

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MANİSA, İZMİR, AYDIN, MUĞLA VE KÜTAHYA İLLERİNE AİT ASMA GEN  
KAYNAKLARININ SSRs (Simple Sequence Repeats)'A DAYALI GENETİK  
KARAKTERİZASYONU**

**Canan YÜKSEL**

**Danışman Öğretim Üyesi  
Doç.Dr. Ali ERGÜL**

**ANKARA**

**2008**

Doç. Dr. Ali ERGÜL danışmanlığında Biyolog Canan YÜKSEL tarafından hazırlanan bu çalışma 30/7/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoteknoloji Anabilim Dalı' nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Ali ERGÜL

İmza:.....

Üye : Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

İmza:.....

Üye : Prof. Dr. Birhan MARASALI

İmza:.....

Üye : Doç. Dr. Özlem YILDIRIM

İmza:.....

Üye : Doç. Dr. Sümer ARAS

İmza:.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Alp CAN

Enstitü Müdürü

## **Manisa, İzmir, Aydın, Muğla Ve Kütahya İllerine Ait Asma Gen Kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a Dayalı Genetik Karakterizasyonu**

### **ÖZET**

Türkiye üzüm üretiminin %43'ü ve bağ alanlarının %33'ünü karşılayan Ege Bölgesi Türkiye Bağcılığında önemli bir paya sahiptir. Manisa, Denizli, İzmir gibi önemli yetiştiricilik merkezlerini içeren bölge, çekirdeksiz üzüm yetiştiriciliğinin yanında sofralık ve şaraplık çeşitlerin yetiştiriciliği için de son derece elverişli koşullara sahiptir. Alan ve üretim potansiyelinin yanında zengin bir üzüm genetik çeşitliliğine sahip olan bölgede, farklı isimlendirmelerden ve çeşit içi varyasyonlardan kaynaklanan çeşit karmaşasının yaşandığı, yetiştiricilikte kullanılmayan bazı eski üzüm çeşitlerinin giderek kaybolma riski ile karşı karşıya olduğu görülmektedir. Söz konusu olumsuzlukların azaltılması amacı ile bölgenin Manisa, İzmir, Aydın Muğla illeri ve bölgenin İç Anadolu geçit kuşağında yer alan Kütahya ilinin bağcılık potansiyeli SSR's (Simple Sequence Repeats) markörler kullanılarak tanımlanmıştır. 53 yerli ve 2 referans çeşit olmak üzere 55 üzüm çeşidinde 15 SSR markör kullanılarak gerçekleştirilen araştırmada, benzer ve sinonim genotiplere rastlanmaz iken, Tek Çekirdekli, Bulama, Beyaz Şam, Ekşi Üzüm ve Sıksarı genotiplerinde olmak üzere 5 homonim durum tespit edilmiştir. VVMD7 lokusu tanımlama olasılığı en yüksek lokus olarak tespit edilirken, genotipler arası benzerlik oranı genel olarak düşük (%90 altında) bulunmuştur.

Bölge üzüm gen kaynaklarının SSR düzeyinde tanımlanmasına yönelik ilk olarak gerçekleştirilen bu araştırmada, elde edilen bulgular aynı SSR lokusları kullanıldığında diğer tanımlama çalışmaları için ışık tutacaktır. Ayrıca araştırma sonuçları bölgede yürütülecek diğer bağcılık faaliyetlerinde (ıslah, çoğaltma, çeşit tescili vb) katkılarda bulunacaktır.

*Anahtar Kelimeler: Vitis vinifera L., SSR, Ege Bölgesi, Türkiye*

## **SSRs (Simple Sequence Repeats) based Genetic Characterization of Manisa, İzmir, Muğla and Kütahya Grapevine Germplasms**

### **ABSTRACT**

The Aegean region of Turkey has an important role in the Turkish viticulture, having %43, of the Turkish grape production together with %33 of the vineyard within Turkey.

The Aegean part of Turkey, enclosing the most important grape production centers like Manisa, Denizli and İzmir, has also the most convenient conditions for production not only for seedless grapes, but also for the table and wine grapes which could be served as both a dish and for wine production.

Having a rich grape germplasm, apart from the area and production potential, the Aegean part of Turkey is a region where variation confusion occurs because of different naming and variations of genotypes. Therefore, it's been observed that there exists a growing risk in vanishing some old kinds of grapes which have not been used in production aspects.

In order to diminish the aforementioned negativity, the grape germplasm potentiality of Manisa, İzmir, Aydın and Muğla together with Kütahya which connects the region to the Central Anatolia part of Turkey, have been defined by SSR (Simple Sequence Repeats) markers.

Any synonym and identical genotypes were not observed, but on the other hand 5 homonym cases were determined for Tek Çekirdekli, Bulama, Beyaz Şam, Ekşi Üzüm, Sıksarı cultivars. It was observed that the VVDM7 loci showed the highest probability for defining and generally low similarity ratio between the genotypes was recorded (below %90).

This study is the first to be performed to define the region's grape genetic sources in terms of SSR. The gathered data will lead the future studies for definition if the same SSR loci are used. Additionally, the results of this study will also contribute to the other viticulture activities (like breeding, plant propagation, etc.).

*Key words: Vitis vinifera L., SSR, Aegean, Turkey.*

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimine başladığım ilk günden itibaren bilgi ve desteğini esirgemeyerek beni yönlendiren ve bundan sonraki akademik hayatım boyunca bilgi, destek ve yardımına aynı derecede ihtiyaç duyacağım danışman hocam Doç. Dr. Ali ERGÜL'e,

Tezimin deneyleri, verilerin kontrolü ve yazımı aşamasında özverili katkılarını esirgemeyen Uzm. Bio. Melike BAKIR'a, Bio. Pelin ÇELİKKOL, Zir. Müh.Esra EKİNCİ ve Can YÜKSEL'e,

Yardıma ihtiyaç duyduğumda 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 babam Tamer YÜKSEL ve annem Nevin YÜKSEL'e

en içten şükran ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Canan YÜKSEL

Ankara, Temmuz 2008

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vi
SİMGELER DİZİNİ .....	vii
<b>1.GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2.KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>3</b>
2.1 Asma Mikrosatellit Çalışmaları.....	4
<b>3.MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>10</b>
3.1 Materyal.....	10
3.2 Yöntem .....	13
3.2.1 DNA İzolasyonu ve ölçümleri.....	15
3.2.2 PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR.....	16
3.2.3 Kapilleri elektroforez ve Allel görüntülerinin alınması .....	18
3.2.4 Genetik analizler .....	19
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>20</b>
4.1 DNA İzolasyonu ve ölçümleri.....	20
4.2 SSR lokuslarının PCR reaksiyonu ve Allel görüntülerinin alınması.....	25
4.3. Genetik analizler.....	30
4.4 Benzerlik oranı indeksi.....	39
4.5 Genetik ilişki dendogramı .....	40
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>42</b>
5.1 SSR analizleri .....	42
5.2 Genotip-SSR İlişkilendirmeleri .....	43
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>45</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>50</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Tezde uygulanan yöntem aşamaları .....	14
Şekil 4.1. Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların, agaroz jel (%1) görüntüleri ....	20
Şekil 4.2. VVMD7 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü .....	25
Şekil 4.3. VVIB01 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	26
Şekil 4.4. VrZAG83 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü .....	26
Şekil 4.5. VVS2 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü .....	26
Şekil 4.6. VVMD31 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü .....	27
Şekil 4.7. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki farklı görünüşleri (A: farklı boyalarla işaretlenmiş homozigot allel görünüşleri, B: farklı boyalarla işaretlenmiş heterozigot allel görünüşleri) .....	28
Şekil 4.8. Çeşitlere ait genetik ilişki dendogramı .....	40

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Manisa, Muğla, İzmir, Kütahya ve Aydın illerine ait üzüm çeşitlerinin bazı ampelografik özellikleri .....	11
Çizelge 3.2. SSR lokuslarına ait primerlerin baz dizileri, işaretleme boyası ve PCR Tm değerleri .....	17
Çizelge 4.1. Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların spektrofotometrik değerleri .....	21
Çizelge 4.2. Üzüm çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp), CS: Cabernet Sauvignon, M: Merlot .....	31
Çizelge 4.3. Çalışılan lokuslardaki allel sayıları (N), beklenen heterozigotluk (He), gözlenen heterozigotluk (Ho), tespit olasılığı (PI) değeri ve sessiz (null) allel frekansı .....	35
Çizelge 4.4. Allel frekansları .....	36
Çizelge 4.5. Araştırma sonucunda tespit edilen benzer, sinonim ve homonim genotipler .....	38
Çizelge 4.6. Genotiplere ve referans çeşitlere ait benzerlik oranları (%).....	39



## 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 heterozigosity (Beklenen heterozigotluk)
H <sub>o</sub>	Observed heterozigosity (Gözlenen heterozigotluk)
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Klorür
mM	Milimolar
µl	Mikrolitre
M	Molar
n	The number of alleles (Allel sayısı)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PI	Probability of Identity (Tanımlama olasılığı)
PVP	Polyvinylpyrrolidone
r	The estimated frequency of null allele (Tahmin edilen sessiz allel frekansı)
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 tekrarları)
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA Çözeltisi
TE	Tris-EDTA Çözeltisi

## 1.GİRİŞ

Bitki türlerinin yetiştiriciliği açısından sahip olduğu ekolojik koşullar ile dünya tarımında önemli bir yeri bulunan Türkiye, bitki gen kaynakları çeşitliliği açısından da zengin bir genetik potansiyele sahiptir. Sınıflandırmada “Bahçe Bitkileri” grubunda yer alan meyve türleri ve asma ile sebze türleri; yetiştirilme alanları, üretim değerleri, beslenmedeki ve ihracattaki payı ile çok önem arz etmektedir. Bunlardan meyve türleri ile asma gen kaynaklarının belirlenmesi amacı ile koleksiyon oluşturma ve üstün özellikli bireylerin seleksiyonuna yönelik çalışmalar ise dünyada olduğu gibi ülkemizde de uzun yıllardır sürdürülmektedir. Çoğunluğu Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Araştırma Enstitüleri ve belirli oranlarda da Ziraat Fakülteleri bünyesinde yürütülen bu çalışmalar sonucu birçok türde koleksiyon ve kısmen seleksiyon çalışmaları tamamlanmıştır.

Bitki gen kaynaklarımızın zenginliği kadar şüphesiz bunların tanımlanması ve korunması da büyük önem taşımaktadır. Asma ve meyve türlerinde yapılan tanımlama çalışmalarına bakıldığında ise morfolojik karakterlere dayalı (ampelografik v.b.) tanımlamaların ön plana çıktığı görülmektedir. Ancak bilindiği üzere bu tür tanımlamaların yetersizliği (çevresel koşullardan etkilenmesi, incelemeyi yapan araştırmacıya göre farklılık göstermesi, tanımlama kullanılan kriterlerin azlığı gibi) dünyada ve ülkemizde bu yöntemlerin yavaş yavaş terk edilmesine ve araştırmalarda kesin sonuç veren DNA tanımlayıcıların kullanılmasına neden olmuştur. DNA düzeyindeki farklılıkları değişik hassaslık oranlarında ortaya çıkaran DNA markörler ise; son yıllarda öncelikli olarak AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeats) teknikleri ile uygulama bulmuştur.

Asma genetik potansiyelinin tanımlanması ve korunması amacı ile gerçekleşen bu süreç dikkate alındığında ise; 1965 yılında başlatılan araştırmalarla Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü bünyesinde “Milli Koleksiyon” bağı kurularak, ülkenin değişik bölgelerinden yaklaşık 1200 üzüm çeşidi korumaya alınmıştır. Koleksiyonda ampelografik çalışmalar tamamlanırken, DNA düzeyindeki araştırmalarla bazı çeşit gruplarının genetik ilişkileri farklı markörler düzeyinde ortaya konmuştur (Ergül 2000, Aras vd 2005, Ergül *et al.* 2006, Şelli *et al.* 2007).

Türkiye bağcılık bölgeleri sahip olduğu bağ alanları, farklı üretim miktar ve desenleri ile (şarap, kurutmalık, sofralık, erkencilik vb) birbirinden farklılık göstermektedir. Bunlardan en önemlisi Ege Bölgesi olup ülke üretiminin %43'ünü (1.558.939 ton) karşılarken, bağ alanlarının %33'ünü (174.698 ha) kapsamaktadır (Anonim 2003). Bölge iklim özellikleri açısından 3 yöreye ayrılmaktadır. Birinci yöre; Manisa, Denizli ve İzmir illerini içeren orta yöredir. Yazları çok sıcak, kışları ise ılık ve yağışlı bir iklime sahip olan bu yörede Manisa ve İzmir illerinde çekirdeksiz kuru üzüm, Denizli ilinde ise sofralık üzüm üretimi öncelik kazanmıştır. İkinci yöre ise Çanakkale ve Balıkesir illerini kapsamakta olup, bu yörede özellikle şaraplık ve sofralık üzüm üretimi ön plandadır. Isparta ve Burdur illeri ve çevrelerini kapsayan üçüncü yörede ise; İç Anadolu ve Akdeniz iklimleri arasında bir geçit iklimi hüküm sürmekte olup, yörede daha çok sofralık üzüm yetiştiriciliği yapılmaktadır.

Bölgede çekirdeksiz üzüm (Yuvarlak ve Sultani) yetiştiriciliği önemli bir paya sahip olurken, bölgeye sofralık olarak: Amasya, Bozcaada Çavuşu, Buca Razakısı, Işıklı, Italia, İpek, Kozak beyazı, Yalova incisi, Alphonse Lavalee, Burdur Dimriti, Cardinal, Kozak siyahı, Pembe Gemre, Siyah Germe gibi çeşitler, şaraplık olarak ise: Bornova Misketi, Clairette, Adakarası, Cinsaut, Gamay, Karalahana, Karasakız gibi çeşitler önerilmektedir (Çelik *et al.*1998).

Ege Bölgesinin alan ve üretim potansiyeline paralel olarak genetik açıdan da oldukça zengin bir çeşitliliğe sahip olduğu görülmektedir. Diğer bölgelere benzer şekilde Ege Bölgesi gen kaynakları içerisinde; aynı çeşidin değişik isimlerle yetiştirilmesi yanında, farklı bazı çeşitlere aynı ismin verildiği, yine çeşit içi varyasyonlardan dolayı bir çeşit karmaşasının yaşandığı görülmektedir. Ayrıca yetiştiricilikte bazı üzüm çeşitlerinin ön plana çıkması, bölge koşullarına adapte olmuş ve yüzlerce yıldır yetiştiriciliği yapılan çeşitlerin giderek kaybolma riskini artırmaktadır.

“Milli Koleksiyon Bağı”ndaki üzüm gen kaynaklarımızın toplu tanımlanmasının bir bölümü olarak gerçekleştirilen bu tezde; Ege Bölgesi’nden Manisa, İzmir, Aydın ve Muğla illeri ile bölgenin İç Anadolu geçit kuşağında yer Kütahya ilinin bağcılık potansiyelinin tanımlanması amacı ile genetik tanımlamalar gerçekleştirilmiştir. 15 SSR (Simple Sequence Repeats) lokusu kullanılarak 53 üzüm genotipinde gerçekleştirilen araştırmada; allel verilerinin (kimlik verilerinin) yanında, illere göre çeşitler arası genetik ilişkiler, homonim ve sinonim durumları tanımlanmıştır.

## 2.KAYNAK ÖZETLERİ

Günümüzde farklı bitki türlerinde mevcut genetik varyasyon, değişik yönleriyle genom, gen, transkriptomik, proteomik ve hatta metabolomik düzeylerde incelenmektedir. Bu çalışmalar ve elde edilen sonuçlar ışığında ilgili tür için maksimum allelik varyasyonu içeren bir koruma stratejisi geliştirilmesinin yanında, özel çalışmalara yönelik uygun fonksiyonel allellerin belirlenmesine de olanak sağlamaktadır. Model olarak kullanılan bitkilerin dışında kalan üzüm gibi türlerde etkin ve seri araştırmaya olanak sağlayan moleküler markör sistemlerinin kullanılması oldukça önemlidir. Üzümde kullanılan moleküler markörlerin en önemlilerinden birisi ise; Simple Sequence Repeats (SSR) veya mikrosatellit markörlerdir.

Mikrosatellit markörler; 2–6 baz uzunluğunda kısa tekrar dizileri olup, yüksek canlılarda (ökaryotik) genoma özgünlük göstermektedir (Litt and Luty 1989). Genotipler arası allelik varyasyonları replikasyon kaymasındaki (replikasyon slippage) mutasyonlara vb. dayandırılan SSR markörler (Schlotterer and Tautz 1992), ko-dominantlık, diğer DNA markörlere göre yüksek polimorfiklik sağlama vb. özellikleri ile üzüm tanımlama ve diğer genomik çalışmalarda önemli avantajlar sağlamaktadır.

Lokus izolasyonu ve karakterizasyonu genel olarak; 1) Klasik (small insert genomic) ve zenginleştirilmiş (enriched) DNA kütüphanelerinin oluşturulması, 2) Bu kütüphanelerin SSR tekrarlarına özgü oligonukleotid işaretli problemlerle taranması, 3) Pozitif klonlara ait dizilerin belirlenmesi ve 4) Primer dizaynı ve lokus spesifik PCR aşamalarını içeren SSR markörler, tanımlandığı hücre komponentlerine göre farklılık göstermektedir. Çekirdek SSR (nuclear SSR=nSSR) ve Kloroplast SSR (chloroplast SSR=cpSSR)'lara ek olarak bitki genom projeleri çerçevesinde oluşturulan EST (Express Sequence Tags) verilerinin transkripsiyona giren ve girmeyen bölgelerden (UTR=Untranslated Region) tespit edilen EST kökenli SSR'ların katılımı ile asmada geniş bir SSR veri tabanı oluşturulmuştur.

Genetik kimlik tanımlarını belirleyen tek markör özelliğine sahip SSR markörler başta genetik tanımlama olmak üzere, asmada birçok amaçla (moleküler evrim, genetik haritalama gibi) kullanılmıştır. SSR markörler kullanılarak asmada gerçekleştirilen önemli araştırmalar şu şekilde sıralanabilir.

## 2. 1 Asma Mikrosatellit Çalışmaları

İlk asma mikrosatellit çalışmaları Avusturya'da Thomas and Scott (1993) tarafından yapılmıştır. Toplamda 26 *Vitis vinifera* L. çeşidi, 6 *Vitis* türü ile *Vitis rotundifolia*'da yapılan çalışmaya daha sonra 80'den fazla genotip eklenmiştir. Thomas *et al.* (1994) tarafından yürütülen diğer bir çalışmada ise; 5A Teleki ve Kober 5 BB anaçlarının SSR analizleri gerçekleştirilmiş, kullanılan primerler itibari ile ayırım sağlanamamıştır.

Vignani *et al.* (1996), İtalyan şarap çeşidi olan Sangiovese'nin, 12 klonunda toplamda 7 mikrosatellit lokusu (VVMD5 VVMD6, VVMD7, VVMD8, VVMS2, VVMS4 ve VVMS29) taramışlar; 1 klonun (SG 8T) dışında 11 klonun benzer olduğunu, muhtemelen tek bir fidandan geldiğini, SG 8T'nin ise farklı ebeveyne sahip olabileceğini belirtmişlerdir.

Sefc *et al.* (1998a), VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVS29, VVMD7, VVMD28, VVMD32 VVMD36 mikrosatellitlerini kullanarak 66 Avusturya üzüm çeşidinde tanımlama yapmışlardır. Çalışmada kullanılan anaçlarda genetik farklılık değerleri 0.29 -0.96 arasında tespit edilirken, çeşitlerde ise bu fark 0.53-0.87 arasında bulunmuştur. Sefc *et al.* (1998b), Avusturya' dan alınan ve ticari öneme sahip 18 sofralık üzüm çeşidi 11 mikrosatellit markörü ile tanımlanmış, böylelikle genetik markörlerin ticari üzüm çeşitlerinde isim doğruluğu tespitinde kullanılabilirliği kanıtlanmıştır.

Virüs kontaminasyonunu azaltma amacıyla yapılan bir çalışmada, termoterapi ile muamele edilmiş materyalin çoğaltılmasında, çoğaltma aşamasından önce *in vitro*'daki bitkiciklerin çeşit tespitinde mikrosatellit analizi uygulanmıştır. Çalışmada her klondan alınan iki örnek 4 mikrosatellit markörü ile taranmıştır. Bu şekilde yanlış isimlendirmeler düzeltilmiştir (Sefc *et al.* 1998c).

Maletic *et al.* (1999) tarafından, 22 Hırvat üzüm çeşidi 9 mikrosatellit markörü ile taranmış, sinonim ve homonim çeşitler genetik analizler ile tanımlanmıştır. Ayrıca bu çeşitler 300 Avrupa çeşidinde yapılan mikrosatellit çalışmaları ile karşılaştırılmıştır.

Sánchez-Escribano *et al.* (1999), 43 sofralık üzüm çeşidinin 8 mikrosatellit markörü (VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVS5, VVMD5, VVMD6 ve VVMD7) ile kimlik tespiti yapmış ve 43 çeşitten 14 tanesinin allel büyüklükleri bakımından aynı olduğu açıklanmıştır.

Arroyo-Garcia ve Martinez-Zapater (2000), 9 yeni mikrosatellit lokusu geliştirmişler ve bu markörleri sofralık ve şaraplık bazı üzüm çeşitlerinde test etmişlerdir. Allel sayısını her lokusta 8 ile 10 arasında tespit ederlerken, bitki kloroplast genomunda bulunan polimorfik mikrosatellit bölgelerinin tanımlamalarda büyük öneme sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Grando *et al.* (2000), Trentino Bölgesi'ne (Kuzey İtalya) ait 36 eski asma çeşidi ile halen bu bölgede yetişmekte olan 12 yöresel asma çeşidini 7 mikrosatellit markörü ile taramışlardır. Toplamda 11 homonim çeşit bulunurken, araştırmada *Vitis vinifera* dışındaki *Vitis* cinsi türleri için karakteristik olan bazı alleller belirlenmiştir.

Malossini *et al.* (2000), ıslah çalışmaları sonucunda elde edilen "Incroci Rigotti" (IR) melezlerinde, genotip belirlemesi için mikrosatellit markörleri kullanmışlar ve sonuçta IR 107-2 ve IR 107-3 (Rebo) melezlerinin aynı olduğunu tespit etmişlerdir.

Merdinoglu *et al.* (2000), *Vitis vinifera*'nın 12 çeşidine ait 21 klonda üç farklı moleküler markör kullanarak (RAPD, AFLP, SSR) tanımlamalar yapmışlar ve her bir klon için polimorfizm yakalamışlardır.

Orta Avrupa'da yapılan bir çalışmada ise, *Vitis vinifera* subsp. *silvestris* çeşitlerine ait 44 genotip (Perret *et al.* 2000) 10 mikrosatellit lokusu ile çalışılmış ve genetik analizler sonucunda 49 allel tespit edilmiştir. Bu allellerden 17'sinin sadece kültür, 7'sinin ise sadece yabani asma genotiplerinde olduğu gözlenmiştir. Yabani ve kültür asmaları arasındaki genetik farklılıktan dolayı, denemedeki bazı çeşitlerin, doğal yabani asma orijinli olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Regner *et al.* (2000b), 300 kadar asma çeşidi ve *Vitis silvestris*'in 20 farklı genotipini mikrosatellit markörlerle analiz etmişler ve çalışmaları sonucunda *V. silvestris*'te bulunan

allelerin çoğunun *V. vinifera*'da da bulunduğunu bu nedenle *V. silvestris* ve *V. vinifera* arasında genetik olarak benzerlik olduğunu belirtmişlerdir.

Yüksek allellik farka sahip mikrosatellit markörler kullanılarak, USDA (The United States Department of Agriculture) ABD Ulusal Gen Bankası'ndan alınan 41 asmanın genetik kimliklendirilmesi yapılmıştır (Dangl *et al.* 2001). Önceki çalışmalarda bulunan sinonim çeşitlerin sinonim doğrulukları kanıtlanırken bu çeşitlere ek sinonim çeşitlerde bulunarak, yanlış isimlendirmeler düzeltilmiştir.

Fossati *et al.* (2001), İtalya "Schiave" grubuna ait 10 üzüm çeşidinde hem AFLP hem de SSR markörlerle çalışmışlardır. Ayrıca bu çalışmada; Schiave" çeşidine ait 33 farklı tipte AFLP analizi yapılarak homonim ve sinonim çeşitleri bulunmuştur.

Regner *et al.* (2001), *Vitis* türlerine ait 1200 kadar örneğin genetik tanımlamasını SSR, ISSR, AFLP ve RAPD gibi tekniklerle yapmışlardır. Ayrıca Avusturya' dan alınan 300'den fazla çeşitte 40 mikrosatellit markörü deneyerek genetik farklılık ve orijin araştırmaları gerçekleştirmişlerdir.

Schneider *et al.* (2001), araştırmalarında Fransa ve İtalya'nın kuzey batısından alınan ve sinonim olduğu düşünülen 31 çeşitte hem RAPD hem de mikrosatellit markörleri denemişlerdir. Araştırma sonucunda İtalya'nın "Neiret" çeşidi ile ve Fransa'nın "Verddese" çeşidinin, İtalya'nın "Bianver" çeşidi ile sinonim olduğunu belirlemişlerdir.

Uluslararası Asma Çeşit Katoloğunda sinonim çeşitler olarak verilen "Tintilia" (Tintiglia) ve "Bovale grande" çeşitlerinin genetik ilişkilerinin belirlenmesi için bu çeşitlere ait bölgelerden toplanan "Tintilia" klonları ve "Bovale grande" tipleri toplam 14 mikrosatellit markörü (VVS2, VVS3, VVS4, VVS5, VVMD6, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VVMD32, VVMD36, VrZAG62 ve VrZAG79) ile analiz edilmiştir (Reale *et al.* 2002). Araştırma sonucunda "Tintilia" klonlarının kendi içinde benzerlikler gösterdiğini ancak "Bovale grande" tipleri ile farklı bulunduğu açıklamışlardır.

Ulanovsky *et al.* (2002), 66 RAPD primeri ve 4 SSR primeri ile sinonim ve homonim oldukları tahmin edilen 39 üzüm çeşidinde araştırma yapmışlar ve incelenen Muscat çeşitlerinden çoğunun sinonim olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca Miguel de Arco,

Monastel, Monastrell ve Turruntés çeşitlerinin birbirleri ile homonim oldukları gösterilmiştir.

Aradhya *et al.* (2003) tarafından 222 kültür (*Vitis vinifera*) ve 22 yabani (*V. vinifera ssp. sylvestris*) asma çeşidinin genetik ayırım için 8 mikrosatellit lokusu kullanılmış ve toplamda 94 allel tespit edilmiştir.

İran ve ABD' ye ait 62 asma genotipi 9 mikrosatellit lokusunda kapiller elektroforez sistemi kullanılarak tanımlanmıştır (Fatahi *et al.* 2003). Heterozigotluk oranı 0.47–0.86 arasında belirlenmiştir. Analizler sonucu oluşturulan dendogram temelde sofralık, şaraplık ve anaçlar olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır.

Ibáñez *et al.* (2003) önceki çalışmalarda morfolojik ve izoenzimatik olarak ayırt edilmiş İspanya' ya ait 111 *Vitis vinifera* L. çeşidini kesin olarak tanımlamak ve yanlışlıkları ortadan kaldırmak için 13 mikrosatellit lokusu (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVS2, VVS5, VVS29, VrZAG29, VrZAG62, VrZAG67, VrZAG83, VrZAG79 ve VrZAG112) kullanmışlar ve araştırma sonucunda 96 farklı genotip bulmuşlardır. Kullanılan 13 mikrosatellit lokusundan 6'sı (VVMD5, VVMD27, VVMD28, VVS2, VVS5 ve srrVrZAG67) 0,10'dan daha küçük PI ile yüksek derecede bilgi verici olarak bulunmuştur. Çalışmada en fazla bilgi ise VVS5 lokusundan (16 allel) sağlanmıştır.

Martín *et al.* (2003), İspanya'daki asma gen bankası koleksiyonundan alınan 176 genotip 6 mikrosatellit markör ile (VVS2, VVMD5, VVMD7, ZAG47, ZAG62, ZAG79) analizi yapılmış ve 163 genotipin farklı çeşitler olduğu açıklanmıştır. 6 mikrosatellit markör içinden ise, en çok bilgi verici markörün VVMD5 olduğunu saptanmıştır.

Akkak *et al.* (2005) 12 SSR markörü (VVS2, VVS5, VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD27, VVMD31, VVMD36, VrZAG21, VrZAG62, VrZAG67, VrZAG79) kullanarak Akdeniz Bölgesinde yetişen *Vitis vinefera* L. çeşitleri arasında genetik ilişkiyi tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada kullanılan 60 çeşit arasında genetik farklılık 0,79 olarak belirtilmiştir. Ayrıca araştırmada, 60 çeşitte 34 farklı genotipin olduğu gösterilmiştir.



Costantini *et al.* (2005), Güney İtalya - Campania bölgesinden alınan 69 yerel asma çeşidine tekabül eden toplam 114 genotipi 8 mikrosatellit markör ile (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD31, VrZAG62, VrZAG79) tanımlamışlardır. Çeşitler arasındaki düşük genetik benzerlik oranlarından dolayı, Campania üzüm çeşitlerinin çok çeşitli ekocoğrafik bölgelerden gelmiş olabileceği ifade edilmiştir.

Arroyo-Garcia *et al.* (2006), 130 farklı lokasyondan toplanan 1201 asma genotipi (513 *Vitis vinifera* ssp. *sativa*, 688 *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*) kullanılarak yürütülen araştırmada 9 kloroplast SSR primeri kullanılmıştır. Bu çalışmada üzümün iki orjininden birinin Anadolu diğlerinin ise İspanya olduğu tespit edilmiştir.

Vouillamoz *et al.* (2006), Türkiye, Gürcistan ve Ermenistan'dan toplanan 116 genotipte 6 mikrosatellit markör (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62, VrZAG79 ve VVS2) ile genetik analizler yapmışlardır. Türk çeşitlerinden Dımışkı, Luvanek, Morek, Sungurlu ve Vilki'de 3 allel durumu gözlenmiştir. Ayrıca, Türkiye'deki çeşitler ile dünya çapında tanınmış diğ çeşitler arasında sinonim ilişkisi araştırılmış buna göre, İridaneli ile Italia, Parmak ile Jerusalem Bleu çeşitlerinin sinonim olabileceği belirtilmiştir.

Goto-Yamamoto *et al.* (2006), çalışmalarında 9 yeni mikrosatellit markör geliştirmişler (VMC2a1, VMC2b1, VMC2g2, VMC2a3, VMC2b3, VMC2c3, VMC2h4, VMC2a5, VMC2g6) ve bu markörlere ilave önceden tanımlanmış 8 mikrosatellit markörü (VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD8) ile birlikte Çin ve Japon çeşitlerini içeren 8 doğu ve 7 batı çeşidi arasındaki genetik ilişkiyi belirlemişlerdir.

Upadhyay *et al.* (2007) 21 Hindistan üzüm çeşidinde, 7 SSR primeri ve 7 AFLP primeri kullanarak çalışmışlar; toplamda 56 SSR alleli ve 252 AFLP bandı tespit etmişlerdir. Çalışmada genetik benzerlik AFLP için; 0.068 ile 0.36 ve SSR için ise; 0.13 ile 0.36 arasında değişmiştir.

Karaağaç *et al.* (2006); 48 üzüm çeşidinde 17 mikrosatellit markörü kullanarak genetik tanımlamalar yapmış ve araştırma sonucunda çeşitlere ait allel sayısını en az 4, en fazla 13 olarak bulmuştur. Ayrıca, Dusuzu ile Dımışkı çeşitlerini sinonim çeşitler olarak belirlemiştir.

Martínez L.E. *et al.* (2006), Peru ve Arjantin' e ait 25 *Vitis vinefera* L. çeşidini VVMD5, VVMD7, VVMD31, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79 SSR lokusunda çalışmışlardır. Toplamda 76 farklı genotipin bulunduğu çalışmada, bazı lokuslarda üçlü allellik durumu gözlemlenmiştir. Bu lokuslar, sekanslama yapılarak tekrar bölgelerinde herhangi bir nedenle oluşan insersiyon ya da delesyon sonucunda üçlü allel çıkabileceği açıklanmıştır.

Şelli *et al.* (2007), Türk gemre ve dimrit çeşitlerinde 8 SSR lokusu kullanarak yaptıkları tanımlama çalışması sonucu, dimrit grubundan bir aynı çeşit, 1 sinonim ve 4 homonim tespit ederlerken; gemre grubunda ise 3 sinonim belirlemişlerdir.

Santana *et al.* (2007), İspanya üzüm çeşitlerinden 65'ini kullanarak 6 SSR lokusu ile gerçekleştirdikleri araştırmalarında, çeşitlerin ampelografik özelliklerine uygun olarak 13 sinonim ve 3 homonim grup tespit etmişlerdir.

Dilli (2008), Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidine ait 5 tip, Pembe Gemre, Osmanca, İpek üzüm çeşitlerine ait 9 klon ve Ege Bölgesi için önemi olan 15 yerel çeşit ile 2 referans çeşit olmak üzere toplam 31 üzüm çeşidinin (*Vitis vinifera* L.) SSR genetik analizleri 16 mikrosatellit markör kullanarak gerçekleştirmiştir. Araştırmacı klonal düzeyde polimorfiklik yakaladıklarını bildirmiştir.

### **3.MATERYAL ve YÖNTEM**

Bu araştırma, 2008 yılında Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

#### **3.1 Materyal**

Araştırmada bitkisel materyal olarak; Manisa (14 genotip), İzmir (10 genotip), Aydın (4 genotip), Muğla (6 genotip) ve Kütahya (17 genotip) illerine ait 51 üzüm çeşidi ile Denizli iline ait 2 adet Çekirdeksiz üzüm çeşidi ve 2 adet referans çeşit (Carbnet Sauvignon ve Merlot) olmak üzere toplam 55 genotip kullanılmıştır. Çeşitlere ait sürgün ucu ve genç yapraklar Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü "Milli Koleksiyon Bağı"ndan sağlanmıştır. Bölge ile özdeşleşmiş Sultani Çekirdeksiz çeşitlerinin, Milli Koleksiyon kayıtları çerçevesinde tez konusu seçilen illerde bulunmaması nedeni ile bu materyaller bölgede yer alan Denizli ilinden seçilmiştir. Araştırmada kullanılan üzüm çeşitlerinin iller bazında isimleri ve üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler Çizelge 3.1' de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Manisa, Muğla, İzmir, Kütahya ve Aydın illerine ait üzüm çeşitlerinin bazı ampelografik özellikleri

No	DNA No	Bağ Sıra No	İl	Çeşit adı	Sinonim	Salkım şekli	Tane Şekli	Tane rengi	Olgunluk tarihi
1	600	438	45	Şaraplık Üzüm	-	Silindirik	Yuvarlak	Kırmızı Siyah 1	Eylül Başı
2	656	445	45	Tek Çekirdekli	-	Dallı Konik	Elips	Beyaz	Ekim Başı
3	611	440	45	Kırmızı Şam	Kırmızı Üzüm	Ç.Uzun Konik	Yuvarlak	Kırmızı	Eylül Ortası
4	617	441	45	Bulama	-	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Eylül Başı
5	655	444	45	Beyaz Şam	-	Dallı Konik	Keçi Memesi	Beyaz	Eylül Ortası
6	678	446	45	Antep Şamı	-	Konik	Elips	Siyah	Ağustos Sonu
7	718	450	45	Gode Banma	-	Dallı Konik	İğ	Beyaz	Ekim Başı
8	719	451	45	Dikilitaş	-	Konik	Elips	Siyah	Temmuz Sonu
9	588	485	45	Pembe Üzüm	-	D.Konik	Elips	Pembe Beyaz	Ekim Başı
10	593	487	45	Hacı Hıdır	-	Konik	Elips	Koyu Kırmızı	Ağustos Sonu
11	618	492	45	Duman	-	Sık Konik	Yuvarlak	Açık Kırmızı	Ekim Sonu
12	654	495	45	Hasan Üzümü	-	Konik	Elips	Koyu Kırmızı	Ağustos Başı
13	735	452	45	Nar Üzümü	-	Konik	Elips	Pembe	Eylül Ortası
14	605	439	45	Bulama	Koyun Gözü	Sık Silindirik	Yuvarlak	Beyaz	Ekim Başı
15	652	644	48	Buçuk Arşın	-	Uzun Silindirik	Silindirik	Beyaz	Eylül Sonu
16	660	645	48	Kütür Üzümü	-	Konik	Armut	Beyaz	Ekim Başı
17	747	654	48	Beylerce	-	Konik	Elips	Beyaz	Eylül Sonu
18	715	602	48	Bandırma	-	Konik	İğ	Beyaz	Ekim Başı
19	698	600	48	Buzağı Boku	Dana Boku Buzagıtek	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Eylül Sonu
20	703	601	48	Ekşi Üzüm	-	Konik	-	Beyaz	Eylül Sonu
21	748	606	48	Köfte Üzümü	-	Dallı Konik	Yuvarlak	Beyaz	Ağustos Sonu
22	636	595	48	Pek	İpek	Uzun Konik	Elips	Beyaz	Kasım Başı
23	722	603	48	Beyaz Şam	-	Dallı Konik	İğ	Beyaz	Ekim Ortası
24	714	650	48	Tavşan Böbreği	-	Silindirik	Elips	Siyah	Ağustos Başı
25	675	646	48	Kızıl Üzüm	-	Uzun Konik	Yuvarlak	Kızıl	Eylül Sonu
26	676	598	48	Sıksarı	-	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Eylül Başı
27	610	686	48	Seyrek Sıkça	Seyrekçe	Konik	Elips	Beyaz	Ekim Ortası

-: Veri bulunmamaktadır

Çizelge 3.1.(devam)

No	DNA No	Bağ Sıra No	İl kodu	Çeşit adı	Sinonim	Salkım Şekli	Tane Şekli	Tane rengi	Olgunluk tarihi
28	614	592	48	Pembe Çekirdeksiz	-	Uzun Konik	Yuvarlak	Pembe	Ağustos Sonu
29	620	593	48	Alyanak	-	Konik	Elips	Pembe	Eylül Ortası
30	615	640	48	Zeynel	-	Konik	Elips	Beyaz	Eylül Başı
31	732	604	48	Koz Üzümü	-	Uzun Konik	Yuvarlak	Beyaz	Ağustos Sonu
32	687	822	35	Gelin Dudağı	-	Konik	Yuvarlak	Pembe	Ağustos Ortası
33	692	854	35	Bolat	Kese Yırtan	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Eylül Ortası
34	688	853	35	Sıksarı	-	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Eylül Ortası
35	729	827	35	Bademiye Üzüm	-	Konik	Elips	Beyaz	Ekim Sonu
36	632	848	35	Zeytin Üzümü	-	Silindirik	Armut	Siyah	Eylül Ortası
37	665	851	35	Osmancık	-	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Eylül Sonu
38	642	849	35	Eksi Üzüm	-	Silindirik	Elips	Siyah	Kasım Sonu
39	693	823	35	Hacı Azman	-	Konik	Yuvarlak	Siyah	Eylül Başı
40	707	824	35	Efe Püskülü	-	Konik	Elips	Pembe	Eylül Sonu
41	745	829	35	Kayacık	-	Konik	Sığ	Beyaz	Ekim Ortası
42	639	735	43	Paşalar	-	Dallı Konik	Elipsoit	Beyaz	-
43	650	736	43	Ahmet Üzümü	-	Konik	Uzun Elipsoit	Beyaz	Eylül Sonu
44	685	739	43	Nuribey Üzümü	-	Konik	Uzun Elipsoit	Pembe	Eylül Sonu
45	695	740	43	Paşalar	-	Konik	Elipsoit	Beyaz Kınalı	Ekim Başı
46	673	738	43	Büzgülü	Gediz	Uzun Konik	Elipsoit	Siyah	Eylül Ortası
47	731	744	43	Tek Çekirdekli	-	Seyrek Konik	Elipsoit	Beyaz	Eylül Ortası
48	726	857	09	Foça Karası	-	Konik	Yuvarlak	Siyah	-
49	709	856	09	Kınalı Belerce	-	Konik	Elips	-	-
50	728	858	09	Güvercin Gözü	-	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Eylül Başı
51	743	859	09	Sulu Belerce	Kara Belerce	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Ağustos Sonu
52	542	542	20	Sultaniye	-	Silindirik	Elips	Siyah	-
53	589	589	20	Kınalı Sultani	-	Konik	Yuvarlak ucu dikenli	Pembemsi	Eylül Sonu
54	C.S	-	-	Cabernet Sauvignon	-	Uzun Konik - Silindirik	Yuvarlak	Mavi gri siyah	-
55	M	-	-	Merlot	-	Piramidal-Silindirik	Yuvarlak	Mavi-Siyah	-

-: Veri bulunmamaktadır.

## 3.2 Yöntem

Tezde uygulanan yöntem Şekil 3.1’de gösterildiği şekilde aşağıdaki aşamalardan oluşmaktadır.

- (a) DNA izolasyonu ve ölçümleri
- (b) PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR
- (c) Kapilleri elektroforez
- (d) Allel görüntülerinin alınması
- (e) Genetik analizler

## Yöntem

(a) DNA izolasyonu ve ölçümleri

Bitkisel  
materyal

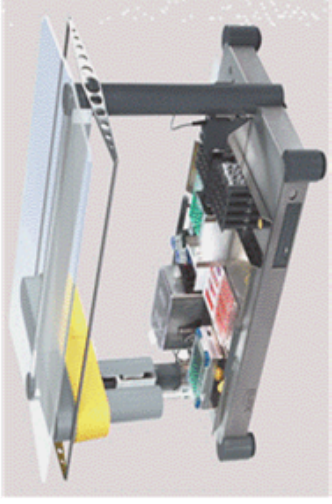


Ürün



Spektrofotometre

(b) PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR

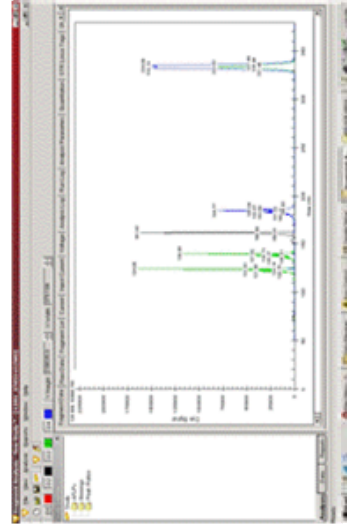


Pipetleme istasyonu

Termocycler



(d) ADEL görüntülerinin alınması



(e) Genetik analizler



(c) Kopyaları elektroforez



Biyoteknik Genetik Analiz sistemi

Şekil 3.1. Tezde uygulanan yöntem aşamaları

### 3.2.1 DNA İzolasyonu ve ölçümleri

Araştırmada çalışılan 55 üzüm çeşidinin DNA izolasyonları aşağıda metot açıklaması verilen Lefort *et al.* (1998) yöntemine göre yapılırken, DNA kalite ve miktar ölçümleri amacı ile %1'lik jel ve Nanodrop ND-1000 spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır.

- Genç yaprak veya sürgün ucu sıvı azotla ezildi,
- 100mg alınarak 2 µl ependorf tüplere aktarıldı,
- Tüplerin üzerine 1 ml DNA ekstraksiyon solüsyonu eklendi,
- 65 °C'de arasıra 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,
- 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 eklenerek, 37 °C'de 15 dk bekletilerek, RNA uzaklaştırıldı.

#### İzolasyon çözeltisi (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

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



RNase-A (Applichem); 100mg/ml

### 3.2.2 PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR

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

PCR reaksiyonu için kullanılan PCR programı:

1. 94 °C' de 3 dk,
2. 94 °C' de 1 dk
3. 48 – 66 °C' de 1 dk
4. 72 °C' de 2 dk
5. 72 °C' de 10 dk olmak üzere toplam 35 döngü olarak 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:

Üzümde standart set olarak kabul gören VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 ve VrZAG79 (This *et al.* 2004) mikrosatellit lokusları da dahil olmak üzere toplam 15 SSR primeri kullanılmıştır. Her forward primer D4 (mavi), D3 (yeşil) ve D2 (siyah) (Prologo, 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

No	Lokus adı	Primer dizileri(5'...3')	İşaretleme boyası	Tm (°C)
1	VrZAG79F**	agattgtggaggaggaacaaaccg	Yeşil	66
	VrZAG79-R	tgccccattttcaactcccttc		
2	VVIH54 F**	ccgcactgtgtgaatttcag	Siyah	55
	VVIH54 R	caaaccgttttacaccagcag		
3	VVMD24-F**	gtggatgatggagtagtcacgc	Mavi	55
	VVMD24-R	gatttaggtcatgttggtgaagg		
4	VVMD7-F**	agagttgcggagaacaggat	Yeşil	55
	VVMD7-R	cgaacctcacacgcttgat		
5	VVMD28-F**	aacaattcaatgaaaagagagagaga	Yeşil	55
	VVMD28-R	tcatcaatttcgtatctctatttgctg		
6	VVMD27-F**	gtaccagatctgaatacatccgtaagt	Siyah	55
	VVMD27-R	acgggtatagagcaaacggtgt		
7	VMC2H4 F**	accaggtgtgcctataagaatc	Yeşil	50
	VMC2H4 R	tctctggaacatccaatcaac		
8	VVIB01 F**	tgacctcgaccttaaatctt	Mavi	55
	VVIB01 R	tggtgagtgcaatgatagtaga		

Çizelge 3.2.(devam)

No	Lokus adı	Primer dizileri(5'...3')	İşaretleme boyası	Tm (°C)
9	VrZAG83-F**	ggcggaggcggtagatgagagggcg	Mavi	66
	VrZAG83-R	acgcaacggctagtaataacaacgg		
10	VVS2-F**	cagcccgtaaattgatccatc	Mavi	55
	VVS2-R	aaattcaaaattctaattcaactgg		
11	VVMD5-F**	ctagagctacgccaatcaa	Siyah	55
	VVMD5-R	tataccaaaaatcatattcctaaa		
12	VrZAG62-F**	ggtgaaatgggcaccgaacacacgc	Mavi	55
	VrZAG62-R	ccatgtctctctcagcttctcagc		
13	VVMD31-F**	cagtggttttcttaagttcaagg	Siyah	55
	VVMD31-R	ctctgtgaaagaggaagagacgc		
14	VMC2C3 F**	tgcaatcccattattatctctt	Siyah	48
	VMC2C3 R	aatattttagaatgggtgctttt		
15	VVS1 F**	acaattggaaccgcgtggag	Siyah	53
	VVS1 R	cttctcaatgatattctaaaacatg		

\*\* : Floresan işaretli

### 3.2.3 Kapilleri elektroforez ve Allel görüntülerinin alınması

Tezde kapilleri elektroforez amacıyla Beckman CEQ™ 8800 Genetik Analiz Sistemi kullanılmıştır. Tez çeşit ve referanslarına ait genotiplerin PCR ürünleri işaretlemede 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 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.

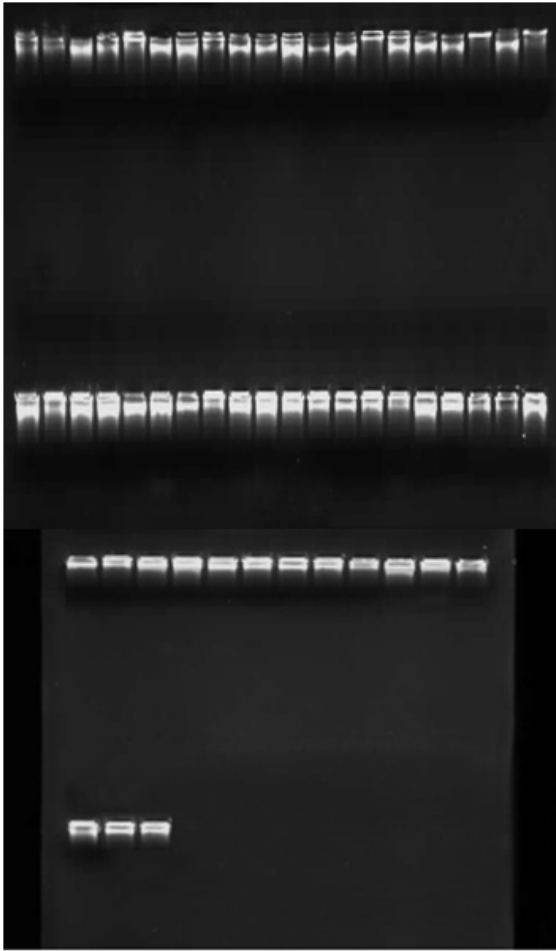
### 3.2.4 Genetik analizler

Araştırmadaki 2 referans çeşit dahil toplam 55 genotipin genetik analizleri Şelli *et al.* (2007)'de belirtildiği Şekilde gerçekleştirilmiştir. Buna göre; genetik parametreler (her lokusa ait allel sayısı, allel frekansı, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI, Probability of Identity) IDENTITY 1.0 (Wagner and Sefc 1999) yazılım programı ile, benzerlik oranı indeksi ise Microsat (Minch *et al.* 1995) programı kullanılarak tespit edilmiştir. Genotiplere ait dendogram NTSYS (versiyon 2.02g, Exeter Software, Setauket, NY) yazılım programıyla oluşturulmuş ve görüntülenmiştir. Dendogram için UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means) yöntemi kullanılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 DNA İzolasyonu ve ölçümleri

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



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

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

No	DNA no	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
1	600	1908,36	38,167	19,563	1,95
		1980,68	39,614	20,372	1,94
		2046,28	40,926	21,072	1,94
2	656	3052,5	61,05	31,215	1,96
		3871,87	77,437	40,125	1,93
		3337,83	66,757	34,265	1,95
3	611	2403,21	48,064	24,506	1,96
		2522,59	50,452	25,639	1,97
		2389,04	47,781	24,339	1,96
4	617	3343,73	66,875	34,733	1,93
		3121,77	62,435	32,114	1,94
		3058,49	61,17	31,417	1,95
5	655	2421,59	48,432	24,841	1,95
		2424,6	48,492	24,837	1,95
		2390,97	47,819	24,516	1,95
6	678	1970,11	39,402	20,405	1,93
		1962,61	39,252	20,356	1,93
		1974,45	39,489	20,469	1,93
7	718	1769,09	35,382	19,062	1,86
		1725,69	34,514	18,45	1,87
		1695,71	33,914	18,028	1,88
8	719	1409,18	28,184	15,135	1,86
		1427,04	28,541	15,315	1,86
		1397,89	27,958	15,009	1,86
9	588	3564,27	71,285	36,436	1,96
		3616,17	72,323	36,882	1,96
		3608,05	72,161	36,882	1,96
10	593	1419,69	74,285	30,496	1,86
		1438,98	71,313	30,782	1,86
		1415,98	74,171	30,712	1,86
11	618	3657,19	73,155	37,762	1,94
		3473,85	69,477	35,812	1,94
		3718,81	74,376	38,779	1,92
12	654	1603,96	32,079	16,534	1,94
		1629,82	32,596	16,816	1,94
		1598,6	31,972	16,461	1,94
13	735	3773,74	75,475	38,791	1,95
		3783,91	75,678	38,983	1,94
		3820,91	76,418	39,173	1,95

Çizelge 4.1.(devam)

No	DNA no	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
14	605	4115,33	82,307	43,033	1,91
		4185,66	83,713	43,59	1,92
		4130,12	82,602	42,971	1,92
15	652	1907,39	38,148	19,927	1,91
		1969,62	39,392	20,588	1,91
		1932,88	38,658	20,209	1,91
16	660	4701,81	94,036	51,86	1,81
		4758,04	95,161	53,129	1,79
		4764,09	95,282	52,926	1,8
17	747	1663,46	33,269	17,488	1,90
		1720,21	34,404	18,317	1,88
		1658,9	33,178	17,32	1,92
18	715	2095,86	41,917	22,329	1,88
		2128,81	42,576	22,709	1,87
		2130,71	42,614	22,751	1,87
19	698	3735,33	74,707	38,469	1,94
		3832,33	76,647	39,66	1,93
		3786,96	75,739	38,943	1,94
20	703	361,72	7,234	5,263	1,37
		386,25	7,725	5,46	1,41
		382,36	7,647	5,47	1,4
21	748	3996,59	79,932	41,874	1,91
		3699,9	73,998	38,196	1,94
		3762,58	75,252	38,921	1,93
22	636	1850,3	37,006	19,145	1,93
		1842,37	36,847	19,077	1,93
		1876,6	37,532	19,411	1,93
23	722	2117,01	42,34	21,867	1,94
		2151,84	43,037	22,705	1,90
		2120,5	42,41	21,944	1,93
24	714	878,48	17,57	10,175	1,73
		870,6	17,412	10,025	1,74
		898,87	17,977	10,343	1,74
25	675	3196,19	70,832	31,774	1,90
		3239,9	71,898	32,196	1,92
		3332,58	71,152	31,921	1,93
26	676	3144,77	62,895	32,385	1,94
		3194,94	63,899	32,941	1,94
		3181,78	63,636	32,831	1,94

Çizelge 4.1.(devam)

No	DNA no	Miktar ng/ul	A260	A280	Safılık 260/280
27	610	2334,7	46,694	23,305	2,00
		2307,92	46,158	22,994	2,01
		2301,47	46,029	22,958	2,00
28	614	1674,14	13,483	7,76	1,74
		1588,68	11,774	7,093	1,76
		1641,9	12,838	7,563	1,70
29	620	988,03	19,761	10,905	1,81
		964,69	19,294	10,653	1,81
		1000,91	20,018	10,993	1,82
30	615	1812,77	36,255	19,547	1,85
		1834,74	36,695	19,858	1,85
		1833,49	36,67	19,903	1,84
31	732	2427,51	48,55	25,447	1,91
		2431,23	48,625	25,436	1,91
		2469,14	49,383	25,902	1,91
32	687	1755,51	35,11	19,58	1,79
		1744,69	34,894	19,472	1,79
		1754,41	35,088	19,536	1,8
33	692	1373,77	7,475	4,937	1,71
		1365,8	7,316	4,771	1,73
		1387,86	7,757	5,263	1,77
34	688	2431,94	48,639	25,445	1,91
		2436,73	48,735	25,481	1,91
		2428,91	48,578	25,39	1,91
35	729	1090,21	21,804	11,512	1,89
		1084,95	21,699	11,47	1,89
		1030,51	20,61	10,789	1,91
36	632	1629,34	12,587	7,045	1,79
		1596,94	11,939	6,962	1,71
		1613,88	12,278	6,866	1,79
37	665	1817,91	36,358	19,048	1,91
		1825,25	36,505	19,115	1,91
		1824,07	36,481	19,139	1,91
38	642	2933,24	58,665	30,6	1,92
		2973,28	59,466	31,033	1,92
		2942,93	58,859	30,643	1,92
39	693	1447,2	18,944	6,014	1,79
		1442,84	18,857	5,953	1,79
		1441,28	18,826	5,939	1,79



Çizelge 4.1.(devam)

No	DNA no	Miktar ng/ul	A260	A280	Safılık 260/280
40	707	2298,89	45,978	23,878	1,93
		2294,21	45,884	23,633	1,94
		2278,65	45,887	23,788	1,92
41	745	1089,19	50,345	28,987	1,88
		1079,18	50,324	28,245	1,87
		1077,32	50,123	28,243	1,90
42	639	1847,5	50,952	25,382	1,93
		1912,99	50,262	25,698	1,92
		1878,41	51,568	24,149	1,93
43	650	1882,12	45,987	24,234	1,89
		1896,18	45,789	24,245	1,88
		1899,18	45,467	24,254	1,90
44	685	1047,5	20,95	22,182	1,83
		1012,99	20,26	21,718	1,82
		1078,41	21,56	22,399	1,83
45	695	2599,75	26,381	9,529	1,72
		2175,65	25,507	8,802	1,76
		2405,28	26,102	9,276	1,74
46	673	1819,05	16,381	9,529	1,72
		1775,35	15,507	8,802	1,76
		1805,08	16,102	9,276	1,74
47	732	1939,73	18,795	11,055	1,70
		1901,96	18,039	10,706	1,79
		1980,76	18,098	11,708	1,80
48	726	1683,16	37,663	23,194	1,82
		1621,12	12,422	22,53	1,85
		1597,96	11,959	22,3	1,84
49	709	1573,88	11,478	8,637	1,73
		1534,07	10,681	8,301	1,79
		1537,39	10,748	8,336	1,79
50	728	1314,64	60,293	14,117	1,83
		1341,74	60,835	14,744	1,84
		1321,71	61,434	14,238	1,82
51	743	12311,41	65,228	24,526	1,88
		12310,71	64,214	24,566	1,86
		12313,05	65,261	24,585	1,87

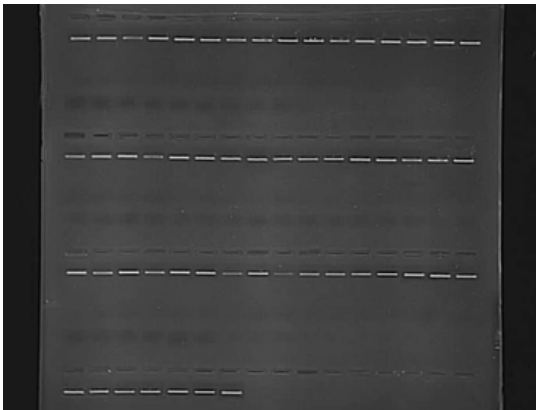
Çizelge 4.1.(devam)

No	DNA no	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
52	599	853,05	17,061	8,009	2,13
		867,52	17,35	8,17	2,12
		864,87	17,297	8,099	2,14
53	613	1275,29	25,506	12,878	1,98
		1265,35	25,307	12,751	1,98
		1275,61	25,512	12,798	1,99
54	Cabernet Sauvignon	1263,02	25,69	13,156	1,92
		1282,97	24,65	13,414	1,91
		1225,23	24,505	12,814	1,91
55	Merlot	1419,69	28,394	15,838	1,79
		1438,82	28,776	16,185	1,78
		1430,68	28,614	16,177	1,77

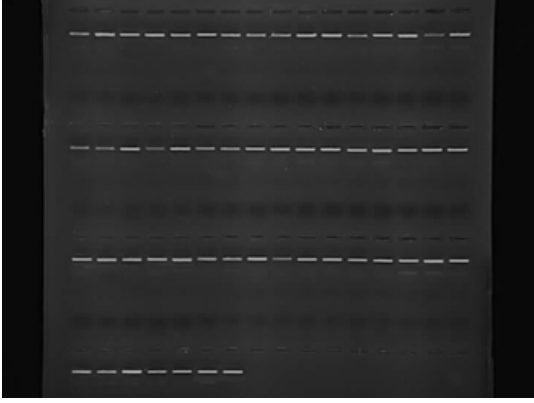
SSR amaçlı kullanılan nükleik asitlerde; safılık (A260/A280) oranının yaklaşık 1.8–2.0 olması gerekmektedir. Araştırmada kullanılan DNA safılık oranları genel olarak bu sınırlar içerisinde yer alırken, jel görüntülerinde kırksız (smear) bir bant görüntüsü kaliteli DNA izolasyonunun göstergesidir.(Şekil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

#### 4.2 SSR lokuslarının PCR reaksiyonu ve Allel görüntülerinin alınması

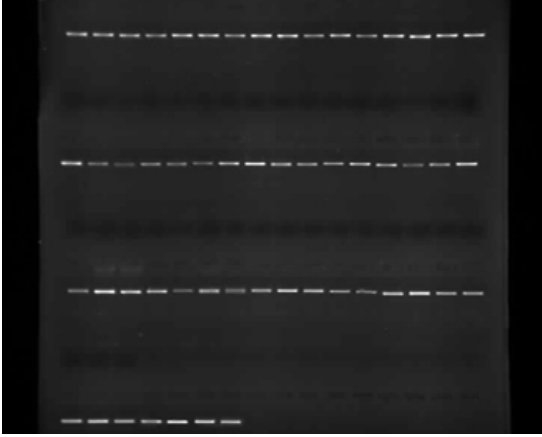
Bazı SSR lokuslarına ait PCR sonrası örnek jel görüntüleri Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6'da verilmiştir.



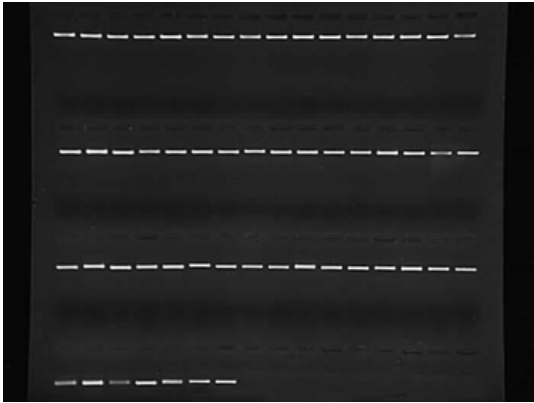
Şekil 4.2. VVMD7 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.3. VVIB01 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.4. VrZAG83 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü



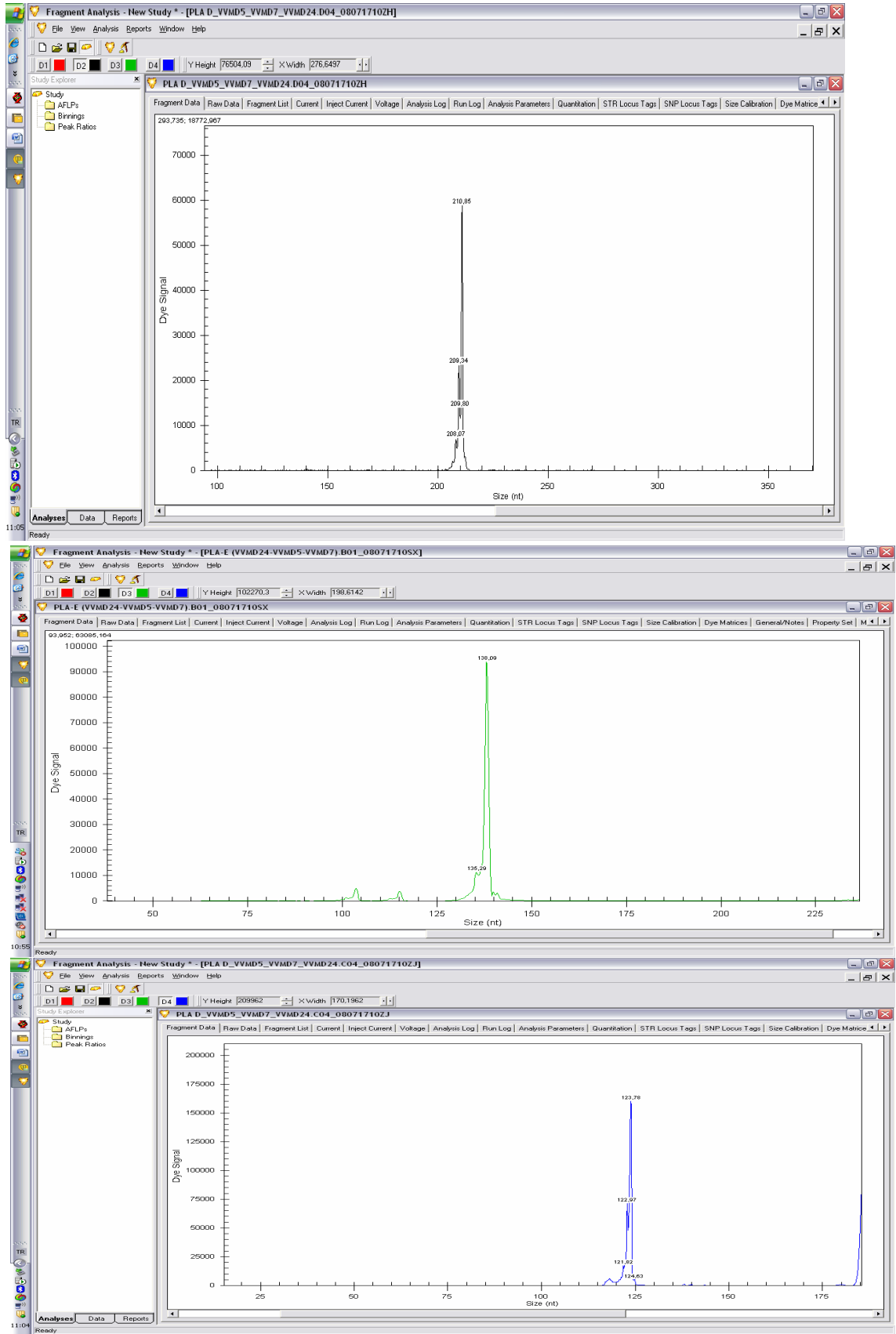
Şekil 4.5. VVS2 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.6. VVMD31 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü

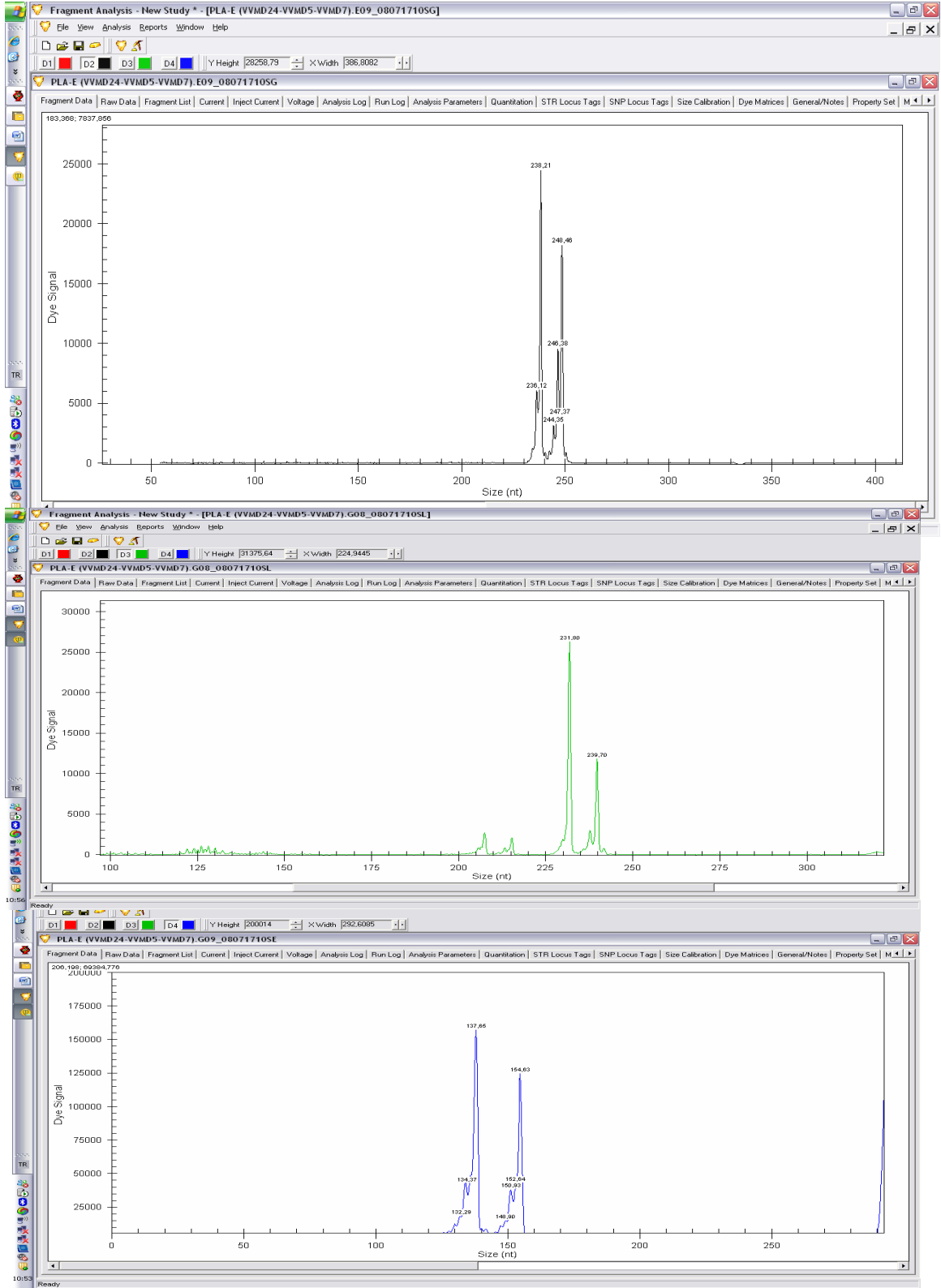
Her lokustaki allel büyüklükleri pik verisi olarak sistemin fragment analiz programı ile belirlenmiştir. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki farklı görünüşleri Şekil 4.7’de sunulmuştur.

(A)



Şekil 4.7. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki farklı görünüşleri (A: farklı boylarla işaretlenmiş homozigot allel görünüşleri).

(B)



Şekil 4.7.(devam) Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki farklı görünüşleri (B: farklı boyalarla işaretlenmiş heterozigot allel görünüşleri).

PCR aşamalarında (Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6) elde edilen net bant görüntüleri ile lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki (Şekil 4.7) rahat görüntülenebilen pikleri tezin metot aşamalarında iyi optimizasyonların göstergesi olup, tüm lokuslardaki allel tiplerinin (homozigot ve heterozigot) ve büyüklüklerinin başarılı bir şekilde tespit edilmesine olanak sağlamıştır.

### **4.3 Genetik analizler**

Araştırmada 15 SSR lokusu ait allel büyüklükleri baz çifti (bp, basepair) olarak Çizelge 4.2.de sunulmuştur. Ayrıca Cabernet Sauvignon ve Merlot çeşitleri de referans çeşit olarak örneklerle beraber analiz edilmiştir.

Çizelge 4.2. Üzüm çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp), CS: Cabernet Sauvignon, M: Merlot

NO	Çeşitler	Mikrosatellit lokusları							
		VrZAG79F	VrZAG79F	VVIH54	VVIH54	VVMD24	VVMD24	VVMD7	VVMD7
1	600	248	258	164	164	207	207	246	246
2	656	246	256	150	162	207	207	236	250
3	611	258	258	138	176	215	215	240	250
4	617	242	250	164	164	207	211	244	246
5	655	250	256	176	176	207	211	244	248
6	678	246	256	158	164	207	217	238	246
7	718	238	242	162	174	207	217	236	246
8	719	250	258	164	164	207	207	236	236
9	588	254	254	150	168	207	209	244	244
10	593	248	250	166	176	207	207	236	246
11	618	242	258	164	178	207	215	236	250
12	654	242	250	162	162	207	207	236	240
13	735	250	250	162	162	207	215	236	240
14	605	242	250	164	164	207	211	244	246
15	652	242	242	164	164	207	207	236	244
16	660	246	256	162	162	207	217	238	250
17	747	246	250	164	176	211	215	246	246
18	715	242	250	164	176	207	207	236	246
19	698	242	258	150	164	207	207	246	246
20	703	250	258	164	176	211	215	250	256
21	748	242	258	150	164	207	207	246	246
22	636	242	242	164	174	207	207	246	250
23	722	246	250	176	176	207	211	244	248
24	714	242	246	162	174	207	217	246	250
25	675	242	258	164	176	207	207	236	242
26	676	250	258	164	174	207	211	236	250
27	610	242	250	164	174	207	207	244	244
28	614	242	258	162	162	207	207	236	246
29	620	258	258	162	162	207	215	250	250
30	615	246	256	162	162	207	215	238	250
31	732	246	250	164	164	211	215	246	246
32	687	242	246	166	176	207	207	236	246
33	692	242	258	166	174	207	215	236	236
34	688	250	258	164	174	207	211	236	250
35	729	242	250	164	176	207	207	236	236
36	632	250	258	164	176	207	211	236	244
37	665	250	256	158	164	207	207	234	250
38	642	250	258	164	176	207	211	230	258
39	693	250	256	142	164	207	211	236	246
40	707	258	258	138	176	217	217	240	250
41	745	242	242	142	164	207	207	246	250
42	639	242	250	164	176	207	207	236	246
43	650	246	256	162	162	207	215	236	236
44	685	242	258	162	174	207	207	236	246
45	695	250	250	148	176	207	215	246	246
46	673	246	250	174	174	207	207	244	244
47	731	246	250	150	164	211	215	238	246
48	726	250	258	162	162	207	207	242	260
49	709	242	246	164	176	211	215	246	246
50	728	242	258	150	164	211	215	236	250
51	743	246	250	164	164	207	215	246	246
52	599	242	258	164	174	207	207	246	250
53	613	242	250	164	164	207	207	236	240
54	CS	246	246	164	178	207	217	236	236
55	Merlot	258	258	164	164	207	211	236	244



Çizelge 4.2.(devam)

NO	Çeşitler	Mikrosatellit lokusları							
		VVMD28	VVMD28	VVMD27	VVMD27	VMC2H4	VMC2H4	VVIB01	VVIB01
1	600	235	243	179	181	202	214	292	296
2	656	217	243	181	195	204	214	292	300
3	611	243	257	181	195	198	206	292	308
4	617	247	257	189	195	206	206	296	308
5	655	245	247	181	193	204	214	292	292
6	678	235	243	195	195	204	206	292	292
7	718	233	243	179	185	200	200	292	296
8	719	247	247	185	195	200	214	292	296
9	588	243	243	179	185	214	214	296	296
10	593	233	233	185	195	200	214	294	294
11	618	247	257	181	185	200	214	292	292
12	654	257	257	185	185	200	214	292	296
13	735	235	243	185	185	200	214	292	296
14	605	247	257	189	195	206	206	294	306
15	652	217	257	185	195	204	220	294	298
16	660	217	243	181	195	204	214	292	300
17	747	243	257	175	185	214	224	292	296
18	715	247	257	185	185	200	214	292	296
19	698	235	243	181	185	214	214	292	296
20	703	243	257	181	193	206	214	292	296
21	748	235	243	181	181	214	214	292	296
22	636	243	257	185	185	214	214	292	296
23	722	245	247	181	195	204	214	292	296
24	714	243	257	179	195	204	220	292	300
25	675	245	257	179	185	206	214	292	296
26	676	247	257	181	185	206	206	292	292
27	610	243	257	183	185	206	214	292	292
28	614	233	243	185	195	214	214	292	296
29	620	217	247	181	195	204	214	292	298
30	615	217	243	181	195	204	214	292	298
31	732	243	245	179	183	202	206	292	298
32	687	257	257	185	185	198	214	294	298
33	692	233	243	181	189	206	214	292	292
34	688	247	257	181	185	206	206	292	292
35	729	257	257	185	185	200	214	292	294
36	632	235	257	181	185	214	220	292	296
37	665	243	243	179	195	206	214	292	296
38	642	243	243	181	185	206	214	292	306
39	693	257	257	179	195	206	224	292	296
40	707	243	257	181	195	198	198	292	306
41	745	257	257	185	185	214	214	292	296
42	639	233	257	185	185	200	214	292	296
43	650	217	243	181	195	204	214	292	300
44	685	243	243	181	185	214	220	292	296
45	695	257	257	185	185	214	214	292	292
46	673	233	243	179	185	214	220	292	296
47	731	243	257	175	185	214	224	292	296
48	726	235	247	189	189	200	214	296	296
49	709	243	257	175	185	214	224	292	296
50	728	233	243	181	189	206	214	292	292
51	743	243	243	185	195	214	214	292	292
52	599	257	257	181	185	200	214	292	292
53	613	235	257	185	185	200	214	292	296
54	CS	233	235	175	189	212	220	292	292
55	Merlot	227	233	189	191	198	212	292	296

Çizelge 4.2. (devam)

NO	Çeşitler	Mikrosatellit lokusları							
		VrZAG83	VrZAG83	VVS2	VVS2	VVMD5	VVMD5	ZAG62	ZAG62
1	600	191	191	133	143	233	237	188	200
2	656	185	191	143	151	231	231	188	188
3	611	185	191	143	149	223	229	188	188
4	617	191	191	133	143	225	237	202	202
5	655	185	191	151	151	235	235	188	204
6	678	191	191	133	143	225	235	188	200
7	718	185	191	145	151	233	233	188	194
8	719	185	191	143	145	235	235	204	204
9	588	185	191	137	143	233	237	188	204
10	593	187	191	135	145	229	233	188	188
11	618	187	191	143	145	223	237	186	196
12	654	185	185	131	141	235	235	188	200
13	735	185	185	133	135	233	237	186	188
14	605	183	191	133	143	225	237	202	204
15	652	191	191	143	145	231	231	188	188
16	660	185	191	145	151	231	231	188	200
17	747	185	187	131	143	223	237	188	200
18	715	185	191	133	135	223	229	186	188
19	698	185	187	143	143	233	237	188	202
20	703	187	191	131	149	225	233	186	194
21	748	185	187	143	143	233	237	188	202
22	636	185	191	131	143	223	237	186	188
23	722	185	191	151	151	235	235	188	204
24	714	185	185	137	151	231	233	188	200
25	675	187	191	141	151	223	229	196	202
26	676	191	191	145	151	225	237	188	188
27	610	185	187	135	143	233	237	194	194
28	614	185	191	131	149	231	237	186	188
29	620	191	191	143	143	223	231	188	200
30	615	185	191	145	151	229	231	188	188
31	732	191	191	145	151	231	237	194	204
32	687	187	191	133	143	223	233	188	190
33	692	187	191	135	145	229	235	188	188
34	688	191	191	145	151	225	237	188	188
35	729	185	191	133	135	223	229	188	188
36	632	185	191	137	141	229	243	186	188
37	665	185	195	133	151	231	231	196	204
38	642	185	191	133	141	231	237	196	204
39	693	185	197	143	143	229	237	188	200
40	707	185	191	143	147	223	237	188	188
41	745	185	191	133	145	223	237	186	186
42	639	185	191	131	133	223	229	186	188
43	650	185	191	143	149	225	231	188	188
44	685	185	185	133	143	233	243	188	200
45	695	185	191	131	133	229	237	186	188
46	673	185	191	137	143	233	233	188	200
47	731	185	187	133	143	223	237	188	200
48	726	187	191	135	145	237	237	200	204
49	709	185	187	131	141	223	237	188	200
50	728	187	191	133	143	231	237	188	188
51	743	185	197	131	143	229	237	188	200
52	599	185	187	143	143	223	233	200	200
53	613	185	185	133	143	235	235	188	200
54	CS	197	197	137	151	229	237	188	194
55	Merlot	191	197	137	151	223	233	194	194

Çizelge 4.2. (devam)

NO	Çesitler	Mikrosatellit lokusları					
		VVMD31	VVMD31	VMC2C3	VMC2C3	VVS1	VVS1
1	600	209	209	163	195	179	179
2	656	211	211	159	159	179	187
3	611	203	203	159	191	179	185
4	617	211	215	167	191	179	187
5	655	209	213	163	177	179	185
6	678	203	209	189	191	179	185
7	718	209	209	159	167	179	187
8	719	211	223	163	163	179	181
9	588	195	215	167	191	187	187
10	593	203	211	163	167	187	187
11	618	211	211	163	163	179	179
12	654	209	209	163	163	179	187
13	735	209	209	163	163	179	187
14	605	211	215	167	191	179	187
15	652	209	211	191	195	179	179
16	660	211	211	159	191	179	187
17	747	209	211	167	167	179	181
18	715	203	211	163	163	179	187
19	698	195	211	163	167	179	187
20	703	211	215	167	191	179	185
21	748	195	211	163	167	179	187
22	636	203	215	163	167	179	179
23	722	209	213	163	177	179	185
24	714	209	211	159	195	179	179
25	675	209	211	163	167	179	179
26	676	203	211	163	163	181	181
27	610	209	211	163	167	179	187
28	614	203	211	167	191	179	179
29	620	211	211	163	191	179	185
30	615	197	211	159	191	179	187
31	732	213	223	163	163	179	179
32	687	203	211	163	163	187	187
33	692	203	211	163	163	179	187
34	688	203	211	163	163	179	179
35	729	203	211	163	163	179	187
36	632	211	211	163	167	179	179
37	665	213	223	163	167	179	179
38	642	211	215	167	189	179	187
39	693	209	211	163	163	179	179
40	707	203	203	177	177	179	185
41	745	203	215	163	167	179	179
42	639	203	211	163	163	179	187
43	650	211	211	159	191	179	187
44	685	209	209	161	167	179	179
45	695	203	209	163	167	179	187
46	673	209	209	167	195	179	187
47	731	209	211	167	167	179	181
48	726	209	211	163	167	179	179
49	709	209	211	167	167	179	181
50	728	203	211	163	167	179	187
51	743	211	211	167	191	179	179
52	599	209	211	163	167	179	179
53	613	209	211	163	163	179	187
54	CS	205	209	163	177	179	179
55	Merlot	211	215	167	177	179	189

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

Lokuslar	Allel sayıları (N)	Beklenen heterozigotluk (He)	Gözlenen heterozigotluk (Ho)	Tespit olasılığı (PI) değeri	Sessiz (null) allel frekansı (r)
VrZAG79	8	0.7914	0.8000	0.1392	-0.0047
VVIH54	12	0.7791	0.6363	0.1255	0.0802
VVMD24	5	0.5485	0.5454	0.3277	0.3203
VVMD7	13	0.7986	0.6909	0.1217	0.0599
VVMD28	8	0.7776	0.7454	0.1421	0.0181
VVMD27	9	0.7702	0.7636	0.1436	0.5508
VMC2H4	9	0.7424	0.7454	0.1423	0.0046
VVIB01	7	0.6206	0.7272	0.2933	-0.0657
VrZAG83	6	0.6576	0.7454	0.3097	-0.0529
VVS2	10	0.8391	0.8727	0.0781	-0.0182
VVMD5	8	0.8433	0.7818	0.0818	0.0333
VrZAG62	8	0.7160	0.6727	0.1585	0.0252
VVMD31	9	0.7401	0.7272	0.1784	0.0074
VMC2C3	8	0.7267	0.6545	0.1895	0.0418
VVS1	5	0.5391	0.6000	0.3740	-0.0395
TOPLAM	125				
Ortalama	8.33	0.7260	0.7139	0.1870	

Allel sayıları dikkate alındığında en yüksek allel VVMD7 (13 allel) lokusunda elde edilirken, bunu 12 allel ile VVIH54, 10 allel ile VVS2 lokusları izlemiştir. VVMD24 ve VVS1’de 5 allel elde edilirken, diğer lokuslardaki allel sayıları 6-9 arası değişmiştir. Ortalama He ve Ho değeri sırası ile; 0.7260 ve 0.7139 bulunurken, lokuslar itibari ile değer aralıkları He için; 0.5391- 0.8433, Ho için; 0.5454-0.8727 tespit edilmiştir. PI

değerlerinin tamamı Sefc *et al.* (2001) tarafından belirlenen 0.05 eşik değerinin üzerinde bulunurken, null allel değerleri genel olarak negatif ve sıfıra yakın tespit edilmiştir. Herbir lokusta allel sayılarının oranlarını gösteren frekans değerleri Çizelge 4.4’de sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Allel frekansları

No	VrZAG79	Allel Frekansı	VVIH54	Allel Frekansı	VVMD24	Allel Frekansı	VVMD7	Allel Frekansı
1	238	0.00909	138	0.01818	207	0.63636	230	0.00909
2	242	0.24545	142	0.01818	209	0.00909	234	0.00909
3	246	0.14545	148	0.00909	211	0.14545	236	0.27273
4	248	0.01818	150	0.05455	215	0.14545	238	0.03636
5	250	0.26364	158	0.01818	217	0.06364	240	0.04545
6	254	0.01818	162	0.18182			242	0.01818
7	256	0.07273	164	0.38182			244	0.11818
8	258	0.22727	166	0.02727			246	0.29091
9			168	0.00909			248	0.01818
10			174	0.10000			250	0.15455
11			176	0.16364			256	0.00909
12			178	0.01818			258	0.00909
13							260	0.00909

Çizelge 4.4. (devam)

No	VVMD28	Allel Frekansı	VVMD27	Allel Frekansı	VMC2H4	Allel Frekansı	VVIB01	Allel Frekansı
1	217	0.05455	175	0.03636	198	0.04545	292	0.54545
2	227	0.00909	179	0.08182	200	0.11818	294	0.05455
3	233	0.09091	181	0.20909	202	0.01818	296	0.27273
4	235	0.08182	183	0.01818	204	0.09091	298	0.04545
5	243	0.30909	185	0.37273	206	0.17273	300	0.03636
6	245	0.03636	189	0.07273	212	0.01818	306	0.02727
7	247	0.10909	191	0.00909	214	0.44545	308	0.01818
8	257	0.30909	193	0.01818	220	0.05455		
9			195	0.18182	224	0.03636		

Çizelge 4.4. (devam)

No	VrZAG83	Allel Frekansı	VVS2	Allel Frekansı	VVMD5	Allel Frekansı	VrZAG62	Allel Frekansı
1	183	0.00909	131	0.08182	223	0.14545	186	0.10377
2	185	0.37273	133	0.15455	225	0.06364	188	0.49057
3	187	0.13636	135	0.06364	229	0.11818	190	0.00943
4	191	0.42727	137	0.05455	231	0.14545	194	0.07547
5	195	0.00909	141	0.04545	233	0.15455	196	0.03774
6	197	0.04545	143	0.29091	235	0.10909	200	0.13208
7			145	0.11818	237	0.24545	202	0.05660
8			147	0.00909	243	0.01818	204	0.09434
9			149	0.03636				
10			151	0.14545				

Çizelge 4.4. (devam)

No	VVMD31	Allel Frekansı	VMC2C3	Allel Frekansı	VVS1	Allel Frekansı
1	195	0.02727	159	0.07273	179	0.62727
2	197	0.00909	161	0.00909	181	0.05455
3	203	0.16364	163	0.41818	185	0.06364
4	205	0.00909	167	0.27273	187	0.24545
5	209	0.25455	177	0.05455	189	0.00909
6	211	0.40000	189	0.01818		
7	213	0.03636	191	0.11818		
8	215	0.07273	195	0.03636		
9	223	0.02727				

Lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı; VVMD5'de: 237, VMC2C3'de: 163, VrZAG79'da: 250, VVMD24'de: 207, VVMD27'de: 185, VVMD28'de: 243 ve 257, VVS2'de: 143, VrZAG62'de: 188, VVIB01'de: 292, VMC2H4'de: 214, VVMD7'de: 246, VVIH54'de: 164, VVMD31'de: 211, VrZAG83'de 191, VVS1'de: 179 olarak tespit edilmiştir.

55 genotip içerisinde tespit edilen; aynı genotip (isim ve SSR lokuslarındaki allel büyüklükleri aynı) sinonim (farklı isimle adlandırılan fakat genetik olarak birbiri ile aynı genotipler) ve homonim (aynı isimle adlandırılan fakat genetik olarak birbirinden farklı genotipler) durumları Çizelge 4.5'de sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Araştırma sonucunda tespit edilen benzer, sinonim ve homonim genotipler

	<b>Çeşit Adı/Çeşit no/İl</b>
<b>Aynı Çeşitler</b>	Bulunmamaktadır.
<b>Sinonim Çeşitler</b>	Bulunmamaktadır.
<b>Homonim Çeşitler</b>	
<b>Homonim-1</b>	Tek Çekirdekli /2/ Manisa
	Tek Çekirdekli /47/ Kütahya
<b>Homonim-2</b>	Bulama /4/ Manisa
	Bulama /14/ Manisa
<b>Homonim-3</b>	Beyaz Şam /5/ Manisa
	Beyaz Şam /23/ Muğla
<b>Homonim-3</b>	Ekşi Üzüm /20/ Muğla
	Ekşi Üzüm /38/ İzmir
<b>Homonim-4</b>	Sıksarı /26/ Muğla
	Sıksarı /34/ İzmir
<b>Homonim-5</b>	Paşalar /42/ Kütahya
	Paşalar /45/ Kütahya

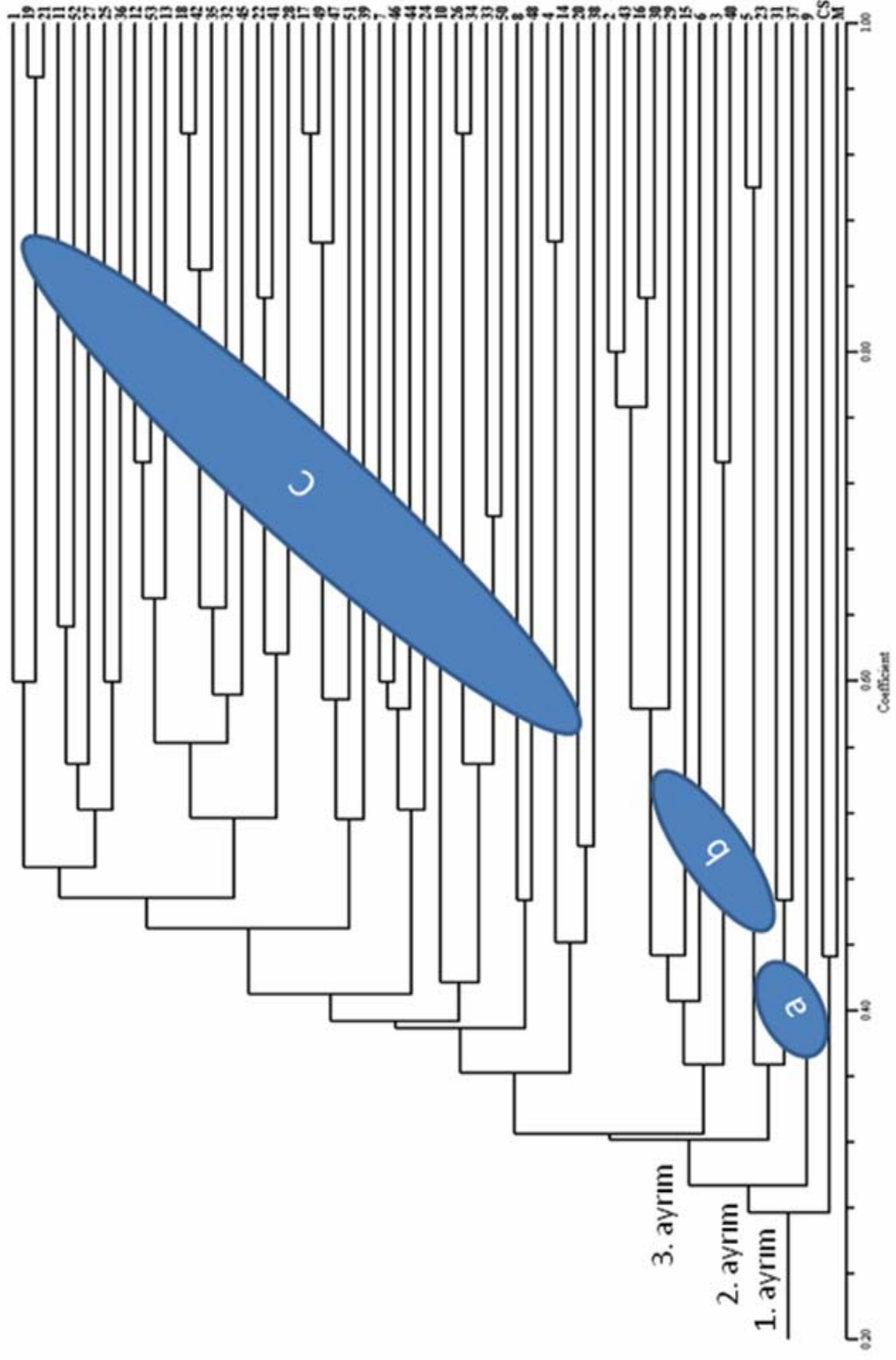
SSR analizleri sonucu aynı ve sinonim çeşitlere rastlanmazken, 5 homonim grup tespit edilmiştir. Homonim-2 Manisa ve Homonim-5 Kütahya çeşitleri arasında görülürken, diğer homonimler farklı illere ait genotiplerden oluşmuştur. Bu homonimlerden %90 ve üzerinde benzerlik gösteren Sıksarı ve Beyaz Şam' e ait 2 genotipin bu çeşitlerin klonları olabileceği düşünülmekte, diğer homonimlerin ise ayrı birer çeşit özelliği taşıdığı görülmektedir.

SSR allelerinin yakınlık oranlarına dayalı benzerlik indeksi ve ilişki dendogramı sırası ile Çizelge 4.6 ve Şekil 4.8' de sunulmuştur.





#### 4.5 Genetik İlişki Dendogramı



Şekil 4.8. Çeşitlere ait genetik ilişki dendogramı

Çeşitlerde en yüksek benzerlik oranı; %96.7 ile 19-21 genotipler arasında görülürken, bunu %93.3 oranı ile 26-34, 18-42 ve 17-49 no.lu genotipler, %90.0 oranı ile ise 5-23 ve 17-47 no.lu genotipler izlemiştir (Çizelge 4.6.).

Genetik ilişki dendogramı (Şekil 4.8.) ise değişik dallanmalar göstermiştir. 1. ayırmda referans çeşitler Türk çeşitleri ile farklı iki alt grup oluştururken, ikinci ayırmda ise; Türk çeşitleri 9 no.lu genotip ve diğer 52 genotip olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. 3. ayırım noktasından bakıldığında ise 52 genotipin temel olarak 3 alt gruba (a, b, c) ayrıldığı görülmektedir. İller bazında çeşitlerin dendogram dağılımı ise bazı ikili, üçlü gruplar hariç (Muğla'dan alınan 19,21 gibi) dendogram boyunca gerçekleşmiştir. Araştırmada kullanılan çekirdeksiz çeşitler (52 ve 53 no.lu genotipler) ise kendine özgü bir dallanma göstermeyerek diğer çeşitlere yakın genetik ilişkili bulunmuştur.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 5.1 SSR analizleri

Manisa, İzmir, Aydın, Muğla ve Kütahya illerine ait 55 üzüm çeşidi ile 2 referans çeşidin 15 SSR lokusu ile genetik analizleri sonucu toplam 125 allel elde edilirken, ortalama allel sayısı 8.33 olarak tespit edilmiştir. Araştırmadaki ortalama allel sayısı diğer araştırmacıların verilerine yakın değerler vermekle birlikte, 41 çeşitte 11 allel kullanan Dengl *et al.* (2001) ile son derece uyum göstermektedir. 15 SSR lokusu değerlendirildiğinde Ibáñez *et al.* (2003), Vouillamoz *et al.* (2006) gibi araştırmacılara benzer şekilde sonuçlarımızda da en yüksek allel sayısı VVMD7 (13 allel) lokusunda elde edilmiştir. Diğer taraftan VVMD24 ile VVS1 bir çok üzüm gen kaynağının tanısında, sonuçlarımıza benzer şekilde düşük allel çeşitliliği göstermiştir (Vouillamoz *et al.* 2006, Şelli *et al.* 2007)( Çizelge 4.3).

Heterozigotluk değerlendirildiğinde, He (beklenen heterozigotluk) ve Ho (gözlenen heterozigotluk) ortalama değerleri sırası ile 0.7260 ve 0.7139 olarak tespit edilmiştir. SSR lokuslarına ait her bir He ve Ho değerleri göz önüne alındığında, VVMD24, VVIH54, VVMD7, VVMD28, VVMD27, VVMD5, VrZAG62, VVMD31, VMC2C3, lokusların He; Ho'ya oranla kısmen yüksek bulunurken, VVS2, VVIB01, VrZAG83, VMC2H4, VVS1, VrZAG79 lokuslarında ise Ho yüksek bulunmuştur. He değerinin yüksek olması null (sessiz) allel varlığını gösterebileceği için bu lokusların null allel frekansları (r) incelendiğinde değerlerin pozitif veya negatif olduğu görülmektedir. Ancak pozitif olarak görülen bu değerlerin küçük olması, bir çok araştırmacı tarafında da (Ibáñez *et al.* 2003, Costantini *et al.* 2005, Martinez *et al.* 2006, Santana *et al.* 2007) belirtildiği gibi lokusda null allel riskini azaltmaktadır.

Lokuslar açısından önemli olan diğer bir parametre ise, her bir allele ait frekans dağılımdır. Frekans dağılımı açısından lokuslar göz önüne alındığında; VMC2H4 lokusunda 0.44545 allel frekansı ile 214, VVMD28 lokusunda 0.30909 allel frekansı ile 243 ve 257, VVS2 lokusunda 0.29091 allel frekansı ile 143, VVMD27 lokusunda 0.37273 allel frekansı ile 185, VrZAG83 lokusunda 0.42727 allel frekansı ile 191, VrZAG79 lokusunda 0.26364 allel frekansı ile 250, VVMD7 lokusunda 0.29091 allel frekansı ile 246, VrZAG62

lokusunda 0.49057 allel frekansı ile 188, VVIH54 lokusunda 0.38182 allel frekansı ile 164, VVMD5 lokusunda 0.24545 allel frekansı ile 237, VVMD31 lokusunda 0.40000 allel frekansı ile 211, VVMD24 lokusunda 0.63636 allel frekansı ile 207, VMC2C3 lokusunda 0.41818 allel frekansı ile 163; VVIB01 lokusunda 0.54545 allel frekansı ile 292 ve VVS1 lokusunda ise 0.62727 allel frekansı ile 179 allelleri en sık rastlanan alleler olup referans ve Türk çeşitlerinin tamamında görülmüştür. (Çizelge 4.4)

PI (tanımlama olasılığı) göz önüne alındığında, PI değerleri sırası ile 0.3277, 0.2937, 0.3097, 0.3740 olan VVMD24, VVIB01, VrZAG83 ve VVS1 çok etkili bir polimorfizm sağlamazken, bunların dışındaki lokusların ayırım güçleri (PI genellikle 0.1 civarı veya bu değerin altında) oldukça iyi bulunmuştur.

## 5.2 Genotip-SSR İlişkilendirmeleri

Uluslararası asma gen kaynaklarının tanımlanmasına yönelik araştırmalarda; SSR markörler kullanılarak değişik düzeyde homonim ve sinonim genotiplere rastlanmıştır (Ibáñez *et al.* 2003, Martín *et al.* 2003, This *et al.* 2004). Benzer şekilde, Türk çeşitlerinde yürütülen çalışmalarda da homonim ve sinonim grupların yaygınlığı ile karşılaşmıştır (Ergül 2006, Karağaç 2006, Vouillamoz *et al.* 2006, Şelli *et al.* 2007, Dilli 2008, Yılmaz 2008, Shidfar 2008). Diğer taraftan bu tür genotiplerin tespiti gen kaynakları arasında kesin tanıların yapılması, aynı isimle adlandırılan fazla genotiplerin uzaklaştırılması açısından son derece önemlidir.

Bu açıdan araştırma sonucumuz değerlendirildiğinde; öncelikle 5 homonim ile karşılaşılması tez konusu olan illerdeki gen kaynaklarının zengin çeşitliliğini göstermektedir. Diğer taraftan hiç bir sinonime rastlanmazken, homonim çeşitlerin il içi ve iller arası boyutta ortaya çıkması ise bu çeşitliliği teyit eder niteliktedir.

Çeşitlerin genetik ilişkileri ve benzerlik dendogramı ile orijinal yetiştirilme bölgeleri arasında doğru orantılı bir bağlantı kurulamamaktadır. 5 ile ait genotiplerin dendogramda iç içe bir dağılım göstermesi ve aynı isimle adlandırılan çeşitlerinde homonim özellikte olması, bölgede çok eski zamanlarda doğal olarak ortaya çıkmış bir gen akışının (gen flow) göstergesi olabilir.

Sonuç olarak; Ege Bölgesi zm çeşitlerinin en kapsamlı genetik tanımlanmasına yönelik ilk olma niteliği taşıyan tez sonucunda bölge eşitleri arasında kısmen düşük bir benzerlik oranı belirlenmiştir. Tez bulgularının, bölgede günümüzde ve gelecekte yürütülecek benzer kapsamlı çalışmalara ve diğer bağcılık araştırmalarına ışık tutacağı mit edilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Akkak, A., Boccacci, P., Lacombe, T. and Botta, R. 2005. Relationships and genetic diversity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) grown in Algeria and in Mediterranean basin. Electronic Forum on Biotechnology in Food and Agriculture, Conference 13. International Workshop, 5- March 2005, Turin, Italy.
- Anonim.2003. DİE Tarım İstatistikleri Basılmamış resmi veriler.
- Aradhya, M.K., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.M., Walker, M.A., Meredith, C.P. and Simon, C.J. 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. Genetical Research Camb. 81: 179–192.
- Aras, S., Polat, J.B., Cansaran, D., Söylemezoğlu, G. 2005. RAPD analysis of genetic relations between Buzgulu grape cultivars (*Vitis vinifera*) grown in different parts of Turkey. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47 (2): 77-82.
- Arroyo-Garcia, R. and Martinez-Zapater, J.M. 2000. Characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci and chloroplast microsatellites in grape *Vitis vinifera* L. Plant & Animal Genomes VIII. Conference, Town & Country Hotel, San Diego, CA.
- Arroyo-García, R., Ruiz-García, L., Bolling, L., Ocete, R., López, M.A., Arnold, C., Ergul, A., Söylemezoğlu, G., Uzun, H.I., Cabello, F., Ibáñez, J., Aradhya, M.K., Atanassov, A., Atanassov, I., Balint, S., Cenis, J.L., Costantini, L., Gorislavets, S., Grando, M.S., Klein, B.Y., McGovern, P.E., Merdinoglu, D., Pejic, I., Pelsy, F., Primikirios, N., Risovannaya, V., Roubelakis-Angelakis, K.A., Snoussi, H., Sotiri, P., Tamhankar, S., This, P., Troshin, L., Malpica, J.M., Lefort, F., Martinez-Zapater, J.M. 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms, Molecular Ecology 15 (12): 3707–3714.
- Costantini, L., Monaco, A., Vouillamoz, J.F., Forlani, M. and Grando, M.S. 2005. Genetic relationships among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). Vitis 44 (1): 25-34.
- Çelik, H., Ağaoğlu, Y. S., Fidan, Y., Marasalı, B. ve Söylemezoğlu, G. 1998. Genel Bağcılık. Fersan Press, Ankara.

- Dangl, G.S., Mendum, M.L., Prins, B.H., Walker, A.M., Meredith, C.P. and Simon C.J. 2001. Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: A tool for managing a grape germplasm collection. *Genome* 44: 432–438.
- Dilli, Y., 2008. Ege Bölgesindeki Bazı Önemli Üzüm Çeşitleri, Tipleri Ve Klonlarının Mikrosatellit (SSR) Markörleriyle Karakterizasyonu. Ege Üniversitesi. Fen Bil. Ens, Doktora Tezi, İzmir, Türkiye.
- Ergül, A., Kazan, K., Aras, S., Çevik, V., Çelik, H., Söylemezoğlu, G. 2006. AFLP analysis of genetic variation within the two economically important Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) varietal groups. *Genoma*, 49: 467-475.
- Ergül, A., 2000. Asmalarda (*Vitis vinifera* L. cv.) genomik DNA parmak izi analizi ile Moleküler karakterizasyon Ankara Üniversitesi. Fen Bil. Ens, Doktora Tezi, Ankara, Türkiye.
- Fatahi, R., Ebadi, A., Bassil, N., Mehlenbacher, S.A and Zamani, Z. 2003. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 42 (4): 185–192.
- Fossati, T., Labra, M., Castiglione, S., Failla, O., Scienza, A. and Sala, F. 2001. The use of AFLP and SSR molecular markers to decipher homonyms and synonyms in grapevine cultivars: the case of varietal group known as “Schiave”. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 200-205.
- Goto-Yamamoto, N., Mouri, H., Azumi, M. and Edwards, K.J. 2006. Development of grape microsatellite markers and mikrosatellite analysis including oriental cultivars. *American Journal Enology Viticulture*, 57(1):105-108.
- Grando, M.S., Frisinghelli, C. and Stefanini, M. 2000. Genotyping of local grapevine germplasm. *ISHS Acta Horticulturae* 528: VII. International Symposium on Grapevine Genetics and Breeding, May 2000, Montpellier, France.
- Ibañez, J., Andrés, M.T., Molino, A. and Borrego, J. 2003. Genetic study of key Spanish grapevine varieties using microsatellite analysis. *American Journal Enology Viticulture*, 54 (1): 22-30.
- Karaağaç, E., 2006 Gaziantep ili asma gen potansiyelinin SSR (simple sequence repeats) markörlerle moleküler analizi, Ankara Üniversitesi, Fen Bil. Ens, Doktora Tezi, 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 Tuallynally, Ireland. *Silvae Genetica* 47: 5-6.
- Litt, M. and Luty, J.A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, 44: 397-401.
- Maletic, E., Sefc, K.M., Steinkellner, H., Kontic, J.K. and Pejic, I. 1999. Genetic characterization of Croatian grapevine cultivars and detection of synonymous cultivars in neighboring regions. *Vitis* 38 (2): 79-83.
- Malossini, U., Grando, M.S., Roncador, I. and Mattivi, F. 2000. Parentage analysis and characterization of some Italian *Vitis vinifera* crosses. Proc. VII<sup>th</sup> IC on Grapevine Genetics and Breeding, *Acta Horticulturae*. 528: 139-143.
- Martin, J.P., Borrego, J., Cabello, F. and Ortiz, J.M. 2003. Characterization of the Spanish diversity grape vine cultivars using sequence-tagged microsatellite site markers. *Genome* 46: 1-9.
- Martinez, L.E., Cavagnaro, P. F., Masuelli, R. W., Zuniga, M., 2006. SSR-based assessment of genetic diversity in Sout American *Vitis vinifera* varieties. *Plant Science* 170: 1036-1044.
- Merdinoglu, D., Butterlin, G., Baur, C., Balthazard, J., Bouquet, A. and Boursiquot, J.M. 2000. Comparison of RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for genetic diversity analysis in *Vitis vinifera* L. *Acta Horticulturae*. 528: 193-197.
- Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D. B., Feldman, M., Cavalli-Sforza, L. L., 1995. *Microsat* (version 1.4d): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data. Stanford, California, Stanford University.
- Perret, M., Arnold, C., Gobat, J.M. and K pfer, P. 2000. Relationships and genetic diversity of wild and cultivated grapevines (*Vitis vinifera* L.) in Central Europe based on microsatellite markers. *Acta Horticulturae*. 528:155-159.
- Reale, S., Pilla, F. and Angiolillo, A. 2002. Molecular characterization of an autochthonous grape cultivar of Central Italy. Proceedings of the XLVI Italian Society of fAgricultural Genetics-SIGA Annual Congress Giardini Naxos, Italy, 18-21 September.



- Regner, F., Staldbauer, A. and Eisenheld, C. 2001. Molecular markers for genotyping grapevine and for identifying clones of traditional varieties. Proc. Int. Symp. On Molecular Markers. Acta Horticulturae. 546:331-342.
- Regner, F., Staldbauer, A., Eisenheld, C. and Kaserer, H. 2000b. Consideration about the evolution of grapevine and the role of Traminer. Proc. VIIth Int. Symp. On Grapevine Genetics and Breeding. Acta Horticulturae. 528: 177-179.
- Sánchez-Escribano, E.M., Martín, J.P., Carreño, J. and Cenis, J.L. 1999. Use of sequence- tagged microsatellite site markers for characterizing table grape cultivars. Genome 42: 87-93.
- Santana, J.C., Hidalgo, E., de Lucas, A. I., Recio, P., Ortiz, J. M., Martín, J. P. Yuste, J., Arranz, C., Rubio, J. A., 2007. Identification and relationships of accessions grown in the grapevine (*Vitis vinifera* L.) Germplasm Bank of Castilla y León (Spain) and the varieties authorized in the VQPRD areas of the region by SSR-marker analysis. Genetic Resources and Crop Evolution 55: 573–583.
- Schlotterer, C. and Tautz, D. 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA. Nucleic Acids Research 20: 211-215.
- Schneider, A., Carra, A., Akkac, A., This, P., Laucau, V. and Botta , R. 2001. Verifying synonymies between grape cultivars from France and Northwestern Italy using molecular markers. Vitis 40 (4): 197-203.
- Sefc, K.M., Guggenberger, S., Regner, F., Lexer, C., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998b. Genetic analysis of grape berries and raisins using microsatellite markers. Vitis 37 (3): 123-125.
- Sefc, K.M., Regner, F., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998a. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. Vitis 37 (1): 15-20.
- Sefc, K.M., Regner, F., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998c. Monitoring der genetischen Variabilität und Pedigreestudien bei Weinreben, Bericht über die 49. Arbeitstagung der Vereinigung Österreichischer Pflanzenzüchter, 71-73.
- Şelli. F., Bakır, M., İnan, G., Aygün, H., Boz, Y., Yaşasın , A.S., Özer, C., Akman. B., Söylemezoğlu, G., Kazan, K., Ergül, A.2007. Simple sequence repeat-based assessment of genetic diversity in Dimrit and Gemre grapevine accessions from Turkey, Vitis 46 (4): 182-187).

- Shidfar M., 2008. Eskişehir ve Kayseri İllerine Ait Asma Gen Kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a Dayalı Genetik Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bil. Ens, Doktora Tezi, Ankara, Türkiye.
- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Crespan, M., Dangel, G.S., Eisenheld, C., Ferreira Monteiro, F., Grando, M.S., Ibanez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhaes, N., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L. and Maul, E. 2004. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 109:1448–1458.
- Thomas, M.R. and Scott, N.S. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). *Theoretical and Applied Genetics*.
- Thomas, M.R., Cain, P. and Scott, N.S. 1994. DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Molecular Biology*. 25: 939–949.
- Ulavonsky, S., Gogorcena, Y., Martinez de Toda and Ortiz, J. M. 2002. Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae* 92: 241-254.
- Upadhyay. U., Mamtha D. S., Reddy S., Deokar. K., Karibasappa, G.S. 2007 AFLP and SSR marker analysis of grape rootstock in Indian germplasm, National Reasearch Centre for Grapes, Manjari Farm, Pune, India.
- Vignani, R., Bowers, J.E. and Meredith, C.P. 1996. Mikrosatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinifera* "Sangiovese". *Scientia Horticulturae* 65: 163–169.
- Vouillamoz, J.F., McGovern, P.E., Ergül, A., Söylemezoğlu, G., Tevzadze, G., Meredith, C.P. and Grando, M.S 2006. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genetic Resources* 4(2): 144–158.
- Yılmaz F., 2008. Ankara ve Çankırı İlleri Ait Asma Gen Kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a Dayalı Genetik Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bil. Ens, Doktora Tezi, Ankara, Türkiye.
- Wagner, H. W., Sefc, K. M., 1999. Identity 1.0. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Science, Vienna.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Canan Yüksel

**Doğum Yeri** : Edirne

**Doğum Tarihi** : 05.12.1983

**Medeni Hali** : Bekar

**Yabancı Dili** : İngilizce

### **Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)**

**Lise** : Ankara Çağrıbey Anadolu Lisesi (1995-2002)

**Lisans** : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji  
Bölümü (2002-2006)

**Yüksek Lisans:** Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü- Temel Biyoteknoloji  
(2006-Halen)