

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**VAN İLİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN *Rosa canina* L. GENOTİPLERİNİN
TOPLAM FENOLİK İÇERİKLERİ İLE MOLEKÜLER AÇIDAN AKRABALIK
İLİŞKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Çağla PARLAR
DANIŞMAN: Doç. Dr. Ferit ÇELİK

VAN-2015

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**VAN İLİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN *Rosa canina* L. GENOTİPLERİNİN
TOPLAM FENOLİK İÇERİKLERİ İLE MOLEKÜLER AÇIDAN AKRABALIK
İLİŞKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Çağla PARLAR

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2014-FBE-YL032
No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2015

KABUL VE ONAY SAYFASI

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Ferit ÇELİK danışmanlığında, Zir. Müh. Çağla PARLAR tarafından sunulan "VAN İLİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN *Rosa canina* L. GENOTİPLERİNİN TOPLAM FENOLİK İÇERİKLERİ İLE MOLEKÜLER AÇIDAN AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN İNCELENMESİ " isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince ~~30/01~~/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile başarılı bulunmuş ve **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan:
Prof. Dr. Şefik TÜFENKÇİ

İmza:



Üye:
Doç.Dr. Ferit ÇELİK

İmza:



Üye:
Yrd.Doç.Dr. Adnan DOĞAN

İmza:



Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~06.02.2015~~ tarih ve ~~2015/5-I~~ sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof.Dr.Dr.Turgut AYGÜN
Enstitü Müdürü

İmza

Enstitü Müdürü



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Çağla PARLAR

ÖZET

VAN İLİNDE DOĞAL OLARAK YETİŞEN *Rosa canina* L. GENOTİPLERİNİN TOPLAM FENOLİK İÇERİKLERİ İLE MOLEKÜLER AÇIDAN AKRABALIK İLİŞKİLERİNİN İNCELENMESİ

PARLAR, Çağla
Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ferit ÇELİK
Ocak 2015, 73 sayfa

Bu çalışma, 2014 yılında Van merkezde yetişen 22 adet kuşburnu genotipleri üzerinde yürütülmüştür. Toplam fenolik, renk tayini (meyve, yaprak, çiçek) ve SRAP yöntemi ile moleküler akrabalık ilişkileri belirlenmiştir. Toplam fenolik maddeler 1511,42-1864,76 mg GAE/100g değerler arasında bulunmuştur. Renk değerleri L* (29.40-33.92), a* (25.82-34.84), b* (17.31-27.61), Chroma (31.25-39.61), Hue (30.51-37.00) değerleri belirlenmiştir. Genotiplerin genetik analizlerinde polimorfizm oranları % 50-100 değerler arasında değişmektedir. SRAP analizi sonucunda genotiplerde 3 farklı gruplar oluşmuş en yakın 0.0928 benzerlik oranları ile VMR9-VMR15, en uzak 0.7463 benzerlik oranları ile VMR17-VMR21 genotiplerinde ortaya çıkmıştır. Ortalama polimorfizm içeriği (PIC) 0.086-0.495 değerleri arasında değişim gösterdiği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Van, *Rosa canina*, toplam fenolik, SRAP

ABSTRACT

STUDY ON RELATIONSHIPS WITH REGARD TO MOLECULAR AND TOTAL PHENOLIC CONTENTS OF *Rosa canina* L. GENOTYPES NATURALLY GROWING IN VAN PROVINCE

PARLAR , Çağla
M. Sc., Horticulture Department
Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ferit ÇELİK
January 2015, 73 pages

In this study, it was studied on 22 genotypes of rosehip grown in the center of Van in 2014. Molecular relationships were determined with total phenolic, color identification (from fruit, leaf and flower) and SRAP method. Total phenolic substances were found between the values of 1511,42 and 1864,76 mg GAE/100g. Color values were determined for L* (29.40-33.92), a* (25.82-34.84), b* (17.31-27.61), Chroma (31.25-39.61) and Hue (30.51-37.00). Polymorphism rates in the genetic analysis of genotypes range from 50 % to 100 %. As a result of the SRAP analysis, 3 different groups were formed to genotypes; the lowest similarity level was found 0.0928 between VMR9 and VMR-15 genotypes, while the highest one for VMR17 and VMR21 genotypes with 0.7463. It was determined that average polymorphism content (PIC) ranged from 0.086 to 0.495.

Key words: Van, *Rosa canina*, total phenolic, SRAP

ÖN SÖZ

Bu tezin planlanmasından sonuçlandırılmasına kadar geçen her aşamada bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim çok değerli hocam Doç. Dr. Ferit ÇELİK'e, yaptığı öneri ve katkılar ile çalışmaya zenginlik katan Yrd. Doç. Dr. Adnan DOĞAN'a, çalışmalar sırasında laboratuvar çalışmalarında, malzeme kullanımında ve sonuçların istatistiki değerlendirmelerinde yardım ve destekleri için Prof. Dr. Sami DOĞANLAR, Prof. Dr. Sıddık KESKİN, Doç. Dr. Şevket ALP, Yrd. Doç. Dr. Nurhan KESKİN ve Dr. Ali UNCU'ya çok teşekkür ederim.

Yüksek Lisans tez projemi (2014-FBE-YL032) destekleyen YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na ile YYÜ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanlığına teşekkür ederim.

Tez çalışmalarına katkılarından dolayı can dostum Zir. Müh.Rana BAYTİN'e şükranlarımı sunarım.

Eğitim hayatım boyunca ilgi, sabır ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme ve can dostumun ailesine teşekkürlerimi borç bilirim.

2015

Çağla PARLAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ	3
2.1. Fenolik Bileşikler.....	5
2.1.1. Fenolik maddelerin insan sağlığı üzerine etkileri.....	6
2.2. Renk Tayini.....	7
2.3. Moleküler	8
2.3.1. DNA dizisinin belirlenmesi	8
2.3.1.1. Bitkisel materyalin sağlanması ve DNA izolasyonu	10
2.3.1.2. DNA' nın analizi	11
2.3.1.2.1. Spektral yöntemler	11
2.3.1.3. Agaroz jel elektroforezi	12
2.3.1.4. PCR	13
2.3.1.5. Markır tipleri	15
2.3.1.5.1. Morfolojik markırlar	15
2.3.1.5.2. Biyokimyasal markırlar	15
2.3.1.5.3. DNA markırları	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Materyal	22
3.2. Yöntem	22
3.2.1. Toplam fenolik bileşik ve renk tayini için ekstrelerin hazırlanması	22
3.2.1.1. Toplam fenolik bileşiklerin belirlenmesi	22
3.2.1.2. Renk tayini	24

	Sayfa
3.2.2. Moleküler karakterizasyon çalışmaları	25
3.2.2.1. DNA ekstraksiyonu	25
3.2.2.2. SRAP analizleri	28
3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi	31
3.3.1. Toplam fenolik bileşiklerin ve renk tayininin belirlenmesi	31
3.3.2. DNA kalite ve kantitesinin belirlenmesi	31
3.3.3. Primerlerin polimorfizm oranlarının belirlenmesi	31
3.3.4. Benzerlik indeksleri ve dendogramların oluşturulması	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	32
4.1. Toplam Fenolik Bileşikler ve Renk Tayinine Ait Bulgular	32
4.1.1. Toplam fenolik	32
4.1.2. Renk tayini	36
4.1.2.1. Meyvede renk	37
4.1.2.2. Yaprakta renk	40
4.1.2.3. Çiçekte renk	44
4.1.3. Çalışılan genotiplerin botanik tanımlanması	48
4.1.4. Moleküler çalışmalara ait bulgular	51
4.1.4.1. SRAP analizleri sonuçları	51
4.1.4.2. SRAP analizleri sonucu elde edilen dendogramın değerlendirilmesi	58
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	65
ÖZ GEÇMİŞ	73

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge		Sayfa
Çizelge 3.1.	SRAP analiz aşamasında kullanılan Reverse primerleri.....	28
Çizelge 3.2.	SRAP analiz aşamasında kullanılan Forward primerleri.....	28
Çizelge 3.3.	SRAP PCR protokolü.....	29
Çizelge 4.1.	Genotiplerin toplam fenolik madde miktarları.....	33
Çizelge 4.2.	Toplam fenolik ve renk değerleri kümeleme analiz sonuçları	35
Çizelge 4.3.	Meyvede L* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	37
Çizelge 4.4.	Meyvede a* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	38
Çizelge 4.5.	Meyvede b* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	39
Çizelge 4.6.	Meyvede Chroma değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	39
Çizelge 4.7.	Meyvede Hue değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	40
Çizelge 4.8.	Yaprakta L* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	41
Çizelge 4.9.	Yaprakta a* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	42
Çizelge 4.10	Yaprakta b* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	42
Çizelge 4.11.	Yaprakta Chroma değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	43
Çizelge 4.12.	Yaprakta Hue değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	44

Çizelge		Sayfa
Çizelge 4.13.	Çiçekte L* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	45
Çizelge 4.14.	Çiçekte a* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	45
Çizelge 4.15.	Çiçekte b* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	46
Çizelge 4.16.	Çiçekte Chroma değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	46
Çizelge 4.17.	Çiçekte Hue değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.....	47
Çizelge 4.18.	Kuşburnu türlerinin özellikleri	48
Çizelge 4.19.	Kuşburnu çeşitlerinde kullanılan 17 SRAP primer Kombinasyonun istatistiksel verileri.....	55
Çizelge 4.20.	22 Kuşburnu genotipine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen benzerlik indeksi.....	61

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. DNA nın analiz aşamaları.....	9
Şekil 2.2. PCR reaksiyonu ve aşamaları.....	15
Şekil 3.1. Toplam Fenolik.....	23
Şekil 3.2. Gallik asidin kalibrasyon grafiği.....	23
Şekil 3.3. L*, a*, b* renk değişimleri.....	24
Şekil 3.4. DNA izolasyon aşamaları.....	27
Şekil 3.5. PCR cihazları.....	29
Şekil 3.6. Agaroz jel aşamaları.....	30
Şekil 4.1. Toplam fenolik ve renk tayini dendogramı.....	34
Şekil 4.2. Yirmiiki Kuşburnu genotipine ait çiçek ve yaprak resimleri.....	49
Şekil 4.3. Em6-Me6 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri.....	56
Şekil 4.4. Em10-Me7 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri...	56
Şekil 4.5. Em12-Me8 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri...	56
Şekil 4.6. Em13-Me2 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri...	57
Şekil 4.7. Em14-Me12 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri..	57
Şekil 4.8. Em17-Me11 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri..	57
Şekil 4.9. 22 Kuşburnu genotipine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen dendogram.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simge	Açıklama
%	Yüzde
°C	Santigrad Derece
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
bp	Base pair
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimol
ng	Nanogram
nm	Nanometre
pg	Pikogram

Kısaltma	Açıklama
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
BME	B-mercaptoethanol
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromide
dATP	deoxy adenosine trifosfat
dCTP	deoxy cytidine trifosfat
dGTP	deoxy guanosine trifosfat
DNA	Deoxyribonucleic acid
dNTP	dATP, dCTP, dGTP, dTTP
dTTP	deoxy thymide trifosfat
EDTA	Ethilenediaminetetraacetikasit
ISSR	inter-simple sequence repeat
OD	Optik dansite
ORF	Open reading frame (Açık Okuma Bölgeleri)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PIC	Polimorphic Information Content
PVP	Polyninylpyrrolidone
RAPD	Randomly Amplified Polimorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SDS	Sodiumdodecylsulfate
SRAP	Sekansa bağlı çoğaltılmış polimorfizm
SSR	Simple Sequence Repeat
TAE	Tris (acetete) EDTA (buffer)
Taq	Thermus aquaticus
TE	Tris EDTA(buffer)
Tris	tris (hydroxymethyl) aminomethane
VMR	Van Merkez Rosa

1. GİRİŞ

Kuşburnu gülgiller familyasında yer almakta olup, *Rosaceae* familyası *Rosaideae* alt familyası *Rosa* cinsine ait çok yıllık bir bitkidir. Halk arasında yaban gülü, gül burnu, gül elması gibi isimlerle de bilinmektedir. Bitki taç yüksekliği türlere bağlı olarak 1-3 m arasında değişen dikenli bir çalı olup çevre koşullarına karşı dayanıklılık göstermektedir. Meyve oluşmadan önce güzel kokulu pembe ve beyaz çiçekler meydana gelmektedir. Bu çiçeklerin aksenlerinin etlenmesiyle birlikte meyve oluşum süreci başlamaktadır. Çoğunlukla kızılıcığa benzeyen meyvesinin içi tüylü olup, çok sayıda sert çekirdek içermektedir. Her türlü çevre şartlarına uyum sağlayabildiği için vadilerde, bahçe çitlerinde, yol kenarlarında ve mezarlıklarda görülebilmektedir (Yamankaradeniz, 1983a).

Dünyada kuşburnu, başta Almanya olmak üzere Rusya, Türk Cumhuriyetleri, İsviçre, Polonya ve Finlandiya gibi pek çok Avrupa ülkesinde besin ve ilaç sanayisinde tercih edilen değerli bir hammaddedir (Yamankaradeniz, 1983b). Bu ülkelerde kuşburnu; başlıca bebek gıdası, meyve suyu, meyve jölesi ve çay gibi gıda sektörlerinde kullanılmaktadır. Türkiye gıda sanayisinde ise kuşburnunun ticari olarak değerlendirilmesi oldukça yeni olup kuşburnu meyvesinden pulp, nektar ve marmelat üretimi ile birlikte kuşburnu çayı ve son zamanlarda kuşburnu içeceği ve nektarı da üretilmektedir. Ticari anlamda bilinen ürünlerinin yanı sıra bölgesel olarak üretilip tüketilen pek çok ürünü bulunmaktadır (Dölek, 2013).

Kuşburnu, aslında Anadolu'da çok bilinen ve tüketilen bir meyve olup Türkiye'nin her yerinde özellikle Karadeniz bölgesinin Tokat, Gümüşhane ve Amasya çevresinde yetişmektedir. Kuşburnu, ülkemiz florasında yabani olarak yetişen ancak önemi her geçen gün biraz daha iyi anlaşılmaya başlayan bir meyve türümüzdür. Bu önemine paralel olarak kuşburnu popülasyonlarının yoğun olduğu yörelerimizde bazı seleksiyon (seleksiyon I ve/veya seleksiyon II) çalışmaları yapılmış veya yapılmaktadır (Ercişli, 1996; Güneş, 1997; Mısırlı ve ark., 1999; Kazankaya ve ark., 1999; Kızılcı, 2005; Dölek, 2008). Çeşit adayı, ümitvar genotiplerin tescil çalışmaları Tokat ve Erzincan illerinde yürütülen seleksiyon çalışmaları belli bir aşamaya gelmiş ve süreç devam etmektedir. Kültüre alma çalışmaları henüz başlangıç aşamasında olmasına

karşın kuşburnu, bölgemizde gıda sanayisinin önemli bir hammaddesidir. Tescil edilmiş çeşitlerin yaygınlaşması veya bahçelerinin kurulmasıyla birlikte daha fazla kuşburnu meyvesinin toplanması ve işlenmesi söz konusu olabilecektir.

Çoğunlukla yaprağını döken ya da nadiren herdem yeşil çalı şeklinde odunsu bitkiler içerisinde yer alan gül (*Rosa sp.*) türleri gösterilen sistematik sınıflandırmada yer alır (Anşin, 1996).

Bölüm : *Spermatophyta*
Alt Bölüm : *Angiospermae*
Sınıf : *Magnoliatae*
Alt Sınıf : *Rosidae*
Takım : *Rosales*
Familya : *Rosaceae*
Alt Familya : *Rosoidae*
Cins : *Rosa*

Ülkemizde kuşburnunda toplam fenolik madde içeriklerinin, renk değerlerinin belirlenmesi ve moleküler çalışmalar sınırlı düzeyde kalmıştır. Bu çalışma sonucunda kuşburnu meyvesinde toplam fenolik bileşik içeriklerinin değişimi, renk değerlerinin belirlenerek moleküler düzeyde tanımlamanın ortaya konulması amaçlanmıştır.

Moleküler markırların hızlı gelişimi biyoteknolojinin hızlı bir şekilde ilerlemesine olanak sağlamıştır. Moleküler markır kullanımı bu sürecin ilk basamağını oluşturmaktadır; bu nedenle büyük öneme sahiptir. Rekombinant DNA teknolojisi ile DNA'ya istenilen parçaların eklenmesi ya da çıkarılması gerçekleştirilmiş; bu da yeni ürünlerin elde edilmesine olanak sağlamıştır. Mendel genetiğine dayanan klasik ıslah çalışmalarının yerine moleküler markırların keşfi ile istenilen özelliklerin yerlerinin tespiti ve bulunan genlerin direkt aktarımı sonucu daha kesin sonuçlar elde edilmiş, klasik ıslahın dezavantajı olan istenmeyen genlerin kalıtımı bu şekilde engellenmiştir.

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

Çelik (2007), *R. canina* L. çeşidinde yaptığı seleksiyon çalışmasında, bu çeşidin oldukça poliformik bir tür, 1,5-3,5 m yüksekliğinde, dallarının çoğunlukla geriye kıvrık tırmanıcı bazen dik çalılar olduğunu vurgulamıştır. Diken yapısı oldukça kaba, geniş ve geriye kıvrıktır. Yapraklar soluk veya koyu yeşildir. Yaprakçıklar 5-7 adet olup; dar eliptikten, geniş yumurtamsı şekle kadar değişir. Çiçekler tek veya 2-15 tanesi bir aradadır. Çanak yapraklar bütün veya tüylü loblara sahip olup; çoğunlukla geri kıvrık ve çiçeklenmeden sonra dökülürler. Taç yapraklar, beyaz, açık pembe veya nadiren koyu pembeye kadar değişir. Meyve, yumurta biçiminden küre şekline kadar değişen, 1-3 cm uzunluğunda sarımsı kırmızı veya koyu pembe olup; geç olgunlaşır. Çiçeklenme zamanı 5-7. aylardır. 30-2500 m'lerde orman açıklıklarında ve kayalık yamaçlarda yaygın olduğunu ve Türkiye' nin hemen her tarafında bulunduğunu ifade etmiştir.

R. canina L. meyvesi insan sağlığına faydalı bileşenlerce zengin bir bitkinin sahip olduğu genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve koruma altına alınması gerekmektedir. Yabani olarak yetişen ve meyvesi insan sağlığına faydaları araştırmalar ile ortaya konmuş antioksidan bileşikler ve vitaminlerce zengin bu bitkinin genetik potansiyelinin anlaşılması ve programlı şekilde kültüre alınması, bitkinin gen kaynaklarının öncelikli olarak tespit edilmesi ile mümkün olacaktır.

Davis (1972)'e göre *R. canina* L. son derece taksonomik olarak problemlili bir tür olup çeşitli varyasyon gösteren formları vardır. Türkiye florasında yaprak ve pedisellerindeki tüy örtüsüne göre 3 gruba ayrılmaktadır. Bu grup özellikleri aşağıda verilmiştir

- A) Yaprakçıklar çıplak, pedisel düz
- B) Yaprakçıklar çıplak, pediseller sert salgı tüylü
- C) Yaprakçıklar kaplayıcı tüylü, en azından yaprak altı, pediseller pürüzsüz.

Kuşburnu, mayıs ve haziran aylarında çiçek açmakta, temmuz, ağustos ve eylül aylarında meyve vermektedir. Her türlü ortamda, hem gölgeli, nemli hem de açık, güneşli, kuru topraklarda yetişir. Kayalıklı yamaçlar, çalılıklar, hendek içleri, yol kenarları, orman kenarları ve açıklıkları, tarla kenarları, dere kenarları, kireçli kayalar üzerinde yetişmektedir. 5-1700 (2500) m'ler arasında yetişmektedir. Araştırma alanında geniş bir yayılım göstermektedir. Ülkemiz için kozmopolittir. Dünya üzerinde Kafkasya,

Avrupa, Türkiye, Kuzey ve Batı İran, Orta Asya, Kuzey Batı Afrika, İskandinav ülkeleri, Avrasya, Kuzey Afganistan, Lübnan, Kuzeydoğu Irak, Kuzey Pakistan, Kaşmir' de yayılış göstermektedir (Çelik, 2007).

Pawlosky ve ark., (1996); Simopoulos ve Salem (1996), makro besinler dışında fitokimyasallar, organik asitler ve bitki kaynaklı tabii bileşiklerin öneminin yeni yeni anlaşılmaya başlandığını ve fitokimyasalların serbest radikal denen vücudumuzdaki hücrelere saldıran molekülleri zararsız hale getiren antioksidan özelliğe sahip olduklarını vurgulamışlardır. Kuşburnu, mineraller, karotenoidler, tokoferol, bioflavonoidler, meyve asitleri, tanenler, pektinler, aminoasitler ve önemli yağları bünyesinde barındırmaktadır (Çınar ve Çolakoğlu, 2005). Mineral maddeler insan bünyesi için vazgeçilmez bir besin ögesidir. Kuşburnu fosfor ve potasyum elementleri bakımından oldukça zengin olmakla birlikte, mangan, kalsiyum ve magnezyum açısından da faydalanılabilecek kaynak niteliğindedir (Doğan ve ark., 2006). Özrenk ve ark. (2012), tüketici istekleri ve işleme teknolojisinin gelişmesi sayesinde kuşburnu meyvesine olan talep giderek artacağını belirtmişlerdir.

Besleyici özelliği ve çok geniş kullanım alanlarına sahip olan kuşburnu hakkında yapılan yoğun ve kapsamlı bilimsel araştırmalar, dünyada olduğu gibi, ülkemizde de etkisi görülmüş ve kuşburnu meyvesine olan ilgiyi artırmıştır. Bu ilgi kuşburnu meyvesinin tüketimini artırmış buna paralel olarak son yıllarda kuşburnu mamülleri üreten gıda sanayi kuruluşlarının sayısını da artırmıştır. Kuşburnu meyvesine olan talep doğadan toplanarak karşılanmaktadır (Çelik, 2007).

Bunun yanında Türkiye'de kuşburnu bitkisi ise, erozyon önlemede, peyzaj çalışmalarında, park, bahçe ve karayolları ağaçlandırmalarında, kıraç ve verimsiz arazilerin değerlendirilmesinde kullanımı gündeme gelmektedir (Baktır ve Yılmaz, 1995; Yılmaz ve ark., 1996; Arslan ve ark., 1996). Van gölü ve çevresinde, özellikle kırsal bölgelerde yakacak ve erozyon önlemede değerlendirilmektedir (Çelik, 2007).

Kuşburnu ülkemiz florasında doğal olarak yetişen ve kültüre alma çalışmaları devam eden bir meyve türümüzdür. Henüz standart bir kültür olmamasına karşın kuşburnu, diğer kullanım alanlarının yanında, meyve ve diğer bitki kısımlarının birçok mineral ve vitaminlerce zengin içeriğiyle besin maddesi olarak da değerlendirilmektedir (Doğan ve ark., 2006).

Optimal hasat zamanının belirlenmesi amacıyla; ülkemizde, kuşburnu türlerinin farklı olum aşamalarındaki meyvelerinin fitokimyasal içerikleriyle ilgili çalışmalar Yamankaradeniz (1982, 1983a) tarafından yürütülmüştür. Yapılan çalışmada, farklı türlere ait kuşburnuların 3 farklı aşamadaki (ham, yarı olgun ve teknolojik olum) meyvelerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri incelenmiştir. (Yamankaradeniz, 1983a).

Türkben ve ark. (2010)'nın yapmış olduğu çalışmada, *Rosa canina* türüne ait kuşburnular iki farklı olgunluk sürecinde (kırmızı-turuncu ve kırmızı dönem) hasat edildiğini bildirmişlerdir. Hasat edilen meyvelerin bir kısmı geleneksel yöntemle kurutulularak, diğer bir kısmı ise taze olarak marmelata işlenmiş ve sıvı kromatografisinde fenolik bileşik, askorbik asit ve flavanol içeriklerine bakılmıştır.

Optimal hasat zamanını belirlemede en önemli çalışmayı Ugla (2004), farklı bir kuşburnu türü (*Rosa spinosissima*) ile yapmıştır. Bu çalışmada, olgunlaşma aşamasında kuşburnunda meyve kalitesi ve kopma direnci değişimini incelemiştir. Araştırmacı çalışmada yaz sonu-güz başına denk gelen 6 haftalık süre içerisinde hasatlar yapmış, meyvelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini analiz etmiştir. İncelenen kimyasal özelliklerden antosiyaninler ilk haftalarda yükselmiş ve daha sonra stabil hale gelmiştir. Toplam kuru madde ise aynı süre içerisinde % 18,8'den % 23,4'e çıkmıştır. Toplam asitlilik önce artmış daha sonra ise azalmıştır.

2.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik maddeler bitkisel kaynaklı besinlerin lezzetine özellikle ağızda buruk bir tat bırakma yönünde ve rengine etki eden, meyve ve sebzelerde genellikle çok az miktarlarda bulunmaktadır. Fenolikler önemli olan bir madde grubudur. Fenolik maddeler aromatik halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren bileşiklerdir (Shahidi ve Nacz, 1995). Bu bakımdan en basit fenolik maddenin bir tane hidroksil grubu içeren benzen yani fenol olduğu ve diğer fenolik maddelerin bundan türediği bilinmektedir (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

Bugüne kadar en az 5000 tane fenolik madde tanımlanmış olup bunların 2000'den fazlası doğal flavonoidlerdir. Genelde bitkilerin yaprak, çiçek, meyve gibi canlı dokularında glikozitler şeklinde, odunsu dokularında aglikonlar şeklinde,

çekirdeklerinde ise her iki formda da bulunabilmektedirler (Shahidi ve Naczki, 1995). Bitkiler aleminde fenolik madde içeriği en zengin olan bitkinin *Camellia sinensis* olduğu bildirilmektedir (Wilson ve Clifford, 1995). Meyvelerdeki fenolik madde miktarı sebzelerdeki fenolik madde bakımından daha zengin olduğu bilinmektedir. Ancak fenolik maddeler bitkiler aleminde o kadar yaygındır ki hemen her meyve ve sebze az ya da çok miktarda bulunmaktadır.

Fenolik bileşikler fenilpropanoid metabolik yolu ara ürünlerindedir (Dixon ve Paiva, 1995). Bu metabolik yolda polifenollerin de sentezlendiği bir metabolik yoldur. Enzimlerin aktivitesinin değişmesiyle bu bileşiklerin sentezi değişim göstermektedir. Enzim aktiviteleri birçok faktörler tarafından etkilenmektedir. Sekonder metabolitlerin sentezi; genetik, pH, iyonik şiddet, allelopatik etkiler, ışık, sıcaklık, iklimatik değişiklikler vb etkenlerde etkilenmektedir.

Enzimlerin aktivitesi bitkinin gelişim sürecindeki büyüme ve gelişmeden de değişiklik gösterebilmektedir. Bu bağlamda, kuşburnu meyvesindeki olum aşamalarına bağlı olarak enzim aktiviteleri de değişebilmektedir. Bu değişimden dolayı da sekonder metabolitlerin üretiminde değişiklik meydana gelebilir.

2.1.1. Fenolik maddelerin insan sağlığı üzerine etkileri

Fenolik maddelerin en önemli biyolojik özelliği, antioksidatif etkiye sahip olmaları gösterilmektedir. Oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun; kalp damar hastalıkları, kanser ve kronik iltihaplanma gibi hastalıkların en önemli etkenleri olduğu, flavonoidlerin birçoğunun lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin ve lipid peroksi radikallerinin oluşumunu engellediği, yapısındaki bazı grupların flavanoid radikallerinin stabilitesini ve böylece antioksidan kapasitesini artırdığı, flavonoidlerin bunların dışında metal iyonlarını bağlayarak lipidlerin oksidasyonunu önleyebildiği ve radikallerin oluşumunda görev yapan enzim sistemlerini inhibe edebildiği belirlenmiştir (Karakaya ve El, 1997). Fenolik maddelerin sağlıkla ilişkisinde toplam fenolik miktarı veya flavonol, flavon gibi alt grupların miktarından çok bu maddelerin türevleri ve her birinin miktarının önemli olduğu belirtilmiştir (Cemeroğlu ve Cemeroğlu, 1998).

Fenolik maddelerin kalp sağlığı üzerine de olumlu etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Örneğin, siyah çay, soğan ve elmadaki flavonoidlerin yüksek

miktarlarda alınmasının yaşlılarda kalp hastalıklarına bağlı ölümleri azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir (Langseth, 1995). Biyolojik etkili flavonoidler (bioflavonoidler) vitamin P maddeleri olarak da bilinmektedir. Bu bileşiklerin kılcal damarlarda kanama ve çatlamları engelleyici etkileri olduğu ve flavonoidlerin diğer maddelerin oksidasyonunu yavaşlatıcı etki gösterdikleri bildirilmektedir (Schobinger, 1988).

Kanser, kalp hastalıkları ve beyin damarlarına bağlı hastalıklarda ölüm oranı ve tümör oluşumunun diyetteki meyve ve sebzelerin miktarıyla ters orantılı olduğu belirtilmiştir. Bol miktarda meyve ve sebze tüketenlerde kan basıncının da düştüğü, meyve ve sebzelerin bu etkiyi yapılarında bulunan antioksidanlarla sağladıkları, bu antioksidan etkinin ise C ve E vitamini ile a-karotenden çok fenolik maddelerden kaynaklandığı kaydedilmiştir (Hertog, 1993; Wang ve ark., 1996; Wetherilt, 1996).

Aktif oksijen ve radikaller insan vücudunda pek çok hastalığa ve dokuların zarar görmesine neden olduğu iddia edilmektedir. Aktif oksijenin süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri şeklinde bulunduğu, aktif oksijen ve serbest radikallerin, kanser yapıcılar tarafından üretildiği ve kanser oluşumunda rol aldığı, hidrojen peroksitin ise farelerde deri tümörleri oluşumuna neden olduğu saptanmıştır (Cerutti, 1985; Slaga ve ark., 1982). Vücutta hücre içi ve dışındaki oksidasyon işlemlerini azaltan antioksidan maddeler cilt sağlığı açısından da önemlidir. Bu maddeler cilde elastikiyet kazandırıp, parlak, renkli ve sağlıklı bir görünüm vermekte, Herpes simplex virüsünün yol açtığı deri yaralarını da bir ölçüde önlemektedir. Böylece bir yerde deri kanserine karşı da koruyucu etki göstermektedir (Wetherilt, 1996).

2.2. Renk Tayini

Kuşburnunda olgunlaşma sırasında altı haftalık renk ve şeker değişiminin incelendiği aynı çalışmada renk ölçümlerinde a* değerinde büyük bir artış, L* ve b* değerlerinde bir azalış gözlenmiştir. Şeker içeriği ilk üç hafta hızlı, sonraki haftalarda ise daha küçük yükselişler sergilemiştir (Uggla ve ark, 2005).

Kuşburnular da altı farklı hasat tarihinde R. dumalis ve R. rubiginosa da gerçekleştirilen renk ölçümleri sonucunda elde edilen L* değeri azalış (50,07-39,03), Chroma değeri artış (36,90-56,00) ve Hue açısı değeri azalış (104,00-30,60) göstermiştir (Uggla, 2004).

Kuşburnu (*Rosa canina* L.) L*,a*,b* renk ölçüm değerleri sırasıyla 38,02 (L*), 34,72 (a*), 23,69(b*) olarak belirlenmiştir (Egea ve ark., 2010).

Tokat yöresinde yapılan bir çalışmada, kuşburnu (*Rosa sp.*) türlerinde renk değerleri belirlenmiştir. MR-12, MR-15, MR-26, MR-46 ve MR-84 genotiplerinin renk dönüşümleri belirlenmiştir. Ölçüm yapılan her üç bölgede de L* (parlaklık) değerinin her iki yıl içinde azaldığı, a* (+kırmızı;-yeşil) değerinin yani kırmızı rengin 2010 ve 2011 yıllarında arttığı ve b* (+sarı;-mavi) değerinin iki yılda da ön yüzde azalış sözü konusu iken, arka yüz ve sap tarafında önce küçük bir artış ve ardından azalış sergilediği görülmüştür. Her iki yılda da renk değişimleri arasındaki fark önemli bulunmuştur (Dölek, 2013).

2.3. Moleküler

PCR tekniğinin 1990'lerde bulunmasından bu yana DNA'yı moleküler düzeyde incelememizi sağlayan birçok markır sistemi ortaya çıkmıştır. Bu sistemlerle genom haritaları oluşturulmuş ve birçok hastalığın nedeni ortaya çıkartılmıştır (Tamam, 2008).

2.3.1. DNA dizisinin belirlenmesi

Kalıtım şekilleri, morfolojik (çiçek rengi gibi), biyokimyasal (izoenzimler gibi) ve DNA düzeyinde (moleküler markırlar) izlenebilen karakterlere, genetik markırlar adı verilir. Moleküler markırlar, DNA'nın aktif bölgelerinden (genler) veya herhangi bir genetik kodlama fonksiyonuna sahip olmayan DNA dizilerinden geliştirilebilir. Genetik markır kavramı yeni bir kavram değildir. Mendel'in 19. yüzyılın sonlarında kalıtım biliminin temellerini ortaya koymasından sonra bazı karakterlerin nesilden nesile birlikte aktarıldıkları ve Mendel'in rasgele açılım ilkesine uymadığı gözlenmiştir (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Kalitatif açılım gösteren karakterlerin kantitatif açılım gösteren karakterlerle bağlantısı, yani gerçek anlamda markır anlayışı, Sax'ın (1923) fasulye tohum pigmentasyonu ile tohum iriliği arasındaki bağlantıyı gözlemesiyle şekillenmiştir (Tamam, 2008).

DNA markırları birçok farklı mutasyon sınıflarının bir sonucu olarak ortaya çıkarlar, bunun en basit örneği iki genotipi birbirinden ayıran tek nükleotidin (bazın) yer değiştirmesi kadar küçük bir farklılıktır (Paterson, 1996). Tek bir bazın yer değiştirerek

bir enzimin kesim noktasını değiştirmesi, DNA parçasının uzunluğunu değiştirerek ilgili gözlem metodunda direkt olarak bir bireyin genotipini temsil eden farklı bir markır ortaya çıkarır (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

Her biri ökaryotik DNA'daki özelliklere dayalı olarak tasarlanan ve kalıtsal olarak izlenebilen moleküler markırlar, günümüzde bitki moleküler biyolojisi alanında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Moleküler markırların bitki moleküler biyolojisinde kullanıldığı alanlara örnek olarak genetik karakterizasyon, bitki genom haritalanması, markırlar yardımıyla ıslah (marker-assisted breeding), gen klonlama, tohum saflığı testleri ve saflık tayini verilebilir (Brown ve ark., 1996; Ayres ve ark., 1997; Röder ve ark., 1995).

Tüm yüksek yapılı organizmaların genomlarındaki bir veya daha fazla özelliğin karakterizasyonu DNA bantlarının ortaya koyulmasıyla olur. Farklı büyüklükteki ve farklı sayıdaki DNA bantlarının ortaya koyulması ile her birey için DNA parmakizi elde edilmiş olur.

DNA profilinin çıkarılması ve spesifik DNA parmakizlerinin elde edilmesinde izlenen yollar aşağıdaki gibidir (şekil 2.1).

- Bitkisel materyalin sağlanması,
- Bitkisel materyallerden DNA izolasyonu,
- Kullanılacak yöntemeye göre, genetik materyalin çoğaltılması ve ortaya koyulması (PCR),
- Bireyler arasındaki polimorfizimin farklı moleküler markır teknikleri ile belirlenmesi (RFLP, RAPD, AFLP, ISSR, SRAP),
- DNA profilinin spesifik bir programda analiz edilmesidir (Aka-Kaçar, 2001).



şekil 2.1. DNA'nın analiz aşamaları

2.3.1.1. Bitkisel materyalin sağlanması ve DNA izolasyonu

Bitki dokularından saf DNA izolasyonu oldukça zordur. Bitki dokularının polisakkaritler, polifenoller ve karbonhidratlarca zengin olması DNA izolasyonunu güçleştirir. DNA yeterince saf değilse PCR sonucunda amplifikasyon gerçekleşmez (Luro, 1992).

Bu sorunun üstesinden gelmek için alternatif ekstraksiyon bufferi kullanılmaktadır. Ekstraksiyon bufferları hücre içindeki DNA dışındaki bileşiklerin uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Ekstraksiyon bufferı'nın pH'sı ve spesifik koruyucu maddeler veya deterjanlar belirli türler için optimize edilmelidir. Özellikle DNA'yı parçalayan enzimler için optimum olan pH düzeyinden kaçınılmalıdır. Örneğin DNazların çalışma pH'sı 7,0 civarındadır (Dunham ve Brayant, 1983). Bu durumda DNazların çalışmasını ve DNA'yı parçalamasını önlemek için bitki ekstraksiyon bufferının pH 8,0 hatta pH 9,0 civarında olması gerekmektedir (Tamam, 2008).

Fenolik bileşiklerden tamamen temizlenmemiş DNA'da kahverengileşme meydana gelmektedir. Bunu önlemek amacıyla 5-10 mM B-mercaptoethanol (BME) kullanılmaktadır (Deng ve ark., 1995).

Orijinal dokunun toplanması ve ekstraksiyondan önce korunması DNA'nın kalite ve kantitesini çok etkilemektedir (Pyle ve Adams, 1989). Genel olarak en iyi doku taze olan dokudur. Çünkü taze dokularda yaşlı dokularda gözlenen fenolik bileşik oluşumu gözlenmemektedir. Bu durumun en önemli nedeni bitkinin dinlenme zamanlarında fenolik bileşik üretmesidir. Fenolik bileşik oluşumu saf DNA elde etmemizi zorlaştırabileceğinden bitkinin aktif olduğu sürgünlerin oluşum dönemlerinde bitki materyalinin toplanması tercih edilmelidir. Toplanan yaprak örnekleri canlılıklarını korumalarını sağlamak amacıyla soğuk ve nemli bir ortamda saklanmalıdır. Bitkisel materyalin en iyi şekilde saklanması dondurularak ya da kurutularak gerçekleşir (Liston ve ark., 1990).

Bitkilerden DNA izolasyonunda başarıda, DNA'nın miktarı, kalitesi ve kullanışlığı önemlidir. DNA hücrede serbest bir molekül halinde değildir. Bazı proteinler (histonlar, histon olmayan proteinler, HMG proteinleri) RNA ile bir kompleks halinde bulunur. İyi bir DNA izolasyonu gerçekleştirmek için hücre içinde hücre duvarının parçalanması, proteinlerin ve RNA'nın uzaklaştırılması gerekmektedir.

DNA izolasyonu değişik organizma gruplarında farklılık gösterse de temelde hepsinde aynı aşamalar meydana gelir (Göksel, 1999).

Başarılı bir DNA izolasyonu için aşağıdaki koşulların gerçekleşmesi gerekmektedir;

- İlk olarak hücre duvarı parçalanmalıdır. Bu amaçla bitki materyali sürgün uçları parçalanıp falcon tüpler içerisine konulur.
- Hücre membranı parçalanır; bitki materyali CTAB adı verilen ekstraksiyon bufferi ile muamele edilir. CTAB çözeltisi içinde bulunan SDS protein yapılarını bozar, NaCl polisakkaritleri ortadan kaldırır, PVP polifenollerini ortadan kaldırır, EDTA (Etilendiamin tetra asetik asit) DNA' yı ribonükleaz aktivitesinden korur, B-mercaptaethanol proteinleri denatüre eder, böylece hücre zarı parçalanmış olur.
- Ayrıca buffer/doku karışımına kloroform ve/veya fenol karışımı eklenerek DNA'dan proteinlerin ayrılması sağlanır, temiz DNA elde etmek için kloroformla yıkama aşaması iki kez tekrarlanabilir.
- Son olarak yıkaması gerçekleştirilen DNA'yı çöktürmek için izopropanol kullanılır.
- Dondurulmuş dokunun öğütülmesi ile ekstraksiyon bufferi ile muamelesi arasındaki süre DNA'nın nükleotik degregasyonunu engellemek amacıyla en aza indirilmelidir (Aka Kaçar, 2001).

2.3.1.2. DNA'nın analizi

Nükleik asitlerin nanogram veya mikrogram düzeyindeki miktarının belirlenmesi, moleküler biyoloji alanında çalışan araştırmacılar için temel noktalardan biridir. Genellikle izole edilen DNA'ların miktar tayininde absorpsiyon temeline dayanan spektrofotometrik yöntemler kullanılır (Temizkan ve Arda, 2004).

2.3.1.2.1. Spektral yöntemler

- Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon özelliği gösterir. Bu nedenle 260 nm'de ölçülen absorpsiyon değerleri (A₂₆₀) oldukça saf olarak izole edilen nükleik asitlerin mikrogram düzeyinde miktarının belirlenmesinde kullanılır.

- Çift zincirli DNA molekülleri için, 1 optik dansitenin (OD) 50 pg/ml'ye karşılık geldiği bilinmektedir. Buna göre çift zincirli DNA için miktar belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılır:
- $DNA \text{ (pg/ml)} = A_{260} \times \text{sulandırma oranı} \times 50$

A₂₆₀'daki değerler DNA ve RNA' yı birbirinden tam olarak ayırt etmeye yetmez. Bununla beraber 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan değerler arasındaki oran nükleik asitlerin saflığı hakkında bilgi vermektedir. Saflaştırılmış DNA'da A₂₆₀/A₂₈₀ oranı yaklaşık 1,75-1,82 arasında olmalıdır. 325 nm'de ölçülen değer DNA çözeltisinde partikül bulunduğunu veya ölçümde kullanılan küvetin kirli olduğunu; 230 nm'deki değer ise nükleik asit çözeltisinde peptitlerin veya fenolün bulunduğunu gösterir (Temizkan ve Arda, 2004).

2.3.1.3. Agaroz jel elektroforezi

Agaroz, bir kırmızı alg türü olan Agar Agar'dan izole edilen doğrusal bir polisakarittir. Agaroz sıcak suda çözünür ve soğutulduğu zaman polimerde karşılıklı hidrojen bağlarının oluşumu ile jel yapısı oluşur. Bu oluşum geri dönüşümlüdür.

Agaroz konsantrasyonu % 0,5-2 arasında değiştirilerek jelin por çapı ayarlanabilir. Böylece küçük DNA fragmentleri için yüksek, büyük DNA fragmentleri için düşük agaroz konsantrasyonu kullanılarak DNA'nın jelde en uygun şekilde yürümesi sağlanır.

DNA'nın jelde görünür hale gelmesi için ethidium bromidin DNA bağları arasına bağlanarak 300-360 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesi sonucu floresan etki göstermesi ile olur. İzole edilen DNA genomik DNA ise keskin bir bant ve yukarı doğru biraz yayılan bir görüntü verir (Temizkan ve Arda, 2004).

2.3.1.4. PCR (Polymerase Chain Reaction=Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

PCR'da genetik materyalin çoğaltılması ve ortaya koyulması esastır. DNA'nın istenilen bir parçasının in vitro koşullarda 15-20 nükleotit uzunluktaki oligonükleotit dizileri kullanılarak, sıcaklığa dayanıklı Taq DNA polimeraz enzimi yardımıyla çoğaltılmasına dayanan bir yöntemdir.

PCR'ın temel birleşenleri

Kalıp DNA: PCR'da genomik DNA'lar faj, plazmid, çeşitli genler ve hatta herhangi bir DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir (Aka-Kaçar, 2008).

Polimerazlar: DNA polimeraz enzimleri kalıp ipliğe tamamlayıcı bir DNA ipliği meydana getirmek üzere orijinal kalıp iplikteki baz bilgisi kullanılarak dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfattan uzun polinükleozid zincirinin sentezini kataliz eder. Bu enzimler sentezi başlatmak için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan kısa DNA parçalarına (primerlere) gerek duyarlar.

Sentezin yönü 5' uçtan 3' uca doğru olup primerin serbest 3' hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin etkisi ile fosfodiester bağlarının katalizi ve yeni DNA ipliğinin polimerasyonu sağlanır.

Thermus aquaticus'dan elde edilen Taq DNA polimeraz enzimi en yoğun olarak kullanılan polimerazdır. Bu enzimin kullanılmasının temel nedeni yüksek sıcaklıklara dayanabilmesidir. PCR işleminin denatürasyon aşamasında DNA çift zincirini tek zincire dönüştürebilmek için gerekli olan 90-92 °C'de ki sıcaklıklara dayanabilmektedir. Taq DNA polimerazın bazı özellikleri arasında optimum sıcaklıkta (70-80 °C) saniyede 35-100 nükleotidin polimerizasyonunu yapması ve 5'-3' endonükleaz aktivitesine sahip olması gelmektedir (Aka-Kaçar, 2008).

Primerler: Oligonükleotid primerler, primer sentezi yapan laboratuvarlardan yada ticari olarak elde edilebilirler. Bir çift PCR primerinin her biri yaklaşık 18-30 nükleotit uzunluğa ve benzer G+S içeriğine sahip olması gereklidir. Böylece primerler benzer sıcaklıklarda tamamlayıcı sekanslara tutunabilir. Kısa oligonükleotitler (<25 nt) için annealing sıcaklığı (°C), $T_m = 2(A+T) + 4(G+C)$ formülü kullanılarak hesaplanır. Primerler hedef sekansın zıt zincirlere tutunması amacıyla tasarlanır; dolayısıyla 3' uçlarına nükleotitlerin eklenmesiyle uzatılırlar (Aka-Kaçar, 2008).

dNTP: Deoksiribonükleozid trifosfatlar yüksek saflıkta ya tek tek yada dörtlü karışım halinde ticari olarak sağlanır. *Taq* DNA polimeraz düşük dNTP konsantrasyonlarında kalıba uygun doğru bazları seçmede daha başarılı olmakla birlikte normal koşullarda 100 pM dNTP konsantrasyonu kullanılır (Aka-Kaçar, 2008).

Tamponlar ve MgCl₂: PCR için çeşitli tamponlar kullanılmakla beraber en çok kullanılan *Taq* enzimine uygun tampondur ve 10x konsantrasyonunda hazırlanır. MgCl₂ iyonları dNTP'ler ile çözünebilir kompleksler oluşturur, polimeraz aktivitesini stimüle eder ve primer kalıp etkileşimini sağlarlar (Aka-Kaçar, 2008).

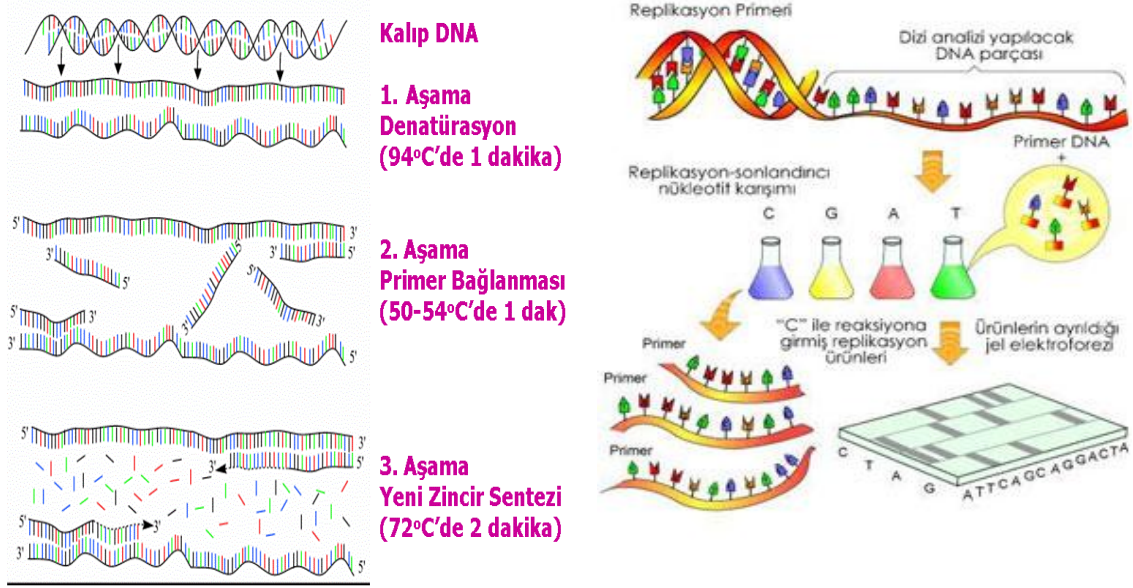
PCR küçük hacimler halinde hazırlanır;

- Hedef DNA sekansları (50-500 ng),
- Tek veya iki tür spesifik oligonükleotid primerleri (0,1-0,5 mp),
- Termostabil DNA polimeraz (*Taq* polimeraz veya diğerleri)(0,5-25 ünite),
- Dört tür dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) bulunur (100-500 ml).

Reaksiyon,

- Hedef
- DNA'nın denatürasyonu (95 °C)
- Primer DNA'larının bağlanması (37-50 °C)
- Polimerizasyon (70-72 °C) işlemlerini içermektedir.

Tüp içinde bulunan karışım birinci döngüde, 95 °C'de yaklaşık 60 saniye yüksek sıcaklık uygulaması ile hedef DNA iki ipliğe ayrılır. Primerlerin kalıp DNA'ya tutunması için sıcaklık 50 °C (yaklaşık 30 saniye için) civarına düşürülür. Gerçek sıcaklık primer uzunluklarına ve sekanslarına bağlıdır. Primerin yapışmasından sonra, Mg²⁺'a gereksinim duyan ve reaksiyon karışımındaki dNTP'leri kullanan optimal polimerizasyon için sıcaklık 72 °C'ye (60-90 sn için) çıkarılır. İlk polimerizasyon basamağında, her bir hedef molekül primer bölgelerinden farklı uzunluklarda kopyalanır. Bu işlem, reaksiyon sıcaklığının tekrar 95 °C'ye çıkarılıp, yeni sentezlenmiş molekülleri denatüre eden ikinci döngü başına kadar devam eder. İkinci annealing basamağında, diğer bir primer yeni sentezlenmiş zincire bağlanır ve polimerizasyon süresince ilk primerin ucunun ulaştığı yere kadar kopyalanabilir. Takip eden döngülerde, kısa sürede değişik uzunluktaki moleküller sayılamayacak hale gelir ve her bir döngüde iki kat artar (Konuk, 2004) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. PCR reaksiyonu ve aşamaları (Anonim, 2015a, 2015b)

2.3.1.5. Markır tipleri

2.3.1.5.1. Morfolojik markırlar

Morfolojik özellikler tek genle kontrol edilebilen kantitatif özellik göstermelerinden ötürü görsel olarak değerlendirilebilen markırlardır. Morfolojik testlerin, genellikle karmaşık ekipmanlar ile hazırlayıcı prosedürlere gereksinimi bulunmaktadır. Başlıca avantajları, basit olmalarından ve masraflarının düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Bu yaklaşımın en büyük dezavantajı, sahip olunan normal fenotipin garantisinin olmamasıdır. Ayrıca bu değişimlerden çoğunun resesif olması nedeniyle heterozigot formlardaki bitkiler kendilenmeden ve melez bireyler incelenmeden gözükmemektedir (Khang ve Spor, 2001).

2.3.1.5.2. Biyokimyasal markırlar

Biyokimyasal markırlar genlerin ürettikleri proteinlerdir. İzoenzimler farklı olarak yüklenmiş proteinlerdir. Elektroforez tekniği kullanılarak kolayca ayrılabilirler. Enzimler spesifik biyokimyasal reaksiyonları katalizler. Belirli enzimlerin substrat ve kofaktörleri eklenerek jel üzerinde görülmesi sağlanır ve enzimatik reaksiyonların

ürünleri renkli olarak üretilir. Renkli ürünler jel üzerinde görülür bantlar oluşturur. Bu bantlar genetik temellere sahiptir ve kodominant markır olarak genetik bilgi sağlar. Bununla birlikte morfolojik karakterlere göre çok daha yaygın kullanılmakla birlikte izoenzim lokuslarının azlığı ve bazı enzim sistemlerinin çevre koşullarından etkileniyor olması kullanımlarını sınırlar (Aka-Kaçar, 2001).

2.3.1.5.3. DNA markırları

Moleküler markırların yararlılığı, morfolojik markırlardan kendilerini ayrı kılan beş özellikten kaynaklanmaktadır (Khang ve Spor, 2001):

1. Pek çok morfolojik markırın fenotipi, yalnızca tüm bitki seviyesinde teşhis edilebilir. Oysa, moleküler lokuslar, tüm bitki, doku ve hücre seviyesinde denenebilirler.
2. Allel frekansı, morfolojik markırlarla karşılaştırıldığında moleküler lokuslarda daha yüksek olma eğilimindedir.
3. Morfolojik mutantlar, istenilmeyen fenolojik etkilerle bir arada olmaya meyillidirler.
4. Morfolojik lokustaki alleller, heterozigot genotiplerin tanımlanmasını sınırlayan bir dominant -resesif tarzında birbirini etkiler.
5. Moleküler lokuslar, bir açılım popülasyonundaki bireylerin genotiplerinin belirlenmesine izin veren bir ko-dominant tarz sergilerler.

Tek bir moleküler markır, bütün bu ihtiyaçları karşılayamamaktadır. Çeşitli moleküler markırlar DNA seviyesinde polimorfizmi ortaya çıkartmaya elverişlidirler.

DNA Markırında Bulunması İstenen Özellikler

1. Güvenilir olması,
2. Ko-dominant olması,
3. Yüksek polimorfizim göstermesi,
4. Birçok bilgi içermesi,
5. Sonuçların tekrarlanabilir olması,
6. Analizinin kolay ve basit olması,
7. Otomasyona uygun olmasıdır.

Polimorfizm (Farklılık Gösterme): Kullanılan bir markırın farklı genotipleri ayırt edebilme yeteneğidir. Markırların farklılık gösterme oranları markır tipine ve bitki türüne göre büyük ölçüde değişmektedir (Yıldırım ve ark., 2001). Polimorfizm, 300 ile 500 nükleotide bir oluşan varyasyonlardır. Ekzon bölgelerinde gözlenen varyasyonlar morfolojik düzeyde gözlenebilirken (tohum rengi, bitki boyu vb.), intron bölgelerindeki varyasyonlar morfolojik düzeyde gözlenmemektedir.

Güvenilirlik: Aynı genetik materyal üzerinde yapılan bir markır analizinin her zaman ve her koşulda aynı sonuçları vermesidir. Güvenilirlik, markır tipine göre değişmektedir (Yıldırım ve ark., 2001).

Eşbaskınlık (ko-dominantlık): Markırların eşbaskın olması, yani her iki allelinde ayırt edilebilmesidir. Bu durum bize ebeveynler hakkında sağlıklı bilgiler vermektedir.

Moleküler markırların uygulama alanları;

- Genotipik tanımlama,
- Çeşit tescili,
- Islah hatlarının tanımlanması ve tohum saflık testleri,
- Hibrit çeşit saflık testleri,
- Cinsiyet belirleme, genetik çeşitliliğin belirlenmesi,
- Gen kaynaklarının genetik kökeninin belirlenmesidir.

Gen kaynaklarının genetik kökeninin belirlenmesi,

- Genetik kaynağın yapısını anlamak,
 - Duplike olan genotipleri belirlemek,
 - Orjini bilinmeyen genetik materyalleri belirlemek,
 - Islah programında kullanılacak ebeveynleri belirlemek amacıyla kullanılır.
- Moleküler markırlardan en önemlilerini hibridizasyona dayalı olan restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) belirleyicileri ile Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) dayalı olan rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), basit dizilim DNA tekrarları (SSR), çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP), sekansa bağlı çoğaltılmış polimorfizm (SRAP) gibi belirleyiciler oluşturmaktadır (Aka-Kaçar, 2001; Li ve Quiros, 2001).

RFLP (Restriction Fragment Length polymorphism): RFLP (Restriction Fragment Length polymorphism markırları) (Bostein ve ark., 1980), dokulardan izole

edilen genomik DNA'nın nükleik asit dizilişlerini tanıyan DNA kesim enzimlerince spesifik olarak kesilmesi ve oluşan DNA parçalarının elektroforezde ayrıldıktan sonra naylon veya nitroselüloz membrana transfer edilerek DNA proplarıyla etiketlenmesi esasına dayanır.

RFLP markırları ile türler arasındaki ve içindeki farklılık kolayca belirlenir. Güvenilir, eşbaskın (co-dominant) özellikte olup polimorfizm oranı orta düzeydedir (Özcan ve ark., 2001). En önemli dezavantajı ise analizlerinin pahalı olması, fazla zaman, işgücü gerektirmesi ile fazla miktarda ve yüksek kalitede DNA'ya gereksinim duyulmasıdır (Walton, 1993).

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA): Williams ve ark. (1990) tarafından geliştirilen RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) tekniği basit ve kısa oligonükleotid primerler kullanılarak genomik DNA'nın rastgele bölgelerinin çoğaltılmasıdır (Kaçar, 2001). RAPD markırları RFLP'nin tersine düşük kalitede ve miktarda DNA'ya gereksinim duyulması, zaman ve maliyet yönünden olumlu olmasına rağmen dominant markır (Corazza-Nunes ve ark., 2002) olmaları nedeni ile yorumlanmasının zorluğu, güvenilirliğinin çok sınırlı olması, tekrarlanamaması olumsuz yönleridir (Lavi ve ark., 1994). Tekniğin diğer dezavantajlarının arasında dominant özellikte markır verilmesi ve bu yolla elde edilen markırların diğer haritalara transfer edilememesi gelmektedir (Walton, 1993).

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism): AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) tekniği RAPD tekniğinin dezavantajlarını gidermek üzere geliştirilmiştir (Özcan ve ark., 2001). Bu teknikte ilk olarak genomik DNA önce birisi 6, diğeri 4 taban tanıyan 2 kesim enzimi tarafından kesildikten sonra (EcoRI/Msel), bunlara ait adaptörler eklenmekte ve bu adaptörlere uygun primerler kullanılarak seçici bir şekilde çoğaltılmaktadır. Seçici şekilde çoğaltılan parçalar arasındaki polimorfizm PAGE ile belirlenir (Ergül, 2000). Polimorfizm oranı çok yüksektir. Uygulanabilirliği, RAPD tekniğine göre kolay olmasa da RFLP tekniğine göre çok kolaydır. Kuruluş aşamasında maliyet gerektirir. Masraf, iş gücü gereksinimi ve güvenilirliği RAPD ve RFLP arasında yer alır (Maughan ve ark., 1995).

ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats): RAPD ile maliyeti hemen aynı olan ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) (Zietjewicz ve ark., 1994) tekniği RAPD'e göre oldukça güvenilir, tekrarlanabilirlik oranı yüksek ve PCR koşullarından çok etkilenmeyen bir tekniktir. Bu teknik genetik çeşitlilik, sınıflandırma, moleküler markır bulma çalışmaları, evrim ve genom haritası oluşturma çalışmalarında son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Fang ve Roose, 1997).

SSR (Simple Sequence Repeat): SSR (Simple Sequence Repeat) markırları ökaryotik genomlar boyunca dağılmış bulunan ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır (Hamada ve ark., 1982; Weber, 1990). Bu tekrarlar çok yakın tür ve çeşitler nedeni ile oldukça polimorfiktir (Gupta ve ark., 1994).

Mikrosatellitler kodominant kalıtım özelliği göstermeleri, lokusa özgü olmaları, yüksek bilgi içeriğine sahip olmaları ve PCR ile kolayca tespit edilebilmeleri gibi birçok özellikleri ile tercih edilen bir moleküler belirleyici grubudur. Mikrosatellitler ile ilgili en belirgin dezavantaj ise bir türe ait yeni mikrosatellitlerin elde edilmesidir. Bu işlem çoğunlukla zaman alıcı olup fazla miktarda emek gerektirir (Büyükcünal Bal, 2003).

SRAP (Sequence Related Amplified Polimorphism): SRAP, Li ve Quiros tarafından 2001 yılında ORFs denilen çekirdek sekansları baz alınarak uygulanan bir tekniktir. Son yıllarda bu tanımlama tekniği kullanılarak yapılan çalışmalar artış göstermektedir. Teknik genomun kodlanan bölgelerinin seçilmesi esasına dayanır. SRAP, RAPD benzeri bir yöntemdir. Polimorfik, otomasyona uygun, uygulanması kolay, güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği yüksektir. RAPD'e göre daha spesifik bölgeleri taramaktadır. Elde edilen fragmentlerin jellerden izolasyonu kolaydır. Dezavantajları RAPD'in aksine özel primer dizilimi istemesidir.

SRAP PCR tekniği, DNA'daki açık okuma bölgeleri dediğimiz (ORFs) bölgelerinin çoğaltılması esasına dayanır. SRAP primerleri geliştirirken ilk önce çekirdekte CCGG bazlarını kullanarak (ORF) bölgelerindeki eksonlar hedef alınır. Forward primeri 17 nükleotit, Reverse primeri 18 nükleotit uzunluğundadır. Reverse primerleri DNA'nın intron ve promoter bölgelerini, Forward primeri ise DNA'nın ekson bölgelerini amplifiye eder. Forward primerlerinde 5' ucundaki 14, Reverse primerlerinde 15 nükleotit aynıdır, 3' ucuna yakın olan üç nükleotit tesadüfi seçim sonucu

oluşturulmuştur. Primerin başındaki 10 veya 11 nükleotitten sonra gelen dört nükleotit dizini Forward primerinde CCGG dizinine; Reverse primerinde AATT primer dizinine sahiptir.

Forward primeri

Me1, 5'-TGAGTCCAAACCGGATA-3' Me2, 5'-TGAGTCCAAACCGGAGC-3'

Reverse primeri

Em1, 5' GACTGCGTACGAATTAAT-3 ' Em2, 5'GACTGCGTACGAATTTGC-3'

SRAP markırlarının % 20'si co-dominant markır özelliği taşımaktadır. Bu teknik *Brassica oleracea*'ya ait rekombinant hatlar ile di-haploid hatlar üzerinde çalışılmıştır. Jelden izole edilen bantların % 45'i dizilim analizinden sonra Gen bankasında bulunan bilinen genler ile eşleşmiş olduğu bildirilmiştir. Dizilim SRAP ile *Brassica*'da bulunan *glucosinolate desaturation* genini (BoGLS-ALK) işaretlediklerini belirtmişlerdir.

PCR Döngü Koşulları

94 °C → 5 dk

94 °C → 1 dk
35 °C → 1 dk
72 °C → 2 dk

} 5döngü

50 °C → annealing → 35 döngü

72 °C → 2 dk

SRAP'ın PCR döngü programında ilk önce primerlerin yapışma sıcaklığı olan 35 °C'de 40 döngü gerçekleştirilmiş ama istenilen oranda keskin bantlar elde edilememiştir. Araştırmacılar daha sonraki denemelerinde 35 °C'de 5 döngü sonucunda primerin DNA'ya yapıştığına emin olduktan sonra sıcaklığı 50 °C'ye çıkartarak bu şekilde 35 döngü gerçekleştirmişlerdir. Bu PCR protokolü sonucunda istenilen oranda keskin bantlar elde edilmiştir. PCR ürünleri Poliakrilamid jel veya konsantrasyonu yüksek agaroz jelde görüntülenebilmektedir (Li ve Quiros, 2001).

DNA markırları kullanılarak genetik çeşitlilik araştırılabilir. Örneğin birbirine çok yakın olan kültür çeşitleri ayrılabilir ve tanımlanabilir. Türlerin taksonomik tanımlanması yapılabilir ve filogenetik akrabalıkları bulunabilir (Lowe ve ark., 1996).

DNA teknolojilerinde moleküler markırların kullanımı dünyada olduğu gibi ülkemizde de hızla gelişme göstermektedir. Moleküler markırların kullanım alanlarının başında bitki ıslahı, gen kaynakların karakterizasyonu, bitki tür, çeşit ve tiplerinin genetik olarak ismine uygunluğunun araştırılması çalışmaları gelmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmamızda kullanılacak olan materyal, Van yöresinde aynı arazi şartlarında yetişen *Rosa canina* L. türüne ait 21 genotip ile bir adet *Rosa dumalis* L. türünden oluşmaktadır. Çalışmada, toplam fenolik madde, renk değerleri ve moleküler özellikleri açısından akrabalık ilişkileri belirlenmiştir (Çizelge 4.18).

3.2. Yöntem

Tez çalışması kapsamında bazı kuşburnu çeşitlerinde toplam fenolik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar ayrı başlıklar altında aşağıda belirtilmiştir.

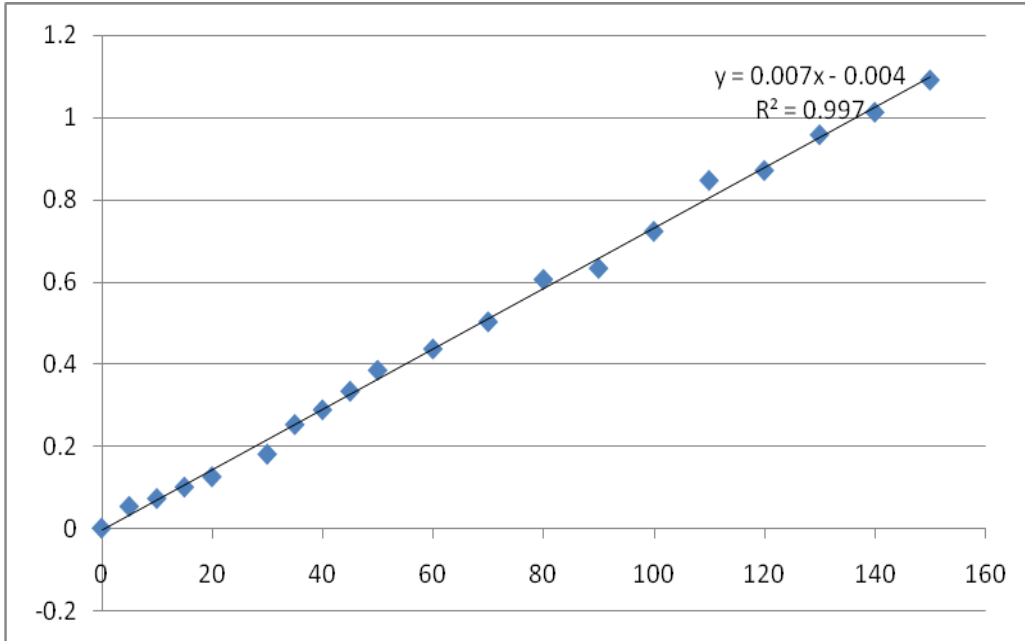
3.2.1. Toplam fenolik bileşikler ve renk tayini için ekstraların hazırlanması

3.2.1.1. Toplam fenolik bileşiklerin belirlenmesi

Meyvenin çekirdekleri çıkarıldıktan sonra 5 g tartılarak üzerine 15 mL (metanol) organik çözücü eklenmiş ve vortekslenmiştir. 12-15 saat 4 °C'de karanlık koşullarda bekletildikten sonra santrifüj edilip (7000 devir/dak hızda 30 dakika), üst kısım falcon tüplere alınarak analiz yapıncaya kadar ağzları alüminyum folyo ile parafinlenerek buzdolabında muhafaza edilmiştir. Meyvelerin toplam fenolik madde içeriğini belirlemek için hazırlanan ekstraksiyondan 150 µl alınmıştır. Alınan bu örnekler 13x100 tüplere konulmuş üzerine 2400 µl saf su eklenmiştir. Daha sonra 150 µl Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Bundan sonrada 300 µl sodyum karbonat (% 2'lik) eklenmiş ve vortekslenmiştir. 40 dakika sonra 725 nm dalga boyunda absorbanslar spektrofotometrede ölçülmüştür. Kontrol için su kullanılmıştır. Standart olarak gallik asit kullanılmış ve sonuçlar mg GAE/100g şeklinde hesaplanmıştır.



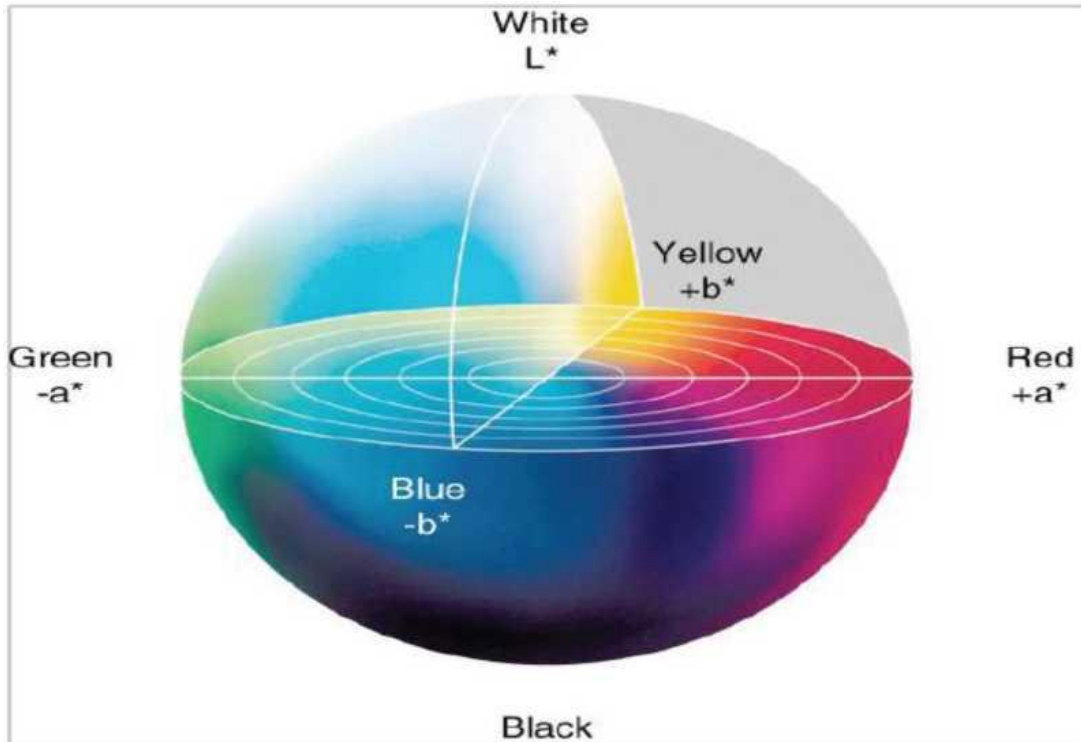
Şekil 3.1. Toplam fenolik



Şekil 3.2. Gallik asidin kalibrasyon grafiği

3.2.1.2. Renk tayini

Meyve rengi (L^*, a^*, b^*): Toplanan meyvelerden 3 tekerrürde rastgele seçilen 3'şer meyvenin rengi renk ölçme cihazı (Minolta Co., model CR-400, Tokyo, Japonya) ile belirlenmiştir. Meyvelerin ön (güneş gören) ve arka yanakları (güneş görmeyen) ile çiçek sapı kısmından ölçümler gerçekleştirilmiş, meyve rengi L^* , a^* , b^* cinsinden belirlenmiştir. L^* , a^* , b^* renk ölçme yöntemi insan gözünün rengi algılayış biçimine göre değerler vermektedir. L^* , rengin parlaklığında meydana gelen değişimleri göstermektedir. L^* değeri 100'e yaklaştıkça maksimum değerini almakta ve bu renk beyaz renge gönderilen ışığın %100'ünün yansıması esasına dayanmaktadır. a^* değeri yeşilden kırmızıya, b^* değeri ise sarıdan maviye renk değişimini göstermektedir. b^* 'nin negatif değerleri mavi rengi, pozitif değerleri sarı rengi, a^* 'nin pozitif değerleri kırmızı rengi negatif değerleri ise yeşil rengi ifade etmektedir. Değerlerin artan biçimde negatif veya pozitif olmaları rengin koyulaşması anlamına gelmektedir.



Şekil 3.3. L^* , a^* , b^* renk değişimleri (Anonim, 2015c)

3.2.2. Moleküler karakterizasyon çalışmaları

3.2.2.1. DNA ekstraksiyonu

Van ili İskele mahallesinden alınan kuşburnu yaprak örneklerinden DNA izolasyonu, İYTE Genetik Mühendisliği Bölümü, Moleküler Biyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

DNA izolasyonlarını gerçekleştirmek amacıyla polifenollerin ve DNA'yı kontamine eden diğer bileşiklerin nispeten az bulunduğu taze yapraklar alınmıştır. DNA izolasyonu için alınan örnekler alüminyum folyoya sarılarak -85 °C'de muhafaza edilmiştir. DNA izolasyonunda CTAB DNA izolasyon protokolü kullanılmıştır. İzole edilen DNA'lar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Kullanılan malzemeler

- 2 ml ependorf tüpler
- Cımbız
- Santrifüj cihazı
- PCR cihazları (ABI)
- DNA analiz sistemi (Beckman CEQ8800)
- Liquithandlingsystem, (kimyasal kullanımında zehirlenmemek için kullanılan kapalı kabin)
- Elektroforez ve güç kaynakları, jel görüntüleme sistemi
- Ekstraksiyon buffer: 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1,5 mM NaCl, 50 mM EDTA (pH 8.0), % 0,5 mercaptoethanol, % 1,5 (w/v) CTAB
- Chloroform-isoamyl alcohol (24%: 1)
- Phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1)
- TE buffer (pH 8.0): 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA
- 10 mg/mL RNase A (free of DNase)
- Ethanol
- 5 M NaCl
- 70 % ethanol

DNA izolasyon protokolü

- 1- Yaprak sürgünlerinin uçlarından ufak parçalar alınarak 2 ml'lik ependorf tüplere eklenir (Şekil 3.7 A).
- 2- Her bir tüpün içerisine 700 µL CTAB ekstraksiyon bufferı eklenir (700µL CTAB ekstraksiyon bufferın içerisinde 693 µL CTAB, 7 µL P-mercaptoetanol bulunmaktadır) (Şekil 3.7. B C).
- 3- Ependorf tüplere metal toplar eklenir.
- 4- TissueLyser II (QIAGEN) cihazına konuluyor 10 dakika bekletiliyor (amacımız DNA'yı daha kısa sürede ayırştırmak) (Şekil 3.7 D).
- 5- Ayırştırma işlemi bittikten sonra 60 °C'de 60 dk inkübe edilir. Bu işlem sırasında tüpler ara ara karıştırılmaya devam edilir.
- 6- İnkübasyon sonunda her bir tüpün içerisine 550 µL kloroform:izoamilalkol (25:24:1) çözeltisi eklenir, 15 dk karıştırıcıda çalkalanır ve 14000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir (Şekil 3.7 E).
- 7- Yeni temiz ependorf tüplere 200'er µL soğuk (-20 °C) izopropanol eklenir ve santrifüjden sonra tüplerin içindeki süpernatant kısım bir pipet yardımıyla dikkatle çekilir ve içinde izopropanol bulunan tüplere konur.
- 8- Örnekler 1 saat süreyle -20 °C'de bekletilir.
- 9- Bir saat sonra -20 °C'den çıkartılan tüpler 10000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir (Şekil 3.7 E, F).
- 10- Santrifüj sonucunda süpernatant kısmı dikkatli bir şekilde dökülür, tüplerin dibinde kalan pelletin kuruması için tüpler ters çevrilir.
- 11- Tüplerin içerisine 100 µL TE buffer konularak pellet çözdürülür ve bu işlemin hemen ardından her tüpe 1 µL RNase eklenir,
- 12- Tüpler hafifçe karıştırılır, 15 dk oda sıcaklığında bekletilir,
- 13- Her tüpe 100 µL (-20 °C) soğuk % 70 ethanol eklenir,
- 14- Tüpler hafifçe karıştırılarak 1 saat -20 °C'de bekletilir,
- 15- Bir saat sonra -20 °C'den çıkartılan tüpler 10000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir,
- 16- Tüpler ağzı açık şekilde 3-4 dakika 60 °C'deki dolapta bekletilir,
- 17- Tüplerin içerisine 100 µL dH₂O eklendi, 4°C'deki dolapta 1-2 saat bekletilir,
- 18- Örnekler PCR'da kullanılmak üzere -20 °C'de saklanır.



Şekil 3.4. DNA izolasyon aşamaları

3.2.2.2. SRAP analizleri

SRAP Analizleri, Li ve Quiros (2001)'e göre yapılmıştır. Çalışmada, 10 adet forward ve 9 adet reverse primerinin farklı kombinasyonları kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan primerlere ait bilgiler Çizelge 3.3 ve 3.4'de belirtilmiştir.

Bu çalışmada yukarıda belirtilen Forward ve Reverse primerlerinin Me11/Em17, Me13/Em17, Me5/Em17, Me6/Em17, Me14/Em17, Me7/Em10, Me14/Em13, Me12/Em14, Me7/Em14, Me3/Em13, Me2/Em13, Me6/Em4, Me7/Em12, Me8/Em12, Me3/Em11, Me14/Em2, Me6/Em6 olmak üzere 17 SRAP primer kombinasyonu kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. SRAP analiz aşamasında kullanılan reverse primerleri

Primer Adı	Reverse Primer	Baz Uzunluğu
Em 2	GACTGCGTACGAATTTGC	18
Em 4	GACTGCGTACGAATTTGA	18
Em 6	GACTGCGTACGAATTTGA	18
Em 10	GACTGCGTACGAATTTAG	18
Em 11	GACTGCGTACGAATTTTCG	18
Em12	GACTGCGTACGAATTGTC	18
Em 13	GACTGCGTACGAATTGGT	18
Em 14	GACTGCGTACGAATTCAG	18
Em 17	GACTGCGTACGAATTCCA	18

Çizelge 3.2. SRAP analiz aşamasında kullanılan forward primerleri

Primer Adı	Forward Primer	Baz Uzunluğu
Me 2	TGAGTCCAAACCGGAGC	17
Me 3	TGAGTCCAAACCGGAAT	17
Me 5	TGAGTCCAAACCGGAAG	17
Me 6	TGAGTCCAAACCGGTAG	17
Me 7	TGAGTCCAAACCGGTTG	17
Me 8	TGAGTCCAAACCGGTGT	17
Me 11	TGAGTCCAAACCGGACA	17
Me 12	TGAGTCCAAACCGGGAT	17
Me 13	TGAGTCCAAACCGGTAA	17
Me 14	TGAGTCCAAACCGGGCT	17

SRAP PCR protokolü: SRAP PCR protokolü modifiye edilerek aşağıda belirtildiği şekilde uygulanmıştır.

Çizelge 3.3. SRAP PCR protokolü

Kullanılan Kimyasallar	Her Örnek İçin Kullanılan Miktar (μ l)
ddH ₂ O	9.25
10X	2.00
MgCl ₂	2.00
Taq DNA Polimeraz (1 ünite)	1.00
EM	2.00
ME	2.00
dNTP	0.75
DNA (50 ns)	1.00
Toplam Hacim	20 μ l



Şekil 3.5. PCR cihazları

SRAP Agaroz Jel Elektrofrez: Elde edilen PCR ürünlerinden 5 μ l çekilerek üzerine 2 μ l yükleme bufferı eklenerek ve % 2'lik agaroz jel içerisinde 1XTAE (Trizma Base, Glacial Asetic Asit, EDTA (Na₂.EDTA.H₂O) buffer eklenerek 120 voltuk elektrik akımı altında 1,5 saat süreyle koşulmuştur. Elektrofrez işleminden sonra % 0,1'lik ethidium bromide ile boyanmış UV ışığı altında fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 3.9 A-B-C-D-E).

Elde edilen DNA bantlarının büyüklüklerini belirlemede 100 bp'lik markır kullanılmıştır. Bu DNA'lar da bant büyüklükleri sırasıyla 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 bp olarak şekillenmektedir.



Şekil 3.6. Agaroz jel aşamaları

3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

3.3.1. Toplam fenolik bileşiklerin ve renk tayininin belirlenmesi

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama, standart hata, minimum ve maksimum değer olarak ifade edilmiştir. Bu özellikler bakımından genotipleri karşılaştırmada tek yönlü varyans analizi yapılmıştır. Varyans analizini takiben farklı genotipleri belirlemede Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Ele alınan özellikler bakımından, varyetler arası benzerlikleri belirlemede Kümeleme Analizi kullanılmıştır. Kümeleme analizinde bağlantı yöntemi olarak tekli bağlantı yöntemi, uzaklık ölçüsü olarak, öklid uzaklığı kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi % 5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS ve MINITAB istatistik paket programı kullanılmıştır.

3.3.2. DNA kalite ve kantitesinin belirlenmesi

DNA izolasyonu sonucu elde edilen DNA'lar TE çözeltisi içerisinde 1:50 oranında sulandırılarak DNA'ların konsantrasyonu ve saflık derecesi spektrofotometre (Nanodrop) adı verilen alet yardımıyla 260 ve 280 nm'deki dalga boyları okunarak belirlenmiştir.

3.3.3. Primerlerin polimorfizm oranlarının belirlenmesi

Çalışmada kullanılan SRAP primerlerinin polimorfizm oranı aşağıdaki formüle göre bulunmuştur.

$$\text{Polimorfizm Oranı (\%)} = (\text{Polimorfik bant sayısı} / \text{Toplam bant sayısı}) \times 100$$

3.3.4. Benzerlik indeksleri ve dendogramların oluşturulması

Akrabalık ilişkisini analiz etmek üzere SRAP markörleri belirlenen kuşburnu popülasyonuna uygulanmış ve agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür. Polimorfik bantlar skorlanmış ve skorlama dosyası popülasyon içerisindeki çeşitliliği belirlemek üzere DarWin programında analiz edilmiştir. Dice yöntemi kullanılarak analizlere başlanmış her bir markör için PIC değerleri hesap edilmiş ve UnweigtedNeighbourjoinin yöntemi ile ağaç çizilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Üzüksü bir meyve olan kuşburnu çeşitleri arasındaki genetik ilişkileri saptamak amacıyla Van Tuşpa ilçesinde kendiliğinden yetişen kuşburnu çeşitleri içerisinde belirlenen 22 genotip üzerinde çalışılmıştır. Araştırma bulguları toplam fenolik bileşikler, renk tayini çalışmaları ve 24 SRAP primeri kullanılarak moleküler düzeyde araştırılmıştır. Çalışmalar ayrı başlıklar altında aşağıda belirtilmiştir.

4.1. Toplam Fenolik Bileşikler ve Renk Tayinine Ait Bulgular

4.1.1. Toplam fenolik

Fenolik maddeler güçlü antioksidan özellikleri nedeniyle insan sağlığını koruyucu kimyasal bileşenler içerisinde yer almaktadır. Bu özelliklerinden dolayı son yıllarda birçok çalışmaya konu olmuşlardır. Çalışmamızda kuşburnu genotiplerinde toplam fenolik madde miktarları tespit edilmiştir. Genotiplerin toplam fenolik madde miktarları Çizelge 4.1 de sunulmuştur. Toplam fenolik madde miktarı bakımından VMR12 nolu genotip yapılan analizler sonucunda; 1864,76 mg GAE/ 100 g değer olarak çalışılan genotipler arasında en zengin bulunmuştur. Bunu VMR21 (1802,86 mg GAE/ 100 g), VMR15 (1763,81 mg GAE/ 100 g), VMR10 (1752,38 mg GAE/ 100 g), VMR3 (1750,48 mg GAE/ 100 g) nolu genotipler takip etmiştir.

Meyve ve sebzelerde toplam fenolik bileşiklerin içeriklerini etkileyen faktörlerin araştırıldığı çalışmalarda; çileklerde daha yüksek büyüme sıcaklıklarının (gece ve gündüz) flavonol ve antosiyanin içeriğini arttırdığı (Wang ve Zheng, 2001), CO₂ seviyesinin artışının, çileklerde antioksidan kapasiteyi ve fenolik bileşik konsantrasyonunun yükselmesine yol açtığı (Wang ve ark., 2003), toprak nem içeriğinin artmasının, çayda fenolik bileşik sentezini azalttığı, yüksek azotlu gübreleme ile belirli bazı fenolikleri azaldığı bildirilmiştir (Keinaen et al., 1999). Kumlu topraklarda yetişen çileklerin, killi topraklarda yetişenlere göre daha yüksek fenolik bileşik içerdikleri (Pincemail ve ark., 2012), biyoaktif bileşik birikimlerinde yıllara göre meydana gelen farklılıkların, solar radyasyon, hava sıcaklığı (Olsson ve ark., 2004), su durumu ve verimlilik aşamasına erken gelme gibi sebeplerden kaynaklanabildiği bildirilmiştir (Pincemail ve ark., 2012). Söz konusu araştırmalarda ortaya konulan bu çok farklı

sonuçlar, toplam fenolik madde içeriğinin meyve türüne, yetiŐtirildiĐi bölgenin toprak ve iklim özellikleri ve kültürel uygulamalar gibi birçok biyotik ve abiyotik stres faktörüne bağlı olarak büyük oranlarda değişim gösterdiğini düŐündürtmektedir.

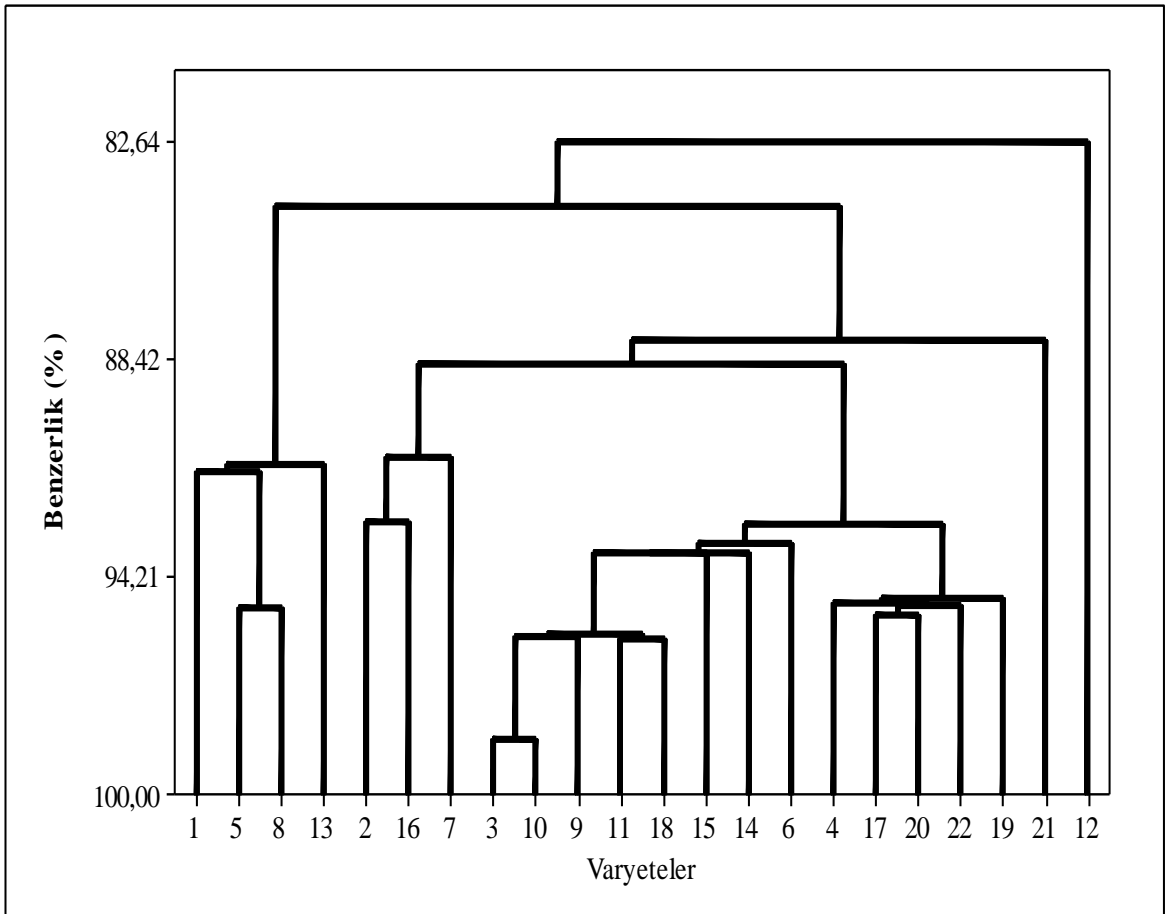
Çizelge 4.1. Genotiplerin toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/ 100 gr)

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	1519.04800	147.619000	1371.429	1814.286
VMR2	1619.04767	213.823652	1191.429	1837.143
VMR3	1750.47633	184.791360	1434.286	2074.286
VMR4	1683.80933	61.041436	1577.143	1788.571
VMR5	1500.95233	259.970396	1005.714	1885.714
VMR6	1747.61900	66.605461	1668.571	1880.000
VMR7	1604.76200	167.286012	1340.000	1914.286
VMR8	1511.42867	184.523707	1285.714	1877.143
VMR9	1739.04767	69.836239	1600.000	1820.000
VMR10	1752.38067	144.272498	1588.571	2040.000
VMR11	1715.23800	69.445494	1600.000	1840.000
VMR12	1864.76200	117.829994	1637.143	2031.429
VMR13	1538.09533	230.068682	1085.714	1837.143
VMR14	1705.71433	85.332312	1574.286	1865.714
VMR15	1763.80933	33.899979	1702.857	1820.000
VMR16	1594.28600	52.085658	1491.429	1660.000
VMR17	1675.23833	83.533079	1551.429	1834.286
VMR18	1726.66667	20.387265	1417.143	2125.714
VMR19	1659.04800	236.806044	1311.429	2111.429
VMR20	1671.42867	85.188978	1502.857	1777.143
VMR21	1802.85700	115.505393	1605.714	2005.714
VMR22	1687.61933	124.554480	1451.429	1874.286

Fenolik bileşikler önemli değişkenlikler gösterebilmektedirler. Bu değişkenlik temelde genetik olmakla birlikte, bitkinin biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı geliştirmek zorunda olduğu savunma mekanizmasıyla da büyük oranda ilişkilidir. Stres faktör veya faktörlerinin Şiddeti fenolik bileşik oran ya da miktarını da büyük oranda etkilemektedir. Bu noktadan hareketle fenolik bileşiklerin en yüksek olduğu bir zamandan bahsetmek doğru olmasa da, olgunluğa bağlı olarak arttığını ifade etmek yanlış olmayacaktır.

Tokat yöresinde yapılan bir çalışmada (Dölek, 2013) toplam fenolik bileşik içerikleri deĐerlendirilmiŐ ve kuşburnularda toplam fenolik bileşiklerin olgunlaşmaya bağlı olarak değişimleri tespit edilmiştir. 2010 yılında MR-12, MR-15, MR-26, MR-46 ve MR-84 genotiplerinde en yüksek toplam fenolik madde değerleri, sırasıyla 381,33

(H-2), mg 937,54 (H-5), 479,49 (H-5), 511,39 (H-2) ve 538,38 mg/100g (H-4) olarak tespit edilmiştir. 2011 yılında ise yine sırayla 538,84 (H-5), 1510,57 (H-6), 817,49 (H-6), 643,54 (H-4) ve 965,81 mg/100g (H-6) olarak belirlenmiştir. Diğer yapılmış çalışmalarda bulunan toplam fenolik madde miktarları 73-96 mg GAE/g (Ercişli, 2007), 3217,28 mg GAE/100g (Jablonska-Rys ve ark., 2009), 124,3 mg catechin eşdeğer/L (Kılıçgün ve Altiner, 2010), 609,19 mg GAE/100g (Egea ve ark., 2010) ; 63,76-424,6 mg GAE/g (Montazeri ve ark., 2011), bulunduğu ifade edilmektedir. Bizim bulduğumuz değerler daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu yukarıda belirtilen literatürlerdeki elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Nedeni olarakta yukarıda belirtilen fenolik madde üzerine etkili faktörlerden Van yöresi açısından stres faktör veya faktörlerinin şiddeti fenolik bileşik oran ya da miktarını da büyük oranda etkilediği düşünülmektedir.



Şekil 4.1. Toplam fenolik ve renk tayini dendogramı

Renk değerleri ve toplam fenolik maddeler birlikte ele alınarak yapılan kümeleme analizi sonuçları Çizelge 4.2 'de ve buna ait dendogram Şekilde 4.1 'de sunulmuştur. Şekil 4.1 ve Çizelge 4.2 birlikte incelendiğinde; % 98,52 benzerlik oranı ile en yüksek benzerlik VMR3-VMR10 genotipleri arasında görölmektedir. Benzer şekilde, bir sonraki en yüksek benzerlik oranı VMR11-VMR18 gruplarında (% 95,87) görölmektedir. VMR12 no'lu genotipte ise % 82,64 benzerlik oranı ile diğer genotiplere katılan genotip olmuştur. Diğer bir ifade ile bu genotiple 22 genotiple arasında yaklaşık % 82,64 oranında benzerlik bulunurken, bu özellikler bakımından genotipler arası varyasyon % 17,36 olarak bulunmuştur. Genotiplere ilişkin yapılacak olan seleksiyon ve ıslah çalışmalarında varyasyonun yüksek olması arzulanan bir durumdur. Buna göre yaklaşık % 17'lik varyasyonun bu genotipler için yapılacak seleksiyon çalışmalarında düşük bir varyasyon olduğu düşünölebilir. Bu bağlamda genotipler arası varyasyonu arttıracak çalışmalara yönelinmesinin faydalı olacağı düşünölebilir.

Çizelge 4.2. Toplam fenolik ve renk değerleri kümeleme analiz sonuçları

Adım	Küme sayısı	Benzerlik Oranı	Birleşen Gruplar	Yeni Küme	Kümedeki Grup Sayısı
1	21	98.5230	3-10	3	2
2	20	95.8685	11-18	11	2
3	19	95.7764	3-9	3	3
4	18	95.7598	3-11	3	5
5	17	95.2149	17-20	17	2
6	16	95.0344	5-8	5	2
7	15	94.9961	17-22	17	3
8	14	94.9112	4-17	4	4
9	13	94.7710	4-19	4	5
10	12	93.5894	3-15	3	6
11	11	93.5378	3-14	3	7
12	10	93.2851	3-6	3	8
13	9	92.8195	3-4	3	13
14	8	92.7421	2-16	2	2
15	7	91.4349	1-5	1	3
16	6	91.1936	1-13	1	4
17	5	91.0421	2-7	2	3
18	4	88.5410	2-3	2	16
19	3	87.9016	2-21	2	17
20	2	84.3649	1-2	1	21
21	1	82.6357	1-12	1	22

4.1.2. Renk tayini

Yapılan çalışmada genotiplerden meyve, yaprak ve çiçek örnekleri alınmıştır. Bunlar metoda belirtildiği şekliyle renkleri belirlenmiştir. Meyvede, yaprakta ve çiçekteki renk değişimleri istatistiksel olarak yorumlanmıştır.

Kuşburnu hasadında dikkate alınması gereken gözle görülebilir ve belirleyici en önemli hasat kriterlerinden bir tanesi de meyve rengidir. Renklerin belirlenmesinde göreceli kavramlardan ziyade somut hata yapılabilirliği düşük metod tercih edilmiştir. Tespitlerin somut ve net sayı değerleri ile okunması gözle yapılan hataları elimine ettiği düşünülmektedir.

Ölçümlerde meyvelerin L^* , a^* , b^* değerleri belirlenmiştir. L^* , rengin parlaklığında meydana gelen değişimleri ifade etmekte olup, 100'e yaklaştıkça maksimum değerini almakta ve beyaz renge gönderilen ışığın %100'ünün yansımaya esasına dayanmaktadır ki çalışmamızda farklı genotipler açısından bu değerler genel anlamda birbirine yakın değerler aldığı görülmüştür. a^* değeri yeşilden kırmızıya doğru olan değişimi; a^* 'nın pozitif değerleri kırmızı rengi, negatif değerleri ise yeşil rengi ifade etmektedir. Çalışmamızda a^* değeri VMR20 25,82 sayısı ile en düşük değeri almış, VMR8 34,84 sayısı ile en yüksek değere sahip olmuştur. b^* değeri ise sarıdan maviye renk değişimini ifade eder. b^* değeri VMR13 17,31 sayısı ile en düşük değeri almış, VMR8 27,61 sayısı ile en yüksek değere sahip olmuştur. Çalışmada meyvelerin parlaklıklarını (L^* değeri) bütün yüzeylerde olgunlaşmaya bağlı olarak kaybettiklerini ancak meyvenin arka yanak ve sap tarafının ön yanağa göre daha parlak olduğu, meyvenin bütün yüzeyinde kırmızı renge (a^*) doğru bir değişim gerçekleştiği fakat bu değişim ön ve arka yanakta hemen hemen aynı oranda iken meyve sapı tarafında daha az meydana geldiği ve meyvede sarı renk (b^*) oluşumunun arka ve meyvenin sap kısmında daha yüksek olduğu, ön yanak kısmında ise daha az hakim olduğu görülmüştür. Kuşburnu meyvesinde renk ölçümü yapılan iki çalışmaya rastlanılmıştır. Bu çalışmalardan ülkemizde yapılan çalışmada elde edilen değerler 48,6-52,02 (L^*), 40,69-43,31 (a^*) ve 39,39-47,73 (b^*) (Ercişli, 2007) ile karşılaştırıldığında farklılık gösterirken; yurt dışındaki çalışmada elde edilen değerler 38,02 (L^*), 34,72 (a^*), 23,69(b^*) (Egea ve ark., 2010) ile sonuçlar paralellik göstermiştir. Olgunlaşmaya bağlı olarak gerçekleştirilen tek çalışmada Ugglu (2004), Hue açısı, Chroma ve L^* değerleri

üzerinde durulmuştur. 1996 yılında elde edilen 47,4-39,3 ve 50,7- 46,5(L*) ve 1997 yılında elde edilen 47,4-40,1 ve 51,3-39,7(L*) değerleri, çalışmamızda tespit ettiğimiz değerlerden yüksek bulunmuştur. Nedeni olarakta meyve hasadını en yüksek olgunluğa eriştiğinde yapılması nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Olgunlaştıkça parlaklığın kırmızı renge doğru devinimde bulunduğu söylenebilir.

4.1.2.1. Meyvede renk

Çizelge 4.3. Meyvede L* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	33.9233 a	0.64705	33.16	35.21
VMR2	31.7300 bcd	0.74333	30.69	33.17
VMR3	32.2433 abcd	0.57750	31.55	33.39
VMR4	31.3467 bcde	0.40834	30.56	31.93
VMR5	31.1233 bcde	0.92762	29.40	32.58
VMR6	30.8300 bcde	0.43405	30.05	31.55
VMR7	31.0500 bcde	0.78475	29.55	32.20
VMR8	32.2467 abcd	0.62376	31.36	33.45
VMR9	31.8100 abcd	0.60506	31.19	33.02
VMR10	30.9067 bcde	0.09207	30.73	31.04
VMR11	32.6767 abc	0.64167	32.03	33.96
VMR12	29.4067 e	0.46563	28.84	30.33
VMR13	30.6100 bcde	0.65597	29.64	31.86
VMR14	30.3667 de	1.32369	27.81	32.24
VMR15	30.5600 cde	0.64094	29.86	31.84
VMR16	31.0433 bcde	1.11887	29.30	33.13
VMR17	31.1633 bcde	0.46677	30.49	32.06
VMR18	31.7300 bcd	0.54501	31.18	32.82
VMR19	32.8400 ab	0.51391	32.17	33.85
VMR20	30.6433 bcde	0.22244	30.25	31.02
VMR21	32.4867 abcd	0.32416	31.95	33.07
VMR22	314333 bcde	0.42997	30.94	32.29

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p < 0,05$). Farklı grupları belirlemede yapılan Duncan testi sonuçlarına göre, ortak harf içeren grup ortalamaları arası fark önemli değilken, farklı harfleri alan gruplar arası fark istatistik olarak önemlidir. VMR1-VMR2, VMR12-VMR21, VMR11-VMR14 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR1-VMR9, VMR8- VMR21, VMR13- VMR20 genotipleri arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.4. Meyvede a* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	32.2767 abcd	0.95900	31.12	34.18
VMR2	31.1333 bcdef	0.76701	29.60	31.94
VMR3	28.4733 efghi	1.36199	25.98	30.67
VMR4	31.8100 abcde	0.63516	30.92	33.04
VMR5	31.2600 bcdef	0.32604	30.89	31.91
VMR6	33.7000 ab	1.07093	32.44	35.83
VMR7	33.1667 abc	0.49680	32.29	34.01
VMR8	34.8467 a	3.36797	30.16	41.38
VMR9	30.3500 bcdefg	0.41477	29.76	31.15
VMR10	30.4300 bcdefg	0.54991	29.35	31.15
VMR11	30.9467 bcdef	1.23672	29.69	33.42
VMR12	28.6467 efghi	0.07333	28.50	28.72
VMR13	26.1300 hi	0.40596	25.33	26.65
VMR14	30.0033 cdefg	0.94109	28.37	31.63
VMR15	28.0300 fghi	0.55669	27.40	29.14
VMR16	29.3900 defgh	0.72021	28.64	30.83
VMR17	27.1400 ghi	1.35399	24.71	29.39
VMR18	28.9267 defghi	0.25208	28.59	29.42
VMR19	26.2000 hi	0.80214	24.61	27.18
VMR20	25.8200 i	0.28618	25.49	26.39
VMR21	29.0100 defghi	0.69000	28.32	30.39
VMR22	27.4033 ghi	0.73768	25.95	28.35

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p < 0,05$). VMR8-VMR13, VMR7-VMR12, VMR8-VMR22 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR14-VMR16, VMR21- VMR22, VMR1- VMR2 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.4).

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p < 0,05$). VMR1-VMR8, VMR11-VMR20, VMR4-VMR13 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR22-VMR9, VMR6- VMR7 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Meyvede b* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	22.5867 b	0.95837	21.21	2443
VMR2	18.6533 bcd	0.74604	17.80	20.14
VMR3	19.7700 bcd	0.23544	19.51	20.24
VMR4	22.3633 b	0.68062	21.11	23.45
VMR5	21.9333 bc	1.32255	19.36	23.75
VMR6	19.7633 bcd	0.46045	18.86	20.37
VMR7	20.6333 bcd	0.60691	19.42	21.27
VMR8	27.6133 a	4.54337	23.04	36.70
VMR9	22.4200 b	0.50922	21.69	23.40
VMR10	20.8633 bcd	0.63839	20.21	22.14
VMR11	22.1700 b	0.68646	21.10	23.45
VMR12	20.3933 bcd	0.10269	20.20	20.55
VMR13	17.3133 d	1.00426	15.31	18.44
VMR14	21.6933 bcd	0.93269	20.16	23.38
VMR15	19.2500 bcd	0.44287	18.55	20.07
VMR16	20.9567 bcd	1.96808	18.72	24.88
VMR17	19.4900 bcd	1.58207	16.77	22.25
VMR18	20.6833 bcd	1.19834	19.48	23.08
VMR19	20.4733 bcd	0.61358	19.54	21.63
VMR20	17.4433 cd	0.13860	17.18	17.65
VMR21	19.5600 bcd	0.62193	18.34	20.38
VMR22	20.9033 bcd	1.37061	18.17	22.45

Çizelge 4.6. Meyvede Chroma değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	39.6133 a	1.33867	37.94	4226
VMR2	36.3900 abcdefg	0.93963	34.68	37.92
VMR3	34.9000 defgh	0.94707	33.24	36.52
VMR4	38.9933 abc	0.91843	37.52	40.68
VMR5	38.3300 abcd	0.98975	36.55	39.97
VMR6	39.2133 ab	1.01742	37.97	41.23
VMR7	39.2533 ab	0.52492	38.55	40.28
VMR8	37.1600 abcdefg	2.15131	33.06	40.34
VMR9	37.9900 abcde	0.11676	37.76	38.14
VMR10	37.0833 abcdefg	0.75722	35.81	38.43
VMR11	38.9600 abc	1.13450	37.15	41.05
VMR12	35.2867 cdefg	0.09821	35.16	35.48
VMR13	31.4600 hı	0.57361	30.55	32.52
VMR14	37.2067 abcdef	1.23629	35.11	39.39
VMR15	34.0633 fghı	0.69247	33.11	35.41
VMR16	36.3433 abcdefg	1.78593	34.28	39.90
VMR17	33.4533 fghı	2.02996	29.89	36.92
VMR18	35.6333 bcdefg	0.91481	34.63	37.46
VMR19	33.4067 ghı	0.32544	32.96	34.04
VMR20	31.2533 ı	0.26610	30.81	31.73
VMR21	35.1567 defg	0.82788	33.97	36.75
VMR22	34.3267 efghı	1.65653	31.03	36.26

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR1-VMR21, VMR9-VMR20, VMR6-VMR21 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR14-VMR18, VMR21-VMR22, VMR4-VMR16 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.6).

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR4-VMR6, VMR19-VMR8, VMR2-VMR1 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR15-VMR20, VMR14-VMR10, VMR8-VMR12 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Meyvede Hue değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	35.0233 abcde	0.44333	34.16	35.63
VMR2	30.9533 ef	0.88958	29.25	32.25
VMR3	34.5367 abcdef	1.38498	32.33	37.09
VMR4	35.2167 abcde	0.40068	34.42	35.69
VMR5	35.0433 abcde	1.42709	32.19	36.53
VMR6	30.5167 f	0.84282	29.37	32.16
VMR7	31.8033 def	0.85764	30.34	33.31
VMR8	32.4500 cdef	4.00659	24.57	37.65
VMR9	36.4233 abc	0.93249	34.82	38.05
VMR10	34.4800 abcdef	0.54418	33.50	35.38
VMR11	35.7333 abcd	0.48320	35.01	36.65
VMR12	35.2367 abcde	0.08686	35.14	35.41
VMR13	33.5100 bcdef	1.76102	30.05	35.81
VMR14	36.0233 abcd	0.32271	35.43	36.54
VMR15	34.6433 abcdef	0.26283	34.18	35.09
VMR16	35.0833 abcde	1.87337	33.19	38.83
VMR17	35.5300 abcd	0.87231	34.05	37.07
VMR18	35.5367 abcd	1.33362	34.08	38.20
VMR19	38.0533 a	1.57819	36.18	41.19
VMR20	34.0533 abcdef	0.24030	33.62	34.45
VMR21	34.2067 abcdef	0.60927	33.27	35.35
VMR22	37.0033 ab	1.02387	34.97	38.23

4.1.2.2. Yaprakta renk

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR7-VMR8, VMR4-VMR7, VMR14-VMR15 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık

olduğunu gösterdi. VMR1-VMR2, VMR3-VMR5, VMR16-VMR18 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Yaprakta L* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	39.6800 b	0.51884	38.68	40.42
VMR2	38.5433 bc	0.08876	38.44	38.72
VMR3	35.8700 ef	0.92813	34.36	37.56
VMR4	39.3933 b	0.43758	38.81	40.25
VMR5	36.2133 def	0.57359	35.61	37.36
VMR6	37.1733 cde	0.16954	36.91	37.49
VMR7	42.5033 a	1.41982	39.76	44.51
VMR8	34.9400 f	0.16166	34.62	35.14
VMR9	36.0767 ef	0.36361	35.65	36.80
VMR10	36.6433 def	0.49212	35.83	37.53
VMR11	37.5733 cde	0.68180	36.42	38.78
VMR12	36.2167 def	0.37777	35.79	36.97
VMR13	36.5800 def	0.23438	36.14	36.94
VMR14	36.5067 def	0.06386	36.39	36.61
VMR15	38.0067 bcd	1.23653	36.30	40.41
VMR16	37.1333 cde	0.21858	36.70	37.40
VMR17	36.8400 cde	0.16197	36.57	37.13
VMR18	36.9100 cde	0.25942	36.54	37.41
VMR19	36.2300 def	0.20502	35.87	36.58
VMR20	36.9333 cde	0.37333	36.56	37.68
VMR21	36.3733 def	0.22259	35.93	36.63
VMR22	37.1500 cde	0.25239	36.65	37.46

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p < 0,05$). VMR1-VMR16, VMR4-VMR12, VMR5-VMR15 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR2-VMR17, VMR5- VMR11, VMR19- VMR22 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Yaprakta a* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	-10.4900 g	0.28572	-11.02	-10.04
VMR2	-9.2600 def	0.37647	-9.94	-8.64
VMR3	-7.9967 ab	0.51979	-8.91	-7.11
VMR4	-12.4833 h	0.47646	-13.32	-11.67
VMR5	-9.6367 efg	0.34070	-10.22	-9.04
VMR6	-9.7633 fg	0.10682	-9.95	-9.58
VMR7	-13.7233 ı	0.21835	-14.07	-13.32
VMR8	-7.9267 ab	0.20899	-8.33	-7.63
VMR9	-8.1267 ab	0.19877	-8.40	-7.74
VMR10	-8.6900 bcde	0.13577	-8.96	-8.53
VMR11	-8.9100 bcdef	0.38039	-9.67	-8.50
VMR12	-7.4867 a	0.21458	-7.90	-7.18
VMR13	-8.3900 abcd	0.15948	-8.70	-8.17
VMR14	-8.0100 ab	0.05568	-8.12	-7.94
VMR15	-8.2533 abc	0.50782	-9.18	-7.43
VMR16	-9.1333 cdef	0.37118	-9.60	-8.40
VMR17	-9.3867 ef	0.12347	-9.52	-9.14
VMR18	-8.0400 ab	0.26633	-8.48	-7.56
VMR19	-8.1467 ab	0.10477	-8.34	-7.98
VMR20	-8.0067 ab	0.48691	-8.91	-7.24
VMR21	-7.9467 ab	0.23398	-8.21	-7.48
VMR22	-8.0633 ab	0.26194	-8.48	-7.58

Çizelge 4.10. Yaprakta b* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	15.2233 c	0.82238	13.93	16.75
VMR2	12.1000 ef	0.18339	11.83	12.45
VMR3	9.9567 gh	1.10274	8.05	11.87
VMR4	18.7267 b	1.27795	16.41	20.82
VMR5	12.9433 de	0.51174	12.19	13.92
VMR6	14.0767 cd	0.10667	13.97	14.29
VMR7	23.1233 a	0.75909	21.98	24.56
VMR8	10.1800 fgh	0.21221	9.88	10.59
VMR9	10.2100 fgh	0.19502	9.85	10.52
VMR10	11.5067 efgh	0.31466	10.88	11.87
VMR11	11.3333 efgh	0.35333	10.98	12.04
VMR12	9.7000 h	0.15695	9.40	9.93
VMR13	10.7267 fgh	0.25392	10.35	11,21
VMR14	10.0600 gh	0.37112	9.64	10.80
VMR15	14.4167 cd	1.07117	13.18	16.55
VMR16	11.3833 efgh	0.33706	10.75	11.90
VMR17	12.0400 ef	0.22338	11.61	12.36
VMR18	10.3600 fgh	0.33262	9.86	10.99
VMR19	10.5067 fgh	0.37551	9.97	11.23
VMR20	11.5400 efgh	0.06557	11.41	11.62
VMR21	11.8333 efg	0.54260	10.75	12.43
VMR22	14.9833 c	0.67677	13.63	15.68

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR1-VMR16, VMR14-VMR17, VMR3-VMR7 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR10-VMR11, VMR13- VMR19, VMR15- VMR22 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur. (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.11. Yaprakta Chroma değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	18.5133 c	0.85452	17.17	20.10
VMR2	15.2400 defg	0.37287	14.65	15.93
VMR3	12.7867 h	1.18942	10.74	14.86
VMR4	22.5167 b	1.32497	20.14	24.72
VMR5	16.1433 de	0.61238	15.18	17.28
VMR6	17.1533 cd	0.05925	17.04	17.24
VMR7	26.9200 a	0.71473	25.97	28.32
VMR8	12.9133 h	0.28357	12.61	13.48
VMR9	13.0567 gh	0.27907	12.53	13.48
VMR10	14.4400 efgh	0.30105	13.86	14.87
VMR11	14.4167 efgh	0.51174	13.89	15.44
VMR12	12.2600 h	0.25120	11.83	12.70
VMR13	13.6233 fgh	0.29627	13.19	14.19
VMR14	12.8667 h	0.32794	12.49	13.52
VMR15	16.6267 cd	1.17225	15.14	18.94
VMR16	14.5167 efgh	0.57182	13.39	15.25
VMR17	15.2900 def	0.17954	15.02	15.63
VMR18	13.7133 fgh	0.79896	12.86	15.31
VMR19	12.4933 h	0.35507	11.79	12.93
VMR20	13.5767 fgh	0.97750	12.53	15.53
VMR21	13.1300 fgh	0.06928	13.01	13.25
VMR22	14.1700 efgh	0.72037	12.73	14.93

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR1-VMR3, VMR4-VMR7, VMR6-VMR11 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR1-VMR15, VMR16- VMR18, VMR2- VMR22 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.11).

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR3-VMR4, VMR7-VMR12, VMR9-VMR15 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR1-VMR6, VMR10- VMR21, VMR7- VMR18 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Yaprakta Hue değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	124.9267 bcde	0.54596	123.91	125.78
VMR2	127.4700 abc	0.70444	126.24	128.68
VMR3	129.1567 a	1.30282	126.95	131.46
VMR4	123.8600 def	0.82706	122.67	125.45
VMR5	126.7333 abcd	0.25751	126.40	127.24
VMR6	124.9267 bcde	0.42081	124.13	125.56
VMR7	120.8733 fg	0.72310	119.85	122.27
VMR8	127.9833 ab	0.40671	127.17	128.40
VMR9	128.5933 ab	0.24727	128.10	128.87
VMR10	127.4567 abc	0.44408	126.88	128.33
VMR11	128.2333 ab	0.33498	127.79	128.89
VMR12	127.6567 abc	0.40449	127.09	128.44
VMR13	128.1433 ab	0.13445	127.98	128.41
VMR14	128.5700 ab	0.85757	126.86	129.54
VMR15	119.9833 g	0.57156	119.31	121.12
VMR16	128.5067 ab	0.19221	128.14	128.79
VMR17	128.1200 ab	0.76775	126.86	129.51
VMR18	121.1367 fg	1.37042	118.63	123.35
VMR19	124.3000 cdef	2.50089	119.42	127.69
VMR20	123.5567 def	2.67538	119.59	128.65
VMR21	125.9500 abcd	0.80988	124.64	127.43
VMR22	122.2133 efg	1.84468	119.56	125.76

4.1.2.3. Çiçekte renk

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR1-VMR8, VMR14-VMR15, VMR7-VMR20 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR4-VMR19, VMR16-VMR22, VMR2-VMR13 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur. (Çizelge 4.13).

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR2-VMR7, VMR15-VMR18, VMR17-VMR20 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR6-VMR7, VMR10-VMR12, VMR20-VMR22 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.14).

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR1-VMR3, VMR9-VMR15, VMR12-VMR17 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR2-VMR3, VMR7-VMR11, VMR14-VMR16 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.13. Çiçekte L* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	64.6133 gh	0.79356	63.45	66.13
VMR2	69.8133 cdefg	1.45959	67.06	72.03
VMR3	70.4500 bcde	0.49729	69.72	71.40
VMR4	70.6600 abcde	1.04773	68.58	71.92
VMR5	69.1167 defg	0.92398	67.27	70.10
VMR6	74.7800 abc	1.00848	73.63	76.79
VMR7	75.0567 ab	0.38834	74.45	75.78
VMR8	75.6667 a	1.35271	73.56	78.19
VMR9	70.1967 bcdef	2.39715	67.17	74.93
VMR10	71.6633 abcde	0.44905	70.83	72.37
VMR11	68.8300 defg	2.26752	64.30	71.28
VMR12	73.2300 abcd	1.37971	71.17	75.85
VMR13	69.7433 cdefg	1.08253	67.67	71.32
VMR14	72.0067 abcde	0.58093	70.85	72.68
VMR15	63.6067 h	0.29214	63.12	64.13
VMR16	67.7700 efgh	1.42205	65.43	70.34
VMR17	72.3567 abcde	1.34470	70.50	74.97
VMR18	67.4500 efgh	2.07964	64.23	71.34
VMR19	69.2000 defg	0.70216	67.85	70.21
VMR20	67.0867 efgh	3.25507	62.32	73.31
VMR21	65.0167 fgh	2.90201	61.42	70.76
VMR22	67.6033 efgh	1.63559	65.48	70.82

Çizelge 4.14. Çiçekte a* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	24.0567 a	2.04165	20.96	27.91
VMR2	10.2667 cde	0.99534	8.38	11.76
VMR3	12.6767 bc	1.73653	9.25	14.88
VMR4	11.0400 bcd	1.04800	9.21	12.84
VMR5	9.0167 def	0.46052	8.15	9.72
VMR6	4.8167 g	1.20584	2.43	6.31
VMR7	4.9067 g	0.65915	3.65	5.88
VMR8	7.6100 efg	1.28508	5.67	10.04
VMR9	9.6867 cde	1.05963	7.73	11.37
VMR10	11.4700 bcd	0.73014	10.03	12.40
VMR11	13.5767 b	0.76336	12.37	14.99
VMR12	11.8367 bcd	1.47042	9.16	14.23
VMR13	11.2933 bcd	0.26959	10.93	11.82
VMR14	12.1367 bcd	0.77945	10.78	13.48
VMR15	22.0333 a	0.55430	21.08	23.00
VMR16	11.1000 bcd	0.49662	10.12	11.73
VMR17	6.1967 fg	0.35263	5.80	6.90
VMR18	11.3833 bcd	0.32763	10.76	11.87
VMR19	12.7333 bc	0.60916	11.67	13.78
VMR20	11.6600 bcd	0.62804	10.53	12.70
VMR21	10.8033 bcd	0.20366	10.58	11.21
VMR22	12.9100 bc	0.57472	11.98	13.96

Çizelge 4.15. Çiçekte b* değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	1.6400 gh	0.27099	1.33	2.18
VMR2	3.5233 bcdef	0.66834	2.85	4.86
VMR3	3.6533 bcdef	0.53080	2.79	4.62
VMR4	2.7800 efg	0.18583	2.48	3.12
VMR5	2.5867 efg	0.22191	2.24	3.00
VMR6	4.8767 ab	0.16128	4.63	5.18
VMR7	4.1567 abcde	0.41794	3.48	4.92
VMR8	3.1267 cdefg	0.75092	1.85	4.45
VMR9	4.5800 abc	1.12811	3.31	6.83
VMR10	3.7533 bcdef	0.27425	3.28	4.23
VMR11	4.4333 abcd	0.31751	3.80	4.79
VMR12	3.0067 cdefg	0.67459	1.79	4.12
VMR13	2.8667 defg	0.41370	2.05	3.39
VMR14	2.2333 fgh	0.49841	1.33	3.05
VMR15	1.1500 h	0.46199	0.34	1.94
VMR16	2.2200 fgh	0.37634	1.47	2.65
VMR17	5.3733 a	0.45230	4.52	6.06
VMR18	3.9267 abcde	0.47806	3.32	4.87
VMR19	3.9100 abcde	0.11790	3.68	4.07
VMR20	3.6900 bcdef	0.38436	3.21	4.45
VMR21	4.1800 abcde	0.34771	3.76	4.87
VMR22	3.9167 abcde	0.30223	3.52	4.51

Çizelge 4.16. Çiçekte Chroma değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	24.4867 a	1.81440	21.84	27.96
VMR2	11.0933 def	0.71880	9.85	12.34
VMR3	13.4500 bcd	1.55653	10.45	15.67
VMR4	11.4733 de	1.03932	9.66	13.26
VMR5	9.4733 efg	0.46438	8.58	10.14
VMR6	7.2467 g	0.67058	5.91	8.01
VMR7	7.0000 g	0.67357	5.66	7.79
VMR8	8.6033 fg	0.92272	7.34	10.40
VMR9	11.2000 def	0.59102	10.55	12.38
VMR10	12.2133 cde	0.60765	11.00	12.88
VMR11	14.8500 bc	0.86504	13.97	16.58
VMR12	12.5333 cd	1.16537	10.63	14.65
VMR13	12.1767 cde	0.02603	12.13	12.22
VMR14	12.4867 cd	0.66479	11.37	13.67
VMR15	22.1633 a	0.53533	21.31	23.15
VMR16	13.6700 bcd	0.64086	12.56	14.78
VMR17	8.6500 fg	0.60797	7.68	9.77
VMR18	11.9733 de	0.38168	11.21	12.36
VMR19	12.1767 cde	0.33398	11.54	12.67
VMR20	11.7733 de	0.60034	10.87	12.91
VMR21	15.5533 b	1.20457	13.98	17.92
VMR22	13.7567 bcd	0.57097	12.98	14.87

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR1-VMR6, VMR8-VMR21, VMR15-VMR22 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR2-VMR9, VMR10-VMR14, VMR16-VMR19 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur (Çizelge 4.16).

Karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında genotip grupları arasında istatistik olarak önemli (anlamlı) bir fark olduğu görülür ($p<0,05$). VMR1-VMR6, VMR17-VMR19, VMR1-VMR17 genotiplerin benzer harf içermemesi bunlar arasında önemli farklılık olduğunu gösterdi. VMR4-VMR5, VMR10-VMR11, VMR21-VMR22 genotipleri ise benzer harf içerdiği için bunlar arasında önemli farklılık yoktur. (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Çiçekte Hue değeri için genotiplere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Genotipler	Ort.	St. Hata	Min.	Mak.
VMR1	4.743 e	1.2460	3.0	7.2
VMR2	22.043 abcde	4.8221	15.8	31.5
VMR3	19.023 cde	4.3050	12.4	27.1
VMR4	14.473 de	0.5997	13.6	15.6
VMR5	16.303 de	0.9567	14.8	18.1
VMR6	46.107 a	7.4994	35.9	60.7
VMR7	42.800 abc	5.3536	32.5	50.4
VMR8	25.907 abcde	7.8394	12.2	39.3
VMR9	27.170 abcde	7.1501	19.2	41.4
VMR10	19.360 bcde	2.6705	14.4	23.6
VMR11	21.893 abcde	3.7328	17.7	29.3
VMR12	17.950 cde	6.3434	10.1	30.5
VMR13	20.210 bcde	2.2563	15.7	22.6
VMR14	42.487 abc	28.0616	11.3	98.5
VMR15	12.830 de	3.7280	6.3	19.2
VMR16	15.613 de	2.6773	10.3	19.0
VMR17	44.227 ab	2.7121	39.1	48.2
VMR18	24.880 abcde	7.1402	15.9	39.0
VMR19	17.990 cde	3.0592	11.9	21.5
VMR20	30.833 abcd	2.5563	27.0	35.7
VMR21	25.850 abcde	0.5601	24.9	26.8
VMR22	26.787 abcde	1.1414	24.8	28.7

4.1.3. Çalışılan genotiplerin botanik tanımlanması

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında çalışılan genotiplerin teşhisleri yapılmış çizelge 4.18 verilmiştir. Kuşburnu tanımlamalarında dört formdan bahsedebiliriz. Bu form ve özellikleri;

Form (Grup) a. Yaprakçıklar ve pediseller tüysüz.

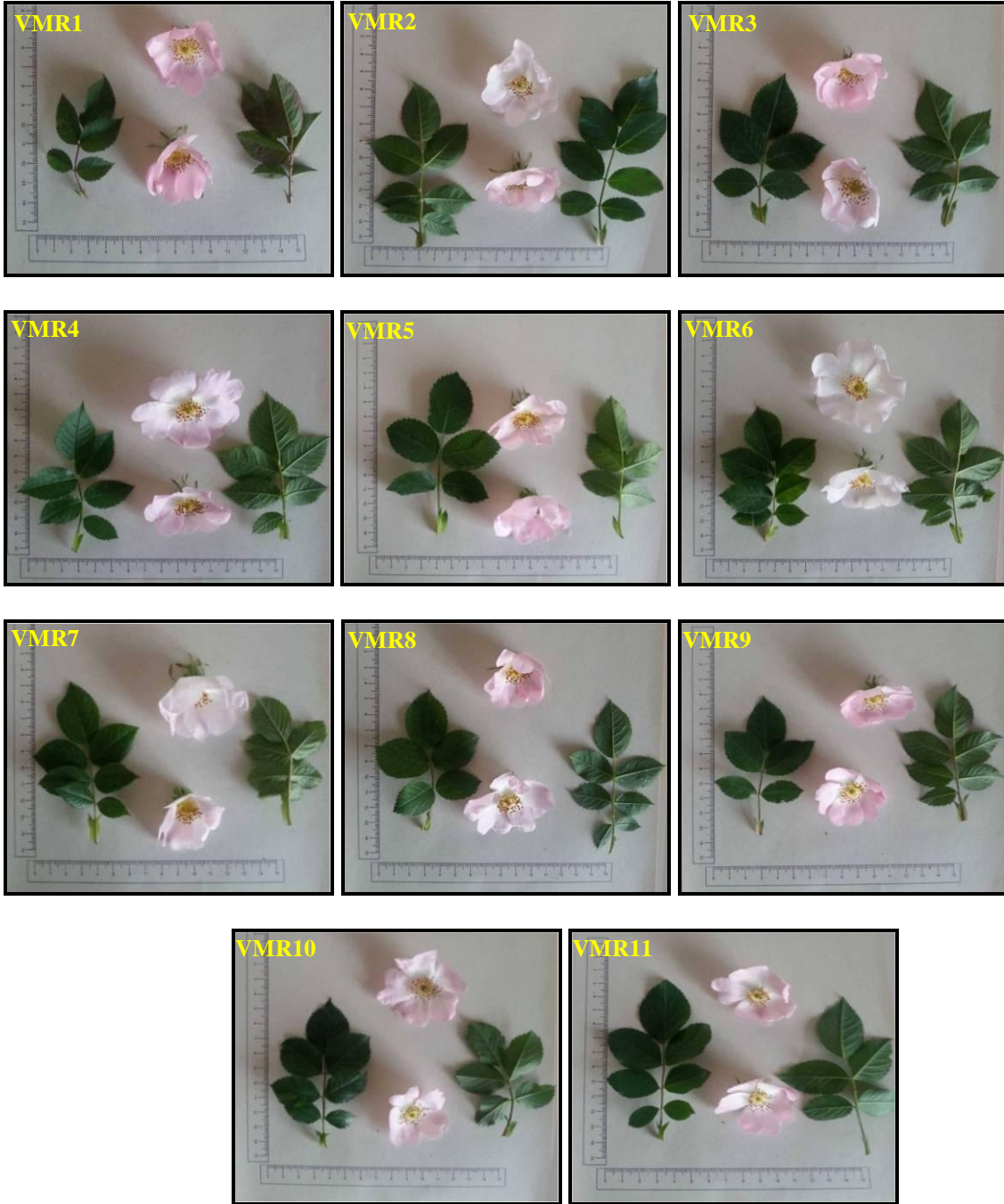
Form (Grup) b. Yaprakçıklar tüysüz, pedisellerglandular-hispid.

Form (Grup) c. Yaprakçıklar en azından alt yüzeydepubescent, pedisellertüysüz.

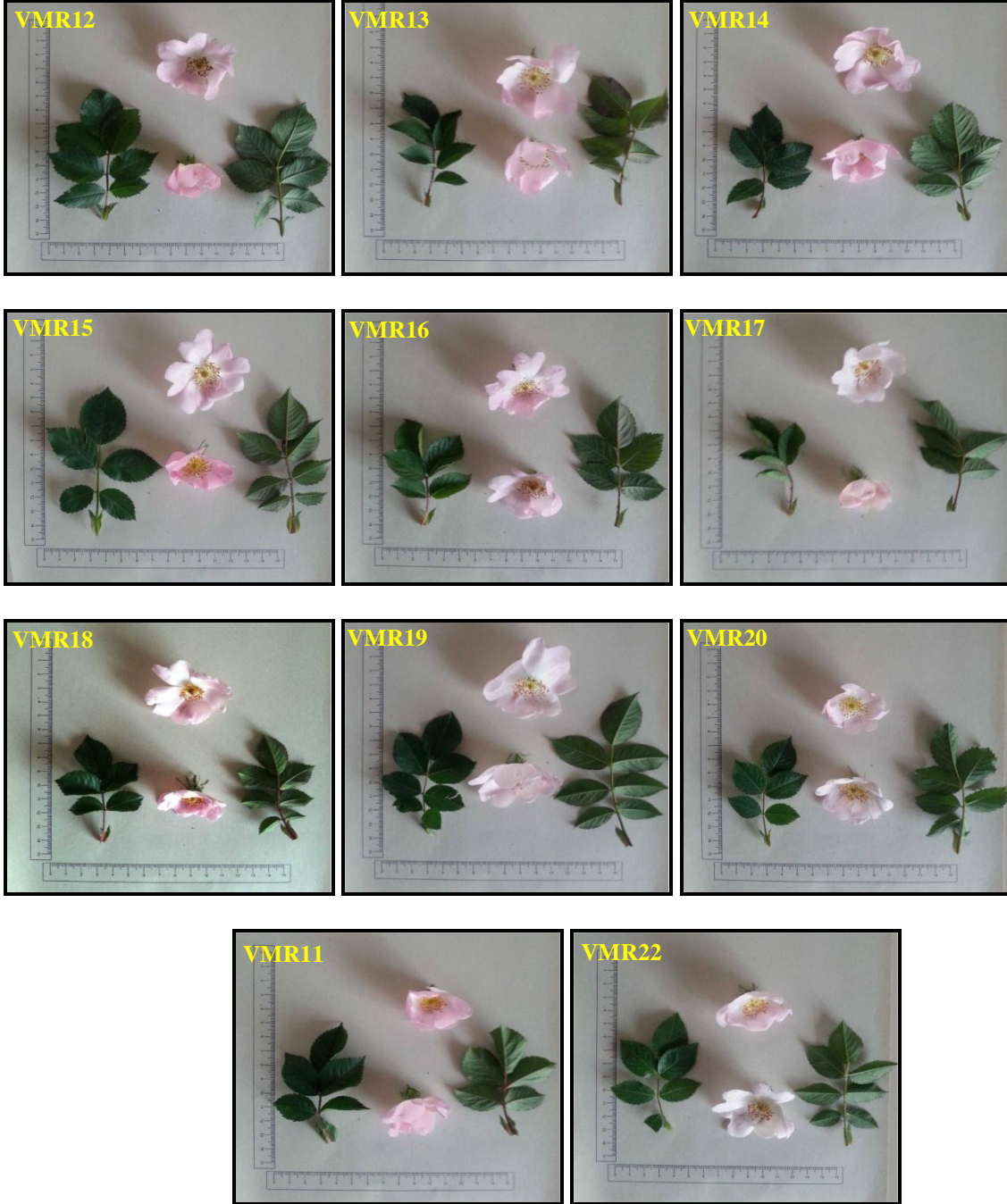
Form (Grup) d. Yaprakçıklar pubescent tüylü, pedisellerglandularhispid.

Çizelge 4.18. Kuşburnu türlerinin özellikleri

Form	Genotipler (VMR)	Tür	Özellikleri
Grup d	1, 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 21, 22	<i>Rosa canina</i> L. Türü	Yaprakçıklar pubescent tüylü, pediseller glandularhispid
	6, 7	<i>Rosa dumalis</i> Bechst. subsp. Boissierii (Crepin) Ö. Nilsson var. Boissierii	Yaprakçıklar ve yaprak sapı (pediseller) çok yoğun tüylü (pubescent)
	3, 17, 20	Bu örnekler ise yukarıdaki iki türün hibriti olabilir.	Yapraksapı hem tüylü, hem de bazen glandular



Şekil 4.2. Yirmiiki kuşburnu genotipine ait çiçek ve yaprak resimleri



Şekil 4.2. Yirmiiki kuşburnu genotipine ait çiçek ve yaprak resimleri (devamı)

4.1.4. Moleküler çalışmalara ait bulgular

4.1.4.1. SRAP analizi sonuçları

Tez çalışması kapsamında 24 adet SRAP primer kombinasyonu denenmiş bunların 17 tanesi istenilen amplifikasyonu göstermiştir. İlerleme gözlemlenmeyen SRAP primer kombinasyonları (Me1/Em17, Me3/Em5, Me3/Em17, Me5/Em15, Me9/Em17, Me12/Em10, Me14/Em5) değerlendirmeye alınmamıştır. PCR sonucu elde edilen sağlıklı okunabilir bantların varlığı (1) ve yokluğu (0) olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda elde edilen toplam bant sayısı, monomorfik bant sayısı, polimorfik bant sayısı, polimorfizm oranı ve PIC değerleri Çizelge 4,2’de sunulmuştur.

17 adet SRAP primer kombinasyonu ile yapılan çalışmada; toplam 40 bant elde edilmiş bu bantlardan 10 adedi monomorfik, 30 adedi polimorfik bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda polimorfizm oranının % 75,00 ve elde edilen bant aralığının 100-900 bp arasında olduğu saptanmıştır. Elde edilen bant sayısına bakıldığında Me14/Em17 ve Me7/Em12 primer kombinasyonları en düşük sayıda (1 bant/primer) oluşturmuş olup, Me12/Em14, Me14/Em13 primer kombinasyonlarında en yüksek (4 bant/primer) olduğu saptanmıştır. Me7/Em14, Me6/Em4, Me3/Em11, Me14/Em2 primer kombinasyonlarında 1 adet polimorfik, 1 adet monomorfik bant varlığında % 50 polimorfizm oranıyla en düşük polimorfizm değerine sahip primerler olduğu belirlenmiştir. En yüksek polimorfizm Me11/Em17, Me13/Em17, Me5/Em17, Me6/Em17 ve Me14/Em17, Me7/Em12, Me6/Em6 primer kombinasyonlarında gözlenmiştir (% 100).

Me2/Em13 : Me2 Forward ve Em13 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 200, 500 bp olmak üzere toplam 3 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-500 bp arasındadır. Bir adet monomorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 66,66’ dır. Her genotip için en az bir en çok üç bant elde edilmiştir. VMR1, VMR2, VMR5, VMR6, VMR10, VMR12, VMR14, VMR16, VMR17 genotiplerinde 100 bp uzunluğunda bir bant, VMR3, VMR4 genotiplerinde 200 bp uzunluğunda iki

bant diğer genotiplerde 100, 200, 500 bp uzunluğunda üç bant elde edilmiştir (Şekil 4.6).

Me3/Em11 : Me3 Forward ve Em11 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 300, 400 bp olmak üzere toplam 2 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Bir adet monomorfik bantta bir adette polimorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 50' dir.

Me3/Em13: Me3 Forward ve Em13 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 300, 400 bp olmak üzere toplam 3 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-400 bp arasındadır. Bir adet monomorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 66,66'dır.

Me5/Em17: Me5 Forward ve Em17 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 200 bp olmak üzere toplam 2 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür.

Me6/Em4: Me6 Forward ve Em4 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 200 bp olmak üzere toplam 2 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Bir adet monomorfik bantta bir adette polimorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 50'dir.

Me6/Em6: Me6 Forward ve Em6 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 400, 500 bp olmak üzere toplam 2 bant gözlenmiştir. Gözlenen bant aralığı 400-500 bp arasındadır. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür. VMR16, VMR17 ve VMR21 genotiplerinde ilerleme görülmemiştir. VMR14, VMR20, VMR22 genotiplerinde 400 bp uzunluğunda bir bant elde edilmiştir. Diğer 16 genotiplerde 400, 500 bp uzunluğunda iki bant elde edilmiştir (Şekil 4.3).

Me6/Em17: Me6 Forward ve Em17 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 500 bp olmak üzere toplam 2 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem

kısımında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100’dür.

Me7/Em10: Me6 Forward ve Em10 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 400, 900 bp olmak üzere toplam 3 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-900 bp arasındadır. 100 bp uzunluğunda bir adet monomorfik banda raslanmıştır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 66,66’dır. Her genotip için en az bir en çok üç bant elde edilmiştir. VMR21 genotipinde 100 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir. VMR3, VMR4, VMR5, VMR9, VMR13, VMR15, VMR20 genotiplerinde 100, 400, 900 bp uzunluğunda üç adet bant elde edilmiştir. Diğer 14 genotipten iki adet bant elde edilmiştir (Şekil 4.4).

Me7/Em12: Me7 Forward ve Em12 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 300 bp olmak üzere toplam 1 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100’dür.

Me7/Em14: me7 Forward ve em14 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 400 bp olmak üzere toplam 2 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Bir adet monomorfik bantta bir adette polimorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 50’dir.

Me8/Em12: me8 Forward ve em12 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 200, 400, 500 bp olmak üzere toplam 3 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 200-500 bp arasındadır. 200 bp uzunluğunda bir adet monomorfik banda raslanmıştır. Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 66,66’dır. Her genotip için en az bir en çok üç bant elde edilmiştir. VMR8, VMR10, VMR13, VMR14, VMR16, VMR17, VMR19, VMR20 genotipinde 200 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir. VMR1, VMR2, VMR6, VMR7, VMR9, VMR11, VMR15, VMR18, VMR21, VMR22 genotiplerinde 200, 400,

500 bp uzunluğunda üç adet bant elde edilmiştir. Diğer 4 genotipten iki adet bant elde edilmiştir (Şekil 4.5).

Me11/Em17: Me11 Forward ve Em17 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 300 bp olmak üzere toplam 2 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-300 bp arasındadır. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür. VMR9, VMR10, VMR16, VMR17, VMR19, VMR20 genotiplerinde ilerleme görülmemiştir. VMR3, VMR5, VMR22 genotiplerinde 100 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir. Diğer 13 genotiplerden iki adet bant elde edilmiştir (Şekil 4.8).

Me12/Em14: Me12 Forward ve Em14 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 300, 600, 700 bp olmak üzere toplam 4 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-700 bp arasındadır. 100 bp uzunluğunda bir adet monomorfik banda raslanmıştır. Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 75'tir. Her genotip için en az bir en çok dört bant elde edilmiştir. VMR14, VMR17, VMR22 genotiplerinde 100 bp uzunluğunda bir adet bant elde edilmiştir. VMR1, VMR2, VMR3, VMR4, VMR8, VMR9, VMR11 genotiplerinde 100, 300, 600, 700 bp uzunluğunda dört adet bant elde edilmiştir (Şekil 4.7).

Me13/Em17: Me13 Forward ve Em17 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 200 bp olmak üzere toplam 2 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100'dür.

Me14/Em2: Me14 Forward ve Em2 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 400 bp olmak üzere toplam 2 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Bir adet monomorfik bantta bir adette polimorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 50'dir.

Me14/Em13: Me14 Forward ve Em13 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 100, 200, 400, 500 bp olmak üzere toplam 4 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda

polimorfik bantlar elde edilmiştir. Gözlenen bant aralığı 100-500 bp arasındadır. Bir adet monomorfik bantta rastlanmıştır. Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 75’tir.

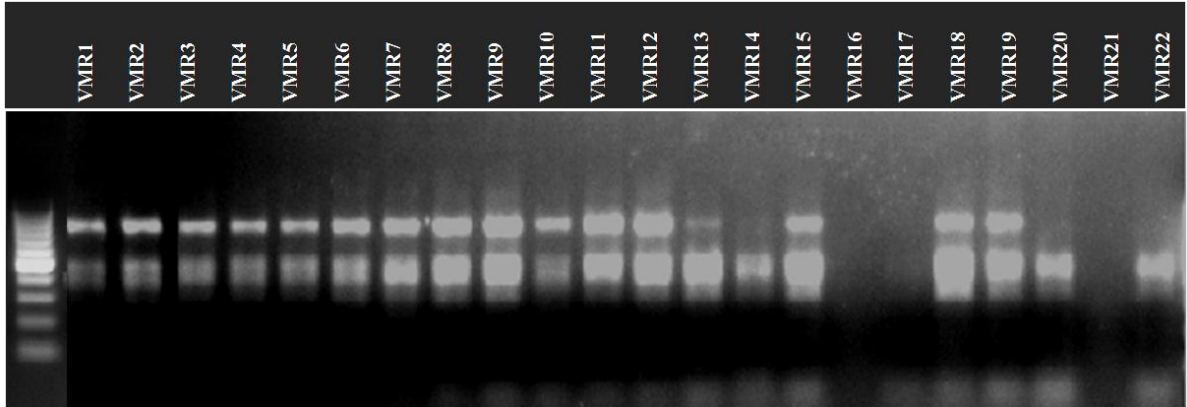
Me14/Em17: Me14 Forward ve Em17 Reverse primerleri kullanılan SRAP primerinde 300 bp olmak üzere toplam 1 bant gözlenmiştir. Materyal yöntem kısmında belirtilmiş olan SRAP protokolü uygulanmış ve istenen oranda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Monomorfik bantlara rastlanmamıştır. Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi primerin polimorfizm oranı % 100’dür.

SRAP primerlerinde polimorfizm bilgi içeriği (PIC) bakımından en yüksek değer ME8/EM12 kombinasyonundan elde edildiği belirlenmiştir. En düşük PIC değeri ise ME14/EM2 kombinasyonunda saptanmıştır.

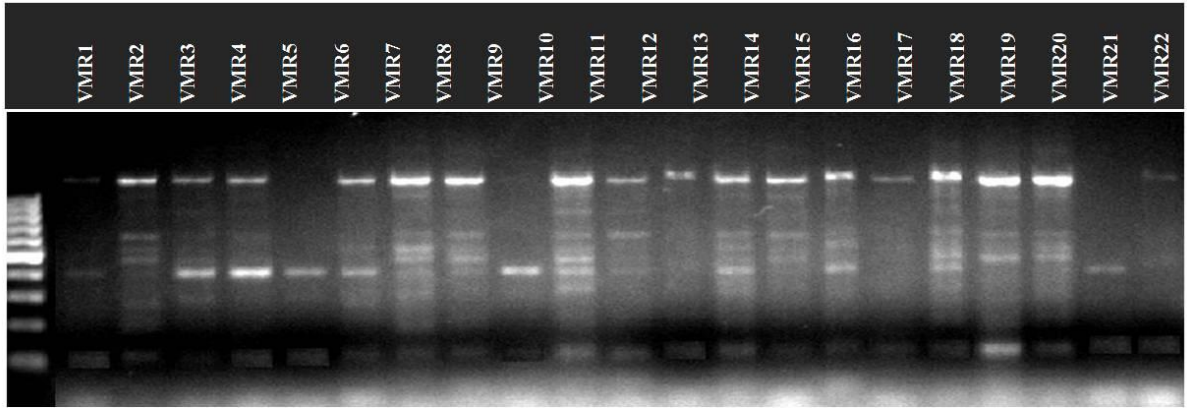
Çizelge 4.19. Kuşburnu çeşitlerinde kullanılan 17 srap primer kombinasyonunun istatistiksel verileri

Primer Adı	TBS	BA(bp)	MBS	PBS	PY(%)	PIC
ME2/EM13	3	100-500	1	2	66.66	0.4943
ME3/EM11	2	100-400	1	1	50	0.2355
ME3/EM13	3	100-400	1	2	66.66	0.2004
ME5/EM17	2	100-200	0	2	100	0.4917
ME6/EM4	2	100-200	1	1	50	0.1652
ME6/EM6	2	400-500	0	2	100	0.3161
ME6/EM17	2	100-500	0	2	100	0.4769
ME7/EM10	3	100-900	1	2	66.66	0.4250
ME7/EM12	1	300	0	1	100	0.1107
ME7/EM14	2	100-400	1	1	50	0.1800
ME8/EM12	3	200-500	1	2	66.66	0.4958
ME11/EM17	2	100-300	0	2	100	0.4400
ME12/EM14	4	100-700	1	3	75.0	0.4393
ME13/EM17	2	100-200	0	2	100	0.4338
ME14/EM2	2	100-400	1	1	50	0.0867
ME14/EM13	4	100-500	1	3	75.0	0.2782
ME14/EM17	1	300	0	1	100	0.4081
Toplam	40	100-900	10	30	Ort: 75.0	

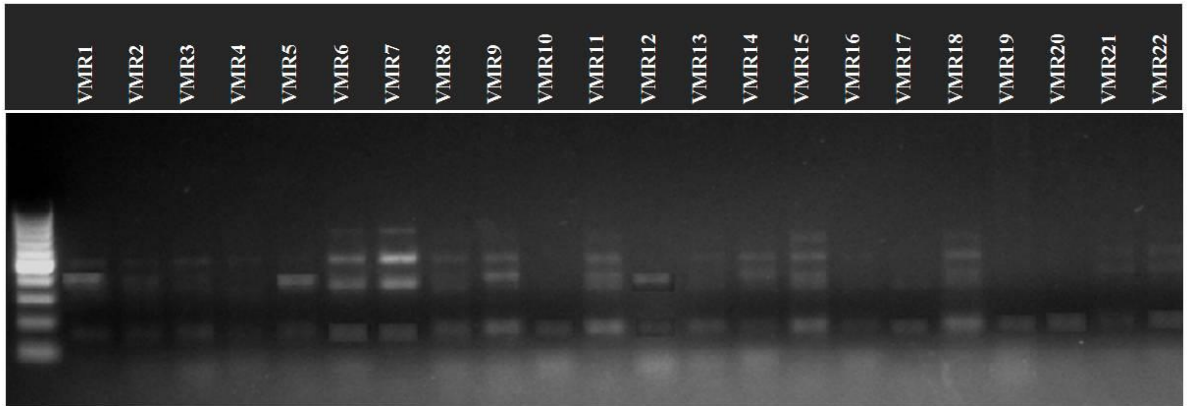
TBS: Toplam Bant Sayısı, BA (bp): Bant Aralığı, MBS: Monomorfik Bant Sayısı , PBS: Polimorfik Bant Sayısı, PY (%): Polimorfizm Yüzdesi, PIC: Polimorphic Information Content



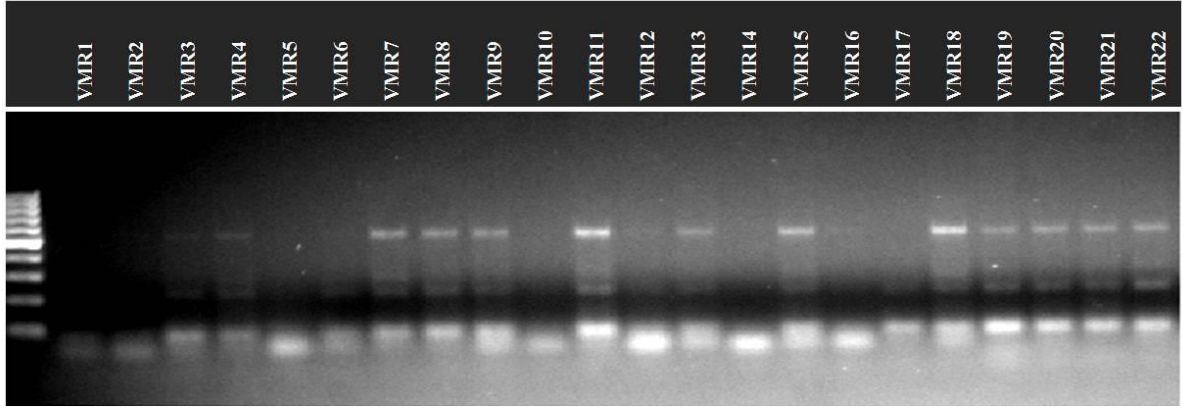
Şekil 4.3. Em6-Me6 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri



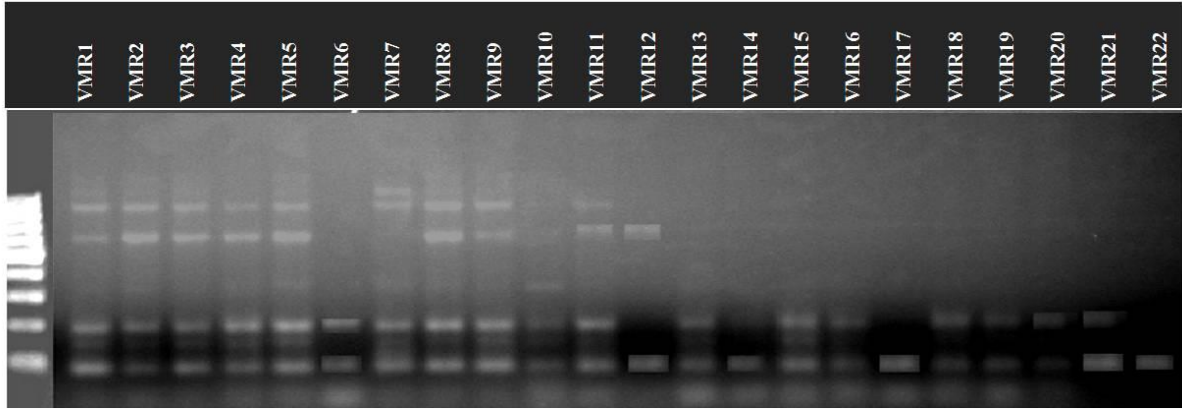
Şekil 4.4. Em10-Me7 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri



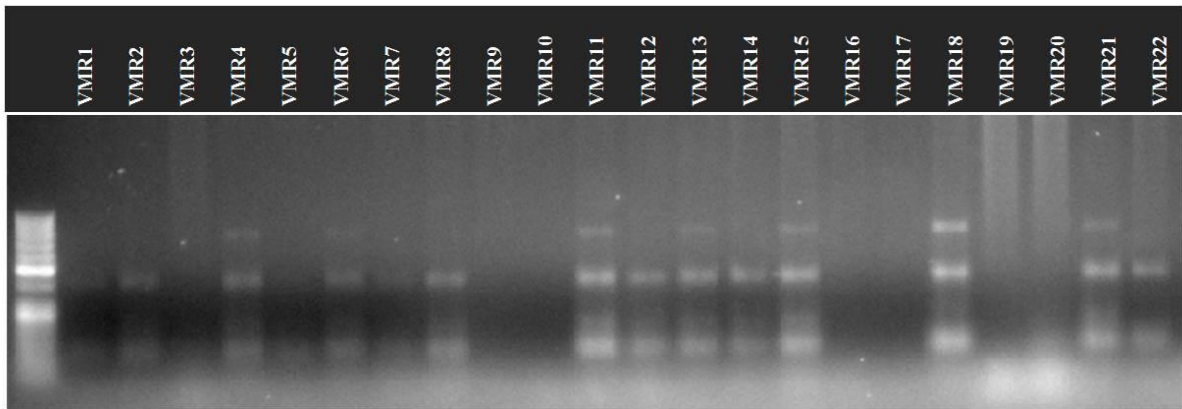
Şekil 4.5. Em12-Me8 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri



Şekil 4.6. Em13-Me2 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri



Şekil 4.7. Em14-Me12 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri



Şekil 4.8. Em17-Me11 SRAP primer kombinasyonlarına ait bant profilleri

4.1.4.2. SRAP analizleri sonucu elde edilen dendogramın değerlendirilmesi

SRAP analizi sonucunda elde edilen dendogramda üzerinde çalışılan kuşburnu genotipleri üç ana dala ayrılmıştır. SRAP analizi sonucunda oluşturulan dendogram (Şekil 4.9) üzerinde A, B ve C olarak gruplanmanın olduğu gözlemlenmiştir. A kümesinin içinde 2 adet alt küme mevcuttur ve bu kümeler A1 ve A2 olarak adlandırılmıştır. A kümesi VMR1, VMR2, VMR4, VMR6, VMR7, VMR8, VMR9, VMR11, VMR13, VMR15, VMR18, VMR21 numaralı genotiplerden oluşmaktadır. A1 kümesi; VMR1, VMR6, VMR7, VMR8, VMR11, VMR15, VMR18, VMR21 numaralı genotiplerden, A2 kümesi; VMR4, VMR13 numaralı genotiplerden oluşmaktadır. A1 kümesindeki VMR11-VMR18 genotipleri arasındaki 0,0948 benzerlik oranı ile birbirine en yakın genotipler olduğu görülmüştür. VMR1-VMR15 benzerlik oranı açısından 0,1110 değeri ile bunu takip etmektedir. VMR6-VMR21 genotipleri ise 0,2755 benzerlik oranı ile birbirine en uzak genotipler olduğu saptanmıştır. A2 kümesindeki VMR4-VMR13 genotipleri 0,1064 benzerlik oranı ile aldığı oran doğrultusunda birbirine benzerdir.

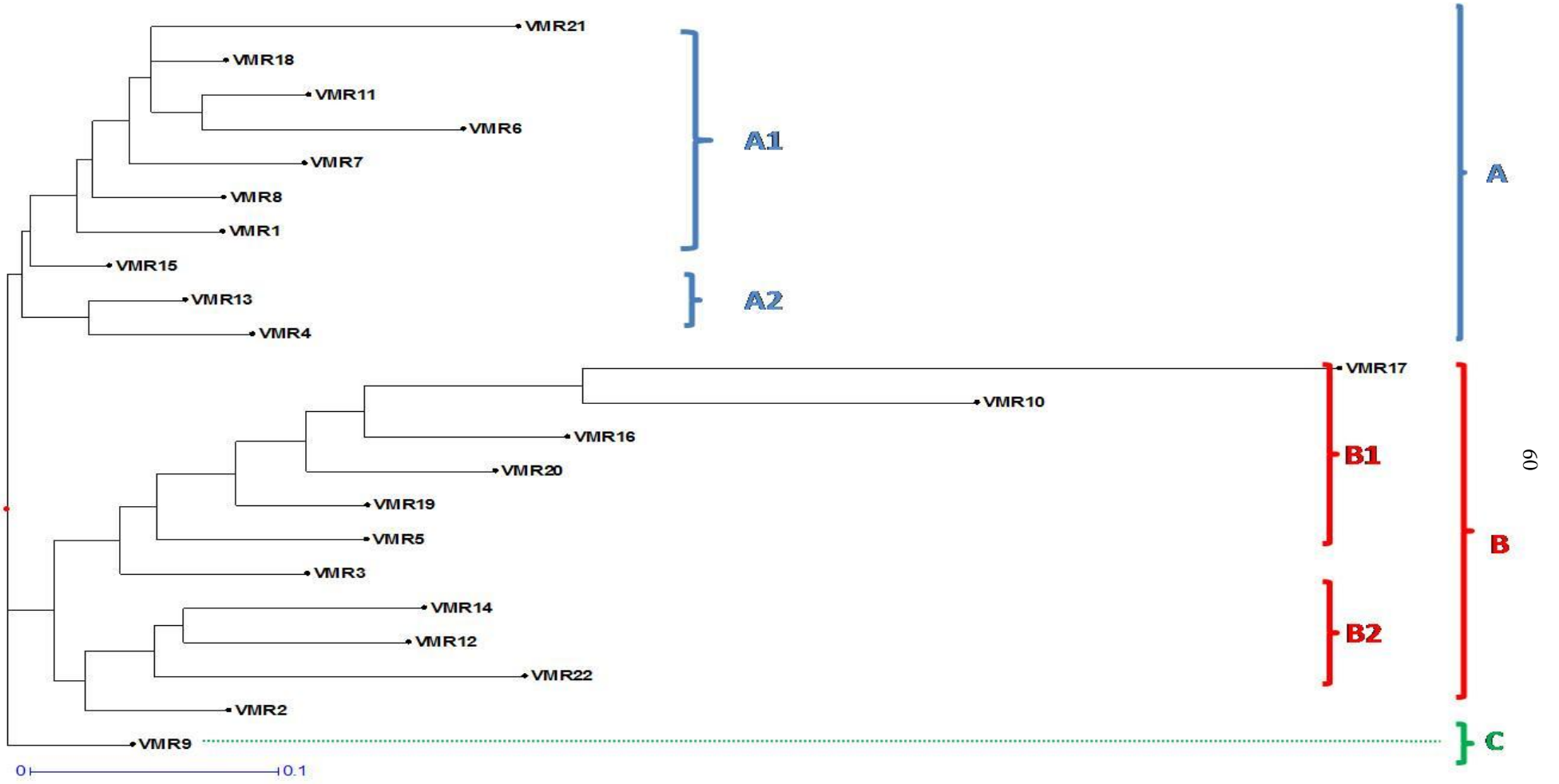
Genel olarak A kümesinde VMR13-VMR15 ve genotipleri 0,1018 benzerlik oranları ile birbirine yakın, VMR4-VMR21 genotipleri 0,2945 benzerlik oranları ile birbirine en uzak genotipler olduğu tespit edilmiştir. B kümesinin içinde 2 adet alt küme mevcuttur ve bu kümeler B1 ve B2 olarak adlandırılmıştır. B kümesinin içeriğinde bulunan VMR3, VMR5, VMR10, VMR16, VMR17, VMR19, VMR20, numaralı genotipler B1 alt kümesini oluşturmaktadır. B2 kümesi ise VMR12, VMR14, VMR22 numaralı genotiplerden oluşmaktadır. B kümesi A kümesinden daha farklıdır çünkü benzerlik oranları birbirine daha uzaktır. B1 kümesindeki VMR19-VMR20 genotipleri 0,1589 benzerlik oranı ile en yakın genotiplerdir. Bu genotipleri takip eden 0,1709 benzerlik oranı ile VMR5-VMR19 genotipleri olmuştur. VMR3-VMR17 genotipleri ise 0,5697 benzerlik oranı ile B1 kümesindeki birbirine en uzak genotiplerdir. B2 kümesindeki VMR12-VMR14 genotipleri 0,1892 benzerlik oranı ile birbirine en yakın genotipler olduğu belirlenmiştir. VMR14-VMR22 genotipleri 0,2604 benzerlik oranı ile birbirine en uzak genotiplerdir. Genel olarak B kümesinde genetik yakınlık bakımından VMR17-VMR22 0,7113 benzerlik oranı ile en uzak genotipler olduğunu ifade edebiliriz. B grubu içerisinde genetik yakınlık açısından VMR2-VMR3 genotipleri

0,1741 benzerlik oranı ile en yakın değeri aldığı gözlemlenmiştir. C kümesinin içinde 1 adet genotip vardır VMR9 genotip yer almıştır

A kümesi, popülasyon içerisinde bulunan 10 genotipi, B kümesi 11 genotipi barındırmaktadır. En küçük küme 1 adet bireyden oluşan C kümesi olduğu görülmektedir. A kümesi ve B kümesi göz önünde bulundurulduğunda bu iki küme içerisindeki bireylerin birbirleri ile olan karşılıklı karşılaştırmaları sonucunda birbirine genetik olarak en uzak ve en yakın bireyleri temsil ettikleri görülmektedir.

Kuşburnu üzerinde yapılan genetik tanımlama çalışmalarında farklı metodlar kullanılmıştır. Lihai ve ark., (2002) yaptıkları çalışmada; gül genetik çeşitlilik analizini RAPD tekniği kullanılarak incelenmişlerdir. Analiz etmişler, 30 genotip üzerinde 12 RAPD primerleri kullanarak 65 RAPD bantları bulmuşlardır. Bunlardan biri SKAR markırına dönüştürülmüştür. 30 genotipin akrabalık ilişkileri UPGMA yöntemi ile yapılan filogenetik ağacına göre düzenlenmiştir.

Rosa x hybrida üzerine yapılan SSR çalışmasında (Hong ve ark., 2013), 69 Rosax x hybrida çeşitlilik tanımlaması için basit dizi tekrarı belirteçlerin uygunluğunu değerlendirmişlerdir. Değerlendirmede 112 SSR primeri kullanılmıştır. Elde edilen bantlarda 43 primer çiftlerinde bir dizi 12 çeşit polimorfizm göstermiştir. 43 primer çiftleri üzerinden yirmi iki primer çiftleri polimorfizm ve tekrarlanabilirlik yüksek düzeyde bulunmuştur. 69 çeşit genetik ilişki 22 SSR primerine göre genotipler analiz edilmiştir. 114 polimorfik bant elde edilmiştir. Ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0,211-0,813 arasında değişmiştir. PIC değeri optimum 0,621 bulunmuştur. Küme analizi 69 çeşit gül bu SSR işaretleyici setleri ile her genotipin durumu ortaya koymuştur. SSR markörler gül çeşitlerinin belirlenmesinde pratik uygulama yelpazesi sunduğunu ve bunun kullanılabilirliğini bildirmektedirler.



Şekil 4.9. 22 Kuşburnu genotipine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen dendrogram

Çizelge 4.20. 22 Kuşburnu genotipine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen benzerlik indeksi

	VMR1	VMR2	VMR3	VMR4	VMR5	VMR6	VMR7	VMR8	VMR9	VMR10	VMR11	VMR12	VMR13	VMR14	VMR15	VMR16	VMR17	VMR18	VMR19	VMR20	VMR21	VMR22
VMR1	0																					
VMR2	0.1774	0																				
VMR3	0.2092	0.1741	0																			
VMR4	0.1749	0.1895	0.2213	0																		
VMR5	0.2331	0.1980	0.1761	0.2452	0																	
VMR6	0.2165	0.2748	0.3065	0.2722	0.3304	0																
VMR7	0.1523	0.2105	0.2423	0.2079	0.2662	0.2068	0															
VMR8	0.1196	0.1779	0.2097	0.1753	0.2335	0.2036	0.1394	0														
VMR9	0.1386	0.1411	0.1728	0.1507	0.1967	0.2359	0.1717	0.1391	0													
VMR10	0.4800	0.4449	0.4231	0.4921	0.4173	0.5773	0.5131	0.4805	0.4436	0												
VMR11	0.1540	0.2122	0.2440	0.2097	0.2679	0.1500	0.1443	0.1411	0.1734	0.5148	0											
VMR12	0.2501	0.1895	0.2468	0.2622	0.2707	0.3475	0.2832	0.2506	0.2138	0.5176	0.2850	0										
VMR13	0.1476	0.1623	0.1941	0.1064	0.2179	0.2449	0.1807	0.1481	0.1234	0.4648	0.1824	0.2350	0									
VMR14	0.2566	0.1960	0.2532	0.2687	0.2771	0.3539	0.2897	0.2570	0.2202	0.5240	0.2914	0.1892	0.2414	0								
VMR15	0.1110	0.1316	0.1634	0.1290	0.1873	0.2083	0.1441	0.1115	0.0957	0.4342	0.1458	0.2043	0.1018	0.2108	0							
VMR16	0.3144	0.2793	0.2575	0.3265	0.2518	0.4118	0.3475	0.3149	0.2781	0.3307	0.3493	0.3520	0.2993	0.3585	0.2686	0						
VMR17	0.6266	0.5915	0.5697	0.6387	0.5639	0.7240	0.6597	0.6271	0.5903	0.4667	0.6614	0.6642	0.6115	0.6707	0.5808	0.4774	0					
VMR18	0.1206	0.1788	0.2106	0.1762	0.2345	0.1573	0.1109	0.1077	0.1400	0.4814	0.0948	0.2515	0.1490	0.2579	0.1124	0.3158	0.6280	0				
VMR19	0.2336	0.1985	0.1766	0.2457	0.1709	0.3309	0.2667	0.2340	0.1972	0.3537	0.2684	0.2712	0.2184	0.2776	0.1878	0.1881	0.5003	0.2349	0			
VMR20	0.2853	0.2502	0.2283	0.2974	0.2226	0.3826	0.3184	0.2857	0.2489	0.3488	0.3201	0.3229	0.2701	0.3293	0.2395	0.1832	0.4954	0.2867	0.1589	0		
VMR21	0.2388	0.2971	0.3288	0.2945	0.3527	0.2755	0.2291	0.2259	0.2582	0.5996	0.2130	0.3698	0.2672	0.3762	0.2306	0.4341	0.7463	0.1795	0.3532	0.4049	0	
VMR22	0.2972	0.2366	0.2939	0.3093	0.3178	0.3946	0.3303	0.2977	0.2609	0.5647	0.3321	0.2539	0.2821	0.2604	0.2514	0.3992	0.7113	0.2986	0.3183	0.3700	0.4169	0
Ortalama	0.2244	0.2232	0.2410	0.2451	0.2559	0.3002	0.2461	0.2218	0.2085	0.4487	0.2434	0.2832	0.2203	0.2890	0.1930	0.3062	0.5820	0.2148	0.2447	0.2840	0.3223	0.3271

- Dice katsayısına göre birbirine en uzak olan genotipler
- Toplamda diğer genotiplerle genetik benzerliği en düşük olan genotipler
- Dice katsayısına göre birbirine en yakın olan genotipler
- Toplamda diğer genotiplerle genetik benzerliği en yüksek olan genotipler

Çalışılan genotiplerde DarWin programı ile elde edilen matriks sonucunda; kuşburnu genotipleri arasındaki benzerlik indeksinin 0,093-0,746 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. Çalışılan kuşburnu genotipleri toplamda değerlendirildiğinde aralarında birbirine genetik akrabalık açısından 0,7463 Dice katsayısı değeri ile VMR21-VMR17 genotipleri birbirine en uzak oldukları anlaşılmıştır. Bu çeşitleri, VMR6-VMR17 (0,7240) Dice katsayısı ile VMR17-VMR22 (0,7113) Dice katsayısı değerleri ile uzaklık açısından kuşburnu genotipleri takip etmiştir. Birbirine en yakın genotipler ise VMR9-VMR15 Dice katsayısı değeri (0,0928) olurken, VMR11-VMR18 (0,0948) Dice katsayısı değeri ile VMR13-VMR15 (0,1018) Dice katsayısı olarak akrabalık açısından en yakın genotipler olduğu saptanmıştır.

Çalışılan tüm genotipler arasında diğer genotiplerle genetik benzerliğin en düşük olarak gözlemlenen genotipin (0,5820) Dice katsayısı ile VMR17 olduğu, VMR10 ile VMR22 genotiplerinin (0,4487 ve 0,3271) Dice katsayı değerleri ile bunu izlediği görülmüştür. Genetik benzerliği en yüksek genotipin ise (0,1930) Dice katsayısı değeri VMR15 genotipinin olduğunu bize ifade etmektedir. VMR9 ve VMR18 genotiplerinin bunu tüm genotipler açısından Dice katsayısı değeri ile (0,2085 ve 0,2148) takip ettiği tespit edilmiştir. Genel anlamda populasyon içerisindeki VMR17 ve VMR6 nolu genotipler arasında en büyük genetik uzaklık hesaplanmıştır (0,7240) aynı zamanda fenotipik gözlemler sonucu bu iki bireyin birbirinden farklı oldukları hatta farklı tür oldukları düşünülmüştür. VMR11 ve VMR18 nolu bireyler arasındaki uzaklık (0,095) olarak ölçülmüş bu durum populasyon içerisindeki en küçük uzaklıktır. Ve bu iki birey için identical denebilir. A kümesi, populasyon içerisinde bulunan 10 genotipi, B kümesi 11 genotipi barındırmaktadır. En küçük küme 1 adet bireyden oluşan C kümesi olduğu görülmektedir. Eğer moleküler saat göz önüne alınmaz ve populasyon içeriğini homojen kabul eder isek bu küme içerisindeki bireylerin populasyon yapısı olarak diğer iki kümenin bileşeni olabileceğini düşünebiliriz.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yirmiiki adet kuşburnu genotipinin renk değerleri ve toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir. Elde edilen verilerin literatür bilgileriyle uyduğu görülmüştür. Toplam fenolik madde içeriklerinin farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda elde edilen değerlerden daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Bunun nedeni olarak fenolik bileşikler önemli değişkenlikler gösterebilmektedirler. Bu değişkenlik temelde genetik olmakla birlikte, bitkinin biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı geliştirmek zorunda olduğu savunma mekanizmasıyla da büyük oranda ilişkilidir. Stres faktör veya faktörlerinin şiddeti fenolik bileşik oran ya da miktarını da büyük oranda etkilemektedir. Bu noktadan hareketle fenolik bileşiklerin en yüksek olduğu bir zamandan bahsetmek doğru olmasa da, olgunluğa bağlı olarak arttığını ifade etmek yanlış olmayacaktır. Çalışmanın yapıldığı bölge itibariyle ekolojik faktörler olumsuzluğu ve stres faktörlerinin fazlalığı toplam fenolik maddelerin artışına neden olduğu düşünülmektedir.

Fenolik maddeler güçlü antioksidan özellikleri nedeniyle insan sağlığını koruyucu kimyasal bileşenler içerisinde yer almaktadır. Bu özelliklerinden dolayı son yıllarda birçok çalışmaya konu olmuşlardır. Çalışmamızda toplam fenolik madde miktarı bakımından VMR12 nolu genotip yapılan analizler sonucunda; 1864,76 mg GAE/ 100 g değer olarak çalışılan genotipler arasında en zengin bulunmuştur. Diğer genotipler bu değere paralel değerler vermişlerdir. Çalışma yapılan yöremizdeki kuşburnularda toplam fenolik madde miktarları zengin bulunmuş olması önemli görülmüştür.

Yaptığımız çalışma sonucunda kuşburnu genotiplerinin renk değerleri ile toplam fenolik madde içerikleri arasında birbirine yakın değerler gösterdiği, moleküler düzeyde ise bazı genotiplerde ayrılma olmadığı görülmüştür. Genotiplerin elde edilen dendogramlarda ırklara ait kümelerin varlığından söz edilebilir. VMR6 ve VMR7 genotiplerin *Rosa dumalis* Bechst. Subsp. *Boissierii* (Crépin) Ö. Nilson var *boisseierii* tür tanımlamaları yapılmıştır. Elde edilen SRAP dendogramında A kümesi içerisinde A1 alt kümesinde yer almıştır. VMR3, VMR17 ve VMR20'nin *Rosa canina* ile *Rosa dumalis*'in hibriti olabileceği tanımlaması yapılmıştır (Çizelge 4.18). Elde edilen SRAP

dendogramında B kümesi içerisinde B1 alt kümesinde yer almış olması aynı zamanda hibrit olabileceği düşünülen VMR17'nin de aynı grup içerisinde bulunması önemli bulunmuştur. Bu durumu açıklamada morfolojik veriler yardımcı olmuştur. Bu tür karakterizasyon çalışmalarında moleküler ve morfolojik verilerin birbirini tamamlayarak daha doğru sonuçlara ulaşılması sağlanmalıdır.

SRAP primerlerinin polimorfizm oranı (0,75) olduğu görülmüştür. Bu durum bize SRAP primerlerinin polimorfizmi saptamada % 75 ayırt edici olduğunu göstermektedir. SRAP primerlerinden Em17/Me5, Em6/Me6, Em17/Me6, Em12/Me7, Em17/Me11, Em17/me13, Em17/me14 gibi yüksek polimorfizm (% 100) değerine sahip primer kombinasyonlarının bundan sonra yapılacak başka kuşburnu haritalama veya tanımlama çalışmalarında çalışmalarında da kullanılabileceği önerilmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlar moleküler markırlarla elde edilen bilgilerin karakterizasyonuna pomolojik ve fenolojik özelliklerle moleküler verilerin kombine edilmesi gerektiğini göstermektedir. Ayrıca kullanılan primer sayısının artırılması ve farklı markır sistemlerinin kullanılması ile genomda daha fazla bölgenin taranması sağlanacaktır.

Sonuç olarak; bu çalışmada daha önce çalışılmamış kuşburnu genotipleri çalışılmış ve ilk kez kuşburnunda SRAP markırları ile moleküler karakterizasyon gerçekleştirilerek karşılaştırma yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aka-Kaçar, Y., 2001. *Türkiye’de Yetiştirilen Önemli Kiraz (Prunus avium L.) ve Vişne (Prunus cerasus L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kod No: 640, Adana, TÜRKİYE.
- Aka-Kaçar, Y., 2008. *Bahçe Bitkileri Islahında Kullanılan Moleküler Teknikler*, Yüksek Lisans Ders Notları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü (yayınlanmamış).
- Anonim, 2015a. <https://genotyping.wordpress.com/2007/03/07/polimeraz-zincir-reaksiyonu-pcr-cok-guclu-bir-teknik/>. Erişim tarihi: 23.01.2015
- Anonim, 2015b. <http://www.shazinem.net/sanalhazinem-saglik-genel/136277-molekuler-genetik-nedir-detayli-bilgi.html>. Erişim tarihi: 23.01.2015
- Anonim, 2015c. <http://www.ecslab.com.tr/documents/konica/renknedir-ecslab.pdf>. Erişim tarihi: 27.01.2015
- Anşın, R., 1996. Doğu Karadeniz Bölgesinde Yetişen Doğal Rosa L. Taksonları. Gümüşhane Valiliği- KTÜ Orman Fakültesi *Kuşburnu Sempozyumu Bildiriler Kitabı* (5-6 Eylül 1996) 85-95, Gümüşhane.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Gümüşçü, A., 1996. Kuşburnunun kültüre alınması ve ıslahının temel ilkeleri. *Kuşburnu Sempozyumu*. 5-6 Eylül 1996 Gümüşhane. 149-156.
- Ayres, N. M., Mcclung, A. M., Larkin, P. D., Bligh, H. F. J., Jones, C. A., Park, W. D., 1997. Microsatellite and a single nucleotide polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of us rice germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, **94**: 773-781.
- Baktır, İ., Yılmaz, D., 1995. İki gül çeşidi ile kuşburnu (*Rosa canina*) arasındaki affinitenin araştırılması. *Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*. Adana. Cilt II, 640- 64.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. A., Davis, R.W., 1980. Construction of a genetic map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genet.* **32**: 314-331.

- Brown, S. M., Hopkins, M. S., Mitchell, S. E., Senior, M. L., Beckmann, J. S., Soller, M., 1996. *Restriction Fragment Length Polimorphism and Genetic Improvemnet of Agricultural Species*. Euphyt. 35: 111-124.
- Büyükunal Bal, E.B., 2003. Arpa mikrosatelitlerinin ekmeklik buğdaydaki genetik çalışmalar için kullanım olanaklarının araştırılması. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*. 6(2).
- Cemeroğlu, A.P., Cemeroğlu, B.S., 1998. Sağlık açısından gıda fenolikleri. *Gıda Teknolojisi* 3(9),52-55.
- Cemeroğlu, B., Acar, J., 1986. Meyve ve sebze işleme teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayını* s 1-508, Ankara
- Cerutti, P. A., 1985. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 227, 375-381.
- Corazza-Nunes, M. C., Machado, M. A., Nunes, W. M. C., Cristofani, M., Targon, M. L. P. N., 2002. Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrusparadisi* Macf.) and pummelos (*C. maxima* (Burm.) Merr.) using RAPD and SSR markers. *Euphytica*, 126: 169-176.
- Çelik, F., 2007. *Van Gölü Havzası Kuşburnu (Rosa spp.) Genetik Kaynaklarının Seleksiyonu ve Mevcut Biyolojik Çeşitliliğin Tespiti* (doktora tezi). Yüzüncü Yıl Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Çelik, F., Balta, F., Ercişli, S., Kazankaya, A., Javidipour, I., 2010. Seed oil profiles of five rose hip species (*Rosa spp.*) from Hakkari, Turkey. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.8 (2): 482-484
- Çınar, İ., Çolakoğlu, A. S., 2005. Potential Health Benefits of Rose Hip Products. *Proceedings of the I. International Rose Hip Conferance, Acta Horticulturae*, 690: 253-257.
- Davis, P. H., 1972. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Vol. 4, Edinburgh University Press Edinburg. 106-128.
- Deng, Z. N., Gentile, A., Nicolasi, E., Domina, F., Vardi, A., Tribulato, E., 1995. Identification of in vivo and Lemon Mutants by RAPD Markers. *Journal of Horticultural Science*. 70(1): 117-125.
- Dixon, R. A., Paiva, N. L., 1995. Stres-induced phenylpropanoid metabolism. *American Society of Plant Physiologists*, (7) 1085-1097.

- Doğan, A., Kazankaya, A., 2006. Fruit properties of rose hip species grown in lake Van basin (Eastern Anatolia Region). *Asian Jurnal of Plant Sciences* 5 (1): 120-122.
- Dölek, Ü., 2008. *Amasya Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Kuşburnuların (Rosa Ssp.) Seleksiyon Yoluyla Islahı* (yüksek lisans tezi). GOP Üniv. FBE, Tokat.
- Dölek, Ü., 2013. *Bazı Kuşburnu (Rosa Sp.) Türlerinde Optimal Hasat Zamanının Ve Fitokimyasal Değişimlerin Belirlenmesi* (doktora tezi). GOP Üniv. FBE, Tokat.
- Dunham, V. L., Bryant, J. A., 1983. In isolation of membrans and organelles from plant cell (ed. J. L. Hall and A. L. Moore), p.237. *Academic Pres*, London.
- Egea I., Sâchez-Bel P., Romojaro F., Pretel M. T., 2010. Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements. *Plant Foods Hum Nutr* (2010) 65: 121-129
- Ercişli, S., 1996. *Gümüşhane ve İlçelerinde Doğal Olarak Yetişen Kuşburnuların (Rosa spp.) Seleksiyon Yoluyla Islahı Ve Çelikle Çoğaltma İmkanları Üzerinde Bir Araştırma* (doktora tezi). Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ercişli, S., 2007. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa spp.*) species *Food Chemistry* 104 (2007) 1379-1384
- Ergül, A., 2000. *Asmalarda (Vitis vinifera L. cvs) Genomik DNA Parmak İzi Analizleri ile Moleküler Karakterizasyon* (doktora tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.
- Fang, D. Q., Roose M. L., 1997. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. *Theor Appl Genet*, 95: 408-417.
- Göksel, Ç., 1999. *RAPD Markerleriyle Bazı Mandarin Çeşitlerinin Tanımlanması* (yüksek lisans tezi, yayınlanmamış). Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Gupta, M., Chyi Y.S., Romero- Severson, J., Owen, J.L., 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor. Appl. Genet.*, 89: 998 - 1006.
- Güneş, M., 1997. *Tokat Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Kuşburnuların (Rosa Spp.) Seleksiyon Yoluyla Islahı ve Çelikle Çoğaltılması Üzerinde Bir Araştırma* (doktora tezi). Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

- Hamada, H., Petrino, M.G., Kakunaga, T., 1982. A Novel Repeated Element with Z-DNA Forming Potential is Widely Found in Evolutionarily Diverse Eukaryotic Genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **79**: 6465-6469
- Hertog, M. G. L., 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.* **40**: 2379-2383.
- Hong, J. H., Kwon, Y. S., Suh, J. N., Choi, K.J., 2013. Dentification of Rose(*Rosa x hybrida*) varieties using simple sequence repeat (SSR) markers. *Korean Journal of Breeding Science*; 2013, Vol. 45 Issue 2, p96
- Jablonska-Rys E., Zalewska-Korona M., Kalbarczyk J., 2009. Antioxidant Capacity, Ascorbic Acid and Phenolics Content Inwild Edible Fruits. *Journal Of Fruit And Ornamental Plant Research* Vol. 17/(2) 2009: 115-120
- Karakaya, S., El, S. N., 1997. Flavonoidler ve sağlık. *Beslenme ve Diyet Dergisi* 26(2), 54-60.
- Kazankaya, A., Koyuncu, A., Balta, F., 1999. Van yoresinde doğal olarak yetişen kuşburnuların seleksiyonu. *III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, Cilt I, Ankara. 648-652.
- Keinanen, M., Julkunen-Tiitto, R., Mutikainen, P., Walls, M., Ovaska, J., Vapaavuori, E., 1999. Trade-offs in phenolicmetabolism of silver birch: effects of fertilization, defoliation, and genotype. *Ecology* **80**, 1970-1986.
- Khang, S., W. Spoor, 2001. Use of moleculer and morfolojik markers as a quality control in plant tissue culture. *Pakistan Journal of Biological Sciences* **4(4)**: 479-482.
- Kılıçgün, H., Altuner, D., 2010. Correlation between antioxidant effect mechanisms and polyphenol content of *Rosa canina*. *PharmacognosyMagazine*, **6(23)**, 238241
- Kızılcı, G., 2005. *Bazı Ümitvar Kuşburnu (Rosa spp.) Tiplerinin Erzincan Ekolojik Koşullarında Adaptasyonu (Seleksiyon II)* (yüksek lisans tezi). Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Konuk, M., 2004. *Moleküler Biyoloji*. -Önemli Ders Notları, S. Cenkeci, M. Yıldız, M. Konuk, A. Aktümsek (eds.) Nobel Basımevi, Ankara.

- Langseth, L., 1995. Oxidants, Antioxidants and Disease Prevention. *ILSI Europe*, Belgium.
- Lavi, U., Cregan, P., Scchap, T., Millel, J., 1994. Amplification and breeding of perennial fruit crops. *In J. Janick (ed) Plant Breeding Reviews. John Wiley Sons, Inc*: NY Vol:397-401
- Li, G., Quiros, C. F., 2001. Sequence -related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction; its application to mapping and gene tagging in Brassica, *Theoretical and Applied Geneticis.*, No: 455- 461
- Lihai, G., Demin, J., Bin, Wang., Min, Liu., Yang, Chao., Wei, Yong., Yuquan, Chen., Manli, Weng., 2002. Variety identification and genetic diversity analysis of Rose with RAPD molecular markers. *Acta Horticulturae Sinica*. 2002. Vol.29. Issue(6): 551-555
- Liston, A., Rieseberg, L. H., Adams, R. P., Do, N., 1990. Ann. Missouri Bot. *Garden* 77: 859.
- Lowe, A. J., Hanotte, O., Guarino, L., 1996. Standardization of molecular genetic techniques for the characterization of germplasm collections: the case of random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genetic Resources Newsletter*. 107: 50-54.
- Luro, F., Laigret, F., Bove, J.M., Ollitraul, P., 1992. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to citrus genetics and taxonomy. *Proc. Int Soc. Citriculture*, 1: 225-228.
- Maughan, P. J., Saghai-Marooof, M. A., Buss, G. R., 1995. Microsatellite and amplified sequence length polymorphisms in cultivated and wild soybean. *Genome*, 38: 715-723.
- Mısırlı, A., Güneri, M., Gülcan, R., 1999. İzmir-Kemalpaşa’da doğal olarak yetişen kuşburnu bitkilerinin fenolojik ve pomolojik değerlendirilmesi. *Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, 14-17 Eylül, 1999, Ankara, 764-767.
- Montazeri N., Baher E., Mirzajani F., Barami Z., Yousefian S., 2011. Phytochemical contents and biological activities of *Rosa canina* fruit from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(18), pp. 4584-4589, 18 September, 2011

- Nichita, G., Saradan, H., Padeanu, I., Casaleanu, I., Gogoloiu, C., 1981. Eglantine (*Rosa canina*) Seeds For Feeding Broiler Chickens and Lambs. ***Nutrition Abstr. And Reviews***, Series-B 1984 054-04651)
- Olsson, M. E., Ekvall, J., Gustavsson, K.E., Nilsson, J., Pillai, D., Sjöholm, I., Svensson, U., Akesson, B., Nyman, M.G.L., 2004. Antioxidants, low molecular weight carbohydrates and total antioxidant capacity in strawberries (*Fragaria x ananassa*): effects of cultivar, ripening, and storage. ***J AgricFood Chem* 52**: 2490-8.
- Özcan, M., 2002. Nutrient composition of rose (*Rosa canina* L.) seed and oils. ***J. Med. Food* 5(3)**: 137-140.
- Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M., 2001. ***Bitki Biyoteknolojisi II Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları***, ISBN: 975-6652-05-5.
- Özrenk, K., Gündoğdu, M., Doğan, A., 2012. Erzincan yöresi kuşburnu (*Rosa canina* L.) meyvelerinin organik asit, şeker ve mineral madde içerikleri. ***YYÜ Tar. Bil. Derg.* 22(1)**: 20-25.
- Paterson, A. H., 1996. Making genetic maps. In: Paterson AH (ed), ***Genome Mapping in Plants***, p. 23- 37, Academic Pres, New York.
- Pawlosky, R. J., Ward, G., Salem, N., 1996. Essential fatty acid uptake and metabolism in the developing rodent brain. ***Lipids***, 31(Suppl.), 103–107.
- Pincemail, J., Kevers, C., Tabart, J., Defraigne, J. O., Dommes, J., 2012. Cultivars, culture conditions, and harvest time influence phenolic and ascorbic acid contents and antioxidant capacity of strawberry (*fragaria x ananassa*) ***Journal of Food Science***. Vol. 77, Nr. 2, 2012
- Pyle, M. M., Adams, R. P., 1989. In situ preservation of DNA in plant specimens. ***Taxon*. 38**: 576-581.
- Roder, M. S., Plaschke, J., König, S. U., Börner, A., Sorrells, M. E., Tanksley, S. D., Ganai, M. W., 1995. Abundance, Variability and Chromosomal Location of Microsatellites in Wheat. ***Molecular General Genetics***, 246: 327-332.
- Sax, K., 1923. The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. ***Genetics***, 8: 552 -560
- Schobinger, U., 1988. Meyve ve Sebze Suyu Üretim Teknolojisi. Çeviren J. Acar, ***Eugen Ulmer GmbH and Co.*** Stuttgart. Germany.

- Shahidi, F., Naczk, M., 1995. Food phenolics. *Technomic Publishing Company Book Lancaster, USA*, 199-225.
- Simopoulos, A. P., Salem, Jr. N., 1996. Fatty acids and lipids from cell biology to human disease. *Lipids* March 1996, Volume 31, Issue 1, p S1
- Slaga, T. J., Klein-Szanto, A. J. P., Triplett, L. L., Yotti, L. P., Trosko, J. E., 1982. Skin tumor promoting ability of benzoylperoxide, a widely used free radical-generating compound. *Science* **213**, 1023-1025.
- Tamam, A., 2008. **Bazı Avokado (*Persea Americana* Mill.) Çeşitlerinin Morfolojik Ve Moleküler Karakterizasyonu** (yüksek lisans tezi). Çukurova Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Temizkan, G., Arda, N., 2004. Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler, ISBN: 975-420-347-4 the developing rodent brain. *Lipids*, **31 (Suppl.)**, 103–107.
- Turgut, L., Hayırlı, A., Kaya, A., 2008. effects of various chemical treatments on nutritive value of the rose hip (*Rosa canina*) seeds for the ruminant animals. *Journal of Animals and Veterinary Advances*. **7(10)**: 1227-1236.
- Türkben, C., Uylaşer, V., İncedayı, B., Çelikkol, I., 2010. Effects of different maturity periods and processes on nutritional components of rosehip (*Rosa canina* L.) *Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.8 (1)*: 26 - 30 2010
- Ugla, M., 2004. *Domestication of Wild Roses for Fruit Production*. Doctoral Thesis. ISSN 1401-6249, ISBN 91-576-6751-9.
- Walton, M., 1993. Molecular markers: which ones to use *Seed World*, July 1993, p: 23-29.
- Wang, H., Cao, G., Prior, R. L., 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* **44**,701-705.
- Wang, S. Y., Bunce, J. A., Maas, J. L., 2003. Elevated carbon dioxide increases contents of antioxidant compounds in field-grown strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 4315-4320.
- Wang, S. Y., Zheng, W., 2001. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 4977-4982.
- Weber, J. L., 1990. The Informativeness of Human (DC-DA) N(DG-DT)N Polymorphism. *Genomics*, **7**.524-539.

- Wetherilt, H., 1996. Beslenme ve cilt sağlığı. *Gıda Teknolojisi 1(6)*, 84-88.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J.A., Tingey, S. V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res. 18(22)*: 6531-6535.
- Willson, K. C., Clifford, M. N., 1995. Tea cultivation to consumption. *Chapman & Hall*, London
- Yamankaradeniz R., 1982. *Erzurum Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Kuşburnunun Bileşimi ve Değerlendirme Olanakları Üzerinde Araştırmalar* (doktora tezi). Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Yamankaradeniz, R., 1983a. Kuşburnu (*Rosa spp.*)'nun fiziksel ve kimyasal nitelikleri. *Gıda Dergisi*, Yıl:8, Sayı:4, 151-156.
- Yamankaradeniz, R. 1983b. Kuşburnu değerlendirme olanakları. *Gıda dergisi*. Temmuz- Ağustos, 79-84
- Yıldırım, A., Kandemir, N., 2001. Genetik markörler ve analiz metotları. Bitki biyoteknolojisi II - genetik mühendisliği ve uygulamaları, S. Özcan, E. Gürel, M. Babaoglu (eds.) *Selçuk Üniversitesi Basımevi*, Konya.
- Yılmaz, H., Bulut, Y., Kelkit, A., 1996. Peyzaj planlama çalışmalarında Rosa canina (Kuşburnu)'nın kullanım alanları. *Kuşburnu Sempozyumu*. 5-6 Eylül 1996, Gümüşhane. 169-175.
- Zietjiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D., 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20: 176-183.

ÖZ GEÇMİŞ

Hatay'da 1987 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini Hatay'da tamamladı. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nden Ziraat Mühendisi ünvanıyla 2012 yılında mezun oldu. Aynı yıl Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.