaoğlu, 2007) yönünden araştırmalar yapmışlardır.

Dünya’da *Ribes* taksonları ve kültür varyetelerinde meyvaların uçucu bileşikleri (Kampus ve diğ., 2008), yağ asitleri ve meyva suyu karakteristikleri (del Castillo ve diğ., 2004), antioksidan bileşikleri (Moyer ve diğ., 2002), tohumlarında yağ asitleri bileşimleri (del Castillo ve diğ., 2004), antiviral aktiviteleri (Sekizawa, 2013), sağlık açısından katkıları (Wu ve diğ., 2004) gibi besin kalitesine yönelik çalışmaların yanı sıra, çeşitli kültür varyetelerinde mikrosatellit (Cavanna ve diğ., 2009), ISSR ve RAPD markörlerine dayalı genotip analizleri (Korbin ve diğ., 2002; Brennan ve diğ., 2002), zararlı böceklere dirençli ırkların seleksiyonu amacıyla AFLP markörlerinin kullanımına ilişkin çok sayıda araştırma (Brennan ve diğ., 2009) yayınlanmıştır.

*Ribes* cinsi ülkemizde nispeten az sayıda tür ile temsil edilmekle birlikte, taksonomik açıdan yakın ilişkili türlerin ilave ve güvenilir parametrelerle sınıflandırılması ve geniş areallere sahip türlerin populasyon düzeyinde varyasyonlarının araştırılması önem taşımaktadır. Bu çalışma ile Dünya’da kullanımı gittikçe yaygınlaşan ve üzerinde yapılan çalışmalar gün geçtikçe artan *Ribes* L. cinsinin ülkemizde zengin yerel populasyonları ve kültür varyeteleriyle temsil edilen ve moleküler açıdan yeterince araştırılmamış olan *R. biebersteinii* Berl. ex DC., *R. alpinum* L., *R. uva-crispa* L. (Bektaşi üzümü), *R. rubrum* L. (Mercan üzümü) taksonlarında (Baytop, 1999), PZR’ye dayalı mikrosatellit (SSR) moleküler markör tekniği kullanılarak taksonomik ilişkilerin revize edilmesi ve bazı yerel populasyonların kimliklendirilmesiyle ülkemizin *Ribes* gen havuzundaki moleküler polimorfizmin aydınlatılmasına sabit ve güvenilir veriler ile katkı sağlanması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. *RIBES* L. CİNSİNİN MORFOLOJİSİ

*Ribes* cinsi üyeleri, çalı formunda bitkilerdir. Yaprakları alternat, basit, genellikle palmat loblara sahip, stipulasız veya petiyolle birleşik küçük stipüllere sahiptir. Çiçek durumu rasemozdur. Çiçekler hermafrodit ya da dioik, aktinomorf, epigindir. Hipantiyum göze çarpar, sıklıkla renklidir. Sepaller ve petaller 4 ya da 5, stamenler petallerin sayısına bağlı olarak 4 veya 5 adet olabilir. Ovaryum iki karpelli, alt durumlu, plasentalanma parietal, ovuller çok sayıda, 2 adet stilusu alt kısımda birleşmiştir. Meyva uçta kalıcı kalikse sahip bakka benzeri yapıdadır. Tohumlar bol endosperme sahiptir (Davis, 1972). Türkiye Florası eserinde taksonların morfolojik karakterlerine dayalı anlatımlarına (deskripsiyonlarına) yer verilmiştir (Janczewski, 1907). *Ribes* L. cinsinin Türkiye Florası'nda var olan türlerinin teşhis anahtarı aşağıda, Türkiye Florası eserinde olduğu şekliyle verilmiştir.

#### 1. *RIBES* L.

1. 1-3 aksillar kümeler oluşturan çiçeklere sahip; genellikle dikenli

4. *uva-crispa*

1. Çiçek durumu rasemoz; dikensiz

2. Çiçekler dioik; çiçek durumunun ana dalı salgı tüyüne sahip

3. Tomurcuklar ovoid, obtus; meyva salgı tüylerine sahip

6. *orientale*

3. Tomurcuklar uzamış, sivri; meyva tüysüz

5. *alpinum*

2. Çiçekler hermafrodit; çiçek durumunun ana dalı tüysüz

4. Yapraklar sapsız aromatik salgı tüyleri ile kaplı; meyva morumsu siyah

3. *nigrum*

4. Yapraklar sapsız tüye sahip değil, meyva kırmızı

5. Hipantiyum neredeyse düz; sepal kenarları tüysüz  
veya yalnızca birkaç kirpiğe sahip 1. *rubrum*

5. Hipantiyum çan şeklinde; sepal kenarları yoğun  
şekilde kirpikli

2. *biebersteinii*

## 2.2. *RIBES* L. CİNSİNİN TAKSONOMİSİ

*Ribes* L. cinsinin taksonomik özelliklerine ilişkin ilk bilimsel çalışmayı Janczewski (1904) yapmış, bunu Berger (1924) takip etmiştir. Grossulariaceae familyası Dünya’da 200 kadar türü içermektedir. Türkiye’de 8 türü bulunan *Ribes* L. cinsinin, birçok türü florada kültür bitkisi olarak da yer almaktadır. *Ribes rubrum* L., *R. biebersteinii* Berl. ex DC., *R. nigrum* L., *R. uva-crispa* L., *R. alpinum* L., *R. orientale* Desf., *R. multiflorum* Kit. ex Romer & Schultes türleri editörlüğünü P. H. DAVIS’in yaptığı Türkiye Florası adlı 10 ciltlik eserde yer almaktadır (Chamberlain, 1972). Bu türlere ilave olarak 2001 yılında Lütfi Behçet tarafından Doğu Anadolu Bölgesi’nde *R. anatolica* Behçet yeni tür olarak yayınlanmıştır (Behçet, 2001). Türkiye Florası’nda kayıtlı mevcut taksonlar *R. rubrum* L., İstanbul (Tarabya); *R. biebersteinii* Berl. ex. DC., Trabzon (Zigana), Rize, Çoruh, Artvin, Kars; *R. nigrum* L., Muş; *R. uva-crispa* L., İstanbul (Kömürcüköy), Ankara (Kızılcahamam), Kars; *R. alpinum* L., Giresun, Trabzon (Zigana), Rize, Çoruh, Artvin; *R. multiflorum* Kit. ex Romer & Schultes, Uşak; *R. orientalis* L., Erzurum (Oltu), Gümüşhane, Bayburt, Kayseri (Erciyes), Niğde, Erzurum (Palandöken), Isparta gibi bölgelerde yayılış göstermektedir. *Ribes* taksonlarının Türkiye’deki yayılışları Şekil 2.1’de gösterilmektedir.



Şekil 2.1: *Ribes* taksonlarının Türkiye'deki yayılışları.

### 2.3. *RIBES L.* CİNSİNİN ÖNEMİ

Genellikle kuzeydoğu Anadolu’da yetişen *Ribes L.* cinsinin yaprakları idrar sökücü ve terletici olarak, meyvaları ise midevi ve gıda amaçlı olarak kullanılmaktadır (Güvenç ve Kendir, 2012). Frenk üzümünün C vitamini içerikleri çok yüksek olup, C vitamini kaynağı olarak bilinen turuncgillerden 4-5 kat daha fazla C vitamini içermektedir. Frenk üzümünün üstün özellikleri nedeniyle dünyada daha fazla tüketilmesi ve dolayısıyla daha fazla bir alana yayılması beklenmektedir (Kaplan ve Akbulut, 2006). Yurdumuzda nispeten az sayıda tür ile temsil edilmekle birlikte, taksonomik açıdan yakın ilişkili türlerin ilave ve güvenilir parametrelerle sınıflandırılması ve geniş areallere sahip türlerin populasyon düzeyinde varyasyonlarının araştırılması önem taşımaktadır.

### 2.4. MOLEKÜLER MARKÖRLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Moleküler markör teknikleri taksonomi, fizyoloji, embriyoloji, genetik mühendisliği gibi alanlarda kullanılan çok yönlü araçlardır. Başka bir ifadeyle moleküler markör, genom içinde bir DNA parçasının farklılıklarını temsil eder ve bu farklılıklar eklenmeler, silinmeler, yer değiştirmeler, duplikasyonlar gibi olaylardan meydana gelebilir. Polimer zincir reaksiyonunun (PZR) bulunmasından sonra DNA markörleri kullanılarak gen etiketleme, genetik haritalama, tarımsal açıdan önemli genlerin belirlenmesi, genetik çeşitlilik çalışmaları, filogenetik analizler, markörler yardımıyla seleksiyon çalışmaları kolaylaşmıştır (Filiz ve Koç, 2011).

Moleküler markörler; kesilen parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP), rastgele çoğaltılan polimorfik DNA markörleri (RAPD), çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP), dizisi etiketlenmiş sekanslar (STS), mikrosatelitler (SSR), bölünerek çoğaltılmış polimorfik dizi (CAPS), tek iplik tamamlama polimorfizmi (SSCP), amplikon uzunluk polimorfizmi (ALP), basit sekans tekrarlamaları arası polimorfizm (ISSR), ifade edilmiş dizi etiketleri (EST) ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP) gibi farklı tekniklerden oluşmaktadır. Farklı DNA markör çeşitlerinin geliştirilmesi teknolojik ihtiyaçlardan, laboratuvar ve maddi imkan farklılıklarından, genetik markörlerin genomda fazlaca bulunabilmesinden ve türlerin biyolojik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Moleküler markör tekniklerinin her birinin diğerlerine kıyasla bazı üstün ve zayıf yönleri

bulunmaktadır. Bu özellikler birçok kaynakta geniş bir şekilde tartışılmıştır. Ancak moleküler markörler birbirleriyle karşılaştırıldığında günümüzde polimorfizm düzeyi oldukça yüksek olduğu için SSR ve SNP markörlerinin daha çok tercih edildiği görülmektedir (Güleç ve diğ., 2010).

#### 2.4.1. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), 1985 yılında Karl Mullis ve arkadaşları tarafından ortaya çıkarılmış bir yöntem olup, moleküler biyolojide çığır açmıştır. PZR dakikalar içinde çok küçük miktarda genetik materyalin sentetik olarak çoğaltılması için geliştirilmiş önemli bir araştırma tekniğidir. Hedef genetik materyalin bir çift oligonükleotid primer, deoksिनükleotid trifosfatlar (dNTP'ler), tampon sistemi ve ısıya dayanıklı bir DNA polimeraz enzimi yardımıyla çoğaltılması (amplifikasyonu), PZR'nin temelini oluşturmaktadır. PZR çalışması için gerekli olan tüm bileşenler Tablo 2.1'de listelenmektedir. Yüksek sıcaklık uygulaması ile çift zincirli sarmal formda bulunan DNA zincirleri ayrılarak tek iplik formuna geçer. Farklı ısı değişimleri ile reaksiyon tüpü içindeki bileşenler kendilerini organize ederek kalıp DNA'nın aynısı yeni DNA molekülleri oluştururlar. Her PZR döngüsü sonunda DNA'nın sayısı ikiye katlanır. Çoğaltılacak olan hedef DNA bölgesi çok az miktarda dahi olsa özgün primerler ile çoğaltılabilir (Külen ve Ogras, 2010).

**Tablo 2.1:** PZR çalışması için gerekli olan tüm bileşenler.

| Bileşen Adı                              |
|------------------------------------------|
| PZR Tamponu                              |
| Magnezyum Konsantrasyonu                 |
| Deoksिनükleotid Trifosfatlar (dNTP)      |
| Primerler                                |
| Kalıp DNA                                |
| Isıya Dayanıklı Taq DNA Polimeraz Enzimi |

#### **2.4.1.1. Standart PZR Programı**

1. Döngü: Kalıp DNA'nın denatürasyonu, 92-94°C'de 0,5-1 dk
2. Döngü: Primer bağlanması, 35-65°C'de 1- 3 dk
3. Döngü: Primer sentezi, 72°C'de 1-3 dakika yapılmaktadır.

Standart bir PZR için tüm parametreler optimize edildiğinde genellikle 30 döngü yeterlidir.

#### **2.4.1.2. PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi**

PZR ürünleri, agaroz jel veya poliakrilamid jel elektroforezinde görüntülenir. Elektroforez teknikleri; molekülleri saflaştırmak, karışım halinde bulunan molekülleri birbirinden ayırmak, her bir molekülün ağırlığını bulmak gibi çeşitli amaçlarla kullanılabilir. Elektroforez farklı yüklere sahip bir karışımın elektrik akımı yardımıyla fraksiyonlarına ayrılması işlemidir. Başka bir deyişle yüklü molekül veya partiküllerin belirli bir elektrik alanı içerisinde bir elektrottan diğer bir elektroda sürüklenmesidir. Amino asitler, proteinler, nükleik asitler gibi pek çok biyolojik molekül, çözelti içerisinde iyonlaşarak elektrik yüklü anyonlar ve katyonlar halinde bulunurlar. Benzer yüke sahip moleküllerin, molekül kütleleri farklı olması nedeniyle elektrik alanındaki hareketleri de farklı olacaktır. DNA molekülü negatif yüklüdür ve bu yüzden bir elektrik alanında pozitif kutba doğru hareket eder. DNA'nın elektroforetik analizinin temeli, bu molekülün elektrikselsel bir alanda, jel üzerindeki göçüne dayanır. Bu göç hızı;

- Molekülün büyüklüğüne
- Molekülün yapısına
- Jelde kullanılan maddenin konsantrasyonuna
- İyonik kuvvete
- Uygulanan akıma bağlı olarak değişir.

DNA molekülleri genellikle agaroz ya da poliakrilamid jel içinde elektroforez edilir. Agaroz yüksek molekül ağırlıklı DNA moleküllerini ayırmada kullanılırken,

poliakrilamid jeller genellikle küçük molekül ağırlıklı DNA fragmentleri ayırmada kullanılır. Örnekler ultraviyole ışık altında gözlenir (Arslan ve diğ., 2012).

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. ARAZİ ÇALIŞMALARI

Arazi çalışmalarına başlamadan önce ISTE (İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu), IZEF (Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu), KATO (Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi Herbaryumu) Herbaryumlarında ön çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu ön çalışmalar dahilinde ilgili *Ribes* taksonlarına ait herbaryum örnekleri incelenmiş, bu örneklerin toplandığı lokalite, habitat ve tarih bilgileri değerlendirilerek bir arazi planı oluşturulmuştur. Planlandığı şekilde Trabzon, Rize, Bursa ve Tekirdağ illerinde gerçekleştirilen arazi çalışmaları sonucunda Trabzon, Rize ve Bursa illerinde farklı lokasyonlardan bitkiler toplanmış, fakat Tekirdağ'daki lokalitelerde *Ribes* taksonlarına ulaşamamıştır. Tablo 3.1'de ulaşılabilen *Ribes* taksonlarının adreslerine yer verilmektedir.

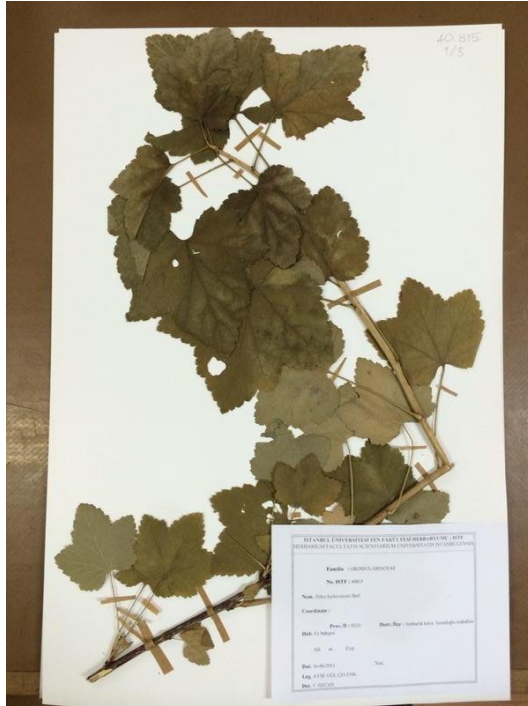
**Tablo 3.1:** Herbaryum örneklerinin ISTF numaraları.

| ISTF No: | Takson                               | Lokalite                                        |
|----------|--------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 40811    | <i>Ribes alpinum</i> L.              | Demirkapı Köyü, Uzungöl, Çaykara / Trabzon      |
| 40812    | <i>R. alpinum</i> L.                 | Cumalıkızık, Bursa                              |
| 40813    | <i>R. alpinum</i> L.                 | İsmailoğlu Mahallesi, Ambarlık Köyü / Rize      |
| 40814    | <i>R. uva-crispa</i> L.              | İsmailoğlu Mahallesi, Ambarlık Köyü / Rize      |
| 40815    | <i>R. biebersteinii</i> Berl. ex DC. | İsmailoğlu Mahallesi, Ambarlık Köyü / Rize      |
| 40816    | <i>R. alpinum</i> L.                 | Demirkapı Köyü, Uzungöl, Çaykara / Trabzon      |
| 40817    | <i>R. alpinum</i> L.                 | Demirkapı Köyü, Uzungöl, Çaykara / Trabzon      |
| 40818    | <i>R. alpinum</i> L.                 | Pazar Mahallesi, Atacanlar Mevkii / Rize        |
| 40819    | <i>R. alpinum</i> L.                 | Otopazar Köyü, Soykanlar Mevkii / Rize          |
| 40820    | <i>R. biebersteinii</i> Berl. ex DC. | Güzel Yayla Köyü, Kiraz Mevkii, Maçka / Trabzon |

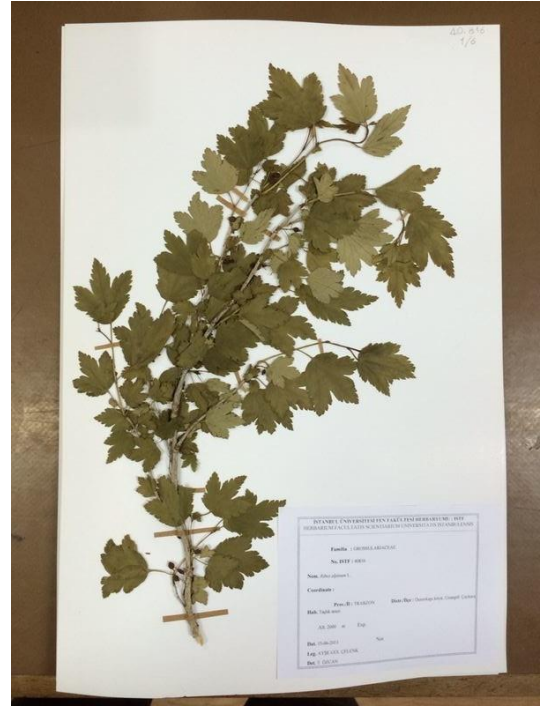
### 3.2. BİTKİ MATERYALLERİNİN MORFOLOJİK ANALİZLER İÇİN HAZIR HALE GETİRİLMESİ

Bitki örneklerinin toplanması, herbaryum materyali hazırlama tekniklerine uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Her toplanan bitkiye ayrı bir numara verilmiş ve deftere yazılan numaranın karşısına gerekli notlar (il, ilçe, mevkii, yükseklik, tarih v.b.) yazılmıştır. Aynı numara bitkinin yerleştirildiği gazete kağıdının köşesine ve ayrı bir kağıda da yazılarak bitkinin yanına konmuştur. Preslenecek bitkinin tüm parçaları düzgün ve kolayca görülebilecek bir şekilde gazete kağıtları arasına yerleştirilmiştir. Bitkilerden suyun uzaklaştırılması ne kadar hızlı bir şekilde yapılabilirse, o derecede renk ve yapısı korunacağı için presleme işlemine özel bir dikkat gösterilmiştir. Kurutma kağıtları her gün bir kez değiştirilmiştir. Kurutma işlemi 10-15 günde tamamlanmıştır. Daha sonra preslenmiş ve kurutulmuş örnekler ISTF Herbaryumu'na getirilmiştir. Örnekler, derin dondurucuda -24°C'de 3 gün bekletilerek dekontaminasyona tabii tutulmuştur. Çalışmada kullanılacak olan bitki örnekleri Türkiye Florası (Chamberlain, 1972) yardımıyla ISTF Herbaryumu'nda teşhis edilmiştir. Yapıştırılacak bitki örnekleri düzgün bir şekilde herbaryum kartonu üzerine yerleştirilmiş ve özenli bir şekilde herbaryum kartonlarına yapıştırılmıştır. Herbaryum kartonuna yapıştırılırken sağ alt köşede etiket için yeterli bir yer bırakılmıştır. Bitkinin sabitleştirilmesi için yapışkanlı kağıt bant kullanılmıştır. Sap ve yapraklar, uygun olan ve en az zarar görebilecek noktalarından yapıştırılmıştır. Son işlem olarak, gerekli verileri içeren etiket sağ alt kısma yapıştırılmış ve herbaryum örneği haline getirilmiştir. Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9 ve 3.10'da herbaryum örneklerinin fotoğraflarına ISTF numaralarıyla birlikte yer verilmektedir.

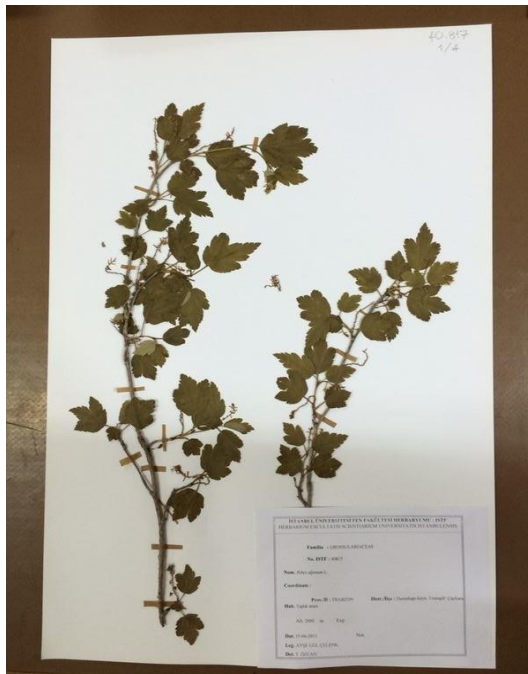




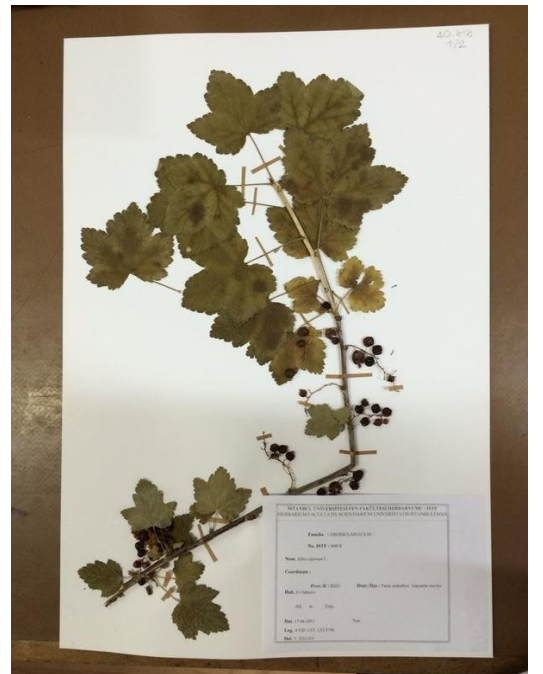
Şekil 3.5: *R. biebersteinii* Berl. ex DC.  
(ISTF No: 40815).



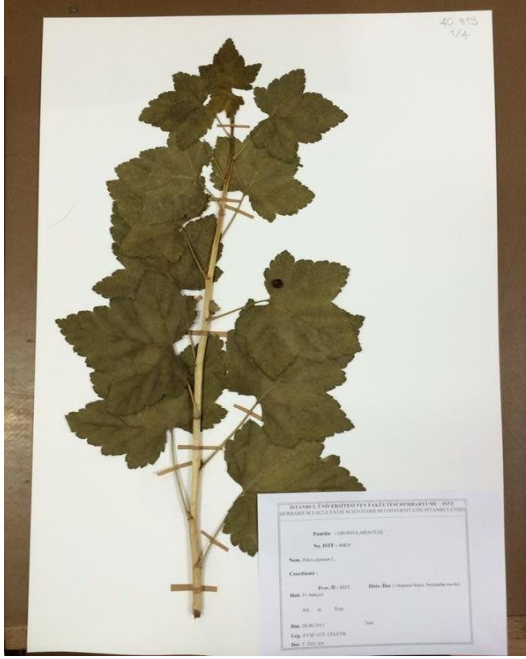
Şekil 3.6: *R. alpinum* L. (ISTF No: 40816).



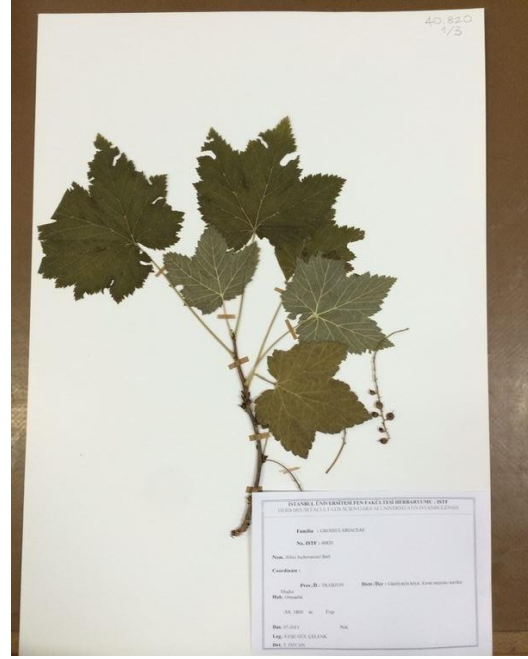
Şekil 3.7: *R. alpinum* L. (ISTF No: 40817).



Şekil 3.8: *R. alpinum* L. (ISTF No: 40818).



Şekil 3.9: *R. alpinum* L. (ISTF No: 40819).



Şekil 3.10: *R. biebersteinii* Berl. ex DC. (ISTF No: 40820).

### 3.3. BİTKİ MATERYALLERİNİN MOLEKÜLER ANALİZLER İÇİN HAZIR HALE GETİRİLMESİ

Toplanan örnekler aynı zamanda moleküler analizlerde kullanılacağından dolayı her örnekten belirli miktarda yaprak örnekleri arazi çalışması süresince +4°C’de saklanmıştır. Herbaryumda -25°C’de muhafaza edilmiştir. Deneylerin yapılacağı laboratuara aktarıldığında da deneyler boyunca -80°C’de muhafaza edilmiştir. Moleküler deneylerde kullanılan taksonların listesi Tablo 3.2’de verilmektedir.

**Tablo 3.2:** Moleküler analizlerde kullanılan taksonların ISTF numaraları.

| ISTF No:  | Takson                               | Lokalite                    |
|-----------|--------------------------------------|-----------------------------|
| 1) 40813  | <i>R. alpinum</i> L.                 | Ambarlık Köyü / Rize        |
| 2) 40814  | <i>R. uva-crispa</i> L.              | Ambarlık Köyü / Rize        |
| 3) 40815  | <i>R. biebersteinii</i> Berl. ex DC. | Ambarlık Köyü / Rize        |
| 4) 40811  | <i>R. alpinum</i> L.                 | Uzungöl / Çaykara / Trabzon |
| 5) ZTBB1  | <i>R. rubrum</i> L.                  | ZTBB / İstanbul             |
| 6) 40818  | <i>R. alpinum</i> L.                 | Atacanlar Mevkii / Rize     |
| 7) 40819  | <i>R. alpinum</i> L.                 | Soykanlar Mevkii / Rize     |
| 8) 40820  | <i>R. biebersteinii</i> Berl. ex DC. | Maçka / Trabzon             |
| 9) 40812  | <i>R. alpinum</i> L.                 | Bursa / Cumalıkızık         |
| 10) ZTBB2 | <i>R. rubrum</i> L.                  | ZTBB / İstanbul             |

### 3.4. TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM)

SEM’de görüntü oluşturma, örnek üzerine gönderilen elektron demetinin örnekten yansıması ve yansıyan sinyallerin algılanması esasına dayanır. SEM tekniklerinin kullanılması görüntülerde mükemmel alan derinliği sağlar ve morfolojiyi tanımlamaya oldukça elverişlidir (Yanez ve Barbosa, 2003).

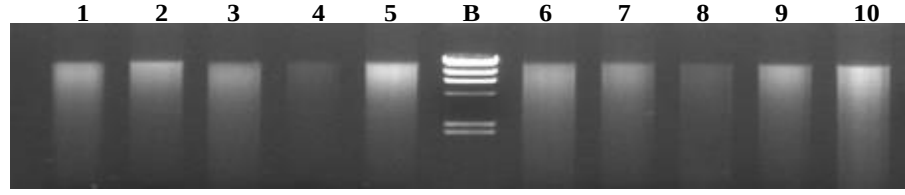
Bu çalışma sırasında *R. alpinum* L., *R. uva-crispa* L. ve *R. biebersteinii* Berl. ex DC. taksonlarının tohum yüzeyleri Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. Stereomikroskopla yapılan çalışmalar sırasında SEM çekimleri için örneklerin herhangi bir kaplamaya ihtiyaç duymadığı gözlemlenmiştir. Bu yüzden örnekler altın kaplama yapılmaksızın incelenmiştir.

Çekimler için kullanılacak tohumlar, çift taraflı bantlarla mikroskobun örnek tablasına sabitlenmiştir. İnceleme ve çekimler JEOL Benchtop SEM JCM-5000 model tarama

elektron mikroskopunda 10 kV'luk voltajla yapılmıştır. Örnekler sırasıyla üç farklı büyütme ile incelenmiştir.

### 3.5. GENOMİK DNA İZOLASYONU VE MİKTAR TAYİNİ

10 *Ribes* L. örneğinden alınan yapraklardan, Plant DNA Extraction Mini Kit (Intron Biotechnology, Inc.) kullanılarak genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu protokole göre, otoklav edilerek steril edilen havanlar, ezme işleminden önce örneklerin havana yapışmaması ve kolay ezilmesi için sıvı azotla soğutulmuştur. Daha sonra yaprak örnekleri (50 mg) sıvı azot ile ezilmiş ve 1,5 ml'lik eppendorf tüplere dağıtılmıştır. İlk olarak tüplere sırasıyla, 390 µl liziz tamponu, 7 µl ayırımı daha iyi sağlamak için “enhancer” solüsyonu, 20 µl Proteinaz K ve 5 µl RNase eklenmiş ve tüpler birkaç defa vortekslenmeyi takiben ağzıları parafilm ile kapatılarak 65°C su banyosunda 30 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi sırasında yaklaşık her 5-7 dakikada bir tüpler çevrilmiştir. Su banyosundaki inkübasyon aşamasından sonra her tüpe 100 µl çöktürme solüsyonu eklenerek, tüpler 5 dk buz içerisinde inkübasyona bırakılmıştır. Buzdan alınan tüpler 13000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüplerde oluşan fazlar karışmayacak şekilde alınarak, üst sıvı yeni tüplere alınmıştır. Her tüp için, tüplerden alınan üst sıvıya DNA'nın bir sonraki aşamada kullanılacak olan spin kolona bağlanması için 650 µl bağlama tamponu eklenmiştir. Kit içerisinde bulunan spin kolon içeren toplama tüpüne ters-yüz edilen karışımdan 650 µl alınmış ve tüpler 13000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Toplama tüpünde kalan sıvı atılmıştır. Spin kolon yeni bir toplama tüpüne alınmış ve 700 µl yıkama tamponu eklenmiştir. 13000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiş, toplama tüpünde biriken sıvı atılmış ve daha sonra spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarılmıştır. 700 µl yıkama tamponu eklenmiş ve 13000 rpm'de 1 dk daha santrifüj edilmiştir. Toplama tüpünde kalan sıvı yine atılmış ve spin kolon dikkatli bir şekilde 1,5 ml'lik yeni eppendorf tüpüne yerleştirilmiştir. Son olarak spin kolondaki membran üzerine gelecek şekilde 50 µl elüsyon tamponu eklenerek, 13000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiş ve tüpte biriken sıvı (gDNA) 20°C'de saklanmıştır. DNA izolasyonunun ardından, tüm örneklerle ait genomik DNA'lar, λ-HindIII kesimi belirteç ile birlikte %1'lik agaroz jele yüklenerek, 80 V'ta 40 dk boyunca yürütülmüştür. Şekil 3.11'de 10 *Ribes* taksonunun genomik DNA'ları gösterilmektedir.



**Şekil 3.11:** *Ribes* taksonlarının 10 örneğine ait gDNA, B: Belirteç.

İzolasyonu gerçekleştirilen genomik DNA'ların derişimleri spektrofotometre ile belirlenmiştir. Belirlenen DNA derişimleri Tablo 3.3'te belirtilmektedir. Miktar tayini yapılan genomik DNA örnekleri 25 ng/μl'ye sulandırılarak, SSR analizlerinde kullanılabilecek kadar -20°C'de saklanmıştır.

**Tablo 3.3:** Genomik DNA'ların derişimleri.

| ISTF No   | DNA derişimi (ng/μl) |
|-----------|----------------------|
| 1) 40813  | 200                  |
| 2) 40814  | 190                  |
| 3) 40815  | 150                  |
| 4) 40811  | 50                   |
| 5) ZTBB1  | 300                  |
| 6) 40818  | 175                  |
| 7) 40819  | 140                  |
| 8) 40820  | 50                   |
| 9) 40812  | 175                  |
| 10) ZTBB2 | 250                  |

### 3.6. SSR REAKSİYONU

Amplifikasyon reaksiyonu, 10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 320 μM dNTP karışımı (dATP, dGTP, dCTP ve dTTP), her bir primer çiftinden 25 μM, 25 ng/μl DNA ve 3U Taq DNA polimeraz (Intron Biotechnology, *I*-Taq™) olmak üzere 20 μl hacimde gerçekleştirildi. Amplifikasyonda kullanılan bileşikler Tablo 3.4'te listelenmektedir.

**Tablo 3.4:** Amplifikasyon reaksiyonunda kullanılan bileşikler.

| Bileşen                   | Reaksiyon Başına Kullanılan (µl) |
|---------------------------|----------------------------------|
| dH <sub>2</sub> O         | 5,8                              |
| 10 X PZR tamponu          | 2                                |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM) | 1,2                              |
| dNTP karışımı (1/10)      | 4                                |
| Primer F (25 µM)          | 2                                |
| Primer R (25 µM)          | 2                                |
| Genomik DNA (25 ng)       | 1                                |
| Taq Polimeraz (1,5 U/µl)  | 2                                |
| Toplam                    | 20                               |

SSR analizlerinde kullanılan baz dizileri ise The James Hutton Enstitüsü'nde geliştirilen SSR markörlerinden seçilmiştir. Kullanılan primer çiftlerinin baz dizileri Tablo 3.5'te listelenmektedir.

**Tablo 3.5:** SSR analizinde kullanılan primer çiftlerinin baz dizileri.

| No | Kod      | Primer Dizisi (5'- 3')         |
|----|----------|--------------------------------|
| 1  | e1-O01 F | CCT TTC CAG AGA AAA CTC AAA CA |
|    | e1-O01 R | AAG TAT GGG AAC AAC GGC AG     |
| 2  | e2-L15 F | GAAGCCAGCAGAGAAGAAGC           |
|    | e2-L15 R | TCAACGCTCTTCTTCGACCT           |
| 3  | e3-M04 F | CTT ACC CAC CCC ACC ACC        |
|    | e3-M04 R | TGT GTT CTC ATC AGA GAC TTT CG |
| 4  | g1-B02 F | CGA CTT CAT CGC TCT CCT CT     |
|    | g1-B02 R | CCA TTG ATT TGG TGA GGG T      |
| 5  | g1-F04 F | ATC ACC TTG ATT TTG GGT CG     |
|    | g1-F04 R | GGG ATG GAT TTG AGG GTT TT     |
| 6  | g1-H09 F | CCC AAA CAA ACG GAA CTC TG     |
|    | g1-H09 R | AAT GAT GGA CCC ACC ACT TG     |
| 7  | g1-P05 F | CCA AGA GCC CCA ACA CTA AC     |
|    | g1-P05 R | ATG GAA CTG CAC CTG GTT TC     |
| 8  | g2-G12 F | GTG ACC CAC CTA AAC CGT CC     |
|    | g2-G12 R | GGA GTG GAG GGT TGG AAA AT     |
| 9  | g2-J11 F | GAA CCA AAC CGA TCG AAG AA     |
|    | g2-J11 R | GCC GAC ACT ATG GTA AGG GA     |
| 10 | g3-A17 F | GTT CCA GAT TGC CAA AGT CG     |
|    | g3-A17 R | GGA GGA GGA GAG AGT GGC TT     |

Termal döngü cihazında (MJ Research INC PTC-200) gerçekleştirilen SSR-PZR reaksiyonu için Brennan ve diğ. (2002) tarafından optimize edilen program kullanılmıştır. Genomik DNA'nın 94°C'de 5 dk denatürasyonunu takiben; 94°C'de 30 sn, 65°C'den 58°C'ye her bir döngüde birer derece azalmak üzere 30 sn'de 7 döngü, 72°C'de 30 sn, 94°C'de 30 sn, 58°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn ve son uzama reaksiyonu için 72°C'de 7 dk olmak üzere toplam 30 döngüden oluşmaktadır.

### 3.7. POLİAKRİLAMİD JEL ELEKTROFOREZİ (PAGE)

SSR amplifikasyon ürünleri, dikey elektroforez sistemine yüklenmeden önce, bant varlığının belirlenmesi için öncelikle TAE tamponu içerisinde hazırlanan %2,5'luk agaroz jele yüklenmiş ve etidyum bromid ile boyanarak, ultraviyole ışık altında dijital olarak görüntülenerek fotoğraflanmışlardır. Bu işlemin ardından, *Ribes* L. taksonları arasındaki akrabalık ilişkisinin belirlenmesi amacıyla SSR-PZR ürünleri poliakrilamid jelde yürütülerek, gümüş boyama yöntemiyle görünür hale getirilmiştir. Poliakrilamid jel hazırlığı ve gümüş boyama protokolleri aşağıda belirtilmektedir.

#### 3.7.1. Poliakrilamid Jel Hazırlığı

- 6 µl PZR ürünü ve 1,5 µl PAGE yükleme boyası (Ambion; cat. No. 8546G) 0,5 ml'lik eppendorf tüpe aktarılıp, örneklerin karışması ve çökmesi için kısa bir santrifüj yapılmıştır. Daha sonra, örnekler 5 dk 95°C'de denatüre edilip, buza alındıktan sonra jele yüklemeye hazır hale getirilmiştir.
- Poliakrilamid jel (%6) hazırlığı için 4,2 g üre, 0,5 ml 10X TBE ve 1,875 ml %40 akrilamid solusyonu (19:1 akrilamid:bisakrilamid Sigma) bir beher içinde çözülerek toplam jel hacmi bidistile su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Jel polimerize olmadan, 6,25 µl N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (TEMED) ve taze hazırlanmış %25'lik 25 µl amonyumpersülfat (APS) ilave edildikten sonra şırınga yardımıyla sisteme yüklenmiştir. Jelin polimerize olmasının ardından jeli içeren sistemin alt ve üst tampon yükleme kısmına 1X TBE yürütme tamponu ilave edilmiştir. Örneklerin yüklenmesinin ardından, jel 300 V'ta 40 dakika yürütülmüştür.

- Elektroforez işleminin tamamlanmasının ardından, jel camlar arasından alınarak %10'luk asetik asitte yürütme boyasının mavi rengi kaybolana kadar 75 rpm'de çalkalanmıştır. Boyanın tamamen yok olmasının ardından, jel asetik asidin uzaklaştırılması için iki defa ikişer dakika boyunca saf suda çalkalanmış ve jel gümüş nitrat çözeltisine alınarak yarım saat karanlıkta bekletilmiştir. Boyamanın tamamlanmasından sonra da kısa bir süre saf suda bekletilen jel, taze olarak hazırlanmış geliştirme (developing) çözeltisine alınarak ilk bantlar belirinceye kadar çalkalanmıştır. Daha sonra yeni bir geliştirme çözeltisine aktarılan jel, belirteç ve diğer örnekler için bantlar istenen koyulukta belirdikten sonra fiksasyonu (sabitlenmesi) için durdurma çözeltisi olarak da kullanılan %10'luk asetik asitte 2-3 dk çalkalanmıştır. Saf suda çalkalanan jeller daha sonra fotoğrafları çekilerek değerlendirme işlemine alınmıştır.

### 3.7.2. Poliakrilamid Jelin Gümüş Nitrat ile Boyanması

- Jelde örneklerin yürütülme işlemi tamamlandıktan sonra, jel sisteminin cam ve plastik kısımları birbirinden ayrılmıştır. Cama yapışmış olan jel, %10'luk asetik asitte yürütme boyasının mavi rengi kaybolana kadar çalkalanmıştır.
- Jel asetik asidin uzaklaştırılması için üç kez ikişer dakika boyunca saf suda çalkalanmıştır.
- Saf su yıkamasından sonra jel daha önceden hazırlanmış olan gümüş nitrat çözeltisine arada çalkalama yapılarak yarım saat ışıktan uzak bir ortamda bekletilmiştir.
- Boyamanın tamamlanmasından sonra en fazla 5 sn saf suda bekletilen jel taze olarak hazırlanmış geliştirme (developing) çözeltisinde çalkalanmıştır. 2 litre olarak hazırlanan bu çözeltinin yarısı bir kaba, diğer yarısı başka bir kaba dökülmüş ve ilk bantlar belirmeye başlayınca jelin bulunduğu cam, geliştirme çözeltisinin bulunduğu ikinci kaba alınmıştır.

- Markör ve diğer örneklere ait bantlar istenen koyulukta belirdikten sonra jelin fiksasyonu (sabitlenmesi) için durdurma çözeltisi olarak da kullanılan %10'luk asetik asitte 2-3 dk çalkalanmıştır.
- Saf suda çalkalama yapıldıktan sonra jel bir gece kurumaya bırakılmıştır.

### **3.7.3. Poliakrilamid Jel Elektroforezinde Kullanılan Çözeltilerin İçerikleri**

#### **3.7.3.1. %6'lık Poliakrilamid Jel Çözeltisi**

- 40,56 g Üre
- 9 ml 10 X TBE
- 10 ml Saf su
- 11,25 ml (19:1 %40'lık akrilamid:bisakrilamid çözeltisi)

Yukarıdaki bileşenler çözüldükten sonra toplam hacim 90 ml'ye tamamlanmıştır. Jelin havası alınmıştır. 90 µl TEMED ve 90 µl taze hazırlanmış %25'lik APS ilave edildikten sonra sisteme yüklenmiştir.

#### **3.7.3.2. Gümüş Nitrat Çözeltisi**

2 g gümüş nitrat 2 litre saf suda çözülerek üzerine 3 ml %37'lik formaldehit eklenmiştir. Koyu renkli şişede ışıktan uzak bir ortamda saklanmıştır.

#### **3.7.3.3. %10'luk Asetik Asit Çözeltisi**

200 ml %37'lik asetik asite 1800 ml saf su ilave edilerek hazırlanmıştır.

#### **3.7.3.4. Geliştirme (Developing) Çözeltisi**

60 g sodyum karbonat 2 litre saf suda çözülmüş ve üzerine 3 ml %37'lik formaldehit eklenmiştir. Kullanılmadan önce 10 mg/ml konsantrasyonundaki sodyum tiyosülfattan 400 µl ilave edilmiştir ve çözelti soğuk kullanılmıştır.

#### **3.7.3.5. Sodyum Tiyosülfat Çözeltisi**

500 mg sodyum tiyosülfat 50 ml saf suda çözülmüştür.

#### **3.7.3.6. %25'lik Amonyum Persülfat Çözeltisi**

0,12 g amonyum persülfat 500 µl saf suda vorteks yardımı ile çözülmüştür.

## 4. BULGULAR

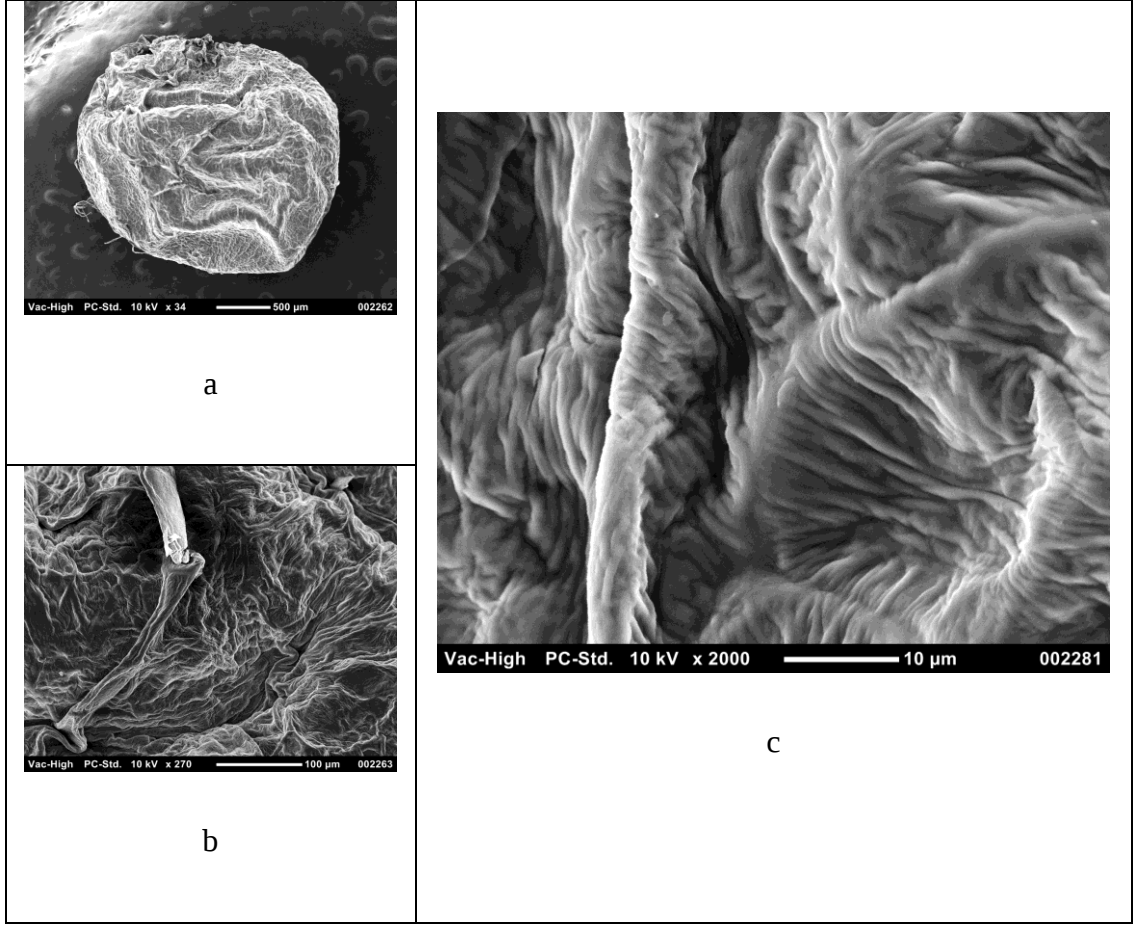
### 4.1. SEM BULGULARINA GÖRE TOHUM NUMUNELERİNİN YÜZEY MİKROMORFOLOJİLERİ

Yüzey analizleri sonucu taksonlar arasında farklı yüzey karakterleri tespit edilmiştir. SEM yüzey karakterlerinin adlandırılmasında, bitkilerde yüzey (epikutikular) mumu sınıflandırılması ve terminolojisi Botanical Latin kitabı (Stearn, 1973) ile Türkiye'de bazı endemik *Bupleurum* L. (Umbelliferae) taksonlarının taç yaprakları ve meyvalarında SEM gözlemleri (Özcan, 2002) çalışmalarından faydalanılmıştır. Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7'de 3 *Ribes* taksonuna ait 7 tohum örneğinin SEM ile çekilen ve yüzey mikromorfolojilerini gösteren fotoğraflarına yer verilmiştir. SEM kullanılarak yüzey yapıları incelenen tohumların ISTF numaralarına ait liste Tablo 4.1'de belirtilmektedir.

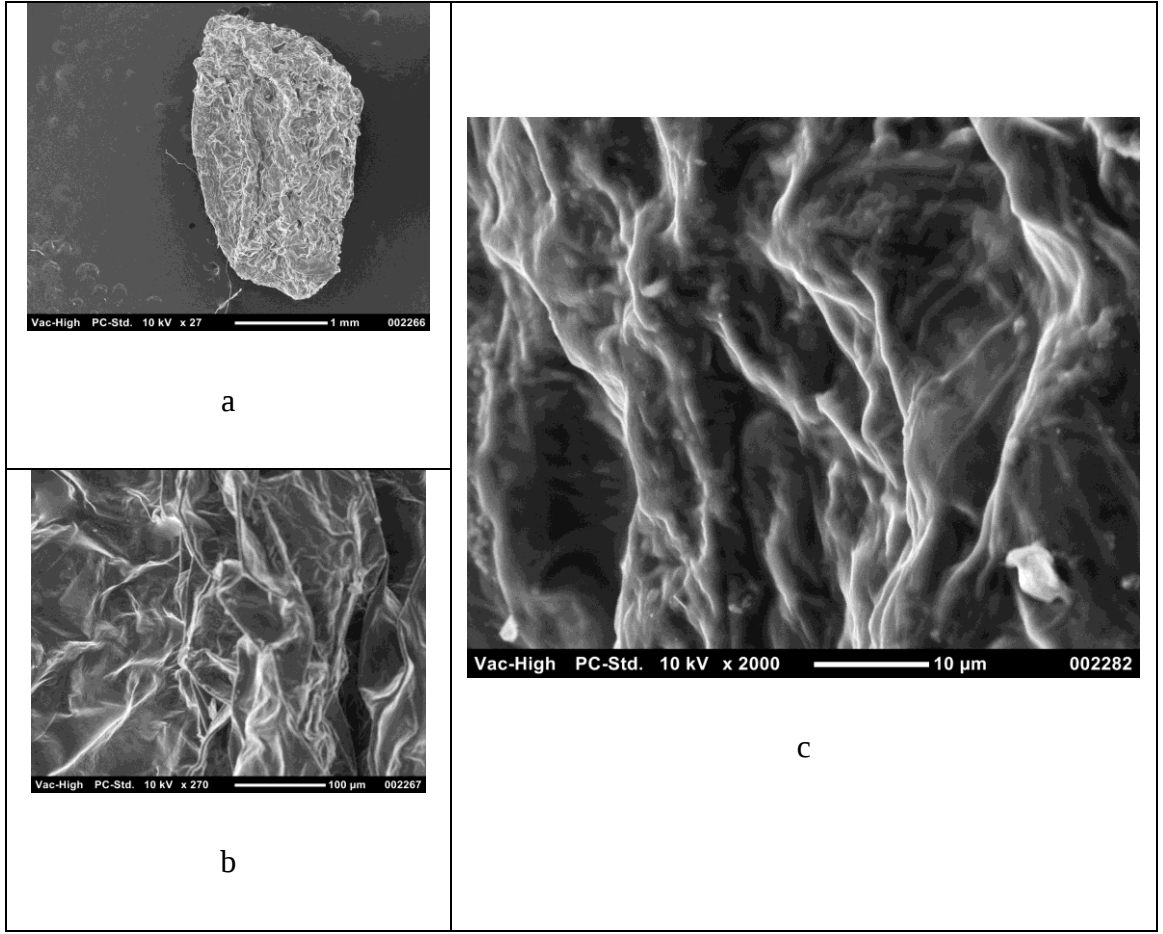
**Tablo 4.1:** SEM ile fotoğrafları çekilen tohumların ISTF numaraları.

| ISTF No | Takson                               | Lokale                                     |
|---------|--------------------------------------|--------------------------------------------|
| 40813   | <i>R. alpinum</i> L.                 | İsmailoğlu Mahallesi, Ambarlık Köyü / Rize |
| 40814   | <i>R. uva-crispa</i> L.              | İsmailoğlu Mahallesi, Ambarlık Köyü / Rize |
| 40815   | <i>R. biebersteinii</i> Berl. ex DC. | İsmailoğlu Mahallesi, Ambarlık Köyü / Rize |
| 40811   | <i>R. alpinum</i> L.                 | Demirkapı Köyü, Uzungöl, Çaykara / Trabzon |
| 40816   | <i>R. alpinum</i> L.                 | Demirkapı Köyü, Uzungöl, Çaykara / Trabzon |
| 40818   | <i>R. alpinum</i> L.                 | Pazar Mahallesi, Atacanlar Mevkii / Rize   |
| 40819   | <i>R. alpinum</i> L.                 | Otopazar Köyü, Soykanlar Mevkii / Rize     |

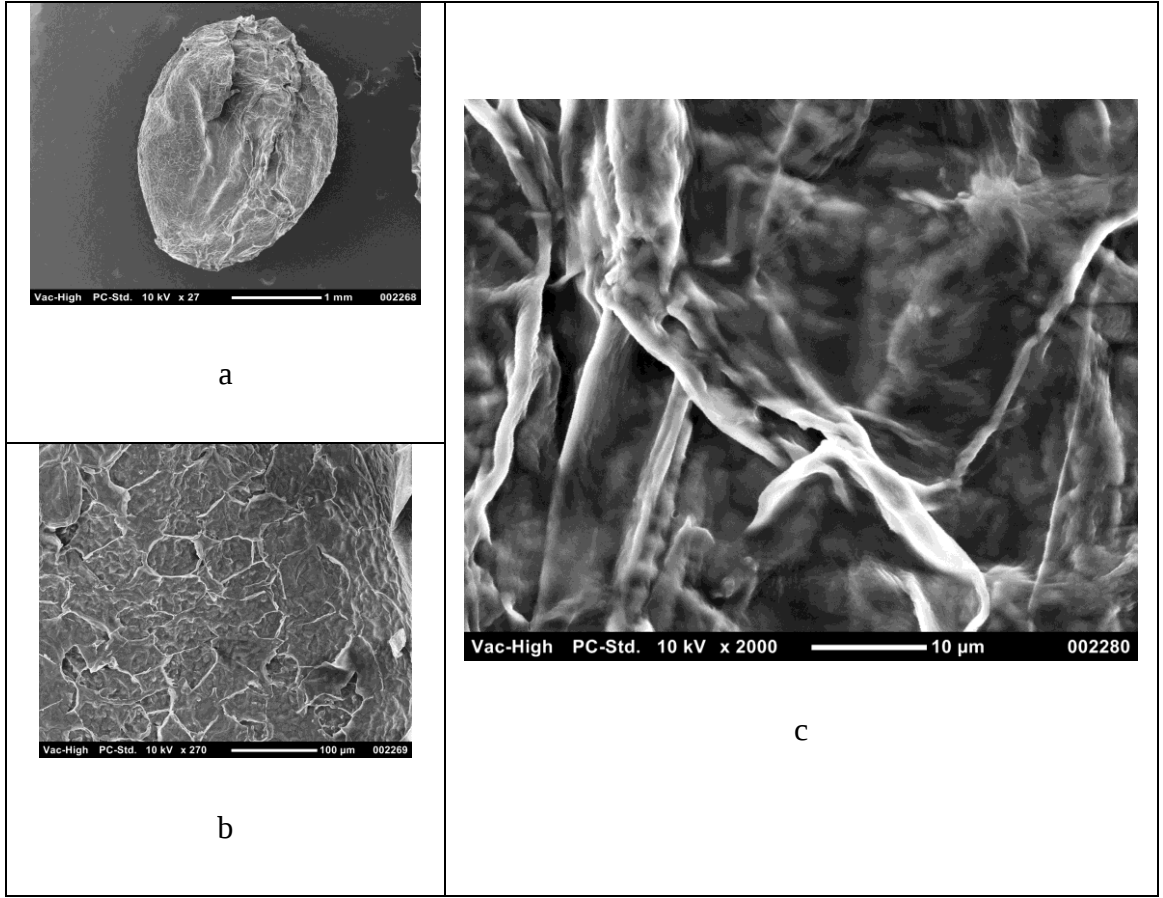
Taksonlar, üç farklı büyütmeye SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen bulgular, yeterince araştırılmamış taksonların kimliklendirilmesinde sabit ve güvenilir veriler sunmuştur.



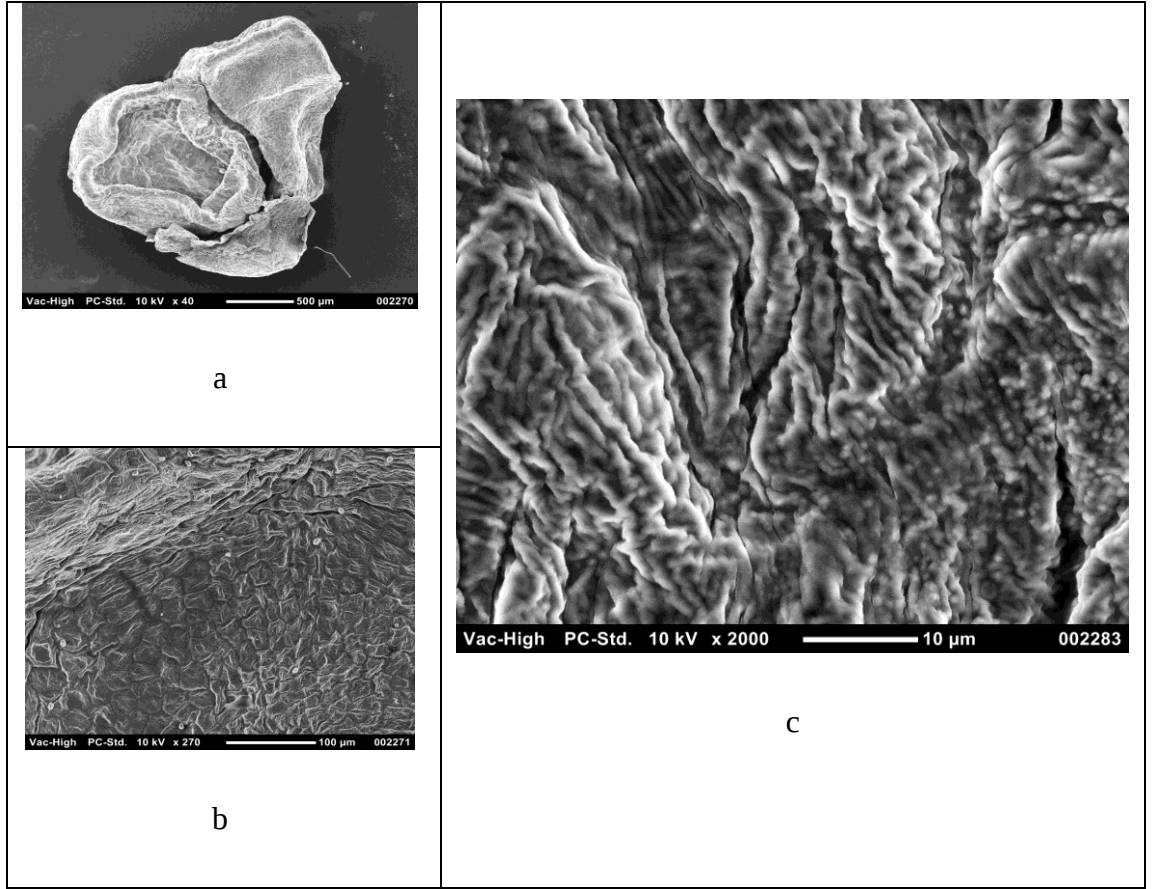
**Şekil 4.1:** *R. alpinum* L. (ISTF No: 40813), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000).



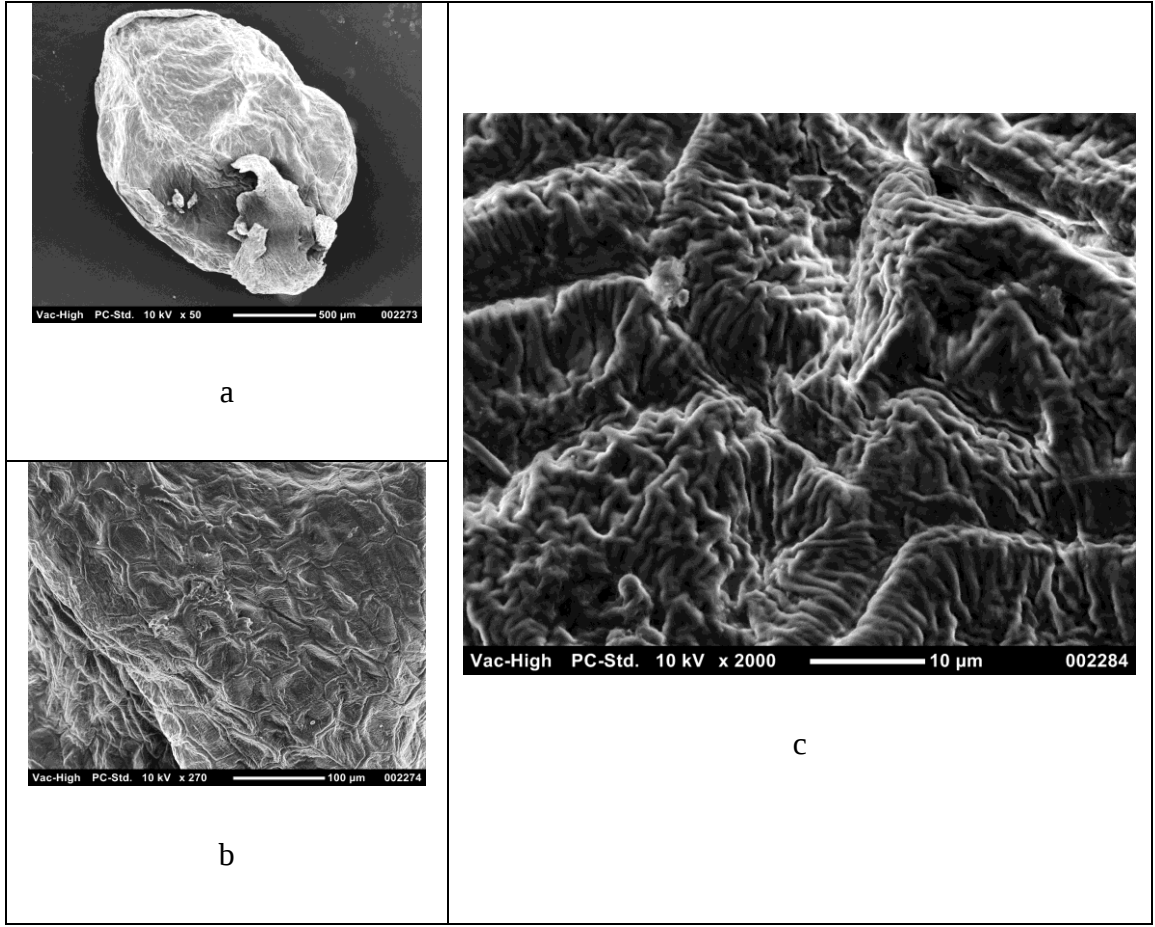
**Şekil 4.2:** (ISTF No: 40814), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000).



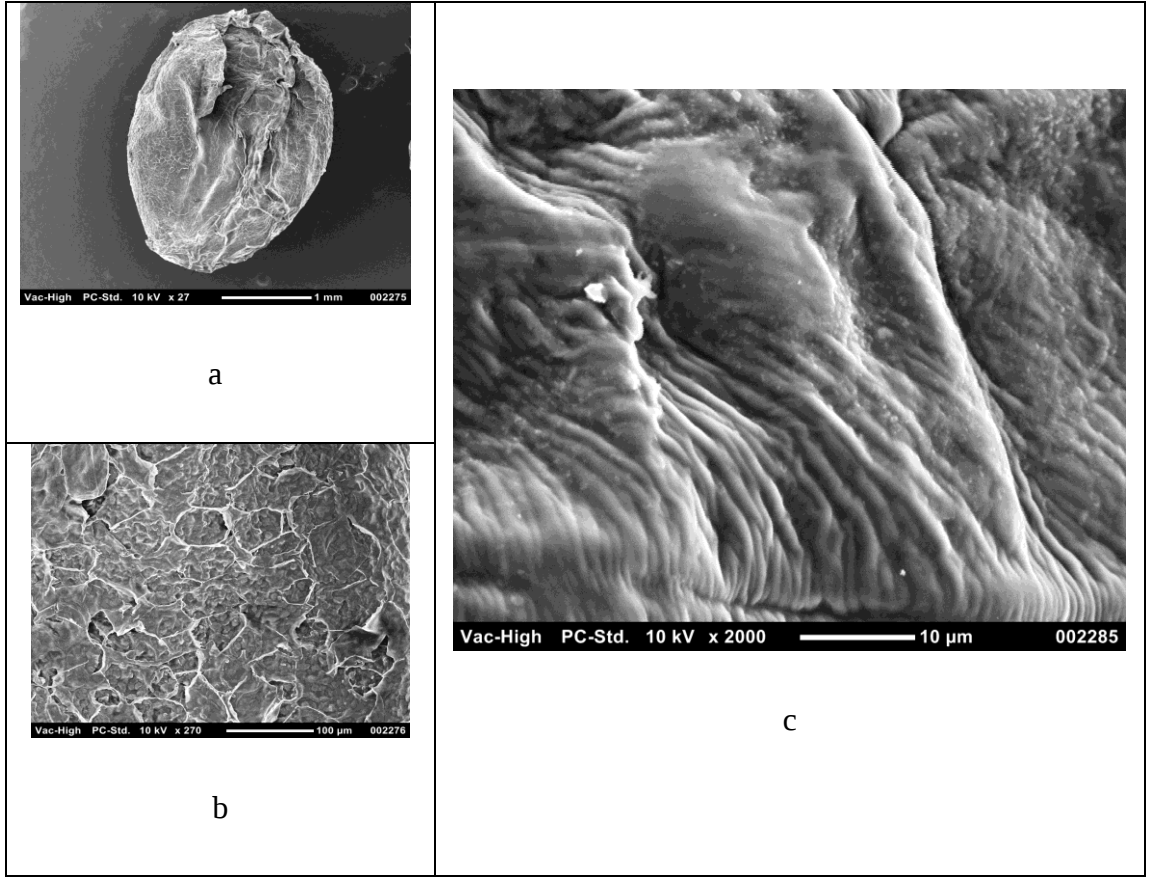
**Şekil 4.3:** *R. biebersteinii* Berl. ex DC. (ISTF No: 40815), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000).



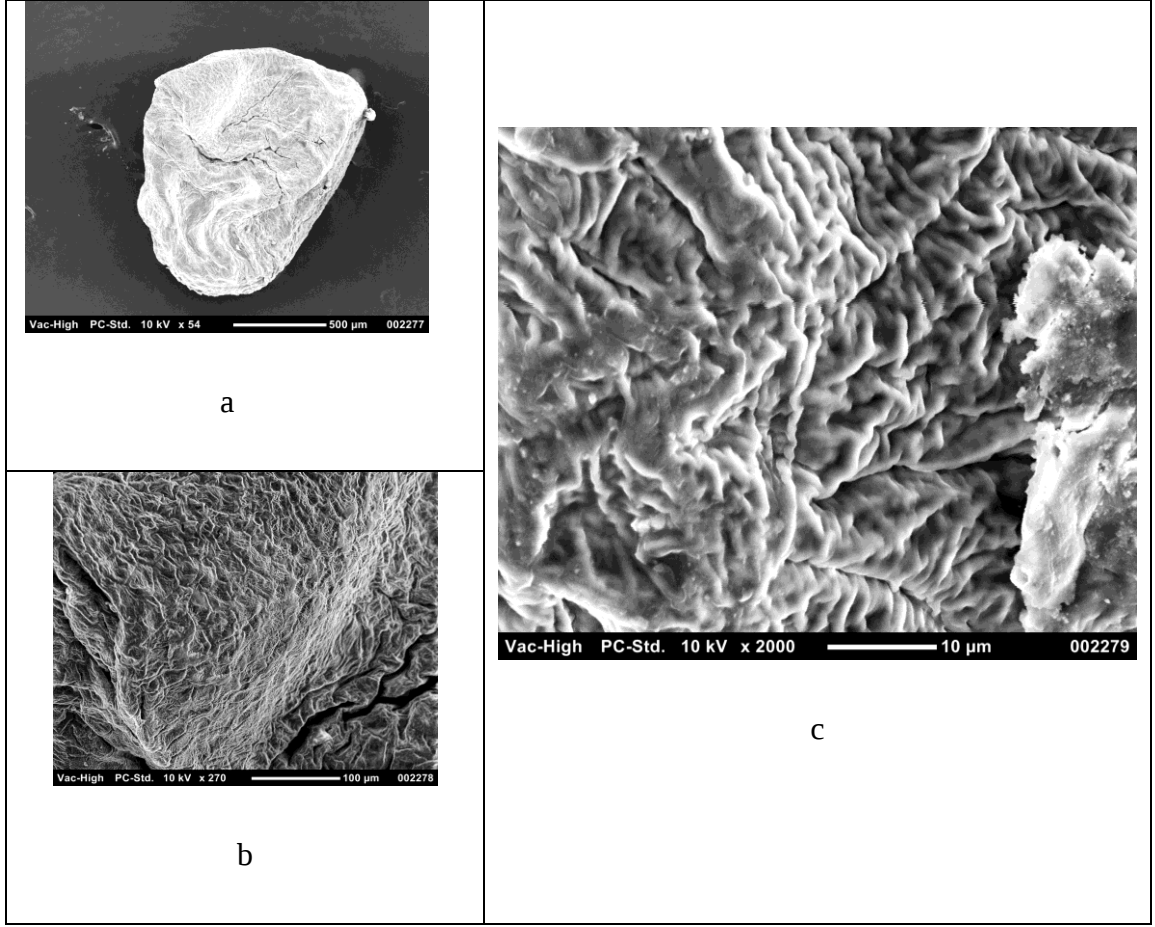
**Şekil 4.4:** *R. alpinum* L. (ISTF No: 40811), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000).



**Şekil 4.5:** *R. alpinum* L. (ISTF No: 40816), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000).



**Şekil 4.6:** *R. alpinum* L. (ISTF No: 40818), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000).



**Şekil 4.7:** *R. alpinum* L. (ISTF No: 40819), a. Tohum genel görünüm, b. Tohum ayrıntı (x 270), c. Tohum ayrıntı (x 2000).

#### 4.2. SSR VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Her bir SSR primeri ile elde edilen jel profilleri, bant varlığı durumunda 1, yokluğunda ise 0 verilerek değerlendirilmiştir. İlgili materyallerin amplifikasyon ürünlerine ait jel görüntüleri Ek 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10'da gösterilmektedir.

Oluşturulan bu veriler MVSP 3.1 software (Kovach, 1999) kullanılarak analiz edilmiştir. Bu yazılım programı aynı zamanda, Jaccard (1908) benzerlik indekslerini hesaplayarak genetik farklılıkların hesaplanmasında, UPGMA analiz yöntemi (Rohlf, 1993) ise dendrogram oluşturulmasında kullanılmıştır.

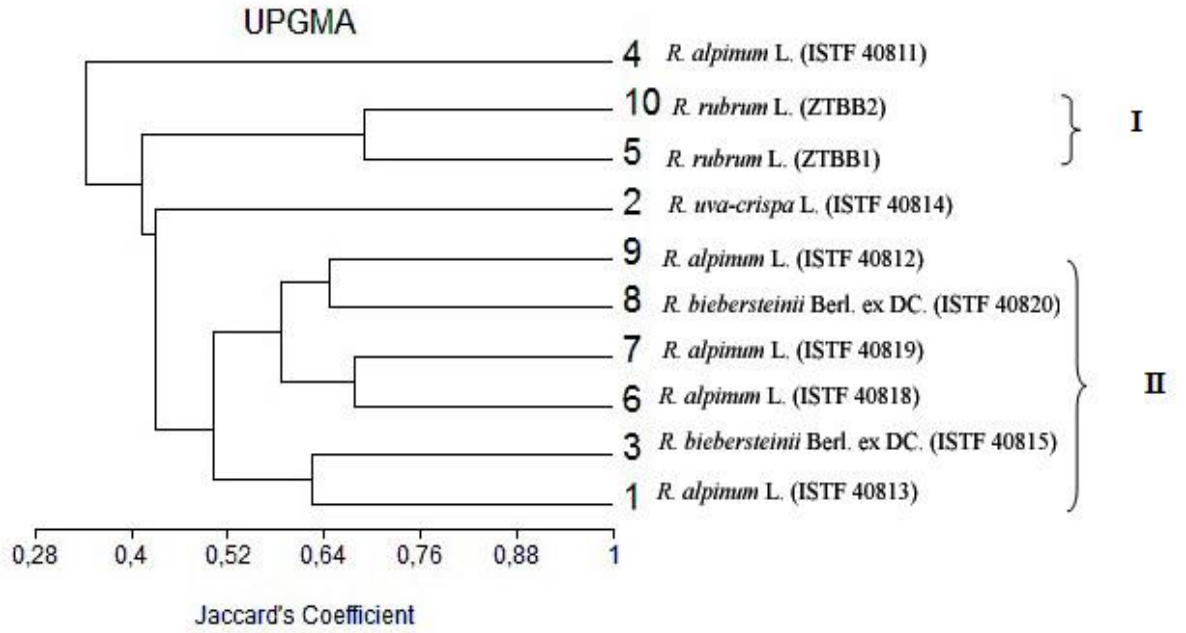
Tüm PZR amplifikasyonları sonucunda, 50 bç'den 330 bç büyüklüğüne kadar toplam 172 bant elde edilmiştir. Her bir primer için 6-32 olmak üzere ortalama 17,2 bant elde edilmiş olup, bu bantlardan 157'si (%91,2) ilgili *Ribes* L. türleri arasında polimorfik, 15'i (%8,72) ise monomorfik olarak belirlenmiştir.

İlgili SSR primerlerinin kullanılmasıyla her bir primer için elde edilen polimorfizm oranları Tablo 4.2'de gösterilmektedir.

**Tablo 4.2:** 10 farklı *Ribes* örnekleri arasındaki benzerlik oranları.

|    | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1  | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 2  | 0,425 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 3  | 0,624 | 0,491 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |       |
| 4  | 0,355 | 0,282 | 0,437 | 1,000 |       |       |       |       |       |       |
| 5  | 0,373 | 0,336 | 0,406 | 0,325 | 1,000 |       |       |       |       |       |
| 6  | 0,563 | 0,370 | 0,519 | 0,347 | 0,449 | 1,000 |       |       |       |       |
| 7  | 0,495 | 0,382 | 0,454 | 0,330 | 0,367 | 0,679 | 1,000 |       |       |       |
| 8  | 0,505 | 0,480 | 0,464 | 0,333 | 0,402 | 0,558 | 0,567 | 1,000 |       |       |
| 9  | 0,513 | 0,423 | 0,500 | 0,340 | 0,425 | 0,580 | 0,641 | 0,646 | 1,000 |       |
| 10 | 0,414 | 0,381 | 0,489 | 0,341 | 0,691 | 0,445 | 0,380 | 0,423 | 0,477 | 1,000 |
|    | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |

10 *Ribes* örneğinin Şekil 4.8'deki dendogramlarındaki benzerlik katsayıları, Tablo 4.2'de belirtildiği üzere 0,282'den 0,691'e değişmekte olup, ortalama 0,454 olarak belirlenmiştir.



**Şekil 4.8:** 10 *Ribes* L. taksonundan, 10 çift SSR primeri kullanılarak elde edilen 172 banttan UPGMA analizi ile oluşturulan dendrogram.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 5.1. SSR ANALİZLERİ SONUCU ELDE EDİLEN DENDOGRAMIN DEĞERLENDİRİLMESİ

5 *Ribes alpinum*, 2 *Ribes bieberstenii*, 1 *Ribes uva-crispa* ve 2 *Ribes rubrum* taksonlarındaki tür içi varyasyonların ve taksonomik sınırların belirlenmesi için geleneksel fenotipik karakterlere tamamlayıcı bir strateji olarak SSR bant profillerindeki polimorfizm düzeyleri analiz edilmiştir. Toplamda çoğaltılmış 10 SSR primer çiftinden 50 ve 330 bç değerleri aralığında (primer başına ortalama 17.2), 172 banttan 157'si *Ribes* aksesyonları arasında polimorfik olup %91.2 düzeyinde genetik çeşitlilik gözlenmiştir. *Ribes* örneklerinin tür ve tür içi seviyelerinde taksonomik ve filocoğrafik ilişkileri gösteren anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Ulaşılan bulguların, Anadolu'daki *Ribes* gen havuzunun karakterizasyonunda ve uygun bitkisel gen kaynaklarının seçiminde kullanışlı veriler olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Türkiye Florası'nda *Ribes* cinsine ait türler, çiçeklerinin demetler halinde ya da rasemos çiçek durumlarında (infloresans) yerleşim göstermeleri, hermafrodit ya da dioik oluşları, tomurcukların oval ya da uzun şekilli olmaları, yapraklarında aromatik salgı bezlerinin bulunup bulunmaması, meyvalarının rengi, hipantiyumun şekli gibi bazı generatif ve vejetatif morfolojik karakterler üzerinden ayrılmaktadır. Flora'daki teşhis anahtarına göre *R. uva-crispa* L., dikenli sürgünleri ve çiçeklerin aksiller demetler şeklinde yerleşim göstermesiyle diğer türlerden ayrılmaktadır. SSR profillerine dayanarak üretilen dendrogramda söz konusu tür 2. kolda konumlanmıştır. *R. orientale* ve *R. alpinum* türleri, çiçeklerinin dioik oluşu ve çiçek durumlarında (infloresans) tüysü salgı bezleri taşımaları açısından benzerlik göstermektedir. Buna karşın, belirtilen iki tür, sürgün veren tomurcuklarının şekilleri açısından ayrılmaktadır. Hermafrodit çiçeklere sahip *R. nigrum*, *R. rubrum* ve *R. bieberstenii*'den meyvasının erguvani siyah ve yapraklarının alt yüzünde sapsız aromatik bezler taşıması ile fark göstermektedir. *R. rubrum* ve *R. bieberstenii* türleri ise hipantiyumun yassı ya da çan şeklinde olması bakımından birbirlerinden ayrılmaktadır.

Elde edilen SSR verilerine dayalı olarak üretilen dendrogramda birinci grup aynı lokaliteden toplanmış *R. rubrum* örneklerine aittir. 6 farklı populasyondan toplanan *R. alpinum* ve *R. biebersteinii* örnekleri ikinci ana grubu oluşturmaktadır. *R. alpinum*'un izole lokasyon olarak Güneybatı populasyonundan toplanan örnek, dendrogramda Kuzeydoğu populasyonlarından ayrı bir kolda konumlanmıştır. *R. uva-crispa* ise dendrogramda tamamen bağımsız ayrı bir hat üzerinde yerleşim göstermiştir. *R. alpinum*'un ve *R. biebersteinii*'nin bulunduğu ikinci ana gruptaki örnekler uzak lokalitelerden toplanmış farklı genotipleri temsil etmektedir. Dendrogramda ikinci ana grubun alt grubu olarak kümelenen 1 ve 3 numaralı *R. alpinum* örnekleri ise birbirlerine görece yakın lokalitelerden toplanmış genotipleri temsil etmektedir. Gözlemlerimiz kapsamında, karelendirilmiş Türkiye haritasında (Grid system) A7 ve A8'e denk gelen Kuzey Doğu Anadolu bölgesinden toplanan 3 *R. alpinum* örneği dendrogram'da aynı ana grupta yer almış, birlikte kümelenmişlerdir. Yakın bölgelerden toplanan örnekler genetik özellikleri bakımından benzerlik gösterir. Diğer yandan, karelendirilmiş haritada A2 bölgesi kuzeybatı Anadolu bölgesinde lokalize olmuş, birbirlerinden uzak ve coğrafi olarak izole edilmiş bir diğer *R. alpinum* örneği, kuzeydoğu populasyonlarından ayrı bir grupta kümelenmiştir. *Ribes alpinum*'un İskandinavya, Ukrayna, Kafkasya ve Fas gibi bölgeleri de içeren Güney ve Kuzey Avrupa'yı kaplayan geniş bir dağılımı vardır. Bu türlerin fenotipik ve genotipik özelliklerindeki geniş farklılıkların, çeşitli ekolojik koşullara adaptasyonun bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Çalışmamız kapsamında *R. alpinum*'un SSR analizleri ile tespit edilen tür içi varyasyonları, söz konusu türün farklı iklimsel ve çevresel şartlara adapte olma kapasitesini açıklamaktadır. Bu türün, diğer aksesyonlardan farklı profiller sergileyen kuzeybatı bölgesinden toplanan örneği, taksonomik açıdan olası bir alt tür statüsü açısından daha detaylı çalışmalarla değerlendirilebilir. *Ribes*'in Anadolu gen havuzundaki geniş taksonomik çeşitliliği ve tür içi polimorfizmini daha detaylı gözleyebilmek açısından morfolojik, fenolojik ve biyokimyasal özelliklerini içeren bir markör datası ile analizi gereklidir. Bununla birlikte SSR analizi ile elde edilen çözünürlüğü yüksek verilerin, *Ribes* populasyonlarının ayırımında ve taksonların tür içi varyasyonlarının belirlenmesinde güvenilir parametreler olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Elde edilen sonuçlar aynı zamanda hedeflenen genotiplerin kimliklendirilmesi bakımından ve ıslah programları için potansiyel markörler olarak kullanılabilir. Diğer yandan, filogenetik süreçlerdeki gruplardan erken ayrılan populasyonlar içinde ilk farklılaşan kol *Ribes uva-crispa*'ya aittir. Benzer şekilde, Türkiye Florası eserinde (Davis, 1972) *Ribes* türlerinin tayin anahtarında söz konusu tür diğer türlerden belirgin olarak ayrılmaktadır. Floradaki deskripsiyonda *Ribes uva-crispa* çiçekleri 1-3 adet aksiller kümeler oluşturan çiçeklere sahip olup, dikenli sürgünleriyle de diğer türlerden ayrılmaktadır. Diğer türler morfolojik ve SSR profilleri bakımından *Ribes uva-crispa*'dan farklıdır. Bu türlerin batı, orta ve güney Avrupa, Kafkasya ve Kuzey İran bölgelerinde doğal olarak bulunduğu rapor edilmiş olup, bu bölgelerde meyvası için geniş çapta kültürü yapılmaktadır. Kuzeybatı ve orta Anadolu bölgelerine ek olarak Kuzeydoğu Anadolu bölgesinde de doğal olarak bulunur (Chamberline, 1972). Farklı bölgelerdeki 2 *Ribes biebersteinii* örneği, diğer örneklerle birlikte aynı grupta kümelenmiştir. *Ribes* taksonlarının anahtarında, sepal kenarlarının yoğun tüylü ve hipantiyumlarının çan şeklinde oluşu bu türün temel özelliği olarak rapor edilmiştir. Morfolojik gözlemlere paralel olarak, bu türün her iki örneği de iki alt gruba bölünmüş ve *R. alpinum*'u içeren gruplar ile eşleşmişlerdir. Tayin anahtarındaki bir sinapomorfik karakter olarak çiçeklenme tipleri; *Ribes* türlerini, *Ribes uva-crispa* ve salkımlarında çiçek taşıyan diğerleri olarak 2 gruba ayırır. Türler arasındaki diğer anahtar karakterler, çiçeklerin dioik veya hermafrodit özellikleri, tomurcuk ve hipantiyumlarının şekli, rengi ve meyvalarının tüylü veya tüysüz oluşu, yapraklarındaki salgı bezlerinin var oluşudur. Bu grupta, dioik çiçekli *Ribes alpinum*, sinapomorfik özellik olarak hermafrodit çiçekli *Ribes biebersteinii*'den farklılık gösterir.

Morfolojik özelliklere paralel olarak, aksesyonlar arasındaki bu tip ilişkileri dendogramda görmek mümkündür. SSR markörlerinin, genetik profil ve çeşitlilik analizlerinde, aksesyonlar arasındaki genetik ilişkilerin keşfinde, kültür bitkilerinin parmak izi tespitinde ve genetik haritalandırmada kullanılabileceği rapor edilmiştir (Cavanna, 2009). SSR markör analizleri, bitkisel gen kaynaklarının yönetiminde (Palmieri ve diğ., 2013) ve *Ribes nigrum*, *Ribes rubrum*, *Ribes uva-crispa*'yı da içeren Kuzey Avrupa *Ribes* gen kaynaklarından oluşan temel koleksiyon seçiminde başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Antonius ve diğ., 2012). SSR analizlerine yönelik gözlemlerimiz, *Ribes*'te geleneksel fenotipik yaklaşımlara dayalı taksonomik ilişkileri

desteklemektedir. Buna ek olarak, bu çalışma kapsamındaki gözlemlerimiz, *Ribes* gen havuzundaki tür içi varyasyonların aydınlatılmasına yönelik tutarlı ve güvenilir ilave veriler sunmaktadır. Türkiye *Ribes* populasyonlarının çeşitliliği bakımından büyük bir potansiyele sahip olduğundan, geniş populasyon taramaları ile taksonomik sınırları ve filocoğrafik ilişkileri açıklamak, genetik kaynakları korumak ve bu alandaki kültür bitkilerinin geliştirilmesi için değerli alleleri seçmek amacıyla bir veri bankasının oluşturulması önem taşımaktadır.

## 5.2. *RIBES* ÖRNEKLERİNİN TOHUM YÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRMESİ

Türkiye Florası'nda *Ribes* taksonlarının tohum morfolojisi ve mikromorfolojisine ilişkin her hangi bir kayıt bulunmamaktadır. Çevresel koşullardan etkilenmeyen generatif karakterler olarak tohum yüzey mikromorfolojileri taksonomik ilişkilerin aydınlatılmasında güvenilir ilave parametreler olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Özcan, 2002). Pilarek'in (2002) *Ribes* L. cinsine ait yüzey morfolojisi çalışmasında *R. uva-crispa* L., *R. nigrum* L., *R. petraeum* W., *R. rubrum* L. ve *R. spicatum* R., *R. alpinum* L. olmak üzere 6 takson kullanılmıştır. *R. uva-crispa* L., *R. nigrum* L. ve *R. alpinum* L. arasında bazı yüzey karakterleri farklılıkları saptanmıştır. Söz konusu üç türün tohum yüzeylerinde parankimal katlanmalara rastlanmış ancak diğer taksonlar arasında farklılıklar gözlenmemiştir. Pilarek, *Ribes alpinum*'un tohum yüzeylerinde paralel çizgisel katlanmalar, *Ribes uva-crispa*'nın ve *Ribes nigrum*'un tohum yüzeylerinde ise ağısı (retikulat) katlanmalar saptamıştır.

Çalışmamızda üç farklı büyütmeye yapılan gözlemlerde incelenen taksonların genel olarak düzensiz katlanmalar gösteren pürüzlü bir yüzey yapısına sahip olduğu, farklı türlerde yüzey mikromorfolojilerinin bazı farklılıklar gösterdiği, aynı türe ait farklı populasyonlardan toplanmış örneklerde ise genel olarak büyük ölçüde benzerlikler bulunduğu gözlenmiştir. *Ribes alpinum*'da yer yer paralel ve düzensiz damarsı katlanmalar (Ribbed-rugose), *Ribes uva-crispa*'da derin boşluklu düzensiz katlanmalar (Rugose-cavernosus), *Ribes biebersteinii*'de damarlı ağısı (Reticulate-areolate) ve diğer *Ribes alpinum* aksesyonlarında ise genel olarak yoğun örgülü ve katlanmalı, damarlı ağısı (Rugose-reticulate) bir yüzey topografisi tespit edilmiştir. Nispi bir farklılık olarak Rize'den toplanan *Ribes alpinum* örneğinde (ISTF 40818), bu türe ait genel yüzey strüktüründen nispeten farklı olarak daha seyrek katlanmaların varlığı dikkat

çekmektedir. Generatif karakterler olarak, tohum yüzey mikromorfolojilerindeki farklılıkların genellikle türler arasında daha belirgin olduğu, tür içi varyasyonun ise sınırlı olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, türler arasındaki genetik ilişkiyi göstermek için yapılan UPGMA sonucunda 2 ana grup ortaya çıkmıştır. Bunlardan 10 (*R. rubrum*) ve 5 (*R. rubrum*) numaralı türler, birinci grubu; 9 (*R. alpinum*), 8 (*R. biebersteinii*), 7 (*R. alpinum*), 6 (*R. alpinum*), 3 (*R. biebersteinii*) ve 1 numaralı (*R. alpinum*) türler ise 2. grubu oluşturmaktadır. 4 (*R. alpinum*) ve 2 numaralı (*R. uva-crispa*) türler ayrı konumlanmışlardır. İlgili gruplar içerisinde yer alan türler, genetik olarak birbirine daha yakın grupları temsil etmektedir. Çalışma kapsamında *Ribes* L. cinsinin 4 farklı türünü kapsayan ve farklı lokalitelerden toplanmış 10 örneği üzerinde yapılan SSR analizlerinde yüksek oranda bir polimorfizm tespit edilmiştir (% 91,7). Elde edilen verilerin Türkiye’de doğal populasyonları ile geniş yayılış gösteren *Ribes* cinsinin gen havuzundaki genetik varyasyonun, taksonlar ve populasyonlar arasındaki farklılıkların, ekolojik koşullara göre değişkenlik gösterebilen morfolojik verilere ilave olarak, generatif ve stabil karakterler olarak tohum mikromorfolojisi ve SSR moleküler markör verileriyle desteklenmesiyle, söz konusu cinsin taksonomik ve filogenetik ilişkilerine araştırma kapsamında katkı sağlandığı düşünülmektedir. Çalışmadan elde edilen bulgular ayrıca, nadir populasyonların kimliklendirilmesi, in-situ ve ex-situ koşullarda korunması, veri bankalarının hazırlanması, ürün verimi yüksek, abiyotik ve biyotik stres koşullarına dirençli genotiplerin seleksiyonu, sağlık, gıda ve endüstriyel ürün potansiyeline sahip materyalin genitör olarak kullanılabilmesi amaçlarına yönelik önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

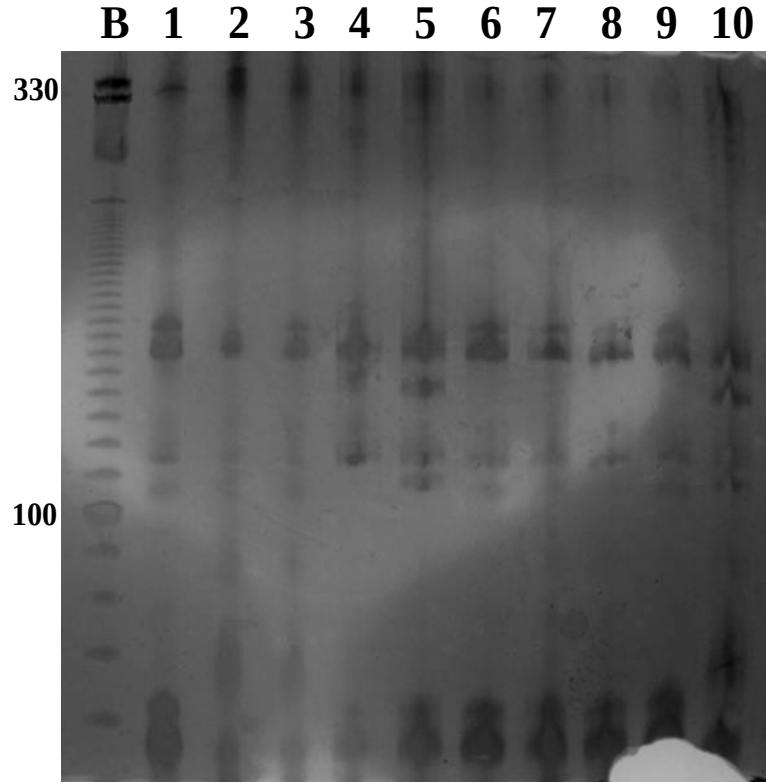
- Antonius K., Karhul S., Kaldma H., Lacis G., Rugenius R., Baniulis D., Sasnauskas A., Schulte E., Kuras A., Korbin M., Gunnarsson A., Werlemark G., Ryliskis D., Todam-Andersen T., Kokk L., Järve K., 2012, Development of the Northern European Ribes core collection based on a microsatellite (SSR) marker diversity analysis, *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 10 (1), 70–73.
- Arslan S., Berk Ş., Özbilum N., Çetinkaya S., 2012, *Moleküler Genetik 1 ve 2 Laboratuvar Föyü*, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Sivas.
- Baytop, T., 1999, *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün*, İlaveli İkinci Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Behçet, L., 2001, A new species of *Ribes* L. (Grossulariaceae) from east Anatolia, Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 25, 103-105.
- Berger, A., 1924, *A Taxonomic Review of Currants and Gooseberries*, Technical Bulletin, New York State Agricultural Experiment Station, 109-118.
- Brennan, R., Jorgensen, L., Woodhead, M., Russell, J., 2002, Development and characterization of SSR markers in *Ribes* species, *Molecular Ecology Notes*, 2: 327–330
- Brennan, R., ve diğ., 2009, The Development of a PCR-Based Marker Linked to Resistance to the Blackcurrant Gall Mite, *Theoretical and Applied Genetics*, 118 (2), 205-211.
- Cavanna, M., 2009, Microsatellite-Based Evaluation of *Ribes* spp., *Germplasm*, 52 (10), 839-848.
- Chamberlain, DF., 1972, Grossulariaceae, *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, In: Davis, PH. (ed.), 61, University Press, Edinburgh, 261-263.
- Del Castillo, 2004, Fatty acid content and juice characteristics in black currant (*Ribes nigrum* L.) Genotypes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (4), 948-952.
- Dinç, E., Kendir, G., Güvenç, A., 2011, CWT sinyal yöntemi ile *Ribes uva-crispa* L. yapraklarında rutin ve klorojenik asitin kantitatif analizi, *Uluslararası Katılımlı XII. Ulusal Spektroskopi Kongresi*, Side-Antalya.
- Ertuğrul, F., Koç, İ., 2011, Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (2), 207-214.

- Eyduran S., Ağaoğlu Y., 2007, Ankara (Ayaş) Koşullarında Yetiştirilen Frenk Üzümü Çeşitlerinin Bazı Pomolojik ve Bitkisel Özellikleri, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 13 (3), 293-298.
- Güleç, T.E., Yıldırım, A., Sönmezoğlu, Ö.A., 2010, Bitkilerde Markör Destekli Seleksiyon, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3 (2), 67-79.
- Güvenç A., Kendir G., 2012, Türkiye’de Doğal Olarak Yetişen *Ribes* L. (Grossulariaceae) türleri üzerinde farmasötik botanik yönünden araştırmalar, *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri*, Proje Numarası: 09B33360 01.
- Ipek A., Barut E., Gulen H. and Ipek M., 2010, Genetic Diversity Among Some Currants (*Ribes* spp.) Cultivars as assessed by AFLP markers, Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Uludag University, Gorukle, Bursa, Turkey, *Pakistan Journal of Botanic*, 42 (2), 1009-1012.
- Jaccard, P., 1908, Nouvelles recherches sur la distribution florale, *Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles*, 44, 223-270.
- Janczewski, E., 1907, Monographie des groseilliers, *Me’moires de la Socie’té’ de physique et d’histoire naturelle de Gene`ve*, 35, 199-517.
- Janczewski, E., 1904, de. Hybrides des Groseillers, *II. Extension Bulletin International Academia Science*, Cracoire.
- Kampus, 2008, Volatile Composition of Black Currant Cultivars, Proceedings, *Ixth International Rubus and Ribes Symposium, Acta Horticulturae*, 525-529.
- Kaplan, N., ve Akbulut, M., 2006, Samsun Çarşamba Ovası Koşullarına Uygun Frenküzümü Çeşitlerinin Belirlenmesi, *II. Ulusal Üzümsü Meyvalar Sempozyumu*, 14-16 Eylül 2006 Tokat, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, 145-150.
- Kaya C. Ve Esin Y., 2011, Frenk üzümünden (*Ribes* spp.) üretilen reçel ve marmelatın fitokimyasal özelliklerinin belirlenmesi, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Sonuç Raporu*.
- Korbin, M., Kuras, A., Zurawicz, E., 2002, Fruit Plant Germplasm Characterisation Using Molecular Markers Generated in RAPD and ISSR-PCR, *Cellular and Molecular Biology Letters*, 7 (2), 785-794.
- Kendir, G., Güvenç, A., Dinç, E. UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) yöntemi ile *Ribes uva-crispa* L. yapraklarında rutin ve klorojenik asit tayini ve antioksidan etkinin belirlenmesi, *Uluslararası Katılımlı XII. Ulusal Spektroskopi Kongresi*, Side-Antalya, 18-22 Mayıs 2011.
- Kovach W.L., 1999, *MVSP-A Multi variate Statistical Package for Windows*, Kovach Computing Services, Pentraeth, Wales, UK, 3 (1), 133.
- Külen O., ve Ogras T., 2010, Bitki moleküler genetiğinde son teknikler, *TÜBİTAK-MAM Uygulamalı Moleküler Genetik Teknikleri Eğitimi Kurs Kitabı*, 29-36.

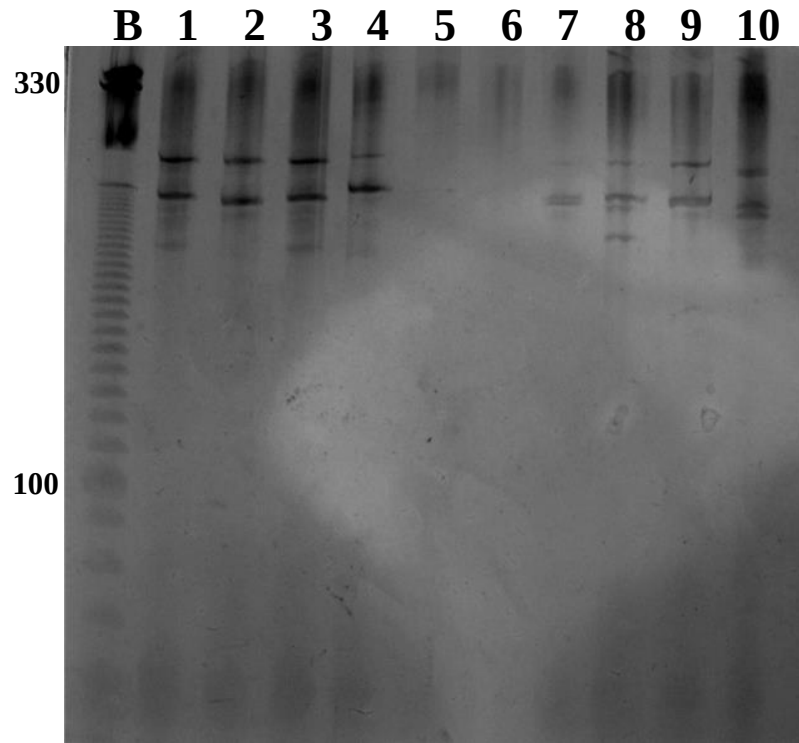
- Mayer and Brennan, 2002, Antioxidant Compounds in Diverse *Ribes* and *Rubus* Germplasm, *Proceedings of the Eighth International Rubus and Ribes Symposium, Acta Horticulturae*, 501-505.
- Messinger W., Hummer K., Liston A., 1999, *Ribes* (Grossulariaceae) phylogeny as indicated by restriction-site polymorphisms of PCR-amplified chloroplast DNA, *Plant Systematics and Evolution*, 217 (3-4), 185-195.
- Özcan T., 2002, Sem Observations on petals and fruits of some Turkish endemic *Bupleurum* L. (Umbelliferae) species, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 138 (4), 441- 449.
- Palmieri L., Grando M.S., Sordo M., Grisenti M., Martens S., Giongo L., 2013, Establishment of molecular markers for germplasm management in a worldwide provenance *Ribes* spp., *Collection Plant Omics*, 6 (3), 165-174.
- Pilarek, D.W., 2002, Seed morphology of the native species of the genus *Ribes* L., *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 71 (1), 5-16.
- Rohlf F.J., 1993, Numerical taxonomy and multivariate analysis system, *NTSYS-pc* Exeter Publishing Ltd., New York.
- Sekizawa H., 2013, Relationship between polyphenol content and anti-influenza viral effects of berries, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 2239-2241.
- Schultheis L.M., Donoghue M.J., 2004, Molecular phylogeny and biogeography of *Ribes* (Grossulariaceae), with an emphasis on gooseberries, *Systematic Botany*, 29 (1), 77-96.
- Stearn W.T., 1973, *Botanical Latin*, 2nd ed. Newton Abbot: David & Charles, 506–507.
- Tan, A., 1992, Türkiye’de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları, *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, 2, 50-64, Mara, İzmir.
- Wu X., Gu L., Prior R.L., McKay S., 2004, Characterization of anthocyanins and protoanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia* and *Sambucus* and their antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26), 7846-7856.
- Yanez, M., Barbosa, S.E., 2003, Changes in particle area measurements due to SEM accelerating voltage and magnification, *Microscopy Research Technique*, 61(5), 463-468.

## EKLER

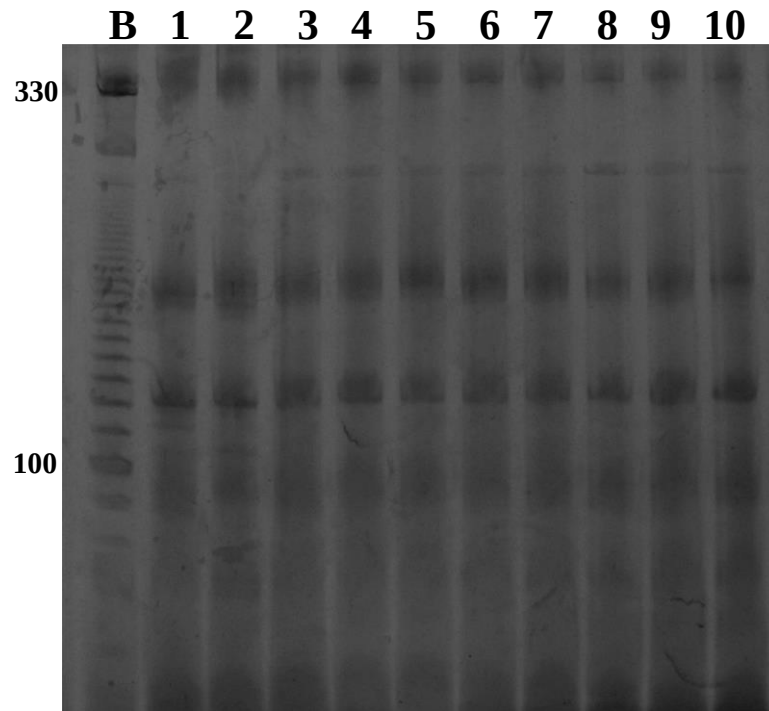
Her bir primer ile elde edilen ilgili materyallerin amplifikasyon ürünlerine ait jel görüntüleri Ek 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10'da gösterilmektedir.



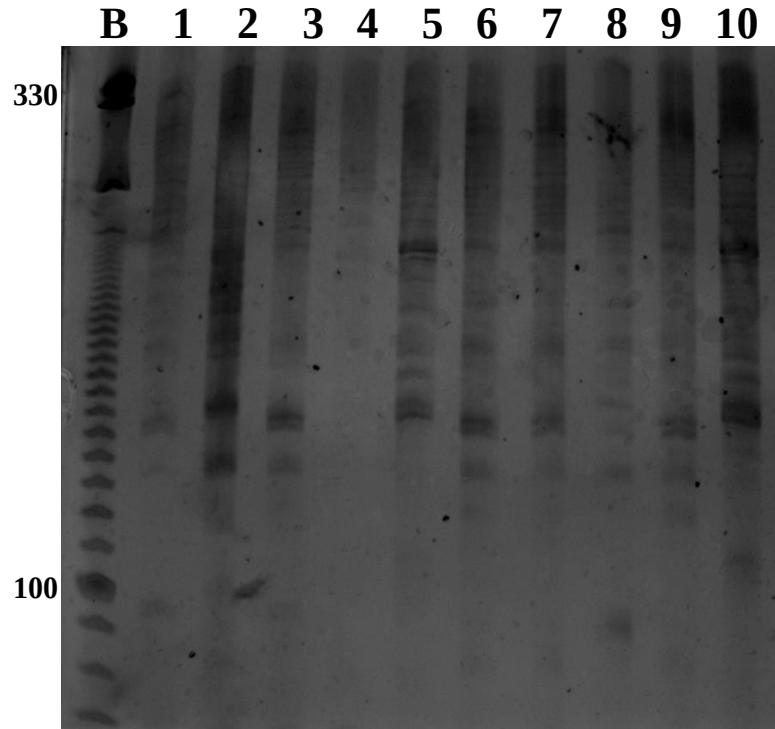
**EK 1.** R1 primeri ile elde edilen SSR bant profilleri.



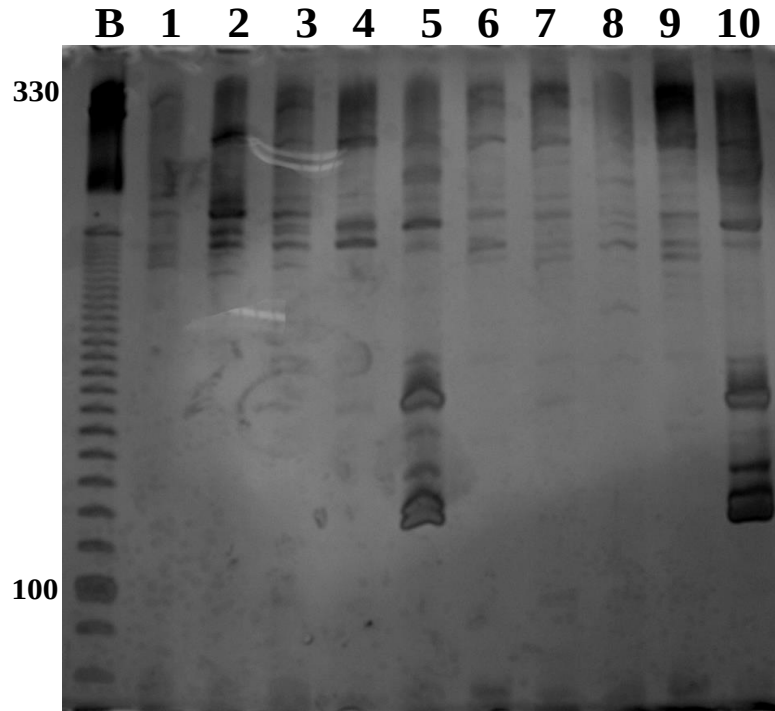
EK 2. R2 primeri ile elde edilen SSR bant profilleri.



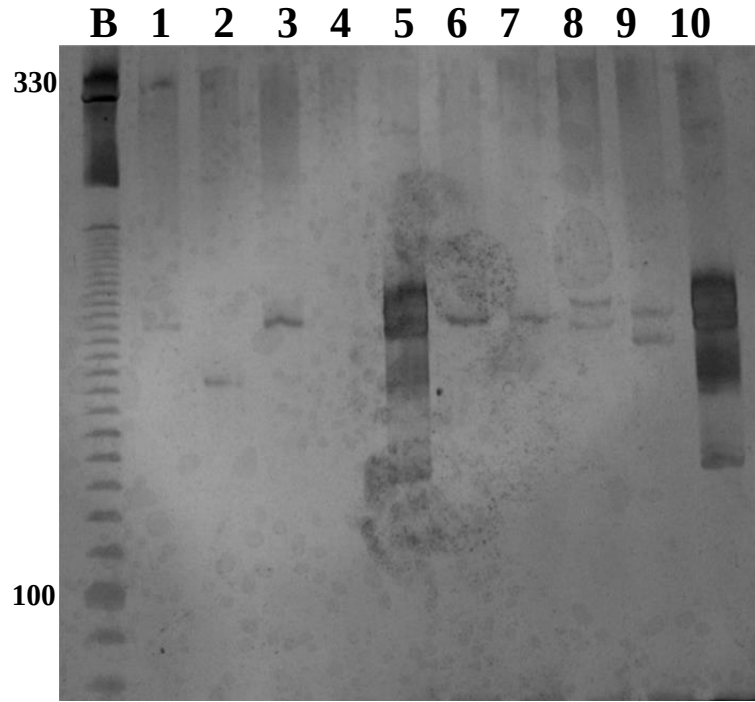
EK 3. R3 primeri ile elde edilen SSR bant profilleri.



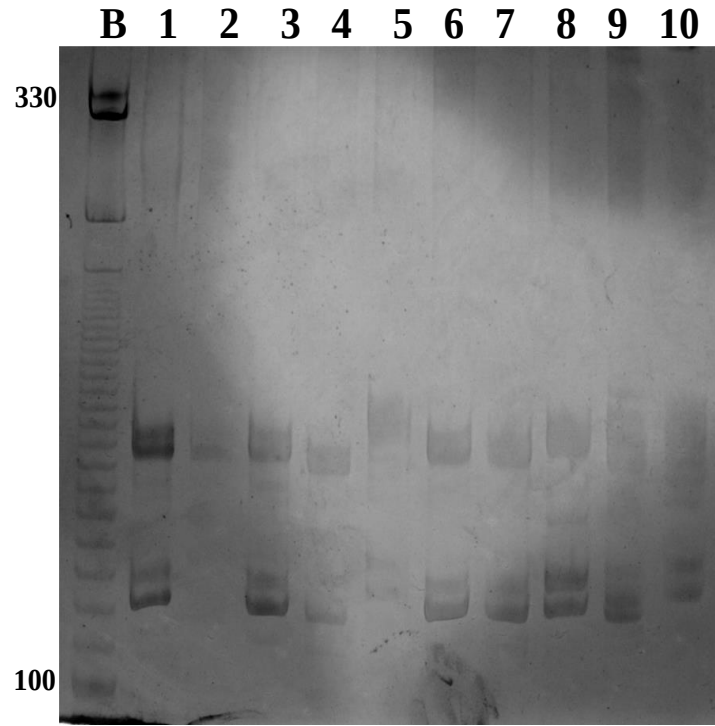
**EK 4.** R4 primeri ile elde edilen SSR bant profilleri.



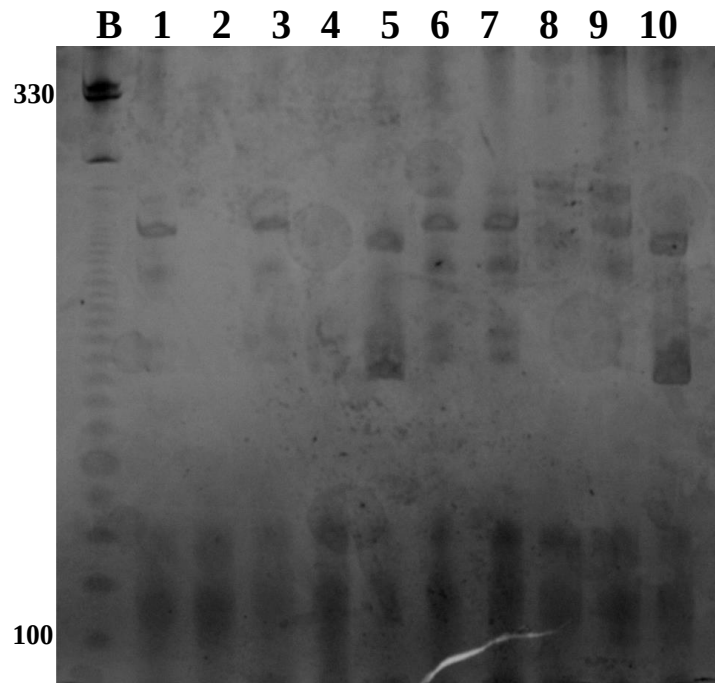
**EK 5.** R5 primeri ile elde edilen SSR bant profilleri.



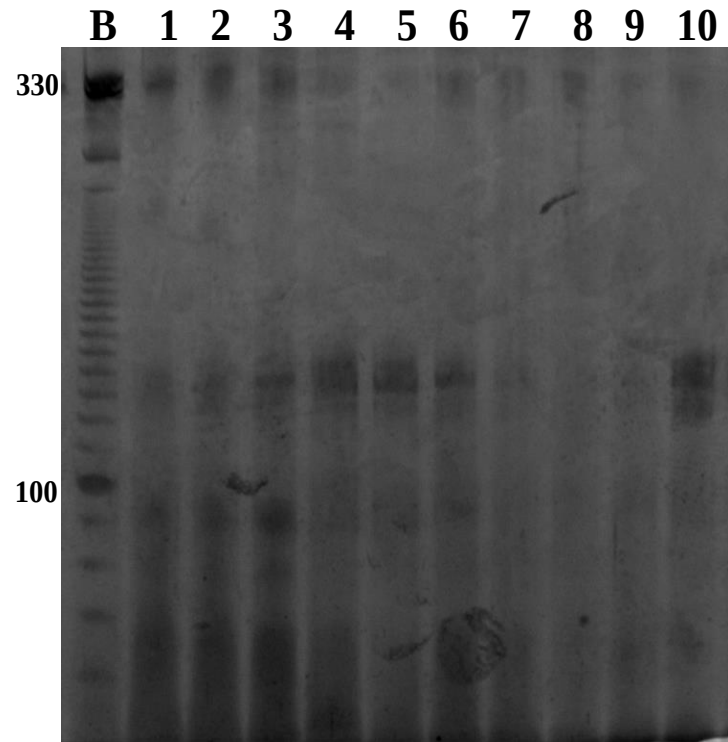
**EK 6.** R6 prieri ile elde edilen bant profilleri.



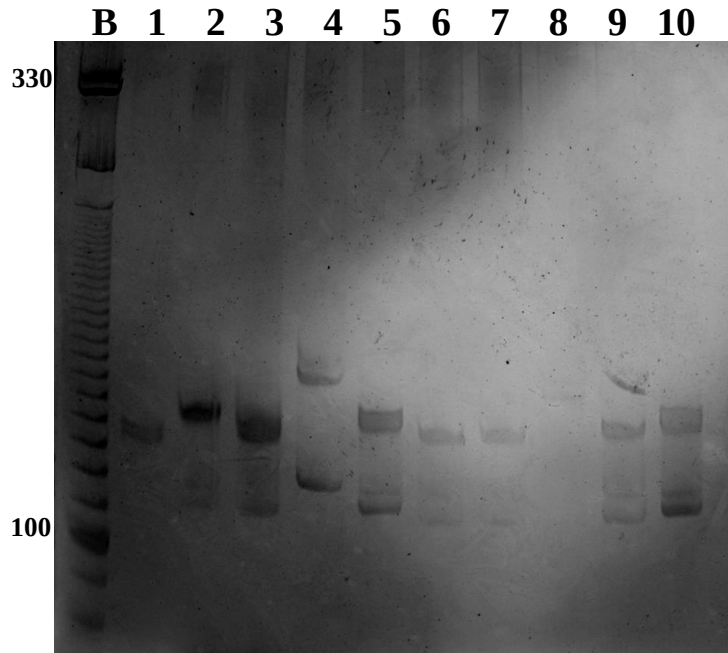
**EK 7.** R7 primeri ile elde edilen bant profilleri.



**EK 8.** R8 primeri ile elde edilen bant profilleri.



**EK 9.** R9 primeri ile elde edilen bant pfofilleri.



**EK 10.** R10 primeri ile elde edilen bant profilleri.

## ÖZGEÇMİŞ



### Kişisel Bilgiler

|                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| Adı Soyadı         | Ayşe Gül ÇELENK    |
| Uyruğu             | T.C.               |
| Doğum tarihi, Yeri | 1983, İstanbul     |
| Telefon            | 0 536 358 8274     |
| E-mail             | agcelenk@gmail.com |

### Eğitim

| Derece        | Kurum / Anabilim Dalı / Programı                                         | Yılı |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------|------|
| Yüksek Lisans | İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü / Biyoloji Anabilim Dalı / Botanik Programı | 2015 |
| Lisans        | İstanbul Üniversitesi / Fen Fakültesi / Biyoloji Anabilim Dalı           | 2009 |
| Lise          | Denizli Anadolu Lisesi                                                   | 2001 |

### Makaleler / Bildiriler

Çelenk A.G., Özcan T., 2014, Türkiye’den Bazı *Ribes* L. Örneklerinde SSR Polimorfizmi, 1. *Ulusal Botanik Kongresi*, 25-28 Ekim 2014 Antalya, Türkiye, 61.