



**PRUNUS SALİCİNA’DA MARKIR
DESTEKLİSELEKSİYONA OLANAK
SAĞLAYABİLECEK MEYVE ÖZELLİKLERİ
VE ÇİÇEKLENME İLE İLGİLİ OLASI
MARKIRLARIN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Elif SEYİTOĞLU

Eskişehir 2022

**PRUNUS SALİCİNA'DA MARKIR DESTEKLİ SELEKSİYONA OLANAK
SAĞLAYABİLECEK MEYVE ÖZELLİKLERİ VE ÇİÇEKLENME İLE İLGİLİ
OLASI MARKIRLARIN ARAŞTIRILMASI**

Elif SEYİTOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Emel SÖZEN

Eskişehir

Eskişehir Teknik Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Eylül 2022

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Elif SEYİTOĞLU'nun PRUNUS SALİCİNA'DA MARKIR DESTEKLİ SELEKSİYONA OLANAK SAĞLAYABİLECEK MEYVE ÖZELLİKLERİ VE ÇİÇEKLENME İLE İLGİLİ OLASI MARKIRLARIN ARAŞTIRILMASI başlıklı çalışması 12/09/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, İleri Teknolojiler Anabilim dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvan Adı Soyadı

İmza

Üye

: Prof. Dr. Emel SÖZEN

Üye

: Doç. Dr. İsmail POYRAZ

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Gülçin IŞIK

Prof. Dr. Murat TANIŞLI

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

DANIşMAN ONAYI

Danişmanlığını yürüttüğüm YÜKSEK LİSANS đrencisi Elif SEYİTOğLU, PRUNUS SALİCİNA’DA MARKIR DESTEKLİ SELEKSİYONA OLANAK SAğLAYABİLECEK MEYVE ÖZELLİKLERİ VE ÇİÇEKLENME İLE İLGİLİ OLASI MARKIRLARIN ARAşTIRILMASI başlıklı tez çalışmasını tamamlamıştır. Hazırlamış olduğu tez tarafımca incelenmiş ve öğrencinin tez savunma sınavına alınması bilimsel ve etik açıdan uygun görülmüştür.

Tez Daniřmanı

Prof. Dr. Emel SÖZEN

ÖZET

PRUNUS SALİCİNA'DA MARKIR DESTEKLİ SELEKSİYONA OLANAK SAĞLAYABİLECEK MEYVE ÖZELLİKLERİ VE ÇİÇEKLENME İLE İLGİLİ OLASI MARKIRLARIN ARAŞTIRILMASI

Elif SEYİTOĞLU

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Eylül 2022

Danışman: Prof. Dr. Emel SÖZEN

Bu çalışmada, kırmızı ve sarı kabuk rengine sahip 14 farklı erik çeşit ve genotipleri arasındaki genetik çeşitlilik seviyeleri ISSR, SCOT ve SSR markırları kullanılarak araştırılmıştır. 14 ISSR primeri, 186'sı polimorfik (%91.7) olmak üzere büyüklükleri 174 ile 3363 bp arasında değişen toplam 240 tekrarlanabilir bant profili oluşturmuştur. 11 SCOT primeri, 189'u polimorfik (%92.19), büyüklükleri 129 ile 3273 bp arasında değişen toplam 205 tekrarlanabilir bant amplifiye etmiştir. Ortalama PIC değeri ISSR primerleri için 0.293, SCOT için 0.316 olarak hesaplanmıştır. 5 SSR primeriyle ise büyüklükleri 123 bp ile 276 bp arasında değişen 50 allel oluşmuştur. SSR primerlerinde ortalama PIC değeri ise 0.57 olarak bulunmuştur. ISSR analizinden elde edilen en yüksek genetik benzerlik değeri Sarı Genotip-C ve Kırmızı Genotip-A arasında (0.660), en düşük genetik benzerlik değeri ise Sarı Genotip-C ve Angeleno (0.341) arasında tespit edilmiştir. SCOT analizi ise genetik olarak en yakın çeşitlerin Kırmızı Genotip-A ve Kırmızı Genotip-C (0.672), en uzak çeşitlerin ise Fortune ve Sarı Genotip-B (0.317) olduğunu göstermiştir. ISSR ve SCOT verilerinden elde edilen UPGMA dendrogramları, tescilli çeşitler ile genotipleri birbirinden ayıran 2 ana grup oluşmuştur. SSR primerleri ile sarı ve kırmızı erik çeşitleri tam ayrılmamıştır. Bununla birlikte meyve kabuk ve et rengi için dizayn edilen SSR markırlarının ISSR ve SCOT markırlara nazaran çeşitleri kabuk rengine göre nispeten daha iyi ayırdığı belirlenmiştir. Kullanılan markırlar çiçeklenme zamanına göre ayırım sağlamamıştır.

Anahtar Sözcükler: Erik, Genetik varyasyon, Moleküler markırlar, SCOT, ISSR, SSR.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF POSSIBLE MARKERS RELATED TO FRUIT CHARACTERISTICS AND FLOWERING THAT MAY ALLOW MARKER- ASSISTED SELECTION IN PRUNUS SALICINA

Elif SEYİTOĞLU

Department of Advanced Technologies

Programme in Biotechnology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, September 2022

Supervisor: Prof. Dr. Emel SÖZEN

In this study, genetic diversity levels among 14 different plum cultivars and genotypes with red and yellow rind were investigated using ISSR, SCOT and SSR markers. 14 ISSR primers produced a total of 240 reproducible band profiles, 186 of which were polymorphic (91.7%), varying in size from 174 to 3363 bp. 11 SCOT primers amplified a total of 205 reproducible bands, of which 189 were polymorphic (92.19%), ranging in size from 129 to 3273 bp. The mean PIC value was calculated as 0.293 for ISSR primers and 0.316 for SCOT. With 5 SSR primers, 50 alleles with sizes ranging from 123 bp to 276 bp were formed. The mean PIC value in SSR primers was found to be 0.57. The highest genetic similarity value obtained from ISSR analysis was found between Yellow Genotype-C and Red Genotype-A (0.660), and the lowest genetic similarity value was found between Yellow Genotype-C and Angeleno (0.341). SCOT analysis showed that the genetically closest cultivars were Red Genotype-A and Red Genotype-C (0.672), while the farthest cultivars were Fortune and Yellow Genotype-B (0.317). UPGMA dendrograms obtained from ISSR and SCOT data formed 2 main groups that distinguish registered cultivars and genotypes. SSR primers and yellow and red plum cultivars were not completely separated. However, it was determined that SSR markers designed for fruit skin and flesh color discriminated the varieties relatively better than ISSR and SCOT markers. The markers used did not differentiate according to flowering time.

Keywords: Plum, Genetic variation, Molecular markers, SCOT, ISSR, SSR.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam süresince maddi ve manevi her konuda bilgi, tecrübe ve desteklerini benden esirgemeyen, çalışmamı sahiplenerek takip eden çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Emel Sözen'e katkı ve emekleri için teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tüm hayatım boyunca her konuda beni destekleyen, her zaman yanımda olan çok değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Elif SEYİTOĞLU



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Elif SEYİTOĞLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI.....	I
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	II
DANIŞMAN ONAYI	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
TEŞEKKÜR	VI
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XVI
1. GİRİŞ	1
1.1. Eriğin Taksonomisi ve Genel Bilgiler	2
1.2. Bitki Islahı ve Genetik Çeşitlilik	5
1.3. Moleküler Markırlar	6
1.4. Moleküler Markır Çeşitleri	7
1.4.1. Hibridizasyona Dayalı Moleküler Markırlar.....	8
1.4.2. Polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı moleküler markırlar	8
1.5. Konu ile İlgili Önceden Yapılmış Çalışmalar	12
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
2.1. Materyal	21
2.2. Yöntem	21
2.2.1. DNA izolasyonu ve saflaştırılması	22
2.2.2. DNA miktar ölçümü	23
2.2.3. ISSR PCR analizi	23
2.2.4. SCoT PCR analizi	26

2.2.5. SSR PCR analizi.....	27
2.2.6. PCR sonuçlarının yorumlanması	29
3. BULGULAR	30
3.1. DNA İzolasyonu Sonucu DNA Miktar ve Saflık Ölçümü	30
3.2. PCR Analizi.....	30
3.2.1. ISSR PCR analizi	30
3.2.2. ISSR analizinin değerlendirilmesi	45
3.2.3. SCoT PCR analizi	47
3.2.4. SCoT analizinin değerlendirilmesi	59
3.2.5. SSR PCR analizi.....	61
3.2.6. SSR analizinin değerlendirilmesi.....	67
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	68
4.1. ISSR, SCOT ve SSR Amplifikasyonu	68
4.2. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC)	69
4.3. Erik Çeşitlerinin Genetik Benzerliği.....	70
4.4. Erik Çeşitlerini Meyve Özellikleri ve Çiçeklenme zamanına Göre Ayrabilecek Potansiyel Markırların Tespiti	71
KAYNAKÇA	73
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Tez çalışmasında kullanılan erik çeşitleri ve meyve özellikleri	21
Tablo 2.2. 2X CTAB liziz tamponu bileşenleri.....	22
Tablo 2.3. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerine ait bilgiler	23
Tablo 2.4. ISSR PCR bileşenleri	24
Tablo 2.5. ISSR PCR döngü koşulları.....	24
Tablo 2.6. Çalışmada kullanılan SCoT primerlerine ait bilgiler.....	26
Tablo 2.7. SCoT PCR bileşenleri	26
Tablo 2.8. SCoT PCR döngü koşulları.....	26
Tablo 2.9. Çalışmada kullanılan SSR primerlerine ait bilgiler.....	27
Tablo 2.10. SSR PCR bileşenleri.....	28
Tablo 2.11. SSR PCR döngü koşulları	28
Tablo 3.1. Erik çeşitlerinden izole edilen DNA'ların miktar ve saflık ölçümleri	30
Tablo 3.2. 14 ISSR primerinden elde edilen bantların özellikleri	45
Tablo 3.3. Jaccard benzerlik katsayısına göre Erik çeşitleri arasındaki genetik benzerlik matrisi	46
Tablo 3.4. 11 SCoT primerinden elde edilen bantların özellikleri	59
Tablo 3.5. Jaccard benzerlik katsayısına göre Erik çeşitleri arasındaki genetik benzerlik matrisi	60
Tablo 3.6. 5 SSR primerinden elde edilen bantların özellikleri	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. <i>P. domestica</i> yaprak, çiçek, dal, meyve ve tohum görünümü (https-3).....	3
Şekil 1.2. <i>P. salicina</i> yaprak, çiçek ve meyve görünümü (https-4).....	4
Şekil 1.3. <i>P. americana</i> yaprak, çiçek, dal, meyve ve tohum görünümü (https-5).....	4
Şekil 1.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (https-6).....	9
Şekil 2.1. Fermantas Gene Ruler 100 bp DNA ladder Plus	25
Şekil 2.2. ABM Opti-DNA markers 100bp plus.....	25
Şekil 3.1. ISSR 2 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	31
Şekil 3.2. ISSR 2 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	31
Şekil 3.3. ISSR 3 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	32
Şekil 3.4. ISSR 3 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	32
Şekil 3.5. ISSR 4 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	33
Şekil 3.6. ISSR 4 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	33
Şekil 3.7. ISSR 6 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	34
Şekil 3.8. ISSR 6 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	34
Şekil 3.9. ISSR 14 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	35
Şekil 3.10. ISSR 14 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	35
Şekil 3.11. ISSR 310 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	36
Şekil 3.12. ISSR 310 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	36

Şekil 3.13. ISSR 324 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	37
Şekil 3.14. ISSR 324 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	37
Şekil 3.15. ISSR 807 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	38
Şekil 3.16. ISSR 807 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	38
Şekil 3.17. ISSR 810 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	39
Şekil 3.18. ISSR 810 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	39
Şekil 3.19. ISSR 815 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	40
Şekil 3.20. ISSR 815 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	40
Şekil 3.21. ISSR 819 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	41
Şekil 3.22. ISSR 819 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	41
Şekil 3.23. ISSR 834 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	42
Şekil 3.24. ISSR 834 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	42
Şekil 3.25. ISSR 847 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	43
Şekil 3.26. ISSR 847 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	43
Şekil 3.27. ISSR 859 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	44
Şekil 3.28. ISSR 847 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	44

Şekil 3.29. ISSR primerleri kullanılarak oluşan 14 erik çeşidinin genetik benzerlik dendrogramı	47
Şekil 3.30. SCoT 3 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	48
Şekil 3.31. SCoT 3 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	48
Şekil 3.32. SCoT 12 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	49
Şekil 3.33. SCoT 12 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	49
Şekil 3.34. SCoT 15 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	50
Şekil 3.35. SCoT 15 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü,.....	50
Şekil 3.36. SCoT 17 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	51
Şekil 3.37. SCoT 17 primeri oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	51
Şekil 3.38. SCoT 18 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	52
Şekil 3.39. SCoT 18 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	52
Şekil 3.40. SCoT 19 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	53
Şekil 3.41. SCoT 19 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	53
Şekil 3.42. SCoT 21 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	54
Şekil 3.43. SCoT 21 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	54
Şekil 3.44. SCoT 24 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	55

Şekil 3.45. SCoT 24 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	55
Şekil 3.46. SCoT 28 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	56
Şekil 3.47. SCoT 28 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	56
Şekil 3.48. SCoT 32 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	57
Şekil 3.49. SCoT 32 primeri ile bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü	57
Şekil 3.50. SCoT 34 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	58
Şekil 3.51. SCoT 34 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	58
Şekil 3.52. SCoT primerleri kullanılarak oluşan 14 erik çeşidinin genetik benzerlik dendrogramı.....	61
Şekil 3.53. CA-RISO primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	62
Şekil 3.54. CA-RISO primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	62
Şekil 3.55. PLDCn primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	63
Şekil 3.56. PLDCn primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	63
Şekil 3.57. MADS BOX primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri	64
Şekil 3.58. MADS BOX primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	64
Şekil 3.59. CPTCS025 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	65
Şekil 3.60. CPTCS025primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	65
Şekil 3.61. CPTCS022 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri.....	66

Şekil 3.62. CPTCS022 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü.....	66
Şekil 3.63. SSR primerleri kullanılarak oluşan 14 erik çeşidinin genetik benzerlik dendrogramı	67



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi)
bç	: Baz çifti
CTAB	: Cetil Three Metil Amonyum Bromid
dk	: Dakika
DNA	: Deoksribonükleik asit
dNTP	: Deoksribonükleosid trifosfat
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeats (Basit dizi arası tekrarları)
M	: Molar
mg	: Miligram
Mg ⁺²	: Magnezyum
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
PIC	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş parça uzunlukları polimorfizmi)
Rpm	: Rotate per minute (Dakika devir sayısı)
SCoT	: Start Codon Targeted Polymorphism (Start kodon hedefli polimorfizm)
sn	: Saniye
SSR	: Simple Sequence Repeats (Basit dizin tekrarları)
Taq	: Taq polimeraz enzimi
TBE	: Tris- borik asit- EDTA
UPGMA	: Unweighted pair group method with arithmetic means (Aritmetik ortalamalar ile ağırlıklandırılmamış eşlenmiş grup metodu)

UV	: Ultraviole
V	: Volt
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece



1. GİRİŞ

Birçok bitkinin gen merkezi olan ülkemizin dünya tarımında önemli bir yeri bulunmaktadır. Ülkemiz gen kaynaklarının çeşitliliği açısından zengin bir biyoçeşitliliğe sahiptir (Ağaoğlu vd., 1997). Farklı ekolojik ve topoğrafik bölgelere sahip olan ülkemiz, bu özelliğinden dolayı birçok tür ve çeşitte meyvenin yetiştirilmesini mümkün kılmıştır (Güleryüz, 1977). Ayrıca dünya çapında yetiştirilen birçok meyve türüne de ev sahipliği yapmaktadır. Ülkemizde sayıları azalmakla beraber bugün 500'den fazla elma, 200 erik, 100 şeftali ve 1200 üzüm çeşidinin olduğu bildirilmektedir (Ağaoğlu vd., 1997). Tezde birinci düzeyden başlamak üzere çeşitli düzeylerde başlıklar kullanılabilir.

Erik 2000 yıllık geçmişe sahip bir kültür meyvesidir. İtalyan yazar Plinius'un günümüze ulaşan bilgilerden, çok eski tarihlerde dahi çok güzel kültür çeşitlerinin bulunduğu anlaşılmaktadır. Romalılar'ın bu çeşitleri, doğuya yaptıkları seferler ile Hazar denizi, Kafkaslar ve Anadolu'dan getirdikleri tahmin edilmektedir (Özbek, 1978). Eriğin Kafkaslar, Hazar Denizi ve Anadolu'yu da içine alan bölgeden dünyaya yayıldığı tahmin edilmektedir (Eremin, 1978). Erik, ülkemizde güneydoğudan İç Anadolu, Akdeniz ve Ege bölgesine kadar çeşitli ekolojik ve coğrafi koşullar altında yaygın olarak yetiştirilmektedir (Özbek, 1978).

Dünyada erik üretimi 2020 yılında toplamda 12.225.073 tondur. Erik üretimini ülkelere göre incelediğimizde; Çin 6.465.219 tonluk üretimle ilk sırayı alırken onu sırayla Romanya 757.880 ton, Sırbistan 582.547 ton, Şili 416.215 ton, İran 375 867 ton ile izlemektedir. Türkiye 329.056 ton erik üretimi ile dünyada 6. sırada yer almıştır ([https-1](#)). Türkiye' de 2021 üretim sezonu verilerine göre 332.533 ton üretimi yapılmıştır ([https-2](#)). Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan can eriklerinin tamamı yerli olmakta olup Avrupa eriklerinin bir kısmı yabancı bir kısmı yerli, Japon eriklerinin çeşitlerinin ise tamamı yabancısıdır (Özçağırın vd., 2003).

Sert çekirdekli meyve türlerinin ıslah çalışmalarında değişik erik türleri oldukça fazla kullanılmaktadır. Meyve türlerinin gen kaynağının belirlenmesi amacıyla dünyada uzun yıllardır koleksiyonların oluşturulması ve mükemmel özelliklere sahip bireylerin seçimine yönelik araştırmalar mevcuttur. Erik ıslahında çeşitlerin özellikle meyve özelliklerini (kabuk ve et rengi) geliştirmeye yönelik girişimler bulunmaktadır. Markır destekli seleksiyonla istenilen karaktere sahip genotiplerin çok erken evrelerde tespit edilmesi oldukça önemlidir. Bu nedenle böyle bir seçilimi mümkün kılmak için moleküler markır teknolojilerinden yararlanılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, SCOT, ISSR ve SSR markırları kullanarak kırmızı ve sarı kabuk rengine sahip farklı erik çeşit ve genotipleri arasındaki genetik polimorfizmi ortaya çıkarmak ve bu markırların çalışılan erik çeşitlerini meyve kabuk ve et rengi ile çiçeklenme zamanına göre ayırma potansiyelini araştırmaktır.

1.1. Eriğin Taksonomisi ve Genel Bilgiler

Erik, Rosales takımının Rosaceae familyasından Prunoideae alt familyasının *Prunus* cinsinden *Prunophora* alt cinsi içerisinde yer alan sert çekirdekli bir meyve türüdür (Özvardar ve Önal, 1990).

Erikler, *Prunophora* alt cinsin iki kısmını oluşturur. Bunlar *Euprunus* ve *Prunocerasus* 'tur. *Euprunus* grubunda; *Prunus cerasifera* Ehrh., *Prunus domestica* L., *Prunus spinosa*, *Prunus salicina* Lindl. (*P. triflora* Roxb.), *Prunus simonii* Carr. türleri bulunurken *Prunocerasus* grubunda ise; *Prunus americana* Marsh., *Prunus nigra* Ait., *Prunus hortulana* Bailey, *Prunus munsoniana* Wight ve Hedrick. türleri bulunmaktadır. Ülkemiz bu türlerden, birçok önemli çeşidin doğduğu *P. cerasifera* Ehrh., *P. insitita* L. ve *P. spinosa* L.'nin gen merkezlerinden biridir. Ayrıca *P. domestica* L. ve *P. salicina* L.'nin kültür formları da ülkemizde yetiştirilmektedir (Ayanoğlu ve Yılmaz, 1995).

Erik türleri gen merkezlerine göre; Avrupa-Asya, Uzakdoğu ve Kuzey Amerika türleri olmak üzere üç gruba ayrılır (Özçağırın vd., 2003).

Türkiye'de mevcut erik türlerinin; *Prunus cerasifera* Ehrh., *Prunus domestica* L., *Prunus insititia* L., *Prunus spinosa* L. ve *Prunus salicina* Lindley ve *Prunus simonii* carr. olduğu bildirilmektedir (Davis,1972). Bugün Türkiye'de yetiştirilen erik çeşitleri *Prunus cerasifera*, *Prunus domestica* ve *Prunus salicina* türlerine aittir (Özçağırın vd., 2003).

Prunus cinsinde kromozom sayısı $n=8$ dir. Erik türleri bu esas kromozom sayısına göre diploit ($2n=16$), tetraploit ($2n=32$) veya hekzaploit ($2n=48$) genom yapısına sahiptirler. Avrupa eriklerinden (*P. domestica* ve *P. insititia*) birçok çeşit hekzaploid, Japon erikleri ise (*P. salicina*) diploittir. Myrobalan eriği (*P. cerasifera*) ise diploit olup anaç olarak kullanımı yaygın değildir (Salesses vd., 1994). Diploit erik genomu yaklaşık 280 Mbp olup (*Arabidopsis* bitkisi genomunun yaklaşık 2 katı büyüklüğünde), şeftali genomu ile aynı büyüklüktedir. Hekzaploid *P. domestica* genom büyüklüğü ise yaklaşık 883 Mbp olarak tespit edilmiştir (Arumuganathan ve Earle 1991).

Erik çeşitlerine döllenme biyolojisi açısından bakıldığında 3 grup altında toplanır. Bunlar; kendine verimli, kısmen kendine verimli ve kendine kısır çeşitlerdir (Scorza vd., 1985).

Erikler Avrupa-Asya erikleri, Uzakdoğu erikleri ve Amerikan erikleri olarak 3 ana gruba ayrılır. Avrupa- Asya erikleri *Prunus domestica*, *P. spinosa*, *P. avium*, *P. mahaleb*, *P. institia* ve *P. cerasifera* türlerinden oluşur. Avrupa-Asya eriklerinin boyları yaklaşık 10 m yüksekliğe ulaşabilir. Düz bir gövdeye ve koyu kahverengi bir kabuğa sahiptir. Yapraklar oval bir şekle sahiptir. Çiçekler tek, 2'li veya 3'lü gruplar halinde düzenlenir. Meyve kabuk rengi genellikle koyu mor-mavi iken meyve eti sarıdır (Şekil 1.1) (Wallowiak ve Tomczak, 2008).



Şekil 1.1. *P. domestica* yaprak, çiçek, dal, meyve ve tohum görünümü (<https-3>)

Uzakdoğu erikleri, *Prunus salicina* ve *Prunus mume* türlerini içerir. Uzakdoğu eriklerinin boyları 10 m'ye ulaşabilir ve kırmızımsı-kahverengi sürgünleri vardır. Yapraklar 6 ile 12 cm uzunluğunda ve 2,5 ila 5 cm genişliğinde olup, tırtıklı bir kenar boşluğu vardır. Çiçekler beş beyaz taç yapraktan oluşmaktadır. Meyve 4 ile 7 cm çapında, sarı-pembe etlidir (Şekil 1.2) (Wallowiak ve Tomczak, 2008).



Şekil 1.2. *P. salicina* yaprak, çiçek ve meyve görünümü (<https-4>)

Son grup Amerikan erikleridir ve en iyi bilinen türü olan *Prunus americana*'dır. 15 m yüksekliğe kadar büyürler. Yapraklar geniş oval şekillidir. Çiçekler beyaz, 5 taç yapraklı ve tek veya salkım halindedir. Meyveleri kırmızı kabuklu ve meyve eti sarı renklidir (Şekil 1.3) (Cobianchi ve Watkins, 1984).



Şekil 1.3. *P. americana* yaprak, çiçek, dal, meyve ve tohum görünümü (<https-5>)

Eriklerin olgunlaşma dönemine bakıldığında *P. cerasifera* (Can eriği) erkenci, *P. salicina* (Japon erikleri) yaz döneminde olgunlaşma gösteren orta mevsim grubuna girerken, *P. domestica* (Avrupa eriği) çeşitleri ise geçici grubu oluşturmaktadır (Asma, 2000; Gülcan vd., 2000).

Erikte iklim istekleri türlere göre değişmektedir. *P. cerasifera* iklim koşullarındaki değişikliğe en iyi adapte olan türdür. Ilıman, soğuk ılıman ve sıcak ılıman alanlarda yetişir. En iyi yetiştiği bölge ılıman iklime kuşağıdır. *P. salicina* kışı sert geçmeyen bölgelerde yetişir. Bu iki tür erken çiçeklenme dönemine girdiği için kış ve ilkbahar donlarından zarar görme olasılıkları yüksektir. *P. domestica* ise kışı nispeten soğuk geçen soğuk ılıman iklimlerde rahatlıkla yetiştirilebilmektedir (Özvırdar ve Önal, 1990).

Erik tür ve çeşitlerine göre farklı şekillerde kullanılmaktadır. Can erik (*P. cerasifera*) taze sofralık olarak ve yeşil dönemde tüketilirken, (*P. salicina*) sofralık tüketime daha uygundur. Avrupa erikleri (*P. domestica*) kurutmalık ve sofralık kısmen de olsa konservelik olarak tüketilmektedir (Özkarakaş vd., 2006).

Eriklerin B vitamini içeriği açısından zengin olduğu bilinmektedir ve ayrıca potasyum ve magnezyum mineralleri de oldukça yüksektir. 100 gr taze erik; 66 kalori, 17.8 gr karbonhidrat, 299 mg potasyum, 17 mg fosfor, 2 mg sodyum, 18 mg potasyum, 0.5 mg demir ve 0.4 mg lif içerir. Ayrıca A, B1, B2, B3, B6, C ve E vitaminlerini içerir. İçeriğinde bulunana bileşenler nedeniyle, eriklerin birçok yönden sağlık yararlı olduğu kabul edilmektedir. Göz sağlığını korumak için büyük öneme sahip A vitamini eriklerde oldukça fazla miktarda bulunur. Bor içerikleri bakımında zengin olan erikler, vücuttaki D vitamini ve östrojen direncini uzatarak kemik sağlığını ve gücünü koruyabilir. Ayrıca kuru eriklerin besin değerinin taze olanlardan daha yüksek olduğuna dikkat edilmelidir (Tunalıoğlu ve Keskin, 2004).

1.2. Bitki Islahı ve Genetik Çeşitlilik

Bitki ıslahı, hücre, cins, tür ve çeşitlerin genetik bilgilerinin istenilen ve uygun amaçlarla, genetik ve sitogenetik yöntemlerle planlı olarak değiştirilmesi ve geliştirilmesidir (Tosun, 2015). Arkeolojik bulgulara göre, insanların tarafından farklı zamanlarda yapılan evrim süreci olarak anlaşılabilecek olan bitkilerin ıslahı, on binlerce yıl önce başlamıştır. Meyveler çok eski tarihlerden beri, besleyici özelliğinden çok lezzet ve keyif verici ürün olarak kullanılmıştır. Bu nedenden dolayı ıslah çalışmaları tek yıllık bahçe bitkilerine göre oldukça geç başlamıştır. İnsanlar daha yerleşik hayat ve tarımla tanışmadan önce toprağa tohum bırakmışlardır. Daha sonra bitki ıslahının en temel ve önemli ilkelerinden biri olan "seleksiyon", bazı bitkilerin gelişim sürecinde iyi bir gelişim göstermeleri veya bu bitkilerin hayvanlar tarafından daha çok sevilip otlamaları ya da verim miktarının yüksekliğine göre bilinçli-bilinçsiz seçim ile ortaya çıkmıştır (Ulukan,

2007). Yapay olarak geliştirilen bu seleksiyonla zaman içinde bitkileri kültüre alma gelişmiş ve paralel genetik değişiklikler, evrim sürecinde yabancı bitkilerden farklılaşan yeni türlerin oluşmasına neden olmuştur (Nevo vd., 2002).

Klasik ıslah yöntemlerinin kullanılmaya beraber yetiştiriciliği yapılan bazı üstün özellikte bitkilerin oluşması sağlanmıştır (Atsan ve Kaya 2008).

Şimdiye kadar, dünya çapında sürdürülebilir gıda üretimi için geleneksel bitki yetiştirme yöntemleri başarıyla kullanılmıştır. İnsanlığın karşı karşıya olduğu en önemli zorluklardan biri, artan nüfus için gıda güvenliğini sağlamaktır. 2050 yılına kadar insan nüfusu 10 milyara ulaşacak ve küresel gıda üretiminin dünyayı beslemek için 60-100% civarında artması gerekecektir (Jaganathan vd., 2018). Artan nüfus oranı, farklı hava koşulları, azalan tarım arazileri ve artan biyotik ve abiyotik stresler tarımsal üretim olumsuz etkilenmektedir. Geleneksel bitki ıslahı, bitki biyoteknolojisi ve moleküler biyolojinin multidisipliner yaklaşımı, dünya besinini sağlamak ve dünya çapında yeni geliştirilmiş mahsul çeşitleri geliştirmek için stratejik olarak ideal olacaktır (Ma vd., 2016).

1953 yılında Watson ve Crick'in DNA'nın yapısını açıklamak için başlayan çalışmaları sonucunda moleküler biyoloji alanında önemli gelişmeler görülmüştür. 1996 yılında ise transgenik bitkilerin üretilmeye başlanmasının ardından farklı bir boyut kazanmıştır. Klasik bitki ıslahı programlarının günümüzde bir parçası haline gelen ve yeni moleküler ve biyoteknolojik yöntemlerin hayata geçirilmesi alternatif olarak görülmektedir. Moleküler markırların kullanımı ile kalitatif ve kantitatif özelliklerin ıslah çalışmalarında, seleksiyon yönteminde, genetik ve linkage haritalamalarında, çeşit tanımlaması işlemlerinde, genotipler arası genetik uzaklığın tespit edilmesinde yararlanılmaktadır (Bilgin ve Korkut, 2005).

1.3. Moleküler Markırlar

Moleküler markırlar, genomdaki bir gen bölgesi ya da o bölge ile ilişkili DNA parçasıdır. Genetik markırların, DNA tabanlı çeşitlerini oluşturduklarından, DNA markırları olarak da isimlendirilir. DNA markırları birbirinin aynı olmayan genotiplere ait DNA diziliş farklılığını çeşitli şekillerde oluşturan markırlardır. Temelde Nükleik asitlere dayalı genetik markırların genom analiz çalışmalarında kullanımı ıslahçılar açısından gerek duyulan bir alandır. Bu özellikleri sayesinde birbirine morfolojik olarak

çok yakın kabul edilen kültür çeşitleri ayrılabilir ve tanımlanabilir (Yorgancılar vd., 2015).

- Çok sayıda polimorfik davranış sergilemeli ve farklı genotipleri ayırt etme özelliği göstermeli.
- Bütün dokular içerisinde gözlem yeteneğine olanak sağlamalı.
- Eş baskınlık göstermeli ve heterozigot bireyleri, homozigot dominant bireylerden kolayca ayırt edebilmeli,
- Genomda yüksek seviyede bulunmalı,
- Genomda homojen bir şekilde dağılım göstermeli,
- Seçici, tarafsız davranış göstermeli,
- Kolay bir şekilde elde edilebilmeli ve ekonomik olmalı,
- Tekrarlanabilecek özellikte olmalı,
- Kolay ve hızlı bir şekilde değerlendirme sağlamalı,
- Genetik yapısı değişmeyen materyal üzerinde yapılan analiz sonuçları hep aynı olmalıdır (Yorgancılar vd., 2015).

1.4. Moleküler Markır Çeşitleri

Kullanılan yöntemler esas alındığında markırlar, Hibridizasyona Dayalı Markırlar ve Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) Dayalı Markırlar olarak iki gruba ayrılır. Hibridizasyona dayalı markırlara örnek olarak; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism/Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi), PCR tabanlı markırlara örnek olarak; SSR (Simple Sequence Repeat/Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatelitler), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA/Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism/Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat/Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) verilebilir.

Bu markır sistemlerinden başka; SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism), SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), STS (Sequence Tagged Site), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic), ALP (Amplicon Length Polymorphism) ve bunlara ilaveten DNA sekanslamasına dayalı SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markırları ve MP-PCR (Microsatellite Primed Polymerase Chain Reaction), AP-PCR (Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction), AS-PCR (Allele

Specific Polymerase Chain Reaction), DAF (DNA Amplification Fingerprinting) stratejileri de polimorfizmin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Yorgancılar vd., 2015).

1.4.1. Hibridizasyona Dayalı Moleküler Markırlar

- RFLP (restriction fragment length polymorphism/restriksiyon parça uzunlukları polimorfizmi)

RFLP, geliştirilen ilk PCR tabanlı olmayan markır sistemidir. RFLP belirteçleri eş baskındır. Spesifik noktalarda nükleik asit dizilerini tanıyan bir DNA parçalama enzimi ile hücrelerden izole edilen genomik DNA'nın spesifik olarak kesim ve prob DNA'nın hibritlendiği DNA etrafındaki çeşitli kesim yapılarının tespit edilmesi kuralına dayanır. (Bark ve Havey, 1995). Bu özellik sayesinde heterozigot bireyleri karakterize etmek mümkündür. PCR tabanlı tekniklerin ortaya çıkmasına kadar yaygın olarak kullanılan RFLP, dezavantajları ve PCR tabanlı tekniklerin avantajları nedeniyle uygulaması özel araştırmalarla sınırlı olan bir teknik olarak kullanılmaktadır (Yorgancılar vd., 2015).

RFLP tekniğinin avantajları:

- Türler, cinsler ve familyalar arasında transfer olanağı vardır.
- Farklı laboratuvarlardaki farklı araştırmacıların aynı sonuçları alması açısından güvenilir bir yöntemdir.

- RFLP markırları eş baskındır ve bu nedenle heterozigotları tanımlamak ve karakterize etmek için kullanılmaktadır.

- Orta seviyede polimorfizm göstermektedirler.

RFLP tekniğinin dezavantajları:

- Analizleri pahalı, zaman alıcı ve fazla iş gücü gerektirmektedir.
- Çoğu zaman yaygın olarak radyoaktif etiketleme yöntemi kullanılmaktadır.
- Yüksek kalitede DNA'ya (10-20 µg) gereklidir.

Az kopyalanan dizilimler genomlarda belli noktalarda kümelenmelerinden dolayı RFLP markırları genom boyunca rastgele dağılım göstermezler. Bu durum haritalamayı olumsuz yönde etkilemektedir. Bu da RFLP markırlarıyla elde edilen haritalarda yaygın olarak büyük boşluklar görülmesine neden olmaktadır (Yorgancılar vd., 2015).

1.4.2. Polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı moleküler markırlar

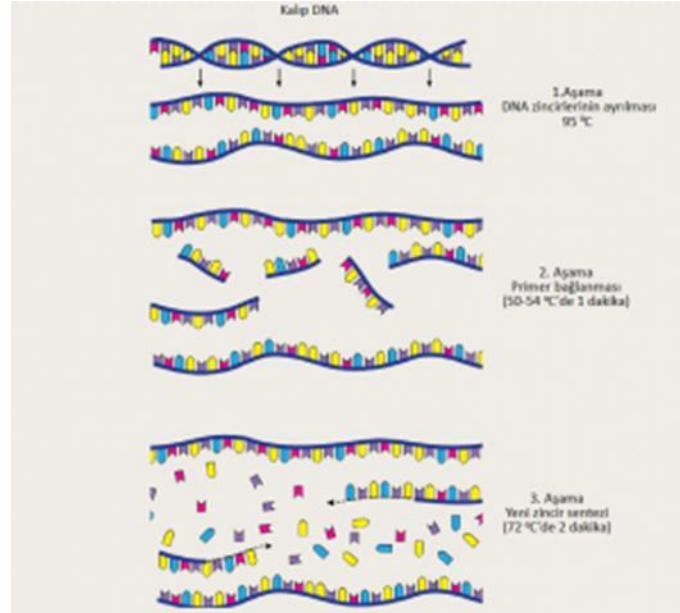
1983 yılında PCR yöntemi Cary Mullis tarafından keşfedildi. Bu, moleküler biyolojide, herhangi bir canlı organizma uygulaması olmaksızın, belirli bir DNA dizisinin

binlerce ila milyonlarca kopyasını üreterek, DNA'nın birkaç kopyasını çeşitli büyüklük derecelerinde çoğaltabilen bilimsel bir tekniktir (Joshi ve Deshpande, 2010). Tekniğin temeli, yüksek sıcaklıklara dayanıklı bakteriden (*Thermus aquaticus*) izole edilen "Taq polimeraz" adlı enzimdir (Nadeem vd., 2018). PCR tekniğinde 3 ana adım vardır:

- Denatürasyon adımı: Çift sarmallı şablon DNA'yı iki ayrı tek sarmal halinde ayırmak için yapılan ısıtma işlemidir. DNA yüksek sıcaklıklarda (90- 97°C) denatüre edilir.

- Bağlanma adımı: DNA primerlerinin şablon DNA'ya bağlanmasını sağlamak için sıcaklığın düşürülme işlemidir. 50-60°C gibi daha düşük bir sıcaklıkta gerçekleşir. Ayrılan iki DNA ipliği tamamlayıcıdır ve zıt yönlerde (5' ile 3') ilerler. Primerler, uzatmayı başlatmak için DNA şablon ipliklerine bağlanır.

- Uzatma adımı: Sıcaklığın yükselmesiyle aktifleşen Taq polimeraz enziminin yeni bazlar ekleyerek, yeni DNA ipliğinin uzaması işlemidir. Taq polimeraz tarafından primerlerin uzatılması 2-5 dakika boyunca yaklaşık 72°C'de gerçekleşir, 72°C, Taq polimerazın tamamlayıcı şeridi oluşturması için en uygun sıcaklıktır. Primerlere yapışır ve daha sonra tek şeride 5 'ila 3' yönünde tek tek DNA bazları ekler. Sonuç olarak yepyeni bir DNA zinciri ve çift zincirli bir DNA molekülü çoğaltılmış olur (Nadeem vd., 2018).



Şekil 1.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (<https-6>)

PCR tekniğinin ortaya koyulması ile RAPD, SSR, AFLP markır sistemleri de geliştirilmiştir (Botstein vd., 1980).

- RAPD (Random amplified polymorphic DNA/Rastgele çoğaltılmış DNA polimorfizmi)

RAPD markırları basit, kısa oligonükleotid primerler kullanılarak genomik DNA'nın rastgele dağılmış olan bölgelerinin çoğaltılmasıdır (Williams vd., 1990). 10 bç uzunluğunda olan başlatıcı DNA'lar (primer) kullanılarak genom üzerindeki rastgele DNA bölgelerinin amplifikasyonuna dayalı bir yöntem olup, yalnızca bir tip primer kullanılır. RAPD tekniği markır teknolojisinde uygulanmasındaki kolaylık, sentetik oligonükleotidlerin çok fazla sayıda bulunması ve kolay olması, RFLP'nin tersine az miktarda DNA'ya gereksinim duyulması gibi nedenlerden dolayı tercih edilen markırlardır. RAPD, markır teknolojisi ile uygulanmasındaki kullanım kolaylığı, çok sayıda sentetik oligonükleotidin bulunması, basitliği ve RFLP'nin aksine az miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulması nedeniyle tercih edilen markırdır.

PCR'ye dayalı diğer teknikler gibi RAPD tekniğinin de haritalama ve karakterizasyon çalışmalarında zaman, çalışma ve maliyet azaltma avantajları nedeniyle çok tercih edildiği bildirilmektedir (Devos ve Gale, 1992). Güvenilirliğinin sınırlı olması, farklı laboratuvarlarda farklı sonuçlar vermesi dezavantajlarıdır (Yorgancılar vd., 2015).

- AFLP (Amplified fragment length polymorphism/Çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi)

AFLP tekniği, primer tanıma dizilerini kısıtlı DNA'ya bağlayarak RFLP'nin gücünü PCR tabanlı teknoloji ile birleştiren hem RAPD hem de RFLP tekniklerinin bir karışımı olarak düşünülebilir (Lynch ve Walsh, 1998). AFLP tekniğinin tekrarlanabilirliği ve polimorfizm düzeyi RAPD-PCR metoduna kıyasla daha yüksektir. Bu teknikte, genomik DNA önce iki kesme enzimi tarafından parçalanır. Biri 6 bazı tanır, diğeri 4 bazı tanır. Parçanın uçlarına sentetik bir nükleotid dizisine sahip bir DNA eklenir. Nispeten spesifik DNA amplifikasyonu, eklenen sentetik DNA'nın nükleotid dizisini de tutan başlangıç DNA'sı (primerler) kullanılarak gerçekleştirilir. Bu çoğaltma iki aşamada yapılır. İlk adımda, DNA parçalayıcı enzim tarafından her iki uçtan tanınan diziden sonraki ilk baz bazında seçici amplifikasyonun gerçekleştirildiği ön üretim gerçekleştirilir. Gerçek üretimde, üretim öncesi elde edilen kısım, parçalama enziminin tanıma bölgesinden 2. ve 3. nükleotidleri seçici olarak üretmek için kullanılır. Tüm

başlatıcılar aynı zamanda sentetik bir terminal nükleotid dizisine sahip olduğundan, üretim çok özel koşullar altında gerçekleşir (Yorgancılar vd., 2015).

Tekniğin polimorfizm oranı oldukça yüksektir. Maliyet, işgücü ve güvenilirlik açısından RAPD ve RFLP arasında yer almaktadır. Çok sayıda lokusu aynı anda ve etkili bir şekilde taraması parmak izi analizine çok uygun bir teknik olduğunu göstermektedir. Genellikle dominant markır özelliği ve farklı genetik haritalar arasında transferinin güç olması tekniğin dezavantajlarıdır (Walton, 1993).

- SSR (Simple sequence repeat/Basit tekrarlı diziler veya Mikrosatellitler)

Basit dizi tekrarları (SSR'ler) olarak da bilinen mikrosatellitler, 1 ile 6 bp arasında değişen tekrar motifleri ile DNA dizilerinin en küçük birimleridir. Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunur, bu da farklı genotiplerden örtüşen SSR'leri seçmek için PCR primerleri ile amplifikasyona izin vermektedir. Ayrıca, türler arası SSR primerleri farklı organizmalarda kullanılabilir. Mikrosatelit sayılarının farklı olmasına neden olan olaylar, jel elektroforezi ile belirlenir. Bunlar; DNA replikasyonu sırasında meydana gelen dizi atlama, uygun olmayan baz eşleşmesi ve düzensiz krossing-over olaylarıdır (Matsuoka vd., 2002). Mikrosatellit markırlar, az miktarda DNA gerektirmesi, kodominant ve kararlı markır vermesi, genomda bol ve dağınık bulunması, tekrarlanabilir ve otomasyona uygun olması, yüksek polimorfizm içermesi, polimorfik bitkilerde oldukça bilgilendirici bir markır sistemi olması sebebiyle popülasyon genetiği ve gen haritalama çalışmalarında etkin olarak kullanılabilmektedir (Wayne vd., 1996).

Bu markır sisteminin dezavantajı, mikrosatelit bölgesinin yüksek bir mutasyon oranına sahip olması, birincil bağlanma bölgesinde değişikliklere yol açması ve anlamsız allellerin oluşumuna izin vermesidir. Bu nedenle, genotip ve allel frekanslarının kesin olmayan yorumu da bazı tartışmalara yol açmaktadır (Freudenreich vd., 1997).

- ISSR (Inter simple sequence repeat/Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm)

ISSR tekniğinde, ikili, üçlü, dördü ve beşli tekrarlanan nükleotidlere sahip primerler kullanılmakta, bu primerlerle iki mikrosatellit ile moleküler markırlar arası bölge çoğaltılabilmekte ve oluşan PCR ürünleri agaroz jelde yürütülüp etidyum bromür ile boyandıktan sonra belirlenebilmektedir (Zietkiewicz vd., 1994).

Kullanılan primerler, farklı bant boyutlarıyla genomik lokusları çoğalır. Primerler genellikle mikro uydu bölgesinin 3' veya 5' ucuna kadar uzanır. 1-4 dejenere nükleotit içerir ve uzunluğu 15-30 nükleotit arasında değişir. Primerin GC oranı ne kadar yüksek

olursa, bağlanma sıcaklığı da o kadar yüksek olur. Açıldıktan sonra stabil bir bağ elde edildiğinden, her bir primer DNA'ya bağlanır. Yapışma sıcaklığı, baz bileşimin içeriği ile belirlenir. Kopya uzunlukları genellikle 200-2000 bp'dir. ISSR dominant markırlar verir. Bir avantajı, primer tasarımının sıra bilgisine ihtiyaç duymadan gerçekleştirilebilmesidir (Joshi vd., 2000).

Yüksek polimorfizm ve yüksek üretkenlik, ISSR analizini genetik benzerlik, gen haritalama ve taksonomi çalışmalarına uygulanabilir kılmaktadır (Gupta vd., 1994; Zietkiewicz vd., 1994).

ISSR markırlarının kullanımı hızlı ve kolaydır ve primerlerinin uzun olması onları daha güvenilir kılar (Bornet ve Branchard, 2001). İyi bilgi veren ISSR primerlerinin kullanılması, düşük maliyet, zaman tasarrufu ve genetik analiz için kolaylık sağlamaktadır (Yorgancılar vd., 2015).

RAPD markır sistemine benzer şekilde, bu markır sisteminin dezavantajları, düşük oranda tekrarlanabilirlik ve aynı büyüklükteki parçacıkların homolog olmamasıdır (Kesawat ve Das, 2009).

- SCoT (Start Codon Targeted)

Prensipte SCoT, RAPD ve ISSR'ye benzer özelliktedir. İleri ve geri primer olarak kullanılır (Collard ve Mackill, 2009). SCOT reaksiyonları, 15-19 metre uzunluğundaki DNA'nın tek parçalarını çoğaltır. Bitki genlerinin translasyon başlatma kodonunu (ATG) çevreleyen korunmuş bölgeyi hedefleyen umut verici bir gen hedefli markırdır (Singh vd., 2017).

SCoT markırları, tekrarlanabilirlik, basitlik, özgünlük ve gen hedefli olmak gibi önemli özelliklere sahiptir, SCoT markırı, genetik çeşitlilik analizi (Singh vd., 2017), popülasyon yapısı, bireyler arasındaki genetik ilişki, bir veya farklı tür ebeveynleri ile yavru parmak izi değerlendirmesi (Rajesh vd., 2015), QTL tanımlaması (Yan vd., 2016), diferansiyel gen ekspresyonu ve stresle ilgili gen taraması (Luo vd., 2014), erkek ve dişi genotiplerin analizi (Heikrujam vd., 2015) gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır.

1.5. Konu ile İlgili Önceden Yapılmış Çalışmalar

Dünyada ve ülkemizde erik üzerine yapılan araştırmalara DNA düzeyinde bakacak olursak;

Mnejja vd., (2004) çalışmalarında Japon erik cv. Santa Rosa. CT/AG ile zenginleştirilmiş bir genomik kütüphane kullanarak 35 polimorfik mikrosatelit

geliştirmiştir. 27 tanesinde tek bir allel ve 8'inde iki veya daha fazla allel tespit etmişlerdir. 27 tek allelli SSR 8 çeşitten oluşan bir sette yüksek düzeyde polimorfizm gözlemlenmiştir: primer başına ortalama 5.7 allel sayısı; %73 ortalama heterozigotluk %74 ayırım gücü gözlemlenmiştirler.

Aynaoglu vd., (2007), Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde yetiştirilen ve ekonomik önemi olan yeşil eriklerdeki (*Prunus cerasifera*) genetik çeşitliliği AFLP analizi kullanarak değerlendirmişlerdir. Genel olarak, incelenen çeşitler arasında 0.829 ile 0.985 arasında değişen genetik benzerlik değerleri ile nispeten düşük bir genetik çeşitlilik bulmuşlardır. Bununla birlikte, Akdeniz bölgesindeki ekolojik olarak farklı bir konumdan türetilen yeşil erik genotiplerinin çoğunluğunun, genetik olarak diğer bölgelerden daha çeşitli olduğunu fark etmişlerdir. Bu germplazmayı daha fazla karakterize etmek amacıyla bir dizi meyve kalite özelliği için analizler yapmışlardır. Sonuçlara bakıldığında daha önce karakterize edilmemiş erik genotipleri arasında mevcut olan genetik çeşitlilik seviyesi hakkında faydalı bilgiler sağladığı ve Türkiye'nin bu erik yetiştirme bölgesinde şu anda yetiştirilen erik genotiplerinden potansiyel olarak daha üstün olabilecek germplazmayı tanımladığını belirtmişlerdir.

Qiao vd., (2007), *Prunus* türlerinden 56 genotipi (54 Japon ve 2 Avrupa erik çeşidi) 24 RAPD, 10 ISSR primeri ve 21 SSR primer çifti kullanarak moleküler varyasyonları için analiz etmişlerdir. 201 (RAPD) ve 86 (ISSR) bant ve 102 allel (SSR) elde etmişlerdir. Tüm RAPD, ISSR ve SSR sonuçlarına dayalı Jaccard benzerlik katsayısına göre bir dendrogram oluşturulmuştur. Dendrogram, Avrupa ve Japon eriği arasında bir ayırım olduğunu açıkça göstermiştir. Japon erik çeşitleri arasında ikili benzerlik katsayıları 0,286 ile 0,730 arasında değişmektedir. 0.455 benzerlik katsayısında 54 Japon erik çeşidi altı gruba ayrılmıştır. ABD ve Japonya'dan gelen çeşitleri bir kümede gruplandırmışlardır ve yerli Çin çeşitlerinin çoğunluğu bir grup güney çeşidi (GSC) ve bir grup kuzey çeşidi (GNC) olarak kümelemişlerdir. Üç moleküler markırın birleşik analizi ile erikteki genetik çeşitliliği değerlendirmişlerdir.

Cheng vd., (2009), SSR belirteçlerinin baskın ve yüksek oranda polimorfik markırlar olduğunu ve *Prunus* cinsine ilişkin çalışmalarda çok yararlı olduklarını kanıtlanmıştır.

Ilgın vd., (2009), Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde yer alan Kahramanmaraş ilinden toplam 14 erik çeşidi (1 çeşit Avrupa'dan ve 13 çeşit Japon gruplarından) örneklemişler ve dört çift AFLP markırı kullanarak çalışmışlardır. Toplam 145 bant skorlamış ve

bunların 89'unun (%60.85) polimorfik olduğunu görmüşlerdir. Primerlerin çözümleme güçlerinin 0.577 ile 1.347 arasında ve polimorfizm bilgi içeriğinin de ortalama 0.601 ile 0.412-0.829 arasında değiştiği görülmüştür. UPGMA analizi çalışılan erik çeşitlerini yedi ana kümede sınıflandırmıştır. En yüksek benzerlik *Globe Sun* ve *October Sun* çeşitleri arasında, en düşük benzerlik ise *President* ve *Queen Rosa* çeşitleri arasında gözlenmiştir. Yaptıkları çalışmalar sonucunda AFLP'nin erik çeşitleri arasındaki genetik akrabalığı belirlemek için iyi bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Çelikkol, (2011) tez çalışmasında 24 (17 yerli, 7 yabancı) erik çeşidini SSR markırlarına dayalı genetik karakterizasyonu gerçekleştirmiştir. Erikten geliştirilen bir, kayısıdan iki ve kirazdan iki, şeftaliden geliştirilmiş üç lokusun kullanıldığı araştırmada, bir sinonim durum tespit etmiştir. Toplam 76 allel tespit edilirken, en yüksek allel sayısı şeftali lokusu olan UDAP96019 ve kayısı lokusu olan UDAP404'den, heterozigotluk oranı (H_o) ise kiraz lokusu olan UCDCH13'den tespit etmiştir. SSR lokuslarının allel sayısı ve heterozigotluk oranı (H_o) kayısı ve diğer erik türlerinde bu lokusları kullanan araştırmalara göre yüksek bulmuştur.

Carrasso vd., (2012) 29 erik ve hibrit çeşit ile ilişkili türlerin (*P. domestica*, *P. ceracifera* ve *P. armeniaca*) dört çeşidi arasındaki genetik ilişkileri model tabanlı bir Bayesian küme analizi (Structure yazılımı) ile analiz etmiştir. 29 Japon erik çeşidinin (*Prunus salicina*) ve 4 *Prunus* çeşidinin genetik karakterizasyonu, 97 Basit Dizi Tekrarı (SSR) aleli ve 232 ikili Basit Diziler Arası Tekrar (ISSR) lokusunun analizi ile gerçekleştirmiş ve bu iki moleküler markır için yüksek düzeyde genetik değişkenlik belirlemişlerdir.

Athanasiadis vd., (2013) yaptıkları çalışmada Yunan erik germplazmı koleksiyonunun genetik çeşitliliğine bakarak, RAPD ve ISSR markırlarını araştırmıştır. 26 genotip analiz edilmiş ve 116'sı polimorfik olan toplam 150 bant üretilmiştir. Her iki tekniğinde de oldukça bilgilendirici olduğu ve 0,9'dan daha büyük bir ayırt etme gücüne sahip olduğu belirtilmiştir. RAPD ve ISSR dendrogramlarının yakın ilişkili olduğu görülmüştür. Katılımlar ploidi göstermiştir ve türlere göre kümelenmiştir. *P. domestica* genotipleri birlikte gruplandırılmış ve genetik olarak farklı bulunan *P. salicina* ile karşılaştırıldığında *P. insitia* ve *P. cerasifera* genotiplerine göre daha fazla benzerlik göstermiştir. Bu özelliğin genetik çeşitliliği artırması markırların ıslah programları için uygun olduğunu göstermiştir.

Oz vd., (2013) çalışmalarında Doğu Anadolu gen kaynaklarından seçilen 29 adet geleneksel erik (*Prunus domestica*), 24 adet tatlı kiraz (*Prunus avium*) ve 1 adet vişne (*Prunus cerasus*) 3 erik ve 2 kiraz olmak üzere 59 tür ile moleküler karakterizasyon ve genetik ilişkilerin araştırılması için SSR analizi yapmıştır. 8 SSR primeri [1, kayısıdan (UDAP-404), 4 tanesi şeftaliden (UDP96-010, UDP96-001, UDP96-019, Pchgms1) ve 3 tanesi kirazdan (UCD-CH13, UCD-CH17, UCD-) geliştirmişler. (CH31) genomu ve 9 SSR lokusundan [5'i kirazdan (PS12A02, UCD-CH13, UCD-CH17, UCD-CH31, UCD-CH21), 3 şeftaliden (Pchgms1, UDP96-001, UDP96-005) ve kiraz erişimleri için erik (CPST010) genomu] genetik tanımlama için kullanılmıştır. 31 erik ve 28 kiraz çeşidinin genetik analizlerinde sırasıyla toplam 66 ve 65 allel elde etmişlerdir. SSR analizi ile ortaya çıkan allel sayısı lokus başına 4 ila 14 allel olup, ortalama değer erik girişlerinde 8.25 ve lokus başına 5 ila 10 allel ve kiraz girişlerinde ortalama değer 7.2 olarak bulunmuştur. Kiraz katılımları arasında sadece bir eş anlamlı durum tespit edilirken, erik katılımları arasında herhangi bir eş anlamlı durum gözlenmemiştir. Erik ve kiraz girişlerinin ayırımında kullanılan genomik SSR belirteçleri, *Prunus* cinsinde yüksek türler arası transfer edilebilirlik göstermiştir. Bu çalışmada değerlendirdiğimiz SSR markırları, kayda değer polimorfizmleri ve türler arası transfer edilebilirlikleri nedeniyle kiraz ve erik çeşitlerinin parmak izini içeren çalışmalar için faydalı olacağını düşünmektedirler.

Klabunde vd., (2014) yaptıkları bir çalışmada 47 Japon eriği (*Prunus salicina*) çeşidinde, DNA parmak izi profilini elde etmeyi, temsili bir Japon erik çeşitlerini ayırt etmeyi ve karakterize etmeyi amaçlamışlardır. 8 SSR primeri ile genotiplendirmeyi elde etmişlerdir. 8 SSR primeri 104 alleli (lokus başına 8 ila 21 allel, ortalama 13) amplifiye etmiştir. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC) 0.680 arasında değişmiştir. Düşük allel frekansları gösterenler, erik çeşitlerinin ayırt edilebilirliğine katkıda bulunmuştur. Bu sonuçların erik ıslahında çaprazlamalarda ebeveyn seçimine, çeşit olma potansiyeli olan ayırıştırıcı klonların erken tanımlanmasına ve çeşitlerin korunmasına katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

Li-Hui vd., (2015) farklı üretim alanlarından alınan 24 *Prunus salicina* çeşidinin genetik çeşitliliğini incelemek için 8 kromozom bağlantı grubuna, eşit olarak dağıtılan 16 çift SSR primeri kullanmıştır. Araştırma sonucunda her bir primerin PIC değerini hesaplayıp. CPST005 0.547 ile en düşük primer ve CPST022 ise 0.783 ile en yüksek primer olduğunu görmüşlerdir. Güney çeşitliliği ve yabancı çeşitliliğin popülasyonları birlikte kümelendi. 16 çift primer toplamda 86 bölge genişletirken, polimorfik lokuslar

%94,19'luk bir yüzdeyle 81'di ve her bir primer amplifikasyonu çiftinin amplifikasyon lokusları ortalama olarak 5.38'di. Kümeleme sonuçları, türün iki gruba ayrıldığını ve kuzey çeşitlerinin çoğunun bir grup içinde toplandığını, güney çeşitlerinin ve yabancı çeşitlerin de ayrı bir grup halinde toplandığını göstermiştir. Sonuçlar yabancı çeşitlerin moleküler düzeyde Çin menşeli olduğunu göstermiştir.

Tamarzizt vd., (2015) çalışmalarında *P. salicina* ve *P. domestica*'ya ait çeşitler ve bunların yabani akrabaları (*P. insititia* ve *P. spinosa*) arasındaki genetik çeşitlilik ve ilişkileri incelemek için RAPD belirteçlerinin kullanışlılığını araştırmıştır. Polimorfik bantların yüzdesi (%96.58), primerlerin çözümleme gücü değerleri (135.70) ve polimorfik bilgi içeriği bu çalışmada kullanılan primerlerin etkinliğini göstermiştir. Aksesyon oranı arasındaki genetik mesafeler, ortalama 0.18 ila 0.79 arasında değişmiştir, bu da tür içi ve türler arası seviyelerde yüksek düzeyde bir genetik çeşitlilik olduğunu göstermektedir. Aritmetik ortalama dendrogram ve temel bileşen analizine sahip ağırlıksız çift grubu, çeşitleri ayırt etmiş ve yerel olarak yetiştirilen erik türleri arasındaki ilişkileri ve farklılıkları göstermiştir. Bu prosedürler, türlerin durumundan ve eriklerin coğrafi kökeninden bağımsız olarak meydana gelen sürekli varyasyon göstermiştir. Bu çalışmada, RAPD markırlarının erik ve akrabalarının çeşitlilik çalışmasını incelemek ve parmak izi almak için güvenilir bir moleküler belirteç olduğu ifade edilmiştir.

Makovics-Zsohár vd., (2017), Avrupa eriği (*Prunus domestica* L.) üzerine yaptıkları araştırmada, polimorfizm seviyesini tahmin etmek, yerel ve yabancı çeşitler arasındaki allelik varyasyonu ve genetik ilişkileri belirlemek için 7 basit dizi tekrarı (SSR) markırı kullanarak 55 çeşidin parmak izini çıkarmayı amaçlamışlardır. Kümeleme analizinde yabancı çeşitler bir araya toplanmıştır ve Macar yerel çeşitleri bunlardan uzakta konumlandırılmıştır. İncelenen genotipler genetik olarak farklı üç gruba oluşturduğunu belirtmişlerdir. Primer çiftlerinden, lokus başına 6 ila 27 alel arasında değişen toplam 135 alel elde edilmiş ve yüksek polimorfizm sergilemiştir. Bu çalışmada kullanılan tüm genotipler, 7 SSR ile açıkça ayırt edilememiştir. Macar yerel çeşitlerinden oluşan her bir küme, güçlü ön yükleme desteği almıştır (%89 ila %100). Aynı ad altında tutulan çoğu genotip, farklı DNA parmak izleri göstermiştir. Sonuç olarak erik yetiştiriciliğinde SSR markırlarının uygulama potansiyelinin uygun olduğu belirtilmiştir.

Suprun vd., (2018) yaptıkları çalışmada, 8 SSR lokusuyla 60 çeşidin analizi temelinde *P. domestica* türleri içindeki genetik çeşitliliği araştırmıştır. Çalışmada yerli eriklerin çeşitli alt türleri olan mirabelle erikleri, yeşil erik, mürdüm eriği vb.

kullanılmıştır. Çalışmada ortaya çıkan lokus başına allel sayısı 6 ile 39 arasında değişmiştir; toplamda 153 allel tanımlanmıştır. UPGMA ve PCoA analizinden elde edilen veriler mürdüm eriklerin genetik olarak en izole alt türleri temsil ettiğini göstermiştir. Öte yandan, yerli ve yabancı ıslah çeşitlerinin çoğunluğunun kümelenmede ayrı gruplar oluşturmaması, yetiştirilen erik formlarının gen havuzunun birliğini vurgulamıştır.

Stepanov vd., (2018) retrotranspozon LTR sekansları temelinde geliştirilen S-SAP (Sekansa Özel Güçlendirilmiş Polimorfizm) markırları ile *Prunus L* cinsinin yedi türünün temsil edildiği 65 örnekte genetik çeşitlilik ve filogeni incelemeleri gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışma çerçevesinde geliştirilen 6 S-SAP markırı ile markır başına 29 ila 185 polimorfik bant tanımlanmıştır ve markır başına ortalama polimorfizm seviyesi %92,75 bulunmuştur. Bu tip markırlar, *Prunus* cinsinin üyelerinde tür içi ve türler arası genetik çeşitliliği değerlendirmek için yüksek etkinlik göstermiştir. S-SAP işaretlemesinin sonuçlarının küme analizi, araştırılan *Prunus* türlerine karşılık gelen 6 ana grubu ayırt etmeyi başarmışlardır.

Diğer bir çalışmada Acuna vd., (2019) 14 japon eriği çeşidinde genetik çeşitliliği nötral SSR markırları ile çalışmışlardır. Bu çalışmada *Prunus persica* referans genomunun 6 kromozomu üzerine yerleşik 12 SSR markırının çalışılan tüm çeşitlerini meyve eti rengine göre iki grupta topladığını göstermişlerdir. Ayrıca çalışmada genotipik ve fenotipik verilerin karşılaştırılması sonucu et rengi fenotipi ile ilgili iki markır tespit edilmiştir. Bu markırlardan CPSCT25 tüm kırmızı etli eriklerde 193 bç allelini oluştururken, diğer markır CPSCT11 Reina de Oro çeşidi dışında tüm sarı etli eriklerde 171 bç alleli oluşturmuş, bu allel hiçbir kırmızı etli erik çeşidinde görülmemiştir. Blast analizinde bu markırların sırasıyla *P. persica* protein FAR-1 ilişkili dizi 6 ve *P. mume* absisik asit reseptör PYR1 izoform X1 ile önemli seviyede eşleştikleri belirlenmiştir. Araştırmacılar çalışmada kullandıkları SSR markırlarının erik markır destekli seçim ıslah programlarında yüksek değere sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Markiewicz vd., (2019) Plum pox virüsünün (PPV) neden olduğu Sharka'ya aşırı duyarlı bitki tepkisi ile ilişkili erik genlerini belirlemek için seçilmiş erik çeşitleri üzerinde aşırı duyarlılıkla ilgili moleküler markırları araştırmıştır. PPV enfeksiyonu sırasında ekspresyonu değişen aday genleri belirlemek için cDNA-AFLP tekniği kullanılmıştır. Analizler hem sağlıklı hem de enfekte olan aşırı duyarlı ve hassas bitkilerden izole edilen RNA havuzları kullanılarak yapılmıştır. Bitki savunma reaksiyonlarındaki potansiyel işlevleri açısından ilgi çekici olan hem aşırı duyarlı hem de

duyarlı olan enfekte olmuş bitkilerde aşırı ifade edilen genlerdir. Bazıları, erik yetiştiriciliğinde aşırı duyarlı genotiplerin erken seçiminde faydalı olan, PPV enfeksiyonuna karşı aşırı duyarlı reaksiyonun potansiyel moleküler markırlar olarak önerilmişlerdir.

Salazar vd., (2020) yaptıkları çalışmada kantitatif özellik lokusları (QTL'ler) ile yakından bağlantılı moleküler belirteçleri tanımlamak için genomik bir bakış açısıyla en kritik fenoloji, meyve kalitesi ve hasat sonrası parametreleri analiz etmeyi amaçlamıştır. 98–99' x Angeleno çaprazından 151 bireyden oluşan bir F1 popülasyonunun genetik bağlantı haritası, daha önce bildirilen Tek Nükleotid polimorfizmi (SNP) verileri ve 25 ek Basit Dizi Tekrarı (SSR) işareti kullanılarak oluşturulmuştur. Üç hasat mevsimi boyunca değerlendirilen 23 fenotipik özellik, iki genomik ilişki QTL analizi yaklaşımı kullanılarak test edilmiştir. Bu çalışma sonucunda, SNP'ler ve SSR'ler kullanılarak, çiçeklenme tarihi, olgunlaşma zamanı, meyve gelişme dönemi, meyve ağırlığı, kutup çapı, çözünür katılar, malik asit içeriğinin yanı sıra biyolojik verim ve Young elastikiyeti gibi yıkıcı yöntemlerle ölçülen meyve dokusu özelliklerinin evrimi için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Sevindik vd., (2020) yapılan çalışmada Türk kayısısı olan *Prunus armeniaca* L. genotiplerinin RAPD-PCR, ISSR-PCR ve kloroplast DNA (trnL-F) dizi analizlerine dayalı olarak filogenetik analizini yapılmışlardır. *Prunus armeniaca* genotipleri Malatya ilinden temin edilerek genomik DNA izolasyonu için laboratuvara getirilmiştir. *Prunus armeniaca* genotiplerinin moleküler karakterizasyonunu belirlemek için 11 RAPD ve 15 ISSR primeri kullanılmıştır. RAPD ve ISSR analizi ile sırasıyla toplam 46 ve 95 bant elde edilmiştir.

Ait Bella vd., (2021) çalışmalarında, 14 (ISSR) primeri kullanılarak toplam 23 erik çeşidi araştırılmıştır. Fas eriğinde, çeşitliliği ve akrabalığı değerlendirmek için genetik olarak karakterize edilmiştir. 84'ü polimorfik (%84) olmak üzere toplam 100 bant elde edilmiştir. PIC, Rp, I ve Ht'nin ortalama değerleri sırasıyla 0.45; 3.03; 0.42 ve 0.27, erik çeşitleri arasındaki önemli genetik değişkenliği ifade etmiştir. UPGMA dendrogramı ve Bayes modeline dayalı kümeleme yaklaşımı, coğrafi köken ve cinslerinden bağımsız olarak dört gen çeşidi havuzu tanımlanmıştır. Bu sonuçlar, ISSR belirteçlerinin moleküler polimorfizmi saptamak ve meyve verimindeki genetik çeşitliliği araştırmak için yararlı olabileceğini göstermiştir.

Çakır vd., (2021) yaptıkları çalışmada ilk kez Türkiye Ulusal *P. cerasifera* Koleksiyonu'ndan 66 genotipin genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısı moleküler markırlar kullanarak incelemişlerdir. Toplam 47 diziyle ilişkili amplifiye polimorfizm (SRAP) primer çifti kullanılmış ve polimorfizm veren 495 amplifiye allelin %98'inin yüksek oranda polimorfik olduğunu bulmuşlardır. Kübik katsayı kullanılarak ortalama genotipik çeşitliliği 0,39 olarak belirlemişlerdir. Germplazm koleksiyonlarını içeren genotipler arasındaki genetik ilişkiler, ağırlıksız komşu birleştirme dendrogramları ve popülasyon yapısı analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. Dendrogram ve popülasyon yapısı sonuçları, her iki yöntem de materyali iki ana gruba ve çok daha küçük bir üçüncül karıştırılmış gruba ayırdığından, yüksek oranda korelasyon göstermiştir. Ayrıca analiz, Can ve Papaz erik çeşitlerinin morfolojik farklılıklarına rağmen genetik olarak farklı olmadığını göstermiştir ve gelecekteki erik ıslahı için kullanılabilecek genetik ilişkiler hakkında bilgi sunmuştur.

Meyve rengi, tüketicinin seçiminde önemli bir etkiye sahiptir, bu nedenle MAS için iyi moleküler markırlara sahip olmak, ıslahta oldukça arzu edilir. Fiol vd., (2021) yaptıkları çalışmada, MYB10.1 geninin en az üç kopyasını içeren Japon erik MYB10 LG3 kümesinin intronik ve intergenik bölgelerinde yüksek düzeyde değişkenlik belirlemiştir. Bölgenin karmaşıklığına rağmen, allel klonlama, filogeni, soy ayrımı, ilişkilendirme testi ve gen ekspresyon analizini kullanarak kabuk rengiyle ilişkili bir allel (a356) tanımlamayı başarmışlardır. Sonuç olarak, bu alel için geliştirilecek belirteçlerin MAS için yüksek verimlilikle kullanılabilirlik potansiyeli olduğunu belirtmişlerdir. Ancak meyve et rengi ile ilişkili alelleri bulamamışlardır.

Guerrero vd., (2021) çalışmalarında, mevcut genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısını değerlendirmek için bir dizi 8 SSR primeri kullanarak 161 Japon erik tipi genotiplenmiştir. Locus başına ortalama 13 alel olmak üzere toplam 104 alel tespit edilmiştir. SSR belirteçlerinin genel Polimorfik Bilgilendirici İçerik (PIC) değeri 0.75 bulmuşlardır. Bu durum SSR belirteçlerinin yüksek oranda polimorfik olduğunu göstermiştir. UPGMA ve DAPC analizleri ile çıkarılan 7 grup arasında güçlü bir korelasyon ortaya çıkmıştır. Popülasyon yapısında oldukça önemli bir genetik farklılaşma görülmüştür. Sonuçların yetiştiriciler için ve germplazm kaynaklarının korunması için faydalı olacağı bildirilmiştir.

Halász vd., (2021) Macaristan'da yetişen farklı *P. spinosa* ve *P. domestica* subsp. Ye ait çeşitler üzerinde 11 basit dizi tekrarı (SSR) primeri ve multiallelik S-lokusu

bilgileri kullanarak genotipleme yapmışlardır. Dokuz SSR lokusunun polimorfik olduğunu ve bunlardan sekizinin oldukça bilgilendirici olduğunu saptamışlardır (PIC değerleri > 0.7). Toplam 129 SSR alleli ile lokus başına ortalama 14.3 alel sayısı tanımlanmış ve benzersiz SSR parmak izlerine dayalı olarak çalışılan tüm bireyleri ayırt edilebilmişlerdir.

Guerrero vd., (2022) yaptıkları çalışmada, popülasyon yapısını ve mevcut genetik çeşitliliği değerlendirmek için 8 SSR markırı kullanılarak farklı kökenlerden 115 interspesifik hibrit girişi, kayısı ve diğer diploid erik türlerinin 27 referans genotipi analiz etmişlerdir. Lokus başına ortalama 19 alel olmak üzere toplam 149 alel elde etmişlerdir. SSR markırlarının genel polimorfik bilgi içeriği (PIC) ortalama değeri 0.81 olup, SSR primerleri yüksek derecede polimorfizmini göstermiştir. Genetik analiz, 141 benzersiz genotip ve iki eşanlamlıyı ortaya çıkarmıştır. Erik genotipleri ile türler arası melezler arasında tekrarlanan geri çaprazlamalar, melezlerin kayısı genotiplerine göre daha yüksek genetik yakınlığının nedeni olabileceğini belirtmişlerdir.

Li vd., (2022) Çin ve diğer ülkelerden 25 *P. salicina*'nın genetik karakterizasyonu için RAPD ve ISSR tekniğini uygulamışlardır. Yapılan çalışmanın *P. salicina* L.'nin genetik çeşitliliği hakkında önemli bilgiler sağlayabileceği ve gelişmiş özelliklere sahip yeni cins yetiştirmek için bilgi kaynağı olabileceğini göstermiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu çalışmada ülkemizde yetiştirilen *P. salicina* (1-7, 11) ve *P. cerasifera*'ya ait (8-10, 12-14 nolu örnekler) 14 erik çeşidi ve genotipi kullanılmıştır (Tablo 2.1). Bu çeşit ve genotipler İzmir S.S. Bademli Fidancılık Tarımsal Kalkınma Kooperatifi'nden temin edilmiştir.

Tablo 2.1. Tez çalışmasında kullanılan erik çeşitleri ve meyve özellikleri

Sıra No	Meyve Çeşidi	Çeşit Özellikleri	Çiçeklenme zamanı
1	Angeleno	Kırmızı kabuk, kırmızı meyve eti	Geçci/Mart sonu
2	Black Diamond	Kırmızı kabuk, kırmızı meyve eti	Mart ortası
3	Black Splendor	Kırmızı kabuk, kırmızı meyve eti	Erkenci/Şubat sonu-Mart başı
4	Early Queen	Kırmızı kabuk, sarı meyve eti	Mart ortası
5	Fortune	Kırmızı kabuk, sarı meyve eti	Geçci/Mart sonu
6	Friar	Kırmızı kabuk, sarı meyve eti	Geçci/Mart sonu-Nisan başı
7	Pioneer	Kırmızı kabuk, sarı meyve eti	Erkenci/Şubat sonu-Mart başı
8	Kırmızı Genotip Erik A	Kırmızı kabuk, sarı meyve eti	Erkenci/Şubat sonu-Mart başı
9	Kırmızı Genotip Erik B	Kırmızı kabuk, sarı meyve eti	Erkenci/Şubat sonu-Mart başı
10	Kırmızı Genotip Erik C	Kırmızı kabuk, sarı meyve eti	Erkenci/Şubat sonu-Mart başı
11	Sungold	Sarı kabuk, sarı meyve eti	Mart ortası
12	Sarı Genotip Erik A	Sarı kabuk, sarı meyve eti	Erkenci/Şubat sonu-Mart başı
13	Sarı Genotip Erik B	Sarı kabuk, sarı meyve eti	Erkenci/Şubat sonu-Mart başı
14	Sarı Genotip Erik C	Sarı kabuk, sarı meyve eti	Erkenci/Şubat sonu-Mart başı

2.2. Yöntem

Erik çeşit ve genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin ISSR-PCR tekniği ile belirlenmesi için sırasıyla DNA izolasyonu, DNA saflık ve miktar ölçümü, PCR uygulaması, PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi, elektroforez sonuçlarının görüntülenmesi ve sonuçların bilgisayar analiz programları ile yorumlanması aşamaları gerçekleştirilmiştir.

2.2.1. DNA izolasyonu ve saflaştırılması

Bitki doku örnekleri sıvı azot kullanılarak havanda pudra haline gelene dek öğütüldükten sonra 2 ml'lik ependorf tüplerin içine alınmıştır. DNA izolasyonu için 2X CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) yöntemi kullanılmıştır. 2X CTAB liziz tamponu Çizelge 2.2'deki gibi hazırlanmıştır.

Tablo 2.2. 2X CTAB liziz tamponu bileşenleri

NaCl	14ml 1.4M veya 4.095g toz
Tris 1M (pH=8)	5ml
CTAB	1g
EDTA (0.5M)	2ml
PVP (Polyvinyl pyrodine)	0.5g

Çözeltinin son hacmi distile su ile 50 ml'ye tamamlanmış ve 120°C'de 20 dk otoklavlanmıştır. Kullanımdan hemen önce tampona 200 µl merkaptotanol eklenmiştir.

Uygulanan olan 2XCTAB metodu basamakları aşağıda verilmiştir;

1. Çalışmadan önce CTAB (Hexadecyltrimethylammonium bromide) tamponu 65°C'de ısıtılarak hazır hale getirilmiştir.
2. Sıvı azotta öğütülmüş 100 mg bitki dokusu 2 ml'lik ependorf tüpe alınarak üzerine 700 µl CTAB eklenmiş ve pipetle karıştırılarak homojen hale getirilmiştir.
3. Tüpler 65 °C'de 30 dk inkübe edilmiş ve her 5 dk'da bir tüpler alt üst edilmiştir.
4. Karışım tüpüne eşit hacimde kloroform: izoamil alkol eklenerek 10 dk alt üst edilerek karıştırılmıştır.
5. Tüpler 10000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiş ve süpernatant 1,5 ml'lik tüpe aktarılmıştır.
6. Aktarılan miktarın 2/3'ü kadar -20°C'de izopropanol eklenmiş, birkaç kere alt üst edildikten sonra -20°C 'de 2 saat inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda tüpler 10000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir.
8. DNA pelleti 300 µl %70 etil alkol ile yıkanmış ve çeker ocakta kuruyana kadar bekletilmiştir.
9. Kuruyan DNA pelleti istenilen DNA konsantrasyonuna göre 50-100 µl steril deiyonize suda çözündürülmüştür.

2.2.2. DNA miktar ölçümü

DNA miktar ölçümüne geçmeden önce izole edilen DNA örneklerinden 5 µl alınarak 0.5X TBE solüsyonu içerisinde bulunan %0,8'lik 75 ml agaroz jelde 1kb DNA ladder (Fermentas) ile birlikte 90 V'ta 30 dk yürütülmüştür. DNA'ların kalitesinin prosedüre devam etmeye uygun olup olmadığı yürütme işlemi tamamlandıktan sonra jeller UVİpro jel dökümantasyon sisteminde (Uvitec, Cambridge, İngiltere) fotoğraflanarak kontrol edilmiştir. DNA'lar jelde tek, parlak bir bant olarak gözlenmiş ve bu örneklerin Nanodrop Spektrofotometre (ND-1000, Wilmington, USA) ile 260 ve 280 nm dalga boyunda saflık ve miktar tayinleri yapılmıştır. Agaroz jelde çok silik veya ışıklı yol şeklinde gözükten örnekler için DNA izolasyonu tekrarlanmıştır. Ölçüm sonuçlarına göre DNA örnekleri PCR çalışmalarında kullanılmak üzere µl'sinde 3 ng ve 5 ng olacak şekilde steril distile su ile seyreltilmiştir.

2.2.3. ISSR PCR analizi

Bu çalışmada laboratuvarımızda bulunan 14 adet ISSR primeri kullanılmıştır. Bitki örneklerinden elde edilen DNA'lar ve ilgili primerler ile PCR reaksiyonları kurulmuştur. Kullanılan primerler Tablo 2.3'de listelenmiştir.

Tablo 2.3. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerine ait bilgiler

Primer adı	Primer dizisi 5'→3'	Bağlanma sıcaklığı (°C)
ISSR-2	GAG GAG GAG GAG GAG AT	48.5
ISSR-3	VHV GTG GTG GTG GTG GTG GTG	50.8
ISSR-4	ACA CAC ACA CAC ACA CC	50
ISSR-6	GAG AGA GAG AGA GAG AGA AC	50.8
ISSR-14	TCG TCG TCG TCG TCG TCG GYC	52
ISSR-310	AGA GAG AGA GAG AGA GT	48
ISSR-324	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	49.6
ISSR-807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	52
ISSR-810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	50
ISSR-815	CTC TCT CTC TCT CTC TG	50
ISSR-819	GTG TGT GTG TGT GTG TA	50
ISSR-834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	53
ISSR-847	CAC ACA CAC ACA CAC ARC	55
ISSR-859	TGT GTG TGT GTG TGT GRC	55

PCR reaksiyonları 15 µl hacimde Tablo 2.4’de belirtilen miktarlarla hazırlanmıştır. PCR döngü koşulları ise Tablo 2.5’te verilmiştir.

Tablo 2.4. ISSR PCR bileşenleri

BİLEŞEN	MİKTAR
dH ₂ O	12.8 µl
10X Taq Buffer (Fermantas)	2.5 µl (1X)
25mM MgCl ₂ (Fermantas)	2 µl (2 µM)
2,5mM dNTP	2.5 µl (2.5 µM)
2,5mM Primer	2 µl (2.5 µM)
Kalıp DNA	3 µl (3ng/µl)
Taq Polimeraz (Fermantas)	0.2 µl (1 U)
Toplam	25 µl

Tablo 2.5. ISSR PCR döngü koşulları

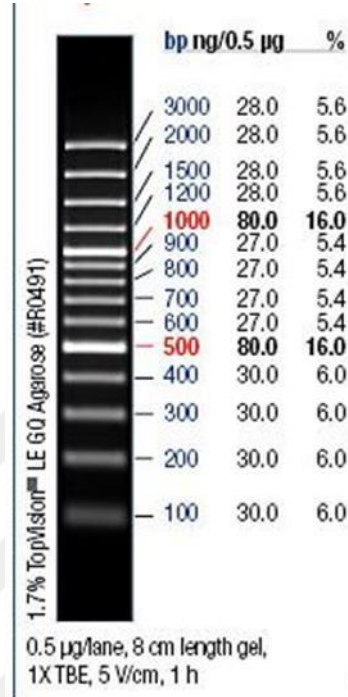
	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Öndenatürasyon	94	4 dk	1
Denatürasyon	94	45 sn	45
Bağlanma	48-55	1.30 dk	
Uzama	72	2 dk	
Son Uzama	72	5 dk	1

PCR reaksiyonları 2.5 µl hacimde 1X Taq Buffer, 2 µM MgCl₂, 2.5 µM dNTP, 2 µM primer, 9 ng kalıp DNA ve 0.2 µM 1U Taq polimeraz enzimi ile hazırlanmıştır. Her bir primer için hazırlanan negatif kontrol reaksiyonlara eklenmiştir. Ayrıca reaksiyonların bant profillerinden emin olmak için bazı bireyler rastgele seçilip PCR reaksiyonu ikinci kez tekrarlanmıştır. PCR ürünleri jelde yürütülene kadar buzdolabında +4 °C’ de muhafaza edilmiştir.

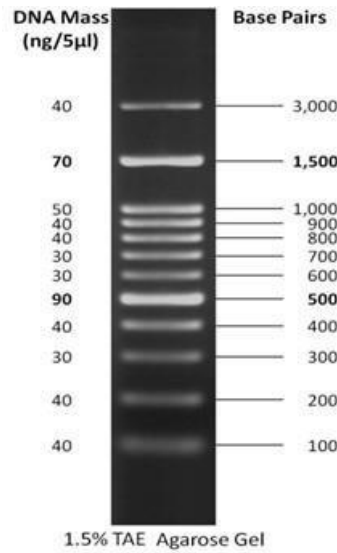
PCR reaksiyon koşulları ön denatürasyon için 94°C 4 dk, denatürasyon için 94°C 45 sn, bağlanma için 48°C-55°C arasında hesaplanan değere göre 90 sn, uzama için 72°C 2 dk ve son uzama için 72°C’de 5 dk sıcaklık ve süreler ile yapılmıştır. Denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamaları “1 döngü” olarak kabul edilmiş ve 45 defa tekrarlanmıştır. Deneyler Applied Biosystems Veriti gradient termal döngü cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

PCR ürünlerinin kontrol edilmesi için yatay jel elektroforezi (Thermo, Midicell Promo) ile Redsafe (İntron Bio) içeren %1,8’lik agaroz jel kullanılmıştır. PCR ürünleri her bir kuyucuk için 10 µl örnek ve 2 µl DNA Loading Dye (Thermo) boyası ile yüklenmiştir. Bant boyutlarının belirlenmesi için jeldeki ilk kuyucuğa 3 µl 100 bç DNA Ladder Plus (Thermo veya ABM marka) (Şekil 2.1.) yüklenerek 100 V’da 50-60 dk

elektroforez cihazında yürütülmüştür. Jeller yürütme işleminden sonra UVpro jel dökümantasyon sistemi (Uvitec, Cambridge, İngiltere) ile görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır.



Şekil 2.1. *Fermantas Gene Ruler 100 bp DNA ladder Plus*



Şekil 2.2. *ABM Opti-DNA markers 100bp plus*

2.2.4. SCoT PCR analizi

SCoT analizinde daha önce laboratuvarımızda mevcut olan 11 SCOT primeri kullanılmıştır. Bitki örneklerinden elde edilen DNA'lar ve ilgili primerler ile PCR reaksiyonları kurulmuştur. Bu SCoT primerleri hakkında bilgi Tablo 2.6'da verilmiştir.

Tablo 2.6. Çalışmada kullanılan SCoT primerlerine ait bilgiler

Primer	Primer dizisi 5'→3'	Bağlanma sıcaklığı (°C)
SCoT-3	CAACAATGGCTACCACCG	56
SCoT -12	ACGACATGGCGAACCAACG	56
SCoT -15	ACGACATGGCGACCGCGA	52
SCoT -17	ACCATGGCTACCACCGAG	52
SCoT -18	ACCATGGCTACCACCGCC	54
SCoT -19	ACCATGGCTACCACCGGC	52
SCoT -21	ACGACATGGCGACCCACA	53
SCoT -24	CACCATGGCTACCACCAT	50
SCoT -28	CCATGGCTACCACCGCCA	50
SCoT -32	CCATGGCTACCACCGCAC	50
SCoT-34	ACCATGGCTACCACCGCA	50

PCR reaksiyonları, 25 µl'lik hacimde Tablo 2.7'de belirtilen miktarlarla hazırlanmıştır. PCR döngü koşulları ise Tablo 2.8'de verilmiştir.

Tablo 2.7. SCoT PCR bileşenleri

BİLEŞEN	MİKTAR
dH ₂ O	8,3 µl
10X Taq Buffer (Fermantas)	2.5 µl (1X)
25mM MgCl ₂ (Fermantas)	2 µl (2 µM)
2,5mM dNTP	2 µl (2.5 µM)
2,5mM Primer	5 µl (2.5 µM)
Kalıp DNA	5 µl (5 ng/µl)
Taq Polimeraz (Fermantas)	0.2 µl (1 U)
Toplam	25 µl

Tablo 2.8. SCoT PCR döngü koşulları

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Ön denatürasyon	94	3 dk	1
Denatürasyon	94	1 dk	35
Bağlanma	50-53	1 dk	
Uzama	72	2 dk	
Son Uzama	72	5 dk	1

PCR reaksiyonları 2.5 µl hacimde 1X Taq Buffer, 2 µM MgCl₂, 2 µM dNTP, 2.5 µM primer, 25 ng kalıp DNA ve 0.2 µM 1U Taq polimeraz enzimi ile hazırlanmıştır. Her bir primer için hazırlanan negatif kontrol reaksiyonlara eklenmiştir. Ayrıca reaksiyonların bant profillerinden emin olmak için bazı bireyler rastgele seçilip PCR reaksiyonu ikinci kez tekrarlanmıştır. PCR ürünleri jelde yürütülene kadar buzdolabında +4 °C’ de muhafaza edilmiştir.

PCR reaksiyon koşulları ön denatürasyon için 94°C 3 dk, denatürasyon için 94°C 1 dk, primer bağlanma için 50°C-53°C arasında hesaplanan değere göre 1 dk, uzama için 72°C 2 dk ve son uzama için 72°C 5 dk sıcaklık ve süreler ile yapılmıştır. Denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamaları “1 döngü” olarak kabul edilmiş ve 35 defa tekrarlanmıştır. Deneyler Applied Biosystems Veriti gradient termal döngü cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

PCR ürünleri Redsafe (İntron Bio) içeren %1,8’lik agaroz jel kullanılarak 100 V’da 50-60 dk elektroforez cihazında yürütülmüştür. PCR ürünleri her bir kuyucuk için 10 µl örnek ve 2 µl DNA Loading Dye (Thermo) boyası olacak şekilde jele yüklenmiştir. Bant boyutlarının belirlenmesi için 100 bp DNA Ladder Plus (Thermo) (Şekil 2.1.) kullanılmıştır. Jeller yürütme işleminden sonra UVpro jel dökümantasyon sistemi (Uvitec, Cambridge, İngiltere) ile görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır.

2.2.5. SSR PCR analizi

SSR analizinde 5 SSR primeri kullanılmıştır. Bitki örneklerinden elde edilen DNA’lar ve ilgili primerler ile PCR reaksiyonları kurulmuştur. SSR primerleri ile ilgili bilgi Tablo 2.9’ da verilmiştir. PCR reaksiyonları Tablo 2.10’da belirtilen miktarlarla hazırlanmıştır. PCR döngü koşulları ise Tablo 2.11’de verilmiştir.

Tablo 2.9. Çalışmada kullanılan SSR primerlerine ait bilgiler

Primer	Primer dizisi 5’→3’	Bağlanma sıcaklığı (°C)
CRIS0-F	TTTGCAGTCCATCAGGTCAG	62
CRIS0-R	CCACATCTGTGGCTCTACCA	62
PLDcN-F	CAAAGCAGATCGAATTCTGG	58
PLDcN-R	TGGGGTGCAGTCTGTACTA	58
MADBOX F	CATGACTTTCTGCATCTTGACC	60
MADBOX R	TCTCTGGGCATGGATCTTTC	60
CPTCS025-R	GCATTGCAAGCATTTGAAGA	48
CPTCS025-F	GATGCTATCCTTTCCGCATC	48
CPTCS022-R	TGTCTGCCTCTCATCTTAACCA	60
CPTCS022-F	TTCTTGAGCAGCCATCTTCT	60

Tablo 2.10. SSR PCR bileşenleri

BİLEŞEN	MİKTAR
dH ₂ O	3,2 µl
10X Taq Buffer (Fermantas)	1,5 µl (1X)
25mM MgCl ₂ (Fermantas)	1 µl (2 µM)
2,5mM dNTP	1,2 µl (2.5 µM)
2,5mM Primer (F.P)	1,5 µl (2.5 µM)
2,5mM Primer (R.P)	1,5 µl (2.5 µM)
Kalıp DNA	5 µl (3 ng)
Taq Polimeraz (Fermantas)	0.5 µl (1 U)
Toplam	15 µl

Tablo 2.11. SSR PCR döngü koşulları

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Öndenatürasyon	94	5 dk	1
Denatürasyon	94	1 dk	35
Bağlanma	50-53	1.30 dk	
Uzama	72	1 dk	
Son Uzama	72	7 dk	1

PCR reaksiyonları 1.5 µl hacimde 1X Taq Buffer, 1 µM MgCl₂, 1,2 µM dNTP, 1.5 µM primer (İleri Primer), 1.5 µM primer (Geri Primer), 15 ng kalıp DNA ve 0.5 µl Taq polimeraz enzimi ile hazırlanmıştır. Her bir primer için hazırlanan negatif kontrol reaksiyonlara eklenmiştir. Ayrıca reaksiyonların bant profillerinden emin olmak PCR reaksiyonu ikinci kez tekrarlanmıştır. PCR ürünleri jelde yürütülene kadar buzdolabında +4 °C’ de muhafaza edilmiştir.

PCR reaksiyon koşulları ön denatürasyon için 94°C 1 dk, denatürasyon için 94°C 1 dk, primer bağlanma için 48°C-62°C arasında hesaplanan değere göre 90 sn, uzama için 72°C 1 dk ve son uzama için 72°C 7 dk sıcaklık ve süreler ile yapılmıştır. Denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamaları “1 döngü” olarak kabul edilmiş ve 35 defa tekrarlanmıştır. Deneyler Applied Biosystems Veriti gradient termal döngü cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

PCR ürünlerinin kontrolü için Redsafe (İntron Bio) içeren %2’lik agaroz jel kullanılmıştır. PCR ürünleri her bir kuyucuk için 10 µl örnek ve 2 µl DNA Loading Dye (Thermo) boyası ile yüklenmiştir. Bant boyutlarının belirlenmesi için jeldeki ilk kuyucuğa 3 µl 100 bp DNA Ladder Plus yüklenerek PCR ürünleri 100 V 35-40 dk elektroforez cihazında (Thermo, Midicell Primo) yürütülmüştür. Jeller yürütme işleminden sonra UVpro jel dökümantasyon sistemi (Uvitec, Cambridge, İngiltere) ile görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır.

2.2.6. PCR sonuçlarının yorumlanması

ISSR ve SCoT PCR analizlerinde her primer için bulunan değerler TOTALLAB CLIQS (1D gels) yazılım programı kullanılarak analiz edilmiştir. Her primer için, 100 bp plus DNA ladder ile bant boyutları karşılaştırılarak bant sayısı ve boyutları belirlenmiştir. Ayrıca, elde edilen sonuçlara göre her numune için bantın varlığı (1) ve yokluğu (0) olarak gösterilen ikili bir matris oluşturulmuştur. Her ISSR ve SCoT primerinin "polimorfizm bilgi içeriği" (PIC) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\text{PIC (dominant marker)} = 2f(1-f) \text{ (De Riek vd., 2001).}$$

SSR primerlerinin PIC değerleri ise aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{PIC} = 1 - \sum (p_i)^2 \text{ (De Riek vd., 2001).}$$

Bu hesaplamalar, belirli bir primer ile amplifiye edilen her bir bantın PIC değerini bulmak için kullanılmıştır ve ardından ortalama değer hesaplanmıştır. Erik çeşit ve genotipleri arasındaki genetik benzerlik değerleri DendroUPGMA programı kullanılarak Jaccard katsayısı ile hesaplanmıştır. Hem ISSR hem de SCoT markırları için dendrogramlar MEGA software version 11 kullanılarak oluşturulmuştur.

3. BULGULAR

3.1. DNA İzolasyonu Sonucu DNA Miktar ve Saflık Ölçümü

Genetik materyal kullanan tüm araştırmalar DNA'nın başarılı bir şekilde saflaştırmasını gerektirir. Bu çalışmada 14 farklı erik çeşidi ve genotipi 2X CTAB yöntemi ile DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA örneklerinin miktar ve saflık ölçümleri 260 ve 280 nm dalga boylarında spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Erik çeşitlerinden izole edilen DNA'ların miktar ve saflık ölçümleri

Örnek İsimleri	DNA Miktarı (ng/μl)	DNA Saflığı (260/280 nm)
Angeleno	100,8	1,59
Black Diamond	201,5	2,04
Black Splendor	332,6	2,13
Early Queen	188,4	2,05
Fortune	221,4	2,14
Friar	104,1	2,16
Pioneer	162,6	2,06
Kırmızı Genotip Erik A	29	2,14
Kırmızı Genotip Erik B	65,8	2,32
Kırmızı Genotip Erik C	34,4	2,11
Sungold	426	2,11
Sarı Genotip Erik A	29,2	3,11
Sarı Genotip Erik B	89,4	2,49
Sarı Genotip Erik C	43	2,42

3.2. PCR Analizi

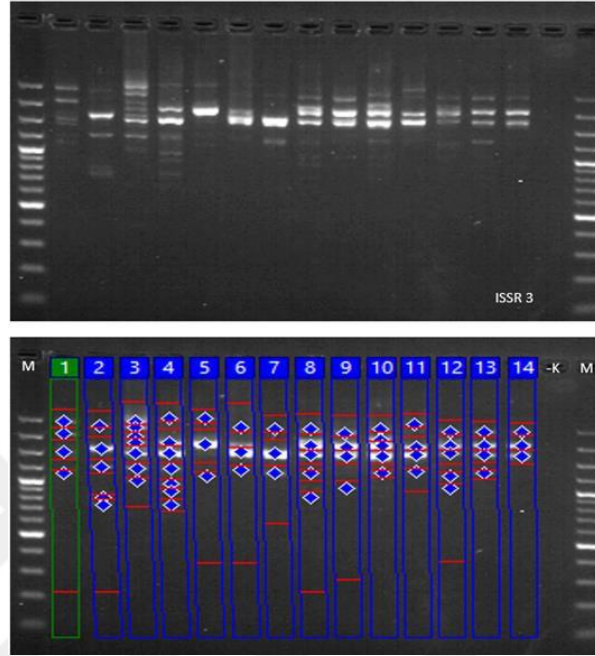
Çalışmamızda 14 farklı erik çeşit ve genotipine ait DNA'lar ile 14 ISSR, 11 SCOT ve 5 SSR primeri kullanılarak PCR analizleri yapılmıştır.

3.2.1. ISSR PCR analizi

14 farklı ISSR primerinden elde edilen PCR sonuçları şekil 3.1-3-27'de verilmiştir. PCR reaksiyonlarının jel görüntüleri 14 erik çeşit ve genotipinin bant profillerini göstermektedir. Tüm jel fotoğraflarında M; 100bç DNA ladder plus, –K; negatif kontrolü temsil etmektedir. Erik çeşitlerine ait PCR ürünleri jellere aşağıdaki sıra ile yüklenmiştir:

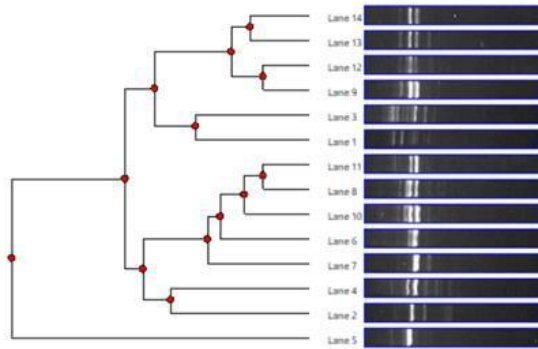
1-Angeleno, 2-Black Diamond, 3-Black Splendor, 4-Early Queen, 5-Fortune, 6-Friar, 7-Pioneer, 8-Kırmızı Genotip Erik, 9-Kırmızı Genotip Erik, 10-Kırmızı Genotip Erik, 11-Sungold, 12-Sarı Genotip Erik, 13-Sarı Genotip Erik, 14-Sarı Genotip Erik

ISSR 3: ISSR 3 primeri ile toplam 9 bant oluşmuştur (Şekil 3.3). Bant büyüklüklerinin 740 bp ile 3363 bp arasında olduğu görülmüştür. Tüm bantlar polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %100'dür.



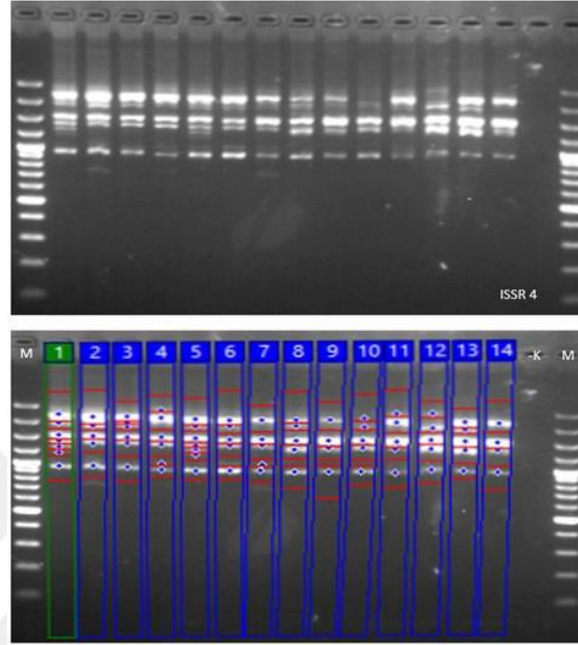
Şekil 3.3. ISSR 3 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 3 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda sarı ve kırmızı kabuklu erik çeşit ve genotipleri ayrı gruplanmamıştır. Bu primer ile erik çeşitlerinin meyve özellikleri ve çiçeklenme zamanlarına göre ayrı gruplanmadığı görülmüştür (Şekil 3.4)



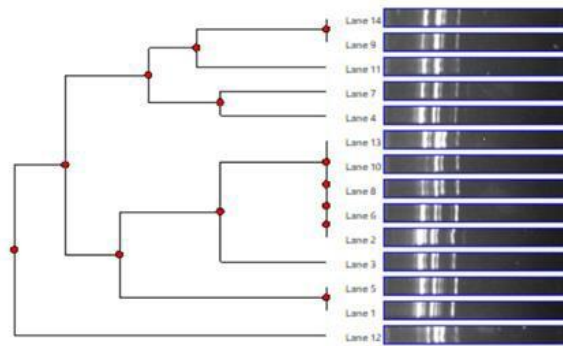
Şekil 3.4. ISSR 3 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 4: ISSR 4 primeri toplam 10 bant oluşturmıştır (Şekil 3.5). Bant büyüklüklerinin 977 bp ile 2887 bp arasında olduğu görülmüştür. 3 bant monomorfik, 7 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %70 olarak hesaplanmıştır.



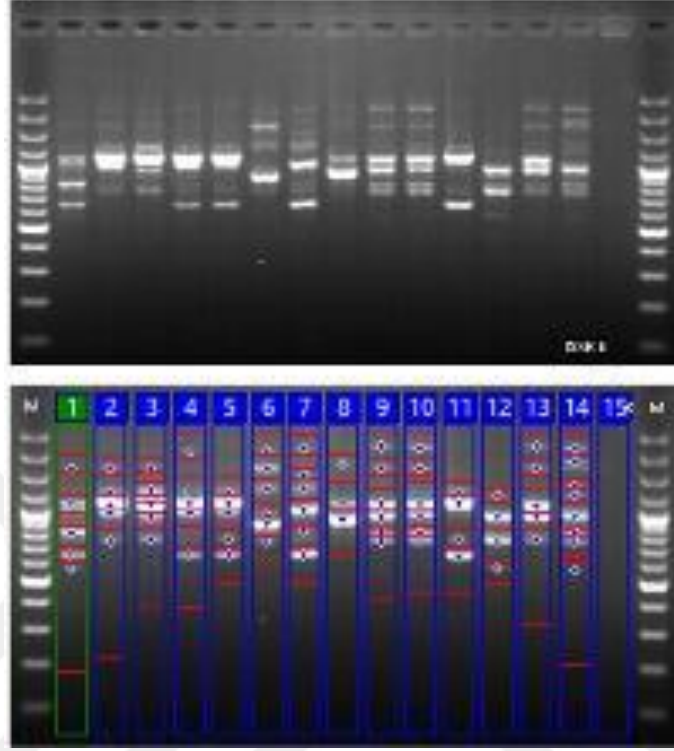
Şekil 3.5. ISSR 4 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 4 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda 1-5,6-8-10-13 ile 9-14 erik çeşit ve genotipleri ayrımlanamamıştır. Bu primer ile erik çeşit ve genotiplerini meyve özellikleri ve çiçeklenme zamanlarına göre ayrı gruplanmadığı görülmüştür (Şekil 3.6)



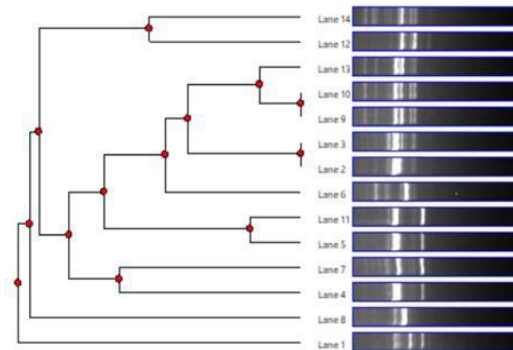
Şekil 3.6. ISSR 4 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 6: ISSR 6 primeri toplam 13 bant oluşturmıştır (Şekil 3.7). Bant büyüklükleri 586 bp ile 2750 bp arasında değişmektedir. Tüm bantlar polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %100'dür.



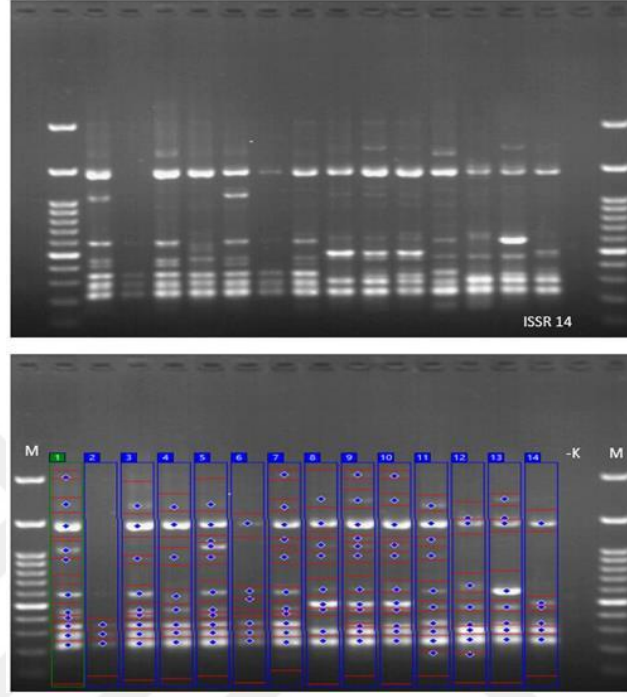
Şekil 3.7. ISSR 6 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 6 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda 2-3 ile 9-10 çeşit ve genotipleri birbirinden ayrılmamıştır. Ayrıca bu primer ile çeşit ve genotipler meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.8).



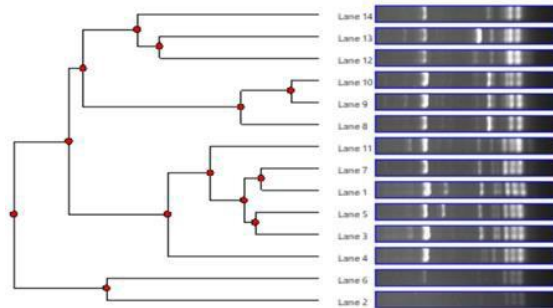
Şekil 3.8. ISSR 6 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 14: ISSR 14 primeri toplam 19 bant oluşturmıştır (Şekil 3.9). Bant büyüklüklerinin 174 bp ile 3187 bp arasında olduğu görülmüştür. 2 bant monomorfik, 17 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %89,47 olarak hesaplanmıştır.



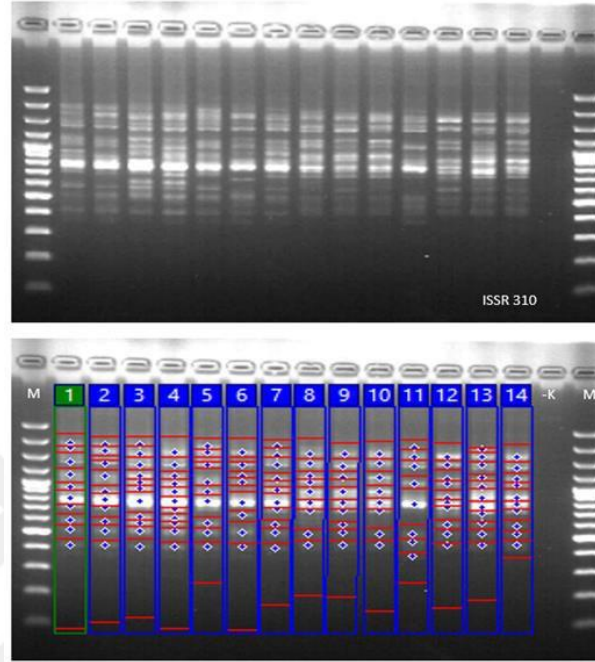
Şekil 3.9. ISSR 14 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 14 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.10)



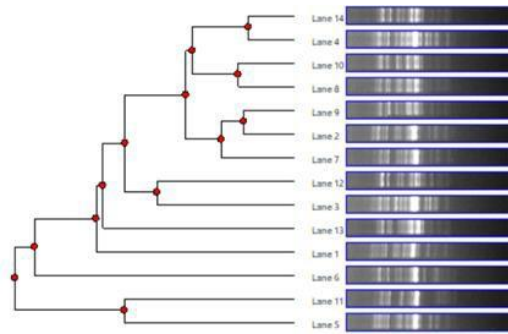
Şekil 3.10. ISSR 14 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 310: ISSR 310 primeri toplam 15 bant oluşturmıştır (Şekil 3.11). Bant büyüklüklerinin 373 bp ile 2000 bp arasında olduğu görülmüştür. 3 bant monomorfik, 12 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %80 olarak hesaplanmıştır.



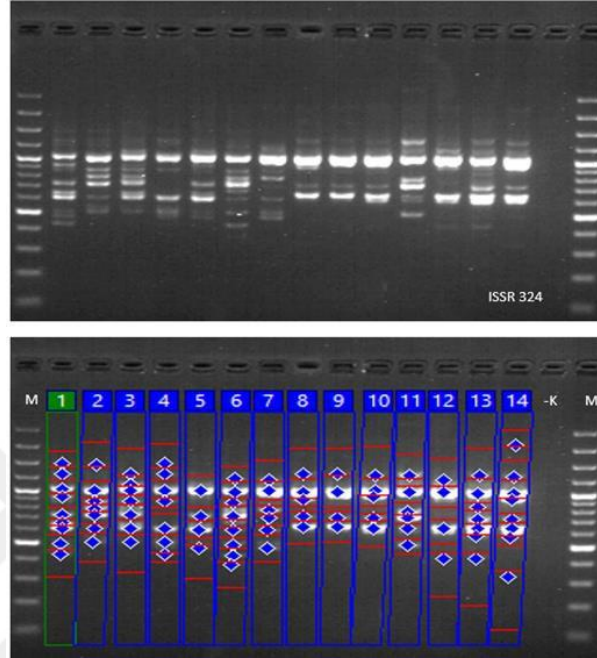
Şekil 3.11. ISSR 310 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 310 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.12)



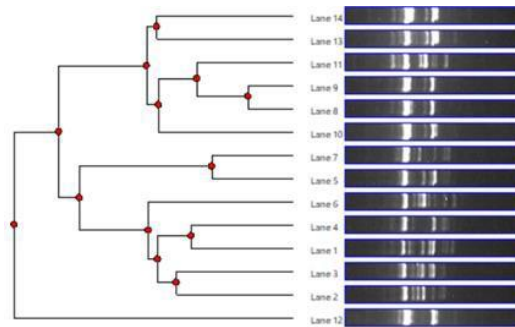
Şekil 3.12. ISSR 310 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 324: ISSR 324 primeri toplam 21 bant oluşturmıştır (Şekil 3.13). Bant büyüklüklerinin 331 bp ile 2316 bp arasında olduğu görülmüştür. 1 bant monomorfik, 20 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı %95,23 olarak hesaplanmıştır.



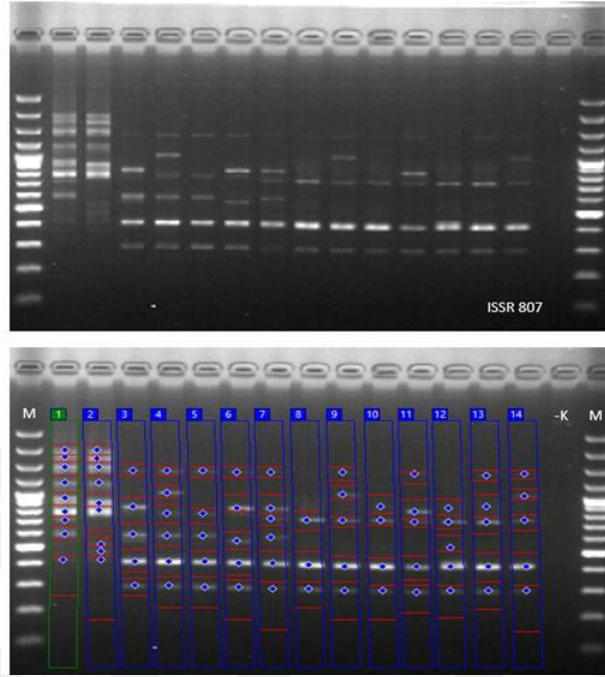
Şekil 3.13. ISSR 324 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 324 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.14).



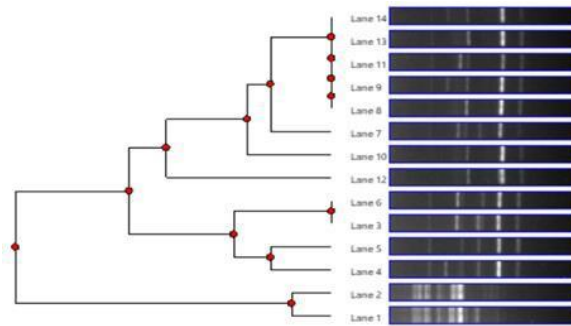
Şekil 3.14. ISSR 324 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 807: ISSR 807 primeri toplam 10 bant oluşturmıştır (Şekil 3.15). Bant büyüklüklerinin 385 bp ile 2000 bp arasında olduğu görülmüştür. 1 bant monomorfik, 9 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %90 olarak hesaplanmıştır.



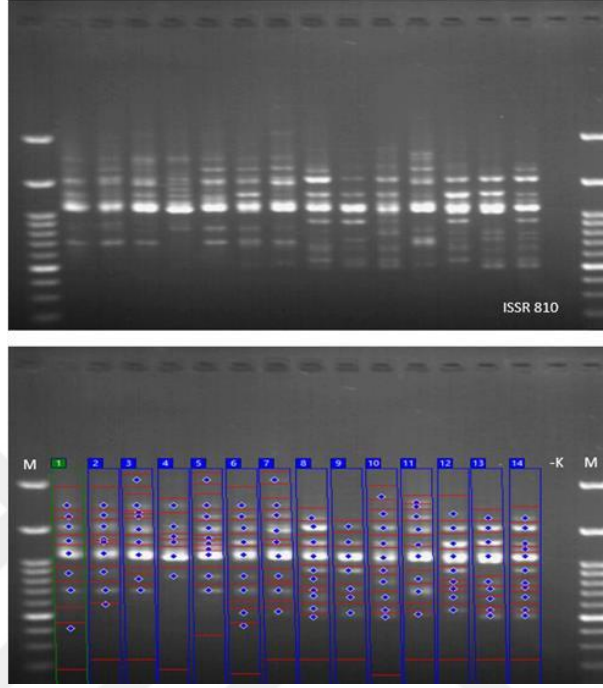
Şekil 3.15. ISSR 807 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 807 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda 3-6 ile 8-9-11-13-14 çeşit ve genotipleri birbirinden ayrılmamıştır. Bu primer ile erik çeşit ve genotipleri meyve özellikleri ve çiçeklenme zamanlarına göre ayrı gruplanmadığı görülmüştür (Şekil 3.16).



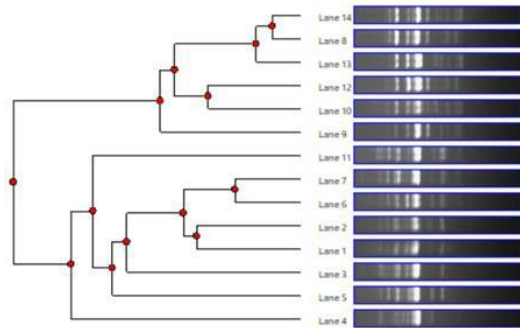
Şekil 3.16. ISSR 807 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 810: ISSR 810 primeri toplam 21 bant oluşturmıştır (Şekil 3.17). Bant büyüklüklerinin 409 bp ile 3187 bp arasında olduğu görülmüştür. 2 bant monomorfik, 19 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %90,47 olarak hesaplanmıştır.



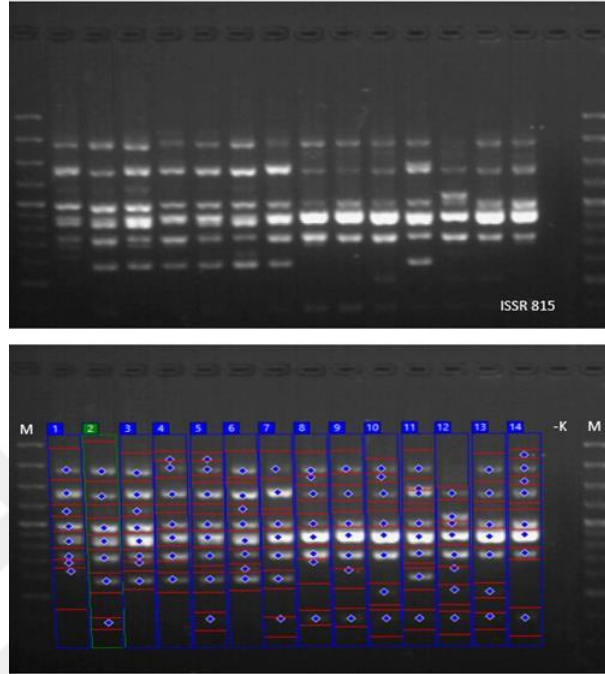
Şekil 3.17. ISSR 810 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 810 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.18).



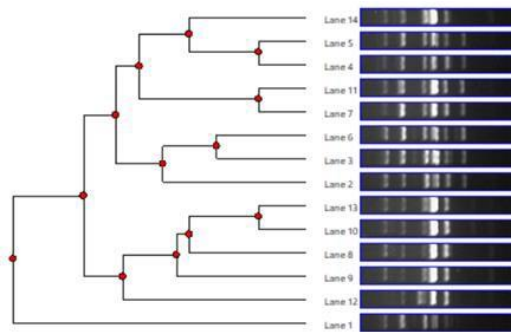
Şekil 3.18. ISSR 810 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 815: ISSR 815 primeri toplam 17 bant oluşturmıştır (Şekil 3.19). Bant büyüklüklerinin 393 bp ile 2454 bp arasında olduğu görülmüştür. 3 bant monomorfik, 14 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %82,35 olarak hesaplanmıştır.



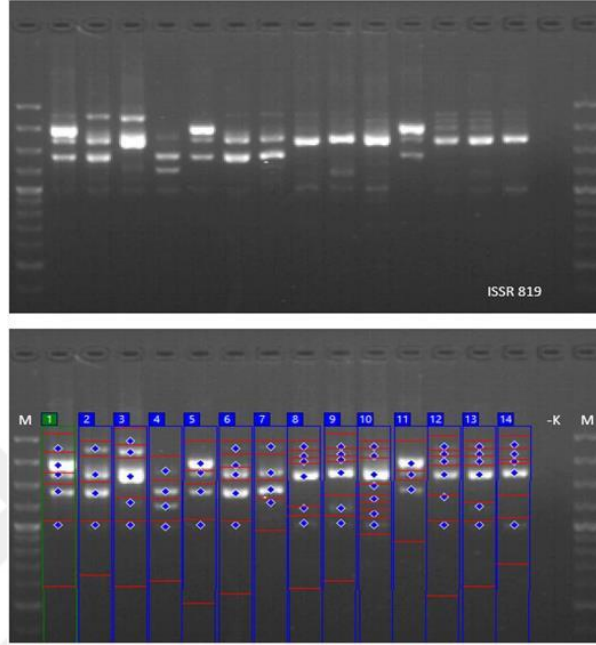
Şekil 3.19. ISSR 815 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 815 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.20).



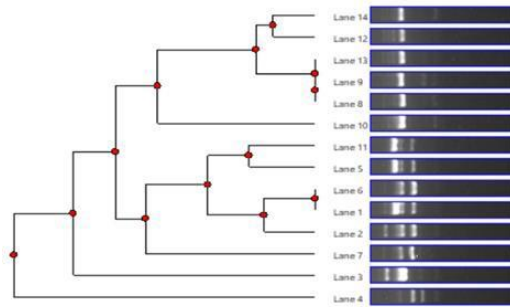
Şekil 3.20. ISSR 815 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 819: ISSR 819 primeri toplam 13 bant oluşturmıştır (Şekil 3.21). Bant büyüklüklerinin 1016 bp ile 2906 bp arasında olduğu görülmüştür. Tüm bantlar polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %100'dür.



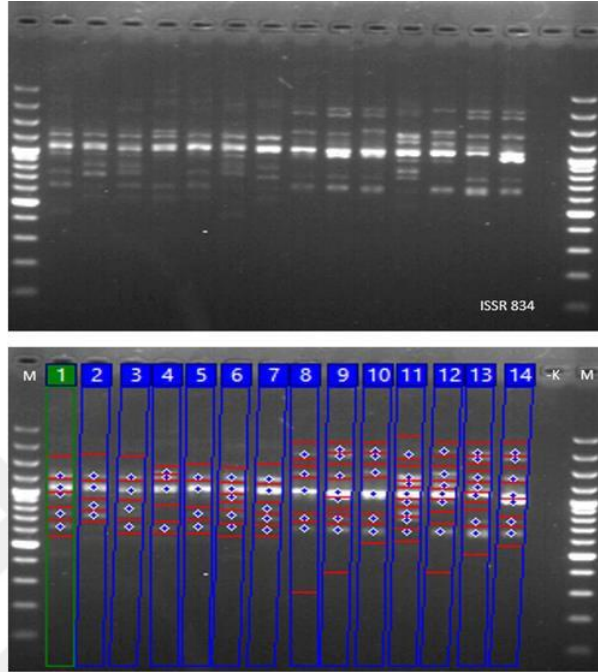
Şekil 3.21. ISSR 819 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 819 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda 8-9-3 ile 1-6 çeşit ve genotipleri ayrılmamıştır; fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre ayrı gruplanmamıştır (Şekil 3.22).



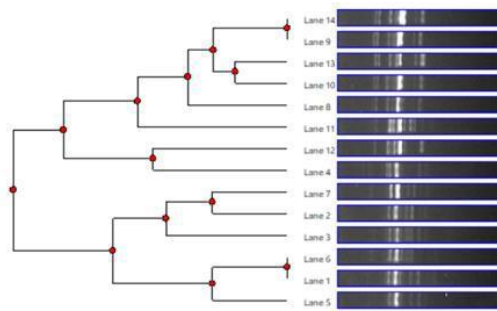
Şekil 3.22. ISSR 819 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 834: ISSR 834 primeri toplam 9 bant oluşturmıştır (Şekil 3.23). Bant büyüklüklerinin 393 bp ile 2454 bp arasında olduğu görülmüştür. 1 bant monomorfik, 8 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %88.88 olarak hesaplanmıştır.



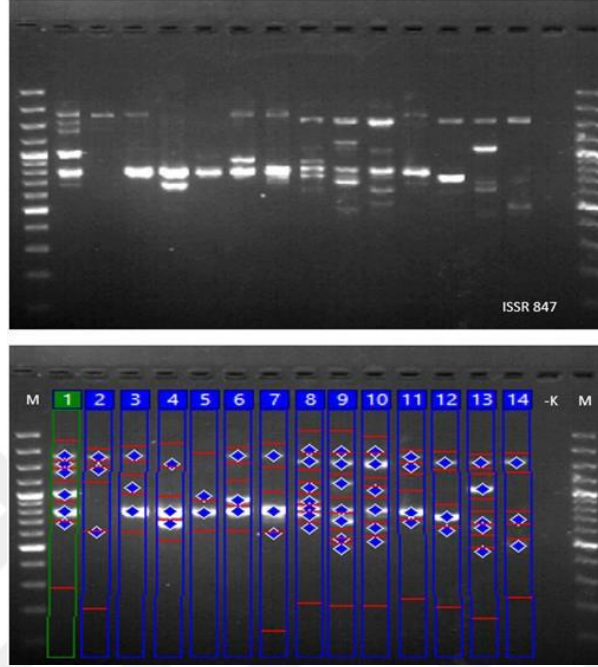
Şekil 3.23. ISSR 834 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 834 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda 1-6 ile 9-14 çeşit ve genotipleri birbirinden ayrılmamıştır. Bu primer sarı ve kırmızı kabuklu erik çeşit ve genotipleri ayrı gruplamamıştır. Çiçeklenme dönemlerine göre geçici gruplar bir arada toplanırken, erkenci ve orta geçici gruplar ayrımlanamamıştır (Şekil 3.24).



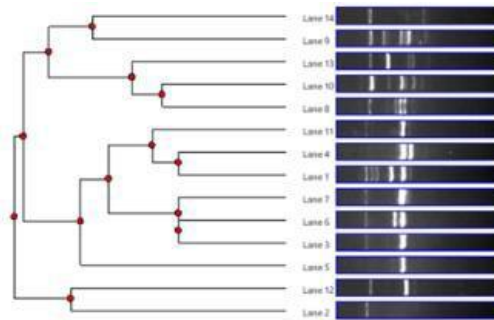
Şekil 3.24. ISSR 834 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 847: ISSR 847 primeri toplam 23 bant oluşturmıştır (Şekil 3.25). Bant büyüklüklerinin 1016 bp ile 2906 bp arasında olduğu görülmüştür. Tüm bantlar polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %100'dür.



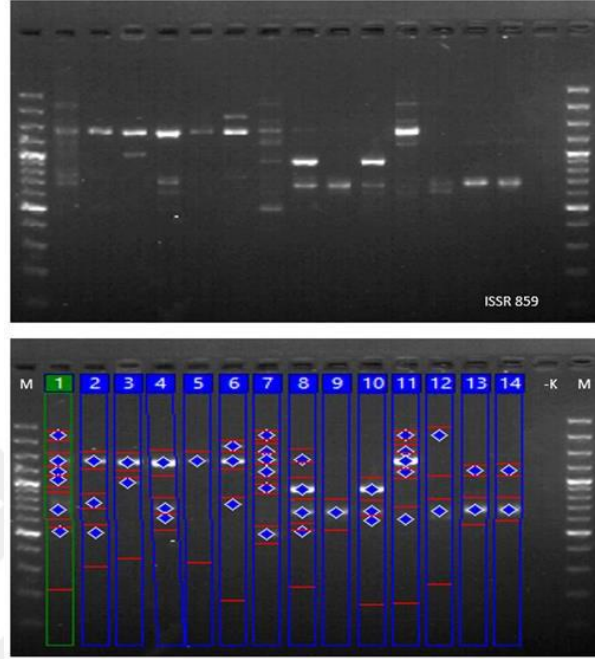
Şekil 3.25. ISSR 847 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 847 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre ayrı gruplanmamıştır (Şekil 3.26).



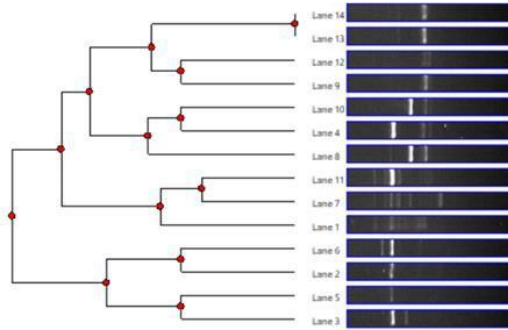
Şekil 3.26. ISSR 847 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

ISSR 859: ISSR 859 primeri toplam 11 bant oluşturmıştır (Şekil 3.27). Bant büyüklüklerinin 463 bp ile 2070 bp arasında olduğu görülmüştür. Tüm bantlar polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %100'dür.



Şekil 3.27. ISSR 859 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

ISSR 859 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda 13-14 çeşit ve genotipleri ayrılmamıştır. Bu primer çeşit ve genotipleri meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre ayrı gruplamamıştır (Şekil 3.28).



Şekil 3.28. ISSR 847 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

3.2.2. ISSR analizinin değerlendirilmesi

PCR analizi sonuçları kullandığımız 14 ISSR primerinin tümünün tekrarlanabilir ve kolayca yorumlanabilir bant profili oluşturduğunu göstermiştir. Çalışılan 14 erik çeşit ve genotipinden toplam 204 bant elde edilmiştir ve primer başına ortalama bant sayısı 14,57 olarak hesaplanmıştır. Bantlardan 186'sı polimorfiktir (%91,17). Amplifiye edilen bantların büyüklüğü 174 bp (ISSR 14) ile 3363 bp (ISSR 3) arasında değişmektedir. En az bant sayısı ISSR 3 primerinde (9), en fazla bant sayısı ise ISSR 834 primerinde (23) görülmüştür.

Primerlerin polimorfizm bilgi içeriği (PIC), 0.179 (ISSR 4) ile 0.376 (ISSR 3) arasında değişmekte olup ortalama değer 0,293' dür (Tablo 3.4).

Tablo 3.2. 14 ISSR primerinden elde edilen bantların özellikleri

Primer	TA (C°)	BB (bp)	TB	MB	PIC	PPB (%)
ISSR-2	48,5	(500-2626)	13	2	0,329	84,61
ISSR-3	50,8	(740-3363)	9	0	0,376	100
ISSR-4	50	(977-2887)	10	3	0,179	70
ISSR-6	50,8	(586-2887)	13	0	0,351	100
ISSR-14	52	(174-3187)	19	2	0,301	89,47
ISSR-310	48	(373-2000)	15	3	0,239	80
ISSR-324	49,6	(331-2316)	21	1	0,279	95,23
ISSR-807	52	(385-2000)	10	1	0,283	90
ISSR-810	50	(409-3187)	21	2	0,301	90,47
ISSR-815	50	(393-2454)	17	3	0,239	82,35
ISSR-819	50	(1016-2906)	13	0	0,282	100
ISSR-834	53	(635-2233)	9	1	0,357	88,88
ISSR-847	55	(463-2070)	23	0	0,244	100
ISSR-859	55	(491-2347)	11	0	0,342	100

TA: Primer bağlanma ısı, BB: Bant büyüklüğü, TB Toplam bant sayısı, MB: Monomorfik bant sayısı, PIC: Polimorfizm Bilgi içeriği, PPB: Polimorfik bantların yüzdesi

14 ISSR primeri kullanılarak elde edilen bantlar, Phoretix 1D Pro yazılımı kullanılarak mevcut (1) veya yok (0) olarak kaydedilerek ikili matris hazırlanmıştır. Erik çeşitleri arasındaki genetik benzerlik matrisi, Jaccard'ın benzerlik katsayısına göre ISSR verilerinden hesaplanmıştır. Genetik olarak en yakın genotipler Sarı Genotip C ve Kırmızı Genotip A olup, genetik benzerlik değeri 0.660 olarak bulunmuştur. Genetik benzerlik oranı en düşük olan çeşitler ise Sarı Genotip C ve *Angeleno* (0.341) olarak bulunmuştur. Sarı ve Kırmızı genotipler göz ardı edilip sadece tescilli çeşitlere bakıldığında genetik olarak en yakın çeşitler *Friar* ve *Black Diamond* olup genetik benzerlik değeri 0.570

olarak bulunmuştur. Genetik benzerlik oranı en düşük olan çeşitler ise *Friar* ve *Angeleno* (0.439) olarak bulunmuştur.

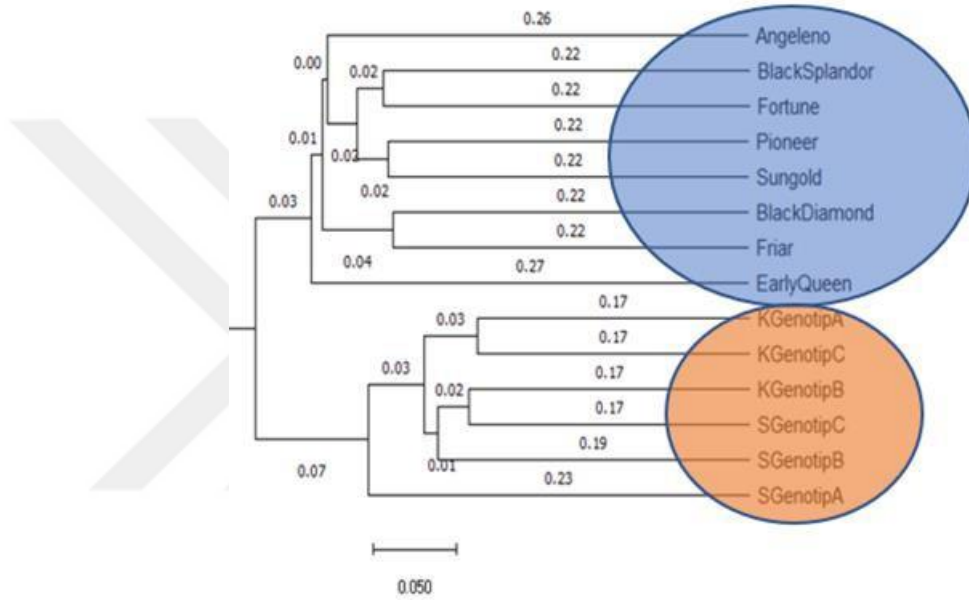
Tablo 3.3. Jaccard benzerlik katsayısına göre Erik çeşitleri arasındaki genetik benzerlik matrisi

otipC	SGen	91	0.3	.364	0	.392	0	.397	0	.380	0	.424	0	.411	0	.606	0	.660	0	.548	0	.430	0	.556	0	.630	0		
otipB	SGen	34	0.4	.410	0	.462	0	.432	0	.427	0	.448	0	.423	0	.606	0	.615	0	.589	0	.491	0	.570	0			1	
otipA	SGen	41	0.3	.342	0	.372	0	.364	0	.347	0	.391	0	.336	0	.518	0	.541	0	.504	0	.375	0			1			
ld	Sungo	44	0.4	.446	0	.500	0	.443	0	.533	0	.486	0	.564	0	.421	0	.430	0	.389	0		1						
otipC	KGen	75	0.3	.369	0	.431	0	.413	0	.374	0	.405	0	.416	0	.670	0	.648	0		1								
otipB	KGen	12	0.4	.375	0	.392	0	.432	0	.392	0	.448	0	.423	0	.636	0		1										
otipA	KGen	94	0.3	.390	0	.430	0	.412	0	.383	0	.415	0	.415	0		1												
er	Pione	21	0.5	.477	0	.518	0	.448	0	.551	0	.491	0		1														
	Friar	39	0.4	.570	0	.537	0	.477	0	.472	0		1																
ne	Fortu	92	0.4	.472	0	.557	0	.509	0		1																		
	Early	59	0.4	.450	0	.505	0		1																				
	Black Splendor	00	0.5	.523	0		1																						
	Black Diamond	87	0.4		1																								
eno	Angel		1																										
	Angeleno																												
	Black Diamond																												
	Black Splendor																												
	Early Queen																												
	Fortune																												
	Friar																												
	Pioneer																												
	PirmızıGenotip A																												
	KirmızıGenotip B																												
	KirmızıGenotip C																												
	Kungold																												
	Sarı Genotip A																												
	Sarı Genotip B																												
	Sarı Genotip C																												

1-0 ikili matris, Jaccard katsayısı kullanılarak genetik benzerlik değerlerinin hesaplandığı Dendro: UPGMA programına aktarılmıştır. Buradan elde edilen sonuçlar

Newick formatında MEGA programına aktarılarak UPGMA dendrogramı oluşturulmuştur (Şekil 3.29).

Dendrograma göre 2 ana küme oluşmuştur. Dendrogram tescilli çeşitler ile melez genotipleri birbirinden ayıran 2 ana grup oluşturmuştur. İlk küme *Angeleno*, *Black Diamond*, *Black Splendor*, *Early Queen*, *Fortune*, *Friar*, *Pioneer*, *Sungold* çeşitlerini içerirken, ikinci kümede ise Kırmızı Genotip A, Kırmızı Genotip B, Kırmızı Genotip C, Sarı Genotip A-B-C genotiplerini içermektedir.



Şekil 3.29. ISSR primerleri kullanılarak oluşan 14 erik çeşidinin genetik benzerlik dendrogramı

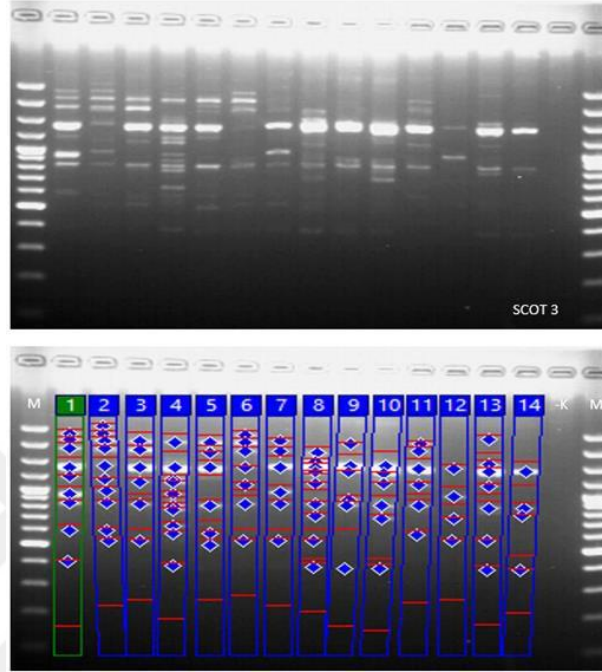
3.2.3. SCoT PCR analizi

11 farklı SCoT primerinden elde edilen PCR sonuçları şekil 3.30-3-50'de verilmiştir. PCR reaksiyonlarının jel görüntüleri, 14 erik çeşidinin bant profillerini temsil etmektedir. Tüm jel fotoğraflarında M; 100bç DNA ladder plus, -K; negatif kontrolü temsil etmektedir.

Erik çeşit ve genotiplerine ait PCR ürünleri jellere aşağıdaki sıra ile yüklenmiştir:

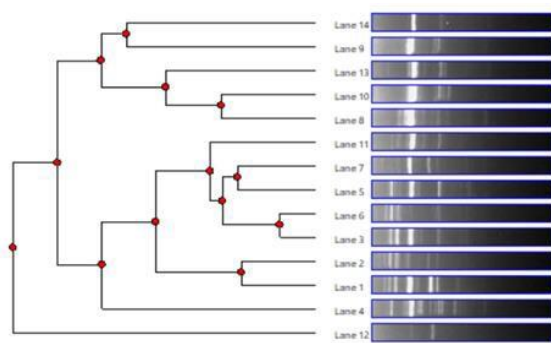
1-Angeleno, 2-Black Diamond, 3-Black Splendor, 4-Early Queen, 5-Fortune, 6-Friar, 7-Pioneer, 8-Kırmızı Erik Genotip A, 9-Kırmızı Erik Genotip B, 10-Kırmızı Erik Genotip C, 11-Sungold, 12-Sarı Erik Genotip A, 13-Sarı Erik Genotip B, 14-Sarı Erik Genotip C.

SCoT 3: SCoT 3 primeri ile toplam 19 bant elde edilmiştir (Şekil 3.30). Bant büyüklüklerinin 375 bp ile 3273 bp arasında olduğu görülmüştür. 1 bant monomorfik, 18 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %94,73 olarak hesaplanmıştır.



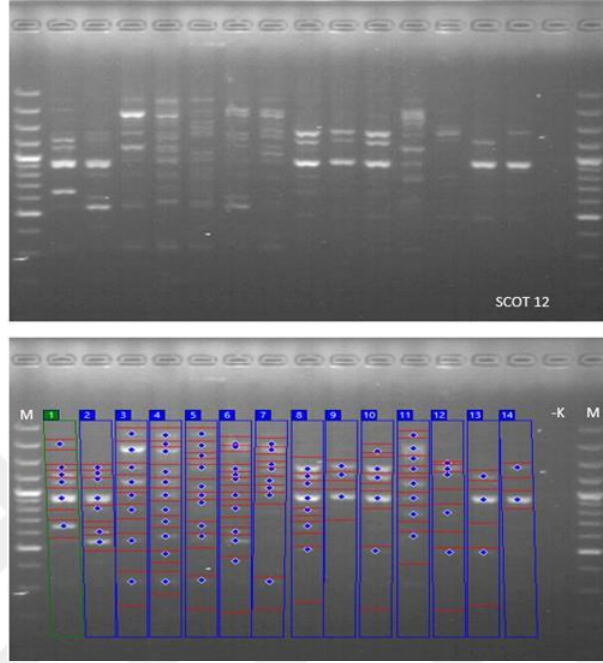
Şekil 3.30. SCoT 3 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 3 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre ayrı gruplanmamıştır (Şekil 3.31).



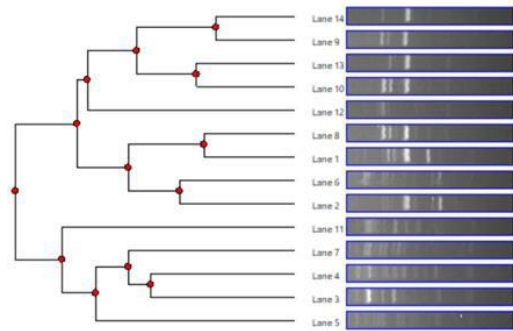
Şekil 3.31. SCoT 3 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

SCoT 12: SCoT 12 primeri ile toplam 23 bant oluşmuştur (Şekil 3.32). Bant büyüklüklerinin 323 bp ile 2629 bp arasında olduğu görülmüştür. Tüm bantlar polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %100'dür.



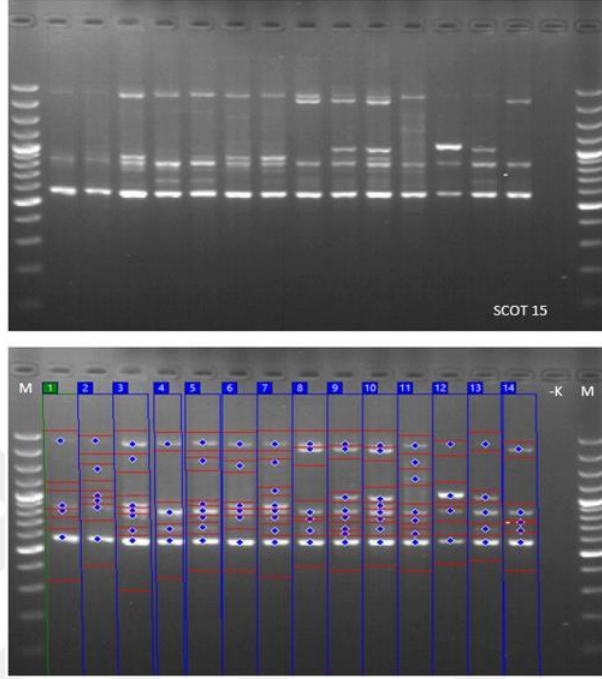
Şekil 3.32. SCoT 12 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 12 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.33).



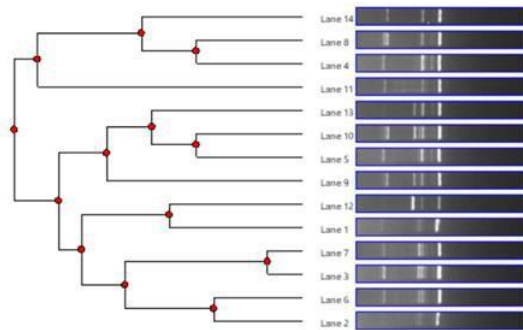
Şekil 3.33. SCoT 12 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

SCoT 15: SCoT 15 primeri ile toplam 23 bant oluşmuştur (Şekil 3.34). Bant büyüklüklerinin 560 bp ile 2750 bp arasında olduğu görülmüştür. 1 bant monomorfik, 15 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %93,75 olarak hesaplanmıştır.



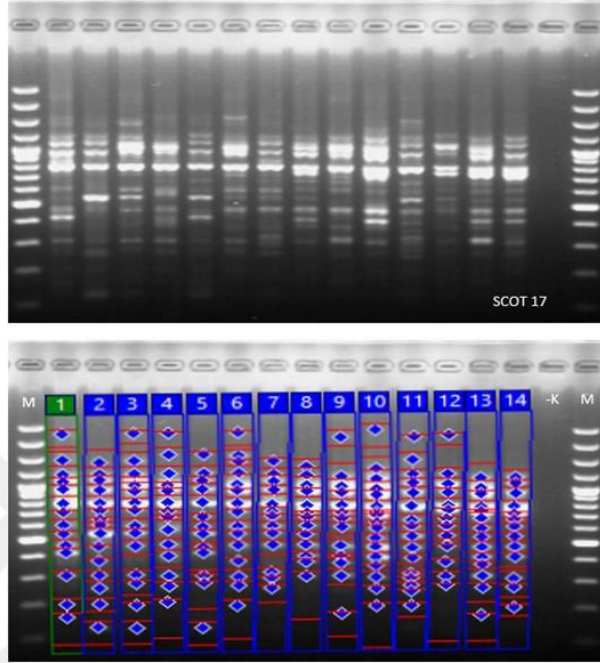
Şekil 3.34. SCoT 15 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 15 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.35).



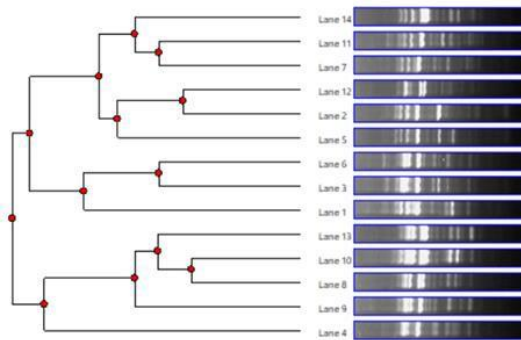
Şekil 3.35. SCoT 15 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü,

SCoT 17: SCoT 17 primeri toplam 27 bant oluşturmıştır (Şekil 3.36). Bant büyüklüklerinin 129 bp ile 3091 bp arasında olduğu görülmüştür. 4 bant monomorfik, 23 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %88,88 olarak hesaplanmıştır.



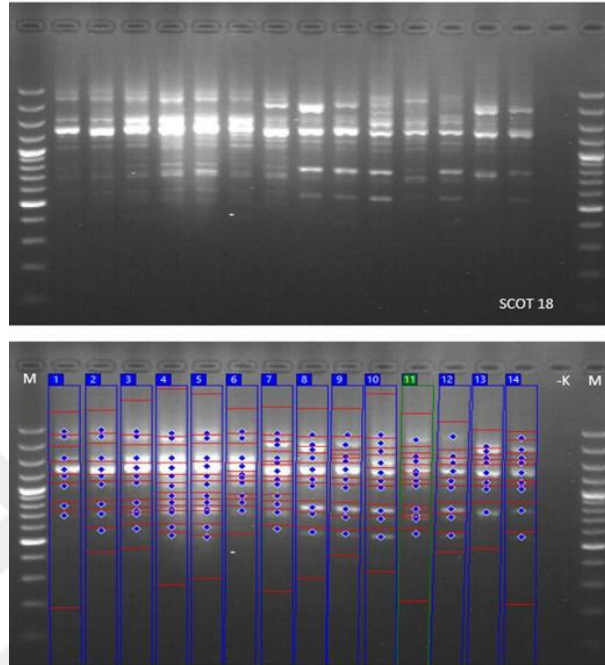
Şekil 3.36. SCoT 17 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 17 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.37).



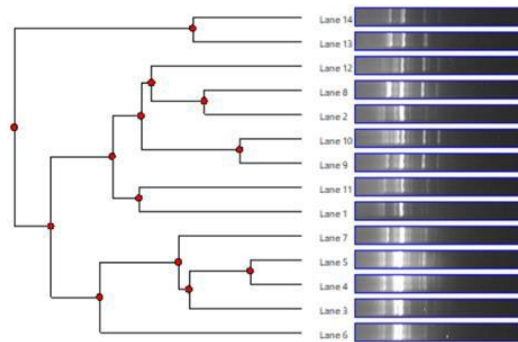
Şekil 3.37. SCoT 17 primeri oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

SCoT 18: SCoT 18 primeri toplam 20 bant oluşturmıştır (Şekil 3.38). Bant büyüklüklerinin 654 bp ile 3111 bp arasında olduğu görülmüştür. 1 bant monomorfik, 19 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %95 olarak hesaplanmıştır



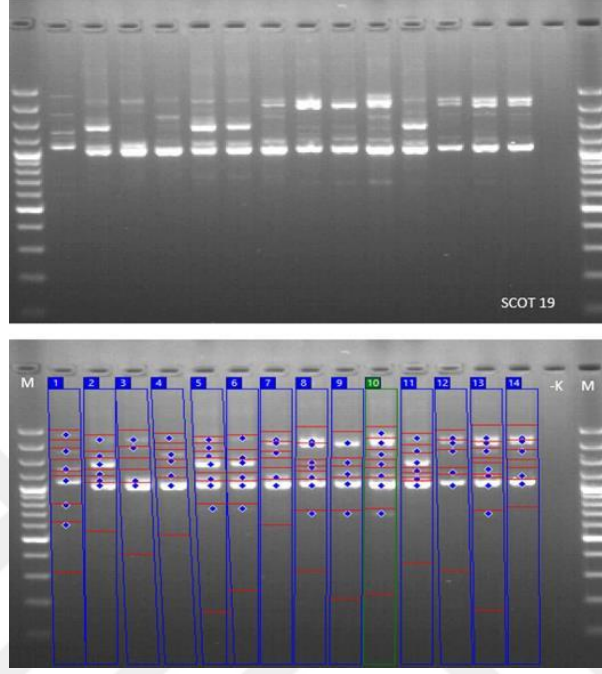
Şekil 3.38. SCoT 18 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 18 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.39).



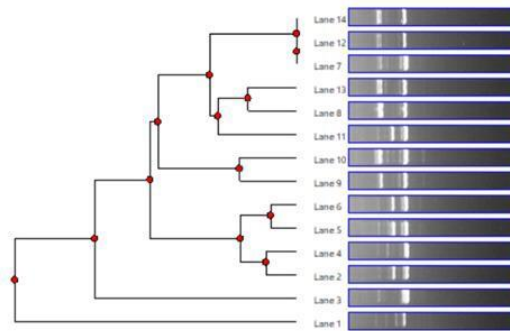
Şekil 3.39. SCoT 18 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

SCoT 19: SCoT 19 primeri ile toplam 14 bant oluşturmıştır (Şekil 3.40). Bant büyüklüklerinin 355 bp ile 2875 bp arasında olduğu görülmüştür. Tüm bantlar polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %100'dür.



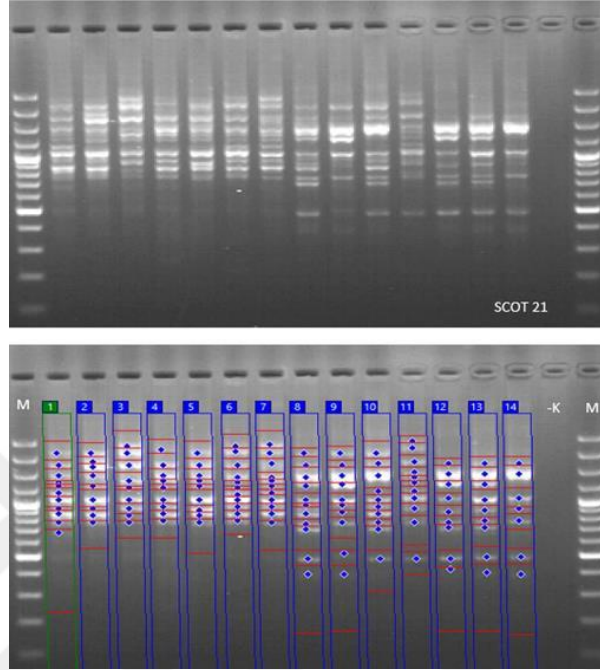
Şekil 3.40. SCoT 19 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 19 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda 7-12-14 çeşit ve genotiplerini ayrılmamıştır. Bu primer ile erik çeşitlerinin meyve özellikleri ve çiçeklenme zamanlarına göre ayrı gruplanmadığı görülmüştür (Şekil 3.41).



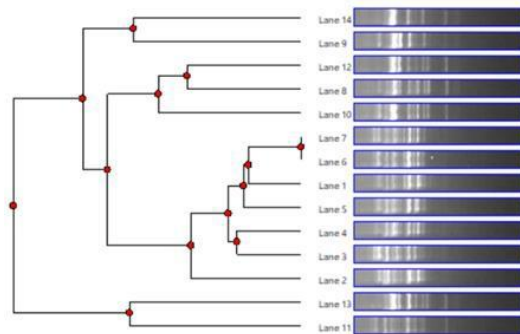
Şekil 3.41. SCoT 19 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

SCoT 21: SCoT 21 primeri toplam 21 bant oluşturmıştır (Şekil 3.42). Bant büyüklüklerinin 391 bp ile 3111 bp arasında olduğu görülmüştür. 2 bant monomorfik, 19 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %90,47 olarak hesaplanmıştır.



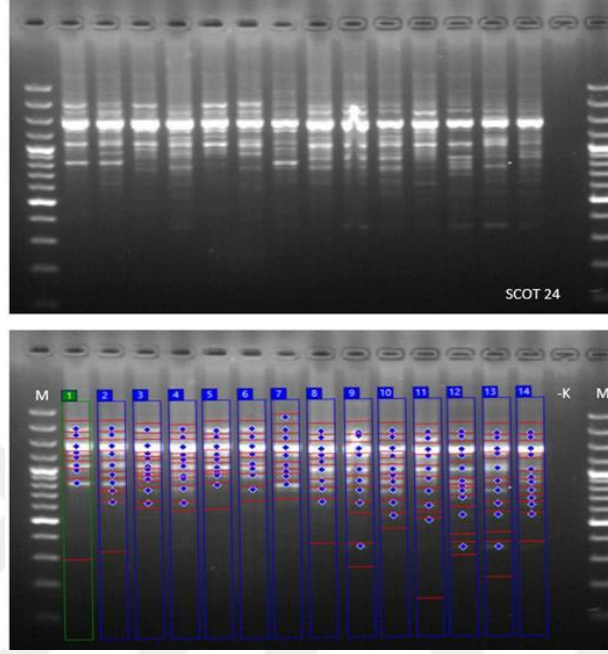
Şekil 3.42. SCoT 21 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 21 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda 6-7 çeşitleri ayrılmamıştır. Bu primer ile erik çeşit ve genotipleri meyve özellikleri ve çiçeklenme zamanlarına göre ayrı gruplanmadığı görülmüştür (Şekil 3.43).



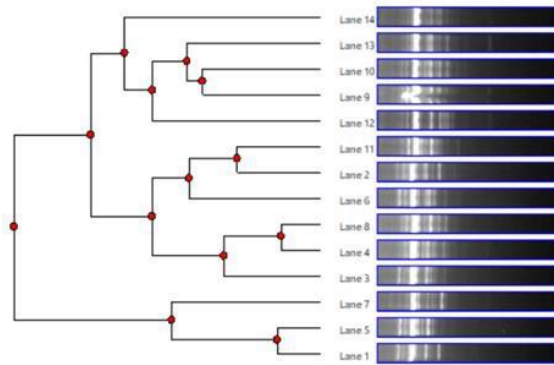
Şekil 3.43. SCoT 21 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

SCoT 24: SCoT 24 primeri toplam 17 bant oluşturmıştır (Şekil 3.44). Bant büyüklüklerinin 772 bp ile 2874 bp arasında olduğu görülmüştür. 3 bant monomorfik, 14 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %82,35 olarak hesaplanmıştır.



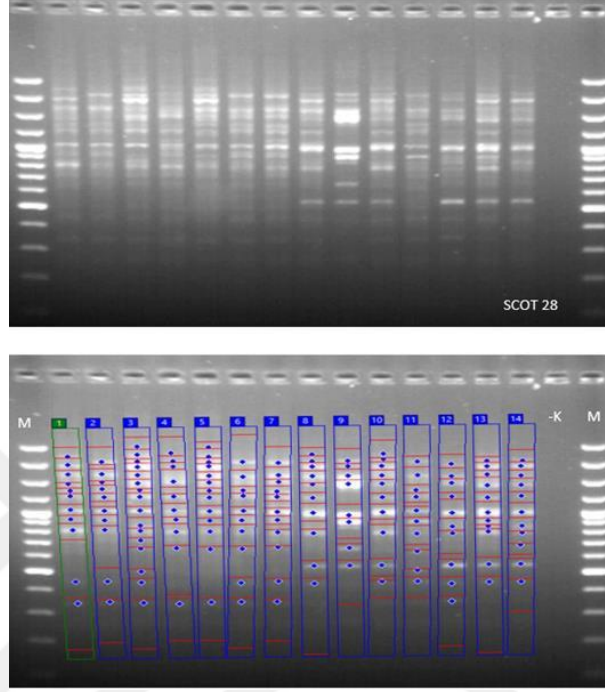
Şekil 3.44. SCoT 24 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 24 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.45).



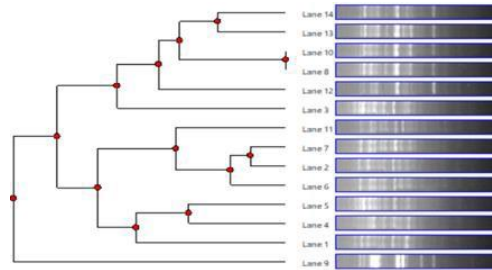
Şekil 3.45. SCoT 24 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

SCoT 28: SCoT 28 primeri ile toplam 17 bant oluşturmıştır (Şekil 3.46). Bant büyüklüklerinin 338 bp ile 3166 bp arasında olduğu görülmüştür. 1 bant monomorfik, 16 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %94,11 olarak hesaplanmıştır.



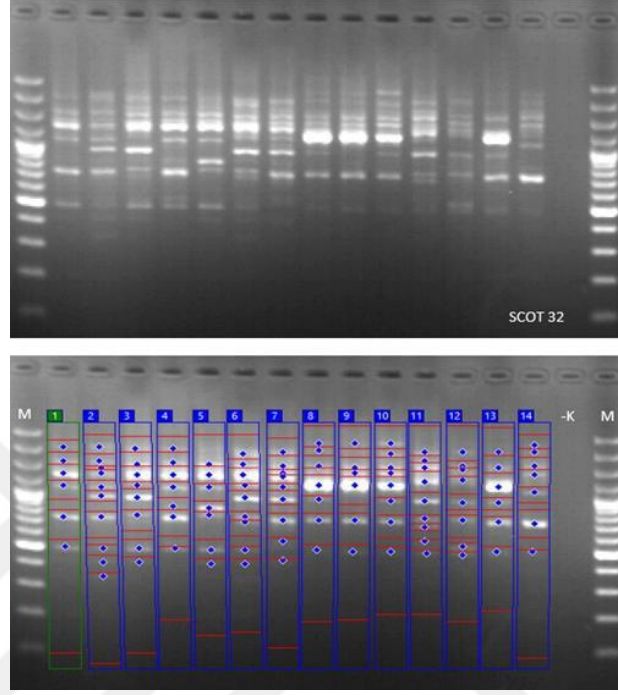
Şekil 3.46. SCoT 28 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 28 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda 8-10 çeşit ve genotipleri birbirinden ayrılmamıştır. Bu primer ile meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanma olmamıştır (Şekil 3.47).



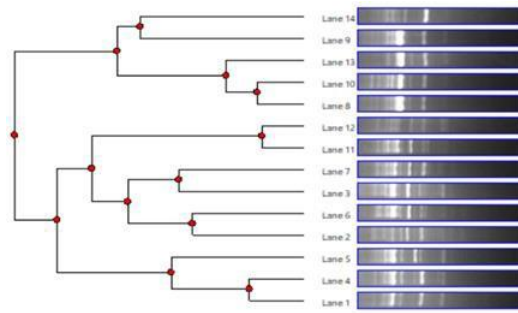
Şekil 3.47. SCoT 28 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

SCoT 32: SCoT 32 primeri toplam 15 bant oluşturmıştır (Şekil 3.48). Bant büyüklüklerinin 334 bp ile 2182 bp arasında olduğu görülmüştür. 1 bant monomorfik, 14 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %93,33 olarak hesaplanmıştır.



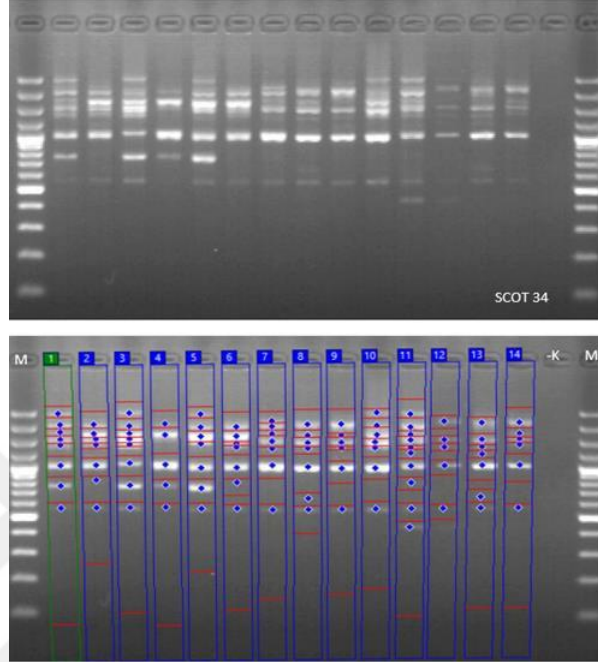
Şekil 3.48. SCoT 32 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 32 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda sarı ve kırmızı kabuklu erik çeşit ve genotipleri ayrı gruplanmamıştır. Çiçeklenme dönemlerine göre geçici gruplar bir arada toplanırken, erkenci ve orta geçici gruplar ayrımlanamamıştır (Şekil 3.49).



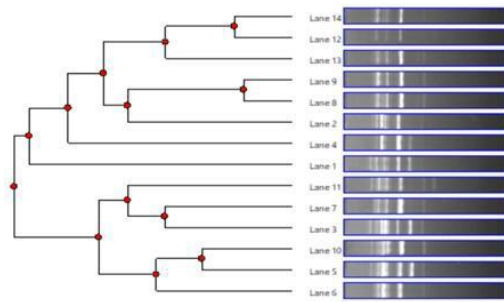
Şekil 3.49. SCoT 32 primeri ile bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

SCoT 34: SCoT 34 primeri toplam 16 bant oluşturmıştır (Şekil 3.50). Bant büyüklüklerinin 335 bp ile 3125 bp arasında olduğu görülmüştür. 2 bant monomorfik, 14 bant ise polimorfiktir. Bu primerin polimorfizm oranı ise %87,5 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.50. SCoT 34 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

SCoT 34 primeri PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda tüm çeşit ve genotipler birbirinden ayrılmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.51).



Şekil 3.51. SCoT 34 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

3.2.4. SCoT analizinin değerlendirilmesi

PCR analizi sonuçları kullandığımız 11 SCoT primerinin tümünün tekrarlanabilir ve kolayca yorumlanabilir bant profili oluşturduğunu göstermiştir. Çalışılan 14 erik çeşit ve genotipinden toplam 205 bant elde edilmiştir ve primer başına ortalama bant sayısı 14,64 olarak hesaplanmıştır. Bantlardan 189'u polimorfiktir (%92,19). Amplifiye edilen bantların büyüklüğü 129 bç (SCoT 17) ile 3273 bç (SCoT 3) arasında değişmektedir. En az bant sayısı SCoT 19 primerinde (14), en fazla bant sayısı ise SCoT 17 primerinde (27) görülmüştür.

Primerlerin polimorfizm bilgi içeriği (PIC), 0,290 (SCoT 21) ile 0,340 (SCoT 18 ve SCoT 19) arasında değişmekte olup ortalama değer 0,316'dır (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. 11 SCoT primerinden elde edilen bantların özellikleri

Primer	TA (C°)	BB (bç)	TB	MB	PIC	PPB (%)
SCoT-3	56	(375-3273)	19	1	0,311	94,73
SCoT -12	56	(323-2629)	23	0	0,321	100
SCoT -15	52	(560-2750)	16	1	0,323	93,75
SCoT -17	52	(129-3091)	27	4	0,298	88,88
SCoT -18	54	(654-3111)	20	1	0,340	95
SCoT -19	52	(355-2875)	14	0	0,340	100
SCoT -21	53	(391-3000)	21	2	0,290	90,47
SCoT -24	50	(772-2874)	17	3	0,320	82,35
SCoT -28	50	(338-3166)	17	1	0,313	94,11
SCoT -32	50	(334-2182)	15	1	0,320	93,33
SCoT-34	50	(535-3125)	16	2	0,300	87,5

TA: Primer bağlanma ısı, BB: Bant büyüklüğü, TB Toplam bant sayısı, MB: Monomorfik bant sayısı, PIC: Polimorfizm Bilgi içeriği, PPB: Polimorfik bantların yüzdesi

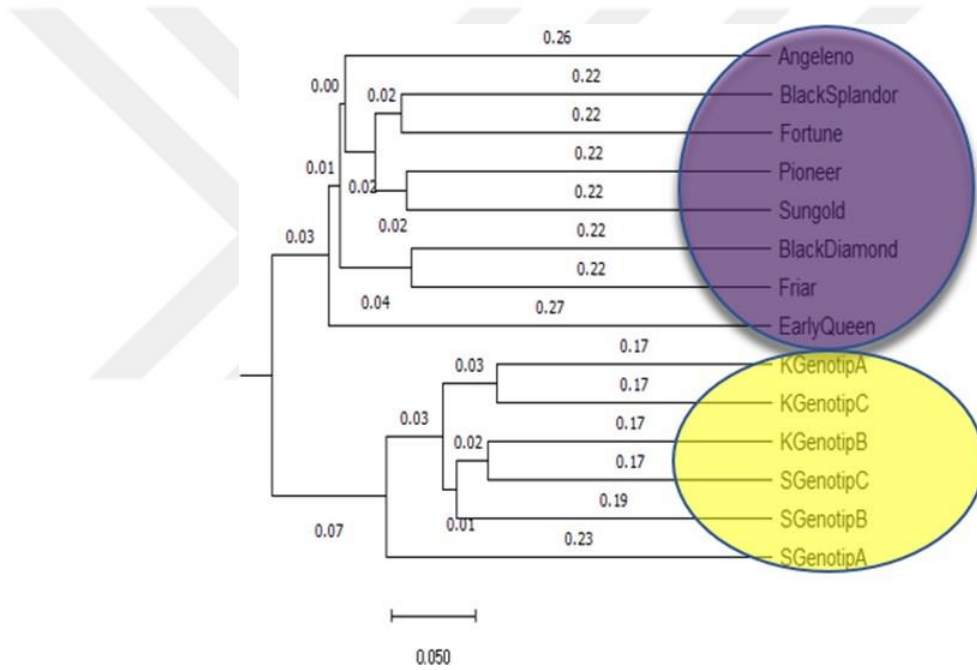
11 SCoT primeri kullanılarak elde edilen bantlar, Phoretix 1D Pro yazılımı kullanılarak mevcut (1) veya yok (0) olarak kaydedilerek ikili matris hazırlanmıştır. Erik çeşitleri arasındaki genetik benzerlik matrisi, Jaccard'ın benzerlik katsayısına göre ISSR verilerinden hesaplanmıştır. Genetik olarak en yakın genotipler Kırmızı Genotip A ve Kırmızı Genotip C olup, genetik benzerlik değeri 0.672 olarak bulunmuştur. Genetik benzerlik oranı en düşük olan çeşitler *Fortune* ve Sarı Genotip B (0.317) olarak bulunmuştur. Melez genotipler göz ardı edilip tescilli çeşitlere bakıldığında genetik olarak en yakın çeşitler *Friar* ve *Black Diamond* (0.628), genetik benzerlik oranı en düşük çeşitler ise *Sungold* ve *Angeleno* (0.416) olarak bulunmuştur.

Tablo 3.5. Jaccard benzerlik katsayısına göre Erik çeşitleri arasındaki genetik benzerlik matrisi

pC	SGenoti	7	0.35	0.	0.	0	0.		0	0.	0.	0.	0.	0.	1
pB	SGenoti	9	0.35	0.	0.	0	0.		0	0.	0.	0	0.	1	
pA	SGenoti	2	0.39	0.	0.	0	0.		0	0.	0.	0	1		
	Sungold	6	0.41	0.	0.	0	0.		0	0.	0.	1			
pC	KGenoti	0	0.40	0.	0.	0	0.		0	0.	1				
pB	KGenoti	7	0.36	0.	0.	0	0.		0	0.	1				
pA	KGenoti	7	0.41	0.	0.	0	0.		0	1					
	Pioneer	3	0.47	0.	0.	0	0.		1						
	Friar	6	0.49	0.	0.	0	0.								
	Fortune	6	0.51	0.	0.	0	1								
een	EarlyQu	7	0.45	0.	0.	1									
landor	BlackSp	8	0.45	0.	1										
amond	BlackDi	9	0.54	1											
o	Angelen		1												
	Angeleno		Ang	Bl	B	E	F		P		K	K	K	S	S
	Blackamond		ack	ack	arly	ortune	riar		ioneer		G	G	G	engold	S
	Blackamond		Di	S	Q						A	B	C		G
	Blackamond														C

1-0 ikili matris, Jaccard katsayısı kullanılarak genetik benzerlik değerlerinin hesaplandığı Dendro: UPGMA programına aktarılmıştır. Daha sonra elde edilen sonuçlar Newick formatında MEGA programına aktararak UPGMA dendrogramı oluşturulmuştur (3.51).

Dendrograma göre 2 ana küme oluşmuştur. Dendrogram tescilli çeşitler ile melez genotipleri birbirinden ayıran 2 ana grup oluşturmuştur. İlk küme *Angeleno*, *Black Diamond*, *Black Splendor*, *Early Queen*, *Fortune*, *Friar*, *Pioneer*, *Sungold* çeşitlerini içerirken ikinci küme ise Kırmızı Erik Genotip A, Kırmızı Erik Genotip B, Kırmızı Erik Genotip C ile Sarı Erik A-B-C genotiplerini içermektedir.

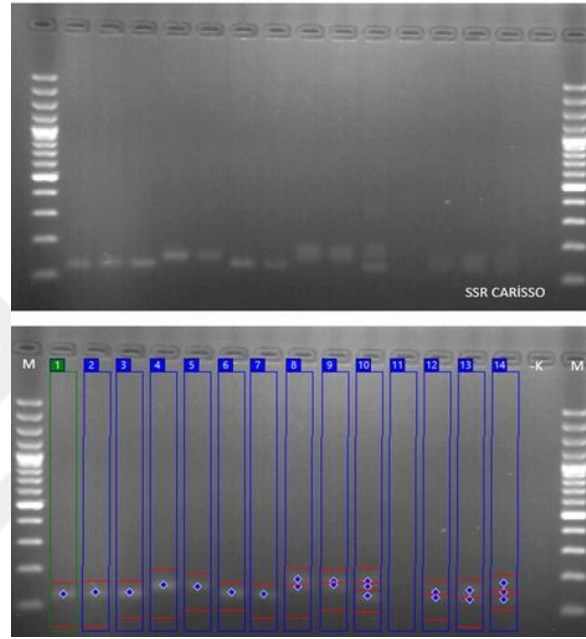


Şekil 3.52. SCoT primerleri kullanılarak oluşan 14 erik çeşidinin genetik benzerlik dendrogramı

3.2.5. SSR PCR analizi

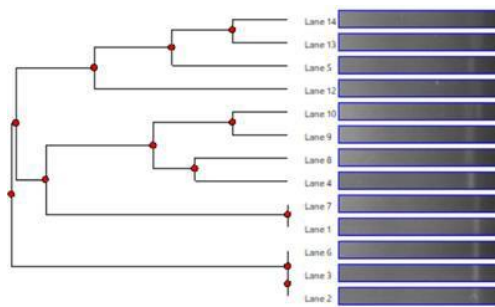
Erikte meyve kabuğu ve et rengi ile ilişkilendirilmiş 5 farklı SSR primerinden elde edilen PCR sonuçları şekil 3.32-3.60'da verilmiştir. PCR reaksiyonlarının jel görüntüleri, 14 erik çeşidinin bant profillerini temsil etmektedir. Tüm jel fotoğraflarında M; 100bp DNA ladder plus, -K; negatif kontrolü temsil etmektedir.

CA-RISO: CA-RISO primeri 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7. erik çeşit ve genotiplerinde büyüklükleri 123 bp ile 149 bp arasında değişen tek bant oluşturmuştur. Çeşit ve genotipler bu primer bölgesi için homozigottur. 8, 9, 10, 12, 14. çeşitlerde ise büyüklükleri 124 bp ile 176 bp arasında değişen birden fazla bant oluşmuştur. Bu çeşit ve genotiplerin CA-RISO primer bölgesi için heterozigot olduğu görülmüştür. 11. çeşit olan Sungold'da ise bant görülmemiştir (Şekil 3.53). Bu primerle oluşan farklı allel sayısı 10'dur.



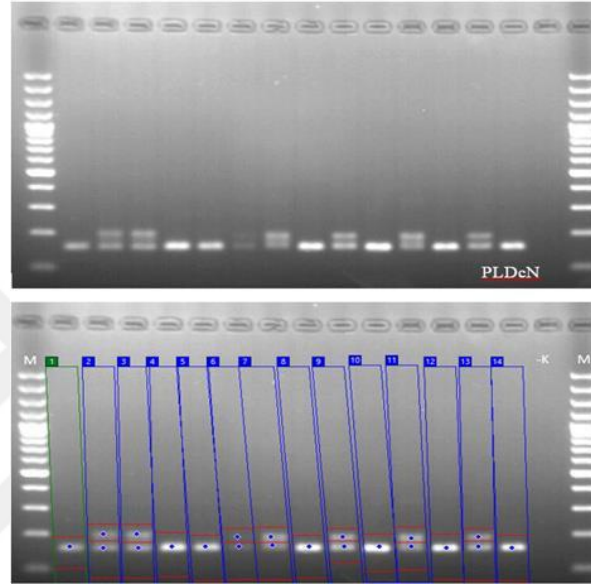
Şekil 3.53. CA-RISO primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda CA-RISO primerinin 1-7, 2-3-6 çeşit ve genotiplerini ayırmadığı görülmüştür. Bu primer ile meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanma olmamıştır (Şekil 3.54).



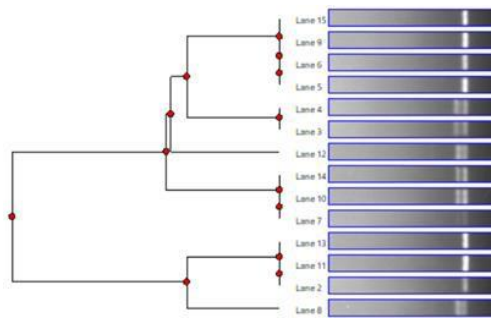
Şekil 3.54. CA-RISO primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

PLDcN: PLDcN primeri 1, 4, 5, 8, 10, 12, 14. bireylerde büyüklükleri 152 bp ile 161 bp arasında değişen tek bant oluşturmuştur. Çeşit ve genotipler bu primer bölgesi için homozigottur. 2, 3, 6, 7, 9, 11, 13. çeşit ve genotiplerde ise çift bant oluşmuştur. Bant büyüklükleri 152 bp ile 195 bp arasında değişmektedir. Bu çeşit ve genotiplerin PLDcN bölgesi için heterozigot olduğu görülmüştür (Şekil 3.55). Bu primerle oluşan farklı allel sayısı 7'dir.



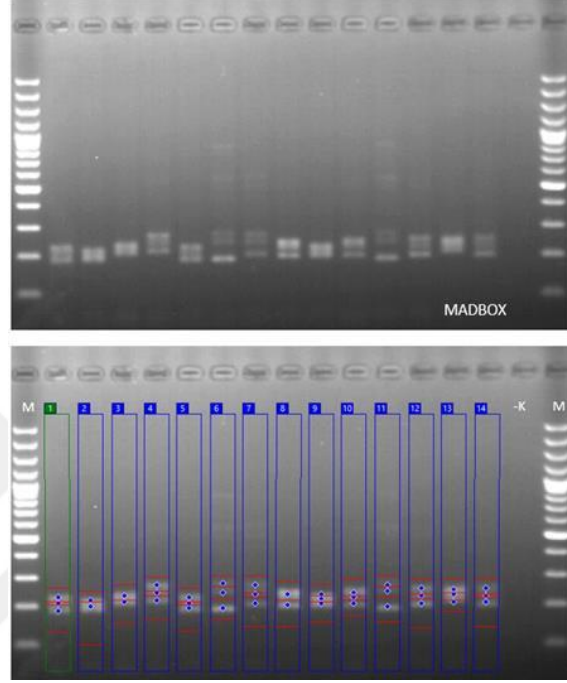
Şekil 3.55. PLDcN primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda PLDcN primeri ile 3-4, 5-6-9-15, 7-10-14 ile 2-11-13. çeşit ve genotiplerinin ayrılmadığı görülmüştür. Bu primer ile meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanma olmamıştır (Şekil 3.56).



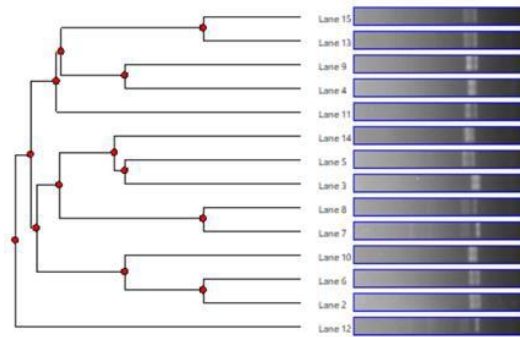
Şekil 3.56. PLDcN primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

MADS BOX: MADS BOX primeri ile tüm bireylerde iki ve daha fazla bant oluşturmuştur. Allel büyüklükleri 187 bp ile 276 bp arasında değişen 19 farklı allel oluşmuştur. Bu çeşit ve genotiplerin MADS BOX bölgesi için heterozigot olduğu ayrıca çeşit ve genotiplerin çoğunun poliploid olduğu görülmüştür (Şekil 3.57).



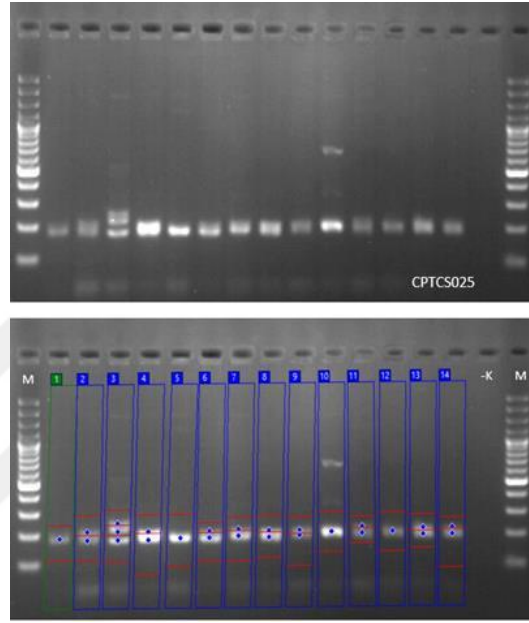
Şekil 3.57. MADS BOX primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

MADS BOX primeri tüm erik çeşit ve genotiplerini birbirinden ayırmıştır fakat meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır (Şekil 3.58).



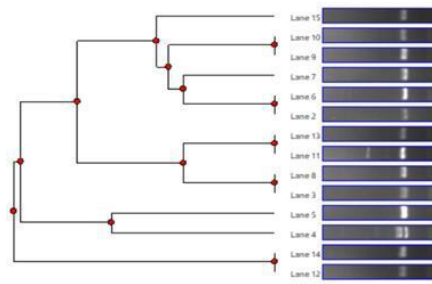
Şekil 3.58. MADS BOX primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

CPTCS025: CPTCS025 primeri ile 1, 5, 10, 12. bireylerde büyüklükleri 188 bç ile 213 bç arasında değişen tek bant oluşmuştur. Çeşitler ve genotipler bu primer bölgesi için homozigottur. 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 14. çeşit ve genotiplerde ise büyüklükleri yaklaşık 190 bç ile 240 bç arasında değişen çift bant oluşmuştur. Bu çeşit ve genotiplerin CPTCS025 bölgesi için heterozigot olduğu görülmüştür (Şekil 3.59). Bu primerle oluşan farklı allel sayısı 9'dur.



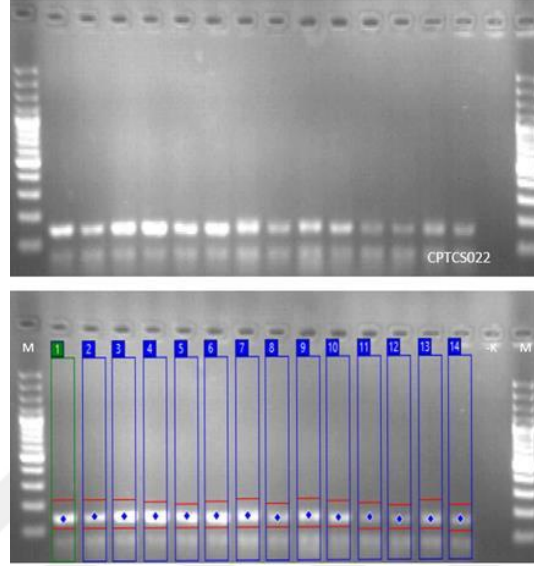
Şekil 3.59. CPTCS025 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda PLDCN primeri ile 2-6, 3-8, 9-10, 11-13 ile 12-14. çeşit ve genotiplerinin ayrıldığı görülmüştür. Ayrıca bu primer sarı ve kırmızı erik çeşit ve genotipleri de birbirinden ayırmamıştır (Şekil 3.60).



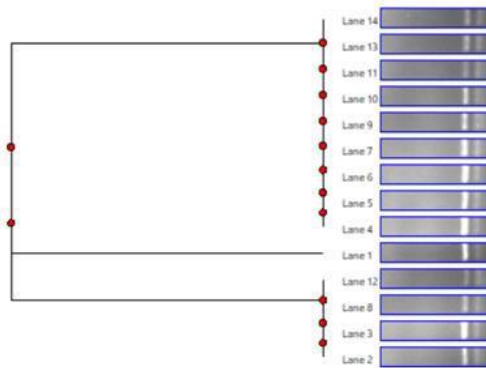
Şekil 3.60. CPTCS025 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

CPTCS022: CPTCS022 primeri ile tüm bireylerde tek bant oluşturmıştır. Çeşit ve genotipler CPTCS022 primeri için homozigottur (Şekil 3.61). Büyüklükleri 142 bp ile 178 bp arasında değişen 5 farklı allel tespit edilmiştir.



Şekil 3.61. CPTCS022 primeri ile erik genotiplerinin PCR jel görüntüsü ve oluşan bant profilleri

PCR sonuçlarına göre elde edilen dendrogramda CPTCS022 primeri ile 4-5-6-7-9-10-11-13-14 çeşit ve genotipleri ile 2-3-8-12. çeşit ve genotiplerinin ayrıldığı görülmüştür. Ayrıca çeşit ve genotipler bu primer ile meyve özelliklerine ve çiçeklenme zamanlarına göre gruplanmamıştır. Çiçeklenme dönemlerine göre geçici gruplar bir arada toplanırken, erkenci ve orta geçici gruplar ayrılanamamıştır (Şekil 3.62).



Şekil 3.62. CPTCS022 primeri ile oluşan bant profillerinin UPGMA dendrogram görüntüsü

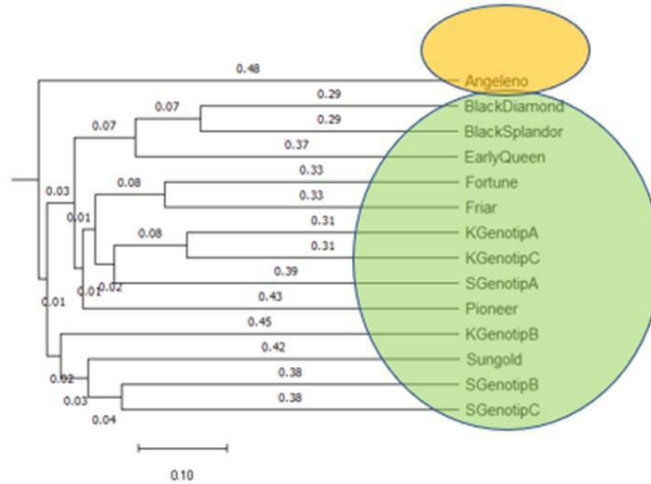
3.2.6. SSR analizinin değerlendirilmesi

PCR analizi sonuçları kullandığımız 5 SSR primerinin tümünün tekrarlanabilir ve kolayca yorumlanabilir bant profili oluşturduğunu göstermiştir. Çalışılan 14 erik çeşit ve genotipinden toplam 50 allel elde edilmiştir. 30 allel homozigot, 20'si ise heterozigottur. Amplifiye edilen allellerin büyüklüğü 123 bp (CA-RISO) ile 276 bp (MADS BOX) arasında değişmektedir. En az allel sayısı CPTCS022 primerinde (5), en fazla allel sayısı ise MADS BOX primerinde (19) görülmüştür. Primerlerin polimorfizm bilgi içeriği (PIC), CA-RISO (0.53), PLDcN (0.50), MADS BOX (0.48), CPTCS025 (0.53) ve CPTCS022 (0.67) olarak hesaplanmıştır. Ortalama PIC değeri 0.57'dir (Tablo 3.6)

SSR primeri ile çeşit ve genotipler ayrı gruplanmıştır. Bu grupta kırmızı ve sarı çeşit ve genotipler tam ayrılanamamıştır.

Tablo 3.6. 5 SSR primerinden elde edilen bantların özellikleri

Primer	TA (C°)	BB (bp)	Allel Sayısı	Homozigot Allel Sayısı	PIC
CA-RISO	62	(123-176)	10	5	0.53
PLDcN	58	(152-195)	7	7	0.50
MADS BOX	60	(187-276)	19	0	0.48
CPTCS022	60	(142-178)	9	14	0.57
CPTCS025	48	(182-240)	5	4	0.53



Şekil 3.63. SSR primerleri kullanılarak oluşan 14 erik çeşidinin genetik benzerlik dendrogramı

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

4.1. ISSR, SCOT ve SSR Amplifikasyonu

Bu çalışmada, 14 erik çeşit ve genotipi arasındaki genetik varyasyonu belirlemek ayrıca meyve özellikleri ve çiçeklenme zamanına göre çeşitleri ayırabilecek potansiyel markırları tespit edebilmek için ISSR, SCOT ve SSR moleküler markırları kullanılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan 14 ISSR primeri toplam 204 bant vermiştir. En az bant (9) ISSR 3 primerinden elde edilmiştir, en çok bant (23) ISSR 834 primerinden elde edilmiştir, primer başına bant ortalaması 14,57 olarak hesaplanmıştır. Oluşan 204 bandın 186'sı polimorfiktir, dolayısıyla gözlenen polimorfizm oranı %91,17'dir. Primer polimorfizm oranları %70 ile %100 arasında değişmektedir. En düşük polimorfizm oranına sahip primer ISSR 4 olup, 3'ü monomorfik olan 10 bant oluşturmuş ve %70 polimorfizm oranı vermiştir. %100 polimorfizm oranına sahip primerler, ISSR 3, ISSR 6, ISSR 819, ISSR 847, ISSR 859 olmuştur. ISSR markırları yüksek düzeyde değişkenlik sergilemiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Goulao vd., (2001) 28 erik çeşidini ISSR ve AFLP kullanarak analiz etmiş ve yine yüksek genetik değişkenlik (polimorfik ISSR =%87,4 ve polimorfik AFLP= %62,8) tespit etmiştir. Yine, Carrasco vd., (2012) 11 ISSR primeri, 29 Japon eriği için 232 bant elde etmiştir. Bu bantların polimorfizm oranı %88,4 olarak bulunmuştur. Diğer taraftan Sevindik vd., (2020) ise *P. armeniaca* L. ISSR analizinde toplam 95 bant elde etmiştir. 41 bandın polimorfik olduğu ve polimorfizm oranının %43.15 civarında olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada tespit edilen polimorfizm oranları bizim çalışma sonuçlarımızdan daha az bulunmuştur. Bu durum farklı çeşitler, farklı primer dizileri veya sayılarından kaynaklı olabilir.

Tez çalışmamızda kullanılan 11 SCOT primeri ile erik çeşit ve genotiplerinden elde edilen bant sayısı 205 olup SCOT 19 primerinde (14), en fazla bant sayısı ise SCOT 17 primerinde (27) görülmüştür. Primer başına ortalama bant sayısı 14,64 olarak hesaplanmıştır. Oluşan 205 bandın 189'u polimorfiktir (%92,19). Primer polimorfizm oranları %82,35 ile %100 arasında değişmektedir. En düşük polimorfizm oranına sahip primer ISSR 24 olup, 3'ü monomorfik olan 10 bant oluşturmuş ve %82,35 polimorfizm oranı vermiştir. %100 polimorfizm oranına sahip primerler, SCOT 12, SCOT 19 olmuştur. Bugüne kadar SCoT markırlarıyla erik çeşitleri üzerinde yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Kendi çalışmamız içinde bu markırları yine dominant markır olan ISSR ile kıyasladığımızda SCoT primerlerinin daha fazla bant sayısı oluşturduğu

görülmektedir. Primer başına bant sayısı ortalamasının ISSR primerine benzer olduğu görülmüştür. Polimorfizm oranı da ISSR primerlerinininkiyle benzerdir.

5 SSR primeri (CA-RISO, PLDCN, MAD BOX, CPTCS025, CPTCS022) kullanılarak yapılan PCR analizleri tekrarlanabilir ve kolayca yorumlanabilir bant profili oluşturmuştur. Çalışılan 14 erik çeşit ve genotipinden toplam 50 allel elde edilmiştir ve primer başına ortalama bant sayısı 3,5 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bantların büyüklükleri ve primer PIC değerleri daha önceden yapılan çalışmalarla benzerlik göstermiş olsa da (Acuna vd., 2019; Garcia-Gomez vd., 2018) sonuçlarımızı normal agaroz jelde yürütüp bant büyüklüklerini belirlediğimizden kapiller elektroforezde yapılan çalışma sonuçlarıyla doğrudan karşılaştırılamamıştır. SSR primerleri ile çalışmamızdan elde ettiğimiz allellerin 20'si heterozigottur. 14 erik çeşit ve genotipinde SSR markırları tarafından ortalama olarak gösterilen heterozigotluk, diğer çalışmalardaki heterozigotluk oranına göre düşük kalmıştır (Eguiarte vd., 1992; Jelinski ve Cheliak, 1992; Imbert ve Lefèvre, 2003). Heterozigotluğun düşüklüğü aynı aleller taşıyan çeşitlerin çalışmamızda kullanılmasıyla açıklanabilir. Carrasco vd., (2012) 29 Japon erik çeşidi için 8 SSR lokusunun analizi ile toplam 97 allel tespit etmiştir. Polimorfik SSR lokuslarının yüzdesi %100 idi. 29 Japon erik çeşidi için SSR değişkenlik düzeyi yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda polimorfizm oranı ve allel sayısının daha düşük olduğu görülmüştür. Suprun vd., (2018) ise 8 SSR lokusuyla 60 *P. domestica* çeşidinin analiz sonuçlarında lokus başına allel sayısı 6 ile 39 olan toplamda 153 allel tanımlamıştır. Bu çalışmalarda kullanılan erik çeşitleri ile SSR primeri sayısı ve tipinin bizim kullandıklarımızdan farklı olması çalışma sonuçlarımızın neden farklı olduğunu açıklayabilir.

4.2. Polimorfizm Bilgi İçeriği (PIC)

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri, genetikte yaygın olarak kullanılan bir markır lokusunda polimorfizmi değerlendirmek için kullanılır. Bu sayı, ebeveynlerin sahip olduğu markır allellerinden hangilerinin bir sonraki nesle aktarıldığını gösterir (Ulukan, 2007). Çalıştığımız erik çeşitlerinden 3 farklı moleküler markır ile yapılan PCR analizleri sonucunda ISSR primerlerinin polimorfizm bilgi içeriği (PIC) ortalama değeri 0,293, SCoT primerlerinin (PIC) ortalama değeri 0,316 ve SSR primerlerinin (PIC) ortalama değeri 0,57 olarak bulunmuştur. Dominant markırlar için en yüksek PIC değeri 0.5, kodominant markırlar için en yüksek PIC değeri 1 olarak tanımlanmıştır. Buna göre

çalıştığımız markırlar içerisinde bilgi içeriği en yüksek olanın SCoT markırları olduğu görülmüştür.

4.3. Erik Çeşitlerinin Genetik Benzerliği

Erik çeşit ve genotipleri arasındaki genetik benzerlik matrisi, Jaccard'ın benzerlik katsayısına göre ISSR verilerinden hesaplanmıştır. Genetik olarak en yakın genotipler Sarı Genotip C ve Kırmızı Genotip A arasında olup, genetik benzerlik değeri 0.660 olarak bulunmuştur. Genetik benzerlik oranı en düşük olan genotipler Sarı Genotip C ve Angeleno arasında 0.341 olarak bulunmuştur. Melez genotipler göz ardı edilip tescilli çeşitlere bakıldığında genetik olarak en yakın çeşitler *Friar* ve *Black Diamond* arasında olup, genetik benzerlik değeri 0.570 olarak bulunmuştur. Genetik benzerlik oranı en düşük olan çeşitler *Friar* ve *Angeleno* arasında 0.439 olarak bulunmuştur.

ISSR verilerinden elde edilen dendrograma göre 2 ana küme oluşmuştur. Dendrogram tescilli olan çeşitler ile melez genotipleri birbirinden ayıran 2 ana grup oluşturmuştur. İlk küme *Angeleno*, *Black Diamond*, *Black Splendor*, *Early Queen*, *Fortune*, *Friar*, *Pioneer*, *Sungold* çeşitlerini içermiştir. İkinci kümeyi ise Kırmızı Genotip Erik, Kırmızı Genotip Erik, Kırmızı Genotip Erik, Sarı Genotip Erik, Sarı Genotip Erik, Sarı Genotip Erik genotipleri oluşmuştur.

Erik çeşit ve genotipleri arasındaki genetik benzerlik matrisi, Jaccard'ın benzerlik katsayısına göre SCoT verilerinden hesaplanmıştır. Genetik olarak en yakın genotipler Kırmızı Genotip A ve Kırmızı Genotip C arasında olup, genetik benzerlik değeri 0.672 olarak bulunmuştur. Genetik benzerlik oranı en düşük olan çeşitler *Fortune* ve Sarı Genotip B arasında 0.317 olarak bulunmuştur. Melez genotipler göz ardı edilip tescilli çeşitlere bakıldığında genetik olarak en yakın çeşitler *Friar* ve *Black Diamond* arasında olup, genetik benzerlik değeri 0.628 olarak bulunmuştur. Genetik benzerlik oranı en düşük olan çeşitler *Sungold* ve *Angeleno* arasında 0.416 olarak bulunmuştur.

UPGMA dendrogramına göre 2 ana küme oluşmuştur. Dendrogram tescilli çeşitler ile melez genotipleri birbirinden ayıran 2 ana grup oluşturmuştur. İlk küme *Angeleno*, *Black Diamond*, *Black Splendor*, *Early Queen*, *Fortune*, *Friar*, *Pioneer*, *Sungold* çeşitlerini içermektedir. İkinci kümeyi ise Kırmızı Genotip Erik, Kırmızı Genotip Erik, Kırmızı Genotip Erik, Sarı Genotip Erik, Sarı Genotip Erik, Sarı Genotip Erik genotipleri oluşturmuştur.

4.4. Erik Çeşitlerini Meyve Özellikleri ve Çiçeklenme zamanına Göre Ayırabilecek Potansiyel Markırların Tespiti

Çalışmamızda kullandığımız ISSR ve SCoT primerlerinden 14 erik çeşit ve genotipinin meyve özellikleri ve çiçeklenme zamanına göre gruplayan ya da ayıran spesifik markır bantların tespiti mümkün olmamıştır. Daha fazla sayıda farklı ISSR ve SCoT primerleriyle denemelere devam edilebilir.

Çalışmamızda ISSR 834, SCoT 32, CPTCS022 primerleri çiçeklenme dönemlerine göre geçici grupları bir arada toplarken, erkenci ve orta geçici gruplar ayrılanamamıştır.

Bunun yanında *P. salicina*'da geliştirilen bazı SSR primerlerinin erik çeşitlerini meyve et ve kabuk rengi ya da çiçeklenme zamanıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Acuña vd., 2019). Örneğin, 159–179 bç arasında değişen bantlar veren CPTCS022 markırı meyve olgunlaşması ve kalitesi ile ilişkilendirilmiştir (Acuña vd., 2019). Bizim çalışmamızda ise bu çalışmaya yakın bantlar oluşmuştur (142–178 bç). Fakat antosiyanin sentezi metabolik yolunda bulunan genlere yakın olan bu markırla erik çeşitleri meyve özelliklerine göre gruplanmamıştır. Yine *P. salicina*'ya ait çeşitlerin genotipik ve fenotipik verilerin karşılaştırılması sonucu CPST25 markırının et rengi fenotipi ile ilgili olduğu ve kırmızı etli eriklerde 193 bç allelini oluşturduğu gösterilmiştir. Bizim ise çalışmamızda kullandığımız erik çeşitlerinden sadece *Angeleno*, *Black Diamond*, *Black Splendor* çeşitleri kırmızı et rengine sahiptir ve yaklaşık 190 bç büyüklüğündeki bant sarı ve kırmızı etli tüm genotiplerde görülmüştür.

CA-RISO primeri kırmızı kabuklu erik çeşitlerinde bant oluştururken sarı kabuklu erik çeşitlerinde bant oluşturmadığı bildirilmektedir (Garcia-Gomez vd., 2018). Bizim çalışmamızda da bu primer tescilli sarı kabuklu çeşit Sungold'da bant oluşturmamıştır, fakat *P. cerasifera* sarı erik genotiplerinde bant vermiştir. Bu durum muhtemelen bu genotiplerin melez olmasından ve atalarında bu primer bölgesinin taşınmasından kaynaklanabilir. Bu SSR primeri *P. salicina*'da geliştirilen bir primer olduğundan sadece bu tür içinde gerçekleşen küçük bir mutasyondan dolayı *P. salicina* sarı erik genotiplerinde bant oluşturmuyor olabilir.

MADSBX markırı geç çiçeklenme ile ilişkilendirilmiştir. Bu özellik 207 bç büyüklüğündeki bant ile ayırılmıştır (Garcia-Gomez vd., 2018). Çalışmamızda bu değere yakın 205 ve 209 bç büyüklüğünde bantlar oluştuğunu gözlemlese de bu markır çalıştığımız erik çeşitleri ve genotipleri çiçeklenme zamanına göre gruplandırmamıştır.

PLDcN ve CARI-SO markırları meyve kabuk rengi ile ilişkilendirilmiştir. 135 bç (CA-RISO) ve 174 bç (PLDcN) allelleri, siyah kabuklu meyvelere sahip tüm genotiplerde mevcut olduğu görülmüştür (Garcia-Gomez vd., 2018). Bizim çalışmamızda PLDcN markırı ile bu değere en yakın 186 bç büyüklüğündeki bantlar tespit edilmiştir. *Friar* ve *Pioneer* çeşitlerinin olduğu görülmüştür. Bu çeşitler kırmızı kabuk rengine sahiptir.

CARI-SO markırı ile de bu çalışmaya yakın olarak 133 bç büyüklüğünde bantlar elde edilmiştir. Bu primerle büyüklükleri 133 bç olarak elde edilen allellerin koyu kabuk rengine sahip *Black diamond*, *Black splendor* ve *Pioneer* çeşitlerinde olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan farklı tipte primerler *P. salicina* ve *P. cerasifera*'ya ait erik çeşit ve genotiplerinin genetik çeşitlilik seviyelerini başarılı bir şekilde belirlemiştir. ISSR ve SCoT analizinden elde edilen UPGMA dendrogramları *P.*

salicina'dan geliştirilen çeşitleri bir arada toplamıştır (Şekil 3.29, 3.52). Çalışmamızda kullanılan *P. cerasifera*'ya ait sarı ve kırmızı erik genotiplerinin bu çeşitlerden belirgin bir şekilde ayrıldığı görülmüştür. Bununla birlikte çalışılan ISSR ve SCoT primerlerinde erik genotiplerini meyve özellikleri ve çiçeklenme zamanına göre ayırdedebilecek markır bant oluşumu tespit edilmemiştir. Çalışılan SSR primerlerinden CA-RISO sadece *P. salicina* çeşitlerinde meyve kabuğu rengini ayırt etmiştir. SSR primerlerinin tamamından

elde edilen dendogramda her ne kadar sarı ve kırmızı kabuklu erik çeşit ve genotipleri tam olarak ayrılmasa da ISSR ve SCoT primerleri ile elde edilen dendogramlarla kıyaslandığında SSR primerlerinin çalıştığımız erik çeşit ve genotiplerini kabuk rengine göre daha iyi ayırdığını göstermiştir. Bu primerleri floresan işaretli şekilde kullanıp allel büyüklüklerini kapiller elektroforezde daha net bir şekilde belirlediğimizde bu ayrımın daha kesin bir şekilde yapılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Acuña, C.V., Rivas, J.G., Brambilla, S.M.; Cerrillo, T., Frusso, E.A., García, M.N., Villalba, P.V., Aguirre, N.C., Sabio y García, J.V., Martínez, M.C., Hopp, E.H., Marcucci Poltri, S.N. (2019). Characterization of genetic diversity in accessions of *Prunus salicina* lindl: keeping fruit flesh color ideotype while adapting to water stressed environments. *Agronomy*. 9(9), 487.
- Agarwal, M., Shrivastava, N. and Padh, H. (2008). Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant cell reports*, 27(4), 617-631.
- Ağaoğlu, S., Çelik, H., Çelik, M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay, A., Halloran, N., Köksal, A.İ., Yanmaz, R. (1997). Genel Bahçe Bitkileri, AÜ Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No: 4.
- Ait Bella, Y., Bouda, S., Khachtib, Y., Haddioui, A. (2021). Genetic variability of cultivated plum ('*Prunus domestica* L. and *Prunus salicina*'Lindl.) in Morocco assessed by ISSR markers. *Australian Journal of Crop Science*, 15(6), 948-954.
- Arumuganathan, K. and Earle, E. D. (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant molecular biology reporter*, 9(3), 208-218.
- Asma, B. M. (2000). Kayısı yetiştiriciliği. (Bilim Editörü: Prof. Dr. Elşad Hüseyin) İnönü Üniversitesi, Malatya, 243s.
- Athanasiadis, I., Nikoloudakis, N. and Hagidimitriou, M. (2013). Genetic relatedness among cultivars of the Greek plum germplasm. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(2), 491-498.
- Atsan, T. ve Kaya, T. E. (2008). Genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO) tarım ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2), 1-6.
- Ayanoğlu, H. ve Yılmaz, M. (1995). Doğu Akdeniz Bölgesinde sofralık erik seleksiyonu. *Türkiye Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, 1, 189-194.
- Ayanoğlu, H., Bayazit, S., Inan, G., Bakır, M., Akpınar, A. E., Kazan, K., Ergül, A. (2007). AFLP analysis of genetic diversity in Turkish green plum accessions (*Prunus cerasifera* L.) adapted to the Mediterranean region. *Scientia horticulturae*, 114(4), 263-267.

- Bilgin, O. ve Korkut, K. Z. (2005). Bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşit ve hatlarının tane verimi ve bazı fenolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1), 58-65.
- Bornet, B. and Branchard, M. (2001). Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant molecular biology reporter*, 19(3), 209-215.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32(3), 314.
- Carrasco, B., Díaz, C., Moya, M., Gebauer, M., Gonzáles, R. G. (2012). Genetic characterization of Japanese plum cultivars (*Prunus salicina*) using SSR and ISSR molecular markers. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 39(3), 533-543.
- Cheng, Z. and Huang, H. (2009). SSR fingerprinting Chinese peach cultivars and landraces (*Prunus persica*) and analysis of their genetic relationships. *Scientia Horticulturae*, 120(2), 188-193.
- Cobianchi, D. and Watkins, R. (1984). Descriptor list for plum and allied species.
- Çakır, G., Taşcıoğlu, T., Çavdar, A., Doğanlar, S., Frary, A., Frary, A. (2021). Molecular genetic characterization of the Turkish national green plum (*Prunus cerasifera* Ehrh.) Collection. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 31(1), 61-73.
- Çelikkol, B. P. (2011). Önemli erik (*Prunus* sp.) gen kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a dayalı genetik karakterizasyonu (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara).
- Davis, PH. (1972). Flora of Turkey and the east aegean islands. Edinburg University Press., 4: 429- 430.
- De Riek, J., Calsyn, E., Everaert, I., Van Bockstaele, E., De Loose, M. (2001). AFLP based alternatives for the assessment of distinctness, uniformity and stability of sugar beet varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103(8), 1254-1265.
- Devos, K. M. and Gale, M. (1992). The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 84(5), 567-572.

- Eguiarte, L. E., Perez-Nasser, N., and Piñero, D. (1992). Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity*, 69(3), 217-228.
- Eremin, V. G. (1978). Genetic potential of species *Prunus cerasifera* ehrh and its use in breeding. *Acta Horticulturae*, (74), 61–66.
- Fiol, A., García-Gómez, B. E., Jurado-Ruiz, F., Alexiou, K., Howad, W., Aranzana, M. J. (2021). Characterization of Japanese Plum (*Prunus salicina*) PsMYB10 alleles reveals structural variation and polymorphisms correlating with fruit skin color. *Frontiers in plant science*, 12, 655267.
- Freudenreich, C. H., Stavenhagen, J. B. and Zakian, V. A. (1997). Stability of a CTG/CAG trinucleotide repeat in yeast is dependent on its orientation in the genome. *Molecular and cellular biology*, 17(4), 2090-2098.
- García-Gómez, B., Razi, M., Salazar, J. A., Prudencio, A. S., Ruiz, D., Dondini, L., Martínez-Gómez, P. (2018). Comparative analysis of SSR markers developed in exon, intron, and intergenic regions and distributed in regions controlling fruit quality traits in *Prunus* species: genetic diversity and association studies. *Plant molecular biology reporter*, 36(1), 23-35.
- Goulão, L. and Oliveira, C. M. (2001). Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus× domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica*, 122(1), 81-89.
- Govindaraj, M., Vetriventhan, M. and Srinivasan, M. (2015). Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetics research international*, 2015, 1-14.
- Guerrero, B. I., Guerra, M. E. and Rodrigo, J. (2022). Simple sequence repeat (SSR)-based genetic diversity in interspecific plumcot-type (*Prunus salicina*× *Prunus armeniaca*) hybrids. *Plants*, 11(9), 1241.
- Guerrero, B. I., Guerra, M. E., Herrera, S., Irisarri, P., Pina, A., Rodrigo, J. (2021). Genetic diversity and population structure of Japanese plum-type (Hybrids of *P. salicina*) accessions assessed by SSR markers. *Agronomy*, 11(9), 1748.
- Gupta, M., Chyi, Y. S., Romero-Severson, J., Owen, J. L. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical and applied genetics*, 89(7), 998-1006.

- Güleriş, M. (1977). Erzincan'da yetiştirilen bazı önemli elma ve armut çeşitlerinin pomolojileri ve dölleme biyolojileri üzerine bir araştırma. Atatürk Üniversitesi Yayınları, No:229, Erzurum 181s.
- Halász, J., Makovics-Zsolt, N., Szöke, F., Ercisli, S., Hegedűs, A. (2021). Simple sequence repeat and S-Locus genotyping to assist the genetic characterization and Breeding of Polyploid *Prunus* Species, *P. spinosa* and *P. domestica* subsp. insititia. *Biochemical genetics*, 59(4), 1065-1087.
- Heikrujam, M., Kumar, J. and Agrawal, V. (2015). Genetic diversity analysis among male and female Jojoba genotypes employing gene targeted molecular markers, start codon targeted (SCoT) polymorphism and CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers. *Meta gene*, 5, 90-97.
- İlgin, M., Kafkas, S. ve Ercisli, S. (2009). Molecular characterization of plum cultivars by AFLP markers. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(2), 1189-1193.
- Imbert, E. and Lefèvre, F. (2003). Dispersal and gene flow of *Populus nigra* (Salicaceae) along a dynamic river system. *Journal of Ecology*, 91(3), 447-456.
- Jaganathan, D., Ramasamy, K., Sellamuthu, G., Jayabalan, S., Venkataraman, G. (2018). CRISPR for crop improvement: an update review. *Frontiers in plant science*, 9, 985.
- Jelinski, D. E. and Cheliak, W. M. (1992). Genetic diversity and spatial subdivision of *Populus tremuloides* (Salicaceae) in a heterogeneous landscape. *American Journal of Botany*, 79(7), 728-736.
- Joshi, M. and Deshpande, J. D. (2010). Polymerase chain reaction: methods, principles and application. *International Journal of Biomedical Research*, 2(1), 81-97.
- Joshi, S. P., Gupta, V. S., Aggarwal, R. K., Ranjekar, P. K., Brar, D. S. (2000). Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics*, 100(8), 1311-1320.
- Kesawat, M.S. and Daskumar, B. (2009) Molecular markers: It's application in crop improvement. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 12(4), 169-181.
- Klabunde, G. H. F., Dalbó, M. A. and Nodari, R. O. (2014). DNA fingerprinting of Japanese plum (*Prunus salicina*) cultivars based on microsatellite markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 14, 139-145.

- Li, J., Gao, G., Li, B., Li, B., Lu, Q. (2022). Genetic Analysis of *Prunus salicina* L. by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Intersimple Sequence Repeat (ISSR). *Genetics Research*, 2022.
- Li-Hui, Z. U. O., Zhi-Xiao, H. A. N., Hai-Yong, L. I. A. N. G., Min-Sheng, Y. A. N. G. (2015). Analysis of genetic diversity of *Prunus salicina* from different producing areas by SSR markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 42(1), 111.
- Luo, C., He, X. H., Hu, Y., Yu, H. X., Ou, S. J., Fang, Z. B. (2014). Oligo-dT anchored cDNA-SCoT: a novel differential display method for analyzing differential gene expression in response to several stress treatments in mango (*Mangifera indica* L.). *Gene*, 548(2), 182-189.
- Lynch, M. and Walsh, B. (1998). Genetics and analysis of quantitative traits, 1,535-557. Sunderland, MA: Sinauer.
- Ma, X., Zhu, Q., Chen, Y. and Liu, Y. G. (2016). CRISPR/Cas9 platforms for genome editing in plants: developments and applications. *Molecular plant*, 9(7), 961-974.
- Makovics-Zsohár, N., Tóth, M., Surányi, D., Kovács, S., Hegedűs, A., & Halász, J. (2017). Simple sequence repeat markers reveal Hungarian plum (*Prunus domestica* L.) germplasm as a valuable gene resource. *HortScience*, 52(12), 1655-1660.
- Markiewicz, M., Michalczyk, L. and Neumüller, M. (2019). Hypersensitive reaction of plum (*Prunus domestica*) in response to Plum pox virus infection: Changes in gene expression and identification of potential molecular markers. *Scientia Horticulturae*, 247, 430-435.
- Matsuoka, Y., Mitchell, S. E., Kresovich, S., Goodman, M., Doebley, J. (2002). Microsatellites in Zea—variability, patterns of mutations, and use for evolutionary studies. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(2), 436-450.
- Mnejja, M., Garcia-Mas, J., Howad, W., Badenes, M. L., Arús, P. (2004). Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond. *Molecular ecology notes*, 4(2), 163-166.
- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., Baloch, F. S. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(2), 261-285.

- Nevo, E., Korol, A. B., Beiles, A., Fahima, T. (2002). Evolution of wild emmer and wheat improvement: population genetics, genetic resources, and genome organization of wheat's progenitor, *Triticum dicoccoides*. Springer Science & Business Media.
- Oz, M., Vurgun, H., Bakir, M., Buyuk, I., Yuksel, C., Unlu, H.M., Kose O., Ergul, A. (2013). Molecular analysis of East Anatolian traditional plum and cherry accessions using SSR markers. *Genetics and Molecular Research*, 12(4).
- Özbek, S. (1978). Özel meyvecilik. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 128, 392-483.
- Özçağırın, R., Ünal, A., Özeker, E., İsfendiyoğlu, M. (2003). Ilıman iklim meyve türleri sert çekirdekli meyveler Cilt-I, Ege Üni. *Ziraat Fak. Yayınları*, (553), 229.
- Özkarakaş, İ., Ercan, N. ve Gürnil, K. (2006). Ege bölgesinden toplanan bazı yeşil erik (*Prunus ceresifera* Ehrh.) materyalinin değerlendirilmesi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 16(2), 35-49.
- Özvardar, S. ve Önal K. (1990). Erik yetiştiriciliği. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı Yayın No:23 Yalova.
- Primack, R. B. (1993). Essentials of conservation biology. Sinauer associate. Sunderland, MA, USA.
- Qiao, Y. S., Fang, J. G., Cong, Y., Zhou, J., Zhang, Z. (2007). Analysis of genetic diversity of japanese plum cultivars based on RAPD, ISSR and SSR markers. *Acta Horticulturae*, (763), 177–184.
- Rajesh, M. K., Sabana, A. A., Rachana, K. E., Rahman, S., Jerard, B. A., Karun, A. (2015). Genetic relationship and diversity among coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions revealed through SCoT analysis. *3 Biotech*, 5(6), 999-1006.
- Ramanatha Rao, V. and Hodgkin, T. (2002). Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant cell, tissue and organ culture*, 68(1), 1-19.
- Salazar, J. A., Pacheco, I., Zapata, P., Shinya, P., Ruiz, D., Martínez-Gómez, P., Infante, R. (2020). Identification of loci controlling phenology, fruit quality and post-harvest quantitative parameters in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Postharvest Biology and Technology*, 169, 111292.
- Scorza, R., Mehlenbacher, S. A., and Lightner, G. W. (1985). Inbreeding and coancestry of freestone peach cultivars of the eastern United States and implications for peach

- germplasm improvement. *Journal of the American Society for Horticultural science*, 110(4), 547-552.
- Sevindik, E., Murathan, Z. T. and Sevindik, M. (2020). Molecular genetic diversity of *Prunus armeniaca* L. (Rosaceae) genotypes by RAPD, ISSR-PCR, and chloroplast DNA (cpDNA) trnL-F sequences. *International Journal of Fruit Science*, 20(sup3), S1652-S1661.
- Singh, S. K., Chhajer, S., Pathak, R., Bhatt, R. K., Kalia, R. K. (2017). Genetic diversity of Indian jujube cultivars using SCoT, ISSR, and rDNA markers. *Tree Genetics & Genomes*, 13(1), 1-14.
- Stepanov, I. V., Trifonova, A. A., Kudryavtsev, A. M., Suprun, I. I. (2018). Development of S-SAP markers and assessment of their potential in genetic studies of representatives of the genus *Prunus* L. *Russian Journal of Genetics*, 54(10), 1160-1168.
- Suprun, I. I., Stepanov, I. V., Tokmakov, S. V., Eremin, G. V. (2019). Study of *Prunus domestica* genetic diversity by analysis of microsatellite loci. *Russian Journal of Genetics*, 55(2), 172-179.
- Tamarzizt, H. B., Mustapha, S. B., Baraket, G., Abdallah, D., Salhi-Hannachi, A. (2015). Assessment of genetic diversity and relationships among wild and cultivated Tunisian plums (*Prunus* spp.) using random amplified microsatellite polymorphism markers. *Genetics and Molecular Research*, 14(1), 1942-1956.
- Tosun, M. (2015). Bitki ıslahı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Türkiye, 480 s.
- Tunalıoğlu, R. ve Keskin G., (2004). Erik. T.E.A.E Bakış. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, 7(9).
- Ulukan, H. (2007). Klasik bitki ıslahı ve genetik mühendisliği ile oluşturulan değişimlere genel bakış. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2), 27-40.
- Walkowiak-Tomczak, D., Reguła, J. and Łysiak, G. (2008). Physico-chemical properties and antioxidant activity of selected plum cultivars fruit. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(4), 15-22.
- Walton, M. (1993). Molecular markers: which ones to use. *Seed World*, 131(8), 22-24.
- Wayne, P., Gordon, C. M. and Jim, P. (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*, 1(7), 215-222.

- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18(22), 6531-6535.
- Yan, H., Zhang, Y., Zeng, B., Yin, G., Zhang, X., Ji, Y., Yan, Y. (2016). Genetic diversity and association of EST-SSR and SCoT markers with rust traits in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). *Molecules*, 21(1), 66.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., ve Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2), 1-12.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A. ve Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183.
- http-1: <https://www.tuik.gov.tr/> (Erişim Tarihi: 07.08.2022)
- http-2: <https://www.fao.org/> (Erişim Tarihi: 07.08.2022)
- http-3: <https://antropocene.it/2018/11/07/prunus-domestica/> (Erişim Tarihi: 16.08.2022)
- http-4: <https://plantingjustice.org/product-category/fruit-trees/plums-japanese-prunus-salicina/> (Erişim Tarihi: 16.08.2022)
- http-5: <https://www.digitalcommonwealth.org/search/commonwealth:0p097n00r> (Erişim Tarihi: 15.08.2022)
- http-6: <https://www.bilgial.com/genetik-muhendisligi-ve-biyoteknoloji-uygulamalari-nelerdir/> (Erişim Tarihi: 16.08.2022)

ÖZGEÇMİŞ

ORCID NO: 0000-0001-9058-2830

Ad Soyad : Elif SEYİTOĞLU

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- 2012, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü,
- 2014, Tarım Öğretmeni, Çağdaş Özel Eğitim Uygulama Okulu

