

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA ve ÇANKIRI İLLERİ ASMA GEN KAYNAKLARININ SSRs  
(SIMPLE SEQUENCE REPEATS)'a DAYALI GENETİK  
KARAKTERİZASYONU**

**Funda YILDIRIM**

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**Ankara  
2008**

**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ ONAYI

Funda YILDIRIM tarafından hazırlanan “**Ankara ve Çankırı İlleri Asma Gen Kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)’a Dayalı Genetik Karakterizasyonu**” adlı tez çalışması 30 / 07 / 2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

**Jüri Üyeleri** :

**Başkan** : Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri A.B.D.

**Üye** : Prof Dr. Birhan KUNTER

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri A.B.D.

**Üye** : Doç. Dr. Ali ERGÜL

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. Orhan ATAKOL**

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANKARA ve ÇANKIRI İLLERİ ASMA GEN KAYNAKLARININ SSRs (SIMPLE SEQUENCE REPEATS)'a DAYALI GENETİK KARAKTERİZASYONU

Funda YILDIRIM

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

Ankara ve Çankırı illeri iklimi birinci derecede şaraplık üzüm çeşitlerinin yetiştirilmesine uygun olmakla birlikte, son yıllarda gelişen sulama olanakları ile sofralık üzüm yetiştiriciliğine karşı ilginin de giderek arttığı bir yetiştirme alanıdır. Bu çalışmada, Ankara ve Çankırı illerinden Tekirdağ Milli Koleksiyon Bağı'na aktarılan 49 çeşit ile 2 referans çeşit olmak üzere toplam 51 üzüm çeşidinin (*Vitis vinifera* L.) 15 mikrosatelit markör (VVMD5, VMC2C3, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVIH54 VVMD31, VrZAG83, VRG1) kullanılarak genetik kimlikleri belirlenmiştir. Kullanılan 14 lokusta yeterli genetik bulgulara ulaşılırken, VRG1 lokusu sahte (null) allel göstermesi nedeni ile incelenen genetik parametrelere dahil edilmemiştir. Lokuslarda gözlenen allel sayısı 13 ile 4 arasında değişmiştir. Genotipler arasında 2 aynı genotip, 4 sinonim ve 5 homonim duruma rastlanmıştır. SSR markörler kullanılarak elde edilen bu araştırma sonuçları hem Ankara ve Çankırı illeri hem de İç Anadolu Bölgesi üzüm gen kaynaklarının SSR tekniği kullanılarak tanımlanması yönünde bir ilk niteliğindedir.

**Temmuz 2008, 67 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** *Vitis vinifera* L., Üzüm, Moleküler Tanımlama, Asma Gen Kaynağı, SSR, Türkiye

## ABSTRACT

Master Thesis

### GENETIC CHARACTERIZATION OF ANKARA AND ÇANKIRI GRAPEVINE GERMPLASM BASED ON SSR MARKERS

Funda YILDIRIM

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Science  
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

Ankara and Çankırı provinces are suitable for good quality wine grape cultivation, also this region is being popular for table grape cultivation due to improved irrigation systems in recent years. In this research, a total of 49 grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) from Tekirdağ Viticulture Research Institute in National Germplasm Repository Vineyard with 2 reference cultivars were genetically characterized using 15 SSR markers (VVMD5, VMC2C3, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVIH54 VVMD31, VrZAG83, VRG1) and genetic relationships among them were investigated. Genetic data obtained from 14 loci analysed successfully characterised the grapevine cultivars however, locus VRG1 was eliminated due to the high frequency of null allele. Number of alleles per locus ranged from 4 to 13. Within genotypes analysed 2 identical, 4 synonym, 5 homonym cases were observed. The results obtained in the present study using SSR markers are important first steps towards better characterization of Ankara and Çankırı grape genotypes and would aid future germplasm management and breeding efforts.

**July 2008, 67 pages**

**Key Words:** *Vitis vinifera* L., Grape, Molecular Identification, Grapevine germplasm, SSR, Turkey

## TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma olanağı veren, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU'na, Tez Savunma Komitesinde olmayı kabul ettikleri için, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Birhan Kunter ve Biyoteknoloji Enstitüsü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Ali ERGÜL'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezimdeki tekniği öğreten, her türlü kaynak temininde yardımlarını esirgemeyen, verilerimin yorumlanmasında yardımcı olan ve tezimin her aşamasında bilgisine başvurduğum Sayın hocam Doç. Dr. Ali ERGÜL'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tezimin kontrolü aşamasında, yardım ve katkılarından dolayı Arş. Gör. Semra SOYDAM'a ve yardıma ihtiyaç duyduğumda hep yanımda olan Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı Bitki Biyoteknolojisi ekibine desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tezimde kullanılan bitkisel materyali sağlayan T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü yetkili ve çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteğiyle her zaman arkamda olan, başta annem Nermin YILMAZ ve çalışmalarım süresince çeşitli fedakarlıklar göstererek beni destekleyen eşim Hilmi YILDIRIM olmak üzere, çok değerli aileme en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunuyorum.

Funda YILDIRIM

Ankara, Temmuz 2008

## İÇİNDEKİLER

|   |      |
|---|------|
| ÖZET.....   | i    |
| ABSTRACT.....   | ii   |
| TEŞEKKÜR.....   | iii  |
| SİMGELER DİZİNİ.....  | vi   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....  | vii  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....  | viii |
| 1.GİRİŞ.....  | 1    |
| 2.KURAMSAL TEMELLER.....  | 3    |
| 2.1 DNA Markörler.....  | 3    |
| 2.1.1 Hibridizasyona (iki DNA parçasının birleştirilmesi)'ne dayalı<br>DNA markörler..... | 4    |
| 2.1.1.1 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....                              | 4    |
| 2.1.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı DNA markörler.....                         | 4    |
| 2.1.2.1 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....                                      | 5    |
| 2.1.2.2 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....                                | 5    |
| 2.1.2.3 Mikrosatellitler (SSRs, Simple Sequence Repeats).....                             | 6    |
| 2.1.2.3.1 SSR Tekniğinin bağcılıkta kullanım alanları.....                                | 9    |
| 2.2 Asma Mikrosatellit Araştırmaları.....   | 9    |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....  | 18   |
| 3.1 Materyal.....   | 18   |
| 3.2 Yöntem.....   | 22   |
| 3.2.1 DNA izolasyonu.....   | 22   |
| 3.2.2 SSR allel bölgelerinin PCR aracılığı ile çoğaltılması .....                         | 23   |
| 3.2.2.1 Çalışmada Kullanılan SSR Primerleri.....  | 24   |
| 3.2.3 PCR ürünlerinin kapiller elektroforezi ve allel verilerinin<br>görüntülenmesi.....  | 25   |
| 3.2.4 Genetik analizler.....  | 28   |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....   | 29   |
| 4.1 DNA İzolasyonu.....   | 29   |
| 4.2 Kapiller Elektroforez Yöntemi ile Elde Edilen Allel Büyüklükleri.....                 | 34   |

|                                  |           |
|----------------------------------|-----------|
| <b>4.3 Genetik Bulgular.....</b> | <b>39</b> |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b> | <b>53</b> |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>            | <b>58</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>             | <b>67</b> |

## SİMGELER DİZİNİ

|                   |   |
|-------------------|---|
| AFLP              | Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı) |
| bp                | Base pair (Baz çifti)   |
| CTAB              | Hekzadesil Trimetil-Amonyum Bromür  |
| DNA               | Deoksiribo Nükleik Asit   |
| dNTP              | Deoksi-Nüklezid Trifosfat   |
| EDTA              | Etilen Diamine Tetra Asetik Asit  |
| H <sub>e</sub>    | Expected heterozygosity (Beklenen heterozigotluk)                             |
| H <sub>o</sub>    | Observed heterozygosity (Gözlenen heterozigotluk)                             |
| MgCl <sub>2</sub> | Magnezyum Klorür  |
| mM                | Milimol   |
| µl                | Mikrolitre  |
| M                 | Mol   |
| n                 | The number of alleles (Allel sayısı)  |
| PCR               | Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)                       |
| PI                | Probability of Identity (Tespit olasılığı)                                    |
| PVP               | Polyvinylpyrrolidone  |
| r                 | The estimated frequency of null allele (Tahmin edilen sessiz allel frekansı)  |
| RAPD              | Random Amplified Polymorphism DNA (Rastgele çoğaltılmış DNA farklılığı)       |
| RFLP              | Restriction Fragment Length Polymorphism (Kasılmış parça uzunluğu farklılığı) |
| RNase             | Ribonükleaz   |
| rpm               | Dakikadaki dönüş sayısı   |
| SSR               | Simple Sequence Repeats (Basit dizi tekrarları)                               |
| TBE               | Tris-Borik Asit-EDTA Çözeltisi  |
| TE                | Tris-EDTA Çözeltisi   |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| Şekil 3.1 SSR kapilleri elektroforez yönteminde uygulama aşamalarının genel görünümü .....                     | 27 |
| Şekil 4.1 İzolasyon sonucu elde edilen DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforez görünümü.....                  | 29 |
| Şekil 4.2 PCR ürününün agaroz jel üzerindeki görünümü.....   | 35 |
| Şekil 4.3 PCR ürününün agaroz jel üzerindeki görünümü.....   | 35 |
| Şekil 4.4 Kapiller elektroforezde bir SSR lokusuna ait homozigot allel büyüklüğü.....                          | 36 |
| Şekil 4.5 Kapiller elektroforezde bir SSR lokusuna ait heterozigot allel büyüklüğü.....                        | 36 |
| Şekil 4.6 Kapiller elektroforezde iki SSR lokusuna ait heterozigot allel büyüklüğü.....                        | 37 |
| Şekil 4.7 Kapiller elektroforezde üç SSR lokusuna ait iki homozigot ve bir heterozigot allel büyüklükleri..... | 37 |
| Şekil 4.8 Kapiller elektroforezde üç SSR lokusuna ait bir homozigot ve iki heterozigot allel büyüklükleri..... | 38 |
| Şekil 4.9 Kapiller elektroforezde çoklu allel büyüklükleri .....   | 38 |
| Şekil 4.10 Ankara ve Çankırı illeri asma genotiplerine ait dendogram.....                                      | 52 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| Çizelge 2.1 “AT” tekrarlarına ait 3 farklı allelin genom boyunca dağılımı ve görünümü.....   | 8  |
| Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan Ankara ve Çankırı illeri üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler.....   | 19 |
| Çizelge 3.2 Kullanılan primerlere ait bilgiler.....  | 24 |
| Çizelge 4.1 Araştırmada kullanılan üzüm çeşitlerine ait üç tekrarlı nanodrop ölçümleri sonucu elde edilen DNA miktarları ve saflık dereceleri .....                              | 30 |
| Çizelge 4.2 Ankara ve Çankırı çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp).....   | 39 |
| Çizelge 4.3 Çalışılan lokuslardaki allel sayıları(N), beklenen heterozigotluk(He), gözlenen heterozigotluk(Ho), tespit olasılığı(PI) değeri ve sessiz (null) allel frekansı..... | 47 |
| Çizelge 4.4 Çalışılan lokuslardaki allel frekansları.....  | 48 |
| Çizelge 4.5 Analizler sonucunda elde edilen,iller bazında, aynı , sinonim homonim çeşitler ve genetik benzerlik indeksleri(%) .....  | 50 |
| Çizelge 4.6 Genetik benzerlik indeksi.....   | 51 |

## 1. GİRİŞ

Asma, kökeni çok eski yıllar öncesine uzanan önemli bitki türlerinden birisidir. Dünya üzerinde 11° - 53° kuzey enlem dereceleri ile güney yarım kürede 20° - 40° güney enlem dereceleri arasında yetiştiriciliği yapılan asmanın, en önemli türü ise *Vitis vinifera* L. türü olup, dünya üzüm üretiminin tamamına yakınına karşılık gelmektedir. Ülkemizde ise; bağcılık 550 000 ha alan ve 4 000 000 ton üzüm üretimi ile tarım potansiyelimiz içerisinde önemli bir paya sahiptir. Bu potansiyeli ile Türkiye, alan yönünden İspanya, Fransa ve İtalya'nın arkasından 4. sırada yer alırken, üretim yönünden ise İtalya, Fransa, İspanya, ABD ve Çin'in ardından 6. sırada yer almaktadır (FAO, 2006).

Ülkemiz bağcılık alanları, tarım bölgeleri bazında dikkate alındığında, I. Bölgede (Orta Kuzey Tarım Bölgesi) yer alan Orta Anadolu Bölgesi, özellikle sahip olduğu iklim koşulları ile Batı ve Doğu bölgeleri arasında bir geçit kuşağı oluşturmaktadır. Ankara, Konya, Eskişehir, Kırıkkale, Nevşehir, Çankırı, Kırşehir, Konya, Aksaray, Sivas, Kayseri, Yozgat illerini kapsayan bölgede sofralık üzüm yetiştiriciliği yapılmakla birlikte, ekolojik koşullar birinci derecede şaraplık üzüm çeşitlerinin yetiştiriciliğine uygundur. Bölgede; Şaraplık üzüm yetiştiriciliğinin ön plana çıkmasında ise, olgunlaşma döneminde görülen ve tanede asit oranı ile kabukta renklenmeyi artıran gece-gündüz sıcaklık farklılıklarıdır.

Türkiye bağcılık potansiyelinin yanında, zaman içerisinde ortaya çıkmış çeşit, tip ve klondan oluşan zengin bir genetik çeşitliliğe sahiptir. Son yapılan araştırma bulguları da Anadolu'nun *V. Vinifera* L. türünün çeşitlilik merkezi olduğunu kanıtlanmıştır (Arroyo-Garcia *et al.* 2006, Ergül *et al.* 2006).

Genetik çeşitliliğin en iyi şekilde değerlendirilmesi diğer bir ifade ile mevcut gen kaynaklarının bilinmesi ise bağcılığın üretim aşamalarında büyük önem taşımaktadır. Gen kaynaklarının değerlendirilme aşamaları ise seleksiyon, koleksiyon, tanımlama, üstün özellikli bireyleri seçme ve değişik amaçlı kullanma aşamalarından oluşmaktadır. Günümüze kadar yürütülen çalışmalarda gerek seleksiyon gerek koleksiyon

çalışmalarında önemli aşamalar kaydedilirken, tanımlama çalışmaları ise ağırlıklı olarak ampelografik tanımlamalar düzeyinde tamamlanmıştır. Ancak, dünyada olduğu gibi ülkemizde de, genetik karakterizasyondaki eksiklikler ve farklı adlandırmalar, tarımın birçok sektöründe materyallerin ismine doğruluğu konusunda önemli kuşkular yaratmaktadır. Bu karışıklığı en doğru şekilde çözebilmek ise ancak polimorfizm gösteren DNA markörlerin yardımıyla genetik tanımlamaların yapılmasıyla gerçekleştirilmektedir.

Dünya asma gen kaynaklarının tanımlanmasına yönelik son yıllarda yapılan çalışmalarda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) ve SSRs (Simple Sequence Repeats) moleküler markörlerin kullanımı ağırlık kazanmıştır. Genomda 2-4 baz uzunluğundaki motiflerin çeşitliliğine dayanan SSRs (Simple Sequence Repeats) veya mikrosatelit markörler; sonuçlarının paylaşımına açık olması, tekrarlanabilir olması, etkin tanımlama sağlayarak yüksek derecede polimorfiklik göstermesi gibi önemli avantajları nedeniyle ön plana çıkmaktadır.

“Milli Koleksiyon Bağı”nda gerçekleştirilen ampelografik çalışmalara karşın, asma gen potansiyelimizi gösteren bu koleksiyonun DNA düzeyinde SSR tekniği ile tanımlanmalarına yönelik araştırmaların sayısı çok azdır (Ergül 2000, Ergül *et al.* 2006, Vouillamoz *et al.* 2006, Şelli *et al.* 2007).

Ulusal asma gen kaynaklarımızın SSR markörler düzeyinde tanımlanmasının (Ülkemizde Ekonomik Öneme Sahip Bazı Meyve Türleri ile Asma Gen Kaynaklarının High-throughput Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması Projesi) bir bölümü olarak gerçekleştirilen bu tezde; Orta kuzey tarım bölgesinde yer alan Ankara ve Çankırı illerine ait 49 üzüm çeşidi ile 2 adet referans çeşit olmak üzere toplam 51 üzüm çeşidinin kimlik tanıları yapılırken, çeşitler arası homonim, sinonim genotipler belirlenerek genetik ilişkiler ortaya konulmuştur.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

Yüksek bitkilerden olan ve dünyanın en eski bitki türlerinin yer aldığı *Vitis* cinsi; 60 kadar Asya türünü, yaklaşık 25 Kuzey Amerika ve tek bir Avrupa türünü (*Vitis vinifera* L.) kapsar. *Vitis* cinsi düzeyinde gerek genetik, gerek ekolojik anlamda önemli bir açılım söz konusudur. Bu türlerin en önemlisi olan *Vitis vinifera* L. türü oldukça geniş çeşit zenginliğine sahiptir. Alleweldt and Possingham (1988)'a göre dünyada en az 30.000 civarında isimlendirilmiş çeşidin bulunduğu bu sayının ise; yaklaşık yarısının genotipik olarak farklı olabileceği bildirilmektedir. Diğer taraftan ampelografik tanımlamalardaki yetersizliklerin ortadan kaldırılarak, gen kaynaklarının kesin sayılarının belirlenmesi, yanlış isimlendirmelerin ortadan kaldırılarak bu potansiyelin korunmaya alınması ve kullanılması, dünya bağcılığında temel araştırma konuları arasında yerini almıştır. Bu amaçla gen kaynaklarını doğru ve hızlı tanımlamaya olanak sağlayan DNA markörler kullanılmış, hatta Fransa, ABD, İtalya gibi birçok ülkede gen kaynakları veri bankalarının oluşturulması tamamlanmıştır.

Bu amaçla kullanılan DNA markörler temelde PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı olarak kullanılmakla birlikte, güncelliğini kaybedip tanımlamada kullanılmayan RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) gibi markörlerde bulunmaktadır.

### 2.1 DNA Markörler

Protein markörlerde ortaya çıkan yetersizliklere karşın, DNA markörler, aynı DNA bölgesinin bireyler arasındaki bulunup bulunmaması, bulunması halinde ise o bölgenin aynı büyüklükte olup olmasını tespit eden moleküler araçlardır.

DNA markörlerin en önemli özellikleri, değişik hücresel koşullardan etkilenmemeleri ve tekrarlanabilme özelliklerinin yüksek olmasıdır.

Tanımlama çalışmalarında daha doğru ve kesin sonuçlar veren ve Bahçe Bitkileri ıslahında genetik çalışmaların sınırlarını genişleten DNA markörler kendi içerisinde

genel olarak Hibridizasyona dayalı DNA markörler ve PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı DNA markörler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

### **2.1.1 Hibridizasyona (iki DNA parçasının birleştirilmesi) dayalı DNA markörler**

Bu grupta yer alan markörlerin en önemlisi RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) (kesilmiş parçaların uzunluk polimorfizmi) yöntemidir.

#### **2.1.1.1 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)**

Moleküler markör tekniklerinden, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniğinin kullanımı birçok bitki türünde olduğu gibi asmalarda da ; türler arası ve *Vitis vinifera* L. türüne ait çeşitler ile anaçların genetik benzerliklerinin ortaya çıkarılması, hibrit analizi, bağlantı gruplarının oluşturulması ve genom haritalaması gibi alanlarda yoğunlaşmıştır (Ergül 2000).

RFLP tekniği farklı çevre koşullarında önemli bir avantaj sağlar ve yüksek seviyede polimorfizm gösterir. Bununla birlikte, bu yöntemde karışık bant örnekleri sonuçların değerlendirilmesinde zorluklara neden olabilir. Ayrıca yöntemin; yüksek kalite ve miktarda DNA'ya ihtiyaç duyması, problemlerin ilk geliştirilmesinin zaman alması ve pahalı olması gibi önemli dezavantajları mevcuttur (Sefc *et al.* 2001).

### **2.1.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı DNA markörler**

PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı DNA markörlerden bağıcılıkta en yaygın kullanılanları; RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSRs (Simple Sequence Repeats) markörlerdir.

### 2.1.2.1 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

RAPD yöntemi (DNA üzerinde dizisi bilinmeyen bölgelerin taranması), 9-10 baz uzunluğundaki rastgele primerlerin, kalıp (template) DNA'nın iki iplikçığı üzerinde, birbirine karşıt iki farklı noktada tamamlayıcılarını (komplementlerini) bularak, bu ara bölgenin çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) esas alan polimorfizmden oluşmaktadır (Welsh and McClelland,1990).

PCR (Polymerase Chain Reaction) teknolojisi sayesinde, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) analizi, organizmalar arasında genetik farklılığı belirlemede ucuz, kolay ve hızlı bir metoddur. Asma ve anaç çeşitlerinde polimorfizm oranı yüksek bulunmakla birlikte ( This *et al.* 1997, Ye *et al.* 1998, Ergül *et al.* 2002a) tekniğin en büyük dezavantajı, sonuçlarının tekrar edilebilirliğinin düşük olmasıdır.

### 2.1.2.2 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

AFLP tekniği RAPD tekniğinin dezavantajlarını gidermek üzere geliştirilmiş bir teknik olup, temel olarak aşağıdaki şekilde uygulanmaktadır:

- DNA'nın spesifik restriksiyon enzimleri ile (ECoR1/Mse I) kesimi ve bu bölgelere adaptörlerin takılması,
- Adaptör takılan bu bölgelerin ön selektifi
- Değişik şekillerde (radyoaktif veya biotin vb) işaretlenmiş primerlerle DNA bölgelerinin çoğaltımının (amplifikasyonunun) sağlanması yani selektif aşaması ( Vos *et al.* 1995).

AFLP tekniğinde hedef alınan DNA bölgesi kısmen bilinir ve özellikle klon ayırımlarında polimorfizm oranı çok yüksek olan bir tekniktir. Genomda oldukça geniş bir bölgeyi tarayan teknik, parmak izi analizlerinden daha çok genetik ilişkilerin ortaya konulması amacı ile kullanılır (Söylemezoğlu vd. 2005).

AFLP uygulamalarında teknik bilgi birikimi ve iyi laboratuvar alt yapısı isteyen tekniğin en önemli dezavantajı dominant markör özelliğinde olmasıdır.

Gerek AFLP gerekse RAPD markörlerin tam anlamı ile kimlik tanısı özelliklerini taşıyamaması, daha etkin kullanıma sahip mikrosatelit markörlerin geliştirilmesini ve kullanımını teşvik etmiştir (Sefc *et al.* 2001).

### **2.1.2.3 Mikrosatelitler (SSRs, Simple Sequence Repeats)**

SSR markörler, bitki DNA'sında bulunan 2-4 baz uzunluğundaki (TG)<sub>n</sub>, (AC)<sub>n</sub>,(TA)<sub>n</sub>, (GAC)<sub>n</sub>, (TTC)<sub>n</sub> ve (TATA)<sub>n</sub> gibi çekirdek motiflerini içeren 100 bp den küçük tekrar ünitelerindeki farklılıkları içerir. Genomda tespit edilen tekrar motiflerinin, kenar dizilerine oluşturulan primerlerle amplifikasyonu baz alan teknik insan ve hayvan tanılarından sonra, başta ticari önemi olan bitki türleri olmak üzere hemen hemen tüm canlılarda yaygın kullanıma girmiştir. Tekniğin tanımlamalardaki öneminden dolayı SSR lokusları tespit edilmiş türlerde her geçen gün bu lokusların sayısı artırılırken, endemik türler başta olmak üzere daha az ticari önemi olan türlerde de lokus tespit çalışmaları güncel konular arasındadır.

Genotipleme araştırmalarının yanında, kodominatlık avantajından dolayı ebeveyn ve hibrit tanısında, genomda korunan dizilerin baz almasından dolayı ise bitkilerin genetik evriminde kullanılmaktadır. Ayrıca bitkideki ekonomik özellikleri (tane rengi, hastalıklara dayanıklılık gibi) kontrol eden genlerin klonlanması amacı ile yürütülen genetik haritalama çalışmalarında ve genom projelerinde SSR markörlerin önemi her geçen gün artmaktadır (Fischer *et al.* 2004, Welter *et al.* 2007, Akkurt *et al.* 2007, Velasco *et al.* 2007).

SSR uygulamalarında temel aşamalar allel bölgelerinin PCR'da amplifikasyonu ve görüntülenmesidir. Allel bölgelerinin çoğaltılmasında, PCR optimizasyonu, DNA polimeraz seçimi vb. faktörler kritik olmakla birlikte, etkili lokus bölgelerinin tanımlamada kullanılması büyük önem taşımaktadır. Bir türde çok sayıda lokus tespit



edilmiş olmakla birlikte, bunların her birinden başarılı sonuçlar alınamamakta ve arzu edilmeyen allel (null allel oluşumu, düşük sayıda allel elde edilmesi gibi) oluşumları ile karşılaşmaktadır. Örneğin uluslararası Üzüm Konsorsiyumu tarafından söz konusu sakıncaların ortadan kaldırılması amacı ile, yaklaşık 400 lokusdan altısı universal tanımlamalarda etkili lokus olarak belirlenmiştir (This *et al.* 2004). Allel bölgelerinin görüntülenmesi ise doğru allel büyüklüğünün tespiti açısından son derece önem taşımaktadır. Jel ortamlarına göre daha kesin veri sunan ve kapilleri elektroforez ortamlarında gerçekleştirilen bu hızlı teknolojilerin önemi özellikle bir türe ait çok sayıda bireyin tanımlandığı araştırmalarda daha da artmaktadır.

Çizelge 2.1’de SSR allel bölgelerinin genom üzerinde dağılımı ve PCR amplifikasyonu sonucu oluşturacağı durumlar aşağıda özetlenmiştir. Buna göre; diploid genom yapısına sahip bir bitkinin DNA üzerinde bir SSR lokusuna ait 2 alleli bulunmaktadır. Allel sayısı doku veya hücrenin poliploid olmasıyla artabilmekte, üzümde olduğu gibi organın dokuları (örneğin üzüm diploid bir yapıya sahip olmakla birlikte yaprak tabakaları arasında mutasyondan kaynaklanan triploit allelleri oluşturabilmektedir) arasındaki farklı kromozom sayılarından da kaynaklanabilmektedir.

SSR lokusuna ait heterozigot veya homozigot allellerin tespiti allel büyüklüklerin aynı olup olmaması ile açıklanırken, genotipler arasındaki polimorfizm ise; her bir genotipe ait allellerin aynı anda iki bireyde bulunup bulunmamasına dayanmaktadır.

Çizelge 2.1 “AT” tekrarlarına ait 3 farklı allelin genom boyunca dağılımı ve görünümü

| <b>A) Genomda allel dağılımı</b>                 |   |                               |
|--|---|-------------------------------|
| ..*.....ATATATATATATA(AT)n.....*                 | Allel 1   | *... ATATATATATATATAT(AT)n... |
|  |   | Allel 2                       |
|  | **  | **                            |
| ..*..... ATATATATATATA(AT)n.....                 | Allel 3   | **                            |
|  |   | **                            |
| Primer ileri:*                                   |   |                               |
| Primer geri:**                                   |   |                               |
| <b>B) Genom yapısı, allel görünümü ve sayısı</b> |   |                               |
| <i>Genom yapısı</i>                              | <i>Allel görünümü</i>   | <i>Allel sayısı</i>           |
| Diploid homozigot                                | Allel 1 ve Allel 2 aynı uzunlukta PCR ürünü oluşturur (tek bant, tek pik).  | 1                             |
| Diploid heterozigot                              | Allel 1 ve Allel 2 farklı uzunlukta PCR ürünü oluşturur (çift bant, çift pik).  | 2                             |
| Triploid veya poliploidi                         | Allel 1, Allel 2 ve Allel 3 farklı uzunlukta PCR ürünü oluşturur (iki veya daha fazla bant, iki veya daha fazla pik). | 2’den fazla                   |

SSR markörlerin yukarıda açıklanan uygulamalarına ek olarak, en önemli aşamalarından biriside allelere ait verilerin yorumlanmasıdır. Bu amaçla izlenen genel yaklaşım: bant veya pik büyüklüklerinin belirlenmesi, referans çalışmalar ve çeşitler dikkate alınarak allel verilerinin oluşturulması, her bir lokusun ayırım gücünü ifade eden tanımlama olasılıklarının tespit edilmesi, populasyon çeşitliliği ve lokus etkileşmesini gösteren heterozigotluk oranlarının tespiti, allelerin sahte (null) allel bağlantılarının belirlenmesi ve ebeveyn ile genetik ilişkilerin oluşturulması şeklinde sıralanabilir.

### 2.1.2.3.1 SSR Tekniğinin bağcılıkta kullanım alanları

SSR markörler asma ıslahında;

- 1) *Vitis* cinsinde evrimsel gelişimin moleküler analizi,
- 2) *Vitis vinifera* L. ve diğer türlere ait gen kaynaklarının (Çeşit, ekotip, klon vb.) tanımlanması,
- 3) Mutasyon (Somaklonal varyasyon vb) tanıları,
- 4) Sinonim ve homonimlerin tespit edilmesi,
- 5) Melezleme ıslahında hibrit bitki tanısı,
- 6) Genetik haritalama ve markör yardımı ile seleksiyon
- 7) Genom projesi ve gen klonlama çalışmalarında kullanılmaktadır.

### 2.2 Asma Mikrosatellit Araştırmaları

Mikrosatellit (SSR) markörler kullanılarak üzüm çeşit ve klonlarında yapılan araştırmalar incelendiğinde: Asma mikrosatellit çalışmalarının ilki Thomas ve Scott (1993) tarafından 5 adet SSR lokusu (VVS1,VVS2,VVS3,VVS4,VVS5) kullanılarak, 26 *Vitis vinifera* L. çeşidi ve 6 *Vitis* türü ile *Vitis rotundifolia*'da Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO) Bitki Endüstrisi'nde (Avustralya), gerçekleştirilmiştir.

Thomas *et al.* (1994) tarafından yapılan çalışmada ise 5A Teleki ve 5 BB anaçlarının aynı DNA profiline sahip olduğu belirtilmiştir.

Vignani *et al.* (1996), *Vitis vinifera*'ya ait eski bir İtalyan şaraplık çeşit olan Sangiovese'nin 12 klonunda, 7 mikrosatellit lokusunda (VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD8, VVMS2, VVMS4 ve VVMS29) allelik polimorfizm analiz edilmiştir. 7 lokusta da 11 klon aynı bulunmuş fakat SG 8T klonu 4 lokusun herbirinde bir allel tarafından diğerlerinden ayrılmıştır.

SSR markörlerin bağcılık açısından önemli sonuçlarından birisi ise, Müller-Thurgau çeşidine ait ebeveyn kombinasyonunun Rheinriesling x Chasselas de Courtillier

olduğunun ortaya çıkarılmasıdır (Sefc *et al.* 1997). Ancak aynı markörler kullanılarak yürütülen çalışmaların sonucunda ise, bu çeşidin melezleme kombinasyonunun "Riesling x Madeleine Royal" olduğu öne sürülmüştür (Dettweiller *et al.* 2000). Yine Sefc *et al.* (1997) tarafından SSR markörler kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada Cabernet Sauvignon çeşidinin ebeveynlerinin Cabernet franc ve Sauvignon blanc çeşitleri olduğu tespit edilirken, Bowers and Meredith (1997) bu çeşide ait melezleme kombinasyonunun Cabernet franc x Sauvignon blanc olduğunu kesinleştirmişlerdir.

Avusturya gen kaynağı koleksiyonundan alınan toplam 66 üzüm çeşidi ve anaçta 10 mikrosatelit lokusu kullanılarak yürütülen bir çalışmada çeşitler arası genetik farklılık değerleri, 0.53-0.87 arasında; anaçlar arası genetik farklılık değerleri ise 0.29 ile 0.96 arasında bulunmuştur (Sefc *et al.* 1998a).

Sefc *et al.* (1998b), hasattan sonra üzüm ve üzüm ürünlerinde doğru çeşit kullanılıp kullanılmadığını belirlemek için 11 mikrosatelit markör kullanmıştır. Bu amaçla ticari öneme sahip 18 sofralık üzüm çeşidi Avusturya marketlerinden toplanmış 11'inin ise referansa uygun olduğu belirlenmiştir.

Lin and Walker (1998), 7 SSR lokusu kullanarak ve özellikle kambiyum dokularından DNA izole edilerek, 58 adet asma anacının dinlenme dönemlerinde genetik açıdan başarıyla tanımlanabileceğini belirtmişlerdir.

Sánchez *et al.* (1999), tarafından 43 sofralık üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşidinde SSR markörlerle yapılan denemenin sonucunda belirlenen allel sayısı, 2 (VVS3) ile 8 (VVS2 ve VVMD7) arasında, beklenen heterozigotluk değeri ise %38(VVS1) ile %80(VVMD5) arasında değiştiği tespit edilmiştir. 14 çeşit allel büyüklükleri bakımından aynı bulunmuş ayrıca SSR metodunun farklı laboratuvarlarda tekrar edilebilir olduğu ve kullanılan 8 lokusun allelik kombinasyonlarıyla 43 asma çeşidine ait kimlik tespitinin net olarak yapıldığı belirtilmiştir.

Maletic *et al.* (1999) tarafından 22 Hırvat üzüm çeşidinde yapılan genetik karakterizasyon ve komşu bölgelerdeki sinonim çeşitlerin belirlenmesi çalışmasında, 9

SSR lokusu incelenmiştir. İkisi de “Croatian girl” anlamına geldiğinden, Hrvatica olarak isimlendirilen Hırvat çeşidi ile aynı olduğu zannedilen İtalyan çeşit Croatia çoğu lokusta farklılık göstermiş ve bu yüzden iki farklı çeşidi oldukları tespit edilmiştir.

Arroyo-Garcia and Martinez-Zapater (2000) 9 yeni SSR lokusu (VMC6G8, VMC6D12, VMC6B11, VMC6F11, VMC6G10, VMC6A8, VMC6C7, VMC6C10 ve VMC6E10) tespit ederlerken, bu lokusları kullanarak analiz ettikleri üzüm çeşitlerinde allel büyüklüklerini 220-301 bp arasında allel sayılarını ise 8-10 arasında bulmuşlardır.

Faria *et al.* (2000), çeşit sıralarının ismine doğruluğunu mikrosatelit markörlerle araştırmışlardır. En önemli 5 porto şarabı çeşidi (Tinta Roriz, Tinto Cão, Touriga Francesa, Touriga Nacional ve Tinta Barroca) ile 4 mikrosatelit lokusunda çalışan araştırmacılar, mikrosatelit tekniği ile tek ve karışık sıranın tanımlanmasında başarılı sonuçlar almışlardır.

Merdinoglu *et al.* (2000) tarafından yapılan çalışmada, üç farklı moleküler markör tekniği (RAPD, AFLP, SSR) *Vitis vinifera*'nın 12 çeşidine ait 21 klonun testinde kullanılmıştır. Her çeşidin kendine özgü bantları ile ıayırımı sağlanmış ve bir dendogram oluşturulmuştur. Bu dendogramda 7 grup belirlenmiştir. Sonuç olarak, her bir klon için polimorfizm belirlenmiştir.

Perret *et al.* (2000) tarafından, Orta Avrupa'daki yabani (*Vitis vinifera* subsp. *silvestris*) asmalar ile kültür asmaları arasındaki genetik farklılığı belirlemek ve yine bunlar arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla toplam 44 genotipte yapılan çalışmada, 10 mikrosatelit lokus analizi neticesinde 49 allel tespit edilmiş ve bu allellerden 17'si sadece kültür, 7'si ise sadece yabani genotiplerde gözlenmiştir. Ayrıca oluşturulan dendogram değerlendirildiğinde yabani ve kültür asma genotiplerinin açık bir şekilde ayırt edildiği gözlenmiştir. Yabani asmalarda özel allelerin bulunması *Vitis vinifera* subsp. *silvestris*' in orijinalitesini destekler nitelikte olmuştur. Yabani ve kültür asmaları arasındaki genetik farklılıktan dolayı, denemedeki çeşitlerin, Riesling, Sylvaner ve

Grüner Veltliner gibi lokal çeşitler dahil, yabancı asma orijinli olmadığı sonucuna varılmıştır.

Regner *et al.* (2000a)' nin yaptığı çalışmada, Beyaz Riesling çeşidinin 10 farklı klonunda genetik polimorfizmi incelemek için RAPD, SSR ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) markörler kullanılmıştır. SSR ve ISSR markörlerin, farklı laboratuvarlarda yüksek stabilite gösterdikleri, klonal materyalin tanımlanmasında uygun metotlar olarak görülmüştür.

Regner *et al.* (2000b)' nin yaptığı çalışmada ise 300'den fazla asma çeşidinin ve *Vitis silvestris*'in 20 farklı genotipinin SSR analizi neticesinde, *V. silvestris* ve *V. vinifera* arasında çok açık bir farklılık olmadığını belirlemişlerdir.

Diğer bir çalışmada "Schiave" grubuna ait 10 üzüm çeşidinde homonim ve sinonimleri belirlemek için AFLP ve SSR kombine olarak kullanılmış ve AFLP ile SSR'in eşit şekilde etkili olduğu belirlenmiştir (Fossati *et al.* 2001).

Crespan and Milani (2001) tarafından 64 misket genotipinde yapılan çalışmada 2 izoenzim ve 25 mikrosatelit lokus incelenmiş, 44 sinonim ve Moscato bianco grubunda kırmızı ve pembe taneli üç mutant ayırt edilmiştir. Ayrıca, Moscato bianco ve İskenderiye Misketi'nin Misket ailesinin atası olabileceği belirtilmiştir.

Regner *et al.* (2001) tarafından çeşitli *Vitis* türlerinden alınan 1200 asma genotipinin belirlenmesi; SSR, ISSR, AFLP ve RAPD gibi çeşitli moleküler markör teknikleri kullanılarak yapılmıştır. En çok polimorfik 6 SSR lokusu ile tüm genotiplerin ayrılabilirdiğini belirten araştırmacılar, bazı üzüm çeşitlerinin orijinini belirlemelerinin yanında, ayrıca Veltliner ve Pinot klonlarının kimlik tespitini de yapmışlardır.

Riaz *et al.* (2001), 22 Pinot noir ve 22 Chardonnay klonunu tanımlamak amacı ile 92 mikrosatelit markör kullanmışlar; 92 markörden 8'i Pinot noir klonları ile Chardonnay'in 4 klonunda polimorfik bulunmuştur.

Schneider *et al.* (2001), tarafından yapılan araştırmada Fransa ve İtalya'nın kuzey batısından alınan ve sinonim olduğu düşünülen 31 çeşitte RAPD ve SSR analizleri yapılmış, neticede 16 tanesinin sinonim olduğu görülmüştür. Buna göre, Fransa'nın "Verddese" çeşidinin İtalya'nın "Bianver" ile, yine Fransa'nın "Chatus" çeşidinin İtalya'nın "Neiret" çeşidi ile ve Fransa'nın "Gouais blanc" çeşidinin İtalya'nın "Preveiral" ve "Liseiret" çeşitleri ile sinonim olduğu belirlenmiştir.

Diğer bir araştırmada ise, 10 primerden seçilen 3 kloroplast mikrosatelit lokusu kullanılarak, şaraplık ve sofralık 500'den fazla çeşit ve yabani asma populasyonları analiz edilmiş, sonuç olarak, şaraplık ve sofralık üzüm çeşitleri arasındaki farklılıkları gösteren haplotip frekansları karşılaştırıldıktan sonra üzümün kullanımına bağlı olarak farklı dağılım gösterdikleri belirtilmiştir (Arroyo Garcia *et al.* 2002).

Reale *et al.* (2002) ise; "Tintilia" ve "Bovale" çeşitleri arasındaki sinonim ilişkisini araştırmışlardır. 14 SSR lokusu kullanan araştırmacılar iki çeşit içerisinde benzerliklere rastlarken, çeşitler arası birbirinin sinonimi olan genotipler tespit edememişlerdir.

Ulanovsky *et al.* (2002), tarafından aralarında sinonim ve homonim olduğu düşünülen genotipleri de içeren 39 genotip üzerinde 66 RAPD ve 23 genotip üzerinde 4 mikrosatelit lokusu (VVMD7, VVS2, VVS5 ve VVS29) incelenmiştir. Neticede, Moristell ile Monastel çeşitlerinden biri olan; Moturana ile Ribadavia; Concejón ile Monastel'in biri ve çalışılan Muscat çeşitlerinden çoğu sinonim olarak belirlenmiştir.

Vignani *et al.* (2002) 8 mikrosatelit lokus kullanarak "Sangiovese" nin farklı klonlarını ayırt etmişlerdir. Ayrıca, araştırmacılar AFLP tekniği ile mikrosatelit sonuçlarının örtüşüğünü belirtmişlerdir.

Aradhya *et al.* (2003) tarafından 222 kültür (*Vitis vinifera*) ve 22 yabani (*V. vinifera ssp. sylvestris*) asma çeşidinin, 8 mikrosatelit lokusta genetik karakterizasyonu yapılmış, toplam 94 allel tespit edilmiştir. Çeşitler arasında çeşitli akrabalıklar ortaya çıkmış, sofralık ve şaraplık üzüm çeşitleri arasında, farklılık bulunmuştur.

Crespan *et al.* (2003), yerel İtalyan asma genotiplerini tanımlamışlar ve farklı coğrafik bölgelerde yetiştirilen çeşitlerin sinonimlerini ortaya çıkarmışlardır.

Fatahi *et al.* (2003) İran ve ABD'den alınan 62 asma (*Vitis spp.*) genotipini, floresan primer kullanarak yüksek düzeyde polimorfik 9 mikrosatelit lokusta, ayırt etmişlerdir. İran sofralık üzüm çeşitleri arasında sinonim ve homonimleri ortaya çıkartan araştırmacılar, 3 klonal grubu (Askari, Bidane ve Yaghoti) da açıkça göstermiştir.

Ibáñez *et al.* (2003) yaptığı çalışmada, daha önce morfolojik ve izoenzimatik olarak ayırt edilen 111 adet İspanyol *Vitis vinifera* L. çeşidi, 13 mikrosatelit lokus (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVS2, VVS5, VVS29, ssrVrZAG29, ssrVrZAG62, ssrVrZAG67, ssrVrZAG83, ssrVrZAG79 ve ssrVrZAG112) ile analiz etmiş ve 96 farklı genotip gözlemiştir. Her lokustaki toplam allel sayıları 4 (VVS29 ve ssrVrZAG29)-16 (VVS5) arasında değişmiştir. Allel sayısı ortalaması 9,85 bulunmuştur.

Gürcistan, Ermenistan ve Türkiye'den toplanan kültür ve yabani asmaları içeren toplam 268 çeşit, 6 mikrosatelit markör (VVMD5, VVMD7, VVMD27, ssrVrZAG62, ssrVrZAG79 ve VVS2) ile analiz edilmiştir. Sinonimler çoğunlukla aynı coğrafik alan içinde görülmüştür. Aynı populasyon içindeki yabani asmalarda (*Vitis vinifera ssp. silvestris*), Türkiye'de 1, Gürcistan'da 3 ve Ermenistan'da 9 durumda, sinonim bulunmuştur (Vouillamoz *et al.* 2003).

Lefort *et al.* (2003), 103 *V. Vinifera* ve 6 *Vitis* cinsinde 12 SSR lokusu kullanmışlar ve özellikle ssrVvUHC12, ssrVvUHC29 lokuslarının allel verme (30'ar allel) sayısı bakımından oldukça polimorfik olduğunu tespit etmişlerdir.



İtalya ve Fransa'da yetişen 30 üzüm çeşidinde, morfolojik özellikler, ampelografik tanımlamalar, agronomik gözlemler ve şarap yapılarına dayanan daha önceki çalışmalarda sinonim oldukları belirtilen 22 çeşidin, RAPD ve mikrosatelit markörlerle analizi yapılmış ve İtalyan ve Alp'lerin batısındaki Fransız çeşitlerinin sinonim oldukları ortaya çıkartılmıştır (Schneider *et al.* 2003).

This *et al.* (2004), farklı laboratuvarlarda elde edilmiş mikrosatelit profillerin karşılaştırılmasını yapmak amacıyla, 7 ülkeden 10 araştırmacı ile 46 üzüm çeşidini 6 lokusta (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 ve VrZAG79) incelemiştir. Yaygın olarak ve ayrıca bu çalışmada kullanılan 6 markörün, gelecekteki asma çeşit analizi için asgari standart markör seti olarak kabul edilmesi önerilmiş ve diğer çeşitlerin, burada sunulan kodlu referans allellerle tanımlanabileceği belirtilmiştir.

Costantini *et al.* (2005) tarafından yapılan çalışmada Güney İtalya - Campania bölgesinden alınan 69 yerel asma çeşidine tekabül eden toplam 114 genotip 8 mikrosatelit markör ile (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD31, VrZAG62, VrZAG79) genetik analizler gerçekleştirilmiştir. Campania üzüm çeşitlerinin çok çeşitli eko coğrafik bölgelerden gelmiş olabileceği ifade edilmiştir.

Goto-Yamamoto *et al.* (2006), 9 yeni mikrosatelit markör geliştirmiştir. Bu markörler ve 8 bilinen mikrosatelit markörle 2 adet *Vitis labrusca* çeşidi, *Vitis riparia* ve *Vitis rotundifolia* ile birlikte Japon ve Çin çeşitlerini (*Vitis vinifera* L.) de kapsayan 8 adet doğu çeşidini, 7 adet batı çeşidiyle karşılaştırmıştır. Dendogramda, *Vitis* türleriyle birlikte doğu ve batı çeşitleri birbirinden ayrılmıştır.

Kafkasya geçiş bölgesi ve Anadolu'dan alınan çeşitlerin mikrosatelit tanımlaması ve bu zengin ampelografik mirasın gen bankası oluşturma yolundaki ilk adımı olan bir çalışmada, 12 mikrosatelit markör (VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD28, VVMD31, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79, VVS2, VMC2C3, VMC2H4, VMC5A1) kullanılmıştır (Vouillamoz *et al.* 2006). Türk çeşitlerinden Dımışkı, Luvanek, Morek, Sungurlu ve Vilki çeşitlerinde 3 allelli durum gözlenmiştir.

Arroyo-Garcia *et al.* (2006), araştırmada toplam 1201 asma genotipi (513 *Vitis vinifera* ssp. *sativa*, 688 *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*) kullanılırken örnekler 130 lokasyondan toplanmıştır (Türkiye 25 yerli çeşit; Antalya, Anamur, Fethiye ve Gökçeada bölgesinden 132 *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*). 9 primerle gerçekleştirilen moleküler analizlerin yanısıra, araştırmanın değişik aşamalarında ileri düzeyde istatistikler kullanılmıştır. Kùltür ve yabani çeşitlerde kloroplast SSR (kSSR) ile yapılan bu çalışmada üzümün iki orjininden birinin Anadolu diğerinin ise İşpanya (şaraplık çeşitler) olduğu tespit edilmiştir.

Karaağaç (2006), tarafından Gaziantep iline ait toplam 48 üzüm çeşidinin (*Vitis Vinifera* L.) 17 mikrosatelit markör (VVS2-VVMD5-VVMD7-VVMD24-VVMD25-VVMD27-VVMD28-VVMD31-VVMD34-VrZAG62-VrZAG79-VVIB23-VMC3B10-VMC6F1-VMC2C3-VMC2H4-VMC5A1) kullanılarak genetik tanımlamaları yapılmış ve aralarındaki genetik benzerlik araştırılmıştır. Lokuslarda allel sayısı 13 ila 4 arasında (VVS2-VMC6F1) değişmiştir. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı ortalama sırasıyla 0.720 ve 0.689 olarak bulunmuştur. Dendogram için UPGMA yöntemi uygulanmış ve dendogramda 2 ana grup ortaya çıkmıştır. Genotiplerin büyük kısmını içeren birinci grup içinde çok sayıda alt grup gözlenmiştir. Genotipler arasında Gaziantep ilinden alınan Dusuzu ile Dımışkı çeşidi sinonim bulunmuştur.

şelli vd. (2007) tarafından, genetik karakterizasyona dayalı bir çalışma yapılmıştır. Dimrit ve Gemre üzüm çeşitleri ÷lkede yaygın yetiştiriciliği yapılan ve genotip çeşitliliğine sahip önemli gen kaynakları içerisinde yer almaktadır. Bu alışmada, Dimrit ve Gemre çeşit grubuna ait 31 genotip ve 2 referans çeşidinden 76 allel elde edilmiştir. Her lokustaki allel sayısı ise; 7,6 allel ortalaması ile 5'den 9'a kadar değişiklik göstermiştir. Bu çeşitlerin 8 SSR (VVS2-VVMD5-VVMD7-VVMD24-VVMD27-VVMD28-VrZAG62-VrZAG79) lokusu ile genetik analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada genotiplere özėü allel büyüklükleri, gruplar içi ve gruplar arası genetik benzerlikler, sinonim ve homonim çeşitliliği belirlenerek, soy analizleri araştırılmış ve genetik benzerlik-eko coğrafik dağılımları ilişkilendirilmiştir. Araştırmada en fazla allel veren VVS2 lokusu olmuştur. VVMD24 ise Vouillamoz *et al.*

(2006) benzer şekilde düşük allel vermiştir. Sonuç olarak; benzerlik oranları ve dendogram dağılımları gözönüne alındığında, Dimrit ve Gemre genotiplerinin genel olarak farklı birer grupsal dağılım gösterdiği, çeşitlerin ekocoğrafik dağılım ve genetik benzerliklerinin ise tamamen birbirinden bağımsız olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, sinonim azlığı ve homonim çokluğu bu iki grubun Türkiye’de zengin bir populasyon gösterdiğini kanıtlamaktadır.

Karataş vd. (2007) araştırmada 6 polimorfik mikrosatellit lokusu (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62, VrZAG79) kullanılarak farklı bölgelerden alınan homonim çeşitler arasındaki ilişkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Sonuç olarak, birçok homonim çeşit arasında yüksek oranda genetik çeşitlilik tespit edilmiştir. Dendogramda, Sergi karası (Şanlıurfa ve Gaziantep), Yediveren (Şanlıurfa, Gaziantep ve Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü ‘Milli Koleksiyon Bağı’) ve Serpenekıran (Şanlıurfa ve Gaziantep) çeşitleri birbirlerine çok yakın bir dağılım göstermişlerdir.

Dilli (2008), bu araştırmada, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından klon seleksiyonu sonucu seçilmiş Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidine ait 5 tip, Pembe Gemre, Osmanca, İpek üzüm çeşitlerine ait 9 klon ve Ege Bölgesi için önemli olan 15 yerel çeşit ile 2 referans çeşit olmak üzere toplam 31 üzüm çeşidinin (*Vitis vinifera* L.) SSR’ya dayalı genetik analizleri 16 mikrosatelit markör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak araştırmacı, klonal düzeyde polimorfiklik yakaladıklarını bildirmiştir.

### **3. 3. MATERYAL VE YÖNTEM**

Bu çalışma, 2006-2008 yılları arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarı ve Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

#### **3.1 Materyal**

Araştırmada, Ankara ve Çankırı illeri merkez ve ilçelerinden, Tekirdağ'daki Milli Koleksiyon Bağı'na aktarılan 49 çeşit ve 2 adet referans çeşit olmak üzere toplam 51 üzüm çeşidi kullanılmıştır. Çalışılan üzüm çeşitlerinin isimleri ve üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler Çizelge 3.1'de verilmiştir. Araştırmada kullanılan 49 üzüm çeşidi ile referans çeşitlere ait bitkisel materyaller 'Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü' bünyesindeki 'Milli Koleksiyon Bağı'ndan temin edilmiştir.

Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan Ankara ve Çankırı illeri üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler

| No | DNA No | Bağ Sıra No | İl Kodu | Çeşit Adı         | Sinonimi           | Salkım Şekli | Tane Şekli     | Tane Rengi   | Tadı      | Kabuk | Tane İçi | Çek. Adedi | Mahsul Olgunluğu |
|----|--------|-------------|---------|-------------------|--------------------|--------------|----------------|--------------|-----------|-------|----------|------------|------------------|
| 1  | 420    | 36          | 6       | Balballı          | Balbal Kendi Biyen | Konik        | Yuvarlak       | Beyaz        | Tatlı     | Orta  | Gevrek   | 2          | -                |
| 2  | 702    | 551         | 6       | Erolan            | -                  | -            | -              | Beyaz        | -         | -     | -        | -          | -                |
| 3  | 606    | 490         | 6       | Gelin Parmağı     | Gelin Üzümü        | Silindirik   | Elips          | Açık Pembe   | Tatlı     | İnce  | Gevrek   | 3-4        | Eylül Sonu       |
| 4  | 590    | 435         | 6       | Kara Gevrek Üzümü | Ayaş Üzümü         | -            | Böbrek         | Siyah        | Tatlı     | Orta  | Etili    | 1          | Ağustos Ortası   |
| 5  | 596    | 437         | 6       | Söbü Kara         | -                  | Silindirik   | Söbü Ucu Sivri | Siyah        | Tatlı     | Orta  | Gevrek   | 2          | Ekim Başı        |
| 6  | 386    | 398         | 6       | Sungurlu          | Hasan Dede         | Konik        | Yuvarlak       | Beyaz Kınalı | Çok Tatlı | Orta  | Sulu     | 2          | Eylül Sonu       |
| 7  | 633    | 443         | 6       | Yediveren         | -                  | -            | Yumurta        | Beyaz        | Tatlı     | İnce  | Sulu     | 2          | Ağustos Ortası   |
| 8  | 409    | 399         | 6       | Zirge             | -                  | Orta İri     | Elips          | Beyaz        | Tatlı     | Orta  | Etili    | 1          | Temmuz Sonu      |
| 9  | 725    | 826         | 6       | Akbüzgülü         | Akpüskül           | Konik        | Uzun Elips     | Beyaz        | Tatlı     | Orta  | Gevrek   | 2-4        | Eylül Sonu       |
| 10 | 634    | 494         | 6       | Alo               | Aloğlu             | İri Konik    | Uzun Elips     | Pembe Beyaz  | Tatlı     | Kalın | Gevrek   | 1-2        | Eylül Sonu       |
| 11 | 883    | 1105        | 6       | Amasya            | -                  | -            | -              | -            | -         | -     | -        | -          | -                |
| 12 | 895    | 1102        | 6       | Bulut (Buludu)    | -                  | -            | -              | -            | -         | -     | -        | -          | -                |
| 13 | 410    | 400         | 6       | Cırt Üzümü        | -                  | -            | Yuvarlak       | Beyaz Kınalı | Çok Tatlı | İnce  | Sulu     | 1-2        | Eylül Ortası     |
| 14 | 891    | 1126        | 6       | Değirmenci        | -                  | -            | -              | -            | -         | -     | -        | -          | -                |
| 15 | 890    | 1104        | 6       | Engürü Erolanı    | -                  | -            | -              | -            | -         | -     | -        | -          | -                |
| 16 | 882    | 1127        | 6       | Erkek Üzüm        | -                  | -            | -              | -            | -         | -     | -        | -          | -                |
| 17 | 48     | 612         | 6       | Fesleken          | -                  | -            | -              | -            | -         | -     | -        | -          | -                |
| 18 | 892    | 1148        | 6       | Gelin Üzümü       | -                  | -            | -              | -            | -         | -     | -        | -          | -                |

-: Bilgi bulunmamaktadır.

Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan Ankara ve Çankırı illeri üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler (devam)

| No | DNA No | Bağ Sıra No | İl Kodu | Çeşit Adı          | Sinonimi      | Salkım Şekli | Tane Şekli | Tane Rengi            | Tadı      | Kabuk | Tane İçi  | Çek. Adedi | Mahsul Olgunluğu       |
|----|--------|-------------|---------|--------------------|---------------|--------------|------------|-----------------------|-----------|-------|-----------|------------|------------------------|
| 19 | 887    | 1037        | 6       | Güdül              | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 20 | 881    | 1149        | 6       | Gül Üzümü          | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 21 | 894    | 1125        | 6       | İnek Memesi        | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 22 | 40     | 611         | 6       | Kadın Parmağı      | Tilki Kuyruğu | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 23 | 764    | 993         | 6       | Kalecik Karası     | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 24 | 717    | 501         | 6       | Su Üzümü           | -             | Konik        | Elips      | Siyah                 | Orta      | İnce  | Sulu      | 2          | Eylül Sonu             |
| 25 | 889    | 1082        | 6       | Tombak Ayaş        | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 26 | 971    | 1023        | 6       | -                  | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 27 | 897    | 1059        | 6       | -                  | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 28 | 385    | 397         | 6       | İsimsiz            | -             | Silindirik   | Yuvarlak   | Beyaz Kınalı          | Tatlı     | Orta  | Sulu      | 2          | Eylül Sonu             |
| 29 | 1034   | 190         | 6       | Amasya             | -             | Silindirik   | Söbü       | Beyaz                 | Orta      | Kalın | Etli      | 2          | Eylül Ortası           |
| 30 | 1051   | 191         | 6       | Buludu             | -             | Silindirik   | Elips      | Eflatun               | Tatlı     | Orta  | Gevrek    | 1-2        | Eylül Ortası           |
| 31 | 1041   | 154         | 6       | Değirmenci         | Bozbağ        | Konik        | Elips      | Siyah                 | Tatlı     | Orta  | Gevrek    | 1-2        | Eylül Sonu             |
| 32 | 1016   | 164         | 6       | Deve Gözü          | -             | -            | Söbü       | Beyaz                 | Tatlı     | Kalın | Etli      | 3          | Ağustos Sonu           |
| 33 | 1052   | 320         | 6       | Erkek Üzüm         | -             | -            | Yuvarlak   | Siyah                 | -         | -     | -         | -          | Eylül Ortası           |
| 34 | 1047   | 192         | 6       | Gül Üzümü          | -             | Konik        | Elips      | Pembe – Pembe (Kızıl) | Çok Tatlı | Orta  | Gevrek    | 1-2        | Temmuz Sonu.-Ekim Başı |
| 35 | 1055   | 294         | 6       | Tombak Ayaş        | Büzgülü       | Silindirik   | Yuvarlak   | Siyah                 | Tatlı     | Orta  | Etli Sulu | 1-3        | Eylül Ortası           |
| 36 | 1014   | 155         | 6       | -                  | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 37 | 362A   | 396         | 6       | İnce Kabuklu Beyaz | -             | Silindirik   | Uzun Elips | Beyaz Saydamsı        | Orta      | Orta  | Sulu      | 1          | Eylül Sonu             |
| 38 | 176    | 626         | 6       | Kalecik Karası     | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |
| 39 | 888    | 1060        | 6       | Deve Gözü          | -             | -            | -          | -                     | -         | -     | -         | -          | -                      |

-: Bilgi bulunmamaktadır.

Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan Ankara ve Çankırı illeri üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler (devam)

| No | DNA No | Bağ Sıra No | İl Kodu | Çeşit Adı                 | Sinonimi     | Salkım Şekli            | Tane Şekli      | Tane Rengi     | Tadı          | Kabuk | Tane İçi  | Çek. Adedi | Mahsul Olgunluğu |
|----|--------|-------------|---------|---------------------------|--------------|-------------------------|-----------------|----------------|---------------|-------|-----------|------------|------------------|
| 40 | 283    | 390         | 6       | Çakarak                   | Pekmez Üzümü | -                       | Yuvarlak        | Beyaz (Kımalı) | Tatlı         | İnce  | Sulu      | 2          | Eylül Sonu       |
| 41 | 846    | 961         | 18      | Ayaş Üzümü                | -            | Silindirik              | Elips           | Siyah          | Tatlı         | Orta  | Etli Sulu | 2-4        | Eylül Sonu       |
| 42 | 965    | 1135        | 18      | Beyaz Memeli              | -            | -                       | -               | -              | -             | -     | -         | -          | -                |
| 43 | 837    | 958         | 18      | Çavuş                     | -            | -                       | -               | -              | -             | -     | -         | -          | -                |
| 44 | 843    | 960         | 18      | Keskin Üzümü              | -            | Konik                   | Yuvarlak        | Beyaz          | Tatlı         | İnce  | Etli Sulu | 2-3        | Eylül Ortası     |
| 45 | 840    | 959         | 18      | Merzi                     | Yerli Üzüm   | Dallı Konik             | Elips           | Beyaz          | Tatlı         | Kalın | Etli Sulu | 2          | Eylül Sonu       |
| 46 | 847    | 962         | 18      | Merzi Zirgesi             | -            | Konik                   | Uzun Elipsoid   | Beyaz          | Tatlı         | İnce  | Etli Sulu | 1          | Eylül Ortası     |
| 47 | 845    | 941         | 18      | Parmak                    | -            | Konik                   | Uzun Silindirik | Beyaz          | Tatlı         | Orta  | Etli Sulu | 2-3        | Eylül Sonu       |
| 48 | 841    | 979         | 18      | Siyah Parmak              | -            | Konik                   | Uzun Silindirik | Siyah          | Tatlı         | Kalın | Etli      | 1-2        | Eylül Ortası     |
| 49 | 844    | 980         | 18      | -                         | -            | -                       | -               | -              | -             | -     | -         | -          | -                |
| 50 | C.S    | -           | -       | <b>Cabernet Sauvignon</b> | -            | Uzun Konik - Silindirik | Yuvarlak        | Mavi gri siyah | Otsu tad      | Kalın | -         | 1-3        | Eylül sonu       |
| 51 | M      | -           | -       | <b>Merlot</b>             | -            | Piramidal-Silindirik    | Yuvarlak        | Mavi-Siyah     | Hafif Aromalı | -     | -         | 2-3        | Ağustos ortası   |

-: Bilgi bulunmamaktadır.

## 3.2 Yöntem

Mikrosatellitler aracılığıyla genotipin belirlenmesi temelde dört basamaktan oluşmaktadır. Sağlıklı ve güvenilir veri elde edilebilmesi bakımından her basamak üzerinde titizlikle durulması gerekmektedir. Bu basamaklar şu şekilde sıralanabilir;

1. DNA izolasyonu
2. SSR allel bölgelerinin PCR aracılığı ile çoğaltılması
3. PCR ürünlerinin kapiller elektroforezi ve allel verilerinin görüntülenmesi
4. Genetik analizler

### 3.2.1 DNA izolasyonu

DNA izolasyonu sürgün ucu ve genç yapraklardan Lefort *et al.* (1998) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Her bir örneğe ait 3 DNA ölçümü gerçekleştirilirken, DNA miktar ve saflıklarını belirlemek amacı ile %1'lik agaroz jel ve Nanodrop ND-1000 spektrofotometre kullanılmıştır. Araştırmamızda uygulanan DNA izolasyon yönteminin aşamaları aşağıda belirtilmiştir. Buna göre;

- 1 Genç yaprak veya sürgün ucu havana konulup sıvı azotla havanda iyice ezildi,
- 2 100mg örnek 2 µl ependorf tüpe aktarıldı,
- 3 Yaprak örnekleri üzerine, 1 ml DNA ekstraksiyon solüsyonu (örnek başına 10 µl 2-Merkaptoethanol içerir) eklendi,
- 4 Tüpler 65 °C'de 15 dakika bekletildi,
- 5 Üzerine 0,5 ml kloroform/isoamil alkol (24:1) karışımı eklenerek, 30 dakika buz üzerinde bekletildi,
- 6 Örnekler 14.000 rpm hızında 5 dakika santrifüj edildi,
- 7 Üst sıvılar yeni bir ependorf tüpe aktarıldı,
- 8 Üzerine 0,8 ml soğuk isopropanol eklendi,
- 9 Gece boyu -20°C' de bekletildikten sonra, 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi,



- 10 Üst sıvı uzaklaştırılarak, alt katı (pellete) % 70'lik ethanol ile yıkandı,
- 11 DNA, 50-100 µl H<sub>2</sub>O (nuclease free)'da çözülerek üzerine, her 100 µl solüsyon için 1 µl RNase-A eklenerek, 37 °C'de 15 dakika bekletildi.

DNA ekstraksiyon solüsyonunun içeriği(50ml için): 2 ml TRIS (50 mM, pH 8,0), 4 ml EDTA (50 mM, pH 8,0), 10 ml LiCl (4M), 1 g CTAP (% 1), 2 g PVP (% 2), 0.5 ml TWEEN 20 (%0,5), Kloroform/isoamil alkol (24:1) (hacim:hacim), RNase-A (Applichem); 100mg/ml

### 3.2.2 SSR allel bölgelerinin PCR aracılığı ile çoğaltılması

DNA çoğaltımı için Biometra ve MJ Research Thermocyclers cihazları kullanılmış ve PCR optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. PCR'da kullanılan reaktifler ; 15–200 ng DNA , 5 pmol ileri (forward) primer, 5 pmol fluoresan işaretlemiş ters (revers) primer, 0.5 mM toplam dNTP, 0.5 unit Go Taq DNA Polymerase (Promega) (1,5 Mm MgCl<sub>2</sub> içermekte), 1 µl buffer 10x buffer olacak şekilde toplam 10µl PCR karışımı hazırlanmıştır.

#### DNA çoğaltımı için kullanılan PCR programı:

1. 94 °C' de 3 dk. (1döngü)
2. 94 °C' de 1 dk. (35 döngü)
3. 48 - 66 °C'de 1 dk. (Primerin bağlanma derecesine bağlı olarak değişmektedir)
4. 72 °C' de 2 dk.
5. 72 °C' de 10 dk. (1döngü)
6. 10 °C'de sabit tutulmuştur

2.- 4. basamaklar toplamda 35 döngü olacak şekilde uygulanmıştır.

### 3.2.2.1 Çalışmada kullanılan SSR primerleri

Çalışmada, GENRES 081 Avrupa Birliği Araştırma Projesince, Avrupa'daki asma çeşit koleksiyonları için kullanılan ve artık tüm dünya tarafından minimum standart set olarak kabul gören VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 ve VrZAG79 mikrosatelit lokusları da dahil olmak üzere toplam 15 SSR primeri kullanılmıştır. Her lokusa ait ileri (forward) primer D4 (mavi), D3 (yeşil) ve D2 (siyah) renklerde fluoressan işaretlenmiş olup primerlere ait baz dizileri, kullanılan fluoressan boya ve Tm(°C) değerleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Kullanılan primerlere ait bilgiler

|   | Lokus adı  | Primer dizileri (5'...3')   | İşaretleme boyası | Tm (°C) |
|---|------------|-----------------------------|-------------------|---------|
| 1 | VrZAG79F** | agattgtggaggagggaacaaaccg   | D3(Yeşil)         | 66      |
|   | VrZAG79-R  | tgccccattttcaaacctccctcc    |                   |         |
| 2 | VVIH54 F** | ccgcacttggttgaatttcag       | D2(Siyah)         | 55      |
|   | VVIH54 R   | caaaccgttttacaccagcag       |                   |         |
| 3 | VVMD24-F** | gtggatgatggagtagtcacgc      | D4(Mavi)          | 55      |
|   | VVMD24-R   | gatttaggtcatgttggaagg       |                   |         |
| 4 | VVMD7-F**  | agagttgaggagaacaggat        | D3(Yeşil)         | 55      |
|   | VVMD7-R    | cgaaccttcacacgcttgat        |                   |         |
| 5 | VVMD28-F** | aacaattcaatgaaaagagagagaga  | D3(Yeşil)         | 55      |
|   | VVMD28-R   | tcatcaatttcgtatctctatttgctg |                   |         |
| 6 | VVMD27-F** | gtaccagatctgaatacatccgtaagt | D2(Siyah)         | 55      |
|   | VVMD27-R   | acgggtatagagcaaacggtgt      |                   |         |
| 7 | VMC2H4 F** | accaggtgtgctataagaatc       | D3(Yeşil)         | 50      |
|   | VMC2H4 R   | tctctggaacatccaatcaac       |                   |         |
| 8 | VVIB01 F** | tgacctcgaccttaaatctt        | D4(Mavi)          | 55      |
|   | VVIB01 R   | tggtgagtcaatgatagtaga       |                   |         |

Çizelge 3.2 Kullanılan primerlere ait bilgiler (devam)

|    | Lokus adı   | Primer dizileri (5'...3') | İşaretleme boyası | Tm (°C) |
|----|-------------|---------------------------|-------------------|---------|
| 9  | ZAG 83 F**  | ggcggaggcggtagatgagaggcg  | D4(Mavi)          | 66      |
|    | ZAG 83 R    | acgcaacggctagtaatacaacgg  |                   |         |
| 10 | VVS2-F**    | cagcccgtaaagtatccatc      | D4(Mavi)          | 55      |
|    | VVS2-R      | aaattcaaaattctaattcaactgg |                   |         |
| 11 | VVMD5-F**   | ctagagctacgccaatcaa       | D2(Siyah)         | 55      |
|    | VVMD5-R     | tataccaaaaatcatattcctaaa  |                   |         |
| 12 | VrZAG62-F** | ggtgaaatgggcaccgaacacacgc | D4(Mavi)          | 55      |
|    | VrZAG62-R   | ccatgtctctcctcagcttctcage |                   |         |
| 13 | VVMD31-F**  | cagtggttttcttaagttcaagg   | D2(Siyah)         | 55      |
|    | VVMD31-R    | ctctgtgaaagaggaagagacgc   |                   |         |
| 14 | VMC2C3 F**  | tgcaatcccattattatctctt    | D2(Siyah)         | 48      |
|    | VMC2C3 R    | aatatttgtagaatggtgctttt   |                   |         |
| 15 | VRG1 F**    | aaggttctcctgccggcgataacc  | D2(Siyah)         | 55      |
|    | VRG1 R      | ccattggtaaataaagtccc      |                   |         |

\*\* : Florasan işaretli, D: Dye

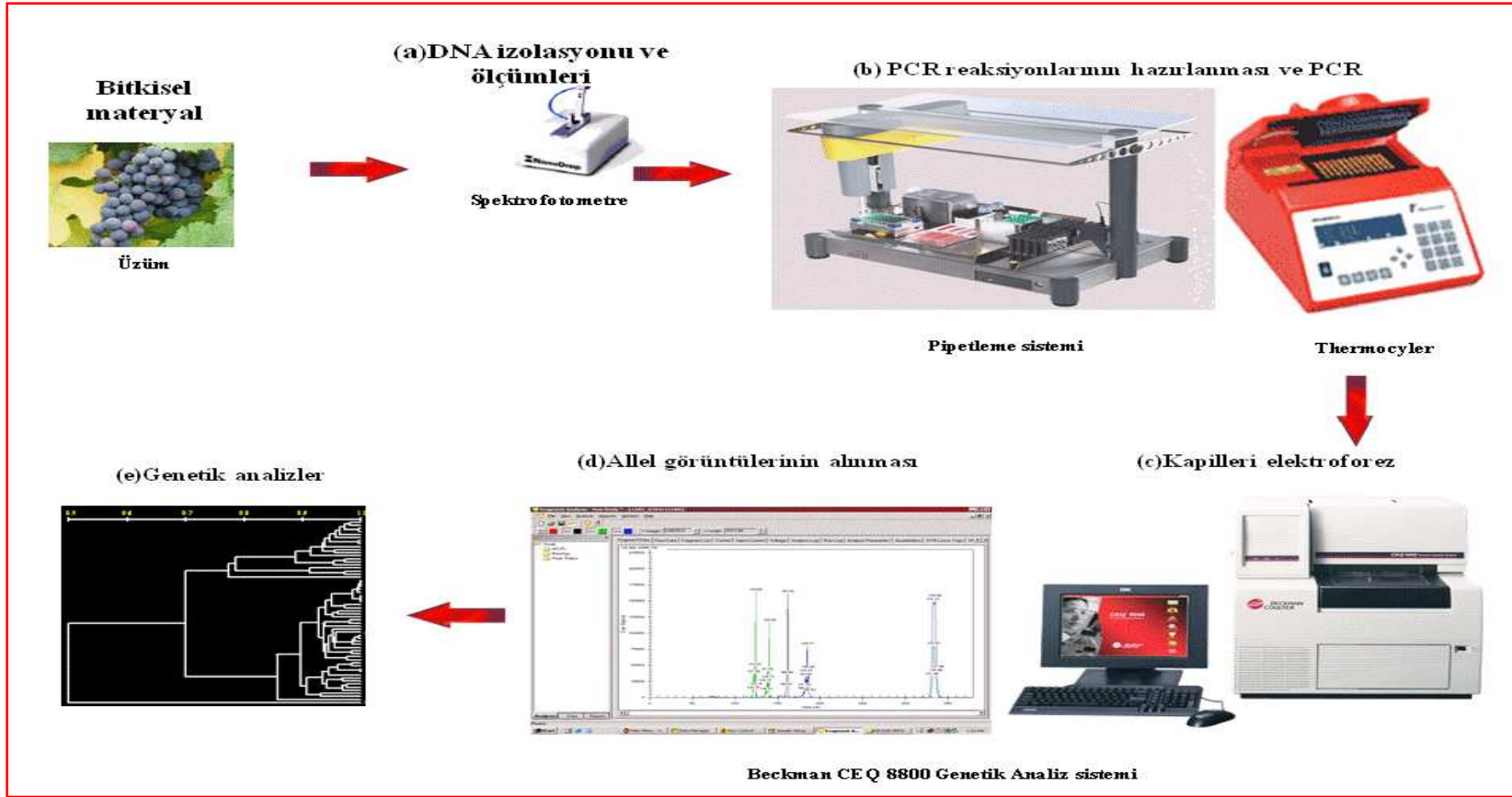
### 3.2.3 PCR ürünlerinin kapiller elektroforezi ve allel verilerinin görüntülenmesi

SSR allellerin görüntülenmesi ve ayırımında kullanılan kapiller elektroforez yöntemi; jellere göre daha iyi ayırım gücü, zaman ve iş gücünden tasarruf, az miktar PCR ürünü kullanma, çok sayıda örnekle çalışılabilmeye olanak sağlaması, DNA polimeraz'dan kaynaklanan ve starter pikler (bant) olarak adlandırılan PCR amplifikasyonu sırasında yanlış bağlanımların kolaylıkla belirlenmesi, otomatik olarak allel büyüklüklerinin tespit edilmesi ve yanlış okumaların ortadan kaldırılması gibi önemli avantajlara sahiptir. Söz konusu avantajlara sahip sistemlerin kullanıldığı metot kısmında kapilleri elektroforez amacıyla Beckman CEQ™ 8800 ve CEQ™ 8000 Genetik Analiz Sistemi kullanılmıştır.

CEQ™ 8800 cihazında aynı anda 2 adet 96'lık plate ile çalışılma olanağı mevcutken, CEQ™ 8000 cihazında 1 adet 96'lık plate ile çalışılabilmektedir. Lokuslara ait PCR ürünleri % 2'lik agaroz jelde koşturulduktan sonra, işaretlemede kullanılan fluoresan (Proligo,wellred işaretli primerler, Fransa) boyalara göre (örneğin;D4,D3,D2) örnekler değişik oranlarda (1:5, 1:10 gibi) 20 µl SLS (Sample Loading Solution) ile seyreltilmiştir. Örnek ve SLS karışımları üzerine 0,4 µl size standart-400 eklendikten sonra karışım vortekslenerek karıştırılmış sonra santrifüj edilerek üzerine bir damla mineral yağ damlatılmıştır. Daha sonra plate CEQ™ 8800 veya CEQ™ 8000 Genetik Analiz Sistemi'nde elektroforez edilmiştir.

Araştırmada *Cabernet Sauvignon* ve *Merlot* çeşitleri referans çeşit olarak kullanılırken, verilerin doğruluğundan emin olmak için reaksiyonlar en az iki kez tekrar edilmiştir. Elektroforez sonunda her bir lokusa ait pikler; tipleri ve renkleri göz önüne alınarak heterozigot ve homozigot olarak görüntülenmiştir.

SSR kapilleri elektroforez yönteminde uygulama aşamalarının genel görünümü, Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 SSR kapilleri elektroforez yönteminde uygulama aşamalarının genel görünümü,

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

### 3.2.4 Genetik analizler

Araştırmada, genetik parametreler olarak; 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) değerleri belirlenmiştir.

Beklenen heterozigotluk  $1-\sum p_i^2$  şeklinde hesaplanarak genetik farklılık ölçümü yapılmıştır. Buradaki  $p_i$  değeri, çalışılan örnekteki “i” ninci allelin frekansını göstermektedir (Nei 1987). Gözlenen heterozigotluk ise, heterozigot genotiplerle analiz edilen toplam genotip arasındaki orandır. Null allel varlığının tahmini,  $(H_e- H_o)/(1+ H_e)$  şeklinde hesaplanmıştır (Brookfield 1996). Tespit olasılığı (PI) (Paetkau *et al.* 1995) iki rastgele seçilmiş bireylerin aynı SSR profiline sahip olma olasılığını ifade etmektedir.

Bu değer,  $\sum p_i^4 + \sum \sum (2p_i p_j)^2$  şeklinde hesaplanır. Burada  $p_i$  ve  $p_j$ , sırasıyla “i” ve “j” allellerinin frekansını göstermektedir. Daha sonra benzerlik indeksleri belirlenerek, genetik ilişki dendogramı oluşturulmuştur. İncelenen parametrelere göre kullanılan programlar ise şu şekilde sıralanabilir:

- **Genetik parametreler:** Her lokusa ait allel sayısı, allel frekansı, beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranı, sessiz (null) allel frekansı ve tespit olasılığı (PI, Probability of Identity) IDENTITY 1.0 programı ile (Wagner and Sefc 1999),
- **Benzerlik oranı indeksi:** Microsat programı ile (Minch *et al.* 1995),
- **Dendogram:** UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means) yöntemi kullanılarak NTSYS (versiyon 2.02g, Exeter Software, Setauket, NY) programı ile,

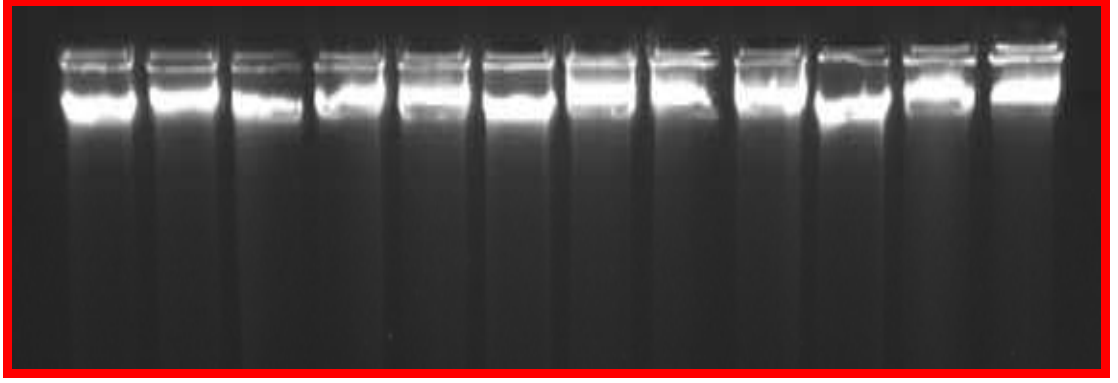
belirlenmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.

##### 5. 4.1 DNA İzolasyonu

DNA'lar, öncelikli olarak %1'lik agaroz jelde kontrol edilmiş (Şekil 4.1) daha sonra saflık ve miktar değerlerinin belirlenmesi için NanoDrop ND-1000 spektrofotometrede ölçülmüştür (Çizelge 4.1)



Şekil 4.1 İzolasyon sonucu elde edilen DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforez görünümü

Çizelge 4.1 Çeşitlere ait DNA'ların miktar ve saflık değerleri

| No        | Genotip No | Miktar<br>ng/µl | A260   | A280   | Saflık<br>260/280 |
|-----------|------------|-----------------|--------|--------|-------------------|
| <b>1</b>  | 420        | 873.85          | 17.477 | 9.002  | 1.94              |
|           | 420        | 883.12          | 17.662 | 9.138  | 1.93              |
|           | 420        | 890.88          | 17.818 | 9.234  | 1.93              |
| <b>2</b>  | 702        | 2450.48         | 49.01  | 25.85  | 1.90              |
|           | 702        | 2483.01         | 49.66  | 26.196 | 1.90              |
|           | 702        | 2453.59         | 49.072 | 25.9   | 1.89              |
| <b>3</b>  | 606        | 2875.98         | 57.52  | 29.478 | 1.95              |
|           | 606        | 3061.62         | 61.232 | 31.612 | 1.94              |
|           | 606        | 3139.47         | 62.789 | 32.396 | 1.94              |
| <b>4</b>  | 590        | 1582.13         | 31.643 | 16.756 | 1.89              |
|           | 590        | 1571.72         | 31.434 | 16.648 | 1.89              |
|           | 590        | 1581.67         | 31.633 | 16.753 | 1.89              |
| <b>5</b>  | 596        | 1131.38         | 22.628 | 11.961 | 1.89              |
|           | 596        | 1143.55         | 22.871 | 12.186 | 1.88              |
|           | 596        | 1117.02         | 22.34  | 11.846 | 1.89              |
| <b>6</b>  | 386        | 2617.64         | 52.353 | 27.529 | 1.90              |
|           | 386        | 2644.57         | 52.891 | 27.778 | 1.90              |
|           | 386        | 2650.25         | 53.005 | 27.893 | 1.90              |
| <b>7</b>  | 633        | 1636.96         | 32.739 | 16.167 | 2.03              |
|           | 633        | 1629.39         | 32.588 | 16.03  | 2.03              |
|           | 633        | 1623.66         | 32.473 | 16     | 2.03              |
| <b>8</b>  | 409        | 3075.58         | 61.512 | 32.133 | 1.91              |
|           | 409        | 3055.62         | 61.112 | 31.993 | 1.91              |
|           | 409        | 3063.99         | 61.28  | 32.128 | 1.91              |
| <b>9</b>  | 725        | 1405.41         | 28.108 | 14.305 | 1.96              |
|           | 725        | 1458.29         | 29.166 | 14.905 | 1.96              |
|           | 725        | 1444.68         | 28.894 | 14.746 | 1.96              |
| <b>10</b> | 634        | 1142.39         | 22.848 | 11.216 | 2.04              |
|           | 634        | 1286.35         | 25.727 | 12.967 | 1.98              |
|           | 634        | 1131.98         | 22.64  | 11.054 | 2.05              |



Çizelge 4.1 Çeşitlere ait DNA'ların miktar ve saflık değerleri (devam)

| <b>No</b> | <b>Genotip No</b> | <b>Miktar<br/>ng/µl</b> | <b>A260</b> | <b>A280</b> | <b>Saflık<br/>260/280</b> |
|-----------|-------------------|-------------------------|-------------|-------------|---------------------------|
| <b>11</b> | 883               | 1602.67                 | 32.053      | 16.481      | 1.94                      |
|           | 883               | 1584.72                 | 31.694      | 16.204      | 1.96                      |
|           | 883               | 1606.99                 | 32.14       | 16.466      | 1.95                      |
| <b>12</b> | 895               | 2783.11                 | 55.662      | 28.442      | 1.96                      |
|           | 895               | 2937.51                 | 58.75       | 30.029      | 1.96                      |
|           | 895               | 2785.86                 | 55.717      | 28.41       | 1.96                      |
| <b>13</b> | 410               | 3412.67                 | 68.253      | 36.54       | 1.87                      |
|           | 410               | 3483.95                 | 69.679      | 37.396      | 1.86                      |
|           | 410               | 3468.99                 | 69.38       | 37.309      | 1.86                      |
| <b>14</b> | 891               | 1952.42                 | 39.048      | 19.61       | 1.99                      |
|           | 891               | 1960.32                 | 39.206      | 19.684      | 1.99                      |
|           | 891               | 1942.43                 | 38.849      | 19.525      | 1.99                      |
| <b>15</b> | 890               | 3717.95                 | 74.359      | 39.252      | 1.89                      |
|           | 890               | 3738.88                 | 74.778      | 39.417      | 1.90                      |
|           | 890               | 3696.87                 | 73.937      | 39.018      | 1.89                      |
| <b>16</b> | 882               | 3554.05                 | 71.081      | 36.286      | 1.96                      |
|           | 882               | 3489.21                 | 69.784      | 35.495      | 1.97                      |
|           | 882               | 3463.02                 | 69.26       | 35.299      | 1.96                      |
| <b>17</b> | 48                | 1972.49                 | 39.45       | 18.916      | 2.09                      |
|           | 48                | 2239.86                 | 44.797      | 22.308      | 2.01                      |
|           | 48                | 1872.3                  | 37.446      | 18.294      | 2.05                      |
| <b>18</b> | 892               | 1181.61                 | 23.632      | 11.962      | 1.98                      |
|           | 892               | 1316.55                 | 26.331      | 13.509      | 1.95                      |
|           | 892               | 1306.63                 | 26.133      | 13.381      | 1.95                      |
| <b>19</b> | 887               | 2522.53                 | 50.451      | 25.926      | 1.95                      |
|           | 887               | 2771.94                 | 55.439      | 28.686      | 1.93                      |
|           | 887               | 2770.34                 | 55.344      | 28.15       | 1.93                      |
| <b>20</b> | 881               | 3724.3                  | 74.486      | 38.854      | 1.92                      |
|           | 881               | 3830.71                 | 76.614      | 40.179      | 1.91                      |
|           | 881               | 3753.35                 | 75.067      | 39.211      | 1.91                      |
| <b>21</b> | 894               | 2126.67                 | 42.533      | 22.612      | 1.88                      |
|           | 894               | 2127.84                 | 42.557      | 22.643      | 1.88                      |
|           | 894               | 2272.1                  | 45.442      | 24.231      | 1.88                      |
| <b>22</b> | 40                | 1667.12                 | 33.342      | 17.277      | 1.93                      |
|           | 40                | 1684.71                 | 33.694      | 17.486      | 1.93                      |
|           | 40                | 1646.52                 | 32.93       | 17.053      | 1.93                      |
| <b>23</b> | 764               | 322.75                  | 6.455       | 3.558       | 1.81                      |
|           | 764               | 324.01                  | 6.48        | 3.581       | 1.81                      |
|           | 764               | 324.80                  | 6.496       | 3.572       | 1.82                      |

Çizelge 4.1 Çeşitlere ait DNA'ların miktar ve saflık değerleri (devam)

| No        | Genotip No | Miktar<br>ng/µl | A260   | A280   | Saflık<br>260/280 |
|-----------|------------|-----------------|--------|--------|-------------------|
| <b>24</b> | 717        | 868.40          | 17.368 | 9.221  | 1.88              |
|           | 717        | 892.44          | 17.849 | 9.509  | 1.88              |
|           | 717        | 899.02          | 17.98  | 9.602  | 1.87              |
| <b>25</b> | 889        | 2341.19         | 46.824 | 23.996 | 1.95              |
|           | 889        | 2367.31         | 47.346 | 24.31  | 1.95              |
|           | 889        | 2379.33         | 47.587 | 24.424 | 1.95              |
| <b>26</b> | 971        | 3627.82         | 72.556 | 38.262 | 1.90              |
|           | 971        | 3537.11         | 70.742 | 37.104 | 1.91              |
|           | 971        | 3548.77         | 70.975 | 37.212 | 1.91              |
| <b>27</b> | 897        | 3408.35         | 68.167 | 36.139 | 1.89              |
|           | 897        | 3386.60         | 67.732 | 35.824 | 1.89              |
|           | 897        | 3365.21         | 67.304 | 35.599 | 1.89              |
| <b>28</b> | 385        | 2992.94         | 59.859 | 30.691 | 1.95              |
|           | 385        | 3016.40         | 60.328 | 31.062 | 1.94              |
|           | 385        | 2979.30         | 59.586 | 30.532 | 1.95              |
| <b>29</b> | 1034       | 2445.81         | 48.916 | 24.908 | 1.96              |
|           | 1034       | 2534.52         | 50.69  | 25.586 | 1.98              |
|           | 1034       | 2451.99         | 49.04  | 24.782 | 1.98              |
| <b>30</b> | 1051       | 2701.19         | 54.024 | 28.191 | 1.92              |
|           | 1051       | 2603.8          | 52.076 | 27.218 | 1.91              |
|           | 1051       | 2636.7          | 52.734 | 27.518 | 1.92              |
| <b>31</b> | 1041       | 930.87          | 18.617 | 9.736  | 1.91              |
|           | 1041       | 927.23          | 18.545 | 9.758  | 1.90              |
|           | 1041       | 925.50          | 18.51  | 9.763  | 1.90              |
| <b>32</b> | 1016       | 1106.10         | 22.122 | 10.856 | 2.04              |
|           | 1016       | 1100.51         | 22.01  | 10.858 | 2.03              |
|           | 1016       | 1106.75         | 22.135 | 10.894 | 2.03              |
| <b>33</b> | 1052       | 3878.22         | 77.564 | 40.791 | 1.90              |
|           | 1052       | 3842.48         | 76.85  | 40.469 | 1.90              |
|           | 1052       | 3796.84         | 75.937 | 39.887 | 1.90              |
| <b>34</b> | 1047       | 1868.75         | 37.375 | 20.546 | 1.82              |
|           | 1047       | 1809.94         | 36.199 | 19.845 | 1.82              |
|           | 1047       | 1786.29         | 35.726 | 19.552 | 1.83              |
| <b>35</b> | 1055       | 1848.77         | 36.975 | 20.151 | 1.83              |
|           | 1055       | 1867.44         | 37.349 | 20.437 | 1.83              |
|           | 1055       | 1834.41         | 36.688 | 20.038 | 1.83              |
| <b>36</b> | 1014       | 499.18          | 9.984  | 5.21   | 1.92              |
|           | 1014       | 493.31          | 9.866  | 5.161  | 1.91              |
|           | 1014       | 493.79          | 9.876  | 5.188  | 1.90              |

Çizelge 4.1 Çeşitlere ait DNA'ların miktar ve saflık değerleri (devam)

| No | Genotip No | Miktar<br>ng/µl | A260   | A280   | Saflık<br>260/280 |
|----|------------|-----------------|--------|--------|-------------------|
| 37 | 362-A      | 763.46          | 15.269 | 8.003  | 1.91              |
|    | 362-A      | 768.51          | 15.37  | 8.008  | 1.92              |
|    | 362-A      | 734.05          | 14.681 | 7.486  | 1.96              |
| 38 | 176        | 2331.68         | 46.634 | 25.722 | 1.81              |
|    | 176        | 2427.59         | 48.552 | 26.805 | 1.81              |
|    | 176        | 2449.84         | 48.997 | 27.09  | 1.81              |
| 39 | 888        | 2833.51         | 56.67  | 26.121 | 2.17              |
|    | 888        | 2722.99         | 54.46  | 24.765 | 2.20              |
|    | 888        | 2703.91         | 54.078 | 24.497 | 2.21              |
| 40 | 283        | 1244.41         | 24.888 | 13.01  | 1.91              |
|    | 283        | 1245.93         | 24.919 | 13.016 | 1.91              |
|    | 283        | 1209.46         | 24.189 | 12.561 | 1.93              |
| 41 | 846        | 3005.61         | 60.112 | 30.964 | 1.94              |
|    | 846        | 3044.50         | 60.89  | 31.301 | 1.95              |
|    | 846        | 2996.82         | 59.936 | 30.682 | 1.95              |
| 42 | 965        | 4115.77         | 82.315 | 43.663 | 1.89              |
|    | 965        | 4110.54         | 82.211 | 43.469 | 1.89              |
|    | 965        | 4065.93         | 81.319 | 43.039 | 1.89              |
| 43 | 837        | 1329.05         | 26.581 | 12.97  | 2.05              |
|    | 837        | 1383.27         | 27.665 | 13.562 | 2.04              |
|    | 837        | 1337.39         | 26.748 | 13.016 | 2.05              |
| 44 | 843        | 2808.10         | 56.162 | 29.078 | 1.93              |
|    | 843        | 2724.41         | 54.488 | 28.179 | 1.93              |
|    | 843        | 2667.01         | 53.34  | 27.558 | 1.94              |
| 45 | 840        | 2769.16         | 55.383 | 28.867 | 1.92              |
|    | 840        | 2755.31         | 55.106 | 28.716 | 1.92              |
|    | 840        | 2762.52         | 55.25  | 28.733 | 1.92              |
| 46 | 847        | 1463.21         | 29.264 | 14.903 | 1.96              |
|    | 847        | 1444.38         | 28.888 | 14.732 | 1.96              |
|    | 847        | 1454.34         | 29.087 | 14.788 | 1.97              |
| 47 | 845        | 1490.18         | 29.804 | 15.921 | 1.87              |
|    | 845        | 1493.58         | 29.872 | 15.954 | 1.87              |
|    | 845        | 1503.83         | 30.077 | 16.058 | 1.87              |
| 48 | 841        | 2154.48         | 43.09  | 21.566 | 2.00              |
|    | 841        | 2255.24         | 45.105 | 22.749 | 1.98              |
|    | 841        | 2318.57         | 46.371 | 23.487 | 1.97              |
| 49 | 844        | 1754.71         | 35.094 | 18.495 | 1.90              |
|    | 844        | 1832.33         | 36.647 | 19.524 | 1.88              |
|    | 844        | 1754.90         | 35.098 | 18.561 | 1.89              |

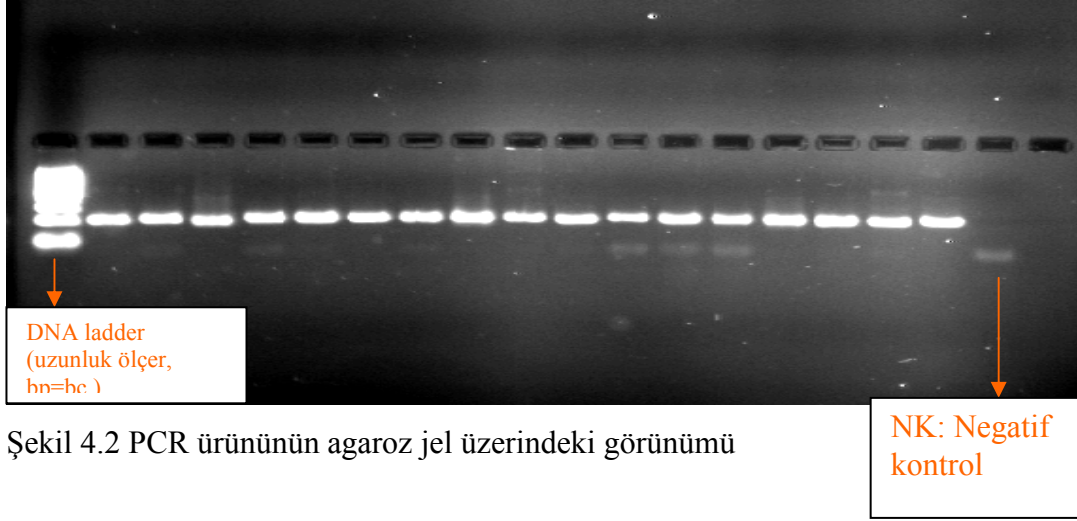
Çizelge 4.1 Çeşitlere ait DNA'ların miktar ve saflık değerleri (devam)

| No | Genotip No            | Miktar<br>ng/µl | A260   | A280   | Saflık<br>260/280 |
|----|-----------------------|-----------------|--------|--------|-------------------|
| 50 | Cabernet<br>Sauvignon | 1263,02         | 25,690 | 13,156 | 1,92              |
|    |                       | 1282,97         | 24,650 | 13,414 | 1,91              |
|    |                       | 1225,23         | 24,505 | 12,814 | 1,91              |
| 51 | Merlot                | 1419,69         | 28,394 | 15,838 | 1,79              |
|    |                       | 1438,82         | 28,776 | 16,185 | 1,78              |
|    |                       | 1430,68         | 28,614 | 16,177 | 1,77              |

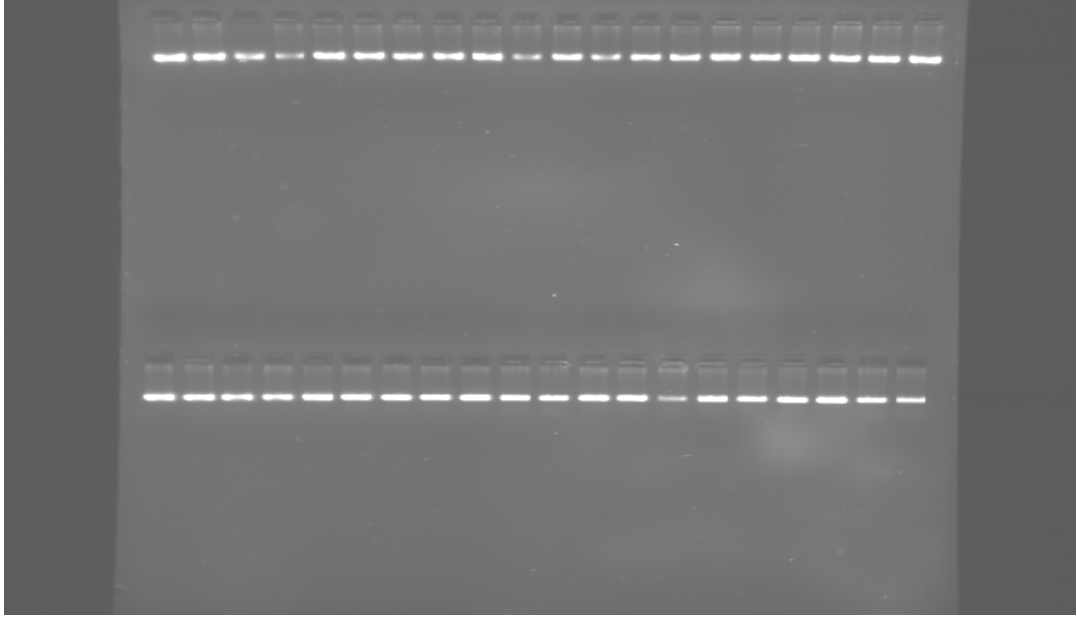
İzole edilen DNA'ların agaroz jel görüntüleri (DNA'lar bant halinde, kırık kalıntılar ve RNA kalıntıları içermemektedir) izolasyonların başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini göstermektedir. Diğer taraftan spektrofotometre değerlerine bakıldığında ise DNA miktarlarının yeterli olduğu ve saflık sınırlarının genel olarak kullanılabilir DNA'larda olması gereken 1.81 – 2.1 değerleri arasında bulunduğu görülmektedir.

#### 4.2 Kapiller elektroforez yöntemi ile elde edilen allel büyüklükleri

Çalışılan lokusta parçacık çoğaltımı olup olmadığını anlamak için o lokusu temsil eden tüm PCR ürünleri metot bölümünde de belirtildiği üzere; önce % 2'lik agaroz jelde kontrol edilmiş (Şekil 4.2 - 4.3) sonrada CEQ™ 8800 veya CEQ™ 8000 Genetik Analiz Sistemi'nde elektroforez edilmiştir. Her lokustaki allel büyüklükleri pik verisi olarak sistemin fragment analiz programı ile belirlenmiştir.

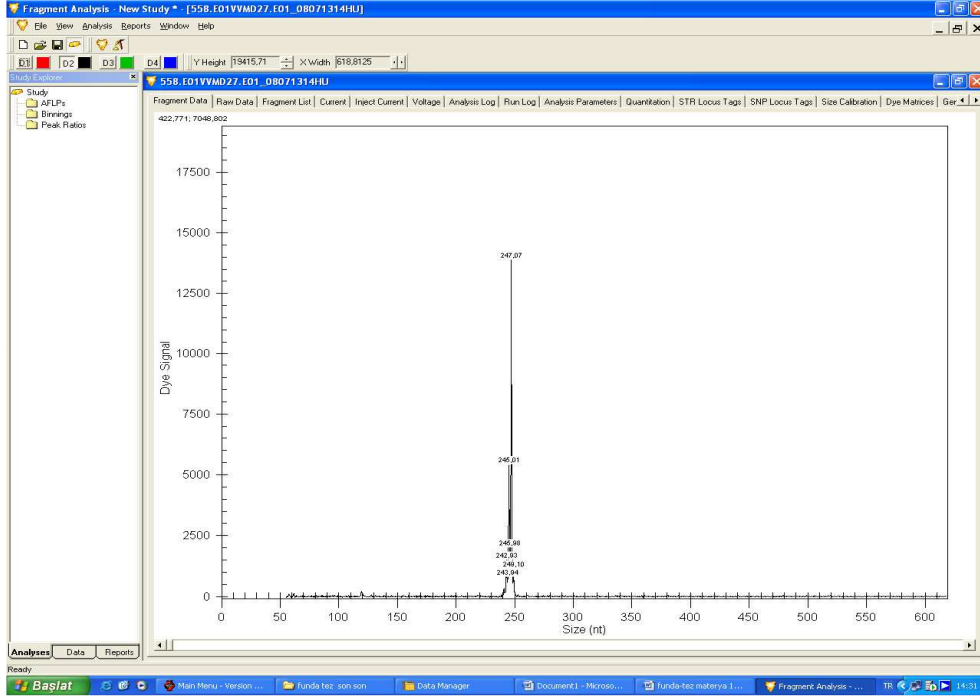


Şekil 4.2 PCR ürününün agaroz jel üzerindeki görünümü

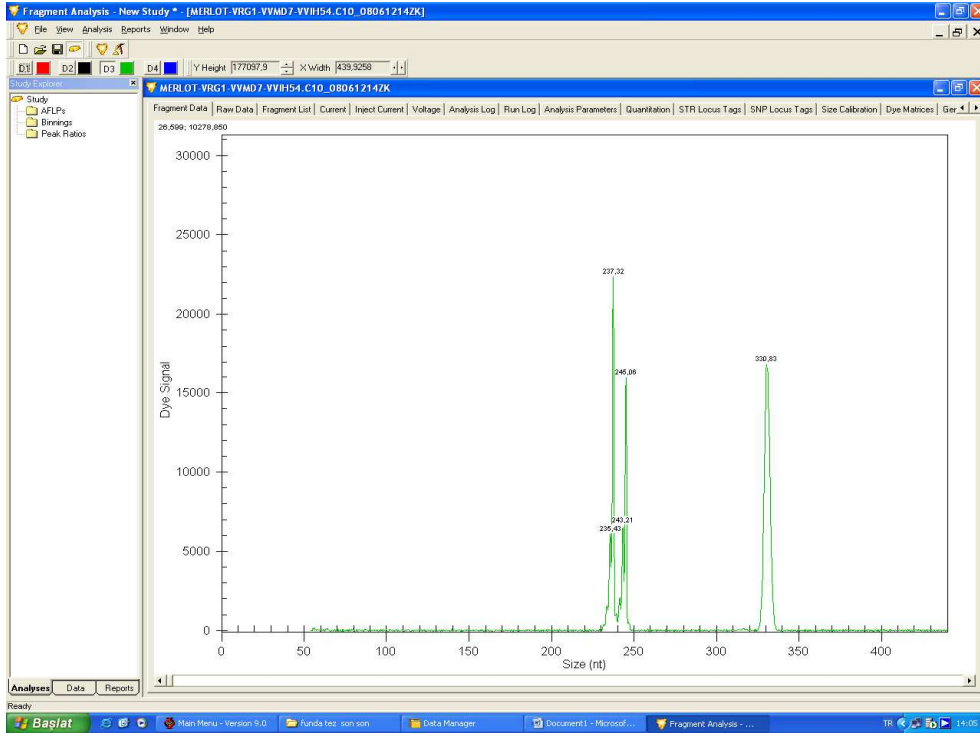


Şekil 4.3 PCR ürününün agaroz jel üzerindeki görünümü

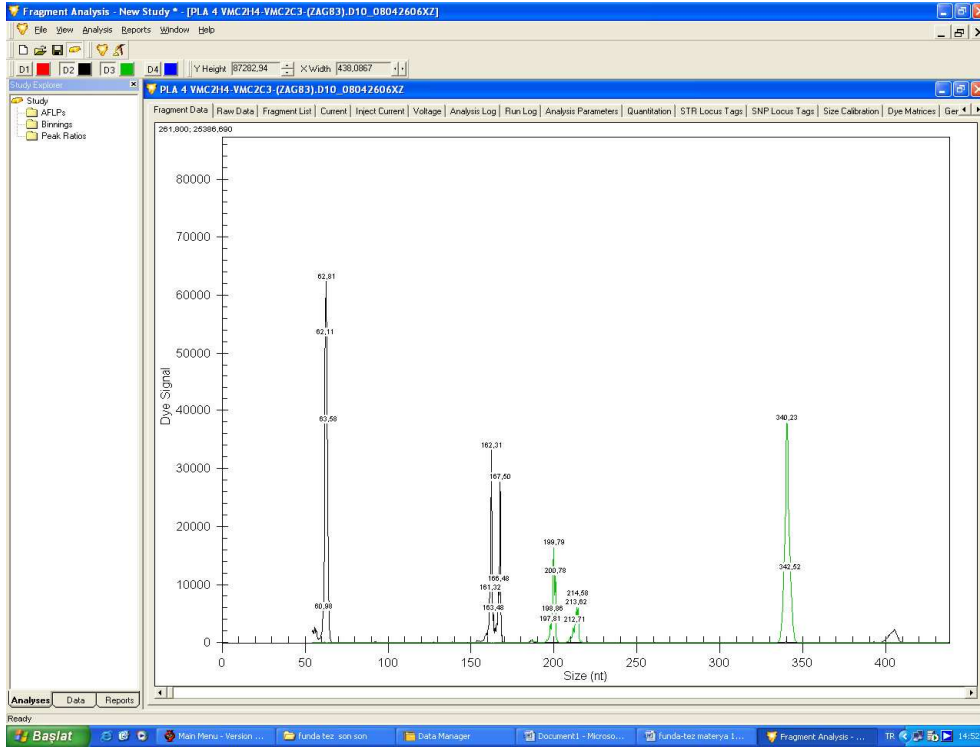
Şekil 4.4 - 4.8'de bazı SSR lokuslarına ( bir lokus,iki,üç lokus birlikte) ait allel büyüklüklerini gösteren piklerden örnekler görülmektedir.



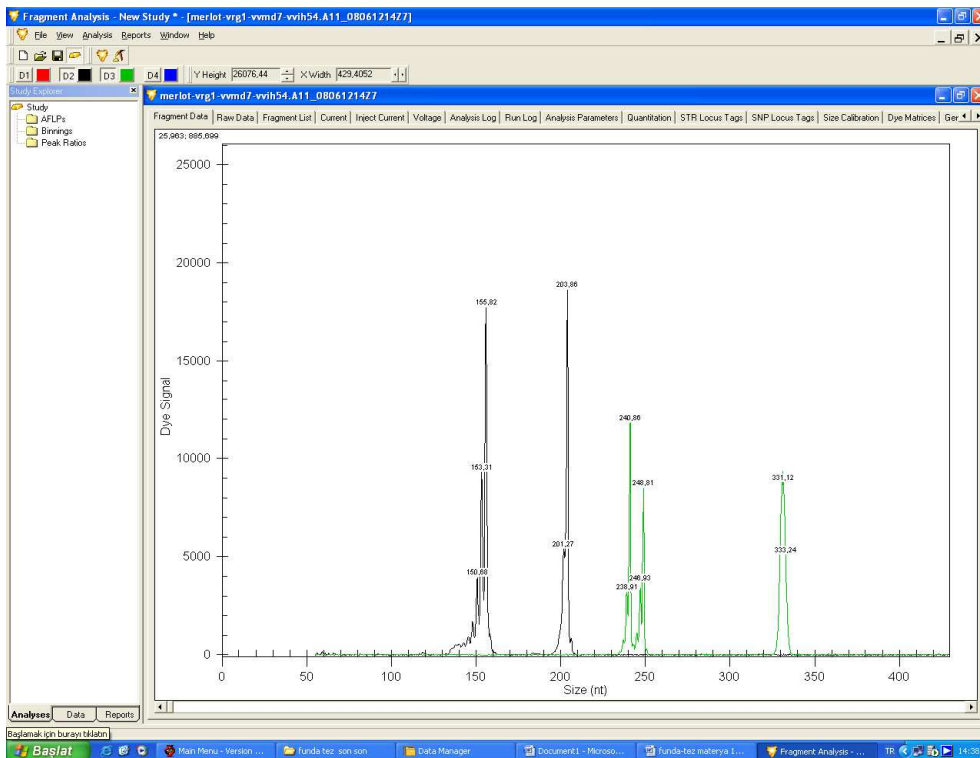
Şekil 4.4 Kapiller elektroforezde bir SSR lokusuna ait homozigot allel büyüklüğü



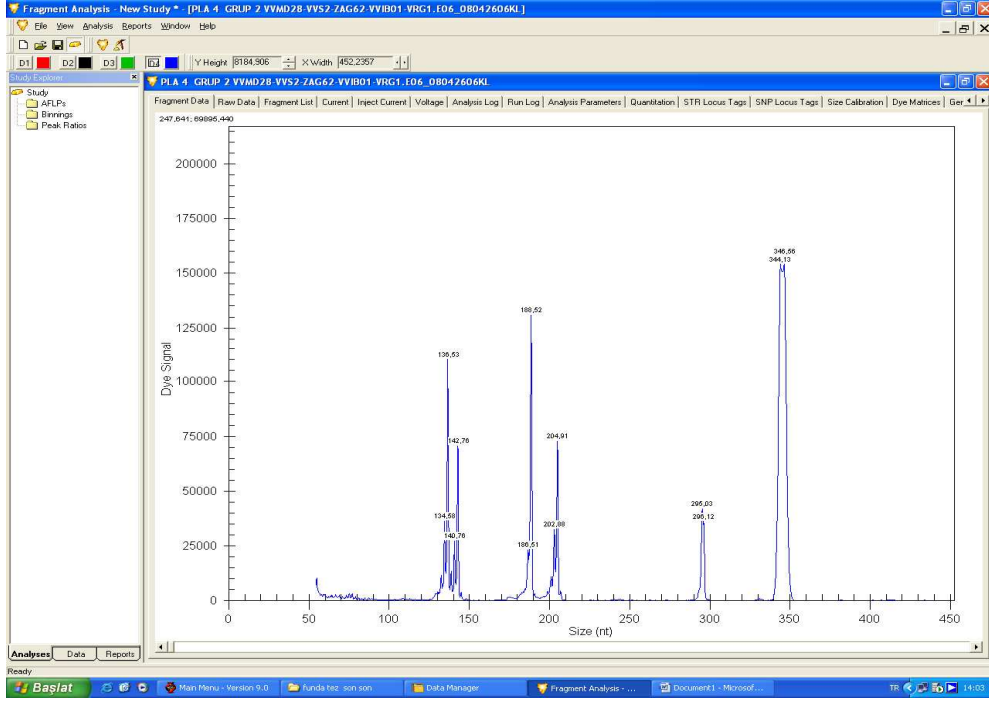
Şekil 4.5 Kapiller elektroforezde bir SSR lokusuna ait heterozigot allel büyüklüğü



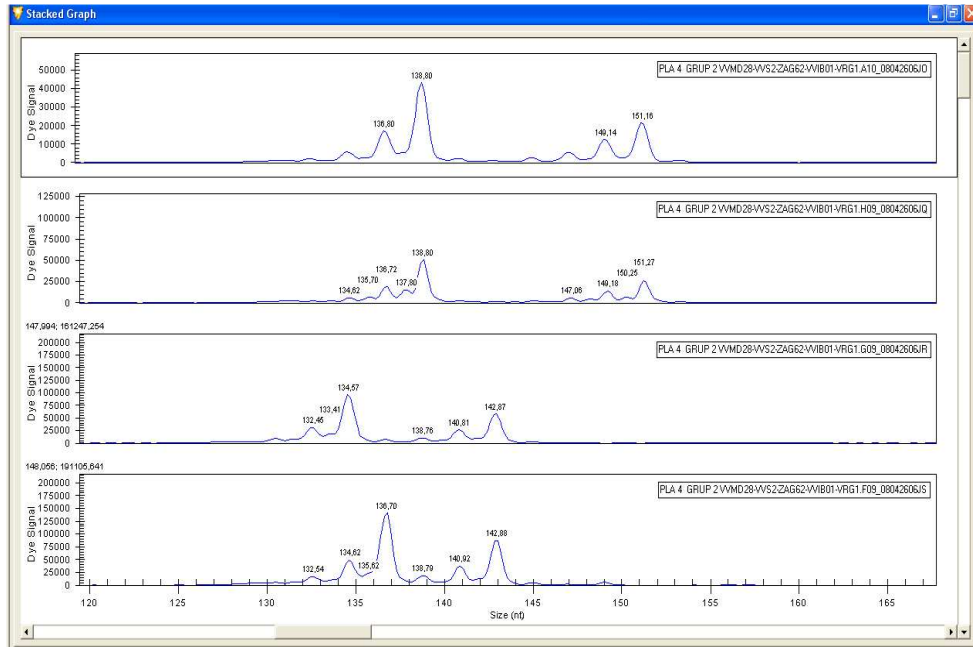
Şekil 4.6 Kapiller elektroforezde iki SSR lokusuna ait heterozigot allel büyüklüğü



Şekil 4.7 Kapiller elektroforezde üç SSR lokusuna ait iki homozigot ve bir heterozigot allel büyüklükleri



Şekil 4.8 Kapiller elektroforezde üç SSR lokusuna ait bir homozigot ve iki heterozigot allel büyüklükleri



Şekil 4.9 Kapiller elektroforezde çoklu allel büyüklükleri



Gerek PCR jellerinin tek bant oluşturmaları gerekse pik görüntülerinin yeterli oranda yükseklik oluşturması (Dye signal oranı: 50000 ve üzeri, Şekil 4.4 - 4.9) iyi optimizasyonların göstergesi olup, tüm lokuslardaki allel tiplerinin (homozigot ve heterozigot) ve büyüklüklerinin başarılı bir şekilde tespit edildiğini göstermektedir.

### 4.3 Genetik Bulgular

Primerler itibari ile çeşitlerde tespit edilen her bir lokusa ait allel büyüklüğü baz çifti (bp, basepair) olarak Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Analiz edilen mikrosatelit markörler arasında, asma çeşit analizi için *This et al.* (2004) tarafından minimum standart mikrosatelit markör seti olarak kabul edilen markörler (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 ve VrZAG79) de bulunmaktadır. Ayrıca iki Fransız çeşit Cabernet *Sauvignon* ve *Merlot* çeşitleri de referans çeşit olarak örneklerle beraber analiz edilmiştir.

Çizelge 4.2 Ankara ve Çankırı çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp)<sup>1</sup>

| NO | Çeşitler | Mikrosatellit Lokusları |       |        |        |         |         |
|----|----------|-------------------------|-------|--------|--------|---------|---------|
|    |          | VVMD5                   | VVMD5 | VMC2C3 | VMC2C3 | VrZAG79 | VrZAG79 |
| 1  | 420      | 225                     | 235   | 167    | 177    | 246     | 248     |
| 2  | 702      | 225                     | 235   | 167    | 177    | 246     | 248     |
| 3  | 606      | 235                     | 235   | 163    | 177    | 250     | 256     |
| 4  | 590      | 233                     | 233   | 167    | 195    | 246     | 250     |
| 5  | 596      | 233                     | 233   | 167    | 195    | 246     | 250     |
| 6  | 386      | 233                     | 237   | 163    | 167    | 246     | 248     |
| 7  | 633      | 229                     | 233   | 163    | 167    | 250     | 250     |
| 8  | 409      | 229                     | 233   | 163    | 167    | 242     | 258     |
| 9  | 725      | 223                     | 233   | 163    | 167    | 238     | 250     |
| 10 | 634      | 233                     | 237   | 167    | 195    | 246     | 254     |
| 11 | 883      | 233                     | 233   | 163    | 167    | 250     | 258     |
| 12 | 895      | 233                     | 263   | 163    | 167    | 250     | 258     |
| 13 | 410      | 233                     | 237   | 163    | 167    | 242     | 258     |
| 14 | 891      | 229                     | 237   | 163    | 163    | 238     | 250     |
| 15 | 890      | 233                     | 237   | 163    | 167    | 246     | 248     |
| 16 | 882      | 233                     | 233   | 167    | 167    | 246     | 248     |
| 17 | 48       | 233                     | 233   | 167    | 195    | 242     | 246     |
| 18 | 892      | 233                     | 243   | 163    | 167    | 246     | 258     |

Çizelge 4.2 Ankara ve Çankırı çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp)<sup>1</sup> (devam)

| NO | Çeşitler           | Mikrosatellit Lokusları |       |        |        |         |         |
|----|--------------------|-------------------------|-------|--------|--------|---------|---------|
|    |                    | VVMD5                   | VVMD5 | VMC2C3 | VMC2C3 | VrZAG79 | VrZAG79 |
| 19 | 887                | 233                     | 243   | 163    | 167    | 246     | 258     |
| 20 | 881                | 233                     | 237   | 163    | 167    | 250     | 258     |
| 21 | 894                | 221                     | 231   | 163    | 177    | 248     | 250     |
| 22 | 40                 | 231                     | 231   | 163    | 195    | 246     | 250     |
| 23 | 764                | 233                     | 237   | 163    | 163    | 248     | 248     |
| 24 | 717                | 223                     | 233   | 163    | 195    | 238     | 250     |
| 25 | 889                | 229                     | 233   | 167    | 167    | 238     | 242     |
| 26 | 971                | 229                     | 229   | 163    | 167    | 238     | 250     |
| 27 | 897                | 235                     | 243   | 163    | 177    | 248     | 250     |
| 28 | 385                | 223                     | 223   | 163    | 167    | 242     | 250     |
| 29 | 1034               | 233                     | 233   | 163    | 167    | 250     | 258     |
| 30 | 1051               | 225                     | 229   | 163    | 167    | 250     | 258     |
| 31 | 1041               | 225                     | 229   | 163    | 167    | 246     | 250     |
| 32 | 1016               | 231                     | 233   | 163    | 167    | 250     | 250     |
| 33 | 1052               | 233                     | 233   | 167    | 167    | 246     | 248     |
| 34 | 1047               | 233                     | 237   | 163    | 167    | 250     | 258     |
| 35 | 1055               | 229                     | 233   | 163    | 167    | 238     | 242     |
| 36 | 1014               | 235                     | 243   | 163    | 177    | 248     | 250     |
| 37 | 362A               | 233                     | 233   | 163    | 167    | 250     | 258     |
| 38 | 176                | 233                     | 237   | 163    | 163    | 248     | 250     |
| 39 | 888                | 231                     | 231   | 163    | 167    | 238     | 250     |
| 40 | 283                | 233                     | 237   | 163    | 167    | 250     | 258     |
| 41 | 846                | 233                     | 233   | 167    | 195    | 246     | 250     |
| 42 | 965                | 225                     | 231   | 167    | 177    | 250     | 256     |
| 43 | 837                | 225                     | 235   | 167    | 177    | 246     | 246     |
| 44 | 843                | 233                     | 237   | 163    | 167    | 246     | 248     |
| 45 | 840                | 229                     | 233   | 163    | 195    | 246     | 250     |
| 46 | 847                | 233                     | 233   | 167    | 195    | 246     | 250     |
| 47 | 845                | 233                     | 233   | 163    | 195    | 246     | 250     |
| 48 | 841                | 231                     | 235   | 163    | 195    | 246     | 250     |
| 49 | 844                | 231                     | 231   | 163    | 163    | 250     | 258     |
| 50 | Cabernet Sauvignon | 229                     | 237   | 163    | 177    | 246     | 246     |
| 51 | Merlot             | 223                     | 233   | 167    | 177    | 258     | 258     |

<sup>1</sup>Referans çeşitler koyu belirtilmiştir

Çizelge 4.2 Ankara ve Çankırı çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp)<sup>1</sup>(devam)

| NO | Çeşitler | Mikrosatellit Lokusları |        |        |        |        |        |
|----|----------|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|    |          | VVMD24                  | VVMD24 | VVMD27 | VVMD27 | VVMD28 | VVMD28 |
| 1  | 420      | 205                     | 217    | 177    | 181    | 257    | 257    |
| 2  | 702      | 205                     | 217    | 177    | 181    | 257    | 257    |
| 3  | 606      | 207                     | 211    | 179    | 193    | 245    | 247    |
| 4  | 590      | 207                     | 207    | 177    | 183    | 233    | 243    |
| 5  | 596      | 207                     | 207    | 177    | 183    | 233    | 243    |
| 6  | 386      | 207                     | 207    | 177    | 183    | 235    | 257    |
| 7  | 633      | 207                     | 207    | 177    | 183    | 243    | 243    |
| 8  | 409      | 207                     | 207    | 179    | 183    | 233    | 257    |
| 9  | 725      | 207                     | 207    | 183    | 183    | 243    | 243    |
| 10 | 634      | 207                     | 209    | 177    | 183    | 233    | 275    |
| 11 | 883      | 207                     | 217    | 179    | 183    | 233    | 243    |
| 12 | 895      | 201                     | 205    | 177    | 183    | 251    | 257    |
| 13 | 410      | 207                     | 207    | 179    | 183    | 235    | 243    |
| 14 | 891      | 207                     | 209    | 177    | 177    | 233    | 257    |
| 15 | 890      | 207                     | 207    | 177    | 183    | 235    | 257    |
| 16 | 882      | 207                     | 207    | 183    | 193    | 257    | 277    |
| 17 | 48       | 207                     | 207    | 177    | 183    | 233    | 257    |
| 18 | 892      | 207                     | 207    | 177    | 179    | 233    | 235    |
| 19 | 887      | 207                     | 207    | 179    | 193    | 233    | 243    |
| 20 | 881      | 205                     | 215    | 179    | 181    | 243    | 247    |
| 21 | 894      | 211                     | 215    | 193    | 193    | 243    | 257    |
| 22 | 40       | 207                     | 217    | 179    | 183    | 233    | 243    |
| 23 | 764      | 207                     | 217    | 177    | 177    | 233    | 235    |
| 24 | 717      | 207                     | 207    | 177    | 183    | 233    | 235    |
| 25 | 889      | 207                     | 207    | 177    | 183    | 257    | 257    |
| 26 | 971      | 209                     | 217    | 177    | 185    | 247    | 257    |
| 27 | 897      | 211                     | 217    | 177    | 177    | 233    | 257    |
| 28 | 385      | 207                     | 217    | 183    | 187    | 247    | 257    |
| 29 | 1034     | 207                     | 217    | 179    | 183    | 233    | 243    |
| 30 | 1051     | 201                     | 207    | 177    | 183    | 235    | 257    |
| 31 | 1041     | 207                     | 217    | 183    | 183    | 233    | 257    |
| 32 | 1016     | 207                     | 217    | 181    | 193    | 243    | 243    |
| 33 | 1052     | 207                     | 207    | 183    | 193    | 257    | 277    |
| 34 | 1047     | 205                     | 215    | 179    | 181    | 243    | 247    |
| 35 | 1055     | 207                     | 217    | 177    | 183    | 233    | 257    |
| 36 | 1014     | 211                     | 217    | 177    | 183    | 233    | 257    |
| 37 | 362A     | 207                     | 207    | 179    | 183    | 233    | 235    |
| 38 | 176      | 207                     | 217    | 177    | 177    | 233    | 235    |
| 39 | 888      | 207                     | 207    | 181    | 193    | 243    | 243    |

Çizelge 4.2 Ankara ve Çankırı çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp)<sup>1</sup>(devam)

|           |                           | <b>Mikrosatellit Lokusları</b> |               |                |                |               |               |
|-----------|---------------------------|--------------------------------|---------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| <b>NO</b> | <b>Çeşitler</b>           | <b>VVMD24</b>                  | <b>VVMD24</b> | <b>VVMD27</b>  | <b>VVMD27</b>  | <b>VVMD28</b> | <b>VVMD28</b> |
| 40        | 283                       | 207                            | 207           | 179            | 183            | 235           | 247           |
| 41        | 846                       | 207                            | 207           | 177            | 183            | 233           | 243           |
| 42        | 965                       | 205                            | 217           | 183            | 193            | 233           | 257           |
| 43        | 837                       | 205                            | 217           | 177            | 181            | 257           | 257           |
| 44        | 843                       | 207                            | 207           | 177            | 183            | 235           | 257           |
| 45        | 840                       | 205                            | 207           | 177            | 183            | 233           | 257           |
| 46        | 847                       | 207                            | 207           | 177            | 183            | 233           | 243           |
| 47        | 845                       | 207                            | 207           | 183            | 183            | 243           | 257           |
| 48        | 841                       | 205                            | 207           | 175            | 185            | 233           | 243           |
| 49        | 844                       | 205                            | 217           | 177            | 189            | 233           | 243           |
| 50        | <b>Cabernet Sauvignon</b> | 207                            | 217           | 173            | 187            | 233           | 235           |
| 51        | <b>Merlot</b>             | 207                            | 211           | 187            | 189            | 227           | 233           |
|           |                           | <b>Mikrosatellit Lokusları</b> |               |                |                |               |               |
| <b>NO</b> | <b>Çeşitler</b>           | <b>VVS2</b>                    | <b>VVS2</b>   | <b>VrZAG62</b> | <b>VrZAG62</b> | <b>VVIBO1</b> | <b>VVIBO1</b> |
| 1         | 420                       | 135                            | 151           | 188            | 204            | 292           | 296           |
| 2         | 702                       | 135                            | 151           | 188            | 204            | 292           | 296           |
| 3         | 606                       | 151                            | 151           | 188            | 204            | 292           | 292           |
| 4         | 590                       | 137                            | 143           | 188            | 200            | 292           | 296           |
| 5         | 596                       | 137                            | 143           | 188            | 200            | 292           | 296           |
| 6         | 386                       | 143                            | 149           | 188            | 188            | 296           | 296           |
| 7         | 633                       | 137                            | 145           | 196            | 200            | 292           | 296           |
| 8         | 409                       | 135                            | 143           | 188            | 204            | 292           | 296           |
| 9         | 725                       | 143                            | 143           | 188            | 200            | 292           | 296           |
| 10        | 634                       | 137                            | 143           | 188            | 204            | 292           | 296           |
| 11        | 883                       | 129                            | 129           | 188            | 200            | 292           | 292           |
| 12        | 895                       | 141                            | 149           | 188            | 200            | 292           | 298           |
| 13        | 410                       | 143                            | 143           | 188            | 202            | 292           | 296           |
| 14        | 891                       | 143                            | 145           | 188            | 204            | 292           | 308           |
| 15        | 890                       | 143                            | 149           | 188            | 188            | 296           | 296           |
| 16        | 882                       | 135                            | 145           | 188            | 204            | 292           | 296           |
| 17        | 48                        | 131                            | 133           | 188            | 188            | 292           | 296           |
| 18        | 892                       | 135                            | 143           | 188            | 204            | 292           | 296           |
| 19        | 887                       | 135                            | 143           | 188            | 204            | 292           | 296           |
| 20        | 881                       | 137                            | 145           | 188            | 204            | 292           | 292           |
| 21        | 894                       | 147                            | 155           | 188            | 196            | 292           | 292           |
| 22        | 40                        | 141                            | 141           | 188            | 188            | 292           | 296           |

<sup>1</sup>Referans çeşitler koyu belirtilmiştir

Çizelge 4.2 Ankara ve Çankırı çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp)<sup>1</sup>(devam)

| NO | Çeşitler                  | Mikrosatellit Lokusları |      |         |         |        |        |
|----|---------------------------|-------------------------|------|---------|---------|--------|--------|
|    |                           | VVS2                    | VVS2 | VrZAG62 | VrZAG62 | VVIBO1 | VVIBO1 |
| 23 | 764                       | 143                     | 149  | 188     | 190     | 296    | 296    |
| 24 | 717                       | 143                     | 143  | 188     | 200     | 296    | 296    |
| 25 | 889                       | 143                     | 145  | 188     | 200     | 292    | 296    |
| 26 | 971                       | 133                     | 135  | 204     | 204     | 292    | 302    |
| 27 | 897                       | 135                     | 143  | 188     | 196     | 296    | 296    |
| 28 | 385                       | 143                     | 143  | 186     | 188     | 292    | 296    |
| 29 | 1034                      | 131                     | 133  | 188     | 200     | 292    | 292    |
| 30 | 1051                      | 143                     | 145  | 204     | 208     | 296    | 302    |
| 31 | 1041                      | 137                     | 137  | 188     | 200     | 292    | 296    |
| 32 | 1016                      | 133                     | 143  | 188     | 188     | 292    | 296    |
| 33 | 1052                      | 135                     | 145  | 188     | 204     | 292    | 296    |
| 34 | 1047                      | 137                     | 145  | 188     | 204     | 292    | 292    |
| 35 | 1055                      | 135                     | 143  | 188     | 200     | 292    | 296    |
| 36 | 1014                      | 135                     | 143  | 188     | 196     | 296    | 296    |
| 37 | 362A                      | 143                     | 145  | 194     | 200     | 292    | 296    |
| 38 | 176                       | 143                     | 149  | 188     | 190     | 296    | 296    |
| 39 | 888                       | 143                     | 143  | 188     | 200     | 292    | 296    |
| 40 | 283                       | 143                     | 145  | 188     | 194     | 292    | 292    |
| 41 | 846                       | 137                     | 143  | 188     | 200     | 292    | 296    |
| 42 | 965                       | 133                     | 143  | 200     | 204     | 292    | 296    |
| 43 | 837                       | 143                     | 145  | 188     | 194     | 292    | 296    |
| 44 | 843                       | 143                     | 149  | 188     | 188     | 296    | 296    |
| 45 | 840                       | 135                     | 143  | 200     | 204     | 296    | 296    |
| 46 | 847                       | 137                     | 143  | 188     | 200     | 292    | 296    |
| 47 | 845                       | 133                     | 133  | 188     | 200     | 292    | 296    |
| 48 | 841                       | 135                     | 141  | 188     | 204     | 292    | 296    |
| 49 | 844                       | 137                     | 143  | 188     | 196     | 292    | 296    |
| 50 | <b>Cabernet Sauvignon</b> | 139                     | 151  | 188     | 194     | 292    | 292    |
| 51 | <b>Merlot</b>             | 139                     | 151  | 194     | 194     | 292    | 296    |

<sup>1</sup>Referans çeşitler koyu belirtilmiştir

Çizelge 4.2 Ankara ve Çankırı çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp)<sup>1</sup>(devam)

| NO | Çeşitler | Mikrosatellit Lokusları |        |       |       |        |        |
|----|----------|-------------------------|--------|-------|-------|--------|--------|
|    |          | VMC2H4                  | VMC2H4 | VVMD7 | VVMD7 | VVIH54 | VVIH54 |
| 1  | 420      | 202                     | 212    | 244   | 246   | 158    | 164    |
| 2  | 702      | 202                     | 212    | 244   | 246   | 158    | 164    |
| 3  | 606      | 204                     | 214    | 244   | 248   | 176    | 176    |
| 4  | 590      | 214                     | 220    | 244   | 244   | 174    | 174    |
| 5  | 596      | 214                     | 220    | 244   | 244   | 174    | 174    |
| 6  | 386      | 214                     | 220    | 246   | 250   | 164    | 174    |
| 7  | 633      | 214                     | 220    | 236   | 246   | 164    | 174    |
| 8  | 409      | 198                     | 214    | 236   | 246   | 164    | 164    |
| 9  | 725      | 214                     | 220    | 236   | 246   | 164    | 174    |
| 10 | 634      | 214                     | 218    | 244   | 244   | 168    | 174    |
| 11 | 883      | 200                     | 216    | 246   | 250   | 164    | 164    |
| 12 | 895      | 204                     | 218    | 230   | 244   | 164    | 174    |
| 13 | 410      | 214                     | 214    | 236   | 246   | 150    | 164    |
| 14 | 891      | 198                     | 206    | 236   | 246   | 164    | 174    |
| 15 | 890      | 214                     | 220    | 246   | 250   | 166    | 174    |
| 16 | 882      | 218                     | 220    | 236   | 244   | 164    | 164    |
| 17 | 48       | 214                     | 220    | 244   | 244   | 150    | 174    |
| 18 | 892      | 198                     | 220    | 240   | 244   | 164    | 164    |
| 19 | 887      | 198                     | 206    | 246   | 246   | 164    | 174    |
| 20 | 881      | 200                     | 214    | 236   | 244   | 164    | 164    |
| 21 | 894      | 202                     | 212    | 240   | 240   | 138    | 138    |
| 22 | 40       | 200                     | 206    | 244   | 250   | 164    | 174    |
| 23 | 764      | 202                     | 220    | 230   | 246   | 166    | 174    |
| 24 | 717      | 214                     | 220    | 236   | 246   | 164    | 174    |
| 25 | 889      | 214                     | 220    | 246   | 246   | 164    | 174    |
| 27 | 897      | 202                     | 214    | 236   | 246   | 164    | 164    |
| 28 | 385      | 200                     | 214    | 236   | 246   | 162    | 162    |
| 29 | 1034     | 200                     | 216    | 246   | 250   | 164    | 164    |
| 30 | 1051     | 204                     | 214    | 244   | 246   | 142    | 162    |
| 31 | 1041     | 206                     | 214    | 246   | 250   | 164    | 174    |
| 32 | 1016     | 200                     | 206    | 240   | 246   | 150    | 164    |
| 33 | 1052     | 218                     | 220    | 236   | 244   | 164    | 164    |
| 34 | 1047     | 200                     | 214    | 236   | 244   | 164    | 164    |
| 35 | 1055     | 200                     | 214    | 236   | 246   | 164    | 174    |
| 36 | 1014     | 202                     | 214    | 236   | 246   | 164    | 164    |

<sup>1</sup>Referans çeşitler koyu belirtilmiştir

Çizelge 4.2 Ankara ve Çankırı çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp)<sup>1</sup>(devam)

|           |                           | <b>Mikrosatellit Lokusları</b> |               |                |                |               |               |
|-----------|---------------------------|--------------------------------|---------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| <b>NO</b> | <b>Çeşitler</b>           | <b>VMC2H4</b>                  | <b>VMC2H4</b> | <b>VVMD7</b>   | <b>VVMD7</b>   | <b>VVIH54</b> | <b>VVIH54</b> |
| 37        | 362A                      | 200                            | 220           | 246            | 246            | 150           | 174           |
| 38        | 176                       | 202                            | 220           | 230            | 246            | 166           | 174           |
| 39        | 888                       | 200                            | 206           | 240            | 246            | 166           | 174           |
| 40        | 283                       | 200                            | 214           | 246            | 246            | 150           | 164           |
| 41        | 846                       | 214                            | 220           | 244            | 246            | 174           | 174           |
| 42        | 965                       | 198                            | 206           | 244            | 246            | 166           | 166           |
| 43        | 837                       | 202                            | 212           | 244            | 244            | 158           | 164           |
| 44        | 843                       | 214                            | 220           | 246            | 250            | 164           | 174           |
| 45        | 840                       | 198                            | 220           | 240            | 244            | 164           | 174           |
| 46        | 847                       | 214                            | 220           | 244            | 246            | 174           | 174           |
| 47        | 845                       | 198                            | 220           | 240            | 244            | 164           | 174           |
| 48        | 841                       | 220                            | 220           | 244            | 244            | 174           | 174           |
| 49        | 844                       | 196                            | 214           | 228            | 236            | 142           | 164           |
| 50        | <b>Cabernet Sauvignon</b> | 212                            | 220           | 236            | 236            | 164           | 178           |
| 51        | <b>Merlot</b>             | 198                            | 212           | 236            | 244            | 164           | 164           |
|           |                           | <b>Mikrosatellit lokuslar</b>  |               |                |                |               |               |
| <b>NO</b> | <b>Çeşitler</b>           | <b>VVMD31</b>                  | <b>VVMD31</b> | <b>VrZAG83</b> | <b>VrZAG83</b> | <b>VRG1</b>   | <b>VRG1</b>   |
| 1         | 420                       | 209                            | 223           | 185            | 187            | 225           | 231           |
| 2         | 702                       | 209                            | 223           | 185            | 187            | 225           | 231           |
| 3         | 606                       | 209                            | 213           | 185            | 191            | 199           | 199           |
| 4         | 590                       | 209                            | 211           | 185            | 191            | 197           | 197           |
| 5         | 596                       | 209                            | 211           | 185            | 191            | 197           | 197           |
| 6         | 386                       | 211                            | 211           | 185            | 191            | 197           | 197           |
| 7         | 633                       | 209                            | 209           | 191            | 191            | 225           | 225           |
| 8         | 409                       | 203                            | 211           | 185            | 191            | 225           | 225           |
| 9         | 725                       | 209                            | 211           | 191            | 191            | 203           | 203           |
| 10        | 634                       | 211                            | 215           | 185            | 191            | 197           | 197           |
| 11        | 883                       | 209                            | 209           | 181            | 191            | 197           | 231           |
| 12        | 895                       | 205                            | 209           | 185            | 191            | 215           | 215           |
| 13        | 410                       | 195                            | 211           | 185            | 187            | 213           | 213           |
| 14        | 891                       | 209                            | 211           | 183            | 183            | 203           | 203           |
| 15        | 890                       | 211                            | 211           | 185            | 191            | 197           | 197           |

<sup>1</sup>Referans çeşitler koyu belirtilmiştir

Çizelge 4.2 Ankara ve Çankırı çeşitlerinin 15 lokustaki allel büyüklükleri (bp)<sup>1</sup>(devam)

| NO | Çeşitler                  | Mikrosatelit lokuslar |        |         |         |      |      |
|----|---------------------------|-----------------------|--------|---------|---------|------|------|
|    |                           | VVMD31                | VVMD31 | VrZAG83 | VrZAG83 | VRG1 | VRG1 |
| 16 | 882                       | 211                   | 211    | 191     | 191     | 197  | 225  |
| 17 | 48                        | 209                   | 209    | 185     | 191     | 203  | 203  |
| 18 | 892                       | 209                   | 209    | 185     | 191     | 213  | 213  |
| 19 | 887                       | 209                   | 215    | 185     | 191     | 197  | 197  |
| 20 | 881                       | 211                   | 211    | 185     | 187     | 203  | 203  |
| 21 | 894                       | 195                   | 209    | 191     | 191     | 199  | 199  |
| 22 | 40                        | 209                   | 209    | 185     | 191     | 211  | 211  |
| 23 | 764                       | 211                   | 211    | 185     | 191     | 197  | 197  |
| 24 | 717                       | 209                   | 211    | 191     | 191     | 231  | 231  |
| 25 | 889                       | 209                   | 211    | 185     | 191     | 197  | 225  |
| 26 | 971                       | 211                   | 223    | 185     | 187     | 211  | 221  |
| 27 | 897                       | 209                   | 211    | 185     | 187     | 231  | 231  |
| 28 | 385                       | 203                   | 211    | 187     | 187     | 225  | 231  |
| 29 | 1034                      | 209                   | 209    | 191     | 191     | 197  | 231  |
| 30 | 1051                      | 209                   | 209    | 181     | 185     | 215  | 215  |
| 31 | 1041                      | 211                   | 215    | 185     | 191     | 197  | 203  |
| 32 | 1016                      | 209                   | 215    | 185     | 191     | 225  | 225  |
| 33 | 1052                      | 211                   | 211    | 191     | 191     | 197  | 225  |
| 34 | 1047                      | 211                   | 211    | 185     | 187     | 203  | 203  |
| 35 | 1055                      | 209                   | 215    | 185     | 191     | 197  | 225  |
| 36 | 1014                      | 209                   | 211    | 185     | 191     | 231  | 231  |
| 37 | 362A                      | 209                   | 209    | 185     | 191     | 213  | 213  |
| 38 | 176                       | 211                   | 211    | 185     | 191     | 197  | 197  |
| 39 | 888                       | 209                   | 215    | 185     | 191     | 197  | 225  |
| 40 | 283                       | 195                   | 209    | 185     | 191     | 213  | 225  |
| 41 | 846                       | 209                   | 211    | 185     | 191     | 197  | 197  |
| 42 | 965                       | 211                   | 215    | 191     | 191     | 225  | 225  |
| 43 | 837                       | 209                   | 223    | 185     | 185     | 225  | 231  |
| 44 | 843                       | 211                   | 211    | 185     | 191     | 197  | 197  |
| 45 | 840                       | 209                   | 209    | 181     | 185     | 215  | 225  |
| 46 | 847                       | 209                   | 211    | 185     | 191     | 197  | 197  |
| 47 | 845                       | 209                   | 209    | 185     | 191     | 225  | 225  |
| 48 | 841                       | 209                   | 211    | 185     | 191     | 225  | 225  |
| 49 | 844                       | 203                   | 209    | 183     | 191     | 197  | 215  |
| 50 | <b>Cabernet Sauvignon</b> | 205                   | 209    | 197     | 197     | 197  | 197  |
| 51 | <b>Merlot</b>             | 211                   | 215    | 191     | 197     | 203  | 203  |



Lokuslar itibari ile, allel sayıları, beklenen heterozigotluk(He) ve gözlenen heterozigotluk(Ho) oranları, tespit olasılığı değeri ve sessiz (null) allel frekansı Çizelge 4.3'de sunulmuştur.

Çizelge 4.3 14 SSR\* lokusu itibari ile, allel sayıları (N), beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho) oranları, tespit olasılığı (PI) değeri ve sessiz (null) allel frekansı (r)

| <b>LOKUSLAR</b> | <b>N</b> | <b>He</b> | <b>Ho</b> | <b>PI</b> | <b>r</b> |
|-----------------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| VVMD5           | 10       | 0,7650    | 0,666     | 0,115     | 0,055    |
| VMC2C3          | 4        | 0,6576    | 0,8627    | 0,311     | -0,123   |
| VrZAG79         | 8        | 0,7870    | 0,8823    | 0,132     | -0,053   |
| VVMD24          | 7        | 0,5970    | 0,5686    | 0,262     | 0,017    |
| VVMD27          | 10       | 0,7683    | 0,8431    | 0,151     | -0,042   |
| VVMD28          | 10       | 0,7856    | 0,8431    | 0,143     | -0,032   |
| VVS2            | 13       | 0,8264    | 0,8039    | 0,077     | 0,012    |
| VrZAG62         | 9        | 0,6883    | 0,8431    | 0,208     | -0,091   |
| VVIB01          | 6        | 0,5470    | 0,6666    | 0,513     | -0,077   |
| VMC2H4          | 12       | 0,8410    | 0,9411    | 0,075     | -0,054   |
| VVMD7           | 9        | 0,7885    | 0,7450    | 0,132     | 0,024    |
| VVIH54          | 11       | 0,7110    | 0,5882    | 0,204     | 0,071    |
| VVMD31          | 8        | 0,6724    | 0,6274    | 0,273     | 0,026    |
| VrZAG83         | 6        | 0,6474    | 0,7647    | 0,315     | -0,071   |
| <b>Toplam</b>   | 123      | 10,082    | 10,645    | 2,911     |          |
| <b>Ortalama</b> | 8,7857   | 0,7201    | 0,7604    | 0,207     |          |

\*VRG1 lokusu null allel göstermesi nedeni ile tabloya dahil edilmemiştir.

Lokuslarda yürütülen genetik analizlerin sonucu, herbir lokusun genetik analizlerde kullanılıp kullanılmamasına null allel frekanslarına(r) bakılarak karar verilmiştir. VRG1 lokusunda r: 0.3 üzerinde bir değer gösterdiği için genetik parametreler çizelgesine (Çizelge 4.3) dahil edilmemiştir. Bu lokusa ait yalnızca allel verileri tezde sonuç olarak sunulmuştur.

14 lokus itibari ile değerlendirildiğinde; VMC2C3 lokusunda 5 allel'den düşük VVMD5, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VrZAG62, VVIB01, VVMD7,

VVMD31, VrZAG83 lokuslarında 5-10 allel ve VVS2, VMC2H4, VVIH54 lokuslarında 10 üzeri allel tespit edilmiştir.

PI değerleri ise 0.077- 0.513 arasında değişmiştir. Null allel frekansı VMC2C3, VrZAG79, VVMD27, VVMD28, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VrZAG83 lokuslarında negatif, VVMD5, VVMD24, VVS2, VVMD7, VVIH54, VVMD31 lokuslarında 0-0.077 arası değer vermiştir. 14 lokusa ait allel frekansları Çizelge 4.4'de sunulmuştur.

Çizelge 4.4 Çalışılan lokuslardaki alleller ve frekansları

| N  | VVMD5  | Allel Frekansı | VMC2C3 | Allel Frekansı | ZAG79  | Allel Frekansı |
|----|--------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|
| 1  | 221    | 0.00980        | 163    | 0.40196        | 238    | 0.06863        |
| 2  | 223    | 0.04902        | 167    | 0.40196        | 242    | 0.05882        |
| 3  | 225    | 0.05882        | 177    | 0.09804        | 246    | 0.23529        |
| 4  | 229    | 0.10784        | 195    | 0.09804        | 248    | 0.12745        |
| 5  | 231    | 0.09804        |        |                | 250    | 0.33333        |
| 6  | 233    | 0.43137        |        |                | 254    | 0.00980        |
| 7  | 235    | 0.07843        |        |                | 256    | 0.01961        |
| 8  | 237    | 0.11765        |        |                | 258    | 0.14706        |
| 9  | 243    | 0.03922        |        |                |        |                |
| 10 | 263    | 0.00980        |        |                |        |                |
| N  | VVMD24 | Allel Frekansı | VVMD27 | Allel Frekansı | VVMD28 | Allel Frekansı |
| 1  | 201    | 0.01961        | 173    | 0.00980        | 227    | 0.00980        |
| 2  | 205    | 0.09804        | 175    | 0.00980        | 233    | 0.26471        |
| 3  | 207    | 0.59804        | 177    | 0.30392        | 235    | 0.11765        |
| 4  | 209    | 0.02941        | 179    | 0.11765        | 243    | 0.22549        |
| 5  | 211    | 0.04902        | 181    | 0.06863        | 245    | 0.00980        |
| 6  | 215    | 0.02941        | 183    | 0.33333        | 247    | 0.05882        |
| 7  | 217    | 0.17647        | 185    | 0.01961        | 251    | 0.00980        |
| 8  |        |                | 187    | 0.02941        | 257    | 0.27451        |
| 9  |        |                | 189    | 0.01961        | 275    | 0.00980        |
| 10 |        |                | 193    | 0.08824        | 277    | 0.01961        |

Çizelge 4.4 Çalışılan lokuslardaki alleller ve frekansları (devam)

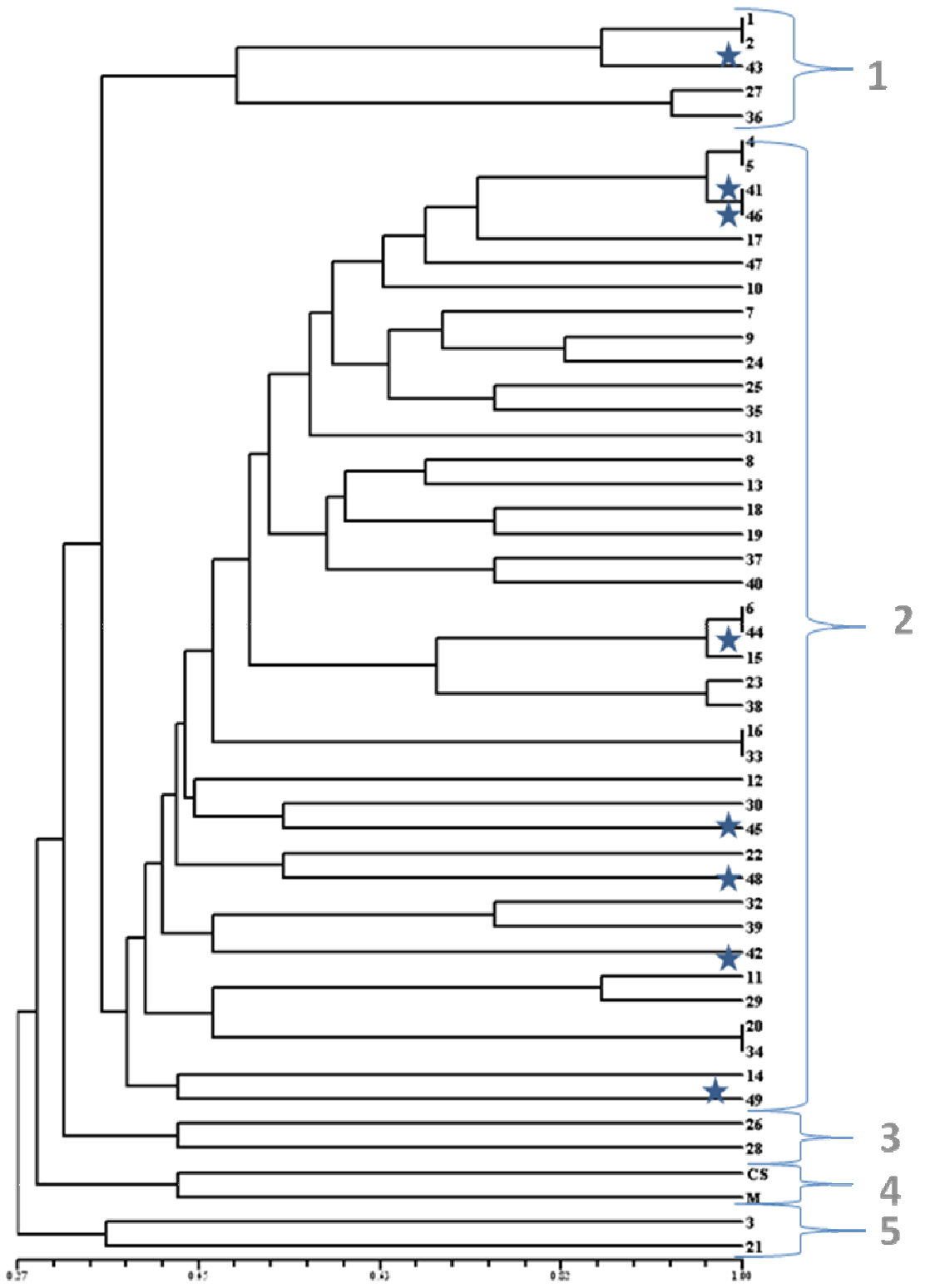
| N  | VVS2  | Allel Frekansı | ZAG62  | Allel Frekansı | VVIB01 | Allel Frekansı | VMC2H4 | Allel Frekansı |
|----|-------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|
| 1  | 129   | 0.01961        | 186    | 0.00980        | 292    | 0.47059        | 196    | 0.00980        |
| 2  | 131   | 0.01961        | 188    | 0.49020        | 296    | 0.48039        | 198    | 0.07843        |
| 3  | 133   | 0.06863        | 190    | 0.01961        | 298    | 0.00980        | 200    | 0.09804        |
| 4  | 135   | 0.13725        | 194    | 0.04902        | 300    | 0,00980        | 202    | 0.07843        |
| 5  | 137   | 0.10784        | 196    | 0.04902        | 302    | 0.01961        | 204    | 0.03922        |
| 6  | 139   | 0.01961        | 200    | 0.17647        | 308    | 0.00980        | 206    | 0.05882        |
| 7  | 141   | 0.03922        | 202    | 0.00980        |        |                | 208    | 0.01961        |
| 8  | 143   | 0.34314        | 204    | 0.18627        |        |                | 212    | 0.05882        |
| 9  | 145   | 0.09804        | 208    | 0.00980        |        |                | 214    | 0.27451        |
| 10 | 147   | 0.00980        |        |                |        |                | 216    | 0.01961        |
| 11 | 149   | 0.05882        |        |                |        |                | 218    | 0.03922        |
| 12 | 151   | 0.06863        |        |                |        |                | 220    | 0.22549        |
| 13 | 155   | 0.00980        |        |                |        |                |        |                |
| N  | VVMD7 | Allel Frekansı | VVIH54 | Allel Frekansı | VVMD31 | Allel Frekansı | ZAG83  | Allel Frekansı |
| 1  | 228   | 0.00980        | 138    | 0.01961        | 195    | 0.02941        | 181    | 0.02941        |
| 2  | 230   | 0.02941        | 142    | 0.01961        | 203    | 0.02941        | 183    | 0.02941        |
| 3  | 236   | 0.19608        | 150    | 0.04902        | 205    | 0.01961        | 185    | 0.37255        |
| 4  | 240   | 0.05882        | 158    | 0.02941        | 209    | 0.43137        | 187    | 0.08824        |
| 5  | 244   | 0.23529        | 162    | 0.04902        | 211    | 0.36275        | 191    | 0.45098        |
| 6  | 246   | 0.32353        | 164    | 0.43137        | 213    | 0.00980        | 197    | 0.02941        |
| 7  | 248   | 0.06863        | 166    | 0.05882        | 215    | 0.07843        |        |                |
| 8  | 250   | 0.05882        | 168    | 0.00980        | 223    | 0.03922        |        |                |
| 9  | 254   | 0,01961        | 174    | 0.30392        |        |                |        |                |
| 10 |       |                | 176    | 0.01961        |        |                |        |                |
| 11 |       |                | 178    | 0.00980        |        |                |        |                |

Primerler itibari ile allel frekans büyüklükleri dikkate alındığında; VVMD5’de:233, VMC2C3’de:163 ve 167, VrZAG79’da: 250, VVMD24’de: 207, VVMD27’de:183, VVMD28’de:257, VVS2’de:143, VrZAG62’de:188, VVIB01’de:296, VMC2H4’de: 214, VVMD7’de:246, VVIH54’de:164, VVMD31’de:209 ve VrZAG83’de 191 allelleri en çok görülen alleller olarak tespit edilmiştir. 49 üzüm çeşidinin 14 SSR lokusu ile analizleri sonucu bulunan sinonim ve homonim genotipler Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5 Analizler sonucunda elde edilen iller bazında, aynı , sinonim, homonim çeşitler ve genetik benzerlik indeksleri (%)

| Çeşit Adı               |                              | Çeşit no / İl | Genetik benzerlik İndeksi (%) |
|-------------------------|------------------------------|---------------|-------------------------------|
| <b>Aynı Çeşitler</b>    |                              |               |                               |
| <b>1</b>                | Erkek Üzüm                   | 16/ Ankara    | 100                           |
|                         | Erkek Üzüm                   | 33/ Ankara    |                               |
| <b>2</b>                | Gül Üzümü                    | 20/ Ankara    | 100                           |
|                         | Gül Üzümü                    | 34/ Ankara    |                               |
| <b>Sinonim Çeşitler</b> |                              |               |                               |
| <b>1</b>                | Balballı                     | 1/ Ankara     | 100                           |
|                         | Erolan                       | 2/ Ankara     |                               |
| <b>2</b>                | Kara Gevrek Üzümü            | 4/ Ankara     | 100                           |
|                         | Söbü Kara                    | 5/ Ankara     |                               |
| <b>3</b>                | Sungurlu (Hasandede)         | 6/ Ankara     | 100                           |
|                         | Keskin Üzümü                 | 44/ Çankırı   |                               |
| <b>4</b>                | Ayaş Üzümü                   | 41/ Çankırı   | 100                           |
|                         | Merzi Zirgesi                | 46/ Çankırı   |                               |
| <b>Homonim Çeşitler</b> |                              |               |                               |
| <b>1</b>                | Deve Gözü                    | 32/ Ankara    | 75                            |
|                         | Deve Gözü                    | 39/ Ankara    |                               |
| <b>2</b>                | Kalecik Karası               | 23/ Ankara    | 96.4                          |
|                         | Kalecik Karası               | 38/ Ankara    |                               |
| <b>3</b>                | Gelin Üzümü (Gelin Parmağı ) | 3/ Ankara     | 35.7                          |
|                         | Gelin Üzümü                  | 18/ Ankara    |                               |
| <b>4</b>                | Tombak Ayaş                  | 25/ Ankara    | 75                            |
|                         | Tombak Ayaş (Büzgülü)        | 35/ Ankara    |                               |
| <b>5</b>                | Amasya                       | 11/ Ankara    | 85.7                          |
|                         | Amasya                       | 29/ Ankara    |                               |





★ : Çankırı çeşitleri

Şekil 4.10 Ankara ve Çankırı illeri asma genotiplerine ait dendrogram

## 6. 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Moleküler markörlerden mikrosatellitlerin kullanımı; çeşit tanımlaması, sinonim ve homonimlerin belirlenmesinde birçok araştırmacı tarafından kullanılmış ve kabul görmüştür (Sánchez-Escribano *et al.* 1999, Regner *et al.* 2001, Ibáñez *et al.* 2003, This *et al.* 2004). Bunun dışında ebeveyn analizi (Thomas *et al.* 1994, Bowers and Meredith 1997, Sefc *et al.* 1997, Grando *et al.* 2000), genetik farklılık çalışmaları, evrimsel gelişimin moleküler analizi ve orijin belirleme (Sefc *et al.* 2000, Vouillamoz *et al.* 2003, Arroyo-Garcia *et al.* 2004), genetik haritalama (Grando *et al.* 2000, Merdinoglu *et al.* 2003, Riaz *et al.* 2004, Fischer *et al.* 2004) gibi amaçlarla da mikrosatellitler kullanılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır.

14 SSR lokusu kullanılarak 51 genotipde elde edilen toplam allel sayısı 123'dür. En düşük allel sayısı 4 allel ile VMC2C3 lokusunda tespit edilirken, en yüksek allel sayısı 13 olarak VVS2 lokusunda tespit edilmiş, alleller ortalaması ise 8.785 olarak bulunmuştur. En yüksek allel veren VVS2 lokusu, sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Aynı zamanda bu lokus, Lin and Walker 1998, López *et al.* 1999, Fatahi *et al.* 2003, Ibanez *et al.* 2003, Vouillamoz *et al.* 2006 ve Şelli *et al.* 2007 gibi araştırmacılar tarafından da yüksek allel sayısı veren lokuslar arasında gösterilmiştir. Bunu 12 allel ile VMC2H4, 11 allel ile VVIH54, 10 allel ile VVMD5, VVMD27 ve VVMD28, 9 allel ile VrZAG62 ve VVMD7, 8 allel ile VrZAG79 ve VVMD31, 7 allel ile VVMD24 ve 6 allel ile VrZAG83 ve VVIB01 lokusları izlemiştir. En az alleli ise 4 allel ile VMC2C3 lokusu vermiştir. Diğer taraftan VMC2H4 lokusu, Goto-Yamamoto *et al.* 2006 ve Vouillamoz *et al.* 2006, VVMD5 lokusu, Lin and Walker 1998, Labra *et al.* 1999, Sefc *et al.* 2000, Fatahi *et al.* 2003, Ibanez *et al.* 2003, Snoussi *et al.* 2004, Constantini *et al.* 2005 ve Vouillamoz *et al.* 2006, VVMD27 lokusu, Bowers *et al.* 1999, VVMD28 lokusu, Lin and Walker 1998, Bowers *et al.* 1999, Ibanez *et al.* 2003 ve Vouillamoz *et al.* 2006 çalışmalarında da yüksek allel veren lokuslar arasında yer almaktadır.

Araştırmada, beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho) oranı ortalaması sırasıyla 0.72 ve 0.76 olarak bulunmuştur. VMC2C3, VrZAG79, VVMD27, VVMD28, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4 ve VrZAG83 lokuslarında gözlenen

heterozigotluk (Ho) yüksek bulunurken, VVMD5, VVMD24, VVS2, VVMD7, VVIH54 ve VVMD31 lokuslarında ise beklenen heterozigotluk (He) yüksek bulunmuştur. Bu lokuslarda, null allellerin frekansı (r) pozitif olmakla birlikte değerlerinin düşük olması nedeni ile null allel varlığından şüphelenilmemektedir (Çizelge 4.3).

Tespit olasılığı (PI) değeri tüm lokuslarda, Sefc *et al.* (2001)'nin belirttiği 0.05 değerinden yüksek çıkmıştır. Bu da, bu seçilen mikrosatelit markörlerin asmada gerçekten yüksek derecede polimorfik olduklarını göstermektedir. En düşük PI değeri ile VMC2H4 (0.075) ve VVS2 (0.077), markörleri çalışılan mikrosatelit markörler arasında en fazla bilgi verici markörler olup araştırmamızdaki genotipleri en iyi şekilde ayırt etmişlerdir. Bir başka deyişle; bunlar, en çok ayırma özelliğine sahip olan lokuslar olmuştur.

Lokuslarda en fazla görülen allellere bakıldığında, VVMD5 lokusunda, 0.43137 allel frekansı ile 233, VMC2C3 lokusunda, 0.40196 allel frekansı ile 163 ve 167, VrZAG79 lokusunda 0.33333 allel frekansı ile 250, VVMD24 lokusunda 0.59804 allel frekansı ile 207, VVMD27 lokusunda 0.33333 allel frekansı ile 183, VVMD28 lokusunda 0.27451 allel frekansı ile 257, VVS2 lokusunda 0.34314 allel frekansı ile 143, VrZAG62 lokusunda 0.49020 allel frekansı ile 188, VVIB01 lokusunda 0.48039 allel frekansı ile 296, VMC2H4 lokusunda 0.27451 allel frekansı ile 214, VVMD7 lokusunda 0.32353 allel frekansı ile 246, VVIH54 lokusunda 0.43137 allel frekansı ile 164, VVMD31 lokusunda 0.43137 allel frekansı ile 209 ve VrZAG83 lokusunda 0.45098 allel frekansı ile 191 allelleri en fazla frekansı vererek genotipler arasında en çok görülen alleller olmuşlardır. VrZAG79 lokusunda en fazla görülen 250, VVMD27 lokusundaki 177, VVMD28 lokusundaki 257, VVS2 lokusunda 143 ve VMC2H4 lokusunda 214 ve VVMD7 lokusunda 246 allelleri referans çeşitlerde görülmemiştir. Diğer taraftan allel büyüklükleri ile ilgili bir diğer dikkat çekici nokta ise; Amasya (11) ve Amasya (29) çeşitleri VVS2 lokusunda 2, VrZAG83 lokusunda sadece 1 allel tarafından ayrılmış, diğer 120 allelde aynı allel büyüklüğünü göstermiştir. %96 oranında benzerlik gösteren Kalecik Karası (23) ve Kalecik Karası (38) çeşitleri ise; yalnızca VVMD24 ve VrZAG79 lokuslarında 1'er allel tarafından ayrılmış diğer 121 allelde aynı büyüklüğü göstermiştir.



SSR lokuslarının allel büyüklüğü açısından aynı fakat farklı isimlendirilmiş çeşitleri sinonim olarak adlandırılırken, aynı isimli fakat allel büyüklüğü itibari ile farklı olan çeşitler genetik tanımlamalarda homonim olarak adlandırılmaktadır. Asma gen kaynaklarının tanımlanmasında; temel amaç kimlik verilerinin ve genetik ilişkilerin ortaya çıkarılması olmakla birlikte gen kaynaklarında tam genotip sayısını belirlemeye yönelik homonim/sinonim genotiplerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda SSR markörlerin bu amaçla başarı ile kullanıldığı (Ibáñez *et al.* 2003, Martín *et al.* 2003, This *et al.* 2004, Vouillamoz *et al.* 2006, Şelli *et al.* 2007) bilinmektedir. Araştırma sonuçları dikkate alındığında; 2 aynı genotip (isim ve allel büyüklükleri aynı olan) tespit edilmiştir. Bunlar Erkek Üzüm 16 ve 33 ile Gül Üzümü 20 ve 34'dür. Homonimler ise; Deve Gözü(32) - Deve Gözü(39), Kalecik Karası(23) - Kalecik Karası(38), Gelin Üzümü (Gelin Parmağı)(3) - Gelin Üzümü(18), Tombak Ayaş(25) - Tombak Ayaş (Büzgülü)(35) ve Amasya (11) - Amasya(29) olmak üzere 5 adettir. 4 Sinonim çeşit bulunmuş olup bunlar ise; Balballı(1) - Erolan(2), Kara Gevrek Üzümü(4) - Söbü Kara(5), Sungurlu(Hasandede)(6) - Keskin Üzümü(44) ve Ayaş Üzümü(41) - Merzi Zirgesi(46)'dir (Çizelge4.5).

Daha önceki çalışmalarda, Türk çeşitlerinde sinonim ve homonim genotiplerin yaygınlığı değişik araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Ergül *et al.* 2006, Karağaç 2006, Vouillamoz *et al.* 2006, Şelli *et al.* 2007, Karataş *et al.* 2007). Araştırma sonuçlarından anlaşılacağı üzere homonim (Ankara'dan 5 durum) ve sinonim (Ankara'dan 3, Çankırı'dan 1, Ankara-Çankırı'dan 1 durum) çeşitlerin yüksek oranda olduğu görülmektedir. Bu ise özellikle Ankara bölgesinde çeşit karmaşası yaşandığının bir işaretidir. Aynı isimle adlandırılan homonim çeşitlerin birbirine aynı olmaması yanlış adlandırmadan kaynaklanabileceği gibi her bir çeşit içerisinde zamanla ortaya çıkan varyasyonları (klon, tip vb) göstermektedir. Sinonim çeşitler dikkate alındığında ise aynı genotipin yanlış olarak farklı isimle adlandırılmış olabileceği fikri uyanmaktadır. Çalışmamızda kullanılan referans çeşitler Cabernet Sauvignon ve Merlot diğer araştırmacılar (Bowers *et al.* 1999, This *et al.* 2004, Şelli *et al.* 2007) tarafından da çalışılmış ve 15 lokusta da aynı lokustaki iki allel arasındaki fark bizim sonuçlarımızla paralel bulunmuştur.

%100 benzerlik gösteren sinonim çeşitlerin dışındaki benzerlik oranları dikkate alındığında; %96.4 (38 ve 23 no'lu genotipler) olarak saptanmışken, 43 numaralı çeşit 1 ve 2 numaralı genotiplere %85.7 oranında benzerlik göstermektedirler, 36 numaralı çeşit ise 27 numaralı genotipe %92.9 oranında benzerlik göstermektedir. Diğer çeşitlerin birbirlerine benzerlik oranları %85.7'nin altındadır.

İlişkilendirme dendogramı temel olarak 5 gruba ayrılmış olup, grup 1, 2, 3 ve 5 sırası ile 5, 40, 2, 2 sayıda Türk çeşidi içerirken, referans çeşitler grup 4'ü oluşturmuştur. Çankırı çeşitleri dendogramda Ankara çeşitleri içerisinde dağılım gösterirken, 3-21 (grup 5) no'lu genotipler ile referans çeşitlerinin (grup 4) birbirleri ile ikili bağlantı göstermelerine karşın diğer Türk çeşitlerinden uzak bir dallanma gösterdiği görülmektedir.

Çeşitler bazında gerek genetik ilişkiler gerekse sinonim/homonim durumlar dikkate alınarak yapılacak yorumlar ise şu şekilde sıralanabilir:

“Aynı genotip” olarak adlandırılan çeşitlere bakıldığında (Çizelge 4.5);

Erkek üzümün 16 ve 33 no'lu genotipleri ile Gül üzümünün 24 ve 34 no'lu genotiplerinin aynı allel büyüklüklerini vermesi beklenen bir durumdur.

“Sinonim” olarak adlandırılan çeşitlere bakıldığında (Çizelge 4.5);

2 no'lu sinonimde yer alan; Kara Gevrek Üzümlü ve Söbü Kara genotiplerinin Ankaradan alınması ve morfolojik verilerin (Çizelge 3.1) benzer olması sinonim durumlarını destekler niteliktedir. Diğer taraftan 4 no'lu sinonim de yer alan ve Çankırı'dan alınan Ayaş üzümü ile Merzi Zirgesi çeşitleri, aralarında morfolojik veriler bakımından uyumlu değildir. Diğer taraftan bu dört çeşidin (sinonim 2 ve 4 çeşitleri) dendogramdaki (Şekil 4.10) yerlerine bakıldığında, 4 çeşidin birbirleri ile de % 90 üzerinde yakınlık gösterdiği görülmektedir. Bu verilerden Söbü karının bir Karagevrek çeşidi olabileceği, yine Çankırı'dan alınan Ayaş üzümü ve Merzi Zirgesi'nin Karagevrek ile yakın bağlantılı çeşitler olabileceği fikrini uyandırmaktadır.

“Homonom” olarak adlandırılan çeşitlere bakıldığında (Çizelge 4.5);

Çoğunluğunun klonal varyasyon gösteren çeşitler olduğu moleküler çalışmalarla kanıtlanmıştır (Ergül vd. 2002b, Ergül *et al.* 2004, 2006). Bu bulgular araştırma sonuçlarımızı destekler nitelikte olup; homonim bulunan her çeşide (Deve Gözü (32-39), Kalecik Karası (23-38), Gelin Üzüümü (3-18), Tombak Ayaş (25-35) ve Amasya (11-29) ait genotiplerin o çeşidin genetik varyasyona uğramış klon ve tipleri olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Akkurt, M., Welter, L., Töpfer, R., and Zyprian, E. 2007. Development of SCAR markers linked to downy mildew (*Plasmopora viticola*) resistance in grapevine (*Vitis vinifera* L. and *Vitis* sp.). *Mol. Breeding*. 19:103-111.
- Alleweldt, G. and Dettweiler, E. 1994. The genetic resources of *Vitis*: World list of grapevine collections, 2<sup>nd</sup> edn. BAZ IRZ Geilweilerhof, Siebeldingen.
- Alleweldt, G. and Possingham, J.V. 1988. Progress in grapevine breeding. *Theor. Appl. Genet.* 75:669-673.
- Aradhya, M.K., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.M., Walker, M.A., Meredith, C.P. and Simon, C.J. 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. *Genet. Res. Camb.* 81; 179-192.
- Arroyo-Garcia, R., and Martinez-Zapater, J.M. 2000. Characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci and chloroplast microsatellites in grape *Vitis vinifera* L. *Plant & Animal Genomes VIII. Conference*. Town & Country Hotel. San Diego, CA.
- Arroyo-Garcia, R., Ruiz-Garcia, L., Ağaoğlu, Y.S., Botta, R., Cabello, F., Cenis, J., Constantini, L., Gorislavets, S., Risovannaya, V., Ergül, A., Grandó, S., McGovern, P., Pejic, I., Primikiriös, N., Sefc, K., Sotiri, P., Steinkellner, H., Troshin, L., Zyka, L., Lefort, F. and Martinez-Zapater, J.M. 2002. The analysis of *Vitis* Chloroplast genome polymorphisms around the Mediterranean sea provide clues to understand grapevine domestication. *Plant Animal & Microbe Genomes X Conference*. Town & Country Convention Center. San Diego, CA.
- Arroyo-Garcia, R., Bolling, L., Ruiz-Garcia, L., Ocete, R., Söylemezoğlu, G., Aras, S., Uzun, İ. and Martinez-Zapater, J.M. 2004. Chloroplasts haplotype distribution in *Vitis vinifera* L. along the Mediterranean basin and the pattern of domestication of wine grapevine cultivars. *Plant & Animal Genomes XII. Conference*. Town & Country Convention Center. San Diego, CA.

- Arroyo-García, R., Ruiz-García, L., Bolling, L., Ocete, R., López, M.A., Arnold, C., Ergul, A., Söylemezo"Lu, G., Uzun, H.I., Cabello, F., Ibáñez, J., Aradhya, M.K., Atanassov, A., Atanassov, I., Balint, S., Cenis, J.L., Costantini, L., Gorislavets, S., Grando, M.S., Klein, B.Y., Mcgovern, P.E., Merdinoglu, D., Pejic, I., Pelsy, F., Primikirios, N., Risovannaya, V., Roubelakis-Angelakis, K.A., Snoussi, H., Sotiri, P., Tamhankar, S., This, P., Troshin, L., Malpica, J.M., Lefort, F. and Martinez-Zapater, J.M. 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms, *Molecular Ecology* 15 (12) , 3707–3714
- Bowers, J. E. and Meredith, C.P. 1997. The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon . *Nat. Genet.* 16; 84-87.
- Bowers, J. E., Dangl, G.S. and Meredith, C.P. 1999. Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *Am. J. Enol. Vitic.*, 50 (3); 243-246.
- Brookfield, J.F.Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Mol Ecol* 5; 453-455.
- Costantini, L., Monaco, A., Vouillamoz, J.F., Forlani, M. and Grando, M.S. 2005. Genetic relationships among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). *Vitis* 44 (1); 25-34.
- Crespan, M. and Milani, N. 2001. The Muscats: A molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationship within a large family of grapevine cultivars. *Vitis* 40 (1); 23-30.
- Crespan, M., Cancellier, S., Costacurta, A., Guist, M., Carraro, R., Stefano, R. and Santangelo, S. 2003. Contribution to the clearing up of synonymies in some groups of Italian grapevine cultivars. *Proc. VIII<sup>th</sup> IC on Grape, Acta Horticulturae.* No: 603; 275-289.
- Dettweiler, F., Jung, A., Zyprian, E. and Töpfer, R. 2000. Grapevine cultivar Müller-Thurgau and its true to type descent. *Vitis* 39;63-65.

- Dilli, Y. 2008. Ege Bölgesindeki Bazı Önemli Üzüm Çeşitleri, Tipleri Ve Klonlarının Mikrosatelit (SSR) Markörleriyle Karakterizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 94s.
- Ergül, A. 2000. Asmalarda (*Vitis vinifera* L.cvs.) Genomik DNA Parmak İzi Analizi ile Moleküler Karakterizasyon, Doktora Tezi,86s
- Ergül, A., Marasalı, B., Ağaoğlu, Y. S. 2002a. Molecular discrimination and identification of some Turkish grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) by RAPD markers. *Vitis* 41, 159-160.
- Ergül, A., Aras, S., Söylemezoğlu, G. ve Ağaoğlu, Y. S. 2002b. Kalecik karası Üzüm Çeşidi Klonlarında AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Tekniği ile Polimorfizmin Belirlenmesi ,” Türkiye V. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu. Bildiriler 5-9 Ekim 2002, s:31-37, Cappadocia (Nevşehir), 2002.
- Ergül, A., Kazan, K., Aras, S., Çevik, V., Çelik, H. and Söylemezoğlu, G. 2006. AFLP analysis of genetic variation within the two economically important Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) varietal groups. *Genome* 49, 467-495.
- FAO. 2006. The state of food and agriculture
- Faria, M. A., Magalhães, R., Ferreira, M.A, Meredith, C.P. and Ferreira - Monteiro, F. 2000. *Vitis vinifera* must varietal authentication using microsatellite DNA analysis (SSR). *J. Agric. Food Chem.* 48, 1096-1100.
- Fatahi, R., Ebadi, A., Bassil, N., Mehlenbacher, S.A and Zamani, Z. 2003. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 42 (4); 185-192.
- Fischer, B. M., Salakhudtinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K. J., Töpfer, R. and Zyprian, E. M. 2004. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factor on a molecular map of grapevine *Theor. Appl. Genet.* 108 (3), 501-515.
- Fossati, T., Labra, M., Castiglione, S., Failla, O., Scienza, A. and Sala, F. 2001. The use of AFLP and SSR molecular markers to decipher homonyms and synonyms in grapevine cultivars: the case of varietal group known as “Schiave”. *Theor. Appl. Genet.* 102; 200-205.

- Grando, M.S., Frisinghelli, C. and Stefanini, M. 2000. Genotyping of local grapevine germplasm. ISHS Acta Horticulturae 528: VII. International Symposium on Grapevine Genetics and Breeding, May 2000, Montpellier, France.
- Goto-Yamamoto, N., Mouri, H., Azumi, M. and Edwards, K.J. 2006. Development of grape microsatellite markers and mikrosatellite analysis including oriental cultivars. Am. J. Enol. Vitic. 57 (1); 105-108.
- 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.
- Karaağaç, E. 2006. Gaziantep İli Asma Gen Potansiyelinin SSR (Simple Sequence Repeats) Markörlerle Moleküler Analizi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.Doktora Tezi. 89s.(yayınlanmamış)
- Karataş, H., Değirmenci, D., Velasco, R., Vezzulli, S., Bodur, Ç. and Ağaoğlu, Y.S. 2007. Microsatellite fingerprinting of homonymous grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties in neighboring regions of South-East Turkey, Sci. Horticult. (2007), doi: 10.1016 /j.scienta. 2007.07.001
- Lefort, F., Lally, M., Thompson, D., and Douglas, G.C. 1998. Morphological traits, microsatellite fingerprinting and genetic relatedness of a stand of elite oaks (*Q. robur* L.) at Tullyally, Ireland. Silvae Genetica 47:257–262.
- Lefort, F., Pelsy, F., Schehrer, L., Scott, K.D. and Merdinoglu, D. 2003. Assessment of two highly polymorphic microsatellite loci in 103 accessions of *Vitis* species. J. Int. Sci. Vigne, 37 (2); 67-74.
- Lin, H., and Walker, M.Andrev. 1998. Identifying Grape Rootstocks With Simple Sequence Repeat (SSR) DNA Markers. Am.J.Enol.Vitic., Vol. 49, No.4
- 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.
- Maletic, E., Sefc, K.M., Steinkellner, H., Kontic, J.K. and Pejic, I. 1999. Genetic characterization of Croatian grapevine cultivars and detection of synonymous cultivars in neighboring regions. Vitis 38 (2); 79-83.

- 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.
- Merdinoglu, D., Butterlin, G., Baur, C., Balthazard, J., Bouquet, A. and Boursiquot, J.M. 2000. Comparison of RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for genetic diversity analysis in *Vitis vinifera* L.. *Acta Horticulturae*, 528; 193-197.
- Merdinoglu, D., Wiedeman-Merdinoglu, S., Coste, P., Dumas, V., Haetty, S. and Butterlin, G., 2003. Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia*. *ISHS Acta: VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding. Horticulturae* 603; 451-456.
- Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D.B., Feldman, M. and Cavalli-Sforza, L.L. 1995. Microsat (version 1.4d): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data. Stanford. California, University of Stanford.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*, 106-107. Columbia University Press, New York.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. and Strobeck, C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.* 4; 347-354.
- Perret, M., Arnold, C., Gobat, J.M. and K pfer, P. 2000. Relationships and genetic diversity of wild and cultivated grapevines (*Vitis vinifera* L.) in Central Europe based on microsatellite markers. *Acta Hort.* 528; 155-159.
- Reale, S., Pilla, F. and Angiolillo, A. 2002. Molecular characterization of an autochthonous grape cultivar of Central Italy. *Proceedings of the XLVI Italian Society of Agricultural Genetics-SIGA Annual Congress Giardini Naxos, Italy, 18-21 September.*
- Regner, F., Wiedeck, E. and Staldbauer, A. 2000a. Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers. *Vitis* 39 (3); 103-107.
- Regner, F., Staldbauer, A., Eisenheld, C. and Kaserer, H. 2000b. Consideration about the evolution of grapevine and the role of Traminer. *Proc. VIIth Int. Symp. on Grapevine Genetics and Breeding. Acta Hort.* 528; 177-179.



- Regner, F., Staldbauer, A. and Eisenheld, C. 2001. Molecular markers for genotyping grapevine and for identifying clones of traditional varieties. Proc. Int. Symp. on Molecular Markers. Acta Hort. 546; 331-342.
- Riaz, S., Garrison, K.E., Dangl, G.S. and Meredith, C.P. 2001. Mikrosatellite markers for the differentiation of clones of ancient grape cultivars. Plant & Animal Genomes IX Conference. Town & Country Hotel. San Diego, CA.
- Riaz, S., Dangl, G.S., Edwards, K.J. and Meredith, C.P. 2004. A microsatellite marker based framework linkage map of *Vitis vinifera* L. Theor. Appl. Genet. 108; 864-872.
- Sánchez-Escribano, E. M., Martín, J.P., Carreño, J. and Cenis, J.L. 1999. Use of sequence-tagged microsatellite site markers for characterizing table grape cultivars. Genome 42; 87-93.
- Sefc, K.M., Steinkellner, H., Wagner, H.W., Glössl, J. and Regner, F. 1997. Application of microsatellite markers to parentage studies in grapevine. Vitis 36 (4); 179-183
- Sefc, K.M., Regner, F., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998a. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. Vitis 37 (1); 15-20.
- Sefc, K.M., Guggenberger, S., Regner, F., Lexer, C., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998b. Genetic analysis of grape berries and raisins using microsatellite markers. Vitis 37 (3); 123-125.
- Sefc, K.M., Lopes, M.S., Lefort, F., Botta, R., Roubelakis-Angelakis, K.A., Ibañez, J., Pejic, I., Wegner, H.W., Glössl, J. and Steinkellner, H. 2000. Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars. Theor. Appl. Genet. 100; 498-505.
- 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.

- Schneider, A., Carra, A., Akkac, A., This, P., Laucau, V. and Botta, R. 2001. Verifying synonymies between grape cultivars from France and Northwestern Italy using molecular markers. *Vitis* 40 (4); 197-203.
- Schneider, A., Carra, A., Boccacci, P., Akkac, A. and Botta, R. 2003. Ampelographic surveys and analysis using molecular markers for verification of synonym of minor grapes. *Source Vigne*. Gruppo Calderini Edagricole Srl, Bologna, Italy. 30 (1/2); 103-111.
- Snoussi, H., Harbi Ben Slimane, M., Ruiz-Garcia, L., Martinez-Zapater, J. M. and Arroyo-Garcia, R. 2004. Genetic relationship among cultivated and wild grapevine accessions from Tunisia. *Genome* 47: 1211-1219
- Söylemezoğlu, G., Ağaoğlu, Y.S. and Uzun, H.İ. 2001. Ampelographic Characteristics and Isozymic Analysis of *Vitis vinifera* spp. *sylvestris*. in Southwestern Turkey. *Biotechnology & Technological Equipment*. 15/2001/2.106-113. Diagnosis Press. ISSN 1310-2818.
- Söylemezoğlu, G., Boz, Y., Özer, C., Çelik, H., Türkoğlu, M. ve Ergül, A. 2005. İskenderiye Misketi Üzüm Çeşidinin Ülkemiz Misket Grubu Çeşitleri ile AFLP'ye Dayalı Genetik Benzerlikleri Üzerinde Bir Araştırma. Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu. 19-23. Eylül 2005.
- Şelli, F., Bakır, M., İnan, G., Aygün, H., Boz, Y., Yaşasın, A.S., Özer, C., Akman, B., Söylemezoğlu, G., Kazan, K. and Ergül, A. 2007. Simple sequence repeat-based assessment of genetic diversity in Dimrit and Gemre grapevine accessions from Turkey, *Vitis* 46(4), 182-187.
- This, P., Cuisset, C. and Boursiquot, J.M. 1997. Development of stable RAPD markers for the identification of grapevine rootstocks and the analysis of genetic relationships. *Am. J. Enol. Vitic.* 48; 492-501.
- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Constantini, L., Crespan, M., Dangl, G.S., Eisenheld, C., Ferreria-Montteiro, F., Grando, S., Ibáñez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhães, R., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L. and Maul, E. 2004. Development of a

- standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 109; 1448-1458.
- Thomas, M.R., Scott N.S. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequenced-tagged sites (STSs). *Theor. Appl. Genet.* 86:985-990
- Thomas, M.R., Cain, P. and Scott, N.S. 1994. DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. *Plant Mol. Biol.* 25; 939-949.
- Ulavovsky, S., Gogorcena, Y., Martinez de Toda and Ortiz, J. M. 2002. Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae* 92; 241-254.
- Velasco R, Zharkikh A, Troggio M, Cartwright DA, Cestaro A, *et al.* 2007. A High Quality Draft Consensus Sequence of the Genome of a Heterozygous Grapevine Variety. *PLoS ONE* 2(12): e1326. doi:10.1371/journal.pone.0001326
- Vignani, R., Bowers, J.E. and Meredith, C.P. 1996. Mikrosatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinifera* “Sangiovese”. *Scientia Horticulturae* 65; 163-169.
- Vignani, R., Scali, M., Masi, E. and Cresti, M. 2002. Genomic variability in *Vitis vinifera* L. “Sangiovese” assessed by microsatellite and non-radioactive AFLP test. *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol. 5 No: 1 (www. ejb.ucv.cl).
- Vouillamoz , J.F., Grando, M.S., Ergül, A., Ağaoğlu, Y.S., Tevzadze, G., Meredith, C.P. and McGovern, P. 2003. “Is Transcaucasia the cradle of viticulture?” DNA might provide an answer”. Communication for the III. Symp. of the International Association of History and Civilization of the Vine and the Wine, Funchal (Madeira) October 5-8, 2003.
- Vouillamoz, Jose F., McGovern, Patrick E., Ergul, A., Söylemezoğlu, G., Tevzadze, G., Meredith, Carol P., Grando, M. Stella. 2006. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genetic Resources* 4(2): 144-158.

- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., and Zabeau, M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23; 4407-4414.
- Ye, G.N., Söylemezoğlu, G., Weeden, N.F., Lamboy, W.F., Pool, R.M. and Reisch, B.I., 1998. Analysis of the relationship between grapevine cultivars, sports and clones via DNA fingerprinting. *Vitis*, 37(1):33-38.
- Wagner, H.W. and Sefc, K.M. 1999. IDENTITY 1.0. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Science, Vienna.
- Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acids Res.* 18 (24);7213-7218.
- Welter, L. J., Göktürk-Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R. and Zyprian, E. 2007. Genetic mapping and localisation of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera*/ L.). *Mol. Breed.*, 20:359-374.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Funda YILDIRIM  
**Doğum Yeri** : Ankara  
**Doğum Tarihi** : 17.03.1982  
**Medeni Hali** : Evli  
**Yabancı Dili** : İngilizce ve Almanca

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Ankara Cumhuriyet Lisesi (1996-2000)  
Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim Lisans Programı (2001- 2006)  
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü- AÜ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (Eylül 2006 - Ağustos 2008)

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı (2006 - halen devam etmekte).