

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BATI AKDENİZ ÜZÜM ÇEŞİTLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE
ÜLKE ASMA KAYNAKLARI İLE GENETİK İLİŞKİSİ

Şirin ASLANTAŞ

Danışman Öğretim Üyesi
Doç.Dr. Ali ERGÜL

ANKARA
2010

Batı Akdeniz Üzüm Çeşitlerinin Moleküler Karakterizasyonu ve Ülke Asma Kaynakları İle Genetik İlişkisi

ÖZET

Akdeniz Bölgesi iklim açısından erkenci sofralık üzüm çeşitleri için son derece uygun ekolojik koşullara sahip olup, bölge üretim ve alan yönünden, Ege Bölgesinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Bu çalışmada, Batı Akdeniz Bölgesi, Antalya ve Mersin illerinden Tekirdağ Milli Koleksiyon Bağı'na aktarılan 50 çeşit ile 3 referans çeşit olmak üzere toplam 53 üzüm çeşidinin (*Vitis vinifera* L.) 20 mikrosatelit markör (VVS1, VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD21, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVMD31, ZAG21, ZAG47, ZAG62, ZAG64, ZAG79, ZAG83, ZA112, VMC2c3, VVIb01, VMC2h4, VVIH54) kullanılarak genetik kimlikleri belirlenmiştir. Kullanılan 20 lokus da toplam allel sayısı 166 olarak belirlenmiştir. Genotipler arasında 4 homonim, 3 sinonim ve 1 homonim gruba rastlanmıştır. Araştırma sonucu bulunan genetik bulgular “Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü” kurum projesi sonucu olarak (TÜBİTAK- KAMAG grubu, Proje no: 105G078) oluşturulmakta olan “Türkiye Asma Gen Kaynakları Veri Tabanı” ile karşılaştırılarak ilişkilendirilmiştir. SSR markörler kullanılarak elde edilen bu araştırma sonuçları hem Antalya ve Mersin illeri hem de Akdeniz Bölgesi üzüm gen kaynaklarının tanımlanması yönünde bir ilk niteliğindedir. Bu tezde bulunan sonuçlar, Ülkesel Milli Koleksiyondaki çeşitlerin daha iyi tanımlanması, milli koleksiyondaki çeşit sayısının düzenlenmesi ve ıslah çalışmaları için önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Batı Akdeniz Bölgesi, üzüm, SSR, Türkiye

Molecular Characterization of the western Mediterranean Grapevine Germplasm and Genetic Relationship With Country Grapevine Germplasm Resources

ABSTRACT

Mediterranean climate in the region early table grape varieties are suited to the ecological conditions of the region in terms of production and area, is ranked second, after the Aegean region. In this study, the Western Mediterranean Region, Antalya and Mersin province Tekirdağ National Collection Bond transferred to the 50 varieties with the three reference types of a total of 53 grape varieties (*Vitis vinifera* L.), 20 microsatellite markers (VVS1, VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD21, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVMD31, ZAG21, ZAG47, ZAG62, ZAG64, ZAG79, ZAG83, ZA112, VMC2c3, VVIb01, VMC2h4, VVIH54) using the genetic identity was determined. The total number of alleles in 20 loci used was determined as 166. Genotypes among yhe 4 homonym 3 synonym and 1 identical groups were found. Research results the genetic findings "Ankara University Biotechnology Institute" corporate project as a result of Turkey (TUBITAK-KAMAG group, Project no: 105G078) are formed as "Turkey Grapevine Genetic Resources Database" in comparison with have been associated. Using SSR markers and the results obtained in this research as well as the Mediterranean province of Antalya and Mersin region in the direction of a first identification of grape genetic resources in nature. The results reported here are important towards better characterization of the grape germplasm of the national collection and would aid future germplasm management of cultivar numbers and breeding efforts.

Key words: Western Mediterranean Region, grapevine, SSR, Turkey

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimine başladığım ilk günden itibaren bilgi ve desteğini esirgemeyerek beni yönlendiren ve tez çalışmalarımda büyük katkılar sağlayan danışman hocam Doç. Dr. Ali ERGÜL'e,

Hep yanımda olan Bitki Biyoteknolojisi ekibi Uzm. Bio. Melike BAKIR, Uzm. Bio. Canan YÜKSEL, Bio. B.Pelin ÇELİKKOL, Bio. Nur YILDIRIM'a ve Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü çalışanlarına,

Çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteğiyle her zaman arkamda olan, canım annem Emine BOZKURT'a en içten şükran ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Şirin ASLANTAŞ

Ankara, Haziran 2010

İÇİNDEKİLER	SAYFA
	NO
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER DİZİNİ	vii
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Asma Mikrosatellit Çalışmaları	3
3. MATERYAL ve YÖNTEM	11
3.1. Materyal	11
3.2. Yöntem	15
3.2.1. DNA izolasyonu ve ölçümleri	15
3.2.2. PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR	16
3.2.3. Kapilleri elektroforez ve allel görüntülerinin alınması	18
3.2.4 Genetik analizler	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	20
4.1. DNA İzolasyonu ve Ölçümleri	20
4.2. SSR Lokuslarının PCR Reaksiyonu ve Allel Görüntülerinin Alınması	26
4.3. Genetik Analizler	28
4.4. Benzerlik Oranı İndeksi	42
4.5. Genetik İlişki Dendogramı	43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
5.1. SSR Analizleri	45
5.2. Genotip-SSR İlişkilendirmeleri	46
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ	55

	ŞEKİLLER DİZİNİ	SAYFA
		NO
Şekil 4.1	Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların, agaroz jel (% 1) görüntüleri	20
Şekil 4.2	VVMD5 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü	26
Şekil 4.3	ZAG21 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.	26
Şekil 4.4	Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki heterozigot allel görünümüleri	27
Şekil 4.5	Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki homozigot allel görünümüleri	27
Şekil 4.6	Üzüm çeşitlerine ait genetik ilişki dendogramı	43

	ÇİZELGELER DİZİNİ	SAYFA NO
Çizelge 3.1	Araştırmada kullanılan Antalya ve Mersin illerine ait üzüm çeşitlerinin ampelografik özellikleri	12
Çizelge 3.2	SSR lokuslarına ait primerlerin baz dizileri, işaretleme boyası ve PCR Tm değerleri	17
Çizelge 4.1	Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların spektrofotometrik değerleri	21
Çizelge 4.2	Batı Akdeniz Bölgesi (Antalya-Mersin) üzüm çeşitlerinin 20 lokustaki allel büyüklükleri (bç)	29
Çizelge 4.3	Batı Akdeniz Bölgesi (Antalya-Mersin) üzüm çeşitlerine ait genetik parametreler (allel sayısı (n), beklenen (He) ve gözlenen (Ho) heterozigotluk, lokusların tanımlama olasılığı (PI: Probability of Identity), null allellerin frekansı (r))	35
Çizelge 4.4	Lokuslara ait allel frekansları	36
Çizelge 4.5	Araştırma sonucunda tespit edilen homonim çeşitler ve bu çeşitlerin Türkiye genelindeki homonimleri	39
Çizelge 4.6	Araştırma sonucunda tespit edilen homonim çeşitlerin Türkiye genelindeki sinonimleri	40
Çizelge 4.7	Araştırma sonucunda tespit edilen sinonim ve benzer(aynı) çeşitler ve bu çeşitlerin Türkiye genelindeki sinonimleri	40
Çizelge 4.8	Genetik benzerlik indeksi	42

SİMGELER DİZİNİ

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

1.GİRİŞ

Bitki türlerinin yetiştiriciliği açısından sahip olduğu ekolojik koşullar ile dünya tarımında önemli bir yeri bulunan Türkiye, bitki gen kaynakları çeşitliliği açısından da oldukça zengin bir genetik potansiyele sahiptir. Çoğunluğu Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Araştırma Enstitüleri ve belirli oranlarda da Ziraat Fakülteleri bünyesinde yürütülen bu çalışmalar sonucu birçok türde koleksiyon ve kısmen seleksiyon çalışmaları tamamlanmıştır. Koleksiyonu yapılan türlerden biriside asma olup (*Vitis vinifera* L.), yetiştirilme alanları, üretim miktarı ve ihracattaki payı ile önemli bir yere sahiptir.

Ülkemiz 484.610 hektarlık (dünya bağ alanlarının yaklaşık %1'i) bağ alanı ile dünya ülkeleri arasında 4. sırada, yaklaşık 3.612.781 ton üzüm üretimi ile 5. sırada yer almaktadır. Diğer taraftan, yer kürenin bağcılık için en elverişli iklim kuşağı üzerinde bulunan Anadolu, asmanın gen merkezlerinden biri olmasının yanı sıra (Arroyo-Garcia vd 2006), son derece eski ve köklü bir bağcılık kültürüne sahiptir. Ülkemizde bağcılık tarihinin M.Ö. 3000 yıllarına kadar uzandığı arkeolojik çalışmalarla belirlenmiştir.

Gen kaynaklarının çeşitliliği göz önüne alındığında ise; gerek yerli gerekse yabancı popülasyon açısından çeşit, tip vb. zenginliği dikkat çekmektedir. Yabancı popülasyonla ilgili küçük çaplı koleksiyonların yanı sıra kültür çeşitlerinin (*Vitis vinifera* L.) koleksiyonunu oluşturma çalışmaları 1965 yılında başlatılmıştır. Bu çalışmalar sonucu; Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü bünyesinde “Milli Koleksiyon Bağı” kurulmuş ve Anadolu’nun çeşitli bölgelerinden yaklaşık 1200 üzüm çeşidi koleksiyona dahil edilmiştir. Koleksiyonda ampelografik çalışmalar tamamlanırken, DNA düzeyindeki araştırmalarla bazı çeşit gruplarının genetik ilişkileri farklı markörler düzeyinde ortaya konmuştur (Ergül 2000, 2002, Aras vd 2005, Ergül vd 2006, Vouillamoz vd 2006, Şelli vd 2007).

Akdeniz Bölgesi üretim ve alan yönünden, Ege Bölgesinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Bölge; asma gen kaynaklarının çeşitliliği açısından da oldukça zenginlik göstermektedir. Batı Akdeniz Bölgesi sahil kuşağında erkenci, yayla kesiminde ise orta ve geççi üzüm çeşitlerinin yetiştiriciliği ağırlık kazanmıştır. Adana bölgesinden bazı çeşitlerin genetik analizleri gerçekleştirilmiş (Gök Tangolar vd 2009) olmakla birlikte, asma gen kaynağı zenginliği açısından Türkiye bağcılığında çok önemli olan Mersin ve Antalya

eşitlerinin tamamının genetik karakterizasyonuna yönelik tamamlanmış herhangi bir araştırma gerçekleştirilmemiştir.

zm eşitlerinin tanımlanmasında uzun yıllar ampelografik tanımlama kriterleri kullanılmıştır. Ancak bu kriterlerin evre şartlarından etkilenmesi, gözlemciye göre değişmesi, morfolojik kriter sayısındaki yetersizlikler vb. tanımlamalarda moleküler tabanlı özellikle de DNA'ya dayalı yöntemlerin kullanımını ön plana çıkartmıştır (This vd 2004). Bunlardan zellikle SSR markörler, yüksek polimorfizm, uluslararası veri paylaşımı, tekrar edilebilirliğinin ykseklėi, ko-dominant özellikte olması nedeni ile zm (*Vitis vinifera* L.) genetik tanımlamalarında (Thomas ve Scott 1993, Bowers vd 1996, Vouillamoz vd 2006, Aradhya vd 2003, Goto-Yamamoto vd 2006; şelli vd 2007) tercih edilmektedir.

“Milli Koleksiyon Bağı”ndaki üzüm gen kaynaklarımızın toplu tanımlanmasının bir bölümü olarak gerçekleştirilen bu tezde; Akdeniz Bölgesi'nden Antalya ve Mersin illerine ait genetik tanımlamalar gerçekleştirilmiştir. 20 SSR (Simple Sequence Repeats) lokusu kullanarak 50 üzüm genotipinde gerçekleştirilen araştırmada; allel verilerinin (kimlik verilerinin) yanında, illere göre çeşitler arası genetik ilişkiler, homonim ve sinonim durumları tanımlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Birçok farklı bitki türünde yapılan moleküler çalışmalar ile türler arası genetik ilişkiler, genetik benzerlikler ve farklılıklar, genom düzeyinde yapılan birçok çalışmanın yanı sıra transkriptomik, proteomik ve hatta metabolomik düzeylerde de incelenmektedir.

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

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

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

2. 1. Asma Mikrosatellit Çalışmaları

Asmaya ait ilk mikrosatellit çalışmaları Avusturya'da yapılmıştır. Toplamda 26 *Vitis vinifera* L. çeşidi ve 6 *Vitis* türü ile yapılan çalışmada genellikle VVS lokusları tercih edilmiştir. Çalışmaya daha sonra 80'den fazla genotip eklenmiştir. (Thomas ve Scott, 1993)

Thomas vd (1994), yaptıkları çalışmada asma anaçları mikrosatellit markörlerle taranmış ve 5A Teleki ve Kober 5 BB'nin aynı DNA profiline sahip olduğu ancak farklı adlandırıldığı gösterilmiştir

Vignani vd (1996), VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD8, VVMS2, VVMS4 ve VVMS29 lokusları ile yaptıkları çalışmada İtalyan şaraplık çeşidi olan Sangiovese'nin 12 klonu kullanılmıştır. Araştırma sonunda 1 klon (SG 8T) dışında 11 klonun benzer olduğu, SG 8T'nin ise bir ebeveyne ait bitki olabileceğini belirtilmiştir.

66 Avusturya üzüm çeşidi ve anaçlarda yapılan başka bir araştırmada VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVS29, VVMD7, VVMD28, VVMD32 VVMD36 mikrosatellitleri kullanılmıştır, genetik parametreler anaç ve çeşitlerde karşılaştırılmıştır (Sefc vd 1998a)

Sefc vd (1998b), Avusturya'ya ait toplam 18 sofralık üzüm çeşidini 11 mikrosatelit markörü ile taramış ve bu tür çalışmaların yaş, kuru yada sofralık üzüm ürünlerinde mevcut transgenik dizi durumunu belirlemede gelecekte bir potansiyel oluşturacağını ifade etmiştir.

Virüs kontaminasyonunu engellemek amacıyla yapılan bir çalışmada, *in vitro* ortamdaki bitkiciklerin tespitinde SSR lokusları kullanılmıştır. Çalışmada her klondan alınan iki örnek 4 mikrosatelit markörü ile taranmıştır. Bu şekilde yanlış isimlendirmeler düzeltilmiştir (Sefc vd 1998c).

9 SSR lokusu kullanılarak yapılan başka bir çalışmada, 22 Hırvat üzümü içerisinde sinonim ve homonim çeşitler belirlenmiş ve 300 Avrupa üzüm çeşitleriyle genetik parametreleri karşılaştırılmıştır (Maletic vd 1999).

Sánchez-Escribano vd (1999), 43 sofralık üzüm çeşidi VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVS5, VVMD5, VVMD6 ve VVMD7 lokusları ile taranarak, en fazla heterozigotluk %80 oranı ile VVMD5 bulunmuştur. Ayrıca 14 çeşidin genetik olarak aynı olduğu açıklanarak yanlış isimlendirilmeler düzeltilmiştir.

Arroyo-Garcia ve Martinez-Zapater (2000), sofralık ve şaraplık bazı üzüm çeşitlerinde; toplam 9 yeni (VMC6G8, VMC6D12, VMC6B11, VMC6F11, VMC6G10, VMC6A8, VMC6C7, VMC6C10 ve VMC6E10) SSR lokusunu kullanmışlardır. Çeşitlerin en az % 70'inin her lokusta heterozigot olduğu belirtilmiştir.

Kuzey İtalya'ya ait 36 eski üzüm çeşidi ile halen bu bölgede yetişmekte olan 12 yöresel asma çeşidi 7 mikrosatellit markörü ile analiz edilmiş ve genetik benzerlikleri karşılaştırılmıştır. Sinonim durumu Vernaccia Nera ve Merlot ile Francesa Nera ve Carmenère arasında tespit edilirken, bölgeye özgü yeni alleller bulunmuştur (Grando vd 2000)

2000 yılında yapılan bir çalışmada ise ıslah çalışmaları sonucunda elde edilen “Incroci Rigotti” (IR) melezleri, mikrosatellit markörlerle analiz edilerek taranarak IR 107-2 ve IR 107-3 (Rebo) melezlernin genetik olarak benzer yapıda oldukları açıklanmıştır (Malossini vd 2000)

Merdinoglu vd (2000), *Vitis vinifera*'nın 12 çeşidine ait 21 klonda RAPD, AFLP, SSR olmak üzere üç farklı moleküler markör ile çalışılmış ve genetik benzerlikleri dendogram düzeyinde incelemiştir.

Perret vd (2000) Orta Avrupa'da yapılan bir çalışmada ise, *Vitis vinifera* subsp. *silvestris* çeşitlerine ait 44 genotip 10 mikrosatellit lokusu ile çalışılmış toplamda 49 allel bulunmuştur. Bu allellerden 7'sinin ise sadece yabani asma genotiplerinde olduğu gözlenmiştir. Kültür ve yabani asma anaçlarında genetik farklılıklar ortaya konulmuştur.

Başka bir çalışmada, Beyaz Riesling çeşidinin 10 farklı klon genotipinde genetik polimorfizmini incelemek için RAPD, SSR ve ISSR kullanılmıştır. Yaklaşık 300 asma çeşidi ve *Vitis silvestris*'e ait 20 farklı genotip, markörlerle analiz edilmiş ve *V. silvestris*'te bulunan allelerin çoğu *V. vinifera*'da da bulunduğunu, bu nedenle *V. silvestris* ve *V. vinifera* arasında genetik olarak benzerlik olduğunu belirtmişlerdir (Regner vd 2000)

Dangl vd (2001), Ulusal Gen Bankası'ndan alınan 41 asmanın genetik karakterizasyonu yapmıştır. Önceki çalışmalarda bulunan sinonim çeşitler bu çalışmada da sinonim bulunarak doğrulukları kanıtlanmış, yanlış isimlendirmeler düzeltilmiştir. Ayrıca bu çeşitlere ilave yeni sinonim çeşitler de bulunmuştur.

Alplerin kuzey ve güney bölgelerinden alınan “Schiave” grubuna ait 10 üzüm çeşidinde yapılan başka bir çalışmada, AFLP ve SSR markörler kullanılmıştır (Fossati vd 2001)

Regner vd (2001), *Vitis* türlerine ait 1200 kadar örneğin genetik tanımlanması SSR, ISSR, AFLP ve RAPD gibi teknikler kullanılarak, Avusturya' dan alınan 300'den fazla çeşitte 40 mikrosatellit markörü denenmiştir. Çalışmada genetik farklılıklardan çok, bazı bitkilerin orijinleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Fransa ve İtalya'nın kuzey batısından alınan ve sinonim olduğu düşünülen 31 çeşit hem RAPD hem de mikrosatellit markörleri analiz edilmiştir. Araştırma sonucunda İtalya'nın “Neiret” çeşidi ile ve Fransa'nın “Verddese” çeşidinin genetik olarak aynı yapıda olduğu belirtilmiştir (Schneider vd ,2001).

Reale vd (2002) Uluslararası Asma Çeşit Katoloğunda sinonim çeşitler olarak verilen “Tintilia” (Tintiglia) ve “Bovale grande” çeşitlerinin genetik ilişkilerinin belirlenmesi için toplam 14 mikrosatellit markörü (VVS2, VVS3, VVS4, VVS5, VVMD6, VVMD25, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VVMD32, VVMD36, VrZAG62 ve VrZAG79) kullanmış ve “Tintilia” klonlarının kendi içinde benzer olduğu açıklanmıştır.

Sinonim ve homonim olduğu düşünölen genotipleri de içeren 39 genotip üzerinde yapılan bir çalışmada, 66 RAPD ve 4 mikrosatellit lokusu çalışılmıştır. Sonuçta, Moristell ile Monastel genotiplerinden biri; Moturana ile Ribadavia; Concejón ile Monastel genotiplerinden biri ve çalışılan Misket(Muscat) çeşitlerinden çoğu sinonim olarak belirlenmiştir. Miguel de Arco, Monastel, Monastrell ve Turruntés çeşitlerinde ise homonim durumları görölmüştür (Ulanovsky vd 2002)

Aradhya vd (2003) tarafından, 222 költür (*Vitis vinifera*) ve 22 yabancı (*V. vinifera* ssp. *silvestris*) asma genotipi genetik ayırım için 8 mikrosatellit lokusunda çalışılarak toplamda 94 allel tespit edilmiştir.

İran ve ABD' ye ait 62 asma genotipi 9 mikrosatellit lokusu ile analiz edilmiştir. Lokuslara ait heterozigotluk oranı 0.47–0.86 arasında bulunmuştur. Analiz sonucu oluşturulan dendogramda 3 ana grup (sofralık, şaraplık ve anaçlar) belirlenmiştir (Fatahi vd 2003).

Ibáñez vd (2003) tarafından, yapılan bir araştırmada İspanya' ya ait 111 üzüm çeşidi 13 SSR (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVS2, VVS5, VVS29, VrZAG29, VrZAG62, VrZAG67, VrZAG83, VrZAG79 ve VrZAG112) lokusu ile analiz edilerek önceden yapılan morfolojik ve izoenzimatik çalışmalarıyla karşılaştırma yapılmıştır.

Martín vd (2003), İspanya'daki 176 genotip 6 mikrosatellit markör ile (VVS2, VVMD5, VVMD7, ZAG47, ZAG62, ZAG79) analizi yapılmış ve 163 genotipin farklı çeşitler olduğu açıklanmıştır.

Vouillamoz vd (2003), Ermenistan, Gürcistan ve Türkiye'den toplanan költüre ve yabancı asmaları içeren toplam 268 genotipi VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62, VrZAG79 ve VVS2 lokusları ile analiz etmişlerdir. Aynı popülasyon içindeki yabancı asmalarda (*Vitis vinifera* ssp. *silvestris*), Türkiye'de 1, Gürcistan'da 3 ve Ermenistan'da 9 sinonim bulunmuştur.

This ve Dettweiler, (2003) tarafından yapılan çalışmada, Avrupa *Vitis* veri bankası oluşturulmak amacı ile 6 mikrosatelit lokus; VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 ve VrZAG79 seçilmiştir. Çalışma sonucunda 13 ile 23 arasında allel sayıları bulunmuş ve 6 lokusun her biri için, 10 ila 16 referans çeşit seçilmiştir.

Núñez vd (2004)'in çalışmalarında, İspanya'nın "El Bierzo" bölgesine ait çeşitleri de içeren asma çeşitleri için moleküler veri bankasının oluşturulmasını amaçlamış ve "El Bierzo" bölgesinden bilinmeyen 210 genotip toplayarak, 5 mikrosatelit markörle analiz etmişlerdir. Araştırmacılar, bu örneklerin % 98,6'sının kimlik tespitinin yapılabildiğini ve mikrosatelit markörlerin ampelografi ile birlikte kullanılarak İspanyol *Vitis* gen bankasının hazırlanmasında önemli bir basamak olduğunu açıklamışlardır.

Arroyo Garcia vd (2004), İspanya ve Türkiye'den yabani asma popülasyonlarında farklı kloroplast haplotiplerinin belirlenmesi amacı ile kloroplast özgü 23 mikrosatelit ile genetik tanımlama yapılmıştır.

Akkak vd (2005), 12 SSR markörü (VVS2, VVS5, VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD27, VVMD31, VVMD36, VrZAG21, VrZAG62, VrZAG67, VrZAG79) kullanarak değişik Akdeniz ülkelerinde yetişen yerli ve kültür *Vitis vinefera* L. çeşitleri arasında genetik ilişkiyi tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada kullanılan 60 çeşit arasında 34 farklı genotipin olduğu gösterilmiştir.

Güney İtalya- Campania bölgesinden alınan 69 yerel asma çeşidine denk gelen toplam 114 genotip 8 mikrosatelit markör ile (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD25, VVMD27, VVMD31, VrZAG62, VrZAG79) analiz edilmiştir. Campania üzüm çeşitlerinin çok çeşitli coğrafik bölgelerden gelmiş olabileceği ifade edilmiştir (Costantini vd 2005).

Goto-Yamamoto vd (2006), çalışmalarında Çin ve Japon çeşitlerini içeren 8 doğu ve 7 batı çeşidi arasındaki genetik ilişkiyi belirlenmesi amacı ile 9 yeni mikrosatellit (VMC2a1, VMC2b1, VMC2g2, VMC2a3, VMC2b3, VMC2c3, VMC2h4, VMC2a5, VMC2g6)

markör geliştirmişlerdir. Ayrıca ilave olarak 8 mikrosatellit markörü (VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD8) kullanılmıştır.

Karaağaç vd (2006), 48 üzüm çeşidinde 17 mikrosatellit markör kullanarak genetik tanımlama yapmış, Dusuzu ile Dımışkı çeşitleri sinonim çeşitler olarak belirlenmiştir.

Martínez L.E. vd (2006), Peru ve Arjantin' e ait 25 *Vitis vinefera* L. çeşidini VVMD5, VVMD7, VVMD31, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79 olmak üzere 6 lokusta çalışmışlardır. Bazı lokuslarda üçlü alellik durumu gözlemlenmiştir. Bu durumun tekrar bölgelerinde meydana gelen mutasyon (insersiyon ve delesyon) sonucunda oluşabileceği vurgulanmıştır.

Türkiye, Ermenistan ve Gürcistan asma koleksiyonlarından alınan 116 asma çeşidinde VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD28, VVMD31, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79, VVS2, VMC2C3, VMC2H4, VMC5A1 lokusları kullanılmış ve ülkeler arasında 17 benzer genotip bulunmuştur. Toplamda 138 adet allelin bulunduğu çalışmada, Türkiye' den Burdur Dimriti, Dökülgen, Ekşi Kafa, Gemre Siyah ve Şıralık çeşitlerini homonim çeşitler olarak tanımlanmışlardır (Vouillamoz vd 2006).

Upadhyay vd (2007) 21 Hindistan üzüm çeşitleri 7 SSR, 7 AFLP primeri ile çalışılmış toplamda 56 SSR alleli ve 252 AFLP bandı bulunmuştur. Çalışmada genetik benzerlik AFLP için 0.068 ile 0.36 ve SSR verileri için ise; 0.13 ile 0.36 arasında bulunmuştur.

Şelli vd (2007) ülkemizde yetiştirilmekte olan Dimrit ve Gemre genotiplerinin 8 SSR (VVS2-VVMD5-VVMD7-VVMD24-VVMD27-VVMD28-VrZAG62-rZAG79) lokusu ile genetik analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Araştırmada, dimrit ve gemre genotiplerinin genel olarak farklı birer grupsal dağılım gösterdiği, çeşitlerin ekocoğrafik dağılım ve genetik benzerliklerinin ise hemen hemen tamamen birbirinden bağımsız olduğu bulunmuştur.

Yüksel (2008), tez çalışmasında Manisa, İzmir, Muğla ve Kütahya illerine ait toplam 55 üzüm çeşidini 15 mikrosatellit lokusu ile taramış, benzer ve sinonim genotiplere rastlanmayıp, Tek Çekirdekli, Bulama, Beyaz Şam, Ekşi Üzüm ve Sıksarı genotipleri olmak üzere 5 homonim durum tespit edilmiştir.

Yıldırım (2008), tez çalışmasında Ankara ve Çankırı illerine ait toplam 51 üzüm çeşidini 15 mikrosatellit lokusu (VVMD5, VMC2C3, VrZAG79, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVS2, VrZAG62, VVIB01, VMC2H4, VVMD7, VVIH54 VVMD31, VrZAG83, VRG1) ile taramış, genotipler arasında 2 aynı genotip, 4 sinonim ve 5 homonim duruma rastlamıştır.

Shidfar (2008), tez çalışmasında Eskişehir ve Kayseri illerine ait 41 üzüm çeşidinin SSR tekniği ile moleküler tanımlamalarını gerçekleştirmiştir.

Zoghlami vd 2009 yaptıkları 10 SSR lokusu ile yaptıkları çalışmalarında Tunus'a ait 61 eski üzüm çeşidinin ebeveyn analizini ve genetik ilişkilerini incelemişlerdir.

3.MATERYAL ve YÖNTEM

Bu tez, 2009-2010 yılında Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak; Antalya iline ait 23 çeşit ile Mersin iline ait 27 çeşit ve 3 adet referans çeşit (Carbernet Sauvignon, Merlot, Pinot Noir) olmak üzere toplam 53 genotip kullanılmıştır. Çeşitlere ait sürgün ucu ve genç yapraklar Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü “Milli Koleksiyon Bağı”ndan sağlanmıştır. Araştırmada kullanılan üzüm çeşitlerinin iller bazında isimleri ve üzüm çeşitlerine ait bazı ampelografik özellikler Çizelge 3.1.' de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan Antalya ve Mersin illerine ait üzüm çeşitlerinin ampelografik özellikleri

No	Çeşidin Gen Bankası Kodu.Şehir Plaka Kodu	Çeşit Adı (Sinonim)	Orjinal Yetiştirilme Alanı	Salkım Formu	Tane Formu	Tane Rengi	Tat	Tohum Sayısı	Olgunlaşma
1	659.07	Arşın Üzümlü	Korkuteli\Çanakçı	Dallı Konik	Keçi Memesi	Beyaz	Tatlı	2-3	Eylül Sonu
2	368.07	Ereğli\Çavuş	Akseki\İbradı	Sık Konik	İri Söbü	Beyaz	Orta	2-3	Eylül Ortası
3	410.07	Horoz Taşağı	Korkuteli\Çomaklı	Sık Silindirik	Yuvarlak	Beyaz	Orta	3-4	Ekim Sonu
4	364.07	Kaburcu Harmanı	Akseki\Dikmen	Dallı Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	2	Eylül Sonu
5	362.07	Karagöz\Topkara\Deve gözü	Akseki\İbradı	Konik	Söbü	Siyah	Mayhoş	2	Eylül Sonu
6	404.07	Menkuruyan	Akseki\Dikmen	Silindirik	Elips	Beyaz	Tatlı	2	Eylül Sonu
7	656.07	Ak Tekerek	Korkuteli\Çanaklı	Silindirik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	2	Eylül Ortası
8	407.07	Kış Üzümlü	Akseki\Dikmen	Konik Seyrek	Armut	Beyaz	Çok Tatlı	2	Kasım Sonu
9	627.07	Margaz	Kaş\Gömbe	Konik	Söbü	Beyaz	Çok Tatlı	2	Ekim Ortası
10	367.07	Menemen	Akseki\Dikmen	Dallı Konik	Söbü	Beyaz	Tatlı	2	Eylül Sonu
11	402.07	Sarı Üzümlü	Akseki\Dikmen	Sık Konik	Yuvarlak	Sarı	Çok Tatlı	2	Eylül Sonu
12	365.07	Taburcu Harmanı	Akseki\Dikmen	Konik	Söbü	Beyaz	Orta	2	Eylül Ortası
13	622.07	Tel Gömlek	Elmalı\Gölova	Silindirik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	2	Ekim Başı
14	405.07	Telli Beyaz	Akseki\Dikmen	Seyrek Dallı Konik	Söbü	Beyaz	Tatlı	2	Eylül Sonu

15	408.07	Yoz Üzüm\Beyaz Üzüm\Kadın Parmağı	Korkuteli\Çomaklı	Konik	Elips	Beyaz	Orta	1-2	Kasım Başı
16	359.07	Kızıl Üzüm	Akseki\Dikmen	Konik	Yuvarlak	Kırmızı	Tatlı	2	Eylül Sonu
17	409.07	Zeynep	Korkuteli\Çomaklı	Dallı Konik	Elips	Kırmızı Siyah	Orta	1-2	Eylül Sonu
18	403.07	Tilki Kuyruğu	Akseki\Dikmen	Konik	Söbü	Siyah	Tatlı	2	Ekim Sonu
19	361.07	Ala Üzüm	Akseki\İbradı	Kanatlı Konik	Söbü	Siyah	Tatlı	2	Eylül Sonu
20	360.07	Büzgülü	Akseki\İbradı	Konik	Elips	Siyah	Orta	2	Eylül Sonu
21	347.07	Büzgülü	Akseki\İbradı	Konik	Elips	Beyaz	Tatlı	1--2	Eylül Sonu
22	613.07	Gode Büzgülü	Elmalı\Merkez	Konik	Elips	Siyah	Orta	2	Ekim Ortası
23	619.07	Etlı Büzgülü	Elmalı\Merkez	Konik	Elips	Siyah	Orta	2	Ekim Ortası
24	251.33	Deve Biciği	Gülner\Sarıkavak	Sık Konik	İğ	Siyah	Tatlı	1	Eylül Ortası
25	284.33	Gök Hevenk\ Göküzüm	Gülner\Sarıkavak	Konik	Söbü	Beyaz	Tatlı	2	Ekim Ortası
26	250.33	Kara Ahmet Hevengi	Gülner\Ayvalı Mah.	Dallı Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	2	Eylül Sonu
27	277.33	Kışniş\Kuş Üzümlü	Gülner\Sarıkavak	Konik	Hafif Söbü	Siyah	Tatlı	1	Ağustos Sonu
28	280.33	Kuş Yüreği	Gülner\Sarıkavak	Konik	Elips Ucu Sivri	Kırmızı-Siyah	Orta	2-3	Eylül Sonu
29	248.33	Kutu	Gülner\Sarıkavak	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	1-2	Eylül Sonu
30	314.33	Recep	Merkez\Musalı	Konik	Elips	Beyaz Kınalı	Tatlı	1-2	Ağustos Ortası
31	341.33	Sapı Sarı\Sarı Uzun	Tarsus\Dedeler	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı Aromalı	2	Temmuz Ortası
32	309.33	Tekerlek Beyazı	Gülner\Sarıkavak	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Orta	2	Eylül Ortası
33	340.33	Topacık\Kırmızı Çubuk	Merkez\Musalı	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	1-2	Ağustos Başı
34	317.33	Topacık\Sıkdane	Merkez\Musalı	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	2-3	Ağustos Başı
35	286.33	Yanal Firt	Gülner\Sarıkavak	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Orta	3	Eylül Sonu
36	249.33	Boz Tevekli	Gülner\Sarıkavak	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	2-3	Ekim Başı

37	253.33	İş Bitiren	G�lnar\Ayvalı Mah.	Dallı Konik	Söbü	Beyaz	Tatlı	2	Eylül Ortası
38	254.33	Tarsus Beyazı	G�lnar\Sarıkavak	Konik	Uzun Elips	Beyaz	Orta	2	Ağustos Sonu
39	247.33	Kırmızı Miski\M�şk�le Pembe Miski	G�lnar\Sarıkavak	Konik	Yuvarlak	Kırmızı	Tatlı	1-2	Eylül Ortası
40	279.33	Kaba �z�m	G�lnar\Ayvalı Mah.	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	2	Eylül Başı
41	312.33	Antep Karası	Tarsus\Dedeler	Dallı Konik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	1-2	Ağustos Ortası
42	343.33	Topacık\Pembe �ubuk	Merkez\Musalı	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	1-2	Ağustos Başı
43	344.33	�ivili	Tarsus\Dedeler	Silindirik	Yuvarlak	Beyaz	Orta	2	Eylül Başı
44	315.33	Bey �z�m�	Merkez\Musalı	Konik	Yuvarlak	Beyaz	Tatlı	1-2	Temmuz Sonu
45	345.33	Harman Beyazı	Merkez\Musalı	Silindirik	Söbü	Beyaz	Tatlı	1-2	Ağustos Başı
46	316.33	Tilki Kuyru�u	Tarsus\Dedeler	Silindirik	Elips	Beyaz	Orta	1--2	Eylül Başı
47	281.33	�eker Dilmit	G�lnar\Sarıkavak	Konik	Elips	Siyah	Tatlı	2	Eylül Başı
48	285.33	Ak �z�m	G�lnar\Sarı Kavak	Konik	Oval	Beyaz(Kın alı)	Tatlı	2	Ağustos Ortası
49	252.33	Dimrit	G�lnar\Sarıkavak	Konik	Söbü	Siyah	Tatlı	1-2	Eylül Sonu
50	246.33	Erkek Dimrit	G�lnar\Sarıkavak	Konik	Yuvarlak	Siyah	Tatlı	1	Eylül Sonu

3.2. Yöntem

Tezde,

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

3.2.1. DNA izolasyonu ve ölçümleri

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

1. Genç yaprak veya sürgün ucu sıvı azotla ezildi.
2. 100 mg alınarak 2 µl ependorf tüplere aktarıldı
3. Tüplerin üzerine 1 ml DNA ekstraksiyon solüsyonu (örnek başına 10 µl 2-Merkaptoethanol içerir) eklendi,
4. 65 C⁰'de arasıra çalkalanarak 15 dk bekletildi,
5. 0,5 ml kloroform/isoamil alkol (24:1) karışımı eklenerek, 30 dk buz üzerinde bekletildi.
6. Oda sıcaklığında, 14.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi.
7. Üst sıvı, temiz bir ependorf tüpe aktarıldı.
8. Üzerine 0,8 ml isopropanol eklendi.
9. Örnekler, 15-20 dk buz üzerinde tutularak 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
10. Üst sıvı tekrar yeni bir ependorf tüpe aktarıldı
11. Pellet (alt katı) üzerine 1 ml % 70'lik ethanol eklenerek, 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi.
12. DNA, 50-100 µl H₂O'da çözüldü.
13. Her 100 µl için 1 µl RNase-A eklenerek, 37 oC'de 15 dk bekletilerek, RNA uzaklaştırıldı (RNase-A (Appllichem); 100mg/ml).

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

3.2.2. PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR

SSR markörlerin amplifikasyon koşulları olarak; 15-200ng DNA, 5 pmol ileri (forward) primer, 5 pmol floresan işaretlenmiş ters (reverse) primer, 0.5 mM toplam dNTP, 0.5 ünite GoTaq DNA Polimeraz (Promega) (1.5 mM MgCl içermekte), 1ml buffer 10x buffer olacak şekilde toplam 10 µl'de gerçekleştirilmiştir. PCR programı ise 94 °C'de 3 dk, 94 °C'de 1 dk, primerin bağlanma derecesine bağlı olarak 50–60 °C'de 1dk, 72 °C'de 2 dk ve son safhasında 72 °C'de 10 dk olarak toplam 35 döngü uygulanmıştır.

PCR sonrası lokuslara ait PCR ürünleri % 3'lük agaroz jelde kontrol edildikten sonra, amplifikasyonu gerçekleşmiş örneklerde kapilleri elektroforez aşaması gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada kullanılan SSR primerleri

Çalışmada, GENRES 081 Avrupa Birliği Araştırma Projesince, Avrupa'daki asma çeşit koleksiyonları için kullanılan ve artık tüm dünya tarafından minimum standart set olarak kabul gören VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 ve VrZAG79 mikrosatelit lokusları da dahil olmak üzere toplam 20 SSR primeri kullanılmıştır. Her lokusa ait ileri (forward) primer D4 (mavi), D3 (yeşil) ve D2 (siyah) renklerde fluoressan işaretlenmiş olup primerlere ait baz dizileri, kullanılan fluoressan boya ve Tm(°C) değerleri Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

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

No	Lokus Adı	Primer Dizileri (5'...3')	İşaretleme Boyası	Tm (°C)
1	VVS1-F**	acaattggaaaccgcgtggag	D2	53
	VVS1-R	cttctcaatgatatctaaaaccatg		
2	VVS2-F**	cagcccgtaaattgatccatc	D4	55
	VVS2-R	aaattcaaaattctaattcaactgg		
3	VVMD5-F**	ctagagctacgccaatccaa	D2	55
	VVMD5-R	tataccaaaaatcatattcctaaa		
4	VVMD7-F**	agagttgcggagaacaggat	D3	55
	VVMD7-R	cgaaccttcacacgcttgat		
5	VVMD21-F**	ggttgtctatggagttgatgttc	D4	55
	VVMD21-R	gcttcagtaaaaagggttgcg		
6	VVMD24-F**	gtggatgatggagtagtcacgc	D4	55
	VVMD24-R	gattttagggtcatgttggtgaagg		
7	VVMD27-F**	gtaccagatctgaatacatccgtaagt	D4	55
	VVMD27-R	acgggtatagagcaaacggtgt		
8	VVMD28-F**	aacaattcaatgaaaagagagagaga	D3	55
	VVMD28-R	tcattcaatttcgtatctctatttctg		
9	VVMD31-F**	cagtggttttcttaaagttcaagg	D2	55
	VVMD31-R	ctctgtgaaagaggaagagacgc		
10	ZAG21-F**	tcattcactcactgcattcatcggc	D3	65
	ZAG21-R	ggggctactccaaagtcagttcttg		
11	ZAG47-F**	ggtctgaatacatccgtaagtatat	D2	55
	ZAG47-R	acgggtgtgctctcattgtcattgac		
12	ZAG62-F **	ggtgaaatgggcaccgaacacacgc	D4	55
	ZAG62-R	ccatgtctctcctcagcttctcagc		
13	ZAG64-F**	tatgaaagaaaccaacgcggcacg	D3	55
	ZAG64-R	tgcaatgtggtcagcctttgatggg		
14	ZAG79-F**	agattgtggaggagggaacaaaccg	D3	66
	VRZAG79-R	tgccccattttcaaactcccttc		
15	ZAG83-F**	ggcggaggcggtagatgagaggcg	D4	66
	ZAG83-R	acgcaacggctagtaataacaacgg		

16	ZAG112-F **	cgtttaagccagctgaatcttggg	D3	55
	ZAG112-R	tggtccatactgttcacgtaggc		
17	VMC2h4-F**	accaggtgtgcctataagaatc	D3	50
	VMC2h4-R	tctctggaacatccaatcaac		
18	VMC2c3-F**	tgcaatcccattattatctctt	D2	48
	VMC2c3 –R	aatattttagaatggtgctttt		
19	VVIH54-F**	ccgcacttggttgaatttcag	D2	55
	VVIH54-R	caaaccgtttttacaccagcag		
20	VVIB01-F**	tgaccctcgaccttaaatctt	D4	55
	VVIB01-R	tggtgagtgcattgatagtaga		

** : Floresan işaretli

3.2.3. Kapilleri elektroforez ve allel görüntülerinin alınması

Tezde kullanılan genotiplere ait fragment analizleri, Beckman CEQTM 8800 Genetik Analiz Sisteminde gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri işaretlemede kullanılan floresan (Prologo, wellred işaretli primerler, Fransa) boyalara göre değişik oranlarda (1:5, 1:10 gibi) 20 µl SLS (Sample Loading Solution) ile seyreltilmiştir. Üzerlerine 0,2–0,4 µl size standart–400 eklendikten sonra CEQTM 8000 Genetik Analiz Sistemi’nde elektroforez edilmiştir. Daha sonra her bir lokusa ait pikler; tipleri ve renkleri göz önüne alınarak heterozigot ve homozigot olarak görüntülenmiştir. Verilerin doğruluğundan emin olmak için reaksiyonlar en az iki kez tekrar edilmiştir.

3.2.4. Genetik analizler

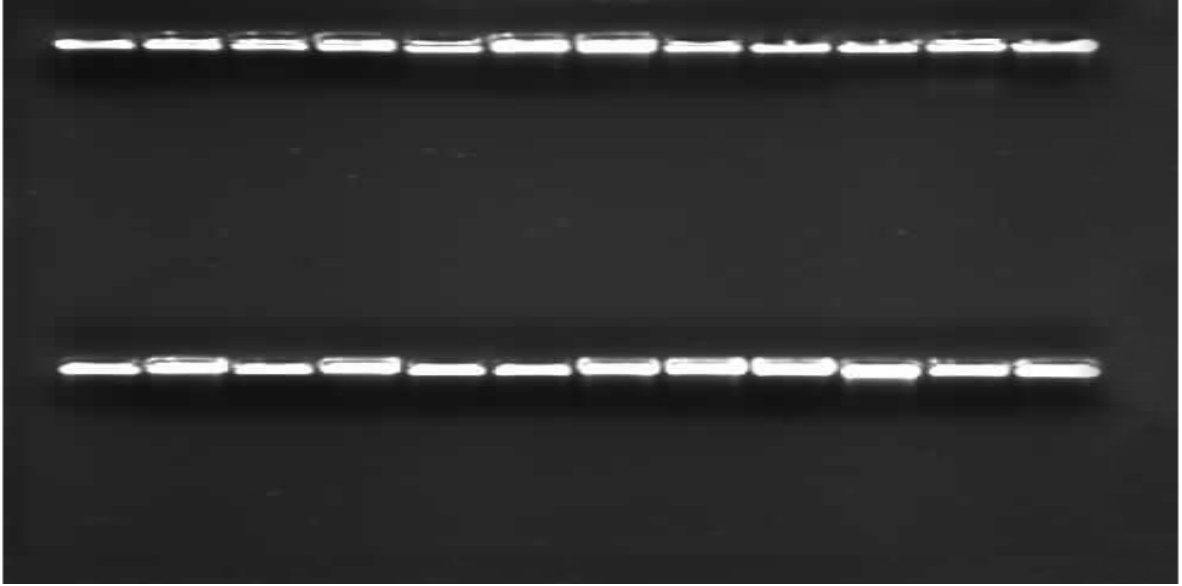
Arştırmada kullanılan eşitler, IDENTITY 1.0 (Wagner ve Sefc, 1999) adlı yazılım programı ile her bir lokustaki allellerin sayısı (n) , allel frekansı, beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho), null allellerin frekansı (r), tanımlama olasılığı (PI) değeri (Paetkau vd 1995) tarafından belirtildiğı şekilde tespit edilmiştir.

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

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. DNA İzolasyonu ve Ölçümleri

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



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

Nükleik asitlerde; spektrofotometrik ölçüm değerlerinin (A_{260}/A_{280}) oranının yaklaşık 1.8–2.0 olması tercih edilmektedir. Bulgulardaki DNA saflık oranları genel olarak bu sınırlar içerisinde yer alırken, jel görüntülerinde kırksız bir bant oluşumu kaliteli DNA izolasyonunun bir diğer göstergesi olarak kabul edilmiştir (Çizelge 4.1.).

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

No	Çeşidin Gen Bankası Kodu.Şehir Plaka Kodu	ng/ul	260	280	260/280	260/230
1	659.07	4467,75	89,355	46,143	1,94	1,77
		4437,2	88,744	45,823	1,94	1,77
		4472,25	89,445	46,241	1,93	1,77
2	368.07	3423,42	68,468	33,567	2,04	1,42
		3420,73	68,415	33,684	2,03	1,41
		3428,22	68,564	33,751	2,03	1,41
3	410.07	3103,11	62,062	30,638	2,03	1,37
		3065,87	61,317	30,298	2,02	1,26
		3067,61	61,352	30,331	2,02	1,26
4	364.07	4225,78	84,516	43,937	1,92	0,98
		4181,21	83,624	43,51	1,92	1,37
		4214,91	84,298	44,01	1,92	1,37
5	362.07	4317,71	86,354	44,453	1,94	1,36
		4248,73	84,975	43,463	1,96	1,45
		4311,19	86,224	44,164	1,95	1,45
6	404.07	2829,09	56,582	28,156	2,01	1,45
		2837,81	56,756	28,242	2,01	1,3
		2846,64	56,933	28,312	2,01	1,31
7	656.07	3877,27	77,545	38,717	2	1,3
		3895,99	77,92	38,807	2,01	1,5
		3896,96	77,939	38,814	2,01	1,5
8	407.07	1594,48	31,89	15,746	2,03	0,99
		1599,33	31,987	15,801	2,02	0,99
		1601,68	32,034	15,848	2,02	0,99
9	627.07	1795,65	35,913	18,884	1,9	0,96
		1806,05	36,121	18,983	1,9	0,96
		1722,63	34,453	18,513	1,86	0,95
10	367.07	2729,56	54,591	27,391	1,99	1,07
		2725,8	54,516	27,348	1,99	1,06
		2713,31	54,266	27,386	1,98	1,06
11	402.07	2394,48	47,89	23,519	2,04	1,28
		2412,25	48,245	23,658	2,04	1,28

		2419,18	48,384	23,778	2,03	1,28
12	365.07	2801,01	56,02	27,421	2,04	1,1
		2807,54	56,151	27,505	2,04	1,1
		2826,78	56,536	27,66	2,04	1,1
13	622.07	2560,58	51,212	25,069	2,04	0,92
		2555,78	51,116	25,022	2,04	0,91
		2567,13	51,343	25,092	2,05	0,91
14	405.07	3719,7	74,394	38,392	1,94	1,51
		3736,75	74,735	38,529	1,94	1,51
		3742,95	74,859	38,741	1,93	1,51
15	408.07	3454,43	69,089	35,203	1,96	1,37
		3477,69	69,554	35,245	1,97	1,37
		3484,6	69,692	35,415	1,97	1,37
16	359.07	4836,18	96,724	49,3	1,96	1,48
		4810,24	96,205	49,152	1,96	1,48
		4832,63	96,653	49,224	1,96	1,48
17	409.07	3524,99	70,5	34,25	2,06	1,23
		3533,94	70,679	34,348	2,06	1,23
		3551,88	71,038	34,449	2,06	1,23
18	403.07	2014,22	40,284	20,539	1,96	0,99
		2016,34	40,327	20,542	1,96	0,99
		2031,58	40,632	20,728	1,96	1
19	361.07	2155,63	43,113	21,957	1,96	0,99
		2255,71	45,114	22,447	2,01	0,99
		2258,03	45,161	22,521	2,01	0,98
20	360.07	2656,78	53,136	27,255	1,95	1,32
		2674,08	53,482	27,377	1,95	1,32
		2666,6	53,332	27,32	1,95	1,32
21	347.07	2089,82	41,796	21,357	1,96	1,26
		2094,46	41,889	21,446	1,95	1,26
		2118,71	42,374	21,666	1,96	1,26
22	613.07	2345,42	46,908	24,006	1,95	0,94
		2314,8	46,296	23,664	1,96	0,94
		2375,69	47,514	24,272	1,96	0,95
23	619.07	4098,56	81,971	46,006	1,78	1,19
		3858,93	77,179	39,682	1,94	1,39

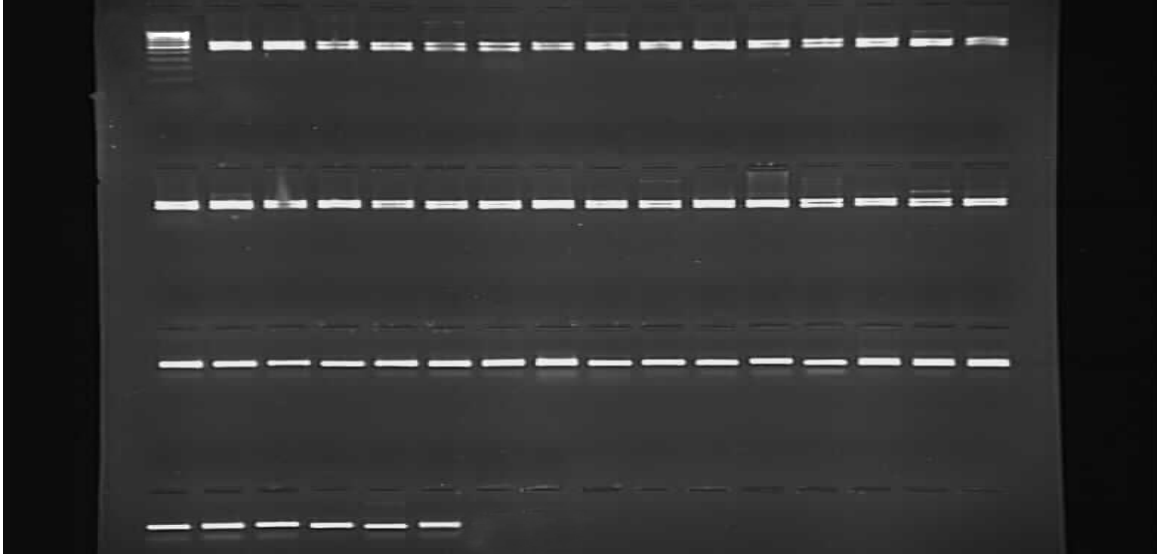
		3901,24	78,025	40,053	1,95	1,4
24	251.33	2632,34	52,647	25,545	2,06	1,23
		2642,74	52,855	25,692	2,06	1,24
		2644,94	52,899	25,666	2,06	1,24
25	284.33	3351,37	67,027	33,112	2,02	1,46
		3335,97	66,719	32,995	2,02	1,46
		3364,81	67,296	33,373	2,02	1,46
26	250.33	2814,78	56,296	28,904	1,95	1,18
		2820,81	56,416	29,103	1,94	1,18
		2838,87	56,777	29,137	1,95	1,18
27	277.33	4219,89	84,398	43,866	1,92	1,53
		4248,26	84,965	44,066	1,93	1,54
		4275,77	85,515	44,294	1,93	1,54
28	280.33	3022	60,44	29,174	2,07	1,61
		3034,16	60,683	29,376	2,07	1,61
		3044,91	60,898	29,501	2,06	1,61
29	248.33	3513,89	70,278	34,179	2,06	1,94
		3520,25	70,405	34,286	2,05	1,93
		3573,81	71,476	34,935	2,05	1,92
30	314.33	4542,48	90,85	49,08	1,85	1,6
		4557,81	91,156	49,396	1,85	1,59
		4572,26	91,445	49,775	1,84	1,59
31	341.33	4317,02	86,34	45,748	1,89	1,41
		4345,52	86,91	46,055	1,89	1,41
		4393,95	87,879	46,712	1,88	1,4
32	309.33	1517,94	30,359	15,082	2,01	1,02
		1522,04	30,441	15,195	2	1,02
		1532,75	30,655	15,255	2,01	1,02
33	340.33	3407,58	68,152	34,447	1,98	1,36
		3437,88	68,758	34,78	1,98	1,36
		3416,59	68,332	34,613	1,97	1,36
34	317.33	2049,68	40,994	20,288	2,02	0,92
		2052,86	41,057	20,307	2,02	0,92
		2042,56	40,851	20,27	2,02	0,91
35	286.33	3297,09	65,942	32,129	2,05	1,29
		3295,68	65,913	32,096	2,05	1,3

		3294,23	65,885	32,06	2,06	1,29
36	249.33	1713,62	34,272	16,991	2,02	0,87
		1713,86	34,277	17,012	2,01	0,87
		1713,39	34,268	17,027	2,01	0,88
37	253.33	1956,46	39,129	19,185	2,04	1,09
		1977,48	39,55	19,462	2,03	1,08
		1978,77	39,575	19,51	2,03	1,07
38	254.33	3265,66	65,313	33,086	1,97	1
		3317,22	66,344	33,57	1,98	1,01
		3292,62	65,852	33,319	1,98	1,01
39	247.33	2528,95	50,579	25,053	2,02	1,13
		2534,9	50,698	25,133	2,02	1,13
		2491,05	49,821	24,779	2,01	1,14
40	279.33	2774,77	55,495	26,872	2,07	1,27
		2797,3	55,946	27,193	2,06	1,27
		2814,68	56,294	27,371	2,06	1,27
41	312.33	2463,71	49,274	24,453	2,02	1,17
		2477,99	49,56	24,638	2,01	1,17
		2470,3	49,406	24,559	2,01	1,17
42	343.33	3198,4	63,968	31,914	2	1,29
		3218,18	64,364	32,202	2	1,28
		3215,55	64,311	32,154	2	1,28
43	344.33	3089,48	61,79	30,569	2,02	1,3
		3096,78	61,936	30,643	2,02	1,3
		3097,18	61,944	30,71	2,02	1,3
44	315.33	3835,81	76,716	37,331	2,06	1,52
		3848,38	76,968	37,439	2,06	1,51
		3862,52	77,25	37,704	2,05	1,51
45	345.33	1909,46	38,189	19,952	1,91	1,12
		1921,77	38,435	20,105	1,91	1,11
		1904,42	38,088	19,964	1,91	1,11
46	316.33	2451,15	69,023	35,095	1,97	1,26
		2410,1	68,202	34,624	1,97	1,25
		2434,54	68,691	34,837	1,97	1,25
47	281.33	1542,48	90,85	49,08	1,85	1,6
		1557,81	91,156	49,396	1,85	1,59

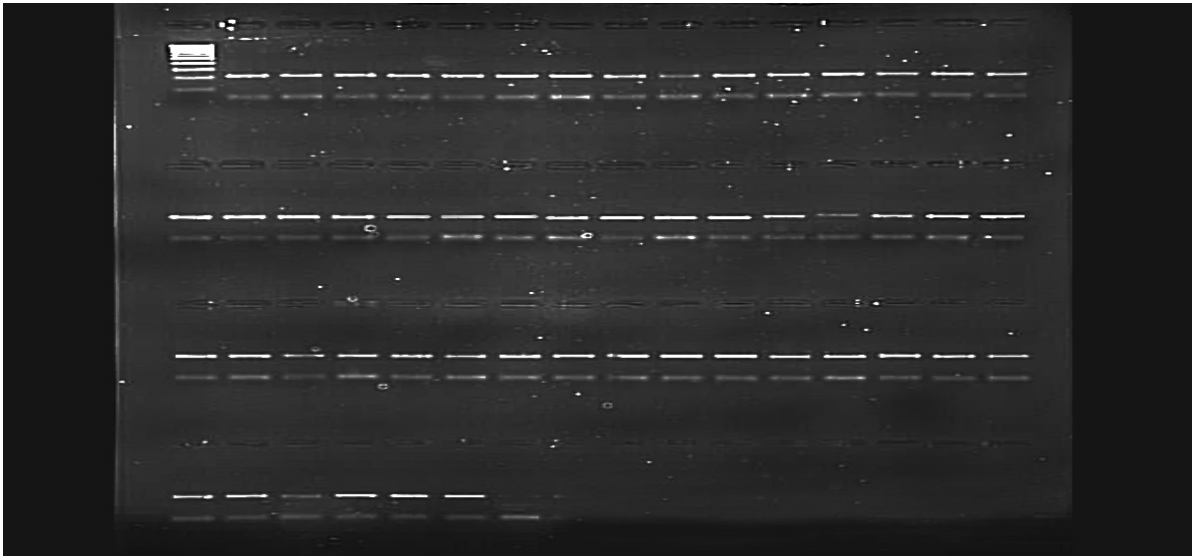
		1572,26	91,445	49,775	1,84	1,59
48	285.33	3317,02	86,34	45,748	1,89	1,41
		3345,52	86,91	46,055	1,89	1,41
		3393,95	87,879	46,712	1,88	1,4
49	252.33	1517,94	30,359	15,082	2,01	1,02
		1522,04	30,441	15,195	2	1,02
		1532,75	30,655	15,255	2,01	1,02
50	246.33	2407,58	68,152	34,447	1,98	1,36
		2437,88	68,758	34,78	1,98	1,36
		2416,59	68,332	34,613	1,97	1,36
51	CS	2049,68	40,994	20,288	2,02	0,92
		2052,86	41,057	20,307	2,02	0,92
		2042,56	40,851	20,27	2,02	0,91
52	M	1713,62	34,272	16,991	2,02	0,87
		1713,86	34,277	17,012	2,01	0,87
		1713,39	34,268	17,027	2,01	0,88
53	PN	1956,46	39,129	19,185	2,04	1,09
		1977,48	39,55	19,462	2,03	1,08
		1978,77	39,575	19,51	2,03	1,07

4.2. SSR Lokuslarının PCR Reaksiyonu ve Allel Görüntülerinin Alınması

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

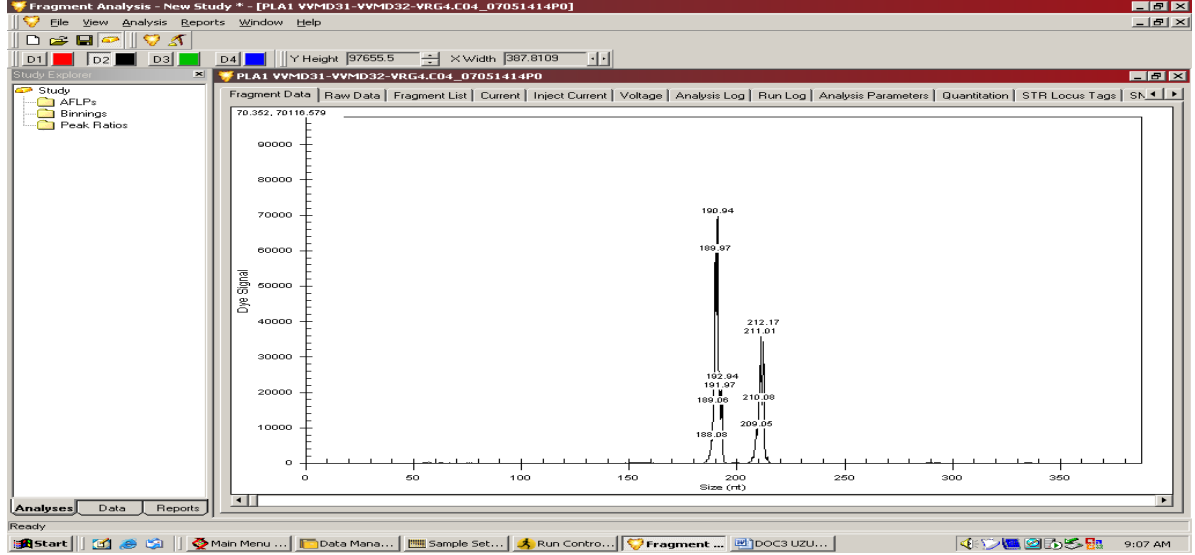


Şekil 4.2. VVMD5 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü

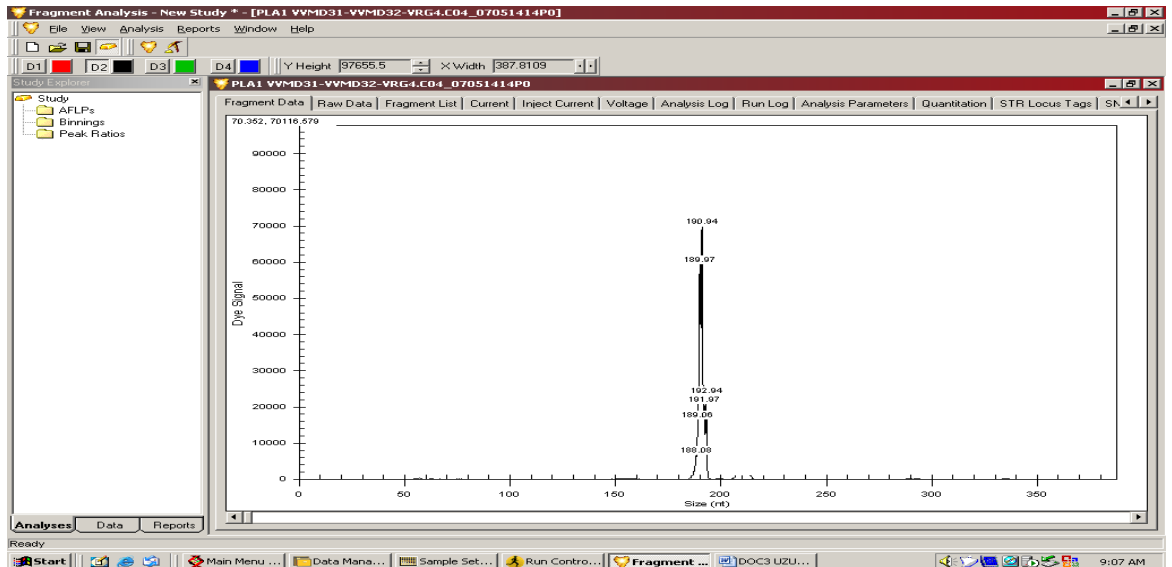


Şekil 4.3. ZAG21 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü

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



Şekil 4.4. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki heterozigot allel görünümleri



Şekil 4.5. Lokus-allel profillerinin kapilleri elektroforezdeki homozigot allel görünümleri

4.3. Genetik Analizler

Araştırmada 20 SSR lokusu ait allel büyüklükleri baz çifti (bp, basepair) olarak izelge 4.2.'de sunulmuştır. Analiz edilen mikrosatelit markörler arasında, asma çeşit analizi için This vd (2004) tarafından minimum standart mikrosatelit markör seti olarak kabul edilen markörler (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62 ve VrZAG79)'de bulunmaktadır. Ayrıca Cabernet Sauvignon, Merlot ve Pinot Noir eşitleri de referans çeşit olarak örneklerle beraber analiz edilmiştir.

Çizelge 4.2. Batı Akdeniz Bölgesi (Antalya-Mersin) üzüm çeşitlerinin 20 lokustaki allel büyüklükleri (bç)

Mikrosatellit Lokusları														
No	VVS1		VVS2		VVMD5		VVMD7		VVMD21		VVMD24		VVMD27	
1	179	179	143	145	231	233	236	244	242	248	207	207	185	195
2	179	187	135	137	233	237	240	244	242	248	207	207	179	185
3	179	179	135	135	237	237	246	260	242	254	207	211	181	185
4	179	187	143	143	233	237	246	246	242	248	207	207	181	185
5	179	181	145	151	221	233	240	246	242	254	207	217	179	185
6	179	187	143	143	233	233	240	246	242	254	207	221	183	185
7	179	179	133	145	235	237	236	246	242	248	207	207	179	189
8	185	187	141	143	235	237	246	246	242	248	205	221	179	185
9	179	179	143	151	237	237	244	256	248	254	207	217	185	195
10	179	187	133	137	233	237	236	246	242	248	207	211	179	185
11	179	187	143	145	237	243	244	260	242	248	217	217	183	185
12	179	187	143	145	225	233	236	244	242	242	207	207	175	185
13	179	187	135	145	225	237	244	246	242	256	207	211	189	195
14	179	187	143	143	235	237	244	246	248	254	205	207	179	181
15	179	187	145	151	231	231	236	250	248	254	207	217	181	195
16	179	187	135	145	223	237	244	260	242	248	207	217	181	193
17	179	179	143	151	231	233	236	244	242	248	207	207	185	195
18	179	185	141	145	233	237	230	260	248	254	207	221	175	185
19	179	187	133	135	237	237	236	236	242	248	205	207	175	185
20	179	187	137	143	233	233	244	246	242	242	207	207	179	185
21	179	187	137	137	233	233	240	246	242	254	207	207	179	185
22	179	179	137	143	233	233	244	246	242	254	207	207	179	185
23	179	179	137	143	233	233	244	246	242	254	207	207	179	185
24	179	179	133	143	233	237	236	240	248	254	207	211	179	185
25	179	187	133	143	233	235	246	248	242	248	205	207	185	193
26	179	179	137	143	233	235	248	260	242	248	205	207	185	193
27	179	187	137	143	233	237	240	246	242	254	207	217	179	185
28	179	179	137	143	233	233	244	246	242	254	207	207	179	185

29	179	179	133	143	233	237	236	246	242	254	207	207	185	193
30	179	185	133	155	237	243	246	250	242	248	207	211	181	183
31	179	179	133	155	223	243	236	244	248	254	205	207	175	179
32	179	179	133	143	231	235	246	246	242	248	205	205	175	193
33	179	179	135	151	225	235	236	236	248	248	211	217	175	179
34	179	179	135	151	225	235	236	236	248	248	211	217	175	179
35	179	187	133	143	235	237	246	246	242	248	205	205	175	185
36	179	187	143	143	233	233	236	244	242	248	211	217	179	179
37	179	179	133	143	223	231	246	246	242	254	205	205	175	175
38	179	185	133	155	237	243	246	250	242	248	207	211	181	183
39	179	185	141	143	223	237	236	250	242	248	207	215	181	185
40	179	187	135	143	223	233	246	246	242	248	211	217	175	185
41	179	187	131	155	229	243	236	236	242	254	211	215	175	179
42	179	179	135	151	225	235	236	236	248	248	211	217	175	179
43	179	179	131	133	231	243	240	246	242	248	207	211	175	195
44	179	179	135	151	225	235	244	246	254	254	205	217	179	183
45	179	179	133	155	237	243	236	244	242	254	207	211	175	179
46	179	185	149	155	231	243	240	250	242	264	207	207	181	183
47	179	179	135	143	223	237	244	246	242	242	207	211	185	195
48	179	187	143	149	223	233	240	246	242	254	205	217	175	185
49	179	187	137	143	233	237	240	246	242	254	207	217	179	185
50	179	187	137	143	233	237	246	246	242	246	205	207	179	183
CS	179	179	139	151	229	237	236	236	248	256	207	217	175	189
M	179	189	139	151	223	233	236	244	242	246	207	211	189	191
PN	183	189	137	151	225	235	236	240	248	248	213	215	185	189

Mikrosatellit Lokusları														
No	VVMD28		VVMD31		ZAG21		ZAG47		ZAG62		ZAG64		ZAG79	
1	217	257	209	211	199	201	161	171	188	188	136	156	242	256
2	243	247	209	223	205	205	155	161	188	200	136	156	246	246
3	235	235	203	211	201	205	157	161	202	204	138	140	242	250
4	235	243	195	211	189	205	157	161	188	202	156	160	242	258
5	257	257	209	211	205	205	155	161	194	200	140	156	250	250
6	233	257	211	211	205	205	159	161	188	200	140	140	238	250
7	235	257	209	211	189	205	155	165	188	202	142	156	250	258
8	235	257	209	211	199	201	155	161	202	204	142	156	242	246
9	235	243	209	215	205	205	161	171	194	194	138	140	242	256
10	233	257	209	209	199	205	155	161	200	204	140	156	246	250
11	239	257	211	211	205	205	161	161	202	204	136	136	242	250
12	233	257	211	211	189	189	151	161	188	188	142	156	246	250
13	247	257	211	215	189	205	165	171	202	204	140	156	242	250
14	235	257	211	223	201	205	155	157	188	204	156	160	246	258
15	217	243	211	211	189	201	157	171	188	188	140	156	246	256
16	253	257	211	223	205	211	157	169	202	204	136	140	248	250
17	217	243	211	215	201	205	161	171	188	188	140	156	246	250
18	235	257	209	211	199	201	151	161	202	204	142	142	242	258
19	233	235	209	223	205	205	151	161	204	204	136	140	242	246
20	233	243	209	211	189	205	155	161	188	200	140	156	246	250
21	233	243	209	209	189	205	155	161	200	200	140	156	246	246
22	257	257	209	209	199	205	155	161	188	200	136	156	242	246
23	257	257	209	209	199	205	155	161	188	200	136	156	242	246
24	257	257	209	209	205	205	155	161	200	204	140	140	246	246
25	235	257	211	223	189	201	161	169	204	204	156	156	242	246
26	257	257	211	223	201	213	161	169	204	204	136	142	248	250
27	233	257	209	211	205	205	155	161	188	200	140	140	246	250
28	257	257	209	209	199	205	155	161	188	200	136	156	242	246
29	257	257	209	211	201	205	161	169	204	204	140	156	246	246

30	233	257	209	209	189	205	157	157	188	188	140	156	246	258
31	233	257	211	213	205	205	151	155	192	200	140	140	238	246
32	243	257	209	211	189	201	151	169	188	202	156	156	242	246
33	257	257	209	211	189	205	151	155	200	204	136	140	246	248
34	257	257	209	211	189	205	151	155	200	204	136	140	246	248
35	235	257	209	223	189	205	151	161	188	202	140	156	242	246
36	235	243	209	209	189	205	155	155	204	204	136	140	248	250
37	235	243	209	211	189	205	151	151	188	202	140	156	242	246
38	233	257	209	209	189	205	157	157	188	188	140	156	246	258
39	247	257	211	211	189	205	157	161	188	200	134	140	242	258
40	233	257	209	209	199	205	151	161	188	200	138	140	242	246
41	257	257	209	211	189	205	151	155	188	200	136	140	246	246
42	257	257	209	211	189	205	151	155	200	204	136	140	246	248
43	233	257	195	213	199	205	151	171	188	188	138	140	246	256
44	257	257	209	223	205	205	155	159	188	204	136	140	246	248
45	257	257	211	213	205	205	151	155	192	200	138	140	238	246
46	233	243	203	209	189	205	157	159	188	188	156	156	248	258
47	233	233	209	211	199	205	161	171	188	192	136	140	246	250
48	233	257	209	211	205	213	151	161	188	200	138	156	242	246
49	233	257	209	211	205	205	155	161	188	200	140	140	246	250
50	257	257	209	211	189	205	155	159	188	204	140	156	248	248
CS	233	235	205	209	199	205	151	165	188	194	136	156	246	246
M	227	233	211	215	199	199	165	167	194	194	134	156	258	258
PN	217	235	215	215	199	205	161	165	186	192	136	160	238	244

Mikrosatellit Lokusları												
No	ZAG83		ZAG112		VMC2h4		VMC2c3		VVIh54		VVIb01	
1	191	191	227	239	204	220	191	195	164	164	296	300
2	185	191	235	239	200	214	161	193	162	174	292	296
3	191	191	227	231	206	206	163	163	164	174	292	308
4	185	187	231	239	214	214	163	167	150	164	292	296
5	185	185	229	231	198	214	167	177	164	164	292	296
6	187	187	231	245	214	214	163	167	174	174	296	296
7	187	191	227	231	214	214	163	191	138	164	292	292
8	187	197	231	245	214	214	167	167	150	176	292	296
9	191	191	231	235	214	214	163	167	164	164	296	296
10	185	187	231	245	214	214	163	167	164	174	292	296
11	191	191	231	231	204	214	163	167	150	174	296	296
12	185	187	231	231	214	214	167	167	164	174	296	296
13	191	191	227	231	206	206	167	195	164	164	296	308
14	185	187	231	239	198	214	167	167	164	164	292	292
15	185	191	227	259	204	214	159	191	162	162	292	300
16	187	187	229	231	198	206	163	189	174	174	292	308
17	185	191	227	233	204	220	167	191	162	174	292	292
18	191	197	231	245	214	214	167	191	166	176	296	296
19	185	185	231	231	198	214	163	163	162	162	292	292
20	185	191	231	239	214	220	167	195	162	174	292	296
21	185	191	231	231	198	220	167	167	164	174	292	296
22	185	191	231	239	214	220	167	195	164	174	292	296
23	185	191	231	239	214	220	167	195	164	174	292	296
24	185	185	231	231	214	218	163	167	164	164	292	296
25	187	187	231	239	214	214	163	167	150	174	292	296
26	187	191	231	239	198	214	167	195	174	174	292	292
27	185	185	231	231	198	218	163	167	164	174	296	296
28	185	191	231	239	214	220	167	195	164	174	292	296
29	185	187	231	239	214	214	163	167	164	174	292	292

30	185	191	227	231	198	202	167	191	164	176	292	296
31	185	185	231	245	202	202	167	177	164	174	292	292
32	187	187	231	231	206	214	163	163	138	174	292	296
33	185	185	229	231	202	214	167	177	150	164	292	296
34	185	185	229	231	202	214	167	177	150	164	292	296
35	185	187	231	239	212	214	163	167	150	164	292	292
36	185	187	229	231	214	218	163	163	164	174	292	296
37	185	187	231	231	206	206	163	167	138	164	292	292
38	185	191	227	231	198	202	167	191	164	176	292	296
39	187	191	231	239	200	214	163	163	164	178	292	292
40	185	191	231	231	214	214	163	167	150	164	292	292
41	185	187	231	231	198	204	163	167	164	174	292	292
42	185	185	229	231	202	214	167	177	150	164	292	296
43	185	185	227	231	200	206	163	191	166	176	292	308
44	185	187	229	231	202	212	167	177	158	164	292	296
45	185	185	231	245	198	202	167	177	164	164	292	296
46	185	191	227	233	198	204	163	191	158	176	292	296
47	185	187	231	231	212	218	163	167	150	164	292	296
48	185	191	231	239	206	218	163	167	164	174	292	296
49	185	185	231	231	198	218	163	167	164	174	296	296
50	185	187	231	233	200	218	167	189	164	174	296	296
CS	197	197	227	231	212	220	163	177	164	178	292	292
M	191	197	227	239	198	212	167	177	164	164	292	296
PN	185	197	237	239	200	200	167	195	164	164	292	296

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

Çizelge 4.3. Batı Akdeniz Bölgesi (Antalya-Mersin) üzüm çeşitlerine ait genetik parametreler (allel sayısı (n), beklenen (He) ve gözlenen (Ho) heterozigotluk, lokusların tanımlama olasılığı (PI: Probability of Identity), null allellerin frekansı (r))

Lokus	n	He	Ho	PI	r
VVS1	6	0.474	0.584	0.421	-0.074
VVS2	11	0.840	0.886	0.074	-0.025
VVMD5	9	0.804	0.792	0.006	0.112
VVMD7	9	0.776	0.754	0.145	0.012
VVMD21	10	0.700	0.867	0.248	-0.098
VVMD24	10	0.715	0.660	0.172	0.031
VVMD27	13	0.826	0.962	0.091	-0.074
VVMD28	9	0.703	0.698	0.491	0.187
VVMD31	8	0.673	0.698	0.272	-0.014
ZAG21	6	0.649	0.735	0.251	-0.052
ZAG47	9	0.810	0.905	0.107	-0.052
ZAG62	7	0.761	0.698	0.163	0.036
ZAG64	7	0.740	0.811	0.191	-0.050
ZAG79	8	0.771	0.830	0.135	-0.032
ZAG83	4	0.670	0.603	0.285	0.040
ZAG112	9	0.656	0.773	0.202	-0.07
VMC2h4	9	0.798	0.698	0.055	0.094
VMC2c3	9	0.721	0.830	0.198	-0.063
VVIh54	9	0.720	0.735	0.184	-0.009
VVIb01	4	0.546	0.603	0.498	-0.036
Toplam	166	14.353	15.122		
Ortalama	8.3	0.717	0.756		

20 lokus itibari ile genetik parametreler değerlendirildiğinde; en yüksek allel sayısına 13 allel ile VVMD27 primerinde, en düşük allel sayısına 4 allel ile ZAG83 ve VVIb01 lokuslarında görülmüştür. Diğer lokuslardaki allel sayıları 6-11 arasında değişmiştir. Ortalama beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho) değeri sırası ile; 0.717 ve 0.756 bulunurken, genel olarak lokuslar itibari ile değer aralıkları He için; 0.474-0.840, Ho için; 0.584-0.962 olarak tespit edilmiştir. Tanımlama olasılığı (pI) değerlerinin tamamı Sefc vd (2001) tarafından belirlenen 0.05 eşik değerinin üzerinde bulunurken, null allel değerleri genel olarak negatif ve sıfıra yakın tespit edilmiştir. Her bir lokusda allel sayılarının oranlarını gösteren frekans değerleri Çizelge 4.4.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Lokuslara ait allel frekansları

	VVS1	Allel Frekansı	VVS2	Allel Frekansı	VVMD5	Allel Frekansı	VVMD7	Allel Frekansı	VVMD21	Allel Frekansı
1	179	0.6886	131	0.0188	221	0.0094	230	0.0094	218	0.0188
2	181	0.0094	133	0.1320	223	0.0754	236	0.2452	224	0.0188
3	183	0.0094	135	0.1132	225	0.0660	240	0.1037	236	0.0094
4	185	0.0566	137	0.1226	229	0.0188	244	0.1792	238	0.0094
5	187	0.2169	139	0.0188	231	0.0754	246	0.3396	242	0.4056
6	189	0.0188	141	0.0283	233	0.3018	248	0.0188	246	0.0094
7			143	0.3018	235	0.1132	250	0.0471	248	0.3018
8			145	0.0849	237	0.2641	256	0.0094	254	0.2075
9			149	0.0188	243	0.0754	260	0.0471	256	0.0094
10			151	0.1037					264	0.0094
11			155	0.0566						

Çizelge 4.4. devam

	VVMD24	Allel Frekansı	VVMD27	Allel Frekansı	VVMD28	Allel Frekansı	VVMD31	Allel Frekansı	ZAG21	Allel Frekansı
1	205	0.1415	175	0.1509	217	0.0377	195	0.0188	189	0.2075
2	207	0.4717	179	0.2264	227	0.0094	203	0.0188	199	0.1320
3	211	0.1415	181	0.0849	233	0.1792	205	0.0094	201	0.1037
4	215	0.0188	185	0.0660	235	0.14151	209	0.4245	205	0.5283
5	217	0.1415	189	0.2830	239	0.1037	211	0.3679	211	0.0094
6	221	0.0283	193	0.0188	243	0.1037	213	0.0283	213	0.0188
7	242	0.0094	195	0.0471	247	0.0283	215	0.0566		
8	246	0.0094	207	0.0660	253	0.0094	223	0.0754		
9	248	0.0283	211	0.0188	257	0.4811				
10	256	0.0094	213	0.0094						
			215	0.0094						
			217	0.0094						

Çizelge 4.4. devam

	ZAG47	Allel Frekansı	ZAG62	Allel Frekansı	ZAG64	Allel Frekansı	ZAG79	Allel Frekansı	ZAG83	Allel Frekansı
1	151	0.1603	186	0.0094	134	0.0188	238	0.0377	185	0.4528
2	155	0.2264	188	0.3584	136	0.1792	242	0.1792	187	0.2264
3	157	0.1037	192	0.0377	138	0.0566	244	0.0094	191	0.2641
4	159	0.0377	194	0.0566	140	0.3584	246	0.3867	197	0.0566
5	161	0.3018	200	0.2075	142	0.0566	248	0.0943		
6	165	0.0471	202	0.1037	156	0.3018	250	0.1603		
7	167	0.0094	204	0.2264	160	0.0283	256	0.0377		
8	169	0.0471					258	0.0943		
9	171	0.0660								

Çizelge 4.4. devam

	ZAG112	Allel Frekansı	VMC2H 4	Allel Frekansı	VMC2C3	Allel Frekansı	VVIH54	Allel Frekansı	VVIB01	Allel Frekansı
1	227	0.1132	198	0.1320	159	0.0094	138	0.0283	292	0.5283
2	229	0.0660	200	0.0566	161	0.0094	150	0.0943	296	0.4150
3	231	0.5471	202	0.0849	163	0.2924	158	0.0188	300	0.0188
4	233	0.0283	204	0.0566	167	0.4150	162	0.0660	308	0.0377
5	235	0.0188	206	0.0943	177	0.0849	164	0.4434		
6	237	0.0094	212	0.0471	189	0.0188	166	0.0188		
7	239	0.1509	214	0.3867	191	0.0849	174	0.2547		
8	245	0.0566	218	0.0660	193	0.0094	176	0.0566		
9	259	0.0094	220	0.0754	195	0.0754	178	0.0188		

Lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı veren lokuslardan bazıları VVS1’de: 179, VVIb01’de: 292, ZAG112’de: 231, ZAG21’de: 205 olarak tespit edilmiştir.

53 genotip içerisinde tespit edilen; homonim (aynı isimle adlandırılan fakat genetik olarak birbirinden farklı genotipler), sinonim (farklı isimle adlandırılan fakat genetik olarak birbiri ile aynı genotipler) ve benzer (aynı) (aynı isimle adlandırılan ve genetik olarak aynı genotipler) durumları ve bu çeşitlerin Türkiye genelindeki karşılaştırmaları Çizelge 4.5. Çizelge 4.6. ve Çizelge 4.7.’de sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Araştırma sonucunda tespit edilen homonim çeşitler ve bu çeşitlerin Türkiye genelindeki homonimleri

Homonim Çeşitler	Çeşit adı	Çeşidin Gen Bankası Kodu-Şehir Plaka Kodu	Türkiye geneli homonimleri*
Homonim-1	Büzgülü	360.07	Büzgülü 572.26 ve Büzgülü 738.43 ve Büzgülü 519.42 ve Sık Büzgülü 516.42 ve Siyah Büzgülü 568.26 ve Kara Büzgülü 643.48 - Büzgülü 553.20 - Büzgülü(Sık) 518.42 - Mor Büzgülü 476.50 - Akbüzgülü 826.06 - Akbüzgülü 747.43
	Büzgülü	347.07	
	Gode Büzgülü	613.07	
	Etli Büzgülü	619.07	
Homonim-2	Tilki Kuyruğu	403.07	Tilki Kuyruğu 517.42 - Tilki Kuyruğu 810.39 - Tilki Kuyruğu 133.11 - Tilki Kuyruğu 1057.24 - Tilki Kuyruğu 566.26 - Tilki Kuyruğu 806.41 - Tilki Kuyruğu 533.02 - Tilki Kuyruğu 694.03 - Tilki Kuyruğu 695.03 - Tilki Kuyruğu 207.17 ve Tilki Kuyruğu 177.17 - Tilki Kuyruğu 1043.60 - Tilki Kuyruğu\ Kedi Kuyruğu 336.37 - Kedi Kuyruğu 609.26
	Tilki Kuyruğu	316.33	
Homonim-3	Kara Ahmet Hevengi	250.33	Hevenk 77.01 - Hevenk 688.03 - Hevenk Üzümlü 1137.01 ve Hevenk Üzümlü 11.01 - Hevenk Üzümlü 926.66 - Siyah Hevenk 576.26
	Gök Hevenk\ Göküzüm	284.33	
Homonim-4	Dimrit	252.33	Dimrit 657.32 - Dirmir 938.66 - Dilmir 758.40 - Erdimrit 513.42 - Söbü Dimrit 780.03 - Akdimrit 655.15 - Akdimrit 590.20
	Erkek Dimrit	246.33	
	Şeker Dilmir	281.33	

			- Akdimit 653.4 - Dimrit Ak Üzüm 508.42 - Siyah Dimrit 502.20 - Siyah Dilmit 760.40 - Siyah Dimrit 509.42 - Siyah Dilmit 594.48 - Siyah Dirmit 977.58 - Kırmızı Dimrit 480.50 - Kırmızı Dimrit 819.64 - Dimrit Kızıl Üzüm 515.42 - Erkek Dimrit 466.42 - Nuri Dilmit 278.33 - İstanbul Dimliti 638.48 - Kayasar Dimriti 599.48
--	--	--	---

*ve ifadesi mevcut çeşitlerin Milli koleksiyon içerisinde aynı (benzer) olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.6. Araştırma sonucunda tespit edilen homonim çeşitlerin Türkiye genelindeki sinonimleri

Homonim Çeşitler	Çeşit adı	Çeşidin Gen Bankası Kodu-Şehir Plaka Kodu	Türkiye geneli sinonim
Homonim-1	Gode Büzgülü	613.07	Deve Dişi (Göğ Suaybi) 953.38 - Erkek Üzüm 461.42 - Cafer Üzümü 923.66 - Kuş Yüreği 280.33 - Büzgülü 553.20 - Siyah Dilmit 760.40 - Erkek Dimrit 466.42
	Etli Büzgülü	619.07	
	Dimrit	252.33	Kışniş/Kuş Üzümü 277.33 - Yerli Siyah 459.42

Çizelge 4.7. Araştırma sonucunda tespit edilen sinonim ve benzer(aynı) çeşitler ve bu çeşitlerin Türkiye genelindeki sinonimleri

Sinonim Çeşitler	Çeşit adı	Çeşidin Gen Bankası Kodu-Şehir Plaka Kodu	Türkiye geneli sinonim
Sinonim-1	Recep	314.33	-
	Tarsus Beyazı	254.33	
Sinonim-2	Gode Büzgülü	613.07	Deve Dişi (Göğ Suaybi) 953.38 - Erkek Üzüm 461.42 - Cafer Üzümü 923.66 - Büzgülü 553.20 - Gode Büzgülü 613.07 - Siyah Dilmit 760.40 - Erkek Dimrit 466.42
	Etli Büzgülü	619.07	
	Kuş Yüreği	280.33	

Sinonim-3	Kışniş\Kuş Üzümlü	277.33	Yerli Siyah 459.42
	Dimrit	252.33	
Benzer (Aynı) Çeşitler			
	Topacık\Kır mızı Çubuk	340.33	-
	Topacık\Sık dane	317.33	
	Topacık\Pe mbe Çubuk	343.33	

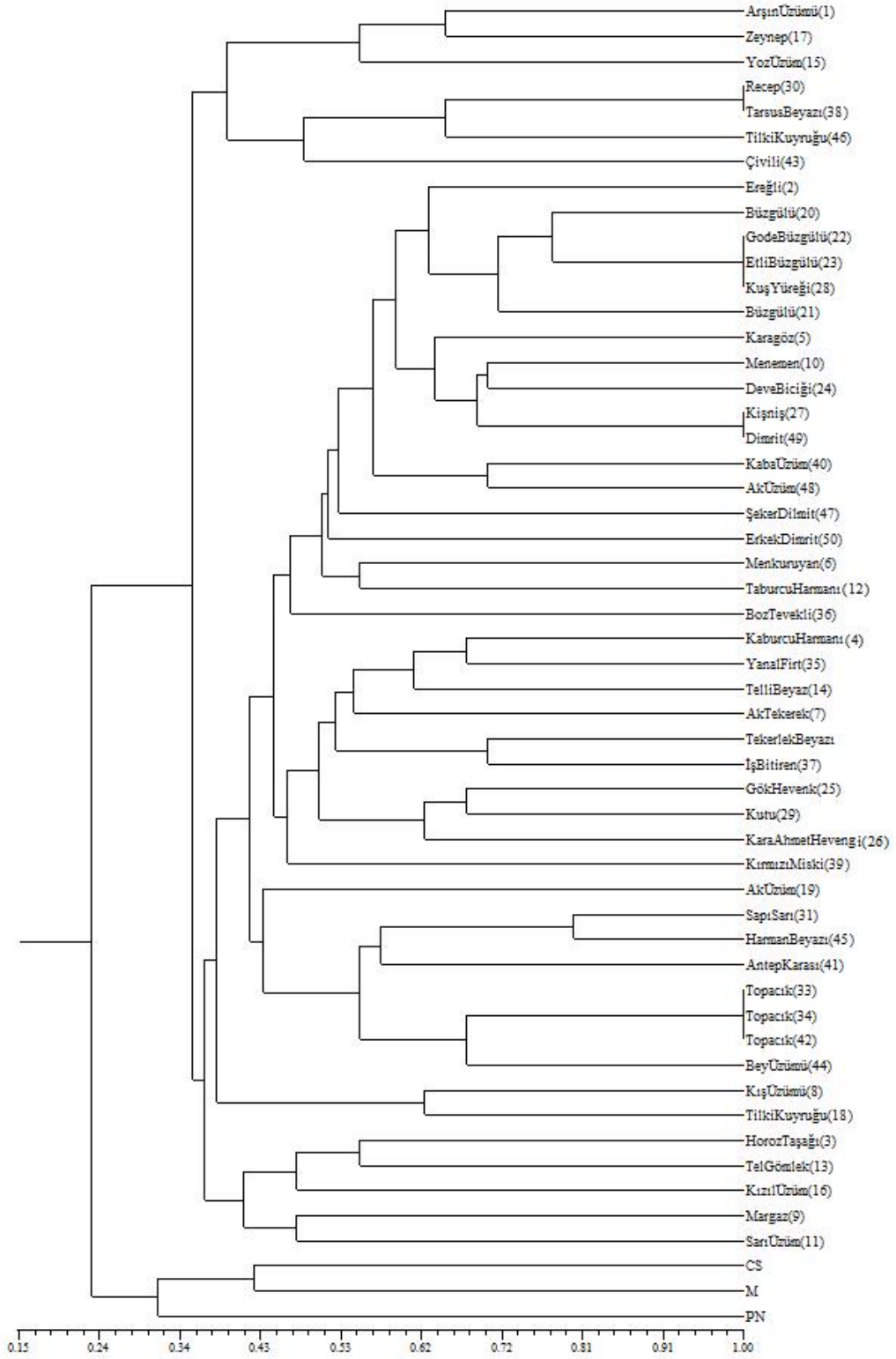
SSR analizleri sonucu, 4 grup homonim, 3 grup sinonim ve 1 grup benzer(aynı) çeşit tespit edilmiştir. Homonim-1 grubunda yer alan büzgülü çeşitlerinin ve homonim 4 grubunda yer alan dimrit çeşitlerinin birbirinden farklı bulunması genetik çeşitliliğin önemli göstergelerinden birisidir. Sinonim ve benzer(aynı) çeşitler incelendiğinde Kuş yüreği (280.33) çeşidi hariç temel olarak aynı ile ait olduğu görülmektedir.

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

Çizelge 4.8. Genetik benzerlik indeksi (Çeşitlerin numaralandırma sırası Çizelge 4.1.'e göre yapılmıştır).

42

4.5. Genetik İlişki Dendogramı



Şekil 4.6. Çeşitlere ait genetik ilişki dendogramı

Çeşitlerde en yüksek benzerlik oranı; %80 ile Harman Beyazı(45)-Sapı Sarı(31) genotipler arasında görülürken, bunu %75 oranı Gode Büzgülü(22)- Büzgülü(20), Etli Büzgülü(23)- Büzgülü(20) ile genotipleri izlemiştir(Çizelge 4.6). Genetik ilişki dendogramı (Şekil 4.8.) ise 2 farklı dallanma gösterip, referans çeşitler tezde kullanılan Antalya ve Mersin çeşitlerinden farklı bir dallanma göstermiştir. Bu çeşitler de kendi aralarında yine iki farklı grup oluşturmuştur. İller bazında çeşitlerin dendogram dağılımı değerlendirildiğinde ise, heterojen bir dağılım olduğu gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. SSR Analizleri

Batı Akdeniz Bölgesi illeri Antalya ve Mersin'e ait 50 genotip ve 3 referans çeşitte dahil olmak üzere 53 genotipte yürütülen bu tez çalışmasında “core set” (VVS2, VVMD5, VVMD27, VVMD31, ZAG62, ZAG79) primerleri de dahil olmak üzere 20 SSR lokusu kullanılmıştır. 20 SSR lokusuna ait allel sayısı toplamda 166 olup, allel ortalaması 8.3 dür. En yüksek allel sayısına 13 allel ile VVMD27 ve 11 allel ile VVS2 lokuslarında, en düşük allel sayısına 4 allel ile ZAG83 ve VVIb01 lokuslarında rastlanmıştır. Elde edilen bu değerler farklı araştırmacıların yaptığı araştırmalarla da benzerlik göstermiştir (Lópes vd 1999, Fatahi vd 2003, Ibanez vd 2003, Vouillamoz vd 2006 ve Şelli vd 2007).

Araştırmada ortalama beklenen heterozigotluk(He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho) değerleri incelendiğinde sırası ile; 0.717 ve 0.756 bulunmuştur. VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD28, ZAG62, ZAG83, VMC2h4 lokuslarında beklenen heterozigotluk gözlenen heterozigotluktan yüksek bulunmakla beraber tanımlama olasılığı(pi) değerlerinin 0.05 eşik değerinden (Sefc vd 2001) yüksek bulunması null allel olasılığını ortadan kaldırmıştır. Yine PI değerleri incelendiğinde en bilgi verici lokuslar -0.025 ve -0.074 değerleri ile sırasıyla VVS2 ve VVMD27 olarak belirlenmiştir.

Her bir allele ait allel frekansı dağılımları önemli diğer parametrelerden biridir. Lokuslar itibari ile frekansı en yüksek olan alleler dikkate alındığında en yüksek allel frekansı veren lokuslardan bazıları VVS1 lokusunda 0.6886 allel frekansı ile 179 allelinde, VVIb01 lokusunda 0.5283 allel frekansı ile 292 allelinde, ZAG112 lokusunda 0.5471 allel frekansı ile 231 allelinde ZAG21 lokusunda 0.5283 allel frekansı ile 205 allelidir. En Düşük allel frekansına ise VVMD28 lokusunda 0.0094 ve 0.0094 allel frekanslarıyla 227 ve 239 allellerinde, VVMD31 lokusunda 0.0094 allel frekansı ile 205 allelinde, ZAG21 lokusunda 0.0094 allel frekansı ile 211 allelinde rastlanmıştır.

5.2. Genotip-SSR İlişkilendirmeleri

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

Bu açıdan araştırma sonucumuz değerlendirildiğinde; 4 homonim grup (11 çeşit) ile karşılaştırılması tez konusu olan bu illerdeki gen kaynaklarının çeşitliliğini göstermektedir. Homonim 1 grubunda yer alan Büzgülü çeşitleri, Türkiye genelindeki üzüm çeşitleri ile birlikte değerlendirildiğinde bu çeşitlerin 6'sı sinonim 11 büzgülü çeşidi ile homonim olduğu görülmüştür. Yine aynı şekilde Homonim 2 grubunda yer alan Tilki Kuyruğu çeşitleri Türkiye genelinde 2'si sinonim 14 Tilki Kuyruğu çeşidi ile homonim 3 grubunda yer alan Hevenk üzüm çeşitleri Türkiye genelinde 2'si sinonim 6 Hevenk çeşidi ile ve homonim 4 grubunda yer alan Dimrit üzüm çeşitleri Türkiye genelinde 21 Dimrit çeşidi homonim özellik göstermektedir. Homonim çeşitler Türkiye geneli sinonim özellik açısından incelendiğinde Homonim 1 grubunda yer alan Gode Büzgülü (613.07) ve Etli Büzgülü(619.07) çeşitlerinin Deve Dişi (Göğ Suaybi) (953.38), Erkek Üzüm (461.42), Cafer Üzümlü (923.66), Kuş Yüreği (280.33), Büzgülü (553.20), Siyah Dilmir (760.40), Erkek Dimrit (466.42) çeşitleri ile sinonim olduğu tespit edilmiştir. Yine Dimrit(252.33) çeşidinin, Kışniş\Kuş Üzümlü (277.33), Yerli Siyah (459.42) çeşitleri ile sinonim olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma sinonim çeşitler açısından değerlendirildiğinde 3 farklı sinonim grubu (6 çeşit) tespit edilmiştir. Bu gruplardan Sinonim 2 grubunda yer alan Gode Büzgülü (613.07), Etli Büzgülü (619.07), Kuş Yüreği (280.33) çeşitleri yine Türkiye genelinde değerlendirildiğinde Deve Dişi (Göğ Suaybi) (953.38), Erkek Üzüm (461.42), Cafer Üzümlü (923.66), Büzgülü (553.20), Gode Büzgülü (613.07), Siyah Dilmir (760.40), Erkek Dimrit (466.42) çeşitleri ile sinonim özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı şekilde

Sinonim 3 grubunda yer alan Kişniş\Kuş Üzüümü (277.33) ve Dimrit (252.33) çeşitleri ülke genelinde Yerli Siyah (459.42) çeşidi ile sinonim bulunmuştur.

Araştırmada benzer(aynı) çeşitler olarak tespit edilen Topacık\Kırmızı Çubuk (340.33,) Topacık\Sıkdane (317.33), Topacık\Pembe Çubuk (343.33), genotipler ampelografik açıdan karşılaştırılmış olup tane rengi, salkım formu gibi özellikler açısından da benzer(aynı) oldukları tespit edilmiştir.

Çeşitlerde en yüksek benzerlik oranı; %80 ile Harman Beyazı(45)-Sapı Sarı(31) genotipler arasında görülürken, bunu %75 oranı Gode Büzgülü(22)- Büzgülü(20), Etli Büzgülü(23)- Büzgülü(20) ile genotipleri izlemiştir.

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Koleksiyonunda bulunan ve özellikle Adana yöresi üzüm çeşitlerinin SSR'a dayalı genetik analizlerinin yapıldığı Gök Tangolar vd (2009)'a ait sonuçlar tez sonuçları ile karşılaştırıldığında ise; Recep çeşidinin aynı çeşit olabileceği tespit edilmiştir. Tarsus Beyazı, Kızıl üzüm, Antep Karası çeşitlerinin ise genetik olarak farklı çeşitler olduğu belirlenmiştir

Çeşitlerin genetik ilişki dendogramı ise 2 farklı dallanma gösterip, referans çeşitler tezde kullanılan Antalya ve Mersin çeşitlerinden farklı bir dallanma göstermiştir. Bu çeşitler de kendi aralarında yine iki farklı grup oluşturmuştur. İller bazında çeşitlerin dendogram dağılımı değerlendirildiğinde ise, heterojen bir dağılım olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak; Batı Akdeniz Bölgesi illeri Antalya ve Mersine ait üzüm çeşitlerinin en kapsamlı genetik tanımlanmasına yönelik ilk olma niteliği taşıyan tez sonucunda bölge çeşitleri arasında kısmen düşük bir benzerlik oranı belirlenmiştir. Tez bulgularının, bölgede günümüzde ve gelecekte yürütülecek benzer, kapsamlı çalışmalara ve diğer bağcılık araştırmalarına ışık tutacağı ümit edilmektedir. Ayrıca tez sonuçları; ülkesel Milli Koleksiyondaki çeşitlerin daha iyi tanımlanması, milli koleksiyondaki çeşit sayısının düzenlenmesi ve ıslah çalışmaları için önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Akkak, A., Boccacci, P., Lacombe, T. and Botta, R. 2005. Relationships and genetic diversity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) grown in Algeria and in Mediterranean basin. Electronic Forum on Biotechnology in Food and Agriculture, Conference 13. International Workshop, 5- March 2005, Turin, Italy. (Poster).
- Aradhya, M.K., Dangl, G.S., Prins, B.H., Boursiquot, J.M., Walker, M.A., Meredith, C.P. and Simon, C.J. 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. Genet. Res. Camb. 81; 179-192.
- Aras, S., Polat, J.B., Cansaran, D., Söylemezoğlu, G. 2005. RAPD analysis of genetic relations between Buzgulu grape cultivars (*Vitis vinifera*) grown in different parts of Turkey . Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47 (2): 77-82.
- Arroyo-Garcia, R., and Martinez-Zapater, J.M. 2000. Characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci and chloroplast microsatellites in grape *Vitis vinifera* L. Plant & Animal Genomes VIII. Conference. Town & Country Hotel. San Diego, CA.
- Arroyo-Garcia, R., Bolling, L., Ruiz-Garcia, L., Ocete, R., Söylemezoğlu, G., Aras, S., Uzun, İ. and Martinez-Zapater, J.M. 2004. Chloroplasts haplotype distribution in *Vitis vinifera* L. along the Mediterranean basin and the pattern of domestication of wine grapevine cultivars. Plant & Animal Genomes XII. Conference. Town & Country Convention Center. San Diego, CA.
- Arroyo-García, R., Ruiz-García, L., Bolling, L., Ocete, R., López, M.A., Arnold, C., Ergul, A., Söylemezoğlu, G., Uzun, H.I., Cabello, F., Ibáñez, J., Aradhya, M.K., Atanassov, A., Atanassov, I., Balint, S., Cenis, J.L., Costantini, L., Gorislavets, S., Grando, M.S., Klein, B.Y., McGovern, P.E., Merdinoglu, D., Pejic, I., Pelsy, F., Primikiri, N., Risovannaya, V., Roubelakis-Angelakis, K.A., Snoussi, H., Sotiri, P., Tamhankar, S., This, P., Troshin, L., Malpica, J.M., Lefort, F., Martinez-Zapater, J.M. 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms, Molecular Ecology 15 (12) , 3707–3714.

- Bowcock, A. M., A. Ruiz- Linares, J. Tomfohrde, E. Minch, J. R. Kidd, and L. L. Cavalli – Sforza. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*. 368: 455-457.
- Bowers, J. E., Dangl, G.S., Vignani, R. and Meredith, C.P. 1996. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L). *Genome* 39; 628-633.
- Costantini, L., Monaco, A., Vouillamoz, J.F., Forlani, M. and Grando, M.S. 2005. Genetic relationships among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). *Vitis* 44 (1); 25-34.
- Dangl, G.S., Mendum, M.L., Prins, B.H., Walker, A.M., Meredith, C.P. and Simon C.J. 2001. Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: A tool for managing a grape germplasm collection. *Genome* 44; 432-438.
- Ergül. A., 2000. Asmalarda (*Vitis vinifera* L. ctv.) genomik DNA parmak izi analizi ile Moleküler karakterizasyon Ankara Üniversitesi. Fen Bil. Ens, Doktora Tezi, Ankara.
- Ergül, A. Marasalı, B. and Ağaoğlu, Y.S. 2002. Molecular discrimination and identification of some Turkish grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) by RAPD markers. *Vitis* 41 (3);159-160.
- Ergül, A., Kazan, K., Aras, S., Çevik, V., Çelik, H., Söylemezoğlu, G. 2006, AFLP analysis of genetic variation within the two economically important Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) varietal groups. *Genoma*, 49: 467-475.
- Fatahi, R., Ebadi, A., Bassil, N., Mehlenbacher, S.A and Zamani, Z. 2003. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 42 (4); 185-192.
- Fossati, T., Labra, M., Castiglione, S., Failla, O., Scienza, A. and Sala, F. 2001. The use of AFLP and SSR molecular markers to decipher homonyms and synonyms in grapevine cultivars: the case of varietal group known as “Schiave”. *Theor. Appl. Genet.* 102; 200-205.
- Genet. 86; 985-990.

- Gök Tangolar, S., Soydam, S., Bakır, M., Karaağaç, E., Tangolar, S., Ergül, A., 2009. Genetic analysis of grapevine cultivars from the eastern Mediterranean region of Turkey, based on SSR Markers. *Tarım Bilimleri Dergisi*. 15, 1-8.
- Goto-Yamamoto, N., Mouri, H., Azumi, M. and Edwards, K.J. 2006. Development of grape microsatellite markers and mikrosatellite analysis including oriental cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.* 57 (1); 105-108.
- Grando, M.S., Frisinghelli, C. and Stefanini, M. 2000. Genotyping of local grapevine germplasm. *ISHS Acta Horticulturae* 528: VII. International Symposium on Grapevine Genetics and Breeding, May 2000, Montpellier, France.
- Ibañez, J., Andrés, M.T., Molino, A. and Borrego, J. 2003. Genetic study of key Spanish grapevine varieties using microsatellite analysis. *Am. J. Enol. Vitic.* 54 (1); 22-30.
- Karaağaç, E., 2006 Gaziantep ili asma gen potansiyelinin SSR (simple sequence repeats) markörlerle moleküler analizi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri ana bilim dalı, doktora tezi.
- Lefort, F., Lally, M., Thompson, D., Douglas, G.C. 1998. Morfolojical traits microsatellite fingerprinting and genetic relatedness of a stand of elite oaks(*Q. Robur L.*) at Tuallynally, Ireland. *Silvae Genetica* 47, 5-6.
- Litt, M. and Luty, J.A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet.*, 44, 397-401.
- Lópes, M.S., Sefc, K.M., Dias, E.E., Steinkellner, H., Machado, M.L.D. and Machado, A.D. 1999. The use of microsatellites for germplasm management in a Portuguese grapevine collection. *Theor. Appl. Genet.* 99(3-4); 733-739.
- Maletic, E., Sefc, K.M., Steinkellner, H., Kontic, J.K. and Pejic, I. 1999. Genetic characterization of Croatian grapevine cultivars and detection of synonymous cultivars in neighboring regions. *Vitis* 38 (2); 79-83.
- Malossini, U., Grando, M.S., Roncador, I. and Mattivi, F. 2000. Parentage analysis and characterization of some Italian *Vitis vinifera* crosses. *Proc. VIIth IC on Grapevine Genetics and Breeding, Acta Horticulturae*. No: 528; 139-143.

- Martin, J.P., Borrego, J., Cabello, F. and Ortiz, J.M. 2003. Characterization of the Spanish diversity grapevine cultivars using sequence-tagged microsatellite site markers. *Genome* 46; 1-9.
- Martinez, L.E., Cavagnaro, P. F., Masuelli, R. W., Zuniga, M., 2006. SSR-based assessment of genetic diversity in Sout American *Vitis vinifera* varieties. *Plant Sci.* 170. 1036-1044.
- Merdinoglu, D., Butterlin, G., Baur, C., Balthazard, J., Bouquet, A. and Boursiquot, J.M. 2000. Comparison of RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for genetic diversity analysis in *Vitis vinifera* L.. *Acta Horticulturae*, 528; 193-197.
- Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D.B., Feldman, M. and Cavalli-Sforza, L.L. 1995. Microsat (version 1.4d): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data. Stanford. California, University of Stanford.
- Núñez, Y., Fresno, J., Torres, V., Ponz, F. and Gallego, F.J. 2004. Practical use of microsatellite markers to manage *Vitis vinifera* germplasm: Molecular identification of grapevine samples collecte blindly in D.O. “El Bierzo” (Spain). *Journal of Horticultural Science&Biotechnology*. 79 (3); 437-440.
- Paetkau D., Calvert W., Stirling I. and Strobeck C., 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.* 4; 347-354.
- Perret, M., Arnold, C., Gobat, J.M. and Küpfer, P. 2000. Relationships and genetic diversity of wild and cultivated grapevines (*Vitis vinifera* L.) in Central Europe based on microsatellite markers. *Acta Hort.* 528; 155-159.
- Reale, S., Pilla, F. and Angiolillo, A. 2002. Molecular characterization of an autochthonous grape cultivar of Central Italy. *Proceedings of the XLVI Italian Society of Agricultural Genetics-SIGA Annual Congress Giardini Naxos, Italy, 18-21 September.*
- Regner, F., Staldbauer, A., Eisenheld, C. and Kaserer, H. 2000. Consideration about the evolution of grapevine and the role of Traminer. *Proc. VIIth Int. Symp. on Grapevine Genetics and Breeding. Acta Hort.* 528; 177-179.

- Regner, F., Staldbauer, A. and Eisenheld, C. 2001. Molecular markers for genotyping grapevine and for identifying clones of traditional varieties. Proc. Int. Symp. on Molecular Markers. Acta Hort. 546; 331-342.
- Sánchez-Escribano, E.M., Martín, J.P., Carreño, J. and Cenis, J.L. 1999. Use of sequence-tagged microsatellite site markers for characterizing table grape cultivars. Genome 42; 87-93.
- Schlotterer, C. and Tautz, D. 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA. Nucleic Acids Res: 20, 211-215.
- Schneider, A., Carra, A., Akkac, A., This, P., Laucau, V. and Botta, R. 2001. Verifying synonymies between grape cultivars from France and Northwestern Italy using molecular markers. Vitis 40 (4); 197-203.
- Sefc, K.M., Regner, F., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998a. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. Vitis 37 (1); 15-20.
- Sefc, K.M., Guggenberger, S., Regner, F., Lexer, C., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998b. Genetic analysis of grape berries and raisins using microsatellite markers. Vitis 37 (3); 123-125.
- Sefc, K.M., Regner, F., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998c. Monitoring der genetischen Variabilität und Pedigreestudien bei Weinreben, Bericht über die 49. Arbeitstagung der Vereinigung Österreichischer Pflanzenzüchter, pp 71-73.
- Sefc, K.M., Lefort, F., Grando, M.S., Scott, K.D., Steinkellner, H. and Thomas, M.R. 2001. Microsatellite markers for grapevine: A state of the art. In "Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine". Roubelakis-Angelakis K.A. ed., 1-29, Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- Şelli, F., Bakır, M., İnan, G., Aygün, H., Boz, Y., Yaşasın, A.S., Özer, C., Akman, B., Söylemezoğlu, G., Kazan, k., Ergül, A., Simple sequence repeat-based assessment of genetic diversity in Dimrit and Gemre grapevine accessions from Turkey, Vitis 46 (4), 182-187 (2007).
- Shidfar, M. 2008. Eskişehir ve Kayseri İlleri Asma Gen Kaynaklarının SSRs(Simple Sequence Repeats)'a Dayalı Genetik Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

- This, P. and Dettweiler, E. 2003. EU-Project Genres CT96 No81: European *Vitis* Database and results regarding the use of a common set of microsatellite markers. Proc. VIIIth IC on Grape. Acta Hort. 603.
- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Crespan, M., Dangl, G.S., Eisenheld, C., Ferreira Monteiro, F., Grando, M.S., Ibanez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhaes, N., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L. and Maul, E. 2004. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. Theoretical and Applied Genetics, 109, 1448–1458.
- Thomas, M.R. and Scott, N.S. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). Theor. Appl.
- Thomas, M.R., Cain, P. and Scott, N.S. 1994. DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. Plant Mol. Biol. 25; 939-949.
- Ulavonsky, S., Gogorcena, Y., Martinez de Toda and Ortiz, J. M. 2002. Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). Scientia Horticulturae 92; 241-254.
- Upadhyay. U., Mamtha D. S., Reddy S., Deokar. K., Karibasappa, G.S., AFLP and SSR marker analysis of grape rootstock in Indian germplasm, National Reasearch Centre for Grapes, Manjari Farm, Pune, India 2007.
- Vignani, R., Bowers, J.E. and Meredith, C.P. 1996. Mikrosatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinifera* “Sangiovese”. Scientia Horticulturae 65; 163-169.
- Vouillamoz J.F., Grando, M.S., Ergül, A., Ağaoğlu, Y.S., Tevzadze, G., Meredith, C.P. and McGovern, P. 2003. “Is Transcaucasia the cradle of viticulture?” DNA might provide an answer”. Communication for the III. Symp. of the International Association of History and Civilization of the Vine and the Wine, Funchal (Madeira) October 5-8, 2003.
- Vouillamoz J.F., Mc Govern, P.E., Ergül, A., Söylemezoğlu, G., Tevzadze, G., Meredith, C.P. and Grando, M.S. 2006. Genetic characterization and relationships of

traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. Plant Genetic Resources 4(2); 144-158.

Wagner, H. W., Sefc, K. M., 1999. Identity 1.0. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Science, Vienna.

Yıldırım F., 2008. Ankara ve Çankırı İlleri Ait Asma Gen Kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a Dayalı Genetik Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

Yüksel C., 2008. Manisa, İzmir, Aydın, Muğla ve Kütahya İllerine ait Asma Gen Kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a Dayalı Genetik Karakterizasyonu, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Temel Biyoteknoloji, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

Zoghalmi, N., Riahi, L., Laucou, V., Lacombe, T., Mliki, A., Ghorbel, A., This, P., 2009. Origin and genetic diversity of Tunisian grapes as revealed by microsatellite markers. Sci. Hortic.120, 479-486.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Şirin Aslantaş

Doğum Yeri : Kayseri

Doğum Tarihi : 15.07.1981

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise :Y.D.A. İncirli Lisesi (1995-1999)

Lisans :Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Eskişehir (2000-2006)

Yüksek Lisans :Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü- Temel Biyoteknoloji (2007-)