

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOĞU ANADOLU'DA YETİŞEN BAZI ARMUT GEN KAYNAKLARININ  
SSR's(Simple Sequence Repeats) MARKÖRLERE DAYALI GENETİK  
KARAKTERİZASYONU

Hatice ALTINBAY

Danışman Öğretim Üyesi  
Prof. Dr. Ali ERGÜL

ANKARA  
2012

## **Doğu Anadolu'da Yetişen Bazı Armut Gen Kaynaklarının SSR's (Simple Sequence Repeats) Markörlere Dayalı Genetik Karakterizasyonu**

### **ÖZET**

Ülkemizin bulunduğu coğrafi konum ve ekolojik özellikleri ile yaklaşık 600 genotipi içeren zengin armut gen kaynaklarına sahip olduğu bildirilmektedir (Özbek 1978). Doğu Anadolu Bölgesi bazı armut gen kaynaklarının DNA kimlik tanımlarının belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilen bu tez çalışmasında, 46 yerli ve 4 referans çeşidinin Simple Sequence Repeats (SSR's)'a dayalı genetik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Elma ve armuda ait 10 SSR lokusunun kullandığı araştırmada, toplam 117 allel tespit edilirken, en polimorfik lokus 19 allel veren BGT23b lokusu olarak belirlenmiştir. Sinonim olarak bilinen 24 PEA002 ve 24 PEA038 genotipler tüm lokuslarda aynı allel büyüklüğüne sahip olup sinonimlikleri doğrulanırken, homonim genotiplere rastlanmamış ve 8 SSR lokusundan tri allel tespit edilmiştir. Çeşit yetişme bölgeleri ve SSR ilişkilendirmeleri arasında bir bağlantı bulunamaz iken, sonuçlar diğer ulusal armut veri tabanı ile karşılaştırıldığında 24 PEA 033 armut genotipinin Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nün koleksiyonlarında da yer aldığı tespit edilmiştir.

Elde edilen veriler ilerde yürütülecek, çeşit tayini, bitki ıslahı, gen kaynaklarının kontrol ve yetiştiriciliğinde önemli veri tabanları sağlayacaktır.

*Anahtar kelimeler: Pyrus spp., armut, SSR, Doğu Anadolu Bölgesi, Türkiye*

## **Genetic Characterization of East Anatoilan Pear Germplasms Based on SSR's**

### **ABSTRACT**

Geographical location and ecological characteristics of our country has rich gene sources of pear with containing approximately 600 genotypes. In order to determine DNA identification of gene sources of pear belonging to East Anatolian performed in this thesis molecular characterisation based on SSR's (Simple Sequence Repeats) of 46 local and 4 reference types has been carried out.

In this research 10 SSR loci from apple and pear were used; while total 117 alleles have been identified, it has been determined that the most polymorphic loci is BGT23b which has 19 alleles. While known as synonym that 24 PEA002 ve 24 PEA038 genotypes, they have been confirmed as synonyms which have same allele size in all loci, there isn't homonym genotype and tri-allels have been found in 8 SSR loci. Between growing region of types and SSR an association cannot be found but when results are compared with other national pear database, it has been identified that 24 PEA 033 pear genotype take place in collections of Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü.

Obtained findings will provide significant database in molecular level to various works such as cultivar identification, control of gene resources and plant breeding.

*Key words: Pyrus spp., pear, SSR, East Anatolian Region, Turkey*

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimine başladığım ilk günden itibaren bilgi ve desteğini esirgemeyerek beni yönlendiren ve tez çalışmalarım da büyük katkıları sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Ali ERGÜL'e,

Hep yanımda olan Bitki Biyoteknolojisi ekibi başta olmak üzere, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü ailesine,

Çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteğiyle her zaman arkamda olan, sevgili anneme ve babama en içten şükran ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Hatice ALTINBAY

Ankara, Haziran 2012

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vi
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Asma Mikrosatellit Çalışmaları.....	5
2.1.1. Genetik tanımlama çalışmaları .....	5
2.1.2. Evrim çalışmaları .....	10
2.1.3. Genetik haritalama çalışmaları.....	11
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. DNA izolasyonu ve ölçümleri .....	18
3.2.2. PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR .....	19
3.2.3. Kapilleri elektroforez ve allel görüntülerinin alınması .....	22
3.2.4. Genetik analizler.....	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	23
4.1. DNA İzolasyonu ve Ölçümleri.....	23
4.2. SSR Lokuslarının PCR Reaksiyonu ve Allel Görüntülerinin Alınması ..	29
4.3. Genetik Analizler.....	31
4.4. Benzerlik Oranı İndeksi .....	38
4.5. Genetik İlişki Dendogramı .....	39
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	41
5.1. SSR Analizleri.....	41
5.2. Genotip-SSR İlişkilendirmeleri.....	43
KAYNAKLAR .....	45
ÖZGEÇMİŞ .....	50

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Araştırmada kullanılan bazı çeşitlere ait DNA'ların, agaroz jel (% 1) görüntüleri .....	23
Şekil 4.2. CH02b10 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü .....	29
Şekil 4.3. KA4b lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	29
Şekil 4.4. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki homozigot allel görüntüleri .....	30
Şekil 4.5. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki heterozigot allel görüntüleri .....	30
Şekil 4.6. Armut çeşitlerine ait genetik ilişki dendogramı.....	39

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan armut çeşitleri ve çeşitlere ait pomolojik bilgiler .....	15
Çizelge 3.2. SSR lokuslarına ait primerlerin baz dizileri, işaretleme boyası ve PCR Tm değerleri.....	21
Çizelge 4.1. Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların spektrofotometrik değerleri.....	24
Çizelge 4.2. Erzincan - BKAI armut çeşitleri ve çeşitlerin 10 lokustaki allel verileri (bç) .....	32
Çizelge 4.3. Doğu Anadolu armut çeşitlerine ait genetik parametreler .....	35
Çizelge 4.4. Allel frekansları.....	36
Çizelge 4.5 Genetik benzerlik indeksi .....	38

## SİMGELER DİZİNİ

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı)
bp	Base pair (Baz çifti)
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksi-Nükleotit Trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
H <sub>e</sub>	Expected heterozygosity (Beklenen heterozigotluk)
H <sub>o</sub>	Observed heterozygosity (Gözlenen heterozigotluk)
LG	Linkage Group
mM	Milimolar
µl	Mikrolitre
M	Molar
n	The number of allele (Allel sayısı)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PI	Probability of Identity (Tanımlama Olasılığı)
PVP	Polyvinylpyrrolidone
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA (Rastgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş Parça Uzunluğu Farklılığı)
RNase	Ribonükleaz
rpm	Dakikadaki dönüş sayısı
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarı)
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA Çözeltisi
TE	Tris-EDTA Çözeltisi
T <sub>m</sub>	Primerin DNA'ya bağlanma sıcaklığı



## 1. GİRİŞ

Ülkemizin coğrafi konumu ve ekolojik özellikleri sahip olduğu bitki gen kaynaklarını zengin kılmıştır. Dünyada elmadan sonra en fazla kültürü yapılan ılıman iklim meyve türü olan armut, Anadolu'da geniş bir yetiştirme alanına sahiptir. Bu geniş yayılma alanı ve var olan çeşitlilik, ülkemizde armuda ait gen kaynakları olduğunun bir göstergesidir (Özbek 1947). Yumuşak çekirdekli bu meyve türü, *Rosaceae* familyasında *Maloideae* (*Pomoideae*) alt familyasının *Pyrus* cinsi içerisinde yer almaktadır.

*Pyrus* spp. yaklaşık 20 armut türünü içermekte olup, 3. dönemde Çin'den köken almış ve tüm dünyaya dağılım göstermiştir (Bassil and Postman 2010). Dağılımın gösterdiği bölgeye göre armut; 'Doğu'(Oriental) ve 'Batı'(Occidental) armutları olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Bailey 1917). Batı armudu grubunda Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika ve Afrika'da yetişen *Pyrus communis* türü, Doğu armudu grubunda ise Çin'de yetişen *P. ussuriensis*, *P. bretschneideri* ve *P. sinkiangensis*, Çin ve Japonya'da yetişen *P. pyrifolia* türleri yer almaktadır (Bell 1990, Bao vd 2007).

Ülkemizin Asya ve Avrupa kıtaları arasında ve armudun yetişebileceği en iyi enlem derecelerinde ( $\leq 55^\circ$ ) yer alması, aynı zamanda armudun, ayva, ahlat ve alıç gibi toprak istekleri bakımından birbirinden çok farklı anaçlar üzerinde yetişebilme ve ilkbahar aylarında don olaylarından diğer meyve türlerine (badem, kayısı, erik, şeftali) göre daha az etkilenme gibi özellikleri, armudun, ülkemizde geniş bir alana yayılmasını sağlamıştır (Özbek 1947).

Tüm kıtalarda tanınan ve aranan meyve türleri arasında yer alan armudun dünyada toplam üretimi 2010 yılı verilerine göre 22.6 milyon tondur. Bunun %1.7'sini karşılayan Türkiye, 380 bin tonluk üretim değeri ile Çin (15.2 milyon ton), İtalya (736 bin ton), Amerika Birleşik Devletleri (732 bin ton), Arjantin (704 bin ton), İspanya (473 bin ton), Hindistan (382 bin ton), Güney Afrika (366 bin ton), Güney Kore (307 bin ton) ve Japonya (285 bin ton) ile birlikte dünya armut üretiminde söz sahibi başlıca ülkeler arasında yer almaktadır (FAOSTAT 2010). Ülkemizin önemli armut üreticilerinin arasında olması, armudu

sofralık, kurutmalık ve şıracılık alanlarında değerlendirilmesini sağlamıştır (Ülkümen ve Özbek 1950).

Armut çeşitlerinin tanımlanmasında uzun yıllardır morfolojik özellikleri baz alınmıştır(Kiper 1941, Özbek 1947, Kikuchi 1946, Westwood 1978). Bitkinin fenotipik özelliğine dayanan morfolojik markörlerin, gözlemciye göre değişmesi, çevreden fazla etkilenmeleri ve heterozigot bireyleri ayırt edememe gibi özellikleri ile bitki tanımlamadaki yerini biyokimyasal markörlere bırakmıştır. Biyokimyasal markörler ise bitkide az miktarda sentezlenmekte ve çevre koşullarından etkilenmektedir (Santamour and Demuth 1980, Chevreau vd 1997). Ülkemizde var olan yaklaşık 600 armut çeşidinin (Özbek 1978), homonim/sinonim durumlarının belirlenmesi, buna bağlı olarak tam çeşit sayının ortaya çıkarılması ve gen kaynaklarının korunması için yapılan morfolojik ve biyokimyasal çalışmalar yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle son zamanlarda gerçekleştirilen moleküler markör çalışmaları önem kazanmıştır. Temeli DNA'ya dayanan SSR (Simple Sequence Repeat) markörlerin, genomda çok sayıda bulunması, ko-dominant, yüksek polimorfik, tekrar edilebilir, aynı cinse ait türler ve aynı familyaya ait cinsler arası transfer edilebilir özelliklerinin bulunması ile tür tayininde tercih edilmektedir (Weber and May 1989, Yamamoto vd 2001, Wünsch and Hormaza 2002).

Uzun yıllardan beri gerçekleşen doğal veya yapay melezlemeler ve hibritleşmeler ile doğal ve yapay mutasyonlar sonucunda birçok yeni armut varyasyonları meydana gelmiş ve bu varyantların seçilip yetiştirilmesiyle bugünkü armut çeşitliliği ortaya çıkmıştır. Bölgesel bitki çeşitliliğinin korunması, tanımlanması ve ıslah sonrası materyallerin devamlılığının sağlanması amacıyla 1983 yılında Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu kurulmuş ve bu istasyonda Doğu Anadolu Bölgesi'ne ait meyve koleksiyonları oluşturulmuştur.

Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu'nun armut koleksiyonundaki armut gen kaynaklarının toplu tanımlanmasının bir bölümü olarak gerçekleştirilen bu tez çalışmasında; 46 yerli ve 4 referans çeşidinin 10 SSR (Simple Sequence Repeats) lokusu ile genetik tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen genetik bulgular ile populasyon

içi genetik benzerlikler, sinonim/homonim çeşitler belirlenmiş ve bölgenin bu çeşitlerine ait genetik kimlik tanıları yapılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitki türlerindeki genetik çeşitlilik, moleküler çalışmalarla beraber genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik düzeylerde de incelenmektedir. Çeşit varyasyonun yüksek olduğu armut bireylerinde, bu varyasyonun belirlenmesi ve korunması için moleküler markörlerin kullanılması önem teşkil etmektedir. Armut genomunda kullanılan moleküler markörlerin en önemlilerinden birisi ise; Simple Sequence Repeats (SSR's) veya mikrosatellit markörlerdir.

SSR markörler (mikrosatellit), bitki genomu boyunca rasgele dağılmış penta-, tetra-, tri-, ve dinükleotit gibi kısa tekrar dizileridir (Zietkiewicz vd 1994). Ökaryotik genoma özgünlük gösteren mikrosatellitlerin (Litt and Luty, 1989), ko-dominant, yüksek polimorfik, her lokus için çok sayıda allel üretebilir, tekrar edilebilir, aynı cinse ait türler ve aynı familyaya ait cinsler arasında transfer edilebilir, uluslar arası veri tabanlarının karşılaştırılmasına olanak sağlama gibi özellikleri bulunmaktadır. SSR markörlerin bu avantajları, bitki tanımlamada diğer DNA markörlere(RFLP, RAPD, AFLP vb) göre daha çok tercih edilmesini sağlamıştır.

DNA parmak izi tanısında tercih edilen SSR markörler, armutta; çeşit tayini, ebeveyn analizi, genetik çeşitlilik ve genetik haritalama gibi çalışmalarda kullanılmıştır. SSR markörler kullanılarak armutta gerçekleştirilen önemli araştırmalara(genetik tanımlama, genetik haritalama vb) yönelik özetleri aşağıda verilmiştir.

## 2.1. Armutta Yapılan Mikrosatellit Çalışmaları

### 2.1.1. Genetik tanımlama çalışmaları

Yamamoto vd (2001), elma SSR lokuslarının *Pyrus* spp. türlerinin teşhisinde kullanılabilirliğini kanıtlamışlardır. Yapılan çalışmanın sonuçları *Pyrus* türlerinin *Malus* türlerine yakın bir tür olduğunu ve aynı zamanda aynı genusa ait bireyler veya aynı familyaya ait genuslar arasında SSR lokuslarının aktarılabilirliğini göstermiştir.

Wünsch and Hormaza (2002), ılıman meyve ağaçlarındaki genetik parmak izi analizlerinde kullanılan DNA markörleri(RFLP, RAPD, AFLP, SSR) karşılaştırmışlardır. Farklı laboratuvarlarda aynı sonuçların elde edilebilirliğini araştırdıkları bu çalışmada, SSR markörlerin tekrar üretilebilirliği, ko-dominant ve yüksek polimorfizm özelliği ile genetik parmak izi araştırmalarında öncelikli olarak tercih edilecek markör olduğu belirlenmiştir.

Yamamoto vd (2002a), temeli PCR'a dayanan; RAHM(Random Amplified Hybridization Microsatellites) ve 5' anchored PCR metotlarını kullanarak *P. pyrifolia*, *P. bretschneideri*, *P. ussuriensis*, *P. communis* ve *P. calleryana* türlerindeki genetik çeşitliliği araştırmışlardır. Japon armudu 'Housui' ve Avrupa armudu 'Bartlett' çeşitlerinden izole edilen 9 SSR markörü (KA4b, KA14, KA16, KB16, KU10, BGA35, BGT23b) kullanarak yaptıkları bu çalışmada toplam allellerin %35-50'sinin Asya armuduna (*P. pyrifolia*, *P. bretschneideri*, *P. ussuriensis*) ve %50'sinin ise *P. communis*'e ait olduğunu gözlemlemişlerdir. Elde edilen sonuçlar Asya armutlarının genetik olarak birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir.

Bir başka çalışmada, Japon armudu 'Housui'nin zenginleştirilmiş kütüphanesini kullanan Yamamoto vd (2002b), 13 mikrosatellit (NH001c, NH002b, NH004a, NH005b, NH007b, NH008b, NH009b, NH011b, NH012a, NH013a, NH014a, NH015a, NH017a) geliştirmişlerdir. Oldukça polimorfik olan bu mikrosatellitlerin gözlenen ve beklenen

heterozigotluk değerlerinin ortalama 0.69 ve 0.71 olduğunu, aynı zamanda bu mikrosatellitlerden bazılarının Avrupa armudunda (*Pyrus communis* L.) başarılı bir şekilde çoğaldığını göstermişlerdir.

Dokuz SSR markör (KA16, KU10, BGA35, BGT23b, NH004a, NH011b, NH013a, NH014a, NH015b) kullanarak 60 Asya armudunu sınıflandıran Kimura vd (2002), önceki çalışmalarda sinonim olduğu düşünölen çeşitlerin farklı bant profili gösterdiği tespit etmiştir.

Bassil vd (2006), 9 SSR lokusu ile Amerika'da bulunan National Clonal Germplasm Repository(NCGR)'den alınan armut çeşitlerinin homonim, sinonim durumlarını belirlemişlerdir.

Amerika'da ekonomik değeri yüksek bazı Asya ve Avrupa armutlarının SSR-PAGE analizi ile söz konusu çeşitlerin genetik çeşitliliğini ve akrabalık ilişkisini araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda Ghosh vd (2006), armut ıslah çalışmalarına yardımcı olacak, çeşitler arası genetik uzaklığın tahminini ve doğrulanmasını sağlayacak veriler oluşturmuşlardır.

Volk vd (2006), 13 mikrosatellit lokusu kullanarak *P. communis*'in kültür ve yabani türlerinde (*P. communis* ssp. *pyraster*, *P. communis* ssp. *caucasica*) arasındaki farklılığı araştırdıkları çalışmada, Bayesian metoduna göre türleri 12 grup altına toplamışlardır. Coğrafi dağılımın çeşitlerin farklılaşmasında etkili olması nedeniyle *Pyrus* türlerinde köken aldığı bölgelere göre her lokustaki allel sayısı farklılık göstermiştir. Orijinini Türkiye'den alan bazı çeşitler GD12, CH02b10, GD147, NH009b, NH015a Ch01h01, CH01D08, CH01F07A, CH02d12, CH05e03, GD96, CH01d09, GD142 lokuslarında sırasıyla 4, 5, 5, 6, 6, 6, 8, 8,10, 11, 11,11, 16 allelleri oluşmuştur.

Fernández-Fernández vd (2006), di ve tri- nükleotit tekrarları ile zenginleştirilmiş *Pyrus communis* genom kütüphanesinden 19 mikrosatellit primer çifti geliştirmişlerdir. Geliştirilen primerlerin bazı *Malus* türlerinde amplifiye olduğunu açıklamışlardır.

Yamamoto vd (2006), taze, kuru, konserve ve işlenmiş armut çeşitlerinde farklı DNA izolasyon yöntemleri (CTAB method, G2 buffer & Genomic tip20/Gi DNeasy method, Phytopure method) kullanarak DNA profillemeye çalışmaları yapılmıştır. İzolasyon yöntemlerinden G2 buffer & Genomic tip20/G, diğer metotlardan daha çok genomik DNA'nın izole edilmesini sağlamıştır. Meyve suyu ve konserve örneklerinden genomik DNA'ların izole edilmesi durumunda, SSR markörlerin çeşit teşhisinde kullanılabileceği teyit edilmiştir.

Japon armudunun gen kaynaklarındaki genetik çeşitliliği araştıran Katayama vd (2007), cpDNA ve SSR markörleri kullanarak melezlemeyle olan genetik akışı ayırt etmişlerdir. Beş SSR lokusunun (BGA35, NH011b, NH013a, NH015a, KA14) yer aldığı çalışmada her lokus başına oluşan allel 3(KA14) ile 12(NH011b), beklenen heterozigot(He) 0.31(KA14) ile 0.83(NH011b), gözlenen heterozigot(Ho) 0.29(KA14) ile 0.83(NH011b), ayırt etme gücünü (power of discrimination-PD) 0.41(KA14) ile 0.90(NH011b) verileri elde edilmiştir.

Erdoğan vd (2007), 'Ankara' armudu klonları arasındaki genetik farklılıkları RAPD tekniği ile araştırmışlardır. Çalışmada yer alan 25 adet primerden 2 tanesinde amplifikasyon zayıf olmuş diğerleri ise açıkça okunabilen ve tekrarlanabilen bantlar vermiştir. Ancak araştırmada kullanılan genotipler arasında yeterli polimorfizme rastlanamadığından 'Ankara' armudu klonlarının genetik ayrımı yapılamamıştır.

Wünsch and Hormaza (2007), elma SSR lokuslarını kullanarak Avrupa armutlarındaki benzerlik ve genetik çeşitliliğini karakterize etmişlerdir. Çalışmada kullandıkları 7 SSR lokusundan (02b1, 28f4, 05g8, CH01E12, CH01H10, CH01H01, CH01F02) yalnızca bir mikrosatellit (CH01F02), en az iki farklı lokusta üçlü allel tespit etmişlerdir. Toplam 46

allelin olduğu bu çalışmada ‘Williams’ dan alınan SSR lokusları ile ‘Max Red Bartlett’ ve ‘Sensation Red Bartlett’ in ayırt edilemeyeceğini ve bu çeşitlerin ‘Williams’ ın mutantları olduğunu kanıtlamışlardır.

Martinelli vd (2008), İtalya’nın ‘Appenino Toscano’ bölgesindeki eski elma ve armut gen kaynaklarını morfolojik özellikler ve SSR markörler ile karakterize etmişlerdir. KA14, KA16, BGT23b lokuslarının kullanıldığı bu çalışmada pomolojik benzerlik gösteren ‘Bottiglia’ ve ‘Agnellina’ eşitlerinin genetik benzerliğinin olmadığı tespit edilmiştir.

Sloven armut eşitleri (*P. communis*, *P. nivalis*, *P. pyraster*) arasındaki genetik ilişkiyi, Sisko vd (2009), AFLP ve SSR yöntemi ile araştırmışlardır. Yapılan SSR analizinde gözlenen heterozigotluk değer 0.235(CH01H10) ile 1.00 (CH01f02) arasındadır. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerindeki farklılık tüm lokuslarda gözlenmiş ve bu farklılıktaki en büyük değer CH01H10 lokusunda (0.513) bulunmuştur. AFLP ve SSR markörlere dayanan çalışmada genetik benzerlikler dendogram düzeyinde incelenmiştir.

Kum armudu (*P. pyrifolia* Nakai) eşitleri, arasındaki genetik varyasyon ve gen havuzundaki genetik çeşitlilik araştırılmıştır (Jiang vd 2009). NH001c, NH002b, NH004a, NH005b, NH007b, NH008b, NH009b, NH011b, NH013a, NH014a, NH015b, NH017a, CH01F02, CH01H10 lokusları ile 233 çeşit taranarak en fazla gözlenen heterozigotluk değer 0.844 ile NH004a bulunmuştur.

Bassil and Postman (2010), *Pyrus* genom bankasından (GenBank) geliştirilen EST-SSR ile *P. communis*, *P. pyrifolia* ve *P. ussuriensis* türlerine ait eşitleri tanımlamışlardır. nceki çalışmalarda bulunan sinonim çeşitler bu çalışmada da sinonim bulunarak doğrulukları kanıtlanmış, yanlış isimlendirilmiş çeşitler ise açığa çıkarılmıştır. Ayrıca ‘Anjou’ ve ‘Farmingdale’ arasında ebeveyn, ‘Berger’ ve ‘Bartlett’ arasında klonal, ‘Beurre Superfin’ ve ‘Doyenne du Comice’ arasındaki ilişkinin yakın olduğu belirlenmiştir.



Miranda vd (2010), 141 armut çeşidinde genetik çeşitliliği, ilişkiyi araştırmışlar ve çekirdek koleksiyonu oluşturmuşlardır. Önceki çalışmalarda bulunan homonim ve sinonim çeşitler, bu çalışmada da doğrulanmıştır.

Wolko vd (2010), yüksek polimorfizm gösteren SSR lokusları ile yabani armutlardaki (*P. pyraeaster* L.) genetik çeşitliliği araştırdıkları çalışmanın sonucunda bu genetik çeşitliliği belirleyen *Pyrus* türlerini karakterize eden ve tanımlayan moleküler veriler oluşturmuşlardır.

*P. elaeagnifolia*, *P. bretschneideri*, *P. usuriensis* ve *P. communis* türlerinde 5 SSR markör (KU10, BGT23b, NH004a, NH011b, NH015a) kullanan Yakovin vd (2011), mikrosatellit lokusların polimorfizmini araştırmışlardır. *P. elaeagnifolia*'nin diğer armut türlerinden uzak benzerlik gösterdiğini, *P. bretschneideri* ve *P. usuriensis* türlerinin Asya armudu olmasına rağmen ortak allellerin bulunmadığını, *P. communis* türüne giren çeşitlerin yakın benzerlikle bir homoloji gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Ferreira dos Santos vd (2011), İspanya armutlarının genetik yapısını, klonal çeşitliliğini değerlendirmişlerdir. Elma SSR verilerini, Bayesian prosedürünü, factorial correspondence analizini ve moleküler varyans analizi ve Jaccard katsayısını kullanarak İspanya armutlarını orijinlerine göre; Asya armudu, Kuzeybatı İspanya (Galicia) armudu, Fransa ve İngiltere armudu olmak üzere 4 gruba ayırmışlardır.

Urbanovich vd (2011), CH01c06, CH02b12, CH02c02b, CH03d12, CH04h02 ve SdSSR primerleri ile Avrupa armutlarının tanımlanabileceğini göstermişlerdir. Elma (*Malus x domestica*) için tasarlanan bu 6 primer ile yaptıkları çalışmanın sonucunda armut ve elma genomunun aynı lokusunda gözlenen heterozigotluk (Ho) ve PIC (polymorphism information content) değerlerindeki farklılıkların, o mikrosatellit sekansında tekli nükleotit insersiyon ve delesyonlarından kaynaklanabileceğini belirtilmiştir.

### 2.1.2. Evrim çalışmaları

Bao vd (2007), 6 SSR markörü (BGA35, KU10, BGT23b, NH004a, NH011b ve NH015a) ile Çin kum armudu (*P. pyrifolia* Nakai), Çin beyaz armudu (*P. pyrifolia* var. *sinensis*) ve Japon armudu (*Pyrus pyrifolia*) arasındaki genetik çeşitliliği ve ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışma sonuçları Çin kum armudu ve Çin beyaz armudu arasındaki yakın ilişkiyi doğrulamış, Japon armudunun kökeninin Çin'den geldiğini ortaya çıkarmıştır.

Amerika'daki Ulusal Parklarda bulunan tarihi armut ağaçlarında moleküler parmak izinin araştırıldığı bir çalışmada, ağaçlar teşhis edilmiş ve sinonim durumları belirlenmiştir. Fakir yetiştirme koşulları ve tozlanma eksikliğinden kaynaklı meyve veremeyen tarihi ağaçların morfolojik teşhisi zor iken, DNA parmak izi analizinde SSR markörlerin (PYC-011, NH007b, CH02c11, PYC-008, NH014a, CH03d02, PYC-010b, PYC-013, CH04f06, CH02d12, PYC-009b) kullanılması, tarihi meyve ağaçlarının teşhisini hızlandırmıştır (Bassil vd 2008).

Elma SSR lokusu kullanarak armut türlerindeki genetik çeşitliliğini araştıran Brini vd (2008), SSR markörlerin türler arasında kullanılabilirliğini kanıtlamışlardır. Çalışmada SSR markörlerin (02b1, CH01H01, CH01f02, CH01H10, 28f4, 05g8, CH02D11) pek çok lokusta farklı amplifikasyonlar göstermesinin, Maloiade alt familyasının bir allopoloid orijin olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Bitkilerde zengin genetik çeşitliliğin bulunduğu Pakistan'ın Azad Jammu and Kashmir (AJK) bölgesindeki armut gen kaynaklarını SSR markörler ile araştıran Ahmed vd (2010), *Pyrus* ekotipleri arasında genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Yapılan filogenetik analizlerde, Avrupa armutlarındaki yüksek genetik benzerlik, onların aynı gen havuzunda ve ortak ataya sahip olmasından kaynaklı olduğunu göstermiştir.

Lu vd (2010), 101 elma SSRs lokusunu ile elma ve armut arasındaki bağlantı gruplarını araştırdıkları çalışmada ‘Mishirazi’(*P. pyrifolia* x *P. communis*) x ‘Jinhua’ (*P. bretschneideri*) çeşitlerinin 29 elma SSRs markörü ile genom haritasını oluşturmuşlardır. Aynı familyada bulunan elma ve armut genomlarında son derece korunmuş gen bölgelerinin olduğunu, Asya ve Avrupa armutlarının ise evrim sürecinde bazı kromozomlarının değişikliğe uğradığını göstermişlerdir.

*Malus* türlerinden geliştirilen EST-SSR markörlerin %76’sını *Pyrus* türlerine başarılı bir şekilde aktaran Yao vd (2010), bu markörlerin *Malus* ve *Pyrus* gen kaynaklarının evriminin araştırılmasında etkili olduğunu ortaya çıkarmışlardır.

### **2.1.3. Genetik haritalama çalışmaları**

Yamamoto vd (2002c, 2004), *P. communis* L. çeşidi ‘Bartlett’ ve *P. pyrifolia* Nakai çeşidi ‘Housui’ nin F1 bireylerini kullanarak elma, armut ve *Prunus* türünden alınan AFLPs, SSRs markörleri, izozim ve fenotipik özelliklere dayanan genetik bağlantı haritasını oluşturmuşlardır. ‘Bartlett’ in dişi bireylerinin 1.020 cM uzunluğundaki genetik linkaj haritasının 178 AFLPs, 76 SSRs (32 armut, 39 elma, 5 *Prunus* SSRs), 1 izozim ve 1 S (kendine kısırlık) lokusu içeren 19 linkaj grubu içerdiğini, ‘Housui’ nin ise 110 AFLPs, 64 SSRs (29 pear, 29 apple, 6 *Prunus* SSRs ), 2 fenotipik özellik ve 4 diğer markörleri içeren 20 linkaj grubundan oluşan 995 cM uzunluğundaki haritayı elde etmişlerdir.

Dört ayrı laboratuarda geliştirilen *Malus* linkaj gruplarında tanımlanan SSR lokuslarının, *Malus* türlerinde ve *Malus* ile *Pyrus* türleri arasındaki karşılaştırmalı haritalamada kullanılabileceğini kanıtlanmıştır (Hemmat vd 2003).

Pierantoni vd (2004), 100’den fazla elma SSR markörü kullanarak Avrupa armudunun 2 grup F1 bireyleri(‘Passe Crassane’ x ‘Harrow Sweet’ ve ‘Abbè Fétel’ x ‘Max Red Bartlett’

ile bağlantı haritasını oluşturmuşlardır. Bağlantı haritasında elma ile armut arasında korunmuş SSR lokuslarının olduğunu bulmuşlardır.

Avrupa armutlarında *Erwinia amylovora* bakterisinin neden olduğu ateş yanıklığı hastalığına dair çalışma yapan Dondini vd (2004), armutlardaki kantitatif özellikleri (quantitative trait locus-QTL) tanımlamışlardır. ‘Passe Crassane’ x ‘Harrow Sweet’ çeşitlerinin F1 bireylerinde SSRs, MFLPs, AFLPs, RGAs ve AFLP-RGAs markörleri kullanarak oluşturdukları bağlantı haritası ile ıslah çalışmalarında marköre dayalı seleksiyonun (MAS) gelişmesine zemin hazırlanmıştır.

Bir diğer çalışmada Yamamoto vd (2007), Avrupa armudu ‘La France’ çeşidi için toplu genetik linkaj haritası oluşturmuşlardır. ‘La France’ın bağlantı haritası 66 armut SSR, 68 elma SSR, 279 AFLP ve 1 S lokusu içeren 1.156 cM uzunluğundadır. ‘La France’ın bağlantı haritası ‘Bartlett’ ile karşılaştırıldığında Avrupa armutlarında korunmuş gen bölgelerinin olduğunu tespit edilmiştir. Bağlantı haritasında kullanılan 66 elma SSR lokusu, armut haritasının tanımlanmasında başarılı olmuş ve bu lokuslar elma haritasındaki aynı linkaj grubunda(LG) yer aldığını göstermişlerdir.

Terakami vd (2006), Japon armudu çeşidinde (Kinchaku) kara leke hastalığına dayanıklı genlerin (*Vnk*) haritadaki yerini belirlemişlerdir. STS (Sequence Tagged Site) ve *Prunus*, elma ve armuttan alınan SSR markörler ile tanımlanan *Vnk* genlerinin, elma ile homoloji gösterdiği LG1 kromozomlarında yer aldığı tespit edilmiştir.

Diğer bir çalışmada, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler patojenin Japon armutlarında neden olduğu siyah nokta hastalığında hassas olan genlerin lokasyonunu belirlemek için Genome Scanning Approach (GSA) metodunu uygulamışlardır. Bu metotta SSR markörleri de kullanılarak hastalığa hassasiyet gösteren genlerin aynı linkaj grubu(LG) üzerinde bulunduğu gösterilmiştir (Terakami vd 2007).

Nishitani vd (2009), *P. pyrifolia* Nakai çeşidinin kütüphanesindeki yaprak, çiçek, tam çiçeklenme sonrası ve meyve dokularından alınan 11 farklı cDNA ile 73 EST (expressed sequence tag) geliştirmişlerdir. *Arabidopsis thaliana* genleri ile homoloji gösteren bu EST-SSR sekansları aynı familyaya (Maloidae) ait çeşitler arasında aktarılabilir, genetik çeşitlilik ve ilişkilendirme (association) çalışmalarında kullanılabilir ve marköre dayalı seleksiyonda (MAS) high-throughput genotipleme için uygun olduğunu bulmuşlardır.

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

Bu tez çalışması 2011–2012 yılında Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarında yürütülmüştür.

#### **3.1. Materyal**

Araştırmada bitkisel materyal olarak; 46 armut çeşidi ve 4 adet referans çeşit('Duchesse d'Angouleme 174W', 'Passe Crassane', 'Williams' ve 'William's Duchesse') olmak üzere toplam 50 genotip kullanılmıştır. Çeşitlere ait sürgün ucu ve genç yapraklar Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu'ndan sağlanmıştır. Araştırmada kullanılan armut çeşitlerinin iller bazında isimleri ve armut çeşitlerine ait bazı fenolojik özellikleri Çizelge 3.1.' de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan armut çeşitleri ve çeşitlere ait fenolojik bilgiler

Çeşit No	Çeşidin gen bankası kodu/adı	Tomurcuk Patlama Zamanı	Çiçeklenmenin Başlangıcı	Tam Çiçeklenme	Çiçeklenmenin Sonu	Kaynak (Orijin)
1	<b>24 PEA001</b>	25.04.2009	28.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	Erzurum
2	<b>24 PEA002</b>	28.04.2009	01.05.2009	03.05.2009	06.05.2009	Erzurum
3	<b>24 PEA003</b>	29.04.2009	02.05.2009	04.05.2009	07.05.2009	Erzurum
4	<b>24 PEA004</b>	27.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	08.05.2009	Erzurum
5	<b>24 PEA005</b>	28.04.2009	01.05.2009	03.05.2009	06.05.2009	Erzurum
6	<b>24 PEA006</b>	25.04.2009	28.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	Kars
7	<b>24 PEA008</b>	24.04.2009	27.04.2009	30.04.2009	03.05.2009	Kars
8	<b>24 PEA009</b>	25.04.2009	28.04.2009	02.05.2009	04.05.2009	Kars
9	<b>24 PEA010</b>	24.04.2009	27.04.2009	30.04.2009	03.05.2009	Kars
10	<b>24 PEA012</b>	25.04.2009	28.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	Gümüşhane
11	<b>24 PEA013</b>	28.04.2009	01.05.2009	03.05.2009	06.05.2009	Gümüşhane
12	<b>24 PEA016</b>	28.04.2009	01.05.2009	03.05.2009	06.05.2009	Gümüşhane
13	<b>24 PEA017</b>	27.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	08.05.2009	Gümüşhane
14	<b>24 PEA018</b>	28.04.2009	01.05.2009	03.05.2009	06.05.2009	Gümüşhane
15	<b>24 PEA019</b>	25.04.2009	28.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	Gümüşhane
16	<b>24 PEA020</b>	24.04.2009	27.04.2009	30.04.2009	03.05.2009	Gümüşhane
17	<b>24 PEA021</b>	27.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	08.05.2009	Gümüşhane

18	<b>24 PEA022</b>	25.04.2009	28.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	Erzincan
19	<b>24 PEA023</b>	28.04.2009	01.05.2009	03.05.2009	06.05.2009	Erzincan
20	<b>24 PEA026</b>	25.04.2009	28.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	Erzincan
21	<b>24 PEA027</b>	28.04.2009	01.05.2009	03.05.2009	06.05.2009	Erzincan
22	<b>24 PEA028</b>	29.04.2009	02.05.2009	04.05.2009	07.05.2009	Erzincan
23	<b>24 PEA029</b>	27.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	08.05.2009	Erzincan
24	<b>24 PEA033</b>	27.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	07.05.2009	Van
25	<b>24 PEA034</b>	28.04.2009	01.05.2009	03.05.2009	08.05.2009	Erzurum
26	<b>24 PEA035</b>	25.04.2009	28.04.2009	01.05.2009	06.05.2009	Erzincan
27	<b>24 PEA038</b>	29.04.2009	02.05.2009	04.05.2009	07.05.2009	Erzincan
28	<b>24 PEA039</b>	27.04.2009	01.05.2009	04.05.2009	08.05.2009	Van
29	<b>24 PEA041</b>	28.04.2009	01.05.2009	06.05.2009	06.05.2009	Van
30	<b>24 PEA042</b>	29.04.2009	02.05.2009	07.05.2009	07.05.2009	Van
31	<b>24 PEA043</b>	27.04.2009	01.05.2009	08.05.2009	08.05.2009	Gümüşhane
32	<b>24 PEA044</b>	28.04.2009	01.05.2009	06.05.2009	06.05.2009	Gümüşhane
33	<b>24 PEA045</b>	29.04.2009	02.05.2009	07.05.2009	07.05.2009	Gümüşhane
34	<b>24 PEA046</b>	27.04.2009	01.05.2009	08.05.2009	08.05.2009	Erzurum
35	<b>24 PEA047</b>	28.04.2009	01.05.2009	06.05.2009	06.05.2009	Gümüşhane
36	<b>24 PEA048</b>	25.04.2009	28.04.2009	04.05.2009	04.05.2009	Gümüşhane
37	<b>24 PEA050</b>	28.04.2009	01.05.2009	06.05.2009	06.05.2009	Erzurum
38	<b>24 PEA053</b>	28.04.2009	01.05.2009	06.05.2009	06.05.2009	Erzurum



39	<b>24 PEA054</b>	29.04.2009	02.05.2009	07.05.2009	07.05.2009	Erzurum
40	<b>24 PEA055</b>	25.04.2009	28.04.2009	04.05.2009	04.05.2009	Erzurum
41	<b>24 PEA056</b>	25.04.2009	28.04.2009	04.05.2009	04.05.2009	Erzurum
42	<b>24 PEA057</b>	28.04.2009	01.05.2009	06.05.2009	06.05.2009	Erzurum
43	<b>24 PEA058</b>	29.04.2009	02.05.2009	07.05.2009	07.05.2009	Van
44	<b>24 PEA060</b>	28.04.2009	01.05.2009	06.05.2009	06.05.2009	Van
45	<b>24 PEA061</b>	25.04.2009	28.04.2009	04.05.2009	04.05.2009	Van
46	<b>24 PEA062</b>	25.04.2009	28.04.2009	04.05.2009	04.05.2009	Van
47	<b>174W (G)D.d'Angulume</b>	-	-	-	-	-
48	<b>Passe Crassane</b>	-	-	-	-	-
49	<b>Williams</b>	-	-	-	-	-
50	<b>William's Duchesse</b>	-	-	-	-	-

## 3.2. Yöntem

Tezde kullanılan yöntem;

1. DNA izolasyonu ve ölçümleri,
  2. PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR,
  3. Kapilleri elektroforez ve allel görüntülerinin alınması
  4. Genetik analizler
- olmak üzere dört aşamadan oluşmaktadır.

### 3.2.1. DNA izolasyonu ve ölçümleri

Araştırmada çalışılan 50 armut çeşidinin DNA izolasyonları Lefort vd (1998) yöntemine göre yapılırken, DNA kalite ve miktar ölçümleri amacı ile %1'lik agaroz jel ve Nanodrop ND-1000 spektrofotometre kullanılmıştır.

DNA izolasyon protokolü (Lefort vd 1998):

- Genç yaprak veya sürgün ucu sıvı azotla ezildi,
- 100mg alınarak 2 µl ependorf tüplere aktarıldı,
- Tüplerin üzerine 1 ml DNA ekstraksiyon solüsyonu(örnek başına 10 µl 2-Merkaptoethanol içerir) eklendi,
- 65°C'de ara sıra çalkalanarak 15 dk bekletildi,
- 0,5 ml kloroform/isoamil alkol (24:1) karışımı eklenerek, 30 dk buz üzerinde bekletildi,
- Oda sıcaklığında, 14.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi,
- Üst sıvı, temiz bir ependorf tüpe aktarıldı ve üzerine 0,8 ml isopropanol eklendi,
- Örnekler, 15-20 dk buz üzerinde tutularak 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi,
- Üst sıvı tekrar yeni bir ependorf tüpe aktarıldı,
- Pellet (alt katı) üzerine 1 ml % 70'lik ethanol eklenerek, 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi,

- DNA, 50–100 µl H<sub>2</sub>O’da çözüldü,
- Her 100 µl için 1 µl RNase-A(Applichem; 100mg/ml) eklenerek, 37°C’de 15 dk bekletilerek, RNA uzaklaştırıldı.

DNA ekstraksiyon solüsyonunun içeriği(50 ml için):

- 2 ml TRIS (50 mM, pH 8,0)
- 4 ml EDTA (50 mM, pH 8,0)
- 10 ml LiCl (4M)
- 1 g CTAB (% 1)
- 2 g PVP (% 2)
- 0,5 ml TWEEN 20 ( % 0,5)
- %0,2 β-Mercapto Ethanol

### 3.2.2. PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR

PCR reaksiyonu; 15–200 ng DNA, 5 pmol floresan işaretlemiş ileri (forward) primer, 5 pmol ters (revers) primer, 0.5 mM toplam dNTP, 0.5 ünite Go Taq DNA Polymerase (Promega, Madison, WI) (1,5 mM MgCl<sub>2</sub> içermekte), 3 µl buffer (5x buffer) olmak üzere 10 µl’de gerçekleştirilmiştir.

PCR reaksiyonu için kullanılan PCR programı:

1. 94 °C’ de 3 dk,
  2. 94 °C’ de 1 dk
  3. 55 – 60 °C’de 1 dk
  4. 72 °C’ de 2 dk
  5. 72 °C’ de 10 dk
- } 35 döngü

olacak şekilde uygulanmıştır.

PCR sonrası lokuslara ait PCR ürünleri %2’lik agaroz jelde kontrol edildikten sonra, amplifikasyonu gerçekleşmiş örneklerde kapilleri elektroforez aşaması gerçekleştirilmiştir.

SSR lokuslarına ait primerler:

Çalışmada armut genomundan geliştirilen NH0021a, BGT23b, NH004A, KA4B, KA14 (Yamamoto vd 2002a) lokusların yanı sıra elma genomundan geliştirilen CH01h01, CH01h10, CH01F02, CH02F06, CH02B10 (Gianfranceschi vd 1998; Liebhard vd 2002) lokusları olmak üzere toplam 10 SSR lokusu kullanılmıştır. Her lokusa ait forward primer, D4 (mavi), D3 (yeşil) ve D2 (siyah) (Proligo, Paris, Fransa) renklerde floresan işaretlenmiş olup primerlere ait baz dizileri, kullanılan floresan boya ve Tm değerleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. SSR lokuslarına ait primerlerin baz dizileri, işaretleme boyası ve PCR Tm değerleri

	<b>Lokus adı</b>	<b>Primer dizileri(5'-3')</b>	<b>İşaretleme boyası</b>	<b>Tm(°C)</b>
1	NH0021a (F)**	atctcaattttctcggaacca	YEŞİL	55
	NH0021a (R)	ctgatatctctctgcactcct		
2	CH01h10 (F)**	tgcaaagataggtagatatgccca	MAVİ	60
	CH01h10 (R)	aggagggattgttgacac		
3	CH01h01 (F)**	gaaagacttgcagtgggagc	YEŞİL	60
	CH01h01 (R)	ggagtgggttgagaaggtt		
4	CH01f02 (F)**	accacattagagcagttgagg	SİYAH	60
	CH01f02 (R)	ctggttgtttctccagc		
5	NH004a (F)**	aggatgggacgagtttagag	MAVİ	55-58
	NH004a (R)	ccacatctcaacctacca		
6	CH02f06 (F)**	ccctcttcagacctgcatatg	YEŞİL	63
	CH02f06 (R)	actgttccaagcgatcagg		
7	KA4b (F)**	aaaggtctctctcactgtct	SİYAH	60
	KA4b (R)	cctcagcccaactcaaagcc		
8	KA14 (F)**	tcattgtagcattttatttt	YEŞİL	55
	KA14 (R)	atggcaaggagattattag		
9	BGT23b (F)**	cacattcaaagattaagat	SİYAH	50
	BGT23b (R)	actcagcctttttccac		
10	CH02b10 (F)**	caaggaaatcatcaaagattcaag	MAVİ	55
	CH02b10 (R)	caagtggcttcggatagttg		

\*\* : Floresan işaretli

### 3.2.3. Kapilleri elektroforez ve allel görüntülerinin alınması

Tezde kullanılan genotiplere ait fragment analizleri, Beckman CEQ™ 8800 Genetik Analiz Sisteminde gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri işaretlemeye kullanılan floresan (Prologo, WellRED işaretli primerler, Fransa) boyalara göre değişik oranlarda (1:5, 1:10 gibi) 20 µl SLS (Sample Loading Solution) ile seyreltilmiştir. Üzerlerine 0,2–0,4 µl size standart–400 eklendikten sonra Beckman CEQ™ 8800 Genetik Analiz Sistemi'nde elektroforez edilmiştir. Daha sonra her bir lokusa ait pikler; tipleri ve renkleri göz önüne alınarak heterozigot ve homozigot olarak görüntülenmiştir. Verilerin doğruluğundan emin olmak için reaksiyonlar en az iki kez tekrar edilmiştir.

### 3.2.4. Genetik analizler

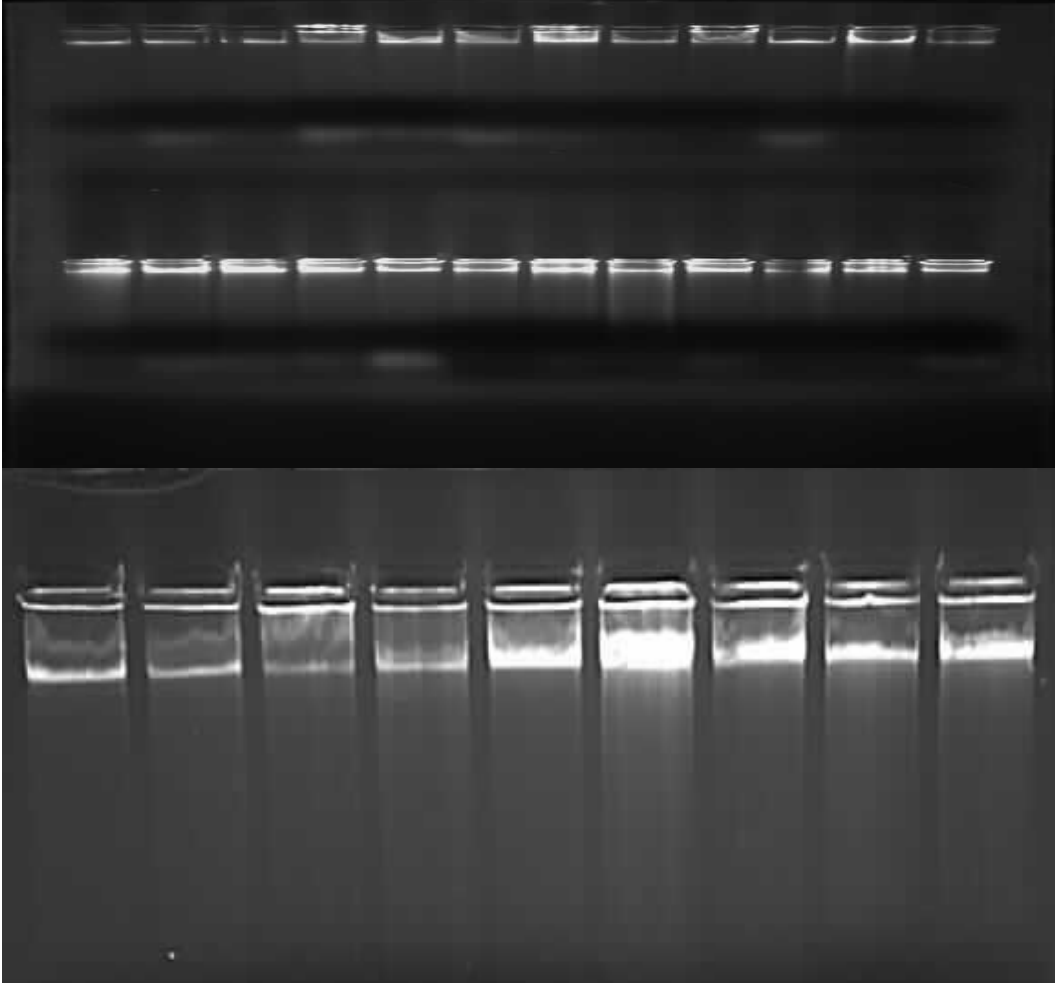
Araştırmadaki 4 referans çeşit dahil toplam 50 genotipin genetik analizleri IDENTITY 1.0 (Wagner and Sefc 1999) adlı yazılım programı ile her bir lokustaki allellerin sayısı (n), allel frekansı, beklenen heterozigotluk ( $H_e$ ) ve gözlenen heterozigotluk ( $H_o$ ), null allellerin frekansı (r), tanımlama olasılığı (PI, Probability of Identity) değerleri (Paetkau vd 1995) tarafından belirtildiği şekilde tespit edilmiştir.

Paylaşılan allellerin oranı,  $ps$ 'nın ( $1-(ps)$ ) opsiyonu kullanılarak Bowcock vd'de (1994) belirtildiği gibi genetik benzersizlik (dissimilarity) Microsat (versiyon 1.5) (Minch vd 1995) programı ile hesaplanıp, bu veriler Excel'de benzerlik (similarity) matrisine dönüştürülmüştür. Dendogram ise (UPGMA: Unweighted Pair-Group Method of the Arithmetic Average) Sneath and Sokal'e (1973) bağlı NTSYS-pc (Numerical Taxonomy System) software 2.02g versiyonu kullanılarak oluşturulmuştur.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. DNA İzolasyonu ve Ölçümleri

Araştırmada kullanılan çeşitlere ait bazı DNA'ların, agaroz jel görüntüleri Şekil 4.1.'de, spektrofotometrik değerleri ise Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.



Şekil 4.1. Araştırmada kullanılan bazı çeşitlere ait DNA'ların, agaroz jel (%1) görüntüleri

Çizelge 4.1. Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların spektrofotometrik değerleri

Çeşit No	Çeşidin gen bankası kodu/adı	ng/ul	A260	A280	260/280
1	24 PEA001	1352,19	27,044	14,755	1,83
		1350,34	27,007	14,639	1,84
		1354,88	27,098	14,788	1,83
2	24 PEA002	1475,41	29,508	15,513	1,9
		1486,35	29,727	15,693	1,89
		1487,65	29,753	15,676	1,9
3	24 PEA003	2299,95	45,999	24,215	1,9
		2303,08	46,062	24,068	1,91
		2292,67	45,853	23,999	1,91
4	24 PEA004	4433,91	88,678	48,472	1,83
		4434,68	88,694	48,498	1,83
		4454,29	89,086	48,871	1,82
5	24 PEA005	2256,88	45,138	24,516	1,84
		2228,72	44,574	23,699	1,88
		2218,68	44,374	23,243	1,91
6	24 PEA006	4152,25	83,045	44,734	1,86
		4145,55	82,911	44,418	1,87
		4172,6	83,452	44,974	1,86
7	24 PEA008	2468,84	49,377	25,959	1,9
		2455,81	49,116	25,661	1,91
		2474,93	49,499	25,88	1,91
8	24 PEA009	2356,14	47,123	26,16	1,8
		2260,1	45,202	24,228	1,87
		2245,53	44,911	23,689	1,9
9	24 PEA010	2377,09	47,542	27,038	1,76
		2542,4	50,848	29,587	1,72
		2153,88	43,078	23,477	1,83
10	24 PEA012	3461,79	69,236	37,761	1,83
		3486,03	69,721	37,787	1,85
		3496,05	69,921	37,664	1,86



11	<b>24 PEA013</b>	1999,68	39,994	22,558	1,77
		2008,99	40,18	22,292	1,8
		2086,74	41,735	23,767	1,76
12	<b>24 PEA016</b>	5063,89	101,278	59,063	1,71
		5107,1	102,142	59,291	1,72
		5102,55	102,051	59,248	1,72
13	<b>24 PEA017</b>	2331,52	46,63	25,32	1,84
		2337,2	46,744	25,459	1,84
		2349,6	46,992	25,596	1,84
14	<b>24 PEA018</b>	1200,92	24,018	13,109	1,83
		1200,49	24,01	13,1	1,83
		1207,96	24,159	13,176	1,83
15	<b>24 PEA019</b>	1307,24	26,145	14,053	1,86
		1297,19	25,944	13,912	1,86
		1285,99	25,72	13,841	1,86
16	<b>24 PEA020</b>	3168,49	63,37	34,022	1,86
		3194,81	63,896	33,913	1,88
		3209,08	64,182	34,271	1,87
17	<b>24 PEA021</b>	2152,75	43,055	24,19	1,78
		2032,77	40,655	22,434	1,81
		2080,57	41,611	23,203	1,79
18	<b>24 PEA022</b>	1780,33	35,607	19,037	1,87
		1807,77	36,155	19,367	1,87
		1802,07	36,041	19,287	1,87
19	<b>24 PEA023</b>	2300,32	46,006	24,276	1,9
		2310,59	46,212	24,328	1,9
		2324,9	46,498	24,499	1,9
20	<b>24 PEA026</b>	2397,04	47,941	25,117	1,91
		2413,22	48,264	25,428	1,9
		2407,43	48,149	25,24	1,91
21	<b>24 PEA027</b>	2770,34	55,407	29,514	1,88
		2758,28	55,166	29,436	1,87
		2753,17	55,063	29,194	1,89

22	<b>24 PEA028</b>	1083,22	21,664	11,215	1,93
		1072,14	21,443	11,113	1,93
		1071,85	21,437	11,162	1,92
23	<b>24 PEA029</b>	2690,03	53,801	27,297	1,97
		2720,31	54,406	27,645	1,97
		2661,02	53,22	26,898	1,98
24	<b>24 PEA033</b>	3547,85	70,957	36,028	1,97
		3597,38	71,948	36,718	1,96
		3587,53	71,751	36,403	1,97
25	<b>24 PEA034</b>	1023,37	20,467	10,816	1,89
		992,62	19,852	10,429	1,9
		1009,08	20,182	10,618	1,9
26	<b>24 PEA035</b>	1092,25	21,845	10,935	2
		1070,92	21,418	10,649	2,01
		1068,03	21,361	10,674	2
27	<b>24 PEA038</b>	2534,85	50,697	25,571	1,98
		2475,57	49,511	24,944	1,98
		2340,29	46,806	23,559	1,99
28	<b>24 PEA039</b>	1095,78	21,916	10,893	2,01
		1061,06	21,221	10,569	2,01
		1117,62	22,352	11,12	2,01
29	<b>24 PEA041</b>	3518,59	70,372	35,424	1,99
		3459,79	69,196	34,897	1,98
		3477,82	69,556	35,028	1,99
30	<b>24 PEA042</b>	1517,64	30,353	14,812	2,05
		1523,42	30,468	14,854	2,05
		1520,45	30,409	14,823	2,05
31	<b>24 PEA043</b>	1932,59	38,652	19,197	2,01
		1978,42	39,568	19,651	2,01
		1958,91	39,178	19,506	2,01
32	<b>24 PEA044</b>	1798,74	35,975	17,832	2,02
		1803,51	36,07	17,836	2,02
		1804,43	36,089	17,889	2,02

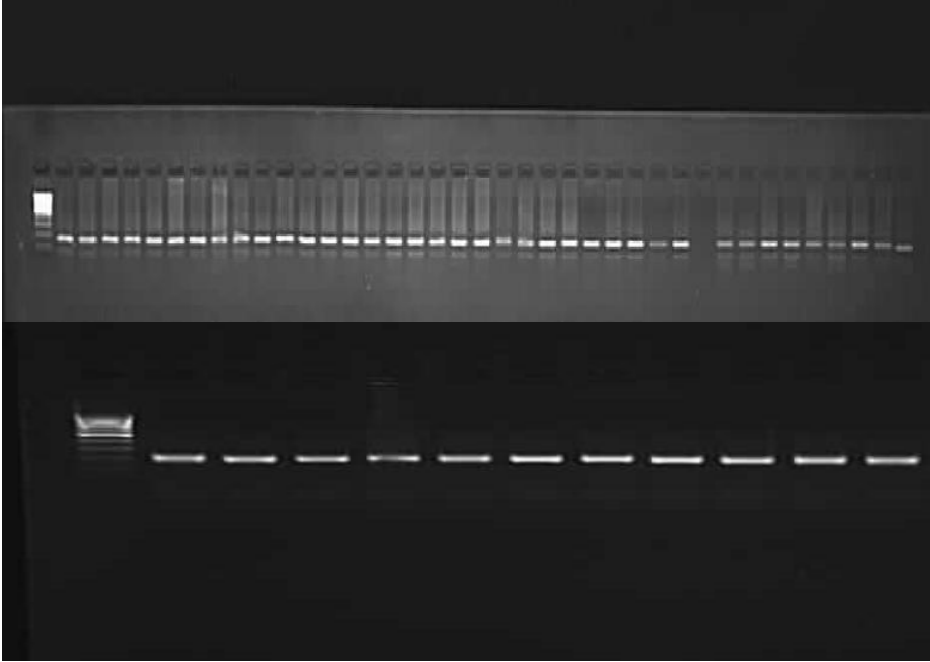
33	<b>24 PEA045</b>	1103,54	22,071	11,258	1,96
		1141,01	22,82	11,733	1,94
		1119,08	22,382	11,477	1,95
34	<b>24 PEA046</b>	1029,5	20,59	10,572	1,95
		1070,34	21,407	10,969	1,95
		1077,96	21,559	11,017	1,96
35	<b>24 PEA047</b>	1203,56	24,071	12,668	1,9
		1210,51	24,21	12,719	1,9
		1214,29	24,286	12,777	1,9
36	<b>24 PEA048</b>	1332,33	26,647	13,954	1,91
		1258,2	25,164	13,176	1,91
		1405,4	28,108	15,115	1,86
37	<b>24 PEA050</b>	2052,34	41,047	22,66	1,81
		2056,27	41,125	22,719	1,81
		2078,21	41,564	22,959	1,81
38	<b>24 PEA053</b>	1879,35	37,587	20,151	1,87
		1904,48	38,09	20,447	1,86
		1923,01	38,46	20,623	1,86
39	<b>24 PEA054</b>	2061,8	41,236	20,576	2
		2108,52	42,17	20,942	2,01
		2080,51	41,61	20,773	2
40	<b>24 PEA055</b>	1712,17	34,243	17,166	1,99
		1687,86	33,757	16,88	2
		1688,78	33,776	16,923	2
41	<b>24 PEA056</b>	1174,74	23,495	11,859	1,98
		1183,59	23,672	11,903	1,99
		1189,27	23,785	11,958	1,99
42	<b>24 PEA057</b>	1082,25	21,645	11,18	1,94
		1073,42	21,468	10,979	1,96
		1043,37	20,867	10,725	1,95
43	<b>24 PEA058</b>	1527,73	30,555	15,712	1,94
		1561,97	31,239	16,113	1,94
		1517,11	30,342	15,624	1,94

44	<b>24 PEA060</b>	1803,91	36,078	18,497	1,95
		332,94	6,659	3,737	1,78
		1848,91	36,978	18,973	1,95
45	<b>24 PEA061</b>	1365,24	27,305	13,985	1,95
		1341,66	26,833	13,75	1,95
		1361,89	27,238	13,889	1,96
46	<b>24 PEA062</b>	1430,94	28,619	14,805	1,93
		1372,86	27,457	14,238	1,93
		1336,29	26,726	13,948	1,92
47	<b>174W (G)D.d'Angulume</b>	2154,14	43,083	23,147	1,86
		2127,21	42,544	22,875	1,86
		2153,97	43,079	23,146	1,86
48	<b>Passa Crassana</b>	2364,78	47,296	25,477	1,86
		2420,14	48,403	26,067	1,86
		2350,96	47,019	25,248	1,86
49	<b>Williams</b>	1276,19	25,524	14,252	1,79
		1267,78	25,356	14,196	1,79
		1337,7	26,754	14,833	1,8
50	<b>Williams Duchesse</b>	1305,68	26,114	13,512	1,93
		1259,16	25,183	13,076	1,93
		1278,77	25,575	13,259	1,93

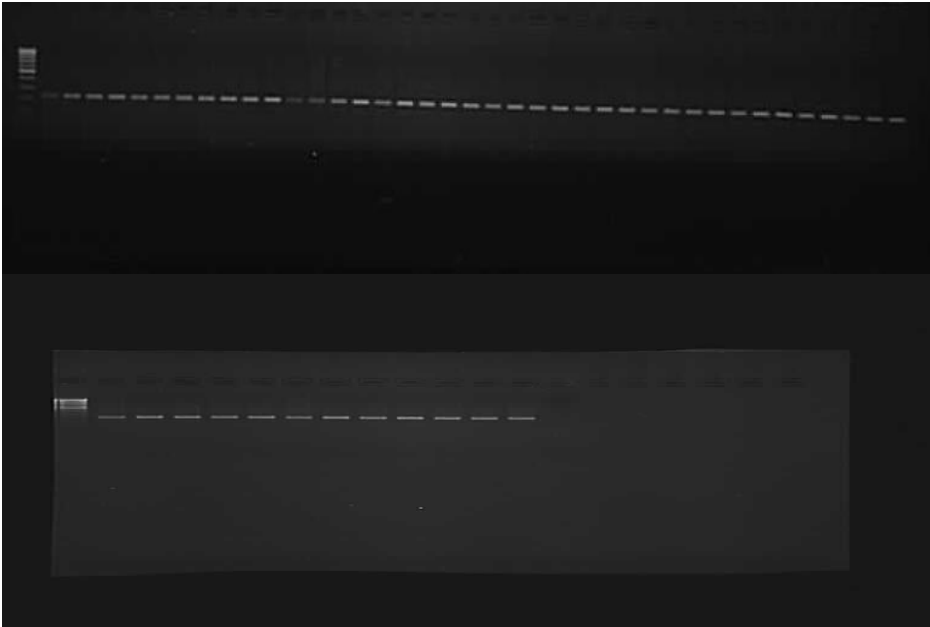
SSR amaçlı kullanılan nükleik asitlerde; saflık (A260/A280) oranının yaklaşık 1.8–2.0 olması gerekmektedir (Çizelge 4.1.). Araştırmada kullanılan DNA saflık oranları genel olarak bu sınırlar içerisinde yer alırken, jel görüntülerinde kırksız (smear) bir bant görüntüsü kaliteli DNA izolasyonunun göstergesidir (Şekil 4.1).

## 4.2. SSR Lokuslarının PCR Reaksiyonu ve Allel Görüntülerinin Alınması

Bazı SSR lokuslarına ait PCR sonrası örnek jel görüntüleri 4.2. ve 4.3.'de verilmiştir.

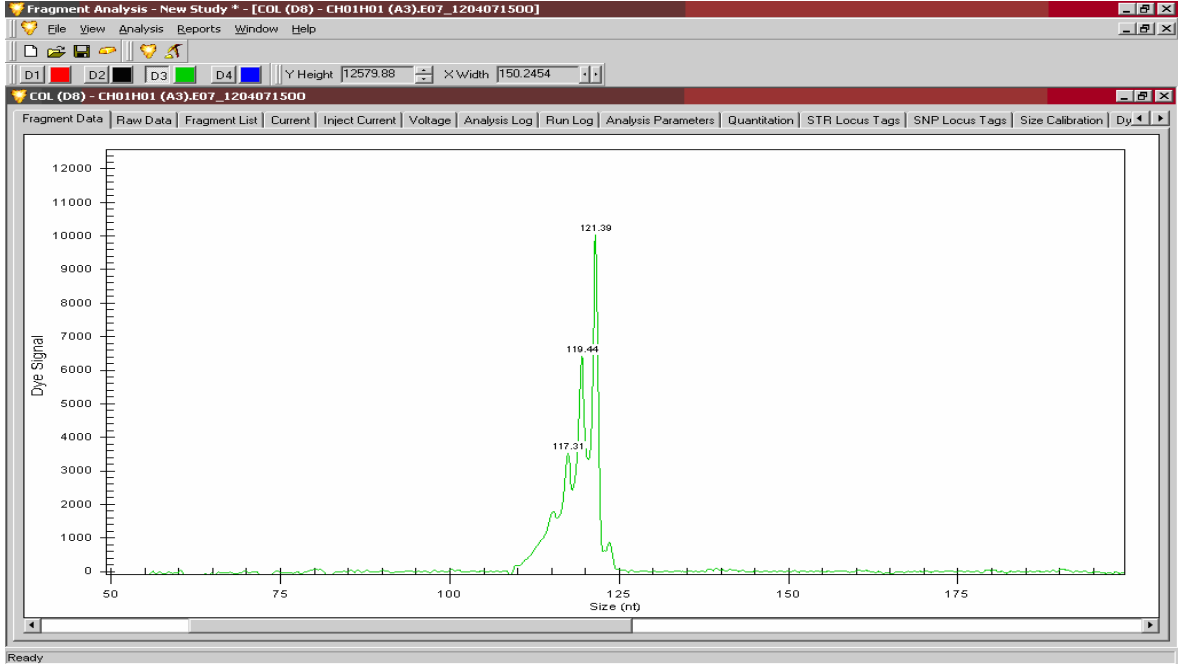


Şekil 4.2. CH02b10 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü

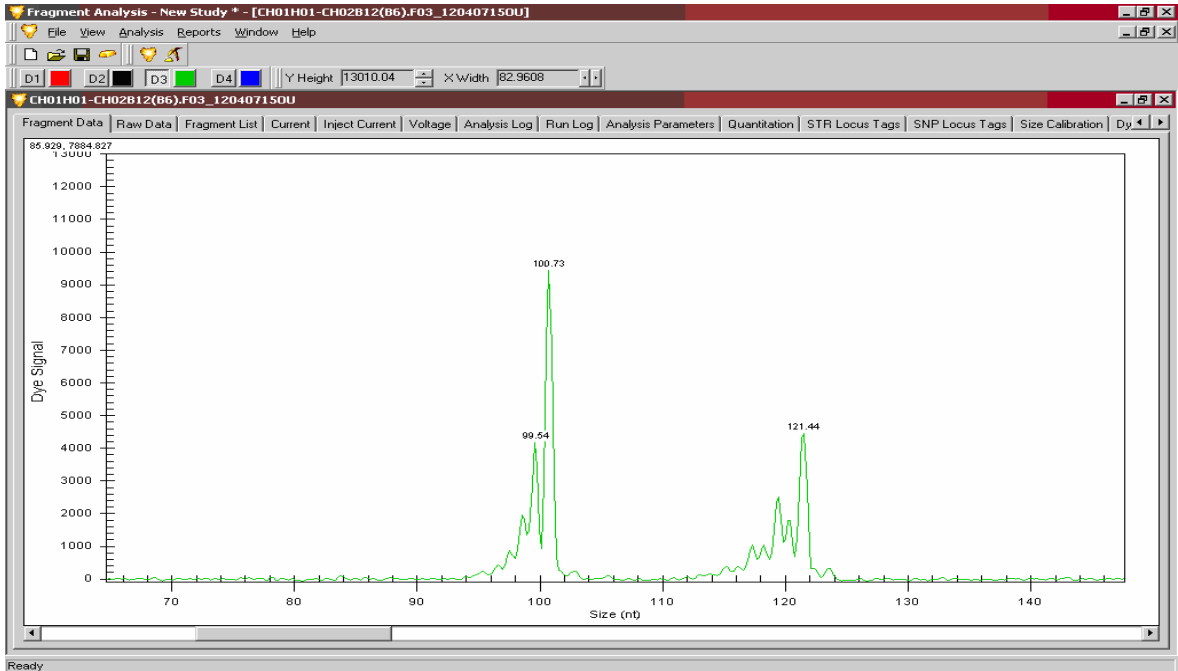


Şekil 4.3. KA4b lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü

Her lokustaki allel büyüklükleri pik verisi olarak sistemin fragment analiz programı ile belirlenmiştir. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki farklı görünüşleri Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.te sunulmuştur.



Şekil 4.4. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki homozygot allel görünümüleri



Şekil 4.5. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki heterozygot allel görünümüleri

### **4.3. Genetik Analizler**

Araştırmada 10 SSR lokusu ait allel büyüklükleri baz çifti (bp, basepair) olarak izelge 4.2.de sunulmuştur. Ayrıca ‘Duchesse d’Angouleme 174W’, ‘Passe Crassane’, ‘Williams’ ve ‘William’s Duchesse’ eşitleri de referans çeşit olarak rneklele beraber analiz edilmiştir.

Çizelge 4.2. Erzincan - BKAİ armut çeşitleri ve çeşitlerin 10 lokustaki allel verileri (bç)

Çeşit No	Çeşidin gen bankası kodu/adı	NH0021a	CH01h10	CH01h01	CH01f02	NH004A	CH02f06	KA4b	KA14	BGT23b	CH02b10
1	24 PEA 001	153:159	101:103	102:120	160:178	98:102	174:174	95:113	185:187	212:226	128:128
2	24 PEA 002	155:159	95:103	100:120	160:164	88:88	154:164	105:105	179:185	190:198	122:132
3	24 PEA 003	155:169	105:105	100:104	160:164	86:86	154:164	95:95	185:187	198:212	132:142
4	24 PEA 004	153:153	105:105	100:128	156:156	94:98	194:194	95:105	185:189	206:206	122:122
5	24 PEA 005	153:153	103:103	102:128	176:176	90:98	174:192	105:105	185:189	210:210	122:130
6	24 PEA 006	153:161	103:105	104:116	156:178	86:86	154:194	95:95	177:189	196:210	130:136
7	24 PEA 008	145:161	87:109	100:120	160:172	86:102	174:174	95:105	185:187	190:190	122:122
8	24 PEA 009	153:153	105:107	100:104	156:170	88:100	154:176	96:105	177:185	194:194	122:128
9	24 PEA 010	145:161	115:119	100:116	160:178	78:104	154:174	105:105	179:185	170:212	122:122
10	24 PEA 012	137:155	99:103	100:102	156:164	86:88	176:192	109:105	177:185	198:198	122:122
11	24 PEA 013	153:153	103:115	100:100	178:178	88:88	154:194	105:105	185:185	184:190	130:144
12	24 PEA 016	159:167	103:103	100:120	178:178	88:88	154:168	95:105	185:187	216:216	132:132
13	24 PEA 017	145:161	107:115	96:116	166:174	94:104	174:202	95:109	179:187	188:190	132:136
14	24 PEA 018	153:161	103:115	120:120	156:160	88:100	164:194	95:105	177:179	206:206	122:122
15	24 PEA 019	159:159	89:103	100:102	166:178	88:104	154:164	105:105	185:185	198:206	130:130
16	24 PEA 020	151:155	87:97	100:100	160:176	88:96	154:174	109:109	183:185	188:188	122:130
17	24 PEA 021	155:167	103:103	102:120	156:170	94:98	194:202	105:105	177:187	196:210	132:132
18	24 PEA 022	155:161	103:105	100:100	160:164	78:86	174:184	105:105	185:185	214:214	122:122
19	24 PEA 023	159:159	101:119	100:100	156:160	78:104	154:174	105:105	185:187	170:228	122:136
20	24 PEA 026	159:159	103:109	102:116	160:166	96:98	164:204	95:109	185:187	188:192	128:128



21	24 PEA 027	145:161	115:119	100:116	160:170	78:104	154:174	105:105	179:185	170:212	122:122
22	24 PEA 028	147:151	101:105	100:108	156:176	88:104	154:176	105:105	179:185	198:212	122:130
23	24 PEA 029	147:163	101:105	100:100	156:190	84:102	174:174	105:105	183:187	216:216	130:130
24	24 PEA 033	159:159	103:119	100:100	156:190	88:88	154:174	109:109	185:185	186:204	132:132
25	24 PEA 034	155:161	95:103	100:102	172:180	84:88	154:174	105:105	185:185	196:196	122:130
26	24 PEA 035	145:161	115:119	100:116	178:178	78:86	154:192	105:105	179:185	212:212	124:124
27	24 PEA 038	141:165	97:97	100:100	160:178	88:88	174:174	105:105	185:187	190:208	122:124
28	24 PEA 039	159:163	103:103	100:104	178:178	94:94	174:194	105:137	177:187	192:202	122:122
29	24 PEA 041	153:159	95:95	100:102	160:178	104:104	172:172	105:105	185:187	198:214	122:122
30	24 PEA 042	151:165	99:113	102:112	172:176	86:100	172:176	105:105	185:187	194:206	136:140
31	24 PEA 043	147:151	101:105	100:108	156:176	88:104	154:176	105:105	179:185	198:216	122:130
32	24 PEA 044	153:159	103:103	102:122	166:178	98:98	154:176	95:105	185:185	184:212	128:128
33	24 PEA 045	159:163	103:103	100:100	170:178	88:98	194:202	95:95	185:185	192:210	132:132
34	24 PEA 046	153:159	95:103	100:120	160:160	100:100	174:174	95:109	185:185	190:210	122:122
35	24 PEA 047	137:161	99:99	100:106	160:164	78:84	192:202	95:95	177:185	196:212	128:132
36	24 PEA 048	141:165	99:99	100:100	160:178	88:88	174:174	105:105	185:187	190:208	122:124
37	24 PEA 050	153:159	95:95	100:102	160:178	104:104	172:172	105:105	185:187	214:214	122:122
38	24 PEA 053	155:159	95:103	100:120	160:164	88:88	154:164	105:105	179:185	190:198	122:132
39	24 PEA 054	147:151	101:105	100:108	156:176	88:104	154:176	105:105	179:185	198:212	122:130
40	24 PEA 055	145:171	105:115	100:116	156:164	88:90	154:174	105:105	179:185	226:226	136:136
41	24 PEA 056	153:159	103:103	102:102	160:196	88:102	202:202	95:105	187:187	190:201	122:122
42	24 PEA 057	153:159	103:103	100:102	160:180	94:98	174:194	95:109	185:189	210:210	122:122
43	24 PEA 058	145:159	95:115	108:116	160:174	104:104	174:174	95:109	179:187	188:226	132:122
44	24 PEA 060	145:159	95:115	108:116	160:174	104:104	174:174	95:109	179:187	188:226	132:132
45	24 PEA 061	153:153	103:103	102:128	176:176	90:98	176:192	105:105	185:189	210:210	122:122

46	24 PEA 062	159:159	107:109	100:100	164:180	88:88	154:174	105:105	185:189	188:188	122:130
47	<b>174W (G)D.d'Angulume</b>	<b>137:161</b>	<b>103:115</b>	<b>100:102</b>	<b>162:172</b>	<b>88:94</b>	<b>164:190</b>	<b>95:95</b>	<b>177:185</b>	<b>206:206</b>	<b>120:120</b>
48	<b>Passe Crassane</b>	<b>145:161</b>	<b>105:105</b>	<b>100:112</b>	<b>166:174</b>	<b>88:88</b>	<b>158:190</b>	<b>81:95</b>	<b>179:187</b>	<b>196:212</b>	<b>132:132</b>
49	<b>Williams</b>	<b>137:161</b>	<b>103:103</b>	<b>100:102</b>	<b>160:174</b>	<b>88:94</b>	<b>174:190</b>	<b>95:95</b>	<b>177:185</b>	<b>206:206</b>	<b>120:120</b>
50	<b>William's Duchesse</b>	<b>137:161</b>	<b>103:105</b>	<b>100:100</b>	<b>160:170</b>	<b>88:94</b>	<b>164:194</b>	<b>95:95</b>	<b>177:185</b>	<b>206:206</b>	<b>120:126</b>

SSR lokuslarındaki genetik parametreler; allel sayıları, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranları, tespit olasılığı değeri ve sessiz (null) allel frekansı Çizelge 4.3.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Doğu Anadolu armut çeşitlerine ait genetik parametreler (allel sayısı (n), beklenen (He) ve gözlenen (Ho) heterozigotluk, lokusların tanımlama olasılığı (PI: Probability of Identity), null allellerin frekansı (r) ve tri-allel büyüklüğü)

Lokus	n	He	Ho	PI	r	Tri-Alleller (Allel büyüklüğü(Çeşit no))
NH0021a	14	0.862	0.800	0.059	0.033	159 (37), 161 (38), 163 (16, 22, 31, 39), 169 (30), 171 (35)
CH01h10	13	0.822	0.640	0.079	0.099	115 (15, 16), 123(11)
CH01h01	11	0.718	0.740	0.154	-0.012	116 (22, 31, 39)
CH01f02	13	0.860	0.840	0.061	0.010	170 (14, 20), 176 (3), 178 (21), 190 (13, 16, 43,44)
NH004a	11	0.829	0.640	0.078	0.103	88 (35)
CH02f06	13	0.833	0.760	0.080	0.039	174 (3), 192 (30), 198 (16)
KA4b	6	0.578	0.340	0.371	0.151	113 (34)
KA14	6	0.696	0.820	0.204	-0.073	-
BGT23b	19	0.921	0.600	0.022	0.167	212 (20)
CH02b10	11	0.759	0.420	0.133	0.193	-
Toplam	117	7.88	6.6	1.24		
Ortalama	11.7	0.788	0.66	0.124		

On lokus itibari ile genetik parametreler değerlendirildiğinde; en yüksek allel sayısına 19 allel ile BGT23b, en düşük allel sayısına 6 allel ile KA14 ve KA4b lokuslarında görülmüştür. Diğer lokuslardaki allel sayıları 11–13 arasında değişmiştir. Ortalama beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho) değeri sırası ile; 0.788 ve 0.66 bulunurken, genel olarak lokuslar itibari ile değer aralıkları He için; 0.578- 0.862, Ho için; 0.340–0.820 olarak tespit edilmiştir. Tanımlama olasılığı (pI) değerleri; BGT23b lokusu için 0,022, KA4b lokusu için 0,371 olarak bulunurken, null allel değerleri genel

olarak negatif ve sıfıra yakın tespit edilmiştir. Her bir lokusa ait allel sayılarının oranlarını gösteren frekans değerleri Çizelge 4.4.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Allel Frekansları

No	NH0021a	Allel Frekansı	CH01h10	Allel Frekansı	CH01h01	Allel Frekansı	KA4b	Allel Frekansı
1	137	0.05	87	0.02	96	0.01	81	0.01
2	141	0.02	89	0.01	100	0.48	95	0.29
3	145	0.09	95	0.10	102	0.17	105	0.57
4	147	0.04	97	0.03	104	0.04	109	0.11
5	151	0.05	99	0.06	106	0.01	113	0.01
6	153	0.19	101	0.06	108	0.05	137	0.01
7	155	0.08	103	0.35	112	0.02		
8	159	0.24	105	0.15	116	0.09		
9	161	0.14	107	0.03	120	0.09		
10	163	0.03	109	0.03	122	0.01		
11	165	0.03	113	0.01	128	0.03		
12	167	0.02	115	0.10				
13	169	0.01	119	0.05				
14	171	0.01						

Çizelge 4.4. (devam)

No	CH01f02	Allel Frekansı	NH0021a	Allel Frekansı	NH004a	Allel Frekansı
1	156	0.14	137	0.05	78	0.06
2	160	0.25	141	0.02	84	0.03
3	162	0.01	145	0.09	86	0.09
4	164	0.08	147	0.04	88	0.33
5	166	0.05	151	0.05	90	0.03
6	170	0.05	153	0.19	94	0.09
7	172	0.04	155	0.08	96	0.02
8	174	0.05	159	0.24	98	0.10
9	176	0.09	161	0.14	100	0.05
10	178	0.18	163	0.03	102	0.04
11	180	0.03	165	0.03	104	0.16
12	190	0.02	167	0.02		
13	196	0.01	169	0.01		
14			171	0.01		

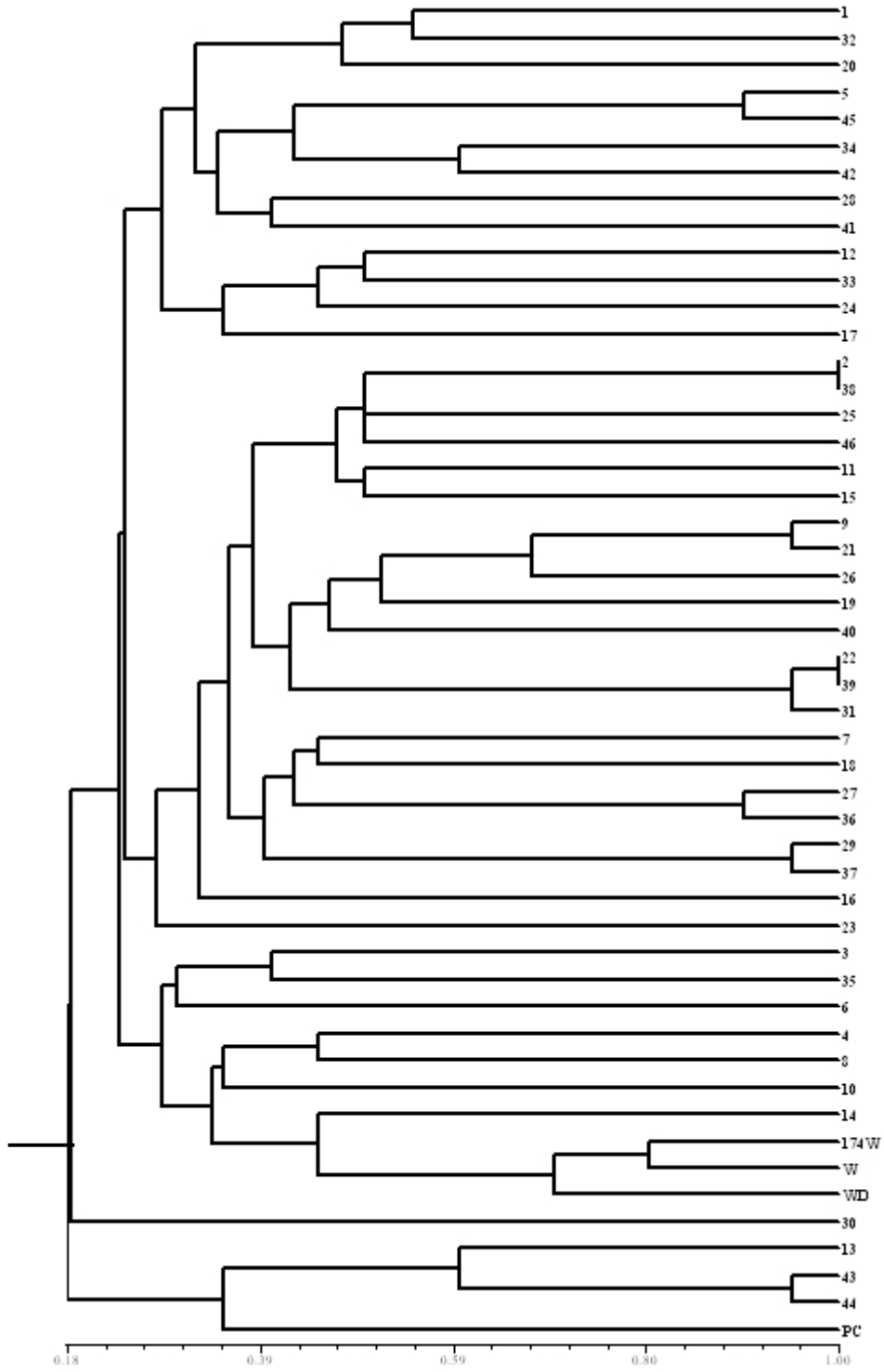
Çizelge 4.4. (devam)

No	CH02f06	Allel Frekansı	KA14	Allel Frekansı	BGT23b	Allel Frekansı	CH02b10	Allel Frekansı
1	154	0.21	177	0.10	170	0.03	120	0.05
2	158	0.01	179	0.14	184	0.02	122	0.42
3	164	0.08	183	0.02	186	0.01	124	0.04
4	168	0.01	185	0.48	188	0.08	126	0.01
5	172	0.05	187	0.20	190	0.10	128	0.08
6	174	0.30	189	0.06	192	0.03	130	0.13
7	176	0.08			194	0.03	132	0.18
8	184	0.01			196	0.06	136	0.06
9	190	0.03			198	0.10	140	0.01
10	192	0.05			202	0.02	142	0.01
11	194	0.21			204	0.01	144	0.01
12	202	0.06			206	0.12		
13	204	0.01			208	0.02		
14					210	0.10		
15					212	0.11		
16					214	0.05		
17					216	0.05		
18					226	0.05		
19					228	0.01		

Lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı veren lokuslardan bazıları NH0021a'da: 159, CH01h10'da: 103, CH01h01'de: 100, KA4b'de; 105, CH01f02'de: 160, NH004a'da; 88, CH02f06'da; 174, KA14'te: 185, BT23b'de; 206, CH02b10'da 122 olarak tespit edilmiştir.



#### 4.5. Genetik İlişki Dendogramı



Şekil 4.6. Çeşitlere ait genetik ilişki dendogramı

Çeşitlerde en yüksek benzerlik oranı; %100 ile 2-38, 22-39 genotiplerinde görülürken; % 95 benzerlik oranı 9-21, 22-31, 29-37, 31-39 genotiplerinde ve %90 benzerlik oranı 5-45, 27-36 genotipleri arasında görülmüştür (Çizelge 4.5.).

Genetik ilişki dendogramı (Şekil 4.6) 2 ayrı dallanma göstermiştir. Çalışmada kullanılan Duchesse d'Angoulume 174W (174W), Wiliams (W), Wiliams Duchesse (WD) referans çeşitleri kendi aralarında dallanma gösterirken, Passe Crassane (PC) bu referans çeşitlerinden ayrı bir dallanma göstermiştir.



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

### 5.1. SSR Analizleri

Doğu Anadolu bölgesine ait 46 genotip ve 4 referans çeşit dahil olmak üzere 50 genotipte yürütülen bu çalışmada, elma ve armut genomundan geliştirilen toplam 10 SSR lokusu kullanılmıştır. 10 SSR lokusuna ait allel sayısı toplamda 117 olup, allel ortalaması 11.7'dir. En yüksek allel sayısına 19 allel ile BGT23b ve en düşük allel sayısına 6 allel ile KA14 ve KA4b lokuslarında rastlanmıştır. Elde edilen bu değerler farklı araştırmacıların yaptığı araştırmalarla da benzerlik göstermiştir (Yamamoto vd 2001, Kimura vd 2002, Katayama vd 2007).

Araştırmada kullanılan referans çeşitlerden; 'Williams', CH01f02, CH01h01 ve CH01H10 lokuslarındaki allel büyüklükleri sırasıyla 160:174, 100:102 ve 103 bp olarak bulunmuş ve Yamamoto vd'nin (2001) elde ettiği allel büyüklükleri ile benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.2.). Çalışmada kullanılan referans çeşitlerinden 'Duchesse d'Angouleme 174W' ve 'Williams' arasında yüksek benzerlik olduğu gözlemlenirken 'Williams' ve 'William's Duchesse' arasındaki benzerliğin düşük olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmada ortalama beklenen heterozigotluk ( $H_e$ ) ve gözlenen heterozigotluk ( $H_o$ ) değerleri incelendiğinde sırası ile 0.788 ve 0.66 bulunmuştur. CH01h01, KA14 lokuslarında gözlenen heterozigotluk beklenen heterozigotluktan yüksek bulunmakla beraber CH01h10, NH0021a, NH004a, CH02f06, KA4b, BGT23b, CH01f02, CH02b10 lokuslarında beklenen heterozigotluk gözlenen heterozigotluktan yüksek bulunmuştur. Bazı SSR lokuslarında bulunan yüksek  $H_e$  değerleri önceki çalışmalarda da görülmüştür (Bao vd 2007).

Çalışmada  $H_e$  değerlerinin ve allel sayılarının yüksek olduğu lokuslarda tanımlama olasılığı ( $pI$ ) değerleri düşük bulunmuştur. Elde edilen  $pI$  değerleri; BGT23b lokusu için 0,022 ve KA4b lokusu için 0,371 arasında değişmektedir. Bu sonuçlar Brini vd'nin (2008)

Tunus armut çeşitlerinin genetik karakterizasyonuna dair yapılan çalışmadaki veriler ile benzerlik göstermiştir.

Her bir allele ait allel frekansı dağılımları önemli diğer parametrelerden biridir. Lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı veren lokuslardan bazıları NH0021a lokusunda 0.24 allel frekansı ile 159 alleli, CH01h10 lokusunda 0.35 allel frekansı ile 103 alleli, CH01f02 lokusunda 0.25 allel frekansı ile 160 alleli, KA14 lokusunda 0.48 allel frekansı ile 185 allelidir. En düşük allel frekansına ise CH02b10 lokusunda 0.01, 0.01, 0.01 ve 0.01 allel frekanslarıyla 126, 140, 142 ve 144 allellerinde, BGT23b lokusunda 0.01, 0.01 ve 0.01 allel frekansları ile 186, 204 ve 228 allellerinde rastlanmıştır.

Tez konusu armut genomlarının bazılarında tri-allel lokuslar da tespit edilmiştir. Üzüm genomlarında yapılan bir çalışmada, tri-allel lokusların kimerizmden kaynaklandığı saptanmıştır (Hocquigny vd 2004). Meristem hücre tabakalarındaki somatik mutasyon sonucu oluşan kimeralar, bitkinin klon ve çeşitliliğini artırmaktadır. Çalışmada KA14 ve CH02b10 lokusları haricindeki diğer lokuslarda tri-allel gözlenmiştir. CH01f02, CH01h10, CH01h01, BGT23b lokuslarındaki tri-alleller Bao vd (2007), Brini vd (2008) ve Wunsch and Hormaza'nın (2007) çalışmalarında; KA4b ve NH004a lokuslarındaki tri-alleller Yamamoto vd'nin (2004) çalışmalarında da bulunmuştur. Çalışma sonuçlarımızın uluslar arası düzeydeki sonuçlara benzerlik göstermesi, armut SSR verilerini diğer çalışmalarla kıyaslayama imkanını sağlamaktadır. Ayrıca tri allelik gösteren bitkilerde bu durumun kimerizimden mi kaynaklandığı yoksa genotiplerin gerçekten triploid mi olduğu konusunda sitoloji çalışmalarının yapılması yararlı görülmektedir.

## 5.2. Genotip-SSR İlişkilendirmeleri

Armut gen kaynaklarının tanımlanmasında; kimlik verileri ve genetik ilişkileri ortaya çıkarılarak popülasyon içi gen kaynaklarının tam genotip sayısını belirlemeye yönelik homonim/sinonim/benzer genotiplerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Uluslar arası armut gen kaynaklarının tanımlanmasına yönelik araştırmalarda; SSR markörler kullanılarak değişik düzeyde sinonim genotiplere rastlanmıştır (Kimura vd 2002, Basil vd 2006, Martinelli vd 2008, Miranda vd 2010). Araştırma sonuçlarına bakıldığında 2 çeşidin (2–38, 22–39) sinonim olduğu göze çarpmıştır. Pomolojik veriler ile sinonim olduğu düşünülen 2 ve 38 numaralı çeşitler moleküler veriler ile doğrulanmıştır. Hem pomolojik, hem de moleküler verilerdeki yüksek benzerlik sebebiyle bu çeşitlerin aynı armut çeşidi olduğu düşünülmektedir.

Benzerlik oranı %100 olan sinonim çeşitlerin dışındaki en yüksek benzerlik oranları; %95 ile 9-21, 22-31, 29-37, 31-39 genotiplerinde ve %90 ile 5-45, 27-36 genotipleri arasında görülürken, diğer genotipler arasındaki benzerlik oranı %70'in altında olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5). %95 benzerlik gösteren bu çeşitlerin aynı kökene sahip ekotipler (klonlar) olabileceği düşünülmektedir.

Genetik ilişki dendogramına bakıldığında 2 ana grup ve bu gruplarda da değişik dallanmalar görülmüştür. Tez konusu çeşitlerden 45 genotip yakın dallanmalar gösterirken, 30 numaralı genotip ayrı bir dallanma göstermiştir. Çalışmada referans alınan çeşitlerden 'Duchesse d'Angouleme 174W', 'Williams' ve 'William's Duchesse' kendi aralarında dallanma gösterirken, bu çeşitlere en yakın benzerliği %45 oranı ile 14 numaralı genotipin olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda 'Passe Crassane' çeşidini, diğer referans çeşitlerden ayrı bir dallanma göstermesi dikkat çekmiştir. 'Passe Crassane' çeşidine en yakın benzerliği %40 oran ile 13 numaralı genotip göstermiştir (Şekil 4.6.).

Çeşitlerin genetik ilişkileri ve benzerlik dendogramı ile yetiştirildiği iller arasında orantılı bir bağlantı kurulamamaktadır. Örneğin; Erzincan ilinde yetişen 18 ve 20 numaralı

örneklerin birbirine benzerlik oranı düşük bulunurken, Kars ve Erzincan ilinde yetişen sırasıyla 9 ve 22 numaralı örneklerin arasındaki benzerlik %95 olarak bulunmuştur. Aynı zamanda çeşitler arasında kısmen düşük benzerlikler de görülmüştür. Bu sonuçlar ile armudun köken aldığı zamandan günümüze kadar, doğal olarak veya taşıma ile ortaya çıkmış bir gen akışının (gene flow) olduğu yorumu yapılabilmektedir.

Ülkemizin armut gen kaynaklarının tanımlandığı ulusal armut tanımlama projesi ile bu tez sonuçları karşılaştırıldığında, Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsünde bulunan 140 887(2-4) kodlu armut genotipi ile tez konusunda yer alan 24 PEA 033 genotipinin %91.7 oranında genetik benzerlik gösterdiği, ancak Isparta Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsünde bulunan çeşitler ile hiçbir benzerlik bulunmadığı tespit edilmiştir (Anonim, 2009).

Doğu Anadolu bölgesine ait armut çeşitlerinin en kapsamlı genetik tanımlanmasına yönelik ilk olma özelliği olan bu tez sonucunda; Doğu Anadolu Bölgesindeki armut gen kaynaklarının zengin olduğu belirlenmiştir. Tez bulgularının, bölgede günümüzde ve gelecekte yürütülecek benzer, kapsamlı çalışmalara ışık tutacağı ümit edilmektedir. Ayrıca tez sonuçları; ülkesel armut gen kaynaklarının daha iyi tanımlanması, ıslah, genetik ve haritalama çalışmaları için önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

- Ahmed, M., Anjum, M. A., Khan, M. Q., Ahmed, M. J., Pearce, S. 2010. Evaluation of genetic diversity in *Pyrus* germplasm native to Azad Jammu and Kashmir (Northern Pakistan) revealed by microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9(49); 8323-8333.
- Anonim 2009. Ülkemizde Ekonomik Öneme Sahip Bazı Meyve Türleri ile Asma Gen Kaynaklarının High-throughput Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması. TÜBİTAK-KAMAG 1007 Kurum Projesi, Proje no: 105 G 078 sonuç raporu.
- Bailey, L.H., 1917. *Pyrus*. In: Standard cyclopedia of horticulture. Vlo V. Macmillan, New York, pp: 2865-2878.
- Bao, L., Chen, K., Zhang, D., Cao, Y., Yamamoto, T., Teng, Y. 2007. Genetic diversity and similarity of pear (*Pyrus* L.) cultivars native to East Asia revealed by SSR (simple sequence repeat) markers. *Genetic Resources Crop Evolution*, 54; 959–971.
- Bassil, N., Hummer, K., Postman, J.D. 2006. Microsatellites are used to examine apple and pear identities and genetic relationships. *HortScience*, Vol. 41(4).
- Bassil, N., Hummer, K., Postman, J.D., Dolan, S., Lawliss, L. 2008. Molecular Fingerprints Identify Historic Pear Trees in Two U.S. national Parks. *Acta Horticulturae* 800, ISHS 2008.
- Bassil, N., Postman, J.D. 2010. Identification of European and Asian pears using EST-SSRs from *Pyrus*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57; 357-370.
- Bell, R.L., 1990. Pears (*Pyrus*). In: Moore JN, Ballington JR (ed) Genetic resources of temperate fruit and nut crops. *Acta Horticulturae*, 290; 657-697.
- Bowcock, A. M., Ruiz-Linares, J., Tomfohrde, E., Minch, J. R., Kidd, Cavalli –Sforza L.L. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 368;455-457.
- Brini, W., Mars, M., Hormaza, J.I. 2008. Genetic diversity in local Tunisian pears (*Pyrus communis* L.) studied with SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 115; 337–341.
- Chevreau, E., Leuliette, S., Gallet, M. 1997. Inheritance and linkage of isozyme loci in pear (*Pyrus communis* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 94; 498-506.
- Dondini, L., Pierantoni, L., Gaiotti, F., Chiodini, R., Tartarini, S., Bazzi, C., Sansavini, S. 2004. Identifying QTLs for fire-blight resistance via a European pear (*Pyrus communis* L.) genetic linkage map. *Molecular Breeding*, 14; 407–418.
- Erdoğan, V., Aygün, A., Şan, B., Koltarla, A., Güneş, N., Dumanoglu, H. 2007. ‘Ankara’ armudu (*Pyrus communis* L.) klonlarının RAPD tekniği ile moleküler analizi. 04-07 Eylül 2007 Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Cilt 1: Meyvecilik; 56-59.

- FAOSTAT 2010. FAO statistics database on the World Wide Web. <http://faostat.fao.org>
- Fernández-Fernández, F., Harvey, N. G., James, C. M. 2006. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from European pear (*Pyrus communis* L.). *Molecular Ecology Notes* 6; 1039–1041.
- Ferreira dos Santos, A.R., Ramos-Cabrer, A.M., Diaz-Hernandez, M.B., Pereira-Lorenzo, S. 2011. Genetic variability and diversification process in local pear cultivars from Northwestern Spain using microsatellites. *Tree Genetics & Genomes* DOI 10.1007/s11295-011-0393-3.
- Ghosh, A.K., Lukens, L.N., Hunter, D.M., Judith, N.S. 2006. European and Asian Pears: Simple Sequence Repeat- Polyacrylamide Gel Electrophoresis-based Analysis of Commercially Important North American Cultivars. *HortScience*, 41(2);304-309.
- Gianfranceschi, L., Seglias, N., Tarchini, R., Komjanc, M., Gessler, C. 1998. Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. *Theoretical and Applied Genetics*, 96;1069-1076.
- Hemmat, M., Weeden, N.F., Brown, S.K. 2003. Mapping and evaluation of *Malus x domestica* microsatellites in apple and pear. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 128(4); 515-520.
- Hocquigny, S., Pelsy, F., Dumas, V., Kindt, S., Heloir, M.C., Merdinoglu, D. 2004. Diversification within grapevine cultivars goes through chimeric states. *Genome*, 47; 579–589.
- Jiang, Z., Tang, F., Huang, H., Hu, H., Chen, Q. 2009. Assessment of Genetic Diversity of Chinese Sand Pear Landraces (*Pyrus pyrifolia* Nakai) Using Simple Sequence Repeat Markers. *HortScience* 44(3):619–626. 2009.
- Katayama, H., Adachi, S., Yamamoto, T., Uematsu, C. 2007. A wide range of genetic diversity in pear (*Pyrus usuriensis* var. *aromatica*) genetic resources from Iwate, Japan revealed by SSR and chloroplast DNA markers. *Genetic Resources Crop Evolution*, 54; 1573–1585.
- Kikuchi, A., (1946). Speciation and taxonomy of Chinese pears. *Collected Records Horticulture Research, Kyoto Univ* 3; 1-8.
- Kimura, T., Shi, Y. Z., Shoda, M., Kotobuki, K., Matsuta, N., Hayashi, T., Ban, Y., Yamamoto, T. 2002. Identification of Asian Pear Varieties by SSR Analysis. *Breeding Science*, 52: 115-121.
- Kiper, N.Ş. 1941. Orta Anadolu armutçuluğu ve en mühim armut çeşitleri. Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Matbaası, s. 97, Ankara, Türkiye.
- Lefort F, Lally M, Thompson D, Douglas G.C. 1998. Morphological traits, microsatellite fingerprinting and genetic relatedness of a stand of elite oaks (*Q. robur* L.) at Tullynally, Ireland. *Silvae Genetica*, 47; 257–262.

- Liebhart, R., L. Gianfranceschi, B. Koller, C.D. Ryder, R. Tarchini, E. Van de Weg and C. Gessler. 2002. Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Molecular Breeding*, 10; 217–241.
- Litt, M. ve Luty, J.A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *The American Journal of Human Genetics*, 44; 397-401.
- Lu, M., Tang, H., Chen, X., Gao, J., Chen, Q., Lin, L. 2010. Comparative Genome Mapping Between Apple and Pear by Apple Mapped SSR Markers. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science*, 9 (3); 303-309.
- Martinelli, F., Busconi, M., Camangi, F., Fogher, C., Stefani A., Sebastiani L. 2008. Ancient Pomoideae (*Malus domestica* Borkh. and *Pyrus communis* L.) cultivars in “Appenino Toscano” (Tuscany, Italy): molecular (SSR) and morphological characterization. *CARYOLOGIA*, Vol. 61, no. 3; 320-331.
- Minch, E., A. Ruiz-Linares, D.B. Goldstein, M. Feldman, and L.L. Cavalli-Sforza. 1995. *Microsat* (version 1.4d): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data. Stanford, California, Stanford Univ.
- Miranda, C., Urrestarazu, J., Santesteban, L. G., Royo, J.B., Urbina, V. 2010. Genetic Diversity and Structure in a Collection of Ancient Spanish Pear Cultivars Assessed by Microsatellite Markers. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 135(5);428–437.
- Nishitani, C., Terakami, S., Sawamura, Y., Takada, N., and Yamamoto, T., 2009. Development of novel EST-SSR markers derived from Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). *Breeding Science* 59: 391–400.
- Özbek, S. A. 1947. Türkiye’de armut yetiştiriciliği ve önemli armut çeşitlerimiz. Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Basımevi, s. 95, Ankara, Türkiye.
- Özbek, S. A. 1978. *Special Pomology*. Çukurova University Faculty of Agriculture Press. 128:488.
- Paetkau, D., W. Calvert, I. Stirling, and C. Strobeck. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology*, 4;347-354.
- Pierantoni, L., Cho K.-H., Shin, I.-S., Chiodini, R., Tartarini, S., Dondini, L., Kang, S.-J., Sansavini, S. 2004. Characterisation and transferability of apple SSRs to two European F1 populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 109; 1519–1524.
- Santamour, F.S., P. Demuth. 1980. Identification of Callery pear cultivars by peroxidase isozyme patterns. *Journal of Heredity*, 71;447–449.

- Sisko, M., Javornik, B., Siftar A., Ivancic, A. 2009. Genetic relationships among Slovenian pears assessed y molecular markers. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 134(1);97-108.
- Sneath, P. H. A.; Sokal, R.R. 1973. *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco, CA. p.573.
- Terakami, S., Adachi, Y., Iketani, H., Sato, Y., Sawamura, Y., Takada, N., Nishitani, C., Yamamoto, T., 2007. Genetic mapping of genes for susceptibility to black spot disease in Japanese pears. *Genome*, 50; 735–741.
- Terakami, S., Shoda, M., Adachi, Y., Gonai, T., Kasumi, M., Sawamura, Y., Iketani, H., Kotobuki, K., Patocchi, A., Gessler, C., Hayashi, T., Yamamoto, T. 2006. Genetic mapping of the pear scab resistance gene Vnk of Japanese pear cultivar Kinchaku. *Theoretical and Applied Genetics*, 113; 743–752.
- Ülkümen, L., Özbek, S., 1950. *Modern Meyvacılık*, s. 15~53, Ankara üniversitesi Basımevi.
- Urbanovich, O. Yu., Kazlouvsckaya, Z. A., Yakimovich, O. A., Kartel, N. A., 2011. Polymorphism of SSR Alleles in Pear Cultivars Grown in Belarus. *Russian Journal of Genetics*, Vol. 47, No. 3, pp. 305–313.
- Volk, G. M., Richards, C. M., Henk, A. D., Reilley, A. A., Bassil N. V., Postman, J. D., 2006. Diversity of Wild *Pyrus communis* Based on Microsatellite Analyses. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 131(3):409-417.
- Wagner, H.W., and K.M. Sefc. 1999. *Identity 1.0*. Centre for Applied Genetics, University of Agriculture Science, Vienna.
- Weber, J.L., May, P.E. 1989. Abundant Class of Human DNA Polymorphisms Which Can Be Typed Using the Polymerase Chain Reaction. *The American Journal of Human Genetics*, 44;388-396.
- Westwood, M. N., 1978. *Temperate-Zone Pomology* W.H. Freeman and Company, San Fransisco. 428p.
- Wolko, L., Antkowiak, W., Lenartowicz, E., Bocianowski, J., 2010. Genetic diversity of European pear cultivars ( *Pyrus communis* L.) and wild pear (*Pyrus pyrastrer*(L.) Burgsd.) inferred from microsatellite markers analysis. *Genetic Resources Crop Evolution*, 57;801–806.
- Wünsch, A., Hormaza, J.I., (2002). Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. *Euphytica*, 125; 59–67.
- Wünsch, A., Hormaza, J.I., (2007). Characterization of variability and genetic similarity of European pear using microsatellite loci developed in apple. *Scientia Horticulturae*, 113 (2007) ;37–43.



- Yakovin, N. A., Fesenko, I. A., Isachkin, A. V., Karlov, G. I., 2011. Polymorphism of Microsatellite Loci in Cultivars and Species of Pear (*Pyrus L.*). *Russian Journal of Genetics*, 2011, Vol. 47, No. 5, pp. 564–570.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Sawamura, Y., Kotobuki, K., Ban, Y., Hayashi, T., Matsuta, N. 2001. SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear. *Theoretical and Applied Genetics*, 102;865–870.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Sawamura, Y., Manabe, T., Kotobuki, K., Hayashi, T., Ban, Y., Matsuta, N. (2002a). Simple sequence repeats for genetic analysis in pear. *Euphytica*, 124; 129–137.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Shoda, M., Ban, Y., Hayashi, T., Matsuta, N., (2002b). Development of microsatellite markers in the Japanese pear (*Pyrus pyrifolia Nakai*). *Molecular Ecology Notes* (2002) 2;14-16.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Shoda, M., Imai, T., Satio T., Sawamura, Y., Kotobuki, K., Hayashi, T., Matsuta, N. (2002c). Genetic linkage maps constructed by using an interspecific cross between Japanese and European pears. *Theoretical and Applied Genetics*, 106;9-18.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Satio T., Kotobuki, K., Matsuta, N., Liebhard, R., Gessler, C., Weg, W.E.van de, Hayashi, T., 2004. Genetic linkage maps of Japanese and European pears aligned to apple consensus map. *Acta Horticulturae*, 663; 51-56.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Hayashi, T., Ban, Y. (2006). DNA profiling of Fresh and Processed Fruits in Pear. *Breeding Science*, 56; 165-171.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Terakami, S., Nishitani, C., Sawamura, Y., Satio, T., Kotobuki, K., Hayashi, T. (2007). Integrated Reference Genetic Linkage Maps of Pear Based on SSR and AFLP markers. *Breeding Science*, 57; 321-329.
- Yao, L., Zheng, X., Cai, D., Gao, Y., Wang, K., Cao, Y., Teng, Y. 2010. Exploitation of *Malus* EST-SSRs and the utility in evaluation of genetic diversity in *Malus* and *Pyrus*. *Genetic Resources Crop Evolution*, 57;841–851.
- Zietkiewicz, E., Rafalski A., Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by Simple Sequence Repeats (SSR)- Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, 20; 176-183.

## **ÖZGEÇMİŞ**

**Adı Soyadı :** Hatice ALTINBAY

**Doğum Yeri :** Keçiören/ANKARA

**Doğum Tarihi :** 27.07.1989

**Medeni Hali :** Bekar

**Yabancı Dili :** İngilizce

**Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)**

**Lise :** Etimesgut Eryaman Lisesi (2002-2005)

**Lisans :** Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2006-2010)

**Yüksek Lisans:** Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü - Temel

Biyoteknoloji Anabilim Dalı (2010- )