

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAYSERİ İLİNDE YETİŞEN İĞDE GENOTİPLERİNİN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

BUKET ÇELİK KARADEMİR

ORDU 2015

TEZ ONAYI

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Buket ÇELİK KARADEMİR tarafından hazırlanan Prof. Dr. Turan KARADENİZ ve Doç. Dr. Aydın UZUN danışmanlığında hazırlanan “ Kayseri İlinde Yetişen İğde Genotiplerinin Moleküler Karakterizasyonu” adlı bu tez jürimiz tarafından 30/11/2015 tarihinde Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Turan KARADENİZ

II. Danışman : Doç. Dr. Aydın UZUN

Başkan : Prof. Dr. Turan KARADENİZ
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ordu
Üniversitesi

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Abdullah OSMANOĞLU
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Bingöl
Üniversitesi

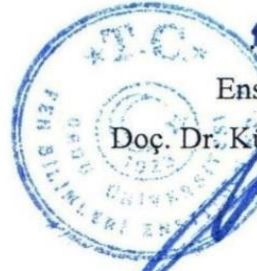
İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Muharrem YILMAZ
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ordu
Üniversitesi

İmza :

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun **17.12.2015.** tarih ve **2015/511** sayılı kararı ile oylanmıştır.



17.12./2015

Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Kürşat KORKMAZ

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İmza

Buket ÇELİK KARADEMİR

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

KAYSERİ İLİNDE YETİŞEN İĞDE (*Elaeagnus angustifolia* L.) GENOTİPLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

BUKET ÇELİK KARADEMİR

Ordu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 2015
Yüksek Lisans Tezi, 49 s.

Danışman: Prof. Dr. Turan KARADENİZ

II. Danışman: Doç. Dr. Aydın UZUN

Bu araştırma 2013-2014 yılları arasında Kayseri İli Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Araştırma Birimi Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada Kayseri ilinin değişik yörelerinden toplanan 56 adet ığde genotipinin genetik karakterizasyonu amaçlanmıştır. İğde yapraklarından CTAB metoduna göre DNA izole edilmiştir. İğde genotipleri arasında genetik ilişkiyi belirlemek amacıyla 15 adet ISSR ve 7 adet RAPD primerleri kullanılmıştır. Skorlanabilen bant veren primerlerle tüm DNA örnekleri PCR yapıldı. PCR ürünleri agaroz jele yüklenerek koşturulmuş ve UV ışın altında görüntülenmiştir. Tüm jel görüntülerinde bantlar var (1) ve yok (0) şeklinde skor edilerek bunların dosyaları oluşturulmuştur.

Yürütülen bu çalışmada genotipler arasında yüksek düzeyde varyasyon tespit edilmiştir. PCR çalışmaları ile elde edilen ürünlerin analizi sonucu RAPD primerde 74, ISSR primerde 136 adet bant elde edilmiş ve bu bantlardan RAPD primerde (% 90.31)'i, ISSR primerde (% 81.92)'si polimorfik özellik göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Türkiye, Kayseri, İğde (*Elaeagnus angustifolia* L.), Polimorfizm, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF RUSSIAN OLIVE (*Elaeagnus angustifolia* L.) GENOTYPES GROWN IN KAYSERİ PROVINCE

BUKET ÇELİK KARADEMİR

University of Ordu
Institute for Graduate Studies in Science and Technology
Department of Garden Plants, 2015
MSc. Thesis, 49 p.

Supervisor: Prof. Dr. Turan KARADENİZ

II. Supervisor: Doç. Dr. Aydın UZUN

This study was carried out in the research laboratory of Seyrani faculty of Agriculture in Erciyes University in Kayseri province between the years 2013-2014. In this study, It was aimed to determine genetic characterization of the genotypes of 56 *Elaeagnus Angustifolia* samples that collected from different parts of the Kayseri province. DNA was isolated from *Elaeagnus angustifolia* leaves according to the CTAB method. 15 ISSR and 7 RAPD primers were used to determine the genetic relationship between Russian olive genotypes. Polymerase Chain Reaction (PCR) was performed with all DNA samples and primers with ability of scoring Band. PCR products were run in agarose gel and visualized under UV light. They scored as there were bands (1) and no bands (0) at all gel images and their files were created.

In this study, high levels of variation were detected among genotypes. The results of the analysis of PCR products, 74 in RAPD primer, 136 in ISSR primer band were obtained and of these bands (90.31%) in RAPD primer, of the (81.92%) in ISSR primer showed polymorphic properties.

Keywords: Turkey, Kayseri, Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.), Polimorphism, PCR (Polymerase Chain Reaction)

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve bu araştırmanın her aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen, akademik çalışmalarım boyunca beni yönlendiren ve her zaman daha iyiye ulaşmam için beni motive eden, zorluklar karşısında özmc, bilgide daima paylaşımcı olan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Turan KARADENİZ ve Sayın Doç. Dr. Aydın UZUN' a sonsuz saygı ve teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca sadece bu çalışmamda değil hayatım boyunca yardım ve desteğini biran bile esirgemeyen aileme ve eşime her zaman yanımda oldukları için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
ÇİZELGELER LİSTESİ	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	8
3. MATERYAL ve YÖNTEM	10
3.1. Materyal.....	10
3.1.1. Araştırma Yerinin Genel Özellikleri.....	11
3.1.1.1. Coğrafi Durum ve Tarımsal Yapı.....	11
3.1.1.2. İklim ve Toprak Özellikleri.....	12
3.2. Metot.....	13
3.2.1. Moleküler Çalışmalar.....	13
3.2.1.1. DNA Ekstraksiyonu.....	13
3.2.1.2. DNA Amplifikasyonu.....	18
3.2.1.3. Elektroforez Jel Görüntülerinin Değerlendirilmesi	21
4. BULGULAR	23
4.1. Moleküler İncemeler	23
4.1.1. Genomik DNA İzolasyonu	23
4.1.2. RAPD ve ISSR PCR Elektroforez Sonuçları.....	23
4.1.3. İğde Genotipleri Arasındaki Filogenetik İlişki Analizleri.....	27
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	32

7. KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ.....	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1	İğde ağacından bir görüntü.....	3
Şekil 1.2.	İğdenin yerel pazarlarda satışa sunulması.....	5
Şekil 3.1.	Kayseri haritası ve ilçelerden alınan örneklerin gruplandırılması...	10
Şekil 3.2.	Sıvı azot eklenerek havanda ezilen yapraklar.....	15
Şekil 3.3.	Ezilmiş yaprakların tüplere aktarılması.....	15
Şekil 3.4.	Sıvı azot ile ezilen yaprakların sıcak su banyosu üzerine CTAB solüsyonu eklenmesi.....	16
Şekil 3.5.	65 °C' de bekletilen örnekler.....	16
Şekil 3.6.	Örneklerin santrifüj edilmesi.....	17
Şekil 3.7.	Üstte toplanan sıvının alınması.....	17
Şekil 3.8.	Elde edilen pellet.....	18
Şekil 3.9.	PCR için kimyasalların ve PCR karışımının hazırlanması.....	20
Şekil 3.10.	PCR karışımının tüplere aktarılması.....	20
Şekil 3.11.	Örneklerin PCR aşaması.....	21
Şekil 3.12.	Elektroforez için hazırlanmış jel ve jelle DNA yüklenmesi.....	21
Şekil 3.13.	Elektroforez için hazırlanmış ve DNA yüklenmiş jeller.....	21
Şekil 4.1.	GT8YA ISSR Primeri ile 1-48 arasındaki genotiplerden elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü.....	23
Şekil 4.2.	OPAN 07 RAPD Primeri ile 1-24 arasındaki genotiplerden elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü.....	24
Şekil 4.3.	AGT8 ISSR Primeri ile 49-58 arasındaki genotiplerden elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü.....	24
Şekil 4.4.	İğde genotiplerinde RAPD ve ISSR analizleri sonucu elde edilen dendogram.....	27
Şekil 4.5.	Temel Bileşenler Analizinden (PCA) elde edilen iki boyutlu düzlem üzerinde genotiplerin dağılımı.....	31

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1.	Çalışmada kullanılan iğde genotipleri, orjinleri ve rakımları.....	11
Çizelge 4.1.	RAPD Primerlerin toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı, polimorfizm oranı.....	25
Çizelge 4.2.	ISSR Primerlerin toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı, polimorfizm oranı.....	26

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Adenin
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)
bp	: Baz çifti
C	: Sitozin
CTAB	: Cetil trimetilamonyum bromid
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik sit
dNTP	: Deoksiribonükleotidtrifosfat
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ETOH	: Etanol
G	: Guanin
g	: Gram
ha	: Hektar
H₂O	: Dihidrojen monoksit
ISSR	: İnter Simple Sequence Repeat (Kısa Dizi Tekrarları Arası)
kg	: Kilogram
M	: Mol
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
MgSO₄	: Magnezyum Sülfat
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
mm	: (Milimetre)

Mm	: Milimol
NaCl	: Sodyum Klorür
ng	: Nanogram
NH₄Ac	: Ammonium Acetate
nm	: Nonometre
NTSYS	: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (Sayısal Taksonomi ve Çok Değişkenli Analiz Sistemi)
PCA	: Principal Component Analysis (İki Boyutlu Grafik Üzerinde Mesafeleri Gösteren Temel Bileşenler Analizi)
PCR	: Polymerase Chain Reaction – (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
ppb	: Part per billion (milyarda bir)
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA – (Rasgele Çoğaltılmış Polimorfizmik DNA)
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism – (Restriksiyon Uzunluk Parça Polimorfizmi)
rpm	: Rotation per minute - Dakikada döngü sayısı
SSR	: Simple Sequence Repeat – (Basit Tekrar Dizileri)
T	: Timin
Taq	: Termus Aquaticus (Isıya dayanıklı bir DNA Polimeraz)
TE	: Tris-EDTA
UV	: Ultra Viyole
UPGMA	: Unweighted Pair-Group Method With Arithmetic Average
V	: Volt

1. GİRİŞ

İğde kışın yaprağını döken çalı veya ağaçtır. İğde doğada kendiliğinden yetişebilen, çok fazla toprak seçiciliği olmayan yetiştirilmesi oldukça kolay bir bitkidir. Kuraklığa dayanıklılığı nedeniyle erozyonla mücadelede kullanılabilir. Ülkemiz de özellikle Güneydoğu ve İç Anadolu bölgesinde yetişmektedir. İğde henüz kültüre alınmamıştır. İğdenin kapama bahçe şeklinde yetiştiriciliği yapılmamaktadır. Genellikle güzel görüntüsünden ve çiçeklerinin hoş kokusundan dolayı süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca sınırlayıcı çit bitkisi olarak da peyzajda kullanımı yaygındır. Halk arasında iğdenin yaprağının oldukça faydası olduğu bilinmektedir. Birçok hastalığa iyi geldiği söylenilmektedir. Çiçeğinin güzel kokusu nedeniyle de kozmetik sanayinde kullanılmaktadır.

Türkiye, dünya üzerinde uygun iklim kuşağındaki konumu itibariyle bahçe bitkileri yetiştiriciliği açısından üstün ekolojik avantaja sahiptir. Dünyada mevcut gen merkezleri arasında hem Yakınoğu ve hem de Akdeniz havzası içinde yer alan Türkiye, birçok tür ve çeşidin de gen merkezidir. Çok sayıda tür ve çeşit zenginliğinin oluşturduğu bu potansiyel, farklı iklim ve toprak koşullarına adapte olabilecek çeşitlerin seçimi, farklı iç ve dış pazar taleplerine uygun ürün sunumu ve hastalıklara dayanıklı çeşitlerin seçimine olanak sağlayarak, farklı amaçlara hizmet verebilecek alternatifler meydana getirmektedir (Bostan, 2009).

Doğal olarak yetişen bitkilerin kültüre alınarak değerlendirilmesi ile ilgili araştırmalar ülkemizde yok denecek kadar azdır. Birçok bitkinin gen merkezi olarak gösterilen ülkemizde halen halkımızca bilinmeyen bahçe bitkileri vardır. Bu ürünler de en az kültüre alınmış diğer ürünler kadar değerlidir. Çeşitli yörelerde bölgesel olarak yetişen ve o bölge halkının tanıyabildiği bu türler yeteri kadar bilinmemektedir. Geleneksel yöntemlerle çeşitli şekillerde tüketilmektedir.

Ülkemiz genelinde yetişmekle beraber bazı yörelerde daha fazla önem arz eden çeşitli bahçe bitkilerinin bilimsel olarak araştırılması ile onların insan beslenmesine kazandırılması oldukça önemlidir. Böylece yapılan araştırma ve çalışmalarla kültüre alınmış faydalı bitki varlığımız zenginleştirilebilir.

Özdemir (2007)'nin bildiriyle son zamanlarda ekonomik önemlerinin yanı sıra süs bitkisi olarak da değerli olan meyve türleri büyük ilgi toplamaya başlamıştır. Bu türlerin çoğu besin değeri yüksek maddeleri içermekte ve sanayi sektörüne uygun değerli hammaddeler sağlamaktadır. Meyve türlerinin büyük bir çoğunluğu ekonomik önemlerinin yanı sıra park-bahçe alanlarında ve peyzaj uygulamalarında kullanılan bir bitki olmasından dolayı da önemli bir yere sahiptir. Bu özelliklerinin yanında iklim ve toprak istekleri bakımından geniş bir tolerans sınırına sahiptir (Feucht ve Schwalb, 1999).

Türkiye birçok meyve türünün gen merkezi ve doğal yayılma alanıdır. Bugün dünyada yetiştirilmekte olan 138 kadar meyve türünün 75'i Türkiye'de yetiştirilmektedir. Türkiye'de görülen bu tür zenginliği yanında çeşit bolluğu da mevcuttur. (Özbek, 1977). Bu tür ve çeşit zenginliği içinde İğde'de (*Elaeagnus angustifolia L.*) yer almaktadır. Fakat Türkiye'de İğde yetiştiriciliği pek fazla yaygın değildir. İğdenin yaprak, meyve ve çiçeği geleneksel tıpta ve değişik alanlarda kullanıma uygun olabilir. Bitkisel görüntüsünün uygunluğu ve çiçeğinin hoş ve keskin kokusu nedeniyle süs bitkisi olarak da kullanılmaktadır. Son zamanlarda adını sıkça duyduğumuz İğde, insan sağlığı açısından önemi ve kolay yetiştirilmesi açısından oldukça önem kazanmaya başlamıştır.

İğde (*Elaeagnus angustifolia L.*), kapalı tohumlular (*Magnoliophyta*) bölümünün, iki çenekliler (*Magnoliopsida*) sınıfının, gülgiller (*Rosales*) takımının, iğdegiller (*Elaeagnaceae*) familyasından bir bitkidir (Anonim, 2015a) .

En yaygın ve kültüre alınmış türlerden biri kuş iğdesidir (*Elaeagnus angustifolia L.*) ve bunun aşılı çeşitleri iri meyveli olup Sultan İğdesi adıyla tanınır. Dünyada özellikle Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'ya yayılmış çok çeşitli iğde türleri bulunmaktadır. Bilinen türlerden bazıları Japon iğdesi (*Elaeagnus umbellata*), Gumi-Kırmızı iğde (*Elaeagnus multiflora*), süs iğdesi (*Elaeagnus pungens*), yalancı iğde (*Hippophae rhamnoides*)'dir (Anonim, 2015a).

Özdemir (2007)'nin bildiriyle İğdenin anavatanı Güney Avrupa, Orta Asya ve Batı Himalayalar'dır (Bailey, 1914). İğde kolonicilik sayesinde Kuzey Amerika'ya götürülmüştür (Elias, 1980). 1940'larda Batı'nın birçok şehrinde süs bitkisi olarak da kullanılmaya başlanmıştır (Van Dersal, 1939). İğde ABD'de ilk defa 1924'te

Utah'da kültüre alınmış ve 1954'te kısa zamanda yetiştiriciliği diğer eyaletlere yayılmıştır (Knopf ve Olson, 1984). İğde Avrupa ve Amerika'da insanlar tarafından hastalık ve böcek problemi az olması nedeniyle süs bitkisi olarak da fazlasıyla rağbet görmüştür (Peterson 1976; Carrol ve ark. 1976; Krupinsky ve Frank 1986).

Anadolu'da bağ ve bahçelerde tatlı meyvelerinden dolayı meyve ağacı olarak yetiştirilmektedir. (Anonim, 2014a). Aynı zamanda ilkbaharda açan çiçeklerinin çok hoş kokması nedeniyle bahçelerde özellikle tercih edilen bir süs bitkisidir. Çiçekleri keskin kokuludur ve oldukça uzun mesafelere yayılmaktadır.

İğde, Asya Kıtasının Orta ve Batı bölgelerinde, Gobi Çölü'nde, Alplerde, Akdeniz çevresinde, Türkiye'de ise özellikle Güneydoğu ve İç Anadolu bölgesi olmak üzere tüm Karadeniz ve Marmara bölgesinde yayılış göstermektedir (Güngör ve ark. 2002).



Şekil 1.1. İğde ağacından bir görüntü

Türkiye'de 1970 verilerine göre 9.000 ton iğde üretimi yapılırken 1980 yılında 10.000 tona ulaşmıştır. 1990'lı yıllarda azalmaya başlamış ve 2006 yılında 4.300 tona kadar düşmüştür. Bu düşüşün en büyük nedeni iğdenin kültüre alınmaması,

insanların damak zevklerinin kültüre alınmış diğer meyvelere yönelmesi gösterilebilir. Ülkemizin 2014 yılında 127 dekar toplu meyvelik alanı vardır. Toplam üretim 4.093 ton, ağaç başı verim ise 13 kg'dır (Anonim, 2014b).

İğdenin ülkemizde önemli bir potansiyeli olmasına rağmen iyi tanınmamakta ve değerlendirilmemektedir. Ülkemizde İğde yetiştiriciliğine gösterilen ilginin yeterli olmaması ve henüz kültüre alınmaması gibi nedenlerden dolayı bu bitki yeterince bilinmemekte ve gereken önem verilmemektedir. Diğer bitkilerin aksine iğde yetiştiriciliği oldukça kolaydır. Tüketim alışkanlığının olmayışı üretim ve pazar kanallarının henüz yeterince gelişmemiş olması nedeniyle yerel pazarlarda değerlendirilmektedir. Bununla birlikte Anadolu'da halk hekimliğinde kullanım alanı bulmuş olup; akciğer veremi, damar sertliği, felç, grip ve kalp çarpıntısı gibi hastalıklarda kaynatılarak içilmesi tavsiye edilmektedir. Aynı zamanda kusma mide bulantısı ve bağırsak bozukluğunda meyvesinin yenmesi tavsiye edilmektedir (Karadeniz, 2004).



Şekil 1.2. İğdenin yerel pazarlarda satışa sunulması

Bu çalışmada zengin bir iğde popülasyonuna sahip olan ülkemizin Kayseri ilindeki iğdelerin moleküler karakterizasyonunun yapılarak aralarındaki genetik ilişkilerin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Kalıtım şekilleri, morfolojik (çiçek rengi gibi), biyokimyasal (izoenzimler gibi) ve DNA düzeyinde (moleküler markörler) izlenebilen karakterlere “genetik markörler“ denilmektedir. Çalışılan organizmadaki ilgilenilen diğer özelliklerin genetiği hakkında, dolaylı da olsa, bilgi sağlamalarından dolayı markör (işaret) denilmiştir. Moleküler markörler DNA'nın aktif bölgelerinden (genler) veya herhangi bir genetik kodlama fonksiyonuna sahip olmayan DNA dizilerinden geliştirilebilirler (Özcan ve ark., 2004).

DNA dizilimindeki değişikliklerin tespitinde kullanılan DNA markörleri, sayıların çok olduğu ve çevre koşullarından etkilenmedikleri için, morfolojik ve protein markörlerine göre daha etkilidirler. Bitki genetiği ve ıslahında genelde çeşit tanımlama, seleksiyon ve genom haritalamada markörlerden faydalanılmaktadır (Şensoy, 2005). Bunun yanında, tarımsal ürünlerdeki çeşit sayısının sürekli olarak arttığı için, morfolojik markörler çeşitler arasındaki ayırma güçünde yetersiz kalmaktadır. Bu yüzden moleküler markörler kullanılarak bu boşluk kapatılmaktadır (Lombard ve ark. 2001).

Moleküler markörlerin çoğu elektroforez tekniğine göre yapılır (Şensoy, 2005). Farklı büyüklüklerdeki (polimorfik) protein ve DNA parçacıkları, jel üzerinde elektrik akımıyla farklı şekillerde hareket ederler. Jel üzerinde ebatlarına göre farklı şekilde hareket eden bu parçacıklar, boyama veya radyoaktif yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Yaygın olarak kullanılan moleküler DNA markörlerinden bazıları şunlardır:

- RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) (Waugh ve Powell, 1992)
- AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Vos ve ark. 1995)
- Microsatellites (SSR veya ISSR) (Rafalski ve Tingey, 1993)

Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) DNA polimeraz enziminin kullanılmasıyla suni şartlarda DNA üretildiğini gösterir. Bu üretim için 6-25 nükleotid uzunluğunda başlatıcı DNA'lar (primerler) gerekir. Reaksiyon ortamında ayrıca pH'yı ve tuz konsantrasyonunu optimum hale getiren tampon çözelti, polimeraz enziminin ihtiyaç duyduğu MgSO₄ ve DNA üretiminde kullanılacak A, T, G, C nükleotidlerinden her biri bulunur. Polimeraz enzimi, bu başlatıcı DNA'lar bir kalıp DNA üzerine bağlandıktan sonra, onu bir uçtan uzatmaya

başlayarak ve kalıp DNA'nın aynısını üretir. DNA üretim işlemi birbirini izleyen bir seri halinde ve spesifik sıcaklık devrelerinde yapılır. Önce 95 °C civarında bir sıcaklık kullanımıyla kalıp DNA'nın çift sarmal yapısı açılır ve DNA tek iplik haline getirilir. Sonra 30-60 °C arasında bir sıcaklıkta başlatıcı DNA'nın kalıp DNA'ya yapışması sağlanır. Son olarak da 72 °C'de DNA üretimi yapılır. Bu devrelerin her birinde sadece 1-2 dakika kullanılır. Bu üç devre isteğe bağlı olarak defalarca (normalde yaklaşık 30-45 defa) tekrarlanır ve DNA üretimi tamamlanmış olur. PCR reaksiyonu ile hangi diziliş üzerinde DNA üretimi yapılacağını belirleyen iki faktör vardır. Bunlardan en önemlisi başlatıcı DNA'nın kendi dizilişidir. Yeterli uzunlukta spesifik dizilişler kullanılması durumunda genomun çok spesifik bir bölgesine ait DNA üretilir. Kısa ve rastgele dizilişte başlatıcılar kullanılmadığında ise rastgele bölgelere ait DNA üretilir. DNA üretiminin yapılacağı yeri belirleyen ikinci faktör başlatıcı DNA'nın yapışmasının gerçekleştirildiği sıcaklık derecesidir. 30-40 °C gibi düşük sıcaklıklara inildiğinde başlatıcı DNA pek çok yere kolayca yapışacağı için pek çok yere ait spesifik olmayan DNA üretimi yapılır. Yapışma sıcaklığının yüksek tutulmasıyla (55-60 °C) ise başlatıcı DNA sadece spesifik bölgelere yapışır ve buradan üretim yapar (Özcan ve ark., 2004).

Moleküler markör teknolojisi bitki ıslahında giderek önemli bir yere sahip olmaya başlamıştır (Lee, 1995; Winter ve Kahl, 1995; Duvick, 1996). Düşük maliyeti ve kolay uygulanabilir olması sayesinde bitki ıslahını hızlandırmaktadır (Kaya, 2008).

Moleküler çalışmalarda kullanılan DNA markörleri hibridizasyona dayalı markörler (RFLP) ve PCR'a dayalı markörler (RAPD, SSR, AFLP vb.) şeklinde iki gruba ayrılmaktadır. Bu iki gruptan PCR'a dayalı markörlerin kullanımı daha yaygındır (Şeker, 2012).

Bu çalışmada, Kayseri ilinin yoğun iğde popülasyonunu barındıran bölgelerinden toplanan iğdelerle genetik karakterizasyon çalışması yapılmıştır. İğdeler arasındaki farklılıkların genetik düzeyde belirlenmesinde Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) metodu ve Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) metodu kullanılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Yaptığımız kaynak araştırmalarında iğde genetik karakterizasyon konusunda yapılmış çok az çalışmaya rastlanmıştır. Ülkemizde bu konuda benzer çalışmalar yapıldıkça iğde hak ettiği yeri kazanacaktır. Zira yurtdışında iğde ile ilgili çalışmaların bir hayli fazla olduğu görölmüştür. Nitekim yürütölen çalışmaların da çoğu yurtdışı kaynaklıdır.

Amerika Birleşik Devletleri'nin Utah Eyaleti'nde iğde (*Elaeagnus angustifolia*) költüre alınmaya çalışılmıştır. Çalışmada iğdenin erozyon kontrolünde önemli bir bitki olduğu ileri sürölmüş, Kuzey Amerika'nın doğusunda Eurasia bölgesinde iğdenin genel koşullarda büyüdüğu ve bu bölgede iğdenin nemli ve çayırılık arazilerde daha yoğun olarak yer aldığı tespit edilmiştir (Christiansen, 1963).

Borell (1971), yaptığı çalışmada iğdenin yaşam alanı hakkında bilgiler vermiştir. İğdenin gölgedeki büyümesinin enleme göre değişiklik gösterebileceğini, 305 mm'den az yağış alan yerlerde büyümenin az olduğunu asitli ve pH düzeyi 6'dan düşük olan yerlerde bulunmadığını, belirtmiştir.

Yürütölen başka bir çalışmada, Amerika Birleşik Devletleri'nin Rocky Dağları'nda bulunan yerli iğdelerin doğal yaşama olan etkileri araştırılmış ve yaşam üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (Knoph ve Olson, 1984).

Shafroth ve ark. (1995), yaptıkları çalışmada, iğde tohumlarının değişik büyüme sezonlarında (nemli, farklı ışık ve su şartları altında) filizlenebileceğini bulmuşlardır. Araştırmacılar iğde fidanının filizlenmeyi takip eden sürede hiçbir tehlikeden etkilenmeyeceğini ileri sürmüştür.

İğde üzerinde yürütölen başka bir çalışmada Kuzey Montana'nın merkezinde bir nehir boyunca bulunan pamuk tarlalarında iğdenin istilasını araştırmışlar ve sonucunda Montana'nın doğusunda, Marias Irmağı'nda iğdenin pamuğun yerini aldığı bulunmuştur (Lesica ve Miles, 1999).

Lesica ve Miles (2001), Montana'daki Marias ve Yellowstone ırmaklarındaki iğdelerin meyve verim yaşını tespit etmeye çalışmışlardır. Yaptıkları araştırmada Marias Nehri'nde 5 yaş altı ağaçların meyve vermediğini, Yellowstone Nehri'nde ise incelenen 6 yaşından küçöük 38 iğde ağacından sadece 1'inin meyve verdiğini, verim

çağının 7-10 yaşlar arasında başladığını, iğdelerin % 89'unun 10 yaşın üzerinde meyve vermeye başladığını tespit etmişlerdir. Ayrıca iğdenin her iki nehirde de birinci üreme yaş ortalamasının 10 yıl olduğunu tespit etmişlerdir.

Ankara'da yürütülen bir araştırmada yapılacak peyzaj planlama ve tasarımı çalışmalarında ender ağaç türlerinin kullanımlarının yaygınlaştırılması amacıyla yapılan bu araştırmada alanda yer alan ender ağaç türleri belirlenerek, habitus özellikleri ve ekolojik istekleri incelenmiştir. Bu yolla ender ağaç türlerinin tanıtılarak sürekliliğinin sağlanması, bitki ve alanlara ilişkin envanterin hazırlanması amaçlanmıştır. Bu çalışma içerisinde Ankara'da bulunan iğde ağaçları da incelenmiş ve bilgi kartları oluşturulmuştur (Oğuz, 2002).

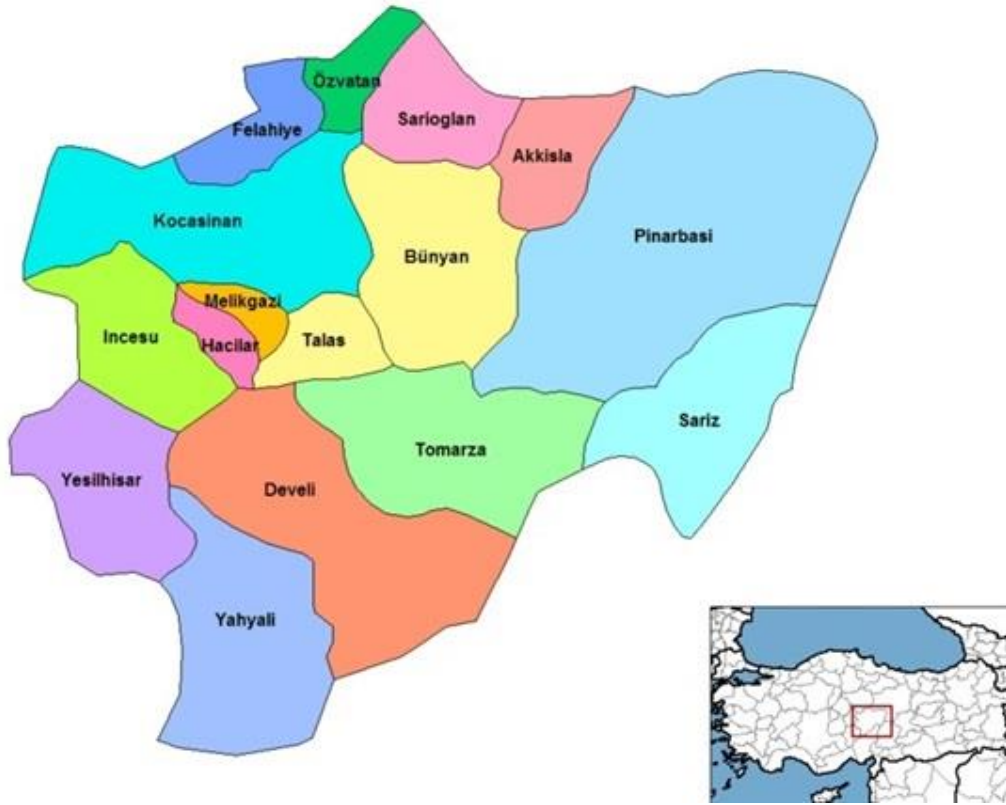
Güler ve Liman (2005), yaptıkları çalışmada çeşitli bitki türlerinde vitamin B12, folik asit ve biotin içeriğini immüno-enzimatik yöntemle incelemiş ve iğde çiçeğinde folik asit içeriğini 0.276 ppb, vitamin B12 içeriğini 2.154 ppb ve biotin içeriğini 0.512 ppb olarak bulmuşlardır.

İran'ın Batı Azerbaycan bölgesinden toplanan 9 iğde genotipinde araştırmacılar ISSR markırları kullanarak genetik ilişkileri belirlemişler, polimorfizm oranı % 79.3 olarak belirlemişler ve genotipler arasında 0.51-0.77 arasında benzerlik saptamışlardır. Genotipler arasında göreceli olarak yüksek düzeyde varyasyon belirleyen araştırmacılar ISSR markörlerinin iğdede bu tür çalışmalar için uygun bir sistem olduğunu belirtmişlerdir (Asadiar ve ark, 2012).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Kayseri ilinin değişik bölgelerinden belirlenmiş olan iğde ağaçlarının moleküler karakterizasyonunu amaçlayan bu çalışma 2013-2014 yılında Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Araştırma Birimi Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada 56 iğde genotipi kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Kayseri haritası ve ilçelerden alınan örneklerin gruplandırılması

Sarıoğlan	KI-2, KI-3, KI-5, KI-7, KI-9, KI-11, KI-14, KI-29, KI-37, KI-39, KI-40, KI-41, KI-42, KI-43, KI-44, KI-45, KI-47, KI-48, KI-49, KI-50
Develi	KI-1, KI-6, KI-8, KI-10, KI-13, KI-16, KI-17, KI-19, KI-20, KI-21, KI-22, KI-23, KI-24, KI-25, KI-26, KI-27, KI-33, KI-34, KI-35
Melikgazi	KI-51, KI-52, KI-53, KI-54, KI-56
İncesu	KI-18, KI-30, KI-31, KI-32
Talas	KI-4, KI-55
Kocasinan	KI-36, KI-38, KI-57
Hacılar	KI-28, KI-58
Akkışla	KI-12

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan iğde genotipleri, orjinleri ve rakımları

Genotip	Orjin İlçesi	Rakım	Genotip	Orjin İlçesi	Rakım
KI-1	Develi	1134	KI-30	İncesu	1089
KI-2	Sarıoğlan	1161	KI-31	İncesu	1081
KI-3	Sarıoğlan	1143	KI-32	İncesu	1089
KI-4	Talas	1182	KI-33	Develi	1076
KI-5	Sarıoğlan	1117	KI-34	Develi	1281
KI-6	Develi	1261	KI-35	Develi	1279
KI-7	Sarıoğlan	1122	KI-36	Kocasinan	1115
KI-8	Develi	1285	KI-37	Sarıoğlan	1130
KI-9	Sarıoğlan	1169	KI-38	Kocasinan	1108
KI-10	Develi	1267	KI-39	Sarıoğlan	1142
KI-11	Sarıoğlan	1120	KI-40	Sarıoğlan	1134
KI-12	Akkışla	1275	KI-41	Sarıoğlan	1138
KI-13	Develi	1282	KI-42	Sarıoğlan	1139
KI-14	Sarıoğlan	1213	KI-43	Sarıoğlan	1147
KI-16	Develi	1135	KI-44	Sarıoğlan	1136
KI-17	Develi	1239	KI-45	Sarıoğlan	1149
KI-18	İncesu	1083	KI-47	Sarıoğlan	1130
KI-19	Develi	1281	KI-48	Sarıoğlan	1130
KI-20	Develi	1273	KI-49	Sarıoğlan	1148
KI-21	Develi	1248	KI-50	Sarıoğlan	1144
KI-22	Develi	1280	KI-51	Melikgazi	1217
KI-23	Develi	1276	KI-52	Melikgazi	1205
KI-24	Develi	1281	KI-53	Melikgazi	1229
KI-25	Develi	1078	KI-54	Melikgazi	1225
KI-26	Develi	1281	KI-55	Talas	1117
KI-27	Develi	1272	KI-56	Melikgazi	1176
KI-28	Hacılar	1242	KI-57	Kocasinan	1106
KI-29	Sarıoğlan	1112	KI-58	Hacılar	1234

3.1.1. Araştırma Yerinin Genel Özellikleri

3.1.1.1. Coğrafi Durum ve Tarımsal Yapı

Kayseri ili 37° 45' ve 38° 18' kuzey enlemleri ve 34° 56' ve 36° 59' doğu boylamları arasında yer almaktadır. İl alanı kuzeybatı ve kuzeyden Yozgat'ın Çayıralan ve Boğazlıyan; kuzey ve kuzeydoğudan Sivas'ın Gemerek, Şarkışla, Kangal ve Gürün; doğudan Kahramanmaraş'ın Afşin ve Göksun; güneyden Adana'nın Tufanbeyli, Saimbeyli, Feke ve Karaisalı; güneybatıdan Niğde'nin Merkez ve Çamardı; batıdan ise Nevşehir'in Derinkuyu, Ürgüp ve Avanos ilçeleriyle çevrilidir. 16.865 km²'lik yüzölçümü ile ülkemizin yaklaşık % 2,2'lik bir bölümünü kaplamaktadır. Rakımı 1054 metredir. Merkez ile birlikte 16 ilçesi bulunmaktadır. Bu ilçeler; il merkezinde Kocasinan ve Melikgazi ilçelerinin yanı sıra Akkışla, Bünyan, Develi, Felâhiye,

Hacılar, İncesu, Özvatan, Pınarbaşı, Talas, Sarıoğlan, Sarız, Tomarza, Yahyalı ve Yeşilhisar'dır.

Kayseri'de mevcut arazinin kullanıma göre dağılımı incelendiğinde, toplam 1.686.583 ha'lık alanın yaklaşık % 40'ı olan 677.970 ha alanın tarım arazisi, 135.827 ha alanın orman ve fundalık (% 8), 691.028 ha'lık alanın çayır ve mera (% 41), 181.758 ha alanın da tarım dışı arazi (% 11) olduğu görölmektedir. Tarım alanı içerisinde meyvecilik yapılan arazi 6.207 ha'dır ve toplam alanın % 0.9'unu oluşturmaktadır. Toplam tarım alanının 607.316 ha'ı sulanabilir nitelikte olmasına rağmen, bu alanın sadece 87.941 ha'ı sulanmaktadır ve alan sulanabilir tarımsal arazinin sadece % 14'ünü oluşturmaktadır. Meyveciliğin gelişmesi sulama olanaklarının geliştirilmesi ile doğru orantılıdır. Son yıllarda yapılan yeni barajlar ve sulama göletleri ile sulanan arazi miktarındaki artışı, beraberinde meyvecilik alanlarının da artmasını sağlayacaktır (Yılmaz ve Uzun, 2011).

3.1.1.2. İklim ve Toprak Özellikleri

Kayseri'de mevcut iklim yapısının kışları oldukça sert ve soğuk, yaz aylarında ise kurak ve sıcak olması bazı meyve türlerinin yetiştiriciliği açısından sınırlayıcı bir unsur olsa da sulama olanaklarının artması ve bunun yanı sıra yapılan baraj ve göletler nedeniyle iklimde meydana gelen ve gelmeye de devam eden yumuşama, meyve yetiştiriciliği için uygun ekolojilerin oluşmasını devam ettirmektedir. Bunun yanı sıra Kayseri'nin bulunduğu Kızılırmak havzasında yer alan Kızılırmak ve Sarımsaklı Suyu ile Seyhan havzasında yer alan Zamantı Irmağı bölgede ekolojiyi etkileyen önemli akarsulardır. İklimsel veriler açısından incelendiğinde tipik karasal iklim özellikleri ile karşılaştırdığımız Kayseri'nin yıllık ortalama toplam yağış miktarı 396.5 kg/m²'dir. Yıllık ortalama güneşlenme süresi 81.6 saattir. Yağışların daha çok sonbahar, kış ve ilkbahar aylarında yoğunlaştığı, özellikle Nisan ve Mayıs aylarında bir hayli arttığı görölmektedir. Ocak ve Şubat aylarında eksi değerlerde seyreden ortalama sıcaklık değerleri yaz aylarında 22.5 °C'ye kadar yükselmektedir. Ekstrem yıllarda en düşük sıcaklıkların -28.4 °C, en yüksek sıcaklıkların ise 40.7 °C'ye ulaştığı saptanmıştır. Kızılırmak ve Seyhan havzalarında yer alan Kayseri'de özellikle çöküntü havzalarının tabanlarında yer alan ovalar, verimli alüviyal topraklarla kaplıdır. İl genelinde genellikle kırmızı-kahverengi toprak yapısıyla

karşılaşmaktadır. Doğal bitki örtüsü çayır olan bu tip toprakların büyük bölümü nadaslı kuru tarımla, bağ bahçe tarımına ayrılmıştır. Toprak yapısı birçok meyve türünün yetiştirilebilmesine olanak sağlayacak niteliktedir. Bazı noktalarda toprak pH'sının yüksekliği, bu duruma hassaslığı olan tür veya çeşitler için kloroza neden olabilmektedir. Develi Ovası'nda toprak yapısının hidromorfik olması nedeniyle iyi drenaj yapılan arazilerde besin maddelerince zengin yetiştirme alanları oluşmaktadır. Ancak bu alanda tuzluluğun arttığı bazı noktalar da mevcuttur. Bu nedenle Develi ovası içerisinde diğer yerlerde de olduğu gibi mutlaka toprak analizi yapılması gerekmektedir. Tuzluluk sorunu olan yerlerde yapılan yetiştiriciliklerde önemli oranda tuz zararı ortaya çıkmaktadır (Yılmaz ve Uzun, 2011).

3.2. Metot

3.2.1. Moleküler Çalışmalar

3.2.1.1. DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu modifiye edilmiş CTAB protokolüne (Doyle and Doyle, 1990) göre yapılmıştır.

DNA ekstraksiyonunda yeni sürmüş en taze yapraklar kullanılmıştır. Yaprakların hastalık ve zararlı ile bulaşık olmaması ve temiz olmasına dikkat edilmiş, alınan yapraklar yıkandıktan sonra kurutularak -20 °C de muhafaza edilmiştir.

1. 50 mg genç yaprak dokusu 'roller pres' ile ezilmiş ve aynı anda üzerine 1.2 ml ekstraksiyon tampon (1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl (pH 8), 2% CTAB, ve 1.2 µl beta-mercaptoethanol) eklenerek elde edilen karışım tüpe alınmıştır.
2. Bu tüpler önceden hazırlanmış 62 °C'deki suda birkaç kez ters yüz edilerek 1 saat boyunca inkübe edilmiştir.
3. Bir saat sonra tüplerin üzerine 600 µl kloroform: oktanol (24:1) eklenmiş, ters yüz edilerek iyice karıştırılarak ve 14000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüj (Genofuge 16M, Techne Co. Cambridge, UK) yapılmıştır.
4. Sıvı kısım pipetle alınarak temiz bir tüpe aktarılmış ve üzerine 600 µl soğuk isopropanol eklenerek hafifçe karıştırılmıştır.

5. 14000 rpm'de 1 dk santrifüj yapılmış ve sıvı kısım tüpten uzaklaştırılmıştır.
6. Üzerine 500 µl yıkama çözeltisi (%76 ETOH, 10 mM NH₄Ac) eklenerek 14000 rpm'de 2 dk santrifüj yapılmıştır.
7. Sıvı kısım tüpten uzaklaştırılmış, pellet üzerine 200 µl TE (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA, pH 7.4) ilave edildi ve 10 µg/ml son konsantrasyonda olacak şekilde RNase eklenmiştir. 37°C'de 30 dk inkube edilerek üzerine 200 TE ve 15 µl amonyum asetat (10 M, pH 7.7) ilave edilmiştir. Son olarak çözelti üzerine 800 µl soğuk etanol ilave edildikten sonra 30 dk bekletilmiştir.
8. 14000 de 2 dk santrifüj yapılmış ve sulu kısmı dikkatlice döküldükten sonra pelletin bir miktar kuruması sağlanmıştır. Üzerine 200 µl TE eklenerek -20°C' de muhafaza edilmiştir.

Çalışmada kullanılan tüm materyallere ait DNA izolasyonları yapıldıktan sonra DNA kalite ve kantitesi spektrofotometre (Biotek) ile 260 ve 280 nm dalga boylarında okumalar yapılarak belirlenmiştir. Daha sonra tüm örneklerde 10 ng/ µl olacak şekilde DNA konsantrasyonları eşitlenerek yeni tüplerde DNA solüsyonları hazırlanmıştır. PCR (Polimeraz Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu) çalışmalarında konsantrasyonları eşitlenmiş olan DNA solüsyonları kullanılmış ve orijinal stok DNA'lar -80 °C'de muhafaza edilmiştir (Uzun, 2009).

Kalite ve miktarlarına bakılmak üzere % 1'lik agarose jele her bir DNA örneğinden 10 µl yüklenmiştir ve UV ışık altında fotoğrafları çekilmiştir. Jelde görünmeyen yada kalitesi düşük görünen örneklerden tekrar izolasyon yapılmış ve agaroz jele yüklenerek kalitesine bakılmıştır.



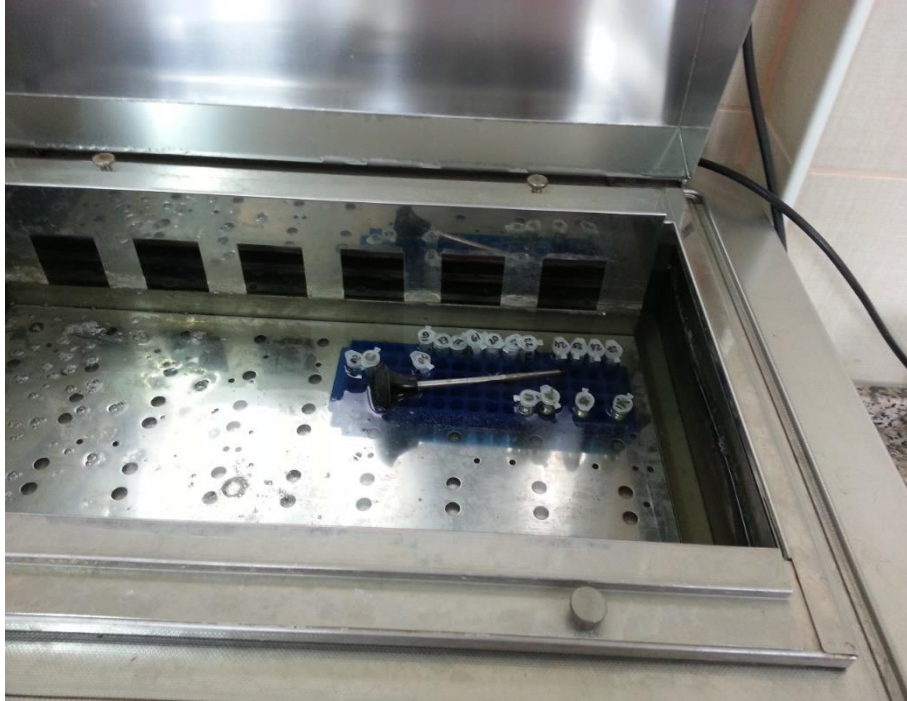
Şekil 3.2. Sıvı azot eklenerek havanda ezilen yapraklar



Şekil 3.3. Ezilmiş yaprakların tüplere aktarılması



Şekil 3.4. Sıvı azot ile ezilen yaprakların sıcak su banyosu üzerine CTAB solüsyonu eklenmesi



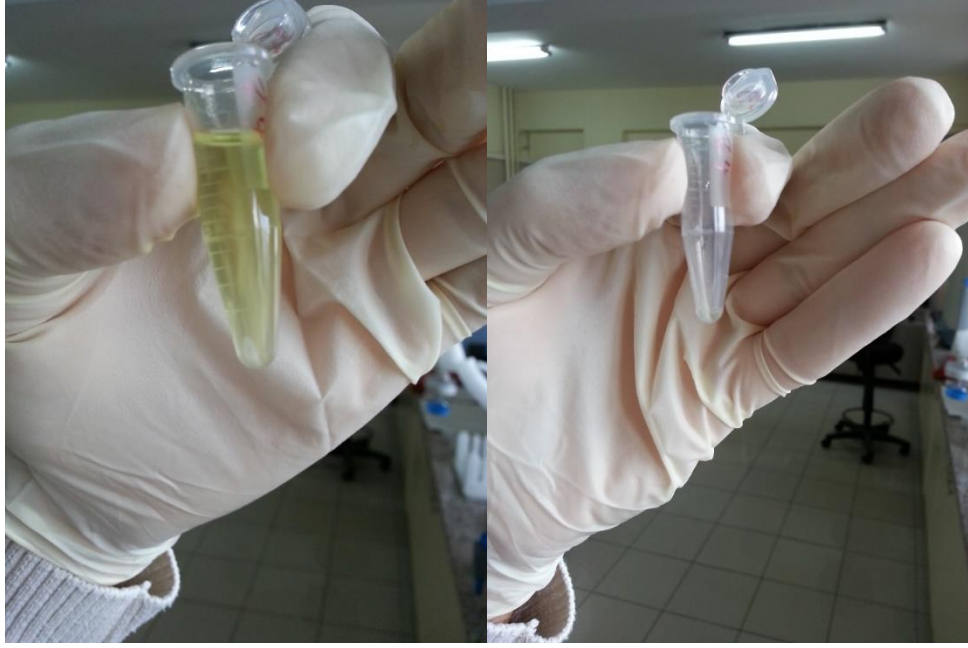
Şekil 3.5. 65 °C'de bekletilen örnekler



Şekil 3.6. Örneklerin santrifuj edilmesi



Şekil 3.7. Üstte toplanan sıvının alınması



Şekil 3.8. Elde edilen pellet

3.2.1.2. DNA Amplifikasyonu

DNA amplifikasyonu için 7 RAPD ve 15 ISSR primeri kullanılmıştır. Kullanılan RAPD primerler; OPAE 09, OPAE 10, OPAF 13, OPAN 07, OPAN 14, OPAN 17, OPAN 19, ISSR primerleri ise; AG6GC, AG7YC, AG8T, BDBCA7C, CA6AC, DBDACA7, GA8YG, GAA6, GACA4, GT6GG, GT8YA, HVHCA7T, HVHTCC7, TCC5RY, VHVGTG7'dir. Bu primerler 56 genotipin DNA amplifikasyonu için kullanılmıştır.

PCR Koşulları

ISSR için;

PCR ve elektroforez işlemleri Uzun ve ark. (2012) tarafından bildirilen aşağıdaki yöntemle yapılmıştır. Toplam hacim 20 µl olacak şekilde, 30 ng Template DNA, 1U Taq DNA polimeraz enzimi, 0.25 mM her bir dNTP, 1 µM primer, 1.5 µl 10X PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂ ve H₂O su kullanılarak PCR bileşenleri hazırlanmıştır. PCR döngüsü ise,

94°C 4 dk ön denaturasyon
94°C 30 sn denaturasyon }
52°C 45 sn annealing } 27 döngü
72°C 2 dk extension }
72°C 2 dk son extension
4 °C ∞ şeklinde yürütülmüştür.

RAPD için;

PCR ve elektroforez işlemleri Uzun ve ark. (2012) tarafından bildirilen aşağıdaki yönteme göre yapılmıştır. Toplam hacim 20 µl olacak şekilde, 30 ng Template DNA, 1U Taq DNA polimeraz enzimi, 0.25 mM her bir dNTP, 1 µM primer, 1.5 µl 10X PCR tampon, 1.5 mM MgCl₂ ve H₂O su kullanılarak PCR bileşenleri hazırlanmıştır. PCR döngüsü ise,

94°C 4 dk ön denaturasyon
94°C 30 sn denaturasyon }
38°C 45 sn annealing } 27 döngü
72°C 2 dk extension }
72°C 2 dk son extension
4 °C ∞ şeklinde yürütülmüştür.

PCR çalışmalarından elde edilen PCR ürünlerine 3 µl yükleme tamponu (20 ml gliserol (%40), 30 ml steril su, 0.05 g bromofenol blue) eklenerek elde edilen karışım % 2.5'lük agaroz jele yüklenerek 115 V elektrik akımı altında 3 saat süreyle koşturulmuştur. Agaroz jelin hazırlanmasında 1X TBE tamponu kullanılmış ve içerisine 25 µl (0.5 mg/ml) etidyum bromür çözeltisi eklenmiştir. Her elektroforez işleminde 100 bp DNA Ladder standart olarak yüklenmiştir.



Şekil 3.9. PCR için kimyasalların ve PCR karışımının hazırlanması



Şekil 3.10. PCR karışımının tüplere aktarılması



Şekil 3.11. Örneklerin PCR aşaması



Şekil 3.12. Elektroferez için hazırlanmış jele DNA yüklenmesi



Şekil 3.13. Elektroferez için hazırlanmış ve DNA yüklenmiş jeller

3.2.1.3. Elektroferez Jel Görüntülerinin Değerlendirilmesi

Jel görüntülerindeki polimorfik bantlar var (1) ve yok (0) şeklinde skor edilerek (Numerical Taksonomy and Multivariarte Analysis System, Version 2.0) NTSYS (Rohlf, 2000) paket programında benzerlik indeksi oluşturulmuştur. İki boyutlu grafik üzerindeki mesafeleri gösteren Temel Bileşenler Analizi (PCA) ve iki boyutlu grafik aynı programda Jaccard katsayısı kullanılarak belirlenmiştir. Analizler ISSR

ve RAPD markörlerden elde edilen veriler birleştirilerek yapılmış ve tek bir dendogram elde edilmiştir.

4. BULGULAR

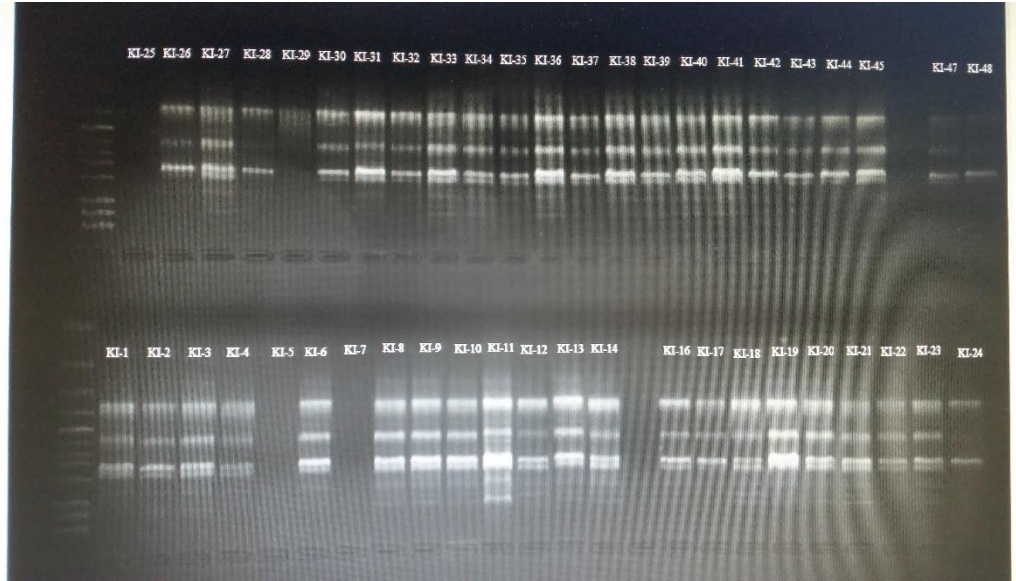
4.1. Moleküler İncelemeler

Çalışma materyalini oluşturan 56 genotip moleküler inceleme kapsamına alınmış ve elde edilen DNA materyali kullanılarak okunabilir net bantlar görüntülenmiştir. Moleküler incelemeler; genomik DNA izolasyonu, PCR çoğaltması, jelde yürütme, görüntüleme ve son olarak benzerlik ilişkilerinin belirlenmesi aşamalarından meydana gelmektedir. Bu aşamalara ait bulgulara aşağıda yer verilmiştir.

4.1.1. Genomik DNA İzolasyonu

İzlenen prosedüre göre her genotip için elde edilen saf DNA, agaroz jel ortamında yürütülmek suretiyle görüntülenmiştir (Şekil 4.1).

4.1.2. RAPD ve ISSR PCR Elektroforez Sonuçları

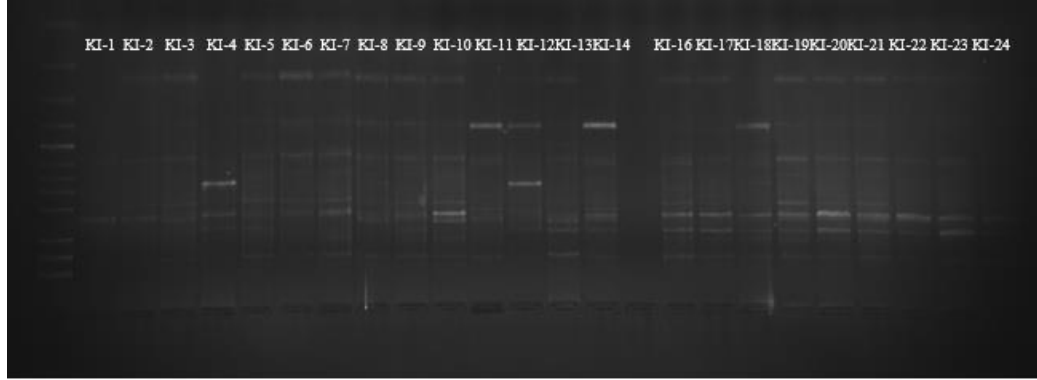


Şekil 4.1. GT8YA ISSR primeri ile 1-48 arasındaki genotiplerden elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü

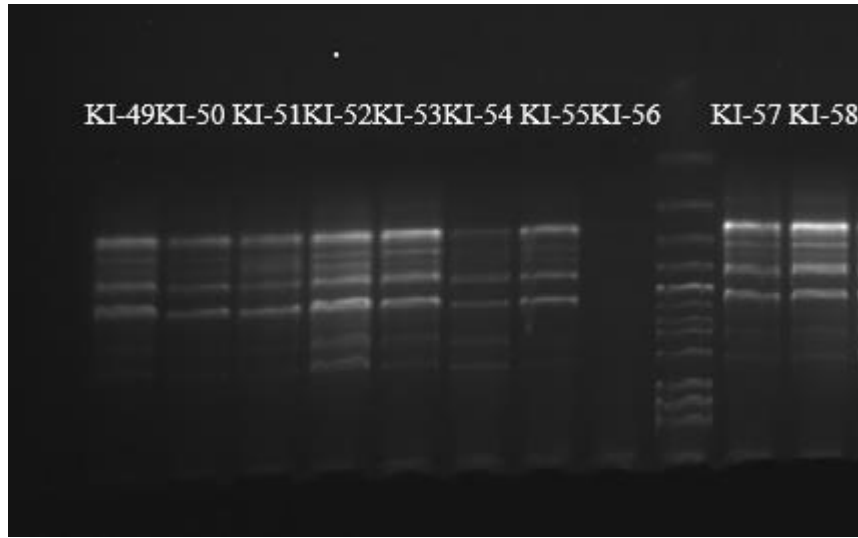
Elde edilmiş olan genomik DNA, PCR ortamında uygun görülen primerler kullanılarak çoğaltılmıştır. Rastgele bölgeleri çoğalmış olan kalıp DNA buradan jel ortamına yüklenerek elektroforez düzeneğinde yürütülmüş ve kalıp DNA'dan çoğalan bölgelerin bantlar halinde jele yayılması sağlanmıştır. Oluşan bantların

görünür hale gelmesi için boyama yapılmış ve UV ışık altında görüntülenmiştir. Görüntülenen bantların bir kısmı Şekil 4.2 ile 4.3 'de verilmiştir.

Kullanılan primer içerisinden net okunabilir bantlardan elde edilen polimorfik RAPD markörlerde bant varlığı (1), yokluğu ise (0) şeklinde belirlenmiştir.



Şekil 4.2. OPAN 07 RAPD primeri ile 1-24 arasındaki genotiplerden elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü



Şekil 4.3. AG8T ISSR primeri ile 49-58 arasındaki genotiplerden elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü

İğde genotipleri arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesi amacıyla 7 adet RAPD ve 15 adet ISSR primeri kullanılarak yapılan PCR çalışmaları ile elde edilen ürünlerin analizi sonucu RAPD primerlerinden 74, ISSR primerlerinden 136 adet toplam bant elde edilmiş ve bu bantlardan RAPD sisteminde (% 90.31)'i, ISSR sisteminde ise (% 81.92)'si polimorfik özellik göstermiştir. RAPD primerlerde skorlanabilen bant sayısı primer başına 9 (OPAE 10 ve OPAN 14) ile 14 (OPAN 19)

arasında değişmektedir. Toplam bant sayısı primer başına ortalama 10.57'dir (Çizelge 4.1). Polimorfik bant sayısı primer başına ortalama 9.57 bulunmuştur. En yüksek polimorfik bant sayısı 13'tür ve OPAN 19'dan elde edilmiştir. En yüksek polimorfizm oranı 92.8 çıkmıştır. ISSR primerlerde skorlanabilen bant sayısı 2 (GA₈YG) ile 12 (BDBCA₇C ve HVHTCC₇) arasında değişmektedir, toplam bant sayısı primer başına ortalama 9'dur. Polimorfik bant sayısı 1 (GA₈YG) ile 11 (AG₆GC) arasında değişmektedir, toplam polimorfik bant sayısı primer başına ortalama 7.66'dır. Polimorfizm oranı ISSR primerlerde ortalama % 81.92'dir (Çizelge 4.1). Asadiar ve ark.(2012) yaptığı çalışmada primer başına polimorfik bant sayısını 8.3 ve polimorfizm oranını % 79 olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar çalışmamızda elde edilen değerlere yakındır.

RAPD Primerleri

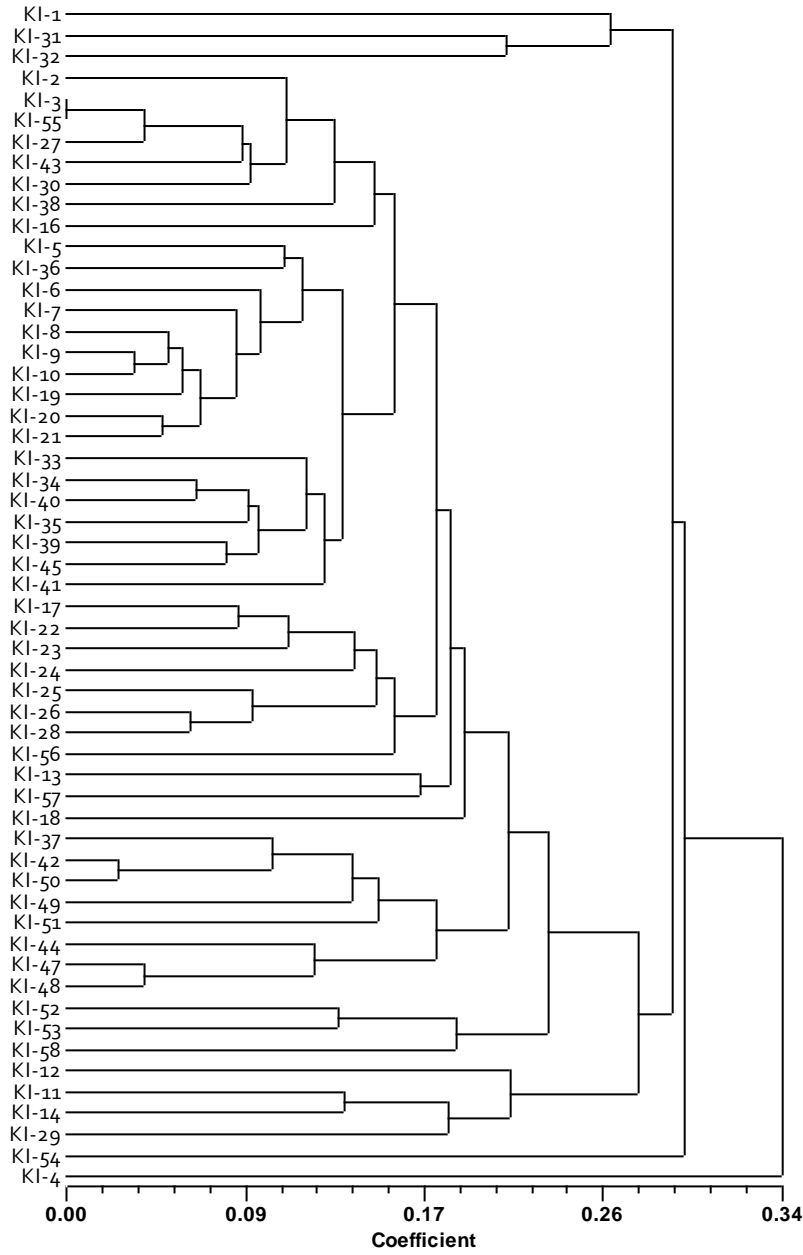
Çizelge 4.1. RAPD Primerleri toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı, polimorfizm oranı

RAPD Primerleri	TBS (Toplam bant sayısı)	PBS (Polimorfik bant sayısı)	PO (%) (Polimorfizm oranı)
OPAE 09	10	9	90
OPAE 10	9	8	88.8
OPAF 13	11	10	90.9
OPAN 07	11	10	90.9
OPAN 14	9	8	88.8
OPAN 17	10	9	90
OPAN 19	14	13	92.8
Ortalama	10.57	9.57	90.31
Toplam	74	67	

ISSR Primerleri

Çizelge 4.2. ISSR Primerleri toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı, polimorfizm oranı

ISSR Primerleri	TBS	PBS	PO (%)
AG6GC	11	11	100
AG7YC	10	9	90
AG8T	7	4	57.1
BDBCA7C	12	10	83.3
CA6AC	11	8	72.7
DBDACA7	8	4	50
GA8YG	2	1	50
GAA6	10	10	100
GACA4	10	10	100
GT6GG	10	9	90
GT8YA	8	6	75
HVHCA7T	8	8	100
HVHTCC7	12	9	75
TCC5RY	7	6	85.7
VHVG7G7	10	10	100
Ortalama	9.0	7.66	81.92
Toplam	136	115	



Şekil 4.4. İğde genotiplerinde RAPD ve ISSR analizleri sonucu elde edilen dendrogram

4.1.3. İğde Genotipleri Arasındaki Filogenetik İlişki Analizleri

56 iğde genotipi arasında polimorfik bantların NTSYSpc (ver 2.2) programında DICE (1945) metoduna göre elde edilen benzerlik matrisinin UPGMA gruplandırılmasıyla elde edilen dendrogramı Şekil 4.4'de verilmiştir.

RAPD ve ISSR analizleri 56 iğde genotipi arasındaki genetik çeşitlilik analizini gerçekleştirmek için bir araya getirilmiştir. Genotiplerin genetik uzaklıkları 0.34-0.00 arasında belirlenmiştir. Bu genotiplerin genetik benzerliği 0.76-1.00 arasında olmuştur.

5. TARTIŞMA

Kayseri ilinin değişik yörelerinde yetişen iğde genotiplerinin akrabalık ilişkilerini belirlemek amacıyla yürütölen bu çalışmada 56 iğde genotipi incelemeye alınmıştır, RAPD ve ISSR PCR yöntemiyle akrabalık dereceleri belirlenmiştir.

İğde ile ilgili yapılan benzer çalışmalar çok sınırlı düzeyde kalmıştır ve yapılan çalışmalarda daha çok iğdenin bitkisel özellikleri ve pomolojik özelliklerinin incelendiği görölmüştür. Nitekim Çin’de yapılan bir çalışmada nesli tükenmekte olan 7 yabancı *Elaeagnus mollis* ağaç popöasyonlarının genetik mesafesinin 0.06-0.00 arasında olduğu bulunmuştur (Wang ve ar. 2012). Öte yandan 9 adet İran *E. Angustifolia* genotiplerinin genetik benzerliği ISSR primerlerine göre 0.51-0.77 arasında olduğu tespit edilmiştir. alışmalar arasındaki farklılıklara coğrafi faktörler, sınırlı alan çalışmaları, kullanılan markör sistemi ve kullanılan genotipler arasında genetik farklılıkların neden olacağı öngörülmektedir.

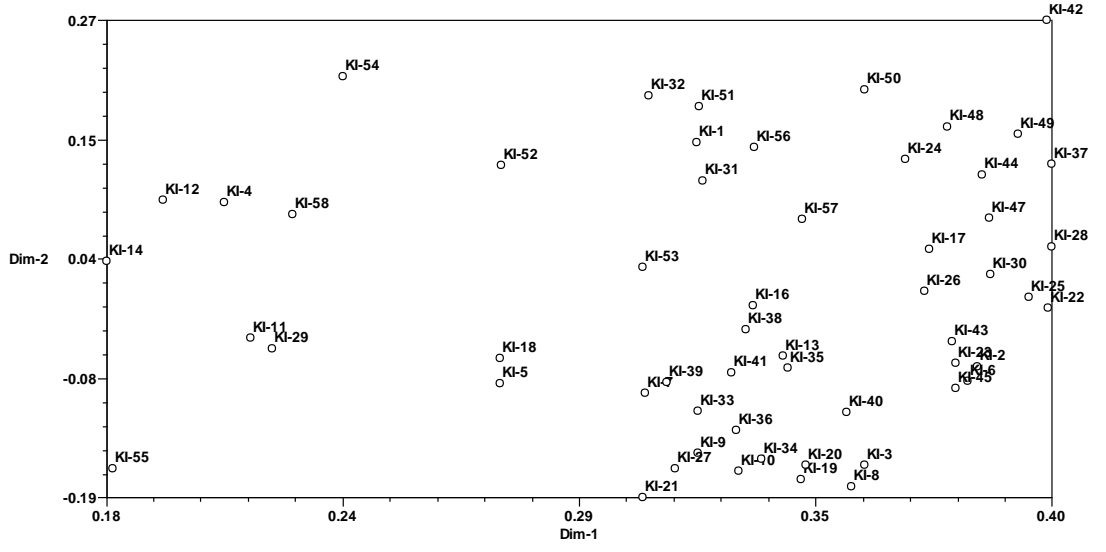
Yaptığımız bu çalışmada genotipler arasında yüksek düzeyde varyasyon tespit edilmiştir. İğdenin kuşlar yada böcekler tarafından tohumlarının taşınmasıyla geniş varyasyonların oluşabileceği zaten beklenilmektedir. Genotipler Kayseri ilinin Kocasinan, Melikgazi, Develi, İncesu, Talas, Sarioğlan, Akkışla ve Hacılar ilçelerinden toplanmıştır. Kayseri’ye 8 km uzaklıkta olan Talas ilçesinden alınan KI-4 genotipi diğer genotiplere en uzak birey olarak tespit edilmiştir. Melikgazi ilçesinden alınan KI-54 genotipi de diğer genotiplerden ayrılmıştır. Kayseri merkez ilçelerinden alınan genotipler diğer ilçelerden alınan genotiplere oranla genetik mesafe olarak uzaktır. Sarioğlan ve Akkışla ilçelerinden alınan genotipler dendogram kümesinde birbirine yakın bireyler olmuştur. Bu ilçeler birbirine 22 km ve diğer ilçeler arasında birbirine en yakın mesafededir. İlçeler arası mesafeler azaldıkça akrabalık ilişkileri artış göstermektedir.

KI-3 ve KI-55 hariç bütün genotipler ayırt edilmiştir. Materyaller arasında Talas ilçesinden alınan, KI-4 genotipi çalışmada kullanılan diğer genotiplere 0.34 değeri ile en uzak birey olarak tespit edilmiştir. Ayrıca KI-54 genotipi 0.30 benzerlik düzeyinde diğer genotiplerden ayrılmıştır. Geri kalan 54 genotip 2 ana gruba ayrılmıştır. İlk grup KI-1, KI-31 ve KI-32 olmak üzere 3 genotipten oluşmaktadır. Bu

grubun son iki genotipi İncesu bölgesinden örneklenmiş ve bunların meyve karakterleri birbirine benzerdir.

Sekiz alt gruptan oluşan çeşitli genotiplerle başka bir ana grup oluşmaktadır. Bu ana grup içinde 50 genotip arasındaki genetik uzaklık ~0.20 and 0.00'dır. Dendogram kümelemesinde aşağıdan yukarı ilk alt grup KI-29, KI-14, KI-11 ve KI-12'dir. Bu grubun genotipleri Sarıoğlan ilçesinden toplanmıştır. İkinci alt grupta KI-52, KI-53 ve KI-58 iç içedir. Bu gruptaki iki genotipte aynı ilçeden alınmıştır. Üçüncü alt grubu sekiz genotip oluşturmuştur. KI-47, KI-48 ve KI-42, KI-50 genotiplerinin aralarında yakından ilişkili olduğu belirlenmiştir. KI-55 dışında bütün genotipler Sarıoğlan İlçesinden alınmıştır. Dördüncü alt grupta KI-13, KI-18 ve KI-57 genotipleri iç içedir. Beşinci alt grupta sekiz genotip vardır ve bunlardan altı tanesi Develi ilçesinden alınmıştır. Altıncı alt grupta oluşan genotipler KI-33, KI-34, KI-35, KI-39, KI-40, KI-41 ve KI-45' dir. İlk üç genotipin kabuğu ve et rengi aynıdır ve Develi ilçesinden örneklenmiştir. Yedinci alt grup 10 genotiple oluşmuş ve en büyük grubu olmuştur. Genel olarak bu grubun içindeki diğer alt gruplara göre daha yakın akraba ilişkisi vardır. Son alt grup sekiz genotiptir ve çeşitli ilçelerden örneklenmişlerdir. Bu grup içinde KI-3 ve KI-55 primerleri genetik olarak özdeştir.

Elde edilen 'Temel Bileşenler Analizi (PCA)' sonucu Şekil 4.5' de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre çeşitler arasında KI-54 ve KI-42 genotipi dendograma benzer şekilde diğer genotiplerden ayrı durmuşlardır. KI-29 ve KI-11 genotipleri aynı ilçeden toplanmış kümeleme dendogramında benzer şekilde kendi aralarında grup oluşturmuşlardır. KI-33, KI-34, KI-35, KI-39 ve KI- 41 kendi aralarında grup oluşturmuşlardır.



Şekil 4.5. Temel Bileşenler Analizinden (PCA) elde edilen iki boyutlu düzlem üzerinde genotiplerin dağılımı

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

İnsanoğlu var olduğundan bu yana çevresinde bulunan çeşitli bitkileri kültüre alarak beslenme ihtiyacını karşılamaya çalışmıştır. Yüzyıllardır süregelen beslenme alışkanlıkları sonucu birçok bitkisel ürün kültüre alınarak insanoğlunun kullanımına sunulmuştur. Ancak bazı meyveler faydalarına rağmen geleneksel metotlarla üretilmekten öteye gidememiştir. Bu gibi meyveler beslenme yerine sınır belirleme, gölgelik ve süs bitkisi olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada insanoğlunun farklı alanlarda değerlendirdiği iğde genotiplerinin genetik benzerliği incelenmiştir. Kayseri ilinin değişik yörelerinden toplanan 56 adet iğde genotipinin genetik karakterizasyonu amaçlanmıştır.

İncelenen genotipler arasındaki genetik varyasyon yüksek seviyede görülmüştür. İğde genellikle tohumla çoğaltılır. Tohumları; kuşlar, insanlar ve diğer hayvanlar tarafından taşınır. Bu tür genotipler arasında genetik varyasyon beklenir. Yaygın olarak ülkenin kurak bölgelerinde dikili olan ve performansı iyi olan bu tür, ağır toprak koşullarına ve kuraklığa toleranslı olduğu için önemli kabul edilmiştir. Ayrıca renkli yaprakları ile peyzaj alanlarında kullanılan bir bitkidir (Gilman ve Watson, 1993).

Bitki yetiştirme programlarında yetersiz kaynak genellikle sorun olmuştur ve kaynakların sınırlı olması en değerli genotiplerin korunmasını öncelikli hale getirmiştir. Bu genotipler bitki yetiştiricileri ve araştırmacılar tarafından ürün çeşitliliğini korumak için ileride yardımcı kaynak olarak kullanılabilir. (Garkava-Gustavsson ve ark. 2005)

Doğal olarak yetişen yabani türlerin genetik kaynaklarının değerlendirilmesi koruma için önemli ve önceliklidir. Bir türün genetik çeşitliliği sürekli değişen bir ortamda hayatta kalması kritik önem taşımaktadır. Genetik çeşitlilik kaybı genellikle türlerin azalması ile uyumlu ilişkilidir. Genetik varyasyonun korunması nesli tükenmekte olan türler için koruma planlarında önemli bir hedeftir (Hu ve ark.2010; Wang ve ark. 2012). Mevcut sonuçlar iğde genotiplerinin genetik varyasyonunun önemli bir oranını temsil eder. İç ve dış koruma prosedürleri genotipleri korumak için

tasarlanmış ve gelecekte ilerleme kaydetmek için bu zengin kaynaklar kullanılacaktır.

Ülkemizde çok geniş bir alana yayılmış olan iğdeye gerekli önem gösterilmemiştir. Ülkemizin hemen her bölgesinin iklimine adapte olmuş her tür toprakta yetişebilen bu önemli meyve maalesef kültüre alınmamış ve üreticilerimizin dikkatini bir türlü çekememiştir. Sadece tarımsal üretim yapılan alanlarda sınır bitkisi, gölgelik amacıyla veya çiçeklerinin güzel kokulu olmasından dolayı süs bitkisi olarak kullanılmıştır. Ülkemizde iğdenin kapama bahçe şeklinde yetiştiriciliği yapılmamaktadır. Hiçbir teknik ve kültürel uygulama yapılmadan, seçici olmayan toprak ve iklim şartlarında dahi yetişebilmesi tarımsal açıdan oldukça büyük bir avantaj sağlamaktadır. Böyle özelliklere sahip bir bitki kültüre alındığında özelliklerinin çok daha iyileştirilebileceği ve muhtemelen üreticilere ilerde ihraç imkânları bile sunarak ülkemiz ekonomisine katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. İğde sahip olduğu besin değeri, ağaç özellikleri ve üretim potansiyeli ile üzerinde önemle durulması gereken meyvelerden biridir. Bu gibi meyveler kültürel şartlarda üretildikten sonra öncelikle yerel daha sonrada uluslararası pazarlara sunulmalıdır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçları kısaca özetleyecek olursak;

- Kayseri ili iğde genetik kaynakları bakımından zengindir. Moleküler incelemeye alınan 56 iğdenin benzerlikleri de olmakla beraber daha çok farklılıkları ortaya çıkmıştır.
- Tüm dünyada ve ülkemizde iğde ile ilgili yapılmış bilimsel çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu çalışma bundan sonraki yapılacak araştırmalara ışık tutacak niteliktedir.

7. KAYNAKLAR

- Anonim, 2015a. http://tr.wikipedia.org/wiki/Ku%C5%9F_i%C4%9Fdesi (Erişim Tarihi: 16.09.2015)
- Anonim, 2014a <http://abdulhadi.org/igdeihlamurincir.html> (Erişim Tarihi: 11.02.2015)
- Anonim, 2014b TÜİK'in verilerine göre 2014 yılında iğdenin üretim miktarı. (<https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>)(<http://rapory.tuik.gov.tr/09-12-2015-11:26:17-3222537872121734205657430596.html?>) (Erişim Tarihi: 09.12.2015)
- Asadiar, L.S., Rahmani, F., Siami, A. 201 Assessment of genetic diversity in the Russian olive (*Elaeagnus angustifolia*) based on ISSR genetic marker. Revista Ciência Agronmica, 44
- Bailey, L.H. 1914. Standard cyclopedia of horticulture. Macmillan Co. London, UK.
- Bostan, S.Z. 2009. Pomological Traits of Local Apple and Pear Cultivars and Types Grown in Trabzon Province (Eastern Black Sea Region of Turkey) First Balkan Symposium on Fruit Growing, Acta Hort.,825:293-298.
- Carrol, R.B., Morehart, A.L., Stuart, M. 1976. Phomopsis canker of Russian-olive in Delaware. Plant Dis. Rep. 60:787-788
- Doyle, J.J., Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13–15.
- Duvick, D.N. 1996. Plant breeding, an evolutionary concept. *Crop Sci.*, 36: 539-548.
- Elias, T.S. 1980. The complete trees of North America: Field guide and natural history. Van Nostrand Reinhold Co. New York, NY. 948 p.
- Feucht, W., Schwalb P. 1999. Changes in the concentration of phenolic substances in the bark during the annual development of the cherry tree (*Prunus avium* L.). Advances in Horticultural Science, 13: 71
- Garkava-Gustavsson, L., Persson H.A., Nybom H., Rumpunen K. 2005. RAPD- based analysis of genetic diversity and selection of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) material for ex situ conservation. Genetic Resources and Crop Evolution, 52: 723–735
- Gilman, E.F., Watson D.G. 1993. *Elaeagnus angustifolia* Russian-Olive. Fact Sheet ST-233, Environmental Horticulture Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, USA.
- Güngör, D., Atatoprak, A., Özer, F., Akdağ, N., Kandemir, N.D. 2002. Bitkilerin Dünyası, Bitki Tanıtımı Detayları ile Fidan Yetiştirme Esasları. Lazer Ofset Matbaa, Ankara.
- Hu, Y. P., Wang L., Xie X. L., Yang J., Li Y., Zhang H.G. 2010. Genetic diversity of wild populations of *Rheum tanguticum* endemic to China as revealed by ISSR analysis. Biochemical Systematics and Ecology, 38: 264–274.

- Kaya, T. 2008. Van Merkez, Edremit ve Gevaş İlçeleri elma genetik kaynaklarının fenolojik, morfolojik, pomolojik ve moleküler tanımlanması. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bil. Enstitüsü, Van, 235 s.
- Knopf, F.L., Olson, T.E. 1984. Naturalization of Russian-olive: implications to Rocky Mountain wildlife. *Wildl. Soc. Bull.* 12: 289-298
- Krupinsky, J.M., Frank, A.B. 1986. Effects of water stress on Tubercularia canker of Russian olive. *Montana State Univ. Coop. Ext.* 117:171-172.
- Lee, M. 1995. DNA markers and plant breeding programs. *Advances in Agronomy*, 55: 265-344.
- Lombard, V., Dubreuil, P., Dillmann, C., Baril, C. 2001. Genetic distance estimators based on molecular data for plant registration and protection: a review. *Acta Hort.*, 546: 55-63.
- Oğuz, D. 2002 Ankara Kentinde Ender Bulunan Ağaçlar Üzerine Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi Kesin Raporu. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Müdürlüğü. Proje No:98-11-04-02. Ankara.
- Ozbek, S. 1977. Genel Meyvecilik. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Yayınları 111, Ders Kitabı 6.
- Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M. 2004. Bitki Biyoteknolojisi, Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya. 456s.
- Özdemir, 2007. Selçuk Üniversitesi Alaaddin Keykubat Kampüs Alanında Yetişen İğdeler Üzerine Bir Seleksiyon Çalışması, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Konya
- Peterson, G.W. 1976. Disease of Russian-olive caused by *Botryodiplodia theobromae*. *Plant Dis. Rep.* 60:490-494.
- Rafalski, J.A., Tingey, S.V. 1993. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. *TIG.*, 9(8): 275-280.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYS-pc, numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.11. New York, Exeter Setauket.
- Şeker, S. 2012. Ülkemizde yetiştirilen farklı çekirdeklik kabak populasyonlarının bazı tane özelliklerinin saptanması ve RAPD yöntemi ile genetik ilişkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, s:75.
- Şensoy, S. 2005. Türkiye kavunlarındaki genetik varyasyonun ve fusarium solgunluğuna dayanıklılığın fenotipik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Doktora Tezi, YYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Uzun, A. 2009. Turuncgillerde genetik çeşitliliğin SRAP markırları ile karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana.

- Van Dersal, W.R. 1939. Birds that feed on Russian olive. *Auk*. 56:483-484.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23(21): 4407-4414.
- Yılmaz, K.U., Uzun, A. 2011. Erciyes Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Dergisi 27(3):228-233
- Wang, Y., Qin Y., Du Z., Yan G. 2012. Genetic diversity and differentiation of the endangered tree *Elaeagnus mollis* Diels (*Elaeagnus* L.) as revealed by Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 40:25-33.
- Waugh, R., Powell, W. 1992. Using RAPD markers for crop improvement. *Tibtech.*, 10: 186-191.
- Winter, P. ve Kahl, G. 1995. Molecular marker technologies for plant improvement. *World J. Microbio. & Biotech.*, 11: 438-448.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Buket ÇELİK KARADEMİR
Doğum Yeri : Kocasinan/KAYSERİ
Doğum Tarihi : 28/07/1989
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : buket.karademir@ordu.bel.tr
İletişim Bilgileri : Ordu Büyükşehir Belediyesi / Park ve Bahçeler Şube Müdürlüğü

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Ziraat Mühendisliği	Ordu Üniversitesi	2012
Y. Lisans	Bahçe Bitkileri Bölümü	Ordu Üniversitesi	2015

İş Deneyimi:

Görev	Görev Yeri	Yıl
Ziraat Mühendisi	Ordu Büyükşehir Belediyesi	2014- Halen

Yayınlar :

1. Assessment of fruit characteristics and genetic variation among naturally grown wild fruit *Elaeagnus angustifolia* genotypes