

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**EKONOMİK ÖNEME SAHİP BAZI ÜZÜM ÇEŞİTLERİ, AMERİKAN ASMA
ANAÇLARI İLE BUNLARA AİT KLONLARIN AFLP'YE DAYALI
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Funda YILMAZ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2017**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Funda YILMAZ tarafından hazırlanan “**Ekonomik Öneme Sahip Bazı Üzüm Çeşitleri, Amerikan Asma Anaçları İle Bunlara Ait Klonların AFLP’ye Dayalı Moleküler Karakterizasyonu**” adlı tez çalışması 24/02/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği /oy çokluğu ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU



Jüri Üyeleri:

Başkan: Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU
Ankara Üniversitesi / Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Ali ERGÜL
Ankara Üniversitesi / Biyoteknoloji Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Murat AKKURT
Ankara Üniversitesi / Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı



Üye : Yrd. Doç. Dr. Atilla ÇAKIR
Bingöl Üniversitesi / Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı



Üye : Yrd. Doç. Dr. Adem YAĞCI
Gaziosmanpaşa Üniversitesi / Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Atila YETİŞEMİYEN
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

24 Şubat 2017



Funda YILMAZ

ÖZET

Doktora Tezi

EKONOMİK ÖNEME SAHİP BAZI ÜZÜM ÇEŞİTLERİ, AMERİKAN ASMA ANAÇLARI İLE BUNLARA AİT KLONLARIN AFLP'YE DAYALI MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Funda YILMAZ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışmanı: Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

Asma çeşitlerinin tanımlanmasında başlıca sorun *Vitis* cinsindeki büyük morfolojik ve genetik değişkenlik olup bu durum karışıklık ve belirsizliklere de yol açmaktadır. Bu çalışmada, Türkiye’de klon seleksiyonu yapılmış bazı üzüm çeşitleri ve Amerikan asma anaçları ile bunlara ait klonlar ve referans çeşitler de dâhil olmak üzere toplam 154 birey AFLP tekniği ile tanımlanmıştır. Bu teknikte özellikle, restriksiyon enzimleri (EcoRI/MseI) ve kesim bölgelerine yönelik ikili (di) selektif primerler (ESEL32-MSEL2, ESEL32-MSEL6, ESEL32-MSEL7, AFLPC-MSEL6, AFLPC-MSEL7, AFLPD-MSEL7, AFLPD-MSEL2, ESEL22-MSEL2, ESEL22-MSEL6, ESEL22-MSEL7) kullanılmıştır. Sonuçta polimorfizm oranı %87,8 olarak bulunmuştur. Klonlar ve genotipler arasındaki benzerlik oranlarının %99 ile %39 arasında değiştiği gözlenmiştir. Farklı genotipler arasındaki en yüksek benzerlik oranı %84 ile Bilecik İri Karası ve Kozak Siyahı 198, en düşük benzerlik oranı %39 ile Hafızali ve Siyah Razakı genotiplerinde görülmüştür. Klonlar arasındaki en yüksek benzerlik oranı ise %99 ile Karaerik 15 ve Karaerik 30’da görülmüştür. Bu tez çalışması ile klonal polimorfizm sağlanmıştır. Moleküler filogenetikteki tekniksel ilerlemeler (SNP: Single Nucleotide Polymorphism-Tek Nükleotid Polimorfizmi), mevcut materyalin klonal teyitlerinde ileriye yönelik katkılar sağlayacaktır.

Şubat 2017, 104 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bağcılık, *Vitis vinifera* L., Üzüm, Klon, Anaç, AFLP, Türkiye.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF ECONOMICALLY IMPORTANT SOME GRAPE VARIETIES, ROOTSTOCKS AND THEIR CLONES BASED ON AFLP MARKERS

Funda YILMAZ

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

Supervisor: Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

The major problem in defining grape varieties is the huge morphological and genetic variability in the genus *Vitis*, which also leads to confusion and uncertainty. In this study, a total of 154 individuals were identified with AFLP technique, including grape varieties selected in Turkey and grapevines and American rootstocks and their clones and known varieties as central. In this technique, restriction enzymes (EcoRI / MseI) and double (di) selective primers for cutting regions (ESEL32-MSEL2, ESEL32-MSEL6, ESEL32-MSEL7, AFLPC- MSEL6, AFLPC- MSEL7, AFLPD- MSEL7, AFLPD- ESEL22-MSEL2, ESEL22-MSEL6, ESEL22-MSEL7) are used. Polymorphism rate was found as 87,8%. It was observed that the similarity rates between genotypes and clones varied between 99% and 39%. The highest similarity rate among the different genotypes was found in the genotypes of Bilecik İri Karası and Kozak Siyahı with 84%. The lowest similarity rate was found in the genotypes of Hafızali and Siyah Razakı with 39%. The highest similarity rate among the clones was found in clones 15 and 30 of the Karaerik variety with 99%. In this study, clonal polymorphism was provided. Technical progress in molecular phylogenetics (SNP: Single Nucleotide Polymorphism) will provide prospective contributions in clonal assays of the present material.

February 2017, 104 pages

Key Words: Viticulture, *Vitis vinifera* L., Grape, Clone, Rootstock, AFLP, Turkey.

TEŞEKKÜR

Lisans, Yüksek Lisans ve Doktora öğrenimimde desteğini her açıdan hissettiğim, yoğun iş yaşantısına rağmen yüksek enerjisiyle örnek aldığım, mesleğini çok seven, anlayışlı bir akademisyen ve yönetici olan, bilgi birikiminin yanı sıra insani değerleri ile de geleceğe umutla bakmamı sağlayan saygıdeğer hocam Tez Danışmanım Sayın Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ziraat Fakültesi Dekanı),

Bitki biyoteknolojisi alanında ulusal ve uluslararası platformlarda yapmış olduğu değerli çalışmalarla bilime ve sektöre olan katkısını kanıtlayan, tüm akademik çalışmalarım süresince motivasyonumu artıran, bilgi ve tecrübesiyle her zaman ışık tutan, yüksek lisans ve doktora çalışmalarımındaki teknikleri büyük bir özveriyle öğreten, üzerimde çok büyük emeği olan kıymetli hocam ve aynı zamanda tez izleme komitesi üyelerinden Sayın Prof. Dr. Ali ERGÜL'e (Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü),

Pozitif bakış açısıyla çalışmama destek veren ve yönlendiren tez izleme komitesi üyelerinden Sayın Doç. Dr. Murat AKKURT'a (Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı),

Tezime değerli fikir ve önerileri ile katkı sağlayan tez savunma jüri üyelerim Sayın Yrd. Doç. Dr. Atilla ÇAKIR'a (Bingöl Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü) ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Adem YAĞCI'ya (Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü),

Çalışmamda kullandığım bitkisel materyalin temininde ve gerekli bilgilere ulaşmamda kolaylık sağlayan başta Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü olmak üzere, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü'ne, Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ve Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü'ne,

Doktora çalışmam sırasında ihtiyaç duyduğum her alanda olanaklarından yararlandığım Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü'ne ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne,

Hayatımın her evresinde sevgi ve desteğini üzerimden eksik etmeyen, hoşgörü ve anlayışıyla beni rahatlatan ve motive eden, en zor zamanlarımda yolumu aydınlatan canım aileme, kıymetli nişanlım Tahirhan BAYDU'ya ve biricik annem Nermin YILMAZ'a,

en içten teşekkürlerimi sunarım.

Funda YILMAZ

Ankara, Şubat 2017

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2.KURAMSAL TEMELLER.....	6
2.1 Bitkisel Üretimde Bağcılık.....	6
2.1.1 Dünyada bağcılık.....	7
2.1.2 Kalkınma Planları ve biyoteknoloji ile bağcılık	9
2.1.2.1 Türkiye’de bağcılık	11
2.2 Asma Islahı ve Çeşit Geliştirme	14
2.2.1 Islah yöntemleri.....	25
2.3 Moleküler Markörler.....	31
2.3.1 Morfolojik markörler	32
2.3.2 Protein markörler	33
2.3.3 DNA markörler	34
2.3.3.1 Hibridizasyona dayalı DNA markörler.....	34
2.3.3.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)’a dayalı DNA markörler	35
2.3.4 AFLP tekniğinin bağcılıkta kullanım alanları	42
2.3.4.1 Asmada AFLP araştırmaları	42
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	48
3.1 Materyal.....	48
3.2 Yöntem	50
3.2.1 DNA izolasyonu	50
3.2.2 AFLP reaksiyonu	52
3.2.2.1 Çalışmada kullanılan AFLP primerleri.....	56
3.2.3 Kapiller Elektrophorez	57

3.2.4 Genetik analizler	57
4.ARAŞTIRMA BULGULARI.....	58
4.1 DNA İzolasyonu.....	58
4.2 AFLP Reaksiyonları	64
4.3 Genetik Bulgular	73
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	85
KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ.....	103



SİMGELER DİZİNİ

BA	Besin Ortamı
BAE	Bağcılık Araştırma Enstitüsü
bp	Base pair (Baz çifti)
CTAB	Hekzadesil Trimetil-Amonyum Bromür
dNTP	Deoksi-Nükleotit Trifosfat
EDTA	Etilen D aimine Tetra Asetik Asit
H _e	Expected heterozygosity (Beklenen heterozigotluk)
H _o	Observed heterozygosity (Gözlenen heterozigotluk)
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
mM	Milimol
µl	Mikrolitre
M	Mol
n	The number of alleles (Allel sayısı)
PEG	Polietilen Glikol
PI	Probability of Identity (Tespit olasılığı)
PVP	Polyvinylpyrrolidone
r	The estimated frequency of null allele (Tahmin edilen sessiz allel frekansı)
RNase	Ribonükleaz
rpm	Rounds per minute (Dakikadaki dönüş sayısı)
TA	Titre Edilebilir Asit
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA Çözeltisi
TE	Tris-EDTA Çözeltisi
UV	Ultraviyole

Kısaltmalar

ABKMAE	Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı)
cpSSR	Chloroplast Simple Sequence Repeats (Kloroplast Basit Dizi Tekrarı)

COP	Conference of the Parties (Taraflar Konferansı)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ISSR	Inter-Simple Sequence Repeat (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)
KB	T.C. Kalkınma Bakanlığı
MAS (=MDS)	Marker Assisted Selection (Marker Yardımıyla Seleksiyon)
PCR	Polimerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş Parça Uzunluğu Polimorfizmi)
SLS	Sample Loading Solution (Örnek Yükleme Solüsyonu)
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarı)
STR	Short Tandem Repeats (Kısa Parça Tekrarı)
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UNCCD	United Nations Convention to Combat Desertification (Birleşmiş Milletler Çölleşme ile Mücadele Sözleşmesi)
USDA	United States Department of Agriculture (Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 AFLP tekniğinin şematik gösterimi (Çakır 2011)	40
Şekil 2.2 AFLP tekniği aşamalarının genel görünümü	41
Şekil 4.1 % 1'lik agaroz jelde koşturulan örnek DNA görüntüleri.....	63
Şekil 4.2 Kalecik Karası 9,12ve 15 No'lu klonları	63
Şekil 4.3 Kalecik Karası Klonları (9-12-15) ve Pinot Noir'a ait DNA'ların %1'lik agaroz jel görüntüsü.....	64
Şekil 4.4 Preselektif PCR'ı gerçekleştirilen örneklerin %1,5'lik agaroz jel ortamında görüntüsü	65
Şekil 4.5 Esel32-MSEL7 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü.....	67
Şekil 4.6 Esel32-MSEL7 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez büyütülmüş görüntüsü.....	68
Şekil 4.7 AFLPd-MSEL2 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü.....	68
Şekil 4.8 Esel32-MSEL2 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü.....	69
Şekil 4.9 AFLPd-MSEL2 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü.....	69
Şekil 4.10 AFLPd-MSEL2 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez büyütülmüş görüntüsü	70
Şekil 4.11 AFLPd-MSEL7 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü.....	70
Şekil 4.12 AFLPc-MSEL6 primer kombinasyonu büyütülmüş kapilleri elektroforez görüntüsü	71
Şekil 4.13 ESEL22-MSEL6 primer kombinasyonu büyütülmüş kapilleri elektroforez görüntüsü	71
Şekil 4.14 ESEL22-MSEL6 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü	72
Şekil 4.15 AFLPc-MSEL7 primer kombinasyonu büyütülmüş kapilleri elektroforez görüntüsü	72
Şekil 4.16 AFLP piklerinin 1 (var) ve 0 (yok) şeklinde skorlanması örneği	74
Şekil 4.17 Çeşitlere ait AFLP genetik ilişki dendogramı.....	84

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Dünyada sofralık üzüm üretimi ülkeler bazında (milyon ton).....	8
Çizelge 2.2 Dünyada kuru üzüm üretimi ülkeler bazında (milyon ton).....	9
Çizelge 2.3 Türkiye’de üzüm üretim alan ve miktarları	13
Çizelge 2.3 Türkiye’de ıslah çalışmaları ile geliştirilmiş sofralık üzüm çeşitleri.....	20
Çizelge 2.4 Dünyaca kabul görmüş sofralık melez üzüm çeşitleri	21
Çizelge 2.5 TBAE tarafından 2016 yılında tescil edilen sofralık çeşitler.....	22
Çizelge 2.6 Bağcılık araştırmaları ülkesel projesi klon seleksiyonu çalışmaları programı	28
Çizelge 2.7 Seçilen klonlar ve üstün nitelikleri	30
Çizelge 2.8 Klon seleksiyon çalışmaları devam eden çeşitler	31
Çizelge 2.9 Amerikan asma anaçlarında klon seleksiyonu çalışmaları	31
Çizelge 2.10 “AT” tekrarlarına ait 3 farklı allelin genom boyunca dağılımı ve görünümü	38
Çizelge 3.1 Klon seleksiyonu yapılmış üzüm çeşitleri, anaçlar ile bu çeşit ve anaçlara ait klonlar	48
Çizelge 4.2 AFLP Primer kombinasyonları ve dizileri.....	66
Çizelge 4.3 Karaerik çeşit,ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	75
Çizelge 4.4 Osmanca çeşit,ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	75
Çizelge 4.5 Yapıncak çeşit,ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları.....	75
Çizelge 4.6 Ada Karası çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	76
Çizelge 4.7 Kozak Beyazı çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları.....	76
Çizelge 4.8 Semillion çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları.....	76
Çizelge 4.9 Clairette çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	76
Çizelge 4.10 Kara Sakız çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	77
Çizelge 4.11 Hafızali çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	77

Çizelge 4.12 Hamburg Misketi çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları.....	77
Çizelge 4.13 Gamay çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları.....	78
Çizelge 4.14 Papaz Karası çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	78
Çizelge 4.15 Cinsout çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları.....	78
Çizelge 4.16 Kozak Siyahı çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	78
Çizelge 4.17 Çavuş çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	79
Çizelge 4.18 Yuvarlak Çekirdeksiz çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	79
Çizelge 4.19 İpek (Pek) Üzümlü çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları.....	79
Çizelge 4.20 Pembe Gemre çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	79
Çizelge 4.21 Çalkarası çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	80
Çizelge 4.22 Cardinal çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	80
Çizelge 4.23 41B anaç ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	80
Çizelge 4.24 420 A anaç ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	80
Çizelge 4.25 LOT anaç ve klonuna ait AFLP benzerlik oranları.....	80
Çizelge 4.26 1103 P klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	81
Çizelge 4.27 R110 anaç ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	81
Çizelge 4.28 Kalecik Karası klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	81
Çizelge 4.29 Müşküle çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	81
Çizelge 4.30 Erenköy Beyazı çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları.....	81
Çizelge 4.31 Razakı çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları	82

1. GİRİŞ

Binlerce yıllık farklı döngülere sahip olan dünya üzerinde insan kaynaklı etkiler de hergeçen gün artmaktadır. Günümüzde Birleşmiş Milletler Nüfus Fonu (United Nations Population Fund-UNPFA)'nın verilerine göre 7,4 milyar kişiyi aşan dünya nüfusunun, 2100 yılında 11,2 milyar kişiye ulaşması öngörülmektedir. Yine Birleşmiş Milletler'in kaynaklarına göre artan nüfusun yeterli olarak beslenebilmesi için önümüzdeki 50 yıl içerisinde mevcut üretimin üç katı kadar daha üretim yapılması gerekmektedir. Bu kapsamda, Milenyum Kalkınma Hedeflerinde ve Ulusal Kalkınma Planları'nda öne çıkan arazi tahribatının önlenmesi ve tarım arazilerinin korunması hususları büyük önem taşımaktadır. Söz konusu arazi tahribatlarının önüne geçilmemesi, gelecekte iklim değişikliği ile beraber sadece ekonomik alanda değil sosyal alanda da büyük problemlerin ortaya çıkmasına sebep olacaktır. Bu doğrultuda, 2015 yılında Türkiye'de gerçekleştirilen UNCCD COP 12'de arazi tahribatının dengelenmesi yaklaşımı öne çıkmış ve bu yaklaşıma yönelik hedeflerin oluşturulması yönünde kararlar alınmıştır.

Uluslararası Gıda Politikaları Araştırma Enstitüsü (International Food Policy Research Institute-IFPRI) tarafından yayımlanan 2016 Küresel Açlık İndeksi (Global Hunger Index-GHI)'ne göre Sahra Altı Afrika ve Güney Asya'da ciddi seviyede, Doğu ve Güneydoğu Asya, Kuzey Afrika, Latin Amerika ve Doğu Avrupa'da orta seviyede açlık görülmekte olup dünyada açlık oranı ciddiyetini korumaya devam etmektedir. Hızlı nüfus artışının beraberinde getirdiği sorunlar sadece yeterli, dengeli ve sağlıklı olarak beslenme olmamakla birlikte bir diğer önemli sorun da ekonomik faaliyetlerin artması sonucunda doğal çevrenin zarar görmesidir. Günümüzde stratejik alanlar olarak tanımlanan tarım-gıda, yakıt ve finansman tüm hükümetleri ve uluslararası kuruluşları üretim ve dağıtım konularında kullanılan yöntemler açısından yeniden düşünmeye yönlendirmektedir.

Mevcut beslenme sorununun giderilmesi amacıyla ekilebilir alanların genişletilmesinden ziyade birim alandan alınan ürün miktarının artırılması hususu önemini korumaktadır. Bu nedenle, günümüze kadar uygulanan klasik ıslah yöntemleri sayesinde bitkisel ürünlerin kalite ve miktarında önemli ölçüde gelişmeler

kaydedilmiştir. Ancak, söz konusu ıslah yöntemleri ile sonuçlar uzun yıllar süren çalışmalar neticesinde elde edilmektedir. Ekonomik değeri yüksek olan tarım ürünlerinin hem üretim miktarını hem de kalitesini artırmak amacıyla uygulanan klasik ıslah yöntemlerinin geliştirilerek iyileştirilmesi ve daha etkin hale getirilmesi amacıyla ıslahta moleküler yaklaşımların uygulanmaya başlanması ile moleküler genetik alanında yapılan çalışmalar günümüzde “Bitki Biyoteknolojisi” ve “Bitki Genetik Mühendisliği” gibi kavramları ortaya çıkarmıştır. Bu alanda yapılan araştırmaların günden güne artması ve bazı moleküler genetik yöntemleri ile ıslah çalışmalarının birlikte uygulanması sonucunda ise mevcut çalışmaların çok daha kısa bir sürede tamamlanması mümkün olmuştur.

Ülkemizde bitkisel üretimde kaliteyi ve üretimi artırmanın yanı sıra markalaşmayı ve rekabetçiliği teşvik etmeyi sağlamak üzere, kendi sektörlerinde avantajlı bulunan ürünlerde değer zincirlerinin tüm halkalarını içine alacak şekilde kümelenmelerin sağlanması kapsamında, üzüm ve üzüm ürününe dayalı sanayi konularında çalışmalar sürdürülmektedir.

Asma, kökeni milyonlarca yıl öncesine uzanan dünyanın en eski bitkilerinden birisidir. Asmanın en önemli türü olan *Vitis vinifera* L. bir ılıman iklim kuşağı bitkisi olup, en ideal yetiştirme alanını dünyada 30°-40° Kuzey ve Güney enlemleri arasında bulmuştur. Diğer yandan yapılan çalışmalar, bağcılığın Kuzey yarımkürede 11°-53° kuzey enlem dereceleri ve Güney yarımkürede ise 20°-40° güney enlem dereceleri arasında yayıldığını göstermiştir (Oraman 1972, Ağaoğlu 1999). Akdeniz ve Yakınoğu gen merkezlerinin üzerinde yer alan, bağcılık için son derece uygun iklim ve toprak koşullarına sahip olan Anadolu, *Vitis vinifera* L’nın gen merkezi ve kültüre alındığı yöre olarak kabul edilmektedir (Çelik vd 1998).

Türkiye, dünya bağcılığında üretim alanı ve miktarı açısından önemli bir yere sahiptir. Nitekim, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)’nın verilerine göre dünyada yaklaşık 7 milyon (7.155.187) hektar alanda bağcılık yapılmakta olup, toplam yaş üzüm üretim miktarı yaklaşık 77 milyon (77.181.122) ton’dur. (www. fao.org 2016). Türkiye de ise TÜİK verilerine göre üretilen 4 milyon ton üzümün yaklaşık 2 milyon tonunu sofralık üzüm,

1.536 bin tonunu kurutmalık üzüm ve 472 bin tonunu şaraplık üzüm oluşturmaktadır. Diğer yandan, ülkemizde bitkisel üretim için kullanılan 23.763 bin hektar toplam tarım alanının, 435 bin (%1,83) hektarı bağlarla kaplıdır. Bu kapsamda, dünyada bağcılık yapılan alanların % 6,21'ini ülkemiz bağ alanları oluşturmakta olup, dünya yaş üzüm üretiminin de % 5,19'una sahiptir (Anonim 2016a).

Dünyanın en kaliteli kurutmalık, sofralık, şaraplık ve şıralık üzüm çeşitlerinin yetiştirildiği ülkelerden birisi olan Türkiye, bu bağcılık potansiyelinin yanında, zaman içerisinde ortaya çıkmış çeşit, tip ve klondan oluşan zengin bir genetik çeşitliliğe sahiptir. Son dönemde yapılan bazı araştırmaların bulguları da Anadolu'nun *Vitis vinifera* L. türünün çeşitlilik merkezi olduğunu kanıtlamıştır (Arroya-Garcia vd. 2006, Ergül vd. 2006). Buna karşın, söz konusu çeşitliliğin korunması ve tanımlanması yönündeki çalışmaların yetersiz kaldığı görülmektedir. Diğer taraftan, bağcılığın geliştirilmesinde sorun teşkil eden floksera, çeşit-anaç standardizasyonu, sertifikalı fidan üretimi, terbiye şekli-budama, sulama, gübreleme, hastalıklar ile mücadele, hasat, ambalajlama, depolama, kurutma teknikleri ve değerlendirme şekilleri konularında kaydadeğer gelişmeler olsa da anılan hususlar önemini korumaya devam etmektedir.

Bu bağlamda, genetik çeşitliliğin en iyi şekilde değerlendirilmesi diğer bir ifade ile mevcut gen kaynaklarının bilinmesi bağcılığın üretim aşamalarında büyük önem taşımaktadır. Söz konusu gen kaynaklarının değerlendirilme aşamaları ise seleksiyon, koleksiyon, tanımlama, üstün özellikli bireyleri seçme ve değişik amaçlı kullanma aşamalarından oluşmaktadır.

Dettweiler ve Eibach (2003)'a göre dünyada belirlenen 18.500 üzüm çeşidinin yaklaşık %70'i koleksiyonlarda yer almaktadır. Ülkemizde çeşit koleksiyonlarının oluşturulmasına yönelik çalışmalar büyük oranda tamamlanarak Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü bünyesinde 1436 çeşit/tip içeren “Milli Koleksiyon Bağı” kurulmuştur. Söz konusu koleksiyonun DNA düzeyinde tanımlanmasına yönelik olarak, 2006 yılında Mülga Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve TÜBİTAK-KAMAG Kurum Projesi (Proje No: 105G078) kapsamında SSR markörler kullanılarak (20 SSR lokusu) veri tabanları oluşturulmuştur. Diğer taraftan, ülkemizde Manisa Bağcılık Araştırma

Enstitüsü'nde olduğu gibi 100-200 çeşidi içeren koleksiyonlar da geliştirilme aşamasındadır. Ayrıca, Milli Koleksiyon Bağı'nın bir replikasyonunda Manisa'ya kurulmaktadır. Bu kapsamda, günümüze kadar yürütülen seleksiyon ve koleksiyon çalışmalarında önemli aşamalar kaydedilirken, ülkemiz bitki gen kaynaklarının tanımlanması amacı ile DNA düzeyinde yürütülen çalışmaların sınırlı sayıda olduğu ve tanımlama çalışmalarının ağırlıklı olarak türlerin morfolojik özelliklerine dayanan ampelografik tanımlamalar düzeyinde kaldığı görülmektedir.

Klon Seleksiyonu çalışmalarının temelini özellikle doğal tomurcuk mutasyonlarından, viral etmenlerden, mitoz bölünmede DNA eşleşmesi (replikasyonu) sırasındaki kaymalardan veya epistatik etkilerden kaynaklanan kalıcı değişimler oluşturmaktadır (Kester 1983). Nitekim, günümüzde mevcut bağlarda yer alan ve vejetatif olarak çoğaltılan üzüm çeşitlerinde morfolojik özelliklerde bir farklılaşma olmadığı halde farklı verim ve kalite özellikleri gösteren bireylere rastlanmaktadır.

Yüksek bitkilerden olan ve dünyanın en eski bitki türlerinin yer aldığı *Vitis* cinsi içerisinde, türler, çeşitler ve daha küçük gruplar düzeyinde, gerek genetik gerekse ekolojik anlamda önemli bir açılım söz konusudur. Ülkemizde yetiştirilen ve ekonomik öneme sahip olan bir çok çeşitte, klon seleksiyonu çalışmaları tamamlanmış olup, üstün özelliklere sahip klonlar seçilmiştir.

Bu doğrultuda, ülkemiz bağ bölgelerinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan ve bu önemleri sebebiyle popülasyonları içerisindeki farklı genetik tiplerin ortaya konulmasını amaçlayan klon seleksiyonu çalışmalarına konu olmuş bazı önemli üzüm çeşitlerimizden selekte edilmiş tipler ve orjinalleri arasındaki çeşit içi ampelografik farklılık ve benzerliklerin tespitiyle tescil edilerek üretime kazandırılması amaçlanmakta, klon seleksiyonu yapılan çeşitlerimizin ve seçilen klonlarımızın uluslararası normlara uygun tanımlanması ve tescillerine dayanak teşkil eden morfolojik esasa dayalı veri tabanının oluşturulması hedeflenmektedir.

Söz konusu genetik tanımlamaların yapılması bağlamında, günümüzde bilimin en önemli dallarından biri olan modern biyoteknoloji, uygulamada gösterdiği hızlı gelişme

ile önemini her geçen gün artırmaktadır. Bitkide temel uygulama alanlarına bakıldığında ise fonksiyonel genomik, yapısal genomik ve mutagenesis gibi dallanmalar göstermektedir. DNA düzeyindeki farklılıkları değişik hassaslık oranlarında ortaya çıkaran DNA markörler ile bitkilerin karakterizasyonları bu uygulamalar içerisinde önemli bir paya sahiptir. Son yıllarda AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeats) vb. markörler hızlı teknolojilerle kombine edilerek gen kaynaklarının tanımlanması amacıyla kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, ülkemizde klon seleksiyonu yapılmış üzüm çeşitleri ve Amerikan asma anaçları ile bunlara ait klonların DNA düzeyinde high-throughput teknoloji ile tanımlanarak çeşit ve klonlara ait kesin genotip sayılarının belirlenmesi amaçlanmıştır. CEQ-8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter) kapilleri otomatik dizi analizi aleti kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada, referans çeşitler de dâhil olmak üzere toplam 154 birey, AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) tekniği ile tanımlanmıştır.

Bahse konu AFLP tekniğinde özellikle, restriksiyon enzimleri (EcoRI/MseI) ve kesim bölgelerine yönelik ikili (di) selektif primerler kullanılmıştır. Çalışmada ayrıca, ülkemizde ekonomik öneme sahip olan üzüm çeşitlerine ait seçilmiş klonların genetik karakterizasyonlarında, klasik jel elektroforezine göre önemli avantajlara sahip olan otomatik dizi analizi teknolojisinin kullanılması yönüyle de ayrı bir öneme sahiptir.

Çalışmanın sonuçları, birçok klon arasından seçilen gen kaynaklarımızın, ampelografik özelliklere dayalı uluslararası standartlara (IPGRI -International Plant Genetic Resources Institute-Roma) göre tanımlanmalarını destekleyecek olan ve bu güne kadar eksik kalan moleküler düzeydeki karakterizasyonları tamamlamanın yanında, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ve bağlı araştırma enstitülerinde bu gen kaynaklarını koruma, etkin kullanma, tescil vb. faaliyetlerinde güvenilir olma ve özellikle klon bazında daha sonraki çalışmalarda kullanılabilecek kalıcı DNA veri tabanlarının oluşturulmasını sağlama gibi çok önemli katkılar da sağlayacaktır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Bitkisel Üretimde Bağcılık

Kalkınma sürecindeki ülkelerde tarım sektörü milli ekonomi açısından önemini daima en üst düzeyde korumaktadır. Tarım sektörü içerisinde bulunan farklı üretim alanlarının ve üretilen ürünlerin milli ekonomiye kattığı değerlerde değişkenlik arz etmektedir.

Bitkisel üretim sektöründe rekabet gücünün artırılması için verimlilik artışının hedeflenmesi temel önceliktir. Bu kapsamda, katma değeri yüksek ürünlerin yetiştirilmesine öncelik verilmesinin yanı sıra sertifikalı tohumluk fidan üretiminin yaygınlaştırılması, yerel çeşitlerin korunması, biyoteknoloji, ıslah, çeşit geliştirme, etkin piyasa denetimi, Ar-Ge politikalarının geliştirilmesi ve kamu ile özel kesimin etkin işbirliği hususları önemini korumaktadır. 2016 yılında, tahıl üretiminde bir önceki döneme göre yüzde 8,8 azalış beklenirken, yağlı tohumlarda yüzde 3,7, sebze üretiminde yüzde 1,7 ve meyve üretiminde yüzde 6,1 artış olacağı tahmin edilmektedir (KB 2017).

Meyve üretimi içerisinde genellikle en yüksek paya üzüm sahip olmaktadır. Ayrıca, son yıllarda gelişim gösteren organik tarım sektörünün başlangıcında da Türkiye’de 1980’li yıllarda kuru üzüm gibi geleneksel ürünler üretilmeye başlanmış olup gün geçtikçe ihracat potansiyelinde artış gösterdiği bilinmektedir.

Bağcılık, sofralık, kurutmalık, şaraplık ve diğer değerlendirme şekilleri (sirke, pekmez, pestil, reçel, bulama, lokum, meyve suyu, hardaliye, sucuk, köfter, ezme ve diğer mamul ürünler) ile ihracatta önemli bir yere sahiptir. Diğer taraftan, istihdama, toprak muhafazasına, insan sağlığına kattığı değerlerden dolayı ayrı bir öneme sahiptir.

2.1.1 Dünyada bağcılık

Bağcılığın coğrafi dağılımına bakıldığında, kuzeyde 11°-53° güneyde 20°-40° enlemleri arasında hemen hemen tüm kıtalara dağılmış durumda olduğu görülmektedir. Ancak, özellikle 32°-40° güney 34°-51° kuzey enlemleri arasında yoğun olarak kuzey yarımkürede toplanmıştır. FAO istatistiklerine göre Dünyada en büyük bağ alanlarına sahip on ülkeler sırasıyla; İspanya (944.200 ha), Fransa (760.615 ha), Çin (733.000 ha), İtalya (702.100 ha), Türkiye (468.792 ha), ABD (394.848 ha), Arjantin (233.721 ha), İran (220.836 ha), Şili (219.651 ha) ve Avusturalya (146.462 ha)'dır. Üretim miktarı açısından ilk on ülke sırasıyla; Çin (11.650.024 ton), İtalya (8.010.364 ton), ABD (7.744.997 ton), İspanya (7.480.000 ton), Fransa (5.518.371 ton), Türkiye (4.011.409 ton), Şili (3.297.981 ton), Arjantin (2.881.346 ton), İran (2.046.420 ton) ve Avusturalya (1.762.572 ton)'dır. Verim değerlerinde sıralama ise; ABD (1.961 kg/da), Çin (1.589 kg/da), Şili (1.501 kg/da), Arjantin (1.233 kg/da), Avusturalya (1.203 kg/da), İtalya (1.141 kg/da), İran (986 kg/da), Türkiye (856 kg/da), İspanya (792 kg/da) ve Fransa (725 kg/da) şeklindedir (Anonymous 2016a).

Söz konusu veriler incelendiğinde, alan bakımından söz sahibi olan ülkelerin dünya üzüm üretiminin de önemli bir kısmını verdikleri gözlenmektedir. Birim alandan sağlanan verim değerlerinde ise ABD ilk sırada yer alırken İspanya ve Fransa son sıralarda yer almıştır. Hasat edilen alan bakımından ilk sıralarda yer alan Fransa ve İspanya'nın bu verim düşüklüğü nedeniyle diğer üzüm üreticisi ülkeler arasında önemli bir yer edinemediği bilinmektedir.

Dünyada sofralık üzüm üretimi 2014/2015 üretim sezonunda yaklaşık 20 milyon 637 bin ton iken, 2015/2016 sezonunda artış göstererek yaklaşık 20 milyon 961 bin tona ulaşmıştır. Aynı üretim sezonlarında, Güney yarım küre ülkelerinden Brezilya ve Peru'da sofralık üzüm üretiminin arttığı ancak, G. Afrika, Arjantin ve Şili'de üretimde düşüş olduğu gözlemlenmektedir. ABD'de ise az bir artış görülmektedir. ABD'de bir önceki sezona göre 28.348 tonluk bir artış öngörülmektedir.

Çizelge 2.1 Dünyada sofralık üzüm üretimi ülkeler bazında (milyon ton)
(<https://apps.fas.usda.gov> 2016)

Ülkeler	2014/2015	2015/2016
Arjantin	120.000	60.000
Avusturalya	110.000	110.000
Brezilya	1.450.900	1.460.000
Kanada	2.500	2.500
Şili	939,200	840,000
Çin	8.800.000	9.600.000
Avrupa Birliği	1.634.400	1.683.000
Hindistan	2.500.000	2.500.000
Japonya	57.500	57.500
Güney Kore	260.000	260.000
Meksika	246.900	256.000
Peru	500.000	510.000
Rusya	99.300	90.000
Güney Afrika	291.400	283.700
Türkiye	2.350.000	2.005.000
Ukrayna	320.000	260.000
ABD	955.302	983.650
Dünya	20.637.402	20.961.350

Diğer taraftan, USDA verilerine göre dünya kuru üzüm üretimi 2014/2015 üretim sezonunda 1 milyon 251 bin ton iken, 2015/2016 üretim sezonunda azalarak 1 milyon 197 bin tona gerilemiştir. Ancak, 2016/2017 üretim sezonunda tekrar 1 milyon 251 bin ton seviyesine ulaşması beklenmektedir.

Bununla birlikte, USDA'nın tahminlerine göre 2016/2017 sezonunda kuru üzüm üretiminde ABD 315 bin ton ile ilk sırada yer alırken, Türkiye 300 bin tonla ikinci sırada yer almaktadır. Bu iki ülke dünya kuru üzüm üretiminin %50'den fazlasını gerçekleştirmektedir. Sofralık üzüm üretimi ile dünya birincisi olan Çin ise kuru üzüm üretiminde 185 bin ton ile üçüncü sırada yer almaktadır. Kuru üzüm üretiminde iklim koşullarına bağlı olarak artış ya da düşüşler görülebilmektedir. Örneğin, ilkbahar geç donları, yağış rejimindeki farklılıklar, sel olayları ve bilinçsiz uygulamalar nedeni ile kuru üzüm rekoltesinde ciddi kayıplar yaşanabilmektedir.

Çizelge 2.2 Dünyada kuru üzüm üretimi ülkeler bazında (milyon ton)
(<https://apps.fas.usda.gov> 2016)

Ülkeler	2015/2016	2016/2017
Afganistan	33.000	35.000
Arjantin	41.000	40.000
Avustralya	15.000	18.000
Şili	68.000	62.000
Çin	190.000	185.000
Avrupa Birliği	10.000	10.000
İran	139.000	150.000
Meksika	10.000	10.000
Güney Afrika	53.000	53.000
Türkiye	220.000	300.000
ABD	348.087	315.000
Özbekistan	69.800	73.000
Dünya	1.196.887	1.251.000

2.1.2 Kalkınma Planları ve biyoteknoloji ile bağlılık

Türkiye, ekonomik, sosyal ve kültürel alandaki kalkınma politikalarını 1960'lı yıllardan itibaren kalkınma planları çerçevesinde sürdürmektedir. Bu bağlamda, günümüze kadar yapılmış olan on adet Kalkınma Planı mevcuttur. Türkiye'nin Kalkınma Planları incelendiğinde, Bağcılık özelinde "Üçüncü Beş Yıllık Kalkınma Planı (1973-1977)" ve "Dördüncü Beş Yıllık Kalkınma Planı (1979-1983)"larında Bitkisel Üretim ve Meyvecilik Özel İhtisas Komisyon Raporlarının Alt Komisyon Raporu olarak bağcılık konusuna yönelik özel gruplar oluşturulmuştur. Bu doğrultuda, meyve üretiminde özellikle de üzüm üretimindeki gelişmelerin yakından takip edildiği görülmektedir.

Genel anlamda tarımdaki gelişmeyi anılan planlarda belirlenen hedeflerle tutarlı bir şekilde sürdürebilmek için, bitkisel üretimde verimliliğin artırılması, kalitenin yükseltilmesi, tarımda modern teknolojilerin yaygınlaştırılması, mevcut kurumsal yapının düzenlenmesi konuları esas alınmıştır.

Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı (2001-2005)'ndan sonra, genetik mühendisliği ve modern biyoteknoloji konularının daha detaylı bir şekilde ele alındığı bilinse de, bu

konularla ilgili mevcut durum ve gelişmelerin daha önceki plan dönemlerinde de ele alındığı ve sonraki dönemlere kaynak oluşturduğu görülmektedir.

Öyleki, Yedinci Beş Yıllık Kalkınma Planı (1996-2000)'nda, modern biyoteknoloji alanı öncelikli alanlardan biri olarak belirlenmiş ve bu yönde geliştirilecek ulusal politikalara yönelik ilke ve esaslara yer verilmiştir. Söz konusu Plan sürecinde hazırlanan Ulusal Çevre Stratejisi ve Eylem Planı (UÇEP)'nda, ülkemizde biyolojik çeşitliliğin korunması ve sürdürülebilir kullanımı için stratejiler ve öncelikli eylemler belirlenmiştir. Ayrıca, "Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Stratejisi Eylem Planı" da bu süreçte hazırlanmış olup, bahse konu Eylem Planı'nda bitki gen kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımına yönelik olarak uluslararası yükümlülüklerin yerine getirilmesi hususu üzerinde durulmuştur. Yine, bu kapsamda hazırlanan "Bitki Çeşitliliğinin Yerinde Korunması Ulusal Eylem Planı"nda, tarımsal biyoteknolojinin temeli olan Türkiye'nin bitki genetik çeşitliliğinin durumu belirlenmiş olup kısa ve uzun vadede bu çeşitliliğin korunması amacıyla gereken stratejiler tespit edilmiştir. Bu doğrultuda, korunması gereken alanlar belirtilerek bu alanların gen yönetim merkezi olarak ilan edilmesinin gerekliliği ortaya konulmuş olup, Türkiye'de genetik kaynakların yönetimi için yapılması gereken hususlar detaylı olarak belirlenmiştir.

Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı (2001-2005)'nda, modern biyoteknoloji uygulamalarından kaynaklanabilecek olası biyogüvenlik risklerinin en aza indirilmesi için bütüncül bir yaklaşımla yasal, kurumsal ve uygulamaya ilişkin düzenlemeler yapılacağı ifade edilmiştir. Ayrıca, Biyogüvenlik Kanunu'nun çıkarılacağı, Ulusal Biyogüvenlik Kurulu ve Biyoteknoloji Yüksek Kurulu oluşturulacağı ifade edilmiştir. Yanısıra Plan'da Biyogüvenlik hususuna ayrıca değinilmiş olup bu çerçevede "Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Özel İhtisas Komisyonu Raporu" hazırlanmıştır. Söz konusu Rapor kapsamında, dünyadaki ve AB'deki gelişmeler doğrultusunda, Türkiye'de "Ulusal Moleküler Biyoloji, Modern Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Atılım Projesi" adında bir eylem planının hazırlanması tavsiye edilmiş olup öngörülen ulusal stratejinin unsurları; Araştırma Altyapısı, Ar-Ge Çalışmaları, Uygulama ve Ekonomik Yansımalar, Biyogüvenlik ile Toplumun Bilgilendirilmesi ve Tüketici Hakları olarak

belirlenmiştir. Biyogüvenlik başlığı altında ise GDO'lara ilişkin birçok öneri yer almıştır. Rapor'un biyoteknoloji ve biyogüvenlik hususundaki sonucu,

- ✓ Modern biyoteknolojinin gelişmesi, ancak moleküler biyolojide araştırma gücünün gelişmesiyle ve sanayiye uygulanabilir sonuçların elde edilmesiyle mümkündür,
- ✓ Modern biyoteknolojinin toplumsal refaha katkı sağlaması, ancak çalışmaların her aşamasında biyogüvenlik önlemlerinin alınması ile mümkündür

olmak üzere iki temel eksenle özetlenmiştir.

Dokuzuncu Kalkınma Planı (2007-2013)'nda, biyoteknoloji ve nanoteknoloji konularının ileriki yıllarda öne çıkacağı ve öncelikli alanlar olarak destekleneceği ifade edilmiştir¹. Onuncu Kalkınma Planı (2014-2018)'nda, biyoteknolojinin hızlı gelişen alanlar olarak öne çıktığı, nanoteknoloji ve biyoteknoloji alanlarındaki gelişmelerin yeni imkânlar sunmakla birlikte, çevre ve etik boyutlarıyla da gündemde olacağı ifade edilmiştir². Ayrıca, genetiği değiştirilmiş organizma içerenler başta olmak üzere ileri teknoloji kullanılarak üretilmiş ürünlere yönelik biyogüvenlik ölçütlerinin etkin olarak uygulanacağı belirtilmiştir.

Bu çerçevede, modern biyoteknolojinin tarımda gün geçtikçe yaygınlaştığı ve önemini artırdığı ifade edilebilir. Sektörel bazda ise Türkiye'nin dış ticaretinde büyük önem arz eden bağcılık alanında söz konusu çalışmalar artarak devam etmektedir.

¹ DPT (2007-2013):14,82.

² Kalkınma Bakanlığı (2014-2018): 8.

2.1.2.1 Türkiye’de bağcılık

Bağcılık, Türkiye’nin birçok bölgesinde coğrafi konum ve ekolojik faktörler bakımından optimal yetiştirme imkanlarına sahip olup gerek üretim miktarı gerekse üretim alanı açısından Türkiye tarımı ve ekonomisi içerisinde önemli bir yere sahiptir.

Günümüzde yetiştiriciliği yapılan kültür asması (*Vitis vinifera ssp. sativa*) ve yabani (*Vitis vinifera ssp. sylvestris*) asmanın gen merkezi Anadolu’nun Kuzey Doğu bölümünü içine alan Karadeniz ve Hazar denizi arasındaki Kafkasya geçiş bölgesi (Transcaucasia), olarak kabul edilmektedir. Bu bağlamda, çok zengin bir asma gen potansiyeline sahip olan Türkiye mevcut potansiyelinin yanında, zaman içerisinde ortaya çıkmış çeşit, tip ve klondan oluşan zengin bir genetik çeşitliliğe sahiptir. İç Anadolu ve Doğu Anadolu’da yüksekliği 1.500 mm’yi aşan yöreler ile yıllık yağışın 1.200 mm’nin üzerinde olduğu Doğu Karadeniz bölgesi dışında kalan bütün bölgelerde ekonomik anlamda bağcılık yapılabilir (Arroyo-Garcia vd. 2006, Ergül vd. 2006).

Çizelge 2,3’te yer alan TÜİK’in 2016 yılı verilerine göre ülkemiz bağ alanlarının yaklaşık % 46’sinde sofralık üzüm üretimi yapılmaktadır. Üretilen toplam üzümün ise yaklaşık %50’si sofralık üzümdür. Bölgeler bazında sofralık üzüm üretiminde ilk iki sırayı Ege ve Akdeniz Bölgeleri almakta, bunları Güneydoğu ve Ortaküney Bölgeleri izlemektedir (Çelik vd. 2010).

Üretilen üzümün yaklaşık % 38’i ise kurutmalık olarak değerlendirilmektedir. Türkiye’de üretilen kuru üzümün yaklaşık olarak %75’ini çekirdeksiz kuru üzüm oluşturmaktadır. Çekirdeksiz kuru üzüm üretiminin tamamını, Ege Bölgesinde başta Manisa olmak üzere Denizli ve İzmir illerinde hâkim tek çeşit olarak yetiştirilen, Sultani üzümü sağlamaktadır (Çelik vd. 2010).

Çizelge 2.3 Türkiye’de üzüm üretim alan ve miktarları (www.tuik.gov.tr 2016)

	Alan (Dekar)	Üretim (Ton)			
		Toplam	Sofralık	Kurutmalık	Şaraplık
2006	5 138 351	4 000 063	2 060 167	1 495 697	444 199
2007	4 846 097	3 612 781	1 912 539	1 217 950	482 292
2008	4 827 887	3 918 442	1 970 686	1 477 471	470 285
2009	4 790 239	4 264 720	2 256 845	1 531 987	475 888
2010	4 777 856	4 255 000	2 249 530	1 543 962	461 508
2011	4 725 454	4 296 351	2 268 967	1 562 064	465 320
2012	4 622 959	4 234 305	2 219 813	1 613 833	400 659
2013	4 687 922	4 011 409	2 132 602	1 423 578	455 229
2014	4 670 929	4 175 356	2 166 749	1 563 480	445 127
2015	4 619 557	3 650 000	1 891 910	1 334 563	423 527
2016	4 352 269	4 000 000	1 990 604	1 536 862	472 534

Çekirdekli kuru üzüm üretiminde ise ilk sırayı Doğu Akdeniz (Gaziantep ve Kilis) ve Güneydoğu (Adıyaman “Besni ilçesi”, Mardin, Diyarbakır) bölgeleri almaktadır. Bu bölgenin önemli çekirdekli kurutmalık çeşitleri ise; Besni, Rumi, Dımışkı, Kerküs (Beyaz), Sergi Karası ve Horoz Karası’dır (Renkli). İkinci önemli bölge Orta güney tarım bölgesidir. Bu bölgede Nevşehir ve Konya iki önemli üretici il durumundadır. Nevşehir ilinin en önemli çekirdekli kurutmalık çeşidi olan Karadimrit, ilin volkanik tüflerinden oluşan toprak yapısına çok iyi uyum sağlamıştır. Konya ilinde ise Ekşi Kara ve Göğ Üzüm iki önemli yerel çeşittir. Çekirdekli kurutmalık olarak değerlendirilen bir diğer çeşit ise Çal Karası’dır.

Bununla beraber, üretilen 4 milyon ton üzümün yaklaşık %11’i şaraplık olarak üretilmekte olup yerli çeşitlerden ekolojisi Ankara olan Kalecik Karası, ekolojisi Elazığ ve Malatya olan Öküzgözü, ekolojisi Diyarbakır olan Boğazkere önemli kırmızı şaraplık çeşitler arasında yer almaktadır. Beyaz şaraplık çeşitlerden ise Tokat yöresinde Narince, Kapadokya yöresinde ise Emir çeşitleri önemini korumaktadır.

2.2 Asma Islahı ve çeşit Geliştirme

Bitki ıslahının amacı doğada kendiliğinden meydana gelen veya çeşitli yollarla yapay olarak elde edilen kalıtsal varyasyonlardan yararlanarak yetiştiriciliğı yapılan bitkilerin ekonomik değeri lerinin artırılmasıdır. Darwin (1857)'in kendileme etkileri ve evölüsyon teorisi, Mendel (1866)'in kalıtım kuralları, Weissmann (1892)'in kalıtımın genetik esaslarının cinsiyet hücrelerindeki kromozomlarda bulunduğunu ve kromozom sayılarının redüksiyona uğraması ile yavru döl leri de açılmanın görüldüğünü açıklaması, Johannsen (1903)'in arı döl ve mutasyon teorisi, Lineus (1935,1953)'un bitkilerin sınıflandırılmasına ilişkin çalışmaları modern bitki ıslahının temelini oluşturmaktadır (Özgen ve Şehirali 2002).

Bitki ıslahında başarı elde edilebilmesi için öncelikle etkin, doğru ve hızlı bir seleksiyon yapılması gerekmektedir. Bilindiğı üzere, genotip ve çevre etkileşiminden dolayı söz konusu uygulama kolay olmamaktadır. Bu sorunu aşmak için araştırıcılar tarafından markör destekli seleksiyon geliştirilerek uygulamaya konulmuştur.

Ilıman iklim kuşağı bitkisi olmasına rağmen, farklı iklim koşullarına adaptasyon yeteneğı yüksek olan asma, dünya üzerinde geniş bir alanda yayılım göstermesi ile tür ve çeşit zenginliğine sahip olması dolayısıyla da temel taksonomik ve genetik çalışmaların yoğun bir şekilde sürdürüldüğü çok yıllık bir kültür bitkisidir.

Mısır'da bağcılık ile ilgili bulunan belgeler bu kültürün binlerce yıl öncesinden beri var olduğunu kanıtlamaktadır. Hazar Denizi ile Karadeniz arasında doğal olarak yetişen üzümler kültür asması olarak bilinen *V.vinifera L.*'nin atası sayılmaktadır. Buradan Yakın Doğu ve Akdeniz sahillerine ulaşan asmanın daha sonra iç kısımlara götürüldüğü bilinmektedir. Daha sonra, Roma İmparatorluğu zamanında Fransa'nın Rhone River Valley ve Kuzey'de de Rhine ve Moselle vadilerine kadar yayılış göstermiştir. Onbeşinci yüzyılda bağcılık Madeira ve Kanarya adalarında yayılmaya başlamış daha sonra Güney Afrika, Güney Amerika ve Avustralya'ya gitmiştir. Onsekizinci yüzyılın sonlarına doğru ilk olarak şaraplık üzümler Meksika'dan Kaliforniya'ya getirilmiştir (elik vd 1998).

Vitaceae familyası 14 cins ve 1000'den fazla türden oluşmaktadır. Bunlar içerisinde insanlar tarafından tüketime konu olan cins *Vitis*'dir. *Vitis* cinsi iki alt cinse ayrılır: ilki *Muscadinia* ($2n=40$), ikincisi ise *Euvtis* ($2n=38$). *Euvtis* alt cinsi hâlihazırda tükettiğimiz üzüm çeşitlerini içermekte olup bu cinse ait çeşitler arasında melezleme çalışmaları daha kolay yapılabilir. *Muscadinia* ile *Euvtis* türlerine ait çeşitler arasında melezleme yapmak kromozom sayıları dolayısıyla daha zor olmaktadır. Yabani asma iki alt türe ayrılmaktadır. Bunlardan ilki *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* Gmel'in gen merkezini Güney ve Orta Avrupa, Kuzey Batı Afrika, Batı Anadolu ve Filistin oluşturmaktadır. İkincisi ise *Vitis vinifera* ssp. *caucasia* olup, Rusya'nın güneyinde Kafkasya, Anadolu, İran ve Türkmenistan'da yetişmektedir. Bunlardan *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* ormanlarda ağaçlara sarılarak yaşayan iki evcikli bir bitkidir (Fidan 1985, Çelik vd. 1998, Ağaoğlu 1999). Asmanın ilk kültüre alındığı tarihlerden bu yana bağcılık alanında yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda temel amaç kalitesi yüksek ve daha bol ürün elde etmek olmuştur.

Bağcılık kültürüne başlandıktan sonra çekirdekten yetiştirilen omcalarda, fertler arasında büyük farklılık gözlenmesi ve birçoğunun özelliğinin istenilen seviyede olmaması nedeniyle, aralarından sadece iyi özellikte olanların yetiştirilmesi için birtakım yollar aranmıştır. Bu doğrultuda, çelik ve daldırma gibi vejetatif yollarla çoğaltma yöntemleri ortaya çıkmıştır. Asma çelikleri ile yeni bağların kurulması yöntemiyle ve hastalıklardan ari verimli omcaların kullanılması halinde daha iyi sonuçlar alındığı gözlenmiş ve yeni bağ tesis edilirken bu hususa dikkat edilmiştir. İlk yazılı belgelere göre Columella'nın M.Ö. 50 yıllarında iyi omcalardan çubuk alınarak üretimin bu çubuklarla yapılmasını önermesi yukarıdaki görüşü doğrulamaktadır (Fidan 1985, Ağaoğlu 2002).

Asma ıslahı temelde 19'uncu yüzyılın ikinci yarısından itibaren önemini artırmış olup uygulamada sistemli bir yol izlenmeye başlanmıştır. Ancak, 1850'li yıllarda Amerika'dan getirilen çeşitlerle külleme (*Uncinula necator*), Fransa bağlarına bulaştırılmıştır. Söz konusu hastalığın neden olduğu zararı kontrol altına almak amacıyla dayanıklı görülen ve ABD'den getirtilen materyaller ile 1860'lı yıllarda filoksera (*Phylloxera vastatrix radicola*), sonrasında ise mildiyö (*Plasmopara*

viticola) zararlı ve hastalığı da Avrupa'ya giriş yaparak kısa bir zamanda mevcut bağları kullanılamaz duruma getirmeye başlamıştır (Buchanon ve Amos 1992).

İlerleyen zamanda, kimyasal yollarla külleme (*Uncinula necator*) ve mildiyö (*Plasmopara viticola*) hastalıkları ile mücadele etmek mümkün olduğu halde, filoksera zararlısı ile kimyasal olarak mücadele etmenin mümkün olmadığı anlaşılmıştır. Söz konusu zararlının meydana getirdiği tahribat oransal olarak çok yüksek seviyelere ulaşmış ve Avrupa'daki mevcut bağların yaklaşık yüzde 75'i kuruyarak kullanılamaz hale gelmiştir. Bu kapsamda, Filoksera zararlısına karşı çok hassas olan kültür asması *Vitis vinifera* L. ile bağcılığın yapılmasının mümkün olmadığı görülerek, filoksera zararlısının mevcut olduğu yerlerde araştırmacılar tarafından farklı yolların arayışına başlanmıştır. Gelineen noktada, Avrupa'ya ABD'den ithal bazı türler getirilmiştir. Ancak, söz konusu türlerin verim ve kaliteleri istenilen düzeyde olmadığı için bazı lider üreticiler sayesinde aşılama tekniği uygulanmaya başlanmıştır (Ağaoğlu vd 1998, Granett vd 2001).

Böylelikle bağcılığın bu yeni döneminde ABD'den getirilen türlerden bazıları (*Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitis berlandieri*, *Vitis labrusca* vb.) anaç olarak kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarla zaman geçtikçe bahse konu türlerin özellikleri daha iyi öğrenilmiş, olumlu ve negatif yanları ortaya çıkarılmıştır.

Bu doğrultuda, *Vitis berlandieri*'nin kirece en toleranslı anaç olmasına rağmen köklenme ve aşı tutma kabiliyetinin düşük olduğu; kuvvetli bir anaç olan *Vitis rupestris*'in filokseraya çok dayanıklı olduğu ancak üzerine aşıli çeşitlerde tane silkmesi yaptığı; *Vitis riparia*'nın filokseraya dayanıklı, kısa vejetasyon süreli ve aşı tutma oranının iyi olmasına rağmen kuraktan zarar gördüğü ortaya konulmuştur. Diğer taraftan, *Vitis labrusca*'nın filokseraya karşı çok dayanıklı olmadığı, ayrıca yukarıda belirtilen diğer Amerikan türlerinin *Vitis vinifera* L.'ye göre köklenme oranının daha zayıf olduğu gözlenmiştir (Ergül 1992).

Yapılan yoğun çalışmalar neticesinde, saf Amerikan türleri içerisinde bağcılık için en uygun olanlarının seçilmesi veya bu türlerden iyi özellikleri birlikte taşıyan daha geniş

adaptasyon ve afinite kabiliyetine sahip yeni çeşitlerin elde edilmesi veya Amerikan asma türlerinin *Vitis vinifera* L. ile ve birbirleriyle kombine edilmesi fikri ortaya çıkmıştır (Ergül 1992, Ağaoğlu vd. 1998).

Bu anlamda öncelikli ıslah çalışmalarının temelini ise, filoksera zararlısına en dayanıklı, adaptasyon kabiliyeti geniş olan ve *Vitis vinifera* L. ile uyuşması iyi olan, yüksek oranda köklenen Amerikan türlerini tespit etmek, söz konusu türler arasında amaca en uygun olanları seçmek, türler arası veya bu türlerle *Vitis vinifera* L. arasında melezleme çalışmaları yaparak arzu edilen özelliklerin kombine edildiği yeni asma anaçlarını elde etmek, yine filoksera zararlısına, külleme (*Uncinula necator*)'ye, mildiyö (*Plasmopara viticola*)'ye dayanıklı ve *Vitis vinifera* L.'nin verim ve kalite özelliklerini gösteren yeni çeşitler elde etmek oluşturmuştur (Alleweldt 1997).

Daha sonraki ıslah çalışmalarında, mevcut araştırmalara ek olarak verim artışı öncelikli olmak üzere, kalitenin iyileştirilmesi, çekirdeksizlik, olgunlaşma zamanının erkene veya geçe alınması, kuraklık, soğuk gibi anormal iklim koşullarına dayanıklılık vb. konulara odaklanılmıştır (Fidan 1985, Eriş 1992, Ergül 1992, 1997).

Filoksera, asma yaprak ve kökleri ile beslenen bağ zararlılarından ve bağcılığın yapıldığı ülkelerde temel problemlerden biridir. Filokseraya dayanıklılık konusunda *Vitis vinifera* L. türleri ve Amerikan asma türleri yaprak ve kök bazında farklılık göstermektedir. Amerikan asma türleri filokseranın kök formuna dayanıklı iken, *Vitis vinifera* L. türlerinin yaprak formuna dayanıklı olması (Buchanon ve Amos 1992) bağcılıkta Amerikan asma anaçlarının kullanımını zorunlu hale getirmiştir. Anaçların kurak ve tuz stres koşullarına karşı dayanıklılığı anaca göre değişmekle birlikte çeşitlerle karşılaştırıldığında önemli derecede düşüktür (Mullins vd. 1992). Genotip düzeyinde bakıldığında 110R, 140Ru, 99R anaçları kurağa daha toleranslı bulunurken, 5BB, 5C, SO4 gibi anaçların kurak toleransı yönünden zayıf olduğu, tuzlu alanlarda ise en toleranslı anaçların başında 1616C gelirken 41B'nin tuza çok hassas olduğu özellikle bildirilmiştir (Howell 1987). Kullanımı zorunlu hale gelen anaçların bu streslere hassaslıkları, üzümde verime, üzüm ürünlerinde (özellikle şarap) ise kalite kaybına neden olmaktadır (Bakır 2012).

Dünya’da yaklaşık 7 milyon hektarlık bir alanda, kurağa kısmen, yüksek tuza ise orta derecede tolerans gösteren Amerikan asma anaçları üzerine aşılı dayanıklı (Matthews ve Anderson 1988, Matthews vd. 1990, Prior vd. 1992, Sipiora ve Granda 1998, Esteban vd. 1999, Esteban vd. 2001; Kennedy vd. 2000, Mullins vd. 1992) *Vitis vinifera* L. (kültür asması) çeşitleri ile bağcılık yapılmaktadır. Filoksera’ya dayanıklılık amacı ile bağcılıkta zorunlu olarak kullanılan asma anaçlarının iki stres koşuluna karşı dayanıklılığı ise; anaçlara göre değişmekle birlikte çeşit dayanıklılığına göre önemli derece düşüktür. *Vitis vinifera* L. çeşitleri genel olarak kurağa “dayanıklı” ve tuza “orta dayanıklı (3.0 g/kg)” olarak, Amerikan asma anaçlarından ise *V. berlandieri* X *V. riparia* Kober 5BB kurağa “hassas” *V. vinifera* var. Chasselas X *V. Berlandieri* 41B tuza “hassas” olarak bilinmektedir (Galet 1979, Howell 1987). Anaçların bu streslere hassaslıkları, üzümde verime, üzüm ürünlerinde (özellikle şarap) ise kalite kaybına neden olmaktadır. Türe yönelik genetik ve biyoteknolojik çalışmalarda önemli aşamalar kaydedilmiş olmakla birlikte dünya bağcılığının en önemli sorunlarından birisi olan anaçların kurak ve tuzluluk stresine dayanıklılığına yönelik biyoteknolojik çalışmalar başlatılmamıştır (Bakır 2012).

Türkiye’de üzüm çeşit koleksiyonlarının oluşturulması amacıyla yapılan çalışmalar neticesinde belirlenen 1606 üzüm çeşidinin bir araya getirilmesi çalışmaları büyük ölçüde tamamlanmıştır. Bu doğrultuda, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü bünyesinde 1150 üzüm çeşidini içeren “Milli Koleksiyon Bağı” kurulmuştur. Akabinde, anılan koleksiyondaki çeşitlerin DNA düzeyinde tanımlanmasına yönelik araştırmalar yapılmıştır (Ergül vd. 2002, Şelli vd. 2007). Bununla beraber, söz konusu 1150 çeşidin SSR markörler kullanılarak tanımlanmasına yönelik Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü’nde 20 SSR lokusu ile veri tabanları oluşturularak, hem çeşit koruma hem de uluslararası veri karşılaştırmasına olanak sağlanmıştır (Ergül vd. 2006).

Ayrıca Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü’nde 1973 yılında başlatılan “Melezleme yolu ile yeni sofralık üzüm çeşitlerinin elde edilmesi” projesinin ilk aşaması 1995 yılında tamamlanmış ve 7 çeşit tescillenerek ülkemiz bağcılığına kazandırılmıştır. “Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü’nde 2001 yılında başlamış olan melezleme yoluyla yeni çeşit geliştirme çalışmalarında, ilk olarak klasik melezleme ve

embriyo kültürü yöntemiyle Sultani ekirdeksiz üzüm çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır. 2005 yılında çekirdekli eitlerle başlatılan melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen melezlerin değerlendirilmesine 2008 yılında balanmıtır (Anonim 2016c).

Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü bünyesinde 2015 yılında sonuçlanan “Melezleme Yoluyla Erkenci ve Son Turfanda zm eitlerinin Elde Edilmesi Projesi”nde asma ıslahında Türkiye ve dünyada elde edilen çeşitlere yönelik derlemeler izelge 2.3 - 2.4’te sunulmuştur.



Çizelge 2.3 Türkiye’de ıslah çalışmaları ile geliştirilmiş sofralık üzüm çeşitleri

Çeşit Adı	Ebeveynleri	Tescil Yılı	Islah Eden Kurum
Trakya İlkeren	Alphonse Lavallee X Perlette	1991	Tekirdağ BAE
Barış	Cardinal X Beauty Seedless	1991	Tekirdağ BAE
Reçel Üzüümü (2XB-56)	Elhamra X Perlette	1993	Tekirdağ BAE
Tekirdağ Çekirdeksizi	Alphonse Lavallee X Sultani	1991	Tekirdağ BAE
Güz Üzüümü (3XA-261)	Emperor X Sultani	1993	Tekirdağ BAE
Güz Gülü	Kırmızı Şam X Barış	2011	Tekirdağ BAE
Bozbey	Queen X Beauty Seedless	2011	Tekirdağ BAE
Tekirdağ Sultani	İtalia X Superior Seedless	2011	Tekirdağ BAE
Tekirdağ Misketi	İskenderiye Misketi X Sultani	2011	Tekirdağ BAE
Ergin Çekirdeksizi	Beyrut Hurması X Perlette	1991	Yalova ABKMAE
Ata Sarısı	Beyaz Çavuş X Cardinal	1990	Yalova ABKMAE
Yalova Misketi	Royal X Perle de Csaba	1990	Yalova ABKMAE
Yalova Çekirdeksizi	Beyrut Hurması X Perlette	1990	Yalova ABKMAE
Yalova İncisi	Hönüsü X Siyah Gemre	1990	Yalova ABKMAE
Uslu	Hönüsü X Siyah Gemre	1990	Yalova ABKMAE
Pembe 77	A.Lavallee X M. Reine des Vignes	2012	Yalova ABKMAE
Atak 77	Beyaz Çavuş X H. Misketi	2012	Yalova ABKMAE
İsmetbey	Siyah Gemre X Royal	2012	Yalova ABKMAE
Yalova Beyazı	Beyaz Çavuş X Cardinal	2013	Yalova ABKMAE
Samancı Çekirdeksizi	Beyaz Şam X Perlette	2013	Yalova ABKMAE
Arifbey	Beyaz Şam X Müşküle	2013	Yalova ABKMAE
Sultan 1	Sultani Çekirdeksiz tipleri	2011	Manisa BAE
Manisa Sultani	Sultani Çekirdeksiz tipleri	2011	Manisa BAE
Sultan 7	Sultani Çekirdeksiz tipleri	2011	Manisa BAE

Çizelge 2.4 Dünyaca kabul görmüş sofralık melez üzüm çeşitleri

Çeşit Adı	Sinonimi	Ebeveynleri	İslah Edildiği Ülke
Victoria		Cardinal X Hafızali	Romanya
Italia		Bicane X Hamburg Misketi	İtalya
Red Globe		(Hunisa x Emperor) x (Hunisa x Emperor x Nocera)	ABD
Cardinal		Flame Tokay X A.Lavallee	ABD
Crimson Seedless		Emperor X C33-199	ABD
Flame Seedless		(Cardinal X Thompson Seedless) X (Red Malaga X Tefafini Ahmer) X (İskenderiye Misketi X Thomson Seedless)	ABD
M.Palieri		A.Lavallee X Red Malaga	İtalya
Sugraone	Superior Seedless	Cardinal X?	ABD
Black Magic			Makedonya
Perlette		Scolokertek (Reine des Vignes) X Sultanina	ABD
Ruby Seedless	King's Ruby	Emperor x Sultana Moscata	ABD
Autumn King		A61-20 X B99-131	ABD
Autumn Royal		Autumn Black X C74-1	ABD
Princess		Crimson Seedless X B40-208	ABD
Scarlet Royal *		C 33-30 X C 51-63	ABD
A.Lavallee	Riberier, Ribier	Hamburg Misketi X Kharistvala Kolkhuri	
Beauty Seedless		Scolokertek (Reine des Vignes) X Black Kishmish	ABD
Red Seedless	Emperatriz	Emperor X Thompson Seedless	Arjantin
Centennial Seedless		Gold X Q25-6 (F2 de Emperor x Italia)	ABD
Kyoho		Centennial X Ishihara Wase	Japonya
Hamburg Misketi		Schiava Grossa x Muscat of Alexandria	Almanya

* Embriyo kurtarma tekniği kullanılarak elde edilmiştir.

Diğer taraftan, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından 2016 yılında 7 sofralık çeşit daha tescil edilmiş olup söz konusu çeşitlere ait bilgiler çizelge 2.5'te yer almaktadır. Anılan Enstitülerde çeşit geliştirme çalışmalarına devam edildiği bilinmektedir.

Çizelge 2.5 TBAE tarafından 2016 yılında tescil edilen sofralık çeşitler

KEBELİ (Ribol x Güz Üzümlü melezi)	
Tane özellikleri	
Renk	Sarı-Yeşil
Şekil	Silindirik
Büyüklik	İri
Çekirdek	Çekirdeksiz
CENGİZBEY (Ribol x Güz Üzümlü melezi)	
Tane özellikleri	
Renk	Kırmızı-Gri
Şekil	Basık Yumurta
Büyüklik	İri
Çekirdek	Yumuşak Çekirdekli

Çizelge 2.5 TBAE tarafından 2016 yılında tescil edilen sofralık çeşitler (devam)

ÖZER BEYAZI (Ribol x Güz Üzümlü melezi)	
Tane özellikleri	
Renk	Sarı-Yeşil
Şekil	Dar Eliptik
Büyüklik	İri
Çekirdek	Çekirdeksiz
GÜRNİL (Italia x Reçel Üzümlü melezi)	
Tane özellikleri	
Renk	Koyu kırmızı
Şekil	Silindirik
Büyüklik	İri
Çekirdek	Çekirdekli

Çizelge 2.5 TBAE tarafından 2016 yılında tescil edilen sofralık çeşitler (devam)

GÖNÜLÇELEN (Italia x Reçel Üzümlü melezi)	
Tane özellikleri	
Renk	Koyu kırmızı menekşe
Şekil	Yuvarlakça
Büyüklik	İri
Çekirdek	Yumuşak Çekirdekli
EMİRALİ (Çınarlı Karası x Tekirdağ Çekirdeksizi melezi)	
Tane özellikleri	
Renk	Mavi Siyah
Şekil	Basık Yumurta
Büyüklik	Çok İri
Çekirdek	Çekirdekli
SÜLEYMANPAŞA BEYAZI (Amasya Beyazı x (16 x A-101) melezi)	
Tane özellikleri	
Renk	Sarı-Yeşil
Şekil	Yuvarlakça
Büyüklik	Orta
Çekirdek	Çekirdeksiz

2.2.1 Islah yöntemleri

Seleksiyon ıslahı

Mevcut bir populasyon içerisinde diğer bireylere göre nispeten iyi olanların seçilmesi veya nispeten kötü özellikte olanların ayrılması yöntemi “seleksiyon ıslahı” olarak adlandırılmaktadır. Asma da diğer meyve türleri gibi vegetatif olarak çoğaltılmakla birlikte bir çeşitten elde edilen bitki topluluğu bazı özellikler bakımından incelendiği zaman bireyler arasında farklılıkların olduğu görülmektedir. Bu farklılıklar genel olarak çevre şartları, mutasyonlar, klonların farklı orjinden gelmiş olmaları, virüs enfeksiyonları vb. nedenlerden ortaya çıkabilmektedir.

Hâlihazırda Türkiye’de yetiştirilmekte olan ve birçok standart çeşit olarak kabul edilen üzüm çeşitleri, değişik yöntemlerle uzun yıllar süren seleksiyon ıslahı sonucu seçilmiş olan çeşitlerdir.

Asma ıslahında önem arz eden ve yaygın olarak kullanılan “Klon Seleksiyonu” yönteminde amaç en verimli, kaliteli, sağlıklı ve ismine doğru bireylerin seçilmesi ve bu bireylerden elde edilen çoğaltım materyalleri ile bağların tesis edilerek üretimin artırılması ve kalitenin yükseltilmesidir. Ticari öneme sahip üzüm çeşitlerinin verim ve kalite özelliklerinin kalıcı olarak yükseltilmesi klon seleksiyonu ile mümkün olabilmektedir.

Klon, “Kökeni tek bir fert olan ve bu fertten tamamen vegetatif yollarla çoğaltılmış, genetik yapı bakımından bir örnek materyal” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2016c). Bağcılıkta klon seleksiyonu çalışmalarının I. aşamasında (klon baş omcalarının belirlenmesi) toptan (Mass) seleksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Çalışmanın ilk yılında çeşidin istenilen arzulara göre (verim, salkım şekli, salkım ve tane büyüklüğü, SÇKM, erkencilik vb.) üstün özellikleri olan omcalar işaretlenmektedir (Pozitif toptan seleksiyon). Örneğin ilk seleksiyon çalışmalarında verim dikkate alındığından sadece doğuş oranlarına bakmak için salkım ve sürgün sayımları yapılmıştır. Daha sonra 3-5 yıl

boyunca (standart olarak 3 yıl yapılmaktadır) gelişme bozukluğu, hastalık varlığı, kalitede değişimler gibi nedenlerle işaretli omcalarda eliminasyonlar yapılmaktadır (negatif toptan seleksiyon). Üç yıl verileri değerlendirilerek 20-40 adet klon baş omcası seçilmektedir. Bunlarda gerek duyulursa *Agrobacterium vitis* virüs testleri yapılarak II. aşamaya geçilmektedir. Burada her klon adayından 10-12 omca olacak şekilde bir tekerrürlü Klon Koleksiyon Bağı (II. aşama, A aşaması) aşamasına geçilmektedir. Farklı yerlerden toplanmış ve çevre faktörlerinin aynı olduğu ortamda yetiştirilen klon adaylarında daha ayrıntılı veriler alınmaktadır (göz, sürgün, somak, salkım sayısı, suda çözünebilir kuru madde, asitlik, verim, budama artığı ağırlığı vb.). II. aşama Dikim ile beraber genelde 6-8 yıl sürmektedir (beş verim yılı değeri alınır). Bu aşamadaki değerlendirmeler sonucunda seçilen 5-6 adet klon adayı ile 4 tekerrürlü olarak Klon Mukayese Bağı (III. aşama, B aşaması) aşamasına geçilmektedir. Bu aşamada da çeşidin değerlendirme şekline göre ayrıntılı veriler alınarak sonuçta 1-3 adet klon seçilmekte ve bunlarda arındırma çalışmaları yapılmaktadır II. ve III. aşamalar teksel seleksiyon (saf hat seleksiyon) olarak kabul edilmektedir (Gökbulut 2014).

Türkiye’de bağcılıkta seleksiyon çalışmaları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bağ-Bahçe Bölümünde 1972 yılında Ankara’nın Kalecik ilçesinde Kalecik Karası üzüm çeşidinde toptan seleksiyon çalışması olarak başlatılmış ve 3 yılın sonunda 45 klon baş omcası seçilmiştir. Daha sonra elde kalan 23 klon adayı üzerinde 1983- 1989 yıllarında Kalecik ve Tekirdağ koşullarında gerçekleştirilen teksel seleksiyon çalışması sonucunda, Kalecik koşulları için 12 ve 21, Tekirdağ koşulları için ise 10, 12 ve 13 nolu klonlar önerilmiştir (Fidan vd 1986, 1991, Shidfar 2014).

Türkiye’de Klon Çalışmalarının Mevcut Durumu

Türkiye’nin çeşitli bağ bölgelerinde yetiştirilen ve bölge şartlarına iyi adapte olmuş, ekonomik değeri bulunan üzüm çeşitlerinden klon seleksiyonu uzun yıllardır yapılmaktadır. Bu çalışmalar “Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü” o dönemdeki ismiyle “Tekirdağ Deneme İstasyonu Müdürlüğü” tarafından 1959-1962 yılları arasında dört yıl süren çalışmalar sonucu seçilen 39 adet Kober 5BB, 27 adet 8B, 34 adet Rup. du Lot klonlarıyla “klon koleksiyon anaçlığı”nın kurulmasıdır. 1963 yılında ise

“Bulaşık Soysuzlaşmadan Ari Aşı Kalemı Temin Etmek İçin Klon Damızlık Bağları Tesis Etmek Üzere Klon Seçimi” projesi adı ile başlayan daha sonraki yıllardaki adı “Virüs Hastalıklarından Ari Aşı Kalemı Temin Etmek İçin Klon Damızlık Bağları Tesis Etmek Üzere Klon Seçimi, Muhafazası ve Üretimi” şeklinde değiştirilen çalışma ile *Vitis vinifera* eşitlerinde ilk klon seleksiyonu çalışması yapılmıştır. Bu proje kapsamında 1964-1967 yılları arasında yapılan ön çalışmaları takiben 1968 yılında klon baş omca adaylarının seçimine geçilmiştir.

1979 yılında yapılan “Bağcılık Araştırma Entegre Projesi” altında Bağcılıkta Klon Seleksiyonu Uygulama Projesi ismiyle bu münferit çalışmaların metod birliği sağlanarak tüm ülke düzeyinde yapılmasına olanak sağlayacak program yapılmıştır. Bu programda toplam 53 çeşitte klon seleksiyonu hedeflenmiş, bazı çeşitler için çalışmalar tamamlanırken diğer bazı çeşitlerde çalışmalara başlanamadığı veya başlanmış olan çalışmaların çeşitli nedenlerden dolayı tamamlanamadığı bildirilmektedir.

Çizelge 2.6-2.9’da ülkemizde yürütölen klon seleksiyonu çalışmalarından örnekler yer almaktadır.

Çizelge 2.6 Bağcılık araştırmaları ülkesel projesi klon seleksiyonu çalışmaları programı
(Anonim 2016c)

Klon Seleksiyonu	Sofralık		Kurutmalık		Şaraplık-Şıralık	
Kuruluşlar	Çeşit	Yer	Çeşit	Yer	Çeşit	Yer
Tekirdağ Bağcılık Araş. Ens. Md.	Hafızali	T.dağ-K.eli			Papazkaras	Edirne
	Amasya B.	Çanakkale			Semillion	T.dağ
	B. Çavuşu	Çanakkale			Yapıncak	T.dağ
	Kozak B.	Kozak Yay.			Gamay	Şarköy
	Kozak S.	Kozak Yay.			Clairette	Şarköy
					Karacakız	Çanakkale
					Adakarası	Avşa Adası
Yalova Bahçe Kùltürleri Araş. Ens. Md.	Razakı	Bursa				
	Müşküle	Bursa				
	Erenköy B.	İstanbul				
	Beylerce	Bilecik				
	Beyaz Çavuş	İst.- Kocaeli				
	Değirmendere	Kocaeli				
	Hamburg	Kocaeli				
	Hafızali	Bursa-Bil.				
	Bilecik	Bilecik				

Çizelge 2.6 Bağcılık araştırmaları ülkesel projesi klon seleksiyonu çalışmaları programı (devam)

Klon Seleksiyonu	Sofralık		Kurutmalık		Şaraplık-Şıralık	
Kuruluşlar	Çeşit	Yer	Çeşit	Yer	Çeşit	Yer
Manisa Bağcılık Araş. Ens. Md.	Sultani Ç.siz	Çal-Çivril	Yuv.	Manisa	Çalkarası	Çal
	Razakı	Çal-Çivril				
	Pembe Gemre	İzmir-Den.				
	Osmanca	İzmir-				
	Pek	İzmir-				
Nevşehir Bağcılık Araş. İst. Md.	Parmak Üzümlü	Nevşehir			Dimrit	Nevşehir
					Emir	Nevşehir
	Gül Üzümlü	Ankara			Kalecik Ka.	Ankara
Orta Anadolu Bölge Zir. Araş. Ens. Md.	Büzgülü	Ankara			Narince	Tokat
					Sungurlu	Ank.-Çorum
					Hasandede	Kırıkkale
Gaziantep Zirai Araş. Ens. Md.	Dımışkı	Gaziantep	Rumi	Gaziantep	Dökülgen	Gaziantep
	Hönüsü	Gaziantep	Besni	Gaziantep	Horoz Ka.	Gaziantep
	Tahannebi	Gaziantep				
	Tarsus B.	Tarsus				
Alata Bahçe Kùltürleri Araş. Ens. Md.	Tilki Kuyruğu	Mersin				
	İşıklı	Burdur				
	Burdur Dimriti	Burdur				
	Siyah Gemre	Bur.-Isparta				
Malatya Zirai Araş. Ens. Md.	Şilfoni	Elazığ-Siirt			Öküzgözü	Elazığ
	Karaerik	Erzincan			Boğazkere	Elazığ

Çizelge 2.7 Seçilen klonlar ve üstün nitelikleri (Anonim 2016c)

KLON	ÜSTÜN NİTELİĞİ
Yapıncak-175	Yüksek verim ve gelişme
Yapıncak-132	Yüksek sıra randımanı
Yapıncak-13	Dengeli asit-bome ilişkisi
Semillon-225	Yüksek verim ve şarap kalitesi
Semillon-197	Dengeli verim-gelişme ilişkisi ve şarap kalitesi
Semillon-171	Dengeli bir asitlilik
Semillon-169	Yüksek bome
Gamay-192	Yüksek verim
Gamay-365	Kuvvetli gelişme
Gamay-212	Yüksek sıra randımanı ve şarap
Clairette-124	Kuvvetli gelişme ve şarap kalitesi
Clairette-156	Yüksek verim
Clairette-377	Dengeli bome- asit ilişkisi
Papazkarası-289	Şarap kalitesi ve kuvvetli gelişme
Papazkarası-194	Yüksek sıra randımanı
Papazkarası-207	Yüksek verim
Karacakız-7	Dengeli verim-kalite ilişkisi ve
Karacakız-160	Yüksek sıra randımanı
Karacakız-64	Yüksek verim
Karacakız-103	Dengeli bome-asit ilişkisi
Hafızali-20	Yüksek verim
Hafızali-183	Kuvvetli gelişme ve kalite
Hafızali-293	Kuvvetli gelişme
Bozcaada Çavuşu-98	Yüksek verim
Bozcaada Çavuşu-275	Dengeli verim-kalite ilişkisi
Bozcaada Çavuşu-161	Dengeli verim-kalite ve gelişme
Kozak Beyazı-270	Yüksek verim
Kozak Beyazı-292	Dengeli verim-kalite ilişkisi
Kozak Beyazı-222	Kalite
Hamburg Misketi-58	Yüksek verim
Hamburg Misketi-13	Kuvvetli gelişme
Hamburg Misketi-6	Kalite
Amasya Beyazı-175	Yüksek verim ve kalite
Amasya Beyazı-259	Dengeli verim-kalite-gelişme ilişkisi

Çizelge 2.8 Klon seleksiyon çalışmaları devam eden çeşitler

Seleksiyonu Sürdüren Kuruluşlar	Sofralık Çeşit	Kurutmalık Çeşit	Şaraplık-Şıralık Çeşit
Tekirdağ Bağcılık	Kozak siyahı	-	Adakarası
	Alphonse Lavallée		Cinsaut
Manisa Bağcılık Araş. Ens. Md. lüğü	Burdur dimriti	-	
	Razakı		
	Siyah dimrit		
	Siyah gemre		
Erzincan Bahçe Kül. Araş. Ens. Md. lüğü	Karaerik	-	

Çizelge 2.9 Amerikan asma anaçlarında klon seleksiyonu çalışmaları

Seleksiyonu Yapan Kuruluş	Çeşitler	Seçilen Klonlar
Tekirdağ Bağcılık Araş. Ens. Md.lüğü	Rup du Lot	105
	R99	20
	5BB	59, 56, 72 ve 61
	5C	11/19, 10/8, ve 19/4
	1103 Paulsen	5/5, 8/5, 17/16 ve 24/14
	110R	20, 19, 26, 31 ve 30
Manisa Bağcılık Araş. Ens. Md.lüğü	41B	8, 1 ve 20
	420A	13, 12 ve 20

2.3 Moleküler Markörler

Moleküler markörler bitki ıslahında, markör yardımıyla seleksiyon, genetik haritalama, filogenetik analizler, bitki gen kaynaklarının karakterizasyonu, çeşit tanımlama, genetik akrabalıkların belirlenmesi, ebeveyn analizi vb. hususlarda kullanılabilmektedir (Grando vd. 2000, Riaz vd. 2004, Regner 2007).

Diğer taraftan moleküler markörler, yüksek derecede polimorfik davranış, dominat ve kodominat özellik, genomda sıkça bulunma, genomda düzgün dağılım ve birden fazla bölgeyi belirleme imkânı, seçici nötr davranış, kolay ulaşım (satın alma veya hızlı

işlemler sonucunda), kolay ve hızlı değerlendirme, tekrarlanabilir ve laboratuvarlar arasında standardize edilebilme, güvenilirlik, bütün dokularda tanımlanabilme, çevre koşullarından etkilenmemek gibi avantajlara sahip olabilirler. Bu nedenle, çalışmalara başlanılmadan önce amaca uygun markör seçimi yapılarak en iyi sonuçların elde edilmesine çalışılmaktadır(Williams vd. 1990, Weising vd. 2005).

Genel anlamda moleküler markörlerin uygulama alanları, gen kaynaklarının korunması, tür ve çeşit tanımlama, hastalık ve zararlıların tanımlanması ve dayanıklılık çalışmalarında, büyüme ve gelişmede fizyolojik olayların mekanizmalarının açıklanmasında, çeşit ve anaç ıslahında, yeni ve üstün kalite ile verimlilik özelliklerine sahip çeşit geliştirilmesinde ve transgenik bitkilerin elde edilmesinde, embriyo transferi çalışmalarında, bitkide moleküler evrim ve evcilleştirilme prosesinin araştırmasında, meyve, sebzelerde tat ve aroma maddeleri ile beslenme değeri yüksek çeşitlerin geliştirilmesinde, kendine uyumsuzluk ve kısırılık görülen bitkilerde verimli çeşitlerin elde edilmesinde, küresel ısınmaya paralel olarak bu türlerin yetiştirilmesine yönelik araştırmalarda, meyve, sebze ve süs bitkilerinde muhafaza ve raf ömrünün modern biyoteknolojik yöntemler ile uzatılmasında, bitkilerde abiyotik stres faktörlerine dayanıklılığın, fizyolojik, biyokimyasal, genetik ve moleküler esaslarının belirlenmesi şeklinde ifade edilmektedir. Bu doğrultuda, genetik çalışmalarda öncelikle kullanılan moleküler markörler; morfolojik, protein ve DNA markörler olarak belirtilmektedir (Shidfar 2014).

2.3.1 Morfolojik markörler

Morfolojik markörler, bitki genetik tanımlama çalışmalarında kullanılabilir. Ancak, fenotipik özelliklerin genetik kontrol mekanizmasının tam bilinmemesi, yetersiz varyasyon ve bitkilerde aranan bazı fenotipik özelliklerin ortaya çıkışının uzun zaman alması, morfolojik markörlerin gözlenmesi kolay olmasına rağmen allel sayılarının nispeten az olması gibi dezavantajlara sahiptir.

2.3.2 Protein markörler

Protein markörler, hücreye özgü bir enzimin aynı biyokimyasal olayları katalize eden ve değişik genler tarafından kodlanan, farklı elektrik yüklü çoklu formları izoenzim olarak tanımlanmaktadır (Rothwell 1988). Bir enzimin uygun substrat ve kofaktörler ile gerçekleştirilen reaksiyon ürünlerinin, ürüne özgü uygun boyama ve elektroforez yöntemleri ile açığa çıkarılması izoenzim/protein markörlerin araştırılma tekniğinin temelini oluşturmaktadır. Bitkilerde ekstraksiyon kaynağına göre genel olarak, total protein (non enzimatik) veya izoenzim (enzimatik) analizi şeklinde uygulama alanı bulan bu markörler, son 20-30 yıllık dönemde genetik markörler alanında sağlanan gelişmenin temelini oluşturmaktadır. İzoenzimlerin bitkilerde kullanımı; çeşit tanımlama, hibrit bitkilerin analizi, genetik haritalamalarda belirlenen izoenzim lokuslarına dayalı bağlantı (linkage) analizlerinin ortaya çıkarılması, izoenzim formlarının katılımının incelenmesi şeklinde gruplandırılmaktadır. Asmalarda ise izoenzim polimorfizmi, melezleme ile elde edilen ve birbirine yakın olan çeşit ve tiplerin tanımlamasında izoenzim teknikleri yaygın olarak kullanılmıştır (Wolfe 1976, Uzun vd. 1996, Söylemezoğlu vd. 1998, Agaoğlu vd. 1999 Shidfar 2014).

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

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

2.3.3 DNA markörler

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

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

Tanımlama çalışmalarında daha doğru ve kesin sonuçlar veren ve Bahçe Bitkileri ıslahında genetik çalışmaların sınırlarını genişleten DNA markörler kendi içerisinde genel olarak Hibridizasyona dayalı DNA markörler ve PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı DNA markörler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

2.3.3.1 Hibridizasyona dayalı DNA markörler

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

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

2.3.3.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı DNA markörler

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

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

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

PCR teknolojisi sayesinde, RAPD analizi, organizmalar arasında genetik farklılığı belirlemede ucuz, kolay ve hızlı bir teknik olmasına rağmen söz konusu tekniğın en büyük dezavantajı, sonuçlarının tekrar edilebilirliğinin düşük olmasıdır.

Söz konusu yöntem özellikle asmalarda çeşit tanımlama çalışmalarında tercih edilmekte olup tekniğın optimizasyonuna yönelik birtakım araştırmalar yapılmıştır. Öyle ki 12 asma çeşidinin 16 RAPD primeri ile moleküler analizinin yapan Regner ve Messner (1993) sonuç olarak çeşitler arası belirlenen moleküler benzerliklerin çeşitlere ait ampelografik özelliklerden bağımsız ortaya çıktığını belirlemiştir.

Bir diğerk araştırmada Fanizza vd. (1999), 320 primer kullanarak 10 asma çeşidinde çalışmış ve 932'si polimorfik olmak üzere toplam 1683 bant elde etmişlerdir. Araştırıcılar bant sayısının yaklaşık 100-150'nin altına düşmesi durumunda genetik ilişki dendogramında önemli farklılıkların meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Ek olarak, yapılan bazı araştırmalarda asma anaç ve çeşitlerinde polimorfizm oranı yüksek bulunmuştur (This vd. 1997, Ye vd. 1998, Ergül vd. 2002). Örneğın, Ergül vd (2002) araştırmalarında 17 üzüm çeşidini 22 RAPD primeri ile tanımlamış, çalışılan çeşitlerin genetik benzerliklerinin temelde orijinleri ile ilgili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Mikrosatelitler (SSRs, Simple Sequence Repeats)

Son yıllarda bağcılık alanında yoğun bir şekilde kullanılan moleküler markörlerden SSR markörler, bitki DNA'sında bulunan 2-4 baz uzunluğundaki (TG)_n, (AC)_n,(TA)_n, (GAC)_n, (TTC)_n ve (TATA)_n gibi çekirdek motiflerini içeren 100 bp den küçük tekrar ünitelerindeki farklılıkları içermektedir. Genomda tespit edilen tekrar motiflerinin, kenar dizilerine oluşturulan primerlerle amplifikasyonu baz alan teknik insan ve hayvan tanılarından sonra, başta ticari önemi olan bitki türleri olmak üzere hemen hemen tüm canlılarda yaygın kullanıma girmiştir. Tekniğın tanımlamalardaki öneminden dolayı SSR lokusları tespit edilmiş türlerde her geçen gün bu lokusların sayısı artırılırken, endemik türler başta olmak üzere daha az ticari önemi olan türlerde de lokus tespit çalışmaları güncel konular arasındadır. Genotipleme araştırmalarının yanında, kodominatlık avantajından dolayı ebeveyn ve hibrit tanısında, genomda korunan dizilerin baz almasından dolayı ise bitkilerin genetik evriminde kullanılmaktadır. Ayrıca bitkideki ekonomik özellikleri (tane rengi, hastalıklara dayanıklılık gibi) kontrol eden genlerin klonlanması amacı ile yrtlen genetik haritalama çalışmalarında ve genom projelerinde SSR markörlerin önemi her geçen gün artmaktadır (Fischer vd. 2004, Welter vd. 2007, Akkurt vd. 2007, Velasco vd. 2007). Farklı araştırıcılar tarafından yapılan çalışmalarla 400'e yakın SSR lokusu tespit edildiği bilinmektedir (Thomas ve Scott 1993, Sefc vd. 1997).

SSR uygulamalarında temel aşamalar allel bölgelerinin PCR’da amplifikasyonu ve görüntülenmesidir. Allel bölgelerinin çoğaltılmasında, PCR optimizasyonu, DNA polimeraz seçimi vb. faktörler kritik olmakla birlikte, etkili lokus bölgelerinin tanımlamada kullanılması büyük önem taşımaktadır. Bir türde çok sayıda lokus tespit edilmiş olmakla, bunların her birinden başarılı sonuçlar alınamamakta ve arzu edilmeyen allel (null allel oluşumu, düşük sayıda allel elde edilmesi gibi) oluşumları ile karşılaşmaktadır. Örneğin Uluslararası Üzüm Konsorsiyumu tarafından söz konusu sakıncaların ortadan kaldırılması amacı ile yaklaşık 400 lokusdan altısı universal tanımlamalarda etkili lokus olarak belirlenmiştir (This vd. 2004). Allel bölgelerinin görüntülenmesi ise doğru allel büyüklüğünün tespiti açısından son derece önem taşımaktadır. Jel ortamlarına göre daha kesin veri sunan ve kapilleri elektroforez ortamlarında gerçekleştirilen bu hızlı teknolojilerin önemi özellikle bir türe ait çok sayıda bireyin tanımlandığı araştırmalarda daha da artmaktadır.

Çizelge 2.10’da SSR allel bölgelerinin genom üzerinde dağılımı ve PCR amplifikasyonu sonucu oluşturacağı durumlar aşağıda özetlenmiştir. Buna göre; diploid genom yapısına sahip bir bitkinin DNA üzerinde bir SSR lokusuna ait 2 alleli bulunmaktadır. Allel sayısı doku veya hücrenin poliploid olmasıyla artabilmekte, üzümde olduğu gibi organın dokuları (örneğin üzüm diploid bir yapıya sahip olmakla birlikte yaprak tabakaları arasında mutasyondan kaynaklanan triploit allelleri oluşturabilmektedir) arasındaki farkı kromozom sayılarından da kaynaklanabilmektedir.

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

Çizelge 2.10 “AT” tekrarlarına ait 3 farklı allelin genom boyunca dağılımı ve görünümü

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

SSR markörlerin ifade edilen bahse konu uygulamalarına ilaveten, en önemli aşamalarından biriside allelerin yorumlanmasıdır. Bu maksatla takip edilen ve uygulanan genel yaklaşım; elde edilen bant veya pik büyüklüklerinin belirlenmesi, daha önce yapılan referans çalışmalar ve çeşitler dikkate alınarak allel verilerinin oluşturulması, her bir lokusun ayırım gücünü ifade eden tanımlama olasılıklarının tespit

edilmesi, populasyon çeşitliliği ve lokus etkileşmesini gösteren heterozigotluk oranlarının tespiti, allelerin sahte (null) allel bağlantılarının belirlenmesi ve ebeveyn ile genetik ilişkilerin oluşturulması şeklinde sıralanabilir.

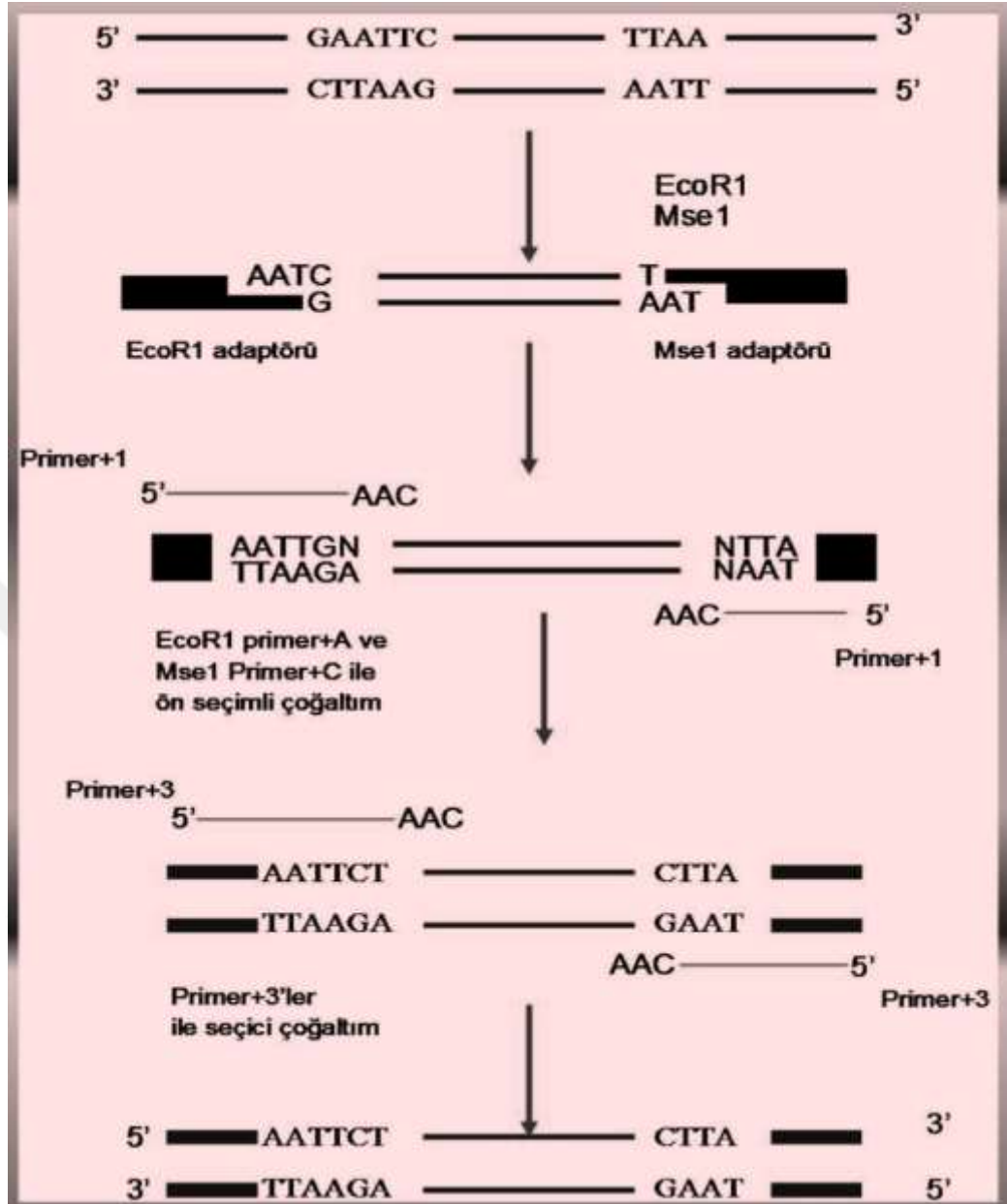
Asma ıslah çalışmalarında SSR markörler;

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

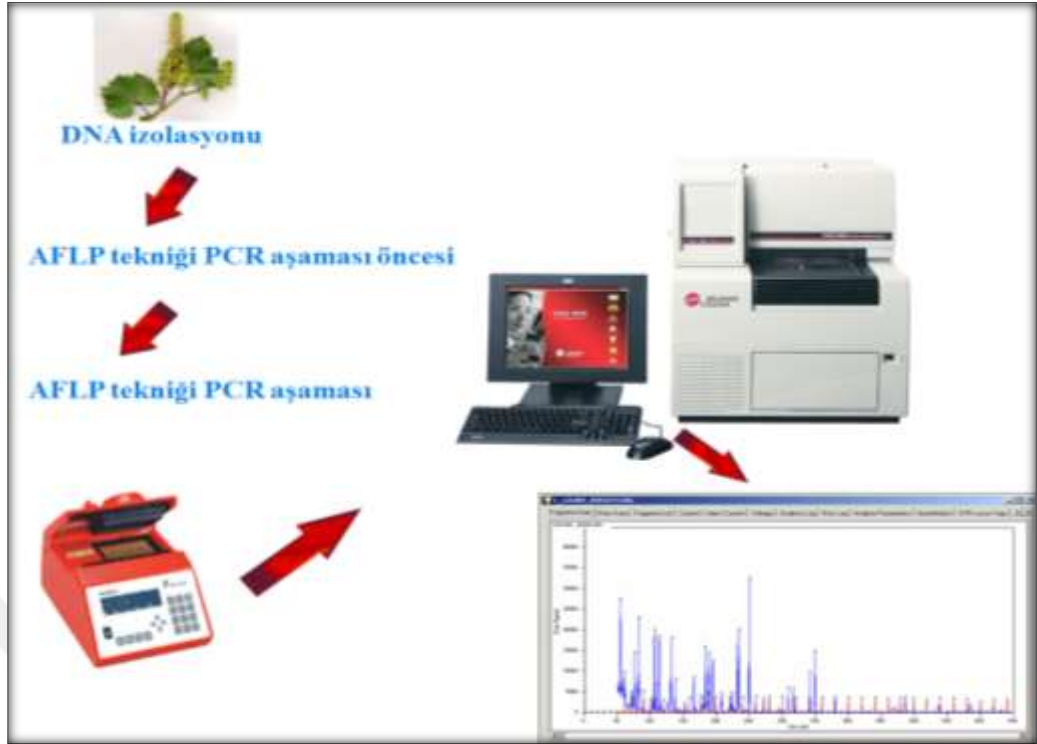
AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

AFLP tekniği RAPD tekniğinin dezavantajlı durumlarını ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilmiş bir teknik olup temelde aşağıda yer alan yöntemlerle uygulanmaktadır (Bkz. Şekil 2.1).

- ✓ DNA'nın özel restriksiyon enzimleri ile (ECoR1/Mse I) kesimi ve sonrasında bu bölgelere adaptörlerin takılması,
- ✓ Adaptör takılan bölgelerin ön selektifi aşaması,
- ✓ Farklı şekillerde (radyoaktif veya biotin vb.) işaretlenmiş primerlerle DNA bölgelerinin çoğaltımının (amplifikasyonunun) sağlanması bir diğer ifadeyle selektif aşaması (Vos vd. 1995).



Şekil 2.1 AFLP tekniğinin şematik gösterimi (Çakır 2011)



Şekil 2.2 AFLP tekniği aşamalarının genel görünümü

Şekil 2.2’de ise AFLP tekniğinin genel aşamaları özetlenmiştir. AFLP tekniğinde hedef alınan DNA bölgesi kısmen bilinir ve özellikle klon ayrımlarında polimorfizm oranı çok yüksek olan bir tekniktir. Genomda oldukça geniş bir bölgeyi tarayan teknik, parmak izi analizlerinden daha çok genetik ilişkilerin ortaya konulması amacı ile kullanılır (Söylemezoğlu vd. 2005 a, b).

AFLP uygulamaları teknik bilgi birikiminin yanı sıra iyi bir laboratuvar alt yapısı gerektirmektedir. Bitki genetiğinde Vos vd. 1995 tarafından geliştirilen söz konusu tekniğin en önemli dezavantajı ise dominant markör özelliğinde olmasıdır. Genom büyüklüğüne göre tekniğin uygulanışında değişiklikler olabilmektedir. Genellikle 4 (MseI, Taq I) ve 6 (EcoRI, PstI) bazdan kesim özelliğindeki restriksiyon enzimlerinin kesim ürünlerinin PCR (Polymerase Chain Reaction)’daki amplifikasyonunu baz alan teknikte, kesim bölgelerine yönelik oluşturulan ve adaptör bölgelerine eklenen 2 veya 3 bazlı selektif nükleotidlerin amplifikasyonu ile polimorfizm sağlanmaktadır.

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

Yapılan çalışmalarda, AFLP'nin, sadece bir primer kombinasyonu ile RFLP'ye göre 8 kat daha fazla polimorfik bant ve 16 kat daha fazla lokus meydana çıkarttığı belirtilmiştir (Mackill vd. 1996, Maughan vd. 1995). Powell vd. (1996), Linn vd. (1996), Ma ve Lapitan (1998), farklı moleküler markör teknikleriyle (RFLP, RAPD, SSR) karşılaştırıldığında AFLP'nin aynı zamanda, polimorfizm belirlemede en etkili teknik olduğunu belirtmiştir (Gupta vd. 2002).

2.3.4 AFLP tekniğinin bağcılıkta kullanım alanları

AFLP yöntemi, tekrarlanabilir özelliğinin yüksek olması ve polimorfik bant sayısı, diğer yöntemlere kıyasla daha hızlı bir yöntem olması, ön dizi bilgisi gerektirmemesi, tür içi ve türler arası akrabalıkların belirlenmesinde, kültür çeşitleri arasındaki farklılıkların veya akrabalık derecelerinin değerlendirilmesinde etkin olmasından dolayı bitki biyoteknolojisi çalışmalarında tercih edilen bir uygulamadır.

Bağcılık alanında ise AFLP tekniği, asma tür, anaç ve çeşitlere ait genetik ilişkilerin ortaya çıkarılması (Sensi vd. 1996, Martinez-Zapater vd. 1998, Sefc vd.1998b, Cabezas vd. 1998, Cervera vd. 1998, Labra vd. 2001, Fossati 2001, Ergül vd. 2006), ekotip ve klonal polimorfizmin belirlenmesi (Cervera vd. 1998, Imazio vd. 2002) ve genetik haritalama (Dalbo vd. 1998, Pauquet vd. 2001) çalışmalarında kullanılmaktadır.

2.3.4.1 Asmada AFLP araştırmaları

Vos vd. (1995)'nin geliştirdiği AFLP tekniği, DNA'nın özel enzimlerle kesilerek kesim uçlarına adaptör eklenmesi, kesilen parçaların çoğaltılması ve bu parçaların elektroforez ile jelde görüntülenmesi aşamalarından oluşmaktadır. Söz konusu tekniği birçok

araştırmacı değişik türlerde kullanmış olup Asma özelinde yapılan çalışmalara ilişkin örnekler aşağıda sunulmuştur.

Scott vd. (2000), Flame Seedless çeşidine ait somatik mutantları 64 AFLP primer kombinasyonu ile tanımlamış olup bu somatik mutantların ebeveynlerinden ayrılmasını sağlamışlardır. Bu farklılığın belirlenmesinde ise *EcoR1*-TC ile *Mse1*-CAC ve *EcoR1*-AT ile *Mse1*-CTT primer kombinasyonları kullanılmıştır. Somatik mutantlardaki bu başarılı ayırım diğer somatik mutantların ve çeşitlerin korunması ve kullanılmasında AFLP analizinin potansiyel değerini ortaya çıkarmıştır.

Bellin vd. (2001), çalışmalarında Pinot klonlarında AFLP markörler ile genetik polimorfizmi belirlemeyi amaçlamışlardır. Söz konusu araştırmada klonal ayırma AFLP'nin daha az etkili bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Esas etkili olan faktörün gözlenen fenotipik farklılığın genomda küçük bir bölgeyi etkilemesinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca, klonların genetik olarak tanımlanmasında daha hızlı ve etkili bir yöntem olan SCAR markörlerin geliştirilmesinin daha etkili bir metot olacağını belirtmişlerdir.

Reisch (2001), küllemeye karşı Horizon (hassas) ve Illinois 547-1 (*Vitis rupestris* x *V.cinerea*) (dayanıklı) bireylerin melezlerinden oluşturduğu populasyonun içinden seçtiği 272 bireylerle kurduğu yeni plantasyonda, AFLP markör kullanarak gerçekleştirdiği BSA (Bulk Segregation Analysis) sonuçlarına göre, küllemeye dayanıklı lokus tespit etmiştir. Çalışmada kullanıldığı 2 DNA markörün küllemeye dayanıklılık mesafesi 12 cM'dan daha yakın olarak belirlemişlerdir.

Scott vd. (2001), *Vitis vinifera*'da somatik mutantların ebeveynlerinde farklılıkların tanımlanması amacıyla yapılan çalışmada, Flame Seedless üzüm çeşidinin erkenci özellikte somatik mutantının genetik karakterizasyonunda AFLP markörlerin etkinliği araştırılmış, 64 primer kombinasyonundan 2 tanesinde polimorfizm elde edilmiştir. Çeşide ait klonlarda erkencilik özelliği amaçlı tanımlama çalışmalarında başarılı sonuçlar alınabileceği ifade edilmiştir.

Ergül vd. (2002), Kalecik Karası klonlarının genetik analizlerinde 3 primerin polimorfizm sağladığını bildirmişlerdir.

Imazio vd. (2002) Traminer üzüm çeşidine ait 24 klonda 3 farklı yöntem (SSR, AFLP ve MSAP (methyl sensitive amplified polymorphism)) kullanarak genetik karakterizasyon çalışmasını tamamlamışlardır. Araştırma sonucunda, SSR markörlerin asma klonları arasında genetik farklılıkların belirlenmesinde güçlü bir ayırım vermediğini ancak, AFLP tekniği ile daha başarılı sonuçlara ulaştıklarını belirtmişlerdir. Böylelikle, klonlar arası morfolojik farklılıkların oluşmasında genetik ve epigenetik değişimlerin birlikte etkisinin olduğunu ve klonal tanımlamada AFLP ve MSAP moleküler teknikler kullanılarak en doğru sonuçların alınabileceğini ifade etmişlerdir.

Fanizza vd. (2003a), aromatik üzüm çeşitlerinin 22 AFLP primer kombinasyonu ile karakterizasyonunda sinonimler ve homonimler saptamışlardır. Toplamda 1331 bandın yüzde 40'nın (564) polimorfik olduğu saptanmıştır. 564 olan polimorfik bantlardan 383'ü analizlerde (cluster ve PCO) kullanılmıştır. Bu polimorfizm ile Moscato ve Malvasia çeşitleri arasında hiçbir ilişki olmadığı ortaya konulmuştur.

Fanizza vd. (2003b), klon seleksiyonu çalışmaları sonucu seçilen belirli morfolojik farklılıklara sahip Italia üzüm çeşidinin somatik mutantları olan Bicchieri (Red Italia), La notte (Elongate Italia) ve Dipinto (Early Italia) çeşitleri arasındaki polimorfizmin belirlenmesinde AFLP markörleri kullanmıştır. Çalışmada, 49 primer kombinasyonundan 3880 AFLP bandı elde edilmiş ancak, belirli bir polimorfizm gözlenememiştir. Çok nadiren polimorfik bantlar gözlenmiş olsa da tekrar edilebilir olmadığını belirtmişlerdir. Mutasyonun genom içerisinde oldukça küçük bir alanda meydana gelmiş olabileceğini ve dolayısı ile AFLP ve diğer tekniklerle tanımlamanın mümkün olamayacağını vurgulamışlardır.

Söylemezoğlu vd. (2005a)'nin, İskenderiye Misketi üzüm çeşidinin ülkemiz Misket Grubu Çeşitleri ile AFLP'ye dayalı genetik benzerlikleri üzerinde yapmış olduğu bu çalışmada 13 primer kombinasyonu kullanılmış toplamda 1495 bant bulunmuş ve yüzde 35.5 oranında polimorfizm elde edilmiştir. Cluster analizi sonucu ise sinonim ve

homonim genotiplere rastlanırken 6 Misket genotipinin İskenderiye Misketi'ne yakın benzerlik gösteren çeşitler olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda bahse konu genotiplerin İskenderiye Misketi'nin uzun yıllar süren doğal melezlemeleri sonucu oluşabileceğini ve dolayısıyla çeşidin ilk kültüre alındığı alanlardan birisinin Anadolu olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Söylemezoğlu vd. (2005b), dünyada ve ülkemizde yaygın olarak kullanılan veya stok materyal özelliğindeki 20 asma anacında 5 EcoRI/MseI enzim kombinasyonuna dayalı AFLP markörlerin kullanıldığı araştırma ile söz konusu asma anaçlarının benzerlik oranlarını elde ederek bu anaçlar arasındaki akrabalık ilişkilerini ortaya koymuşlardır.

Ergül vd. (2006), "Misket" ve "Parmak" gruplarına ait üzüm çeşitlerinin genetik benzerliklerini AFLP markörleri kullanarak ayrıntılı olarak analiz etmişlerdir. Çalışmada 13 AFLP primer kombinasyonu kullanılmıştır. UPGMA metodu ile elde edilen dendogram (cluster) analizlerinde her iki grup içerisinde de homonim ve sinonimlerin mevcut olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu çalışma bağcılık kültürünün tarihsel gelişiminde Anadolu'nun rolüne de ışık tutmuştur.

Blaich vd. (2007), fenotipik varyasyon gösteren 70 Pinot noir (*V. vinifera* L.) klonunun genetik varyasyonunu değerlendirmişlerdir. 178 lokusta yapılan çalışmada 48 klondan oluşan en geniş grupta genetik benzerlik oranı yüksek bulunmuştur. Sonuçta Pinot noir klonlarının klon içi farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Baránek vd. (2009), stres uygulamalarından sonra asmalardaki genetik varyasyonların incelenmesi için 15 primer kombinasyonu kullanmış olup sonuçta Müller Thurgau ve Riesling çeşitleri arasında benzerlik katsayısı sırasıyla 0.984 ve 0.991 olarak bulunmuştur. Analizler neticesinde stress uygulamalarıyla asmaların DNA yapısındaki zarar minimum seviyede kalmış yani benzersiz ve köklü özellikler tehlikeye maruz kalmamıştır. Ancak, bu durum in vitro çoğaltımda dahi fenotipik veya morfolojik değişimlerin olabileceğini göstermiştir.

Lopez vd. (2009), Kuzeybatı İspanya'nın en önemli çeşidi olan "Galicia"nın seçilmiş klonlarında mikrosatellit ve AFLP yöntemi kullanarak moleküler tanımlama yapmayı amaçlamışlardır. Mikrosatellit analizi sonucunda veri tabanları ile eşleştirmede uyumluluk görüldüğü ifade edilmiştir. AFLP analizi ile en az bir temsilci klon içeren alt örnekleme daha net farklılıkların ortaya koyulabildiği ifade edilmiştir. Analizlerde 6 selektif primer kullanılmış yüksek oranda polimorfizm elde edilmiştir.

Ergül vd. (2010), 20 asma anacındaki genetik ilişkiyi belirlemek üzere 10 AFLP primer kombinasyonu kullanmıştır. 1366 AFLP bandının yüzde 65'i polimorfik bulunmuştur. Analizler sonucu 2 ana grup oluşmuş 2 çeşit bir grubu kalan 18 çeşit ise diğer grubu oluşturmuştur. Sonuçlar kullanılan AFLP markörlerinin polimorfizm belirlemede çok etkin olduğunu göstermiştir.

Sabır vd. (2010), 19 asma anacında 4 AFLP primer kombinasyonu kullanarak genetik ilişkiyi belirlemiştir. Sonuçta, toplam 416 banttan 357'si yani yüzde 86'sı polimorfik olarak bulunmuştur. Her bir primer kombinasyonundaki toplam bant sayısı 63 ila 124 arasında değişim göstermiştir. Genetik ilişki dendogramında 5 grup oluşmuş yakın ve uzak genetik ilişkiler görülmüştür. Bu çalışmanın AFLP markörlerin yüksek oranda polimorfizmi ortaya koyduğunun bir kanıtı olduğu ifade edilmiştir.

Meneghetti vd. (2011), İtalya, Fransa ve İspanya'dan gelen 53 Garnacha aksesyonunda kapsam ve dağılımın araştırılması amacıyla PCR temelli markör sistemlerini kullanmışlardır. Söz konusu 53 aksesyonun 28'i İtalya, 19'u İspanya ve 6'sı Fransa'ya aittir. Tanımlama çalışmasında öncelikle 14 SSR lokusu kullanmışlardır. SSR analizinin yanı sıra AFLP, SAMPL ve M-AFLP moleküler markörlerini de kullanan araştırmacılar, AFLP markörlerinin Garnacha örneklerinin büyük çoğunluğunda ayırt edilebilirliği gösterdiğini belirtmişlerdir.

Castro vd. (2012), araştırmalarında başlıca 38 Portekiz üzüm çeşidi ile Alvarinho, Arinto, Loureiro, Moscatel Galego Branco, Trajadura and Vinhaño çeşitlerinin özelliklerini taşıyan (true-to-type) 37 klonda AFLP tekniği ve retrotransposon temelli IRAP (Inter-retrotransposon Amplified Polymorphism), REMAP (Retrotransposon-

Microsatellite Amplified Polymorphism) and SSAP (Sequence Specific Amplified Polymorphism) moleküler tekniklerini uygulamışlardır. Pinot Noir, Pinot Blanc and Chasselas çeşitlerini ise referans çeşitler olarak kullanmışlardır. Araştırma sonucunda en yüksek polimorfik fragmentler AFLP’de bulunmuştur.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu araştırma, 2008-2013 yılları arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Laboratuvarları ile Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

Araştırmada bitkisel materyal olarak, ülkemizde ekonomik öneme sahip üzüm çeşitleri, anaçlar ile bu çeşit ve anaçlara ait üstün özellikli klonlar kullanılmış olup, söz konusu materyaller, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü ve Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Ayrıca, araştırmada Cabernet Sauvignon, Merlot ve Pinot Noir referans çeşitler olarak kullanılmıştır. Tanımlamaları yapılan üzüm çeşitleri ve çeşitlere ait klonlar ile Amerikan asma anaçları ve anaçlara ait klonlar çizelge 3.1'de temin edildikleri Enstitü bazında verilmiştir.

Çizelge 3.1 Klon seleksiyonu yapılmış üzüm çeşitleri, anaçlar ile bu çeşit ve anaçlara ait klonlar

Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü	
Çeşit-Anaç	Klon
Yapıncak	Yapıncak 13, Yapıncak 132
Ada Karası	Ada Karası 153, Ada Karası 157, Ada Karası 146
Kozak Beyazı	Kozak Beyazı 222, Kozak Beyazı 270, Kozak Beyazı 292
Semillion	Semillion 171, Semillion 197, Semillion 225
Clairette	Clairette 124, Clairette 156, Clairette 377
-	Amasya Beyazı 175
Karacakız	Karacakız 7, Karacakız 64, Karacakız 103, Karacakız 160
Hafızali	Hafızali 20, Hafızali 183, Hafızali 193
Hamburg Misketi	Hamburg Misketi 6, Hamburg Misketi 13, Hamburg Misketi 58
Gamay	Gamay 192, Gamay 212, Gamay 365
Papazkarası	Papazkarası 194, Papazkarası 207, Papazkarası 289
Cinsaut	Cinsaut 357, Cinsaut 404
Kozak Siyahı	Kozak Siyahı 181, Kozak Siyahı 198, Kozak Siyahı 250
Bozcaada Çavuşu	Bozcaada Çavuşu 98, Bozcaada Çavuşu 161, Bozcaada Çavuşu 275

(*) Cabernet Sauvignon, Merlot ve Pinot Noir referans çeşitler olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 Klon seleksiyonu yapılmış üzüm çeşitleri, anaçlar ile bu çeşit ve anaçlara ait klonlar (devam)

Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü	
Çeşit-Anaç	Klon
Değirmendere Siyahı	-
Razakı	-
Erenköy Beyazı	-
Müşküle	-
Bilecik İri Karası	-
Beylerce	-
Çavuş	-
110R	110R 19, 110R 20, 110R 26, 110R 30
-	5C 11/19
-	5BB 56
-	Rup. Du. Lot 105
Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü	
Çeşit	Klon
-	Beyaz Çavuş 13, Beyaz Çavuş 36, Beyaz Çavuş 41
Müşküle	Müşküle 58, Müşküle 59
-	Hamburg Misketi 52, Hamburg Misketi 58
-	Erenköy Beyazı 27, Erenköy Beyazı 29
Bilecik İri Karası	-
-	Beylerce 32
-	Değirmendere Siyahı 80
-	Hafızali 6
-	Razakı 1, Razakı 65, Razakı 73
Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü	
Çeşit-Anaç	Klon
Osmanca	Osmanca 21, Osmanca 26, Osmanca 38, Osmanca 39, Osmanca 40
Yuvarlak Çekirdeksiz	Yuvarlak Çekirdeksiz 5, Yuvarlak Çekirdeksiz 7, Yuvarlak Çekirdeksiz 8
İpek (Pek) Üzümlü	İpek (Pek) Üzümlü 4, İpek (Pek) Üzümlü 13, İpek (Pek) Üzümlü 25
Pembe Gemre	Pembe Gemre 6, Pembe Gemre 11, Pembe Gemre 12
Razakı	Razakı 16, Razakı 18, Razakı 21
Razakı (Denizli Çivril)	-

(*) Cabernet Sauvignon, Merlot ve Pinot Noir referans çeşitler olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 Klon seleksiyonu yapılmış üzüm çeşitleri, anaçlar ile bu çeşit ve anaçlara ait klonlar (devam)

Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü	
Çeşit-Anaç	Klon
Çalkarası	Çalkarası 1, Çalkarası 10, Çalkarası 12, Çalkarası 18, Çalkarası 29
Hafızali	-
Siyah Razakı	-
Şam Üzümlü	-
Foça Razakısı	-
Parmak	-
Mevlana	-
Dımışkı	-
Kozak Beyazı	-
Royal	-
Alphonse	-
Sultani Çekirdeksiz	-
Cardinal	Cardinal X, Cardinal X2 18. Sıra 3 üncü Omca, E Cardinal
-	Burdur Razakısı (Horozköy Germe), Burdur Razakısı (Gökçebağ 12 ncinin Yanındaki Bağ), Burdur Razakısı (Gökçebağ 12), Burdur Razakısı (1.Nolu Bağ İsa Balbağ)
-	41B 8, 41B 13, 41B 2.Sıra 3.Omca
-	420A 13, 420A 19, 420A 2.Sıra 3.Omca
Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü	
Çeşit	Klon
Karaerik	Karaerik 13, Karaerik 15, Karaerik 18, Karaerik 19, Karaerik Karaerik 23, Karaerik 30
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakùltesi Bahçe Bitkileri Bölümü	
Çeşit	Klon
-	Kalecik Karası 9, Kalecik Karası 12, Kalecik Karası 15

(*) Cabernet Sauvignon, Merlot ve Pinot Noir referans çeşitler olarak kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 DNA izolasyonu

Araştırmada kullanılacak bitkisel materyallere ait genç yaprak ve sürgün ucu dokuları izolasyon aşamasına kadar ihtiyaç duyulan soğuk ortamda laboratuvar koşullarına en hızlı biçimde ulaştırılmış ve izolasyon çalışmasına başlayana kadar -80°C derin dondurucuda korunmuştur. Sıvı azot kullanılarak ezilen örnekler 2 ml'lik ependorf

tüplere alınarak tekrardan -80°C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. DNA izolasyonu, Lefort vd. (1998) protokolüne göre yapılmıştır. Anılan protokolün uygulama aşamaları aşağıda yer almaktadır.

- 100 mg yaprak dokusuna, 1 ml DNA ekstraksiyon solüsyonu eklenir (örnek başına 10 µl 2-Merkaptoethanol içerir).
- Örnekler 65 °C -15 dk su banyosunda ara sıra çalkalanarak bekletilir. Daha sonra oda koşullarına soğutulur.
- Üzerine 0.5 ml kloroform/ isoamyl alkol (24/1) eklenerek 20-25 defa sallanır ve 30 dk buz üzerinde bekletilir.
- 3-4 dk 14.000 rpm de santrifüj edilir.
- Üst sıvı (süpernatant) (~0.7 ml) yeni bir tüpe aktarılır.
- Üzerine ~ 0.8 ml isopropanol eklenir.
- 15-20 dk buz üzerinde bekletilir.
- 1 dk 14.000 rpm de santrifüj edilir.
- Üst sıvı atılır.
- Alt katı (pellete) üzerine 1 ml (% 70) ethanol eklenir ve 2 dk 14.000 rpm de santrifüj edilir.
- Ethanol uzaklaştırılarak pellet kurtulur ve 50-100 µl TE (pH 8) veya dH₂O (nuclease free) da çözülür.

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/izoamil alkol (24:1) (hacim:hacim), RNase-A (Applichem); 100mg/ml

DNA saflığı ve miktarı NanoDrop ND-1000 spektrofotometre cihazı ile belirlenmiştir. Ayrıca, görsel olarak %1'lik agaroz jelde koşturularak kontrol edilmiştir.

3.2.2 AFLP reaksiyonu

DNA'nın spesifik restriksiyon enzimleri ile kesimi ve bu bölgelere adaptörlerin takılması mevcut protokollerin optimizasyonu sonrasında aşağıdaki protokollere göre gerçekleştirilmiştir.

DNA kesimi (Digestion) Aşaması

İzole edilmiş DNA'ların restriksiyon enzimleri ile kesimi aşağıdaki protokole göre gerçekleştirilmiştir.

DNA (200 ng)	= 6 µl
EcoRI(12u/µl)	= 0.5 µl
Tru9I (10u/µl)	= 0.7 µl
H Buffer	= 2.5 µl
dd H ₂ O	= 15.3 µl

	25 µl

Reaksiyon karışımı 3 saat 37 °C'de,

Tru9I (10u/µl) → 0.7 µl → 3 saat 65 °C'de inkübe edilmiştir ve son olarak enzimlerin inaktivasyonu için 10 dakika 70 °C'de bekletilmiştir.

Adaptör Ligasyonu Aşaması

Adaptörlerin hazırlanması:

a-5 µM (= 5 pmol/µl) EcoRI adaptörü

12.5 µl 200 mM E üst primeri

12.5 µl 200 mM E Alt primeri

475 µl su

b- 50 µM (= 50 pmol/µl) MseI adaptörü

125 µl 200 mM MseI üst primeri

125 µl 200 mM MseI alt primeri

250 µl su

Adaptörler kullanım öncesi, 95°C’de 5 dakika denatüre edilip, oda sıcaklığında soğutulduktan sonra ligasyon işlemine geçilmiştir.

Ligasyon Reaksiyonu Koşulları

Kesilmiş DNA	25 µl
MseI Adaptörü	1.25 µl
EcoRI Adaptörü	1.25 µl
10x T ₄ Ligaz Buffer	5 µl
T ₄ DNA Ligaz (3u/µl)	1 µl
dd H ₂ O	16.5 µl
Toplam Hacim	50 µl

16°C’de, 12 saat inkübe edilmiştir.

Pre-selektif PCR Aşaması

Adaptör takılan restriksiyon fragmentlerinin ön amplifikasyonu aşamasında, kesimi ve ligasyonu gerçekleştirilen DNA’dan sulandırma yapılmadan 4 µl alınarak, pre-amplifikasyon işlemi aşağıdaki protokole göre yapılmıştır.

Preselektif Reaksiyon Koşulları

D+L DNA	4 µl
Buffer (5x)	5 µl
dNTP (2,5 mM)	2 µl
Primer EcoRI 10 µM (Core)	2 µl
Primer MseI 10 µM (Core)	2 µl
Flexi Taq (5u/µl)	0.3 µl
MgCl ₂ (25 mM)	2.5 µl
dd H ₂ O	7.2 µl
Toplam Hacim	25 µl

Pre-selektif PCR Programı

94 °C 30 sn
56 °C 60 sn
72 °C 60 sn
72 °C 5 dk
4 °C Forever

→ 25 Döngü

Bu aşamadan sonra %1,5'lik agaroz jelde 15-25 dk koşturulmuştur ve smear bir görüntü elde edilmiştir. Pre-selektif PCR aşamasına yönelik örnek görüntüler Şekil 4.4'te yer almaktadır.

Selektif PCR Aşaması

Bu aşamada florasan boyalarla işaretlenmiş primerler kullanılarak pre-selektif PCR ile ön elemesi yapılan bölgelerin çoğaltımı sağlanmıştır. Selektif aşamaya geçmeden önce pre-selektif PCR ürünleri 1:10 oranında sulandırılmıştır.

Reaksiyon Koşulları

Preselektif ürünü DNA	4 µl
5x Buffer	2 µl
MgCl ₂ (25 mM)	2 µl
d NTP(2,5 mM)	1 µl
Florasan İşaretli Primer (10 pmol)	1.3 µl
MseI Primer (10 pmol)	1.3 µl
Taq Polimeraz	0.3 µl

Selektif PCR Programı

Başlangıç sıcaklığı 65 °C olup her döngüde 0,7 °C azaltılmıştır.

		SICAKLIK	ZAMAN	
1	1. döngü	94 °C	30 saniye	
2		65 °C	30 saniye	
3		72 °C	1 dakika	
4	2. döngü	94 °C	30 saniye	
5		64,3 °C	30 saniye	
6		72 °C	1 dakika	
7	3. döngü	94 °C	30 saniye	
8		63,6 °C	30 saniye	
9		72 °C	1 dakika	
10	4. döngü	94 °C	30 saniye	
11		62,9 °C	30 saniye	
12		72 °C	1 dakika	
13	5. döngü	94 °C	30 saniye	
14		62,2 °C	30 saniye	
15		72 °C	1 dakika	
16	6. döngü	94 °C	30 saniye	
17		61,5 °C	30 saniye	
18		72 °C	1 dakika	
19	7. döngü	94 °C	30 saniye	
20		60,8 °C	30 saniye	
21		72 °C	1 dakika	
22	8. döngü	94 °C	30 saniye	
23		60,1 °C	30 saniye	
24		72 °C	1 dakika	
25	9. döngü	94 °C	30 saniye	
26		59,4 °C	30 saniye	
27		72 °C	1 dakika	
28	10. döngü	94 °C	30 saniye	
29		58,7 °C	30 saniye	
30		72 °C	1 dakika	
31	11. döngü	94 °C	30 saniye	
32		58 °C	30 saniye	
33		72 °C	1 dakika	
34	12. döngü	94 °C	30 saniye	
35		57,3 °C	30 saniye	
36		72 °C	1 dakika	
37	13. döngü	94 °C	30 saniye	
38		56,6 °C	30 saniye	
39		72 °C	1 dakika	
40		94 °C	30 saniye	23 döngü
41		55,9 °C	30 saniye	
42		72 °C	1 dakika	
43		72 °C	10 dakika	1 döngü
44		4 °C	Sürekli	

3.2.2.1 Çalışmada kullanılan AFLP primerleri

Çalışmada aşağıdaki tabloda sunulan primer kombinasyonları denemeye alınmış olup en iyi ve uygun sonuç veren primer kombinasyonları ile analiz çalışması tamamlanmıştır.

Çizelge 3.2 AFLP Primer kombinasyonları ve dizileri

Primer adı	Dizisi 5'.....3'
E/SEL32	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAG-3'
M/SEL2	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C-3'
E/SEL32	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAG-3'
M/SEL7	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G-3'
AFLPd	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CTG-3'
M/SEL2	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C-3'
AFLPd	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CTG-3'
M/SEL7	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G-3'
E/SEL32	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAG-3'
M/SEL6	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C-3'
AFLPd	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CTG-3'
M/SEL6	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C-3'
AFLPc	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CTC-3'
M/SEL2	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C-3'
AFLPc	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CTC-3'
M/SEL6	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C-3'
AFLPc	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CTC-3'
M/SEL7	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G-3'
E/SEL22	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAC-3'
M/SEL2	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C-3'
E/SEL22	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAC-3'
M/SEL6	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C-3'
E/SEL22	5'-GAC TGC GTA CCA ATT CAC-3'
M/SEL7	5'-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G-3'

3.2.3 Kapiller Elektroforez

Araştırmada elde edilen selektif PCR ürünleri belirli miktar ve oranlarda SLS (Sample Loading Solution) solüsyonu ile seyreltildikten sonra, Genomelab DNA Standart Kit-600 ilave edilerek, Beckman CEQ 8000XL kapiller DNA analiz sisteminde (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) elektroforez edilmiştir.

3.2.4 Genetik analizler

Genel anlamda sonuçların değeriendirilmesi için öncelikle benzerlik indeksi oluşturma ve genetik ilişki dendogramlarının çizilmesi gerekmektedir.

Bu bağlamda, genetik analizler, CEQ-8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter) kapilleri otomatik dizi analizi cihazı kullanılarak gerçekteştirilmiştir. Genetik ilişki dendogramları ise (UPGMA; Unweighted Pair- Group Method of the Arithmetic Average) (Sneath ve Sokal 1973)'e bağlı NTSYS-pc (Numerical Taxonomy System) software 2.02g versiyonu kullanılarak oluşturulmuştur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 DNA İzolasyonu

Araştırmada bitkisel materyal olarak kullanılan klon seleksiyonu yapılmış üzüm çeşitleri ve Amerikan asma anaçları ile klonlarına ait DNA'ların miktar ve saflık değerleri çizelge 4.1'de, agaroz jel görüntülerine ait örnekler ise şekil 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1 Çeşitlere ait DNA'ların miktar ve saflık değerleri

No	Genotip Adı	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
1	Yapıncak 13	4467,8	89,355	46,14	1,94
2	Yapıncak 132	3423,4	68,468	33,57	2,04
3	Yapıncak	3103,1	62,062	30,64	2,03
4	Ada Karası 153	4225,8	84,516	43,94	1,92
5	Ada Karası 157	4317,7	86,354	44,45	1,94
6	Ada Karası	2846,6	56,933	28,31	2,01
7	Ada Karası 146	3877,3	77,545	38,72	2,00
8	1103p 24-14	1601,7	32,034	15,85	2,02
9	1103p 17/16	1795,7	35,913	18,88	1,90
10	Kozak Beyazı 270	2713,3	54,266	27,39	1,98
11	Kozak Beyazı 292	2394,5	47,89	23,52	2,04
12	Kozak Beyazı	2826,8	56,536	27,66	2,04
13	Kozak Beyazı(222)	2560,6	51,212	25,07	2,04
14	Semillion 197	3743	74,859	38,74	1,93
15	Semillion	3454,4	69,089	35,2	1,96
16	Semillion 225	4832,6	96,653	49,22	1,96
17	Semillion 171	3525	70,5	34,25	2,06
18	110R-30	2031,6	40,632	20,73	1,96
19	110R-26	2155,6	43,113	21,96	1,96
20	110R	2666,6	53,332	27,32	1,95
21	110R-20	2089,8	41,796	21,36	1,96
22	110R-19	2375,7	47,514	24,27	1,96
23	Clairette 377	4098,6	81,971	46,01	1,78

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

No	Genotip Adı	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
24	Clairette 156	2644,9	52,899	25,67	2,06
25	Clairette 124	3351,4	67,027	33,11	2,02
26	Clarirette	2838,9	56,777	29,14	1,95
27	Değirmendere Siyahı	4219,9	84,398	43,87	1,92
28	Amasya Beyazı(175)	3044,9	60,898	29,5	2,06
29	Razakı	3513,9	70,278	34,18	2,06
30	Kara Sakız 160	4572,3	91,445	49,78	1,84
31	Kara Sakız 7	4317	86,34	45,75	1,89
32	Kara Sakız	1532,8	30,655	15,26	2,01
33	Kara Sakız 103	3407,6	68,152	34,45	1,98
34	Kara Sakız 64	2042,6	40,851	20,27	2,02
35	Hafızali	3297,1	65,942	32,13	2,05
36	Hafızali 20	1713,4	34,268	17,03	2,01
37	Hafızali 193	1956,5	39,129	19,19	2,04
38	Hafızali 183	3292,6	65,852	33,32	1,98
39	Hamburg Misketi 58	2529	50,579	25,05	2,02
40	Hamburg Misketi 13	2814,7	56,294	27,37	2,06
41	Hamburg Misketi 6	2463,7	49,274	24,45	2,02
42	Hamburg Misketi	3215,6	64,311	32,15	2,00
43	Erenköy Beyazı	3089,5	61,79	30,57	2,02
44	Beylerce	3862,5	77,25	37,7	2,05
45	Çavuş	1909,5	38,189	19,95	1,91
46	Gamay	3434,5	68,691	34,84	1,97
47	Gamay 365	1946	38,92	19,01	2,05
48	Gamay 192	4581,3	91,627	51,99	1,76
49	Gamay 212	4756,9	95,138	55,13	1,73
50	5C-11/19	2106	42,12	21,47	1,96
51	Papaz Karası 207	3213,8	64,277	32,64	1,97
52	Papaz Karası	3670,8	73,416	36,8	2,00
53	Papaz Karası 289	2899,4	57,989	28,53	2,03
54	Papaz Karası 194	3172	63,44	30,96	2,05
55	Cinsaut	3832,9	76,658	38,05	2,01
56	Cinsaut 404	2467,8	49,356	24,51	2,01
57	Cinsaut 357	1903,9	38,077	19,13	1,99

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

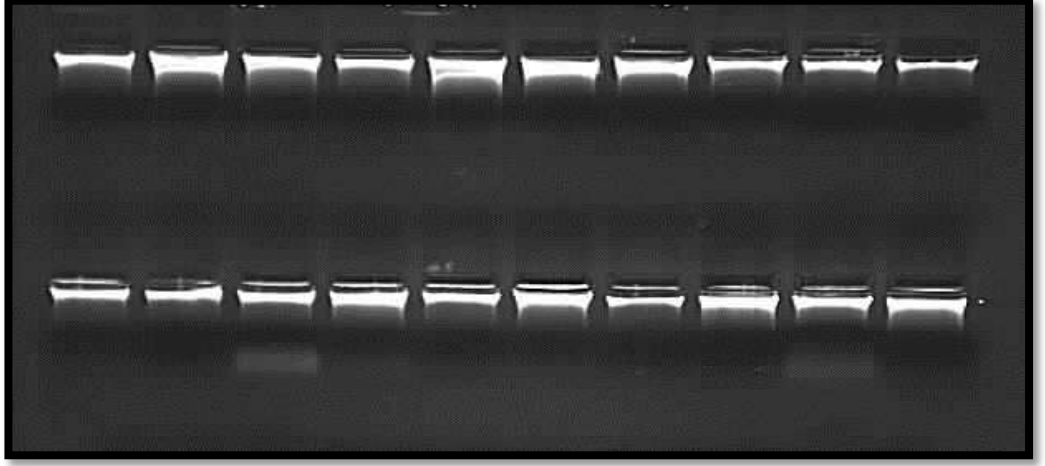
No	Genotip Adı	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
58	5BB-56	2958,1	59,163	30,85	1,92
59	Müşküle	3133,8	62,677	32,58	1,92
60	Bilecik İri Karası	3018,6	60,371	29,76	2,03
61	Kozak Siyahı 198	2951,3	59,026	29,07	2,03
62	Kozak Siyahı 250	2268,3	45,365	22,3	2,03
63	Kozak Siyahı 181	3241,8	64,836	31,73	2,04
64	Kozak Siyahı	1557,4	31,148	15,74	1,98
65	Bozcaada Çavuşu 98	1270,9	25,418	12,83	1,98
66	Bozcaada Çavuşu 275	3237,3	64,746	32,36	2,00
67	Bozcaada Çavuşu 161	3600	72	36,48	1,97
68	Bozcaada Çavuşu	2472	49,44	25,6	1,93
69	Rup. Du. Lot	1585,6	31,712	16,29	1,95
70	Rup. Du. Lot 105	2273,1	45,462	23,7	1,92
71	Osmanca 39	2802,8	56,056	26,2	2,00
72	Osmanca 26	5019,7	100,39	54,43	1,84
73	Osmanca 40	4459,5	89,189	45,65	1,95
74	Osmanca 21	2805,1	56,101	28,07	2,00
75	Osmanca 38	4828,9	96,578	53,51	1,80
76	Yuvarlak Çekirdeksiz 5	4399,7	87,995	45,73	1,92
77	Yuvarlak Çekirdeksiz 7	4310,6	86,211	46,94	1,84
78	Yuvarlak Çekirdeksiz 8	4966,7	99,335	54,64	1,82
79	İpek (Pek) Üzüümü 4	4354,7	87,094	44,23	1,97
80	İpek (Pek) Üzüümü 13	2942,4	58,848	29,94	1,97
81	İpek (Pek) Üzüümü 25	3687,5	73,75	35,08	2,10
82	Pembe Gemre 6	3749,2	74,984	38,74	1,94
83	Pembe Gemre 11	4101,8	82,035	43,1	1,90
84	Pembe Gemre 12	5178	103,56	60	1,73
85	Razakı 16	2108,8	42,176	20,06	2,10
86	Razakı 21	3832,6	76,652	40,48	1,89
87	Razakı 18	1043,6	20,872	9,913	2,01
88	Çalkarası 1	4453,2	89,065	46,71	1,91
89	Çalkarası 12	2650,9	53,019	28,7	1,85
90	Çalkarası 18	3768,4	75,367	39,92	1,89
91	Çalkarası 29	3458	69,159	32,37	2,04

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

No	Genotip Adı	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
92	Çalkarası 10	3672,2	73,444	35,6	2,06
93	41 B 13	4232	84,639	44,58	1,90
94	41B 8	2312	46,24	22,38	2,07
95	420A 13	3465,2	69,304	35,37	1,96
96	420A 19	4897,4	97,948	53,42	1,83
97	Osmanca	4228,8	84,576	44,88	1,88
98	Yuvarlak Çekirdeksiz	3364,1	67,283	33,23	2,02
99	İpek (Pek) Üzümlü	5285,6	105,71	55,82	1,89
100	Pembe Gemre	4621	92,421	49,65	1,86
101	Sultani Çekirdeksiz	2876,7	57,533	29,73	1,94
102	Razakı	1075	21,501	10,68	2,01
103	Çalkarası	2665,8	53,315	25,42	2,10
104	41 B	5050,8	101,02	54,14	1,87
105	Cardinal	2924,9	58,497	27,92	2,1
106	Cardinal x	2650,6	53,013	28,2	1,88
107	Cardinal x2	3665,3	73,306	37,78	1,94
108	Hafızali	4680,9	93,618	50,33	1,86
109	Burdur Razakısı (Horozköy Germe)	1901,6	38,032	19,48	1,95
110	Burdur Razakısı (Gökçebağ)	1367,3	27,346	13,68	2,00
111	Siyah Razakı	2613,9	52,278	24,28	2,05
112	Şam Üzümlü	3883,7	77,673	41,36	1,88
113	Foça Razakısı	2998	59,96	30,36	1,97
114	Burdur Razakısı (Gökçebağ 12)	923,81	18,476	9,972	1,85
115	Parmak	2849,3	56,985	29,45	1,94
116	Burdur Razakısı (1 nolu bağ)	1221,5	24,43	12,2	2,00
117	Mevlana	3326,4	66,527	34,41	1,93
118	Razakı (Denizli Çivril)	1646,5	32,93	16,72	1,97
119	Dımışkı	2875,8	57,516	28,94	1,99
120	Kozak Beyazı	2381,5	47,629	23,8	2,00
121	Royal	3755,7	75,115	39,38	1,91
122	Alphonse	4012,1	80,242	43,03	1,86
123	E_Cardinal	2878,8	57,576	29,7	1,94
124	420 A	4483,2	89,665	50,33	1,78
125	Beyaz Çavuş 36	1234	24,68	11,59	2,03

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

No	Genotip Adı	Miktar ng/ul	A260	A280	Saflık 260/280
126	Beyaz Çavuş 41	4384,1	87,681	45,98	1,91
127	Beyaz Çavuş 13	4419,9	88,399	46,13	1,92
128	Müşküle 59	2125,8	42,517	23,46	1,81
129	Müşküle 58	3076,4	61,527	30,99	1,99
130	Müşküle	4843,4	96,869	54,1	1,79
131	Razakı 65	3836,5	76,73	39,43	1,95
132	Razakı 1	2076,1	41,521	20,81	2,00
133	Razakı 73	3488,7	69,773	35,96	1,94
134	Hamburg Misketi 58	4518,5	90,369	48,15	1,88
135	Hamburg Misketi 52	2642,7	52,855	24,55	2,05
136	Erenköy Beyazı 27	2237,3	44,745	21,64	2,07
137	Erenköy Beyazı 29	2803,2	56,063	29,17	1,92
138	Bilecik İri Karası	4564,4	91,287	44,94	2,03
139	Beylerce 32	3699,2	73,985	34,79	2,03
140	Değirmendere Siyahı 8	2894,3	57,886	28,8	2,01
141	Hafızali 6	4353,6	87,072	46,24	1,88
142	Karaerik	5364,5	107,29	65,11	1,85
143	Karaerik 19.nolu klon	5434,3	108,69	68,07	1,75
144	Karaerik 23.nolu klon	3788,2	75,764	34,57	2,01
145	Karaerik 15.nolu klon	2102,8	42,057	20,82	2,02
146	Karaerik 30.nolu klon	1403,1	28,062	14,02	2,00
147	Karaerik 18.nolu klon	3159,2	63,184	28,69	2,00
148	Karaerik 13.nolu klon	4038,6	80,771	37,02	2,00
149	Kalecik Karası 9	873.85	17.477	9.002	1.94
150	Kalecik Karası 12	1286.35	25.727	12.967	1.98
151	Kalecik Karası 15	1444.68	28.894	14.746	1.96
152	Pinot Noir (PN)	1143.55	22.871	12.186	1.88
153	Cabernet Sauvignone (CS)	2250,6	63,855	36,52	1,85
154	Merlot (M)	1780,3	48,825	17,26	1,9

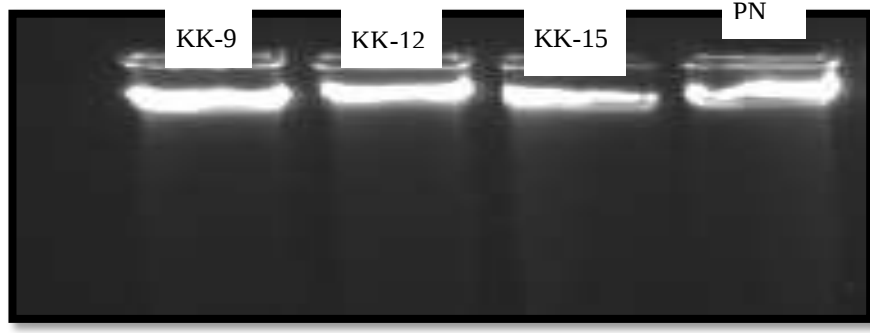


Şekil 4.1 % 1'lik agaroz jelde koşturulan örnek DNA görüntüleri

Araştırmaya sonradan eklenen örneklerden Pinot Noir ile Kalecik Karası Klonlarına (9,12 ve 15 No'lu klonlar) ait çelikler Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Bağ alanından alınmış ve sera koşullarında yetiştirildikten sonra DNA'ları izole edilmiştir.



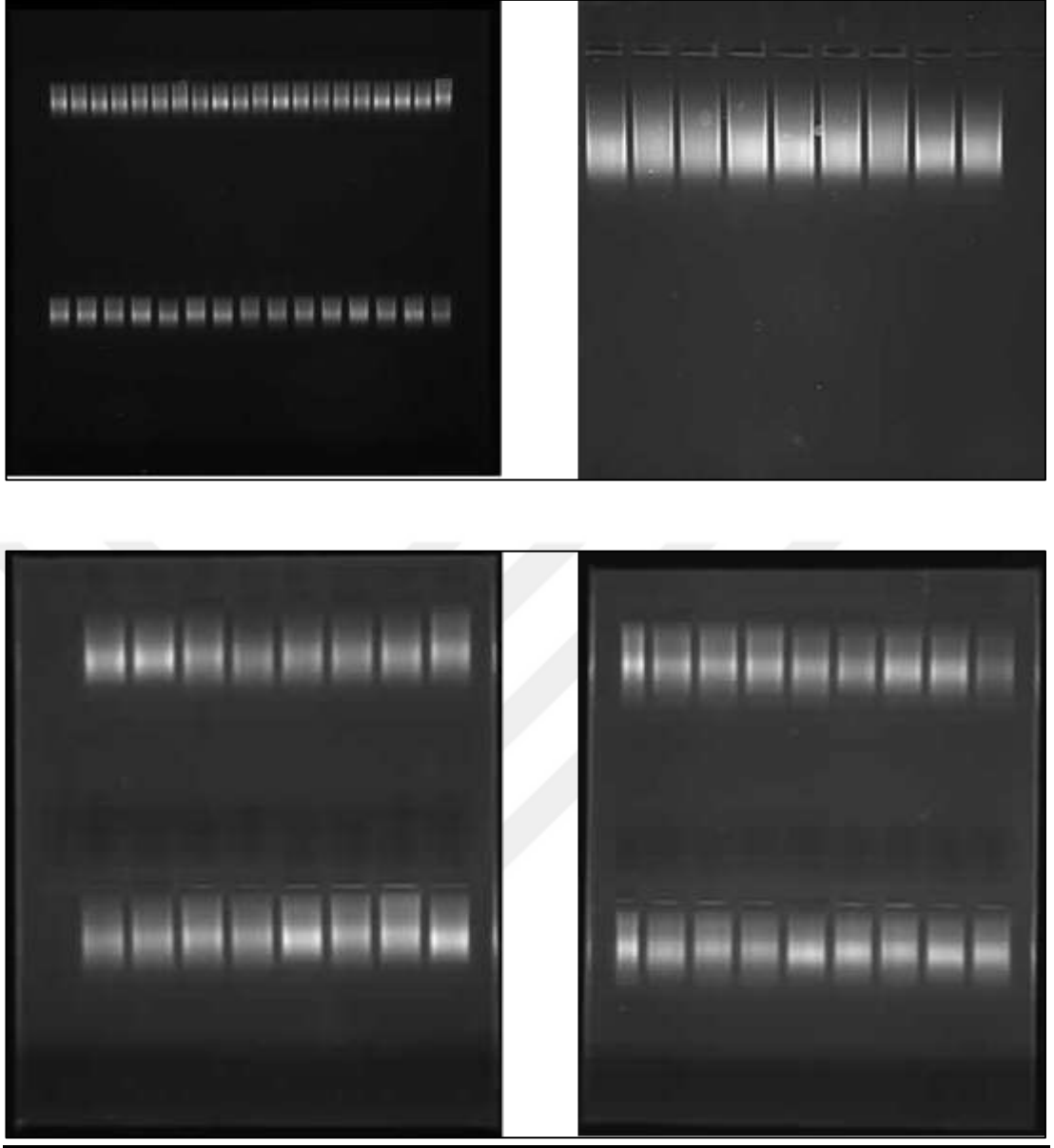
Şekil 4.2 Kalecik Karası 9, 12 ve 15 No'lu klonları



Şekil 4.3 Kalecik Karası Klonları (9-12-15) ve Pinot Noir'a ait DNA'ların %1'lik agaroz jel görüntüsü

4.2 AFLP Reaksiyonları

DNA'nın spesifik restriksiyon enzimleri ile kesimi ve bu bölgelere adaptörlerin takılması Adaptör takılan restriksiyon fragmentlerinin ön amplifikasyonu tezin yöntem bölümünde yer alan protokollerin uygulanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Pre-selektif PCR aşamasına yönelik örnek görüntüler şekil 4.4'te gösterilmektedir.



Şekil 4.4 Preselektif PCR'ı gerçekleştirilen örneklerin %1,5'lik agaroz jel ortamında görüntüsü

Selektif PCR Aşaması

Florasan boyalarla işaretlenmiş primerler kullanılarak pre-selektif PCR ile ön elemesi yapılan bölgelerin çoğaltımı sağlanmış olup selektif PCR aşamasına geçilmiştir.

Çalışmada AFLP reaksiyonu için 12 primer kombinasyonu denenmiş olup çıkan sonuçlara göre düzgün çalıştığı tespit edilen 10 primer kombinasyonu ile analizlere devam edilmiştir. Söz konusu 10 primer kombinasyonu ve analizlerden çıkartılan 2 primer kombinasyonu çizelge 4.2’de sunulmuştur.

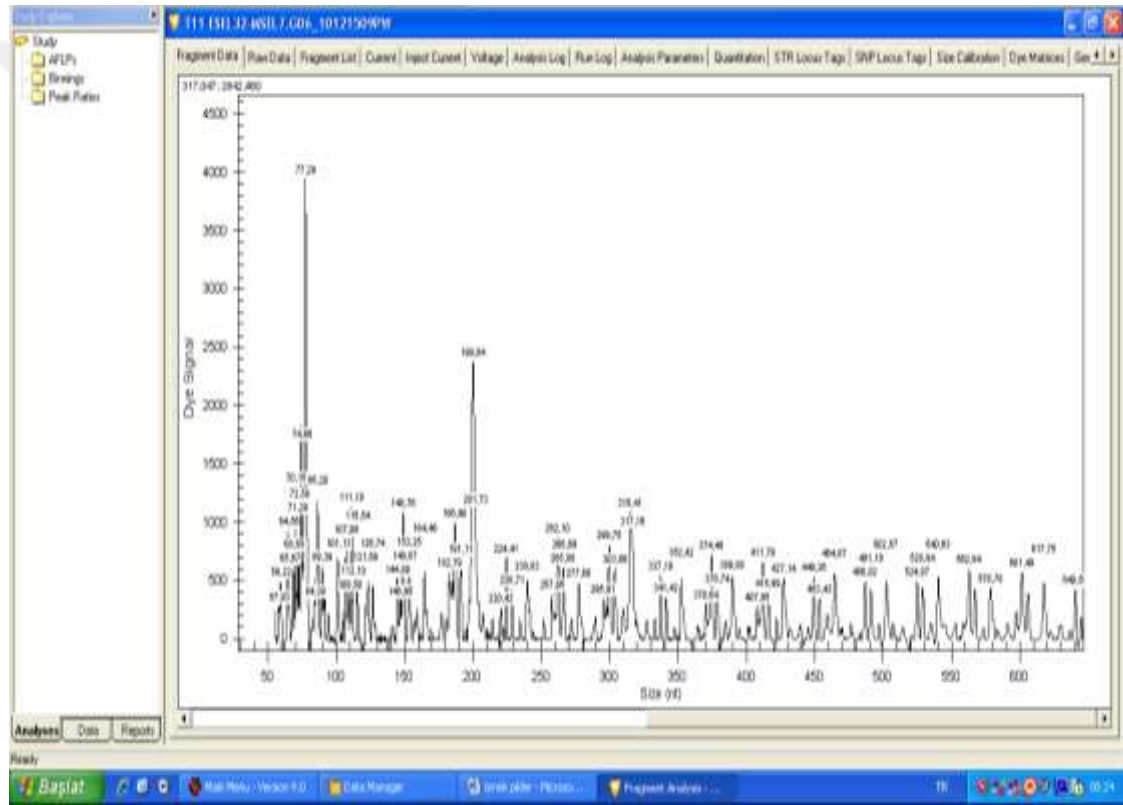
Çizelge 4.2 AFLP Primer kombinasyonları ve dizileri

Primer adı	Dizisi 5’.....3’
E/SEL32	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CAG-3’
M/SEL2	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C-3’
E/SEL32	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CAG-3’
M/SEL7	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G-3’
AFLPd	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CTG-3’
M/SEL2	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C-3’
AFLPd	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CTG-3’
M/SEL7	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G-3’
E/SEL32	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CAG-3’
M/SEL6	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C-3’
AFLPc	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CTC-3’
M/SEL6	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C-3’
AFLPc	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CTC-3’
M/SEL7	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G-3’
E/SEL22	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CAC-3’
M/SEL2	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C-3’
E/SEL22	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CAC-3’
M/SEL6	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C-3’
E/SEL22	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CAC-3’
M/SEL7	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G-3’
AFLPd*	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CTG-3’
M/SEL6	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C-3’
AFLPc*	5’-GAC TGC GTA CCA ATT CTC-3’
M/SEL2	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C-3’

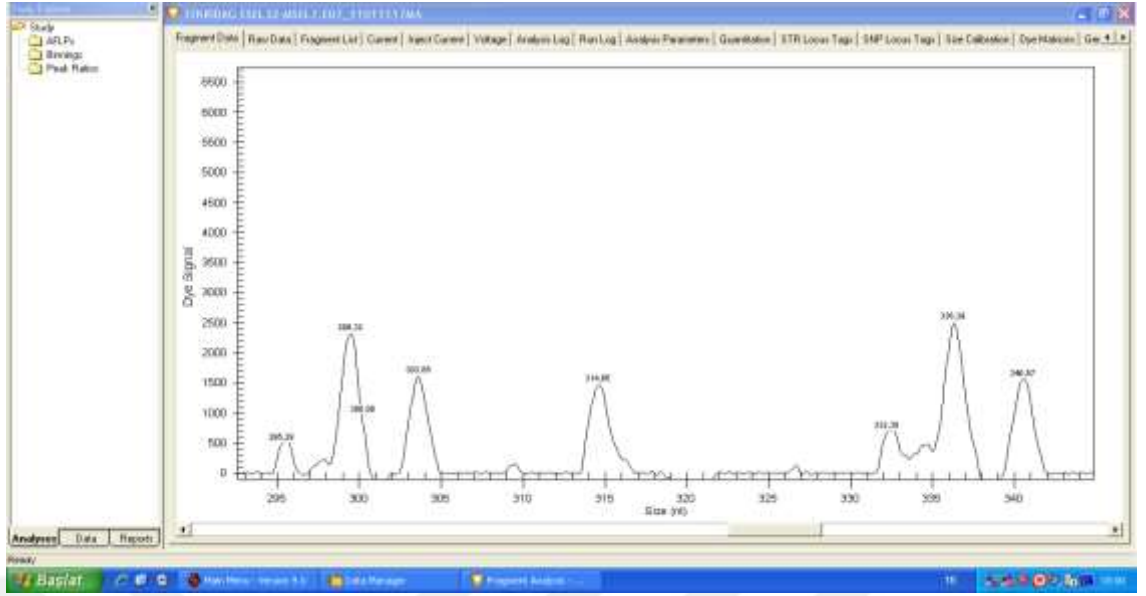
*Söz konusu primer kombinasyonları çalışmadan çıkartılmıştır.

Elde edilen selektif PCR ürünlerinin belirli oranlarda SLS (Sample Loading Solution) ile seyreltikten sonra, Genomelab DNA Standart Kit-600 eklenerek, Beckman CEQ 8000XL capillary DNA analiz sisteminde (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) elektroforezleri yapılmış ve AFLP pikleri belirlenmiştir.

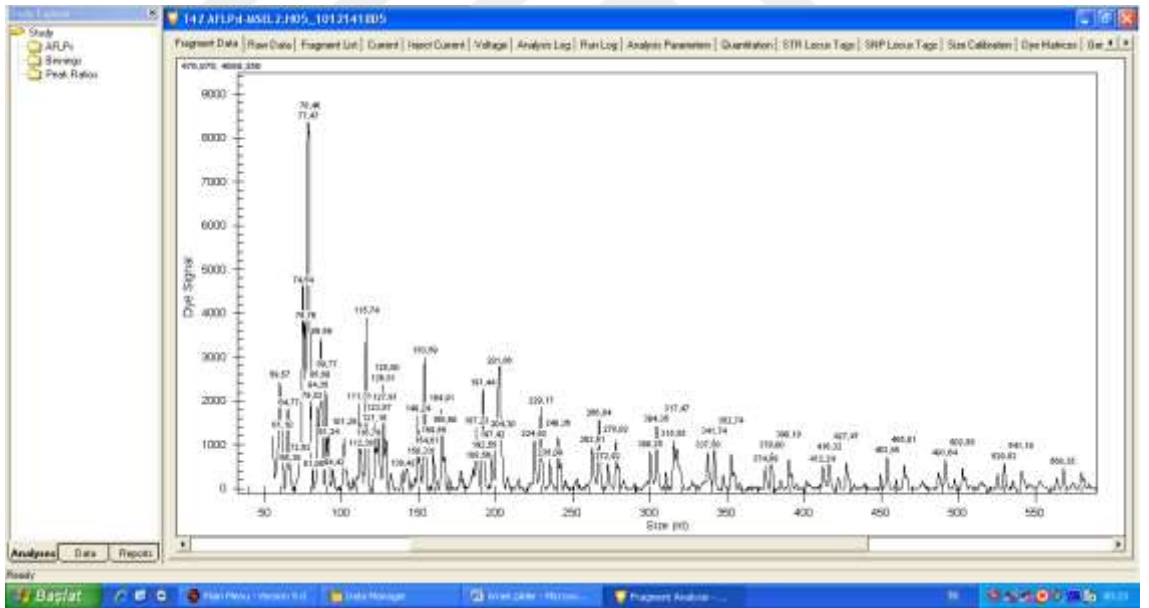
Çalışma dönemi içerisinde, farklı AFLP primer kombinasyonları kullanılarak gerçekleştirilen örnek kapilleri elektroforez görüntüleri Şekil 4.5-4.15 arasında aşağıda gösterilmiştir.



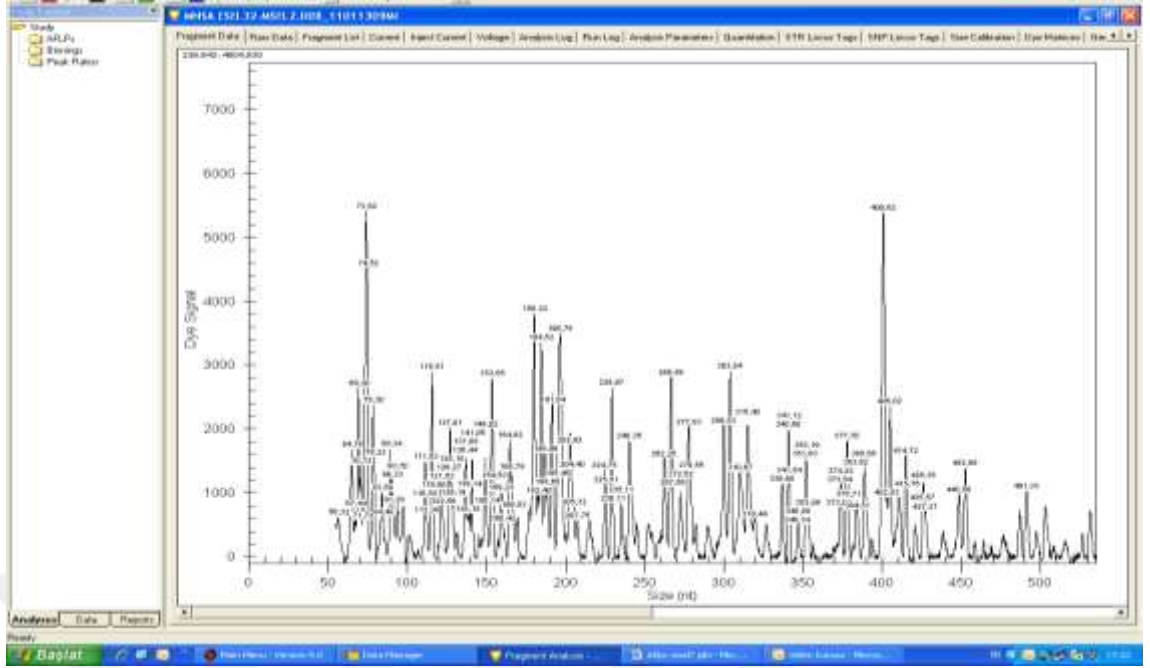
Şekil 4.5 Esel32-MSEL7 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü



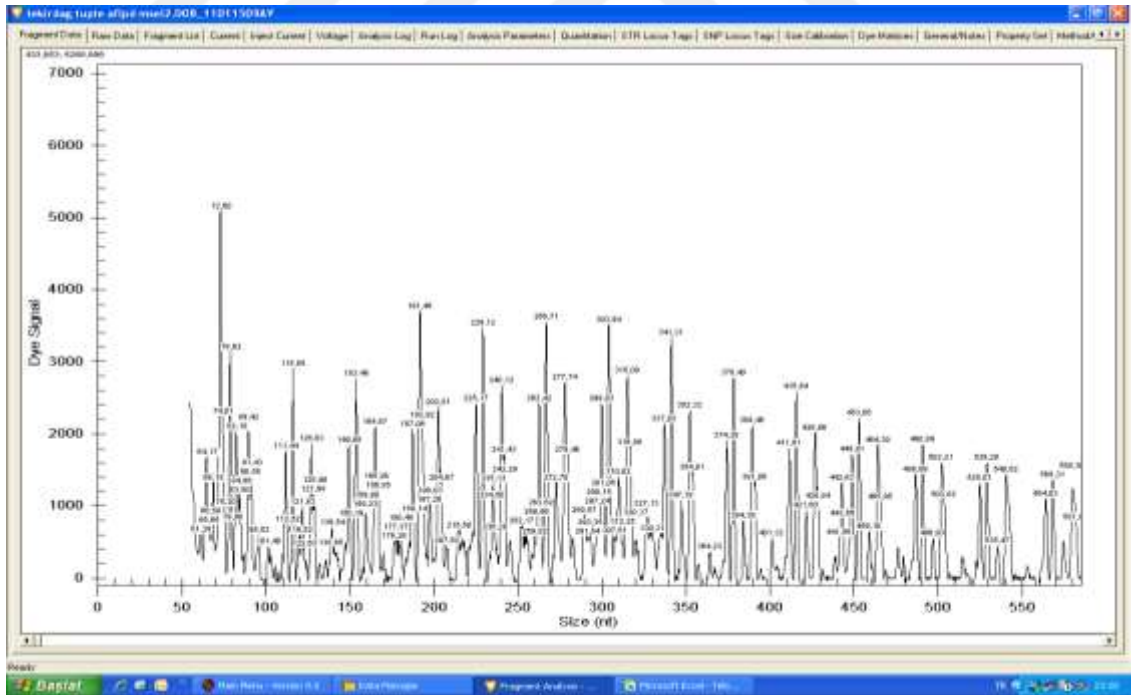
Şekil 4.6 Esel32-MSEL7 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez büyütülmüş görüntüsü



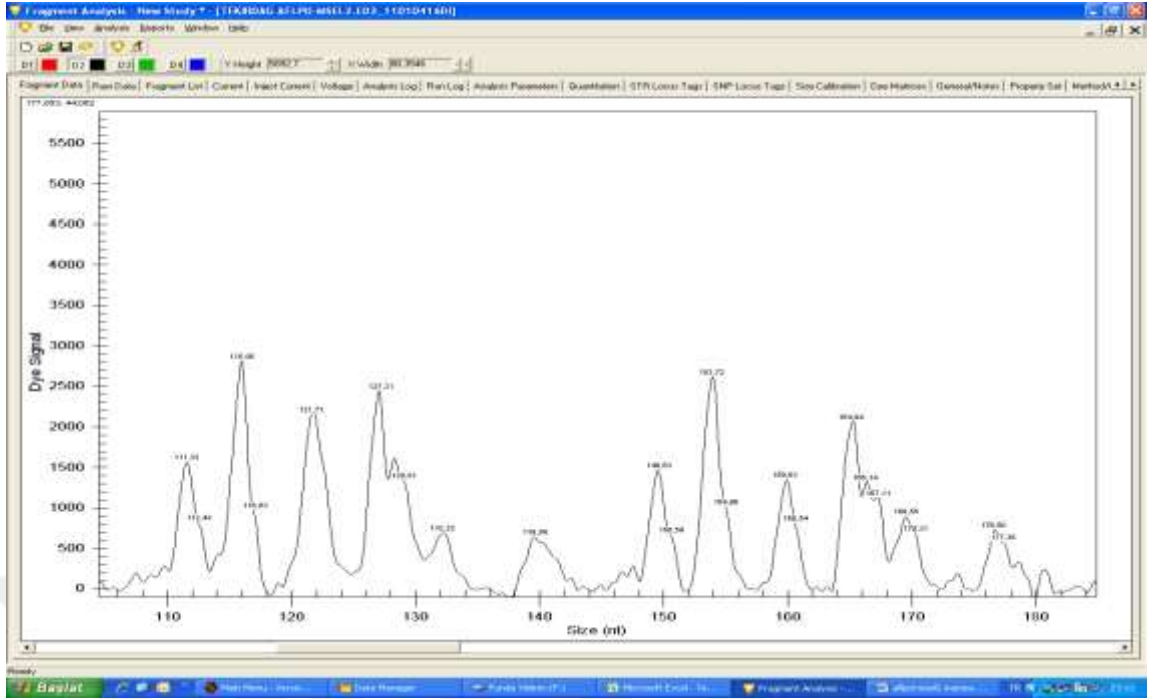
Şekil 4.7 AFLPd-MSEL2 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü



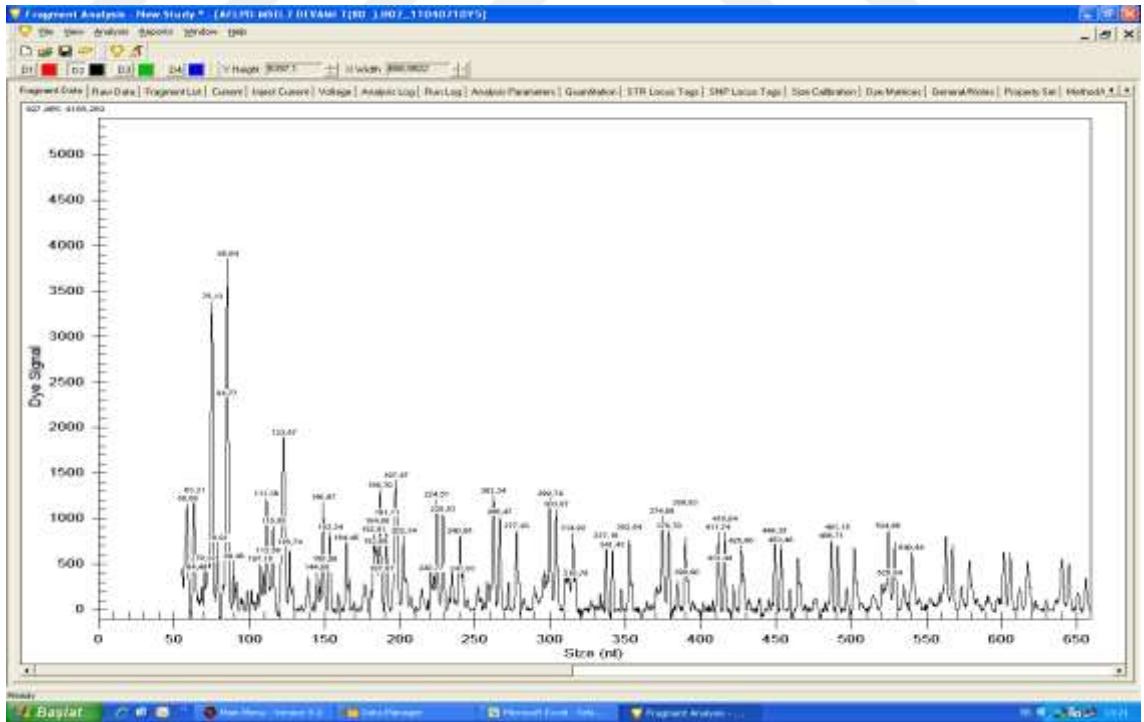
Şekil 4.8 Esel32-MSEL2 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü

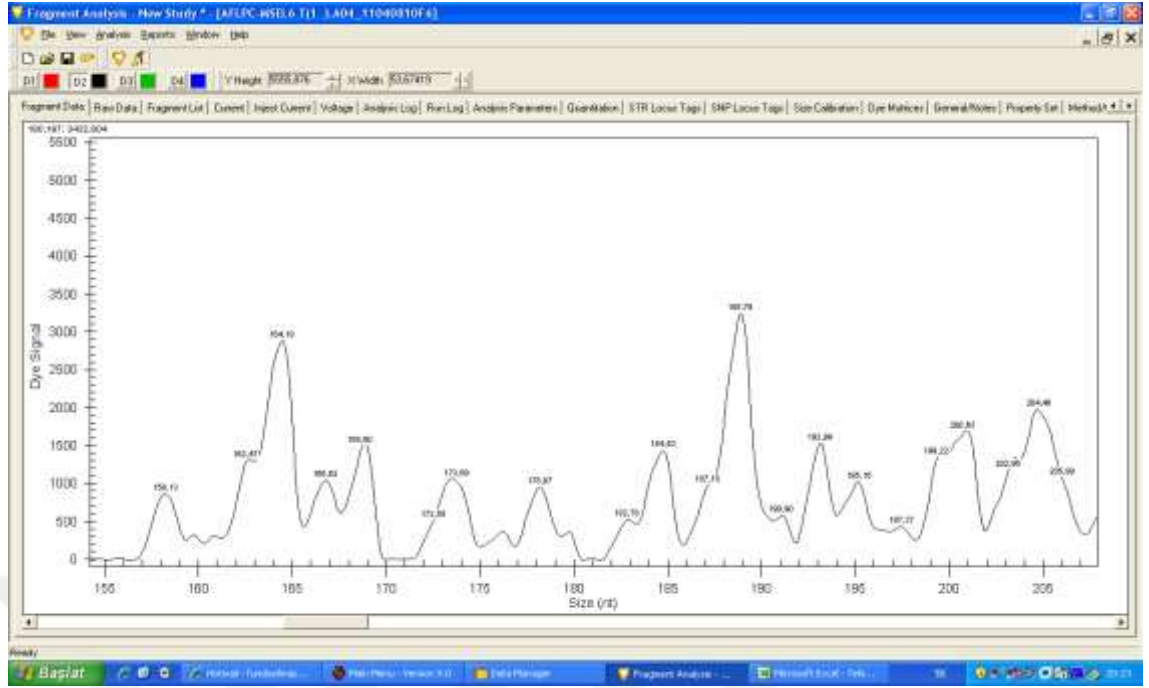


Şekil 4.9 AFLPd-MSEL2 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü

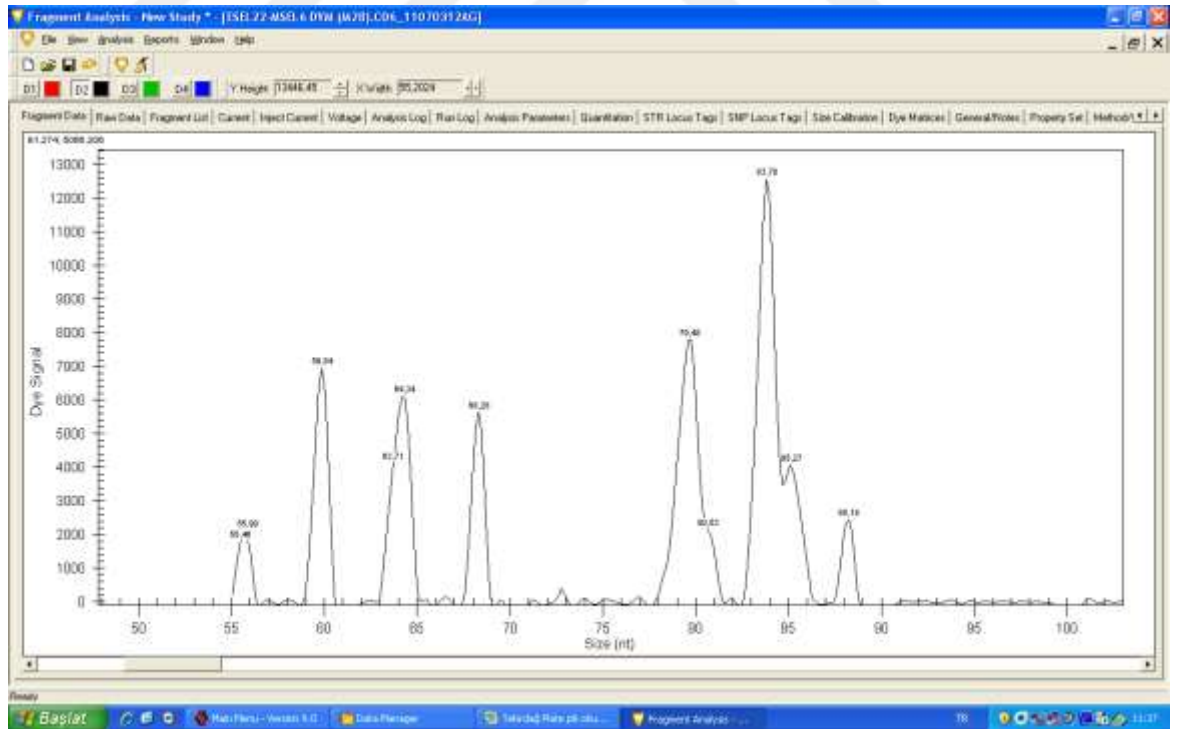


Şekil 4.10 AFLPd-MSEL2 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez büyütülmüş görüntüsü

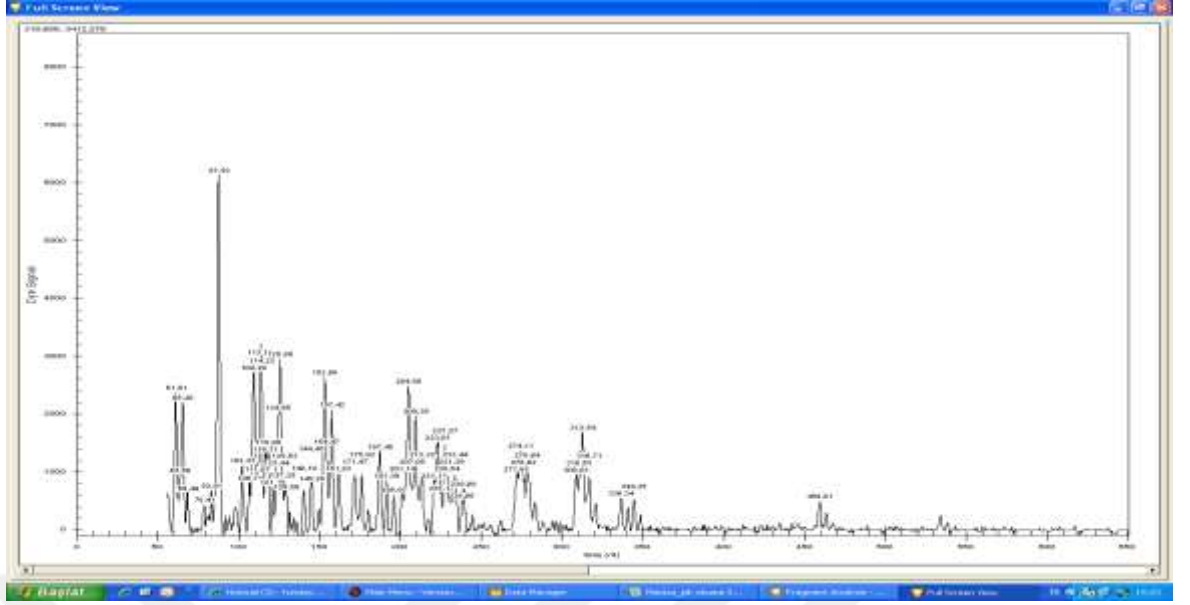




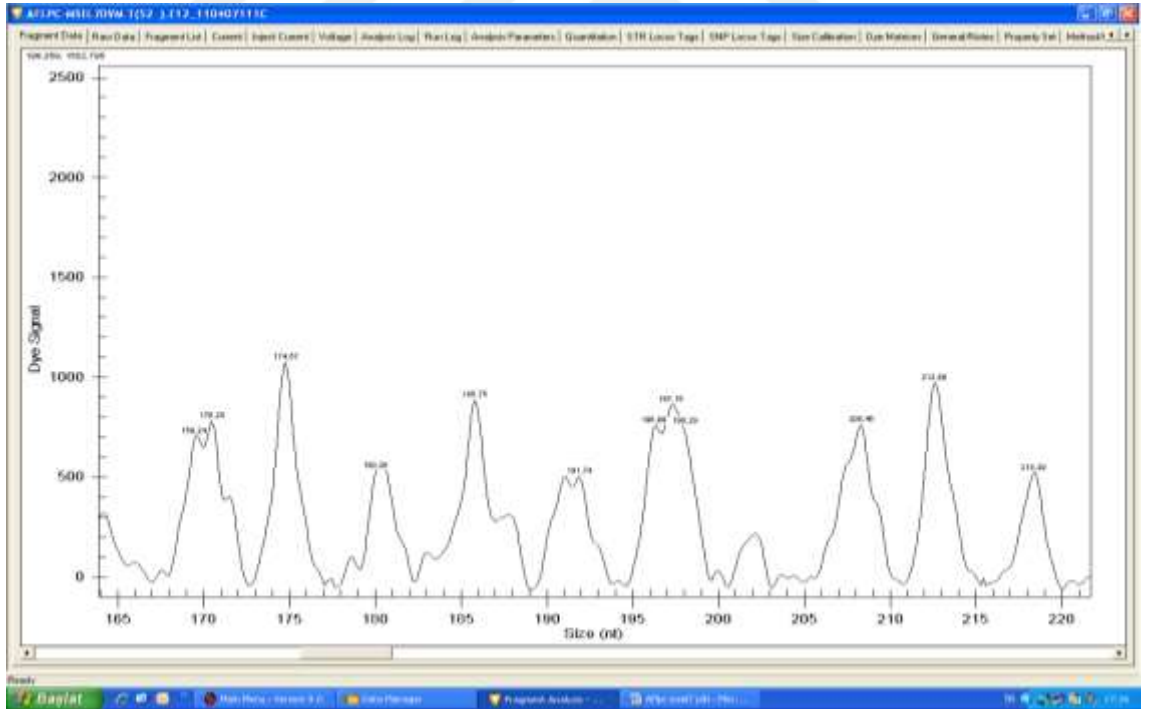
Şekil 4.12 AFLPc-MSEL6 primer kombinasyonu büyütülmüş kapilleri elektroforez görüntüsü



Şekil 4.13 ESEL22-MSEL6 primer kombinasyonu büyütülmüş kapilleri elektroforez görüntüsü



Şekil 4.14 ESEL22-MSEL6 primer kombinasyonu kapilleri elektroforez görüntüsü



Şekil 4.15 AFLPc-MSEL7 primer kombinasyonu büyütülmüş kapiller elektroforez görüntüsü

4.3 Genetik Bulgular

Beckman CEQ fragment analysis software kullanılarak elde edilen ham veriler değerlendirilmeye ve polimorfik olan AFLP pikleri 1 (var) ve 0 (yok) şeklinde skorlanmaya başlanmıştır (Şekil 4.16). Ayrıca, reaksiyonları tamamlanan primer kombinasyonlarına ait veriler skorlandıktan sonra, MVSP software package version 3.1 (Kovach 1999) kullanılarak analizleri gerçekleştirilmiş ve UPGMA analizini temel alarak dendogram oluşturulmuştur.



[illegible]

Şekil 4.16 AFLP piklerinin 1 (var) ve 0 (yok) şeklinde skorlanması örneği

AFLP markör analizleri sonucunda çalışmada kullanılan çeşit, anaç ve bunların klonlarına ait benzerlik oranları ise çizelge 4.3-4.31’de genel gruplar halinde sunulmuştur.

Çizelge 4.3 Karaerik çeşit,ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Karaerik	Karaerik	19. Nolu Klon	23. Nolu Klon	15. Nolu Klon	30. Nolu Klon	18. Nolu Klon	13. Nolu Klon
Karaerik	1						
19. Nolu Klon	0,849	1					
23. Nolu Klon	0,864	0,867	1				
15. Nolu Klon	0,846	0,84	0,952	1			
30. Nolu Klon	0,846	0,848	0,952	0,99	1		
18. Nolu Klon	0,841	0,844	0,947	0,976	0,976	1	
13. Nolu Klon	0,824	0,826	0,929	0,976	0,976	0,98	1

Çizelge 4.4 Osmanca çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Osmanca	Osmanca 39	Osmanca 26	Osmanca 40	Osmanca 21	Osmanca 38	Osmanca
Osmanca 39	1					
Osmanca 26	0,809	1				
Osmanca 40	0,807	0,759	1			
Osmanca21	0,747	0,752	0,831	1		
Osmanca 38	0,725	0,722	0,762	0,775	1	
Osmanca	0,748	0,679	0,689	0,68	0,681	1

Çizelge 4.5 Yapıncak çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Yapıncak	Yapıncak 13	Yapıncak 132	Yapıncak
Yapıncak 13	1		
Yapıncak 132	0,747	1	
Yapıncak	0,699	0,677	1

Çizelge 4.6 Ada Karası çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Ada Karası	Ada Karası 153	Ada Karası 157	Ada Karası	Ada Karası (146)
Ada Karası 153	1			
Ada Karası 157	0,78	1		
Ada Karası	0,728	0,725	1	
Ada Karası (146)	0,657	0,653	0,688	1

Çizelge 4.7 Kozak Beyazı çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Kozak Beyazı	Kozak Beyazı 270	Kozak Beyazı 292	Kozak Beyazı	Kozak Beyazı 222
Kozak Beyazı 270	1			
Kozak Beyazı 292	0,764	1		
Kozak Beyazı	0,779	0,798	1	
Kozak Beyazı 222	0,682	0,696	0,722	1

Çizelge 4.8 Semillion çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Semillion	Semillion 197	Semillion	Semillion 225	Semillion 171
Semillion 197	1			
Semillion	0,696	1		
Semillion 225	0,703	0,761	1	
Semillion 171	0,691	0,737	0,781	1

Çizelge 4.9 Clairette çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Clairette	Clairette 377	Clairette 156	Clairette 124	Clairette
Clairette 377	1			
Clairette 156	0,788	1		
Clairette 124	0,759	0,73	1	
Clairette	0,799	0,77	0,729	1

Çizelge 4.10 Kara Sakız çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Kara Sakız	Kara Sakız 160	Kara Sakız 7	Kara Sakız	Kara Sakız 103	Kara Sakız 64
Kara Sakız 160	1				
Kara Sakız 7	0,692	1			
Kara Sakız	0,728	0,77	1		
Kara Sakız 103	0,71	0,757	0,822	1	
Kara Sakız 64	0,668	0,714	0,732	0,79	1

Çizelge 4.11 Hafızali çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Hafızali	Hafızali	Hafızali 20	Hafızali193	Hafızali183	Hafızali	Hafızali 6
Hafızali	1					
Hafızali 20	0,789	1				
Hafızali193	0,782	0,796	1			
Hafızali183	0,762	0,781	0,768	1		
Hafızali	0,528	0,522	0,523	0,549	1	
Hafızali 6	0,563	0,568	0,542	0,583	0,496	1

Çizelge 4.12 Hamburg Misketi çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Hamburg Misketi	Hamburg Misketi 58	Hamburg Misketi 13	Hamburg Misketi 6	Hamburg Misketi	Hamburg Misketi 58	Hamburg Misketi 52
Hamburg Misketi 58	1					
Hamburg Misketi 13	0,783	1				
Hamburg Misketi 6	0,734	0,762	1			
Hamburg Misketi	0,698	0,746	0,764	1		
Hamburg Misketi 58	0,505	0,563	0,557	0,532	1	
Hamburg Misketi 52	0,503	0,55	0,533	0,514	0,915	1

Çizelge 4.13 Gamay çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Gamay	Gamay	Gamay 365	Gamay 192	Gamay 212
Gamay	1			
Gamay 365	0,782	1		
Gamay 192	0,669	0,716	1	
Gamay 212	0,732	0,782	0,695	1

Çizelge 4.14 Papaz Karası çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Papaz Karası	Papaz Karası 207	Papaz Karası	Papaz Karası 289	Papaz Karası 194
Papaz Karası 207	1			
Papaz Karası	0,776	1		
Papaz Karası 289	0,738	0,746	1	
Papaz Karası 194	0,689	0,764	0,796	1

Çizelge 4.15 Cinsout çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Cinsout	Cinsout	Cinsout 404	Cinsout 357
Cinsout	1		
Cinsout 404	0,816	1	
Cinsout 357	0,813	0,851	1

Çizelge 4.16 Kozak Siyahı çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Kozak Siyahı	Kozak Siyahı 198	Kozak Siyahı 250	Kozak Siyahı (181)	Kozak Siyahı
Kozak Siyahı 198	1			
Kozak Siyahı 250	0,73	1		
Kozak Siyahı (181)	0,795	0,711	1	
Kozak Siyahı	0,809	0,672	0,758	1

Çizelge 4.17 Çavuş çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Çavuş	Çavuş	Bozcaada Çavuşu 98	Bozcaada Çavuşu 275	Bozcaada Çavuşu 161	Bozcaada Çavuşu	Beyaz Çavuş 36	Beyaz Çavuş 41	Beyaz Çavuş 13
Çavuş	1							
Bozcaada Çavuşu 98	0,647	1						
Bozcaada Çavuşu 275	0,7	0,742	1					
Bozcaada Çavuşu 161	0,754	0,716	0,767	1				
Bozcaada Çavuşu	0,684	0,745	0,704	0,661	1			
Beyaz Çavuş 36	0,526	0,594	0,578	0,54	0,581	1		
Beyaz Çavuş 41	0,498	0,605	0,555	0,529	0,553	0,744	1	
Beyaz Çavuş 13	0,505	0,591	0,552	0,531	0,556	0,759	0,798	1

Çizelge 4.18 Yuvarlak Çekirdeksiz çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Yuvarlak Çekirdeksiz	Yuvarlak Çekirdeksiz 5	Yuvarlak Çekirdeksiz 7	Yuvarlak Çekirdeksiz 8	Yuvarlak Çekirdeksiz
Yuvarlak Çekirdeksiz 5	1			
Yuvarlak Çekirdeksiz 7	0,795	1		
Yuvarlak Çekirdeksiz 8	0,738	0,72	1	
Yuvarlak Çekirdeksiz	0,677	0,714	0,676	1

Çizelge 4.19 İpek (Pek) Üzümlü çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

İpek(Pek) Üzümlü	İpek (Pek) Üzümlü 4	İpek (Pek) Üzümlü 13	İpek (Pek) Üzümlü 25	İpek (Pek) Üzümlü
İpek (Pek) Üzümlü 4	1			
İpek (Pek) Üzümlü 13	0,813	1		
İpek (Pek) Üzümlü 25	0,75	0,703	1	
İpek (Pek) Üzümlü	0,763	0,749	0,667	1

Çizelge 4.20 Pembe Gemre çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Pembe Gemre	Pembe Gemre 6	Pembe Gemre 11	Pembe Gemre 12	Pembe Gemre
Pembe Gemre 6	1			
Pembe Gemre 11	0,724	1		
Pembe Gemre 12	0,68	0,732	1	
Pembe Gemre	0,664	0,727	0,671	1

Çizelge 4.21 Çalkarası çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Çalkarası	Çalkarası 1	Çalkarası 12	Çalkarası 18	Çalkarası 29	Çalkarası 10	Çalkarası
Çalkarası 1	1					
Çalkarası 12	0,733	1				
Çalkarası 18	0,732	0,747	1			
Çalkarası 29	0,729	0,78	0,793	1		
Çalkarası 10	0,754	0,755	0,851	0,808	1	
Çalkarası	0,754	0,734	0,713	0,794	0,741	1

Çizelge 4.22 Cardinal çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Cardinal	Cardinal	Cardinal X	Cardinal X2 18.Sıra 3.Omca	E_Cardinal
Cardinal	1			
Cardinal X	0,718	1		
Cardinal X2 18.Sıra 3.Omca	0,617	0,741	1	
E_Cardinal	0,467	0,478	0,518	1

Çizelge 4.23 41B anaç ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

41 B	41B 13	41B 8	41 B 2.Sıra 3.Omca
41B 13	1		
41B 8	0,804	1	
41 B 2.Sıra 3.Omca	0,637	0,615	1

Çizelge 4.24 420 A anaç ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

420 A	420A 13	420A 19	420A 2.Sıra 3.Omca
420A 13	1		
420A 19	0,839	1	
420A 2.Sıra 3.Omca	0,602	0,589	1

Çizelge 4.25 LOT anaç ve klonuna ait AFLP benzerlik oranları

LOT	LOT	LOT 105
LOT	1	
LOT 105	0,732	1

Çizelge 4.26 1103 P klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

1103 P	1103p 24-14	1103p 17116
1103p 24-14	1	
1103p 17116	0,711	1

Çizelge 4.27 R110 anaç ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

R110	R110-30	R110-26	R110	R110-20	R110-19
R110-30	1				
R110-26	0,726	1			
R110	0,797	0,754	1		
R110-20	0,692	0,657	0,739	1	
R110-19	0,785	0,736	0,822	0,715	1

Çizelge 4.28 Kalecik Karası klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Kalecik Karası	Kalecik Karası 9	Kalecik Karası 12	Kalecik Karası 15
Kalecik Karası 9	1		
Kalecik Karası 12	0,941	1	
Kalecik Karası 15	0,945	0,959	1

Çizelge 4.29 Müşküle çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Müşküle	Müşküle	Müşküle 59	Müşküle 58	Müşküle
Müşküle	1			
Müşküle 59	0,544	1		
Müşküle 58	0,553	0,841	1	
Müşküle	0,54	0,813	0,92	1

Çizelge 4.30 Erenköy Beyazı çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

Erenköy Beyazı	Erenköy Beyazı	Erenköy Beyazı 27	Erenköy Beyazı 29
Erenköy Beyazı	1		
Erenköy Beyazı 27	0,543	1	
Erenköy Beyazı 29	0,546	0,801	1

Çizelge 4.31 Razakı çeşit ve klonlarına ait AFLP benzerlik oranları

	Razakı	Razakı 16	Razakı 21	Razakı 18	Razakı	Burdur Razakısı (Horozköy Germe)	Burdur Razakısı Gökçebağ 12'nin Yanındaki Bağ	Siyah Razakı	Foça Razakısı	Burdur Razakısı (Gökçebağ 12)	Burdur Razakısı 1.Nolu Bağ İsa Balbağ	Razakı Denizli Çivril	Razakı 65	Razakı 1	Razakı 73
Razakı	1														
Razakı 16	0,638	1													
Razakı 21	0,618	0,769	1												
Razakı 18	0,637	0,74	0,839	1											
Razakı	0,655	0,761	0,702	0,683	1										
Burdur Razakısı (Horozköy Germe)	0,629	0,608	0,649	0,625	0,644	1									
Burdur Razakısı Gökçebağ 12'nin Yanındaki Bağ	0,599	0,596	0,636	0,612	0,651	0,804	1								
Siyah Razakı	0,514	0,531	0,5	0,523	0,517	0,494	0,543	1							
Foça Razakısı	0,532	0,505	0,485	0,491	0,464	0,484	0,526	0,726	1						
Burdur Razakısı (Gökçebağ 12)	0,531	0,6	0,553	0,575	0,54	0,525	0,543	0,671	0,687	1					
Burdur Razakısı 1.Nolu Bağ İsa Balbağ	0,553	0,605	0,559	0,569	0,541	0,493	0,515	0,654	0,662	0,778	1				
Razakı Denizli Çivril	0,551	0,569	0,545	0,555	0,522	0,547	0,566	0,736	0,753	0,684	0,673	1			
Razakı 65	0,547	0,577	0,519	0,535	0,523	0,514	0,514	0,614	0,63	0,679	0,748	0,649	1		
Razakı 1	0,595	0,603	0,546	0,567	0,567	0,56	0,542	0,611	0,626	0,68	0,754	0,691	0,83	1	
Razakı 73	0,58	0,582	0,542	0,569	0,552	0,55	0,544	0,647	0,635	0,676	0,765	0,687	0,786	0,863	1

10 AFLP primer kombinasyonu kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyonlarda, Beckman CEQ fragment analysis software kullanılarak elde edilen ham veriler değerlendirilerek yapılan MVSP software package version 3.1 (Kovach 1999) programı ile oluşturulan dendogram şekil 4.17’de sunulmuştur.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Teknolojik alandaki ilerlemelerin ülkelerin kalkınmasında temel unsur olduğu günümüzde, biyolojik sistemlerin kullanılarak fayda elde edilmesini amaçlayan modern biyoteknoloji uygulamaları özellikle tarım sektörü başta olmak üzere birçok alanda yenilikler sunmaktadır.

Modern biyoteknoloji uygulamaları etkin bir araç olup, bu teknolojinin geliştirilmesi ve belirlenen hedefler doğrultusunda kullanılması farklı sonuçlar ortaya çıkarabilecektir. Bu nedenle, belirlenen hedefler doğrultusunda söz konusu uygulama alanlarında yetkinleşmek önem arz etmektedir.

Öyleki, dünyanın da dikkatini çeken Türkiye'nin tarımsal biyolojik çeşitliliği ve zengin bitki gen kaynakları, modern biyoteknoloji çalışmalarının yapılabilmesi için önemli bir potansiyeli ortaya koymaktadır.

İslahın en önemli aşaması olan seleksiyonun kriterlerini oluşturan verim, kalite, çekirdeksizlik, olgunlaşma zamanı, tane rengi, salkım şekli, anacın gelişme kuvveti, abiotik ve biyotik stres koşullarına dayanıklılığın belirlenmesi vb. özelliklerin belirlenmesi ve amaca uygun genotiplerin seleksiyonunun uzun yıllar alması ıslahın en önemli dezavantajını oluşturmaktadır. Kendileme depresyonu, somatik mutasyonlar ve kimeler karşılaşılan diğer problemler arasında gösterilmektedir. Başta süre olmak üzere anılan olumsuz koşulları en aza indiren yeni tekniklerin ıslah çalışmalarında kullanılmaya başlanmasıyla, modern biyoteknolojinin yarattığı olanakların asma ıslahında kullanılmaya başlanması ile birlikte, günümüzde çok daha kısa sürede etkin sonuçlar alınabilmektedir. Son yıllarda ıslah programlarında çok iri, kaliteli çekirdeksiz çeşitlerin elde edilmesi hedeflenmekte olup moleküler markörlerin kullanımını esas alan tekniklerle çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin erken seleksiyonu için çalışıldığı (Meredith 2001) bilinmektedir. Diğer taraftan, don, kuraklık, yüksek kireç, tuzluluk ile bor, ağır metal toksitesi gibi abiyotik stres koşullarından meydana gelen problemlerin çözümü

için de genetik kontrol mekanizmalarının ortaya çıkarılması yeni yaklaşımlar olarak karşıımıza çıkmaktadır.

Bu bağlamda, moleküler markörlerin ıslah çalışmalarındaki sürecin daha kısa olmasına imkân tanınmasının yanı sıra tekniğın her geçen gün gelişmesiyle de daha güvenilir sonuçlar elde edilebilmektedir. Moleküler tekniklerin günden güne geliştirilerek bitki ıslahında kullanılması sonucunda asma ıslahı da daha bilinçli ve sistemli olarak yapılmaya başlanmıştır.

Nitekim, ıslah çalışmalarında genetik analizler, klonlar arasındaki farklılığı ortaya çıkarmada ve klon tanımlamalarında kullanılan etkin bir araçtır. Klonların korunması, farklılıkların belirlenmesi, tanımlanması için ampelografik tanımlamalar yeterli olmamaktadır (Regner vd. 2000). Bu amaçla kullanılan moleküler tekniklerden AFLP tekniğı genel anlamda, total DNA'nın kesim aşaması tamamlandıktan sonra PCR yöntemiyle amplifikasyonu temeline dayanmaktadır. Çok az oranda DNA ile tek bir reaksiyon neticesinde dahi çok sayıda pik vermesi tekniğın en önemli avantajı olarak ifade edilebilir.

Diğerk taraftan, AFLP markörler yüksek stabilite göstermelerinden dolayı klonal asma materyalinin karakterizasyonu ile ilgili verileri saptamak için uygun teknikler olarak gösterilmektedir (Regner vd. 2001).

Bahse konu tekniğın uygulandığı bu alışma, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Laboratuvarları ile Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'nda yürütölmüştür. Söz konusu araştırma temelde iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Bu aşamalar; AFLP reaksiyonlarının uygulanması ve elde edilen sonuçların değerkendirilmesidir.

Farklı primer kombinasyonları kullanılarak aralarından en iyi sonuç verdiğı tespit edilen 10 AFLP primer kombinasyonu ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda, Beckman CEQ fragment analysis software kullanılarak elde edilen ham veriler değerkendirilmiş olup

MVSP software package version 3.1 (Kovach 1999) programı ile oluşturulan dendogram ise Şekil 4.17’de sunulmuştur. Kullanılan her bir primer kombinasyonunda fragment sayısı 39 ile 63 arasında değişmiştir. Kombinasyonlar nükleotid büyüklüğü olarak 57-508 arasında fragment uzunluğu vermiştir. Polimorfizmi tespit etmek için her bir fragment görsel olarak analiz edilmiştir. Toplamda farklı fragment sayısı 275 olarak bulunmuştur. Toplamda polimorfizm ise %87,8 olarak tespit edilmiştir. Polimorfizm oranı % 100 olarak bulunan primer kombinasyonları; ESEL22-MSEL7, ESEL22-MSEL2, ESEL22-MSEL6, AFLPC-MSEL6 ve AFLPC-MSEL7’dir. Diğer kombinasyonların oranı ise %34,8 ile %93,7 arasında değişmiştir. En az polimorfizm oranı ESEL32-MSEL7 primer kombinasyonunda görülmüştür. Bu doğrultuda, söz konusu polimorfizm oranı oldukça yüksek olup çalışmada klonal polimorfizmin kesin olarak sağlandığı görülmektedir.

Söz konusu AFLP genetik ilişki dendogramı (Şekil 4.17) incelendiğinde dendogramın temel olarak 2 farklı gruba ayrıldığı görülmektedir. Birinci grup ve ikinci grupta kendi aralarında farklı alt gruplar oluşturmuştur. Çeşit ve anaçlar ile bu çeşit ve anaçlara ait klonlar temel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır. Ancak, bazı çeşit ve klonların ise farklı gruplar içerisine dağılmış olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin, Parmak genotipi Burdur Razakısı genotiplerinin olduğu grupta yer almıştır. Benzer şekilde, Amasya Beyazı 175 klonu Razakı genotipi içerisinde, Yapıncak 13 klonu, Semillion 225 klonu ile aynı grup içerisinde yer almıştır. LOT ve LOT 105 anaç ve klonları ise Bozcaada Çavuşu klonları ile yakın grupta yer almıştır. Razakı genotipi ile Razakı 16 klonunun ise Pembe Gemre ile İpek (Pek) üzümü genotiplerinin grubu ile aynı grup içerisinde yer aldığı görülmüştür. Ayrıca, Karaerik çeşidinin klonları ve Kalecik karası klonları kendi aralarında yüksek oranda benzerlik göstererek aynı grup içerisinde yer almıştır. Referans olarak kullanılan çeşitlerden Cabernet Sauvignon ve Merlot ise dendogramda diğer gruplardan farklı olarak bir grup içerisinde yerlerini almıştır. Referans çeşitlerden Pino Noir da genel anlamda diğer çeşitlerden uzak bir grupta yer almıştır. Ancak, Royal ve Kozak Beyazı çeşitleri de diğer çeşitlerden ayrılarak farklı bir dallanma göstermiştir.

Klonal varyasyonun belirlenmesi amacı ile aşağıdaki tablolarda verildiği gibi AFLP markörler açısından genotiplerin %95-99 ve %95-90 benzerlikleri sınıflandırılmıştır. Bu sonuçlar aşağıda sunulmuştur.



%95-99 benzerlik gösteren genotipler

- Karaerik 15 - Karaerik 30
- Karaerik 13 - Karaerik 18
- Karaerik 15 - Karaerik 18
- Karaerik 13 - Karaerik 15
- Karaerik 13 - Karaerik 30
- Karaerik 15 - Karaerik 23
- Karaerik 23 - Karaerik 30
- Karaerik 30 - Karaerik 18
- Kalecik Karası 12 - Kalecik Karası 15



%95-90 benzerlik gösteren genotipler

- Müşküle (Yalova) - Müşküle 58 (Yalova)
- Hamburg Misketi 52 (Yalova) - Hamburg Misketi 58 (Yalova)
- Karaerik 18 - Karaerik 23
- Karaerik 13 - Karaerik 23
- Kalecik Karası 9 - Kalecik Karası 12
- Kalecik Karası 9 - Kalecik Karası 15

AFLP benzerlik oranları değerlendirildiğinde, genotipler arasındaki benzerlik oranlarının % 95-99 ile % 39-41 arasında değiştiği gözlenmiştir. Farklı genotipler arasındaki en yüksek benzerlik oranı % 84 ile Bilecik İri Karası ve Kozak Siyahı 198 genotiplerinde görülmüştür. Klonlar arasındaki en yüksek benzerlik oranı ise % 99 ile Karaerik çeşidinin 15 ve 30 no'lu klonlarında görülmüştür. Farklı genotipler arasındaki en düşük benzerlik oranı %39 ile Hafızali ve Siyah Razakı; % 41 ile Hafızali ve Royal, %40 ile Foça Razakısı ve Cardinal-Cardinal X ve Kozak Beyazı-Hafızali arasında görülürken, klonlar arasındaki en düşük benzerlik oranı ise %50 ile Hamburg Misketi

52 (Yalova) ve Hamburg Misketi 58 (Tekirdağ) yine Hamburg Misketi 58 (Tekirdağ) ve Hamburg Misketi 58 (Yalova), % 54 ile Hafızali 6 ve Hafızali 193, % 56 ile Hafızali 6 ve Hafızali 20, % 58 ile Hafızali 6 ve Hafızali 183, % 65 ile R110-26 ve R110-20, % 65 ile Ada Karası 146 ve Ada Karası 157, % 66 ile Karasakız 64 ve Karasakız 160 genotiplerinde görülmüştür. Dendogram üzerinde uzak dallanma gösteren 1103 Paulsen klonlarının benzerlik oranı ise % 71 olarak bulunmuştur. Aynı çeşidin klonları arasındaki benzerlik oranlarının düşüklüğü farklı coğrafi alanlardan seleksiyonla seçilmiş olmaları nedeniyle genetik farklılıkları meydana getiren çeşitli faktörlerden kaynaklanabileceği şeklinde ifade edilebilir. Ayrıca, dendogramda genetik olarak birbirine uzak olan genotiplerin asma ıslah çalışmalarında genetik kaynak olarak değerlendirilebilecekleri düşünülmektedir.

Cervera vd.'nin 1998 yılında 67 farklı asma genotipi ile AFLP yöntemini kullandıkları çalışmada yüzde 70 ile yüzde 90 arasında benzerlik gösteren aksesyonların farklı genotipler olarak, yüzde 90 üzerinde benzerlik gösteren aksesyonların ise aynı çeşide ait klonlar olarak yorumlanabileceği ifade edilmiştir. Bu çalışmada yüzde 90 üzerinde genetik benzerlik bulgularına ulaşılmış olup söz konusu oran çeşit ile klonu ve çeşitlere ait klonlar ve arasında görülmüştür.

Ergül vd. (2006), önemli sofralık üzüm çeşitlerinin bulunduğu misket ve parmak grubu üzüm çeşitlerinin genetik benzerliklerini AFLP yöntemi ile araştırmışlardır. UPGMA metodu ile elde edilen dendogram analizlerinde her iki grup içerisinde de homonim ve sinonimlerin mevcut olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgulardan Hamburg Misketi klonları arasındaki benzerlik oranı da %91 gibi yüksek bir oranda bulunmuştur.

Yalova Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü'nden alınan 130 nolu "Müşküle" genotipi ile Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nden alınan 59 nolu "Müşküle" genotipi aynı isimle adlandırılmalarına rağmen birbirlerine genetik benzerlik oranı %54 olarak bulunmuştur. Ancak, Yalova Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü'nden alınan bu genotip ve klonlarının birbirlerine benzerlik oranları nispeten yüksek bulunmuştur. Bu

durumda, aynı isimle adlandırılan söz konusu çeşidin genetik olarak benzer olmadığı görülmüştür.

Fossati vd.'nin 2001 yılında yapmış oldukları araştırmada çeşitler arasındaki genomik benzerliği belirlemek amacıyla “Schiave” grubuna ait 10 üzüm çeşidi üzerinde AFLP ve SSR teknikleri birlikte kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda söz konusu “Schiave” grubunda homonim ve sinonimlerin belirlenmesi amacıyla 33 çeşitte AFLP analizi yapılmış ve genetik farklılığın derecesi belirlenmiştir. Bu tez çalışması sonucunda 154 bireyin birbirlerine olan genetik farklılık dereceleri belirlenmiştir.

2010 yılında Sabır ve vd.'nin anaçlar üzerinde yapmış oldukları araştırmada genetik ilişki dendogramında 41B ve 420A anaçları birbirlerine uzak bir dallanma göstermiştir. Bu çalışma sonucunda da söz konusu anaçların benzerlik oranı % 55 olarak bulunmuş olup bu iki çalışma sonucu birbirlerini destekler niteliktedir.

Meneghetti vd.'nin 2011 yılında klonal tanımlama ve genetik uzaklıkların belirlenmesi amacıyla yaptıkları araştırma sonucunda elde edilen dendogramda 53 Garnacha aksesyonunda klonların kendi içlerinde alt gruplar oluşturduğu belirtilmekte olup bu tez çalışmasında da klonlar arası genetik uzaklık ortaya konulmuş ve neticede klonal grupların genel anlamda birbirlerinden çok uzak bir dallanma göstermediği sonucuna varılmıştır.

Klonların tanımlanmasında ve farklılıkların ortaya konulmasında moleküler markörler önemli bir araç olup Ulrike ve vd.'nin 2011 yılında yapmış oldukları çalışmada Vitis vinifera'a ait 86 Riesling klonunda polimorfizmi belirlemek için AFLP markörler kullanılmıştır. Sonuçta klonların stabil olmadıkları ve genomda değişimler olabileceği ifade edilmiştir. Elde edilen sonuçlar klonlar arasındaki farklılığın belirlendiği bu çalışma sonucuyuda uyumluluk göstermektedir.

Bununla beraber, genel olarak bitkilerde üretim generatif ve vejetatif olmak üzere iki şekildedir. Vejetatif üretim şekli asmalarda da önem taşımaktadır. Asmanın generatif

yolla üretilmesi halinde çoğunlukla omcalar genetik bakımdan varyasyonlara ve istenmeyen özelliklere sahip olmaktadır. Diğer taraftan, çelik ile üretilen üzüm çeşitlerinin alındıkları omcanın özelliklerini aynen göstermeleri beklenmektedir. Ancak, aynı çeşitten kurulu bağlarda omcalar arasında verim ve kalite özellikleri bakımından farklılıkların olduğu da bağcılık alanında çalışma yapan araştırmacılar tarafından belirlenmiş olup bu farklılıkların; çevre şartları (toprak, mikroklima, diğer kültürel şartlar), mutasyonlar, klonların değişik orijinlerden gelmiş olmaları ve Virüs enfeksiyonları olmak üzere temelde dört sebepten oluştuğu ifade edilmiştir (Gökbulut 2014).

Martínez-Zapater vd. 2000 yılında yapmış oldukları çalışma sonucunda birbirine yakın genotipler arasındaki ve hatta aynı çeşide ait klonlar arasındaki genetik uzaklığın tespit edilmesinde AFLP tekniğinin çok etkili bir yöntem olduğunu ifade etmişlerdir. Bu tez çalışmasının bulguları da birbirine yakın ve farklı genotipler ile klonlar arasındaki genetik ilişkiyi orataya koyarak genetik benzerlik oranlarını göstermiştir.

Bu tez çalışmasında üzüm çeşitlerinin yanı sıra bazı anaçlar ve bu anaçlara ait klonlarda analiz edilmiştir. Bu doğrultuda, Ergül vd.'nin 2010 yılında 20 asma anacı üzerinde yapmış oldukları araştırmada AFLP yöntemi kullanılmış toplamda polimorfizm yüzde 65 olarak bulunmuştur. Ayrıca, 1103P, du Lot, 5BB dendogramda aynı alt grupta ve birbirlerine yakın uzaklıkta yer almışlardır. Bu tez çalışması ile de 1103P 17/16 ile Lot 105'in benzerlik oranı ve 5 BB 56 ile Lot 105'in benzerlik oranı yüzde 70 olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak, AFLP markörlerle yapılan bu çalışmada klonal tanımlamalarda ayırım gücünün yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Asma gen kaynaklarının AFLP yöntemiyle tanımlandığı bu araştırmada, elde edilen bulgular diğer tanımlama çalışmaları için ışık tutacaktır. Bununla beraber, araştırma sonuçları Türkiye'de yürütülecek ıslah, çoğaltma, çeşit tescili gibi diğer bağcılık faaliyetlerine örnek arz ederek faydalı olacaktır. Ayrıca, moleküler filogenetikteki tekniksel ilerlemeler (SNP: Single Nucleotide Polymorphism- Tek Nükleotid Polimorfizmi), mevcut materyalin klonal teyitlerinde ileriye yönelik katkılar sağlayacaktır.

Ülkemizdeki asma gen potansiyelinin tanımlanarak korunması son derece önemlidir. Bu nedenle son yıllarda yaygınlaşan ve gelişen modern biyoteknoloji teknikleri kullanılarak yapılan araştırmalar ülke asma gen kaynaklarının korunmasına büyük katkı sağlayacak ve kaliteli üretimi artıracaktır.



KAYNAKLAR

- Anonim. 2016a. Web Sitesi: www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 Erişim Tarihi: 12.12.2016
- Anonim. 2016b. Web Sitesi: http://tarim.gov.tr/arayuz/9/icerik.asp?efl=sanal_kutuphane2/sozluk/anasayfahtm&curdir=%5Csanal_kutuphane2%5Csozluk&fl=diger.htm Erişim Tarihi: 11.10.2016
- Anonim. 2016c. Web Sitesi: <http://arastirma.tarim.gov.tr/bagcilik> Erişim Tarihi: 09.10.2016
- Anonim. 2016. Kalkınma Bakanlığı. Onuncu Kalkınma Planı (2014-2018), “2017 Yılı Programı”, 316, Ankara.
- Anonymous. 2016a. Web Sitesi: <http://fao.org/faostat/en/#data> Erişim Tarihi: 09.11.2016
- Anonymous. 2016b. Web Sitesi: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdquery.aspx/> Erişim Tarihi: 28.11.2016
- Ağaoğlu, Y.S., Marasalı, B. ve Ergül, A. 1998. Asma ıslahında son gelişmeler. IV. Bağcılık Sempozyumu, 20-23 Ekim, Yalova. 9-16 s.
- Ağaoğlu, Y.S. 1999. Bilimsel ve Uygulamalı Bağcılık, Cilt 1 Asma Biyolojisi, Kavaklıdere Eğitim Yayınları No:1
- Ağaoğlu, Y. S. 2002. Bilimsel ve Uygulamalı Bağcılık (Asma Fizyolojisi I). Kavaklıdere Eğitim Yayınları, No: 5. 445 s.
- Akkurt, M., Welter, L., Töpfer, R. and Zyprian, E. 2007. Development of SCAR markers linked to downy mildew (*Plasmopora viticola*) resistance in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*.
- Alleweldt, G. and Possingham, J.V. 1988. Progress in grapevine breeding. *Theor. Appl. Genet.* 75:669-673.
- 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., Primikiris, N., Risovannaya, V., Roubelakis-Angelakis, K.A., Snoussi, H., Sotiri, P., Tamhankar, S., This, P., Troshin, L., Malpica, J.M., Lefort, F. and Martinez-Zapater, J.M. 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms, *Molecular Ecology* 15 (12) , 3707-3714.

- Ayanoğlu, H., Bayazıt, S., İnan G., Bakır M., Akpınar ,A. E., Kazan, K. and Ergül, A. 2007. “AFLP Analyses of Genetic Diversity in Turkish Green Plum Accessions (*Prunus cerasifera* L.) Adapted to the Mediterranean Region”. *Scientia Horticulturae* 114: 263-267.
- Bakır, M. 2012.“Asma Çeşit ve Anaçlarında Kuraklık ve Tuz Stresi Toleransına Yönelik Mikrodizin Analizleri ve Stres İle İlgili Transkriptomların Tespiti” Ankara Üniversitesi. Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Doktora Tezi. 179 s.
- Baranek, M., Krizan, B., Raddová, J., Ondrusíková, E. and Pidra, M. 2009. “AFLP-Derived Methods As A Tool For Study Of Genomic, Epigenomic And Transcriptomic Changes In Stressed Grapevine Plants”. *Acta Horticulture*.839-79.
- Bayazıt, S., Kazan, K., Gülbitti, S., Cevik, V., Ayanoğlu, H. and Ergül, A. 2007. “AFLP analysis of genetic diversity in low chill requiring walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Hatay,Turkey” *Scientia Horticulturae* 111, 394-398.
- Bellin, D., Velasco, R. and Grando, M.S. 2001. Intravarietal DNA polymorphisms in grapevine (*V. vinifera* L.). *Proc. Int. Sym. on Molecular Markers. Acta Horticulture*, 546; 343-349.
- Blaich, R., Konradi, J., Ruhl, E. and Forneck, A. 2007. “Assessing Genetic Variation among Pinot noir (*Vitis vinifera* L.) Clones with AFLP Markers”. *Am. J. Enol. Vitic.* 58: 526-529.
- 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: 628–663.
- Buchanon, G.A., and Amos, T.G. 1992. “Grape pests”. Ed.: B.G. Coombe and P.R. Dry, *Viticulture Vol.2*:209-231. Winetitles, Adelaide.
- Cabezas, J.A, Cervera, M.T., Arroyo-García, R., Ibañez, J., Rodríguez-Torres, I., Borrego, J., Cabello, F. and Martínez-Zapater, J.M. 2003. Garnacha and Garnacha Tintorera: genetic relationships and origin of teinturier varieties cultivated in Spain. *Amer J Enol Viticul* 54: 237-245
- Cervera, M.T., Cabezas, J.A., Sancha, J.C., Martinez de Toda, F. and Martinez-Zapater, J.M. 1998. Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources. A case study with accessions from Rioja (Spain). *Theor. Appl. Genet.* 97: 51–59.
- Crespan, M. and Milani, N. 2001. The Muscats: a molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationships within a large family of grapevine cultivars. *Vitis*, 41: 23–30.

- Çakır, A. 2011. “Bağcılıkta Abiyotik Stres Koşullarına Yönelik Melezlemelerden Kuraklık ve Tuz Stresine Toleranslı Ümitvar Tiplerin Elde Edilmesi”. Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri ABD. 220 s.
- Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Marasalı, B. ve Söylemezoğlu, G. 1998. Genel Bağcılık. Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi: 1, Ankara.253s.
- Çelik, H., Çelik, S., Kunter Marasalı, B., Söylemezoğlu, G., Boz, Y., Özer, C., and Atak, A. 2005. Bağcılıkta Gelişme ve Üretim Hedefleri (Development and future prospects in Turkish viticulture). Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 565–588.
- Çelik, H., Çelik, S., Kunter, B., Söylemezoğlu, G., Ergül, A., Çelik, H., Karataş, H.,Özdemir, G. ve Atak, A. 2010. Bağcılıkta Gelişme ve Üretim Hedefleri. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 493–513.
- Dalbó, M.A. 1998. Genetic mapping, QTL analysis and marker-assisted selection for disease resistance loci in grapes. Ph.D. Thesis, Cornell Univ., Geneva, USA.
- Dettweiler, E. and Eibach, R. 2003. The two *Vitis* Databases as Tools for Germplasm Management: *Vitis* International Variety Catalogue and European *Vitis* Database. In: Hajdu E, Borbas E (eds) Proceedings of the VIIIth Intl Symposium on Grapevine Genetics and Breeding, Kecskemet, Hungary, 2003, vol. 2. pp 505-509
- Ergönül, O., Özer, C., Orhan Özalp, Z., Yaşasın, A.S., Candar, S., Kiracı, M.A., Aydın, S., Boz, Y. ve Öztürk, L. 2015. Melezleme Yoluyla Erkenci ve Son Turfanda Üzüm Çeşitlerinin Elde Edilmesi. Proje Sonuç Raporu.
- Ergül, A. 1992. Bağcılıkta melezleme ıslahı. Yüksek Lisans Semineri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri ABD, Ankara. 92 s.
- Ergül, A. 1997. Asmanın sitolojik yapısı ve özel amaçlar açısından asma ıslahının esasları. Doktora Semineri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri ABD, Ankara. 25 s.
- Ergül, A. 2000. Asmalarda (*Vitis vinifera* L. cv) genomik DNA parmak izi analizi ile moleküler karakterizasyon. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri ABD. 86 s.
- Ergül, A., Aras, S., Söylemezoğlu, G. ve Ağaoğlu, Y. S. 2002. “Kalecik karası Üzüm Çeşidi Klonlarında AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Tekniği ile Polimorfizmin Belirlenmesi”, Türkiye V. Bağcılık ve Şarapcılık Sempozyumu. Bildiriler 5-9 Ekim 2002, s:31-37
- Ergül, A., Türkoğlu, M. ve Söylemezoğlu, G. 2004. “Genetic Identification of Amasya (*Vitis vinifera* L. cvs.) Genotypes Based on AFLP Markers”. Biotechnol. & Biotechnol. Eq. P. 39-43.

- Ergül, A., Kazan, K., Aras, S., Çevik, V., Çelik, H. ve Söylemezoğlu, G. 2006. AFLP analysis of genetic variation within the two economically important Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) varietal groups. *Genome* 49, 467-495.
- Ergül, A., Aras, S. ve Söylemezoğlu, G. 2010. Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis of Grapevine Rootstock Genotypes in Turkey. *Genet. Mol. Res.* 9 (2): 811-819
- Eriş, A. 1992. Özel Bağcılık. Uludağ Üniv. Zir. Fak. Ders Notları No; 52. 212 p.
- Esteban, Ma A., Villanueva, M.J. and Lissarrague, J. R. 1999. "Effect of Irrigation on Changes in Berry Composition of Tempranillo During Maturation. Sugars, Organic Acids, and Mineral Elements". *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4); 418-434.
- Esteban, María A, Villanueva, M.J. and Lissarrague, J. R. 2001. "Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv Tempranillo (*Vitis vinifera* L) grape berries during ripening". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(4); 409-420.
- Fanizza, G., Colonna, G., Resta, P. and Ferrara, G. 1999. The effect of the number of RAPD markers on the evaluation of genotypic distances in *Vitis vinifera*. *Euphytica* 107: 45-50.
- Fanizza, G., Chaabane, R., Lamaj, F., Ricciardi, L. and Resta, P. 2003. AFLP analysis of genetic relationships among aromatic grapevines (*Vitis vinifera*). *Theor. Appl. Genet.* 107: 1043-1047.
- Fanizza, G., Chaabane, R., Ricciardi and Resta, P. 2003. Analysis of a spontaneous mutant and selected clones of cv. Italia (*Vitis vinifera*) by AFLP markers. *Vitis*, 42 (1); 27-30.
- Fidan, Y. 1985. Özel bağcılık. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yayınları 930. Ders Kitabı No: 265. 401 s.
- Fidan, Y., Çelik, H., Çelik, S ve Şeniz, V. 1986. Kalecik Karası Üzüm Çeşidinde Teksel Seleksiyon. TÜBİTAK-TOAG Proje No: 507. Sonuç Raporu. Ankara. s:28.
- Fidan, Y., Yavaş, İ ve Özışık, S. 1991. Kalecik Karası Üzüm Çeşidinde Teksel Seleksiyon. TÜBİTAK-TOAG. Proje No: 634. Sonuç Raporu. Ankara. s:127.
- Fischer, B. M., Slakhutdinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K. J., Töpher, R. and Zyprian, E. M. 2004. Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 108; 501-515 p.

- 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 the varietal group known as chiave Theor. Appl. Genet. 102: 200–205.
- Galet, P. 1979. A practical ampelography. <http://www.cabdirect.org/>. Erişim Tarihi: 16 Mart 2016.
- Grando, M.S., Frisinghelli, C. and Stefanini, M. 2000. Genotyping of Local Grapevine Germplasm. Acta Hort. 528: 183-187.
- Gökbulut, M. 2014. Erbaa ve Niksar İlçelerinde Yetiştirilen Narince Üzüm Çeşidinde Klon Seleksiyonu-I. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, asZiraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Tokat.
- Gupta, P.K., Varshney, R.K. and Prasad, M. 2002. Molecular markers: Principles and methodology. Molecular techniques in crop improvement. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Moncada, X. and Hinrichsen, P. 2007. Limited Genetic Diversity Among Clones of Red Wine Cultivar “Carmenère” as Revealed by Microsatellite and AFLP Markers. Vitis 46 (4), 174-180.
- Howell, G.S. 1987. “Vitis Rootstocks”. In: Rom, R. C., Carlson, R.F. (Eds.), Rootstocks for Fruit Crops, A Wiley PInterSciece Publication, John Wiley and Sons, NewYork, Inc, p 451–472.
- Kennedy, J. A., Matthews, M. A., and Waterhouse, A. L. 2000. Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. Phytochemistry, 55(1); 77–85.
- Kester, D.E. 1983. The Clone In Horticulture. Hortscience, 18(6), 831-837.
- Labra, M., Winfield, M., Ghiani, A., Grassi, F., Sala, F., Scienza, A., and Failla, O. 2001. Genetic studies on Trebbiano and morphologically related varieties by SSR and AFLP markers. Vitis, 40: 187–190.
- Lefort F, Lally M, Thompson, D. and Douglas GC. 1998. Morphological traits, microsatellite fingerprinting and genetic relatedness of a stand of elite oaks (Q. robur L.) at Tullyally, Ireland. Silvae Genetica 47:257–262.
- Linn, S. C., Honkoop, A. H., Hoekman, K., Van Der Valk, P., Pinedo, H. M., and Giaccone, G., 1996. p53 and P-glycoprotein are often coexpressed and are associated with poor prognosis in breast cancer. Brit. J. Cancer, 74, 63–68 p.
- Lodhi, M.A., Ye, G.N., Weeden, N.F., and Reisch, B.I. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and Vitis species. Plant Mol. Biol. Rep. 12: 6–13.

- Lopez, M., Cid, N.G., González ,M.V., Cuenca, B., Prado, M. J. and Rey, M. 2009. Microsatellite and AFLP Analysis of Autochthonous Grapevine Cultivars from Galicia (Spain), *Am. J. Enol. Vitic.* 60:2.
- Ma, Z.Q. and Lapitan, N.L.V. 1998. A comparison of amplified and restriction fragment length polymorphism in wheat. *Cereal Res. Commun.* 26: 7-13 p.
- Mackill, D.J., Zhang, Z., Redona, E.D. and Colowit, P.M. 1996. Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. *Genome* 39: 969-977 p.
- Matthews, Mark A. and Anderson, M. M. 1988. "Fruit Ripening in *Vitis vinifera* L.": Responses to Seasonal Water Deficits. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(4); 313–320.
- Matthews, M A, Ishii, R., Anderson, M. M. and O'Mahony, M. 1990. "Dependence of wine sensory attributes on vine water status". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51(3); 321–335.
- Maughan, P.J., Saghai Maroof, M.A. and Buss, G. R. 1995. Microsatellite and amplified sequence length polymorphisms in cultivated and wild soybean. *Genome* 38:715-723 p.
- Martínez-Zapater, J.M., Cabezas, J.A. and Cervera, M.T. 2000. AFLPs In Genetic Identification and Genome Analysis of Grapevines. *Acta Hort. (ISHS)* 528:105-110
- 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.
- Meredith, C.P. 2001. Grapevine Genetics. Probing the Past and Facing the Future. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, Vol.66, No:1,21-25.
- Meneghetti, S., Costacurta, A., Frare, E., Da Rold, G., Migliaro, D., Morreale, G., Crespan, M., Sotés, V. and Calò, A. 2011. "Clones identification and genetic characterization of Garnacha grapevine by means of different PCR-derived marker systems". *Mol Biotechnol.* 48(3):244-54.
- Mullins M.G., Bouquet, A. and Williams, L.E. 1992. "Biology of the grapevine". Cambridge University Press, Cambridge, England. p 239.
- Oraman, M. N. 1972. Bağcılık Tekniği II. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 470, Ders Kitabı: 162, Ankara.
- Özgen, M. ve Şehirali, S. 2002. Bitki Islahı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No:1527,Ankara, s.261.

- Prior, L., Grieve, A. and Cullis, B. 1992. "Sodium chloride and soil texture interactions in irrigated field grown sultana grapevines". II. Plant mineral content, growth and physiology. *Australian Journal of Agricultural Research*, 43(5); 1067-1083.
- Pauquet, L., Bouquet, A., This, P. and Adam-Blondon, A. F. 2001. Establishment of a Local Map of AFLP Markers Around the Powdery Mildew Resistance Gene *Rm1* in Grapevine and Assessment of Their Usefulness for Marker Assisted Selection. *Theor. Appl. Genet.* 103; 1201-1210.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S. and Rafalski, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP, and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breeding* 2:225-238 p.
- Regner, F. and Messner, R. 1993. Molekulare Differenzierung von Rebsorten Mittels RAPD-Analyse. *Mitteilungen Klosterneuburg Rebe und Wein. Obstbau und Fruechte.* 43; 160-164.
- Regner, F., Wiedeck, E. and Staldbauer, A. 2000. Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers. *Vitis* 39 (3); 103-107.
- 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.
- Regner, F. 2007. Genetische Analyse der Rebsorte Welschriesling und die Weinbaulichen Konsequenzen. *Deutsches Weinbau Jahrbuch.* 58: 139-145.
- Reisch, B. 2001. Map-based Cloning of a Powdery Mildew resistance Locus in *Vitis*. Report to the American Vineyard Foundation.
- Riaz, S., Dangl, G.S., Edwards, K.J. and Meredith, C.P. 2004. A Microsatellite Marker Based Framework Linkage Map of *Vitis vinifera* L. *Theor. Appl. Genet.* 108:864-87.
- Sabır, A., Doğan, Y. Tangolar, S. and Kafkas, S. 2010. Analysis of genetic relatedness among grapevine rootstocks by AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) markers. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(1): 210-213. Sabır
- Scott, K.D., Ablett, E.M., Lee, L.S., and Henry, R.J. 2001. AFLP markers distinguishing an early mutant of Flame Seedless grape. *Euphytica*, 113: 245-249.
- Sefc, K.M., Steinkellner, H., Wagner, H.W., Glössl, J. and Regner, F. 1997. Application of microsatellite markers to parentage studies in grapevine. *Vitis* 36 (4); 179-183.

- Sefc, K.M., Regner, F., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998a. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 37 (1); 15-20.
- Sefc, K.M., Guggenberger, S., Regner, F., Lexer, C., Glössl, J. and Steinkellner, H. 1998b. Genetic analysis of grape berries and raisins using microsatellite markers. *Vitis* 37 (3); 123-125.
- Sefc, K.M., 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.
- Sensi, E. R., Vignani, R., Rohde, W. and Biricolti, S. 1996. Characterization of genetic biodiversity with *Vitis vinifera* L. Sangiovese and Colorino genotypes by AFLP and ISTR DNA marker technology. *Vitis*, 35,183-188.
- Shidfar, M. "Moleküler Markörlerin Bağcılıkta Külleme ve Mildiyö Hastalıklarına Dayanıklı Çeşit İslahında, Marköre Dayalı Seleksiyon (Marker Assisted Selection-Mas) amaçlı Kullanılması".2014. Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri ABD. 179 s.
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. 1973. Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco, CA.
- Söylemezoğlu, G., Ağaoğlu, Y.S., Marasalı, B., Ergül, A., Çalışkan, M. ve Türkben, C. 1998. Üzüm Çeşitlerinin Yaprak Kökenli Kateşol Oksidaz (CO). Peroksidaz (PER) ve Esteraz (EST) İzoenzimlerinden Yararlanılarak Tanımlanmaları. IV. Bağ. Semp.. Yalova. 138-144.
- Söylemezoğlu, G. 2002. Development of SCAR's (Sequence Characterized Amplified Regions) to Anchor Genetic Linkage Maps in *Vitis*. *Gıda Dergisi*. 129–136.
- Söylemezoğlu, G., Boz, Y., Özer, C., Çelik, H., Türkoğlu, M. ve Ergül, A. 2005(a). İskenderiye Misketi Üzüm Çeşidinin Ülkemiz Misket Grubu Çeşitleri ile AFLP'ye Dayalı Genetik Benzerlikleri Üzerinde Bir Araştırma. Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu. 19-23. Eylül 2005.
- Söylemezoğlu, G., Çelik, H., Boz, Y., Özer, C., Türkoğlu, M. ve Ergül, A. 2005(b). Amerikan Asma anaçlarında Genetik Benzerliklerin AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Tekniği ile Moleküler Düzeyde Belirlenmesi. Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu. 19-23. Eylül 2005. Tekirdağ.
- Sipiora, M. J., and Granda, M.-J. G. 1998. Effects of Pre-Veraison Irrigation Cutoff and Skin Contact Time on the Composition, Color, and Phenolic Content of Young Cabernet Sauvignon Wines in Spain. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(2); 152–162.

- Şelli, F., Bakır, M., İnan, G., Aygün, H., Boz, Y., Yaşasın, A.S., Özer, C., Akman, B., Söylemezoğlu, G., Kazan, K. and Ergül, A. 2007. Simple Sequence Repeat-Based Assessment of Genetic Diversity in ‘Dimrit’ and ‘Gemre’ Grapevine Accessions from Turkey. *Vitis*. 46 (4); 182-187.
- This, P., Cuisset, C. and Boursiquot, J. M. 1997. Development of stable RAPD markers for the identification of grapevine rootstocks and the analysis of genetic relationships. *Am.J. Enol. Vitic.*, 48 (4); 492-501 p.
- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R. and Costantini, L. 2004. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 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. Genet.* 86: 985–990.
- Uzun, H.İ ve Sarıkaya, İ. 1996. Bazı Melez Üzüm Çeşitlerinde ve Ebeveynlerinde İzoenzim Bant Deseni Varyasyonları Üzerinde Çalışmalar. *Ankara Üniv. Zir. Fak. Derg.* 9: 1-9.
- Velasco R, Zharkikh A, Troggio M, Cartwright. D.A. and Cestaro A. 2007. A High Quality Draft Consensus Sequence of the Genome of a Heterozygous Grapevine Variety. *PLoS ONE* 2(12): e1326. doi:10.1371/journal.pone.0001326
- Vignani, R., Scali, M., Masi, E. and Cresti, M. 2002. Genomic variability in *Vitis vinifera* L. “Sangiovese” assessed by microsatellite and non-radioactive AFLP test. *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol. 5 No: 1 (www. ejb.ucv.cl).
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van De Lee, T. and Hornes, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407–4414.
- Vouillamoz, Jose F., McGovern, Patrick E., Ergul, A., Söylemezoğlu, G., Tevzadze, G., Meredith, Carol 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.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., and Zabeau, M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23; 4407-4414.
- Ye, G.N., Söylemezoğlu, G., Weeden, N.F., Lamboy, W.F., Pool, R.M. and Reisch, B.I., 1998. Analysis of the relationship between grapevine cultivars, sports and clones via DNA fingerprinting. *Vitis*, 37(1):33-38.

- Weising, K., Nybom, H., Wolf, K. and Kahl, G. 2005. DNA Fingerprinting in Plants; Principles. Methods. and Applications. Second Edition. CRC Press. 444p.
- Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucl. Acids Res. 18 (24);7213-7218.
- Welter, L.J., Baydar, N.G., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R. and Zyprian, E. 2007. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). Mol. Breeding 20; 359-374 p.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. Nuc. Acids Res.. 18; 6531-6535.
- Wolfe, W.H. 1976. Identification of grape varieties by isozyme banding patterns. Amer. J. Enol. Vitic. 43; 261-265.
- Yılmaz, F. 2008. “Ankara ve Çankırı İlleri Asma Gen Kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)’a Dayalı Genetik Karakterizasyonu” Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü” Master Tezi. 77, Ankara.
- Yılmaz, F. 2014. “Bitkisel Üretimde Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünleri İle Biyogüvenlik”. T.C. Kalkınma Bakanlığı Uzmanlık Tezi, Yayın No:2914, 221, Ankara.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Funda YILMAZ
Dogum Yeri : Ankara
Dogum Tarihi : 17.03.1982
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce ve Almanca

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

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

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

T.C. Kalkınma Bakanlığı (2009-halen devam etmekte)
Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı (2006-2009)

Yayınlar ve Kongre Sunumları

SCI Yayınlar

- Boz, Y., Bakir, M., Celikkol, B. P., Kazan, K., **Yilmaz, F.**, Cakir, B., Aslantas, S., Söylemezoglu, G., Yasasin, A. S., Özer, C., Celik, H., Ergül, A. 2011. Titel (orig.): *Genetic Characterization of Grape (*Vitis vinifera* L.) Germplasm from Southeast Anatolia by SSR Markers* Journal title: Vitis. Quelle: 50 (3) 99-106, ISSN/ISBN: 0042-7500.

Uluslararası Kongreler

- Topcu, P., **Yilmaz, F.**, Sacli, Y. 2013. “*Legal Infrastructure and Policies On Genetically Modified Organisms in Plant Production in Turkey*”, 4th Food Safety Congress, İstanbul (**sözlü sunum**).
- **Yilmaz, F.** 2017. “*Bitkisel Üretimde Genetiği Değiştirilmiş Organizmalara Yönelik Türkiye için Politika Öncelikleri ve Tedbirler*”, 1.Tarım ve Gıda Etiği Kongresi (**sözlü sunum**).

Ulusal Kongreler

- Oz , M. H., H. Aygun, S. Soydam, K. Cukadar, M. Bakir , **F. Yilmaz**, H.M. Unlu, B. Karadogan, H. Vurgun, A. Ergul. “*Molecular Analysis of East Anatolian Traditional Plum and Cherry Accessions Using SSR Markers*”, Turkey V. National Horticultural Congress, Erzurum, Turkey, 04-07 September 2007.
- Boz, Y., C. Ozer, A. S. Yasasin, B. Akman, **F. Yilmaz**, M. Bakir, S. Aslantas, S. Soydam, H. Aygun, G. Soylemezoglu, H. Celik, K. Kazan, A. Ergul. “*Identification of Grape Germplasm by High-throughput Molecular Methods-I*”, Turkey V. National Horticultural Congress, Erzurum, Turkey, 04-07 September 2007.
- Soylemezoglu, G., M. Bakir, **F. Yilmaz**, S. Aslantas, S. Soydam, Y. Boz, C. Ozer, A. Ergul “Anatolia Homeland of Viticulture: Chloroplast SSR Findings Proving That Anatolia is One of the *V. vinifera* L. Gene Centers”, Turkey V. National Horticultural Congress, Erzurum, Turkey, 04-07 September 2007.
- Bakir, M., S. Ercisli, S. Aslantas, **F. Yilmaz**, A. E. Akpinar, A. Ergul “Mikroarray (DNA Chip) Technology and Using Facilities in Horticulture”, Turkey V. National Horticultural Congress, Erzurum, Turkey, 04-07 September 2007.

Diğer Yayınlar

- **Yilmaz, F.**, “*Genetically Modified Organisms and Products with Biosafety in Plant Production*”, MoD Publication, Ankara, Turkey, November 2014.