

**ÇORUH VADİSİNDE YETİŞEN KABARCIK (*Vitis
vinifera*) ÇEŞİDİ POPULASYONLARI ARASINDAKİ
GENETİK VE MORFOLOJİK FARKLILIĞIN
BELİRLENMESİ**

Nalan YILDIRIM

**Doktora Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Doç. Dr. Güleray AĞAR
2010**

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

ÇORUH VADİSİNDE YETİŞEN KABARCIK (*Vitis vinifera*) ÇEŞİDİ
POPULASYONLARI ARASINDAKİ GENETİK VE MORFOLOJİK
FARKLILIĞIN BELİRLENMESİ

Nalan YILDIRIM

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2010


Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Güleray AĞAR danışmanlığında, Nalan YILDIRIM tarafından hazırlanan bu çalışma, 19/03/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ

İmza : 


Üye : Doç. Dr. Güleray AĞAR

İmza : 

Üye : Doç. Dr. Medine GÜLLÜCE

İmza 

Üye : Doç. Dr. Ertan YILDIRIM

İmza : 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Lokman ALPSOY

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylarım

(imza)

Prof. Dr. Ömer AKBULUT

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

ÇORUH VADİSİNDE YETİŞEN KABARCIK (*Vitis vinifera*) ÇEŞİDİ POPULASYONLARI ARASINDAKİ GENETİK VE MORFOLOJİK FARKLILIĞIN BELİRLENMESİ

Nalan YILDIRIM

Atatürk Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji AnaBilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Güleray AĞAR

Bu çalışmada Çoruh vadisinde farklı yükseltilerde yetiştirilen asma (*Vitis vinifera*) Kabarcık çeşidinin dört populasyonu arasındaki genetik farklılıklar rastgele çoğaltılmış DNA farklılığı (RAPD) ve basit dizi tekrarları (SSR) teknikleri kullanılarak, biyokimyasal farklılıklar yağ asit profilleri (FAME) teknikleri, morfolojik özellikler ise ampelografik özellikler incelenerek belirlenmiştir. Ampelografik çalışma sonuçlarında yüksekliğin artması yaprak büyüklüğünü, uzunluğunu, salkım uzunluğunu, tane sayısını, tane büyüklüğünü, tane uzunluğunu, salkım ağırlığını, salkım sıklığını, salkım sapı uzunluğunu, tane genişliğini azaltırken, yaprak ayası şekli, dilim sayısı, dişlerin şekli, yaprak sapının uzunluğu, salkım büyüklüğü, salkım sapının odunlaşması, tane şekli, tanenin enine kesiti, kabuk rengi, pus tabakası, çekirdeklik durumu, tane ağırlığı, olgun yaprak üst yüz rengi ve ayanın profili bütün populasyonlarda aynı olmuştur. Yükseklik arttıkça tane sapı uzunluğu, çekirdek uzunluğu, çekirdek eni, çekirdek ağırlığı artmıştır. Yağ asit profillerine göre bütün populasyonlarda 32 farklı yağ asiti görülmüş ve linoleik asit miktarı yağ içeriğinin büyük bir kısmını oluşturmuştur. RAPD analiz sonuçlarında büyüklüğü 250-3000 bç arasında değişen RAPD bantları elde edilmiştir. Ortalama polimorfik lokus oranı %96,29 olmuştur. SSR sonuçlarında allel sayıları 2'den 6'a kadar değişmiştir. SSR analizleri için en fazla bilgi verici lokus VVS2 lokusu olmuştur. RAPD, SSR ve yağ asit profillerine göre istatistikler sonucu elde ettiğimiz dendrogramlarda coğrafik mesafe olarak birbirine yakın olan populasyonların genetik benzerlik açısından da birbirlerine yakın oldukları gözlenmiştir.

2010, 127 sayfa

Anahtar Kelimeler: Ampelografi, RAPD, Yağ asit profilleri, SSR, *Vitis vinifera*

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

GENETICS AND MORPHOLOGHY DIFFERENT DETERMINETED *VITIS VINIFERA* (KABARCIK) POPULATION GROW IN CORUH DALE

Nalan YILDIRIM

Atatürk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Güleray AĞAR

In this study we determined genetic differentiation of four vitis vinifera population which grow at different altitude of Coruh valley by RAPD and SSR techniques, biochemical differences with fatty acid profiles technique and morphological properties was determined by investigating of the ampelography properties of this species. According to ampelography results with the incerasing of the altitude has decrease the leaf size, leaf length, bunch length, number of grain, grain size, grain length, bunch weight, bunch frequency, length of bunch stem, grain width but don not affect shape of leaves, the number of slices, the shape of teeth, petiole length, the bunch size, lignifying of the bunch stem, grain shape, cross section of grain, shell color, misty layer, having of seed, weight of grain,the color of upper face of mature leaves and the profile of leaf palm. With the increasing of the altitude grain stem length, seed length, seed width, seed weight have increased too. According to fatty acid profile 32 different fatty acids were determined and linoleic acid exists with the biggest ratio in all the populations studied. RAPD analyses showed various band sizes which changed between 250 to 3000 bp. Mean polymorphic locus ratios were determined as 96.29%. In the SSR results the number of alleles was changed 2 to 6. For SSR analyses the most informative locus was VVS2. According to the dendograms obtained from statical analyses of RAPD, SSR and fatty acid profiles the populations which close to each other by geographical distance also have genetic similarity.

2010, 127 page

Keywords: Ampelography, RAPD, Fatty Acid Profiles, SSR, *Vitis vinifera*

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu alıŐma Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Moleküler Genetik, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Araştırmanın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardımcı olan danıŐmanım, Sayın Doç. Dr. Güleray AĞAR'a, Sayın Prof. Dr. Sezai ERÇİŞLİ'ye, tez izleme komitesi üyesi Sayın Doç. Dr. Medine GÜLLÜCE'ye, SSR çalıŐmalarımnda yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ali ERGÜL'e, Sayın Biyolog Canan YÜKSEL'e teŐekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca çalıŐmamızı destekleyen Atatürk Üniversitesi BAP (2008/78) saymanlığına teŐekkürlerimi sunarım.

Doktora tezimin gerçekleŐtiđi dönemde beni sabırla destekleyen sevgili anneme ve aileme, bu tezin bittiğini görmek için ömrü yetmeyen rahmetli Babama sonsuz teşekkür ederim.

Nalan YILDIRIM

Ocak 2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	13
2.1. Bitki Populasyon Genetiğinde Kullanılan Markır tipleri.....	14
2.1.1. Fenotipik (morfolojik) markırlar	14
2.1.2. Biyokimyasal markırlar.....	15
2.1.3. DNA markırlar	18
2.1.3.a. Hibridizasyona dayalı moleküler markırlar.....	19
2.1.3.b. PCR Tekniğine dayalı moleküler markırlar	20
2.2. Genetik Polimorfizm	27
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	30
3.1. Materyal	30
3.1.1. Kullanılan bitkisel materyal	30
3.1.2. Kullanılan alet ve cihazlar.....	30
3.1.3. Kullanılan çözelti ve solüsyonlar	31
3.1.3.a. Yağ asit profillerinin (Fatty Asit Metil Esterleri) belirlenmesinde kullanılan çözeltiler	31
3.1.3.b. DNA izolasyonu için kullanılan çözeltiler	32
3.1.3.c. PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan çözeltiler	33
3.2. Yöntem.....	33
3.2.1. Populasyonların örneklenmesi	33
3.2.2. Ampelografik özelliklerin tespit edilmesinde uygulanan yöntem	34
3.2.2.a. Olgun yaprak özellikleri.....	35
3.2.2.b. Üzüm salkımı özellikleri	37
3.2.2.c. Tane özellikleri.....	38

3.2.2.d. Çekirdek özellikleri.....	40
3.2.2.e. Salkım ve tane ağırlığına ilişkin özellikler.....	40
3.2.3. Bitkilerin yağ asitleri profillerinin belirlenmesi.....	41
3.2.3.a. Yağ asitlerinin saflaştırılması.....	41
3.2.3.b. Örneklerin yağ asit içeriklerinin analiz edilmesi	42
3.2.3.c. Örneklerin yağ asit profillerinin istatistiksel analizi	42
3.2.4. DNA İzolasyonu	43
3.2.5. RAPD	45
3.2.5.a. RAPD primerleri	45
3.2.5.b. RAPD PCR protokolü.....	45
3.2.5.c. Agaroz jel elektroforezi.....	47
3.2.5.d. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi.....	47
3.2.6. SSR PCR uygulaması.....	48
3.2.6.a. Çalışmada Kullanılan SSR Primerleri.....	48
3.2.6.b. SSR tekniğinin otomatik dizi analizi sistemi kullanılarak kapılar elektroforezde uygulanması	49
3.2.6.c. Sonuçların değerlendirilmesi.....	50
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	51
4.1. AMPELOGRAFİ SONUÇLARI	51
4.1.1. Olgun yaprak özellikleri.....	51
4.1.2. Üzüm salkımı özellikleri	52
4.1.3. Tane özellikleri	53
4.1.4. Çekirdek özellikleri.....	54
4.1.5. Salkım iriliği ve tane ağırlığına ilişkin özellikler.....	54
4.2. Yağ Asit Profillerine Göre Elde Edilen Sonuçlar	62
4.2.1. A popülasyonunda yağ asit profillerine göre elde edilen sonuçlar	62
4.2.2. B popülasyonunda yağ asit profillerine göre elde edilen sonuçlar	64
4.2.3. C popülasyonunda yağ asit profillerine göre elde edilen sonuçlar	67

4.2.4. D populasyonunda yağ asit profillerine göre elde edilen sonuçlar	70
4.2.5. Yağ asit profillerine göre populasyonlararası değerlendirme.....	73
4.3. RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar	76
4.3.1. A populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar	76
4.3.2. B populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar	78
4.3.3. C populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar	80
4.3.4.D populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar	82
4.3.5. RAPD profillerine göre populasyonlararası değerlendirme.....	84
4.3. SSR profillerine göre elde edilen sonuçlar	87
4.3.1. Yazılım programları ile sonuçların değerlendirilmesi	87
4.3.2. A populasyonunda SSR profillerine göre elde edilen sonuçlar	87
4.3.3. B populasyonunda SSR profillerine göre elde edilen sonuçlar	92
4.3.4. C populasyonunda SSR profillerine göre elde edilen sonuçlar	96
4.3.5.D populasyonunda SSR profillerine göre elde edilen sonuçlar	100
4.3.6. SSR profillerine göre populasyonlararası değerlendirme.....	105
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	107
KAYNAKLAR	117
EKLER.....	127
EK 1	127
ÖZGEÇMİŞ.....

SİMGELER DİZİNİ

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı)
Bç	Baz çifti
BSA	Bovim serum albümin
C	Sitozin
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (Çoğaltılmış kesilmiş polimorfik dizi)
CTAB	Setil Trimetil Amonyum Bromür
DAF	DNA Amplification Fingerprinting (DNA çoğaltımlı parmakizi)
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid Tri Fosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EST	Expressed Sequence Tags (İfade edilen dizi etiketi)
FAME	Fatty Asit Metil Esterleri
g	Gram
G	Guanin
He	Beklenen heterozigotluk oranı
Ho	Gözlenen heterozigotluk oranı
IBPGR	International Board for Plant Genetic Resources
IPGRI	Uluslararası Bitki Gen Kaynakları Merkezi
ISSR	Inter-Simple Sequence Repeats (Basit dizi tekrar arası)
M	Molar
mg	Miligram
MTBE	Metil-tetra-butil ether
MIS	Microbial Identification System
ml	Mililitre
mM	Milimolar
n	Döngü sayısı
NTsys	Versiyon 2.02g, Exeter Software, Setauket, NY

OIV	Office International de la vinge et du Vin
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikrogram
$^{\circ}$ C	Santigrat Derece
PCR	Polimerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
PI	Tespit olasılığı Değeri
PVP	Polivinilpirolidon
r	Tahmin edilen sessiz allel (null) frekansı
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rastgele çoğaltılmış DNA farklılığı)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş paręa uzunluğu farklılığı)
ROX 500	Internal-line size standard (Applied Biosystems) (İçsel büyüklük standardı)
rpm	Revolutions Per Minutes (Dakikada dnş sayısı)
sn	Saniye
SCAR	Sequence-Characterized Amplified Region (Dizisi karakterize edilmiş çoğaltılmış blge)
SDS	Sodyum Dodesil Slfat
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Tek nükleotit polimorfizmi)
SRAP	Sequence Related Amplified Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit dizi tekrarları)
TBE	Tris-Borat-EDTA tamponu
TE	Tris-EDTA tamponu
Tris	Tris (hidroksil metil) aminometan
Tris-HCl	Tris-hidroklorür
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average (Aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıksız çift grup metodu)
UPOV	International Union for the Protection of New Varieties of Plants
v/v	Hacim / Hacim
w/v	Ağırlık / Hacim

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Dünya üzüm üretimi	1
Şekil 1.2. Dünya üzüm üretimi yapılan alanlar	2
Şekil 3.1. Olgun yaprakta ayanın şekilleri	36
Şekil 3.2. Olgun yaprak kenarındaki dişlerin şekli	36
Şekil 3.3. Üzüm salkımı: Salkım büyüklüğü	37
Şekil 3. 4. Üzüm tanesi	38
Şekil 3. 5. Tane şekilleri	39
Şekil 4.1. A populasyonunda yer alan Kabarçık çeşidine ait salkım	60
Şekil 4.2. B populasyonunda yer alan Kabarçık çeşidine ait salkım	60
Şekil 4.3. C populasyonunda yer alan Kabarçık çeşidine ait salkım	61
Şekil 4.4. D populasyonunda yer alan Kabarçık çeşidine ait salkım	61
Şekil 4.5. A populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı	62
Şekil 4.6. B populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı	65
Şekil 4.7. C populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı	68
Şekil 4.8. D populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı	71
Şekil 4.9. Yağ asitleri profillerine göre <i>Vitis vinifera</i> (Kabarçık) populasyonları arasındaki genotipik bağlantı (UPGMA)	74
Şekil 4.10 Jaccard (1908)'a göre <i>Vitis vinifera</i> (Kabarçık) populasyonları arasındaki biyokimyasal bağlantı	75
Şekil 4.11. A populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı	77
Şekil 4.12. A populasyonunun OPW-13 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	77
Şekil 4.13. B populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı	79

Şekil 4.14. B popülasyonunun OPA–4 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	80
Şekil 4.15. C popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı	81
Şekil 4.16. C popülasyonunun OPW–13 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	82
Şekil 4.17. D popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı.....	83
Şekil 4.18. D popülasyonunun OPB–8 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	84
Şekil 4.19. Rapd profillerine göre <i>Vitis vinifera</i> (Kabarçık) popülasyonları arasındaki genotipik bağlantı (UPGMA)	85
Şekil 4.20. Jaccard (1908)'a göre <i>Vitis vinifera</i> (Kabarçık) popülasyonların bireyleri arasındaki genotipik bağlantı.....	86
Şekil 4.21. A popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı.....	91
Şekil 4.22. A popülasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	92
Şekil 4.23. B popülasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	93
Şekil 4.24. B popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı.....	96
Şekil 4.25. C popülasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	98
Şekil 4.26. C popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik	98
Şekil 4.27. D popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı.....	102
Şekil 4.28. D popülasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	105

Şekil 4.29. SSR profillerine göre *Vitis vinifera* (Kabarçık)
populasyonları arasındaki genotipik bağlantı (UPGMA). 106

ÇİZELGELER DİZİNİ

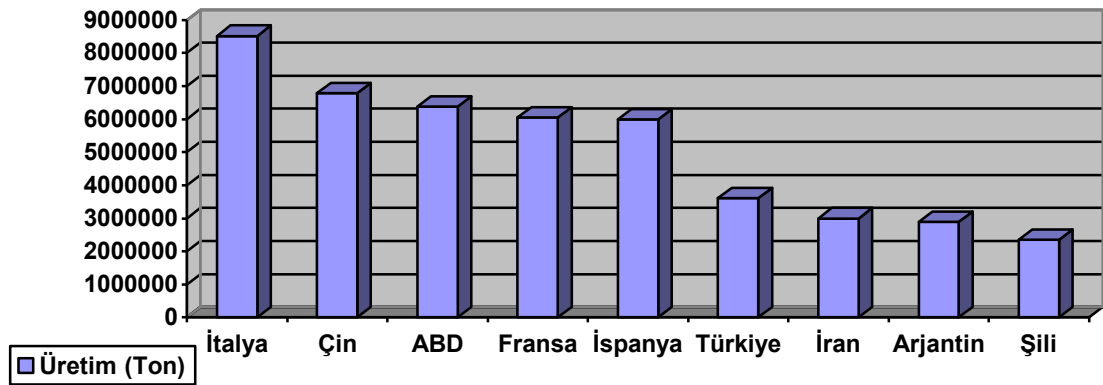
Çizelge 3.1. Olgun yaprak, üzüm salkımı, tane ,çekirdek , verim ve kaliteye ilişkin özelliklerin metod kod numaraları	35
Çizelge 3.2. Yağ asitlerinin moleküler formülleri ve sembolleri.....	43
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan RAPD primerleri ve baz dizilimleri.....	45
Çizelge 3.4. RAPD PCR çoğaltma ögeleri konsantrasyon ve miktarları.....	46
Çizelge 3.5. SSR PCR çoğaltma ögeleri konsantrasyon ve miktarları	48
Çizelge 3.6. Kullanılan SSR primerlerine ait bilgiler	49
Çizelge 4.1. Ampelografik özelliklerin yükselti ile değişimi	55
Çizelge 4.2. A Populasyonu ampelografi sonuçları.....	56
Çizelge 4.3. B populasyonu ampelografi sonuçları	57
Çizelge 4.4. C populasyonu ampelografi sonuçları	58
Çizelge 4.5. D populasyonu ampelografi sonuçları	59
Çizelge 4.6. A populasyonunun yağ asit içeriği	63
Çizelge 4.7. A populasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi	64
Çizelge 4.8. B populasyonunun yağ asit içeriği.....	66
Çizelge 4.9. B populasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi	67
Çizelge 4.10. C populasyonunun yağ asit içeriği.....	69
Çizelge 4.11. C populasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi	70
Çizelge 4.12. D populasyonunun yağ asit içeriği	72
Çizelge 4.13. D populasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi	73
Çizelge 4.14. Yağ asit profillerine göre populasyonlar arası biyokimyasal bağlantı	74
Çizelge 4.15. A populasyonunda RAPD primerlerinin oluşturduğu amplifikasyon ürünlerinin büyüklükleri ve sayıları	76
Çizelge 4.16. A populasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi	78

Çizelge 4.17. B popülasyonunda RAPD primerlerinin oluşturduğu amplifikasyon ürünlerinin büyüklükleri ve sayıları	79
Çizelge 4.18. B popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi	80
Çizelge 4.19. C popülasyonunda RAPD primerlerinin oluşturduğu amplifikasyon ürünlerinin büyüklükleri ve sayıları	81
Çizelge 4.20. C popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi	82
Çizelge 4.21. D popülasyonunda RAPD primerlerinin oluşturduğu amplifikasyon ürünlerinin büyüklükleri ve sayıları	83
Çizelge 4.22. D popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi	84
Çizelge 4.23. RAPD profillerine göre popülasyonlar arası genotipik bağlantı.....	85
Çizelge 4.24. A popülasyonu çalışılan lokuslardaki allel sayıları, allel aralığı, He, Ho, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI) değeri	88
Çizelge 4.25. A popülasyonunda 6 lokustaki allel büyüklükleri (bp)	89
Çizelge 4.26. A popülasyonunda lokuslardaki allel frekansları	90
Çizelge 4.27. A popülasyonuna ait genetik benzerlik değerleri	91
Çizelge 4.28. B popülasyonu çalışılan lokuslardaki allel sayıları, allel aralığı, He, Ho, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI) değeri	92
Çizelge 4.29. B popülasyonunda 6 lokustaki allel büyüklükleri (bp)	94
Çizelge 4.30. B popülasyonu lokuslardaki allel frekansları	95
Çizelge 4.31. B popülasyonuna ait genetik benzerlik değerleri.....	95
Çizelge 4.32. C popülasyonu çalışılan lokuslardaki allel sayıları, allel aralığı, He, Ho, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI) değeri	97
Çizelge 4.33. C popülasyonundaki lokuslardaki allel frekansları	99
Çizelge 4.34. C popülasyonunda 6 lokustaki allel büyüklükleri (bp)	100
Çizelge 4.35. C popülasyonuna ait genetik benzerlik değerleri.....	100

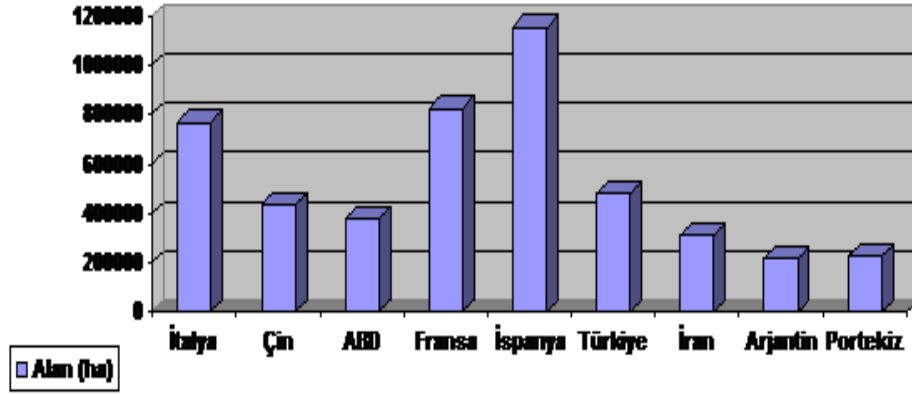
Çizelge 4.36. D popülasyonu çalışılan lokuslardaki allel sayıları, allel aralığı, H_e , H_o , sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI) değeri	101
Çizelge 4.37. D popülasyonunda lokuslardaki allel frekansları	103
Çizelge 4.38. D popülasyonunda 6 lokustaki allel büyüklükleri	104
Çizelge 4.39. D popülasyonuna ait genetik benzerlik değerleri	104
Çizelge 4.40. SSR profillerine göre popülasyonlar arası genotipik bağlantı.....	106

1. GİRİŞ

Asma (üzüm) *Vitaceae* familyasına dahil olup bu familya da yaklaşık 12 cins ve 700 tür bulunmaktadır. *Vitaceae* familyasının bitkileri çoğunlukla odunsu veya otsu sarılıcı ya da sarılıcı çalimsı türlerdir. Bu familyanın yeryüzündeki yayılım alanları oldukça geniş olup her iki yarım kürede de rastlanmaktadır. *Vitis* cinsi 2 alt cinsten oluşmaktadır. Bunlar kromozom sayıları $2n=38$ olan *Euvitis* ve $2n=40$ olan *Muscadinia*'dır. *Euvitis* alt cinsinin en önemli türü olan *Vitis vinifera*'nın anavatanı (gen merkezi), Türkiye' nin kuzeydoğu bölgesini de içine alan, Karadeniz ve Hazar Denizi arasındaki alanlardır. Asmanın ve bağcılık kültürünün anavatanı olarak kabul edilen ülkemiz son derece uygun ekolojik koşullara sahip olması nedeniyle çok geniş bir çeşit ve tip zenginliğine, dolayısıyla büyük bir asma gen potansiyeline sahiptir (Ağaoğlu 1999). Yıllık sıcaklık toplamı bakımından yetersiz olan birkaç yöre dışında bugün, ülkemizin hemen her yerinde bağcılık yapılmaktadır. Türkiye 2008 verilerine göre dünya üzüm üretiminde ve üzüm üretimi yapılan alan bakımından dünyada 6.cı sıradadır (Şekil 1.1, Şekil 1. 2) Ülkemiz bağcılığının geliştirilmesi ve milli ekonomimize olan katkısının daha yüksek düzeylere ulaştırılması, öncelikle sahip olduğumuz asma gen potansiyelinin belirlenmesi, korunması ve değerlendirilmesine yönelik olarak yapılan çalışmaların yürütülmesi büyük önem taşımaktadır (Kara 1990). Ülkemizde bağcılık konusundaki zengin genetik potansiyelin ortaya çıkarılması amacıyla Ziraat Fakülteleri, Araştırma Enstitüleri ve İstasyonlarınca bazı önemli yerli ve yabancı üzüm çeşitlerini içeren koleksiyon bağları kurulmuştur.



Şekil 1.1. Dünya üzüm üretimi (FAO, 2008)



Şekil 1.2. Dünya üzüm üretimi yapılan alanlar (FAO, 2008)

Kabarcık çeşidinin sinonimleri Kaysı, Kureyş ve Sarıkabarcıktır. Türkiyede yaygın yetiştiği yerler Kahramanmaraş, Gaziantep ve Malatya'dır. Sofralık, şaraplık ve şıralık olarak kullanılır. Ağustos ayının ilk yarısında olgunlaşır. Omcaları kuvvetli ve yatık büyüme eğilimindedir. Verimi çok iyidir. Erdişi çiçekli salkımları iri, kanatlı-koni veya dallı-piramit şekilli ve sık yapılıdır. Tane orta irilikte ve küre şeklindedir. Kabuk ince, yeşilimtrak-sarı renkli, hafif tanenli ve tane etinden kolayca ayrılır. Tane içi etli, çok sulu ve çok tatlı olup, çekirdeklidir. Orta kalitede sofraya şarabı veren bir çeşittir. Alkol derecesi %11-13'tür. Çabuk oksitlenir. Genelde ucuz kitle şarabı, konyak, rakı ve şarap ispiertosu yapımında kullanılır (Tangolar vd.1996).

Bağcılık için yerkürenin en elverişli iklim kuşağı üzerinde bulunan ülkemiz, asmanın gen merkezi olmasının yanı sıra son derece eski ve köklü bir bağcılık kültürüne de sahiptir. Anadolu'da bağcılık kültürünün tarihi oldukça eskidir. Yapılan arkeolojik kazılardan Anadolu'da bağcılık kültürünün M.Ö. 3500 yılına kadar dayandığı saptanmıştır. Ülkemizin değişik yörelerinden arkeolojik kazılardan çıkarılan tarihi eserlerde üzümle ilgili şekil ve kabartmaların yer alması, o yörede bağcılık kültürünün yaygın olduğuna işaret eden en önemli göstergelerdendir. Arkeolojik buluntulardan Anadolu'da Hititler zamanında asma ve şarabın büyük önem taşıdığı, M.Ö. 1800-1550 yıllarında bağcılığın çok gelişmiş olduğu, dini merasimlerde ve sosyal yaşantıda üzüm ve şarabın tanrılara adak olarak sunulduğu kaydedilmektedir.

Alleweldt and Dettweiller (1992), “Asma Gen Kaynakları” adlı yapıtlarında bağcılığın tarihçesi, dünya üzüm ve şarap üretimi, üzüm yetiştiriciliğini sınırlayan iklim koşulları, taksonomi, evrim, anatomi, fizyoloji, kültürel uygulamalar, ıslah çalışmaları, çeşitler ve ampelografileri ile ülkeler bazında üzüm çeşitlerinin coğrafi yayılımlarını, orjinlerini, çeşit isim ve sinonimlerini vermişler; bu kayıtlardan yararlanarak ülkemizde içine alan üzüm yetiştiriciliği yapan 40 ülkenin üzüm çeşitleri koleksiyonunu yayınlamışlardır.

Üzümlerin tanımlanması ve isimlendirilmesi bilim ve sanatı olan ampelografi çalışmalarına dünyada detaylı olarak 17.yüzyılın ikinci yarısından itibaren başlanmıştır. Bu yüzyılın ikinci yarısından sonra, filoksera başta olmak üzere Amerika’dan Avrupa’daki bağlara taşınan birçok hastalık ve zararlıdan dolayı ampelografik çalışmaların önemi daha da artmıştır. Ancak, çoğaltma amacıyla kullanılan odun çelikleri veya fidanların çok uzak bölgelere kolaylıkla taşınabilmesi, üzüm çeşitlerinin isimlendirilmesinde büyük karışıklığa sebep olmuştur (Mullins *et al.* 1992).

Türkiye’de ampelografi konusunda ilk bilimsel çalışmayı Oraman (1937) yapmıştır. Oraman, Ankara ilini ilçeler bazında inceleyerek 65 üzüm çeşidi belirlemiş ve bunlardan 35’inin ayrıntılı olarak tanımlamasını yaparak kendisinden sonra gelenlere öncülük yapmış; omcaların gelişme gücü, verimliliği, yaprakların döküm zamanı aldıkları rengi, yaprak dökümü ile gözleri inceleyerek bir teşhis anahtarı geliştirmiştir.

Kısakürek ise (1959), Türkiye bağcılığının tarihçesi, ülke bağ bölgeleri ve özellikleri hakkında bilgi verirken bu bölgelerde yetiştirilen standart üzüm çeşitlerini kullanım amaçlarına göre sınıflandırarak bazı özelliklerini incelemiştir. Yine Kısakürek 1950 de Güneydoğu Anadolu Bölgesi bağcılığını coğrafi, jeolojik ve ekolojik bakımdan incelemiş, bölgede yer alan illerde yetiştirilen 84 üzüm çeşidini sinonimleriyle birlikte belirlemiş, bu çeşitlerden Gaziantep’te yetiştirilen 27 üzüm çeşidini ayrıntılı olarak incelerken diğer çeşitlerin salkım ve tane özelliklerine değinmiş, dişi çiçek yapısına sahip olan üzüm çeşitleri için uygun babalık çeşitleri araştırılmıştır.

Marmara Bölgesi bağcılığını ise Pamir (1956); coğrafik, jeolojik ve ekolojik açılardan ele almış, bu bölgede yetiştirilen 22 üzüm çeşidini ampelografik özellikleri ile birlikte olum zamanlarına ve değerlendirme şekillerine göre sınıflandırmış, illerin bağcılık potansiyelini ve ekonomik önemini araştırarak üzümün diğer tarım ürünleriyle bir karşılaştırmasını yapmıştır. Marmara Bölgesinde yapılan bir diğer çalışmada Özkaban ve Özkaban (1968), bu bölgenin sofralık standart üzüm çeşitlerinden Müşküle, Razakı ve Değirmendere Siyahı'nın ampelografik özelliklerini incelemişlerdir. Buna ilaveten bu yöreye çeşit önerisinde öncelikle dikkate alınması gereken çeşitlerin fenolojik dönemleri arasındaki gün sayıları ve sıcaklık toplamlarını belirlemişlerdir.

Bu konuda, Uzun (1986) da Ege Bölgesinde yapılan çalışmalarda Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bağ'ında bulunan 47 üzüm çeşidini Uluslararası Bitki Gen Kaynakları Merkezi (IPGRI)'nin üzüm tanımlayıcıları metoduna göre morfolojik ve diğer özellikler bakımından incelemiş; bu özelliklerin çevre koşullarına göre değişebileceğini düşünerek daha kesin bir metot olan 'Kateşol Oksidaz İzoenzim Bandları'ndan yararlanarak belirlemeye çalışmıştır. Buna ek olarak fenolojik dönemler arasındaki gün sayısını ve sıcaklık toplamlarını da vermiş; derim tarihinin, sıcaklık toplamı isteği ile ilişkisini ortaya koymuştur. Ayrıca Fidan (1973), Bağ-Bahçe Kürsüsü Araştırma Bağ'ında bulunan, Nazilli ilçesinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan ve iyi bir sofralık çeşit olan Kayırcık üzümünün ayrıntılı olarak ampelografik özelliklerini belirlemiş, standartlara girmesi durumunda taze üzüm dış satımında geçiçi bir çeşit olarak önem kazanacağını vurgulamıştır. Çoban ise (2006) Manisa'da yetiştirilen üzüm çeşitlerine ait ampelografik özellikleri belirlemiş, üzüm çeşitlerinin sürgün, genç yaprak, olgun yaprak, çiçek, salkım, tane ve çekirdek özellikleri bakımından önemli farklılıklar gösterdikleri saptanmıştır.

İştar (1959), çalışmalarında Akdeniz Bölgesi bağcılığını coğrafik, jeolojik ve ekolojik bakımdan incelemiş, bağcılığın geliştirilme olanaklarını araştırmış, yörede uygulanan bağcılık tekniği hakkında bilgi vermiştir. İçel bağcılığını ova, toros etekleri ve yayla bağcılığı olarak üç kısımda değerlendirerek burada yetiştirilen 19 üzüm çeşidini ayrıntılı olarak tanımlayıp; yöre bağcılığının geliştirilmesi için alınması gereken önlemleri

sıralarken, Ecevit ve Kelen ise (1999), Isparta ili Atabey ilçesi üretici bağlarında yetiştiriciliği yapılmakta olan 13 üzüm çeşidinin uluslar arası normlara göre (IPGRI'nin Üzüm Tanımlayıcıları) ampelografik özelliklerini belirlemişlerdir. Üzüm çeşitlerinin sürgün, genç yaprak, olgun yaprak, çiçek, salkım, tane, çekirdek ve fenolojik özellikler bakımından önemli farklılıklar gösterdikleri saptanmıştır.

Ampelografi konusunda Karadeniz bölgesinde Çelik ve Odabaşı (1989), Amasya merkez ilçeye bağlı Uygur ve Çiğdemlik köylerinde yetiştirilen Çavuş, Sarı devek, Kazova, Şam ve Abalıkoca üzüm çeşitlerinin ampelografik/fenolojik özellikleri ve olum zamanları ile kuru madde-asit oranlarını belirlemişlerdir. Ayrıca Abalıkoca üzüm çeşidinin 2 farklı tipini ortaya çıkarmışlardır.

Odabaşı (1984) da Iğdır Ovası'nda iklim faktörlerinin bağcılık açısından önemini ve yöredeki bağcılık tekniğini araştırmış; yörede yetiştiriciliği yapılan 23 üzüm çeşidinin salkım ve tane şekli, tane kabuk ve et rengi, çekirdek sayısı gibi özelliklerini inceleyerek çoğunun standartlara girebilecek nitelikte olduğunu bildirmiştir. Kelen ve Tekintaş (1991a ve 1991b) ise Van ili Gevaş ilçesinin Kalın kabuk, Tüylü, İnce kabuk, Beyaz topak; Erciş İlçesinin Şilfoni, Kırmızı ve Erciş üzüm çeşitlerinin fenolojik ve ampelografik özelliklerini inceleyerek bu çeşitlerin sofralığa uygun olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca Köse (2002), Erzincan ilinde karaerik üzüm çeşidinin klon seleksiyonu yoluyla ıslahı üzerinde yürüttüğü bir çalışmada, tiplerin doğum oranı (sürgün başına salkım sayısı), salkım ağırlığı, tane ağırlığı, olgunluk indisi, tane çatlama oranı, tane rengi ve iriliği, tane başına çekirdek sayısı, suda çözünen kuru madde gibi ampelografik özellikler üzerinde durmuş ve tipler arasında bu özellikler yönünden önemli sayılabilecek varyasyonlar olduğunu belirlemiştir.

İç Anadolu Bölgesi'nde Konya, Meram ilçesi bağcılığını Akkurt ve Fidan (1998) incelemiş ve ilçede karşılaşılan sorunları belirlemişler; ayrıca yörede yetiştirilmekte olan toplam 13 üzüm çeşidine ait ampelografik özellikleri 'Uluslararası Bitki Gen

Kaynakları Merkezi' (IPGRI) tarafından hazırlanan normları kullanarak ayrıntılı olarak incelemiştir.

Ampelografi alanında yapılan diğer bir çalışmada ise Nosul'chak (1984), Türkmenistan'da 1930'lardan beri toplanan yerli ve yabancı üzüm çeşitlerinden oluşturulan koleksiyon bağındaki 860 çeşidi ileri yetiştirme metodlarından da yararlanarak yeniden gözden geçirip bunun ıslah çalışmalarındaki yararlarına değinirken, Calo *et al.* (1990), İtalya'da bazı üzüm çeşitleri üzerinde yaptıkları 3 yıllık bir çalışma sonunda elde ettikleri verim, ampelografik ve biyokimyasal özelliklere ait verileri karşılaştırmışlardır. Farklı isimlerle anılan bazı çeşitlerin aslında aynı çeşit olduğu, küçük farklılıkların ise tamamen çevre koşullarından kaynaklandığı kanısına varmışlardır.

Schneider *et al.* (1990), 'Brachetto' olarak bilinen 3 Piedmont çeşidine ait klonların morfolojik özellikleri, tanelerin kimyasal ve aromatik bileşimleri üzerinde çalışmışlar ve klonların birbirinden ayrılacaklarını gösterirken, Caravero *et al.* (1994), renkli ve muskat kokulu 22 üzüm çeşidini tanımlamada ampelografik ve kimyasal yöntemleri kullanmışlar, ampelografik gözlemleri çeşitlerin morfolojik özelliklerine göre gruplandırmışlardır. Biyokimyasal tanımlamada tartarik asitle birlikte tane kabuklarındaki antosiyaninlerin belirlenmesi çeşitlerin tane kabuk rengine göre gruplandırılmasını sağlamış ve bunun bazı tane polifenolleriyle ilişkilerini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca Schneider (1995), yaptığı bir çalışmada biyokimyasal ve moleküler metotlardaki son gelişmelere rağmen klon, çeşit ve türlerin tanımlanmasında morfolojik parametrelerin incelenmesinin en önemli ve en kolay metot olduğunu ifade etmiştir.

İspanya'da Tempranillo adı altında yetiştirilen üzüm çeşitlerine ait klonların ampelografik özelliklerini belirleyen Rubio and Yuste (2004), klonlara ait 53 ampelografik özelliği incelemiştir. Ayrıca araştırmacılar, UPGMA metodu ile klonlara ait soy ağacı analizlerini de yapmışlardır. Araştırmada, klonlar arasındaki benzerlikler 4 kola ayrılan dendrogram üzerinde değerlendirilmiştir.

Tomazic *et al.* (2003), Slovenya’da 13 yerel asma kültüründe 71 ampelografik parametre çalışmış ve aynı kültür asmaları arasında en az 25 ampelografik parametrede fark göstermiştir.

Günümüzde üzüm çeşitlerinin tanımlanmasında çevre şartları veya omcanın yaşı ile değişebilen morfolojik özellikler yerine, moleküler farklılıklar kullanılmaya başlanmıştır (Antcliff 1997; Mullins *et al.* 1992). İzoenzim veya DNA analizleri gibi modern laboratuvar teknikleri, akrabalık ilişkilerinin araştırılmasına veya kemotaksonomiye yeni ufuklar açmıştır. Yapılan çalışmalar, önceleri çeşitlerin izoenzim yapılarının belirlenmesine dayanmış ve bu açıdan genellikle tane ve yaprak izoenzimleri incelenmiştir (Walker and Lin 1995; Wolfe 1971). Bachman and Blaich (1990), yaptıkları bir çalışmada 71 üzüm tür ve çeşidinin boğum aralarındaki floemlerden izole ettikleri Peroksidaz Enzimi’ni ‘Izoelektrik fokuslama yöntemi’ne tabii tutmuşlar; sonuçta, Amerika ve Asya kökenli tür ve melezleri *V. vinifera* L. ile karşılaştırdıklarında bunların birbirinden sadece bir enzim bandı açısından farklı olduklarını göstermişlerdir. Yine bu alanda Çalışkan ve Ağaoğlu (1998), ülkemizde yetiştirilen bazı Çavuş üzümü tiplerinin ‘Elektroforez Yöntemi’ ile tanımlanmaları üzerinde bir çalışma yapmışlar; sonuçta tipler arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla Kateşol Oksidaz, Peroksidaz ve Esteraz izoenzimlerinden yararlanılabileceğini göstermişlerdir. Daha sonraları sinonim çeşitlerin veya klonlar arası farklılıkların araştırılması süreci geliştirilmiş ve bunun son aşaması olarak, DNA analizleriyle çeşitler arasındaki akrabalık ilişkilerinin araştırılması izlemiştir (Moreno *et al.* 1995; Bowers *et al.* 1993; Buscher *et al.* 1994; Tschammer *et al.* 1994). Calo *et al.* (1995), klon ve çeşitlerin tanımlanmalarında daha çok kesinlik sağlamak için ampelografik ölçümler yanında izoenzim ve DNA analizlerine yer vermişler, izoenzim analizlerinin aynı çeşide ait klonlar arasındaki ayrımı mümkün kılmamakla birlikte bazı çeşitlere ait sorunları çözmeye yararlı olacağını ifade etmişler, DNA analizlerinin çeşit tanımlamada çıkacak sorunları çözmeye önemli katkı sağlayabileceği kanısına varmışlardır. Bassi *et al.* (1995), çeşitleri tanımlamak için fenolojik ve morfolojik özelliklerle beraber klasik ampelografik özellikleri irdemişler; moleküler bir teknik olan ‘DNA Parmakizi’ yönteminin güvenilir sonuç vermesine karşın morfolojik ve fenolojik özelliklere dayalı

olarak yapılan geleneksel ampelografiye gereksinim olacağını da vurgulamışlardır. Bowers *et al.* (1993), şaraplık bazı üzümleri DNA parmakizi yöntemiyle tanımlamışlar ve sonuçta bu yöntemin ampelografi'ye önemli bir katkı sağlayabileceğini göstermişlerdir. Ortiz *et al.* (2004) de yaptıkları bir araştırma sonucunda, İspanya'dan 621 *Vitis vinifera* koleksiyonunu morfolojik tanımlamalar, izoenzim ve mikrosatellit kullanılarak karakterize etmişlerdir.

DNA seviyesindeki varyasyonu belirleyebilen metotlar, özellikle yakından ilişkili genotipler arasındaki ayırım için oldukça etkili yöntemlerdir (Hartl and Seefelder 1998). Bu yöntemlerden biri RAPD olup birkaç cinsin yakından ilişkili genotipleri arasındaki genetik varyasyonu belirleme kapasitesi ve kolaylığı sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Yine, kültür identifikasyonu (Yang and Quiros 1993), nesil belirlenmesi (Elisiairo *et al.* 1999), genetik ilişkilerin değerlendirilmesi (Nicese *et al.* 1998) ve popülasyonların genetik varyasyon tahminleri (Harrison *et al.* 1997) RAPD'nin kullanım alanlarındandır. Asma'da RAPD analizi ile genetik ilişkilerin incelenmesi alanında çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan Wang *et al.* (1999), 13 türle temsil edilen 42 asma koleksiyonunun RAPD analizi ile genetik uzaklıklarını çalışmışlar ve varyeteler içinde ve arasında varyasyon gözlemişlerdir. Analiz sonucunda Kuzey Amerika asmaları, Doğu Asya asmalarını birbirinden ayırmışlar, RAPD analizinin *Vitis* türleri içinde ve arasındaki genetik ilişkiyi anlamak için uygun bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Sanchez-Escribano *et al.* (2000) tarafından yapılan diğer bir çalışmada Monako'da yetişen 45 asma koleksiyonu RAPD tekniği kullanılarak tanımlanmış ve asma'nın tanımlanması için RAPD tekniğinin kullanımı tavsiye etmişlerdir.

Loureiro *et al.* (1998) ise RAPD markırını ve mikrosatellit tekniklerini kullanarak İspanya'da önemli bir üzüm çeşidi olan ve çoğunlukla yanlış isimlendirilen 'Albarino' (*Vitis vinifera* L.) çeşidinin yanlış isimlendirilmesini önlemiş ve bu çeşit içindeki genetik varyasyonu değerlendirmişlerdir. Vidal *et al.* (1999) yine İspanya ve Fransa'nın farklı bölgelerinde yetişen 32 beyaz asma varyetesi arasındaki genetik ilişkiyi RAPD ile araştırmış, varyeteleri 3 gruba ayırmış ve varyetelerin ayrılmasında onların coğrafik

yerlerinin, ampelografik karakterlerin etkili olduğunu belirtmişlerdir. İspanya’da bu alanda yapılan bir diğer çalışmada Ulanovsky *et al.* (2002) 2 germplasm bankasında bulunan varyetelerin karakterizasyonu için RAPD ve mikrosatellit moleküler markırlarını kullanılmışlar, RAPD ve mikrosatellit analizlerinde bir uyum gözlemlemişler ve çalışılan bütün varyetelerin ayırt edilmesinde her iki yöntemin kullanılabilceğini belirtmişlerdir. Bu alanda yapılan diğer bir çalışmada ise Aras vd. (2005), Türkiye’nin farklı bölgelerinde yetiştirilen *Vitis vinifera* Büzgülü asma ekotipleri arasındaki genetik ilişkiyi 20 RAPD primeri kullanarak analiz etmişlerdir. Araştırmacılar analiz edilen bireyler içerisinde 0,601 ile 0,879 arasında değişen genetik benzerlik oranları saptamışlardır. Ayrıca, genotiplerin morfolojik özelliklerinin ve yetiştiricilik yapılan coğrafi bölgelerin filogenetik soy ağacı üzerine yansıdığı bildirilmiştir.

Polat vd. (1998), Tekirdağ Bağcılık ile Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü’nde melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen altı üzüm çeşidi ile Cardinal ve Perlette’çeşitlerinin RAPD markırlarını oluşturup DNA parmak izlerini ortaya koymaya çalışmışlardır. Araştırmacılar, 30 primer kullandıkları çalışmalarında çeşitlerin benzerlik indeksi ile genom özelliklerini belirlemişlerdir.

Asma varyetelerinin tanımlanması için moleküler markırlar rutin olarak kullanılmaktadır. Mikrosatellit yüksek derecede polimorfik olması, ko-dominant markır olması ve kolaylıkla çoğaltılabilmesine bağlı olarak genetik kaynakların analizi, soyağacı yapılandırılması ve asmada genomik çalışmalar için başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Botta *et al.* 1995).

Vitis vinifera türüne ait Sultana ve Cabernet Sauvignon çeşitleri ile *V.berlandieri* türüne dahil olan bazı genotiplerin 5 SSR primeri ile karakterizasyonunu yapan Thomas *et al.* (1993), asma genomunun kısa tekrar dizileri bakımından zengin olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmanın sonuçlarında, bu kısa tekrar dizilerinin bireye özgü olarak değişebileceği ve bu sayede genotipler arasında polimorfizm elde edilebileceği bildirilmiştir.

This *et al.* (2004), Farklı protokol ve şartlarda, farklı laboratuarlarda elde edilen mikrosatellit bilgisinin karşılaştırılabileceğini belirtilmişlerdir. Kùltürlerin SSR allel karakterizasyonu ve tanımlanması için uygun 6 markır (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62, VrZAG79) çalışılmış ve bu markırlar gelecekteki asma kùltür analizleri için çekirdek set olarak kabul edilmiştir.

Hvarleva *et al.* (2004), Bulgaristan'daki gen havuzunda bulunan 74 *Vitis vinifera* çeşidini 9 SSR markırını ile karakterize etmişlerdir. Çeşitler arasında yüksek oranda (%78) genotipik farklılıkların bulunduğu ve bu sayede çeşitlerin farklı gruplara kolaylıkla ayrılabilirdiği bildirilmiştir.

Montaner *et al.* (2004), İspanya'daki 2 'Graciano' ve 12 'Parrleta' asma kùltür koleksiyonunu karakterize etmek için standart kabul edilen markırları kullanılmışlardır. Reale *et al.* (2006), yine İspanya ve Güney İtalya'daki *Vitis vinifera* Tintilia kùltür koleksiyonu benzer isim, morfoloji ve tarımsal özellikteki diğerkùltürlerle genetik uzaklık ve ilişkilerinin belirlenmesi için 13 SSR lokusu kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz edilen 37 koleksiyonun genetik uzaklığı hesaplanmış, taksonomik tanımlama problemlerini çözmek için SSR analizinin genel uygulanabilirliği açıklanmıştır.

Herrera *et al.* (2002), Dünya' da şarap üretimi için kullanılan pek çok asma kùltürünün orjinlerinin belli olmadığını belirterek, RAPD ve ISSR analizleri ile Şili'de 4 *Vitis vinifera* kùltürünü karşılaştırmışlardır. Fatahi *et al.* (2003), İran ve Amerika'dan 62 asma koleksiyonu yüksek derecede polimorfik 9 mikrosatellit lokusu kullanarak karakterize etmiş ve genetik benzerlik için oluşturulan dendrogramı sofralık, şaraplık ve kurutmalık olmak üzere 3 gruptan oluşturmuşlardır.

Manen *et al.* (2003), Avrupa'nın farklı yerlerinden elde edilen 6 arkeolojik *Vitis vinifera* tohum örneğini 5 farklı mikrosatellit markır (VVS2, ZAG21, ZAG62, UCH11, UCH29) ile test etmişlerdir. Yunanistan, Hırvatistan, İtalya, Avusturalya, Almanya, Fransa, İspanya ve Portekiz'i içine alan 163 Avrupa kùltüründen oluşan modern kùltürlerin

mikrosatellit data bilgisi arkeolojik *V.vinifera* tohumları ile karşılaştırarak onların tarihi ve orjinleri hakkında bilgi edinilebileceğini bildirmişlerdir.

Merdinoğlu vd. (2000), *Vitis vinifera*'nın 12 varyetesine ait 21 klon üzerinde üç DNA parmak izi tekniğini (RAPD, AFLP, SSR) kullanmış ve her çeşidin birbirlerinden farklarını belirlemişlerdir. Yine Aradhya *et al.* (2003), 22 yabancı *Vitis vinifera* ve 222 kültüre alınmış asma koleksiyonunu 8 mikrosatellit lokusu kullanarak genetik uzaklık ve farklılıklarını çalışılmışlar, kültürlerin coğrafik orjinleri ve örnek mikrosatellit polimorfizm arasındaki ilişkiyi açıklamışlardır.

Martinez *et al.* (2006), yine asma için standart kabul edilen SSR markırlarını kullanarak Peru'dan Arjantine kadar olan bölgede 25 *Vitis vinifera* varyetesini içeren bir koleksiyondaki benzerliği ve genetik çeşitliliği hesaplamışlar ve varyetelerin ayrılmasında coğrafik orjinden çok morfolojik ve ekolojik özelliklerin payı olduğunu gözlemlemişlerdir. Jahnke *et al.* (2007) tarafından yapılan bir çalışmada Picolit ve Keknyelu kültürleri analizi için SSR ve izoenzim kullanılmış bu yöntemlerin çalışılan asma kültürlerinin ayrımında önemli olduğu bildirilmiştir.

Günümüzde moleküler markırlar (RAPD, RFLP, AFLP, SSR, ISSR gibi) farklı amaçlara yönelik kullanımları ile bağcılıkta ve diğer alanlardaki ıslah çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır. Bağcılıkta farklı amaçlara (çeşit tanımlama, klonların sınıflandırılması, türler arası melezleme, gen aktarma, cinsiyet belirlenmesi, erken seleksiyon, genom haritalama, hastalıklara dayanım, hastalık ve zararlıların teşhisi vb.) yönelik kullanılan bu teknikler tek başına veya diğer moleküler markırlarla kombine bir şekilde kullanılmaktadır.

Ayrıca yukarıda da değinildiği gibi asma türünün ampelografik özellikleri ve genetik özelliklerinin ekolojik, coğrafik özelliklere bağlı olarak da değıştiğine dair çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmamızda Çoruh vadisinde yoğun olarak yetiştirilen Kabarcık (*Vitis vinifera*) asma çeşidinin populasyonları arasındaki farklılığın

- a) Morfolojik ve fenotipik markır olarak kabul edilen ampelografik ve yağ asit profilleri özelliklere göre belirlenmesi,
- b) Genetik farklılığın ise dominant markır olan RAPD ve kodominant markır olan SSR ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

Çeşitlilik ve genetik ilişkileri belirlemede kullanılan bilgiler genel olarak dört tip bilgi kaynağından gelir; 1) arkeoloji, 2) botanik, 3) lingustik (dil), ve 4) tarih. Son iki yolla ulaşan bilgilerin sağlıklı olup olmadıkları tartışılmasına rağmen ilk ikisinin daha güvenilir olduğu düşünülmektedir (Harlan and De Wet, 1973). Arkeolojik kazılar sonucu elde edilen bilgiler, nem ve sıcaklığın organik çürümeyi arttıracak düzeyde olması, dünya üzerindeki eski tarım merkezlerinin de bu nem ve sıcaklığı yüksek bölgelerde bulunması nedeniyle ihtiyaçları karşılamaktan uzaktır. Botanik delillerden birisi olan moleküler markırlar, bolluk ve güvenilirlik açılarından oldukça büyük öneme sahiptir. Moleküler markırlar, kaynağını hücrelerinde bulunan DNA'lardan alırlar. Canlıların yapısını belirleyen şifre de DNA zincirlerinde olduğundan moleküler markırlar, bitki populasyonundaki çeşitlilik veya o populasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100'e yakın güvenilirlikle değerlendirilirler. Bugün moleküler markırlar bitki sistematğinde, ıslahında ve gen kaynaklarının değerlendirilmesinde etkin olarak kullanılmaktadır (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Moleküler sistematik çalışmalarındaki başlıca hedef, populasyon yapısının aydınlatılması (coğrafi farklılıklar, çiftleşme, heterozigotluluk, bireyler arasındaki akrabalık), bitki türleri arasındaki sınırların belirlenmesi (hibridizasyon dahil) ve filogeninin tahmin edilmesidir. Bu amaçla kullanılan genetik markır sistemleri moleküler sistematğin en yaygın başvuru alanlarındandır. Genetik markırların verimli ve etkin olabilmesi için: a) polimorfik, b) kalıtılabilir, c) tekrarlanabilir ve d) kolay yorumlanabilir özellikleri taşıması gerekmektedir.

Bitkiler arasındaki genetik farklılıklar, farklı gen diziliminden kaynaklanmaktadır. Aileler içi, türler içi ve populasyonlar arası genetik varyasyon genetik markırlarla değerlendirilmektedir. Genetik markır, bağlantılı bir lokustaki allelleri tanımlamak için kullanılan saptanabilir gen ya da DNA parçasıdır.

Genetik markır tipleri; morfolojik markır, protein markırları ve DNA markırları olmak üzere üç gruba ayrılabilir. Tüm dünyada moleküler ve genetik alanında yapılan çalışmalar baş döndürücü bir hıza erişmiştir. Böylece tür içi ve türler arası genetik farklılıklar bireylerin DNA'larının karşılaştırılmasıyla moleküler düzeyde araştırılabilmektedir. Baz sıraları aralarındaki bu farklılıklar aynı zamanda genom haritalarının oluşturulmasında, kalıtsal hastalıkların teşhisinde, populasyon genetiği çalışmalarında, bitki ve hayvan ıslahı çalışmalarında önemli rol oynamaktadır.

2.1. Bitki Populasyon Genetiğinde Kullanılan Markır tipleri

2.1.1. Fenotipik (morfolojik) markırlar

Morfolojik markırlar, kalıtımı özelleşmiş biyokimyasal ya da moleküler teknikler olmaksızın görsel olarak gözlemlenebilir. Tek bir lokus tarafından kontrol edilen morfolojik özellikler, genetik markır olarak kullanılabilirler. Çevresel faktörlerin dışında böyle markırların ifadesi epistatik (bir karakterin ortaya çıkmasından sorumlu olan farklı genler arasında baskılayıcı etkilerin olması durumu) ve pleiotropik (bir genin birden fazla fenotipik karakter üzerindeki etkisi) etkileşimler tarafından dahi değiştirilebilir. Morfolojik markırların sayısı çok sınırlıdır. Onların allelleri birbirlerini dominant-resesif bir tavırda etkiler ve böylece onu homozigot bireylerden, heterozigot bireyleri ayırt etmeyi mümkün kılar. Ayrıca morfolojik markırlar çevre faktöründen etkilendikleri için bitkinin bütün gelişme devrelerinde kontrol edilememektedirler (Stuber 1992).

Bitki populasyonu içinde, bir bitki ya da bir grubu diğerlerinden ayıran seçici özellik, o genotipi ayıran bir markır olarak değerlendirilir. Meyve kabuğu, yaprağın şekli, çiçeğin rengi, bitki ağaç özellikleri bu grup markırları oluşturur. Bu tip markırlar, genetik olarak uzak akraba olarak kabul edilen bitki toplulukları arasında etkili olarak kullanılabilmesine karşın, yakın akraba olan bitki toplulukları için etkili bir markır değildir.

Fenotipin en direk değerlendirme şekli olması, kolay elde edilebilir olmaları, genellikle basit donanım gerektirmeleri gibi sebepler bu markırlar için avantaj olup, tür seviyesinde uzmanlık ve tecrübe gerektirmesi, çevresel etkilere maruz kalmaları ve çeşitli gelişim aşamaları geçirmeleri (Staub and Sequen 1996) sebebiyle fenotipe dayalı olarak oluşturulan taksonomiler hatalı sınıflandırmalara neden olabilir.

Üzüm çeşitlerinde ise morfolojik özelliklerin belirlenmesinde uluslararası yöntem birliğini sağlamak amacıyla “Uluslararası Bitki Gen Kaynakları Merkezi” (International Board For Plant Genetic Resources) adına oluşturulan bir çalışma grubu tarafından “Bağcılık ve Şarapçılık Ofisi” (Office International de la Vigne et du Vin-OIV) ve “Uluslararası Yeni Bitki Çeşitlerinin Korunması Birliği” (International union for the Protection of New Varieties of Plants- UPOV) ile işbirliği içerisinde yapılan çalışmalar sonucunda geliştirilen normlar “Üzüm Tanımlayıcıları” (Graphe Descriptors) adı altında yayınlanmıştır (Anonymous 1983). “Üzüm Tanımlayıcıları“ iki tanımlama sisteminden oluşmaktadır. Bunlardan ilki olan “Tanımlama ve Ön Değerlendirme Verileri” bitkisel özellikler ve vegetatif özellikler, çiçek ve meyve özellikleri ile çekirdeklere ait özelliklerin incelenmesini esas almaktadır. İkinci tanımlama sistemi olan “İleri Tanımlama ve Değerlendirme” de ise bu özellikler daha detaylı incelenmekte; bunun yanında, düşük ve yüksek sıcaklıklara, kurağa, neme, demir klorozuna ve toprak tuzluluğuna duyarlılık, hastalık ve zararlılara dayanıklılık ile bazı sitolojik karakterler de incelenmektedir.

2.1.2. Biyokimyasal markırlar:

Sistemik problemlerin aşılmasında kullanılan ilk biyokimyasal markırlar proteinlerdir. Enzim (izozimler) ve enzim olmayan proteinler (gliadin ve glutenin gibi depoproteinleri), doğal populasyonlarda genetik değişkenliğin anlaşılması, gen akışı, tür sınırlarının tespiti, genlerin açılıp-kapanma zamanının belirlenmesi gibi çalışmalarda kullanılmaktadır (Murphy *et al.* 1990).

Tohum kabuğu proteinleri, yapraklarda bulunan kimyasallar, sekonder metabolitler, izoenzimler vs. bu gruba girerler. Ancak en yaygın kullanılan komponentler izoenzimler ve tohum proteinleridir. Bu markırların maliyeti, moleküler markırlara oranla daha düşüktür ve daha az iş gücüyle elde edilirler.

Proteinlerin aminoasit dizisindeki değişikliklerden kaynaklanan yük ve büyüklük farklılıkları jel elektroforezi (nişasta ve poliakrilamid) kullanılarak kolaylıkla saptanmakta ve genetik markır gibi kullanılabilir.

Bir enzimin alternatif formları olarak ifade edilen izozimler (bir genin farklı allelleri ya da farklı genler tarafından kodlanırlar) en fazla kullanılan protein markırlarıdır. İzozim terimi ilk kez 1957 yılında Markert ve Möller tarafından kullanılmıştır (Stebbins 1989).

İzozimlerin metabolizmadaki rolünün iyi bilinmesi, kullanılan yöntemlerin hızlı ve ucuz olması, izozim markırlarının temel avantajlarıdır. Fakat izozim lokus sayısının az olması, bazı izozimlerin belirli dokularda ve belirli gelişme dönemlerinde bulunması, post-translasyonel modifikasyonlara uğramaları bu markırların kullanımını kısıtlamaktadır (Staub *et al.* 1996).

Bitki türlerinde bugüne kadar yeterince biyokimyasal markır üretilmemiştir. Bu markırlardaki varyasyonlar, kodlayıcı DNA bölgelerindeki benzer olmayan değişikliklerden ya da translasyon sonrası (post-translational) protein modifikasyonlarından kaynaklanır. Ancak bu markırların kullanılabilirliği, çalışılan populasyonların yapısına bağlıdır. Örneğin izoenzimler, türler arası veya nispeten uzak bitkiler arasındaki varyasyonları çalışmada oldukça yararlı olmasına rağmen, yakın akrabalar arasındaki ilişkileri tespit için uygun değildir (Staub and Sequen 1996). Bu markırların bir diğer dezavantajı, sayısal olarak çalışılacak izoenzimlerin veya proteinlerin azlığıdır. Test edilen izoenzimlerin bitkilerde, bolca ve sürekli biçimde sentezlenmesi de gerekmektedir. İzoenzimler, bir tek enzimin alternatif formlarıdır ve elektrik ortamında farklı hız ve yönlerde hareket ederler (Markert and Moller 1959).

Kaba enzim ekstraktları jel ortamında nişastadan yapılan jeller üzerinde ayrıldıktan sonra biyokimyasal (Hunter and Markert 1959) olarak tespit edilir. Bir tek enzim sisteminde tespit edilen bantların sayısı; 1) enzimi oluşturan alt ünitelerin (subunit) sayısına, 2) bitkinin çalışılan enzim sistemi için heterozigot veya homozigot olmasına, 3) çalışılan enzimi kodlayan lokus sayısına bağlıdır. Belirli bir lokus için homozigot ve heterozigot bireylerin ayırt edilebildiği kodominant markırlar oluşturur. Sistematikte ve genom haritalama çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Tohum proteinleri, oldukça polimorfik ve tekrarlanabilir markırlar oluşturmaktadır. Protein polimorfizmi DNA düzeyindeki baz değişiklikleri, kromozomlardan bir bölümünün kaybı veya yer değiştirmesinden kaynaklanabilir (Gepts 1990). Bu tip markırların en önemli dezavantajı, çalışılabilecek lokus sayısının azlığıdır. Bir diğer dezavantajı ise, enzimlerdeki translasyon sonrası görülen yapısal değişikliklerdir. Bu olayda, o enzimi kodlayıcı DNA'lar aynı olmasına karşın, bir bilinmeyen lokus o enzimin yapısını değiştirecek ve bu yüzden de jelin analizinde yanlış yorumlamalara neden olabilecektir (Staub *et al.* 1982).

Yüksek bitkilerdeki yağ (fatty) asit içeriği ve kompozisyonu kemotaksonomik markır vazifesi görür (Shorland 1963; Harborne and Turner 1984; Hegnauer 1989; Spitzer *et al.* 1990; Aitzetmuller 1993; Aitzetmuller and Tesevegsuren 1994; Bağcı vd 2003). Tohumların uzun zincirli fatty asit içeriğinin fazla oluşu, endüstriyel amaçlar için kullanımlarına dikkat çekmiştir (Baumann *et al.* 1988). Bünyelerindeki yağ asit içeriği bitkiler arasındaki taksonomik ve filogenetik ilişkilerin tespitinde ilgilenilen bitki için karakteristik bilgi sunmaktadır (Goffman *et al.* 1999; Bağcı vd 2004). Yağ asitleri hidrokarbon yapısında olan makromoleküllerdir. Hücre sitoplazması ve diğer hücreyel organellerin çift tabakalı membranlarında fosfolipit, glikolipit veya lipopolisakkarit formunda yapı molekülü olarak bulunurlar. Yapılarındaki farklılıklar dikkate alındığında yağ asitleri tek zincirli yağ asitleri ve dallanmış zincir oluşturan yağ asitleri olarak 2 ana grup altında incelenirler. Biyolojik sistemlerde tek zincirli yağ asitleri oldukça yaygındır. Yağ asitlerinin içerdikleri karbon atomu sayısı, karbon atomları arasındaki çift bağ sayısı ve yeri, tek zincirli ya da dallanmış zincir oluşturmaları,

karbonların hidrojen atomları tarafından doyurulmuş olup olmamaları, ökaryotik hücrelerde genellikle çift karbon sayısı (C14-C24), prokaryotik hücrelerde tek ve çift sayılı karbon (C9-C20) bulunuşu, yağ asitlerinin taksonomik markır olarak kullanılma sebepleridir.

Genetik olarak aynı olan organizmaların hücrelerindeki yağ asitlerinin sayısı, çeşitliliği ve % olarak miktarları (yağ asitleri profilleri) aynıdır ve çevre şartları aynı olduğu sürece değişmez. Yani yağ asitleri profillerindeki farklılıklar organizmalar arasındaki kimyasal ve genetik akrabalığın göstergesidir (Paisley 1995).

2.1.3. DNA markırları:

DNA markırlarında amaç, bireyler (çeşit, hat, tür vb.) arasındaki DNA seviyesindeki farklılığın ortaya çıkarılmasıdır. Eğer bu farklılık genomda tek bir bölgeyi gösteriyorsa bu bir allel olarak adlandırılır. DNA seviyesinde bunu yapmanın başlıca avantajı, herhangi bir DNA zincirinin, iki birey arasındaki allelik farklılığı gösterebilmesidir. Bunun için o DNA dizininin herhangi bir proteini kodlayıp kodlamadığını bilmeye gerek yoktur. Son yıllarda sistematik çalışmalarında yaygın olarak kullanılan moleküler markırlar çeşitli avantajlara sahiptir;

- 1) çevre faktörlerinden etkilenmezler
- 2) çekirdek ve farklı kalıtım şekline sahip kloroplast ve mitokondri gibi organel genomlar ayrı ayrı çalışılabilir
- 3) genetik değişiklikleri daha fazla yansıttıkları için daha az pleiotrofikdir (bir genin birden fazla karakteri kontrol etmesi)
- 4) her bir ebeveynden gelen farklı karakterler tespit edilebildiği için bitkilerin genetik orijini tespit edilebilir
- 5) sonsuz sayıda moleküler markır elde edilebilir.

Kullanılacak markır sistemini etkileyen bazı faktörler vardır. Polimorfizmin seviyesi veya popülasyonun tipi, farklı çevrelerdeki stabilitesi, lokus sayısı, kolaylık, analiz

maliyeti, altyapı bu kriterlerden bazılarıdır. Her moleküler markır yöntemi avantaj ve dezavantajlara sahiptir. Markır seçimi bütün bu kriterler göz önünde bulundurularak amaca uygun olarak yapılır. DNA markırlar polimorfizmi nasıl açıkladıklarına bağlı olarak iki kategoride sınıflandırılabilir: Hibridizasyon temelli polimorfizmler ve PCR (Polymerase Chain Reaction/Polimeraz Zincir Reaksiyonu) temelli polimorfizmler. Birincisi DNA hibridizasyonuna dayalı RFLP (restriction fragment length polymorphism/Kesilmiş parça uzunluk polimorfizmi), diğeri ise PCR'a dayalı SSR (simple sequence repeats/basit dizi tekrarları), RAPD (random amplified polymorphic DNA/rastgele arttırılmış polimorfik DNA), AFLP (amplified fragment length polymorphism/çoğaltılmış fragment uzunluk polimorfizmi) ve SRAP (sequence related amplified polymorphism/çoğaltılan sekans polimorfizmi) teknikleridir. Yeni yaygınlaşmaya başlayan ve sağlık bilimlerindeki araştırmaların öncülük ettiği SNP (single nucleotide polymorphism/tek nükleotid polimorfizmi), DNA zincirindeki tek nükleotit farklılığını kullanmaktadır. Bu teknik bitki genomuna ait DNA zincir bilgisini gerektirdiğinden, bitki bilimlerine girmesi geçikmiştir. Fakat şu anda sürmekte olan EST (expressed sequence tags/ ifade edilen dizi etiketi) projeleri SNP markırlarının geliştirilmesine katkıda bulunabilecektir.

2.1.3.a. Hibridizasyona dayalı moleküler markırlar

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism/ Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi) Yöntemi:

RFLP ilk kullanılan DNA markırıdır (Botstein *et al.* 1980). Southern blotting olarak da adlandırılan bu yöntem şu şekilde yürütülür: DNA, spesifik DNA bölgelerini kesen enzimlerle kesilir. Böylece, bir tek enzimin kesebildiği, ancak farklı uzunluklarda DNA popülasyonu oluşturulur, elektroforez yöntemi ile farklı büyüklükte DNA fragmentleri büyüklüklerine göre ayrılır, hibridizasyonun yapılacağı naylon filtrelelere transfer edilir, biyotinyasyonla işaretlenmiş ve radyoaktif olmayan veya radyoaktif problemlerle (genellikle P32 ile işaretlenmiş, 300-3000 bp uzunluğunda kısa DNA zincirleri) hibridize edilen fragmentler radyografi yöntemi ile tespit edilir. İki veya daha fazla

bireyin tespit edilen bantları karşılaştırıldığında, eğer enzimle kesilen DNA'ların uzunluklarında bir farklılık varsa polimorfizm elde edilir. Bu farklılıklar DNA'daki duplikasyon, DNA'daki delesyon ve kromozomal rekombinasyon olması durumunda oluşur. Nükleotid değişikliğinden dolayı restriksiyon enzim kesme noktası kazancı veya kaybı nedeniyle de polimorfizm oluşabilir. Problar, değişik kaynaklardan elde edilebilir. cDNA ve restriksiyon enzimleriyle kesilen genomik DNA'lar en çok kullanılan kaynaklardan bazılarıdır. Özellikle ilk kaynak, tek kopya ya da düşük sayıda kopyalanmış kodlayıcı DNA bölgelerine ait problar verdiği için oldukça etkilidir. RFLP tekniği kolay uygulanabilen bir yöntemdir. Fakat yorumların doğru olabilmesi için enzim seçimi çok önemlidir. Genomik DNA'da PstI problarının kaynağı ise şu şekilde açıklanır; kodlayıcı genler metilasyonlu değildirler, genellikle en yaygın metilasyonlanmış zincirler GC ve GXC (X: herhangi bir nükleotit, G: guanin, C: sitozin) şeklinde bulunan C'lerdir. PstI restriksiyon enzimi de C metilasyonuna duyarlıdır ve sadece metilasyonlanmamış yerleri keser.

RFLP markırları kullanılarak genetik linkaj haritaları oluşturulabilir. RFLP analizi ile değişik laboratuvarlarda aynı sonuçlar alınabilmektedir. Bu markırlar kodominant kalıtılır ve heterozigot bireylerin tanımlanmasını da sağlarlar. Bununla birlikte pahalı olması, fazla işgücü ve zaman gerektirmesi, radyoaktif madde kullanılması, fazla miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulması RFLP tekniğinin en büyük dezavantajlarından biridir (Farooq and Azam 2002).

2.1.3.b. PCR Tekniğine dayalı moleküler markırlar:

PCR tekniği yüksek ısıda tek iplik formuna denatüre olmuş DNA moleküllerine ait belirli bölgelerin, ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri sayesinde milyonlarca kopyasının oluşturulmasına olanak sağlamıştır (Halden *et al.* 1994). Birkaç markır sistemine temel teşkil eder. PCR kaynaklı markır sistemlerinde 10-25 bp uzunluğunda primer olarak adlandırılan oligonükleotidler kullanılır. Bu primerler genomda bağlandıkları yerlerin arasını, eğer 3-4 kb'nin altında olursa 1-1,5 milyon defa çoğaltırlar. PCR kaynaklı

polimorfizmin sebebi, kromozom düzeyinde meydana gelen yerleştirme/iptal ve mutasyon nedeniyle oluşan primer yapışma bölgesi kazancı/kaybı olabilir.

PCR bileşenleri; DNA kalıbı, primer, dNTP, MgCl₂ ve yüksek sıcaklıklarda aktif olabilen *Thermus aquaticus* bakterisinden izole edilen Taq polimeraz enzimi ve ona uygun bir tampon çözeltilidir. PCR protokolü tekrarlanan 30-40 döngüden meydana gelmektedir. Her bir PCR döngüsü birbirini takip eden 3 farklı aşamadan oluşur;

a) İlk adımda çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. Bunun için çift zincirli DNA, tek zincirli hale getirilene kadar ısıtılır (90–95°C’ de yaklaşık 5 dk.).

b) Primerlerin bağlanması; sıcaklık 30–70°C arasında bir değere düşürülür ve primerlerin tek zincirli hale getirilmiş olan DNA’ya bağlanması sağlanır. Bu primerler yapay oligonükleotidlerdir (18–30 nükleotid uzunluğunda) ve çoğaltılacak DNA kısmının uçlarındaki tamamlayıcı dizilere özgül olarak bağlanır. Bu primerler kalıp DNA’nın sentezi için başlangıç noktası olarak görev yapar.

c) Polimeraz enzimi ile zincirin uzaması; DNA polimerazın ısıya dayanıklı bir şekli (Taq polimeraz) reaksiyon karışımına ilave edilir ve DNA sentezi 70–75°C arasındaki sıcaklıkla da gerçekleşir. Polimeraz enzimi, nükleotidleri 5’den 3’e doğru ekleyerek primerin uzamasını sağlar ve hedef DNA’nın iki zincirli kopyasını oluşturur.

Hedeflenen DNA dizisi yaklaşık 2n sayıda çoğalmaktadır ve n; döngü sayısını ifade etmektedir.

RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA/ Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) Yöntemi:

RAPD ilk defa 1990’ da rastgele seçilmiş primerlerin kullanıldığı ve PCR’ı temel alan bir teknik olarak ortaya çıkmıştır (Williams 1990). RAPD tekniği (Williams *et al.* 1990;

Villordon and LaBonte 1995) genetik kaynaklar arasındaki çeşitlilik, bitki popülasyonunda kullanılan bireyler arasındaki ilişkilerin tespitinde ve genetik haritalama çalışmalarında en fazla kullanılan yöntemlerden birisidir. RAPD yönteminin temel prensibi ilgili olan türe ait genomik DNA üzerinde rastgele seçilmiş, tek bir 9-10 bp oligonükleotidin, düşük bağlanma sıcaklığında tesadüfi olarak bağlanarak PCR ile çoğaltma yapmasıdır. Tekniğin devamında elde edilen çoğaltma ürünü radyoaktif olmayan standart jel elektroforezinde yürütülür ve çoğaltma ürünleri bantlar halinde gözlemlenerek incelenir. Bantların varlığı veya yokluğuyla sonuçlar değerlendirilmektedir (Williams *et al.* 1990; Welsh *et al.* 1990).

Kullanılan primerlerin, PCR' da kullanılan diğer primerlerde olduğu gibi herhangi bir palindromik dizi içermemesi, %50-80 oranında G+C oranına sahip olması gerekir (Williams *et al.* 1990; Welsh *et al.* 1990). RAPD tekniğinde çoğaltma, kullanılan primerin uzunluğuna, primerin GC içeriğine ve primer dizisindeki tek bir nükleotitin yerine duyarlıdır (Porebski 1997). Bu teknikte MgCl₂, dNTP ve Taq DNA polimeraz konsantrasyonlarının çalışılan bitkilere özgü optimün koşullarının belirlenmesi reaksiyonun tekrarlanabilirliği açısından gereklidir (Williams *et al.* 1990; Welsh *et al.* 1990; Rafalski *et al.* 1994; Mathieu-Daudé *et al.* 1997).

DNA temeline dayalı diğer bazı temel tekniklerle RAPD karşılaştırıldığında bu tekniğin en büyük avantajı ilgilenilen taksonun genleriyle ilgili herhangi bir ön bilgi gerektirmemesidir (Williams *et al.* 1990; Welsh *et al.* 1990). Çoğaltmada tüm organizmalar için aynı oligonükleotid primer seti kullanılabilir ve bu oligonükleotid özgün bölgelere rastgele bağlanarak çoğaltma yapmaktadır (Hillis 1990; Williams *et al.* 1990; Welsh *et al.* 1990). Bir primerle, farklı bitkilerin genomik DNA'ları farklı olacağından oluşacak RAPD belirteçler farklı olacaktır (Glick 1998). Bu farklılık organizmaların karşılaştırılmasını sağlamaktadır. Ayrıca radyoaktiviteye, Southern transferlere veya DNA hibridizasyonuna gerek duyulmamaktadır. RAPD karakterlerinin sayısı ihtimal olarak sınırsızdır. Kullanılan primer sayısı arttırıldıkça elde edilen bant sayısı da artacaktır. Bu açıdan yakın türleri ayırmada ve tür içerisindeki varyasyonu belirlemede izozimden daha duyarlıdır. RAPD kullanım açısından kolay

olmasına karşılık, belirteçleri dominanttır ve heterozigotları teşhis etmek zordur (Mathieu-Daudé *et al.* 1997).

Rastgele dekamer oligonükleotidler (primer) kullanılarak PCR ile çoğaltılan DNA uzunluklarının ortaya çıkardığı farklılıkları esas alan RAPD tekniği birçok avantajı ile PCR markırlar içerisinde hızla benimsenmiş ve bu konuda çalışılan laboratuvarlarda tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir. Ancak, teknikte başarılı sonuçlara ulaşmak ve bu sonuçların tekrarlanabilirliği, özellikle bitkisel materyale uygun miktar ve saflıkta DNA kullanımı, PCR ve elektroforez koşullarının optimizasyonunun uygun primerlerin seçimi ile doğrudan ilişkilidir (Ergül vd. 2002).

SSR (Single Sequence Repeat/Basit Dizi Tekrarları) Yöntemi:

PCR ile oluşturulan ve genetik markır olarak kullanılan bantlaşma modelleri temel alınarak organizmaların ayırt edilmesinde ve tanımlanmalarında etkili bir diğer yöntem SSR'dır. Mikrosatellit terimi 1989 yılında Litt ve Luty tarafından kullanılmış ve SSR DNA markır lokuslarının polimorfizm özellikleri ilk kez insanlarda gösterilmiştir. Bitkilerde SSR markır lokuslarının polimorfik doğası ve frekansı üzerine ilk incelemeler 1992 yılında yapılmıştır (Akkaya vd. 1992).

Mikrosatellitler genellikle 100-200 bp'e ulaşan kısa yapılara sahip ve ökaryotik genoma geniş bir şekilde yayılmış olarak bulunurlar. Tekrar motifleri ise ikili, üçlü, dördü veya beşli şekilde olabilir ((CA/GT)_n veya (AGC/TCG)_n gibi). Mikrosatellitler çalışılmış olduğu çoğu lokusda tekrar bölgesinin sayısında çok farklılıklar göstermesinden dolayı genetiğin birçok alanında moleküler markır olarak önem arz etmektedir. Bugüne kadar mikrosatellit varyasyonunun en gelişmiş çalışmaları lokusun tipi ve bilgilendirme derecesi, nukleotit diziliminin boyu ve tekrarlanan nukleotitler arası ilişkilerin araştırılması ile yapılmaktadır.

Mikrosatellit tekrarların bulunduğu genom bölgelerindeki genetik varyasyonlar genellikle DNA kayması sonucunda meydana gelir. Mikrosatellit lokuslardaki mutasyonlar, DNA replikasyonu sırasında tekrarın bulunduğu kısımda yanlış eşleşme veya bir tekrarın atlanması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir.

Mikrosatellit markırlar kodominant markırlardır yani heterozigotları homozigotlardan ayırt edebilir ve PCR kullanımı ve allellerin jel üzerine ayırım yapılmasıyla tüm genetik bilgilere ulaşmak mümkündür.

Mikrosatellitler ayrıca evolüsyonla ilgili çalışmalarda, kriminolojik çalışmalarda, fertlerin akrabalık seviyelerinin, ana ve babalarının belirlenmesinde, genomdaki genlerin haritalarının çıkarılmasında, populasyonun genetik parametrelerinin (gen akışı ve etkili populasyon büyüklüğü gibi) tahmini ve populasyon farklılıklarının belirlenmesi gibi çalışmalarda yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Mikrosatellitler farklı genetik çalışmaları için çok güçlü tek lokus genetik markır olarak kabul edilmiş olmasına rağmen, allellerin PCR amplifikasyonu için türe has primer geliştirilmesi çok pahalı çalışmalar gerektirmektedir.

ISSR (Inter-Simple Sequences Repeats/Basit Dizi Tekrar Arası) Yöntemi:

Teknik, 5' ve 3' sonda güçlendirilen kısa, tekrarlanan DNA zincirlerinin primer olarak PCR reaksiyonunda kullanılmasını, PCR ürünlerinin elektroforez ile büyüklüklerine göre ayrılmasını ve jel üzerinde DNA'ların tespitini içerir (Zietkiewicz *et al.* 1994). Primer olarak 2 ile 4 arasında değişen farklı veya aynı nükleotidlerle sabitleştirilen, basit olarak tekrarlanan DNA zincirleri kullanılır. Bir reaksiyonda tekrarlanan zincir aynı kalmak kaydıyla, sabitleştirici DNA'ların farklı kombinasyonları primer olarak aynı reaksiyonda kullanılarak bir tek PCR reaksiyonunda güçlendirilen hedef DNA zincirlerinin sayısı artırılır. Dolayısıyla da bir tek jel üzerinde üretilebilecek bant ya da markır sayısı da artırılmış olur. Bu, diğer DNA markırlarının üretebildiği bant

sayılarıyla karşılaştırıldığında önemli bir avantaj sağlar (Fang *et al.* 1997). RAPD markırlarında olduğu gibi, genellikle dominant markırlar verir.

SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions/Dizisi Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler) Yöntemi:

SCAR markır sistemi özgül oligonükleotit çiftleri ile çoğaltılabilen ve genetik açıdan tek bir lokus olarak tanımlanan genomik DNA fragmentlerini karakterize eder. SCAR markırları kodominant olarak kalıtılır. 1993 yılında RAPD markırları SCAR markırlarına dönüştürülmüş ve RAPD markır sisteminin etkinliği biraz daha artırılmıştır (Paran and Michelmore 1993). Bu işlemin yapılabilmesi için amplifikasyon ürünleri klonlanır ve dizisi belirlenir. Dizi bilgisi dikkate alınarak daha özgül ve daha uzun primerler dizayn edilir (24 nükleotit uzunluğunda olan bu primerlerin ilk on bazı orjinal RAPD primerinden geri kalan bölgesi ise internal dizilerden oluşturulur). Bu primerler SCAR markırlarının oluşturulmasında kullanılır. SCAR markırları restriksiyon enzimleri ile kesilerek kodominant markırlara dönüştürülebilmektedir (Chawla 2002).

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism/Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi) Yöntemi:

Genomik DNA parmak izi için geliştirilmiş bir tekniktir. Bu teknikte, rastgele seçilen primer sekanslarına benzer uçlar ile sadece fragmentler çoğaltılmaktadır. Bir AFLP reaksiyonunda oluşturulan bantların sayısı amplifikasyon primerinin değişken parçasındaki bazların sayısı ile tespit edilmektedir. En büyük avantajı tek bir reaksiyonla çok sayıda bant (60-500 bç) vermesidir ve çalışma için çok az miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulmasıdır (Vos *et al.* 1995). Ayrıca bu teknik, PCR amplifikasyonu ve restriksiyon enzim kesim işlemlerinin bir kombinasyonu olup bu iki tekniğin avantajlarına sahiptir. AFLP analizi oldukça yüksek kararlılığı ve hassaslığı dolayısıyla genetik varyasyon çalışmaları için uygun bir teknik olduğu düşünülmektedir (Mueller and Wolfenbarger 1999). Bitkilerde hızlı bir şekilde genetik harita oluşturabilmek için

kullanılırdır. Kompleks organizmalarda uygulanabilen, genetik çeşitlilik çalışmalarında yaygın olarak kullanılan, parmak izi analizi çalışmaları için de uygun patentli bir tekniktir, dolayısıyla maliyeti yüksektir. Ayrıca uygulama esnasında radyoaktif madde veya flourosan boyaların kullanılması bu yöntemden faydalanılmasını sınırlamaktadır. Dominant markır sistemi olması ise diğer bir dezavantajdır (Vuylsteke *et al.* 2007).

SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism/Çoğaltılan Sekans Polimorfizmi) Yöntemi:

Bu markırlar 17 veya 18 bç uzunluğundaki ileri (forward) ve ters (reverse) primerlerin kullanılmasıyla elde edilir. İleri primerler 13 veya 14 bç uzunluğundaki çekirdek dizini ve buna 5' ucunda eklenmiş CCGG dizini, ters primerlerde ise yine aynı uzunluktaki çekirdek dizini ve bu dizine eklenmiş AATT dizini içermektedir. Hem ileri hem de ters primerler 3' ucunda üç adet seçici nükleotid içermektedir. Bu primerler doğrudan gen bölgelerini hedef almaktadır. SRAP markırları, RAPD markırlarına göre daha yüksek oranda tutarlı sonuçlar ortaya koymaktadır ve AFLP markırlarına göre ise daha ucuz ve daha az işgücü gerektirmektedir (Li and Quiros 2001).

DAF (DNA Amplification Fingerprinting/DNA Çoğaltımlı Parmakizi) Yöntemi:

RAPD teknolojisindeki yeni gelişmeler sonucu ortaya çıkarılmış bir tekniktir. DAF uygulama protokolü açısından RAPD ile benzerlikler göstermektedir (Kolchinsky *et al.* 1993). DAF'ı RAPD'den ayıran farklılıklar; protokolde kullanılan primerler, primer bağlanma dereceleri ve tekniğin güvenilirlik oranıdır (Prabhu ve Gresshoff 1994). Genomik DNA'nın kısa parçalarını çoğaltmak ve çoğaltılmış DNA ürünleri oluşturmak için, rastgele seçilmiş kısa (yaklaşık 5 baz çifti) oligonükleotid primerlere bağlanan ısıya dayanıklı DNA polimeraz kullanır. Bu ürünlerin poliakrilamid jel elektroforezi ve gümüş boyama ile analizi mümkündür. Ayrıca DAF yöntemi hızlı ve genetik karakterizasyon için duyarlı bir tekniktir (Caetano-Anolles *et al.* 1991).

CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence/Çoğaltılmış Kesilmiş Polimorfik Dizi) Yöntemi:

CAPS markırları PCR-RFLP olarak da bilinir ve PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleriyle kesimi sonucunda oluşan DNA fragmentlerindeki polimorfizmleri yansıtır. Primer dizaynı için gerekli olan dizi bilgisi gen bankası, genomik DNA, cDNA ya da klonlanmış PCR ürünlerinden sağlanır. Kesim ürünlerinin boyutları karşılaştırılarak polimorfizmler ortaya çıkarılabilir (Koniieczn and Ausubel 1993; Jarvis *et al.* 1994). Bu markır sistemi kodominant özellik gösterir.

2.2. Genetik Polimorfizm

Polimorfizm, DNA'daki yer değiştirmeler, ters dönmeler, parça eksilmeleri ve parça yerleşmeleri ile meydana gelir ve genleri, onların düzenlenmelerini, biyokimyayı, gelişmeyi, morfolojiyi, davranışı etkileyeceğinden evrim sürecinde fenotipik varyasyonun da kaynağıdır (Britten 1996). DNA sekansı, hücre başına düşen DNA miktarı, kromozom sayısı ve yapısındaki varyasyonu ifade eder. Seleksiyon, mutasyon, migrasyon, genetik sürüklenme ve/veya rekombinasyonun bir sonucudur.

Seleksiyon, popülasyonu oluşturan bireyler arasında görülen fenotipik farklılıklardan bazılarının kalıtsal olabileceği ve yaşamak için verilen savaşlarda bu özelliklere sahip bireylerin diğerlerine göre hayatta kalmaları ve daha hızlı üremeleri olarak açıklanır. Popülasyonlarda süper genotip frekanslarının yükselmesine neden olur.

Mutasyon, varyasyonun en büyük kaynağıdır, fakat tür ve popülasyon evrimini tek başına yönlendiremez. En basit şekliyle gen sekansındaki tek nükleotid değişiklikleridir. Böyle bir mutasyon, bir allelin popülasyonda var olan diğer bir allele (dominant bir allelin resesif bir allele dönüşmesi gibi) veya tamamen yeni bir allele dönüşmesine neden olur. Sonra bu allel frekansları nesilden nesile aktararak yayılır.

Migrasyon (göç), gen akışı denilen olay herhangi bir genin bir popülasyondan diğerine hareketi olup popülasyonlarda önemli frekans değişikliklerine sebep olur.

Gen akışı, popülasyonlar arası genetik materyal değiş tokuşunu; genetik erozyon, genetik farklılığın popülasyon içi veya popülasyonlar arasındaki kaybı ya da azalması olarak tanımlanır ve bunlar, genetik mesafeye (popülasyonlar arasındaki benzerlik/benzemezlik ilişkisinin derecesi) katkıda bulunan diğer faktörlerdendir.

Genetik sürüklenme (drift), küçük popülasyonların allel frekanslarında meydana gelen dalgalanmalardır, popülasyonlardaki farklılığı azaltır. Çünkü popülasyonlardaki nadir allellerin kaybına neden olur.

Rekombinasyon, yeni gen düzenlenmeleri olarak tanımlanır, yeni bir farklılık yaratmaz fakat varolan farklılığın yeni kombinasyonlarını üretir (de Vicente and Fulton 2004).

Sınırlı sayıdaki doğal kaynaklarımızdaki genetik çeşitliliğin korunması ve gerektiğinde verimli bir şekilde kullanımları için bünyelerindeki genetik varyasyonun belirlenmesi gerekir. Bu varyasyonları tespit etme amacıyla sitolojik veriler, izoenzimler, tohum depo proteinleri gibi biyokimyasal işaretleyiciler ve RFLP, RAPD, AFLP, SSR, ISSR gibi moleküler işaretleyiciler başarıyla kullanılmaktadır (Stuber 1992).

Genetik varyasyon, fenotipik ve genotipik olmak üzere iki şekilde değerlendirilir. Fenotipik değerlendirmeler morfolojik karakterler (bireyin şekli ve görünüşü) üzerinde yoğunlaşır. Bazıları genetiksel düşünülebilir, eğer çevreden bağımsız kalıtılabilen bir özellikse, bu DNA'nın belli bir sekansı ile ilgilidir. Fakat belli gen etkilerini fenotipik farklılıklardan bulabilmek zordur. Genotipik değerlendirmeler ise DNA seviyesinde olup bireyler arasındaki mitokondrial veya nükleer DNA polimorfizmini belirleyebilmektedir.

Bitkilerin genetik potansiyellerinin amaca uygun biçimde yönlendirilmesi açısından moleküler markırlardan genel olarak kalitatif ve kantitatif özelliklerin ıslahında, seleksiyonda, genetik ve linkage haritalamalarında, çeşit tanımlaması ve korunmasında, genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde yararlanılmaktadır (Bilgin ve Korkut 2005).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan bitkisel materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak, Çoruh vadisinde Erzurum ili Olur ilçesinde 4 farklı yükseltide bulunan Kabarcık çeşidi kullanılmıştır. Çeşide ait örnekler 4 farklı yükseltiden (850, 900, 1000, 1150 m) populasyon başına 15 örnek olacak şekilde alınmıştır.

3.1.2. Kullanılan alet ve cihazlar

Çalışma esnasında aşağıdaki alet ve cihazlar kullanılmıştır:

Otoklav (Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)

Soğutmalı Santrifüj (Hettich, Mikro 22R, M10, SN 0001279-03-00)

Santrifüj (Eppendorf, GERMANY, 5414 D, SN 5425-40112)

Otomatik Termocycle Sistem (Eppendorf, GERMANY, SN 5331-01846)

Elektroforez Sistemi (Biogen, Apelex, FRANCE, SN 280800)

Jel Görüntüleme Sistemi (Uvitec, Biolab, EEC, SN M01-2467)

Mikrobiyal İdentifikasyon Sistemi (MIDI, Inc., Newark, DE)

Çalkalayıcı (Thermoshake, Gerhard, GERMANY, SN 4002319)

Su Banyosu (Nüve, TÜRKİYE, ST-402, SN 02-0138)

Otomatik Pipetler (Eppendorf, GERMANY)

Spektrofotometre (Cecil, CE 5502)

Magnetik Karıştırıcı (Nüve, TÜRKİYE, MK-418, SN 05-1083)

pH Metre (Hana, PORTUGAL, HI 9321, SN 396202)

Derin Dondurucu (Nuarie, U.S.A, -86 Ultralow Freezer, SN P07K-476316-PK)

Hassas Terazı (Scaltec, GERMANY, SPB42, SN SPB42-90908239)

Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)

Saf Su Cihazı (Ateks, 7x35, Eu)

Mikrodalga Fırın (Arçelik, TÜRKİYE, MD 592)

Kar makinesi (Angelontonia, ITALIA, SN 25183/00)

3.1.3. Kullanılan Çözelti ve Solüsyonlar

Araştırma süresince kullanılan çözeltilerin kimyasal içerikleri aşağıdaki gibidir:

3.1.3.a. Yağ asit profillerinin (Fatty Asit Metil Esterleri) belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

Çözelti 1: Hücre parçalayıcı (Saponification)

45 gr	NaOH
150 ml	Metil alkol
150 ml	Saf su

Çözelti 2: Metilleştirme (Methylation)

325 ml	HCl (6N)
275 ml	Metil alkol

Çözelti 3: Saflaştırma (Extraction)

200 ml	Hekzan
200 ml	MTBE (Metil-tetra-butil ether)

Çözelti 4: Bazik yıkama (Base wash)

10,8 gr	NaOH
900 ml	Saf su

3.1.3.b. DNA izolasyonu için kullanılan çözeltiler**DNA ekstraksiyon tamponu:**

100 mM	Tris-HCl	(pH 8.0)
50 mM	EDTA (Etilendiamin tetra asetik asit)	(pH 8.0)
500 mM	NaCl	
%2	SDS (Sodyum Dodesil Sülfat)	(w/v)
%2	β -mercaptoethanol (v/v)	
%1	PVP (Polyvinylpyrrolidone)	(w/v)

CTAB/NaCl:

%10 CTAB (Setil trimetil amonyum bromür)
0,7 M NaCl

Fenol:Kloroform:İzoamil alkol:

25:24:1 oranında hazır olarak kullanılmıştır.

Kloroform:İzoamil alkol:

24:1 oranında hazır olarak kullanılmıştır.

TE tamponu:

10 mM Tris-HCl (pH 8.0)
1 mM EDTA (pH 8.0)

%70'lik Etil Alkol:

70 ml etil alkolün hacmi steril distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

3.1.3.c. PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan çözeltiler

Ethidium Bromür Çözeltisi: 500 ml 0,5x TBE (Tris-borat-EDTA) tamponu içerisine 300 µl ethidium bromür ilave edilerek hazırlanmıştır. Karanlık ortamda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Bovine Serum Albumin: 1 ml steril distile su içerisinde 20 mg bovine serum albumin olacak şekilde hazırlanarak -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Bromfenol Blue Çözeltisi: 0,25 g bromfenol blue, 0,25 g ksilen siyanol FF ve 30 ml gliserol'ün toplam hacminin 100 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Çözelti otoklavda steril edildikten sonra +4°C'de muhafaza edilmiştir.

0,5x TBE tamponu: TBE tamponu 10x TBE olarak satın alındı ve 0,5 birim 10x TBE tampon +9,5 birim saf su ilavesi ile 0,5x TBE tamponu hazırlanmıştır.

Primerlerin Hazırlanması:

Kullanılan primerler yönetici firmanın önerdiği miktarda sulandırılarak stok solüsyonu, daha sonra da uygun hesaplamalar ile 1µM olacak şekilde çalışma solüsyonları hazırlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Populasyonların örnekleme

4 farklı yükseltide yetiştirilen Kabarcık çeşidinin dört populasyonu örnekleştir. Morfolojik özelliklerin meyve ve yaprak örnekleri üzerinde, moleküler çalışmalar ise sadece yapraklar üzerinde yürütülmüştür.

Vitis vinifera türüne ait olan Kabarcık çeşidinin sözü edilen bu populasyonlarından bahar döneminde her populasyondan 15 bireye ait genç yaprakları toplanmıştır, bireyler arasındaki mesafenin 10-15 m kadar olmasına dikkat edilmiştir. Populasyonlarımız 850, 900, 1000 ve 1150 m olmak üzere 4 farklı yükseltiden toplanmıştır. 850 m deki populasyona A populasyonu, 900 m deki populasyon B populasyonu, 1000 m deki populasyon C ve 1150 m deki populasyon D populasyonu olarak adlandırılmıştır. Toplanan yaprak örnekleri, yağ asit profilleri, RAPD ve SSR için kullanılmak üzere -80°C’de saklanmıştır.

3.2.2 Ampelografik özelliklerin tespit edilmesinde uygulanan yöntem

Bu araştırmada ağırlıklı olarak yöntemin ilk aşamasını oluşturan “Tanımlama ve Ön Değerlendirme” verilerine ait kriterler esas alınarak üzerinde çalışılan üzüm çeşidinin ampelografik özellikleri belirlenmiştir. Aynı zamanda 5. Uluslararası sempozyumda yayınlanan “Minimal Descriptor List for Grapevine Varieties” adlı “Üzüm Tanımlayıcıları”ndan da yararlanılmaya çalışılmıştır (Anonymous 1989).

Yöntemde; OIV, UPOV ve IBPGR “Üzüm Tanımlayıcıları”nın kod numaraları, bunlara karşılık gelen ampelografik özellikler, bu özelliklerin açıklamaları ile genellikle 0-9 arasında rakamlar verilerek oluşturulan skala numaraları kullanılmıştır. Olgun yaprak, üzüm salkımı, tane, çekirdek, verim ve kaliteye ilişkin özelliklerin metod kod numaraları Çizelge 3.1.’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Olgun yaprak, üzüm salkımı, tane, çekirdek, salkım ve tane ağırlığına ilişkin özelliklerin metod kod numaraları

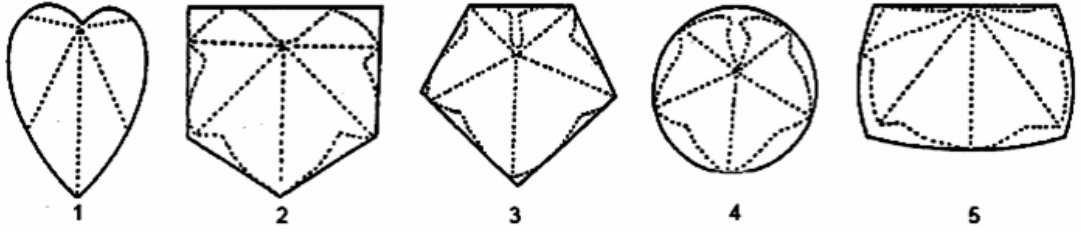
OIV Kod No	IBPGR Kod No	UPOV Kod No	İncelenen Özellik	OIV Kod No	IBPGR Kod No	UPOV Kod No	İncelenen Özellik
065	4.1.6	30	Olgun yaprak büyüklüğü	220	4.2.4	62	Tane büyüklüğü
066	6.1.19		Olgun yaprak uzunluğu	221-1	6.2.9		Tane uzunluğu
067	6.1.20	31	Yaprak ayası şekli	221-2			Tane genişliği
068	4.1.7	32	Yaprak dilim sayısı	223	4.2.5	64	Tane şekli
069	6.1.21	33	Yaprak üst rengi	224	6.2.11	65	Tane enine kesiti
074	6.1.26	34	Yaprak ayası profili	225	4.2.6	66	Tane Kabuk rengi
076	4.1.8	40	Yaprak kenar dış şekli	227	6.2.13	68	Tane Pus tabakası
092	6.1.40		Yaprak sapının uzunluğu	238	6.2.19	75	Tane sapı uzunluğu
202	4.2.2	58	Salkım Büyüklüğü	241	4.3.1	77	Çekirdeklik durumu
203	6.2.5		Salkım Uzunluğu	242-1	6.3.2		Çekirdeğin uzunluğu
204	6.2.6	59	Salkım Sıklığı	242-2			Çekirdeğin eni
205	6.2.7		Salkımdaki tane sayısı	243	6.3.3		Çekirdeğin ağırlığı
206	4.2.3	60	Salkım sapı uzunluğu	502	6.2.25		Salkım ağırlığı
207	6.2.8	61	Salkım sapının odunlaşması	503	6.2.26		Tane ağırlığı

3.2.2.a. Olgun yaprak özellikleri

Büyüklik (cm²) (OIV 065, IBPGR 4.1.6, UPOV 30): [çok küçük (<75), küçük (75-149), orta (150-224), büyük (225-300) ve çok büyük (>300)]; (Skala değerleri:1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Uzunluk (cm) (OIV 066, IBPGR 6.1.19): [çok kısa (<8), kısa (8-14.4), orta (14.5-19.4), uzun (19,5-26.0) ve çok uzun (>26)] (Skala değerleri:1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Yaprak ayasının şekli (OIV 067, IBPGR 6.1.20, UPOV 31): Kalp, kama, beşgen, yuvarlak ve böbrek şeklinde (Skala değerleri:1, 2, 3, 4, 5) olarak sınıflandırılmıştır (Şekil. 3.1).



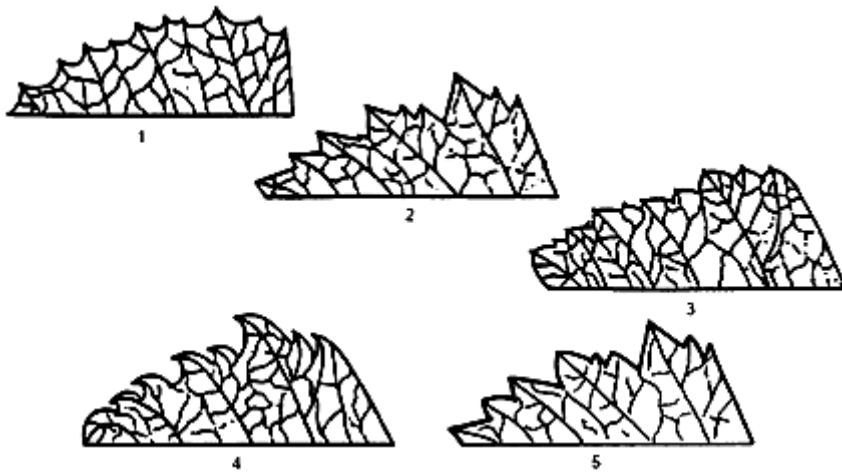
Şekil 3.1. Olgun yaprakta ayanın şekilleri (Anonymous 1983a)

Dilim sayısı (OIV 068, IBPGR 4.1.7, UPOV 32): Dilimsiz, üç, beş, yedi ve yediden fazla (Skala değerleri:1, 2, 3, 4, 5) olarak sınıflandırılmıştır.

Üst yüzün rengi (OIV 069, IBPGR 6.1.21, UPOV 33): Çok açık yeşil, açık yeşil, koyu yeşil ve çok koyu yeşil (Skala değerleri:1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Ayanın profili (OIV 074, IBPGR 6.1.26, UPOV 34): Düz, düze yakın, içe kıvrık, dışa kıvrık ve dalgalı (Skala değerleri:1, 2, 3, 4, 5) olarak sınıflandırılmıştır.

Dişlerin şekli (OIV 076, IBPGR 4.1.8, UPOV 40): Her iki tarafı konkav (iç bükey), her iki tarafı düz, her iki tarafı konveks (dış bükey), bir taraf konveks diğer taraf konkav, her iki taraf düz ve her iki taraf dış bükey karışık (Skala değerleri:1, 2, 3, 4, 5) olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 3.2).



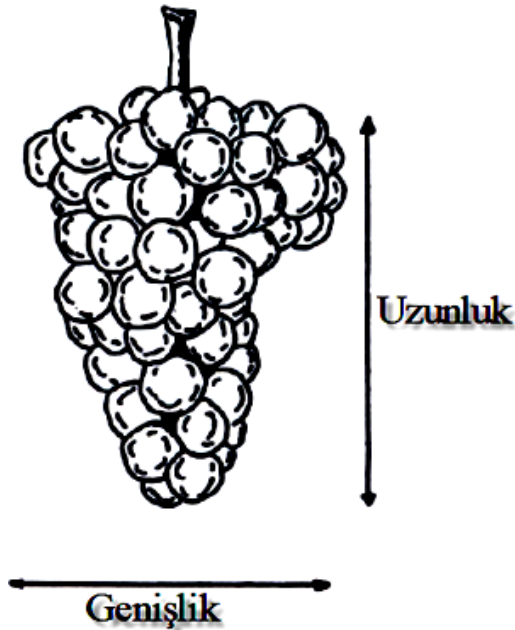
Şekil 3.2. Olgun yaprak kenarındaki dişlerin şekli (Anonymous 1983a)

Yaprak sapının uzunluğu (cm) (OIV 092, IBPGR 6.1.40): [çok kısa (<7), kısa (7-11.4), orta (11.5-15.4), uzun (15.5-21.0) ve çok uzun (>21)] (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

3.2.2.b. Üzüm salkımı özellikleri

Hasat döneminde her populasyon için 15 sürgün üzerinde bulunan ilk salkımların ortalaması alınarak gözlenen özellikler:

Salkım Büyüklüğü (cm²) (OIV 202, IBPGR 4.2.2, UPOV 58): Çok küçük (<150), küçük (150-199), orta (200-249), büyük (250-300) ve çok büyük (>300) (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7,9) olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Üzüm salkımı: Salkım büyüklüğü (Anonymous 1983a)

Salkım uzunluğu (cm) (OIV 203, IBPGR 6.2.5): [çok kısa (<11), kısa (11-17.4), orta (17.5-22.4), uzun (22.5-30.0) ve çok uzun (>30)] (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Sıklık (OIV 204, IBPGR 6.2.6, UPOV 59): Çok seyrek, seyrek, orta, sık ve çok sık (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

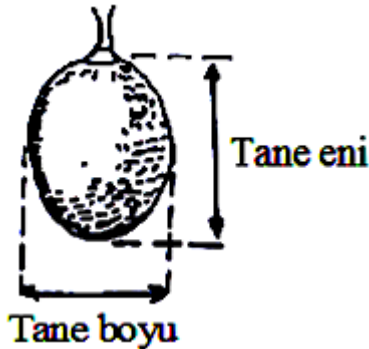
Tane sayısı (OIV 205, IBPGR 6.2.7): Çok az (<51), az (51-124), orta (125-174), fazla (175-250) ve çok fazla (>250) (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Salkım sapı uzunluğu (cm) (OIV 206, IBPGR 4.2.3, UPOV 60): Çok kısa (<3), kısa (3.0-5.9), orta (6.0-7.9), uzun (8.0-11.0) ve çok uzun (>11) (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Salkım sapının odunlaşması (OIV 207, IBPGR 6.2.8, UPOV 61): Zayıf, orta ve kuvvetli (Skala değerleri: 3, 5, 7) olarak sınıflandırılmıştır.

3.2.2.c. Tane özellikleri

Tane büyüklüğü (mm²) (OIV 220, IBPGR 4.2.4, UPOV 62): Çok küçük (<60), küçük (60-119), orta (120-269), büyük (270-480) ve çok büyük (>480). (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 3.4).

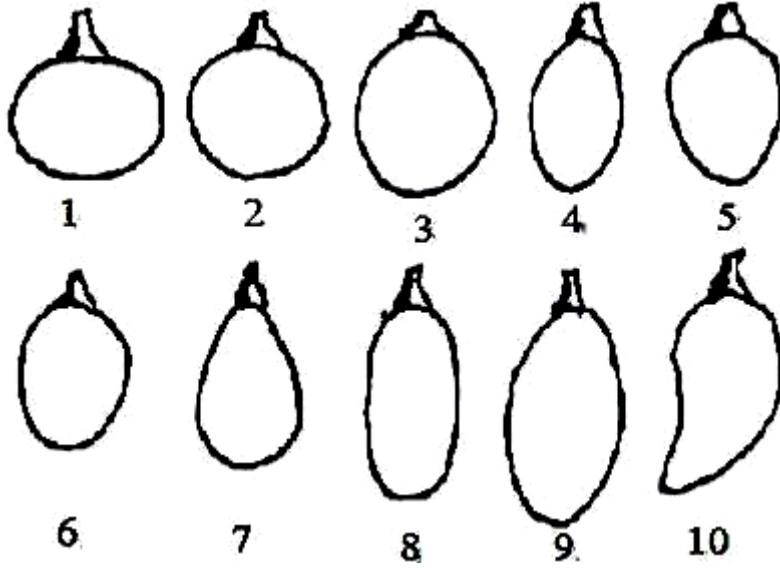


Şekil 3. 4. Üzüm tanesi (Kaplan 1994)

Tane uzunluğu (mm) (OIV 221-1, IBPGR 6.2.9): Çok kısa (<11), kısa (11-17.4), orta (17.5-22.4), uzun (22.5-30) ve çok uzun (>30) (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Tane genişliği (mm) (OIV 221-2): Çok dar (<11.5), dar (11.5-14), orta (14.1-17.5), enli (17.6-21) ve çok enli (>21) (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Tane şekli (OIV 223, IBPGR 4.2.5, UPOV 64): Basık, hafif basık, yuvarlak, kısa oval, yumurta şeklinde, enli yumurta şeklinde, ters yumurta şeklinde, silindirik, uzun oval ve orak şeklinde (Skala değerleri: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 3. 5).



Şekil 3.5. Tane şekilleri (Kaplan, 1994)

Tanenin enine kesiti (OIV 224, IBPGR 6.2.11, UPOV 65): Yuvarlak değil ve yuvarlak (Skala değerleri: 1, 2) olarak sınıflandırılmıştır.

Kabuk rengi (OIV 225, IBPGR 4.2.6, UPOV 66): Yeşil-sarı, pembe, kırmızı, kırmızı-gri, koyu kırmızı-mor, mavi-siyah, kırmızı-siyah ve diğer (Skala değerleri: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) olarak sınıflandırılmıştır.

Pus tabakası (OIV 227, IBPGR 6.2.13, UPOV 68): Yok, çok zayıf, zayıf, orta, kuvvetli ve çok kuvvetli (Skala değerleri: 0, 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Tane sapı uzunluğu (mm) (OIV 238, IBPGR 6.2.19, UPOV 75): Çok kısa (<6), kısa (6-10.4), orta (10.5-14.4), uzun (14.5-20) ve çok uzun (>20). (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Çekirdeklilik durumu (OIV 241, IBPGR 4.3.1, UPOV 77): Yok, rudimenter ve var (Skala değerleri: 0, 1, 2) olarak sınıflandırılmıştır.

3.2.2.d. Çekirdek özellikleri

Çekirdeğin uzunluğu (mm) (OIV 242-1, IBPGR 6.3.2): Çok kısa (<4.1), kısa (4.1-5), orta (5.1-6.2), uzun (6.3-7.4) ve çok uzun (>7.4) (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Çekirdeğin eni (mm) (OIV 242-2): Çok dar (<2.4), dar (2.4-2.8), orta (2.9-3.4), enli (3.5-4) ve çok enli (>4) (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Çekirdeğin ağırlığı (mg/çekirdek) (OIV 243, IBPGR 6.3.3): Çok düşük (<11), düşük (11-32), orta (33-47), yüksek (48-65) ve çok yüksek (65) (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

3.2.2.e. Salkım ve tane ağırlığına ilişkin özellikler

Salkım ağırlığı (g/salkım) (OIV 502, IBPGR 6.2.25): [çok küçük (<100), küçük (100-299), orta (300-549), büyük (550-1200) ve çok büyük (>1200)] (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Tane ağırlığı (g/tane) (OIV 503, IBPGR 6.2.26): Çok küçük (<1), küçük (1.0-2.6), orta (2.7-5.9), büyük (6.0-12.0) ve çok büyük (>12) (Skala değerleri: 1, 3, 5, 7, 9) olarak sınıflandırılmıştır.

Olgun yaprakta şekil (OIV 067), dilim sayısı (OIV 068), ayanın profili (OIV 074), dişlerin şekli (OIV 076), tane şekli (OIV 223), enine kesit (OIV 224), pus tabakasının kalınlığı (OIV 227), salkım sıklığı (OIV 204), salkım sapının odunlaşması (OIV 207) gibi özellikler gözleme dayalı olarak saptanmıştır. Olgun yaprakta aya uzunluğu (OIV 066), yaprak sapı uzunluğu (OIV 092), üzüm salkımı büyüklüğü (OIV 202) ve uzunluğu (OIV 203), salkım sapı uzunluğu (OIV 206) cetvelle ölçülerek bulunmuştur.

Olgun yaprak üst yüzü rengi (OIV 069), tane kabuk rengi (OIV 225) çıplak gözle incelenerek belirlenmiştir. Salkımdaki tane sayısı (OIV 205) ve tanedeki çekirdek varlığı (OIV 241) ise sayılarak belirlenmiştir. Tanede büyüklük (OIV 220), uzunluk (OIV 221-1), tane sapı uzunluğu (OIV 238), çekirdek uzunluğu (OIV 242) kumpasla

ölçülerek elde edilen değerlerin ortalaması alınmıştır. Çekirdek ağırlığı (OIV 243), salkım ağırlığı (OIV 502) ve tane ağırlığı (OIV 503), örneklerin laboratuvar koşullarında hassas terazide tartılmalarıyla belirlenmiştir. Olgun yaprak büyüklükleri (OIV 065) Anonymous'da (1983) belirtilen en ile boy çarpımları ile hesaplanmıştır.

3.2.3. Bitkilerin yağ asit profillerinin belirlenmesi

Bitkilerin FAME profilleri (MIS, Sherlock Microbial Identification System, version 4.5, MIDI, Newark, DE) kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.3.a. Yağ asitlerinin saflaştırılması

Yağ asitleri profillerinin belirlenmesinde daha önce bahsedilen çözeltiler kullanılarak aşağıdaki protokol izlenmiştir (Şahin 1999).

a. İçinde yaklaşık olarak 40 mg öğütülmüş bitkisel doku bulunan her bir test tüpüne 1 ml çözelti 1'den ilave edilerek ve 5-10 sn çalkalanarak 5 dk süreyle 100°C 'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.

b. Test tüplerine 2 ml çözelti 2'den eklenerek 5-10 sn 'lik bir çalkalamadan sonra 80°C 'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilerek ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenerek yağ asidi metil esterleri elde edilmiştir. Bu durum yağ asitlerine yüksek sıcaklıkta buharlaşma özelliği vermektedir.

c. Soğutulan tüplere 1,25 ml çözelti 3'den eklenerek 10 dk süreyle çalkalayıcı ile çalkalanmıştır. Alt kısmında inorganik, üst kısmında da organik sıvı fazları olmak üzere iki ayrı faz oluşmuştur. Pastör pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılmış ve yağ asitlerinin toplandığı organik faz muhafaza edilmiştir.

d. En son aşamada ise her tüpe 3 ml çözelti 4'den ilave edilerek 5 dk süreyle çalkalandıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözelti 4, bazik bir solüsyon olup serbest yağ asidi metil esterlerini daha saf olarak elde etmemize yardımcı olmuştur. Tüp içerisinde yine iki ayrı faz oluşmuştur. Üst fazda toplanan ve yağ asidi metil esterlerini içeren faz, pastör pipeti ile alınarak 2 ml 'lik gaz kromatografi tüplerine transfer edilmiştir ve ağızları sıkıca kapatılmıştır.

3.2.3.b. Örneklerin yağ asit içeriklerinin analiz edilmesi

Tüpler, MIS cihazı üzerindeki örnek toplama tepsisine yerleştirildikten sonra cihaz çalıştırılarak sistem kılavuzunda belirtildiği gibi örnekler tek tek analiz edilmiştir ve analiz sonuçları alınmıştır. Bu testler bütün örnekler için üç kez tekrar edilmiş ve en yüksek tanı sonucu değerlendirilmiştir (EK 1).

3.2.3.c. Örneklerin yağ asit profillerinin istatistiksel analizi

Yağ asit profillerinin analizi her bir bireydeki yağ asitlerin varlığı (%0,1-100) ve yokluğu (%0) şeklinde değerlendirilerek, populasyon içi değerlendirmeler Jaccard (1908) 'in benzerlik indeksiyle, populasyonlar arası değerlendirmeler ise SPSS V.13 ile hesaplanıp ve UPGMA yöntemi ile dendogramları oluşturulmuştur. Yağ asitlerinin moleküler formülleri ve sembolleri Çizelge 3.2 de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Yağ asitlerinin moleküler formülleri ve sembolleri

Sıra no:	Yağ Asitleri	Moleküler Formül	Sembol
1	Dekanoik Asit	$C_{10}H_{20}O_2$	$C_{10:0}$
2	Undekanoik Asit	$C_{11}H_{22}O_2$	$C_{11:0}$
3	Laurik Asit	$C_{12}H_{24}O_2$	$C_{12:0}$
4	Tridekanoik Asit	$C_{13}H_{26}O_2$	$C_{13:0}$
5	Miristik Asit	$C_{14}H_{28}O_2$	$C_{14:0}$
6	Pentadekanoik Asit	$C_{15}H_{30}O_2$	$C_{15:0}$
7	Palmitik Asit	$C_{16}H_{32}O_2$	$C_{16:0}$
8	Palmitoleik Asit	$C_{16}H_{30}O_2$	$C_{16:1}$
9	IS	$C_{17}H_{34}O_2$	$C_{17:0}$
10	Stearik Asit	$C_{18}H_{36}O_2$	$C_{18:0}$
11	Oleik asit	$C_{18}H_{34}O_2$	$C_{18:1n9c}$
12	Linoleik Asit	$C_{18}H_{32}O_2$	$C_{18:2n6c}$
13	Araşidik Asit	$C_{20}H_{40}O_2$	$C_{20:0}$
14	Cis-11-Eikosenoik Asit	$C_{20}H_{38}O_2$	$C_{20:1}$
15	Cis-5,8,11,14,17-Eikosapentaenoik Asit	$C_{20}H_{30}O_2$	$C_{20:5n3}$
16	Araşidonik Asit	$C_{20}H_{32}O_2$	$C_{20:4n6}$
17	Heneikosanoik asit	$C_{21}H_{42}O_2$	$C_{21:0}$
18	Erüsik asit	$C_{22}H_{42}O_2$	$C_{22:1n9}$
19	Cis-4,7,10,13,16,19- Dokosaheksaenoik Asit	$C_{22}H_{32}O_2$	$C_{22:6n3}$
20	Lignoserik Asit	$C_{24}H_{48}O_2$	$C_{24:0}$

3.2.4. DNA İzolasyonu

DNA izolasyon protokolü olarak Cheng Lin *et al.* (2001) esas alınmış ve birkaç maddesi modifiye edilmiştir.

a. Önceden sıvı azotta parçalanıp 2ml'lik tüplere alınan bitki materyali üzerine 1000 μ l DNA ekstraksiyon tamponu eklenmiştir, alt üst ederek karıştırılmış ve önceden 65°C'ye ısıtılmış su banyosunda 10-60 dk bekletilmiştir.

b. 12000 g ve 4°C'de 10 dk santrifüjlenerek üst faz yeni bir tüpe aktarılmıştır.

- c. 1000 µl Fenol:Kloroform:İzoamil alkol eklenerek birkaç kez alt üst ederek karıştırılmış, 12000 g ve 4°C'de 5 dk santrifüjlenmiş ve üst faz dikkatli bir şekilde yeni bir tüpe aktarılmıştır.
- d. Üst faza 1/10 hacim CTAB/NaCl çözeltisinden eklenmiş ve alt üst ederek karıştırılmıştır.
- e. 1000 µl Kloroform:İzoamil alkol eklenerek birkaç kez alt üst edilerek karıştırılmıştır. 12000 g ve 4°C'de 5 dk santrifüjlenerek üst faz dikkatli bir şekilde yeni bir tüpe aktarılmıştır.
- f. DNA'yı çöktürmek için 0,6 hacim soğuk izopropanol eklenerek -20°C'de 10 dk bekletilmiştir.
- g. 12000 g ve 4°C'de 10 dk santrifüjlenerek üst faz atılmıştır.
- h. Pelet önce %100'lük sonra %70'lik soğuk ethanol ile yıkanmıştır.
- i. Yıkanan pelet bir gece bekletilerek kurutulmuştur.
- j. Kurutulan DNA 100 µl TE tamponunda çözülmüştür.
- k. Kullanılincaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Elde edilen DNA 250 kat (3 µl DNA+747 µl TE tamponu) seyreltilerek spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında absorbans (A) değerleri okunmuştur. OD (okuma değeri) 260/280 değeri 1,1-1,8 arasında olması durumunda DNA'nın saf olduğu kabul edilmiştir. 50 (DNA için multifikasyon katsayısı)x250 (seyreltme katsayısı)xOD₂₆₀ (260nm'de okuma değeri) formülünden faydalanılarak stoktaki DNA miktarı hesaplanmıştır. Stok DNA'dan 50 ng/µl DNA içeren çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

3.2.5. RAPD

3.2.5.a. RAPD primerleri

Çalışmada toplam 35 RAPD primeri (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, USA) denenmiş ve bunlar arasında amplifikasyon veren 10 RAPD primeri kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin baz dizileri Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan RAPD primerleri ve baz dizilimleri

Primerin Adı	Baz Dizilimi 5'→3'	Referans	Amplifikasyon
OPA- 4	AATCGGGCTG	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var
OPB- 8	GTCCACACGG	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var
OPB- 10	CTGCTGGGAC	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var
OPH- 17	CACTCTCCTC	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var
OPW- 4	CAGAAGCGGA	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var
OPW- 7	CTGGACGTCA	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var
OPW- 11	CTGATGCGTG	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var
OPW- 13	CACAGCGACA	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var
OPW- 17	GTCCTGGGTT	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var
OPW- 20	TGTGGCAGCA	Erçişli <i>et al.</i> , 2008	Var

3.2.5.b. RAPD PCR protokolü

PCR işlemi için şu protokol izlenmiştir; 0,5 ml’lik tüpe 3 µl 10x PCR tamponu, 1,8 µl BSA (10 mg/ml), 1,2 µl dNTP (10 mM), 1,2 µl MgCl₂ (25 mM), 3 µl DNA (100 ng/µl), 1,2 µl primer (5 µM), 0,4 µl 5Unit/µl *Taq* DNA polimeraz (Promega Crop., Madison, Wis.) ve 17,4 µl saf su ilave edilerek hacim 30 µl’ye tamamlanmıştır. PCR çoğaltma öğeleri konsantrasyon ve miktarları Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. RAPD PCR çoğaltma öğeleri konsantrasyon ve miktarları

PCR çoğaltma öğeleri	Kullanılan konsantrasyon	PCR'da kullanılan miktar (μ l)
PCR tamponu	10x	3 μ l
DNA	100 ng/ μ l	3 μ l
BSA	10 mg/ml	1,8 μ l
dNTP	10 Mm	1,2 μ l
MgCl ₂	25 Mm	1,2 μ l
Primer	5 μ l	1.2 Mm
<i>Taq</i> DNA polimeraz	5 Unit/ μ l	0,4 μ l
saf su		17,4 μ l
Toplam		30 μ l

Bu işlemlerin ardından örnekler PCR otomatik thermocycle aletine (Eppendorf Mastercycler Gradient Authorized Thermal Cycle) yerleştirilmiş ve aşağıdaki döngüye tabi tutulmuştur.

- 1) PCR aleti otomatik olarak 5 dk 94°C tutulmuştur,
- 2) 4 döngü olacak şekilde sırasıyla,
 - 1 dk 30 sn 94°C
 - 1 dk 30 sn 37°C
 - 3 dk 72°C'de tutulmuştur,
- 3) 41 döngü olacak şekilde sırasıyla,
 - 1 dk 94°C
 - 1 dk 36°C
 - 1 dk 42°C
 - 3 dk 72°C'de tutulmuştur,
- 4) Son olarak 7 dk 72°C'de tutarak süreç tamamlanmıştır.
- 5) PCR aletinden çıkarılan örnekler 4°C'de saklanmıştır.

3.2.5.c. Agaroz jel elektroforezi

PCR işleminden sonra örnekler agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür ve oluşan bantlara göre primerlerin hibridize olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. İşlem sırasında aşağıdaki protokol takip edilmiştir;

- a. Jel içerisinde agarın konsantrasyonu %1,5 konsantrasyon olacak şekilde agaroz tartılıp 0,5x Tris-Borat EDTA (TBE) tamponu içerisinde mikrodalga fırında hazırlanmıştır.
- b. Mikrodalga fırından çıkarılan 0,5x TBE agaroz çözeltisi içerisine 0,5 µg/ml olacak miktarda Ethidium bromid eklenmiştir.
- c. Hazırlanan jel katılaşmadan elektroforez tankına dökülmüş ve donmadan önce jel üzerine tarak konularak örneklerin yükleneceği kuyucuklar oluşturulmuştur.
- d. Jel donduktan sonra her bir kuyucuğa ayrı bir örnek (3 µl bromfenol mavisi +7 µl PCR ürünü) yüklenmiştir.
- e. Elektrik akımı verilerek 70V–150 dk süre ile DNA'lar elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. İki saat sonunda elektrik akımı kesilmiştir.
- f. Elektroforez tankından çıkarılan jel UV ışık altında incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.5.d. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi

PCR ürünlerinin değerlendirilmesi her bir bireyde her primer için bantların varlığı (1) ve yokluğu (0) şeklinde ifade edilmiştir. Oluşan bantlara göre primerlerin hibridize olup

olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Bantların varlığı primerlerin hibridize olduğu ve genom içerisinde bu primerlerin ait olduğu bölgelerin incelenen örneklerde bulunduğu anlamında değerlendirilmiştir. Populasyon içi değerlendirmeler Jaccard (1908) 'in benzerlik indeksiyle, populasyonlar arası değerlendirmeler ise SPSS V.13 ile hesaplanmış ve UPGMA yöntemi ile dendogramları oluşturulmuştur.

3.2.6. SSR PCR uygulaması

DNA çoğaltımı için Biometra Thermocycler cihazı kullanılmış ve PCR optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. PCR çoğaltma öğeleri olarak 2,5 µl DNA, 1,25 µl 10X Buffer, 1 µl MgCl₂, 2,5 µl dNTP, 0,2 µl primer 1, 0,2 µl primer 2, 0,05 µl GoldTaq, 4,8 µl su olmak üzere toplam 12,5 µl PCR karışımı hazırlanmıştır (Çizelge 3.5). DNA çoğaltımı için örnekler PCR'da 95°C'de 7 dakika, 94°C'de 45 saniye, primerin bağlanma derecesine bağlı olarak 50, 54 ve 55°C'de 45 saniye, 72°C'de 1 dakika 30 saniye ve son yazılım safhasında 72°C'de 7 dakika tutulmuş ve 35 döngü uygulanmıştır.

Çizelge 3.5. SSR PCR çoğaltma öğeleri konsantrasyon ve miktarları

PCR Çoğaltma öğeleri	Kullanılan konsantrasyon	PCR'da kullanılan miktar (µl)
DNA	30 ng	2,5 µl
10XBuffer	1X	1,25 µl
MgCl ₂	1.5 Mm	1 µl
Dntp	25 Mm	2,5 µl
Primer 1	2.5 Mm	0,2 µl
Primer 2	2.5 Mm	0,2 µl
Taq	0.5 U	0,05 µl
Su		4,8 µl
Toplam		12,5 µl

3.2.6.a. Çalışmada Kullanılan SSR Primerleri

Çalışmada dünyada birçok laboratuvarında çekirdek set olarak adlandırılan 6 SSR primeri (VVS2, VVMD7, VVMD24, VrZAG64, VVIH54 ve VVIB01) kullanılmıştır. Her forward primer Fam (mavi), Hex (yeşil) ve Ned (sarı) renklere floresan işaretlenmiş

olup hem forward (F) hem de reverse (R) primerlere ait baz dizileri Çizelge 3.6'de verilmiştir.

Çizelge 3.6. Kullanılan SSR primerlerine ait bilgiler

Lokus	5'-3'	Baz dizilimi	Referans
VVS2	F	6-FAM-CAG CCC GTA AAT GTA TCC ATC	Thomas and Scott 1993
	R	AAA TTC AAA ATT CTA ATT CAA CTG G	
VVMD7	F	6-FAM-AGA GTT GCG GAG AAC AGG AT	Bowers <i>et al.</i> 1996 ve 1999
	R	CGA ACC TTC ACA CGC TTG AT	
VVMD24	F	6-FAM-GTG GAT GAT GGA GTA GTC ACGC	Bowers <i>et al.</i> 1996 ve 1999
	R	GAT TTT AGG TTC ATG TTG GTG AAG G	
VVIH54	F	6-FAM-CCG CAC TTG TGT TGA ATT TCAG	Merdinoğlu <i>et al.</i> , 2005
	R	CAA ACC GTT TTT ACA CCA GCAG	
VVIB01	F	6- FAM-TGA CCC TCG ACC TTA AAA TCTT	Merdinoğlu <i>et al.</i> , 2005
	R	TGGTGAGTGCAATGATAGTAGA	
VrZAG64	F	6-TAT-GAA AGA AAC CCA ACG CGG CACG	Sefc <i>et al.</i> 1999
	R	TGC AAT GTG GTC AGC CTT TGA TGGG	

3.2.6.b. SSR tekniğinin otomatik dizi analizi sistemi kullanılarak kapılar elektroforezde uygulanması

Genotiplerin moleküler analizi, SSR tekniği ile içinde GA 3100 POP-4 (Applera firması) polimer içeren Bechman Coulten otomatik dizi analizi sistemi kullanılarak kapılar elektroforezle yapılmıştır. 0,4 µl PCR ürünü, 9,55 µl formamide ve 0,25 µl ROX 500 içsel DNA standardı olmak üzere toplam 10,2 µl hacim 94°C' de 3 dakika denatüre edildikten sonra otomatik dizi analizi sistemine yüklenmiştir. Sonuçlar, GeneScan 3.7. yazılım programında analiz edilmiş, Genotyper 3.7. programıyla görüntülenmiş ve veriler toplanmıştır. Her lokustaki allel büyüklükleri pikler halinde elde edilmiştir.

3.2.6.c. Sonuçların değerlendirilmesi

Araştırmamızdaki 60 asma genotipinin 12 lokusla analizi sonucunda, benzerlik oranı indeksi Microsat (Minch *et al.* 1995) programı ile ve genetik parametreler ise (her lokusa ait allel sayısı, allel frekansı, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı, ebeveynlik durumunu, sessiz (null) allel frekansını ve tespit olasılığı (PI, Probability of Identity)) IDENTITY 1.0 (Wagner and Sefc 1999) yazılım programı kullanılarak tespit edilmiştir. Genotiplere ait dendogram NTsys (versiyon 2.02g, Exeter Software, Setauket, NY) yazılım programıyla oluşturulmuş ve görüntülenmiştir. Kümeleme analizi için UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means) yöntemi uygulanmıştır. Yine populasyonlar arası değerlendirmeler ise SPSS V.13 ile hesaplanmış ve UPGMA yöntemi ile dendogramları oluşturulmuştur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Ampelografi Sonuçları

Ampelografik değerlendirmeler her populasyondan 15 birey çalışılarak belirlenmiş olup elde ettiğimiz sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.1.1. Olgun yaprak özellikleri

Büyüklik (cm²) (OIV 065, IBPGR 4.1.6, UPOV 30): A populasyonunda 12 bireyde küçük (75-149), 3 bireyde çok küçük (<75) (Çizelge 4.2), B populasyonunda 14 bireyde küçük (75-149), 1 bireyde çok küçük (<75) (Çizelge 4.3), C ve D populasyonlarında 8 bireyde küçük (75-149), 7 bireyde çok küçük (<75) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).

Uzunluk (cm) (OIV 066, IBPGR 6.1.19): A ve B populasyonlarında 14 bireyde kısa (8-14,4), 1 bireyde çok kısa (<8) (Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3), C ve D populasyonlarında 7 bireyde kısa (8-14,4), 8 bireyde çok kısa (<8) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).

Ayanın şekli (OIV 067, IBPGR 6.1.20, UPOV 31): Bütün populasyonlardaki bireylerde yaprak ayasının kama şeklinde olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Dilim sayısı (OIV 068, IBPGR 4.1.7, UPOV 32): Bütün populasyonlardaki bireylerde yapraklarda dilim sayısı 5 olarak sayılmıştır (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Üst yüzün rengi (OIV 069, IBPGR 6.1.21, UPOV 33): Bütün populasyonlardaki bireylerde üst yüzün rengi koyu yeşil olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Ayanın profili (OIV 074, IBPGR 6.1.26, UPOV 34): Bütün populasyonlardaki bireylerde ayanın profili düze yakın olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Dişlerin şekli (OIV 076, IBPGR 4.1.8, UPOV 40): Bütün populasyonlardaki bireylerde her iki taraf düz ve her iki taraf dış bükey karışık olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Yaprak sapının uzunluğu (cm) (OIV 092, IBPGR 6.1.40): Bütün populasyonlardaki bireylerde yaprak sapının uzunluğu çok kısa (<7) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

4.1.2. Üzüm salkımı özellikleri

Salkım Büyüklüğü (cm²) (OIV 202, IBPGR 4.2.2, UPOV 58): Bütün populasyonlardaki bireylerde çok küçük (<150) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Salkım uzunluğu (cm) (OIV 203, IBPGR 6.2.5): A populasyonunda 10 bireyde salkım uzunluğu orta (17,5-22,4), 3 bireyde kısa (11-17,4), 2 bireyde çok kısa (<11) (Çizelge 4.2), B ve C populasyonunda 12 bireyde kısa (11-17,4), 2 bireyde çok kısa (<11) ve 1 bireyde orta (17,5-22,4) olarak ölçülürken (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4), D populasyonunda 13 bireyde kısa (11-17,4), 2 bireyde çok kısa (<11) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Sıklık (OIV 204, IBPGR 6.2.6, UPOV 59): A ve B populasyonlarında bütün bireylerde orta (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3), C ve D populasyonlarında seyrek olarak sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Tane sayısı (OIV 205, IBPGR 6.2.7): A populasyonunda 14 bireyde az (51-124), 1 bireyde çok az (Çizelge 4.2), B populasyonunda 6 bireyde az (51-124), 9 bireyde çok az (<51) (Çizelge 4.3), C ve D populasyonlarında 12 bireyde az (51-124), 3 bireyde çok az (<51) olmuştur (Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Salkım sapı uzunluğu (cm) (OIV 206, IBPGR 4.2.3, UPOV 60): A populasyonunda 12 bireyde çok kısa (<3), 3 bireyde kısa (3,0-5,9) (Çizelge 4.2), B populasyonunda 7 bireyde kısa (3,0-5,9), 8 bireyde çok kısa (<3) (Çizelge 4.3), C populasyonunda 9 bireyde kısa (3,0-5,9), 5 bireyde çok kısa (<3) (Çizelge 4.4), D populasyonunda 6 bireyde orta (6,0-7,9), 6 bireyde kısa (3,0-5,9), 3 bireyde çok kısa (<3) ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Salkım sapının odunlaşması (OIV 207, IBPGR 6.2.8, UPOV 61): Bütün populasyonlardaki bireylerde orta olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

4.1.3. Tane özellikleri

Tane büyüklüğü (mm²) (OIV 220, IBPGR 4.2.4, UPOV 62): A populasyonunda tane büyüklüğü 15 bireyde büyük (270-480) (Çizelge 4.2), B ve C populasyonunda 12 bireyde büyük (270-480), 3 bireyde orta (120-269) (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4), D populasyonunda 6 bireyde büyük (270-480), 9 bireyde orta (270-480) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Tane uzunluğu (mm) (OIV 221-1, IBPGR 6.2.9): A populasyonunda 15 bireyde tane uzunluğu orta (17,5-22,4) (Çizelge 4.2), B populasyonunda 12 bireyde orta (17,5-22,4), 3 bireyde kısa (11-17,4) (Çizelge 4.3), C populasyonunda 11 bireyde orta (17,5-22,4), 4 bireyde kısa (11-17,4) (Çizelge 4.4), D populasyonunda 3 bireyde orta (17,5-22), 12 bireyde kısa (11-17,4) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Tane genişliği (mm) (OIV 221-2): A populasyonunda 14 bireyde enli (17,6-21), 1 bireyde orta (14,1-17,5) (Çizelge 4.2), B populasyonunda 2 bireyde enli (17,6-21), 13 bireyde orta (14,1-17,5) (Çizelge 4.3), C populasyonunda 15 bireyde orta (14,1-17,5) (Çizelge 4.4), D populasyonunda 12 bireyde orta (14,1-17,5), 3 bireyde dar (11,5-14) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Tane şekli (OIV 223, IBPGR 4.2.5, UPOV 64): Bütün populasyonlarda tane şekli yuvarlak olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Tanenin enine kesiti (OIV 224, IBPGR 6.2.11, UPOV 65): Bütün populasyonlarda tane enine kesiti yuvarlak olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Kabuk rengi (OIV 225, IBPGR 4.2.6, UPOV 66): Bütün populasyonlarda kabuk rengi yeşil-sarı olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Pus tabakası (OIV 227, IBPGR 6.2.13, UPOV 68): Bütün populasyonlarda orta kuvvetli olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Tane sapı uzunluğu (mm) (OIV 238, IBPGR 6.2.19, UPOV 75): A populasyonunda 14 bireyde kısa (6-10,4), 1 bireyde çok kısa (<6) (Çizelge 4.2), B populasyonunda 12 bireyde kısa (6-10,4), 3 bireyde çok kısa (<6) (Çizelge 4.3), C populasyonunda 7 bireyde kısa (6-10,4), 8 bireyde çok kısa (<6) (Çizelge 4.4), D populasyonunda 5 bireyde kısa (6-10,4), 10 bireyde çok kısa (<6) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Çekirdeklilik durumu (OIV 241, IBPGR 4.3.1, UPOV 77): Bütün populasyonlarda tanelerde çekirdek görülmüştür (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

4.1.4. Çekirdek özellikleri

Çekirdeğin uzunluğu (mm) (OIV 242-1, IBPGR 6.3.2): A populasyonunda 10 bireyde orta (5,1-6,2), 5 bireyde uzun (6,3-7,4) (Çizelge 4.2), B populasyonunda 12 bireyde orta (5,1-6,2), 3 bireyde uzun (6,3-7,4) (Çizelge 4.3), C populasyonunda 6 bireyde orta (5,1-6,2), 6 bireyde uzun (6,3-7,4), 3 bireyde çok uzun (>7,4) (Çizelge 4.4), D populasyonunda 10 bireyde orta (5,1-6,2), 3 bireyde uzun (6,3-7,4), 2 bireyde çok uzun (>7,4) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Çekirdeğin eni (mm) (OIV 242-2): A populasyonunda 15 bireyde dar (2,4-2,8) (Çizelge 4.2), B populasyonunda 12 bireyde dar (2,4-2,8), 3 bireyde orta (2,9-3,4) (Çizelge 4.3), C ve D populasyonlarında 10 bireyde dar (2,4-2,8), 5 bireyde orta (2,9-3,4) büyüklükte ölçülmüştür (Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Çekirdeğin ağırlığı (mg/çekirdek) (OIV 243, IBPGR 6.3.3): A populasyonunda 12 bireyde yüksek (48-65), 3 bireyde çok yüksek (65) (Çizelge 4.2), B ve C populasyonlarında 10 bireyde yüksek (48-65), 5 bireyde çok yüksek (65) (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4), D populasyonunda 8 bireyde çok yüksek (65), 6 bireyde yüksek (48-65), 1 bireyde orta (33-47) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

4.1.5. Salkım iriliği ve tane ağırlığına ilişkin özellikler

Salkım ağırlığı (g/salkım) (OIV 502, IBPGR 6.2.25): A populasyonunda 14 bireyde küçük (100-299), 1 bireyde çok küçük (<100) (Çizelge 4.2), B populasyonunda 12

bireyde küçük (100-299), 3 bireyde çok küçük (<100) (Çizelge 4.3), C populasyonunda 7 bireyde küçük (100-299), 8 bireyde çok küçük (<100) (Çizelge 4.4), D populasyonunda 6 bireyde küçük (100-299), 9 bireyde çok küçük (<100) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Tane ağırlığı (g/tane) (OIV 503, IBPGR 6.2.26): Bütün populasyonlarda tane ağırlığı orta (2,7-5,9) olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Yüksekliğin artması yaprak büyüklüğünü, uzunluğunu, salkım uzunluğunu, tane sayısını, tane büyüklüğünü, tane uzunluğunu, salkım ağırlığını, salkım sıklığı, salkım sapı uzunluğu, tane genişliğini azaltırken, yaprak ayası şekli, dilim sayısı, dişlerin şekli, yaprak sapının uzunluğu, salkım büyüklüğü, salkım sapının odunlaşması, tane şekli, tanenin enine kesiti, kabuk rengi, pus tabakası, çekirdeklilik durumu, tane ağırlığı, olgun yaprak üst yüz rengi ve ayanın profili bütün populasyonlarda aynı kalmıştır. Yükseklik arttıkça tane sapı uzunluğu, çekirdek uzunluğu, çekirdek eni, çekirdek ağırlığı artmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Ampelografik özelliklerin yükselti ile değişimi (Yükselti farkı var +, yükselti farkı yok -)

Ampelografik Özellikler	Yükselti farkı	Ampelografik Özellikler	Yükselti farkı
Olgun yaprak büyüklüğü	+	Üzüm salkımı büyüklüğü	-
Olgun yaprak uzunluk	+	Üzüm salkımı uzunluğu	+
Yaprak ayasının şekli	-	Salkım sıklığı	-
Dilim sayısı	-	Tane sayısı	+
Üst yüzün rengi	-	Salkım sapı uzunluğu	+
Ayanın profili	-	Salkım sapının odunlaşması	-
Dişlerin şekli	-	Tane büyüklüğü	+
Yaprak sapının uzunluğu	-	Tane uzunluğu	+
Çekirdeğin uzunluğu	+	Tane genişliği	+
Çekirdek eni	+	Tane şekli	-
Çekirdeğin ağırlığı	+	Tane enine kesiti	-
Salkım ağırlığı	+	Kabuk rengi	-
Tane ağırlığı	-	Pus tabakası	-
Tane sapı uzunluğu	+	Çekirdeklilik durumu	-



Şekil 4.1. A popülasyonunda yer alan Kabarcık çeşidine ait salkım



Şekil 4.2. B popülasyonunda yer alan Kabarcık çeşidine ait salkım



Şekil 4.3. C popülasyonunda yer alan Kabarcık çeşidine ait salkım

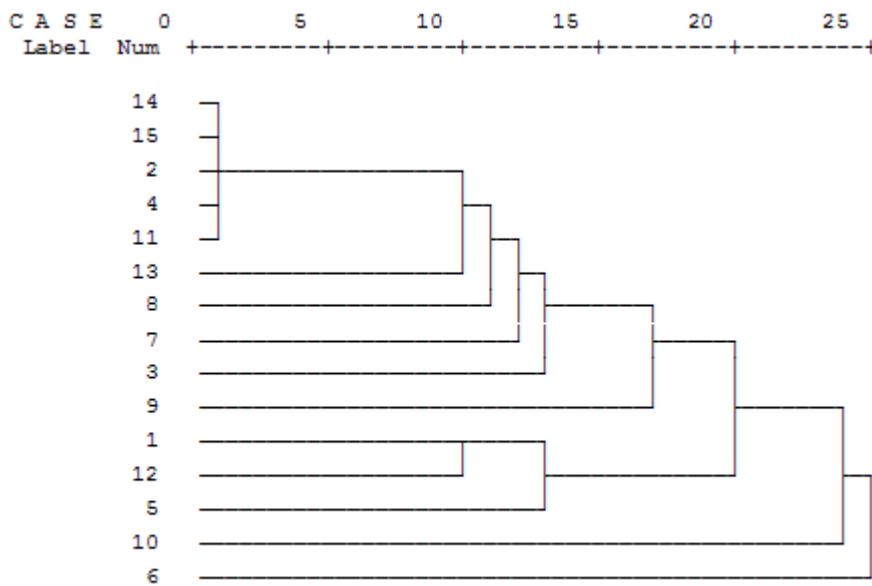


Şekil 4.4. D popülasyonunda yer alan Kabarcık çeşidine ait salkım

4.2. Yağ Asit Profillerine Göre Elde Edilen Sonuçlar

4.2.1. A Populasyonunda yağ asit profillerine göre elde edilen sonuçlar

A populasyonunun yüzde olarak yağ asit içeriği Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelgeye göre populasyonunda yer alan 15 bireyin 13 çeşit yağ asidi içerdiği ve oranlarının %1,23 (14:0) ile %78,78 (18:1:ω9c) arasında değiştiği görülmektedir. 16:0 (%11,21- 26,96) ve 18:1:ω9c (%33,37-78,78) bireylerin tümünde gözlenmiştir. 14:0, 10:0 3 OH, 12:1:ω8c, 16:1:ω3c, 24:5 w3, Cis 9,10 epoksi ve 18:0 bireyler arasında oldukça nadir ve düşük oranlarda bulunmaktadır. Diğer populasyonlarından farklı olarak 14:0, 10:0 3OH, 12:1:ω8c bazı bireylerde ve düşük oranlarda görülmektedir. Oleik asit (18:1) gibi önemli doymamış yağ asitleri bireylerdeki yağ içeriğinin yüzde olarak büyük bir kısmını (%33,37-78,78) oluşturmaktadır. Dendrogramda 14. ve 15. bireyler ile 2., 4., 11. bireyler birbirlerine en yakın bireyler olurken, 6. birey farklı oran ve sayıdaki yağ asidi içeriği ile diğer bireylerden belirgin bir şekilde ayrılmıştır (Şekil 4.5). A populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi 0,222 ile 1,000 arasında değişmiştir (Çizelge 4.7).



Şekil 4.5. A populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.6. A popülasyonunun yağ asit içeriği

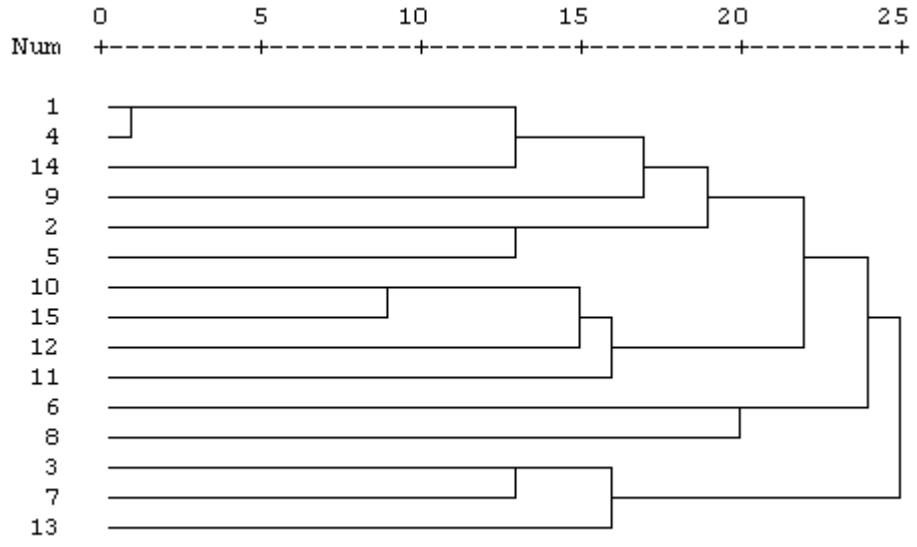
Yağ asiti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
14:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,23	-	-
10:0 3OH	-	-	-	-	-	1,77	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12:1 ω8c	-	-	-	-	-	1,54	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:0	26,96	11,39	15,27	20,69	19,43	14,18	14,32	14,68	21,22	11,28	17,07	12,71	11,21	15,09	19,62
16:1 ω3c	-	-	-	-	-	-	3,06	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1 ω9c	33,37	64,53	63,65	64,93	41,67	60,11	69,01	64,45	78,78	46,20	65,12	46,64	58,04	75,04	68,12
21:1 ω7c	39,67	-	-	-	20,43	-	-	-	-	-	-	14,19	-	-	-
24:5 ω3	-	-	-	-	-	2,67	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25:0 3OH	-	-	-	-	18,47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26:0 3OH	-	18,71	11,50	14,38	-	13,90	13,61	16,12	-	-	16,58	26,46	30,75	8,09	12,26
28:0	-	-	9,57	-	-	5,84	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C25N alkol	-	5,37	-	-	-	-	-	4,75	-	36,22	-	-	-	-	-
Cis9,10 epoksi 18:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,30	-	-	-	-	-

Çizelge 4.7. A popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1,000														
2	0,500	1,000													
3	0,400	0,750	1,000												
4	0,500	0,976	0,750	1,000											
5	0,750	0,400	0,333	0,400	1,000										
6	0,250	0,429	0,571	0,429	0,222	1,000									
7	0,400	0,750	0,600	0,750	0,333	0,375	1,000								
8	0,400	0,750	0,600	0,750	0,333	0,375	0,600	1,000							
9	0,667	0,667	0,500	0,667	0,500	0,286	0,500	0,500	1,000						
10	0,400	0,400	0,333	0,400	0,333	0,222	0,333	0,600	0,500	1,000					
11	0,500	0,953	0,750	0,996	0,400	0,429	0,750	0,750	0,667	0,400	1,000				
12	0,750	0,750	0,600	0,750	0,600	0,375	0,600	0,600	0,500	0,333	0,750	1,000			
13	0,400	0,750	0,600	0,750	0,333	0,375	0,600	0,600	0,500	0,333	0,750	0,600	1,000		
14	0,500	0,890	0,750	0,942	0,400	0,429	0,750	0,750	0,667	0,400	0,932	0,750	0,750	1,000	
15	0,500	0,940	0,750	0,917	0,400	0,429	0,750	0,750	0,667	0,400	0,937	0,750	0,750	1,000	1,000

4.2.2. B Popülasyonunda yağ asit profillerine göre elde edilen sonuçlar

B popülasyonuna ait bireylerin yüzde olarak yağ asit içeriği Çizelge 4.8’de verilmiştir. Çizelgeye göre popülasyonun 22 çeşit yağ asidi içerdiği ve oranlarının %1,03 (C21 primer alkol) ile %72,93 (18:1:ω9c) arasında değiştiği görülmektedir. Bütün popülasyonlar arasında en yüksek sayıda yağ asidi içeren popülasyon B popülasyonu olmuştur. 18:1:ω9c bireylerin tümünde %30,28 ile %72,93 arasında gözlenirken, 16:0 bireylerin büyük çoğunluğunda %7,91 ile %20,49 arasında gözlenmiştir. 16:1:ω3c, 16:1:ω9, 18:1:ω5c, 18: 0, 19:1:ω7c, 20: 0, 24:5 w3, 28:0, Iso 17:1 G bireyler arasında oldukça nadir ve düşük oranlarda bulunmaktadır. ISO 17:1 AT9, ISO 17:G sadece bu popülasyonda düşük oranlarda ve farklı 3 bireyde bulunmuştur. Oleik asitler (18:1) gibi önemli doymamış yağ asitleri bireylerdeki yağ içeriğinin yüzde olarak büyük bir kısmını oluşturmaktadırlar. Bireylerde oleik asit %2,17-72,38 oranları arasında bulunmaktadır. B popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi 0,111 ile 1.000 arasında değişmiştir (Çizelge 4.9). Dendrogramda 1 ve 4.üncü bireyler birbirlerine en yakın bireyler olurken, 5 ve 8 bireyler en uzak bireyler olmuştur (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. B popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.8. B popülasyonunun yağ asit içeriği

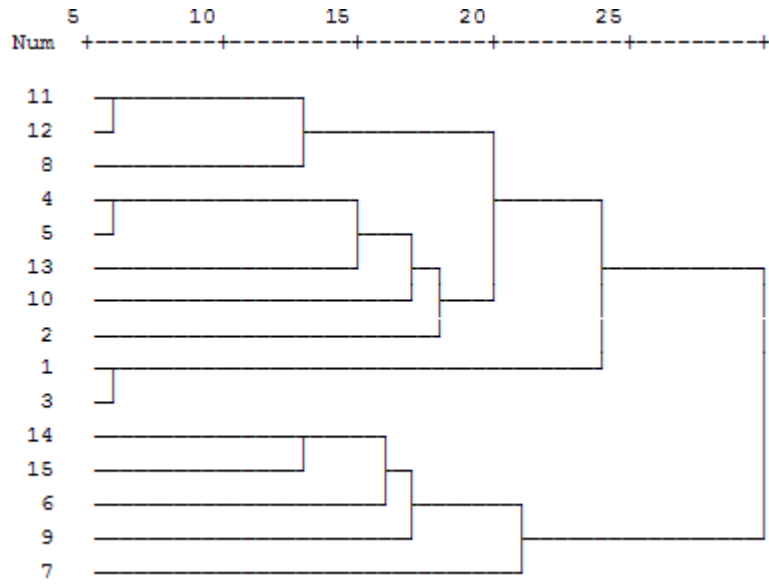
Yağ asiti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
16:0	17,09	13,59	20,49	10,84	13,39	14,51	-	19,34	16,94	11,70	11,10	14,18	15,06	15,06	7,91
16:1.ω3c	-	2,29	-	-	2,28	-	-	-	-	-	-	2,54	-	-	-
16:1cis7DMA(w9)	-	-	-	-	2,41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1.ω3c	-	-	-	-	-	2,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1.ω6c	-	-	13,72	12,48	-	-	22,41	-	-	-	-	-	13,29	-	-
18:1.ω9c	72,38	64,14	41,77	60,28	63,86	69,74	31,56	67,74	42,99	62,28	44,64	70,61	30,28	72,93	49,45
18:1.ω9t Alkol	2,78	-	-	2,17	2,62	-	-	-	2,68	-	-	-	4,24	-	-
18:1.ω12c Alkol	-	-	6,88	-	-	-	10,03	-	-	-	-	-	4,29	-	-
18:0	-	-	-	-	-	1,34	-	1,81	1,92	-	-	-	-	-	-
19:1.w7c	-	3,79	-	-	2,81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:0	-	-	-	-	-	-	-	-	1,82	-	-	-	-	-	-
21:1.ω7c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:0 3 OH	-	-	11,86	-	-	-	26,77	-	-	-	-	-	-	-	-
24:5.ω3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,91	-	-
25:0	-	-	-	-	-	-	-	-	2,20	-	-	-	-	-	-
26:0 3 OH	7,75	16,18	-	14,23	10,42	-	9,23	-	-	-	-	-	6,33	-	-
28:0	-	-	-	-	-	-	-	-	5,38	-	25,21	-	-	12,02	-
ISO 17:1 AT9	-	-	5,29	-	-	-	-	-	-	-	3,29	-	-	-	-
ISO 17:1 G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,95	-	-
C21 primer alkol	-	-	-	-	2,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C25N alkol	-	-	-	-	-	12,41	1,41	-	1,03	-	-	1,47	-	1,76	-
Cis9,10 epoksi 18:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,36	-	-	-	-	6,10

Çizelge 4.9. B popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1,000														
2	0,500	1,000													
3	0,250	0,222	1,000												
4	1,000	0,500	0,250	1,000											
5	0,500	0,625	0,167	0,500	1,000										
6	0,286	0,250	0,222	0,286	0,182	1,000									
7	0,222	0,200	0,625	0,222	0,154	0,333	1,000								
8	0,200	0,167	0,143	0,200	0,111	0,400	0,125	1,000							
9	0,500	0,300	0,167	0,500	0,333	0,444	0,250	0,250	1,000						
10	0,333	0,286	0,250	0,333	0,200	0,286	0,222	0,200	0,200	1,000					
11	0,500	0,429	0,222	0,500	0,300	0,250	0,200	0,167	0,300	0,500	1,000				
12	0,286	0,429	0,222	0,286	0,300	0,429	0,333	0,167	0,300	0,500	0,429	1,000			
13	0,333	0,182	0,556	0,333	0,231	0,182	0,500	0,115	0,231	0,200	0,182	0,182	1,000		
14	0,600	0,500	0,250	0,600	0,333	0,500	0,375	0,200	0,500	0,333	0,500	0,500	0,200	1,000	
15	0,400	0,333	0,286	0,400	0,222	0,333	0,250	0,250	0,222	0,750	0,600	0,600	0,222	0,400	1,000

4.2.3. C Popülasyonunda yağ asit profillerine göre elde edilen sonuçlar

C popülasyonunun yüzde olarak yağ asit içeriği Çizelge 4.10' de verilmiştir. Çizelgeye göre popülasyonun 13 çeşit yağ asidi içerdiği ve oranlarının %0,96 (24:0 2 OH) ile %76,74 (18:1:ω9c) arasında değiştiği görülmektedir. 16:0 (%11,93- 29,19), 18:1: ω9c (%45,81-76,74) oranlarında bütün bireylerde gözlenmiştir. 16:1:ω3c, 18:0, 18:1:ω5c, 18:1:ω9t alkol, 19:1:ω7c, 24:0 2 OH, 25: 0, 28: 0 bireyler arasında oldukça nadir ve düşük oranlarda bulunmaktadır. Bireylerde oleik asit %1,28-76,74 oranları arasında bireylerdeki yağ içeriğinin yüzde olarak büyük bir kısmını oluşturmaktadır. 24:0 2 OH sadece C popülasyonunda bulunmuştur. Dendrogramda 1. ve 3. bireyler içerdikleri yağ asitleri ile birbirlerine en yakın bireyler olurken, 7. ve 8. bireyler en uzak bireyler olmuştur (Şekil 4.7). C popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi 0,222 ile 1.000 arasında değişmiştir (Çizelge 4.11).



Şekil 4.7. C populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.10. C popülasyonunun yağ asit içeriği

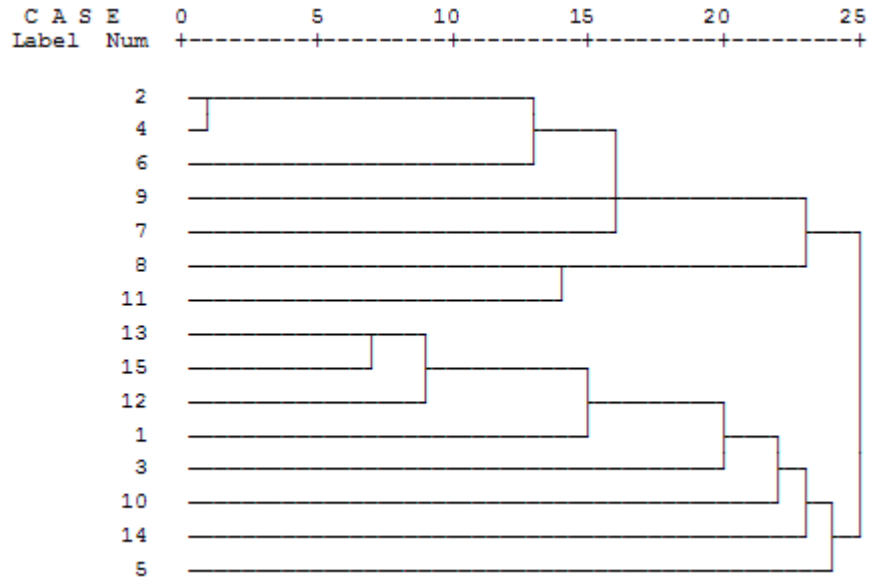
Yağ asiti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
16:0	23,26	13,25	29,19	12,11	19,49	22,57	17,93	21,34	20,94	13,27	26,56	20,67	11,93	21,85	21,87
16:1:ω3c	-	-	-	-	-	-	-	2,57	-	-	2,45	2,13	-	-	-
18:0	-	-	-	-	-	2,39	1,28	-	1,83	-	-	-	-	1,62	1,73
18:1:ω5c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,54	-	-
18:1:ω9c	76,74	52,46	70,81	58,21	62,79	59,06	45,81	55,32	58,51	46,59	62,31	63,39	71,31	58,75	56,88
18:1:ω9t Alkol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,40
21:1:ω7c	-	13,39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19:1:ω7c	-	-	-	-	-	-	2,25	-	-	4,51	-	-	-	-	-
24:0 2 OH	-	-	-	-	-	-	0,96	-	-	-	-	-	-	-	-
25:0	-	4,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26:0 3 OH	-	16,77	-	29,68	17,72	-	-	19,69	6,64	35,64	8,69	13,80	10,22	-	-
28:0	-	-	-	-	-	0,98	-	1,09	-	-	-	-	-	-	-
C21primer alkol	-	-	-	-	-	15,00	31,77	-	12,88	-	-	-	-	17,78	13,51

Çizelge 4.11. C popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1,000														
2	0,500	1,000													
3	1,000	0,500	1,000												
4	0,667	0,750	0,667	1,000											
5	0,667	0,750	0,667	0,998	1,000										
6	0,400	0,286	0,400	0,333	0,333	1,000									
7	0,333	0,250	0,333	0,286	0,286	0,571	1,000								
8	0,400	0,500	0,400	0,600	0,600	0,429	0,222	1,000							
9	0,400	0,500	0,400	0,600	0,600	0,667	0,571	0,429	1,000						
10	0,500	0,600	0,500	0,750	0,750	0,286	0,429	0,500	0,500	1,000					
11	0,500	0,600	0,500	0,750	0,750	0,286	0,250	0,800	0,500	0,600	1,000				
12	0,500	0,600	0,500	0,750	0,750	0,286	0,250	0,800	0,500	0,600	0,997	1,000			
13	0,500	0,600	0,500	0,750	0,750	0,286	0,250	0,500	0,500	0,600	0,600	0,600	1,000		
14	0,500	0,333	0,500	0,400	0,400	0,800	0,667	0,286	0,800	0,333	0,333	0,333	0,333	1,000	
15	0,400	0,286	0,400	0,333	0,333	0,667	0,571	0,250	0,667	0,286	0,286	0,286	0,286	0,800	1,000

4.2.4. D Popülasyonunda yağ asit profillerine göre elde edilen sonuçlar

D popülasyonunun yüzde olarak yağ asit içeriği Çizelge 4.12'de verilmiştir. Çizelgeye göre popülasyonun 21 çeşit yağ asidi içerdiği ve oranlarının %1,76 (16:1:ω9) ile %69,79 (18:1:ω9c) arasında değiştiği görülmektedir. 16:0, 13 bireyde % 11,91 ile 27,68 oranları arasında gözlenirken, 18:1: ω9c yine 13 bireyde %22,95 ile %69,79 oranları arasında gözlenmiştir. 16:1:ω3c, 16:1:ω9, 18:1:ω12c alkol, 18:1:ω9t alkol, 18:3:ω3c alkol, 19:1:ω7c, 25:0, 20:0, 28:0 bireyler arasında oldukça nadir ve düşük oranlarda bulunmaktadır. 18:1:ω11c yalnızca bir bireyde ve %58,86 oranında bulunmaktadır. Oleik asitlerden 18:1:ω9c doymamış yağ asitleri bireylerdeki yağ içeriğinin yüzde olarak (%22,95-%69,79) büyük bir kısmını oluşturmaktadırlar. 18:1:ω11c, 18:3:ω3c alkol, 18:1:ω6c, 20:3:ω6c, C20 N alkol yalnızca bu popülasyondaki bireylerde nadir olarak görülmüştür. Dendrogramda 2. ve 4. bireyler birbirlerine en yakın bireyler olurken, 8. ve 14. bireyler en uzak bireyler olmuştur (Şekil 4.8). D popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi 0,100 ile 0,989 arasında değişmiştir (Çizelge 4.13).



Şekil 4.8. D popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.12. D popülasyonunun yağ asit içeriği

Yağ asiti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
16:0	13,25	16,78	-	12,87	-	23,90	18,11	16,76	11,91	13,54	14,37	15,63	27,68	24,55	20,18
16:1.003c	-	-	-	-	-	3,51	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:1.009	-	-	-	-	-	-	1,76	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1.009c	66,37	69,79	48,28	57,56	32,01	63,37	65,46	41,96	40,25	-	62,14	44,21	22,95	-	48,86
18:1.006c	18,35	-	19,91	-	-	-	-	-	-	3,81	-	9,60	14,62	-	13,25
18:1.0012c alkol	-	-	4,79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1.009t alkol	-	-	-	-	-	-	3,29	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1.0011c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	58,86	-	-	-	-	-
18:3.003c alkol	-	-	4,79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3.006c	-	-	-	-	-	-	-	8,81	7,27	8,71	-	-	-	-	-
20:0	-	-	-	-	-	-	-	7,12	-	-	-	-	-	-	-
20:3.006c	-	-	-	-	30,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19:1.007c	-	-	-	-	-	3,14	2,07	-	4,79	-	-	-	-	-	-
21:1.007c	-	-	24,38	-	37,80	-	-	-	-	6,33	-	25,81	28,52	30,94	17,71
22:0 3 OH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,75	-	30,19	-
25:0	-	-	2,64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,23	-	-
25:0 3 OH	3,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14,32	-
26:0 3 OH	-	13,43	-	29,57	-	6,07	9,30	-	30,40	8,74	-	-	-	-	-
28:0	-	-	-	-	-	-	-	2,29	-	-	4,00	-	-	-	-
C20 N alkol	-	-	-	-	-	-	-	8,33	5,38	-	-	-	-	-	-
C21 prim er alkol	-	-	-	-	-	-	-	14,73	-	-	19,49	-	-	-	-

Çizelge 4.13. D populasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi

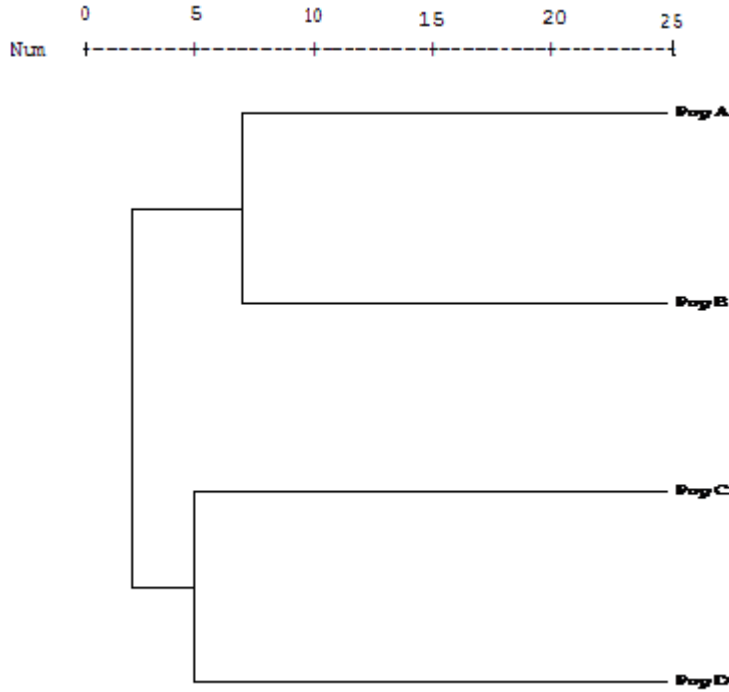
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1,000														
2	0,400	1,000													
3	0,250	0,125	1,000												
4	0,400	0,989	0,125	1,000											
5	0,167	0,200	0,286	0,200	1,000										
6	0,286	0,600	0,105	0,600	0,143	1,000									
7	0,250	0,500	0,091	0,500	0,125	0,571	1,000								
8	0,222	0,250	0,083	0,250	0,111	0,200	0,182	1,000							
9	0,250	0,500	0,091	0,500	0,125	0,571	0,500	0,444	1,000						
10	0,250	0,286	0,200	0,286	0,125	0,222	0,200	0,182	0,333	1,000					
11	0,333	0,400	0,111	0,400	0,167	0,286	0,250	0,571	0,250	0,111	1,000				
12	0,500	0,333	0,375	0,333	0,333	0,250	0,222	0,200	0,222	0,375	0,286	1,000			
13	0,500	0,333	0,571	0,333	0,333	0,250	0,222	0,200	0,222	0,375	0,286	0,667	1,000		
14	0,333	0,167	0,111	0,167	0,167	0,125	0,111	0,100	0,113	0,250	0,143	0,500	0,286	1,000	
15	0,600	0,400	0,429	0,400	0,400	0,286	0,250	0,222	0,250	0,429	0,333	0,800	0,800	0,333	1,000

4.2.5. Yağ asit profillerine göre populasyonlararası değerlendirme

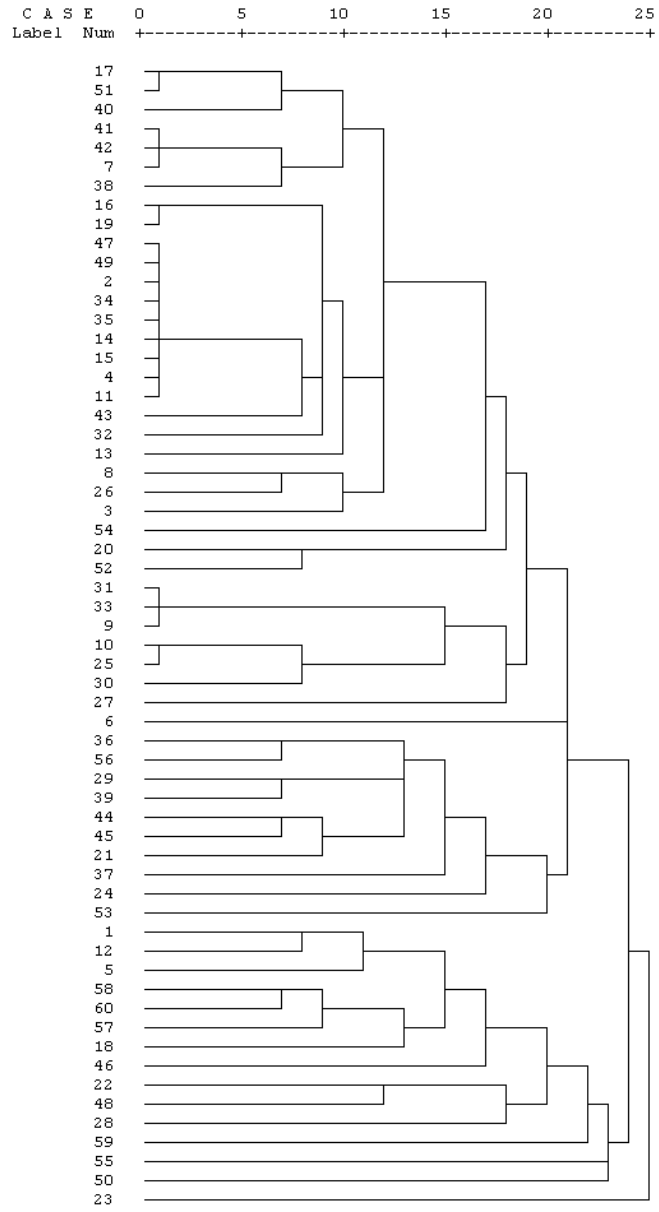
A ve C populasyonunda 13, B populasyonunda 22, D populasyonunda ise 21 olmak üzere bütün populasyonlarda toplam 32 adet farklı yağ asidi görülmüştür. Bütün populasyonlardaki yağ asit oranı %0,96-78,78 arasında değişmiştir. 16:0, 18:1:ω9c, 21:1 ω7c, 16:1 ω3c, 26:0 3OH, 28:0 bütün populasyonlarda gözlenmiştir. 14:0, 10:0 3 OH, 12:1:ω8c sadece A populasyonundaki bireylerde nadir olarak görülmüştür (%1,77-1,54-1,23). ISO 17:1 G ve ISO 17:1 AT9 B populasyonunda, 24:0 2 OH C populasyonunda, 18:1:ω11c, 18:3:ω3c alkol, 18:1:ω6c, 20:3:ω6c, C20 N alkol sadece D populasyonunda gözlenen yağ asitleridir. Yağ asit profillerine göre elde ettiğimiz dendrogramda populasyonlar 2 grupta toplanmıştır (Şekil 4.9). A ve B populasyonları 1. grupta yer alırken, C ve D populasyonları 2. grupta yer almıştır. Populasyonlar arası fenotipik bağlantı indeksine göre A ve B populasyonları en yakın populasyonlar olurken (0,298), A ve D populasyonları ise birbirlerine en uzak populasyonlar (0,368) olmuştur (Çizelge 4.14). Jaccard (1908)'a göre *Vitis vinifera* (Kabarcık) populasyonları arasındaki biyokimyasal bağlantı Şekil 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.14. Yağ asit profillerine göre populasyonlar arası biyokimyasal bağlantı

	A	B	C	D
A	1,000			
B	0,298	1,000		
C	0,342	0,309	1,000	
D	0,368	0,323	0,301	1,000



Şekil 4.9. Yağ asit profillerine göre *Vitis vinifera* (Kabarcık) populasyonları arasındaki biyokimyasal bağlantı (UPGMA)



Şekil 4.10 Jaccard (1908)'a göre *Vitis vinifera* (Kabarcık) populasyonlarını oluşturan toplam 60 birey arasındaki biyokimyasal bağlantı

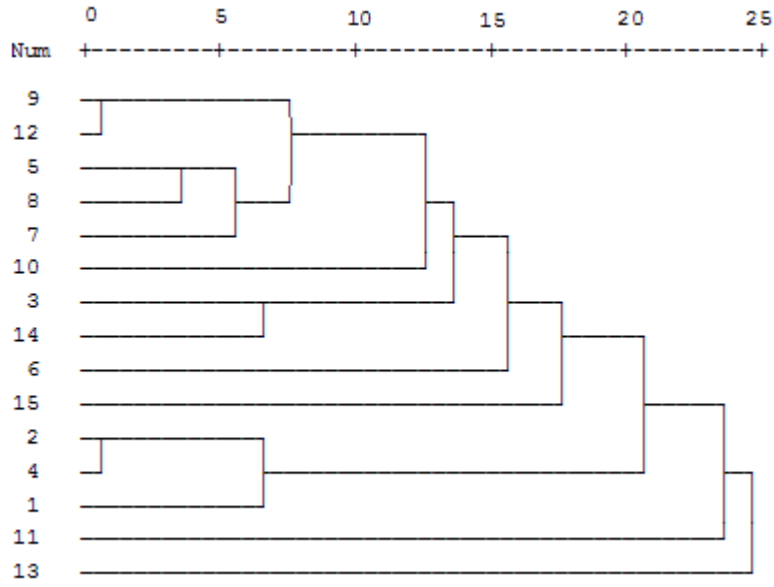
4.3. RAPD Profillerine Göre Elde Edilen Sonuçlar

4.3.1. A Populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar:

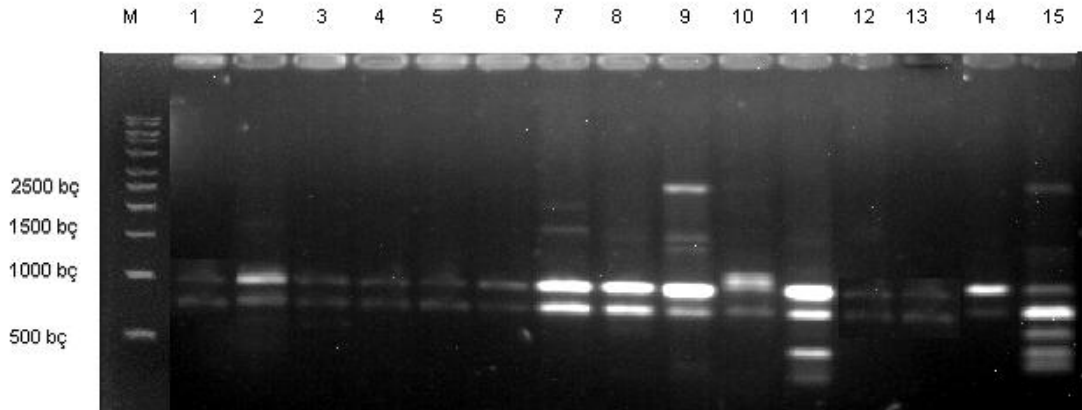
Çalışılan RAPD primerleri, populasyon bireyleri arasındaki molekül büyüklüğü 600–2500 bç arasında değişen 96 bant vermiştir. Primerlerden OPW–11, OPW–13, OPW–17, monomorfik bant verirken, diğer primerlerin hepsi polimorfik bantlar vermiştir. OPB- 8 primeri en fazla sayıda toplam bant verirken, OPW-20 primeri en az sayıda toplam bant vermiştir. Polimorfizm oranı %95,83 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.15). A populasyonundaki bireyler arasındaki genotipik benzerlik indeksi 0,000 ile 0,985 arasında değişmektedir (Çizelge 4.16, Şekil 4.11). A populasyonunun OPW–13 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri Şekil 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.15. A populasyonunda RAPD primerlerinin oluşturduğu amplifikasyon ürünlerinin büyüklükleri ve sayıları

Primer adı	Baz Dizilimi 5'→3'	Molekül büyüklüğü (bç) Max- min	Polimorfik bant sayısı	Toplam bant sayısı	Polimorfizm(%)
OPA– 4	AATCGGGCTG	2000 – 800	12	12	100
OPB– 8	GTCCACACGG	2500 – 750	23	23	100
OPB– 10	CTGCTGGGAC	1500 – 750	8	8	100
OPH– 17	CACTCTCCTC	2500 – 600	13	13	100
OPW– 4	CAGAAGCGGA	1900 – 750	7	7	100
OPW– 7	CTGGACGTCA	1500 – 650	11	11	100
OPW– 11	CTGATGCGTG	1100 – 750	3	4	75
OPW– 13	CACAGCGACA	2500 – 600	7	9	77,7
OPW– 17	GTCCTGGGTT	2000 – 850	5	6	83,3
OPW– 20	TGTGGCAGCA	1400 – 900	3	3	100
Toplam		2500 – 600	92	96	95,83



Şekil 4.11. A popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı



Şekil 4.12. A popülasyonunun OPW-13 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

Çizelge 4.16. A popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi

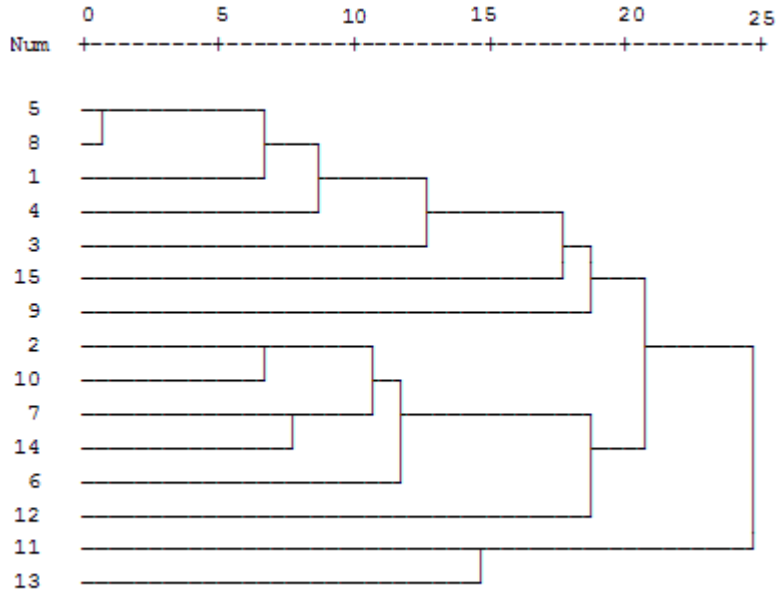
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1,000														
2	0,724	1,000													
3	0,400	0,600	1,000												
4	0,880	0,979	0,960	1,000											
5	0,280	0,400	0,440	0,760	1,000										
6	0,400	0,360	0,560	0,800	0,520	1,000									
7	0,120	0,160	0,440	0,440	0,734	0,600	1,000								
8	0,400	0,280	0,560	0,720	0,820	0,480	0,840	1,000							
9	0,160	0,280	0,720	0,720	0,600	0,480	0,680	0,720	1,000						
10	0,240	0,200	0,640	0,800	0,600	0,640	0,520	0,720	0,720	1,000					
11	0,120	0,240	0,440	0,440	0,320	0,360	0,400	0,434	0,360	0,520	1,000				
12	0,520	0,400	0,520	0,760	0,960	0,680	0,880	0,840	0,985	0,840	0,560	1,000			
13	0,000	0,120	0,320	0,320	0,440	0,320	0,360	0,252	0,320	0,560	0,360	0,520	1,000		
14	0,200	0,400	0,714	0,680	0,720	0,680	0,800	0,680	0,760	0,600	0,720	0,800	0,440	1,000	
15	0,280	0,160	0,680	0,680	0,480	0,520	0,640	0,520	0,600	0,360	0,080	0,640	0,440	0,480	1,000

4.3.2. B popülasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar

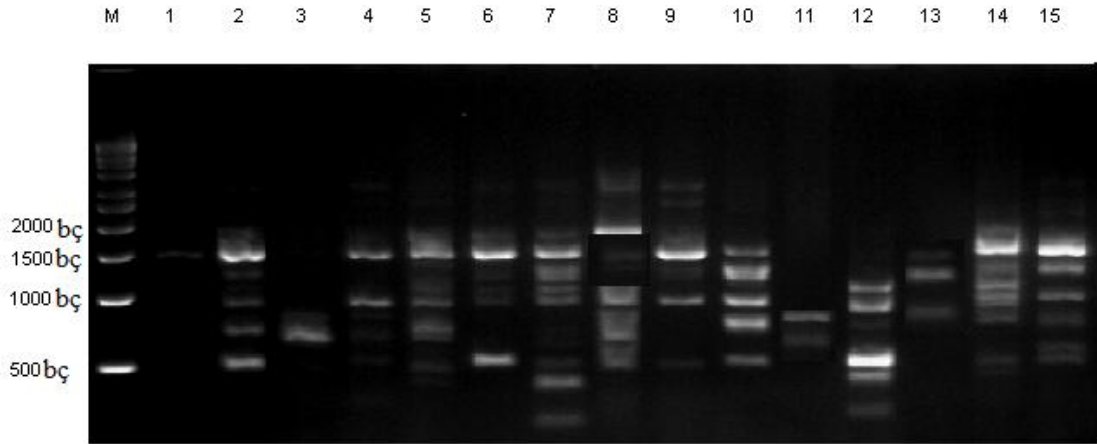
Çalışılan RAPD primerleri, popülasyon bireyleri arasındaki molekül büyüklüğü 250-3000 bp arasında değişen 97 bant vermiştir. Primerlerden OPB-8, OPW-13, OPW-17 monomorfik bant verirken, diğer primerler polimorfik bantlar vermiştir. OPA-4 primeri en fazla sayıda bant verirken, OPH-17 en az bant vermiştir. Polimorfizm oranı %96,90 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.17). B popülasyonundaki bireyler arasındaki genotipik benzerlik indeksi 0,015 ile 0,969 arasında değişmiştir (Çizelge 4.18, Şekil 4.13). B popülasyonunun OPA-4 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri Şekil 4. 14'de verilmiştir.

Çizelge 4.17. B popülasyonunda RAPD primerlerinin oluşturduğu amplifikasyon ürünlerinin büyüklükleri ve sayıları

Primer adı	Baz Dizilimi 5'→3'	Molekül büyüklüğü (bp) Max-min	Polimorfik bant sayısı	Toplam bant sayısı	Polimorfizm (%)
OPA- 4	AATCGGGCTG	3000 – 250	16	16	100
OPB- 8	GTCCACACGG	2500 – 750	10	11	90,9
OPB- 10	CTGCTGGGAC	2700 – 750	10	10	100
OPH- 17	CACTCTCCTC	1250 – 750	4	4	100
OPW- 4	CAGAAGCGGA	1400 – 650	5	5	100
OPW- 7	CTGGACGTCA	1700 – 800	9	9	100
OPW- 11	CTGATGCGTG	2000 – 700	12	12	100
OPW- 13	CACAGCGACA	2100 – 800	11	12	91,7
OPW- 17	GTCCTGGGTT	3000 – 850	10	11	90,9
OPW- 20	TGTGGCAGCA	1900 – 900	7	7	100
Toplam		3000 –250	94	97	96,90



Şekil 4.13. B popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı



Şekil 4.14. B popülasyonunun OPA-4 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

Çizelge 4.18. B popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1,000														
2	0,750	1,000													
3	0,656	0,656	1,000												
4	0,781	0,719	0,750	1,000											
5	0,735	0,625	0,594	0,656	1,000										
6	0,469	0,719	0,375	0,375	0,781	1,000									
7	0,469	0,781	0,375	0,438	0,594	0,813	1,000								
8	0,938	0,938	0,724	0,920	0,969	0,656	0,656	1,000							
9	0,531	0,469	0,500	0,500	0,531	0,250	0,250	0,719	1,000						
10	0,531	0,844	0,563	0,625	0,469	0,688	0,750	0,719	0,375	1,000					
11	0,563	0,313	0,469	0,344	0,688	0,656	0,406	0,563	0,190	0,344	1,000				
12	0,469	0,469	0,313	0,375	0,531	0,625	0,625	0,594	0,188	0,563	0,469	1,000			
13	0,594	0,281	0,500	0,375	0,594	0,438	0,438	0,469	0,015	0,313	0,491	0,438	1,000		
14	0,344	0,781	0,313	0,438	0,531	0,688	0,713	0,594	0,313	0,688	0,281	0,500	0,313	1,000	
15	0,469	0,719	0,625	0,500	0,690	0,375	0,500	0,844	0,563	0,563	0,344	0,375	0,188	0,500	1,000

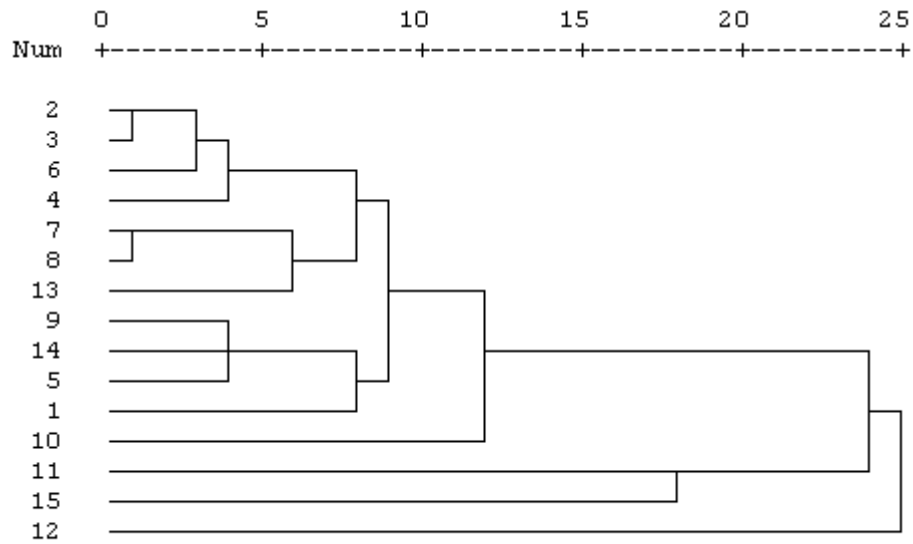
4.3.3. C Popülasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar

Çalışılan RAPD primerleri, popülasyon bireyleri arasındaki molekül büyüklüğü 400-2100 bç arasında değişen 75 bant vermiştir. Primerlerden OPH-17, OPW-11, OPW-17 monomorfik bant verirken, diğer primerlerin hepsi polimorfik bantlar vermişlerdir. OPW-13 primeri en fazla sayıda bant verirken, OPW-20 primeri en az sayıda bant vermiştir. Polimorfizm oranı %94,66 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.19). C

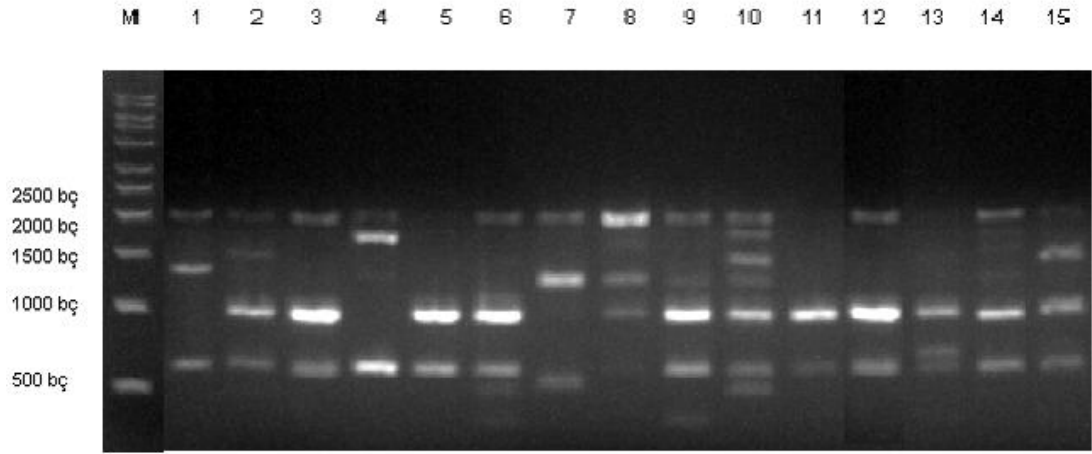
populasyonundaki bireyler arasındaki genotipik benzerlik indeksi 0,036 ile 0,516 arasında değişmektedir (Çizelge 4.20, Şekil 4.15). C populasyonunun OPW-13 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri Şekil 4.16'de verilmiştir.

Çizelge 4.19. C populasyonunda RAPD primerlerinin oluşturduğu amplifikasyon ürünlerinin büyüklükleri ve sayıları

Primer adı	Baz Dizilimi 5'→3'	Molekül büyüklüğü (bp) Max-min	Polimorfik bant sayısı	Toplam bant sayısı	Polimorfizm (%)
OPA- 4	AATCGGGCTG	2000 – 750	10	10	100
OPB- 8	GTCCACACGG	1800 –1000	7	7	100
OPB- 10	CTGCTGGGAC	1350 – 750	12	12	100
OPH- 17	CACTCTCCTC	1500 – 750	9	10	90
OPW- 4	CAGAAGCGGA	1500 – 750	7	7	100
OPW- 7	CTGGACGTCA	1500 –1000	3	4	100
OPW- 11	CTGATGCGTG	1400 – 900	4	5	80
OPW- 13	CACAGCGACA	2100 – 400	15	15	100
OPW- 17	GTCTGGGTT	1250 – 900	2	3	66,6
OPW- 20	TGTGGCAGCA	1200 – 900	2	2	100
Toplam		2100 – 400	71	75	94,66



Şekil 4.15. C populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı



Şekil 4.16. C popülasyonunun OPW-13 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

Çizelge 4.20. C popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1,000														
2	0,405	1,000													
3	0,400	0,516	1,000												
4	0,361	0,469	0,419	1,000											
5	0,386	0,405	0,400	0,436	1,000										
6	0,250	0,500	0,452	0,452	0,425	1,000									
7	0,343	0,406	0,448	0,400	0,421	0,433	1,000								
8	0,444	0,351	0,382	0,343	0,439	0,333	0,500	1,000							
9	0,362	0,378	0,372	0,439	0,449	0,395	0,357	,442	1,000						
10	0,344	0,367	0,310	0,357	0,351	0,258	0,333	,323	0,233	1,000					
11	0,062	0,143	0,036	0,115	0,108	0,154	0,080	,067	0,073	0,045	1,000				
12	0,143	0,071	0,080	0,080	0,114	0,037	0,042	,071	0,050	0,167	0,325	1,000			
13	0,316	0,455	0,324	0,406	0,357	0,394	0,387	,455	0,395	0,258	0,111	0,077	1,000		
14	0,421	0,333	0,400	0,324	0,452	0,351	0,306	,333	0,455	0,344	0,062	0,103	0,282	1,000	
15	0,194	0,094	0,067	0,143	0,100	0,100	0,154	,167	0,068	0,083	0,214	0,071	0,100	0,057	1,000

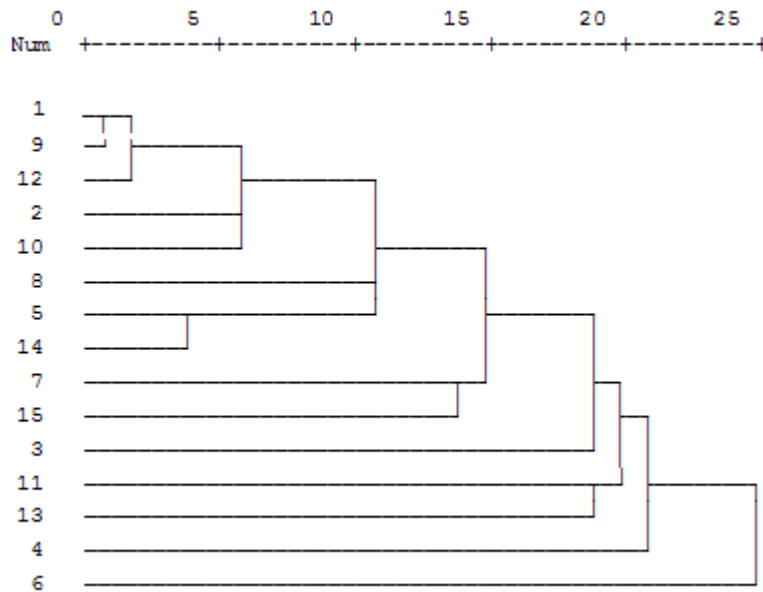
4.3.4. D Popülasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar

Çalışılan RAPD primerleri, popülasyon bireyleri arasındaki molekül büyüklüğü 250–3000 bp arasında değişen 91 bant vermiştir. Primerlerden sadece OPB-8 2 adet monomorfik bant verirken, diğer primerlerin hepsi polimorfik bantlar vermişlerdir.

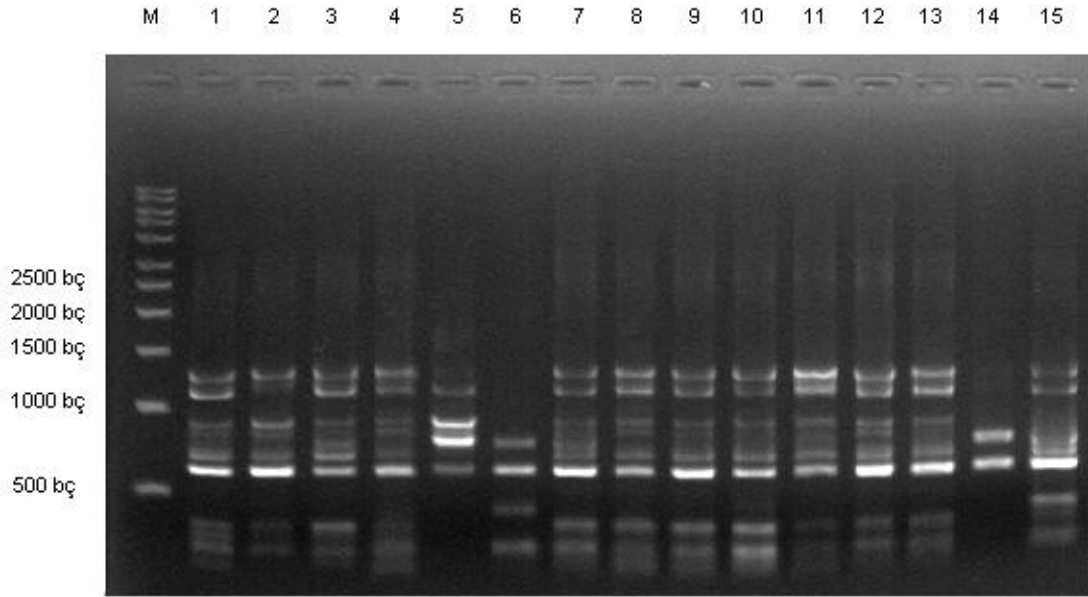
OPA-4 primeri en fazla sayıda bant verirken, OPW-11 primeri en az sayıda bant vermiştir. Polimorfizm oranı %97,80 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.21). D populasyonundaki bireyler arasındaki genotipik benzerlik indeksi 0,000 ile 0,964 arasında değişmiştir (Çizelge 4.22, Şekil 4.17). D populasyonunun OPB-8 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri Şekil 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.21. D populasyonunda RAPD primerlerinin oluşturduğu amplifikasyon ürünlerinin büyüklükleri ve sayıları

Primer adı	Baz Dizilimi 5'→3'	Molekül büyüklüğü (bp) Max-min	Polimorfik bant sayısı	Toplam bant sayısı	Polimorfizm (%)
OPA-4	AATCGGGCTG	2300 – 250	15	15	100
OPB-8	GTCCACACGG	1200 – 300	10	12	83,3
OPB-10	CTGCTGGGAC	2600 – 500	12	12	100
OPH-17	CACTCTCCTC	2900 – 500	15	15	100
OPW-4	CAGAAGCGGA	850 – 400	6	6	100
OPW-7	CTGGACGTCA	1000 – 500	4	4	100
OPW-11	CTGATGCGTG	2000 – 1000	2	2	100
OPW-13	CACAGCGACA	1100 – 750	4	4	100
OPW-17	GTCCTGGGTT	3000 – 600	12	12	100
OPW-20	TGTGGCAGCA	1600 – 500	9	9	100
Toplam		3000 – 250	89	91	97,80



Şekil 4.17. D populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı



Şekil 4.18. D populasyonunun OPB-8 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

Çizelge 4.22. D populasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1,000														
2	0,821	1,000													
3	0,571	0,607	1,000												
4	0,500	0,607	0,357	1,000											
5	0,679	0,643	0,321	0,250	1,000										
6	0,143	0,179	0,214	0,214	0,107	1,000									
7	0,571	0,536	0,357	0,286	0,464	0,214	1,000								
8	0,714	0,607	0,357	0,286	0,467	0,071	0,571	1,000							
9	0,964	0,821	0,429	0,286	0,821	0,143	0,643	0,786	1,000						
10	0,786	0,731	0,429	0,286	0,607	0,071	0,571	0,500	0,929	1,000					
11	0,536	0,357	0,393	0,250	0,143	0,393	0,536	0,250	0,393	0,536	1,000				
12	0,938	0,786	0,393	0,464	0,643	0,179	0,679	0,750	0,967	0,679	0,571	1,000			
13	0,357	0,321	0,286	0,357	0,179	0,143	0,429	0,429	0,286	0,357	0,193	0,393	1,000		
14	0,643	0,536	0,214	0,000	0,893	0,214	0,214	0,571	0,786	0,643	0,179	0,536	0,286	1,000	
15	0,571	0,536	0,214	0,214	0,393	0,214	0,471	0,429	0,571	0,571	0,393	0,750	0,429	0,500	1,000

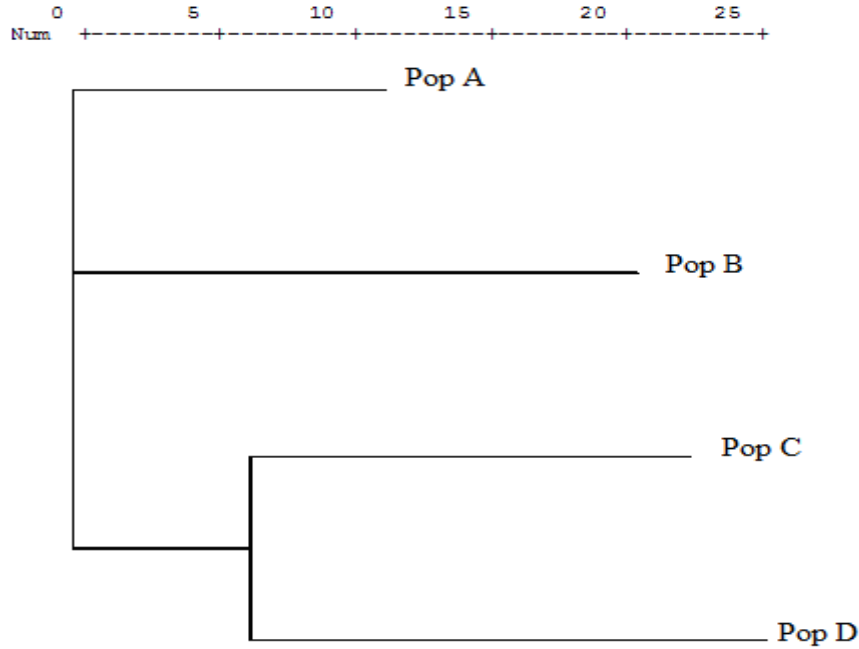
4.3.5. RAPD profillerine göre populasyonlararası değerlendirme

Populasyonlar karşılaştırıldığında çalışılan 10 primere karşı en az sayıda amplicon üreten populasyon C populasyonu olup, analizler neticesinde en polimorfik

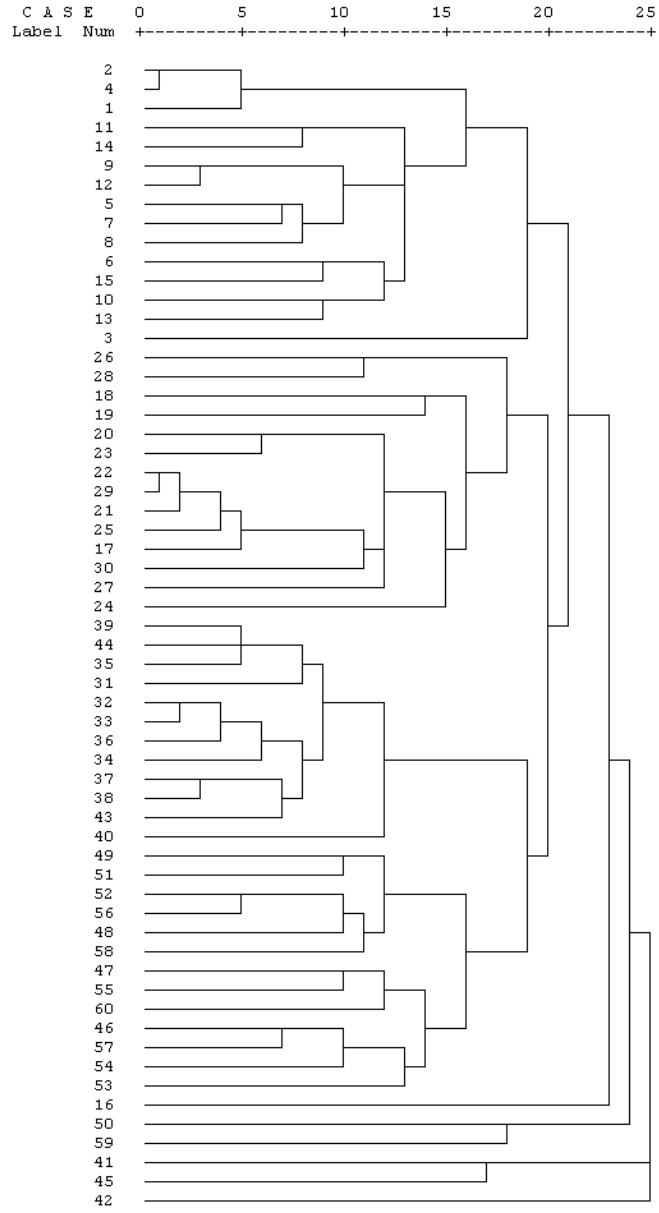
populasyonun %97,8'lik bir oranla D populasyonu olduğu tespit edilmiştir. Büyüklüğü 250-3000 bç arasında değişen RAPD bantları elde edilmiştir. OPB8 en yüksek sayıda (23) bant oluştururken, OPW11 ve OPW20 en az (2) bant veren primerler olmuştur. Populasyonlar arasındaki genotipik bağlantı Şekil 4.19'de verilirken, bütün bireyler arasındaki genotipik bağlantı Şekil 4.20'da verilmiştir. RAPD profillerine göre istatistikler sonucu elde ettiğimiz dendrogram sonucunda populasyonlar 3 grupta toplanmıştır. 1. Grupta A populasyonu yer alırken, 2. Grupta B populasyonu, 3. Grupta C ve D populasyonları yer almıştır. Populasyonlar arası genotipik bağlantı indeksine göre B ve C populasyonları en yakın populasyonlar olurken (0,236), A ve D populasyonları ise birbirlerine en uzak populasyonlar (0,335) olmuştur (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. RAPD profillerine göre populasyonlar arası genotipik bağlantı

	A	B	C	D
A	1,000			
B	0,250	1,000		
C	0,302	0,236	1,000	
D	0,335	0,321	0,835	1,000



Şekil 4.19. RAPD profillerine göre *Vitis vinifera* (Kabarcık) populasyonları arasındaki genotipik bağlantı (UPGMA)



Şekil 4.20. Jaccard (1908)'a göre *Vitis vinifera* (Kabarlık) populasyonların bireyleri arasındaki genotipik bağlantı

4.4. SSR PROFİLLERİNE GÖRE ELDE EDİLEN SONUÇLAR

4.4.1. Yazılım Programları ile Sonuçların Değerlendirilmesi

Farklı rakımlardaki 60 bireyden oluşan 4 asma populasyonunun genotipinin 6 SSR lokusu ile analizi, IDENTITY 1.0 (Wagner and Sefc 1999) yazılım programı kullanılarak her lokustaki allel sayısı (n), allel frekansı, beklenen (H_e) ve gözlenen heterozigotluk (H_o), tahmin edilen sessiz allel (null) frekansı (r) ve tespit olasılığı (PI, Probability of Identity) tespit edilmiştir. Beklenen heterozigotluk $1 - \sum p_i^2$ şeklinde hesaplanarak genetik farklılık ölçümü yapılmıştır. Buradaki pi değeri, çalışılan örnekteki “i” ninci allelin frekansını göstermektedir (Nei 1987). Gözlenen heterozigotluk ise, heterozigot genotiplerle analiz edilen toplam genotip arasındaki orandır. Null allel varlığının tahmini, $(H_e - H_o)/(1 + H_e)$ şeklinde hesaplanmıştır (Brookfield 1996). Tespit olasılığı (PI) (Paetkau et al. 1995) iki rastgele seçilmiş bireylerin aynı SSR profile sahip olma olasılığını ifade etmektedir. Bu değer, $\sum p_i^4 + \sum \sum (2p_i p_j)^2$ şeklinde hesaplanır. Burada pi ve pj, sırasıyla “i” ve “j” allellerinin frekansını göstermektedir.

Bütün populasyonlarda benzerlik oranı indeksi Microsat programı ile Genetik uzaklık $D=1-(\text{paylaşılan allel oranı})$ (benzersizlik oranı, disimilarity) hesaplanarak bulunmuştur. Bu değer daha sonra similarity yani benzerlik oranına dönüştürülmüştür. Genotiplere ait dendogramlar NTsys (versiyon 2.02g. Exeter Software. Setauket. NY) yazılım programıyla oluşturulmuş ve görüntülenmiştir. Kümeleme analizi için UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means) yöntemi uygulanmıştır.

4.4.2. A populasyonunda SSR profillerine göre elde edilen sonuçlar

A populasyonunda, her lokustaki allel sayısı 3 ile 4 arasında değişmiştir. Ortalama allel sayısı 3,33 olarak hesaplanmıştır. VVMD7, VrZAG64, VVS2, VVMD24 lokusları 3'er allel verirken, VVIH54, VVIB01 lokusları 4'er allel vermiştir. Beklenen ve gözlenen

heterozigotluk oranı ortalaması sırasıyla 0,524 ve 0,833 olarak bulunmuştur. Tahmin edilen sessiz (null) allel frekansı 5 lokusta negatif, 1 lokusta pozitif çıkmıştır. Bu değerler Çizelge 4.24’de verilmiştir.

Çizelge 4.24. A populasyonu çalışılan lokuslardaki allel sayıları, allel aralığı, He, Ho, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI) değeri

Analiz edilen Lokus	Lokusta belirlenen allel aralığı (bç)	Lokusta gözlenen allel sayısı	Beklenen heterozigotluk oranı (He)	Gözlenen heterozigotluk oranı (Ho)	Tahmin edilen sessiz (null) allel frekansı (r)	Tespit olasılığı (PI) Değeri
VVMD7	236-246	3	0,291	0,000	0,25	0,559
VVIH54	150-166	4	0,576	1,000	-0,268	0,452
VrZAG64	134-156	3	0,593	1,000	-0,254	0,412
VVIB01	290-308	4	0,607	1,000	-0,244	0,392
VVS2	135-145	3	0,538	1,000	-0,300	0,533
VVMD24	207-217	3	0,538	1,000	-0,300	0,533
Tüm lokuslar		20	3,143	5,000		2,881
Ortalama		3,33	0,524	0,833		0,480

A populasyonundaki her bireyin 6 lokustaki allel büyüklükleri Çizelge 4.25’de verilmiştir. Buna göre VVMD7, VVIH54, VrZAG64 ve VVIB01 lokuslarındaki allel büyüklükleri bireyler arasında çok az farklılık gösterirken, VVS2 ve VVMD24 lokuslarında bütün bireylerde allel büyüklükleri aynı olmuştur. A populasyonunda lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı; VVS2’de: 132, VrZAG64’de 136 ve VVMD24’ de 207 (0,500) ve en düşük allel frekansı VVIB01’de: 296 (0,0417) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.26)

Genotiplere ait genetik benzerlik değerleri Çizelge 4.27’de verilmiştir. Buna göre genetik benzerlik değeri 0,333 ile 1 arasında değişmiştir. En düşük genetik benzerlik değeri 8 ve 9 uncu bireyler ile 12 inci birey arasında 0,333 olurken bu değer diğer bireylerde çoğunlukla 1 ve 1 ‘e yakın değerler olmuştur. A populasyonu genotiplerine ait dendrogramda ise bireyler 2 ana gruba ayrılmıştır. Buna göre 1. grup 3 alt gruba

ayrılmıştır. 1, 3, 4, 5, 6, 7, 15, 10, 11. bireyler 1. inci alt grupta yer alırken, 8, 14 ve 9. uncu bireyler 2. inci alt grupta, 2. birey ise 3. üncü grupta ve 12. inci birey 2 grupta yer almıştır (Şekil 4.21). A populasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri Şekil 4.22.'de verilmiştir.

Çizelge 4.25. A populasyonunda 6 lokustaki allel büyüklükleri

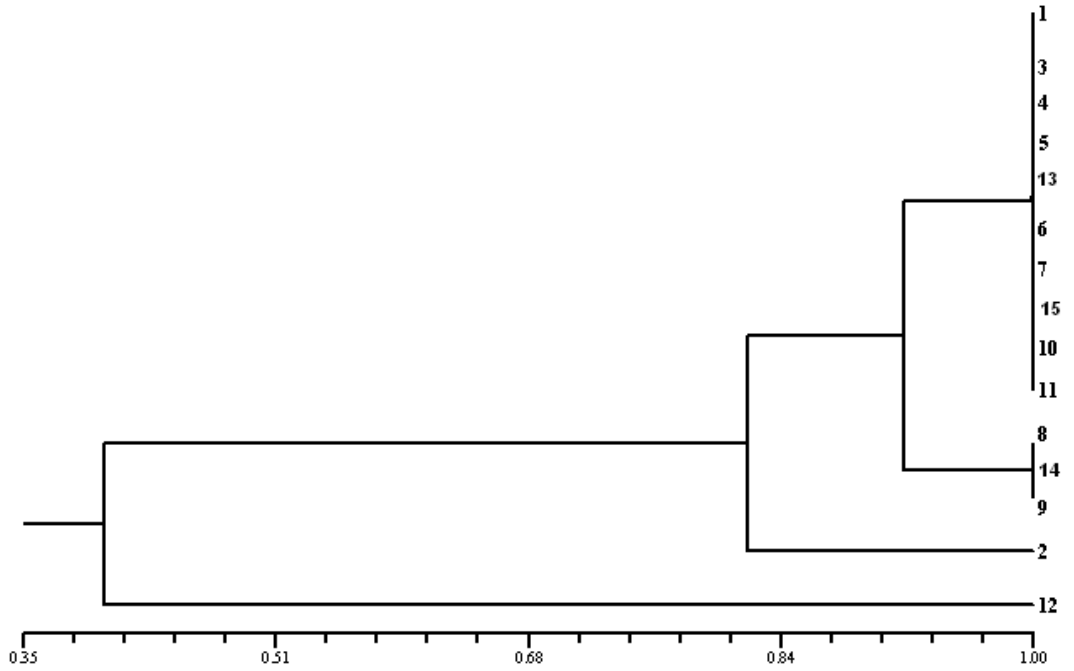
BİREY NO:	MİKROSATELLİT LOKUSLAR					
	VVMD7	VVIH54	VrZAG64	VVIB01	VVS2	VVMD24
A1	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
A2	246:246	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
A3	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
A4	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
A5	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
A6	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
A7	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
A8	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
A9	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
A10	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
A11	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
A12	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
A13	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
A14	236:236	154:162	134:156	292:308	135:137	207:211
A15	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211

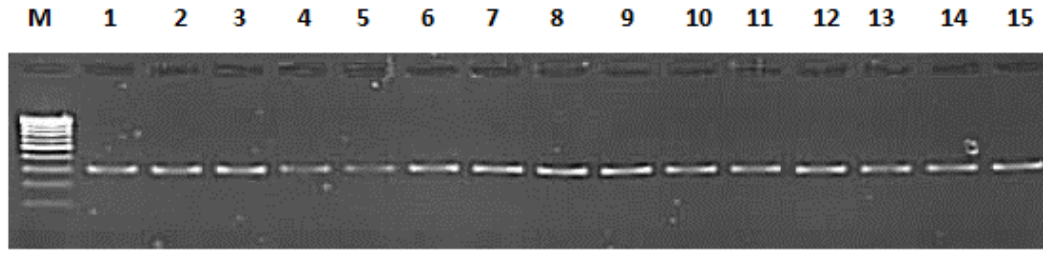
Çizelge 4.26. A popülasyonunda lokuslardaki allel frekansları

No:	VVM D7	Allel frekansı	VVIH 54	Allel frekansı	VrZAG 64	Allel frekansı	VVIB 01	Allel frekansı	VVS 2	Allel frekansı	VVMD 24	Allel frekansı
1	236	0,083	150	0,458	134	0,375	290	0,083	135	0,583	207	0,500
2	244	0,083	154	0,041	136	0,125	292	0,416	137	0,500	211	0,458
3	246	0,083	162	0,041	136	0,500	296	0,041	145	0,041	217	0,041
4			166	0,458			308	0,045				

Çizelge 4.27. A popülasyonuna ait genetik benzerlik değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1														
2	0,833	1													
3	1	0,833	1												
4	1	0,833	1	1											
5	1	0,833	1	1	1										
6	1	0,833	1	1	1	1									
7	1	0,833	1	1	1	1	1								
8	0,917	0,75	0,917	0,917	0,917	0,917	0,917	1							
9	0,917	0,75	0,917	0,917	0,917	0,917	0,917	1	1						
10	1	0,833	1	1	1	1	1	0,917	0,917	1					
11	1	0,833	1	1	1	1	1	0,917	0,917	1	1				
12	0,417	0,417	0,417	0,417	0,417	0,417	0,417	0,333	0,333	0,417	0,417	1			
13	1	0,833	1	1	1	1	1	0,917	0,917	1	0,917	0,417	1		
14	0,917	0,75	0,917	0,917	0,917	0,917	0,917	1	0,833	1	1	0,833	1	1	
15	1	0,417	0,417	0,417	0,417	0,417	0,917	0,917	0,833	0,917	1	0,833	0,417	0,917	1

**Şekil 4.21.** A popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı



Şekil 4.22. A popülasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

4.4.3. B popülasyonunda SSR profillerine göre elde edilen sonuçlar

B popülasyonunda, her lokustaki allel sayısı 3 ile 5 arasında değişmiştir. Ortalama allel sayısı 3,83 olarak hesaplanmıştır. VVMD7, VVMD24 lokusları 3'er allel verirken, VVIB01 lokusları 5 allel, VVIH54, VrZAG64, VVS2 lokusları 4 allel vermiştir. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı ortalaması sırasıyla 0,519 ve 0,944 olarak bulunmuştur. Tahmin edilen sessiz (null) allel frekansı 3 lokusta negatif, 3 lokusta pozitif çıkmıştır. Bu değerler Çizelge 4.28'da verilmiştir. Tespit olasılığı (PI) değeri tüm lokusta 0,512 çıkmıştır.

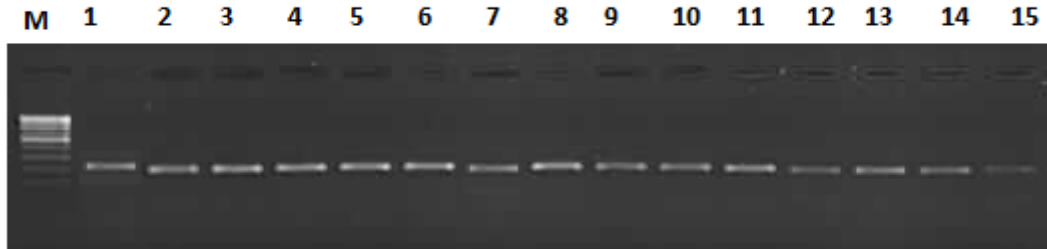
Çizelge 4.28. B popülasyonu çalışılan lokuslardaki allel sayıları, allel aralığı, He, Ho, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI) değeri

Analiz edilen Lokus	Lokusta belirlenen allel aralığı (bç)	Lokusta gözlenen allel sayısı	Beklenen heterozigotluk oranı (He)	Gözlenen heterozigotluk oranı (Ho)	Tahmin edilen sessiz (null) allel frekansı (r)	Tespit olasılığı (PI) Değeri
VVMD7	244-246	3	0,126	0,666	0,053	0,774
VVIH54	138-176	4	0,562	1,000	-0,280	0,482
VrZAG64	134-156	4	0,631	1,000	-0,226	0,330
VVIB01	290-308	5	0,702	1,000	0,174	0,453
VVS2	135-141	4	0,562	1,000	0,280	0,482
VVMD24	207-211	3	0,531	1,000	-0,306	0,549
Tüm lokuslar		23	3,114	5,666		3,07
Ortalama		3,833	0,519	0,944		0,512

B popülasyonu lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı; VVMD7’de 244 (0,933) ve en düşük allel frekansı VVMD7’de: 236, 246 ve VVIH54’ de: 138, 176, VrZAG 64’de 140, VVIB01’de: 296, VVS2’de 133, 141 ve VVMD24’de 205 (0,033) olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.29).

B popülasyonundaki her bireyin 6 lokustaki allel büyüklükleri Çizelge 4.30’de verilmiştir. Buna göre VVMD7, VVIH54 lokuslarındaki allel büyüklükleri sadece B4 bireyinde farklılık gösterirken, VrZAG64 ve VVIB01 lokuslarında bireylerde 4 farklı büyüklükte allel büyüklüğü tespit edilmiştir. VVS2 ve VVMD24 lokuslarında yalnızca 4. uncu bireyinde farklılık göstermiştir.

Genotiplere ait genetik benzerlik değerleri Çizelge 4.31’da verilmiştir. Buna göre genetik benzerlik değeri 0,25 ile 1 arasında değişmiştir. En düşük genetik benzerlik değeri 4’üncü birey ile 5, 6, 13,14 bireyler arasında 0,25 olurken, diğer bireyler arasındaki genetik benzerlik değeri 0,333, 0,833, 0,917 ve 1 arasında değişmiştir. B popülasyonu genotiplerine ait dendrogramda ise bireyler 2 ana gruba ayrılmıştır (Şekil 4.24). Buna göre 4 nolu birey 2. grupta yer alırken, 1. grup ise 4 alt gruba ayrılmıştır. 1, 2, 8, 9,10, 11, 12, 15. bireyler 1. inci alt grupta yer alırken, 3 ve 7.inci bireyler 2. inci alt grupta, 5, 6, 13. bireyler 3.üncü alt grupta ve 14. üncü birey diğer grupta yer almıştır. B popülasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri Şekil 4.23’de verilmiştir.



Şekil 4.23. B popülasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

Çizelge 4.29. B popülasyonunda lokuslardaki allel frekansları

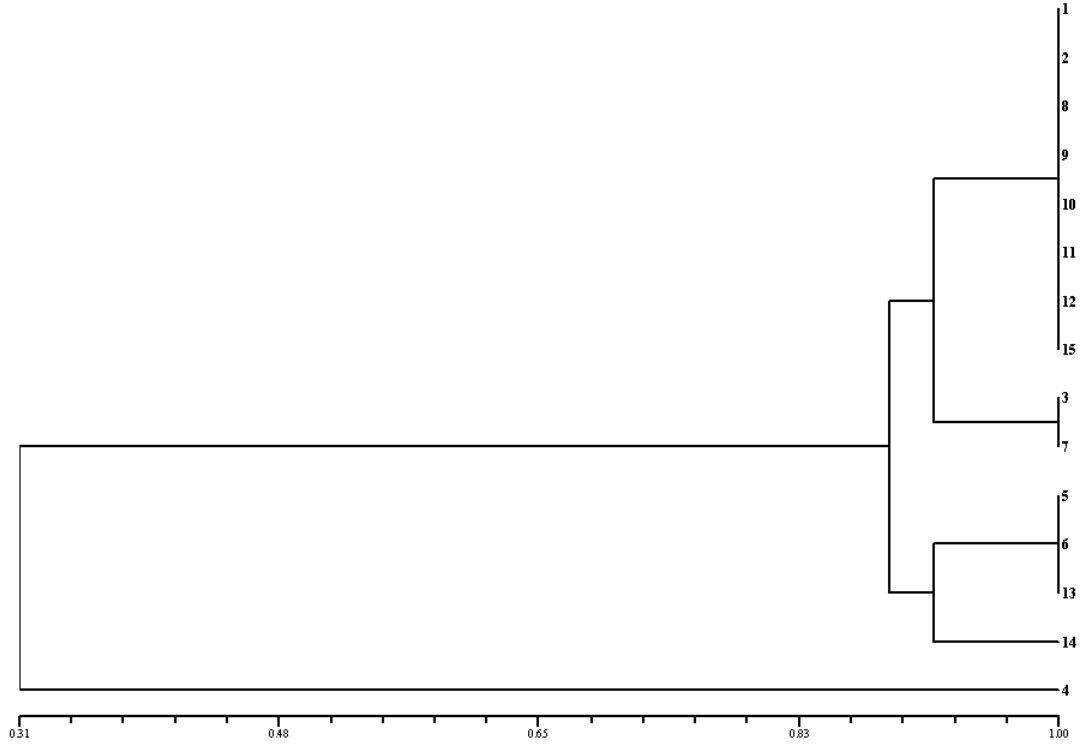
No:	VVM D7	Allel frekansı	VVIH 54	Allel frekansı	VrZAG 64	Allel frekansı	VVIB 01	Allel frekansı	VVS 2	Allel frekansı	VVMD 24	Allel frekansı
1	236	0,033	138	0,033	134	0,300	290	0,133	133	0,033	205	0,033
2	244	0,933	150	0,466	136	0,166	292	0,366	135	0,466	207	0,466
3	246	0,033	166	0,466	140	0,033	296	0,033	137	0,466	211	0,500
4			176	0,033	156	0,500	306	0,100	141	0,033		
5							308	0,366				

Çizelge 4.30. B popülasyonunda 6 lokustaki allel büyüklükleri

BİREY NO:	MİKROSATELLİT LOKUSLAR					
	VVMD7	VVIH54	VrZAG64	VVIB01	VVS2	VVMD24
B1	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
B2	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
B3	244:244	150:166	134:156	292:306	135:137	207:211
B4	236:246	138:176	140:156	292:296	133:141	205:211
B5	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
B6	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
B7	244:244	150:166	134:156	292:306	135:137	207:211
B8	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
B9	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
B10	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
B11	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
B12	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
B13	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
B14	244:244	150:166	134:156	290:306	135:137	207:211
B15	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211

Çizelge 4.31. B popülasyonuna ait genetik benzerlik değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1														
2	1	1													
3	0,917	0,917	1												
4	0,333	0,333	0,333	1											
5	0,917	0,917	0,833	0,25	1										
6	0,917	0,917	0,833	0,25	1	1									
7	0,917	0,917	1	0,333	0,833	0,833	1								
8	1	1	0,917	0,333	0,917	0,917	0,917	1							
9	1	1	0,917	0,333	0,917	0,917	0,917	1	1						
10	1	1	0,917	0,333	0,917	0,917	0,917	1	1	1					
11	1	1	0,917	0,333	0,917	0,917	0,917	1	1	1	1				
12	1	1	0,917	0,333	0,917	0,917	0,917	1	1	1	1	1			
13	0,917	0,917	0,833	0,25	1	1	0,833	0,917	0,917	0,917	0,917	0,917	1		
14	0,833	0,833	0,917	0,25	0,917	0,917	0,917	0,833	0,833	0,833	0,833	0,833	0,917	1	
15	1	1	0,917	0,333	0,917	0,917	0,917	1	1	1	1	1	0,917	0,833	1



Şekil 4.24. B popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı

4.4.4. C popülasyonunda SSR profillerine göre elde edilen sonuçlar

C popülasyonunda, her lokustaki allel sayısı 2 ile 5 arasında değişmiştir. Ortalama allel sayısı 3,16 olarak hesaplanmıştır. VVMD7, VVMD24 lokusları 2'şer allel, VrZAG64 lokusu 4 allel, VVIB01 lokusu 5 allel ve VVIH54 ile VVS2 lokusu 3 allel vermiştir. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı ortalaması sırasıyla 0,575 ve 0,833 olarak bulunmuştur. Tahmin edilen sessiz (null) allel frekansı 5 lokusta negatif, 1 lokusta pozitif çıkmıştır. Bu değerler Çizelge 4.32'da verilmiştir. Tespit olasılığı (PI) değeri tüm lokusta 0,441 olmuştur.

Çizelge 4.32. C populasyonu çalışılan lokuslardaki allel sayıları, allel aralığı, He, Ho, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI) değeri

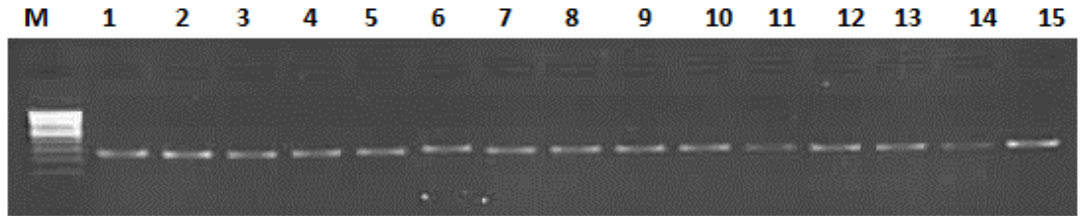
Analiz edilen Lokus	Lokusta belirlenen allel aralığı (bp)	Lokusta gözlenen allel sayısı	Beklenen heterozigotluk oranı (He)	Gözlenen heterozigotluk oranı (Ho)	Tahmin edilen sessiz (null) allel frekansı (r)	Tespit olasılığı (PI) Değeri
VVMD7	236-244	2	0,396	0,000	0,284	0,660
VVIH54	150-174	3	0,599	1,000	-0,250	0,402
VrZAG64	134-156	4	0,690	1,000	-0,022	0,284
VVIB01	290-308	5	0,669	1,000	-0,198	0,277
VVS2	133-137	3	0,599	1,000	-0,250	0,402
VVMD24	207-211	2	0,500	1,000	-0,333	0,625
Tüm lokuslar		19	3,453	5,000		2,65
Ortalama		3,16	0,575	0,833		0,441

C populasyonu lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı; VVMD7’de:244 (0,727) ve en düşük allel frekansı VrZAG64’de 136 ve VVIB01’de 290 (0,045) olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.33).

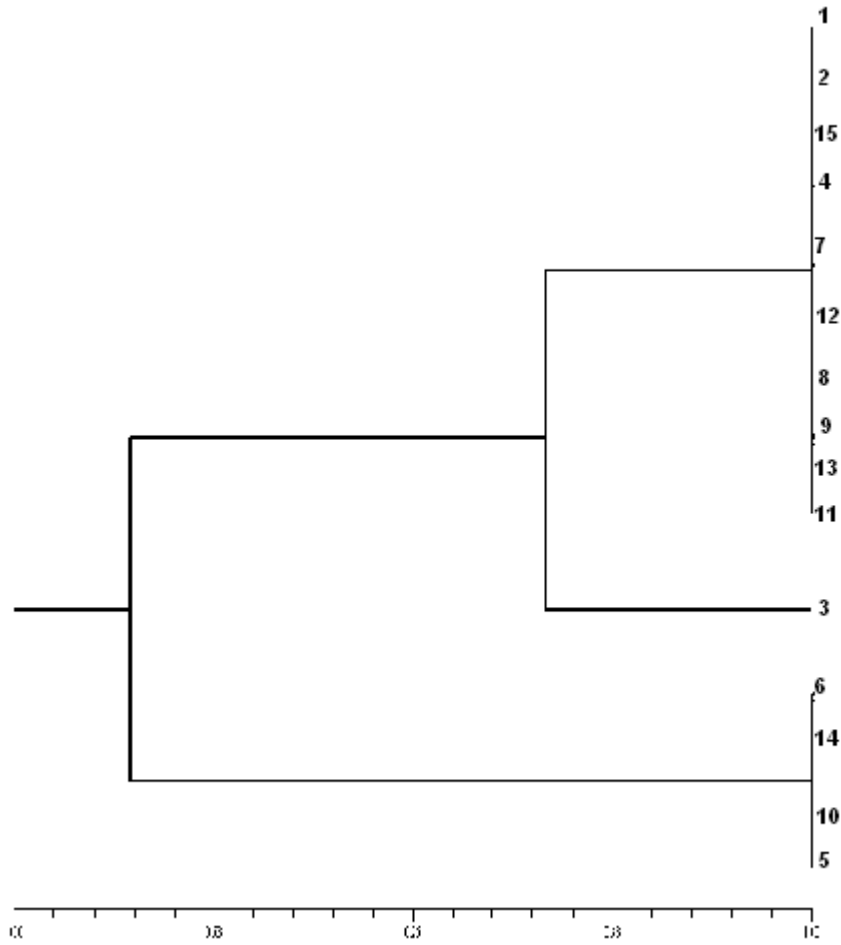
C populasyonundaki her bireyin 6 lokustaki allel büyüklükleri Çizelge 4.34’de verilmiştir. Buna göre VVMD7, VVIH54, VrZAG64, VVIB01 ve VVS2 lokuslarındaki bireylerde farklı allel büyüklüğü görülmüş, sadece VVMD24 lokuslarındaki allel büyüklüğü bütün bireylerde aynı olmuştur. C populasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri Şekil 4.25’de verilmiştir.

C populasyonunda genotiplere ait genetik benzerlik değerleri Çizelge 4.35’de verilmiştir. Buna göre C populasyonunda genetik benzerlik değeri 0,5 ile 1 arasında değişmiştir. En düşük genetik benzerlik değeri 3’ üncü birey ile 5, 6, 11 ve 12. inci bireyler arasında 0,5 olurken, diğer bireyler arasındaki genetik benzerlik değeri 0,583, 0,833 ve 1 arasında değişmiştir. C populasyonu genotiplerine ait dendrogramda ise bireyler 2 ana gruba ayrılmıştır. Buna göre 6, 14, 10, 15 bireyler 1. inci ana grupta yer

alırken, 2 ana grup 2 alt gruba ayrılmıştır. 1. inci alt grupta ve 1, 2, 5, 4, 7, 12, 8, 9, 13, 11 inci bireyler, 2. inci alt grupta 3 nolu birey yer almıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.25. C populasyonunun V_rZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri



Şekil 4.26. C populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı

Çizelge 4.33. C popülasyonunda lokuslardaki allel frekansları

No:	VVM D7	Allel frekans	VVIH 54	Allel frekans	VrZAG 64	Allel frekans	VVIB 01	Allel frekans	VVS 2	Allel frekans	VVMD 24	Allel frekans
1	236	0,272	150	0,363	134	0,318	290	0,045	133	0,136	207	0,500
2	244	0,727	166	0,500	136	0,045	292	0,454	135	0,363	211	0,500
3			174	0,136	140	0,272	296	0,136	137	0,500		
4					156	0,363	306	0,045				
5							308	0,318				

Çizelge 4.34. C populasyonunda 6 lokustaki allel büyüklükleri

BİREY NO:	MİKROSATELLİT LOKUSLARI					
	VVMD7	VVIH54	VrZAG64	VVIB01	VVS2	VVMD24
C1	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C2	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C3	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
C4	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C5	244:244	150:166	134:156	290:306	135:137	207:211
C6	244:246	138:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C7	236:236	166:174	140:140	292:296	133:137	207:211
C8	236:236	166:174	140:140	292:296	133:137	207:211
C9	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C10	244:246	138:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C11	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C12	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C13	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C14	244:244	150:166	134:156	292:308	135:137	207:211
C15	236:236	166:174	140:140	292:296	133:137	207:211

Çizelge 4.35. C populasyonuna ait genetik benzerlik değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1														
2	1	1													
3	0,833	0,833	1												
4	1	1	0,833	1											
5	0,583	0,583	0,5	0,583	1										
6	0,583	0,583	0,5	0,583	1	1									
7	1	1	0,833	1	0,583	0,583	1								
8	1	1	0,833	1	0,583	0,583	1	1							
9	1	1	0,833	1	0,583	0,583	1	1	1						
10	1	1	0,833	1	0,583	1	1	1	1	1					
11	0,583	0,583	0,5	0,583	1	1	0,583	0,583	0,583	0,583	1				
12	0,583	0,583	0,5	1	1	0,833	1	0,583	0,833	0,583		1			
13	0,833	0,583	0,833	0,583	0,583	0,583	0,583	0,583	0,833	0,583	0,583	0,583	1		
14	0,833	0,583	0,833	1		1	1	0,833	1	0,583	1	1	0,583	1	
15	1	1	0,833	1	0,583	1	1	1	1	0,833	1	0,583	0,583	1	1

4.4.5. D populasyonunda SSR profillerine göre elde edilen sonuçlar

D populasyonunda, her lokustaki allel sayısı 3 ile 6 arasında değişmiştir. Ortalama

allel sayısı 4,5 olarak hesaplanmıştır. VVMD7 lokusunda 3, VVIB01, VVMD24 lokusları 4 allel, VVIH54, VrZAG64 lokusları 5 allel ve VVS2 lokusu 6 allel vermiştir. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı ortalaması sırasıyla 0,678 ve 0,750 olarak bulunmuştur. Tahmin edilen sessiz (null) allel frekansı 4 lokusta negatif, 2 lokusta pozitif çıkmıştır. Bu değerler Çizelge 4.36'da verilmiştir. Tespit olasılığı (PI) değeri tüm lokusta 0,245 olmuştur.

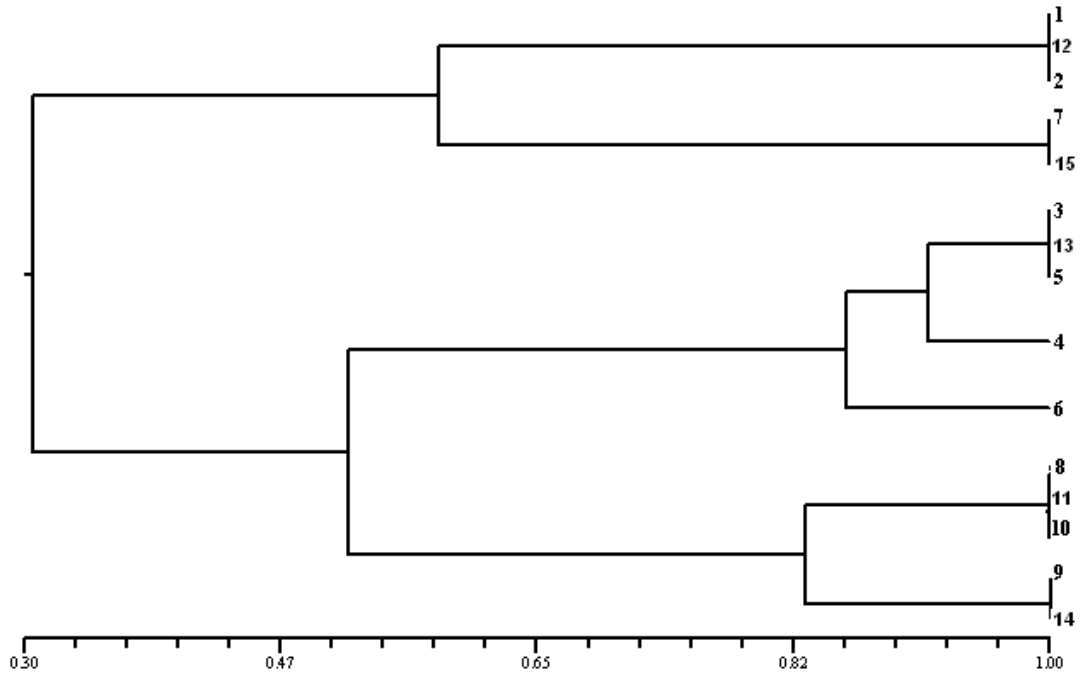
Çizelge 4.36. D populasyonu çalışılan lokuslardaki allel sayıları, allel aralığı, He, Ho, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI) değeri

Analiz edilen Lokus	Lokusta belirlenen allel aralığı (bç)	Lokusta gözlenen allel sayısı	Beklenen heterozigotluk oranı (He)	Gözlenen heterozigotluk oranı (Ho)	Tahmin edilen sessiz (null) allel frekansı (r)	Tespit olasılığı (PI) Değeri
VVMD7	236-246	3	0,405	0,300	0,075	0,465
VVIH54	150-174	5	0,745	1,000	-0,146	0,175
VrZAG64	134-174	5	0,725	1,000	-0,159	0,229
VVIB01	290-308	4	0,740	0,600	0,080	0,212
VVS2	125-145	6	0,790	0,900	-0,061	0,137
VVMD24	205-217	4	0,665	0,700	-0,021	0,253
Tüm lokuslar		27	4,07	4,5		1,471
Ortalama		4,5	0,678	0,75		0,245

D populasyonu lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı; VVMD7'de:244 (0,750) ve en düşük allel frekansı VVMD7'de:246, VVIH54'de 164, VVS2'de 141 (0,100) olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.37).

D populasyonundaki her bireyin 6 lokustaki allel büyüklükleri Çizelge 4.38'de verilmiştir. Buna göre bütün lokuslarda bireylerde farklı allel büyüklükleri görülmüştür. Genotiplere ait genetik benzerlik değerleri Çizelge 4.39'da verilmiştir. Buna göre genetik benzerlik değerleri 0,250 ve 1 arasında değişmiştir. D populasyonu genotiplerine ait dendrogramda ise bireyler 2 ana gruba ayrılmıştır. Buna göre 1, 12, 2,

7, 15. inci bireyler 1. inci ana grupta yer alırken, 2 ana grup 2 alt gruba ayrılmıştır. 1. inci alt grupta 3, 13, 5, 4, 6 bireyler ve 2. inci alt grupta 8, 11, 10, 9, 14 nolu birey bulunmuştur (Şekil 4.27). D populasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri Şekil 4.28’da verilmiştir.



Şekil 4.27. D populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı

Çizelge 4 .37. D populasyonunda lokuslardaki allel frekansları

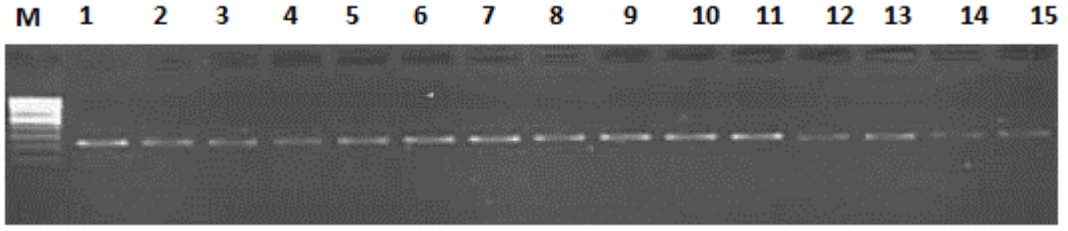
No:	VVM D7	Allel frekans	VVIH 54	Allel frekans	VrZAG 64	Allel frekans	VVIB 01	Allel frekans	VVS 2	Allel frekans	VVMID 24	Allel frekans
1	236	0,150	150	0,200	134	0,300	290	0,300	125	0,050	205	0,150
2	244	0,750	154	0,150	136	0,050	292	0,300	135	0,250	207	0,500
3	246	0,100	164	0,100	140	0,300	308	0,200	137	0,300	211	0,200
4			166	0,400	156	0,300		0,200	141	0,100	217	0,150
5			174	0,150	174	0,050			143	0,150		
6									145	0,150		

Çizelge 4.38. D populasyonunda 6 lokustaki allel büyüklükleri

BİREY NO:	MİKROSATELLİT LOKUSLAR					
	VVMD7	VVIH54	VrZAG64	VVIB01	VVS2	VVMD24
D1	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
D2	244:244	164:174	140:156	292:296	141:143	205:217
D3	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
D4	244:244	164:174	140:156	292:296	141:143	205:217
D5	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
D6	244:244	150:166	136:156	292:308	135:137	207:211
D7	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
D8	236:244	154:166	134:140	290:290	137:145	207:207
D9	244:244	150:166	134:156	290:308	135:137	207:211
D10	244:244	150:166	174:156	292:308	135:135	207:211
D11	246:246	166:174	134:140	296:296	125:143	205:217
D12	236:244	154:166	134:140	290:290	137:145	207:207
D13	236:244	154:166	134:140	292:292	137:145	207:207
D14	236:244	154:166	134:140	290:290	137:145	207:207
D15	236:244	154:166	134:140	290:290	137:145	207:207

Çizelge 4.39. D populasyonuna ait genetik benzerlik değerleri

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	1														
2	1	1													
3	0,333	0,333	1												
4	0,417	0,417	0,917	1											
5	0,333	0,333	1	0,917	1										
6	0,417	0,417	0,833	0,917	0,833	1									
7	0,583	0,583	0,25	0,25	0,25	0,25	1								
8	0,25	0,25	0,583	0,5	0,583	0,417	0,25	1							
9	0,333	0,333	0,5	0,583	0,5	0,5	0,25	0,917	1						
10	0,25	0,25	0,583	0,5	0,583	0,417	0,25	1	0,833	1					
11	0,583	0,583	0,917	0,833	0,917	0,917	0,917	0,917	0,833	1	1				
12	0,917	1	0,917	0,583	0,583	0,917	0,417	0,583	0,583	1	0,417	1			
13	0,917	0,833	0,333	0,583	0,917	0,833	0,917	0,917	0,583	0,583	0,917	0,333	1		
14	0,917	0,833	0,917	0,583	0,583	0,583	0,917	0,917	1	0,333	0,917	0,917	0,833	1	
15	0,333	0,833	0,583	0,583	0,917	0,917	1	0,833	0,917	0,833	1	0,583	0,583	0,917	1



Şekil 4.28. D popülasyonunun VrZAG64 primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

4.4.6. SSR profillerine göre popülasyonlararası değerlendirme

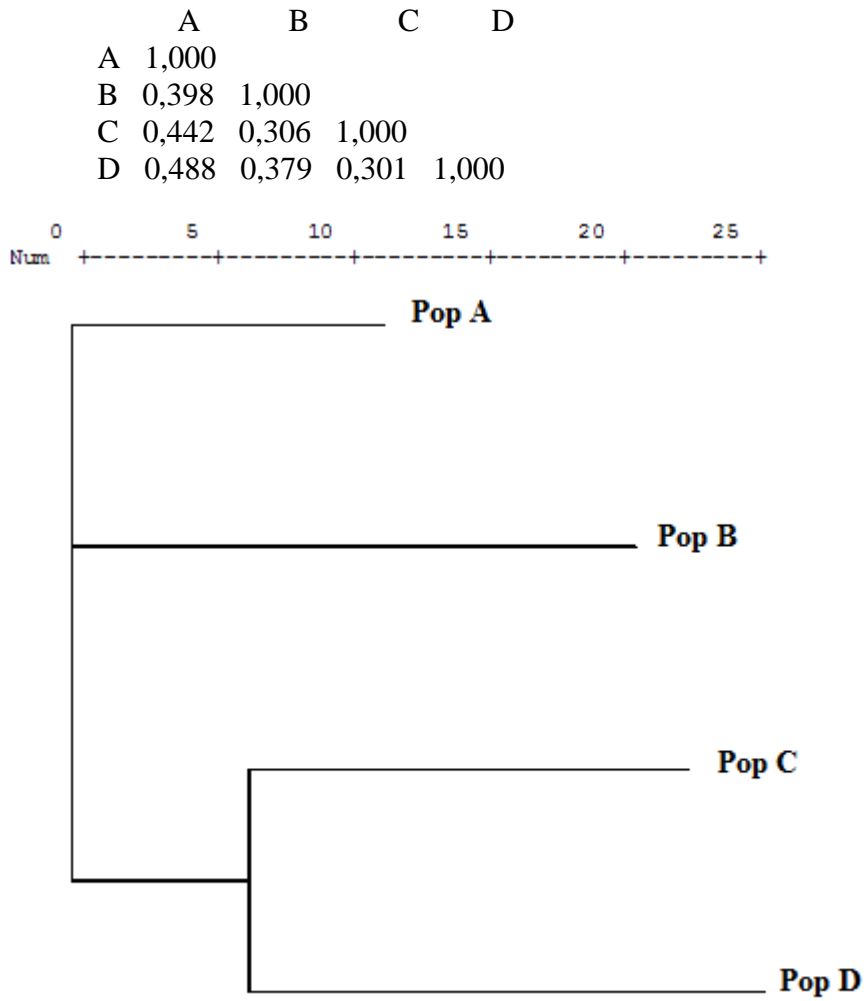
Bu çalışmada 4 popülasyonu oluşturan 60 bireyde, analiz edilen 6 lokusta allel sayısı A popülasyonunda 20, B popülasyonunda 23, C popülasyonunda 19, D popülasyonunda 27 olmak üzere toplam 87 olarak bulunmuştur. Yine gözlenen ortalama allel sayısı A popülasyonunda 3,33, B popülasyonunda 3,83, C popülasyonunda 3,16, D popülasyonunda 4,50 olarak hesaplanmıştır.

Beklenen heterozigotluk oranı ortalaması sırasıyla A popülasyonunda 0,524, B popülasyonunda 0,519, C popülasyonunda 0,575, D popülasyonunda 0,678 olurken, gözlenen heterozigotluk oranı ortalaması sırasıyla A ve C popülasyonlarında 0,833, B popülasyonunda 0,944, D popülasyonunda 0,75 olarak bulunmuştur.

Bütün popülasyonlarda lokuslar itibari ile frekansı en yüksek ve en düşük olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı B popülasyonunda; VVMD7'de: 244 (0,933) ve en düşük allel frekansı yine B popülasyonunda VVMD7'de: 236, 246 ve VVIH54' de: 138, 176, VrZAG 64'de 140, VVIB01'de: 296, VVS2'de 133, 141 ve VVMD24'de 205 (0,033) olarak hesaplanmıştır. Tespit olasılığı (PI) değeri ortalaması yine A popülasyonunda 0,480, B popülasyonunda 0,512, C popülasyonunda 0,441 ve D popülasyonunda 0,245 olarak bulunmuştur.

SSR sonuçlarına göre populasyonlar 2 grupta toplanmıştır (Şekil 4.27). 1. Grupta A populasyonu yer alırken, 2. Grupta B, C, D populasyonları yer almaktadır. Genetiksel benzerlik indeksine göre C ve D populasyonları birbirine en yakın populasyonlar olurken (0,301), A ve D populasyonları birbirlerine en uzak populasyonlar (0,488) olmuştur (Çizelge 4.40).

Çizelge 4.40. SSR profillerine göre populasyonlar arası genotipik bağlantı



Şekil 4.29. SSR profillerine göre *Vitis vinifera* (Kabarcık) populasyonları arasındaki genotipik bağlantı (UPGMA)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çoruh vadisinde farklı yükseltilerde yetiştirilen *Vitis vinifera* türüne ait Kabarcık üzüm çeşidinin dört popülasyonunda popülasyonla içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla genetik farklılıklar RAPD ve SSR teknikleri kullanılarak, morfolojik ve fenotipik farklılıklar ampelografi ve FAME tekniği incelenerek belirlenmiştir. İncelemeler sonunda elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Ampelografik çalışmamızda 28 morfolojik özellik incelenmiş, yüksekliğin artması yaprak büyüklüğü, uzunluğu, salkım uzunluğu, tane sayısı, tane büyüklüğü, tane uzunluğu, salkım ağırlığı, salkım sıklığı, salkım sapı uzunluğu, tane genişliğinin azalmasına sebep olmuştur. Yükseklik yaprak ayası şekli, dilim sayısı, dişlerin şekli, yaprak sapının uzunluğu, salkım büyüklüğü, salkım sapının odunlaşması, tane şekli, tanenin enine kesiti, kabuk rengi, pus tabakası, çekirdeklilik durumu, tane ağırlığı bütün popülasyonlarda değişiklik meydana getirmezken, yükseklik arttıkça tane sapı uzunluğu, çekirdek uzunluğu, çekirdek eni, çekirdek ağırlığı artmıştır. Morfolojik karakterler daima ucuz ve değerlendirmesi basit olduğu için ilk kullanılan genetik markırlar arasındadır ve hala önemi büyüktür. Bitkiler tohum, genç, yetişkin gibi farklı yetiştirme durumlarında farklı ürünler için birkaç grup fiziksel karakterle değerlendirilir. Bu karakterler çevresel faktörlerle güçlü şekilde etkilenmekte ve birkaç gen tarafından gözle görünür şekilde kontrol edilmektedir. Asmalarla ilgili bu konuda yapılan bir çalışmada Köse (2002), Erzincan ilinde karaerik üzüm çeşidinin klon seleksiyonu yoluyla ıslahı üzerine yapmış, tiplerin doğum oranı (sürgün başına salkım sayısı), salkım ağırlığı, tane ağırlığı, olgunluk indisi, tane çatlama oranı, tane rengi ve iriliği, tane başına çekirdek sayısı, suda çözünen kuru madde gibi ampelografik özellikler üzerinde durmuş ve tipler arasında bu özellikler yönünden önemli sayılabilecek varyasyonlar olduğunu bildirmiştir. Schneider *et al.* (1990), 'Brachetto' olarak bilinen 3 Piedmont çeşidine ait klonların morfolojik özellikleri, tanelerin kimyasal ve aromatik bileşimleri üzerinde çalışmışlar ve klonların bu özellikler açısından

birbirinden ayrılabilirliklerini göstermişlerdir. Ayrıca çevresel faktörlerden yüksekliğin morfolojik özellikler üzerinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. *Poa alpina* türünün İsviçrenin güney Alplerinde 425-2156 m yükseklikteki popülasyonlarının morfolojik özellikleri çalışılmıştır. Artan yüksekliğe bağlı olarak bitki boyunun azaldığı, bitki boyu ve yükseklik arasında negatif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Yann 2009). Yine diğer bir çalışmada 800-2000 m'ye kadar olan farklı yüksekliklerdeki *Boswellia* ağaçlarının morfolojik ve popülasyon yapıları incelenmiş, yüksekliğin artması ile ağaç yüksekliği, taç derinliği ve taç çapının azaldığı tespit edilmiştir. *Boswellia* ağaçlarının morfolojik özellikleri ova ve dağlık bölgeleri arasında oldukça farklı olduğu, dağlık bölgelerdeki ağaçların kısa olurken ovalardaki ağaçların uzun olduğu gözlenmiştir. *Boswellia* ağaçlarının boyutunu etkileyen ana faktörler yükseklik ve sıcaklık olduğu bildirilmiştir (Woldeselassie *et al.* 2006). Woldeselassie *et al.* (2001) ise yaptıkları diğer bir çalışmada toprak sıcaklığı ve ağaç boyu arasında pozitif bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Türler arasında, aynı türün popülasyonları arasında ve popülasyonların bireyleri arasında, bitkinin ürettiği yaprakların morfolojilerinde bile varyasyon olduğu bildirilmiştir (Winn and Evans 1991; Winn 1999). Bazı çalışmalarda yükseltinin artması ile yaprak alanı, genişliği ve uzunluğu genellikle azalmıştır (Körner *et al.*, 1986). Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçları ile paralellik göstermiştir.

Bunun yanı sıra yüksekliğin *Ranunculus natans* türünün fizyolojisinde ve yaprak morfolojisinde büyük değişimler meydana getirdiği bildirilmiş ve yaprak morfolojisi yükseklikle önemli şekilde değiştiği, yaprak alanı ve uzunluğu arttığı gözlenmiştir (Zhongqiang and Dan 2009). Bu sonuçlar yukarıda belirtilen çalışmaları ve bulgularımızı desteklemektedir.

Biyokimyasal ve moleküler analizlerde ise 4 popülasyonu temsilen her popülasyondan 15 birey analiz edilmiştir. Yağ asit sonuçlarında, A ve C popülasyonunda 13, B popülasyonunda 22, D popülasyonunda 21 çeşit olmak üzere bütün popülasyonlarda toplam 32 farklı yağ asidi görülmüştür. Bütün popülasyonlardaki yağ asit oranı %0,96-76,74 arasında değişmektedir. Bütün popülasyonlarda linoleik asit miktarı yağ

içeriğinin yüzde olarak büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu sonuçlar literatürdeki diğer çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bu alanda yapılan bir çalışmada 7 asma genotipine ait tohumların protein, yağ, nem, yağ asit kompozisyonu ve mineral içerikleri analiz edilmiş, bu parametrelerin her genotipde farklı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bütün genotiplerde tanımlanan yağ asitleri arasında linoleik asit (C18:2) hakim olduğu, linoleik asiti, oleik asit (C18:1) ve palmitik asit (C16:0) takip etmiştir (Tangolar *et al.* 2009). Yine Elazığ'da 2 kırmızı taneli asma çeşidinin yağ asit kompozisyonu çalışılmış ve çeşitlerin yüksek oranda linoleik asit içerdikleri saptanmıştır. Buna ilaveten myristik ve palmitoleik asitler düşük miktarlarda bulunmuştur (Cıbık *et al.* 2009). Demir vd. (2006) *Vitis vinifera* L.cv. Mazruma üzüm çeşidinin yağ asit miktarlarını analiz etmişler ve toplanan bütün örneklerde en yüksek linoleik asit, en düşük ise stearik asit olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda 16:0, 18:1:ω9c, 21:1 ω7c, 16:1 ω3c, 26:0 3OH, 28:0 yağ asitleri bütün populasyonlarda gözlenmiştir. 14:0, 10:0 3 OH, 12:1:ω8c sadece A populasyonundaki bireylerde nadir olarak görülmüştür (%1,77-1,54-1,23). ISO 17:1 G ve ISO 17:1 AT9 B populasyonunda, 24:0 2 OH C populasyonunda, 18:1:ω11c, 18:3:ω3c alkol, 18:1:ω6c, 20:3:ω6c, C20 N alkol sadece D populasyonunda gözlenen yağ asitleridir. Genel anlamda bitki populasyonlarında gözlemlenen yağ asidi farklılığının sebebinin ekolojik faktörlerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bu faktörler arasında sıcaklık, lokalite, toprak yapısı, yükseklik, fotoperiyot, yağmur, ortalama güneş radyasyonu ve beslenme yer almaktadır (Hu *et al.* 2006). Yağ asit profillerine göre istatistikler sonucu elde ettiğimiz dendrogram sonucu populasyonlar 2 ana grupta toplanmıştır. A ve B populasyonları 1. grupta yer alırken, C ve D populasyonları 2. grupta yer almıştır. Populasyonlar arası biyokimyasal bağlantı indeksine göre A ve B populasyonları en yakın populasyonlar olurken (0,298), A ve D populasyonları ise birbirlerine en uzak populasyonlar (0,368) olmuştur.

Yüksekliğin yağ asit kompozisyonuna etkileri 1250 ve 2050 m arasındaki farklı yüksekliklerden toplanan *Vernonia galamensis* türünün populasyonlarında çalışılmış, çalışılan bütün populasyonlarda vernolik asit içeriğinin %34-87 arasında olduğunu,

diğer fatty asit kompozisyonunda ise geniş bir çeşitlilik gösterdiği bildirilmiştir (Tesfaye *et al.* 2005). Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular yukarıda belirtilen çalışmalarla paralellik göstermektedir.

RAPD analiz sonuçlarına göre populasyonlar karşılaştırıldığında çalışılan 10 primere karşı büyüklüğü 250-3000 bç arasında değişen RAPD bantları elde edilmiştir. A populasyonu 96, B populasyonu 97, C populasyonu 75 ve D populasyonu 91 bant vermiştir. A populasyonunda OPW-11, OPW-13, OPW-17, B populasyonunda OPW-13, OPW-17, OPB-8, C populasyonunda OPW-11, OPW-17, OPH-17 olurken D populasyonunda ise sadece OPB-8 primeri monomorfik bant vermiştir. OPB8, bütün populasyonlarda en yüksek sayıda (23) bant oluştururken, OPW11, OPW17, OPW20 en az (2) bant veren primerler olmuştur. Yine analizler neticesinde polimorfizm oranı A populasyonunda %95,83, B populasyonunda %96,9, C populasyonunda %94,6 ve D populasyonunda %97,8 olarak bulunmuştur ve en polimorfik populasyon D populasyonu olmuştur. Ortalama polimorfik lokus oranı %96,29'dur; bu da yüksek genetik çeşitliliğin bir göstergesidir ve en yüksek genetik çeşitlilik D populasyonunda gözlenmiştir. RAPD profillerine göre istatistikler sonucu elde ettiğimiz dendrogram sonucunda populasyonlar 3 grupta toplanmıştır (Şekil 4.19). 1. Grupta A populasyonu yer alırken, 2. Grupta B populasyonu, 3. Grupta C ve D populasyonları yer almıştır. Populasyonlar arası genotipik bağlantı indeksine göre B ve C populasyonları en yakın populasyonlar olurken (0,236), A ve D populasyonları ise birbirlerine en uzak populasyonlar (0,335) olmuştur (Çizelge 4.23). Dendrogram da incelendiğinde, coğrafik mesafe olarak birbirine yakın olan populasyonların genetik benzerlik açısından da birbirlerine yakın oldukları görülmektedir. Bu sonuçlar yağ asit analiz sonuçları ile uyumluluk gösterirken aynı zamanda literatürdeki diğer genetik varyasyon çalışma sonuçlarıyla ortak bir noktada buluşmaktadır. Yani coğrafik mesafe, tür seviyesinde olduğu gibi klon seviyesinde de genetik çeşitlilikle pozitif olarak ilişkilendirilebilir.

RAPD analizinin basit olması ve ayırt edilebilmesi bakımından çok kullanışlı bir teknik olduğu ve çeşitli tip organizmalarla populasyonların çeşitliliğinin fark

edilmesinde etkili olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Chen *et al.* 1995; Guirao *et al.* 1995). Yine RAPD gibi moleküler markırlar populasyon genetiğinde, bitki populasyonlarındaki farklılık ve çeşitliliği tanımlamak için, germplasm karakterizasyonunda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Williams *et al.* 1990; Fischer *et al.* 1998; Holderegger *et al.* 2002; Reisch *et al.* 2003a, b).

Gounaris *et al.* (2001), Crete adasındaki hibrit varsayılan *Origanum x intercedens* ile onun ebeveyn genotipleri olan *Origanum onites* ve *Origanum vulgare*'nin genetik akrabalıkları ve esansiyel yağlarının karşılaştırılması üzerine bir çalışma yapmışlardır. Rastgele toplanan örneklerde, esansiyel yağ bileşenlerinin analizi ve RAPD tekniğini parmak izi oluşturulması için kullanılmıştır. RAPD tekniğinin ister tek başına, ister esansiyel yağ bileşenleriyle birlikte kullanılmasıyla, doğal populasyonlardaki hibrit bitkilerin ve atasal iki taksonun genetik teşhisi için güvenilir bir araç olduğunu bildirilmiştir (Gounaris *et al.* 2001).

Reisch *et al.* (2004), Populasyonlar arasındaki ve içindeki gen akışını etkileyen faktörler arasında peyzaj, topografya, bitki yapısı ve artan yükseklikle şiddetli bir şekilde değişen fenolojinin sayılabileceğini belirtmişlerdir. Farklı yüksekliklerdeki populasyonlar içerisindeki ve arasındaki genetik uzaklık bu sebeple olabilmektedir. Alplerde artan yükseklikteki *Primula farinosa*'nın 10 populasyonu RAPD ile analiz edilmiştir. Yüksekteki populasyonların alçaktaki populasyonlara genetik olarak daha uzak olduğu saptanmıştır. Populasyonlardaki genetik uzaklık ve çeşitlilik bu alanlarda çiçeklenme zamanının farklılığı, yüksek ve alçak populasyonlardaki polen ve tohumların değişmesini güçleştiren ormanlardaki derece derece çekilmeye bağlanmıştır. Yapılan bir diğer çalışmada ise Jordano and Godoy (2000), *Prunus mahaleb* (Rosaceae)'un (idris, mahlep) 7 populasyonu arasındaki genetik varyasyonu araştırmak için RAPD tekniğini kullanmışlardır. Coğrafik uzaklık ve yükselti farklılıklarının yaklaşık 100 km²'lik bir alana yayılmış olarak bulunan bu 7 populasyonun genetik yapısına nasıl bir etkide bulunabileceği araştırılmıştır. Hem coğrafik hem de yükselti farklılığının bu bitkinin meyve ve çiçek oluşumunda etken faktörler olduğu ve böylece bu türün populasyonları arasında izolasyona sebep olduğu

bildirilmiştir. Yine Türkiye ve İsrail’de yayılış gösteren *Triticum dicoccoides*’in 11 popülasyonu üzerinde yapılan RAPD analizi sonuçlarına göre, RAPD polimorfizmi ile sıcaklık, yükseklik ve habitat yapısı arasında önemli ilişki belirlenmiştir (Fahima *et al.* 1999). Bulgularımız bu çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Ekotip tanımlama üzerine yürütülen bir çalışmada ise, Aras vd. (2005), Türkiye’de farklı bağcılık bölgelerinde Büzgülü adı ile yetiştirilmekte olan bazı asma genotiplerini 20 RAPD primeri kullanarak analiz etmişlerdir. Araştırmacılar analiz edilen bireyler içerisinde 0,601 ile 0,879 arasında değişen genetik benzerlik oranları saptamışlardır. Ayrıca, genotiplerin morfolojik özelliklerinin ve yetiştiricilik yapılan coğrafi bölgelerin filogenetik soy ağacı üzerine yansıdığı bildirilmiştir.

Farklı yüksekliklerin genetik farklılığa etkisi üzerine *Lilium longiflorum*, *Cystopteris fragilis*, *Phytolacca dodecandra* gibi bitkilerin popülasyonlarında ise yükseklikle ilgili olarak çok az veya hiç fark görülmemiş, popülasyonlardaki genetik varyasyon seviyesindeki azalma ve artma yükseklik gradientinde içinde olduğu birkaç şarta bağlanmıştır (Wen *et al.* 2001; Gamperle *et al.* 2003; Semagn *et al.* 2001).

Núñez *et al.* (2004) tarafından mikrosatelitlerin, özellikle asma gen bankasının genetik analizini içeren araştırma grupları arasında veri paylaşımı için uygun bir metot olduğu bildirilmiştir. SSR sonuçlarına göre 4 popülasyonu oluşturan 60 bireyde, analiz edilen 6 lokusta allel sayısı A popülasyonunda 20, B popülasyonunda 23, C popülasyonunda 19, D popülasyonunda 27 olmak üzere toplam 87 olarak bulunmuştur. Yine gözlenen ortalama allel sayısı A popülasyonunda 3,33, B popülasyonunda 3,83, C popülasyonunda 3,16, D popülasyonunda 4,50 olarak hesaplanmıştır.

Allel sayıları lokuslarda 2’den (VVMD7 ve VVMD24) 6’ya (VVS2) kadar değişmiştir. Farklı ülkelerde üzüm çeşitlerinde yürütülen çalışmalarda en yüksek allel sayısı bizim çalışmamızda olduğu gibi VVS2 primerinden elde edilmiştir (Fatahi *et al.* 2003, Nunez *et al.* 2004, Selli ve ark., 2007; Tangolar ve ark., 2009). Bu alanda

yapılan çalışmalarda Borrego *et al.* (2001), 406 aksesyonun 8 mikrosatelit lokusta analizi sonucunda 4 (VVS29) ilâ 16 allel (VVS2); Dangl *et al.* (2001) 41 genotipte 11 mikrosatelit lokusta 4 (VVS29) ilâ 11 (VVMD7); Fatahi *et al.* (2003), 62 genotipte 9 mikrosatelit lokusta 4 (scu14vv) ilâ 16 (VVS2); Ibáñez *et al.* (2003) 111 aksesyon ve 13 mikrosatelit lokusta 4 (VVS29 ve VrZAG29) ilâ 16 (VVS5) ; Martín *et al.* (2003) in 176 çeşitte 6 mikrosatelit lokusta 9 (ssrZAG47) ilâ 13 (VVS2); Akkak ve ark. (2005) 60 yerel çeşitte 12 mikrosatelit lokusta 7 (VVMD24, VVMD27 ve VrZAG21) ilâ 12 allel (VVMD36) olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda allel sayıları bizim çalışmamızdaki değere göre yüksek çıkmıştır, bunun sebebi ise bu araştırmacıların çok sayıda çeşit kullanmasından kaynaklanmaktadır.

Çalışılan populasyonlarda 6 mikrosatellit lokusu için beklenen heterozigotluk oranı ortalaması sırasıyla A populasyonunda 0,524, B populasyonunda 0,519, C populasyonunda 0,575, D populasyonunda 0,678 olurken, gözlenen heterozigotluk oranı ortalaması sırasıyla A ve C populasyonlarında 0,833, B populasyonunda 0,944, D populasyonunda 0,75 olarak bulunmuştur. Beklenen ve gözlenen heterozigotluklar karşılaştırıldığında gözlenen heterozigotluğun beklenenden fazla olduğu görülmüştür. Bu fark populasyonlarda heterozigotluğu artıran yönde bazı etkenler olduğunu göstermektedir. Işık ve Kara (1997) 350 m ve 1000 m arasında değişen 4 farklı yükseklikteki *Pinus brutia* populasyonlarının izoenzim analizleri sonucunda orta yükseklikteki populasyonlarda en yüksek seviyede heterozigotluk olduğunu bildirmişlerdir. Bu alanda yapılan diğer bir çalışma'da ise Çin 'de 2000 m ile 3600 m arasında değişen yüksekliklerden toplanan 5 *Quercus aquifolioides* populasyonu arasındaki genetik uzaklık ve farklılık 6 mikrosatellit lokusu analiz edilerek incelenmiştir. Her lokustaki ortalama allel sayısı 11,33 ve beklenen ortalama heterozigotluk 0,779 olmuştur. Dendrogram analizi sonucunda populasyonların gruplanması ile yükselti arasında ilişki olmadığı gözlenmiştir (Zhang *et al.*, 2006).

Bütün populasyonlarda lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında, en yüksek allel frekansı B populasyonunda; VVMD7 lokusunda: 244 (0,933) ve en düşük allel frekansı B populasyonunda VVMD7 lokusunda: 236, 246 ve VVIH54 lokusunda: 138, 176, VrZAG 64'de 140, VVIB01 lokusunda: 296, VVS2

lokusunda 133, 141 ve VVMD24 lokusunda 205 (0,033) olarak hesaplanmıştır. Genlerdeki değişikliğin bir organizmanın değişen çevre koşullarına uyum için gerekli olduğu bilinmektedir. Allel gen frekansındaki değişimler kritik önemdedir. Yeni alleller popülasyonda tesadüfen oluşur. Doğal mutasyonlar, genetik sürüklenme ve seleksiyon nedeni ile bir allelin oluşum frekansı devamlı olarak değişebilir. Çalıştığımız popülasyonlardaki allel frekansındaki değişikliklerin nedeni doğal mutasyonlar; genetik sürüklenme seleksiyondan kaynaklanabilmektedir.

Sáenz-Romero *et al.* (2003) 1100 m ve 1500 m arasında değişen yine 5 farklı yükseklikten toplanan *Pinus oocarpa* popülasyonlarının izoenzim analizleri sonucunda her lokustaki ortalama en büyük allel sayısına 1200 m yükseklikteki popülasyonun sahip olduğu bulunmuştur.

Vigouroux *et al.* (2003), 193 mısır bitkisini 99 mikrosatellit lokusunu analiz etmiş ve allel büyüklüğü ve yükseklik arasında negatif bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Her 1000 m yükseklikte ise her lokusta ortalama 1.8 bp lik azalma gözlenmiştir. Yüksek rakımda gelişen mısır kısa bir üreme zamanına sahip ve böylece her generasyonda daha küçük mutasyon oranına sahip olmakta mutasyonlar mikrosatellit boyutunu artırmaya yöneldiği için yüksek rakımdaki küçük bir mutasyon oranı ortalama allel boyutlarında küçülmeye sonuçlanmasıyla açıklanmıştır.

Tespit olasılığı (PI) değeri ortalaması yine A popülasyonunda 0,480, B popülasyonunda 0,512, C popülasyonunda 0,441 ve D popülasyonunda 0,245 olarak bulunmuştur. Tespit olasılığı (PI) değeri tüm lokusta Sefc *et al.* (2001) belirttiği 0,05 değerinden yüksek çıkmıştır. Bu da seçilen mikrosatellit markırların asmada gerçekten yüksek derecede polimorfik olduklarını göstermektedir. Tangolar ve ark. (2009) 56 üzüm çeşidinde yaptıkları çalışmada PI değerini 0.065-0.530 ve ortalama olarak 0.130 olarak belirlemişlerdir. Martinez vd (2006) 25 üzüm çeşidinde SSR analizi sonucu PI değerini 0.041-0.228 ve ortalama olarak 0.119 olarak bulmuşlardır. En düşük PI değeri A popülasyonunda VVIB01 lokusunu (0,392), B popülasyonunda VrZag64 lokusunu (0,330), C popülasyonunda VVIB01 lokusunu (0,272), D popülasyonunda VVS2

lokusunu (0,137) olmuştur. Bütün populasyonlar içinde en fazla bilgi verici lokus VVS2 lokusu (0,137) olup genotipleri en iyi şekilde ayırt etmiştir. Buna karşılık A populasyonunda (0,559), B populasyonda (0,774), C populasyonunda (0,660) ve D populasyonunda (0,465) en az bilgi verici lokus VVMD7 lokusu olmuştur.

Asma ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda, en fazla bilgi verici markırlar VVMD5; VVS5, VVMD14, VVMD28, VVMD36 olduğu bildirilmiştir (Lopes *et al.* 1999; Lefort and Roubelakis-Angelakis 2001; Ibáñez *et al.* 2003; Borrego *et al.* 2001; Crespan and Milani 2001).

SSR sonuçlarına göre populasyonlar 2 grupta toplanmıştır (Şekil 4.29). 1. Grupta A populasyonu yer alırken, 2. Grupta B, C, D populasyonları yer almaktadır. Genetiksel benzerlik indeksine göre C ve D populasyonları birbirine en yakın populasyonlar olurken (0,301), A ve D populasyonları birbirlerine en uzak populasyonlar (0,488) olmuştur. (Çizelge 4.40). Ayrıca bu lokalitelerin dendogramın 2 ana kolu içerisinde kendi aralarında birbirlerine yakınlık derecelerine göre gruplandıkları görülmektedir. Bu sonuçlara bakarak, aynı klona ait farklı populasyonlarda genetik varyasyonun çeşitli seviyelerde görülmesinde coğrafik ve ekolojik faktörlerin de önemli bir rolü olduğunu kanısına varabiliriz.

Xue-Bing *et al.* (2008) 4200 m ve 2800 m arasında yetişen heksaploid *Elymus nutans* ve tetraploid *E. burchan-buddae*'in 22 doğal populasyonunun genetik uzaklıklarını AFLP ile araştırmışlar ve sonuçta 2 *Elymus* türü populasyonlarındaki genetik uzaklık yüksekliğin artması ile kademeli olarak artmış (2800 m) ve orta yükseklikte sabitlenmiş sonra yüksekliğin artması ile azalmaya başlamıştır. Çalışmada en yüksek genetik uzaklık orta yükseklikte (3200-3600 m) meydana geldiği belirlenmiştir.

Çin'de yapılan bir diğer çalışma'da 3 farklı bölgede 1100 ile 1400 m arasında yetişen 3 yabancı kayısı populasyonunun genetik yapısı SSR markırları ile araştırılmıştır. Populasyonlar arasındaki genetik mesafe coğrafik mesafe ile önemli şekilde

ilişkilendirilmiştir. Populasyonların genetik yapılarının çalışılmasının temelinde etkili bir şekilde türlerin doğal kaynaklarının korunması olduğu belirtilmiştir (He *et al.* 2007).

Çalışma sonucu elde ettiğimiz dendogramlar da incelendiğinde, coğrafik mesafe olarak birbirine yakın olan populasyonların genetik benzerlik açısından da birbirlerine yakın olduklarını göstermektedir. Bu bulgular, literatürdeki diğer genetik varyasyon çalışma sonuçları ile ortak bir noktada buluşmaktadır. Coğrafik mesafe, yalnızca tür seviyesinde değil klon seviyesinde de genetik çeşitlilikle ilişkilendirilebilir.

KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y.S., 1999. Bilimsel ve uygulamalı bağcılık. Kavaklıdere Eğitim Yayınları.
- Aitzetmuller, K., 1993. Capillary GLC fatty acid fingerprints of seed lipids a tool in plant chemotaxonomy. *J. High Resol. Chromatograph*, 16, 488-490.
- Aitzetmuller, K. and Tsevegsüren, N., 1994. Seed Fatty Acids, "Front - End" Desaturases and Chemotaxonomy a case study in the Ranunculaceae. *J. Plant physiol.*, 143, 538-543.
- Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A., Creagan, P.B., 1992. Length Polymorphism of Simple Sequence Repeat DNA in Soybean. *Genetics*, 132, 1131-1139.
- Akkurt, M. ve Fidan, Y., 1998. Meram (Konya) İlçesi Bağcılığı ve Yörede Yetişen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma. 4. Bağcılık Sempozyumu, Bildiriler, Atatürk Bahçe Kül. Mer. Araş. Enst., Yalova, 345-349.
- Alleweldt, G. and Dettweiler, E., 1992. Genetic and Geographic Origin of Grape Cultivars, Their Prime Names and Synonyms. Instiut für. Rebenzüchtung Geilweilerhof.
- Antcliff, A.J., 1997. Taxonomy–The Grapevine as a Member of the Plant Kingdom. (In: *Viticulture*. V.I, Ed. B.G. Coombe, P.R. Dry). Winetitles, Adelaide, Australia., 107-118.
- Anonymous, 1983a. *Descript or for Grape*. IBPGR Secretariat. Rome.
- Anonymous, 1989. Minimal descriptor list for grapevine varieties. 5th International Symposium on Grape Breeding, Geilwerlerhof.
- Aradhya, K.M., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.M., Walker, M.A., Meredith, C.P., Simon, J.C., 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape. *Vitis vinifera L. Genet. Res.*, Camb., 81, 179-192.
- Aras, S., Polat, J.B., Cansaran, D., Söylemezoğlu, G., 2005. RAPD analysis of genetic relations between between büzgülü grape cultivars (*Vitis vinifera*) grown in different parts of turkey. *Act. Bio.Crac.*, 47(2), 77-82.
- Bachmann, O and Blaich, R., 1990. Isoelectric Focusing of Grapevine Peroxidases as a Tool for Ampelography. *Plant Breeding Abst.*, 060-00757.
- Bağcı, E., Bruehl, L., Aitzetmuller, K. and Altan, Y., 2003. Fatty Acid and Tocochromanol Patterns of some Turkish Boraginaceae. *Nordic J. of Botany*, 6, 719-726.
- Bağcı, E., Bruehl, L., Özçelik, H., Aitzetmuller, K., Vural, M. and Şahin, A., 2004. A study of the fatty acid tocochromanol patterns of some Fabaceae(Leguminosae) plants from Turkey. *Grases Y. Aceites.*, 55,378-384.
- Bassi, D., Silvestroni, O. and Sansavini, S., 1995. Cultivar Identification and Numerical Taxonomy in Grape and Fruit Crops. *CAB Abstracts*. 1/96-7/96.
- Baumann, H., Bühler, M., Fochem, H., Hirsinger, F., Zoe, H.B. and Falbe, J., 1988. *Angew, Chem.*, 100, 41-46.
- Bilgin, O. and Korkut, K.Z., 2005. Bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum L.*) çeşit ve hatlarının genetik uzaklıklarının belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2, 3.
- Britten, R.J., 1996. Rates of DNA sequence evolution differ between taxonomic groups. *Science*, 231, 1393-1398.

- Borrego, J., Rodriguez, I., Andrés, M.T., Martin, J., Chavez, J., Cabello, F. and Ibáñez, J., 2001. Characterization of the most important Spanish grape varieties through isoenzyme and microsatellite analysis. Proc. Int. Symp. on Molecular Markers Acta Hort., 546, 371-375.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. J. Hum. Genet., 32, 314-331.
- Botta, R., Scott, N.S., Eynard, I., Thomas, M.R., 1995. Evaluation of microsatellite sequence-tagged site markers for characterizing *Vitis vinifera* cultivars. Vitis, 34, 99-102.
- Bowers, J.E., Bandman, E.B. and Meredith, C.P., 1993. DNA Fingerprint Characterization of Some Wine Grape Cultivars. Am. J. Enol. Vitic., 44, 3, 166-274.
- Brookfield, J.F.Y., 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. Mol. Ecol., 5, 453-455.
- Buscher, N., Zyprian, E., Bachmann, O., Blaich, R., 1994. On the Origin of the Grapevine Variety Muller-Thurgau as Investigated by the Inheritance of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Vitis, 33, 15-17.
- Caetano-Anolles, G., Bassam, B.J., Gresshoff, P.M., 1991. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. Bio., Technology, 9, 553-557.
- Calo, A., Costacurta, A., Cancellier, S And Forti, R., 1990. Garnacha, Grenache, Cannonao, Tocai rosso, a Single Grapevine Variety. Cab abstracts. 1990-1991.
- Calo, A., Crespan, M., Zago, M.S., Paludetti, G., Delledonne, M. and Sansavini, S., 1995. Varietal and Clonal Characterization of Grapevine. CAB Abstracts 1/96-7/96.
- Chawla, H.S., 2002. Introduction to plant biotechnology. Science Publisher Inc, Second edition, USA. 330-358.
- Chen, J., Lamikanra, O., Chang, C.J., Hopkins, D.L., 1995. Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Xylella fastidiosa* Pierce's disease and oak leaf scorch pathotypes. Appl. Environ. Microbiol., 61, 1688-1690.
- Cheng lin, R., Ding, Z.S., Liliang, B.L., Kuang, T.Y., 2001. A rapid and efficient DANN minipreparation suitable for screening transgenic plants. Plant molecular Biology Reporter, 19, 379a-379e.
- Çıbık, B., Ozaydın, Z., Boke, N., Karabay, U., Pekmez, M., Arda, N., Kirmizigul, S., 2009. Fatty acid profile and in vitro antioxidant and antibacterial activities of red grape (*Vitis vinifera* L. cvs. Oküzgözü and Boğazkere) Marc extracts. Nat. Prod Commun, 4 (3), 399-404.
- Crespan, M., Cancellier, S., Costacurta, A., Guist, M., Carraro, R., Stefano, R. and Santangelo, S., 2003. Contribution to the clearing up of synonymies in some groups of Italian grapevine cultivars. Proc. VIIIth IC on Grape, Acta Horticulturae. 603, 275-289.
- Çalışkan, M. ve Ağaoğlu, Y.S., 1998. Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Çavuş Üzümü Tiplerinin Elektroforez Yöntemi İle Tanımlanmaları Üzerinde Bir Araştırma. 4. Bağcılık Sempozyumu, Bildiriler, Atatürk Bahçe Kül. Mer. Araş. Enst., Yalova, 152-158.

- Çelik, M. ve Odabaşı, F., 1989. Amasya Merkez İlçede Yetiştirilen Bazı Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özellikleri İle Şeker-Asit Oranlarının Tespiti Üzerinde Bir Araştırma. 19 Mayıs Ü. Zir. Fak. Dergisi, Samsun, Cilt: 4, 25-33.
- Çoban, H. ve Küey, E., 2006. Manisa'da (Yuntdağı) Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 43, 2, 41-52.
- 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.
- De Vicente, M.C. and Fulton, T., 2004. Using Molecular Marker Technology in Studies on Plant Genetic Diversity: Learning module, Vol 1, Institute for Genomic Diversity/International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Cornell University, Rome, Italy.
- Demir, R., Namlı, S., 2006. Fatty Acid Profiles of Grapes (*Vitis vinifera* L. cv. Mazruma). *Int. J. Agri. Biol.*, 8 (5), 615-617.
- Ercişli, S., Orhan, E., Yildirim, N., Agar, G., 2008. Comparison of Sea Buckthorn Genotypes (*Hippophae rhamnoides* L.) Based on RAPD and FAME Data. *Turk J. Agric For.*, 32, 363-368.
- Ecevit, F.M. ve Kelen, M., 1999. Isparta (Atabey)'de Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Tr. Jour. of Agric. and Forestry.*, 23, 511-518.
- Elisario, P., Justo, E. and Leitao, J., 1999. Identification of mandarin hybrids by isozyme and RAPD analysis. *Sci. Hort.*, 81, 3, 287-299.
- Ergül, A., Marasalı, B. and Ağaoğlu, Y.S., 2002. Molecular discrimination and identification of some Turkish grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) by RAPD markers. *Vitis* 41, 3, 159-160.
- Fahima, T., Sun, G.L., Beharav, A., 1999. RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theor. and Appl. Genet.*, 98, 434-447.
- Fang, D.Q., Roose, M.L., Krueger, R.R., Federici, C.T., 1997. Fingerprinting trifoliolate Orange Germplasm Accessions with Isozymes, RFLPs, and inter-simple sequence repeats. *Theo. Appl. Genet.*, 95, 211-219.
- Fatahi, R., Ebadi, A., Basil, N., Mehlenbacher, S.A., and Zamani, Z., 2003, Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis*, 42, 4, 185-192.
- Farooq, S., Azam, F., 2002, Molecular markers in plant breeding-I: concepts and characterization. *Pak. J. Biol. Sci.*, 5, 10, 1135-1140.
- Fidan, Y., 1973. Bağ-Bahçe Kürsüsü Araştırma Bağında Yetiştirilen Kayırcık Üzümünün Ampelografik Vasıfları Üzerinde Araştırma. *A.Ü. Zir. Fak. Yıllığı* 22, 3-4, 404-413, Ankara.
- Fischer, M., Husı, R., Prati, D., Peintinger, M., Kleunen, M. and Schmid, B., 2000. "RAPD Variation Among And Within Small And Large Populations Of The Rare Clonal Plant *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae) ", *Amer. Jour. Bot.*, 87, 8, 1128-1137.
- Fischer, M., Matthies, D., 1998. RAPD variation in relation to population size and plant fitness in the rare *Gentianella germanica* (Gentianaceae). *Amer. Jour. Bot.*, 85, 811-819.

- Food Agriculture Organization, 2008. www.fao.org
- Gamperle, E., Schneller, J., 2003. Phenotypic and isozyme variation in *Cystopteris fragilis* (Pteridophyta) along an altitudinal gradient in Switzerland. *Flora*, 197, 203-213.
- Gepts, P., 1990. Genetic Diversity of Seed Storage Proteins in Plants. *Plant Population Genetics. Breeding, and Genetics Resources*, Sinauer, Sunderland, Massachusetts, 64-68.
- Glick, B.R., Pasternak, J.J., 1998. *Molecular Biotechnology (Principles and Applications of Recombinant DNA)*, ASM Press., Washington, D.C.
- Goffman, F.D., Thies, W., Velasco, L., 1999. Chemotaxonomic value of tocopherols in Brassicaceae. *Phytochemistry*, 50, 793-798.
- Gounaris, Y., Skoula, M., Fournaraki, C., Drakakaki, G., Makris, A., 2001. Comparison of essential oils and genetic relationship of *Origanum × intercedens* to its parental taxa in the island of Crete, *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 249-258.
- Gülşen, O., Mutlu, N., 2005. Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. *Alatarım*, 4, 2, 27-37.
- Guirao, P., Moya, A., Cenis, J.L., 1995. Optimal use of random amplified polymorphic DNA in estimating the genetic relationship of four major *Meloidogyne* spp. *Phytopath.*, 85, 547-551.
- Harborne, J.B. and Turner, B.L., 1984. *Plant Chemosystematics*. Academic Press, 180-191, London.
- Harlan, J.R., De Wet, J.M.J., 1973. On the Quality of Evidence for Origin and Dispersal of Cultivated Plants. *Curr. Antropol.*, 14, 51-62.
- Halden, C., Nilsson, N.O., Rading, M.I. and Sall, T., 1994, "Evaluation of RFLP and RAPD Markers in a Comparison of Brassica Napus Breeding Lines", *Theor. Appl. Genetics*, 88, 123-128.
- Hartl, L. and Seefelder, S., 1998. Diversity of selected hop cultivars detected by fluorescent AFLPs. *Theor. Appl. Genet.*, 96, 112-116.
- Harrison, R.E., Luby, J.J., Furnier, G.R., Hancock, J.F., 1997. Morphological and molecular variation among populations of octoploid *Fragaria virginiana* and *F. chiloensis* (Rosaceae) from North America. *Am. J. Bot.*, 84, 5, 612-620.
- Hegnauer, R., 1989. *Chemotaxonomie der pflanzen*, Birkhuser, Basel., 8, 611-612.
- Herrera, R., Cares, V., Wilkinson, M.J., Caligari, P.D.S., 2002. Characterization of genetics variation between *Vitis vinifera* cultivars from central Chile using RAPD and Inter simple sequence repeat markers. *Euphytica*, 124, 139-145.
- He, T., Chen, X., Xu, Z., Gao, J., Lin, P., Liu, W., Liang, Q. and Wu, Y., 2007. Using SSR markers to determine the population genetic structure of wild apricot (*Prunus armeniaca* L.) in the Ily Valley of West China. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54, 563-572.
- Holderegger, R., Stehlik, I., Abbott, R.J., 2002. Molecular analysis of the Pleistocene history of *Saxifraga oppositifolia* in the Alps. *Molec. Ecol.*, 11, 1409-1418.
- Hu, G., Abblet, G., Pauls, K.P., Rajcan, I., 2006. Environmental effects on fatty acid levels in soybean seed soil. *Jaocs*, 83, 759-763.
- Hunter, R.L., Markert, C.L., 1957. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science*, 125, 1294-1295.

- Hvarlevat, T., Rusanov, K., Lefort, F., Tsvetkov, I., Atanassov, A., Atanassov, I., 2004. Genotyping of Bulgarian *Vitis vinifera* L. Cultivars by Microsatellite Analysis. *Vitis*, 43, 1, 27-34.
- Ibañez, J., Andrés, M.T., Molino, A. and Borrego, J. 2003. Genetic study of key Spanish grapevine varieties using microsatellite analysis. *Am. J. Enol. Vitic.*, 54, 1, 22-30.
- Isik, K., Kara, N., 1997. Altitudinal variation in *Pinus brutia* Ten. and its implication in genetic conservation and seed transfers in southern Turkey. *Silvae Genetica*, 46, 113–120.
- İştar, A., 1959. Akdeniz Bölgesi ve Bilhassa İçel Bağcılığı ve Bu Bölgede Yetiştirilen Başlıca Üzüm Çeşitlerinin Ampelografileri İle İçel İli Bağcılığının Geliştirilmesi İmkanları Üzerinde Araştırmalar. A.Ü. Zir. Fak. Yayınları, Ankara, No:149.
- Jahnke, G., Korbuly, J., Majer, J., Györffy Molnar, J., 2007. Discrimination of the grapevine cultivars ‘Picolit’ and ‘Keknyelu’ with molecular markers. *Scient. Hortic.*, 114, 71-73.
- Jarvis, P., Lister, C., Szabo, V., Dean, C., 1994. Integrat on of CAPs Markers into the RFLP Map Generated Using Recombinant Inbred Lines of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol. Biol.*, 24, 685-687.
- Jordano, P. and Godoy, J.A., 2000, "RAPD Variation and Population Genetic Structure in *Prunus mahaleb* (Rosaceae), an Animal-Dispersed Tree", *Molecular Ecology*, 9, 1293-1305.
- Kaplan, N., 1994. Diyarbakır ve Mardin illerinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin saptanması üzerine bir araştırma. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bit. Kongresi, Sebze-Bağ-Süs Bitkileri, Ç.Ü. Zir. Fak. Bahçe Bit. Böl., Adana, Cilt: II, 529-532.
- Kara, Z., 1990. Tokat Yöresinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, A.Ü. Fen Bil. Enst., Bahçe Bit. Anabilim Dalı, Ankara, 317.
- Kelen, M. ve Tekintaş, F.E., 1991a. Gevaş ve Yöresinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. 100. Yıl Ü. Zir. Fak. Dergisi, Van, 1991 1/2,12-34.
- Kelen, M. ve Tekintaş, F.E., 1991b. Erciş ve Yöresinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. 100. Yıl Ü. Zir. Fak. Dergisi, Van, 1991 1/1, 110-128.
- Kısakürek, H., 1950. Güneydoğu Anadolu ve Bilhassa Gaziantep Bağcılığı ve Bu Bölgede Yetiştirilen Başlıca Üzüm Çeşitlerinin Morfolojik Vasıfları ve İktisadi Önemleri Üzerinde Araştırmalar. A.Ü. Zir. Fak., Ankara, Çalışmalar:10 No:121.
- Kısakürek, H., 1959. Türkiye Bağ Bölgeleri ve Bu Bölgelerde Yetiştirilen Standart Üzüm Çeşitlerinin Vasıfları Üzerinde Araştırmalar. A.Ü. Zir. Fak. Yıllığı: 9, 2, 113-114.
- Konieczyn, A., Ausubel, F.M., 1993. A Procedure for Mapping Arabidopsis Mutations Using Co-dominant Ecotype-specific PCR-based Markers. *Plant J.*, 4, 403-410.
- Körner, C., Bannister, P., Mark, A.F., 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant life forms in New Zealand. *Oecologia*, 69, 577– 588.

- Köse, C., 2002. Karaerik üzümü çeşidinin klon seleksiyonu yoluyla ıslahı üzerinde bir araştırma. Atatürk Üniversitesi Fen Bil. Enst., 213 s.
- Lefort, F. and Roubelakis-Angelakis, K.A., 2001. Genetic comparison of Greek cultivars of *Vitis vinifera* L. by nuclear microsatellite profiling. American Journal of Enology&Viticulture, 52, 2, 101-108.
- Li, G., Quiros, C.F., 2001. Sequence-related Amplified Polymorphism (SRAP) a New Marker System Based on a Simple PCR Reaction: Its Application to Mapping and Gene Tagging in *Brassica*. Theor Appl Genet., 103, 455-461.
- Lópes, M.S., Sefc, K.M., Dias, E.E., Steinkellner, H., Machado, M.L.D. and Machado, A.D., 1999. The use of microsatellites for germplasm management in a Portuguese grapevine collection. Theor. Appl. Genet., 99, 3-4, 733-739.
- Loureiro, M.D., Martinez, M.C., Boursiquot, J.M. and This, P., 1998. Molecular Marker Analysis of *Vitis vinifera* 'Albarino' and Some Similar Grapevine Cultivars. J.Amer. Soc. Hort. Sci., 123, 5, 842-848.
- Manen, J.F., Bouby, L., Dalnoki, O., Marinval, P., Turgay, M., Schlumbaum, A., 2003. Microsatellites from archaeological *Vitis vinifera* seedes allow a tentative assignment of the geographical origin of ancient cultivars. Jour. of Archae. Scienc., 30, 721-729.
- Markert, C.L., Moller, F., 1959. Multiple Forms of Enzymes; Tissues, Ontogenetic and Species Specific Patterns. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 45, 753-763.
- Mathieu-Daudé, F., Ralph, D. and McClelland, M., 1997. "Arbitrarily Primed PCR Fingerprints: Laboratory Methods for the Detection of Mutations and Polymorphisms in DNA", ed. Taylor, G. R., CRS Press, Boca Raton.
- Martin, J.P., Borrego, J., Cabello, F. and Ortiz, J.M., 2003. Characterization of the Spanish diversity grapevine 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 South American *Vitis vinifera* varieties. Plant Science. 170, 1036-1044.
- Merdinoğlu, D., Butterlin, G., Baur, C. and Balthazard, J., 2000. Comparison of RAPD, AFLP and SSR (Microsatellite) Markers for Genetic Diversity Analysis in *Vitis vinifera* L. Proc. VII Int'I Symp. On Grapevine Genetics and Breeding. Acta Hort., 528, 193-197.
- Montaner, C., Martin, J.P., Casanova, J., Marti, C., Badia, D., Cabello, F., Ortiz, J.M., 2004. Application of microsatellite markers for the characterization of 'Parralaeta': an autochthonous Spanish grapevine cultivar. Scient. Hort., 101, 343-347.
- Moreno, S., Gogorcena, Y., Ortiz, J.M., 1995. The Use of RAPD Markers for Identification of Cultivated Grapevine (*Vitis vinifera* L.). Scientia Hort., 62, 237-243.
- Mueller, U.G., Wolfenbarger, L.L., 1999. "AFLP genotyping and fingerprinting. Trends Ecol. Evol.", 14: 389-394.
- Mullins, M.G., Bouquet, A., Williams, L.E., 1992. Biology of the Grapevine. Cambridge University.
- Murphy, R.W., Sites, J.W., Buth, D.G., Haufler, C.H., 1990. Proteins I: Isozyme Electrophoresis, Hillis, D. M., Moritz, C (eds). Molecular systematics. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA., 45-126.

- Nei, M., 1987. Molecular evolutionary genetics, Columbia University Press, New York, 106-107.
- Nuñez, Y., Fresno, J., Torres, V., Ponz, F. and Gallego, F.J., 2004. Practical use of microsatellite markers to manage *Vitis vinifera* germplasm: Molecular identification of grapevine samples collected blindly in D.O. "El Bierzo" (Spain). *Journal of Horticultural Science&Biotechnology*, 79, 3, 437-440.
- Nosul'chak, V.A., 1984. The Present Stage of Ampelographic Studies in Turkmenia. CAB Abstracts.
- Odabaş, F., 1984. Investigation on Viticulture and Ampelographic Characteristics of Grape Varieties Cultivated in Iğdır. *Hort. Abst.* 054-06105.
- Oraman, M.N., 1937. Ankara Vilayeti Bağcılığı ve Burada Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özellikleri Üzerine Araştırmalar. *Doğa Bilim Dergisi*, D-2 8, 1, 57-64.
- Ortiz, J.M., Martin, J.P., Borrego, J., Chavez, J., Rodriguez, I., Munoz, G., Cabello, F., 2004. Molecular and morphological characterization of a *Vitis* gene bank for the establishment of a base collection. *Genet. Reso. And Crop Evalu.*, 51, 403-409.
- Özkaban, A. ve Özkaban, E.A., 1968. Müşküle, Razakı, Değirmendere siyahı Üzüm Çeşitlerinin Fenolojik ve Ampelografik İncelenmesi. *Zir. İşl. Gen. Müd. Araş. Özetleri (1926-1982)*, Ankara, Cilt:1, 120-121.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. and Strobeck, C., 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.*, 4, 347-354.
- Paisley, R., 1995. MIS whole cell fatty acid analysis by gas chromatography. *MIDI, Inc., Newark, DE, USA.*, 85, 7753-7757.
- Pamir, T., 1956. Marmara Bölgesi ve Bilhassa Kocaeli Bağcılığı ve Bu Bölgede Yetiştirilen Başlıca Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Vasıfları ve İktisadi Önemleri Üzerinde Araştırmalar. *A.Ü. Zir. Fak. Yayınları*, Ankara, No:96.
- Paran, I., Michelmore, R.W., 1993. Development of Reliable PCR-based Markers Linked to Downy Mildew Resistance Genes in Lettuce. *Theor. Appl. Genet.*, 85, 985-993.
- Polat, İ., Göçmen, M., Uzun, H.İ., 1998. Bazı Melez Üzüm Çeşitlerinin DNA Parmak İzlerinin Belirlenmesi. *IV. Bağ. Semp.*, Yalova, 132-137.
- Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1993. Genetic Diagnostics in Plant Breeding: RAPDs, Microsatellites, and Machines. *Trends Genet.*, 9, 275-279.
- Reale, S., Pilla, F., Angiolillo, A., 2006. Genetic analysis of the Italian *Vitis vinifera* cultivar 'Tintilia' and related cultivars using SSR markers. *Journ. of Hortic. Scien. Biotech.*, 6, 989-994.
- Reisch, C., Poschlod, P., Wingerder, R., 2003a. Genetic differentiation among populations of *Sesleria albicans* Kit. Ex Schultes (Poaceae) from ecologically different habitats in central Europe. *Heredity*, 91, 519-527.
- Reisch, C., Poschlod, P., Wingerder, R., 2003b. Genetic variation of *Saxifraga paniculata* Mill. (Saxifragaceae): molecular evidence for glacial relict endemism in central Europe. *Biological Journ. The Linnean Society*, 80, 11-21.
- Reisch, F., Zulini, L., Maul, E., 2004. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 109, 1448-1458.

- Rubio, J.A. and Yuste, J., 2004. Ampelographic Differentiation of Tempranillo Clones from Different Area of Origin, According to Their Synonyms. *Acta Horticulturae*, 652, 73- 79.
- Sáenz-Romero, C., Tapia-Olivares, B.L., 2003. *Pinus oocarpa* isoenzymatic variation along an altitudinal gradient in Michoacán, México. *Silvae Genetica*, 52, 237–240.
- Sanchez-Escribano, E., and Ortiz, J.M., 2000. Evaluation of genetic diversity of grapevine cultivars grown in morocco with rapd- pcr. *Acta Hort. (ISHS)* 528,171-178.
- Schneider, A., 1995. Identification of Aromatic Grapevines With Coloured Fruit on the Basis of Ampelographic Descriptors. CAB Abstract.
- Sefc, K.M., Lefort, F., Grando, M.S., Scott, K.D., Steinkellner, H. and Thomas, M.R., 2001. Microsatellite markers for grapevine: A state of the art. In “Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine”. Roubelakis-Angelakis K.A. ed., 1-29, Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- Selli, F., M. Bakır, G. _nan, H. Aygün, Y. Boz, A.S. Yasasin, C. Özer, B. Akman, G. Söylemezoglu, K. Kazan and A. Ergül. 2007. Simple sequence repeat-based assessment of genetic diversity in Dimrit and Germe grapevine accessions from Turkey. *Vitis* 46:182-187.
- Semang, K., Stedje, B., Bjornstad, A., 2001. Analysis of genetic diversity and structure in Ethiopian populations of *Phytolacca dodecandra* using RAPD. *Hereditas*, 135, 51-60.
- Shorland, F.B., 1963. In: Chemical Plant Taxonomy. Ed: T. Swain. Academic Press. 253-311 p, New York.
- Spitzer, V., Marx, F., Maia, J.G.S. and Pfeilsticker, K., 1990. *Fat. Sci. Technol.*, 92, 165.
- Staub, J.E., Kuhns, J.J., May, B., Grun, P., 1982. Stability of Potato Tuber Isozymes Under Different Storage Regimes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 107, 405-408.
- Staub, J.E., Sequen, F.C., 1996. Genetic Markers, Map Construction, and Their Application in Plant Breeding. *Hort. Scien.*, 31, 5, 729-741.
- Stebbins, G. L., 1989. Introduction. Isozyme in Plant Biology. Soltis, D. E., Soltis, P. S. (eds). Portlan: Dioscorides Press. 1-3.
- Stuber, W.C., 1992. Biochemical and molecular markers in plant breeding. *Plant Breeding News*, 9, 36-61.
- Şahin, F., 1999. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanısı (Microbial Identification System) II. Uygulamalı Moleküler Biyoloji Teknikleri Kursu, 15-20 Mayıs 2000, Erzurum, 64-68.
- Tangolar, S., Ergenoglu, F., Gok, S., 1996. Üzüm Çeşitleri Kataloğu. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitapları No:29.
- Tangolar, S.G., Ozogul, Y., Tangolar, S., Torun, A., 2009. Evaluation of fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes. *Intern. Journal of Food Sciences and Nutrition*. 60,1, 32-39.
- Tangolar S.G., Soydam, S., Bakir M., Karaagac, E., Tangolar, S., Ergul, A., 2009. Genetic Analysis of Grapevine Cultivars from the Eastern Mediterranean Region of Turkey, Based on SSR Markers. *Tarim Bilimleri Dergisi*, 15,1,1-8.

- Tesfaye, B. and Heiko, C.B., 2005. Exploration of *Vernonia galamensis* in Ethiopia, and variation in fatty acid composition of seed oil. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52, 805–811.
- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Crespan, M., Dangl, G.S., Eisenheld, C., Ferreira-Monteiro, F., Grando, S., Ibanez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhaes, R., Meredith, P.C., Milani, N., Peterlunger, E., Wang Y., Chen J., Lu J., Lamikanra O., 2004. Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Vitis* species and Florida bunch grapes. *Scient. Horticult.*, 82, 85-94.
- Thomas, M.R., Matsumoto, S., Cam, P. and Scott, N.S., 1993. Repetitive DNA of Grapevine: Classes Present and Sequences Suitable for Cultivar Identification. *Theor. App. Genet.*, 86, 173-180.
- Tomazic, I., Korosec-Koruza, Z., 2003. Validity of phyllometric parameters used to differentiate local *Vitis vinifera* L. Cultivars. *Genet. Resour. And Crop Evol.* 50, 773-778.
- Tschammer, J. and Zyprian, E., 1994. Molecular Characterization of Grapevine Cultivars of Riesling Type and of Closely Related Burgundies. *Vitis*, 33, 249-250.
- Ulanovsky, S., Gogorcena, Y., Martinez de Toda, F., Oriz, J.M., 2002. Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Scient. Horticult.*, 92, 241-254.
- Uzun, H.İ., 1986. Bazı Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özellikleri, Kateşol Oksidaz İzoenzim Bantlarından Teşhisleri ve Sıcaklık Toplamları Üzerinde Araştırmalar. *E.Ü. Zir. Fak. Dergisi*, İzmir, Cilt:23,2, 85-91.
- Vidal, J.R., Coarer, M., Defontaine, A., 1999. Genetic relationships among grapevine varieties grown in different French and Spanish regions based on Rapid markers. *Euphytica*, 109, 161-172.
- Vigouroux, Y., Matsuoka, Y., Doebley, J., 2003. Directional evolution for microsatellite size in maize. *Mol. Biol. and Evol.*, 20, 1480–1483.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23, 4407–4414.
- Vuytsteke, M., Peleman, J.D and JT van Eijk, M., 2007. AFLP technology for DNA fingerprinting. *Nature Protocols*, 2, 6, 1387.
- Wagner, H.W. and Sefc, K.M., 1999. Identity 1.0. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Science, Vienna.
- Walker, A. and Lin, L., 1995. The Use of Isozymes to Identify 60 Rootstocks (*Vitis* spp.). *Am. J. Enol. Vitic.*, 46 (3), 289-305.
- Wang, Y., Chen, J., Lu, J. and O. Lamikanra., 1999. Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Vitis* species and Florida bunch grapes. *Scientia Hort.*, 82, 85-94.
- Welsh, J., McClelland, M., 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primers. *Nucleic Acids Res.*, 18, 7213-7218.
- Wen, C.S., Hsiao, J.Y., 2001. Altitudinal genetic differentiation and diversity of Taiwan Lily (*Lilium longiflorum* var. *formosum*; Liliaceae) using RAPD markers and morphological characters. *Inter. Jour. Plant Sci.*, 162, 287-295.

- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, A., Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18, 6531-6535.
- Winn, A.A., Evans, A.S., 1991. Variation among populations of *Prunella vulgaris* L. in plastic responses to light. *Funct Ecol.*, 5, 899-902.
- Winn, A.A., 1999. Is seasonal variation in leaf traits adaptive for annual plant *Dicerandra linearifolia*?. *J Evol Biol.*, 12, 306-313.
- Woldelessie, O., 2001. The distribution and regeneration of *Boswellia papyrifera* (Del.) Hochst. in Eritrea. PhD thesis, Wageningen University, The Netherlands.
- Woldelessie, O., Frans, B., Toon, R. and Marius, W., 2006. Population structure and morphology of the frankincense tree *Boswellia papyrifera* along an altitude gradient in Eritrea. *Jour.Of The Drly.*, 1 (1), 85-94.
- Wolff, I.A. and Kwolek W.F., 1971. Lipids of the Leguminosae. In: *Chemotaxonomy of the Leguminosae.* (Eds.): Harborne J.B., Boulter D. and Turner B.L., Academic Press, London and New York.
- Yang, X. and Quiros C., 1993. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. *Theoret. Appl. Genet.*, 96, 602-611.
- Yann, H., Christophe, F.R., Ju'rg, S. and Antoine, G., 2009., Changes in reproductive investment with altitude in an alpine plant . *Journal of Plant Ecology*, 2 (3), 125-134.
- Xiao-Xia, F., Lang, S., Xin, Z., Xiao-Yong, C. and Cheng-Xin, F., 2004. Assessing Genetic Diversity of *Ginkgo biloba* L.(Ginkgoaceae) Populations From China by RAPD Markers. *Bioch. Genet.*, 42, 7-8.
- Xue-Bing, Y., Yu-Xia, G., Chong, Z., Fa-Yang, L., Bao-Rong, L., 2008. Intra-population genetic diversity of two wheatgrass species along altitude gradients on the Qinghai-Tibetan Plateau: its implication for conservation and utilization. *Conserv Genet.*, 10, 359-367.
- Zhang, X., Korpelainen, H., Li, C., 2006. Microsatellite variation of *Quercus aquifolioides* populations at varying altitudes in the Wolong Natural Reserve of China. *Silva Fennica*, 40(3), 407-415.
- Zhongqiang, L., Dan, Y., 2009. Factors affecting leaf morphology: a case study of *Ranunculus natans* C. A. Mey. (Ranunculaceae) in the arid zone of northwest China. *Ecol Res.*, 24, 1323-1333.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D., 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, 20, 176-183.