

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**EGE BÖLGESİNDEKİ BAZI ÖNEMLİ ÜZÜM ÇEŞİTLERİ,
TİPLERİ VE KLONLARININ MİKROSATELİT (SSR)
MARKÖRLERİYLE KARAKTERİZASYONU ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR**

Zir.Yük.Müh.Yıldız DİLLİ

Bilim Dalı Kodu: 501. 01. 02

Sunuş Tarihi: 30 / 06/ 2008

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ahmet ALTINDİŞLİ

Bornova İZMİR

III

Sayın Yıldız DİLLİ tarafından Doktora tezi olarak sunulan “Ege Bölgesindeki Bazı Önemli Üzüm Çeşitleri, Tipleri ve Klonlarının Mikrosatelit (SSR) Markörleriyle Karakterizasyonu Üzerinde Araştırmalar” başlıklı bu çalışma, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 30/06/2008 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Ahmet ALTINDIŞLI

Üye: Doç. Dr. Sacide PEHLİVAN

Üye: Doç. Dr. Ali ERGÜL

Üye: Doç. Dr. Hülya İLBİ

Üye: Yrd. Doç. Dr. Harun ÇOBAN

ÖZET

EGE BÖLGESİNDEKİ BAZI ÖNEMLİ ÜZÜM ÇEŞİTLERİ, TİPLERİ VE KLONLARININ MİKROSATELİT (SSR) MARKÖRLERİYLE KARAKTERİZASYONU ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

DİLLİ, Yıldız

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Ahmet ALTINDİŞLİ
Haziran 2008, 96 Sayfa

Bu araştırmada, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nce klon seleksiyonu sonucu seçilmiş Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidine ait 5 tip, Pembe Gemre, Osmanca ve İpek üzüm çeşitlerine ait 9 klon ve Ege Bölgesi için önemi olan 15 yerel çeşit ile 2 referans çeşit olmak üzere toplam 31 üzüm çeşidinin (*Vitis vinifera* L.) SSR markörleri ile DNA düzeyinde allel profilleriyle genetik tanımlaması yapılarak aralarındaki genetik benzerlikler ve farklılıklar belirlenmiştir. Lokuslarda gözlenen allel sayısı 6 ile 15 arasında (VVS3, VrZAG62) değişmiştir. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranları sırasıyla ortalama 0.8343 ve 0.7841 olarak bulunmuştur. Kümeleme analizi için UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Means) yöntemi uygulanmıştır. Dendogramda 2 ana grup ortaya çıkmıştır. Genotiplerin büyük kısmını içeren ilk grup içinde çok sayıda alt grup gözlenmiştir. İkinci grupta ise Osmanca çeşidinin 26, 39 ve 40 no'lu klonları ile birlikte yerli şaraplık çeşitlerimizden Foça Karası (09), Foça Karası (17), Foça Karası (M) çeşitleri birlikte yer almıştır. Genotipler arasında Aydın, Çanakkale ve

VI

İzmir (Mordoğan) illerinden alınan Foça Karası çeşitleri ve Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nde farklı parsellerde yer alan Dumanlı Gemre çeşitlerinde de homonim duruma rastlanmıştır. Sultani Çekirdeksiz çeşidinin kurutmalık özelliğe sahip tiplerinden T3, T15, Y3 ile sofralık özelliklere sahip S4 ve S6 tiplerinin genetik olarak birbirlerinden farklı olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler : *Vitis vinifera* L., asma, mikrosatelit, genetik tanımlama

ABSTRACT**RESEARCHES ON THE CHARACTERIZATION OF SOME
IMPORTANT GRAPE VARIETIES, TYPES AND
CLONES IN THE AEGEAN REGION BY USING
MICROSATELLITE (SSR) MARKERS**

DİLLİ, Yıldız

Ph.D. Thesis, Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ALTINDIŞLI

June 2008, 96 pages

In this study, a total of 31 grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) consisting of 5 types Sultani Çekirdeksiz, 9 clones of Pembe Gemre, Osmanca and Ipek cultivars selected by Manisa Viticulture Research Institute and 15 local grape varieties plus 2 reference cultivars of economic importance in the Aegean Region were genetically characterized and genetic relationship among them were investigated at DNA level with allele profiles by using co-dominant markers of SSR (Simple Sequence Repeats). Number of alleles per locus ranged from 6 to 15 (VVS3, VrZAG62). Expected and observed heterozygosity values were 0.8343 and 0.7841, respectively. Cluster analysis for the genotypes was conducted by using UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Means) method. Two main groups appeared in the dendrogram. Many sub-groups were observed in Group 1 that includes most of the genotypes. On the other hand, Clones 26, 39 and 40 of Osmanca, and 09, 17 and M varieties of Foça Karası, one of the local

VIII

wine varieties in the Aegean Region, appeared in Group 2. One case of homonymy was revealed for the genotypes of Foça Karası collected from Aydın, Çanakkale, İzmir (Mordoğan), and Dumanlı Gemre variety which is located in the different research plots at Manisa Viticulture Research Institute. Genetic differences were determined between T3, T15 and Y3 types, which have dried grape characteristics, and S4 and S6 types, which have table grape characteristics of Sultani Çekirdeksiz variety.

Key words: *Vitis vinifera* L., grape, microsatellite, genetic identification

TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma olanağı veren ve tezin yürütülmesinin her aşamasında değerli katkı ve görüşlerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ALTINDİŞLİ'ye, tez izleme komite üyeleri değerli hocalarım Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU (A.Ü.Z.F. Bahçe Bitkileri Bölümü) ve Doç.Dr. Sacide PEHLİVAN'a (Gaziantep Ü.Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D.) da tezin çeşitli aşamalarında yapmış oldukları değerli katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimdeki tekniği öğreten Sayın Hocam Doç. Dr. Ali ERGÜL' e (A.Ü. Biyoteknoloji Enstitüsü), yardıma ihtiyaç duyduğumda hep yanımda olan arkadaşım Dr. Burçak İŞÇİ' ye özel teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında katkılarından dolayı Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünden Prof. Dr. İbrahim KISMALI, Prof. Dr. Uygun AKSOY, Prof. Dr. Serra HEPAKSOY, Doç.Dr. Hülya İLBİ, Dr. Fatma AYKUT (E.Ü. Tarla Bitkileri Bölümü), Ar.Gör. Mert SUDAĞIDAN (İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü), Ar. Gör. Melike BAKIR (A.Ü. Biyoteknoloji Enstitüsü) ve Eda KARAAĞAÇ' a teşekkür ederim.

Araştırmanın yürütülmesi için gerekli finansal desteği sağlayan Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü' ne, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nden Dr. Adem YAĞCI, Dr. Selçuk KARABAT ve Dr. Sumru KADER' a teşekkür ederim.

Bu çalışmam ve hayatım boyunca her türlü maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, canım aileme en içten sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

X

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	V
ABSTRACT	VII
TEŞEKKÜR	IX
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
KISALTMALAR DİZİNİ	XV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
2.1. Bitkilerin Tanımlanmasında Kullanılan Markör Tipleri.....	6
2.2. Asmada Günümüze Kadar Yapılan Tanımlama Çalışmaları	6
2. 2.1. Ampelografik Tanımlamalar	6
2.2.2. İzoenzim (Biyokimyasal) Tanımlamalar	7
2.2.3. DNA Markörleri	7
2.3. DNA Markörleriyle Yapılan Tanımlamalar.....	10
2.4. Asmada Mikrosatelit (SSR) Markörlerin Geliştirilmesi .	12
2.5. Asmalarda Mikrosatellit Çalışmaları	14
2.6. SSR Tekniğinin Klon ve Tiplerin Tanımlanmasında Kullanımı	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	29
3.1. Materyal	29
3.2. Yöntem	41

XII

3.2.1. DNA izolasyonu	41
3.2.2. PCR uygulaması	43
3.2.3. Çalışmada Kullanılan SSR Primerleri	44
3.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi	46
3.2.5. Poliakrilamid Jel Elektroforezi ve Jel Boyama	46
3.2.6. Allel Değerlerinin Belirlenmesi ve Genetik Analizler...	47
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	49
4.1. DNA İzolasyonu	49
4.2. Allel Büyüklükleri	50
4.3. Yazılım Programları ile Sonuçların Değerlendirilmesi ...	57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	68
KAYNAKLAR DİZİNİ	77
EKLER	92
ÖZGEÇMİŞ	96

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Moleküler markör tekniklerinin karşılaştırılması.....	9
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan üzüm çeşitlerine ilişkin kısa ampelografik özellikler	30
Çizelge 3.2. PCR çoğaltma öğeleri konsantrasyon ve miktarları ..	44
Çizelge 3.3. Primerlerin PCR'daki döngü koşulları	44
Çizelge 3.4. Araştırmada kullanılan primerlere ait bilgiler	45
Çizelge 4.1. Araştırmada kullanılan üzüm çeşitlerine ait DNA miktarı ve saflık dereceleri	49
Çizelge 4.2. Çeşit, tip ve klonların 15 lokustaki allel büyüklükleri	52
Çizelge 4.3. Çalışılan lokuslardaki allel sayıları (N), beklenen heterozigotluk (He), gözlenen heterozigotluk (Ho), tespit olasılığı (PI) değeri ve sessiz (null) allel frekansı	57
Çizelge 4.4. Ege Bölgesine ait bazı önemli üzüm çeşitleri,tipleri ve klonlarının genetik benzerlik	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 3. 1. Araştırmada Kullanılan Üzüm Çeşitleri	33
Sekil 4.1. Çalışılan lokuslarda tespit edilen allel frekansları	59
Şekil 4.2 Ege Bölgesi asma genotiplerine ait dendogram	67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan Parça Uzunluk Farklılığı)
bp	: Base pair (Baz çifti)
CTAB	: Hekzadesil Trimetil-Amonyum Bromür
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksi-Nüklezid Trifosfat
EDTA	: Etilen Diamine Tetra Asetik Asit
He	: Expected heterozygosity (Beklenen heterozigotluk)
Ho	: Observed heterozygosity (Gözlenen heterozigotluk)
Kol	: Koleksiyon parseli
M	: Mol
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
µl	: Mikrolitre
mM	: Milimol
n	: The number of alleles (Allel sayısı)
OIV	: Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (Uluslararası Bağcılık ve Şarapçılık Organizasyonu)
Os	: Osmanca parseli
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PI	: Probability of Identity (Tespit olasılığı)
PVP	: Polyvinylpyrrolidone

XVI

- r : The estimated frequency of null allele
(Tahmin edilen sessiz allel frekansı)
- RAPD : Random Amplified Polymorphism DNA
(Rastgele oğaltılmış DNA Farklılığı)
- RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
(Kesilmiş Parça Uzunluğu Farklılığı)
- RNase : Ribonükleaz
- rpm : Dakikadaki dönüş sayısı
- SSR : Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
- TBE : Tris-Borik Asit-EDTA özeltisi
- TE : Tris-EDTA özeltisi
- UPOV : The International Union for the Protection of New
Varieties of Plants (Yeni Bitki eşitlerinin Korunmasına
İlişkin Uluslararası Birlik)

1. GİRİŞ

Bağcılık yeryüzünde en eski kültüre sahip tarım kollarından olup, günümüzde de önemini koruyarak kuzey ve güney yarımkürede en yaygın kültür alanlarından birini oluşturmuştur. Çoğu ülkede üzüm (*Vitis vinifera* L.) önemli bir ürün olup, en az 14.000 üzüm çeşidinin olduğu belirlenmiştir. Fakat gerçek sayısının çok daha az olduğu (5.000-8.000 arasında) bilinmektedir (**Alleweldt, 1988**).

Bağcılık; Kuzey Yarımkürede 20-52. ve Güney Yarımkürede 20-40. enlem dereceleri arasındaki ülkelerde yayılmıştır. Kuzey Yarımkürede, ilgili enlem dereceleri arasındaki ülkemiz, dünyanın en elverişli iklim kuşağında yer alması nedeniyle; asmanın gen merkezi ve ilk kültüre alındığı coğrafyanın merkezi konumundadır (**Oraman, 1970**).

XX. yüzyıla kadar asmanın gen merkezi olarak Kafkasya, Hazar Denizi'nin güneyi, kuzeydoğu Anadolu'nun da içinde olduğu Küçük Asya gösterilmiştir. Bu yüzyılda yapılan bazı araştırmalar asmanın ilk görüldüğü zamanları, günümüzden yaklaşık 60-70 milyon sene öncesine kadar götürmekte ve bulunduğu yerler olarak da dünyanın birçok yöresini göstermektedir (**Gollmick ve ark, 1970; Ağaoğlu'ndan, 1999**).

Ülkemizde her bölgede yapılan kazılarda bağcılıkla ilgili tarih öncesi devirlere ait önemli eserler bulunmuştur. İzmir'in Bergama ilçesinde M.Ö. 3. yüzyıla ait bir kabartmada şarap tanrısı Dionysos'u elinde bir salkımla gösteren bir seramik eserin bulunması ve ülkemizin birçok yerinde yapılan kazılarda üzüm ve bağla ilgili benzer motiflerin elde edilmesi, bağcılığın bu bölgede geçmişte önemli derecede gelişmiş

olduğunu gösteren en önemli göstergelerdir. Bugün bile Bergama’da Kozak yaylasında son turfanda ve kaliteli üzümlerden Kozak Beyazı ve Kozak Siyahı üzüm çeşitleri yaygın olarak yetiştirilmektedir. Ege ve Marmara Bölgesi’nde bağcılığın geliştiği yörelerde (Lapseki, Çanakkale, Bergama, Aliaga, Dikili, Bozcaada, Çeşme, Karaburun ve Seferihisar) basılan paralar üzerinde üzüme, şarap kabına ve amfora’ya yer verilmiş olması, bağcılığa ve şaraba verilen önemi göstermektedir (**Çelik, 1998**). Bağcılık geçmişten günümüze daima varolmuş ve tarımsal yapı içinde önemini daima korumuştur.

Ülkemiz bağcılığının geliştirilmesi ve milli ekonomiye olan katkısının daha yüksek düzeylere ulaştırılması, her şeyden önce sahip olduğumuz asma gen potansiyelinin belirlenmesi, bu potansiyelin kataloglandırılarak uluslararası geçerlilikte korunabilmesi ve değerlendirilmesine yönelik olan çalışmalara gereken önemin verilmesi ile mümkündür. Türkiye’nin tamamının taranması tamamlanmamış olmasına rağmen, Tekirdağ’daki “Milli Koleksiyon Bağı”nda 1172 adet üzüm çeşidi yer almaktadır. Bu sayının fazlalığı ülkemiz asma gen potansiyelinin ne kadar zengin olduğunu göstermektedir. Bu zenginlik gerek ıslah çalışmalarında gerekse ekonomik öneme sahip yerel çeşitlerin ortaya konmasında çok önemli bir kaynaktır.

Üzüm çeşitlerinin doğru tanımlanması; bitkilerin ismine doğruluğunun değerlendirilmesi, uluslararası gen kaynakları değişiminde, yanlış isimlendirmelerin önlenmesi ve asma fidanı sertifikasyon sisteminde kritik öneme sahiptir.

Ampelografi, üzüm çeşitlerinin tanımlamasında yıllardır kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Bununla birlikte yalnız morfolojik özellikleri baz alan bu botanik esaslı metot çevresel etkiye maruz kalır ve benzer görünümlü çeşitleri seçmede başarısız olur. Ayrıca kişisel değerlendirmelere yol açtığı gibi, hastalık ve zararlılar veya kültürel uygulamaların etkisiyle asmanın yalnızca dış görünümünde veya ölçülebilir karakterlerinde meydana gelen varyasyonların çoğu kez yeni genotipler olarak adlandırılmasına neden olmaktadır (**Najafi et. al., 2006; Marasalı, 1995**).

Asma tür ve çeşitlerinin tanımlanması daha çok klasik ampelografik tanımlamalar ile yapılırken, son yıllarda DNA'ya dayalı markörler; tür ve çeşitlerin ayırım ve tanımlamalarında kesin sonuç vermeleri nedeni ile klasik yöntemler ile birlikte kullanılmaya başlanmış ve bu teknikler asma genotiplerinin tanımlanmasında çok önemli ilerlemeler sağlamıştır.

Biyoteknoloji alanında kaydedilen ilerlemelerle, çeşitlerin kesin teşhisine yardımcı olacak DNA düzeyinde moleküler markör teknikleri geliştirilmiştir. Ampelografik çalışmalar; izoenzim tanımlamaları, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Length Polymorphism) ve SSR (Simple Sequence Repeat) gibi teknikleri de kapsamaktadır. Bunlardan SSR markörler, polimorfizm oranlarının yüksek oluşu, tekrarlanabilirliği ve kodominant karakterli olmasından dolayı tercih edilirler. Dünyada yaygın bir şekilde kullanılan SSR DNA analiz tekniğinin ağırlıklı çalışma konuları anaç, çeşit, klon ve ebeveyn

tanımlamalarıdır (**Oriana ve ark., 1997; Sefc ve ark., 1997; Sefc ve ark.,1998; Regner ve ark., 2000**).

DNA parmak izi analizi, genetik materyallerin birbiriyle benzerlik veya farklılıklarının saptanması amacını taşır. Genetik markörlerdeki varyasyonun genlerdeki varyasyonu temsil ettiği öngörüsünden hareketle parmak izi analizinde markörlerin kullanımı fikri doğmuştur. Parmak izi analizinde aynı anda genomun pek çok yerine dair bilgi sağlayan markörlerin kullanılması yaygındır. Sonuçta genetik materyaller arasında farklılık gösteren lokusların oranı belirlenir. Farklılığın hangi lokusta olduğuna bakılmaz. Bu tip bir analiz bitki ıslahı programına alınacak materyallerin seçiminde kullanılır ve varyasyonu yüksek olan hatların kullanımı ile ıslahçı daha geniş bir değişim içinden istediklerini seçme şansına sahip olur (**Brown ve Kresovich, 1996;. Özcan ve ark.'dan, 2001**).

Ülkemizin çeşit düzeyinde gen potansiyeli olmasının yanı sıra, bir çeşitten elde edilen bitki topluluğu, bazı özellikler bakımından incelendiği zaman bireyler arasında varyasyonların var olduğu görülmektedir. Klon seleksiyonu yolu ile bir çeşit içerisinde var olan varyasyonlardan yararlanarak çeşitli özellikler bakımından üstünlük gösteren tipler seçilmektedir. Bir çeşit içerisindeki popülasyonlardaki farklılaşmanın kaynağı büyük ölçüde mutasyonlar olmaktadır. Klon seleksiyonundan amaç esas çeşitten üstün değeri olan ve ekonomik değeri olan mutant formların seçilmesidir (**Dokuzoğuz, 1964**).

30.12.2006 tarihinde çıkarılan “Bağcılık Yönetmeliği” ile sertifikalı fidanla bağ tesisi zorunlu kılınmakta ve bu tür çalışmaların önemi daha da artmaktadır. Ayrıca Avrupa Birliğinin ilgili yönetmeliklerinde belirtildiği gibi üzüm çeşitlerinin ticaretinde “çeşidin ismine doğru olma” koşulu getirilmekte ve gerek duyulduğunda bunun kontrolü talep edilmektedir. Bu amaçla ihtiyaç duyulduğunda güvenilir bir yöntem olan DNA parmak izi analizi kullanılabilecektir. Bu sebeple üzüm çeşitlerinin SSR veri bankalarının oluşturulması önem kazanmaktadır.

Ayrıca yerel asma popülasyonuna ait çeşit ve klonların tescil aşamalarında güvenilir yöntemlerle yapılan genetik tanımlamalar morfolojik tanımlamaları hem teyit edecek hem de morfolojik tanımlamanın bazı olumsuz olabilecek taraflarını elemine edebilecektir.

Bu araştırmada, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü’nde klon seleksiyonu çalışmaları yoluyla seçilen verim ve kalite yönünden üstün özellikteki klonlar ve tipler ile Ege Bölgesinde yaygın olarak yetiştirilen, ülkemiz için hem ticari hem de gen kaynağı olarak önem taşıyabilecek olan yerel çeşitlerimizde akrabalık ilişkilerinin ve DNA kimliklerinin, SSR markörleri yardımıyla ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada 2 adet referans çeşit olmak üzere toplam 31 tip, klon ve yerel üzüm çeşidinin genetik tanımlamaları yapılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkilerin Tanımlanmasında Kullanılan Markör Tipleri

Kalıtım şekilleri, morfolojik (çiçek rengi), biyokimyasal (izoenzimler) ve DNA düzeyinde (moleküler markörler) izlenebilen karakterlere genetik markörler denir. Genetik markörler gen veya genin bir parçası ya da genler arasındaki bir DNA dizilimidir. Bir tür içerisinde bireyler arasındaki farklılığı gösteren bir işarettir. Moleküler markörler ise DNA'nın aktif bölgelerinden (genler) veya herhangi bir genetik kodlama fonksiyonuna sahip olmayan DNA dizilerinden geliştirilebilirler (Özcan ve ark., 2001). Kalıtımı kolaylıkla belirlenebilen veya gözlemlenebilen DNA dizilimidir.

Genetik markörler; Morfolojik markörler, protein markörleri ve DNA markörleri olarak gruplandırılırlar. Morfolojik markörler dominant özelliktedirler, analizlerin kolay olmasına rağmen, sayılarının az oluşu, çevre ve diğer lokuslardan etkilenmeleri nedeniyle fazlaca kullanılmamaktadırlar. Protein markörleri çabuk, güvenilir ve tekrarlanabilir olmasına rağmen en büyük dezavantajları sayıca çok az olmalarıdır (Özcan ve ark., 2001).

2.2. Asmada Günümüze Kadar Yapılan Tanımlama Çalışmaları

2.2.1. Ampelografik Tanımlamalar

Anadolu, *Vitis vinifera* L.'nın gen merkezi, bağcılık kültürünün başladığı ve çeşit zenginliğinin en üst seviyede olduğu bir bölgedir. Bağcılık yapılan bütün ülkelerde çeşitlerin tanımlanması ve

sınıflandırılmasına yönelik ampelografik çalışmalar değişik araştırmacılar tarafından sürdürülmüştür. **Viala and Vermorel (1910)**, çeşitli ülkelerde yetiştirilen şaraplık ve sofralık 5.200 çeşidin ampelografik özelliklerini belirlemiştir. **Perold (1927)**, Avrupa'nın yakından tanıdığı sofralık üzüm çeşitlerini incelemiştir; **Manzo and Tamponi (1979)**, 100 çeşidin ampelografik özelliklerini belirlemiştir. Ülkemizde de değişik araştırmacılar tarafından farklı yörelerde ve farklı çeşitlerde ampelografik tanımlamalar yapılmıştır (**Oraman, 1941; Kısakürek, 1950; Fidan ve ark., 1972; Samancı ve Uslu, 1992; Boz ve Çelik, 1998; Kaplan, 1995; Ecevit ve Kelen, 1999; Kader ve Öztürk, 2005**).

2.2.2 İzoenzim (Biyokimyasal) Tanımlamalar

Asmalarda 1976 yılında genetik tanımlama amacıyla ilk olarak izoenzimler kullanılmıştır. Melezleme ile edilen ve birbirine yakın olan çeşit ve tiplerin tanımlamasında izoenzim teknikleri yaygın olarak kullanılmıştır (**Wolfe, 1976; Weeden et. al., 1988; Parfitt and Arulsekhar, 1989; Uzun ve İlter, 1993; Söylemezoğlu ve ark., 1998; Ağaoğlu ve ark., 1999**).

2.2.3. DNA Markörleri;

DNA Markörleri;

- Genetik kaynakların karakterizasyonu,
- Çeşitler arasındaki genetik benzerlik ve uzaklıkların belirlenmesi,
- İslah programında kullanılacak ebeveynlerin belirlenmesi,
- Yeni geliştirilen çeşitlerin koruma altına alınması (ıslahçı hakları),

- Bilinmeyen çeşit veya genotiplerin tanımlanması,
- Genetik haritalama,
- Islah süresinin kısaltılması (özellikle çok yıllık bitkilerde, testi uzun ve pahalı olan ve çevre koşullarından etkilenen ve resesif genle kontrol edilen özellikler),
- Somaklonal varyasyonun belirlenmesi, ebeveyn belirleme,
- Allel sayısının ve özelliklerinin belirlenmesi,
- F1 tanımlama,
- Mutasyonların belirlenmesi konularında kullanılır **(Kafkas, 2006).**

Farklı genotiplerde DNA dizilişinin farklı olması nedeniyle aynı başlatıcı DNA kullanılması ile farklı DNA üretimleri elde edilir. Bu farklı üretimler genetik markör olarak kullanılmaktadır. Aşağıda belirtilen çok değişik tipte DNA markör tipleri geliştirilmiştir.

DNA Markörleri;

1. DNA melezleme markörleri

- RFLP Markörleri (Restriction Fragment Length Polymorphism)

2. PCR temelli DNA markörleri

- RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Rastgele çoğaltılmış DNA farklılığı
- AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı
- SSR (Simple Sequence Repeat) Basit dizi tekrarları

- SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions)
Dizisi tanımlı çoğaltılan bölgeler şeklinde sıralanabilir.

İdeal bir DNA markörün; kuruluş ve uygulama maliyetinin düşük olması, tehlikeli kimyasallarla çalışmayı gerektirmemesi, otomasyona uygun olması, kodominant olması, yüksek polimorfizm göstermesi, birçok bilgi içermesi, sonuçların tekrarlanabilir olması, analizi kolay ve basit olması istenir. Her bir markör sisteminin avantaj ve dezavantajları vardır. Bu nedenle kullanım potansiyelini değerlendirmek çok önemlidir (**Kafkas, 2006**). Çizelge 2.1.'de bazı markör tiplerinin karşılaştırılması verilmiştir.

Çizelge 2.1. Moleküler markör tekniklerinin karşılaştırılması

Markör Tipi	PCR esaslı	Polimorfizm	Kalıtım
RFLP	-	Düşük-Orta	Kodominant
RAPD	+	Orta-Yüksek	Dominant
SSR	+	Yüksek	Kodominant
ISSR	+	Yüksek	Dominant
AFLP	+	Yüksek	Dominant
IRAP/REMAP	+	Yüksek	Kodominant
Morfolojik	-	Düşük	Dominant/Resessif/Kodominant
Protein/isozyme	-	Düşük	Kodominant
STS	+	Yüksek	Kodominant
SNP	+	Yüksek	Kodominant
SCARS/CAPS	+	Yüksek	Kodominant

Sonuç olarak DNA markörleri, Genetik kaynakların karakterizasyonu ile ıslah ve genetik programların daha iyi planlanmasını ve daha az maliyetle yapılmasını sağlamaktadır. Geliştirilen markörler, meyve ve çiçek özellikleri ile ilişkili ise, özellikle çok yıllık bitkilerde meyve verinceye kadar 2-10 yıl beklemeden erken seleksiyon yapılmasını sağlamaktadır. Analizi pahalı ve uzun olan karakterler ile ilişkili markör ise, zamandan tasarruf ve ekonomik kazanç sağlamaktadır. İslahta erken seleksiyon sonucu, deneme alanından ve iş gücünden kazanç, daha fazla bitki ile çalışabilme olanağı, ıslahta başarı oranının artması, daha kısa sürede amaç ve hedeflere ulaşılması gibi avantajları bulunmaktadır (**Kafkas, 2006**).

2.3. DNA Markörleriyle Yapılan Tanımlamalar

Marasalı (1995), Türkiye için önemli olan 11 üzüm çeşidinin RFLP tekniğini kullanarak moleküler tanımlamalarını gerçekleştirmiştir.

Ye ve arkadaşları (1998), yapmış oldukları çalışmada 16 üzüm çeşidi ve bu çeşitlere ait tipler arasındaki ilişkiyi araştırmak için RAPD tekniğini kullanmışlardır. RAPD tekniği denemeye alınan klonlar arasında ayırım sağlayamazken, fenotip olarak birbirine benzer çeşitler arasındaki ayırım için uygun bir metot olduğu saptanmıştır. **Ağaoğlu ve Ergül (1999)**, Amasya üzüm çeşidi ekotipleri olarak bilinen 8 üzüm çeşidinin RAPD-PCR tekniği ile genetik tanımlamalarını yapmıştır. Kullanılan 8 adet primerden ikisinin ekotipler bazında kesin bir ayırım sağladığı görülmüştür. Yapılan analizlerde bu ekotiplerin ayrı birer çeşit olarak tanımlanabileceği tespit edilmiştir. **Ergül ve Ağaoğlu (2001)**,

asma fidanı üretiminde kullanılan 3 Amerikan asma anacının (5 BB, 110 R, 140 Rug.), 4 farklı üretim istasyonundan alınan örneklerde olası genetik farklılıklar RAPD tekniği ile araştırılmıştır. Dört farklı damızlık parseline ait 5BB, 110R örneklerinde herhangi bir polimorfizme rastlanmaz iken, 140 Rug. anacında 3 farklı genotipe (1. genotip: Tekirdağ-Kalecik, 2. genotip: Manisa, 3. genotip: Salihli) ulaşılmıştır.

SSR veya mikrosatelitler ökaryotik genomlar boyunca dağılmış bulunan ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır. Mikrosatelitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş olduklarından, farklı genotiplerde çakışan SSR'ların PCR primerleri ile çoğaltılarak seçimine izin vermektedir. Ardışık SSR tekrarların sayısındaki farklılık PCR sonucu farklı uzunlukta parça çoğaltımıyla sonuçlanır. Bu tekrarlar çok yakın tür ve çeşitler arasında dahi tekrarlanan ünitelerin sayısında değişikliğe yol açan mutasyonlar nedeni ile oldukça polimorfiktir (**Gupta ve ark., 1994; Özcan ve ark.'dan, 2001**). SSR'ları çevreleyen korunmuş DNA dizileri primer olarak kullanılarak PCR metodu vasıtasıyla bir lokustaki farklı alleller tespit edilebilir (**Özcan ve ark., 2001**).

Sefc (1997), 51 asma çeşidinde mikrosatelit markörleri kullanarak ebeveyn tespit edilmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda Cabernet Sauvignon çeşidinin orijini Cabernet Franc ve Sauvignon Blanc melezi şeklinde olduğunu tespit etmiştir.

Asmanın yeşil aksamıyla ilgili özelliklerin değişken ve tanımlamanın zor olması nedeniyle sadece morfolojik özellikler

kullanılarak asma anaçlarının tanımlanmalarında zorluklarla karşılaşmaktadır. Ayrıca bunları dinlenme döneminde ayırt etmek hemen hemen imkansızdır. 58 anacın yaprak ve kambiyum dokularından DNA izole edilmiş ve yedi SSR primeri kullanılarak genetik tanımlaması yapılmıştır. Sonuçta bu tekniğin anaç ve çeşit tanımlanmasında mükemmel bir metot olduğunu belirtmişlerdir (**Lin and Walker, 1998**).

Ergül ve arkadaşları (2002), Kalecik Karası üzüm çeşidinin 19 klonunda olası genetik farklılık-benzerlikler AFLP tekniği kullanılarak araştırılmıştır. İki farklı enzim sistemine (Pst1/ Mse1 ve EcoR1/Mse1) ait 6 primer kombinasyonu kullanılmıştır. Pst1/ Mse1 enzim sistemine ait 3 primer kombinasyonunda klonlar arasında bir farklılık bulunamazken EcoR1/Mse1 enzim kombinasyonuna ait primer çiftleri incelendiğinde çeşide ait 19 klon başlıca 2 gruba ayrılmıştır. 5 klonda 3 primerde de polimorfizme ulaşılmıştır.

2.4. Asmada Mikrosatelit (SSR) Markörlerin Geliştirilmesi

Asmada SSR markörleri ilk olarak, M.R. Thomas, J.E. Bowers ve K.M. Sefc liderliğinde çalışan üç araştırmacı grubu tarafından geliştirilmiştir (**Thomas and Scott, 1993; Bowers et al., 1996, 1999a; Sefc et al., 1999**). Asmada akrabalık ilişkilerini belirlemek, kimlik tanısında kullanılan DNA profillerinin veribankasını geliştirmek ve *Vitis vinifera* L.nin gen haritalama çalışmalarında SSR markörler yoğun olarak kullanılır (**Thomas et al., 1994; Bowers et al., 1996; Bowers and Meredith, 1997; Lamboy and Alpha, 1998; Bowers et al., 1999b; Riaz and Meredith, 2000**).

Powell ve arkadaşları (1996) ve **Weising ve arkadaşları (1998)**, bu çeşit markörler arasında STMS (Sequence Tagged Microsatellite Sites) nin, kodominant kalıtım, yüksek tekrarlılık, yüksek bilgi içeriği, güvenilirlik ve allel büyüklüğünü kolay skorlama gibi moleküler markörlerin istenilen bir çok özelliğini bir arada topladığını belirtmişlerdir.

Genetik analizlerde; diğer metotlara kıyasla SSR markörleri nispeten hızlı ve kolay analiz edilmeyi sağladığından pratik ve en önemli araç haline gelmiştir (**Morgante and Oliveri, 1993**).

Arroyo-Garcia ve Martinez-Zapater (2000), şaraplık ve sofralık üzüm çeşitlerinde 9 yeni SSR lokusu (VMC6G8, VMC6D12, VMC6B11, VMC6F11, VMC6G10, VMC6A8, VMC6C7, VMC6C10 ve VMC6E10) dizayn etmişlerdir. PCR ürünlerinin büyüklüğü 220-301 bp arasında değişmiş, allel sayısının her lokusta 8'den 10'a kadar değiştiği gözlenmiştir. Çeşitlerin en az % 70'nin her lokusta heterozigot olduğu tespit edilmiştir. Şaraplık ve sofralık üzümlerde allel frekansları genellikle aynıdır. Her çeşit 9 lokus tarafından ayırt edilmiştir. Araştırmacılar çekirdek genomundan daha düşük mutasyon oranı gösteren kloroplast genomunda da polimorfik mikrosatelit bölgelerinin bu organizmaların biyolojisi hakkındaki bilginin arttırabileceğini belirtmektedirler. Kloroplast genomunda korunmuş dizilerin yüksek derecede olmasından dolayı, türlerde yüksek bir oranda çalışabilecek primerlerin dizaynının mümkün olabilmesine olanak sağlamışlardır. Özellikle, kloroplast mikrosatelitlerin (cpSSR) sitoplazmik farklılık,

plastid kalıtımı çalışmaları ve gen akışını görüntülemek için kullanışlı olabildiği belirtilmektedir.

Regner ve arkadaşları (2006), SSR veri tabanında bulunan dizilimlerini kullanarak *Vitis* cinsine ait 19 yeni mikrosatellit lokusu detaylı olarak belirlemişlerdir. Asma genotiplerinin ortaya konmasında VRG markörleri kullanılmıştır. Sadece VRG 1, VRG 2, VRG 4, VRG 7, VRG 9, VRG 10, VRG 15 ve VRG 16 markörleri Mendel dağılımına göre heterozigot allel genler olarak dağılım göstermişlerdir. Diğer VRG lokusları, VRG 5, VRG 6, VRG 11, VRG 12, VRG 13 ve VRG 17 multi allel profil gösterirken düzgün bir dağılım göstermemişlerdir. Yüksek derecede değişkenlik gösteren VRG mikrosatellitlerin Pinot Noir çeşidi içindeki polimorfizmi ortaya çıkarmak için başarıyla kullanılabileceği ortaya çıkmıştır. Pinot Noir klonları bu markörler kullanılarak ayırt edilmiştir.

Goto-Yamamoto ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışmada, 9 yeni mikrosatelit markör geliştirmişlerdir. Bu markörler ve 8 bilinen mikrosatelit markörle 2 adet *Vitis labrusca*, *Vitis riparia* ve *Vitis rotundifolia* ile birlikte Japon ve Çin çeşitlerini (*Vitis vinifera* L.) de kapsayan 8 adet doğu çeşidini, 7 adet batı çeşidiyle karşılaştırmıştır. Hesaplanan fenotipik uzaklıklar (paylaşılan allel oranı 1) üzümlerin sınıflandırmasıyla aynı olmuştur. Fenotipik uzaklığa dayanan dendrogram doğu ve batı çeşitlerinin yanında *Vitis* türlerinin farklılığını açıkça göstermiştir. Sonuçlar, üzüm çeşitlerinin gen kaynağı olan doğu çeşitlerinin önemini destekler nitelikte bulunmuştur.

2.5. Asmalarda Mikrosatellit Çalışmaları

Vitis türleri arasındaki taksonomik ilişkinin belirlenmesi ve moleküler tanımlamada daha kesin genotip belirlemesi (Sefc et al., 1999), asma çeşitleri arasında genetik varyasyon çalışmalarında bir çok farklı moleküler markör tipi kullanılması (Parfitt and Arulsekar, 1989; Collins and Symons, 1999; Mauro et al., 1992). Asmada pedigrî analizini içeren mikrosatellit markörlerin uygulanması (Bowers and Meredith, 1997). Ebeveyn analizi (Silvestrony et al., 1997; Sefc et al., 1997; Bowers et al., 1999b), çeşit tanımlaması ve diversity (çeşitlilik, ayırım) çalışmaları (Lopes et al., 1999; Sefc et al., 1999, 2000; Aradhya et al., 2003), haritalama (Doligez et al., 2006) ve sinonim tespiti (Lopes et al., 1999; Ulanovsky et al., 2002) konularında mikrosatellit markörler kullanılmıştır.

Genetik Kaynakların Karakterizasyonu çalışmaları, genetik kaynağın yapısını anlamak, duplike olan genotiplerin belirlenmesi, orijini bilinmeyen genetik materyallerin belirlenmesi, genetik kaynağın tekrar organizasyonu, ıslah programlarında ve genetik çalışmalarda kullanılacak ebeveynlerin belirlenmesi gibi nedenlerden dolayı yapılmaktadır. Bu yüzden de ıslahçıların her zaman önemli çalışma konularından biri olmuştur.

Oluşturulan gen bankasının tam olarak amacına uygunluğunu sağlamak için, maksimum genetik farklılıklarla birlikte minimum sayıda aksesyonun olması önemlidir. Bu ikisi, bitki ıslahçılarına etkili bir araştırma ve tarama avantajı sağlar ve gen bankası muhafazası için sınırlı

olanakların en iyi şekilde kullanımını sunar. Yüzyıllardır klonal olarak çoğaltılmış ve orijinleri hakkında çok az şey bilinen birçok asma çeşidi koleksiyonlarında bu amaca ulaşmak için çalışılmıştır. Çünkü tercih edilen asmalar, tarih içinde insanların göç etmesiyle taşınmış, genetik farklılık oluşmuş ve birçok çeşidin orijini bilinmez hale gelmiştir. Ayrıca, bilinen ve bilinmeyen sinonimler farklı dillerin konuşulduğu yerlere taşınmıştır. Bazen çeşit isimleri farklı şekillerde telaffuz edilmiş, bazen de götürüldükleri yerlerde tamamen ismi değiştirilmiştir (**Dangl et al., 2001**).

Avusturya gen kaynağı koleksiyonundan toplam 66 üzüm çeşidi ve anaçta, 10 mikrosatelit lokus kullanılarak gen farklılığı değerleri hesaplanmıştır. Araştırmada yer alan mikrosatelit markörlerin ayırım gücünü ortaya koymak için genetik farklılık değerleri hesaplanmıştır. Oluşturulan dendogramda asmalarda genetik farklılık değerleri çeşitlerde 0.52-0.87 arasında; anaçlarda 0.29 ila 0.96 arasında iken her ikisi için bu değer 0.70-0.91 arasında tespit etmiştir (**Sefc et al., 1998a**).

Asma genetik kaynakları koruma ve karakterizasyonu için 1997-2002 yılındaki EU projesi (Genres CT96 No81 projesi) çerçevesince, asma genetik kaynaklarında çalışan ıslahçılar ve bilim adamlarına Vitis türleri ve asma çeşitleri için OIV tanımlama listesinin tamamen revize edilerek bazı kararlar almışlardır. Konu uzmanlarınca asmaların ayırımında normalde dış görünüşe, ölçüm, ağırlık ve duyuşal (lezzet, koku) incelemeye dayalı ampelografik tanımlamanın yanında mümkünse DNA veya izoenzim analizlerine de yer verilmesi istenmektedir.

Ampelometrik yaprak tanımlamalarının önemli bir rol oynadığı belirtilirken, son gelişmeler göz önüne alınarak, bol miktarda ve rastgele dağılmış ökaryotik genomlarda ve kodominant Mendel kalıtımına sahip

SSR markörler asma tanımlama ve ebeveyn analizi için faydalı bir araç olduğu ifade edilmiştir. Bu kapsamda proje partnerleri 49 çeşide uygulanmış olan 6 poliformik SSR markörünün (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 ve VrZAG79) kullanımı konusunda fikir birliğine varmışlardır. Ayrıca projenin bir diğer çıktısı da Avrupa Vitis SSR markör veritabanı kurulması öngörülmektedir (<http://www.oiv.int>).

Önemli ürün türlerinin bulunduğu, genetik çeşitliliği muhafaza etmek amacı taşıyan USDA (The United States Department of Agriculture) Ulusal Gen Bankası'nda 40 aksesyondan 41 üzüm çeşidi 11 polimorfik mikrosatelit lokusunda araştırılmıştır. Araştırmada yer alan tüm asmalar Çekirdeksiz ya da benzer isme sahip olan sofralık üzüm çeşitleri olmuştur. Morfolojik karakterlerle birlikte yapılan bu çalışmada, bilinen sinonimler doğrulanmış, önceki bilinmeyenler ise ortaya çıkarılmıştır. Literatürde iddia edilen bir sinonim DNA verileri ile çürütülmüştür ve bu verilerle ebeveynleri bilinen bazı çeşitlerin ebeveynleri doğrulanmıştır. USDA koleksiyonunda iki yanlış isimlendirilen çeşidin tanımlanmaları da yapılmıştır. Oluşturulan UPGMA'da (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Means) çeşitler; çoğunlukla Ortadoğu çeşitleri olan 9 çeşit; "Thomson Seedless" ile morfolojik benzerlik gösteren Rusya ve Afganistan'dan 22 aksesyon ve çoğunlukla Doğu Avrupa şaraplık üzüm çeşitlerini içeren 11 aksesyondan oluşan grup olmak üzere 3'e ayrılmıştır (Dangl et al., 2001).

Crespan et al., (2003), Yerel İtalyan asma gen kaynaklarını tanımlamışlar ve farklı coğrafik bölgelerde yetiştirilen çeşitlerin sinonimlerini ortaya çıkarmışlardır. Başlangıçta yapılan ampelografik

karşılaştırmalar sonucu sinonim olabileceği öne sürülen çeşitlerin (Prosecco lungo ve Tocai nostrano; Aleatico, Vernaccia di Pergola ve Moscatello nero; Bianchetta trevigiana, Vernassiana, Vernanziana ve Senese; Pedevenda ve Verdis; Malvasia bianca lunga ve Fresia; Ranaccio ve Grenache) ampelografik, ampelometrik, GPI ve PGM izoenzim analizleri, mikrosatelit DNA markörler ve aromatik maddelerin kimyasal analizleri gibi değişik yöntemlerle karakterizasyonu yapılmıştır. Sonuçta, yapılan analizler birbirini tamamlamış ve her aksesyon grupları için başlangıçta öne sürülen sinonimler doğrulanmıştır

This ve arkadaşları (2004), farklı laboratuvarlarda elde edilmiş mikrosatelit profillerin karşılaştırılmasını yapmak amacıyla, 46 üzüm çeşidini 6 lokusta (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 ve VrZAG79) incelemişlerdir. Yaygın bir şekilde kullanılan ve bu çalışmadaki 6 markörün, gelecekteki asma çeşit analizi için asgari standart markör seti olarak kabul edilmesi önerilmiş ve diğer çeşitlerin, burada sunulan kodlu referans allellerle tanımlanabileceği belirtilmiştir.

Akkak ve arkadaşları (2007), dünyadaki toplam meyve üretiminin en azından %20'sinin sofralık üzüm olduğuna göre en yaygın yetiştirilen meyvelerden birisi asmadır. Bazı üzüm çeşitlerimiz uluslararası öneme sahiptir. En önemli çeşitler arasında yer alan Cardinal 1939 yılında "Flame Tokay" (sin. Ahmer Bou Amer) Kaliforniya'da "Riber" (sin. Alphonse Lavallée) melezlemesiyle elde edilmiştir. Cezayir ve diğer Akdeniz ülkelerindeki koleksiyonlardaki asma çeşitlerinin DNA'ları incelendiğinde, şaşırtıcı şekilde Cardinal'in bu melezlemeden oluşmadığı belirtilmiştir. Cardinal'in Flame Tokay'ın ebeveyni olmadığı

bu genetik çalışmada kanıtlanmıştır. Aynı zamanda “Ahmer Bou Amer” le sinonim olduğu düşünülen “Flame Tokay”ın VVS5 mikrosatelit lokusuna göre mutanti olduğu bu çalışmada belirtilmektedir.

San Michele all’Adige Enstitüsü’nde yapılmış olan ıslah çalışmalarında elde edilen “Incrocio Rigotti” (IR) melezlerinin ve olası ebeveynleri arasındaki genetik ilişkinin belirlenmesi için yapılan çalışmada floresan tabanlı kapılar elektroforez teknolojisi ve parçaçık büyüklüğü yazılım programı kullanılmıştır. 11 melez çeşitte ve varsayılan 13 ebeveyn çeşitler üzerinde 8 SSR markörüyle genotip belirlenmiş ve renkli çeşitlerin ileri karakterizasyon çalışmalarında, IR ve ilgili çeşitlerin antosiyanin paterni de elde edilerek de tanımlama yapılmıştır. Sonuçta IR 107-2 ve IR 107-3 (Rebo) melezleri aynı bulunmuştur. Aynı çeşide ait aksesyonlar arasında herhangi bir polimorfizm gözlenmemesine rağmen, tüm ebeveyn ve IR çeşitleri eşsiz genotipler olduğu ortaya çıkmıştır. Bazı durumlarda, ıslahçılar tarafından belirtilen ebeveynler, IR’nin tüm genotipleriyle tutarlılık göstermemiştir (Malossini et al., 2000).

Crespan ve Milani (2001) tarafından misket çeşitlerinde yapılan çalışmada, morfolojik görünüş, tane rengi ve büyüklüğü, olgunlaşma zamanı, sofralık ve/veya şaraplık üretim için eğilimi göz önüne alınarak Misket familyasının çeşitliliğini temsil eden, 64 aksesyon analiz edilmiştir. Analizde ayrıca 2 izoenzim ve 25 mikrosatelit lokus incelenmiştir. 64 aksesyondan 20’si moleküler düzeyde birbirinden ayırt edilebilmiş, geriye kalan 44 genotipin sinonim olduğu bulunmuştur. Beyaz misket grubunda kırmızı ve pembe taneli üç mutant çeşit ayırt

edilmiştir. Ayrıca, Beyaz misket ve İskenderiye Misketi'nin Misket ailesinin atası olabileceği belirtilmiştir.

İspanya'da Garnacha, Garnacha Tintoera adıyla yetiştirilen ve bunun yanında sinonimleri olan diğer tenturiye aksesyonların 24 mikrosatelit lokusta ve AFLP makörlerle moleküler analizi yapılmıştır (**Cabezas et al., 2003**). Araştırma sonuçlarına göre, Garnacha Tinta (kırmızı), Garnacha Gris (gri), Garnacha Blanca (beyaz) ve Garnacha Peluda (tüylü)'nin aynı genotipe karşılık geldiği ve muhtemelen sürekli meydana gelen somaklonal mutasyonlar sonucunda oluştukları düşünülmektedir. Bunun tersine Garnacha Tintoera, 3 farklı tenturiye genotipi içeren heterojen bir grup olduğu tanımlanmıştır.

Fatahi et al., (2003), İran ve ABD'den alınan 62 asma (*Vitis* spp.) aksesyonlarını, kapılar elektroforez parçaçık büyüklüğü sistemi ve floresan işaretli primer kullanarak 9 yüksek düzeyde polimorfik mikrosatelit lokusta tanımlamışlardır. Her lokusta gözlenen allel sayıları 4–16 ve heterozigotluk oranı 0.47–0.86 arasında değişmiştir. Genetik benzerlik, her aksesyonun diğeriyle karşılaştırılarak paylaşılan allel oranı ile değerlendirilmiştir. Genetik farklılık değerlerinden bir dendogram oluşturulmuş ve sofralık, şaraplık ve anaç olmak üzere 3 grup ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda bu dendogram, İran sofralık üzüm çeşitleri arasında sinonim ve homonimlerin yanısıra 3 klonal grubu (Askari, Bidane ve Yaghoti) da ortaya çıkartmıştır.

Kafkasya geçiş Bölgesi ve Anadolu'dan alınan çeşitlerin mikrosatelit tanımlamasının yapıldığı bu çalışmada 12 mikrosatelit

markör (VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD28, VVMD31, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79, VVS2, VMC2C3, VMC2H4, VMC5A1) kullanılmıştır. Ermenistan'dan 13, Gürcistan'dan 41 ve Türkiye'den 62 olmak üzere toplam 116 aksesyon üzerinde çalışılmıştır. Her lokustaki allel sayıları 6'dan (VVMD24) 16'ya (VVMD28 ve VVMD32) kadar değişmiş ve 11,9 ortalama göstermiştir. Gözlenen heterozigotluk oranı 0,796 bulunmuştur. Kullanılan markörler içinde en bilgi verici lokusun VMC2H4 ve en az bilgi verenin ise VVMD24 lokusunun olduğu görülmüştür. Türk çeşitlerinden Dımışkı, Luvanek, Morek, Sungurlu ve Vilki çeşitlerinde 3 allelli durum gözlenmiştir. Çalışmada 20 sinonim ve 6 homonim duruma rastlanmış ve sonuçta 89 farklı üzüm çeşidi belirlenmiştir (**Vouillamoz et al. 2006**).

Arroyo-Garcia ve arkadaşları (2006), yaklaşık 10 ülkeden toplayıp 1000'in üzerinde kültür ve yabani çeşitlerinde kloroplast SSR ile yaptıkları çalışmalarda üzümün iki orijininden birinin Anadolu diğerrinin ise İspanya olduğu (şaraplık çeşitler) olduğunu tespit etmişlerdir.

Ticari olarak kabul edilen 18 üzüm çeşidinin mikrosatelit markörler kullanarak genotip profilleri çıkarılmış ve mevcut referans verilerle kıyasladıklarında; 11 üzüm çeşidinin ismine doğru olduğunu 4 üzüm çeşidinin ise farklı isimlerle piyasaya arz edildiğini ve kuru üzüm örneklerinin de "Sultani" çeşidi olduğunu, ayrıca "Greek Rosaki" olarak piyasada bulunan üzüm çeşidinin genetik profillerinin incelenmesi sonucu "Regina" üzüm çeşidi olduğunu ortaya çıkartılmıştır. Ayrıca araştırma sonuçları, DNA düzeyindeki genetik tanımlama metotlarının,

yaş üzümler ve kuru üzümlerde de başarıyla uygulanabildiği saptanmıştır (Sefc et al., 1998b).

Karaağaç (2006), tarafından, Gaziantep iline ait toplam 48 üzüm çeşidinin (*Vitis vinifera* L.) 17 mikrosatelit markör kullanarak genetik düzeyde allel profilleriyle genetik tanımlamaları yapılmış ve aralarındaki genetik benzerlikleri araştırılmıştır. Lokuslarda gözlenen allel sayısının 13 ile 4 arasında (VVS2, VMC6F1) değiştiğini, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı ortalama sırasıyla 0.720 ve 0.689 olarak bildirilmiştir. Dendogramda 2 ana grup ortaya çıkmıştır. Genotipler arasında Gaziantep ilinden alınan Dusuzu ile Dımışkı çeşidi sinonim bulunmuştur. Yine Tekirdağ ve Gaziantep ilinden alınan Rumi çeşitleri dışında 5 homonim durumuna rastlanmıştır. Gaziantep'ten alınan Kışüzümü ve Sergi karası, Sarı kabarcık ve Serpenekıran arasında yakın bir benzerlik oranı gözlenmiştir. Bunların aynı genotipe sahip ve muhtemel somaklonal varyant olabileceği belirtilmektedir.

Günümüzde Türkiye asmanın evriminde, üzümün doğup geliştiği bölgelere coğrafik yakınlığından dolayı önemli bir rol oynamaktadır. Türkiye'de bulunan zengin asma gen kaynağına rağmen yeterli genetik analiz yapılmamıştır. **Şelli ve arkadaşları (2007)** yaptıkları çalışmada, Dimrit ve Gemre üzüm gruplarından oluşan 31 üzüm çeşidini 8 SSR lokusu ile (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VrZAG62, VrZAG79) analiz etmişlerdir. SSR verileri üzerinden dendogramda bu iki grup arasındaki genetik farklılık tespit edilmiştir. Bu çalışmada birçok ampelografik özellikleri de incelemişlerdir. Bununla birlikte genotipler ve ekocoğrafik dağılım arasındaki genetik ilişki

açısından önemli bir korelasyon görülmemiştir. Genetik tanımlamada iki Gemre aksesyonu benzer olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak bazı sinonim ve homonim genotipler belirlenmiştir.

Gizella ve arkadaşları (2007), asmanın genomunu araştırdıkları çalışmalarında, 48 üzüm çeşidinin 4 enzim sistemi (CO, GOT, AcP, PER) ve 6 mikrosatellite lokusta (VVS2, VVS16, VVMD7, VMC4A1, VMC4G6, VrZaG79) analizini yapmışlardır. Araştırmada yer alan enzim sonuçlarının tekrarlanabilir olduğu ve odunsu sürgünün örnek alma zamanı asmanın dinlenme periyoduna bağlı kalınmaksızın alınabileceğini belirtmişlerdir. Temel alınan 4 enzimin izoenzim bant desenleri baz alınarak, Badacsony ve Pécs'teki FVM Bağcılık ve Şarapçılık Araştırma Enstitüsündeki koleksiyon bağında araştırılan 48 çeşidin çoğunun (40 çeşit) kimliği belirlenmiştir. İzoenzim bant desenleri arasında bir korelasyon bulunmuş ve convarietas grubuna ait olan convarietas pontica çeşitleri diğer convarietasın doğu ve batı çeşitlerinden farklılık gösterirken, son iki grup birbirinden büyük farklılık göstermemektedir. Pontican çeşitleri AcP izoenzimiyle tanımlaması yapılabilmektedir, Fakat nadiren diğer iki grupta da görünmüştür. Araştırmada yer alan 48 çeşitten 46'sı mikrosatellit analizlerle tanımlanabilmektedir. Mikrosatellit analizler sonucunda VMC4A1 lokusunda Pinot concul'ta'nın farklılık gösteren 2 çeşidinin 'Pinot gris' ve 'Pinot blanc' olduğu belirtilmiştir

İşçi (2007) yaptığı çalışmada, hastalıklara dayanım ve diğer morfolojik özellikler bakımından açılım gösteren F1 popülasyonundan seçilen 60 adet F1 bitkisi ile melezleme için kullanılan İtalia ve Mercan üzüm çeşitleri analiz edilmiştir. Elde edilen amplifikasyon ürünleri 20

adet SSR primeri için gümüş boyama, 24 adet AFLP primeri için radyoaktif işaretleme sonucunda “var” ve “yok” şeklinde değerlendirildikten sonra χ^2 testleri sonucunda 1:1 ve 3:1 dağılım gösteren polimorfik lokuslar tespit edilmiştir. Haritalamanın yapılmasında Mapmaker/Exp 3.0 paket programında 3.0 LOD değeri kullanılmıştır. Ana ve babaya ait 2 ayrı genetik bağlantı haritası bulunmuştur. Harita anaya ait 6, babaya ait 1 bağlantı grubu içermektedir. Bağlantı gruplarına yerleşen lokusların incelenen hastalıklara dayanım ve morfolojik karakterlere olan bağlantıları regresyon ve varyans analizleri yapılarak belirlenmiştir.

Üzüm çeşitleri ürün verimi, alkol oranı, asitlik ve antosiyanin değerleri yönünden aralarında farklılık gösterirler. Bu özellikler şarap kalitesiyle doğrudan ilişkili olduğu için, şırada ve şaraplarda üzüm çeşitlerinin doğru bir şekilde tanımlanabilmesi ve belirlenebilmesi son derece önemlidir. Mikrosatelit çalışmaları bu tanımlamalarda da önem taşımaktadır.

Faria ve arkadaşları (2000), çeşit şıralarının ismine doğruluğunu DNA tabanlı mikrosatelit yöntemi ile araştırmışlardır. En önemli 5 porto şarabı çeşidi (Tinta Roriz, Tinto Cão, Touriga Francesa, Touriga Nacional ve Tinta Barroca) 4 mikrosatelit lokusta çalışılmış ve ayrıca bu 5 çeşit şırası ve bunların kombinasyonu olan 26 şıra karışımı da 4 mikrosatelit lokusta (VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVS2) incelenmiştir. İlgili çeşitlerin yaprak ve şıralarının bant profilleri arasında bir fark bulunmamıştır. Tüm şıra kombinasyonları çeşide ait bant profilleri bileşenlerinin toplamına bağlı olarak beklenen bant

profillerini göstermiştir. 26 şıra karışımından 8'i 4 lokusta ayırt edilebilmiştir. Bu metot, sadece belli bir çeşidin varlığı veya yokluğunu belirlemekle kalmamış, aynı zamanda şıranın içinde mevcut olan çeşitlerin tespitini de yapmıştır.

Balerias-Couto ve Eiras-Dias (2006), yaptıkları çalışmada Touriga Franca, Fernão Pires, Tinta Barroca, Tinta Cão ve Marselan isimli beş çeşitten üretilen şıra ve şaraplarda DNA analizlerini baz alınarak moleküler metotlarla tanımlamalar yapılmıştır. Başlangıç olarak şıra ve şaraptan DNA izolasyonu için üç DNA ekstraksiyon metodu kıyaslanmış ve optimize edilmiştir. Altı nükleer ve iki kloroplast mikrosatelit markörü tek çeşitten üretilen şaraplar ve laboratuarda iki çeşidin karışımıyla hazırlanan şıraların kimlik belirlenmesi için kullanılmıştır. İlk değerlendirmeye göre karışımdaki her çeşidin oranı arasındaki olası ilişki ve otomatik dizi analiz sisteminde elde edilen allellerin yoğunluğu belirlenmiş; karışımdaki çeşitlerin belirlemenin mümkün olabileceği desteklenmektedir. Araştırmanın sonuçları şaraptan DNA izole edilebileceğini ve mikrosatelit amplifikasyonuna uygun olduğunu göstermektedir. Kloroplast genomunda hedefe yönelik kısa DNA parçacıklarının markör olarak ilk kez şaraplarda asma DNA sını belirlemek için faydalı bir araç olduğunu gösterilmiş; buna göre şaraplarda orijin sertifikasyonu ve şarap kalitesini kontrol etmede bu tekniklerin uygulamasının mümkün olduğu belirtilmektedir.

2.6. SSR Tekniğinin Klon ve Tiplerin Tanımlanmasında Kullanımı

Üzüm ticaretinde Avrupa Birliği Ülkeleri (Reg. 1730/87, Eun 163, 23/6/87) tarafından belirlenen kurallara göre çeşidin ismine doğru olduğunun tespiti gerekebilmektedir. Üzüm çeşitlerini tanımlamak için mikrosatelit-SSR uygun bir metottur (**Sefc et al., 1998**). Mikrosatelit (SSR) markörler tekrarlanabilir bantlar oluşturması nedeniyle çeşitlerin tanımlanmasında tercih edilmektedir (**Regner et al.,2000**).

Klonların korunması, ıslah kuruluşlarının kanuni haklar elde etmesi ve klonlar arasındaki farklılıkları karakterize etmek ve tanımlamak için biyokimyasal analizler ve ampelografik tanımlamalar yeterli olmamaktadır (**Regner et al., 2000**). Mikrosatelit-SSR markörler; yüksek stabilite göstermelerinden dolayı klonal asma materyalinin karakterizasyonu ile ilgili verileri saptamak için uygun tekniklerden birisi olarak gösterilmektedir (**Regner et al., 2001**).

Merdinoglu ve arkadaşları (2000), tarafından yapılan çalışmada, *Vitis vinifera*'nın 12 çeşidine ait 21 klonun testinde üç farklı DNA markörü (RAPD, AFLP, SSR) kullanılmıştır. Her çeşidin kendine özgü verdiği bantlar ile çeşitlerin ayrımı sağlanmış ve bir dendogram oluşturulmuştur. Bu dendogramda 7 grup belirlenmiştir.

Çeşitler arasındaki genomik benzerliği belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, Alplerin kuzey ve güney yamaçlarından alınan “Schiave” grubuna ait 10 üzüm çeşidinde AFLP ve SSR kombine olarak kullanılmıştır (**Fossati et al., 2001**). Sonuç olarak, çeşitler arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, AFLP ve SSR' ın eşit şekilde etkili olduğu belirlenmiştir.

Silvestroni ve arkadaşları (1997), “Fortana” klonlarında 6 mikrosatelit primerleri ile tekrarlanabilen analizler yapmışlardır. Bütün klonlarda bir primer çifti benzer DNA profilleri gösterirken, 5 tanesi klonlar arasında polimorfizm olduğunu göstermiştir. Ayrıca her klonun allel büyüklüklerini de saptamışlardır.

Regner ve arkadaşları (2000), Beyaz Riesling üzüm çeşidinin 10 klonunda RAPD, SSR ve ISSR markörleriyle genetik poliformizmi araştırmışlardır. Klonların hepsinde bu üç markör sistemleriyle polimorfizm olduğu görülmüştür. Tanımlamalarda RAPD profilinde stabilite yetersiz görülürken SSR ve ISSR allelleri aynı klon örnekleri içinde tekrarlanabilmişlerdir. SSR ve ISSR markörleri yüksek stabilite göstermelerinden dolayı bu metotlar veri bankası oluşturulması için uygundur.

Regner ve arkadaşları (2001), çalışmalarında, *Vitis* türlerinden alınan 1200 asma genotipinin belirlenmesinde SSR, ISSR, AFLP ve RAPD markörleri kullanılarak yapılmıştır. Polimorfik 6 markör lokusu ile tüm asma çeşitlerini ayırlabildiklerini belirten araştırmacılar, bazı üzüm çeşitlerinin orijinini belirlemişlerdir. Klonları ayırt etmede RAPD ve ISSR markörleri uygulanmıştır. Klonları tanımlamanın SSR markörleri ve null allelleriyle de mümkün olduğunu belirtmişlerdir. RFLP ve RAPD markörlerin genetik tanımlamada sınırlı bir kullanımı varken SSR markörleri şu anda da güçlü bir araç olduğunu ve RFLP ve RAPD ‘e göre avantajlara sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Riaz ve arkadaşları (2001), genetik açıdan klonların farklılığı mikrosatelit markörlerle araştırılmıştır. 22 Pinot Noir ve 22 Chardonnay klonunu ekonomik önemleri ve farklı coğrafik orijinlere sahip olmalarından dolayı çalışmada kullanmışlardır. Her bir klon için toplam

92 mikrosatelit markör kullanılmış, 92 markörden 8'i Pinot Noir'ın, 4'ü Chardonnay'in klonlarında polimorfizm göstermişlerdir. Çalışmada kullanılan grup içerisinde 7 Pinot Noir ve 5 Chardonnay klonu ayırt edilmiştir. Asma yetiştiriciliğinde önemli bir yatırımdan önce fidanlıklarda çok genç bitkilerde klonların adına doğruluğunu belirlemek için mikrosatelit markörler kullanılabileceğini ve daha çok sayıda polimorfik mikrosatellit markör kullanıldığında ekonomik öneme sahip Pinot Noir ve Chardonnay klonlarının bireysel ayrımının mümkün olduğunu belirtilmişlerdir. **Vignani et al. (2002)**, 8 mikrosatelit markör kullanarak "Sangiovese" nin farklı klonlarını ayırt etmişlerdir. Ayrıca, AFLP tekniği de uygulanmış ve sonuçların mikrosatelit lokuslardan elde edilen verilerle örtüştüğü görülmüştür.

İslah çalışmalarında genetik analizler, klonlar arasındaki farklılığı ortaya koymada kullanılan bir araçtır. Çoğu bağ yetiştiricisi geleneksel bir çeşidin klonunu üretmeyi tercih eder. Fransa' da ve kontrollü üretim yapılan diğer ülkelerde bağcılık, AOC etiketi taşıyan klonlarla üretilme zorunluluğu bulunmaktadır. Dolayısıyla klon materyalinin tanımlanması klonal ıslahta kabul edilen bir yöntemdir. RAPD, AFLP, ISSR ve MSAP (Methylation-Sensitive Amplified Polymorphism) (Imazio et al. 2002) markörleri yüksek derecede polimorfizm verseler bile, SSR markörlerinin stabil, üretken ve genomda bilinen bir pozisyonda olmalarından dolayı daha fazla kabul görmektedirler (Adam-Blondon et al. 2004). Klonal tanımlama amacıyla, VRGs gibi SSR markörleri de oldukça değişken bölgelere bağlanabildiklerinden, oldukça faydalı bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır (**Regner et. al., 2006**).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, 2004-2007 yılları arasında Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Bağları, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan materyaller, Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nde mevcut klon seleksiyonu sonucu elde edilen klonlar, Klon Bağları, Sultani Çekirdeksiz çeşidine ait farklı tipler, Tip Koleksiyon Bağları ve Ege Bölgesinde yetiştirilen yöresel çeşitler de Çeşit Koleksiyon Bağlarından elde edilmiştir. Araştırmada, Ege Bölgesi üzüm çeşitlerine ait 9 klon (Gemre üzüm çeşidinin 6, 11, 12, no'lu, Osmanca üzüm çeşidinin 26, 39, 40 no'lu, İpek üzüm çeşidinin 4, 13, 25 no'lu), 5 tip (Sultani üzüm çeşidinin T3, T15, Y3, S4, S6 no'lu), 15 yerli çeşit (Kozak Beyazı, Kozak Siyahı, Kokulu Misket, Buca Razakısı, Aydın Razakısı, Dumanlı Gemre (kol.) Dumanlı Gemre (os.), Siyah Gemre, Sultani Gemre, Gökçe Gemre, Halis Gemre, Foça Karası (09) Foça Karası (17), Foça Karası (M), Bornova Misketi) ve 2 adet referans (Cabernet Sauvignon ve Merlot) olmak üzere toplam 31 üzüm çeşidi kullanılmıştır. Çalışılan 31 genotipin kısa ampelografik özellikleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Çalışmada adı geçen genotiplerin asmalarından süren genç yaz sürgünlerinin uçları çalışma materyalini oluşturmuştur.

Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan üzüm çeşitlerine ilişkin kısa ampelografik özellikler

No	Çeşit Adı	Sinonim	Salkım Şekli	Salkım Ağırlığı (g)	Tane Şekli	Tane Rengi	Tane Ağırlığı (g)	Aroma	Değ. Şekli	Verim (kg/da)	Olgunlaşma
1	Kozak Beyazı ¹	Şika	Konik	Orta (400-500)	Yumurta	Yeşil-sarı	İri (5.0-6.0)	Tatlı, hafif mayhoş	Sofralık	Fazla (1797)	Geç
2	Kozak Siyahı ¹	-	Dağınık konik, dallı	Orta (250-300)	Basık oval	Siyah	Orta (4-5)	Tatlı	Sofralık	Fazla (2806)	Geç
3	Kokulu Misket ²	-	Dallı konik	Orta (406)	Yuvarlak	Yeşil-sarı	Orta (2.8)	Hafif misket	Şıralık	Ç. fazla (3813)	Orta-geç
4	Bornova Misketi ³	-	Konik-silindirik	Orta (250-300)	Yuvarlak	Yeşil-sarı	Küçük (2.0)	Misket kokulu	Şaraplık	Ç. Fazla (3591)	Orta erken
5	Buca Razakısı ⁴		Konik	İri (550)	Uzun elips	Yeşil-sarı	Ç. büyük (8.0)	Az tatlı	Sofralık	Fazla (1692)	Geç
6	Aydın Razakısı ⁴		Dallı konik	Orta (488)	Kısa elips	Yeşil-sarı	Ç. büyük (7.0)	Nötral	Sofralık	Orta (1498)	Geç
7	Foça Karası (09) ²		Konik	Orta (360)	G. yumurtamsı	Kırmızı-siyah	Orta (3.7)	Nötral	Şaraplık	Orta (1470)	Orta mevsim
8	Foça Karası (17) ²		Kanatlı konik	Orta (370)	Kısa elips	Kırmızı-siyah	Orta (3.0)	Nötral	Şaraplık	Az (958)	Orta mevsim
9	Foça Karası (M) ²		Silindirik	Küçük (227)	G. yumurtamsı	Pembe	Orta (3.4)	Nötral	Şaraplık	Orta (1453)	Orta mevsim
10	Osmanca (26) ⁵	Osmancık	Konik	Orta (500)	Yuvarlak	Yeşil-sarı	Orta (3.7)	Nötral	Sofralık	Ç. Fazla (2790)	Geç

¹ Anonim, 2007² Dilli, 2008³ Çelik, 2006⁴ Samancı ve Uslu, 1992⁵ Kader, 2005

Çizelge 3.1 (devamı)

No	Çeşit Adı	Sinonim	Salkım Şekli	Salkım Ağırlığı (g)	Tane Şekli	Tane Rengi	Tane ağırlığı (g)	Aroma	Değ. Şekli	Verim (kg/da)	Olgunlaşma
11	Osmanca (39) ⁵	Osmancık	Konik	Orta (520)	Yuvarlak	Yeşil-sarı	Orta (4,0)	Nötral	Sofralık	Ç.fazla (3200)	Geç
12	Osmanca (40) ⁵	Osmancık	Konik	Orta (500)	Yuvarlak	Yeşil-sarı	Orta (3,6)	Nötral	Sofralık	Ç. fazla (2740)	Geç
13	İpek (4) ²	Pek	Dallı konik	Orta (545)	Kısa Elips	Yeşil	Orta (3,9)	Nötral	Sofralık	Fazla (2078)	Geç
14	İpek (13) ²	Pek	Dallı konik	Orta (499)	Kısa Elips	Yeşil	Fazla (4,6)	Az tatlı	Sofralık	Az (946)	Geç
15	İpek (25) ²	Pek	Dallı konik	Orta (371)	Kısa Elips	Yeşil-sarı	Fazla (4,3)	Az tatlı	Sofralık	Orta (1376)	Geç
16	Sultani Çek. T3 ⁶		Kanath silindirik uzun	Orta (370)	Yumurta, basık yumurta	Yeşil-sarı	Ç. az (1,3)	Nötral	Kurutmalık	Fazla (2280)	Orta mevsim
17	Sultani Çek. T15 ⁶		Kanath silindirik uzun	Orta (429)	Basık yumurta	Yeşil-sarı	Ç. az (1,4)	Nötral	Kurutmalık	Ç. fazla (2780)	Orta mevsim
18	Sultani Çek. Y3 ⁶		Kanath silindirik uzun	Orta (326)	Yumurta, basık yumurta	Yeşil-sarı	Ç. az (1,4)	Nötral	Kurutmalık	Fazla (1950)	Orta mevsim
19	Sultani Çek. S4 ⁶		Kanath silindirik uzun	Orta (329)	Basık yumurta	Yeşil-sarı	Az (1,6)	Nötral	Sofralık	Fazla (1800)	Orta mevsim
20	Sultani Çek. S6 ⁶		Kanath silindirik uzun	Orta (494)	Yumurta	Yeşil-sarı	Az (1,8)	Nötral	Sofralık	Fazla (82540)	Orta mevsim

⁶ Ilgın vd.,1999

Çizelge 3.1 (devamı)

No	Çeşit Adı	Sinonim	Salkım Şekli	Salkım Ağırlığı (g)	Tane Şekli	Tane Rengi	Tane ağırlığı (g)	Aroma	Değ. Şekli	Verim (kg/da)	Olgunlaşma
21	Pembe Gemre (6) ⁷		Dallı konik	İri (739)	Yuvarlak	Pembe	Ç. fazla (7.5)	Nötral	Sofralık	Fazla (2397)	Geç
22	Pembe Gemre (11) ⁷		Dallı konik	İri (755)	Yuvarlak	Pembe	Ç. fazla (7.0)	Nötral	Sofralık	Fazla (2865)	Geç
23	Pembe Gemre (12) ⁷		Dallı konik	İri (801)	Yuvarlak	Pembe	Ç. fazla (7.2)	Nötral	Sofralık	Fazla (2569)	Geç
24	Dumanlı Gemre (kol.) ⁷		Konik	İri (551)	Yuvarlak	K. kırmızı-mor	Orta (3.5)	Az tatlı	Sofralık	Ç. fazla (3937)	Geç
25	Dumanlı Gemre (os.) ²		Dallı dağınık konik	Orta (362)	Yuvarlak	K. kırmızı-mor	Orta (4.0)	Hafif misket	Sofralık	Fazla (1968)	Geç
26	Siyah Gemre ⁷		Dallı dağınık konik	Orta (431)	Yuvarlak	Kırmızı-siyah	Orta (2.8)	Az tatlı	Sofralık-şıralık	Fazla (2805)	Geç
27	Sultani Gemre ⁷		Konik	Orta (426)	Kısa yumurta elips	K. kırmızı-mor	Orta (3.5)	Nötral	Sofralık	Ç. fazla (3038)	Geç
28	Gökçe Gemre ⁷		Dallı konik	Orta (507)	Yuvarlak	K. kırmızı-mor	Orta (3.1)	Nötral	Sofralık	Fazla (2606)	Geç
29	Halis Gemre ⁷		Konik	Orta (471)	Yuvarlak	K. kırmızı-mor	Orta (3.1)	Az tatlı	Sofralık	Fazla (2320)	Geç

⁷ Dilli ve Kader, 2005



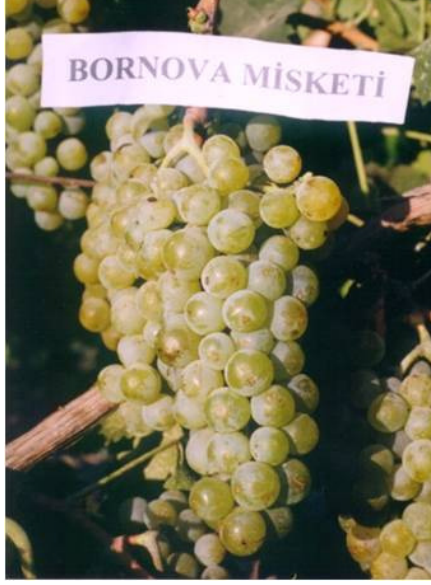
Kozak Beyazı



Kozak Siyahı

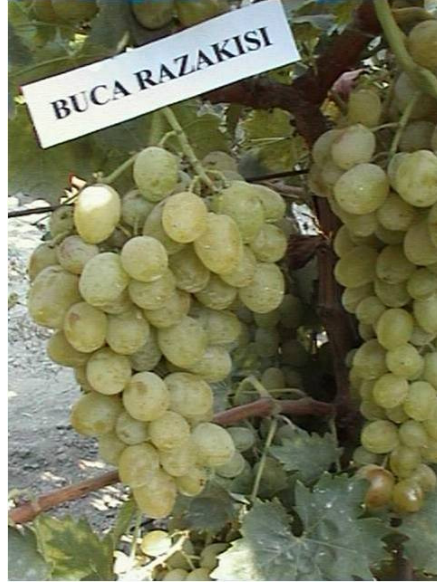


Kokulu Misket

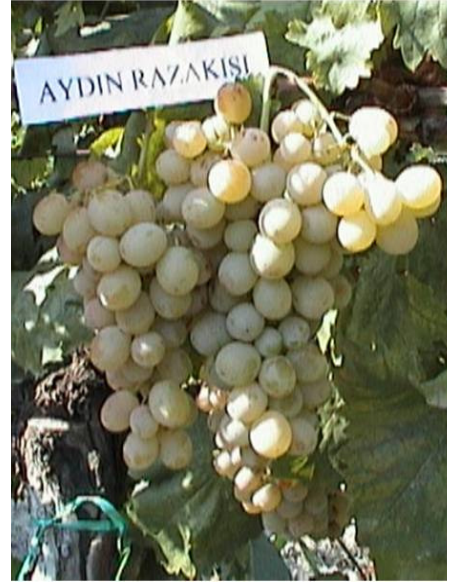


Bornova Misketi

Şekil 3. 1. Araştırmada Kullanılan Üzüm Çeşitleri



Buca Razakısı



Aydın Razakısı



Foça Karası (09)



Foça Karası (17)

Şekil 3. 1. (Devamı)



Foça Karası (M)



Osmanca (26)

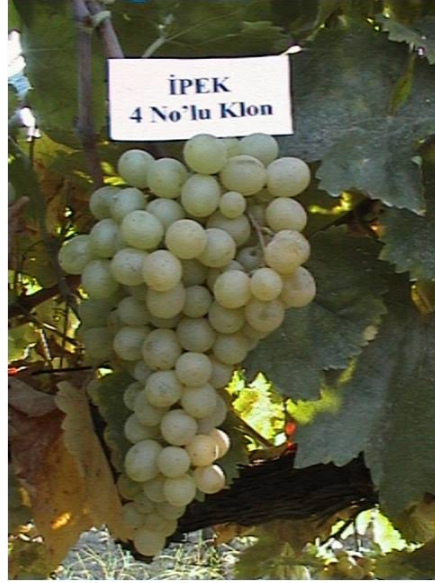


Osmanca (39)



Osmanca (40)

Şekil 3. 1. (Devamı)



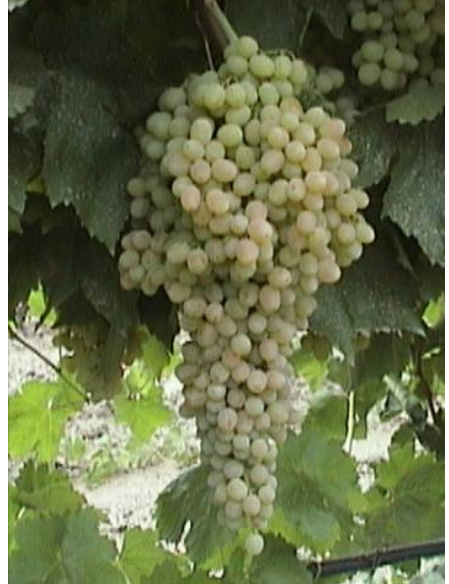
İpek (4)



İpek (13)



İpek (25)



Sultani Çekirdeksiz (T3)

Şekil 3. 1. (Devamı)



Sultani Çekirdeksiz (T15)



Sultani Çekirdeksiz (Y3)



Sultani Çekirdeksiz (S4)

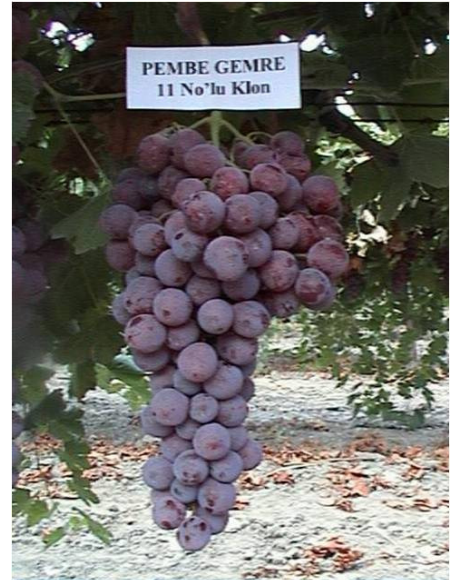


Sultani Çekirdeksiz (S6)

Şekil 3. 1. (Devamı)



Pembe Gemre (6)



Pembe Gemre (11)



Pembe Gemre (12)

Şekil 3. 1. (Devamı)



Dumanlı Gemre (Kol)



Dumanlı Gemre (Os.)



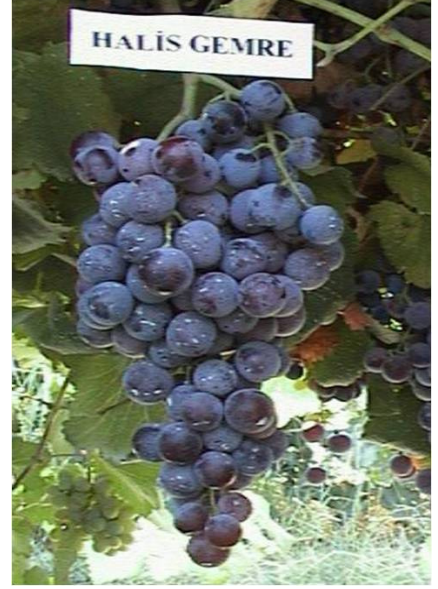
Siyah Gemre

Sultani Gemre

Şekil 3. 1. (Devamı)



Gökçe Gemre



Halis Gemre

Şekil 3. 1. (Devamı)

3.2. Yöntem

Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nde klon seleksiyonu sonucu elde edilmiş Çekirdeksiz tiplerin, klonların ve Ege Bölgesi için önemi olan bazı yerel çeşitlerimizin DNA düzeyinde benzerlik ve farklılıkların araştırılması ve tanımlaması için SSR tekniği kullanılmıştır. Bunun için DNA izolasyonu, PCR uygulaması, SSR tekniğinin poliakrilamid jel kullanılarak dikey elektroforezde uygulanması ve jel sonuçlarının gümüş boyama ile görüntülenmesi ve sonuçların değerlendirilmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. DNA izolasyonu

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

- Genç yaprak havana konulup sıvı azotla havanda iyice ezildi,
- Toz haline gelen yaprak örneğinden 0,1 gr alınarak 1,5 µl ependorf tüplere aktarıldı,
- Üzerine 1 ml DNA ekstraksiyon tampon çözeltisi ilave edildi ve homojen hale gelinceye kadar ependorf tüpe hafifçe vurarak karışması sağlandı,
- 65 °C'de 15 dakika sıcak suda bekletildi,

- Üzerine 0,5 ml kloroform/isoamil alkol (24:1) karışımı eklendi ve hafif birşekilde iyice çalkalandı, bu arada buzda bekletildi,
- Oda sıcaklığında, 1 dakika 14.000 rpm hızında santrifüj edildi,
- Ependorf tüpün üst kısmındaki sıvı, diğer bir temiz ependorf tüpe aktarıldı,
- Üzerine 0,8 ml isopropanol eklendi,
- 15 dakika buz üzerinde tutuldu ve 1 dakika 14.000 rpm hızında santrifüj edildi,
- Üst sıvı uzaklaştırıldı,
- 1 ml % 70'lik ethanol eklendi ve yine 1 dakika 14.000 rpm hızında santrifüj edildi,
- Eklenen ethanol uzaklaştırıldı ve ependorf tüpün ağzı açık bırakılarak alkolün tamamen uçması sağlandı,
- DNA, 100 µl TE tampon çözeltisi (pH 8,0) içinde çözüldü,
- Her 100 µl için 1 µl RNase-A eklenerek, 37 °C'de 15 dakika etüvde bekletildi.

DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

Ekstraksiyon tampon çözeltisi (100 ml için):

4 ml TRIS (50 mM, pH 8,0)

8 ml EDTA (50 mM, pH 8,0)

20 ml LiCl (4M)

2 g CTAB (% 1)

4 g PVP (% 2)

1 ml TWEEN 20 (% 0,5)

Kloroform/isoamil alkol; (24:1) (hacim:hacim)

TE çözültisi; 10 mM TRIS-HCl ve 1 mM EDTA (pH 8,0) Rnase-A (Sigma R6513); 10 mg/ml

3.2.2. PCR uygulaması

PCR metodu basitçe tüp içerisinde nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılması esasına dayanır. DNA çoğaltımı için PTC-200 MJ Research Type Thermocycler cihazı ve PCR optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. PCR çoğaltma koşullar 3.5 µl DNA, 2. 5 µl 10X Buffer, 2.5 µl MgCl₂, 0.8 µl dNTP, 0.8 µl primer 1 (forward), 0.8 µl primer 2 (reverse), 0.3 µl Taq, 14.8 µl su olmak üzere toplam 25 µl PCR karışımı hazırlanmıştır (Çizelge 3.2).

DNA çoğaltımı için kullanılan PCR programı

1. 94 °C'de 3 dakika,
2. 94 °C'de 1 dakika,
3. 55 °C'de 1 dakika (sıcaklık primerin bağlanma derecesine bağlı olarak değişecektir)
4. 72 °C'de 2 dakika (2., 3. ve 4. aşamaları 10 döngü)
5. 94 °C'de 1 dakika
6. 50 °C'de 2 dakika
7. 72 °C'de 2 dakika (5,6,7 aşamaları 20 döngü)
8. Son yazılım safhasında 72 °C'de 10 dakika

Çizelge 3.2 PCR çoğaltma öğeleri konsantrasyon ve miktarları

PCR Çoğaltma öğeleri	Kullanılan konsantrasyon	PCR’da kullanılan miktar (µl)
DNA	100 ng	3,5
10XBuffer	1X	2,5
MgCl ₂	2.5 mM	2,5
dNTP	2.5 mM	0,8
Primer 1	100 ng	0,8
Primer 2	100 ng	0,8
Taq	1.5 U	0,3
Su		13,8
Toplam		25

Çizelge 3.3 Primerlerin PCR’deki döngü koşulları

Ön denatürasyon	Denatürasyon	Primer bağlanma	Yeni iplikçik yazılımı	Son yazılım	Toplam Döngü sayısı
94 °C 3 dk	94 °C 1 dk	* 55 °C 1 dk	72 °C 2 dk	72 °C 10 dk	30

*: Sıcaklık primerin bağlanma derecesine bağlı olarak değişmiştir.

3.2.3 Çalışmada Kullanılan SSR Primerleri

Çalışmada, GENRES 081 Avrupa Birliği Araştırma Projesince, Avrupa’daki asma çeşit koleksiyonları için kullanılan ve artık tüm dünya tarafından minimum standart set olarak kabul gören VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 ve VrZAG79 mikrosatelit lokusları ve daha önceki çalışmalarda informatif olduğu tespit edilen primerler arasından seçilen VVS1, VVS3, VVS4, VVMD6, VVMD17, VVMD24, VVMD28, VVMD31, VrZAG29, VrZAG67 lokusları da dahil olmak üzere toplam 16 SSR primeri

kullanılmıştır. Her SSR primeri, forward ve reverse şeklinde olup primerlere ait baz dizileri Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4 Araştırmada kullanılan primerlere ait bilgiler

Locus		Primers 5'-3'	Referans
VVS1	F	ACAATTGGAAACCGCGTGGAG	Thomas and Scott 1993
	R	CTTCTCAATGATATCTAAAACCATG	
VVS2	F	CAGCCCGTAAATGTATCCATC	
	R	AAATTCAAAATCTAATTCAACTGG	
VVS3	F	TGCCCTATCAATTAGTTCACCTA	
	R	TCGACTTTGATATATTGATGATT	
VVS4	F	CCATCAGTGATAAACCTAATGCC	
	R	CCCACCTTGCCCTTAGATGTTA	
VVMD5	F	CTAGAGCTACGCCAATCCAA	Bowers <i>et al.</i> 1996 ve 1999a
	R	TATACCAAAAATCATATTCCTAAA	
VVMD6	F	ATCTCTAACCTAAAACCAT	Bowers <i>et al.</i> 1996
	R	CTGTGCTAAGACGAAGAAGA	
VVMD7	F	AGAGTTGCGGAGAACAGGAT	Bowers <i>et al.</i> 1996 ve 1999a
	R	CGAACCTTCACACHCTTGAT	
VVMD17	F	TGA CTC GCC AAA ATC TGA CG	Bowers and Meredith 1997
	R	CAC ACA TAT CAT CAC CAC ACG G	
VVMD24	F	GTG GAT GAT GGA GTA GTC ACG C	Bowers <i>et al.</i> 1996 ve 1999a
	R	GAT TTT AGG TTC ATG TTG GTG AAG G	
VVMD27	F	GTA CCA GAT CTG AAT ACA TCC GTA AGT	
	R	ACG GGT ATA GAG CAA ACG GTG T	
VVMD28	F	AACAATTCAATGAAAAGAGAGAGAGAGA	
	R	TCATCAATTTTCGTATCTCTATTTGCTG	
VVMD31	F	CAGTGGTTTTTCTTAAAGTTTCAAGG	
	R	CTCTGTGAAAGAGGAAGAGACGC	
VrZAG29	F	ATA ACC AGG ACA AGT TAT TCA AGC C	Sefc <i>et al.</i> 1999
	R	ACC CAA TTG ACC ATC TTT TAT GCT G	
VrZAG62	F	GGT GAA ATG GGC ACC GAA CAC ACG C	
	R	CCA TGT CTC TCC TCA GCT TCT CAG C	
VrZAG67	F	ACC TGG CCC GAC TCC TCT TGT ATG C	
	R	TCC TGC CGG CGA TAA CCA AGC TAT G	
VrZAG79	F	AGATTGTGGAGGAGGGAACAAACCG	
	R	TGCCCCCATTTTCAAACCTCCCTTC C	

Araştırma için seçilen 16 SSR (Simple Sequence Repeats) primerleri, MWG-BIOTECH Inc. firması tarafından temin edilmiştir.

3.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi

SSR-PCR tekniği ile elde edilen amplifikasyon ürünleri, poliakrilamid jele yüklemeden önce 10 µl alınarak % 3'lük agaroz jelde kontrol edilmiştir. Agaroz jele yüklenen ürünler, yatay elektroforezde 1X TBE (Tris, Borik asit, EDTA) tampon çözeltisi içinde 100 V'da yaklaşık 2,5 - 3 saat yürütüldükten sonra, etidium bromid (0.01 mg/ml) ile boyanarak; UV altında ($\lambda=302$ nm) gözlemlenmiştir.

9 klon, 5 tip, 15 yerli çeşit ve 2 adet referans çeşit ve 1 negatif kontrol olmak üzere toplam 32 adet bireyde, 16 adet SSR primerlerinin kullanılmasıyla elde edilip agaroz jelde kontrol edilmiş çoğaltma ürünleri (bantlar), % 6'lık poliakrilamid jelde elektroforez edilmiştir.

3.2.5. Poliakrilamid Jel Elektroforezi ve Jel Boyama

Welsh ve arkadaşları (1995), uzunluğu az olan PCR ürünlerinin ayırımında genellikle poliakrilamid jel elektroforezinin (PAGE-jel) kullanıldığını belirtmişlerdir.

SSR tekniği ile genotiplerin moleküler analizi için standart PAGE-jel (%6'lık poliakrilamid, 19:1 akrilamid: bis; 8 M üre, 0,5x TBE (Tris, Borik asit, EDTA) buffer) kullanılmıştır.

Poliakrilamid jele yüklemeden önce SSR markörlerine ait PCR ürünleri ve PCR ürünlerinin yarısı kadar yükleme boyası (loading buffer; %98 formamide, 10 mmol/L EDTA, %0,05 bromofenol mavisi ve xylene cyanol) ile 94 °C'de 5 dakika denatüre edilip, hemen buz üzerine

alınmıştır. PAGE-jel (poliakrilamid) 55°C'ye ulaştıktan sonra, denatüre edilmiş her bir reaksiyondan 10µl olacak şekilde %6'lık poliakrilamid jele yükleme gerçekleştirilmiş ve 100 W'da 2,5-3 saat süreyle yürütülmüştür. 38x45 cm boyutundaki dizi analizi jel tankında (dikey elektroforez) yürütülen bantların görüntülenmesi amacıyla ise gümüş boyama (silver staining) (Silver Sequence Kit, Promega) uygulanmıştır. Daha sonra tarayıcı vasıtasıyla görüntülenerek bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Bio-PROFİL Bio-1D++ programında her bir lokusa ait allel büyüklüğü, baz çifti (bp, basepair) olarak analiz edilmiştir.

3.2.6. Allel Değerlerinin Belirlenmesi ve Genetik Analizler

Araştırmada; genetik parametreler olarak her lokusa ait allel sayısı (n), allel frekansı, beklenen (H_e) ve gözlenen heterozigotluk oranı (H_o), tahmin edilen sessiz allel (null) frekansı (r) ve tespit olasılığı (PI, Probability of Identity).IDENTITY 1.0 (Wagner and Sefc 1999) programı kullanılarak tespit edilmiştir. Beklenen heterozigotluk $1 - \sum p_i^2$ şeklinde hesaplanarak genetik farklılık ölçümü yapılmıştır. Buradaki p_i değeri, çalışılan örnekteki "i" ninci allelin frekansını göstermektedir (Nei 1987). Gözlenen heterozigotluk ise, heterozigot genotiplerle analiz edilen toplam genotip arasındaki orandır. Null allel varlığının tahmini, $(H_e - H_o)/(1 + H_e)$ şeklinde hesaplanmıştır (Brookfield 1996). Tespit olasılığı (PI) (Paetkau *et al.* 1995) iki rastgele seçilmiş bireylerin aynı SSR profile sahip olma olasılığını ifade etmektedir. Bu değer, $\sum p_i^4 + \sum \sum (2p_i p_j)^2$ şeklinde hesaplanır. Burada p_i ve p_j , sırasıyla "i" ve "j" allellerinin frekansını göstermektedir. Daha sonra benzerlik oranı indeksleri Microsat (Minch *et al.* 1995) programı ile genetik uzaklık $D=1 -$ (paylaşılan allel oranı) (benzersizlik oranı, dissimilarity) hesaplanarak

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA'ların, saflık ve miktar değerleri NanoDrop ND1000 ile belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

DNA'ların miktar tayininde absorpsiyon temeline dayanan spektrometrik yöntemler kullanılır. Ölçümlerde nükleik asitler 260 nm'de absorpsiyon değeri (A260); oldukça saf olarak izole edilen nükleik asitlerin mikrogram düzeyinde miktarların belirlenmesinde kullanılır. Sadece A260 değeri DNA ve RNA'yı tam olarak ayırt etmediği için proteinlerin maksimum absorpsiyon özelliği gösterdiği 280 nm'deki ölçüm değerleri de önemlidir. A260/280 oranı DNA'nın saflığı hakkında bilgi vermektedir. Bu oranının 1.8-2.0 arasında olması istenmektedir.

Çizelge 4.1 Araştırmada kullanılan üzüm çeşitlerine ait DNA miktarı ve saflık dereceleri.

Genotip no*	DNA miktarı (ng/µl)	Saflık dereceleri (A260/A280)	Genotip no*	DNA miktarı (ng/µl)	Saflık dereceleri (A260/A280)
1	3832	1,87	16	1509	1,90
2	2311	1,95	17	4231	1,85
3	2186	1,99	18	2988	1,90
4	1800	1,85	19	3323	1,92
5	2134	1,92	20	2570	1,82
6	1607	1,89	21	4926	1,81
7	2749	1,92	22	5026	1,84
8	2280	1,92	23	4799	1,84
9	3402	1,93	24	4387	1,87
10	4692	1,83	25	3359	1,94
11	1789	1,99	26	2975	1,87
12	2890	1,94	27	4261	1,96
13	3648	1,87	28	2450	1,89
14	2272	1,93	29	3906	1,83
15	2182	1,90			

* Çeşitlerin numaralandırma sırası Çizelge 3.1'e göre yapılmıştır.

Bu veriler incelendiğinde DNA miktarlarının 1509 ile 5026 ng/ μ l arasında değiştiği görülmüştür. En az DNA yoğunluğu 16 numaralı Sultani  ek. T3  eşidinde görülürken, 5026 ng/ μ l ile 22 numaralı Pembe Gemre (11) en fazla DNA yoğunluğuna sahip çeşit olmuştur. DNA saflığının genellikle 1.8-2.0 arasında olması istenir. Çalışmada elde edilen DNA saflıklarının 1.81-1.99 aralığında değiştiği  izelge 4.1' de görülmektedir. Buna göre tüm genotiplerin DNA saflıkları yeterli düzeydedir.

4.2. Allel Büyüklükleri

Çalışılan primerlerde parçacık çoğaltımı olup olmadığını anlamak için PCR  r nleri agaroz jele yüklenmiş, çoğaltım gerçekleşmiş ise poliakrilamid jele örnekler yüklenmiştir.

Araştırmada kullanılan primerler için laboratuarda amplifikasyon standardizasyonu yapılarak örnekler üzerinde araştırmalar yürütülmüştür. VVMD24 primeri PCR reaksiyonlarındaki optimize çalışmalarına rağmen sonuç elde edilememiştir.

PCR  r nleri ve PCR hacminin yarısı kadar loading buffer olmak üzere toplam 10 μ l hacim 94 C' de 5 dakika denatüre edilmiş ve örnekler poliakrilamid jele yüklenmiştir. Bantların görüntülenebilmesi amacıyla ise gümüş boyama uygulanmıştır. Daha sonra tarayıcı vasıtasıyla görüntülenerek bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Elde edilen görüntüler Bio-PROFİL Bio-1D++ programında analiz edilmiş ve her bir lokusa ait allel büyüklükleri baz çifti (bp, basepair) olarak  izelge 4.2.'de gösterilmiştir. Ayrıca iki Fransız  eşit Cabernet Sauvignon ve Merlot  eşitleri de referans çeşit olarak örneklerle beraber analiz edilmiştir.

Araştırmada kullanılan 15 primerden, VVMD17 ve VrZAG29 primerlerinin ön istatistik analiz değerleri nedeniyle genetik analizlere dahil edilmemiştir. Yalnızca allell değerleri verilmiştir. Çalışılan genotiplerde, istatistik analizleri yapılan 13 lokusta toplam 143 allel tespit edilmiştir. Allel büyüklüklerine bakıldığında, Sultani Çekirdeksiz çeşidinin T15 ve Y3 tipleri, İpek çeşidinin 13 ve 25, Osmanca üzüm çeşidinin 26 ve 40 no'lu klonları her lokusta aynı allelleri vermiştir. Sultani Çekirdeksiz çeşidinin T3, T15 ve Y3 tipleri VVMD6 ve VVMD31 lokuslarında 3 allel; Sultani Çekirdeksiz çeşidinin S4 ve S6 tipleri VVMD31 lokusunda 2 allel bakımından farklılık göstermiştir. Osmanca 26, 39, 40 no'lu klonları arasında 3 allel farklı bulunmuştur. Pembe Gemre 6 ve 12 no'lu klonları sadece VrZAG62 lokusunda 1 allel; Pembe Gemre 6, 11 ve 12 no'lu klonları 2 allel tarafından ayrılmıştır. İpek 4, 13 ve 25 no'lu klonları 2 allel; Buca Razakısı ve Aydın Razakısı arasında ise 5 allel farklı bulunmuştur.

Çizelge 4.2 Çeşit, tip ve klonların 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp)¹

No	ÇEŞİT ADI	Mikrosatelit Lokuslar							
		VVS1	VVS1	VVS2 ²	VVS2 ²	VVS3	VVS3	VVS4	VVS4
1	Kozak Beyazı	172	186	138	140	206	212	172	174
2	Kozak Siyahı	172	186	140	148	206	212	165	172
3	Kokulu Misket	172	172	140	146	218	218	172	174
4	Bornova Misketi	172	172	138	138	218	218	165	172
5	Buca Razakısı	172	184	138	140	206	212	172	174
6	Aydın Razakısı	172	184	138	140	206	212	174	190
7	Foça Karası (09)	172	172	134	140	212	218	174	190
8	Foça Karası (17)	172	184	142	146	206	212	174	190
9	Foça Karası (M)	172	172	138	146	218	218	174	190
10	Osmanca (26)	170	170	140	146	206	212	174	190
11	Osmanca (39)	170	170	140	146	208	212	174	190
12	Osmanca (40)	170	170	140	146	206	212	174	190
13	İpek (4)	172	172	132	138	204	210	168	184
14	İpek (13)	172	172	132	138	206	212	168	184
15	İpek (25)	172	172	132	138	206	212	168	184
16	Sultani Çek. T3	172	182	146	150	206	212	174	192
17	Sultani Çek. T15	172	182	146	150	206	212	174	192
18	Sultani Çek. Y3	172	182	146	150	206	212	174	192
19	Sultani Çek. S4	172	182	146	152	206	212	172	192
20	Sultani Çek. S6	172	182	146	152	206	212	172	192
21	Pembe Gemre 6	170	180	146	152	208	212	164	182
22	Pembe Gemre 11	170	180	146	152	208	212	164	182
23	Pembe Gemre 12	170	180	146	152	208	212	164	182
24	Dumanlı Ge. (kol.)	172	182	140	148	206	212	165	172
25	Dumanlı Ge. (os.)	172	184	132	138	218	218	165	172
26	Siyah Gemre	184	184	136	142	206	212	172	192
27	Sultani Gemre	172	184	136	142	218	218	172	174
28	Gökçe Gemre	176	186	134	140	206	212	172	192
29	Halis Gemre	176	186	134	140	206	212	165	172
30	C. Sauvignon	178	178	138	150	206	212	165	172
31	Merlot	178	187	138	150	206	212	165	172

¹Referans çeşitler koyu ile belirtilmiştir²Asma çeşit analizi için minimum standart mikrosatelit markör seti olarak kabul edilen markörler (This et al.2004)

Çizelge 4.2'nin devamı

No	ÇEŞİT ADI	Mikrosatelit Lokuslar					
		VVMD5 ²	VVMD5 ²	VVMD6	VVMD6	VVMD7 ²	VVMD7 ²
1	Kozak Beyazı	220	226	199	201	238	248
2	Kozak Siyahı	228	230	201	203	228	248
3	Kokulu Misket	228	228	188	203	236	246
4	Bornova Misketi	220	232	201	203	230	246
5	Buca Razakısı	222	230	199	199	236	246
6	Aydın Razakısı	222	230	199	199	236	246
7	Foça Karası (09)	236	238	188	201	238	257
8	Foça Karası (17)	224	224	188	199	244	244
9	Foça Karası (M)	222	238	188	199	238	244
10	Osmanca (26)	232	234	160	203	242	250
11	Osmanca (39)	232	234	160	203	242	250
12	Osmanca (40)	232	234	160	203	242	250
13	İpek (4)	222	238	199	203	244	250
14	İpek (13)	222	238	199	203	244	250
15	İpek (25)	222	238	199	203	244	250
16	Sultani Çek. T3	230	230	201	203	236	249
17	Sultani Çek. T15	230	230	199	203	236	249
18	Sultani Çek. Y3	230	230	199	203	236	249
19	Sultani Çek. S4	230	230	199	203	234	248
20	Sultani Çek. S6	230	230	199	203	234	248
21	Pembe Gemre 6	228	238	200	200	234	246
22	Pembe Gemre 11	228	238	200	200	234	246
23	Pembe Gemre 12	228	238	200	200	234	246
24	Dumanlı Ge. (kol.)	230	230	199	202	228	244
25	Dumanlı Ge. (os.)	222	232	150	202	244	244
26	Siyah Gemre	232	238	197	200	244	244
27	Sultani Gemre	228	228	200	200	244	244
28	Gökçe Gemre	224	232	199	202	242	250
29	Halis Gemre	222	228	197	200	228	244
30	C. Sauvignon	230	238	203	203	238	238
31	Merlot	222	232	196	203	238	246

¹Referans çeşitler koyu ile belirtilmiştir²Asma çeşit analizi için minimum standart mikrosatelit markör seti olarak kabul edilen markörler (This et al.2004)

Çizelge 4.2'nin devamı

No	ÇEŞİT ADI	Mikrosatelit Lokuslar					
		VVMD17	VVMD17	VVMD27 ²	VVMD27 ²	VVMD28	VVMD28
1	Kozak Beyazı	214	214	180	186	255	255
2	Kozak Siyahı	214	227	180	186	237	243
3	Kokulu Misket	195	212	194	194	243	243
4	Bornova Misketi	207	207	178	196	243	263
5	Buca Razakısı	207	207	186	186	249	249
6	Aydın Razakısı	207	207	186	186	251	251
7	Foça Karası (09)	207	207	186	188	235	243
8	Foça Karası (17)	206	206	180	180	243	271
9	Foça Karası (M)	206	206	184	194	235	235
10	Osmanca (26)	204	207	178	194	237	237
11	Osmanca (39)	204	207	178	194	241	241
12	Osmanca (40)	204	207	178	194	237	237
13	İpek (4)	202	210	182	182	249	251
14	İpek (13)	202	210	182	182	249	251
15	İpek (25)	202	210	182	182	249	251
16	Sultani Çek. T3	209	209	180	194	211	241
17	Sultani Çek. T15	209	209	180	194	211	241
18	Sultani Çek. Y3	209	209	180	194	211	241
19	Sultani Çek. S4	209	209	180	194	209	239
20	Sultani Çek. S6	209	209	180	194	209	239
21	Pembe Gemre 6	206	206	194	194	243	249
22	Pembe Gemre 11	206	206	194	194	243	249
23	Pembe Gemre 12	206	206	194	194	243	249
24	Dumanlı Ge.	206	225	178	182	235	241
25	Dumanlı Ge.	204	209	178	182	209	239
26	Siyah Gemre	204	209	178	182	241	271
27	Sultani Gemre	204	209	176	182	237	237
28	Gökçe Gemre	207	227	182	190	249	249
29	Halis Gemre	207	227	178	182	235	241
30	C. Sauvignon	209	209	172	186	233	235
31	Merlot	207	207	186	188	227	233

¹Referans çeşitler koyu ile belirtilmiştir²Asma çeşit analizi için minimum standart mikrosatelit markör seti olarak kabul edilen markörler (This et al.2004)

Çizelge 4.2'nin devamı

N o	ÇEŞİT ADI	Mikrosatelit Lokuslar					
		VVMD31	VVMD31	VrZAG29	VrZAG29	VrZAG62 ²	VrZAG62 ²
1	Kozak Beyazı	208	218	110	118	194	206
2	Kozak Siyahı	216	222	110	118	202	202
3	Kokulu Misket	216	216	110	118	200	200
4	Bornova Misketi	216	220	110	118	190	202
5	Buca Razakısı	208	216	110	118	190	202
6	Aydın Razakısı	208	216	110	118	190	190
7	Foça Karası (09)	212	212	110	112	206	206
8	Foça Karası (17)	212	216	112	116	198	206
9	Foça Karası (M)	204	212	110	118	186	204
10	Osmanca (26)	214	224	110	118	198	206
11	Osmanca (39)	214	224	110	118	198	206
12	Osmanca (40)	214	224	110	118	198	206
13	İpek (4)	202	216	110	118	184	198
14	İpek (13)	202	216	110	118	184	198
15	İpek (25)	202	216	110	118	184	198
16	Sultani Çek. T3	212	212	110	118	186	200
17	Sultani Çek. T15	214	214	110	118	186	200
18	Sultani Çek. Y3	214	214	110	118	186	200
19	Sultani Çek. S4	212	212	110	118	184	198
20	Sultani Çek. S6	214	214	110	118	184	198
21	Pembe Gemre 6	212	216	108	118	186	198
22	Pembe Gemre 11	214	216	108	118	184	198
23	Pembe Gemre 12	212	216	108	118	184	198
24	Dumanlı Ge. (kol.)	200	216	110	118	190	198
25	Dumanlı Ge. (os.)	212	227	108	118	180	198
26	Siyah Gemre	195	218	108	118	198	198
27	Sultani Gemre	212	216	108	118	164	166
28	Gökçe Gemre	214	218	108	118	180	198
29	Halis Gemre	214	218	108	118	160	170
30	C.Sauvignon	208	212	110	110	186	192
31	Merlot	214	218	110	110	192	192

1: Referans çeşitler koyu belirtilmiştir

2:Asma çeşit analizi için minimum standart mikrosatelit markör seti olarak kabul edilen markörler (This *et al.* 2004)

Çizelge 4.2'nin devamı

No	ÇEŞİT ADI	Mikrosatelit Lokuslar			
		VrZAG67	VrZAG67	VrZAG ²⁷⁹	VrZAG ²⁷⁹
1	Kozak Beyazı	136	138	220	232
2	Kozak Siyahı	133	142	220	232
3	Kokulu Misket	131	133	244	254
4	Bornova Misketi	133	142	242	250
5	Buca Razakısı	136	138	220	232
6	Aydın Razakısı	136	138	220	232
7	Foça Karası (09)	143	143	240	240
8	Foça Karası (17)	133	143	236	236
9	Foça Karası (M)	140	140	230	250
10	Osmanca (26)	142	142	230	242
11	Osmanca (39)	142	142	230	242
12	Osmanca (40)	142	142	230	242
13	İpek (4)	133	140	232	232
14	İpek (13)	133	140	232	232
15	İpek (25)	133	140	232	232
16	Sultani Çek. T3	133	139	240	256
17	Sultani Çek. T15	133	139	240	256
18	Sultani Çek. Y3	133	139	240	256
19	Sultani Çek. S4	133	139	240	256
20	Sultani Çek. S6	133	139	240	256
21	Pembe Gemre 6	131	134	232	244
22	Pembe Gemre 11	131	134	232	244
23	Pembe Gemre 12	131	134	232	244
24	Dumanlı Ge. (kol.)	133	139	236	236
25	Dumanlı Ge. (os.)	133	139	222	232
26	Siyah Gemre	139	139	249	249
27	Sultani Gemre	139	152	222	239
28	Gökçe Gemre	139	152	236	244
29	Halis Gemre	133	139	224	236
30	C.Sauvignon	131	139	244	244
31	Merlot	131	139	256	256

1: Referans çeşitler koyu belirtilmiştir

2:Asma çeşit analizi için minimum standart mikrosatelit markör seti olarak kabul edilen markörler (This *et al.* 2004)

4.3. Yazılım Programları ile Sonuçların Değerlendirilmesi

31 asma genotipinin sonuç veren 13 lokusla analizi, çalışılan lokuslardaki allel sayıları, heterozigotluk oranları, tespit olasılığı değeri ve sessiz (null) allel frekansı Çizelge 4.3 'de sunulmuştur

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

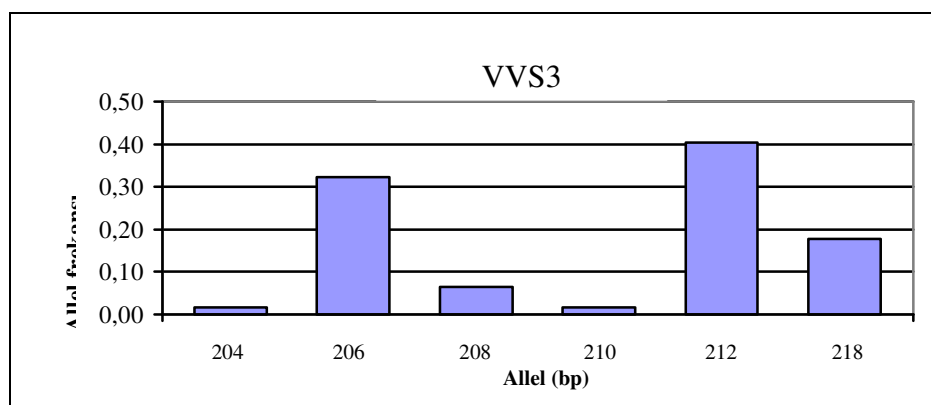
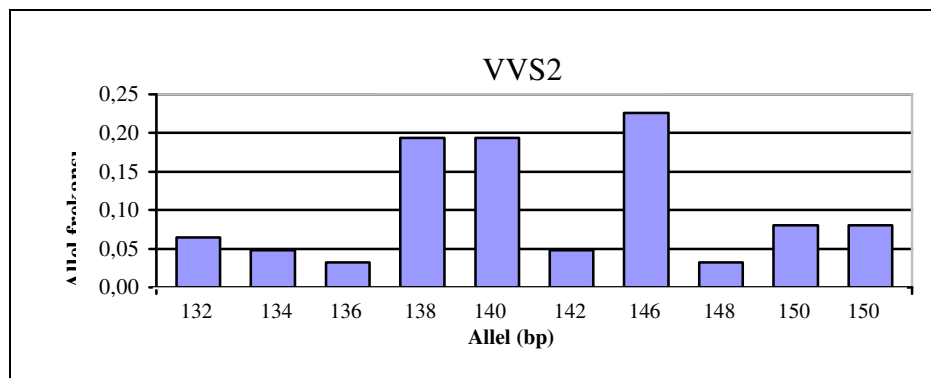
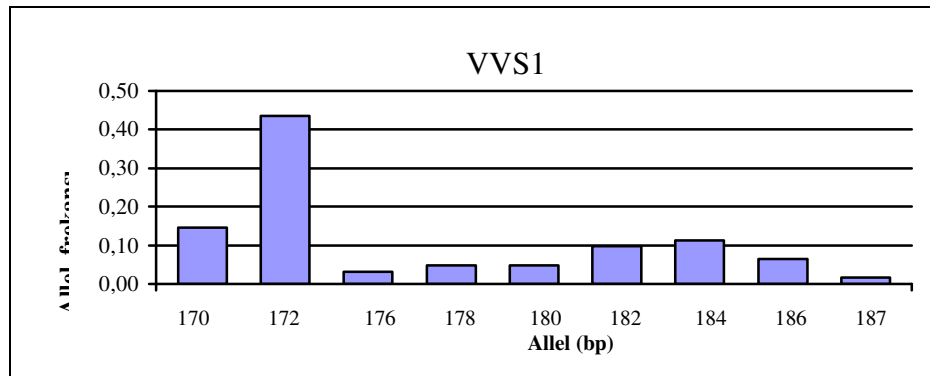
Analiz edilen lokuslar	Lokusta gözlenen allel sayısı (N)	Beklenen heterozigotluk oranı (He)	Gözlenen heterozigotluk oranı (Ho)	Tespit olasılığı (PI) değeri	Sessiz (null) allel frekansı (r)
VVS1	9	0.7570	0.6129	0.1260	0.0820
VVS2	10	0.8501	0.9677	0.0732	-0.0635
VVS3	6	0.6971	0.8387	0.2519	-0.0833
VVS4	9	0.8428	1.0000	0.0791	-0.0852
VVMD5	10	0.8423	0.7096	0.0805	0.0720
VVMD6	10	0.8152	0.7741	0.1039	0.0226
VVMD7	12	0.8808	0.8387	0.0468	0.0224
VVMD27	11	0.8262	0.6774	0.0961	0.0814
VVMD28	14	0.8969	0.6774	0.0373	0.1157
VVMD31	13	0.8366	0.7741	0.0846	0.0339
VrZAG62	15	0.8678	0.8064	0.0513	0.0328
VrZAG67	10	0.8475	0.8064	0.0735	0.0222
VrZAG79	14	0.8850	0.7096	0.0431	0.0930
Toplam	143			1.1473	
Ortalama	11	0.8343	0.7841	0.0883	

VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VrZAG62, VrZAG67, VrZAG79 SSR lokusları itibari ile allel sayıları sırası ile 9, 10, 6, 9, 10, 10, 12, 11, 14, 13, 15, 10, 14 olarak tespit edilmiştir. He ve Ho değerleri lokuslara göre değişkenlik göstermiştir. VVS1, VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VrZAG62, VrZAG67, VrZAG79. lokuslarında He, VVS2,

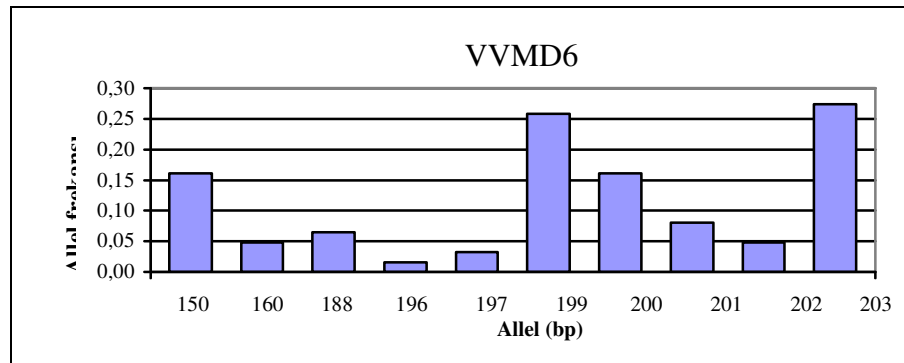
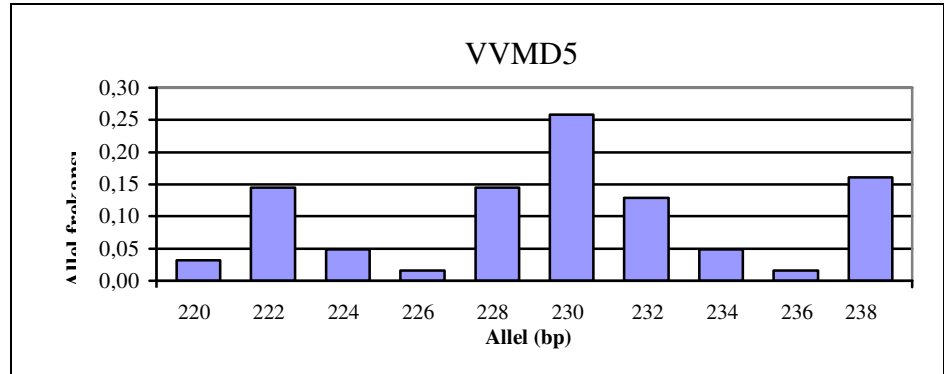
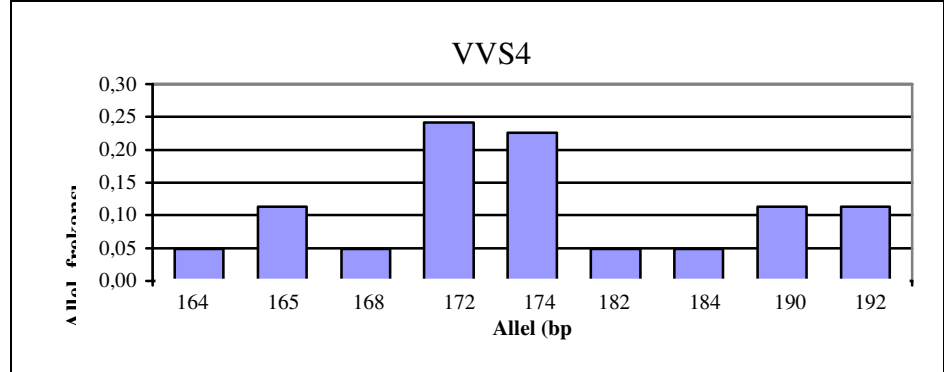
VVS3, VVS4.lokuslarında ise H_o değerleri yüksek bulunmuştur. P_I değerleri ise 0,037-0.252 arasında değişmiştir. Null allel frekansı ise lokuslarda kabul edilebilir sınırlar içerisinde (genel olarak 0.1' in altında) bulunmuştur.

Lokuslar açısından önemli olan diğer bir genetik parametre ise allellere ait frekans dağılımıdır. 31 genotipte incelenen 13 lokusa ait allel sayıları ve frekansları Şekil 4.1'de verilmiştir.

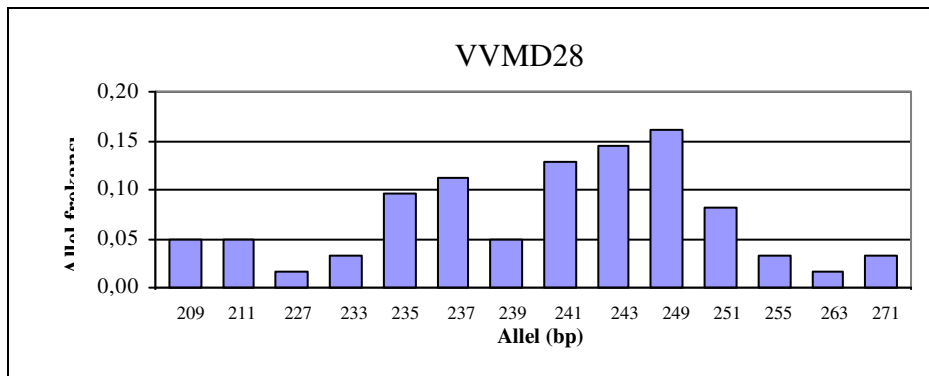
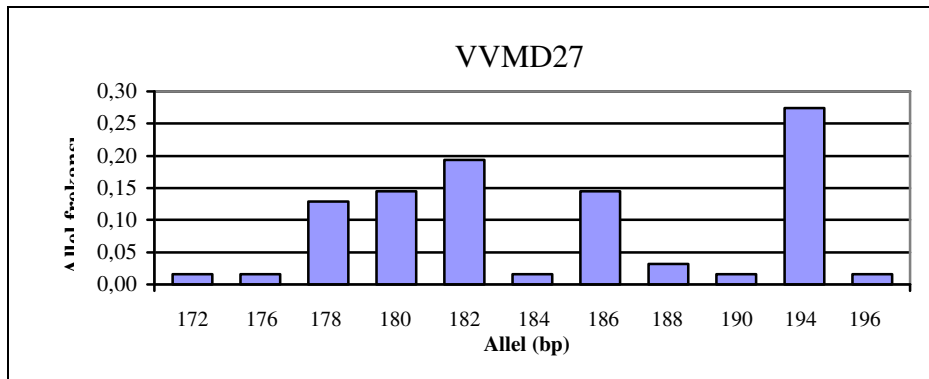
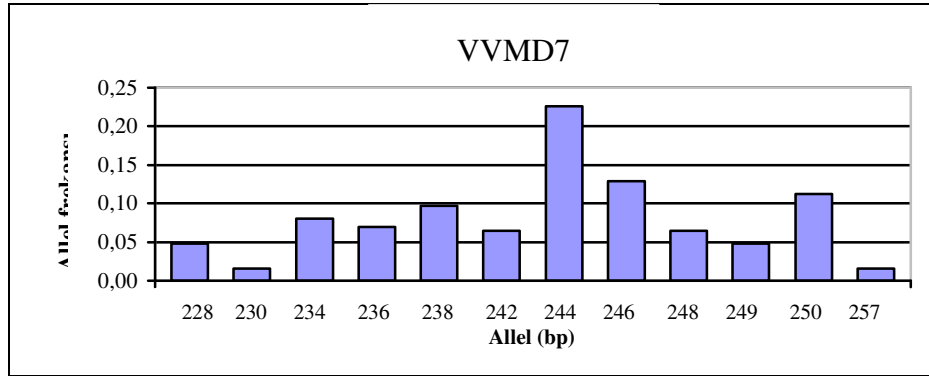
Buna göre VVS1 lokusunda 172 alleli, % 43.55 ile en fazla frekansı vererek genotipler arasında en çok görülen allel olmuştur. Aynı şekilde 31 genotipte en fazla rastlanan allel, VVS3 lokusunda 212 (%40.32), VrZAG79 lokusunda 232 (% 22.58), VVMD5 lokusunda 230 (% 25.81), VVMD7 lokusunda 244 (% 22.58), VVMD27 lokusunda 194 (% 27.42), VVMD6 lokusunda 203 (% 27.42), VrZAG62 lokusunda 198 (% 27.42, VVMD31 lokusunda 216 (% 24.19), VrZAG67 lokusunda 133 (% 24.19), VVMD28 lokusunda 249 (%16.12), VVS2 lokusunda 146 (%16.13), allelleri olmuştur. Çalışılan genotipler arasında VVS3 lokusundaki 212, VVS4 lokusundaki 172, VVMD5 lokusunda 230, VVMD6 lokusunda 203 allelleri, Türk çeşitleri dahil Cabernet Sauvignon ve/veya Merlot çeşitlerinde de görülmüştür. Bundan dolayı bunlara sadece Türk çeşitlerine ait allellerdir ifadesi kullanılamaz. Ancak, VVS2 lokusundaki en fazla görülen 146, VVMD7 lokusunda 244, VVMD27 lokusunda 194, VVMD28 lokusunda 249, VVMD31 lokusunda 216, VrZAG62 lokusunda 198, VrZAG67 lokusunda 133, VrZAG79 lokusunda 232 allelleri sadece çalışmada Türk çeşitlerinde görülen alleller olmuştur.



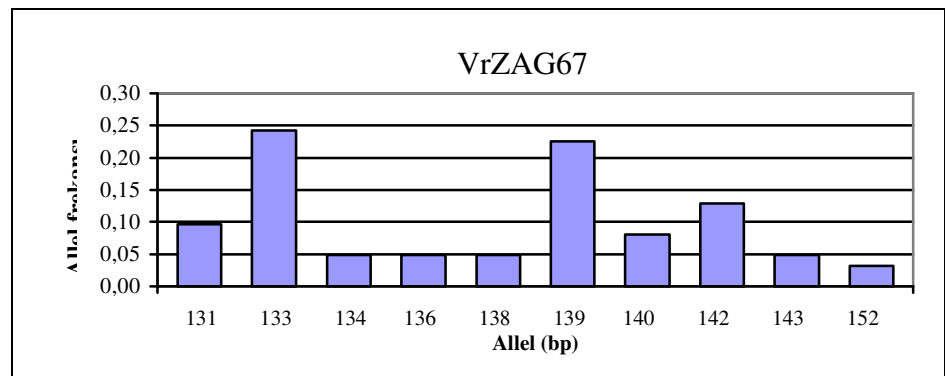
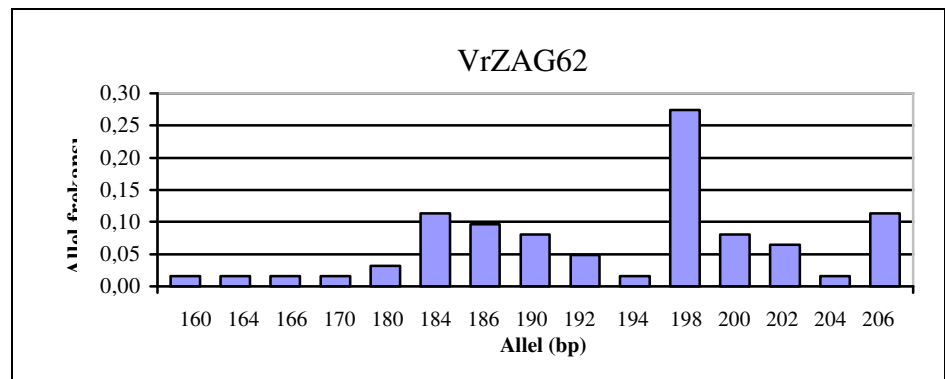
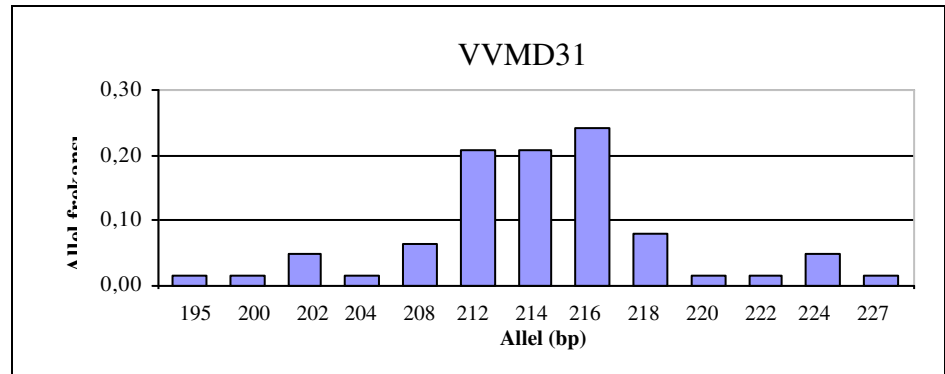
Sekil 4.1. Çalışılan lokuslarda tespit edilen allel frekanslarının dağılımı



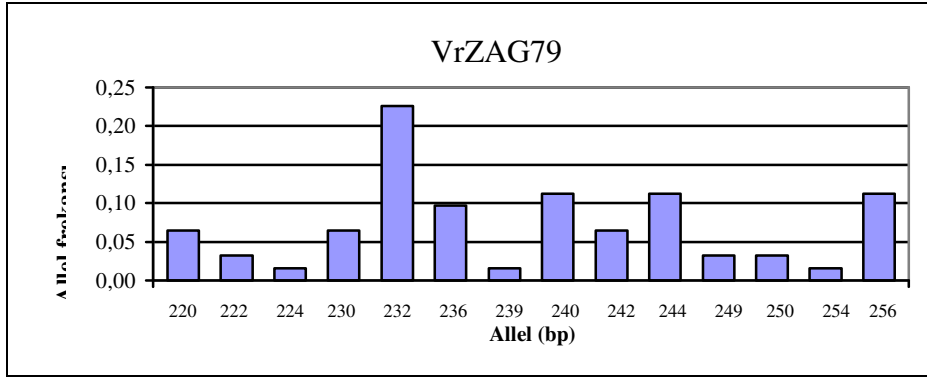
Sekil 4.1. (devamı)



Sekil 4.1. (devamı)



Şekil 4.1. (devamı)



Şekil 4.1. (devamı)

Genotiplere ait genetik benzerlik değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Buna göre en yüksek genetik benzerlik değeri T15 [17] ve Y3 [18], İpek 13[14] ve İpek 25 [15], Osmanca 26 [10] ve 40 [12] arasında (1.000) bulunmuştur. Bunu takiben Pembe Gemre 6 [21] ve 12 [23] (0.962), Pembe Gemre 6 [21] ve 11 [22] (0.923), Pembe Gemre 11 [22] ve 12 [23] (0.962), İpek 4 [13] ve İpek 13 [14] ile İpek 4 [13] ve İpek 25 [15] arasında (0.923), Sultani Çekirdeksiz S4 [19] ve S6 [20] (0.923), Osmanca 26 [10] ve 39 [11] ile 40 [12] ve 39 [11] arasında (0.885), Sultani Çekirdeksiz T3 [16] ve T15 [17] ile T3 [16] ve Y3 [18] arasında (0.885) gibi yüksek bir genetik benzerlik değeri gözlenmiştir

Paylaşılan allel oranı en az 0.115 değeriyle Kozak Siyahı [2] ve Foça Karası (M) [9], Foça Karası (M) [9] ve Siyah Gemre [26], Foça Karası (M) [9] ve Gökçe Gemre [28], Kokulu Misket [3] ve Siyah Gemre

[26] ile Osmanca 39 [11] ve Sultani Gemre [27] arasında olmuştur. Aydın, Çanakkale ve İzmir (Mordoğan) illerinden alınan aynı isimli çeşitler (homonim), farklı bulunmuştur. Buna göre farklı illerin aynı isimli çeşitleri arasındaki genetik benzerlik değeri, Foça Karası (Aydın-Çanakkale) [7-8], Foça Karası (Aydın-İzmir) [7-9] ve Foça Karası (Çanakkale-İzmir) [8-9] ve Dumanlı Gemre [24-25] çeşitlerinde sırasıyla 0.423; 0.423; 0.385, 0.462 olarak bulunmuştur. Bu nedenle bu çeşitlerin farklı olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır. Yani bu çeşitler homonim bulunmuştur.

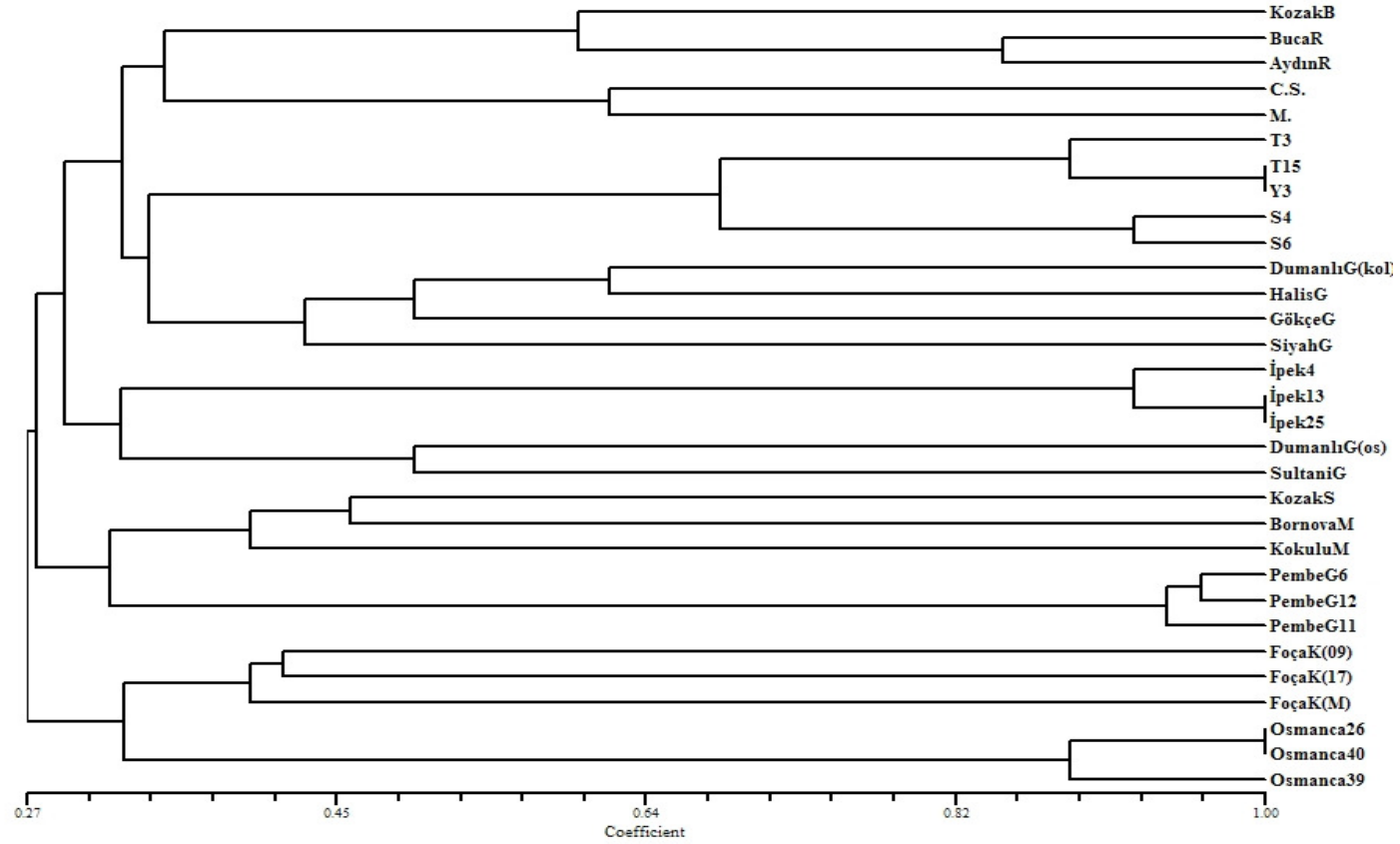
Ege Bölgesi asma genotiplerine ait dendogram Şekil 4.2’de verilmiştir. Dendogram incelendiğinde 2 ana grup göze çarpmaktadır. Genotiplerin büyük kısmını içeren birinci grup içinde çok sayıda alt grup gözlenmiştir. Diğer grupta ise Osmanca çeşidine ait 26 ve 40 no’lu klonlarının paylaşılan allel oranları ile değerlendirilen genetik benzerlikleri açıkça görülmektedir. Osmanca çeşidine ait klonlar ile birlikte yerli şaraplık çeşitlerimizden Foça Karası (09), Foça Karası (17), Foça Karası (M) çeşitleri birlikte yer almıştır. Dendogramda Sultani Çekirdeksiz çeşidine ait tiplerden T15 ve Y3 tiplerinin, İpek üzüm çeşidinin 13 ve 25 no’lu klonların genetik benzerlikleri açıkça görülmektedir. Aynı şekilde Pembe Gemre çeşidinin 6 ve 12 no’lu klonları çok yakın genetik benzerlikte olduklarını söyleyebiliriz. Pembe Gemre çeşidine ait 11 no’lu klon da bu iki tipe genetik yakınlığı nedeniyle dendogramda yakın bağlanmıştır. İpek üzüm çeşidinin 13 ve 25 no’lu klonlarına bağlanan 4 no’lu klonun da bu iki klona genetik benzerlikleri görülmektedir. Sultani Çekirdeksiz çeşidine ait T15 ve Y3

tiplerine bağlanan T3 de bu iki tipe genetik yakınlığı nedeniyle dendogramda yakın bağlanmıştır. Yine genetik olarak yakın bulunan S4 ve S6 tiplerinin de kendi arasında çok yakın genetik benzerlikte olduklarını söyleyebiliriz. Kurutmalık Özelliğe sahip T3, T15, Y3 ile sofralık özelliklere sahip olan S4, S6 arasında 0.615 - 0.731 arasında değişen benzerlik oranıyla genetik olarak birbirlerinden farklılık göstermişlerdir.

Buca Razakısı ve Aydın Razakısı arasında 0.846 gibi yakın bir genetik benzerlik değeri dendogramda da görülmektedir. Çalışmadaki Gemre aksesyonları (Dumanlı Gemre (kol.), Halis Gemre, Gökçe Gemre ve Siyah Gemre, Dumanlı Gemre (os.), Sultani Gemre) aralarında genetik olarak benzerlik görülmemiş ve dendogramda farklı alt gruplarda yer almışlardır.

Çizelge 4.4 Ege Bölgesine ait bazı önemli üzüm çeşitleri,tipleri ve klonlarının genetik benzerlik değerleri
(Çeşitlerin numaralandırma sırası Çizelge 3.1'e göre yapılmıştır)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
1	1																														
2	.530	1																													
3	.231	.346	1																												
4	.231	.462	.462	1																											
5	.615	.462	.346	.346	1																										
6	.577	.385	.308	.269	.846	1																									
7	.385	.346	.346	.308	.269	.308	1																								
8	.346	.385	.346	.269	.346	.385	.423	1																							
9	.269	.115	.385	.308	.231	.269	.423	.385	1																						
10	.269	.308	.269	.231	.231	.269	.346	.385	.269	1																					
11	.231	.231	.269	.231	.192	.231	.346	.346	.269	.885	1																				
12	.269	.308	.269	.231	.231	.269	.346	.385	.269	1	.885	1																			
13	.231	.269	.269	.308	.308	.308	.154	.308	.308	.192	.192	.192	1																		
14	.308	.346	.269	.308	.385	.385	.192	.385	.308	.269	.231	.269	.923	1																	
15	.308	.346	.269	.308	.385	.385	.192	.385	.308	.269	.231	.269	.923	1	1																
16	.385	.385	.385	.231	.308	.308	.346	.385	.308	.308	.308	.308	.192	.269	.269	1															
17	.385	.346	.385	.192	.346	.346	.231	.385	.308	.346	.346	.346	.231	.308	.308	.885	1														
18	.385	.346	.385	.192	.346	.346	.231	.385	.308	.346	.346	.346	.231	.308	.308	.885	1	1													
19	.385	.385	.308	.231	.308	.269	.269	.423	.269	.308	.269	.308	.308	.385	.385	.692	.654	.694	1												
20	.385	.385	.308	.231	.308	.269	.192	.385	.231	.346	.308	.346	.308	.385	.385	.615	.731	.731	.923	1											
21	.192	.308	.385	.269	.269	.231	.231	.308	.231	.269	.308	.269	.231	.269	.269	.308	.231	.231	.346	.308	1										
22	.192	.308	.385	.269	.269	.231	.192	.269	.154	.308	.346	.308	.269	.308	.308	.231	.231	.231	.346	.385	.923	1									
23	.192	.308	.385	.269	.269	.231	.231	.308	.192	.269	.308	.269	.269	.308	.308	.269	.192	.192	.385	.346	.962	.962	1								
24	.346	.500	.308	.385	.423	.385	.231	.462	.231	.308	.308	.308	.385	.462	.462	.385	.423	.423	.462	.462	.231	.231	.231	1							
25	.269	.308	.308	.423	.308	.269	.192	.346	.308	.192	.192	.192	.423	.423	.423	.269	.231	.231	.423	.385	.231	.192	.231	.462	1						
26	.308	.231	.115	.192	.269	.231	.154	.385	.115	.231	.231	.231	.192	.269	.269	.308	.269	.269	.308	.308	.192	.192	.192	.423	.385	1					
27	.269	.269	.308	.308	.308	.269	.269	.385	.308	.192	.115	.192	.231	.231	.231	.269	.192	.192	.231	.192	.231	.192	.231	.388	.500	.423	1				
28	.385	.308	.231	.154	.385	.269	.192	.269	.115	.385	.346	.385	.308	.385	.385	.269	.346	.346	.385	.423	.231	.269	.231	.462	.308	.385	.231	1			
29	.385	.423	.192	.269	.269	.231	.269	.269	.154	.269	.269	.269	.192	.269	.269	.308	.308	.308	.388	.388	.192	.231	.192	.615	.346	.500	.269	.538	1		
30	.385	.308	.231	.231	.346	.308	.269	.192	.269	.192	.154	.192	.154	.231	.231	.346	.308	.308	.308	.269	.308	.231	.269	.346	.308	.231	.192	.388	.308	1	
31	.423	.346	.231	.269	.346	.308	.231	.154	.154	.231	.192	.231	.154	.231	.231	.308	.346	.346	.308	.346	.231	.269	.231	.308	.269	.308	.154	.385	.423	.615	1



Şekil 4.2. Ege Bölgesi asma genotiplerine ait dendrogram

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nce klon seleksiyonu sonucu seçilmiş Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidine ait 5 tip (T3, T15, Y3, S4, S6 no'lu), Pembe Gemre (6, 11, 12, no'lu), Osmanca (26, 39, 40 no'lu), İpek üzüm çeşitleri (4, 13, 25 no'lu)'ne ait 9 klon ve Ege Bölgesi için önemi olan 15 yerel çeşit (Kozak Beyazı, Kozak Siyahı, Kokulu Misket, Buca Razakısı, Aydın Razakısı, Dumanlı Gemre (kol.) Dumanlı Germe (os.), Siyah Gemre, Sultani Gemre, Gökçe Gemre, Halis Gemre, Foça Karası (09) Foça Karası (17), Foça Karası (M), Bornova Misketi) ile 2 referans çeşit (Cabernet Sauvignon ve Merlot) olmak üzere toplam 31 üzüm çeşidinin (*Vitis vinifera* L.) DNA düzeyinde allel profilleriyle genetik tanımlanması yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan 16 mikrosatelit marköründen 13 adedi ile aralarındaki genetik benzerlik/farklılıklar belirlenmiştir (bunun için moleküler markörlerden mikrosatelitler kullanılmıştır). Mikrosatelitler; çeşit tanımlaması, sinonim ve homonimlerin belirlenmesi gibi konularda birçok araştırmacı tarafından kullanılmış ve kabul görmüştür (**Dangl et al. 2001, Regner et al. 2001, Reale et al. 2002, This et al. 2004**).

Bu çalışmada genotiplerin moleküler analizi, SSR tekniği ile poliakrilamid jel kullanılarak yapılmıştır. Jel sonuçlarının gümüş boyama ile görüntülenmesi ve sonuçların değerlendirilmesi bu şekilde gerçekleştirilmiştir. SSR'la ortaya konulan allel büyüklüklerinin tespit edilmesinde gümüş boyama, diğer metotlar arasında güvenilir bir alternatiftir. Radyoaktif işaretli metotlara göre daha az tehlikeli ve daha

hızlıdır. Ayrıca otomatik florasan işaretlilere göre daha ucuzdur. Cipriani ve arkadaşları (1994)'e göre; amplifikasyon ürünleri, aynı zamanda yüksek çözünürlüklü agaroz jelde etidyum bromid ile görüntülenerek de analiz edilebileceğini ancak allel büyüklüklerinin güvenilir bir şekilde belirlenemeyeceğini ve bu metot ile küçük farklılıkların akrilamid jelde olduğu gibi görülemeyeceğini belirtmişlerdir (Bowers et al., 1996).

Yukarıda adı geçen genotiplerin 13 SSR lokusu ile analiz edilmesi sonucu toplam allel sayısı 143 olarak belirlenmiştir. Allel sayıları lokuslarda 6'dan (VVS3) 15'e (VrZAG62) kadar değişmiş ve ortalama 11 değerini vermiştir. Bu değerler, Bowers ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptıkları çalışmada, 51 üzüm çeşidinin 12 mikrosatelit lokusta analizi sonucunda 4 ilâ 19 allel; Arroyo-Garcia ve Martinez-Zapater (2004), 41 çeşitte 11 mikrosatelit lokusta 4 ilâ 12 allel; Fatahi ve arkadaşları (2003), 62 genotip 9 mikrosatelit lokusta 4 (scu14vv) ilâ 16 (VVS2) (ortalama 11.4) allel; Vouillamoz ve arkadaşları (2006), 116 aksesyon 12 mikrosatelit lokusta 6 (VVMD24) ile 16 (VVMD28 ve VVMD32) arasında değişen (ortalama 11.9) allel belirlemişlerdir. Çalışmamızdaki allel sayıları, belirtilen çalışmalardaki ortalama allel sayılarıyla paralellik göstermektedir.

Araştırmada 16 primerin laboratuarda amplifikasyon standardizasyonu yapılarak örnekler üzerinde araştırmalar yürütülmüştür. VVMD24 primerinde PCR reaksiyonlarındaki optimize çalışmalarına rağmen sonuç elde edilememiştir. VVMD17 primerinde ise null allel frekansı ($r: 0.207$) beklenen değerin üzerinde çıkarak null allel göstermiş bu nedenle istatistik analizlere dahil edilmemiştir. Ayrıca VrZAG29 primeri de istatistik değerlendirmelerin dışında bırakılmıştır.

Araştırmada, beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho) oranı ortalaması sırasıyla 0.834 ve 0.784 olarak bulunmuştur. VVS2, VVS3, VVS4 lokuslarında gözlenen heterozigotluk (Ho) yüksek bulunurken, VVS1, VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VrZAG62, VrZAG67, VrZAG79 lokuslarında ise beklenen heterozigotluk, (He) gözlenen heterozigotluğa (Ho) göre az bir farkla yüksek bulunmuştur. He değeri yüksek bulunan bu lokuslarda, null allellerin frekansı (r) pozitif olmakla birlikte değerlerinin düşük olması nedeni ile null allel varlığından şüphelenilmemektedir (Çizelge 4.3).

Tespit olasılığı (PI) değeri hemen hemen tüm lokuslarda, Sefc *et al.* (2001)'nın belirttiği gibi 0.05 değerinden yüksek çıkmıştır. Bu da, bu seçilen mikrosatelit markörler asmada gerçekten yüksek derecede polimorfik olduklarını göstermektedir. En düşük tespit olasılığı (PI) değeri ile VVMD28 ve VrZAG79 (sırası ile PI değerleri 0.0373 ve 0.0431) markörleri çalışılan mikrosatelit markörler arasında en fazla bilgi verici markörler iken 0.2667 PI değeri ve 6 allel sayısı ile VVS3 en az bilgi verici lokus olarak tespit edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalara baktığımızda, en fazla bilgi verici markörler VVS2, VVMD28 (Şelli *et al.* 2007), VVMD14, VVMD28, VVMD36 (Crespan and Milani 2001), VVMD5, VVMD27, VVMD28, VVS2, VVS5 ve VrZAG67 (Ibáñez *et al.* 2003) olmuştur.

Araştırmada kullanılan 31 genotipe çalışılan lokuslar değerlendirildiğinde, VrZAG62 lokusu 15 ile en çok allel veren lokus olmuştur. Aynı lokus, Zulini *et al.* (2002), Karataş *et al.* (2007) tarafından yaptıkları çalışmalarda da en yüksek sayıda alleli vererek çalışmamızı

destekler nitelikte olmuştur. Bunu 14 allel ile VrZAG79 ve VVMD28 lokusları izlemiştir. VVMD28 'in en fazla allel sayısına sahip lokus olduğunu Crespan ve Milani (2001), Vouillamoz ve arkadaşları (2006) yaptıkları araştırmada bildirmişlerdir. Reale ve arkadaşları (2006), yaptıkları çalışmada en fazla alleli VrZAG79 lokusunun verdiğini ve en fazla allel sayısı ile da en çok bilgi veren lokuslar arasında yer aldığını belirtmiştir. Bu sonuç çalışmamız sonucuna paralellik göstermektedir. En az allel veren lokus ise 6 allel ile, VVS3 lokusu olmuştur.

Lokuslarda en fazla görülen allellere bakıldığında, VVS1 lokusunda % 43.55 allel frekansı ile 172 alleli, genotipler arasında en çok görülen allel olmuştur. Aynı şekilde 31 genotipte en fazla rastlanan allel, VVS3 lokusunda 212 (% 40.32), VrZAG79 lokusunda 232 (% 22.58), VVMD5 lokusunda 230 (% 29.03), VVMD7 lokusunda 244 (% 22.58), VVMD27 lokusunda 194 (% 27.42), VVMD6 lokusunda 203 (% 27.42), VrZAG62 lokusunda 198 (% 27.42), VVMD31 lokusunda 216 (% 24.19), VrZAG67 lokusunda 133 (% 24.19), VVMD28 lokusunda 249 (% 16.12), VVS2 lokusunda 146 (% 16.13) allelleri olmuştur. Çalışılan genotipler arasında VVS3 lokusundaki 212, VVS4 lokusundaki 172, VVMD5 lokusunda 230, VVMD6 lokusunda 203 allelleri, Türk çeşitleri dahil Cabernet Sauvignon ve/veya Merlot çeşitlerinde de görülmüştür. Bundan dolayı bunlara sadece Türk çeşitlerine ait allellerdir ifadesi kullanılamaz. Ancak, VVS2 lokusundaki en fazla görülen 146, VVMD7 lokusunda 244, VVMD27 lokusunda 194, VVMD28 lokusunda 249, VVMD31 lokusunda 216, VrZAG62 lokusunda 198, VrZAG67 lokusunda 133, VrZAG79 lokusunda 232 allelleri sadece çalışmada Türk çeşitlerinde görülen alleller olmuştur. Bowers ve arkadaşlarının 1996

yılında Kaliforniya'daki koleksiyonda bulunan 77 üzüm çeşidinde yapmış oldukları çalışmada, VVMD7 lokusundaki 245 allelinin sadece Yunanistan kökenli bir sofralık çeşitte görüldüğünü bildirmiştir. VVMD7 lokusundaki 245 allelinin sadece Yunanistan çeşitlerinde görülmediği, çalışmamızda yer alan yerel çeşitlerde de bulunduğu yapılan bu çalışma ile tespit edilmiştir. Yine aynı lokustaki 239 allelinin şaraplık çeşitlerde sofralık çeşitlerden daha yüksek bir allel frekansı gösterdiğini, buna karşılık 249 allelinin de sofralık çeşitlerde daha fazla görüldüğü belirtilmiştir. Çalışmamızda da aynı lokustaki 239 allele, çoğu şaraplık çeşitte rastlanırken 24 sofralık çeşitten sadece 1'inde görülmüştür. 249 alleli ise sadece sofralık çeşitlerde görülmüştür. Araştırmamızda da aynı lokustaki 239 ve 249 allellerindeki durum literatürde verilen sonuçlarla paralellik göstermiştir

Çalışılan genotiplerde analiz edilen 13 lokusta toplam 143 allel tespit edilmiştir. Allel büyüklüklerine bakıldığında, Sultani Çekirdeksiz çeşidinin T15 ve Y3 tipleri, İpek çeşidinin 13 ve 25, Osmanca üzüm çeşidinin 26 ve 40 no'lu klonları, her lokusta aynı allelleri verirken; Pembe Gemre 6 ve 12 no'lu klonları sadece VrZAG62 lokusunda 1 allel; tarafından ayrılmış, diğer 143 allelde aynı allel büyüklüğünü göstermişlerdir. Bu 1 allel farklılık, iki klondan birinde VrZAG62 lokusunda meydana gelen bir somatik mutasyonla ya da klonların poliklonal orijin olmasıyla açıklanabilir. Bütün bunlar moleküler genetik analiz çeşitlerin klonal veya poliklonal özellikte olup olmadıklarını anlamamıza imkan verir (Vignani et al., 1996, Silvestroni et al., 1997). Bu yüzden Pembe Gemre'nin 6 ve 12 no'lu klonları ampelografik özellikler de göz önüne alınarak benzer genetik özellikte olduklarını

kabul edebiliriz; Sultani Çekirdeksiz çeşidinin S4 ve S6 tipleri VVMD31 lokusunda 2 allel, Pembe Gemre 6, 11 ve 12 no'lu klonları 2 allel, İpek 4, 13 ve 25 no'lu klonları 2 allel farklı, Sultani Çekirdeksiz çeşidinin T3, T15 ve Y3 tipleri VVMD6 ve VVMD31 lokuslarında 3 allel; Osmanca 26, 39, 40 no'lu klonları arasında 3 allel bakımından farklılık göstermiştir. Karaağaç (2006) tarafından yapılan çalışmada, Tekirdağ ve Gaziantep illerinden alınan Rumi çeşitlerinde 3 allelde (VVMD31 ve VMC3B10 lokuslarında) farklılık görülmüştür. Bu farklılığı düşük bir ihtimal dahi olsa, bu lokuslardaki 3 ayrı yerde bir somatik mutasyonun gerçekleşmiş olabileceği şeklinde açıklamıştır. Gerçekte bu ihtimalin olması, bu iki çeşidin uzun yıllar boyunca aynı yerde yetiştirildikleri ve zaman içerisinde birden çok somatik mutasyona maruz kalmış olmaları anlamına geldiğini ve bu iki çeşidin de aynı olduğunu belirtmiştir. Bu da, bu yerel çeşitler için muhtemel bir olasılıktır. Bu yüzden Sultani Çekirdeksiz çeşidinin S4 ve S6 tipleri, Pembe Gemre 6, 11 ve 12 no'lu klonları, İpek çeşidinin 4, 13 ve 25 no'lu klonları, Sultani Çekirdeksiz çeşidinin T3, T15 ve Y3 tipleri; Osmanca 26, 39 ve 40 no'lu klonlarının da benzer genetik özellikte olduklarını söyleyebiliriz. Buca Razakısı ve Aydın Razakısı arasında ise 5 allel farklı bulunmuştur. Buca Razakısı ve Aydın Razakısı incelenen 13 mikrosatelit lokusta, 0.846 genetik benzerlik değerini verdiği görülmektedir. Bu nedenle bazı lokuslardaki allel farklılığından dolayı farklı olduğu söylenebilir.

Şelli ve arkadaşlarının (2007), Anadolu'dan alınan Dimrit ve Gemre üzüm gruplarından oluşan çeşitlerin mikrosatelit tanımlaması ve genetik farklılıklarını inceledikleri çalışmada, ortak olan Siyah Gemre (Gördes-Manisa) üzüm çeşidi aynı lokuslarda karşılaştırılmıştır ve

çalışmada ve bu tezde ortak çalışılan toplam 7 lokustan, sadece VVMD7 ve VVMD27 lokuslarında 2 allel aynı bulunmuştur. 7 mikrosatelit lokusta, % 11.11 oranında allelleri paylaştığı görülmektedir. Yine çalışmadaki Siyah Gemre (Konya) üzüm çeşidi ortak çalışılan lokuslarla karşılaştırılmış VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27 lokuslarında 6 allel aynı, diğer lokuslarda farklı bulunmuştur. Her iki çalışmada ortak kullanılan 7 mikrosatelit lokusta % 35.29 oranında allelleri paylaştığı görülmüştür. Bu nedenle tüm çeşitlerin farklı olduğu görülmüştür. Gördes-Manisa, Konya orijinli Siyah Gemre çeşidi ve bu çalışmadaki İzmir- Mordoğan'dan Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsüne gelen Siyah Gemre üzüm çeşitleri aynı isimli olmalarına rağmen genetik olarak benzer bulunmamalarının nedeni bu çeşitlerin Türkiye'nin farklı bölgelerinden alınmış olmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda kullanılan referans çeşitler Cabernet Sauvignon ve Merlot diğer araştırmacılar (Lin and Walker, 1998, Bowers et al. 1999, Fatahi et al. 2003, Karaağaç, 2006, Şelli et al. 2007) tarafından da çalışılmış ve 15 lokusta da aynı lokustaki iki allel arasındaki fark çalışmadaki sonuçlarla paralel bulunmuştur.

Çeşitler arasındaki ampelografik özellikler Çizelge 3.1 de verilmiştir. Buna göre, Dumanlı Gemre (kol.) ve Dumanlı Gemre (os.) çeşitleri, farklı araştırmacılar tarafından incelenen ampelografik özellikler bakımından aynı isimli bu çeşitlerde tad, verimlilik ve salkım ağırlıkları bakımından farklı gruplarda yer almışlardır diğer ampelografik özelliklerde uyuma görülmüştür. Aydın, Çanakkale ve İzmir (Mordoğan) illerinden alınan Foça Karası çeşitleri, Dilli (2008),

tarafından değerlendirilmiş ve yine aralarında tane şekli, tane rengi ve verimlilik bakımından ayrılmış ve diğer ampelografik özellikler örtüşmüştür. Buca Razakısı ve Aydın Razakısı çeşitleri, tane rengi, tane ağırlığı, değerlendirme şekli, olgunluk zamanı özellikleri bakımından aynı, verimlilik, salkım ağırlığı, tane şekli, tad özellikleri bakımından farklılık göstermişlerdir. Mikrosatelit markörlerle yapılan genetik analiz ile ampelografik çalışma sonucu karşılaştırıldığında ise, Dumanlı Gemre ve Foça Karası çeşitleri ampelografik ve genetik analiz sonuçları bu iki örnekte birbiriyle uyumlu olmuştur. Her iki sonuçta da farklı oldukları görülmüştür. Bu nedenle bu çeşitlerin farklı olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır. Yani bu çeşitler homonim bulunmuştur.

Araştırmada elde edilen sonuçların kısa özeti:

- Osmanca 26 ve 40, İpek 13 ve 25 no'lu klonları ve Sultani Çekirdeksiz çeşidine ait T15 ve Y3 tipleri ve aynı çeşide ait klonlar kendi aralarında aynı bulunmuştur.
- Sultani Çekirdeksiz çeşidine ait tiplerden T3, T15, Y3 (Kurutmalık özelliğe sahip) ile S4, S6 (sofralık özelliği belirgin) isimli genotipler karşılaştırıldığında 0.615 - 0.731 arasında değişen genetik benzerlik değerleri sonucu birbirlerinden farklılık göstermişlerdir
- Araştırmada yer alan Gemre aksesyonları (Dumanlı Gemre (kol.), Halis Gemre, Gökçe Gemre, Siyah Gemre, Dumanlı Gemre (os.) ve Sultani Gemre) arasında genetik olarak benzerlik görülmemiştir.
- Araştırmadaki Aydın, Çanakkale ve İzmir (Mordoğan) illerinden alınan aynı isimle alınmış Foça Karası çeşitleri arasında ve Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nde ayrı parsellerde bulunan Dumanlı

Gemre üzüm çeşitlerinin de farklı oldukları görülmüştür ve homonim duruma rastlanmıştır. Bu çeşitler ampelografik ve genetik olarak tamamen farklı bulunmuştur.

- Farklı yıllarda ve farklı araştırmacılar tarafından yapılan ampelografik çalışma sonuçları, çalışmamızdaki genetik analiz sonuçları büyük bir çoğunlukla uyum içerisindedir.

- Mikrosatelit markörlerin, çalışmamızdaki genotiplerin genetik tanımlamalarında uygun olduğu belirlenmiştir. Bunlardan VVMD28 ve VrZAG79 markörleri, çalışılan mikrosatelit markörleri arasında en fazla bilgi verici markörlerdir.

- Araştırmada Avrupa Birliği Genres CT96 No81 projesi çerçevesince geliştirilen ve OIV tarafından da onaylanan asma çeşit analizi için minimum standart mikrosatelit markör seti olarak kabul edilen markörleri de kapsayacak şekilde 13 markörle 31 yerel üzüm çeşit, tip ve klonların kimlik tespitleri gerçekleştirilmiştir.

Ülkemizde de hem yerel hem de ticari öneme sahip uluslararası üzüm çeşitlerinin SSR veri bankası oluşturulmalıdır. Böylece bu çalışma ve benzer çalışmalardan elde edilen sonuçlar ulusal veri bankasında değerlendirilebilecektir. Bu veri bankasından üzüm ve üzüm ürünleri ticaretinden, fidancılık alanına kadar pek çok sektörde ismine doğruluğun belirlenmesinde yararlanılabilecektir. Yine ıslah çalışmalarından, üzüm çeşit ve klonlarının tescil ve sertifikasyon aşamalarına kadar bir çok alanda veri bankası kullanılabilecektir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ağaoğlu, Y.S.**, 1999, Bilimsel ve Uygulamalı Bağcılık (Asma Biyolojisi). Kavaklıdere Eğitim Yayınları, No:1. 205 s, Ankara.
- Ağaoğlu, Y.S. ve Ergül, A.**, 1999, Amasya Tipi Üzüm Çeşitlerinin RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Tekniği ile Genetik tanımlamaları. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. 14-17 Eylül 1999, Ankara, s:369-372.
- Ağaoğlu, Y.S., Söylemezoğlu G., Çalışkan, M. ve Ergül, A.** 1999, Türkiye’de Yetiştirilen Razakı Üzüm Çeşidi Ekotiplerinin Elektroforetik Tanımlamaları Üzerinde Araştırmalar. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. 14-17 Eylül, s: 398-394. Ankara.
- Akkak, A., Boccacci, P. and Botto, R.**, 2007, “Cardinal” Grape Parentage: A Case Of A Breeding Mistake, Genome 50: 325-328.
- Alleweldt G.**, 1988, The Genetic Resources Of Vitis. Genetic And Geographic Origin of Grape, Their Prime Names and Synonyms. 2nd ed. Federal Research Center for Grapewine Breeding, Geilweilerhof, Germany.
- Anonim**, 1997, Standart Üzüm Çeşitleri Kataloğu, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı,
- Aradhya, M.K., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.M., Walker, A.M., Meredith, C.P., Simon, C.J.**, 2003, Genetic Structure and Differentiation in Cultivated Grapes Vitis Vinifera L. Genet. Res. Camb. 81: 179-192. Plant & Animal Genomes VIII. Conference, Town & Country Hotel, San Diego, CA.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Arroyo-Garcia, R., L. Ruiz-Garcia, L. Boulling, R. Ocete, M. A. López, C. Arnold, A. Ergul, G. Söylemezoğlu, H. İ. Uzun, F. Cabello, J. Ibáñez, M. K. Aradhya, A. Atanassov, I. Atanassov, S. Balint, J. L. Cenis, L. Costantini, S. Gorislavets, M. S. Grando, B. Y. Klein, P. McGovern, D. Merdinoglu, I. Pejic, F. Pelsy, N. Primikiris, V. Risovannaya, K. A. Roubelakis-Angelakis, H. Snouss, P. Sotiri, S. Tamhankar, P. This, L. Troshin, J. M. Malpica, F. Lefort, and J. M. Martinez-Zapater., 2006, Genetic Evidence for The Existence of Independent Domestication Events In Grapevine. *Molecular Ecology*, 15(12), 3707-3714.**
- Balerias-Couto M.M. and Eiras-Dias J.E., 2006, Detection and Identification of Grape Varieties in Must and Wine Using Nuclear and Chloroplast Micosatellite Markers, *Analytica Chimica Acta*. Vol. 563, Issues 1-2, pp. 283-291, March 2006.**
- Bowers, J.E., Dangl, G.S., Vignani, R., Meredith, C.P., 1996, Isolation and Characterization of New Polymorphic Simple Sequence Repeat Loci in Grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome*, 39: 628-633.**
- Bowers, J.E.ve Meredith C.P., 1997, The Parantage of Classic Winw Grape: Cabernet Sauvignon. *Nat. Genet.* 16: 84-87.**
- Bowers J.E., Dangl, G.S., Meredith, C.P., 1999a, Development and Characterization of Additional Microsatellite DNA Markers for Grape. *Am J Enol Vitic.* 50:243-246.**
- Bowers J.E., Boursiquat J.M., This, P., Chu, K., Johnsson, H., Meredith, C.P., 1999b, Historical Genetics: The Parantage of Chardonnay, Gamay, and other Wine Grapes of Northeastern of France. *Science*, Vol 285: 1562-1565.**

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Boz, Y.ve Çelik, S.,** 1998, Melezlemeyle Elde Edilen Sofralık Ümitvar Bazı Üzüm Çeşit ve Adayları ile Bunların Ebeveyn Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi. 4. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri. 1013-1017s. Yalova.
- Brookfield, J.F.Y.,** 1996, A Simple New Method for Estimating Null Allele Frequency from Heterozygote Deficiency. Mol Ecol 5; 453-455.
- Cabezas, J.A., Cervera, M.T., Arroyo-Garcia, R., Ibáñez, J., Rodríguez-Torres, I., Borrego, J., Cabello, F. and Martínez-Zapater, J.M.,** 2003, Garnacha and Garnacha Tintorera: Genetic Relationships and The Origin of Teinturier Varieties Cultivated in Spain. Am. J. Enol. Vitic., 54 (4), 237-245.
- Collins GG. And Symons, R.H.,** 1999, Polymorphism in Grapevine DNA Detected by The RAPD-PCR Technique. Plant Mol Biol Rep. 11: 105-112.
- Crespan, M. and Milani, N.,** 2001, The Muscats: A Molecular Analysis of Synonyms, Homonyms and Genetic Relationships within A Large Family of Grapevine Cultivars. Vitis, 41(1), 23-30.
- Crespan, M., Cancellier, S., Costacurta, A., Guist, M., Carraro, R., Stefano, R. and Santangelo, S.,** 2003, Contribution to The Clearing Up of Synonymies in Some Groups of Italian Grapevine Cultivars. Proc. VIIIth IC on Grape, Acta Horticulturae, 603, 275-289.
- Çelik, H.,** 2006, Üzüm Çeşit Kataloğu (Grape Cultivar Catalog). SUNFİDAN A. Ş. Mesleki Kitaplar Serisi : 3, 165 s. Ankara.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Çelik, S.**, 1998, Bağcılık (Ampeloloji). Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü. Tekirdağ.
- Dangl, G.S., Mendum, M.L., Prins, B.H., Walker, A.M., Meredith, C.P. and Simon C.J.**, 2001, Simple Sequence Repeat Analysis of A Clonally Propagated Species: A Tool for Managing A Grape Germplasm Collection. *Genome* 44; 432-438.
- Dice, L.R.**, 1945, Measures of The Amount of Ecological Association Between Species. *Ecology*, 26: 297-302 v.26, p.297-302.
- Dilli, Y., Kader, S.**, 2005. Yöresel Gemre Çeşitleriyle Pembe Gemre Klonlarının Ampelografik Nitelikleri İle Verim ve Kalite Özelliklerinin Karşılaştırılması Üzerinde Bir Araştırma. *Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri. TEKİRDAĞ*.
- Dilli, Y.**, 2008, Ege Bölgesindeki Bazı Önemli Üzüm Çeşitleri, Tipleri ve Klonlarının Mikrosatelit (SSR) Markörleriyle Karakterizasyonu. (Sonuç Raporu). Manisa Bağcılık Araştırma Enst. Müd. Basılmamış, Manisa.
- Doligez, A., Adam-Blondon, A.F., Cipriani, G., Digaspera, G., Louco, V., Merdinoğlu, D., Meredith, C.P., Riaz, S., Roux, C., This, P.**, 2006, An Integrated SSR Map of Grapevine Based on Five Mapping Sample. *Theor Appl Genet.* 113: 369-382.
- Ecevit F. E.ve Kelen, M.**, 1999. Isparta (Atabey)'de Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Tr. J. of Agriculture And Forestry.* 23 511-518.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ergül, A. ve Ağaoğlu, Y.S.**, 2001, Ülkemizde Asma Fidanı Üretiminde Kullanılan Bazı Amerikan Asma Anaçlarının Moleküler Benzerlik Analizi. A.Ü.Z.F. Tarım Bilimleri Dergisi. 7(2), 141-143. Ankara.
- Dokuzoğuz, M.**, 1964, Bahçe Bitkilerinin Islahında Klon Seleksiyonu. E. Ü. Z. F. Yayınları. 87. Ege Üniv. Matbaası. İzmir.
- Ergül, A., Aras, E. S., Söylemezoğlu, G. ve Ağaoğlu, Y. S.**, 2002, Kalecik Karası Üzüm Çeşidi Klonlarında AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Tekniği ile Polimorfizmin Belirlenmesi. Türkiye V. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu. 5 - 9 Ekim 2002, Bildiriler :31-37. Nevşehir.
- Faria, M.A., Magalhaes, R., Ferreira, M.A., Meredith, C.P. and Monteiro, F.F.**, 2000, Vitis Vinifera Must Varietal Authentication Using Microsatellite DNA Analysis (SSR). J Agric Food Chem., 48(4), 1096-100.
- Fatahi, R., Ebadi, A., Bassil, N., Mehlenbacher, S.A. and Zamani, Z.**, 2003, Characterization of Iranian Grapevine Cultivars Using Microsatellite Markers. Vitis, 42(4), 185-192.
- Fidan, Y., Eriş, A., Tamer, M. S.**, 1972, Güzül İlçesi Bağcılığı Gelişme İmkanları ve Önemli Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Vasıfları Üzerinde Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı, 21: 495-524, Ankara.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fossati, T., Labra M., Castiglione, S., Failla, O., Scienza, A. and Sala, F.,** 2001, The Use of AFLP and SSR Molecular Markers to Decipher Homonyms and Synonyms in Grapevine Cultivars: The Case of The Varietal Group Known As “Schiave”. *Theor Appl Genet.*, 102, 200-205.
- Goto-Yamamoto, N., Mouri, H., Azumi, M. and Edwards, K.J.,** 2006, Development of Grape Microsatellite Markers and Mikrosatellite Analysis Including Oriental Cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.*, 57(1), 105-108.
- <http://www.oiv.int>**
- Ibáñez, J., Andrés, M.T., Molino, A. and Borrego, J.,** 2003, Genetic Study of Key Spanish Grapevine Varieties Using Microsatellite Analysis. *Am. J. Enol. Vitic.* 54 (1); 22-30.
- İşçi, B.,** 2007, Asma (*Vitis Vinifera* L.)’ da Genom Haritalaması: Önemli Morfolojik Karakterlere ve Fungal Kökenli Hastalıklara Yönelik AFLP ve SSR Linkage Gruplarının Oluşturulması, Doktora Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 211 s (yayınlanmamış).
- İlgin, C., Öztürk H., Kader S., Erdem A., Gökçay, E.,**1999, Ege Bölgesinde Yetiştiriciliği Yapılan Bazı Çekirdeksiz Üzüm Çeşitlerine ait Tiplerin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar Manisa Bağcılık Araştırma Enst. Müd. Yayın no: 80.
- Kader, S.,** 2005, Osmanca Üzüm Çeşidindeki Klon Seleksiyonu Çalışması Sonucunda Seçilen Klonlar İle Osmanca Çeşidinin Ampelografik Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri*. Cilt:2. 532-538 s. Tekirdağ.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kader, S.ve Öztürk, H.,** 2005, Razakı Üzüm Çeşidinde Klon Seleksiyonu Çalışması Sonucunda Seçilen Klonların Ampelografik Özellikleri ile Göz Verimliliklerinin Belirlenmesi. Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri. Tekirdağ.
- Kafkas, S.,** 2006, Adana Biyoteknoloji Günleri Sunu, Ç. Ü. Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana.
- Kaplan, N.,** 1995, Diyarbakır ve Mardin İllerinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Saptanması Üzerine Bir Araştırma. II. Bahçe Bitkileri Kongresi. 529-533s. Adana.
- Karaağaç, E.,** 2006, Gaziantep İli Asma Gen Potansiyelinin SSR (Simple Sequence Repeats) Markörlerle Moleküler Analizi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Doktora Tezi. 89s. (yayınlanmamış).
- Karataş, H., Değirmenci D., Velasco R., Vezzulli S., Bodur Ç., Ağaoğlu, Y. S.,** 2007, Microsatellite Fingerprinting of Homonymous Grapevine (Vitis Vinifera L.) Varieties in Neighboring Regions of South-East Turkey. Scientia Horticulturae 114: 164–169.
- Kısakürek, H.,** 1950, Güney-Doğu Anadolu ve Bilhassa Gaziantep Bağcılığı ve Bu Bölgede Yetişen Başlıca Üzüm Çeşitlerinin Morfolojik Vasıfları ve İktisadi Önlemleri Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Lamboy, W.F., and Alpha, C.G.** 1998, Using Simple Sequence Repeats (Ssrs) for DNA Fingerprinting Germplasm Accessions of Grape (Vitis L.) Species. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 123(2):182-188.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lander, E.S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, Daly, M.J., Lincoln, S.E. and Newberg, L.,** 1987, MAPMAKER, An Interactive Computer Package for Constructing Primary Genetic Linkage Maps of Experimental and Natural Populations. *Genomics*, 1: 174-181.
- Lin, H. and Walker, M.A.,** 1998, Identifying Grape Rootstocks with Simple Sequence Repeat (SSR) DNA Markers. *Am. J. Enol. Vitic.* 49(4), 403-407.
- Lefort, F., Lall, M., Thompson, D. and Douglas G.C.,** 1998, Morphological Traits, Microsatellite Fingerprinting and Genetic Relatedness of a Stand of Elite Oaks (*Q. robur* L.) at Tullynally, Ireland. *Silvae Genetica*, 47: 5-6.
- Lopes, M.S., Sefc K.M., Eiras-Dias, E., Steinkellner, H., Lamier da Camara Machado, M., Dacamara Machando, A.,** 1999, The Use of Microsatellites for Germplasm Management in Portuguese Grapevine Collection *Theor Appl Genet.* 99: 733-739.
- Malossini, U., Grando, M.S., Roncador, I. and Mattivi, F.,** 2000, Parentage Analysis and Characterization of Some Italian *Vitis Vinifera* Crosses. *Proc. VIIth IC on Grapevine Genetics and Breeding, Acta Horticulturae.* No: 528; 139-143.
- Manzo P. and Tamponi, G.,** 1979, Monografia di Cultivar di uve da Tavola. Istituto Sperimentale per la Frutticoltura. Roma.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Marasalı, B.**, 1995, Üzüm çeşitlerinin RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Tekniği ile Moleküler Tanımlaması. “Biyoteknoloji ve Bitki Islahı” Workshop. 17-19 Nisan, Gebze/Kocaeli, s:163-168.
- Mauro M.C., Strefler M., Weeden NF, Riech BI.**, 1992, Genetic Analysis of Restriction Fragment Length Polymorphisms in Vitis. J. Hered. 63: 18-21.
- Merdinoglu, D., Butterlin, G., Baur, C., Balthazard, J., Bouquet, A. and Boursiquot, J.M.**, 2000, Comparison of RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) Markers for Genetic Diversity Analysis in Vitis vinifera L.. Acta Horticulturae, 528, 193-197.
- Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D.B., Feldman, M. and Cavalli-Sforza, L.L.**, 1995, Microsat (version 1.4d): A Computer Program for Calculating Various Statistics on Microsatellite Allele Data. Stanford. California, University of Stanford.
- Morgante, M., and Oliveri, A. M.** 1993, PCR Amplified Microsatellites as Markers in Plant Genetics. Plant J. 3: 175-182.
- Najafi, J., Alipanah, L., Ghareyazie, B., Mohmammadi, S.A., Nazari, A.H., This, P.**, 2006, Genetic Diversity of Iranian and Sone of European Grapes Revealed by Microsatellite Markers. Iranian Journal of Biotechnology, Vol. 4, No: 1, 36-44.
- Nei, M.**, 1987, Molecular Evolutionary Genetics, 106-107. Columbia University press, New York.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Oraman, M. N.**, 1941, Çavuş Üzümünün Vatanı, Ampelografisi ve Biyolojisi Üzerinde Bir Araştırma. Yük. Ziraat Enstitüsü Çalışmalarından Sayı: 114. Ankara.
- Oraman, M.N.**, 1970, Bağcılık Tekniği, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 415, Ankara, 283s.
- Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M.**, 2001, Bitki Biyoteknolojisi (Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları). S.Ü. Vakfı Yayınları, 456s.
- Paetkau D., Calvert W., Stirling I. and Strobeck C.**, 1995, Microsatellite Analysis of Population Structure in Canadian Polar Bears. Mol. Ecol. 4; 347-354.
- Parfitt D.E. and Arulsekhar S.**, 1989, Inheritance and Isoenzyme Diversity for GPI and PGM Among Grape Cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114: 486-491.
- Perold, A. J.**, 1927, A Treatise on Viticulture. London.
- Powell, W., Machray GG, Provan, J.**, 1996, Polymorphism Revealed by Simple Sequence Repeats. Trends in Plant Sci. 1: 215-222.
- Regner, F., Wiedeck, E. And Stadlbauer, A.**, 2000, Differentiation and Identification of White Riesling Clones by Genetic Markers. Vitis 39(3), 103-107.
- Regner, F., Stadlbauer, A., Eisenheld, C.**, 2001, Molecular Markers for Genotyping Grapevine and for Identifying Clones of Traditional Varieties. Acta Hort. 546, 331-341.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Regner, F., Hack, R. ve Santiago, L.,** 2006, Highly Variable Vitis Microsatellite Loci for The Identification of Pinot Noir Clones, *Vitis*, 45(2): 85-91.
- Reale, S., Pilla, F. and Angiolillo, A.,** 2006, Genetic Analysis of The Italian Vitis Vinifera Cultivar Tintilia and Releated Cultivars Using SSR Markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 81(6) 989-994.
- Riaz, S., and Meredith, C.P,** 2000, A Microsatellite Marker Based Linkage Map of *Vitis vinifera*. In Abstract of the International Plant and Animal Genome Conference VIII, held 9-12 January 2000, San Diego, Calif. Scherago International Inc, New York (Abstr. P. 132).
- Gizella, J., János, K., János, M., Anita, L., Júlía G. M.,** 2007, Analysis of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Varieties by Molecular Markers. XXXth OIV World Congress, 10-16 June 2007, Budapest.
- Riaz, S., Garrison, K.E., Dangl, G.S. and Meredith, C.P.,** 2001, Mikrosatellite Markers for The Differentiation of Clones of Ancient Grape Cultivars. *Plant & Animal Genomes IX Conference*, Town & Country Hotel, San Diego, CA.
- Samancı, H., ve Uslu, İ.,** 1992, Türkiye ‘de Yetiştirilen Razakı Çeşit ve Tiplerinin Ampelografik Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. (Sonuç Raporu). Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü,. Yalova, 26 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sefc K.M., Regner F., Glossl J. and Steinkellner, H., 1998a,** Genotyping of Grapevine and Rootstock Cultivars Using Microsatellite Markers. *Vitis*, 37(1), 15–20.
- Sefc, K.M., Guggenberger, S., Regner, F., Lexer, C., Glössl, J. And Steinkellner, H., 1998b,** Genetic Analysis of Grape Berries and Raisins Using Microsatellite Markers. *Vitis*, 37(3), 123-125.
- Sefc, K.M., Lefort, F., Grando, M.S., Scott, K.D., Steinkellner, H. and Thomas, M.R., 2001,** Microsatellite Markers for Grapevine: A State of The Art. In “Molecular Biology and Biotechnology of Grapevine”. Roubelakis-Angelakis K.A. ed., 1-29, Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- Sefc, K.M., Lopes, M.S., Lefort, F., Botta, R., Roubelakis-Angelakis, K.A., Ibanez, J., Pejic, I., Wagner, H.W., Glossl, J., Steinkeller, H., 2000,** Microsatellite Variability in Grapevine Cultivars from Different European Regions and Evolution of Assignment Testing To Assess The Geographical Origin of Cultivars. *Theor Appl Genet.* 100: 498-505.
- Sefc K.M., Renger F., Turetschek E., Glossl J., Steinkellner, H., 1999,** Identification of Microsatellite Sequence in *Vitis Riparia* and Their Applicability for Genotyping of Different *Vitis* Species. *Genome*, 42: 367-373.
- Sefc K.M., Steinkellner, H., Wagner, H.W., Glossi, J., Regner, F., 1997,** Application of Microsatellite Markers for Parentage Studies in Grapevine. *Vitis* 36: 179-183.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Şelli F., M. Bakır, G. Inan, H. Aygün, Y. Boz, A. S. Yaşasın, C. Özer, B. Akman, G. Söylemezoğlu, K. Kazan, A. Ergül, 2007.** Simple Sequence Repeat-Based Assesment of Genetic Diversity in “Dimrit” and “Gemre” Grapevine Accessions from Turkey. *Vitis*, 46(4): 182-187.
- Silvestroni, O., Dipietro, D., Interieri, C., Vignani, R., Fillipetti, I., Del Casino, C., Scal, M., Cresti, M., 1997,** Defection of Genetic Diversity Among Clones of cv. Fortana (*Vitis vinifera* L.) by Microsatellite DNA Polimorphism Analysis. *Vitis*, 36: 147-150.
- Söylemezoğlu, G., Ağaoğlu, Y.S., Marasalı, B., Ergül, A., Çalışkan, M., Türkben, C., 1998,** Üzüm Çeşitlerinin Yaprak Kökenli Kateşol Oksidaz (CO), Peroksidaz (PER) ve Esteraz (EST) İzoenzimlerinden Yararlanılarak Tanımlanmaları. 4. Bağcılık Sempozyumu Bildirileri, 20-23 Ekim 1998. s: 138-144. Yalova.
- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Crespan, M., Dangl, G.S., Eisenheld, C., Ferreira Monteiro, F., Grando, M.S., Ibanez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhaes, N., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L. and Maul, E., 2004,** Development of a Standard Set of Microsatellite Reference Alleles for Identification of Grape Cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 1448–1458.
- Thomas M.R. and Scott NS., 1993,** Microsatellite Repeats in Grapevine Reveal DNA Polymorphism When Analyzed as Sequence-Tagged Sites. *Theor Appl Genet.* 68: 985-990.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Thomas, M.R., Cain, P. and Scott, N.S.,** 1994, DNA Typing of Grapevines: A Universal Methodology and Database for Describing Cultivars and Evaluating Genetic Relatedness. *Plant Mol. Biol.* 25; 939-949.
- Ulanovsky, S., Gogorecna, Y., Martinez Detoda, F., Ortiz, J.M.,** 2002, Use of Molecular Markers Indefection of Synonymies and Homonymies in Grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Sci Hortic.* 92: 241-254.
- Uzun, H.İ. ve İlter, E.,** 1993, Bazı Üzüm Çeşitlerinin Yapraklarındaki Peroksidaz ve Kateşol Oksidaz İzoenzimlerinden Teşhisi Üzerinde Araştırmalar. *E.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 30, (3);105-112.
- Viala, P. et Vermorel, V.,** 1910, *Traite General de Viticulture Ampelographie*, Paris.
- Vignani, R., Scali, M., Masi, E. and Cresti, M.** 2002, Genomic Variability in *Vitis Vinifera* L. “Sangiovese” Assessed by Microsatellite and Non-Radioactive AFLP Test. *Electronic Journal of Biotechnology.*, Vol. 5 No: 1 (www.ejb.ucv.cl).
- Vouillamoz, J.F., McGovern, P.E., Ergul, A., Söylemezoğlu, G., Tevzadze, G., Meredith, C.P. and Grando, M.S.,** 2006, Genetic Characterization and Relationships of Traditional Grape Cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genetic Resources: Characterization & Utilization* , 4(2), 144-158 .
- Wagner, H.W. and Sefc, K.M.** 1999, *IDENTITY 1.0*. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Science, Vienna.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

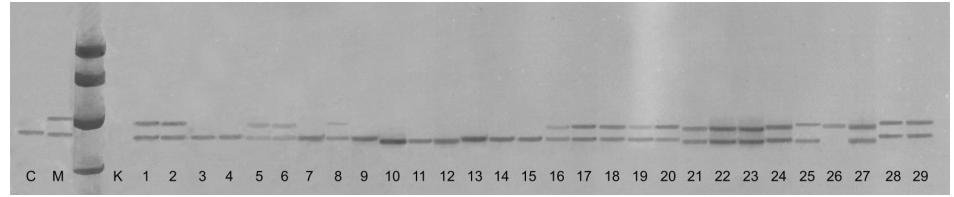
- Weeden, N.F., B.I. Reisch, M.H.F. Martens**, 1988, Genetic Analysis of Isozymes Polymorphism in Grape. J. Amer. Soc. Hort. Sci.,113(5) 765-767.
- Weising, K., Winter, P., Huttel, B., Kahl, G.**, 1998, Microsatellite Markers for Molecular Breeding. J. Crop. Prod. 1: 113-143.
- Welsh, J., Ralph D., McClelland, M.** 1995, DNA and RNA Fingerprinting Using Arbitrarily Primed PCR. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, (eds), PCR Strategies, Academic Press, San Diego, pp 249-276.
- Wolfe, W. H.**, 1976, Identification of Some Grape Varieties by Isozyme Banding Patterns. Amer. J. Enol. Vitic., 27(2):68-73.
- Ye,G.N., Söylemezoğlu, G., Weeden, N.F., Lambow, W.F., Pool, R.M. and Reisch, B.I.**, 1998, Analysis of The Relationship Between Grape Cultivars, Sports and Clones via DNA Fingerprinting. Vitis 37(1), 33-38.
- Zulini, L., Russo, L. and Peterlunger, E.**, 2002, Genotyping Wine and Table Grape Cultivars from Apulia (Suthern Italy) Using Microsatellite Markers. Vitis 41(4), 183-187.

EKLER

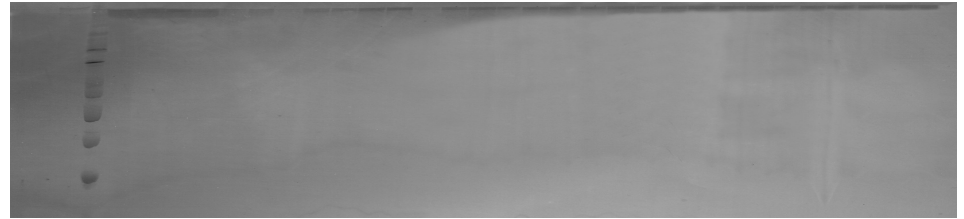
EK 1. Jel görüntülerinde yer alan genotiplerin isimleri

C	C. Sauvignon
M	Merlot
1	Kozak Beyazı
2	Kozak Siyahi
3	Kokulu Misket
4	Bornova Misketi
5	Buca Razakısı
6	Aydın Razakısı
7	Foça Karası (09)
8	Foça Karası (17)
9	Foça Karası (M)
10	Osmanca (26)
11	Osmanca (39)
12	Osmanca (40)
13	İpek (4)
14	İpek (13)
15	İpek (25)
16	Sultani Çek. T3
17	Sultani Çek. T15
18	Sultani Çek. Y3
19	Sultani Çek. S4
20	Sultani Çek. S6
21	Pembe Genre 6
22	Pembe Genre 11
23	Pembe Genre 12
24	Dumanlı Ge. (kol.)
25	Dumanlı Ge. (os.)
26	Siyah Genre
27	Sultani Genre
28	Gökçe Genre
29	Halis Genre

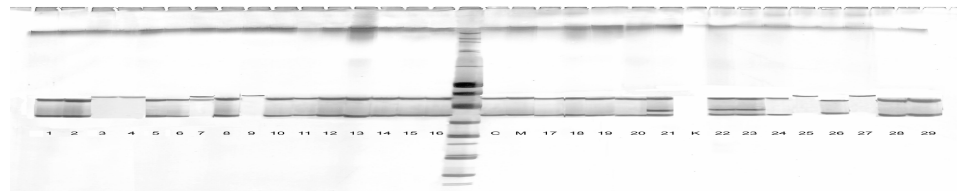
EK 2. Araştırmada kullanılan bazı SSR primerlerine ait poliakrilamid jel görüntüleri.



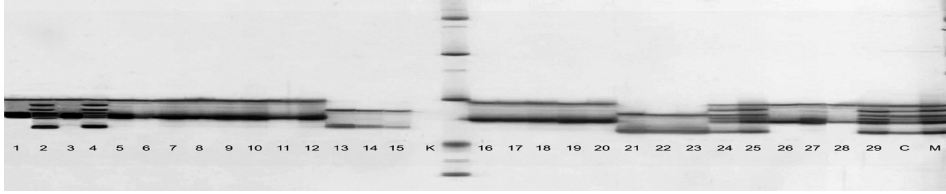
VVS1 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



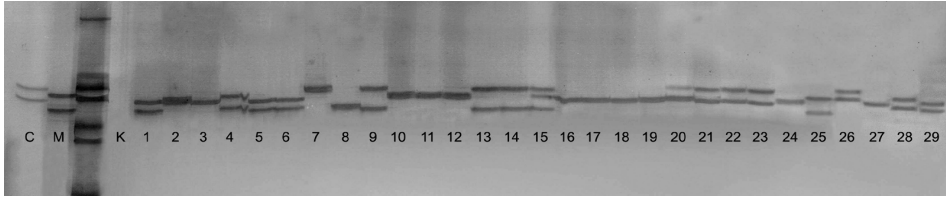
VVS2 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



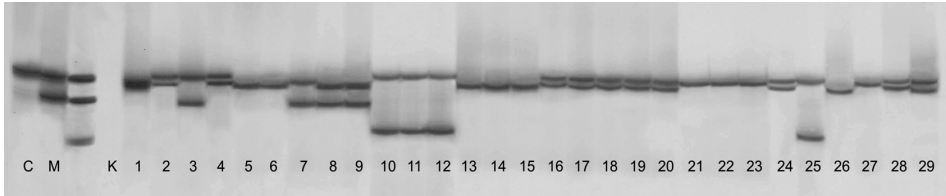
VVS3 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



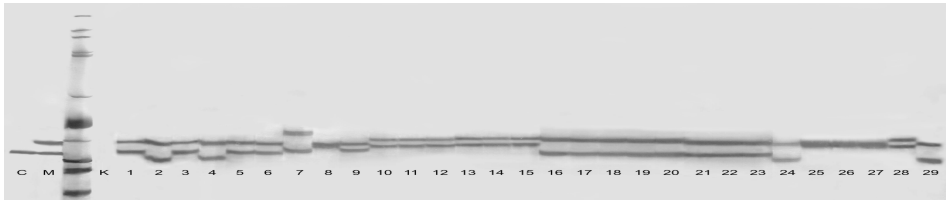
VVS4 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



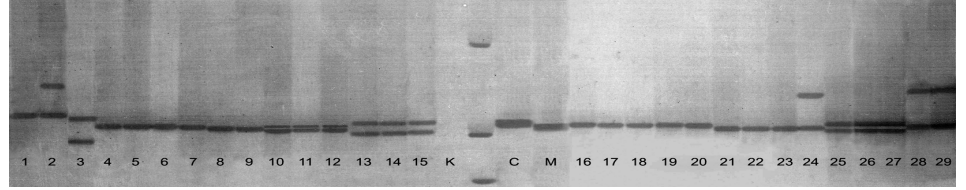
VVMD5 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



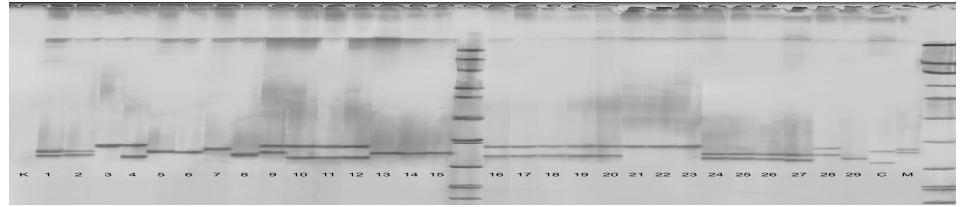
VVMD6 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



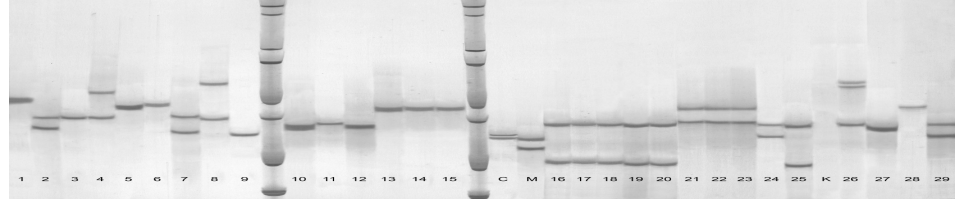
VVMD7 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



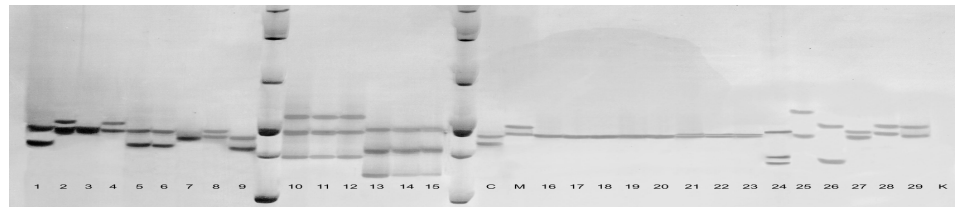
VVMD17 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



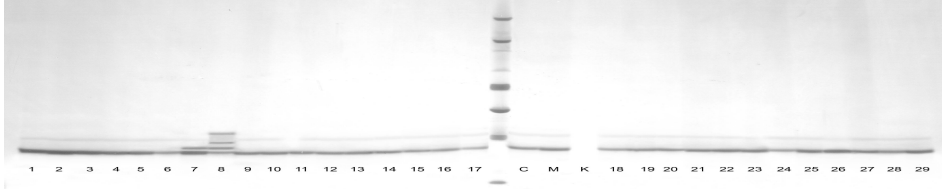
VVMD27 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



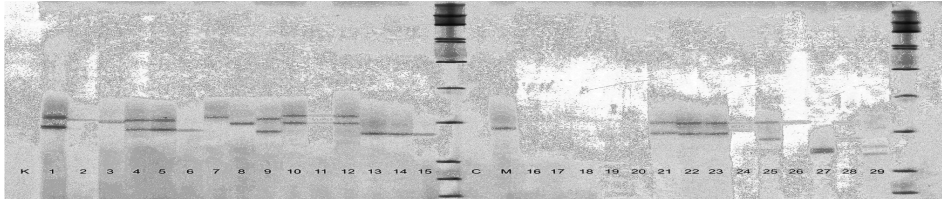
VVMD28 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



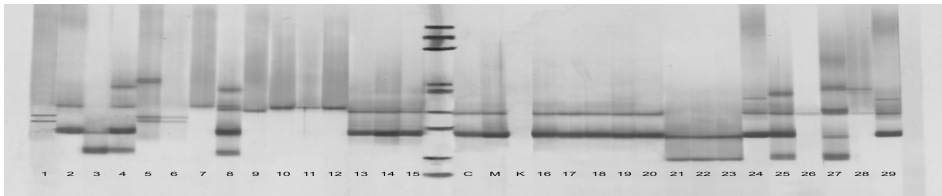
VVMD31 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



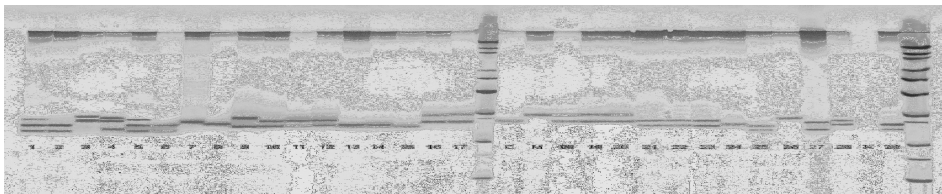
VrZAG29 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



VrZAG62 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



VrZAG67 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü



VrZAG79 Primerine ait poliakrilamid jel görüntüsü

ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında K.Maraş'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini K. Maraş'ta tamamladı. 1989 yılında eğitime başladığı Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünden 1993 yılında Ziraat Mühendisi ünvanını alarak mezun oldu. 1994 yılında Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında başladığı yüksek lisans eğitimini 1997 yılında tamamladı. 1996 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde öğretim görevlisi olarak göreve başladı. 2000 yılında Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'ne atandı. TAGEM (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü) tarafından düzenlenen 2002 yılındaki İstatistik ve Deneme Tekniği Kursu, 2003 yılındaki Moleküler Biyolojide Temel Teknikler ve İşlenmiş ve İşlenmemiş Gıda Örneklerinde GMO Analizleri Uygulamalı Eğitim Kursu, 2004 yılındaki 3 aşamada gerçekleşen Bitki Islahı Kursu, 2005 yılındaki Biyoteknolojinin Tarımsal Uygulamaları ve 2006 yılında Ankara İngiliz Kültür Derneği'nde 4 ay süre ile ileri düzeyde İngilizce dil kursu eğitimlerine katılmıştır. Halen Bağcılık Araştırma Enstitüsü Islah ve Genetik Şubesinde araştırmacılık görevini sürdürmektedir.