

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİLİMLER ANABİLİM DALI**

**Manisa İli'nde Yetiştirilen Mevlana, Razakı, Sultani Çekirdeksiz ve Şika
Üzüm Çeşitlerinin Bazı Ampelografik Özellikleri ve ISSR Markırları İle
Tanımlanması**

Mahmut AŞIK

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Emine Dilşat YEĞENOĞLU**



MANİSA-2019

**Mahmut
AŞIK**

**Manisa İli'nde Yetiştirilen Mevlana, Razakı, Sultani ekirdeksiz ve Şika Üzüm eŐitlerinin
Bazı Ampelografik Özellikleri ve ISSR Markırları İle Tanımlanması**

2019

TEZ ONAYI

Mahmut AŞIK tarafından hazırlanan "**Manisa İli'nde Yetiştirilen Mevlana, Razakı, Sultani ekideksiz ve Şika üzüm eŐitlerinin Bazı Ampelografik zellikleri ve ISSR Markırları İle Tanımlanması**" adlı tez çalıŐması 19/07/2019 tarihinde aŐaĐıdaki jüri üyeleri önünde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Tarımsal Bilimler Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS** olarak başarı ile savunulmuŐtur.

Danışman **Dr. Öğr. Üyesi E. Dilşat YEĞENOĞLU**
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Jüri Üyesi **Prof. Dr. Güldehen Bilgen**
Ege Üniversitesi

Jüri Üyesi **Doç. Dr. Meltem Sesli**
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Bilimler Anabilim Dalı'nda, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Mahmut AŞIK



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	II
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	III
TABLO DİZİNİ	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	VI
ABSTRACT.....	VII
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Alaşehir İlçesinde Yetiştirilen Bazı Üzüm Çeşitlerinin Genel Özellikleri.....	6
2.1.1. Sultani Çekirdeksiz Üzüm Çeşidi.....	6
2.1.2. Razakı Üzüm Çeşidi	7
2.1.3. Mevlana Üzümü Çeşidi	8
2.2. Ampelografi.....	8
2.2.1. Ülkemizde Yapılan Bazı Ampelografik Çalışmalar	9
2.3. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Yöntemi.....	12
2.3.1. DNA Markırları.....	13
2.4. ISSR Yöntemi (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm).....	13
2.4.1. Üzümde ISSR Yöntemi ile Yapılan Bazı Çalışmalar	14
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Sultan 1 Üzüm Çeşidi.....	18
3.1.2. Sultan 7 Üzüm Çeşidi.....	19
3.1.3. Razakı Üzüm Çeşidi	20
3.1.4. Mevlana Üzüm Çeşidi	21
3.1.5. Akhisar Razakı Üzüm Çeşidi	22
3.1.6. Şika Üzüm Çeşidi	23
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Ampelografik Ölçümler.....	25
3.2.2. ISSR Analizleri	26
3.2.2.1. DNA İzolasyonu İçin Yaprak Örneklerinin Toplanması	26
3.2.2.2. DNA İzolasyonu	28
3.2.2.2.1. DNA İzolasyonu 1	28
3.2.2.2.2. DNA İzolasyonu 2	31
3.2.2.3. DNA Miktarlarının Belirlenmesi	33
3.2.2.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) İşlemi 1	33
3.2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi 1	35
3.3. Ampelografik Ölçümler ve ISSR-PCR sonucunda elde edilen verilerin analizi	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	39
4.1. Ampelografik Özellikler.....	39
4.2. ISSR Sonuçları	47
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	58
EKLER.....	65
ÖZGEÇMİŞ	66

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism/ Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
BAEM	Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Bç	Baz çifti
CIA	Chloroform-Isoamyl Alcohol/ Klorofom-İzoamil Alkol
CTAB	Cetyltrimethylammonium bromide
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTT	Dithiothreitol
FAMD	Fingerprinting Analysis with Missing Data/ Eksik Verilerle Parmak İzi Analizi
g	Gram
GAP	Güney Anadolu Projesi
IBPGR	Uluslararası Bitki Genetik Kaynakları Merkezi
ISSR	Inter Simple Sequence Repeats/ Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm
ml	Mililitre
mM	Milimolar
NTSYS	Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System
OIV	International Code of Oenological Practices
PCR	Polymerase Chain Reaction/Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pmol	Pikomol
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA/Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
SAHN	Sequential, Agglomerative, Hierarchical, Nonoverlapping Clustering/ Dizisel-Yığınsal-Hiyerarşik-Örtüşmeyen Kümeleme
TAE	Tris-Asetik Asit-EDTA
TE	Tris-EDTA
UBC	University of British Columbia
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean/ Tartılı Olmayan Çiftleştirilmiş Grup Metodu Aritmetik Ortalama

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Bağ alanları yönünden önemli ülkeler (%)	4
Şekil 2.2. Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidi	7
Şekil 2.3. Razakı üzüm çeşidi	7
Şekil 2.4. Mevlana üzüm çeşidi	8
Şekil 2.5. PCR yönteminin aşamaları	12
Şekil 3.1. Sultan 1 yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü	18
Şekil 3.2. Sultan 1 asma genel görünümü	19
Şekil 3.3. Sultan 7 yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü	19
Şekil 3.4. Sultan 7 asma genel görünümü	20
Şekil 3.5. Razakı yaprağı ön ve arka yüzünün görüntüsü	20
Şekil 3.6. Razakı asma genel görünümü	21
Şekil 3.7. Mevlana yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü	21
Şekil 3.8. Mevlana asma genel görünümü	22
Şekil 3.9. Akhisar Razakı yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü	22
Şekil 3.10. Akhisar Razakı asma genel görünümü	23
Şekil 3.11. Şika yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü	23
Şekil 3.12. Şika asma genel görünümü	24
Şekil 3.13. Ampelografik ölçümler sırasında kullanılan aletler	26
Şekil 3.14. Yaprak eni ve sap boyu ölçümü	26
Şekil 3.15. DNA izolasyonu için örnek toplanması 1	27
Şekil 3.16. DNA izolasyonu için örnek toplanması 2	27
Şekil 3.17. Kuru buz içinde bekletilen numaralandırılmış örnek tüpleri ve cımbız	28
Şekil 3.18. DNA izolasyonu için toplanan örnekler	28
Şekil 4.1. Üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin Öklidyen Uzaklık Matrisinden elde edilen dendrogram	46
Şekil EK A.4. Jeldeki bantlara ait görüntüler	51
Şekil 4.2. Simple Matching (Basit Uyum) benzerlik matrisinden elde edilen dendrogram	52

TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1.1. Manisa İli ve İlçelerinin bağ alanları	2
Tablo 2.1. Sultani (Çekirdeksiz-Kurutmalık) Üzümü 2018-2019 yılı rekolte ... tahmini (Manisa İli ve İlçeleri).....	5
Tablo 2.2. Sultani (Çekirdeksiz-Sofralık) Üzümü 2018-2019 yılı rekolte tahmini (Manisa İli ve İlçeleri).....	5
Tablo 2.3. Bazı üzüm çeşitlerinde (Antep Karası, Trakya İlkeren, Red Globe, Mevlana, İtalia, Alphonse Lavellee, Michelle Paliari) 2018-2019 yılı rekolte tahmini (Manisa İli ve İlçeleri)	6
Tablo 3.1 Stok çözeltiler, CTAB ekstraksiyon tamponu ve TE (Tris- EDTA) tamponunun hazırlanışı	29
Tablo 3.2. ISSR primerlerinin nükleotit dizileri ve molekül ağırlıkları.....	34
Tablo 3.3. PCR Reaksiyonu bileşenleri	34
Tablo 3.4. PCR sıcaklık ve döngüleri	35
Tablo 3.5. 50 X TAE (Tris- Asetik Asit- EDTA) stok tampon çözeltisi ve 1 X (Tris- Asetik Asit- EDTA) Bileşenleri hazırlanışı	36
Tablo 4.1. Yaprak ampelografik özelliklerinin OIV kodları ve Galet (1979)'a göre değerlendirilmesi.....	39
Tablo 4.2. Çeşitlere ait fenolojik zaman gözlemleri	40
Tablo 4.3. Çeşitlerin yaprak özelliklerine ait ortalamalar.....	43
Tablo 4.4. Üzüm çeşitlerinin yaprak özelliklerinden elde edilen öklidyen uzaklık matrisi.....	44
Tablo 4.5. Çalışmada kullanılan primerlerden elde edilen bantlar ve baz çifti (bç) değerleri	47
Tablo 4.6. Çeşitlere ilişkin primerlere göre elde edilen toplam bant sayıları ve moleküler büyüklükleri (min.- max. baz çifti).....	50
Tablo 4.7. Simple matching (Basit uyum) benzerlik matrisi	51

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve tecrübesi ile lisansüstü öğrenim hayatımın tüm zorlu aşamalarında maddi manevi her yönden yardımcı olan, desteğini hiç eksik etmeyen, kendisini tanımaktan büyük onur duyduğumdanışman hocam Sayın Dr. Öğrt. Üyesi E. Dilşat Yeğenoğlu'na, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen Alaşehir MYO Müdürü Prof. Dr. Şenay Aydın ve Tütün Ekserliği Yüksekokulu Öğretim Üyesi Doç. Dr. Meltem Sesli hocalarım, yüksek lisans eğitimim boyunca tüm kolaylıkları sağlayan başta kurum amirim Zir. Yük. Müh. Akay Ünal olmak üzere çalışma arkadaşlarım Dr. Serkan Önder, Dr. Yıldız Dilli, Dr. Nurdan Güngör Savaş, Zir. Müh. Naci Yıldız, Zir. Yük. Müh. Şermin Çelik, Laborant Soner Çetin ve Gökçe İrem Araç'a, Alaşehir İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü personeli Hasan Ayhan'a, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımcı olan Berkay Bozkurt'a, her zaman yanımda olan aileme, çalışmam sırasında her türlü fedakarlığı yapan kayınvalideme, hayatımı girdiği andan itibaren değiştiren, her an yanımda ve yardımcı olan eşim Zir. Müh. Yasemin Aşık'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mahmut AŞIK
Manisa, 2019

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Manisa İli'nde Yetiştirilen Mevlana, Razakı, Sultani Çekirdeksiz ve Şika Üzüm Çeşitlerinin Bazı Ampelografik Özellikleri ve ISSR Markırları İle Tanımlanması

Mahmut AŞIK

Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarımsal Bilimler Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğrt. Üyesi Emine Dilşat YEĞENOĞLU

Yeryüzünde dikimi yapılan en eski kültür bitkilerinden biri olan asmanın dünyada 10000'den fazla çeşidinin bulunduğu varsayılmaktadır. Bu nedenle asma yetiştiriciliğinde homonim ve sinonimler ile bitkinin doğru tanımlanması çok önemlidir.

Bu çalışmada Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü koleksiyon bağlarından alınan Şika, Sultan1, Sultan7, Razakı, Akhisar Razakısı ve Mevlana çeşitlerinden alınan yaprak örneklerinde ampelografik özellikler tanımlanmış ve 14 adet ISSR primeri ile çeşitlerin birbirlerine genetik yakınlıkları tespit edilmesi amaçlanmıştır. Kullanılan 14 primerin 10 adedinden kullanılabilir bant elde edilmiş, 77 adet bantın polimorfik olduğu saptanmıştır. Öklidyen Uzaklık Matrisine göre birbirine en yakın çeşitler Razakı ve Mevlana, birbirine en uzak çeşitler Mevlana-Sultan1 olarak bulunmuştur. Simple Matching Benzerlik Katsayısı kullanılarak elde edilen genetik benzerlik matrisine göre, birbirine en benzer örneklerin Razakı ile Sultan 1 (0.779), birbirine en uzak örneklerin ise Şika ve Sultan7 ile Şika ve Mevlana olduğu bulunmuştur. Üzüm çeşitlerinin tanımlanmasında ve sinonim çeşitlerin ayrılmasında ampelografik özellikler ve DNA markırlarından başarıyla yararlanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler:(Üzüm, ISSR, yaprak, ampelografi, genetik benzerlik, Öklidyen uzaklık)

2019, 66 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Identification of Mevlana, Razakı, Sultani Seedless and Şika Grape Varieties Grown in Manisa with Some Ampelographic Characteristics and ISSR Markers

Mahmut AŞIK

**Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Agricultural Sciences**

Supervisor: Dr. E. Dilsat YEĞENOGLU

It is assumed that there are more than 10000 varieties of the vine in the world, which is one of the oldest cultivated plants in the world. For this reason, it is very important to correctly identify the homonyms, synonyms and the plant in vine cultivation. In this study, ampelographic properties were measured in leaf samples from Sika, Sultan1, Sultan7, Razaki, Akhisar Razaki and Mevlana cultivars obtained from Manisa Viticulture Research Institute collection vineyards and it was aimed to determine the genetic similarity among cultivars with 14 ISSR primers. Total of 14 primers were used, and 10 of them were given scorable bands and 77 bands were found to be polymorphic. The closest varieties according to Euclidean Distance Matrix were found as Razaki and Mevlana and the most distant varieties were Mevlana and Sultan 1 while the genetic similarity matrix obtained from Simple Matching Similarity Coefficient, the nearest samples were found to be Razaki and Sultan 1 and the most distant varieties were determined as Sika and Sultan7 with Sika and Mevlana. The ampelographic characteristics and DNA markers can be used successfully in identifying grape varieties and separating synonymous varieties.

Keywords: (Grape, ISSR, ampelography, leaf, genetic similarity, Euclidean distance)

2019, 66 pages

1. GİRİŞ

Tarih öncesi çağlardan beri yetiştiriciliği yapılan asma, pek çok medeniyette süslemelere yansıtılacak kadar önem kazanmış ve değerli görülmüştür. Yapılan arkeolojik çalışmalarda Hitit dönemine ait resim ve heykellerde üzüm ve şarap figürlerine rastlanmıştır. Ayrıca bu döneme ait kanunlarda bağların ve elde edilen mahsulün korunmasına yönelik özel hükümlere yer verilmiştir [1].

Asmanın anavatanı 20. yüzyılın başına kadar Kafkasya, Hazar Denizi' nin güneyi ve Kuzeydoğu Anadolu olarak bilinmesine karşılık, yapılan arkeolojik ve jeolojik çalışmalar sonucunda, dünya üzerindeki çoğu alanda yetiştiriciliğinin yapıldığı ve geçmişinin 60 milyon yıl öncesine dayandığı tespit edilmiştir [2].

Asma türleri içerisinde en yaygın kullanımda olan *Vitis vinifera* L.' dir. Kültüre alınarak, geniş alanlarda yetiştiriciliği yapılmaktadır. Çeşit sayısı 10.000'in üzerinde olup, *Vitis* türü dünya üzüm üretiminin %90' ını karşılamaktadır [1].

Türkiye'nin bağcılık faaliyetleri için uygun konum ve iklim koşullarına sahip olduğu bilinmektedir. Bağcılık kültürünün uzun yıllar öncesine dayandığı saptanmış olup, Anadolu'da yapılan arkeolojik çalışmalarda M. Ö. 3500 yıllarına ait bağcılıkla alakalı kalıntılar bulunmuştur. Anadolu, asmanın gen merkezlerinden biri olarak kabul edilmektedir [3].

Ampelografi asmanın tanımlanması, seleksiyonu ve sınıflandırılması sorunlarının çözümlenmesinde kullanılan ilk aşamadır. Ampelografik özellikler ile beraber genomik bilginin bir arada değerlendirilmesi ise tam bir sınıflama yapılabilmesi, asmanın genetik çeşitliliğinin korunabilmesi açısından önemlidir [4].

Türkiye'de 1965 yılında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsünün yapmış olduğu "Türkiye Asma Genetik Kaynakları Projesi" kapsamında 1200 üzüm çeşidi tespit edilmiş, 1000 çeşit üzüm enstitünün koleksiyonuna dahil edilmiştir [5]. Sonrasında farklı bölgelerde yapılan çalışmalar sonucunda 200'e yakın çeşidin daha tespiti yapılmış ve koleksiyona aktarılmıştır [6].

Türkiye’de üzüm üretiminde Manisa, Denizli, Mersin, Kahramanmaraş ve Mardin illeri öne çıkmaktadır [7].

Manisa ili Türkiye’nin sahip olduğu bağ alanlarının yaklaşık %29’unu, üretimde %16’sını, kurutmalık üzümde ise %90’ını oluşturmaktadır. Manisa ili merkezine bağlı bağ alanlarının toplamı 91900 dekar olup ilçeleriyle beraber toplam alan 780000 dekar civarında olduğu belirlenmiştir. İlçe bazında 2016 yılı verilerine göre en büyük bağ alanın Alaşehir ilçesine ait olduğu tespit edilmiştir [8]. Tablo 1.1’de Manisa İli ve İlçelerinin bağ alanları verilmiştir.

Tablo 1.1. Manisa ili ve ilçelerinin bağ alanları [8]

İlçe	Bağ Alanı (Dekar)
Ahmetli	50.000
Akhisar	19.000
Alaşehir	200.160
Demirci	6.405
Gölmarmara	23200
Gördes	4200
Kırkağaç	4950
Köprübaşı	339
Kula	5000
Salihli	110000
Sarıgöl	90000
Saruhanlı	90000
Selendi	1000
Şehzadeler	65000
Soma	500
Turgutlu	82650
Yunusemre	25000

Alaşehir ilçesinde birçok üzüm çeşidinin üretimi yapılmaktadır. Başta Sultani çekirdeksiz üzüm olmak üzere bunlardan bazıları; Razakı, Mevlana, Thompson Seedless, Red Globe, Horoz Karası ve Crimson Seedless çeşitleridir. Yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidi hem sofralık hem kurutmalık olarak kullanılabilir.

Manisa İli Alaşehir İlçesi’nde üretimi yapılan üzümler hem iç piyasada hem de dış piyasalarda satışa sunulmakta ve tüketilmektedir. Alaşehir İlçe Tarım

Müdürlüğü'nün 2018 yılı verilerine göre en çok ihraç edilen ilk 5 ürün arasında sofralık üzüm büyük bir farkla 1. sırada yer almaktadır [9].

1.1. Tezin Amacı

Asma binlerce yıldır farklı tüketim alanlarıyla insanlığın yararlandığı önemli bitkilerden biri olmuştur. Asmanın tanımlanmasında kullanılan ampelografik karakterizasyona dayanan klasik yöntemler, bu özelliklerin bitkinin içinde bulunduğu hem iç hem de dış çevre koşullarından etkilenmesi nedeniyle her zaman doğru sonuç vermeyebilmektedir. DNA temelli genetik markırların avantajı çevresel koşullardan etkilenmeden doğrudan genomik düzeyde tanımlama yapılabilmesine izin vermesidir [10]. Bununla beraber, morfolojik ve agronomik özelliklerden elde edilen fenotip bilgisi ıslah programları, konservasyon ve yeni varyetelerin ticarileştirilmesinde halen önemlidir.

Kişisel olarak, firmalar, çiftçiler ve ilçe tarım ve orman müdürlüğü personeli ile yapılan görüşmeler sonucunda, üzüm çeşitlerinin kimi zaman birbirine olan benzerliklerinden dolayı karıştırıldığı ve Mevlana ve Razakı çeşitleri arasında da görüldüğü bilgisine ulaşılmıştır.

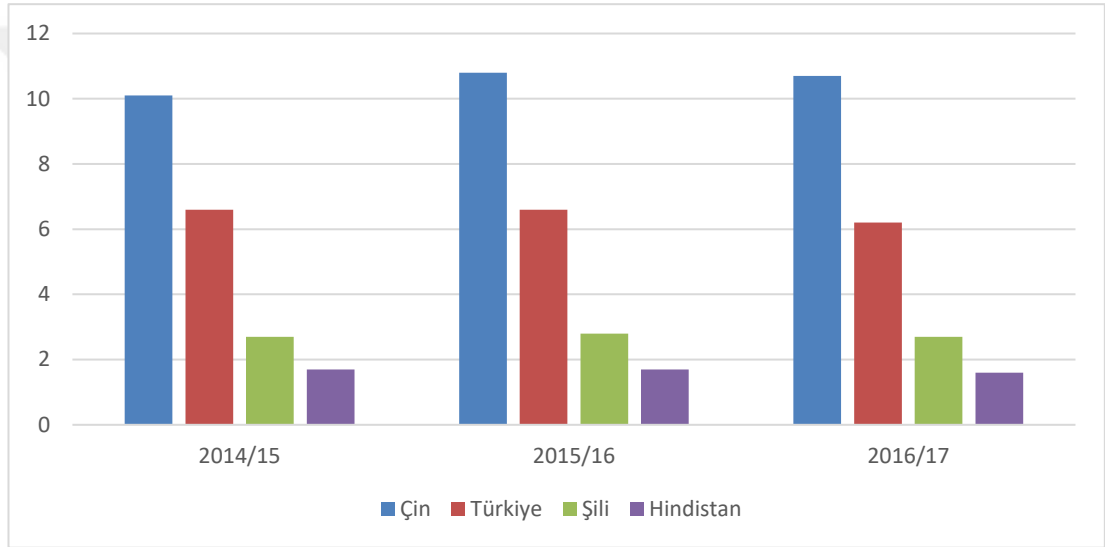
Çelik (2006) Razakı üzümünün tipleri arasında Buca Razakısı, Pembe Razakı, Şam Razakısı, Akhisar Razakısı ve Mevlana üzümleri olduğunu belirtmiştir [11].

Bu çalışmada Sultan1, Sultan7, Mevlana, Akhisar Razakı, Razakı ve Şika üzümlerinin bazı ampelografik özellikleri ile tanımlanması ve ISSR markırlarıyla aralarındaki genetik uzaklık ve yakınlıkları saptamak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Asma iklim ve toprak isteği bakımından çok çeşitli alanlarda yetiştirilebilmesi ve adaptasyon yeteneği yüksek bir bitki olması nedeniyle dünya genelinde yetiştiriciliği yapılabilen bir bitkidir. Diğer meyvelerle kıyaslandığında çeşit bakımından zengindir. Dünya üzerinde 7500000 hektar alanda üretimi yapılmaktadır [7].

Şekil 2.1’de dünyada bağ alanlarının genişliği açısından ilk dört ülke verilmiştir.



Şekil 2.1. Bağ alanları yönünden önemli ülkeler (%) [9]

Yaş meyve üretiminde, üzüm ülkemiz için önem bakımından ilk sıralarda yer almaktadır. Üretimin büyük bölümünü Manisa ili karşılamaktadır. Manisa ilçeleri bazında karşılaştırma yapıldığında ise Alaşehir ön plana çıkmaktadır. Bazı üzüm çeşitleri için rekolte tahmin rapor verileri Tablo 2.1, 2.2, 2.3’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Sultani (Çekirdeksiz Kurutmalık) üzümü 2018-2019 yılı rekolte tahmini (Manisa ili ve ilçeleri) [12]

İlçeler	Bağ Alanı (da)	Üretim (ton)
Ahmetli	45125	15383
Akhisar	18600	7086
Alaşehir	109000	35386
Gölmarmara	30000	18000
Kırkağaç	676	216
Kula	440	158
Salihli	109250	38481
Sarıgöl	31800	13293
Saruhanlı	103500	37978
Şehzadeler	71000	29772
Turgutlu	77500	29016
Yunusemre	20900	8067
Toplam	617791	232836

Sultani kurutmalık üzümde üretim alanı ve tonaj miktarları karşılaştırıldığında Alaşehir, Salihli ve Saruhanlı ilçeleri öne çıkmaktadır.

Tablo 2.2. Sultani (Çekirdeksiz Sofralık) üzümü 2018-2019 yılı rekolte tahmini (Manisa ili ve ilçeleri) [12]

İlçeler	Bağ Alanı (da)	Üretim (ton)
Ahmetli	2375	2858
Alaşehir	59000	76617
Kırkağaç	169	216
Köprübaşı	440	496
Salihli	7250	11385
Sarıgöl	74200	155090
Yunusemre	1100	1787
Toplam	144534	248449

Sultani üzümün sofralık amaçla üretildiği alanların, kurutmalık amaca yönelik yapılan üretim alanlarına göre daha az olduğu tablolardan görülmektedir. Nedeninin ise kişisel olarak yaptığımız görüşmeler sonucunda, sultaniye üzümünün kurutulduğunda kar oranının daha yüksek ve üzümün yapısının kurutmaya uygun olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 2.3. Bazı üzüm çeşitlerinde (Antep Karası, Trakya İlkeren, Red Globe, Mevlana, İtalia, Alphonse Lavellee, Michelle Paliari) 2018-2019 yılı rekolte tahmini (Manisa ili ve ilçeleri) [12]

İlçeler	Bağ Alanı (da)	Üretim (ton)
Akhisar	200	152
Alaşehir	20000	47647
Demirci	2000	400
Gördes	4250	7181
Kula	2780	1918
Salihli	1520	4042
Sarıgöl	4522	12966
Selendi	100	50
Soma	248	235
Şehzadeler	300	330
Yunusemre	810	1278
Toplam	36730	76199

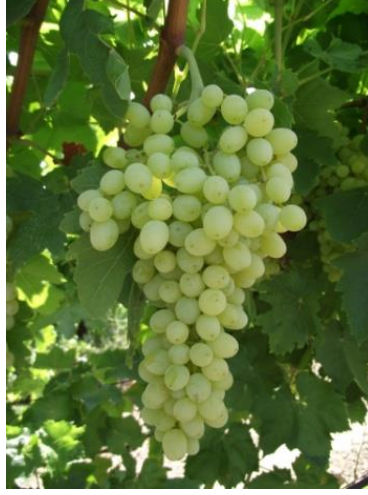
Çeşitler yönünden Tablo 2.3. 'da yapılan karşılaştırmada Alaşehir ilçesinin öne çıktığı görülmektedir. İlçede üretimi yapılan çeşitler hem iç hem de dış pazardan talep görmektedir [8]

2.1. Alaşehir İlçesinde Yetiştirilen Bazı Üzüm Çeşitlerinin Genel Özellikleri

2.1.1. Sultani Çekirdeksiz Üzüm Çeşidi

Olgunlaşma zamanı Ağustos ayının 2. yarısı olan Sultani çekirdeksiz üzüm yeşil-sarı renkli, küçük (1-1.5 g) tane yapısına sahip, salkım şekli konik ve ortalama salkım ağırlığı 350-500 g arasında olan bir üzüm çeşididir. Sofralık ve kurutmalık başta olmak üzere birçok amaçla üretimi yapılmaktadır. Bu nedenle geniş alanlarda yetiştiriciliği yapılmaktadır [13].

Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidinde yapılan çalışmalar sonucunda yeni çeşitler elde edilmiştir. Bu çeşitlerden ikisi Sultan1 ve Sultan7 çeşitleridir [14].



Şekil 2.2.Sultanî Çekirdeksiz üzüm çeşidi [13]

2.1.2. Razakı Üzüm Çeşidi

Razakı üzümü; ağustos ayının 2. yarısında olgunlaşmaktadır. Yeşil- sarı renkli, çok iri (6 - 7 g) tane yapısında, salkım şekli konik ve ortalama 450-600 g arasında salkım ağırlığına sahip olduğu bilinmektedir [13].



Şekil 2.3. Razakı üzüm çeşidi [13]

2.1.3. Mevlana Üzüm Çeşidi

Olgunlaşma zamanı ağustos ayının sonu olan Mevlana üzümü, yeşil renkli, çok iri (7 - 8 g) tane yapısına sahip, çekirdekli, kanatlı konik salkım yapısında, ortalama 450-500 g salkım ağırlığına sahip olduğu bilinen bir çeşittir [13].



Şekil 2.4. Mevlana üzüm çeşidi [13]

2.2. Ampelografi

Ampelografi; çeşitler arasındaki morfolojik farklılıkları inceleyen bilim dalıdır. Asmada tür ve çeşit tespiti, tanımlanması ve sınıflandırmasında eski çağlardan beri kullanılmaktadır.

Ampelografi kelimesinin kökeni yunanca “*amphelos*” ve “*graphes*” yani üzüm ve tanımlama sözcüklerinin birleştirilmesiyle oluşturulmuştur. Goethe 1876 yılında yaprakların incelenebileceğini öne sürerek yeni bir bakış açısı geliştirmiştir. Ampelografi terimi ise ilk defa 1961 yılında Sachs tarafından generatif organ tanımlamasında kullanılmıştır. Daha sonralarda ise sürgün, salkım, tane, bitki habitusu, bir yıllık dal, sürgün ucu, genç ve olgun yaprak gibi organlarda incelenmeye başlamıştır. İncelenen özellikler morfolojik, fenolojik, pomolojik özellikler olabildiği gibi çiçeklenme, tane ve verim gibi özelliklerden de yararlanılabilmektedir. Ampelografik çalışmalarda kullanılan yaprak morfolojik özelliklerinin (ampelometrik özellikler) çeşitlerin tanımlanmasında ayrıştırıcı olmalarının yanısıra fotosentez, klorofil miktarı ve verim gibi önemli bitkisel üretim parametreleri ile de ilişkisi bulunmaktadır. Ampelografik özelliklerin

belirlenmesinde 1983 yılında ortak bir dil kullanılması amacıyla “Descriptors for Grape” adı ile teşhis kodları yayınlanmıştır [15, 16].

2.2.1. Ülkemizde Yapılan Bazı Ampelografik Çalışmalar

Türkiye’de ampelografik çalışmalar Cumhuriyet döneminde başlamıştır. Ampelografik özelliklerin incelenmesi ve çeşit tanımlaması üzerine çalışmalar yapılmıştır. İlk yayın 1926 yılında Ahmet Hamdi Beyin “Pratik ve Teorik Bağcılık” adlı eseridir. İlk bilimsel çalışma ise 1937 yılında Nail Oraman tarafından yapılmıştır [16].

Oraman (1941) çeşitlerin anavatanı, ampelografisi ve çiçek biyolojisini incelemiştir. Oraman ve Aksoy, 1945 ve 1946 yıllarında 24 üzüm çeşidinde benzer incelemelerde bulunmuşlardır [16, 17, 18, 19, 20].

Kısakürek (1950) Gaziantep ilinde yetiştiriciliği yapılan 27 üzüm çeşidinin ampelografik özelliklerini Moog (1930) ve Oraman (1937)’in kullanmış oldukları metoda göre çalışmış ve çeşitlerin sinonimleri, kullanılış şekilleri, koltuk verme durumlarını da incelemiştir [16, 21].

Kısakürek (1956) İzmir ve Manisa illerinde bağcılığın potansiyeli ile beraber çeşitlerin ampelografik özelliklerini de incelemiştir [16, 22].

Oraman ve Ağaoğlu’nun 1969 yılında beraber yürüttüğü çalışmada, Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan sofralık, kurutmalık ve şaraplık üzüm çeşitlerinden toplam 273 çeşide ait; salkım şekli, tane rengi ve şekli, kabuk, tane içi, çekirdek sayısı, tat ve verimlilik özelliklerini incelemişlerdir [16, 23].

Çelik ve Ağaoğlu (1986) ülkemizde yürütülen klon seleksiyon çalışmalarında sofralık, kurutmalık ve şaraplık üzüm çeşitlerinin ampelografik özellikleri hakkında bilgilere yer vermişlerdir [16, 24].

Uzun tarafından 1986 yılında Ege Üniversitesi’nde 46 yerli ve yabancı üzüm çeşidi üzerinde yapılan bir araştırmada ampelografik özellikler incelenmiş ve çeşitler arasında önemli farklar tespit edilmiştir [16, 25].

Kara (1990) Tokat ilinde 44 üzüm çeşidi ile [26], 1991 yılında Altın tarafından Çukurova Üniversitesi Araştırma bağında 16 üzüm çeşidi ile [27], Gürsöz (1993) GAP projesi kapsamındaki illerde 35 üzüm çeşidi ile [28], 1994 yılında Aktepe tarafından Kalecik ilçesinde 15'i beyaz 13'ü renkli toplam 28 üzüm çeşidi ile [29], Dursun (1994) Delice ilçesi ve köylerinde 8'i beyaz 6'sı renkli toplam 14 üzüm çeşidi ile [30], 1994 yılında Gemalmaz tarafından Beypazarı ve Güdül ilçelerinde 14'ü beyaz 11'i renkli toplam 25 üzüm çeşidinde [31], 1994 yılında Kaplan tarafından 53 üzüm çeşidi ile [32], Kara ve Beyoğlu (1995) Konya ili Beyşehir ilçesinde 6'sı beyaz 4'ü renkli toplam 10 üzüm çeşidi ile [33], 1995 yılında Akın tarafından Konya ili Hadim, Akören ve Güneysınır ilçelerinde 11 üzüm çeşidinde [34], 1995 yılında Diri tarafından Sungurlu'da 10'u beyaz 7'si renkli toplam 17 üzüm çeşidinde [35], Türkkan (1996) İncesu'da 17 'si beyaz 12'si renkli toplam 29 üzüm çeşidiyle [36] yapılan çalışmalarda IBPGR (International Board For Plant Genetic Resources) (Uluslararası Bitki Genetik Kaynakları Merkezi) tarafından hazırlanmış olan "Üzüm Tanımlayıcıları" (Descriptors for Grape) yönteminin ilk bölümünü oluşturan "Tanımlama ve Ön Değerlendirme Verileri" metodu kullanılarak belirlenmeler yapılmıştır [16].

Uyak ve ark. (2011) Siirt ili Pervari ilçesinde 16 yöresel üzüm çeşidinde (Boğa, Cevzane, Gevre, Hacı Mendi, Hezirani, Memky Eyşo, Mivağış, Mivazer, Polati, Rötik, Silopi, Sipiyo, Siropiromenda, Tarsus Beyazı, Tarsus Siyahı ve Tayfi) yapılan çalışmada ampelografik özellikleri "Uluslararası Bitki Gen Kaynakları Merkezi" (IBPGR) tarafından oluşturulan "Üzüm Tanımlayıcıları" metoduna göre belirlenmiştir. Üzümlerde sürgün ucu antosiyanin dağılımı, sürgün ucunda yatık tüyler, genç yaprak üst yüzünün rengi, yaprak alanı, yaprak üst yüzünün rengi, bir yaşlı çubukların enine kesiti, çiçek yapısı, üzüm salkım büyüklüğü, salkım sapı uzunluğu, tane uzunluğu, çekirdek uzunluğu, olgunlaşma zamanı, salkım ağırlığı, tane ağırlığı incelenmiştir [16, 37].

Erez ve ark. (2017) Siirt ili ve 5 ilçesinde yaptığı çalışmada 20 farklı üzüm çeşidi incelenmiştir. Uyak ve ark (2011) çalışmasında kullanılmayan 2 çeşidi de araştırmaya dahil ederek, 20 çeşidinde *Vitis vinifera* L. türüne ait olduklarını belirlemişlerdir [38].

Kara ve ark. (2016) “Gök Üzüm” çeşidini ampelografisini incelemişlerdir. OIV ve asma anaç çeşit tanımlama kriterlerinden; 69 asıl tanımlayıcıdan 63’ü, 89 tanımlama karakterinden 81’i olmak üzere toplam 144 özellik ile çalışmışlardır [39].

Güler ve ark. (2013) yaptıkları bir çalışmada Mardin Merkez ilçeye bağlı Elmabahçe Köyü (Tizyan)’nde toplam 40 OIV kriteri kullanılarak, ampelografik özellikleri aracılığıyla 12 üzüm çeşidi tespit etmişlerdir. Genotiplerin sinonim olma durumları incelenmiş ve Şînik, Reş ve Nukil Qijak çeşitleri ilk kez tanımlanmıştır [40].

Kara ve ark. (2018) yılında yaptıkları çalışmada, Konya’da yaygın olarak üretilen, eski bir üzüm çeşidi olan Ekşi Kara üzümünün ve bölgede yetiştirilen sinonimlerinin ampelografik tanımlanmasını 63 temel ve 81 karşılaştırmalı olmak üzere toplam 144 OIV kriteri kullanarak yapmışlardır. Çalışmanın yapıldığı alanda çeşitler arasında ampelografik özellikler bakımından ayırıcı bir ampelografik farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir [41].

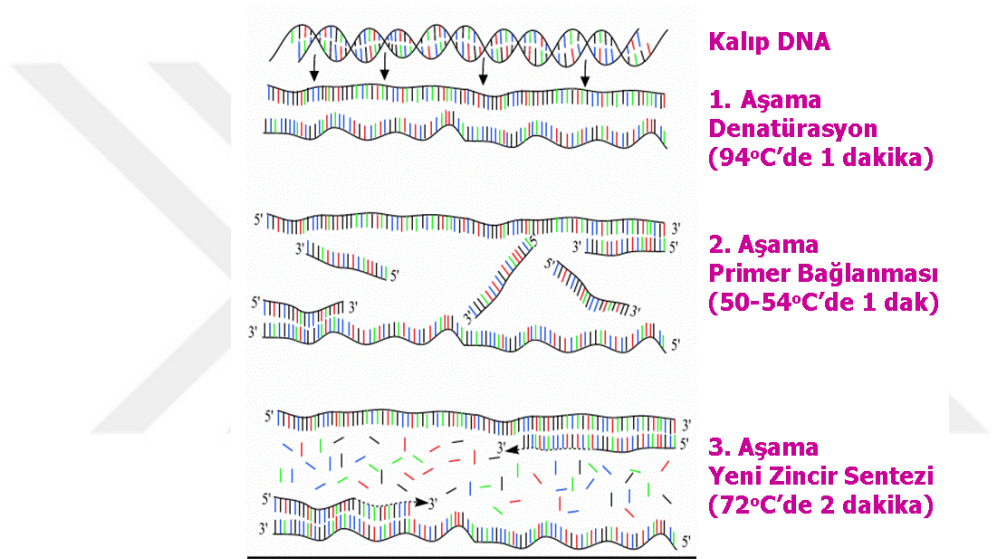
Bahar ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada, Trakya Bölgesi Ganos (Işıklar) Dağları’nda yetişen asma popülasyonlarının morfolojik ve moleküler tanımlamaları yapılmıştır. Genotipler arasında ampelografik ve morfolojik özellikler açısından farklılıklar olduğu, bölgedeki asmalarda görülen biyoçeşitliliğin gelecekteki ıslah çalışmaları ve moleküler karakterizasyon araştırmaları için bir referans olabileceğini bildirmişlerdir [42].

Doğan ve ark. (2017) Hizan (Bitlis) yöresinde yetiştirilen 24 yerel üzüm çeşidinin ampelografik özelliklerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, iki farklı genotipin Tayfi ismiyle homonim oldukları, Bineteti, Sinciri, Bağilti ve Reşaalıya çeşitlerinin ise Beyaz Bineteti, Beyaz Sinciri, Reşaalıya ve Bağilti çeşitleri ile sinonim olabileceklerini bildirmişler ve morfolojik özellikler çevre koşullarına göre değişimler gösterdiğinden bu çeşitlerin homonim ve sinonim durumlarının moleküler çalışmalar ile desteklenerek araştırılması gerektiğini belirtmişlerdir [43].

2.3. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Yöntemi

Kary Mullis tarafından 1985 yılında keşfedilen bu metod, herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'daki özel bölgelerin amplifikasyonunu sağlayan basit ve başarılı bir *in-vitro* DNA sentezi yöntemidir. Kısa sürede DNA molekülünün milyonlarca kopyasının oluşturulmasına olanak sağlamaktadır.

PCR yöntemi denatürasyon, annealing ve extension olmak üzere 3 ana bölümden oluşmaktadır. Şekil 2.1.'de PCR yönteminin bölümleri ve kısaca açıklanmıştır.



Şekil 2.5. PCR yönteminin aşamaları [44]

Denatürasyon aşamasında 94°C'de DNA zincirinin ayrılması gerçekleştirilir. Böylelikle çift iplikçikli yapıdaki DNA tek iplikçikli yapıya dönüştürülmektedir.

Primer bağlanması (Annealing) kısmına geçildiğinde ise uygun sıcaklıkta primerlerin DNA üzerindeki hedef bölgelere eşleşmesi sağlanmaktadır.

Extension (uzama) aşamasında Taq polimeraz enziminin en uygun çalışma sıcaklığı olan 72°C'de primerler uzar ve tamamlayıcı zincir sentezi gerçekleşmektedir [44].

Polimeraz zincir reaksiyonu aynı zamanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA/Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism/ Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat/ Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) gibi DNA markırlarının çoğaltılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır [45].

2.3.1. DNA Markırları

DNA markırları, genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır. DNA markırları farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılığının ortaya çıkarılmasında kullanılmaktadır. DNA temelli markırlar, DNA molekülündeki polimorfik bölgelerin saptanmasına dayanmaktadır. Popülasyonda her hangi bir genin veya özelliğin birden fazla formu bulunuyorsa o gen ya da fenotipik özellik polimorfik olarak kabul edilmektedir. DNA markırları DNA dizisindeki çeşitli mutasyonlar nedeniyle oluşmaktadır. DNA markırları kültür çeşitlerinin tanımlanmasında, yeni geliştirilen çeşitlerin koruma altına alınmasında, genetik akrabalıkların belirlenmesinde gen kaynaklarının karakterizasyonunda, genetik kaynağın yapısını anlamada, ebeveynlerin belirlenmesi ya da hastalık teşhisi gibi birçok farklı alanda kullanılabilmektedirler [45, 46].

2.4. ISSR Yöntemi (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)

Yöntem, ökaryotik genomlarda tekrar eden 2, 3, 4, 5 gibi nükleotid birimlerinin lokustan bağımsız bir şekilde genomda rastgele dağılımlarını esas almaktadır. Genetik çeşitliliğin belirlenmesi, filogenetik çalışmalar, genom haritalama, evrim biyolojisi gibi konuların araştırılmasında kullanılmaktadır. Avantajları kullanımının hızlı, uygulanmasının kolay, maliyetinin düşük ve amplifikasyon oranının yüksek olmasıdır. Dezavantajı ise RAPD yöntemine göre tekrarlanabilirliğinin yüksek olmasına karşın, diğer markırlarla karşılaştırıldığında daha düşük olmasıdır. ISSR markırları, Mendel kalıtımına uygun olarak dominant markırlar vermektedir [47].

Uygulanış yöntemi bakımından RAPD tekniğine benzemesine rağmen kullanılan primerlerin mikrosatellit bölgelerinden çoğaltılmış olması ve “annealing” sıcaklığının yüksek olması ile RAPD yönteminden ayrılmaktadır.

Teknik son yıllarda pekçok araştırmacı tarafından farklı bitkiler üzerinde kullanılmaya başlamıştır. Yonca [48], nohut [49], mantar [50], acı bakla [51], arpa [52], kişniş [53], bögürtlen [54] bunlardan bazılarıdır.

2.4.1. Üzümde ISSR Yöntemi ile Yapılan Bazı Çalışmalar

ISSR yöntemi ile ilk çalışmalar 1994 yılında Zietkiewicz ve ark. (1994) ile Gupta ve ark. (1994) tarafından yapılmış ve yöntemin bitki türlerindeki varyasyonu belirlemede kullanışlı olduğu tespit edilmiştir [1, 55, 56].

Moreno ve ark. (1998)'nın yaptığı çalışmada ISSR tekniğiyle beraber 2 farklı elektroforez ve boyama yöntemi uygulanmış ve polimorfizmi belirlemiştir. Ayrıca en net ve parlak bantların poliakrilamid jel elektroforezi ve gümüş nitratla boyamadan elde edildiğini belirlemişlerdir [1, 57].

Herrera ve ark. (2002) şili'de 4 üzüm çeşidiyle yaptığı çalışmada RAPD ve ISSR tekniğini birlikte kullanmış ve genetik tanımlamalar yapmışlardır. Çeşitler üzerinde her iki teknikte kullanılarak genetik ayırım yapılabilmıştir. ISSR yönteminin verimliliğinin RAPD tekniğine göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda Fransız ve şili Merlot klonlarının arasında 0.640 oranında benzerlik bulunmuş ve yakın akraba olmadıkları görölmüştür [58].

Wu ve ark. 2006 yılında 15 ISSR primeri ve 15 üzüm çeşidiyle yapmış oldukları çalışmalarında % 86.7' lik polimorfizm elde etmiş ve çeşitler arasında genetik benzerlik oranınının 0.27-0.75 arasında değiştiğini, çeşitlerin türlere göre iki ana grupta yer aldığını tespit etmişlerdir [59].

Sabır ve ark. (2008) Türkiye'de üretimi yapılan 16 adet sofralık üzüm çeşidinde (*Vitis spp.*) yaptıkları çalışmada, genetik ilişkileri belirlemek üzere ISSR markırlarını kullanmışlardır. Toplam 50 adet primerden seçilen 14 adet primerin 88 tanesi polimorfik olmak üzere 110 adet bant verdiğini (% 80.5 polimorfik) saptamışlardır. Ortalama genetik benzerliğin 0.637 olduğu, 0.422 (Isabella ve Königin der Weingärten çeşitleri) ile 0.907 (Alphonse Lavallée ve A. L. Type Royal) arasında değiştiğini, morfolojik ve kültürel özellikler ile yüksek benzerlik değerü göz

önüne alındığında Alphonse Lavallée ve A. L. Type Royal çeşitlerinin identik olabileceğini bildirmişlerdir [60].

Sabır ve ark. (2009) 44 üzüm çeşidinin ampelografik ve moleküler karakterizasyonunu yaptıkları çalışmalarında ampelografik özelliklerin ortalamalarından bir dendrogram oluşturmuşlar, ek olarak 20 adet ISSR primerini incelemişlerdir. ISSR primerlerinin 140 adedi polimorfik olmak üzere 157 adet bant verdiğini bulmuşlardır. Her iki yöntemden elde edilen dendrogramların büyük ölçüde benzediğini en az uzaklığın Yuvarlak Çekirdeksiz ve Superior Seedless çeşitlerinde olduğunu belirtmiş, kümeleme yerleşimlerinin üzümlerin coğrafik orijinleri ile beraber kullanım alanları ve genetik uzaklıklarına göre ortaya çıktığını bildirmişlerdir [61].

Karimi ve ark. (2011) Horasan Bölgesi'ne ait 8 yerli asma genotipi ve Türkmenistan'dan getirilen 8 genotip üzerinde RAPD ve ISSR markırları ile yaptıkları çalışmada, 7 RAPD primeri ile 59 bant ve 7 adet ISSR primeri ile 58 adet bant elde etmişlerdir. RAPD ve ISSR primerleri için ortalama polimorfik bant sayısını sırası ile 8.4 ve 8.2 bulmuşlardır. Her iki markır tipinden elde edilen veriler birleştirildiğinde ortaya çıkan dendrogramda genetik uzaklık olarak iki adet ana küme elde edildiğini, Türkmen ve Horasan genotiplerinin ayrı kümeler oluşturduğunu, Jaccard Benzerlik Katsayısına göre, en yüksek benzerliğin Turkmen 6 ve Turkmen 8 genotiplerinde, en düşük benzerliğin ise Turkmen 3 ve Sahebi e Rezaieh genotiplerinde görüldüğünü tespit etmişlerdir [10].

Mısır'da Hassan ve ark. (2011) asmanın Mısır'da üretimi yaygın olarak yapılan bir bitki olmasına rağmen; biyotik ve abiyotik stres koşulları nedeniyle ciddi bir tehdit altında olduğunu ve yerel genotiplerin korunmasının önemini belirttikleri çalışmalarında, üç çeşit üzerinde 20 morfolojik karakter ve 10 adet ISSR markırını kullanarak genetik ilişkileri incelemişlerdir. Asmanın genetik çeşitliliğinin araştırılmasında genetik markırların, çeşitler arasındaki genetik ilişkilerin bulunması ve asma çeşitlerinin identifikasyonu için uygun olduğunu, incelenen morfolojik özelliklerin de tarımsal öneme sahip bu bitkinin korunmasında kullanılabileceğini bildirmişlerdir [62].

Hindistan'da yapılan bir çalışmada Choudhary ve ark. (2014) dört üzüm çeşidinde (Nanasaheb Purple, Sonaka, Thompson Seedless) genetik çeşitliliği 10 adet ISSR primeri ile araştırmışlar ve 7 tanesini polimorfik bulmuşlardır. Bu primerler toplam 86 adet bant vermiş ve bu bantlardan 56 tanesi polimorfik bulunmuştur. Kümeleme analizi yapıldığında iki adet ana küme (cluster) olduğunu birinci kümede sadece Nanasaheb mor çeşidinin bulunduğunu, diğer çeşitlerin ise ikinci ana kümede yerleştiğini bildirmişlerdir. Thompson Seedless ve Ganesh çeşitleri arasındaki genetik benzerliği 0.63, polimorfizm bilgi içeriğinin (PIC = polymorphism information content) primerlere göre 0.78 ile 0.88 arasında değiştiğini, markır indeksinin (MI = markır indice) ise 3.89 ve 8.80 arasında olduğunu saptayarak, ISSR markırlarının üzümde genetik çeşitliliğin araştırılmasında kullanılabilecek yararlı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir [63].

Asmada genetik çeşitlilik oldukça fazladır. Aynı zamanda homonim ve sinonimler çok sayıda görülmektedir. Castrove ark. (2016) 56 Portekiz aksesyonunda ISSR ve RAPD primerleri ile yaptıkları araştırmada bu aksesyonlar arasındaki homonim, sinonim ve yanlış adlandırmaları incelemişlerdir. Bir çok örneğin farklı koleksiyonlarda farklı adlarla yetiştirildiklerini ama aynı genotip olduğunu (Gouveio/Verdelho, Sousão Douro/Vinhão ve Arinto Oeste/ Pedernã) belirlemişler, Azal Tinto ve Rabigato aksesyonlarında da homonim/yanlış adlandırma bulunduğunu saptamışlardır. RAPD ve ISSR markırlarının asma varyetelerinin tanımlanmasında yeterli moleküler yöntemler olduğunu ve asma koleksiyonlarının yönetilmesinde kullanılabileceklerini bildirmişlerdir [64].

Basheer-Salimia ve Mujahed (2019) Filistin'de yetiştirilen 36 üzüm çeşidinde genetik ilişkileri ISSR primerleri kullanarak araştırmışlardır. İncelenen primerlerden 17 tanesi değerlendirilebilir bant vermiş, elde edilen 57 bandın 55'inin polimorfik olduğunu saptamışlardır. ISSR bantlarından oluşturulan matris ve dendrogram sonunda ortalama genetik uzaklığın 0.05 ve 0.76 arasında değiştiğini, en yüksek genetik uzaklığın Shami ve Marawi.Hamadani.Adi ile Bairuti ve Marawi.Hamadani.Adi üzümleri arasında olduğunu, en düşük genetik uzaklığın ise Jandali.Tawel.Mofarad ve Jandali. Kurawi.Mlzlz ile Shami.Aswad ve Shami.mtartash.mlwn genotipleri arasında olduğunu saptamışlardır. Çalışma sonunda ISSR markırları ile incelenen çeşitlerin DNA düzeyinde geniş bir çeşitlilik

gösterdiğini ve bölgenin asmanın genetik yapısı bakımından önemli bir zenginlik gösterdiğini belirtmişlerdir [65].



3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Materyal

Bu çalışmada örnekler 2016-2018 yılları arasında Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (BAEM) koleksiyon bağından ve Manisa BAEM' e ait Alaşehir İşletmesi bağ alanından toplanmıştır. Çalışmada, 6 çeşide (Akhisar Razakı, Razakı, Mevlana, Sultan1, Sultan7, Şika) ait yaprak örnekleri kullanılmıştır.

3.1.1. Sultan 1 Üzüm Çeşidi



Şekil 3.1. Sultan 1 yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü

Sultan 1 çeşidi Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından 2011 yılında tescil ettirilmiş yeni bir üzüm çeşididir. Sofralık özelliği öne çıkmaktadır.

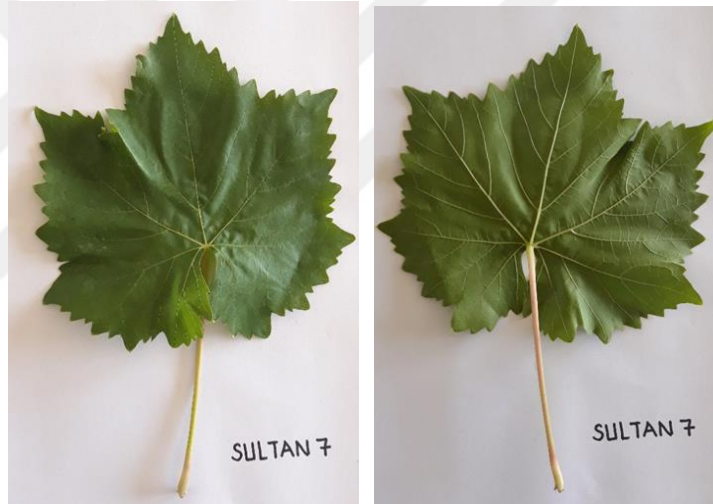
Sultan 1 yeni bir çeşit olmasından dolayı yoğunluklu olarak Ege Bölgesi'nde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Çekirdeksiz, küçük tane yapısına sahip, salkım şekli konik ve salkım ağırlığı 450-500 gram arasındadır. Budama şekli olarak uzun budama yapılmaktadır. Sofralık özelliği öne çıkmaktadır.

Sultan 1 üzüm çeşidine ait asma genel görünümü Şekil 3.2.'da verilmiştir.



Şekil 3.2. Sultan1 asma genel görünümü

3.1.2. Sultan 7 Üzüm Çeşidi



Şekil 3.3. Sultan 7 yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü

Sultan 7 çeşidi 2011 yılında Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından tescil ettirilmiştir.

Sultan 7 üzüm çeşidi yeni tescillenmiş olmasından dolayı yoğunluklu olarak Ege Bölgesi'nde yetiştirilmektedir. Çekirdeksiz, küçük tane yapısında, salkım şekli konik ve salkım ağırlığı 350-400 gram arasındadır. Budama şekli uzun budama olup kurutmalık özelliği öne çıkan bir çeşittir. Yüksek veriminden dolayı tercih edilmektedir.

Asmanın genel görünümüne ait resim Şekil 3.4.'da verilmiştir.



Şekil 3.4. Sultan 7 asma genel görünümü

3.1.3. Razakı Üzüm Çeşidi



Şekil 3.5. Razakı yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü

Ülkemizde yetiştiriciliği yaygın olarak yapılmaktadır. Adaptasyon yeteneği yüksektir. Tane yapısı, çekirdekli, iri ve uzun eliptik yapıdadır. Salkımlar kanatlı konik- Silindirik yapıda 450-600 gram ağırlığındadır. Budama şekli karışık-kısaadır. Sofralık bir çeşittir.

Razakı üzüm çeşidine ait asma görüntüsü Şekil 3.6.'da verilmiştir.



Şekil 3.6. Razakı asma genel görünümü

3.1.4. Mevlana Üzüm Çeşidi

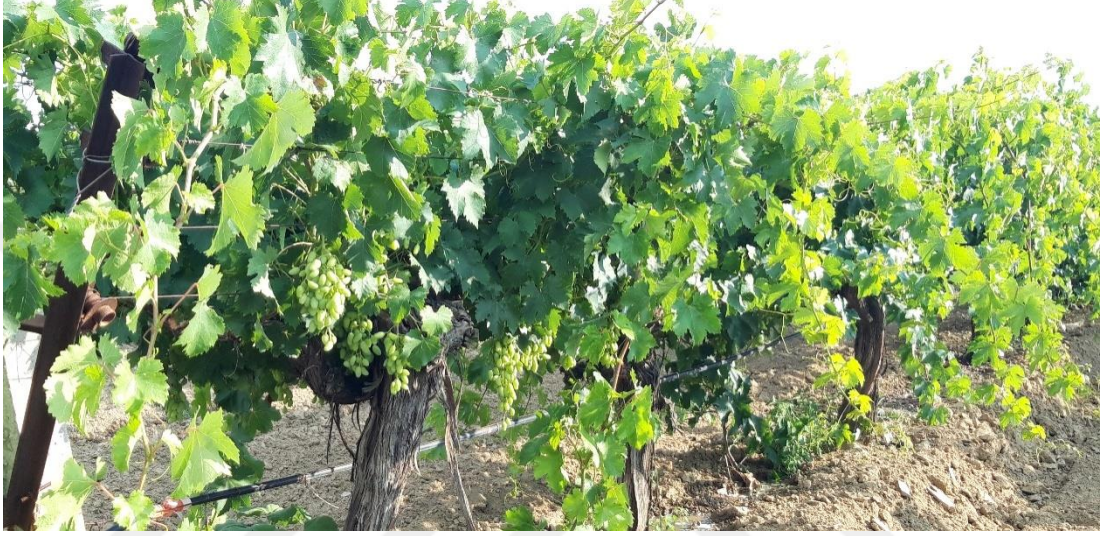


Şekil 3.7. Mevlana yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü

Mevlana üzüm çeşidi yoğunluklu olarak Ege Bölgesi'nde üretilmekle beraber, ülkemizin farklı bölgelerinde de yetiştirilmektedir.

Tane yapısı çekirdekli ve çok iridir. Salkım şekli kanatlı konik ve salkım ağırlığı 450-500 gram arasında değişmektedir. Kısa ve karışık budama şekli uygulanmaktadır. Kuvvetli verimli bir çeşittir. Çardak terbiye sistemine uygun olup verimi yüksektir. Sofralık özelliği öne çıkan bir çeşittir.

Mevlana çeşidine ait asma genel görüntüsü Şekil 3.8.'da verilmiştir.



Şekil 3.8. Mevlana asma genel görünümü

3.1.5. Akhisar Razakı Üzüm Çeşidi



Şekil 3.9. Akhisar Razakı yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü

Sofralık amaçla üretimi yapılmaktadır. Tane yapısı, çekirdekli, iri ve uzun eliptik yapıdadır. Salkımlar kanatlı konik- Silindirik yapıda 400-500 gram ağırlığındadır. Budama şekli karışık-kısadır.

Akhisar Razakı çeşidine ait asma görünütüsü Şekil 3.10.'da verilmiştir.



Şekil 3.10. Akhisar Razakı asma genel görünümü

3.1.6. Şika Üzüm Çeşidi



Şekil 3.11. Şika yaprağının ön ve arka yüzünün görüntüsü

Şika üzüm çeşidi Balıkesir, Çanakkale yöresinde yetiştiriciliği yoğun olarak yapılan sofralık bir çeşittir. Tane yapısı çekirdekli ve çok iridir. Salkımları konik yapıda, 500-600 gram ağırlığındadır. Kısa budama uygulanmaktadır.

Şika üzüm çeşidi Balıkesir, Çanakkale yöresinde yetiştiriciliği yoğun olarak yapılan sofralık bir çeşittir. Tane yapısı çekirdekli ve çok iridir. Salkımları konik yapıda, 500-600 gram ağırlığındadır. Kısa budama uygulanmaktadır.

Şika üzüm çeşidine ait asma görüntüsü Şekil 3.12.'da verilmiştir.



Şekil 3.12. Şika asma genel görünümü

3.2. Yöntem

Akhisar Razakı, Razakı, Mevlana, Sultan1, Sultan7, Şika çeşitlerinden alınan yaprak örnekleri bitkisel materyal olarak kullanılmıştır. Akhisar Razakı, Razakı, Mevlana, Sultan1, Sultan7, Şika çeşitlerinde bazı ampelografik özellikler (yaprak ayası (cm²), aya şekli, yaprak dilim sayısı, yaprak boyu/sap boyu oranı, N1 damar uzunluğu (cm)) OIV (Organisation International de la Vigne et du Vin, Uluslararası Bağ ve Şarap Örgütü) kodlarına (OIV 065, OIV 067, OIV 068,OIV 601) göre ve

OIV tanımlayıcı özellikler içerisinde bulunmayan ölçülebilir yapıda olan yaprak eni (cm), yaprak boyu/sap boyu oranı ve sap boyu (cm) ölçülmüştür. Yaprak eni/boyu oranı ise Galet (1979)'a göre değerlendirilmiştir. Fenolojik özelliklerin değerlendirilmesinde Uyanma Zamanı (OIV 301), Çiçeklenme Zamanı (OIV 302), Ben Düşme Zamanı (OIV 303), Olgunlaşma Zamanı (OIV 304), kriterleri gözlenmiştir [1, 66, 67].

Fenolojik gözlemler, OIV tanımlayıcılarına göre;

Uyanma Zamanı, Çok erken (1) 18 Mart ve öncesi, Erken (3) 19-22 Mart, Orta (5) 23- 26 Mart, Geç (7) 27-30 Mart, Çok geç (9) 31 Mart ve sonrası,

Tam çiçeklenme, Çok erken (1) 1 Mayıs ve öncesi, Erken (3) 2-5 Mayıs, Orta (5) 6-9 Mayıs, Geç (7) 10-13 Mayıs, Çok geç (9) 14 Mayıs ve sonrası,

Ben Düşme, Çok erken (1) 13 Haziran ve öncesi, Erken (3) 14-21 Haziran, Orta (5) 22-29 Haziran, Geç (7) 30 Haziran-7 Temmuz, Çok geç (9) 8 Temmuz ve sonrası,

Olgunluk, Çok erken (1) 3 Temmuz ve öncesi, Erken (3) 4-17 Temmuz, Orta (5) 18-31 Temmuz, Geç (7) 1-14 Ağustos, Çok geç (9) 15 Ağustos ve sonrası olarak tanımlanmıştır.

Ayrıca 14 adet primer kullanılarak ISSR yöntemi aracılığı ile çeşitler arasındaki genetik uzaklık ve yakınlıkları tespit edilmeye çalışılmıştır.

3.2.1. Ampelografik Özellikler

Ampelografik bakımından incelenecek örnekler ilkbahar aylarında toplanmıştır. Örnekler; OIV'de belirtilen şekilde, olgun yapraklardan, zedelenmemiş ve hastalıktan arı olacak şekilde tesadüfi olarak seçilmiştir. Her çeşitten 30 örnek toplanmıştır.

Uzunluk birimi olarak “cm” kullanılmış ölçümler kumpas kullanılarak yapılmıştır. Ölçüm sırasında kullanılan aletler ve ölçüm fotoğrafları Şekil 3.13. , yaprak eni ve sap boyu ölçümü Şekil 3.14. ‘da verilmiştir.



Şekil 3.13. Ampelografik ölçümler sırasında kullanılan aletler



Şekil 3.14. Yaprak eni ve sap boyu ölçümü

Çeşide ait fenolojik gözlemler (olgunluk, ben düşme, çiçeklenme), gözlem yapılan bağ alanlarındaki, teze konusu olan çeşitlerin asmaları üzerinden yapılmıştır.

3.2.2. ISSR Analizleri

3.2.2.1. DNA İzolasyonu İçin Yaprak Örneklerinin Toplanması

İlkbahar aylarında sabahın erken saatlerinde örnek toplanmıştır. Sürgün ucunda bulunan, yaprak şeklini oluşturmuş, genellikle ilk 3 boğumda bulunan genç yapraklar alınmıştır. Hastalık ve zararlılardan arı örneklerin alınmasına özen

gösterilmiştir. Örnekler toplanırken, alkolle muamele edilmiş ve yakılmış cımbızlar kullanılmıştır. Cımbızlar dönüşümlü olarak kuru buz içerisinde bekletilmiştir.

Toplanan örnekler kuru buzda bekletilmekte olan tüplerin içine alınmıştır. Tüpler, örneğin alındığı asma çeşidine göre numaralandırılmıştır.

Örnekler laboratuvar koşullarına ulaştırılana kadar kuru buzda muhafaza edilmiş ve sonrasında -80°C 'deki dondurucuya alınmıştır.

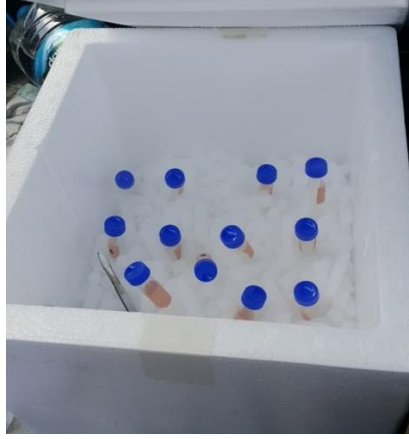
Örnek toplama ve örneklerin dondurucuya alınana kadar kuru buzda bekletilmesi sırasında çekilen fotoğraflar Şekil 3.15., Şekil 3.16., Şekil 3.17., Şekil 3.18.'da verilmiştir.



Şekil 3.15. DNA izolasyonu için örnek toplanması 1



Şekil 3.16. DNA izolasyonu için örnek toplanması 2



Şekil 3.17. Kuru buz içinde bekletilen, numaralanmış boş örnek tüpleri ve



Şekil 3.18. DNA izolasyonu için toplanan örnekler

3.2.2.2. DNA İzolasyonu

Toplanan örneklerden 2 farklı yöntem kullanılarak izolasyon yapılmıştır. Birinci yöntemde Lodhi ve ark. (1994) yöntemine göre DNA izolasyonu yapılmış, ikinci yöntemde ise bitki DNA saflaştırma kiti (GeneJet Plant Genomic DNA Purification Mini Kit, Thermo Scientific) kullanılarak örneklere ait DNA'lar izole edilmiştir [68].

3.2.2.2.1. DNA İzolasyonu1

Çalışmada kullanılan çeşitlere ait yaprak örneklerinden Lodhi ve ark. (1994) yöntemi kullanılarak DNA elde edilmiştir. Ekstraksiyon tamponu (buffer) (CTAB ekstraksiyon tamponu) 20 mM EDTA (stok çözelti 0.5 M), 100 mM Tris-HCL (stok çözelti 1M), 1.4 M NaCl (5 M), % 2.0 (w/v) CTAB (% 16 CTAB w/v stok çözeltisi)

kullanılarak hazırlanmış, kullanımdan önce içerisine 50 mMDTT (Ditiotreitol) katılmıştır. Ek olarak CIA(Kloroform/izoamil alkol/ (24:1) çözeltisi hazırlanmıştır. DNA izolasyonunda sonra elde edilen DNA peletinin çözülmesinde TE (Tris-EDTA) tamponu kullanılmıştır. Stok çözeltiler,CTAB Ekstraksiyon tamponu ve TE (Tris-EDTA) tamponunun hazırlanışı Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1.Stok Çözeltiler, CTAB Ekstraksiyon Tamponu ve TE (Tris-EDTA) Tamponunun Hazırlanışı

A. CTAB Ekstraksiyon Tamponunun Hazırlanışında Kullanılan Çözeltiler	
0.5 M EDTA Stok Çözeltisi, 1000 ml, pH 8.0	186.12 g EDTA, 800 ml otoklavlanmış ultra saf su ile çözdürülmüş, pH NaOH ile 8.0’a ayarlanarak, 1000 ml’ye tamamlanmıştır.
20 mM EDTA	0.5 M EDTA stok çözeltisinden sulandırılarak hazırlanmıştır.
1 M Tris-HCl Stok Çözeltisi, 1000 ml	121.1 g Tris base 800 ml otoklavlanmış ultra saf su ile çözdürülmüş, pH HCl ile 8.0’a ayarlanarak, 1000 ml’ye tamamlanmıştır.
100 mM Tris-HCL	1 M Tris-HCl stok çözeltisinden sulandırılarak kullanılmıştır.
5 M NaCl Stok Çözeltisi, 1000 ml	292 g NaCl, 800 ml otoklavlanmış ultra saf su ile çözdürülmüş, 1000 ml’ye tamamlanmıştır.
% 16 (w/v) (Hexadecyltrimethylammonium bromide) Stok Çözeltisi	16 g CTAB 100 ml otoklavlanmış ultra saf su ile çözüldürülmüştür.
24:1 CIA Çözeltisi	100 ml çözelti için 96 ml kloroform üzerine 4 ml izoamil alkol eklenmiştir. Kullanılana kadar -20 °C derin dondurucuda saklanmıştır.

B. CTAB Ekstraksiyon Çözeltisi (30 ml)		
	Hacim	Son Konsantrasyon
Tris-HCl (1 M, pH 8.0) Stok Çözeltisi	3 ml	100 mM
5 M NaCl Stok Çözeltisi	8.4 ml	1.4 M
(CTAB) (16%, w/v)	3.75 ml	% 2
EDTA (0.5 M, pH 8.0) Stok Çözeltisi	1.2 ml	20 mM
DTT	0.231 g	50 mM
Otoklavlanmış Ultra Saf Su	13.65 ml	
CTAB Ekstraksiyon çözeltisi hazırlanırken önce DTT haricindeki kimyasallar ultra saf suya ilave edildikten sonra 121 °C 15 dakika otoklavlanmış, otoklavı takiben oda sıcaklığına geldikten sonra DTT eklenmiştir.		
C. TE (Tris-EDTA) Tamponu (100 ml)		
	Hacim	Son Konsantrasyon
EDTA (0.5 M, pH 8.0) Stok Çözeltisi	0.2 ml	1 mM
Tris-HCl (1 M, pH 8.0) Stok Çözeltisi	1 ml	10 mM
Otoklavlanmış Ultra Saf Su	98.8 ml	

Yaprak örnekleri dondurucudan havanlara alınıp sıvı azot eklenerek havaneli ile ezilmiştir. Lodhi (1994) yöntemine göre DNA izolasyonunun aşamaları aşağıda verilmiştir.

1. Hazırlanan CTAB Ekstraksiyon Çözeltisi 60°C'deki su banyosuna alınmıştır.

2. 5 g örnek 15 ml Falcon tüplerine alınarak, üzerlerine 5 ml sıcak CTAB Ekstraksiyon çözeltisi ve 50 mg PVP eklenmiştir.

3. Falcon tüpleri 30 dakika 60°C' deki su banyosunda inkübe edilmiş, 5 dakika aralıklarla hafifçe çalkalanmıştır.

4. Su banyosundan alınan örnekler oda sıcaklığına gelene dek beklenmiş, üzerlerine 6 ml soğuk CIA çözeltilisi ilave edilmiştir. Bitki dokusu ve CIA çözeltilisi bir emülsiyonluşturana dek çalkalanmıştır.

5. Tüpler 6000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.

6. Üst faz bir mikropipet yardımı ile alınarak yeni bir Falcon tüpüne aktarılmıştır.

7. Tüplerin içerisine alınan üst fazın yarısı oranında 5 M NaCl ilave edilmiştir ve çalkalanmıştır.

8. Örneklerin üzerine soğuk etanol ilave edilip -20°C'deki soğutucuya alınmıştır.

3.2.2.2.2. DNA İzolasyonu 2

DNA izolasyonu, GeneJet Plant Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific) kit ile yapılmıştır. DNA saflaştırma kiti ile gerçekleştirilen DNA izolasyon aşamaları aşağıda verilmiştir.

1. Wash Buffer I (Yıkama Tamponu I) ve Wash Buffer II (Yıkama Tamponu II) çözeltilerine 30 ml saf etanol ilave edilmiştir.

2. Donmuş yaprak örneklerinden 100 mg alınarak sıvı azotta ezildi ve 1.5 ml Eppendorf tüplerine aktarıldı. Üzerlerine 350 µl Lysis Buffer A (Lizis Tamponu A) konularak 10-20 saniye vortex yapılmıştır.

3. Tüplerin üzerine 50 µl Lysis Buffer B (Lizis Tamponu B) ve 20 µl RNase A eklenerek 65°C su banyosunda 10 dakika inkübe edilmiştir.

4. İnkübasyonun ardından tüplere 130 µl Precipitation Solution (Çökeltme Çözeltisi) eklenerek tüpler 2-3 defa karıştırılmış ve 5 dakika buz üzerinde bekletilmiştir.

5. Örnekler 14000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen tüm üst faz yeni 1.5 ml Eppendorf tüplere aktarılmış ve üzerlerine 400 µl Plant gDNA Binding Solution (Plant gDNA Bağlama Çözeltisi) ve 400 µl %96 etanol ilave edilerek iyice karıştırılmıştır.

6. Üst faz+Plant gDNA Bağlama Çözeltisi + %96 etanol karışımından 700 µl alınarak filtre tüplerine (filter tubes) aktarılmıştır. 8000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

7. Santrifüj sonrası toplama tüplerine (collection tubes) toplanan sıvı dökülmüş ve filtre tüpleri tekrar toplama tüplere yerleştirilmiştir. Kalan karışım tekrar filtre tüplerine aktarılarak 8000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

8. Santrifüj sonrası toplama tüpleri atılmış ve filtre tüpleri yeni toplama tüplerine alınmıştır. Her tüpe 500 µl Yıkama tamponu I eklenerek ve 10000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

9. Toplama tüplerine toplanan sıvı dökülmüş ve filtre tüpleri tekrardan toplama tüplerine yerleştirilmiştir. Her tüpe 500 µl Yıkama tamponu II eklenerek 14000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Tekrar 14000 rpm' de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpleri atılarak filtre tüpleri 1.5 ml Eppendorf tüplerine alınmıştır. Her tüpe Elüsyon tamponundan (Elution Buffer) 100 µl eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Ardından 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

10. İkinci elüsyon için filtre tüpleri üzerine Elüsyon tamponundan 100 µl eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Ardından 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Toplanan DNA örnekleri -20 °C' de saklanmıştır.

3.2.2.3. DNA Miktarlarının Belirlenmesi

Elde edilen genomik DNA miktarı ve saflığının ölçülmesi için spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Elde edilen DNA'ların saflığının bulunması için spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boylarındaki absorpsiyon değerlerine bakılmıştır.

Absorpsiyon değerleri birbirine bölüldüğünde (A_{260}/A_{280} oranı) iyi kalitede elde edilmiş DNA örneğinin 1.7 - 2.0 oranı göstermesi beklenmektedir ancak bu oran DNA izolatlarının içerdiği protein, fenol ya da diğer bileşenler, kullanılan spektrofotometrik cihazlar, ortamın asit ya da bazlığına göre değişiklik gösterebilmektedir.

Çalışmada 1.7 - 2.0 oranını gösteren DNA ekstraktları seçilmiş, örneklerin içerdiği DNA miktarı;

$$\text{DNA Miktarı (ng/}\mu\text{l)} = 50 \times \text{Sulandırma Faktörü} \times A_{260} \text{ Değeri}$$

formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Stok DNA'lardan Eppendorf tüplerine 5 ng/ μ l DNA içecek şekilde sulandırma yapılarak derin dondurucuya kaldırılmıştır.

DNA izolasyonu için kullanılan Lodhi ve ark. (1994) yöntemi ve Bitki DNA İzolasyonu Kiti yöntemleri karşılaştırıldığında, Bitki Genomik DNA İzolasyon Kitinden elde edilen DNA örneği sayısının daha fazla olduğu ve PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) esnasında daha yüksek bir amplifikasyon oranı gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu nedenle PCR işlemine Bitki Genomik DNA İzolasyon kitinden elde edilen örnek DNA'ları ile devam edilmiştir.

3.2.2.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) İşlemi

Polimeraz zincir reaksiyonunun optimizasyonu için farklı konsantrasyonlardaki PCR bileşenleri, farklı PCR döngüleri ve sıcaklıklar denenmiştir.

Ticari olarak dizayn ettirilen ISSR primerleri kullanım kılavuzlarında belirtilen şekilde 100 µM için gerekli su miktarı eklenerek 100 µM' a (100 pmol/µl) sulandırılmıştır. Sulandırılan primerlerden daha sonra 10 µM ara stok oluşturulmuştur. Bunun için 100 µM' lık ana stoktan 10 µl alınarak üzerine 90 µl su eklenmiştir. DNA örnekleri, 14 adet ISSR primeriile FastStart High Fidelity PCR System, dNTPack kit kullanılarak çoğaltılmıştır. Tablo 3.2'de ISSR primerlerinin nükleotit dizileri ve molekül ağırlıkları, Tablo 3.3'de ise PCR reaksiyon karışımı verilmiştir.

Tablo 3.2. ISSR primerlerinin nükleotit dizileri ve molekül ağırlıkları

UBC Primer Kodu	Baz Dizilimi (5'- 3')	Molekül Ağırlığı(g/mol)
UBC-808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	5367
UBC-809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	5407
UBC-810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	5382
UBC-811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	5366
UBC-815	CTC TCT CTC TCT CTC TG	5014
UBC-818	CAC ACA CAC ACA CAC AG	5086
UBC-823	TCT CTC TCT CTC TCT CC	4974
UBC-824	TCT CTC TCT CTC TCT CG	5014
UBC-826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	5046
UBC-840	GAG AGA GAG AGA GAG AYT	5382
UBC-846	CAC ACA CAC ACA CAC ART	5061
UBC-848	CAC ACA CAC ACA CAC ARG	5086
UBC-855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	5061
UBC-874	CCC TCC CTC CCT CCC T	4625

Tablo 3.3. PCR reaksiyonu bileşenleri

Bileşenler (Tek Reaksiyon İçin)	Hacim (µl)	Son Konsantrasyon
dH ₂ O	15,25	-
FastStart High Fidelity Reaction Buffer (10 X-with 18 mM MgCl ₂)	2,5	1 X
PCR Grade Nucleotide Mix	0,5	10 mM
DMSO	0,5	-
Primer (ara stok)	1.0	10 µM
FastStart High Fidelity Enzyme Blend	0,25	5U/µl
DNA örneği	5.0	
TOPLAM HACİM	25 µl	

PCR işlemi için 0.2 ml Eppendorf tüplerine önce 5µl DNA örneği ardından 20 µl PCR bileşenleri eklenmiş, Thermal Cycler cihazına yerleştirildikten sonra aşağıda belirtilen sıcaklık ve döngüler ilereaksiyon gerçekleştirilmiştir. PCR Protokolü Tablo 3.4.'de verilmiştir.

Tablo 3.4. PCR Sıcaklık ve Döngüleri

		Sıcaklık	Süre	Döngü
Başlangıç Denatürasyonu		95°C	2 dk	1
PCR Döngüleri	Denatürasyon	95°C	30 sn	37
	Primerlerin Bağlanması (Annealing)	50°C- 53°C	30 sn	
	Uzama Extension	72°C	1 dk	
Son Uzama (Final Extension)		72°C	7 dk	1
Soğutma		4°C	∞	1

Primerlerin Guanin (G) ve Sitozin (C) içeriklerine göre bağlanma (annealing) sıcaklıkları ayarlanmıştır.

3.2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi

Polimeraz Zincir Reaksiyonu sonunda, örneklerdeki DNA çoğalmasını (amplifikasyon) gözlemlemek için agaroz jel elektroforezi yapılmıştır. Yürütme sonucunda jel, ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir. Agaroz jelin hazırlanmasında ve elektroferez işleminde kullanılan 50X TAE (Tris -Asetik Asit- EDTA) stok tampon çözeltisi ve sulandırılmış 1 X TAE (Tris -Asetik Asit- EDTA) tampon çözeltisinin bileşenleri ve hazırlanışı Tablo 3.5' de verilmiştir.

Tablo 3.5. 50 X TAE (Tris -Asetik Asit- EDTA) stok tampon çözeltisi ve 1 X (Tris -Asetik Asit- EDTA) bileşenleri ve hazırlanışı

50 X TAE Stok Tampon Çözeltisi, 1000 ml	
Kimyasal	Miktar
Tris base	242 g
Glasiyal Asetik Asit	57.1 ml
0.5 M EDTA (pH 8.0)	100 ml
Stok tampon çözeltisine giren kimyasallar son hacim 1000 ml olacak şekilde ddH ₂ O ile çözülür ve oda sıcaklığında saklanır.	
1 X TAE Çözeltisi, 1000 ml	
50 X TAE stok çözeltisinden 20 ml alınır, üzerine 980 ml ddH ₂ O eklenir.	

Elde edilen PCR çoğaltım ürünlerinin ayrımlandırılması için %2' lik agaroz jel hazırlanmıştır. Agaroz jelin hazırlanması ve agaroz jel elektroforezi basamakları aşağıda verilmiştir:

1. %2'lik agaroz jel hazırlamak için 2 g agaroz erlenmayer içine tartılarak üzerine 100 ml 1X TAE tampon çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan karışım mikrodalga fırında ısıtılmıştır. Mikrodalga fırından çıkarıldıktan sonra soğumaya bırakılmıştır.

2. Hafif soğuyan karışım içine 1 µl GelRed DNA boyası (Biotium, USA) eklenerek karıştırılmıştır. Agaroz jel tarakları yerleştirilmiş jel tankına dökülerek oda sıcaklığında donmaya bırakılmıştır. Jelin donmasını takiben taraklar çıkarılmış ve elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

3. Elektroforez tankı 1X TAE Tampon çözeltisi ile doldurulmuştur.

4. PCR ürünlerinin jelde yürütülmesi için 5 µl PCR ürünü örneği, 1 µl 6 X DNA Yükleme Boyası (DNA Loading Dye) 0.2 ml Eppendorf tüpü içerisinde karıştırılmış ve agaroz jelin her bir oyuğuna toplam 6 µl örnek yüklenmiştir. Her bir

jel sırasının başına çoğaltım ürünlerinin baz çifti büyüklüklerinin belirlenmesi amacıyla 100 bp DNA Ladder (Geneaid, Tayvan) yüklenmiştir.

5. Agaroz jel 100 volt'da 70 dakika yürütülmüştür.

6. Elektroforez sonunda agaroz jel görüntülenmek üzere ultraviyole ışık altına yerleştirilmiştir.

3.3. Ampelografik Ölçümler ve ISSR-PCR Sonucunda Elde Edilen Verilerin Analizi

Ampelografik özellikler için OIV ve Galet (1979) tanımlayıcılarına göre tanımlamaları yapılmıştır. Yaprak ayası, N1 damar uzunluğu, yaprak dilim sayısı, aya şekli, tane rengi ve fenolojik özellikler OIV tanımlamalarına ve "r" olarak adlandırılan yaprak en/boy oranı ortalaması Galet (1979)'a göre belirlenmiştir [69].

Yaprak morfolojik karakteristiklerinin çeşitlerin tanımlanmasında ayırıcı bir özellikleri bulunmaktadır [70, 71]. Bu nedenle yaprakların ölçülen fillometrik özellikleri için (yaprak ayası (cm²), N1 damar uzunluğu (cm), yaprak boyu/sap boyu oranı, yaprak eni (cm), yaprak boyu/sap boyu oranı, sap boyu (cm), yaprak eni/boyu oranı ortalamaları alınmış, NTSYS Pc 2.01 [72] programında uzaklık matrisi ve dendrogramı oluşturulmuştur.

NTSYS Pc. 2.01 programında Öklidyen Uzaklık Katsayısı kullanılarak (Euclidean Distance) dendrogram için veri matrisi oluşturulmuş, SAHN modülünde UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, Tartılı Olmayan Çiftleştirilmiş Grup Metodu Aritmetik Ortalaması) kümeleme algoritması aracılığı ile özelliklere ait dendrogram elde edilmiştir.

Ondört (14) adet spesifik ISSR primeri ile gerçekleştirilen polimeraz zincir reaksiyonu işlemi sonrasında, her bir primerde örneklerin verdiği bant büyüklükleri GelAnalyser 2010a [73] programı aracılığı ile baz çifti olarak belirlenmiştir. Bantların varlığında 1, yokluğunda 0 değeri olacak şekilde bir veri matrisi oluşturulmuştur. FAMD 1.31 programı ile Simple Matching (Basit Uyum) Katsayısı

[74] ve Neighbour Joining (Komşu Birleştirme) [75] algoritması ile genetik benzerlik dendrogramı oluşturulmuştur.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Ampelografik Özellikler

Ampelografik karakterlerden ölçüme dayalı olanlar için verilerin ortalamaları Tablo...’de ve fenolojik gözlemlere ait belirlemeler ise Tablo 4.1.’da verilmiştir.

Tablo 4.1. Yaprak Ampelografik Özelliklerinin OIV Kodları ve Galet (1979)’a [69] göre değerlendirilmesi

OIV Kodu		Sultan 1	Sultan 7	Razakı	Mevlana	Akhisar Razakı	Şika
OIV 065	Yaprak Ayası (cm ²)	6 (Orta-Büyük)	7 (Büyük)	6 (Orta-Büyük)	5 (Orta)	5 (Orta)	5 (Orta)
OIV 067	Aya Şekli	Dairesel 4	Beşgen 3	Beşgen 3	Beşgen 3	Beşgen 3	Beşgen 3
OIV 068	Dilim Sayısı	5 Dilim 3	5 Dilim 3	5 Dilim 3	5 Dilim 3	5 Dilim 3	3-5 Dilim 2-3
OIV 601	N1 Damar Uzunluğu	Orta-Büyük 4	Orta 5	Orta - Büyük 4	Kısa 3	Kısa 3	Kısa 3
Galet 1979	Yaprak En/Boy Oranı (r)	4 1.11-1.20	6 (1.31-1.40)	6 (1.31-1.40)	7 (1.41-1.50)	5 (1.21-1.30)	6 (1.31-1.40)

Tablo 4.2. Çeşitlere ait fenolojik zaman gözlemleri

Çeşit adı Özellik	Şika	Sultan 1	Sultan 7	Mevlana	Akhisar Razakı	Razakı
Olgunlaşma Zamanı (OIV 304)	Eylül ayının ilk yarısı Çok Geç (9)	Ağustos ayının 2. Yarısı Geç (7)	Ağustos ayının 2. Yarısı Geç (7)	Ağustos ayının 2. Yarısı Geç (7)	Eylül ayının ilk yarısı Çok Geç (9)	Eylül ayının ilk haftası Çok Geç (9)
Ben Düşme Zamanı (OIV 303)	Temmuz ayının 3. Haftası Çok Geç (9)	Temmuz ayının 2. Haftası Geç (7)	Temmuz ayının 2. Haftası Geç (7)	Temmuz ayının 2. Haftası Geç (7)	Temmuzun 3. Haftası Çok Geç (9)	Temmuz ayının 3. Haftası Çok Geç (9)
Çiçeklenme Zamanı (OIV 302)	Mayıs ayının sonu Çok Geç (9)	Mayıs ayının 2. Haftası Orta (5)	Mayıs ayının 2. Haftası Orta (5)	Mayıs ayının 2. Haftası Orta (5)	Mayıs ayının 3. Haftası Geç (7)	Mayıs ayının 3. Haftası Geç (7)
Uyanma Zamanı (OIV 301),	Nisan ayının ilk haftası Çok Geç (9)	Mart ayının 3. Haftası Erken (3)	Mart ayının 3. Haftası Erken (3)	Mart ayının 3. Haftası Erken (3)	Nisan ayının ilk haftası Çok Geç (9)	Nisan ayının ilk haftası Çok Geç (9)

Çeşitlere ait fenolojik zamanlar (Uyanma Zamanı (OIV 301), Çiçeklenme Zamanı (OIV 302), Ben Düşme Zamanı (OIV 303), Olgunlaşma Zamanı (OIV 304) değerlendirildiğinde Şika, Akhisar Razakı ve Razakı çeşitlerinin Uyanma, Çiçeklenme, Ben Düşme ve Olgunlaşma zamanlarının Çok Geç (9) olduğu, Sultan 1, Sultan 7, Mevlana Çeşitlerinin Uyanma Zamanlarının Erken (3), Çiçeklenme Zamanlarının Orta (5), Ben Düşme ve Olgunlaşma zamanlarının ise Geç (7) olduğu saptanmıştır. Fenolojik dönemler bitkilerin istek duyduğu meteorolojik, iklimsel, koşulların koşulların gerçekleşmesine, bitkinin çeşidine ve verim türüne, çevresel koşullar, yetiştirme ve bakım koşullarına göre değişim gösterdiğinden farklı coğrafik bölgelerde bitkisel üretimi yapılan çeşitler arasında farklılıklar görülebilmektedir

Çalışmada kullanılan üzüm çeşitlerinde OIV tanımlayıcılarına göre; yaprak ayası alanı (OIV065) Mevlana, Akhisar Razakı, Şika çeşitlerinde Orta (5), Razakı ve Sultan 1 çeşitlerinde Orta-Büyük (6), Sultan 7’de ise Büyük (7) bulunmuştur. Aya şekli (OIV 067), Sultan 1 hariç diğer çeşitlerde aya şekli Beşgen (3) olarak, Sultan1 çeşidinde ise aya şekli Dairesel (4) olarak gözlenmiştir. Yaprak Dilim Sayısı özelliği için Sultan 1, Sultan 7, Razakı, Akhisar Razakı ve Mevlana çeşitlerinin 5 Dilimli (3), Şika çeşidinin 3-5 Dilimli (2-3) olduğu saptanmıştır. N1 Damar Uzunluğu (OIV 601) Sultan 7 çeşidinde Orta, Sultan 1 ve Razakı çeşitlerinde Orta-Büyük, Akhisar Razakı, Mevlana ve Şika çeşitlerinde Kısa olarak tanımlanması yapılmıştır. Galet (1979)’ a göre Yaprak En/Boy Oranı yani “r” değeri Şika, Razakı ve Sultan 7 için “6 (1.31-1.40)”, Mevlana çeşidinde “7 (1.41-1.50)”, Akhisar Razakı için “5 (1.21-1.30)” ve Sultan 1 çeşidinde “4 (1.11-1.20)” olarak belirlenmiştir.

İşçi ve Altındışli (2017) Yaprak Dilim Sayısı (OIV68) Yuvarlak Razakı ve Çeşme Pembesi çeşitlerinde 3 yaprak dilimli, Buca Razakısı ve Şika çeşitlerinin bulunduğu diğer üzüm çeşitlerinde ise 5 dilimli tespit edildiğini bildirmişlerdir. Olgun Yaprak Büyüklüğü (OIV65) Buca Razakısı ve Şika çeşitlerinde Çok Küçük olarak bulunmuş, Yaprak Ayası Şekli (OIV67) Beşgen olarak saptanmıştır. Çalışmamızda Şika çeşidi 3-5 dilimli, geri kalan çeşitler ise 5 dilimli olarak bulunmuşlardır. Yaprak büyüklüğü Şika, Akhisar Razakı için Orta, Razakı çeşidi için Orta-Büyük olarak tespit edilmiştir. Sultan 1 çeşidinde yaprak şekli dairesel diğer çeşitlerde ise beşgen olarak saptanmıştır. Yaprakların beş dilimli olmasının,

Türkiye'deki bazı üzüm çeşitlerinde en sık görülen yaprak dilim sayısı tipi olduğu belirtilmiştir [76].

Ateş ve ark. (2011) Şika çeşidinin Yaprak Dilim Sayısı ve Yaprak Şeklini sırasıyla 5 ve beşgen olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda Şika çeşidinin Yaprak Dilim Sayısı 3-5 ve Yaprak Ayası Şekli Beşgen olarak saptanmıştır [77].

Ecevit ve Kelen (1999) OIV67 ve OIV68 tanımlayıcıları için Razakı çeşidinde Yaprak Ayası Şeklinin Beşgen ve Yaprak Dilim Sayısının 5 olduğunu bildirmiştir. Yaprak Sapı Uzunluğunu (OIV92) Razakı çeşidinde çok kısa; Pembe Gemre ve Siyah Gemre çeşitlerinde orta; diğer tüm çeşitlerde ise kısa olarak saptamıştır. Yaprak Sapı Uzunluğu (OIV092) tanımlayıcı özelliği OIV'in üzüm çeşitleri ve üzüm türlerinin OIV tanımlayıcı listesinin 2. Baskısında yer almadığından Tablo 4.1.'da gösterilmemiş ancak ölçümleri yapılmıştır. Tablo 4.3.'da görüldüğü gibi Mevlana ve Razakı çeşitleri en kısa sap boyuna sahip çeşitler olarak belirlenmiştir [78].

Sabır (2008) Yaprak Ayası Büyüklüğü (OIV065), Yaprak Ayası Şekli (OIV067) Yaprak Dilim Sayısı (OIV68) tanımlayıcıları için Razakı çeşidini sırasıyla Büyük, Beşgen, 5 Dilimli ve Sultani Çekirdeksiz çeşidini sırasıyla Orta, Beşgen-Yuvarlak ve 5 dilimli olarak saptamıştır [1].

Çalışmamızda Yaprak Ayası Büyüklüğü açısından Sultan 1 ve Sultan 7 çeşitleri Orta-Büyük ve Büyük, Razakı ve Akhisar Razakı çeşitleri ise Orta-Büyük ve Orta olarak bulunmuştur. Aya şekli bakımından Dairesel olarak saptanan Sultan 1 haricinde Razakı, Akhisar Razakı ve Sultan 7 çeşitleri Beşgen şeklinde bulunmuştur. Sultan 1, Sultan 7, Razakı ve Akhisar Razakı çeşitlerinde yaprak dilim sayısı 5 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz ampelografik sonuçlar genel olarak literatür ile uyumlu bulunmuştur, özellikler bakımından görülen farklılıkların, iklim, çevresel ve yetiştirme koşullarının farklılığı, uygulanan kültürel pratiklerin farklılığı ve çeşitlerin buldukları yöreye adapte olmalarından kaynaklandığı söylenebilir.

Çeşitlerin yaprak özelliklerine ait ortalamalar ise Tablo 4.3.'da verilmiştir.

Tablo 4.3. Çeşitlerin yaprak özelliklerine ait ortalamalar

	Şika	Sultan 1	Sultan 7	Mevlana	Akhisar Razakı	Razakı
Yaprak Ayası (cm²)	194.346	227.634	238.028	209.24	180.81	225.94
Yaprak Eni (cm)	16.240	14.110	17.600	17.600	14.860	17.500
Yaprak Boyu (cm)	11.790	12.700	13.390	11.830	11.870	12.860
Sap Boyu (cm)	9.360	9.920	12.980	8.200	10.400	8.250
Yaprak eni/boyu oranı	1.377	1.111	1.314	1.488	1.252	1.361
Yaprak boyu/sap boyu oranı	1.260	1.280	1.036	1.443	1.141	1.560

Yaprak özellikleri incelendiğinde yaprak ayası büyüklüğüne (cm²) göre en büyük olan çeşidin Sultan 7, en küçük olan çeşidin ise Akhisar Razakı olduğu belirlenmiştir. Sultan 7 ve Sultan 1 çeşitlerinin yaprak ayası büyüklüklerinin birbirlerine yakın olduğu gözlenmiştir. Yaprak eni (cm) en büyük olan çeşitler Sultan 7 ve Mevlana, en küçük olan çeşit Sultan 1 olarak tespit edilmiştir. Yaprak Boyu (cm) ve Sap Boyu değerlendirildiğinde sırasıyla Razakı ve Sultan 7'nin en yüksek değerleri verdiği, en düşük değerlerin Mevlana çeşidinde görüldüğü saptanmıştır.

Yaprak eni/boyu oranı ve Yaprak boyu/sap boyu oranı özellikleri için sırasıyla Mevlana ve Razakı'da en yüksek değerlerin bulunduğu, en düşük değerlerin ise Sultan 1 ve Akhisar Razakı'da görüldüğü belirlenmiştir.

Sap Boyu, N1 Damar Uzunluğu, Yaprak Eni, Yaprak Ayası Alanı, Yaprak Boyu/Sap Boyu Oranı, Yaprak En/Boy Oranı verileri kullanılarak elde edilen Öklidyen Uzaklık Matrisi Tablo 4.4.'da verilmiştir.

Tablo 4.4. Üzüm çeşitlerinin yaprak özelliklerinden elde edilen Öklidyen Uzaklık Matrisi

	Sultan1	Sultan7	Razakı	Mevlana	Akhisar Razakı	Şika
Sultan1	0.0000					
Sultan7	0.0328	0.0000				
Razakı	0.0414	0.0455	0.0000			
Mevlana	0.0523	0.0474	0.0147	0.0000		
Akhisar Razakı	0.0430	0.0196	0.0445	0.0436	0.0000	
Şika	0.0435	0.0296	0.0246	0.0212	0.0233	0.0000

Elde edilen Öklidyen Uzaklık Matrisi incelendiğinde birbirlerine en yakın örneklerin Razakı ve Mevlana (0.0147), en uzak örneklerin ise Mevlana ve Sultan 1 (0.0523) çeşitleri olduğu görülmüştür. Birbirlerine en uzak ikinci çeşitler Sultan 7 ve Mevlana (0.0474) çeşitleri olmuştur. İkinci en yakın çeşitler ise Akhisar Razakı ve Sultan 7 çeşitleri olarak belirlenmiştir.

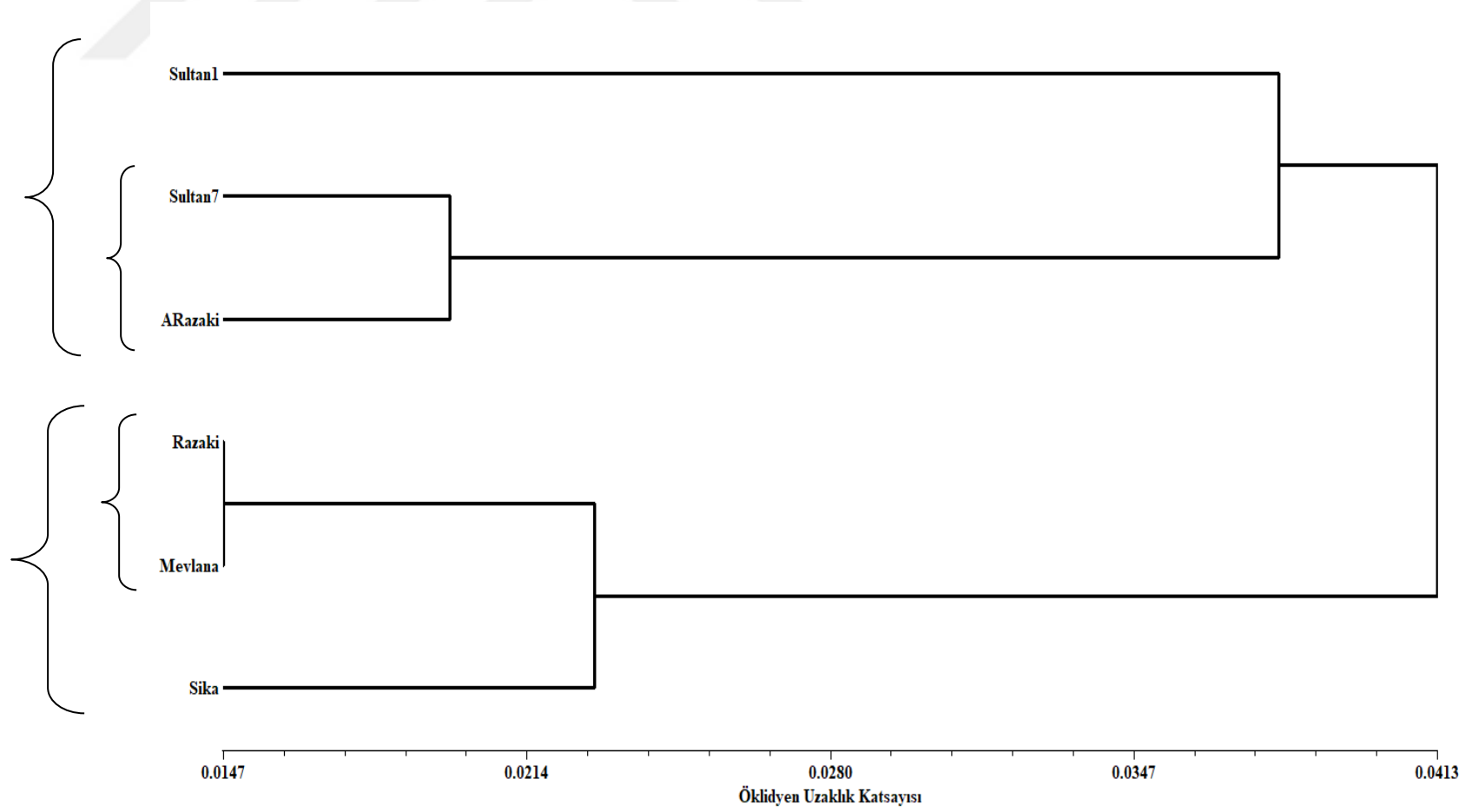
Öklidyen Uzaklık Matrisi ve UPGMA algoritması ile elde edilen Öklidyen Uzaklık matrisi Şekil 4.1.'da verilmiştir.

Öklidyen Uzaklık dendrogramı incelendiğinde, iki ana kümenin oluştuğu saptanmıştır. Akhisar Razakı, Sultan1 ve Sultan 7 çeşitleri birinci kümeyi, Razakı, Mevlana ve Şika çeşitleri ikinci ana kümeyi oluşturmuşlardır. İlk ana kümede Sultan

7 ve Akhisar Razaki birinci alt kümede, Sultan 1 ise diğer alt kümede yer almıştır. İkinci ana küme incelendiğinde Razakı ve Mevlana çeşitlerinin bir alt küme oluşturduğu, Şika çeşidinin bağımsız olarak başka bir alt küme oluşturduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Üzüm çeşitlerinin Öklidyen Uzaklık Matrisinden elde edilen dendrogram



Çelik (2006) Razakı üzümünün alt tipleri arasında Mevlana üzümünün bulunduğunu belirtmiştir. Bazı yaprak özelliklerine göre oluşturulan Öklidyen Uzaklık dendrogramında Mevlana ve Razakı üzümleri aynı ana kümede yer almışlardır [11].

Asma yaprağı renk, genişlik, yaprak alanı, dilim ve damar sayısı gibi çeşitli özellikler bakımından büyük bir çeşitlilik göstermektedir. Asma çeşitlerini fenotipik olarak ayırmalarında kullanılan ampelografide yaprak özelliklerinin yanısıra kök, çiçek ve meyve özelliklerinden de yararlanılmaktadır. Asma yaprağının diğer tarımsal öneme sahip bitkilerin yapraklarına göre en ilgi çekici özelliklerinden biri morfolojik olarak gösterdiği çeşitlilik ile beraber bu çeşitliliğin karşılaştırılabilir olmasıdır [69, 79]. Bir çok yabancı ve kültüre alınmış üzüm çeşitleri diğer özellikler ile beraber yaprak özelliklerini kullanılarak sınıflandırılmıştır. Asma yaprağının morfolojisi populasyon yapısı, coğrafik özellikler ve kullanım alanlarına göre değişim göstermektedir [70].

4.2. ISSR Sonuçları

Kullanılan yaprak örneklerinden elde edilen genomik DNA'lar 14 adet UBC (Universal British Columbia) ISSR primeri ile taranmıştır. Bu primerlerden 10 adedinden değerlendirilebilir bant elde edilmiştir (UBC-808, 809, 810, 815, 817, 823, 826, 840, 855, 874). Bant büyüklükleri 1913 baz çifti ile 339 baz çifti arasında değişmiştir. Toplam 77 bandın hepsi polimorfik bulunmuştur. Toplam 77 bandın hepsi polimorfik bulunmuştur. Birey başına 12,83 adet bant düşmüştür. Tablo 4.5.'da çalışmada kullanılan primerlerden elde edilen bantlar ve baz çifti (bç) olarak değerleri verilmiştir.

Tablo 4.5. Çalışmada kullanılan primerlerden elde edilen bantlar ve baz çifti (bç) olarak değerleri

Bant No	Bantlar	Şika	Akhisar Razakı	Razakı	Sultan 7	Mevlana	Sultan 1
	UBC 808-1	716					
	UBC808-2		681			681	

	UBC808-3						625
	UBC808-4				597		
	UBC808-5	570					
	UBC808-6		514			514	
	UBC809-1			628			
	UBC809-2			522			
	UBC809-3					514	514
	UBC809-4				412	412	412
	UBC809-5		376				
	UBC809-6	368					
	UBC810-1	766	766				766
	UBC810-2				749		
	UBC810-3					687	
	UBC810-4				619		
	UBC810-5						606
	UBC810-6		588				
	UBC810-7	576				576	
	UBC815-1				1913		
	UBC815-2						1878
	UBC815-3	1586	1586				
	UBC815-4				1513		
	UBC815-5						1485
	UBC815-6	1170					
	UBC815-7		1115		1115		
	UBC815-8	997					
	UBC815-9		963		963		
	UBC815-10						917
	UBC815-11					818	
	UBC815-12		644				
	UBC815-13	631			631		631
	UBC815-14					590	
	UBC817-1	750					750
	UBC817-2				735		
	UBC817-3		562				
	UBC817-4					550	
	UBC823-1						1894
	UBC823-2			1070			
	UBC823-3						1050
	UBC823-4		1155				
	UBC823-5		991				

	UBC823-6	953					
	UBC823-7				898		
	UBC823-8					846	
	UBC823-9				574		
	UBC826-1						1092
	UBC826-2					1031	
	UBC826-3				990		
	UBC826-4	855	855				
	UBC826-5		639				
	UBC826-6	568					
	UBC826-7		504				
	UBC826-8	459					
	UBC840-1	915					
	UBC840-2		866				
	UBC840-3					612	
	UBC840-4	347					
	UBC840-5		339				
	UBC855-1						1710
	UBC855-2	1557					
	UBC855-3				1464		
	UBC855-4		1443				
	UBC855-5					1416	
	UBC855-6	1046					
	UBC855-7				1026		
	UBC855-8		1011				
	UBC855-9	903					
	UBC855-10		885				
	UBC855-11				872		
	UBC855-12					590	
	UBC874-1					1467	
	UBC874-2	1312					
	UBC874-3					898	
	UBC874-4					666	
	UBC874-5	720		720			720
	UBC874-6				629		

UBC 809 primerinden de toplam 6 adet bant elde edilmiş olup, bu bantların büyüklüklerinin 628 bç ile 368 bç arasında değiştiği belirlenmiştir. UBC 810 primerinde toplam 7 adet bant gözlenmiş büyüklükleri 766 bç ile 588 bç arasında

değişmiştir. UBC 815 primeri toplam 14 adet bant ile en fazla bant veren primer olmuştur. Bu bantların büyüklüğü 1913 bç ile 590 bç arasında değiştiği belirlenmiştir. UBC817 primeri moleküler ağırlıkları 750-550 bç çifti arasında değişen 4 adet bant vermiştir. En az bant sayısı UBC 817 primerinde gözlenmiştir. UBC 823 primerinden toplam 9 adet bant elde edilmiştir. Bu bantların büyüklüklerin 1894 bç ile 574 bç arasında olduğu bulunmuştur. UBC 826 primerinden elde edilen bantlar incelendiğinde toplam 8 adet bant olduğu ve büyüklüklerinin 1092 bç ile 459 bç arasında değiştiği saptanmıştır. UBC 840 primerinde toplam 5 adet bant gözlenmiş ve bu bantların büyüklüklerinin 915 bç ile 339 bç arasında olduğu bulunmuştur. UBC 855 ikinci en fazla bant veren primer olmuştur. Elde edilen 12 bantın büyüklüğü 1710 bç ile 590 bç arasında değişmiştir. UBC 874 primerinden toplam 6 adet bant elde edilmiştir. Bu bantların büyüklüklerinin 1467 bp ile 629 bp arasında olduğu bulunmuştur.

Primerlere göre elde edilen toplam bant sayıları ve moleküler büyüklüklerinin baz çifti cinsinden en üst ve en alt değerlerine ait bilgiler Tablo 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.6. Çeşitlere ilişkin primerlere göre elde edilen toplam bant sayıları ve moleküler büyüklükler (min.- max. baz çifti)

Primer No	Toplam bant sayısı	Baz çifti (min.- max.)
UBC 808	6	514-716
UBC 809	6	368-628
UBC 810	7	576-766
UBC 815	14	590-1913
UBC 817	4	550-750
UBC 823	9	574-1894
UBC 826	8	459-1092
UBC 840	5	339-915
UBC 855	12	590-1710
UBC 874	6	629-1467

En çok bant tespit edilen örnekler toplam 21 ve 20 bant ile sırasıyla Şika ve Akhisar Razakı çeşitleri olmuş, en az bant ise 4 bant ile Razakı çeşidinde bulunmuştur. Dominant bir markır olan ISSR primerleri ile yapılan çalışmalarda polimorfizm yüzdesinin yüksek olduğu görülmektedir. Çalışmamızda elde edilen 77 adet bantın polimorfik olduğu görülmüştür. Primer başına düşen bant sayısı 7.7 (Bant

Sayısı/Değerlendirilebilir Bant Veren Primer Sayısı) olarak hesaplanmıştır. Jeldeki bantlara ait görüntüler EK A.4.'da verilmiştir.

FAMD 1.31 programında Simple Matching (Basit Uyum) Katsayısı ile edilen benzerlik matrisi Tablo 4.7.'da verilmiştir.

Tablo 4.7. Simple Matching (Basit Uyum) Benzerlik Matrisi

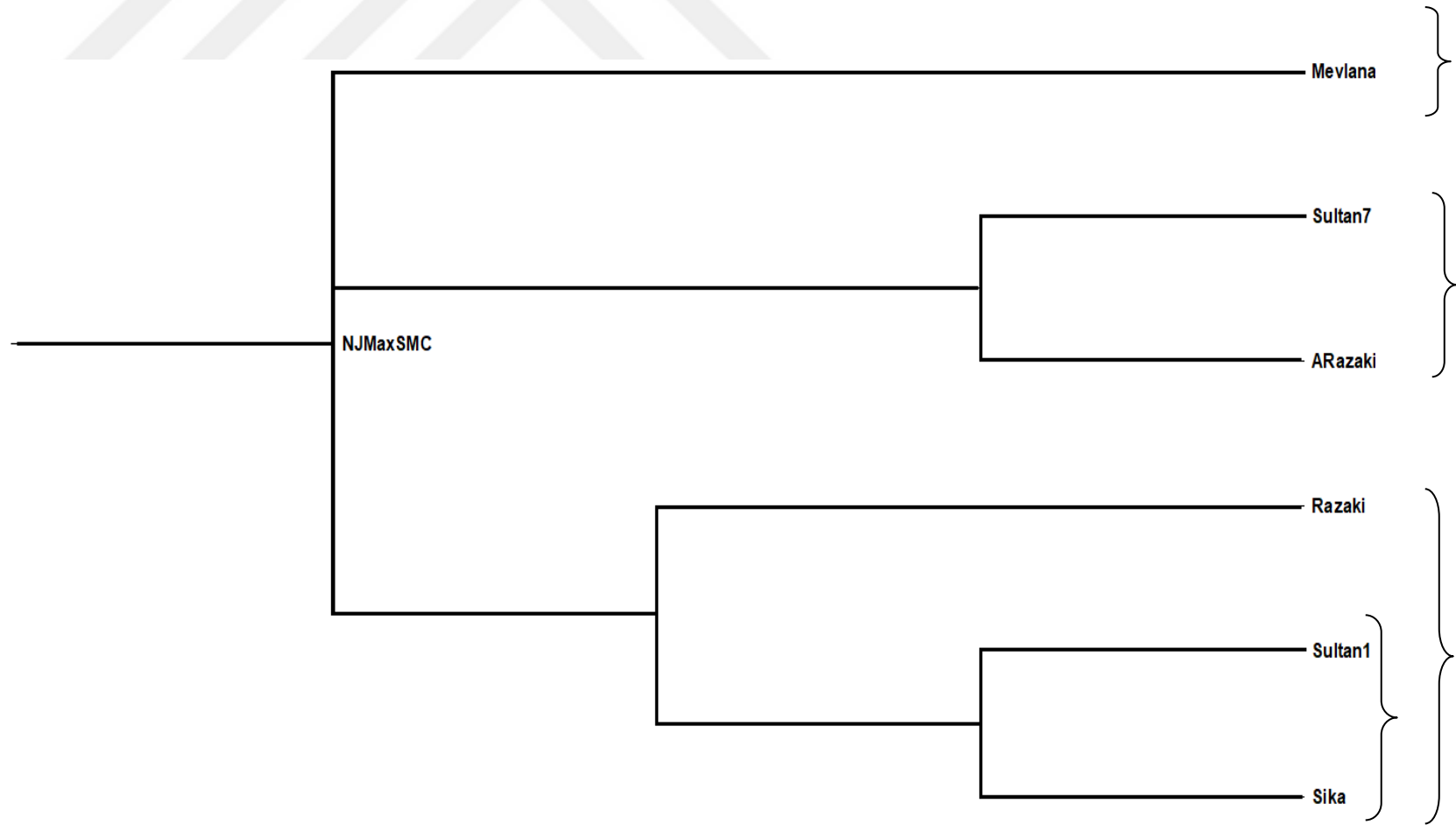
	Şika	Akhisar Razaki	Razaki	Sultan7	Mevlana	Sultan1
Şika	1.000					
Akhisar Razaki	0.545	1.000				
Razaki	0.701	0.688	1.000			
Sultan7	0.532	0.571	0.727	1.000		
Mevlana	0.532	0.571	0.727	0.584	1.000	
Sultan1	0.636	0.571	0.779	0.636	0.636	1.000

Simple Matching Benzerlik Katsayısı kullanılarak elde edilen genetik benzerlik matrisi incelendiğinde, birbirine en yakın örneklerin Razakı ile Sultan 1 (0.779) olduğu bulunmuştur. Genetik benzerlik matrisine göre birbirine en uzak örneklerin ise Şika ile Sultan7 (0.532) ve Şika ile Mevlana (0.532) çeşitleri arasında olduğu saptanmıştır. Şika ve Akhisar Razakı arasında orta genetik benzerlik (0.545) görülmüştür. Razakı ve Sultan 7 (0.727) ile Razakı ve Mevlana (0.727) çeşitleri arasında ikinci en yüksek genetik benzerlik görülmüştür.

Şekil 4.2.'da FAMD 1.31 programında Simple Matching (Basit Uyum) Katsayısı ve Neighbour Joining (Komşu Birleştirme) algoritması kullanılarak elde edilen dendrogram verilmiştir.

Dendrogramda üç ana küme olduğu görülmektedir. Birinci kümeyi Mevlana, ikinci kümeyi Sultan7 ve Akhisar Razakı ile üçüncü ana kümeyi Razakı, Sultan1 ve Şika oluşturmuştur. Üçüncü ana kümede bulunan örneklerde Sultan1 ve Şika ayrı bir alt küme ortaya koymuşlardır.

Şekil 4.2. Simple Matching (Basit Uyum) benzerlik matrisinden elde edilen dendrogram



Üzümde ISSR markırları ile yapılan araştırmalarda çeşitlerin, primerlerin ve *Vitis spp.* cinsinin farklı türlerinin kullanılması nedeniyle çalışmaların sonuçları da birbirlerine göre farklılıklar göstermektedir.

Basheer-Salimia ve Mujahed (2019) inceledikleri 20 adet ISSR primerinin 17 tanesinin değerlendirilebilir bant verdiğini toplam 57 bantın 55'inin polimorfik ve polimorfizm oranının % 88 olduğunu, ortalama genetik uzaklığın 0.05-0.76 arasında değiştiğini bildirmişlerdir [65]. Wu ve ark. (2009) 15 adet ISSR primeri ile yaptıkları çalışmada elde edilen 100 bantın 91 tanesinin polimorfik olduğunu, Jaccard Benzerlik Katsayısı yoluyla ortaya çıkan ortalama genetik benzerliği 0.39 bulmuşlardır [59].

Sabır ve ark. (2008) Türkiye'de üretilen bazı sofralık üzüm çeşitlerini ISSR markırları ile taradıkları araştırmalarında 14 adet primerin 88 tanesi polimorfik olmak üzere 110 adet bant verdiğini (%80.5 polimorfik) saptamışlardır. Ortalama genetik benzerliğin 0.637 olduğunu saptamışlardır [60]. Hassan ve ark. (2011), Choudhary ve ark. (2014), Castrove ark. (2016), ISSR primerlerinin polimorfizmi saptamada başarılı olduğunu, polimorfik lokus sayısının yüksek, üzümde genetik çeşitliliğin araştırılmasında kullanılabileceğini bildirmişlerdir [62, 63, 64].

Çalışmamızdan elde edilen yüksek polimorfizm oranı, değerlendirilebilir bant veren primer sayısı, tüm çeşitlerde bant (lokus) tespit edilebilmesi bu çalışmalarla uyum göstermektedir.

Sabır ve ark. (2009) üzüm çeşitlerinin ampelografik ve moleküler karakterizasyonunu yaptıkları çalışmalarında ampelografik özelliklerle 20 adet ISSR primerini incelemişlerdir. ISSR primerleri 140 adedi polimorfik olmak üzere 157 adet bant verdiğini bulmuşlardır (% 88.6 polimorfizm oranı). Ampelografik özelliklerden elde edilen dendrogramda *Vitis vinifera* L. çeşitlerinin kullanım tiplerine göre kümelendiklerini bildirmişlerdir. On adet primerin % 100 polimorfizm gösterdiğini, en az polimorfizm gösteren primerin UBC 815 olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda ise UBC 815 en fazla bant (14 adet hepsi polimorfik) veren primer

olarak bulunmuştur [61]. Kullanılan çeşitler ve primer farklılıklarından kaynaklanmaktadır.

Dilli (2008) yaptığı çalışmada Kozak Beyazı'nın sinonimi olan Şika üzümünün Aydın ve Buca Razakı üzümleriyle orta derecede genetik benzer ve aynı kümede olduklarını saptamıştır [80]. Şika ve Razakı üzümleri arasında genetik benzerlik (0.701) olarak bulunmuştur. Razakı ve Mevlana çeşitleri arasında görülen genetik benzerlik (0.727) ele alındığında ise Mevlana üzümünün, Razakı çeşidinin bir alt tipi ve Şika çeşidinin de Razakı çeşidinin alt tiplerinden olabileceği düşünülebilir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü koleksiyon bağlarından alınan Şika, Akhisar Razakı, Razakı, Sultan1, Sultan 7 ve Mevlana çeşitlerinden elde edilen ana sonuçlar aşağıda verilmiştir.

1. Yaprak sap boyu, Yaprak Boyu, Yaprak Eni, Yaprak Alanı, Yaprak Boyu/Sap Oranı, Yaprak En/Boy Oranı, özellikleri kullanılarak elde edilen Öklidyen Uzaklık Matrisine göre birbirine en yakın çeşitler Razakı ve Mevlana, en uzak çeşitler ise Sultan 1 ve Mevlana olarak saptanmıştır.

2. Öklidyen Uzaklık dendrogramı incelendiğinde, iki ana kümenin oluştuğu saptanmıştır. Sultan 1, Sultan 7, Akhisar Razakı çeşitleri birinci kümeyi, Razakı, Mevlana ve Şika çeşitleri ise 2. ana kümeyi oluşturmuşlardır. Bazı yaprak özelliklerine göre oluşturulan Öklidyen Uzaklık dendrogramında Mevlana ve Razakı üzümleri aynı ana kümede yer almışlardır.

3. Kullanılan yaprak örneklerinden elde edilen genomik DNA'lar 14 adet UBC (Universal British Columbia) ISSR primeri ile taranmıştır. Bu primerlerden 10 adedinden değerlendirilebilir bant elde edilmiştir. Toplam 77 bantın hepsi polimorfik bulunmuştur. Birey başına 12.83 adet bant düşmüştür.

4. Simple Matching (Basit Uyum) Katsayısı kullanılarak elde edilen genetik benzerlik matrisi incelendiğinde, birbirine en yakın örneklerin Razaki ile Sultan 1 olduğu bulunmuştur. Genetik benzerlik matrisine göre birbirine en uzak örneklerin ise Şika ve Sultan7 ile Şika ve Mevlana çeşitleri olduğu saptanmıştır.

5. Razakı ve Mevlana çeşitleri arasında görülen genetik benzerlik (0.727) ele alındığında, Mevlana üzümünün, Razakı çeşidinin alt tipi olduğu düşünülebilir. Çelik (2006) Mevlana çeşidinin Razakı çeşidinin bir alt tipi olduğunu bildirmiştir. Öklidyen uzaklık dendrogramı incelendiğinde de Mevlana ve Razakı üzümlerinin aynı ana kümede yer aldığı görülmektedir.

6. ISSR markırlarından elde edilen Neighbour Joining (Komşu Birleştirme) dendrogramında üç ana küme olduğu saptanmıştır. Birinci kümeyi Mevlana, ikinci kümeyi Sultan7 ve Akhisar Razakı ile üçüncü ana kümeyi Razakı, Sultan1 ve Şika oluşturmuştur. Üçüncü ana kümede bulunan örneklerde Sultan1 ve Şika ayrı bir minör küme ortaya koymuşlardır.

Ampelografik yaprak özellikleri ve ISSR primerlerinin verdiği bantlar incelendiğinde; yaprak özellikleri açısından oluşan uzaklık matrisi ile Simple Matching (Basit Uyum) Genetik Benzerlik Matrisinin uyuştugu görülmüştür. Sultan1 ve Razakı sofralık yönü kuvvetli çeşitler, Sultan7 ve Mevlana çeşitleri ise verimlilik yönleri öne çıkan ve kuvvetli gelişen çeşitlerdir. Matris ve dendrogramlardan elde edilen sonuçlara göre bitkinin verim yönü, gelişim kuvveti ve kullanma tipine göre de çeşitler kendi aralarında sınıflanmaktadır.

Asmanın tanımlanmasında kullanılan ampelografik karakterizasyona dayanan klasik yöntemler, bu özelliklerin bitkinin içinde bulunduğu hem iç hem de dış çevre koşullarından etkilenmesi nedeniyle her zaman doğru sonuç vermeyebilmektedir. DNA temelli genetik markörlerin avantajı çevresel koşullardan etkilenmeden doğrudan genomik düzeyde tanımlama yapılabilmesine izin vermesidir.

Asma bitkisinde dünya üzerinde onbinden fazla çeşit olduğu düşünülmektedir. Eski çağlardan beri ülkeler arasında ve içinde dağıtıldığından ve dikimi yapıldığında *Vitis* spp.'de homonim ve sinonimler yaygın olarak görülmektedir. Uygun ıslah stratejilerinin belirlenmesi, çeşitlerin identifikasyonun yapılması ve yeni kultivarların geliştirilmesi, abiyotik ve biyotik stres koşullarına dayanıklı farklı tiplerin oluşturulması için asmanın çeşitlerinin doğru tanımlanması ile doğru bitki seçiminin yapılması gerekmektedir.

ISSR markırları yüksek polimorfizm göstermeleri, ayırtandırıcı olmaları nedeniyle sıklıkla tarımsal öneme sahip bitkilerin genomik taranmasında başarıyla kullanılmaktadırlar. Ampelografik özellikler ile beraber ISSR markırlarının asma çeşitlerinin tanımlanması ile homonim ve sinonimlerin ayrılmasında yararlanılabileceği düşünülmektedir.

Kullanılan ISSR primer sayısı, araştırılan ampelografik özellik sayısının arttırılmasıyla, her iki yöntemin beraber kullanımının yabani ve kültür tipi asmaların doğru bir biçimde tanımlanmasında başarıyla kullanılabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] Sabır, A. Bazı üzüm çeşit ve anaçlarının ampelografik ve moleküler karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana, 2008, 154. (Doktora Tezi).
- [2] Karabat, S. Türkiye ve Dünya bağcılığı. *Apelasyon e Dergi*. 2014, Ocak(3).
- [3] İnan, M. S. Bitkisel Hazine: Genetik Kaynaklar. *Apelasyon e Dergi*. 2018, Temmuz(56).
- [4] Tekdal, D., Sarlar, S. Yerel asma ve genetik kaynakları ve önemi. *Bağbehçe bilim dergisi*, 2016, 3(3), 19-25.
- [5] İnan, M. S. Asma genetik kaynakları projesi ara sonuç raporu. Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Manisa. 2010-2014.
- [6] Sağlam, H., Çalkan Sağlam, Ö. Bilecik ili asma genetik kaynaklarının belirlenmesi. *Bahçe Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 2018, 47(Özel sayı(1)), 279-285.
- [7] Semerci, A., Kızıltuğ, T., Çelik, A. D., Kiracı, M. A. Türkiye bağcılığının genel durumu. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2015, 20(2), 42-51.
- [8] Manisa İl Tarım Müdürlüğü İnternet Sitesi, <https://manisa.tarimorman.gov.tr/Menu/11/Tarimsal-Veriler>
- [9] Doğu, K. Tarım ürünleri piyasaları (Üzüm). *Tarımsal Ekonomi ve Politikalar Geliştirme Enstitüsü Müdürlüğü*. Ankara, 2018, 4
- [10] Karimi, M. R., Dehvari, V. and Hajiyan, M. Genetics diversity of some grape genotypes by ISSR and RAPD markers. *Europ. J. Hort. Sci.* 2011, 76(5/6), 201-207.
- [11] Çelik, H. Üzüm Çeşitleri Kataloğu. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü. 2006.
- [12] Manisa Üzümde Rekolte Tahmini Komisyonu Raporu 2018-2019. 30 Temmuz 2018.
- [13] Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Bazı standart çeşitler ve özellikleri 2019 broşürü. 2019.
- [14] Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Tanıtım Broşürü. 2017.
- [15] Yeğenoğlu, E. D., Aydın, Ş., Arık, C., Gevrekçi, Y., Aşık, M. Üzümde çeşitliliğin belirlenmesinde morfolojik farklılıkların kullanılması. *C B Ü Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*. 2016, II(22), 13-20.

- [16] Akkurt, M. Meram (Konya) ilçesin bağcılığı ve yörede yetişen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, 1997, 105. (Yüksek Lisans Tezi).
- [17] Oraman, N. Çavuş üzümünün vatanı, ampelografisi ve biyolojisi üzerinde bir araştırma. Yüksek Ziraat Enstitüsü Çalışmalarından. 114. Ankara. 1941.
- [18] Oraman, N. ve Aksoy, H. Y.Z.E. Bağ-Bahçe enstitüsü koleksiyon bağında yetişen en önemli üzüm çeşitlerinin ampelografileri ve çiçek biyolojileri. Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Dergisi. 1945, 5(9), 148-171.
- [19] Oraman, N. ve Aksoy, H. Y.Z.E. Bağ-Bahçe enstitüsü koleksiyon bağında yetişen en önemli üzüm çeşitlerinin ampelografileri ve çiçek biyolojileri II. Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Dergisi. 1946, 6(11), 21-27.
- [20] Oraman, N. ve Aksoy, H. Y.Z.E. Bağ-Bahçe enstitüsü koleksiyon bağında yetişen en önemli üzüm çeşitlerinin ampelografileri ve çiçek biyolojileri III. Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Dergisi. 1946, 6(12), 347-348.
- [21] Kısakürek, H. Günaydoğu Anadolu ve Bilhassa Gaziantep bağcılığı ve bu bölgede yetişen başlıca üzüm çeşitlerinin morfolojik vasıfları ve iktisadi önemleri üzerinde araştırmalar. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları, 1950, 21.
- [22] Kısakürek, H. İzmir ve Manisa bağlarında yetiştirilen önemli sofralık üzüm çeşitlerinde istihsalin standardizasyonu ve standart çeşitlerin ampelografik vasıfları üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1956, 88.
- [23] Oraman, N. ve Ağaoğlu, Y.S. Türkiye bağcılığının bugünkü durumu, gelişme imkanları ve memleketimizde mevcut başlıca sofralık, kurutmalık ve şaraplık üzüm çeşitleri üzerine bir araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları : 348. Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler , 1969, 221.
- [24] Çelik, H. ve Ağaoğlu, Y. S. Brief descriptions of indigeneous grapevine cultivars subjected to clonal selection in Turkey. 4thInternational Symposium on Clonal Selectin of Grapevine, 1-5 September 1986, Pully, Switzerland.
- [25] Uzun, H. İ. Bazı Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Kateşol Oksidaz İzoenzim bandlarında teşhisleri ve sıcaklık toplamları üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 1986, 24(1), 113-124.
- [26] Kara, Z. Tokat bağcılığı ve yörede yetişen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, 1990. (Doktora Tezi).

- [27] Altın, N. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma Bağında yetiştirilen bazı üzüm çeşitlerinde ampelografik özellikler ve fenolojik safhaların belirlenmesi üzerşnde bir araştırma. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 1991. (Yüksek Lisans Tezi).
- [28] Gürsöz, S. GAP alanına giren Güneydoğu Anadolu Bölgesi bağcılığı ve özellikle şanlıurfa ilinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik nitelikleri ile verim ve kalite unsurlarının belirlenmesi üzerinde bir araştırma. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 1993, Adana. (Bildiri Kitabı, 504-508)
- [29] Aktepe, N. Kalecik ilçesi bağcılığı ve yörede yetişen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1994. (Yüksek Lisans Tezi).
- [30] Dursun, A. Delice ilçesin bağcılığı ve yörede yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özellikleri. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1994. (Yüksek Lisans Tezi)
- [31] Gemalmaz, N. Beypazarı ve Güdül ilçeleri bağcılığı ve yörede yetişen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1994. (Yüksek Lisans Tezi).
- [32] Kaplan, N. Diyarbakır ve Mardin illerinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin saptanması üzerine bir araştırma. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1994. (Doktora Tezi).
- [33] Kara, Z. ve Beyoğlu, N. Konya ili Beyşehir yöresinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özellikleri üzerinde bir araştırma. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 3-6 Ekim 1995, Adana (Bildiri Kitabı, 519-523).
- [34] Akın, A. Konya ili Akören, Güneysınır ve Hadim yöresi üzüm çeşitlerinin kısa ampelografik özellikleri ile göz verimliliklerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 1995. (Yüksek Lisans Tezi).
- [35] Diri, A. Sungurlu bağcılığı ve yörede yetişen üzüm çeşitlerinin ampelografik özellikleri. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1995. (Yüksek Lisans Tezi).
- [36] Türkkan, S. İncesu (Kayseri) ilçesi bağcılığının bugünkü durumu ve yörede yetişen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1996. (Yüksek Lisans Tezi).

- [37] Uyak, C., Doğan, A., Kazankaya, A., Siirt (Pervari) yöresinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. YYÜ TAR. BİL. DERG. 2011, 21(3), 158-173.
- [38] Erez, M. E., Fidan, M., Pınar, S. M., İnal, B., Kaya, Y., Altıntaş, S. Siirt ilinde yetiştirilen bazı üzüm çeşitlerinin tanımlanması ve kalite değerlerinin belirlenmesi. Türkiye tarımsal araştırmalar dergisi, 2017, 4(1), 31-42.
- [39] Kara, Z., Sabır, A., Doğan, O., Eker, Ö. ‘Gök Üzüm’ (*Vitis vinifera*L.) çeşidinin ticari potansiyeli ve ampelografik özellikleri.Nevşehir bilim ve teknoloji dergisi, 2016, 5, 395-410.
- [40] Güler, I., Kunter, B., Cantürk, S., Keskin, N. Mardin- Elmabahçe köyü (Tizyan) üzüm çeşitlerinin tanıtılması ve ampelografik özelliklerinin belirlenmesi. Selcuk Journal of agriculture and food sciences A, 2013, 27(özel sayı), 608-617.
- [41] Kara, Z., Sabır, A., Eker, Ö. Ancient grape *vitis vinifera* L. cv ‘Ekşi Kara’ in Anatolia. Selcuk Journal of agriculture and food sciences, 2018, 32(2), 416-423.
- [42] Bahar, E., Korkutal, İ., Şahin, N., Sağır, F. S., Kök, D., Ergönül, O., Uysal, T., Özalp, Z. O. Ganos dağları doğal florasında bulunan kültür asmalarının (*Vitis vinifera* L.) moleküler ve ampelografik karakterizasyonu. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2019, 16(1), 92-102.
- [43] Doğan, A., Uyak, C., Saday, M. Hizan (Bitlis) yöresinde yetiştirilen yerel üzüm çeşitlerinin ampelografik tanımlanması. YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi, 2017, 27(3), 424-435.
- [44] Ertekin, B. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu). personel.klu.edu.tr.
- [45] Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu, M. T. Moleküler markırların bitki ıslahında kullanımı. Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi, 2015, 4(2), 1-12.
- [46] Ertuğrul, F., Koç, İ. Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2011, 28(2), 207-214.
- [47] Yorgancılar, M., Yakışır, E., Tanur Erkoyuncu, M. Moleküler makeörlerin bitki ıslahında kullanımı. Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi. 2015, 4(2), 1-12.
- [48] Ertuş, M. M., Sabancı, C.O., Şensoy, S. ISSR primerleri ile kültürü yapılan bazı yonca (*Medicago sativa* L.) ekotiplerinde moleküler farklılıkların belirlenmesi. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi. 25(Özel Sayı 1), 249-254.
- [49] Yorgancılar, M., Atalay, E., Bayrak, H., Hakkı, E. E., Önder, M., Babaoğlu, M. ISSR markörleri kullanılarak Konya bölgesinden toplanan nohut (*Cicer arietinum*

L.) popülasyonları arasında genetik çeşitliliğin belirlenmesi. Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi. 2008, 22(46), 1-5.

[50] Karaselek, M. A. *Helvella* L. Ve yakın ilişkili mantar türleri arasındaki genetik akrabalık ilişkilerinin ISSR yöntemi ile belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2012. (Yüksek Lisans Tezi).

[51] Erdoğan, E. H., Yorgancılar, M., Atalay, E., Uyar, S., Baboğlu, M., Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm tekniği ile yerli lüpen genotiplerinde (*Lupinus albus* L.) genetik varyasyon belirlenmesi. Bitkisel Araştırma Dergisi. 2007, 2, 1-5.

[52] Yalım, D. Türkiye’de yetişen arpa çeşitlerinde genetik çeşitliliğin ISSR (Basit Dizilim Tekrarları) moleküler markör tekniği ile saptanması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2005. (Yüksek Lisans Tezi).

[53] Furan, M. A., Geboğlu, M. D. Yetiştiriciliği yapılan bazı türk kişniş (*Coriandrum Sativum* L.) çeşitlerinde genetik çeşitliliğin ISSR ve SRAP markörleri yardımıyla değerlendirilmesi. YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi. 2017,27(2), 245-251.

[54] Karakoç, D. Orta ve Doğu Karadeniz bölgesi doğal florasındaki böğürtlen genotipleri arasındaki biyoçeşitliliğin moleküler belirteçlerle saptanması. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, 2011. (Yüksek Lisans Tezi).

[55] Zietkiewicz, E., Rafalski, A. and Labuda, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-Anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics. 1994, 20, 176-183.

[56] Gupta, M., Chyi, Y. S., Romero Severson, J. and Owen, J. L. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of Simple-Sequence repeats. Theor. Appl. Genet. 1994, 89, 998-1006.

[57] Moreno, S., Martin, J. P. and Ortiz, J. M. Inter-Simple sequence repeats PCR for characterization of closely related grapevine germplasm. Euphytica. 1998, 101, 117-125.

[58] Herrera, R., Cares, V., Wilkinson, M. J. and Caligari, P. Characterization of genetic variation between *Vitis vinifera* cultivars from Central Chile using RAPD and Inter Simple Sequence Repeats markers. Euphytica. 2002, 124(1), 139-145.

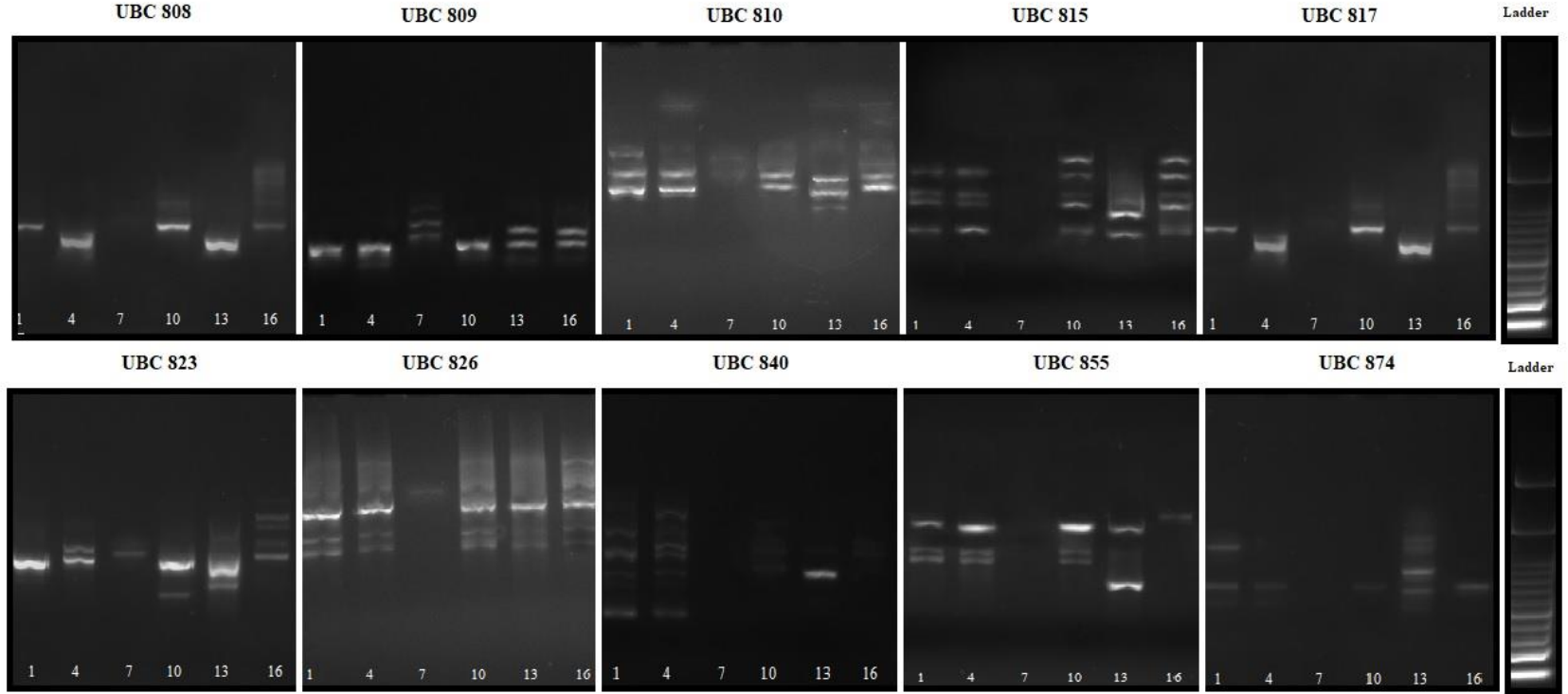
[59] Wu, Z. L., Fang, L. Y., Wang, J. and Shen, Y. J. Analysis Genetic Diversity of *Vitis* by using ISSR markers. J. Fruit Sci. 2006, 23(4), 605-608.

- [60] Sabır, A., Kafkas, S, Tangolar S. and Büyükalaca, S. Genetic relationship of grape cultivars by ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) markers. *Europ. J. Hort. Sci.* 2008, 73(2), 84-88.
- [61] Sabır, A., Tangolar, S., Büyükalaca, S. ve Kafkas, S. Ampelographic and molecular diversity among grapevine (*Vitis spp.*) cultivars. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2009, 45(4), 160-168.
- [62] Hassan, N. A., El-Homosany, A., Gomma, A. H. and Shaheen, M. A. Morphological and ISSR polymorphisms in some Egyptian grapes (*Vitis vinifera* L.) collection. *World Applied Sciences Journal.* 2011, 15(10), 1369-1375.
- [63] Choudhary, R. S., Zagade Maboodurrahman, V. S., Khalakar, G. D., Singh, N. K. ISSR based genotypic differentiation of grape (*Vitis vinifera* L.). *The Bioscan.* 2014, 9(2), 823-828.
- [64] Castro, I., Ortiz, J. M., Ferreira, V., Martin, J. P. A comparative analysis of genetic diversity in Portuguese grape germplasm from ampelographic collections fit for quality wine production. *Spanish Journal of Agricultural Research.* 2016, 14(4), 11.
- [65] Basheer Salimia, R., Mujahed, A. Genetic diversity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) as revealed by ISSR markers. *J Plant Biotechnol.* 2019, 46, 1-8.
- [66] Bekişli, M. İ., Gürsöz, S. Harran ovası koşullarında bazı amerikan asma anaçlarının yaprak ve stoma özelliklerinin incelenmesi. *Bahçe Dergisi*, 2016, Özel sayı VII(II), 857-861.
- [67] OIV 2011. <http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/description-of-grape-varieties/oiv-descriptor-list-for-grape-varieties-and-vitis-species-2nd-edition>.
- [68] Lodhi, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F., Reisch, B. A. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and *Vitis* species. *Plant. Mol. Biol. Rep.*, 1994, 12(1), 6-13.
- [69] Galet, P. A practical ampelography: Grapevine identification. Translated by Morton L. Cornell University Press, Ithaca, NY, 1979.
- [70] Chitwood, D. H., Ranjan, A., Martinez, C. C., Headland, L. R., Thiem, T., Kumar, R. A modern ampelography: a genetic basis for leaf shape and venation patterning in grape. *Plant Physiol.* 2014, 164, 259-272.
- [71] Diaz-Losada, E., Cortes-Dieguez, S., Rodriguez-Torres, I., Miras-Avalos, J. M., Orrillos-Fernandes, I., Pereira-Loranzo, S. Characterization of the nearly extinct

- 'Albilla' cultivars from Galicia and its relationships with other spanish 'Albillos' . J. Int. Sci. Vigne Vin, 2013, 47(4), 261-268.
- [72] Rohlf, F.J.: NTSYS-Pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.01. Exeter Software. New York. 1997.
- [73] Gelanalyzer 2010a. <http://www.gelanalyzer.com/>. Lazar Software.
- [74] Sokal, R.R. and C.D. Michener: A statistical method for evaluating systematic relationships. Univ. Kans. Sci. Bull., 1958, 38, 1409-1438.
- [75] Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstruction of phylogenetic trees. Mol Biol Evol 1987,4:406–25
- [76] İşçi, B., Altındışli, A. Ampelographic characterization of Turkish indigenous grape accessions and european cultivars (*Vitis vinifera* L.). International journal of agriculture, environment and food sciences, 2017, 1(1), 1-16.
- [77] Ateş, F., Çoban, H., Kara, Z., Sabır, A. Ampelographic characterization of some grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) grown in South- western region of Turkey. Bulgarian Journal of agricultural science, 2011, 17(3), 314-324.
- [78] Ecevit, F. M., Kelen, M. Isparta (Atabey)'de yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Tr. J. Of Agriculture and forestry, 1999, 23, 511-518.
- [79] Galet, P. Précis d'ampélographie pratique. Impr. P. Déhan.Montpellier. France, 1952.
- [80] Dilli, Y. Ege bölgesindeki bazı önemli üzüm çeşitleri, tipleri ve klonlarının mikrosatelit (SSR) markörleriyle karakterizasyonu üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.

EKLER

EK A.4. Jeldeki bantlara ait görüntüler



1: Şika 4: Akhisar Razakı 7: Razakı 10: Sultan 7 13: Mevlana 16: Sultan 1

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mahmut AŞIK

Doğum Yeri ve Yılı : Balıkesir, 1981

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : mahmut.asik@gthb.gov.tr / asikkkk5581@hotmail.com

Eğitim Durumu

Lise : İvrindi Lisesi, 1998

Ön Lisans : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bahçe Ziraati Bölümü, 2008

Lisans : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 2015

Mesleki Deneyim

Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü 2013-..... (halen)

Yayımları

Yeğenoğlu, E. D., Aydın, Ş., Arık, C., Gevrekçi, Y., Aşık, M. Üzümde çeşitliliğin belirlenmesinde morfolojik farklılıkların kullanılması. C B Ü Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi. 2016, II(22), 13-20.

Kesgin, M., Aşık, M. Mevlana üzüm çeşidi klon adaylarının göz verimlilik değerleri. Bahçe Dergisi. 2018, 47(Özel sayı 1), 389-392.

Özkan, C., Atay, İ., Tatlı, Ş., Mert, M. A., Kodan, M., Karacaoğlu, M., Kaya, İ., Kayhan, M., Aksu, K., Kılıç, A., Karabat, S., Güngör Savaş, N., Albaz, E., Aşık, M., Boz, S., Aslan, M. A., Altun, A., Cinbaz, T., OK, Y. Bağda akıllı böcek akıllı çiftçi. Çanakkale 1. Proje Pazarı, 26-27 Nisan 2018, Çanakkale.