

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SEÇİLMİŞ KARAYEMİŞ (*Prunus laurocerasus* L.)
GENOTİPLERİNİN SSR MARKIRLARI İLE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU

HALE ORTA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2016

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü yüksek lisans öğrencisi Hale ORTA tarafından Prof. Dr. Ali İSLAM danışmanlığında hazırlanan “Seçilmiş Karayemiş (*Prunus laurocerasus* L.) genotiplerinin SSR Markırları ile Moleküler Karakterizasyonu” adlı bu tez, jürimiz tarafından 13/07/2016 tarihinde oy birliği ile Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Ali İSLAM

Başkan : Prof. Dr. Ali İSLAM

İmza:

Üye : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR

İmza:

Üye : Yrd. Doç. Dr. Muharrem YILMAZ

İmza:

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 13/07/2016 tarih ve 2016/346 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

13/07/2016

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.

Hale ORTA

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

SEÇİLMİŞ KARAYEMİŞ (*Prunus laurocerasus* L.) GENOTİPLERİNİN SSR MARKIRLARI İLE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

HALE ORTA

Ordu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 2016
Yüksek Lisans Tezi, 48s.

Danışman: Prof. Dr. Ali İSLAM

Bu çalışmada moleküler markırlardan SSR tekniği kullanılarak karayemiş genotipleri arasında farklılıkları ortaya koymak amaçlanmıştır. Karayemiş bitkisi, *Rosacea* familyası içerisinde *Prunus laurocerasus* veya *Laurocerasus officinalis* olarak bilinmektedir. Çalışma TÜBİTAK 107O257 nolu projenin devamı niteliğindedir.

Seçilmiş tiplerin oluşturduğu proje materyali üzerinde SSR tekniği kullanılmıştır. Bu genotipler Ordu Üniversitesi Araştırma ve Uygulama arazisinde bulunmaktadır. Araştırmada genotipler arasındaki filogenetik ilişkiler, polimorfizm oranları ortaya konmuştur.

Prunus türlerinden geliştirilmiş 15 SSR primer çiftinin kullanıldığı bu çalışmada, PCR çalışmaları ile elde edilen analiz sonucunda 13 tane SSR primeri skorlanabilir DNA vermiştir. SSR primerlerinden skorlanabilen bant sayısı en az 3 allel ile UDAp-401 primerinden, en fazla 17 allel ile BBCT001 primerinden elde edilmiştir. Toplam bant sayısı primer başına ortalama 9'dur. Polimorfik bant sayısı primer başına ortalama 8.38'dir. Elde edilen toplam 117 banttan 109'u polimorfik bulunmuş ve polimorfizm oranı % 93.5 olarak hesaplanmıştır.

Türkiye'de karayemiş türüne ait SSR bulguları, bölgede bundan sonraki ıslah çalışmalarına ebeveyn seçiminde bir basamak oluştururken, karayemiş genotiplerinin yayılma alanlarının belirlenmesinde, genetik koleksiyonların karşılaştırılmasında, karayemiş genotiplerinin karakterizasyonunda kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: *Prunus* spp. , *Laurocerasus officinalis*, Taflan, DNA, Polimorfizm,

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION AMONG SELECTED CHERRY LAUREL (*Prunus laurocerasus* L.) GENOTYPES USING SSR MARKERS

HALE ORTA

The University of Ordu
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture, 2016
M.Sc. Thesis, 48p.

Supervisor: Prof. Dr. Ali İSLAM

The aim of the study is to determine the differences among cherry laurel genotypes using SSR technique. Cherry laurel is known as *Prunus laurocerasus* or *Laurocerasus officinalis* in *Rosacea* family.

The material of the project is the promising types of the project which supported by TUBİTAK (project number 107O252). These genotypes propagated vegetative were in the University of Ordu, Research and Application garden. SSR technique of molecular marker was used, phylogenetic relationships were showed, polymorphism was disclosed.

15 SSR locus selected from *Prunus* species were used and 13 SSR primers showed scorable band. While the minimum scorable band was 3 alleles from UDAp-401, the maximum band was 17 alleles from BBCT001 primer. Total 107 bands were found polymorphic. The number of polymorphic band was 8.38 per primer and polymorphism rate was % 93.5.

The result showed that SSR findings of cherry laurel can be used in the characterization of the genotype, creating a step in parent choice and the comparison of the genetic collection in cherry laurel.

Keywords: *Prunus* spp., *Laurocerasus officinalis*, Taflan, DNA, PCR, Polymorphism,

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde, araştırma ve yön tayini ve tezin tamamlanmasında her zaman destek olan değerli hocam Prof. Dr. Ali İSLAM'a, laboratuvar çalışmalarında bize ayırdığı değerli zamanı ve engin bilgileri için Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR'a, çalışmamın sonuna kadar yanımda olup desteklerini esirgemeyen Dr. Özhan ŐİMŐEK ve doktora öğrencisi Dicle DÖNMEZ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yine, yüksek lisansa başladığımdan beri desteklerini gördüğüm Fen Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına da ayrı ayrı teşekkür ederim.

Bu çalışmam sırasında maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen canım aileme hayatımın sonuna kadar saygı ve Őükranlarımı sunarım.

Ayrıca, bu çalışmayı maddi yönden destekleyen bilimin ve bilim insanının destekçisi TÜBİTAK'a (115O564) da teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
ÇİZELGELER LİSTESİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR	VIII
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
3. MATERYAL ve YÖNTEM	8
3.1. Materyal.....	8
3.2. Yöntem.....	10
3.1.2. DNA İzolasyonu İçin Yaprak Örneklerinin Alınması.....	10
3.2.2. DNA İzolasyonu.....	11
3.2.3. DNA Kalite ve Miktarının Belirlenmesi.....	12
3.2.4. SSR Analizleri.....	12
3.2.4.1. SSR Lokuslarına Ait Primerler.....	13
3.2.4.2. Poliakrilamid Jel Hazırlığı.....	15
3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi, Benzerlik İndeksi ve Dendrogramın Oluşturulması.....	16
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	17
4.1. DNA İzolasyonu.....	17
4.2. Poliakrilamid Jel Görüntülerinin Değerlendirilmesi.....	19
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	31
6. KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1.	Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Alanında bulunan bir karayemiş bitkisi (O29 nolu genotip).....	9
Şekil 3.2.	Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Alanı karayemiş parseli.....	9
Şekil 3.3.	Yaprak örneklerinin tüplere konulması ve Tissue Lyser cihazında öğütülmesi	11
Şekil 3.4.	DNA izolasyon aşamaları.....	12
Şekil 3.5.	DNA miktar ve kalitesinin NanoDrop'da ölçülmesi.....	12
Şekil 3.6.	Poliakrilamid jel hazırlığı.....	15
Şekil 3.7.	Jelin cihaza yerleştirilmesi.....	15
Şekil 3.8.	Hazırlanan primerlere boyaların eklenmesi.....	16
Şekil 4.1.	Araştırmada kullanılan bazı çeştlere ait DNA'ların %1'lik agaroz jel elektroforez görünümü.....	17
Şekil 4.2.	PMS67 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü	19
Şekil 4.3.	PMS49 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü	19
Şekil 4.5.	UDAp-401 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü.....	19
Şekil 4.6.	PMS3 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü.....	20
Şekil 4.7.	UCD-CH17 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü.....	20
Şekil 4.8.	BBCT005 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü.....	20
Şekil 4.9.	PceGA25SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü.....	20
Şekil 4.10.	PMS40 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü	20
Şekil 4.11.	Karayemiş genotiplerine ait benzeerlik(Jaccard) indeksi (çeşitlerin numaralandırma sırası çizelge 3.1'e göre yapılmıştır).....	23
Şekil 4.12.	Karayemiş çeşitlerine ait genetik ilişki dendrogramı.....	24

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1.	Araştırmada kullanılan karayemiş genotipleri.....	10
Çizelge 3.2.	SSR lokuslarına ait bazı primerlerin baz dizileri, Tm (°C), hangi türde kullanıldıkları, baz büyüklükleri ve referansları.....	14
Çizelge 4.1.	Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların spektrofotometrik değerleri	18
Çizelge 4.2.	Kullanılan SSR lokuslarına ait allel büyüklükleri (bp).....	21
Çizelge 4.3.	SSR primerleri, toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı, polimorfizm oranı	22

SİMGELER ve KISALTMALAR

A	:	Adenin
AFLP	:	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)
APS	:	Amonyum persülfat
bp	:	Baz çifti
C	:	Sitozin
CAPS	:	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler)
CDNA	:	Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit
CTAB	:	Cetyl Tri Methyl Ammonium Bromide
dd	:	Double Distilled
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	:	Deoksiribo Nükleotid Tri Fosfat
EDTA	:	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ETOH	:	Etanol
G	:	Guanin
ISSR	:	Inter Simple Sequence Repeat (Kısa Dizi Tekrarları Arası)
kb	:	Kilobaz
M	:	Molar
µl	:	Mikro litre
µm	:	Mikro mol
ng	:	Nanogram
PCR	:	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
pH	:	Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
RAPD	:	Random Amplified Polymorphic DNA (Tesadüfi Çoğaltılmış Polimorfik DNA)
RFLP	:	Restriction Fragment Length Polymorphism -(Sınırlı Parça Uzunluk Polimorfizmi)
rpm	:	Rotation per minute-Dakikada döngü sayısı
SSR	:	Simple Sequence Repeat-(Basit tekrar dizileri)
SNP	:	Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
SRAP	:	Sequence Related Amplified Polymorphism (Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm)

T : Timin
TBE : Tris-borate-edta
TEMED : Tetramethylethylenediamine
Tm : Erime sıcaklığı
UPGMA : Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean

1. GİRİŞ

Türkiye dünyanın önemli gen merkezlerinden biridir. Bu yüzden yurdumuz birçok meyve türünün anavatanı konumundadır. Ülkemizde zengin doğal kaynaklara ve çeşitlere sahip önemli bölgelerden biride Karadeniz bölgesidir. Bölgede farklı meyve ve bitki toplulukları mevcuttur. Bunlardan biri olan karayemiş bölgede doğal olarak yetişmekte olup hem meyve hem de süs bitkisi olarak kullanılmaktadır.

Karayemiş *Spermatopyta* bölümü, *Angiospermaea* alt bölümü, *Magnoliatae* (*Dicotyledones*) sınıfı, *Rosaceae* familyası, *Prunoideae* alt familyası *Laurocerasus* Duhamel. cinsine ait bir türdür. Bu türün Latince adı *Prunus laurocerasus* (L.) Mill. veya *Laurocerasus officinalis* Roemer'dir (Özbek, 1978). Ülkemizde bu türün, yaygın olarak kullanılan ismi 'taflan'dır (İslam, 2005). Meyveleri olgunlaştıktan sonra yaş olarak tüketilebilir. Ayrıca meyveleri reçel, pekmez, turşu yapılarak ve kurutulularak da değerlendirilmektedir. Tokluk hissi verdiği için diyet yiyeceği olarakda tüketilebilir. Pastacılıkta, hoşaf ve kompostolara aroma vermek için kullanılır. Aynı zamanda eczacılık sanayinde de kullanılmaktadır (Güven ve Geçgil, 1961; İslam, 2008; Eser ve ark., 2014).

Herdem yeşil olması nedeniyle park ve bahçelerde süs bitkisi olarak, çiçekçilikte çelenk yapımında ve evlerin rüzgar alan yönüne dikilerek rüzgar kıran olarak kullanılır (İslam ve Deligöz, 2012).

Son zamanlarda birçok ülke yeni ve farklı meyve türlerinin araştırılmasına önem verdiği görülmekte olup bu türlerin özelliklerinin belirlenmesi, üretilme teknikleri, kullanım alanları, kültüre alma çalışmaları önem kazanmaktadır.

İnsanoğlu artık, kendi damak zevkine uygun çeşitler arayarak, bitkilerin tıbbi besin değerlerini inceleyerek daha bilinçli beslenmeye çalışmaktadır (Ayaz ve ark., 1997a; 1997b; Kadioğlu ve Yavru, 1998).

Biyoteknolojide görülen hızlı ve yeni gelişmeler, bitki gen kaynaklarına ait yapılan çalışmalarda, özellikle genetik çeşitliliğin korunması, üretimi, karakterizasyonu, ıslah ve akrabalık derecelerinin belirlenmesi gibi amaçlar doğrultusunda katkılar sağlamıştır.

Bitkilerdeki genetik varyasyonların belirlenmesi ve bunların sınıflandırılmasında öncelikli olarak morfolojik, fizyolojik ve sitolojik özellikler kullanılmış olup daha sonra bu aşamayı daha da kısaltmak amacı ile biyokimyasal markörler geliştirilmiştir. Son zamanlarda ise moleküler seviyede çalışmalar hız kazanmıştır (Scarano ve ark., 2002).

Son yıllarda gen kaynaklarının korunması için yapılan morfolojik ve biyokimyasal çalışmalar yetersiz kalmış olup moleküler markör çalışmaları önem kazanmıştır. Basit dizi tekrarı (SSR- Simple Sequence Repeat) olarak bilinen mikrosatellit markörler; uluslararası veri paylaşımı, ko-dominant ve kararlı markör olması, yüksek polimorfizm göstermesi bilgilendirici, tekrar edilebilir ve otomasyona uygun oluşu, türler arası geçişkenlik özeliğini barındırması ve bilgilendirici bir markör sistemi olmasından dolayı ön plana çıkarmaktadır (Weber ve May, 1989; Yamamoto ve ark., 2001; Wünsch ve Hormaza, 2002).

Bu çalışmada 43 karayemiş genotipi kullanılmış olup 15 SSRs (Simple Sequence Repeats) primeri ile genetik tanımlamaları yapılmıştır. Elde edilen genetik bulgular ile populasyon içi genetik benzerlikler, akrabalık dereceleri, populasyona ait DNA kimlik bilgilerinin (allel verileri) tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Avrupa'nın güney doğusu, Balkanlar ve Kuzey İran başta olmak üzere dünyanın değişik yörelerinde karayemiş formlarına rastlanmaktadır. Bitkinin dünya üzerinde doğal yayılma alanı Karadeniz'in doğu bölgeleri, Kafkaslar, Toroslar, Kuzey ve Doğu Marmara'dır (Zeybek, 1960; Anşin ve Özkan, 1993).

Karayemiş ağaçları yapraklı ağaç, çok boylu çalı veya ağaç formunda ya da makilerle karışmış bir tür olarak bulunur. Karayemiş Karadeniz bölgesinde yaygın olmak üzere Marmara'da ve Güney Anadolu'da yetişmektedir. Karadeniz Bölgesi'nde Karadeniz kıyı ormanlarında Rize, Trabzon, Giresun, Ordu çevresinde, Maçka Meryemana Vadisi'nde, Giresun, Sinop (Ayancık), Zonguldak (Devrek), Kastamonu, Bartın ve Bolu çevresinde orman ve orman kıyılarında rastlanır.. Yenilebilir formların ise daha ziyade doğal ortamlardan alınarak yöre halkının kendi bahçe kenarlarında yetiştirdiği görülmektedir (İslam, 2005). Kültür karayemişlerine Doğu Karadeniz bölgesinin genelinde rastlamak mümkündür (İslam ve Odabaş, 1996).

Karayemiş yetiştiriciliği ve yaygınlaştırılması konusunda pek çok makale bulunmaktadır (İslam ve Odabaş, 1996; İslam, 2002; Bostan ve İslam, 2003; İslam ve ark, 2010). Bu çalışmalar karayemişin bitki ve meyve özellikleri, genotiplerin ortaya çıkarılması üzerinedir. Yine meyvesinin işlenmesi (Tarakçı ve ark., 2014) ve tıp alanında da (Güven ve Geçgil, 1961; Eser ve ark., 2014) çalışmalar mevcuttur.

Bitkilerde moleküler markör kullanımı ilk izoenzimlerle başlamıştır. İzoenzimlerin yetersizliği ise DNA markörlerin kullanımına olanak sağlamıştır. Aynı DNA bölgesinin genomlar arasında olup olmaması, bulunması halinde o bölgenin aynı büyüklükte olup olmamasını tespit eden DNA markörlerin önemli avantajları bulunmaktadır. Genetik tanımlamalar sırasında hücresel etmenlerden etkilenmemeleri, tekrarlanabilme özelliklerinin yüksek olması ve bilgi birikiminin fazla olması bunlardan birkaçıdır.

DNA markörlerin bitkilerde kullanımı PCR temelli olmayan RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) markörlerle başlamış olup, PCR (PZR) (Polymerase Chain Reaction = Polimeraz Zincir Reaksiyonu) tekniğinin ortaya çıkması ile birlikte PCR'a dayalı DNA markörler genetik tanımlamalarda

kullanılmaya başlanmıştır. Bu amaçla kullanılan markörlerin başında ise, RAPD, AFLP, SSR, ISSR, SNP gibi markörler gelmektedir (Çelikkol, 2011).

SSR markörler (mikrosatelit), bitki DNA'sı boyunca rastgele dizilmiş penta-, tetra-, tri-ve dinükleotit gibi kısa tekrar dizileridir (Zietkiewicz ve ark., 1994). Ökaryotik genoma özgünlük gösteren mikrosatellitlerin (Litt ve Luty, 1989), ko-dominantlık, yüksek polimorfizm göstermesi, çok sayıda allel üretebilir olması, tekrar etmesi ve otomasyona uygun olması, aynı tür ve familyaya ait cinsler arasında transfer edilebilir olması, uluslar arası veri tabanlarının karşılaştırmasına olanak sağlaması yönünden kullanışlı bir yöntemdir. SSR markörlerin bu avantajları, bitki tanımlamada diğer DNA markörlere (RFLP, RAPD, AFLP vb) göre daha çok tercih edilmesini sağlamıştır (Altınbay, 2012).

Cipriani ve ark., (1999), SSR markörlerinin yüksek polimorfizm gösterdiğini ve SSR bölgelerinin korunmuş bölgeler oldukları için yakınlık gösteren *Prunus* türleri arasında transferlerinin rahatlıkla sağlanabileceğini açıklamıştır.

Boritzki ve ark., (2000), 128 kiraz genotipinin moleküler karakterizasyonunu belirlemek amacı ile 13 SSR primeri ve 10 AFLP primeri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda AFLP lokuslarında 5-26 arasında farklı allel sayıları belirlenmiştir.

Downey ve Lezzoni, (2000), kara kiraz genetik kaynaklarına ait yapılan bu çalışmada 66 kara kiraz çeşiti 8SSR primeri ile genetik tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 8SSR primerinden 4'ünde başarılı çoğaltım sağlanırken toplam 54 allel bulunmuştur.

Aka Kaçar, (2001), Türkiyede yetiştirilen önemli kiraz ve vişne çeşitleri DNA parmak izi yöntemi ile gruplandırılması konusunda çalışılmış olup RAPD ve SSR markörleri ile tanımlanmıştır. Kiraz ve vişne çeşit ve tiplerinden lokus başına 4-7 arasında değişen alleller elde edilmiştir. Vişneden izole edilmiş olan pceGA34 primeri en yüksek polimorfizm gösteren primer olduğu vurgulanmıştır.

Sandallı, (2002), karayemişin üç çeşiti ile yabani formunu birbirinden ayırmak için yapılan bir çalışmada 14 RAPD markör kullanılmıştır.

Wünsch ve Hormaza, (2002), yaptıkları çalışmada 76 kiraz genotipinde 24 SSR primeri kullanmışlardır. Genotiplerin büyük çoğunluğu aynı grup içerisinde yer

alırken bir kısmı ayrı gruplar oluşturmuştur. Diğer bir çalışmada ise Struss ve ark., (2003), 48 kiraz genotipi için 15 SSR markırı ve 4 *EcoRI-MseI* AFLP primeri kullanılarak kiraz çeşitlerinin gruplandırılmasını sağlamıştır.

SSR tekniği kullanılarak *Prunus* türlerinde Aranzana (2003), 109 SSR primeri kullanarak şeftali, kiraz ve bademde polimorfizm oranlarını belirlemeye çalışmıştır. Genetik haritalamada 8 grup oluşmuş olup 24 tekli lokus elde edilmiştir. En yüksek polimorfizm şeftaliden elde edilmiştir.

Mnejja ve ark., (2004), yüksek oranda polimorfizm gösteren japon erik çeşitlerinden Santa Rosa erik çeşidinde 38 mikrosatelit kullanılarak yapılan bir çalışmada, %73 heterozigotluk gözlenmiştir.

Aka Kaçar ve ark., (2005), tarafından Türkiye’de yetişen 7 kiraz çeşidi ve 3 yabancı kiraz çeşidi 13 SSR primeri kullanılarak genetik tanımlama yapılmıştır. 8 SSR primeri amplifikasyon oluşturmuştur. Allel sayıları 1-6 arasında olup toplam 38 allel elde edilmiştir.

Kaçar ve ark., (2006), Kuzey ile Doğu Avrupa ülkeleri ve Rusya’dan toplanan germplazmların Türkiye’den toplananlar ile birlikte genetik ilişkilerini karşılaştırmak için vişne (*Prunus cerasus*) ve *P. Fruticosa* Pall. içeren 81 kiraz seleksiyonunu 5 SSR primeri kullanılarak karşılaştırmışlardır. Primer çiftlerinden 5-20 arasında farklı allel ve yüksek oranda polimorfizm elde edilmiştir. En yüksek polimorfizmi kirazdan geliştirilen PMS49 primeri sağlamıştır.

Wünsch, (2009), bazı *Prunus* türlerinde polimorfik olan bir grup aday mikrosatellit markörü *P. persica*, *P. dulcis*, *P. armeniaca*, *P. cerasifera*, *P. domestica*, *P. salicina*, *P. insititia*, *P. avium*, *P.cerasus*, *P. Mahaleb* olmak üzere 10 *Prunus* türünde test etmiştir. Bu çalışmada test edilen türlerdeki polimorfik SSR markör grubu seçilmiş ve bu markörlerin *Prunus* cinsindeki genetik çalışmalarda kullanılabilirlik durumu tartışılmıştır.

Türkoğlu ve ark., (2010), *P. avium*, *P. mahaleb*, *P. cerasus*, *P. angustifolia* ve *P. Laurocerasus* arasında genetik ilişkilerin belirlenmesi konusunda 10 SSR primerinden yararlanmıştır. Lokus başına allel sayısı 8-12 arasında değişmiş olup heterozigotluk derecesi 0.61 olarak bulunmuştur. Dendrogram ise 2 ana dallanma oluşturmuştur. Karayemiş birinci ana grupta, kiraz ve vişne ile beraber yer almıştır.

Ercişli ve ark., (2011), Çoruh vadisinde farklı ortamlardan toplanan 18 yabancı kiraz genotipleri 10 SSR primerleri kullanılarak genetik varyasyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Dokuz genotipin yüksek oranda benzerlik oranına sahip olduğu, iki genotipin ise meyve ağacı ve meyve özellikleri bakımından farklılık gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Doğan, (2011), 7 addet AFLP primerinin kullanıldığı bu çalışmada 48 yerli ve yabancı kiraz çeşitleri arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek ve Stello X 0900 ziraat çeşitleri arasında yapılan çaprazlama sonucu elde edilen F1 bireylerinde S allellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Polimorfizm oranı % 68-100 arasında tespit edilmiştir.

Çelikkol, (2011), Türkiye'nin önemli erik çeşitlerinin genetik karakterizasyonuna yönelik olarak yapılan bu çalışmada, 24 (17 yerli, 7 yabancı) çeşidin SSR'a dayalı genetik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada erikten geliştirilen bir, kayısıdan iki, kirazdan iki, şeftaliden geliştirilmiş üç primer olmak üzere toplamda 8 SSR primeri kullanılmış olup homonim ve sinonim çeşitler belirlenmiştir.

Acunalp, (2012), Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsünde yapılan bir çalışmada ise kiraz genetik kaynaklarının belirlenmesi tanımlanması ve korunması amacı ile Isparta-Eğridir Araştırma İstasyonundan alınan 45 kiraz genotipinin DNA markörlerinden SSR tekniğine dayalı genetik karakterizasyonu yapılmış olup çeşitler arası benzerlik oranları bulunarak, sinonim ve çeşitlerin benzerliği belirlenmiştir.

Aksu ve ark., (2012), Isparta Meyvecilik Araştırma İstasyonunda yapılan çalışmada kiraz ve vişne türlerinde anaç olarak kullanılmak üzere selekte edilen yabancı vişneler RAPD moleküler yöntemi ile tanımlanmış olup, farklı bölgelerden selekte edilen 38 yabancı vişne tipi 16 RAPD primeri kullanılarak araştırılmıştır. Tipler arasında genetik benzerliğin yakın olduğu, tiplerin coğrafi konum benzerlikleri ile genetik ilişkilerinin arasında doğrusal bir oranın olmadığını görmüşlerdir.

Stanys ve ark., (2012), 31 kiraz çeşidinde 15 SSR primeri kullanılarak alleller tanımlanmış olup ayırt edici genotipler belirlenmişlerdir.

Yılmaz ve ark., (2012), kayısıda genetik çeşitliği belirlemek amacı ile SSR, RAPD, ISSR yöntemlerini kullanmışlardır. Malatya'dan seçilen bir genotip dahil olmak üzere 45 kayısı genotipi üzerinde çalışılmıştır. En yüksek polimorfizm % 98 oranı ile

SSR yönteminden elde edilirken, % 88 oranı ile ISSR'da ve % 77 oranı ile RAPD primerlerinden elde edilmiştir. Benzerlik değerleri 0.49 - 0.94 arasında bulunmuştur.

Hajyzadeh ve ark., (2013), tarafından Kocaeli ilinde mevcut bahçelerde tüketilebilirliği tespit edilen karayemiş çeşitlerinde SSR tekniği uygulanmış ve 40 tipin genetik benzerlik ve farklılıkları belirlenmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma 2015 ve 2016 yılları arasında Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ve Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

Bu çalışma 2015-2016 yılları arasında 8 ay süre ile Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ve Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, Karadeniz Bölgesi'nden seçilmiş toplam 43 genotip üzerinde çalışılmıştır (Şekil 3.1 ve 3.2). Bu genotiplerin illere göre dağılımı aşağıda yazılmış olup Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Artvin ilinden seçilmiş genotipler: A19, A4, A14, A23

Rize ilinden seçilmiş genotipler: R19, R135, R27, R27x, R20, R24, R24x, R5, R137, R19, R25, R149, R142, R14,

Trabzon ilinden seçilmiş genotipler: T214, T203, T87, T303, T193, T219, T217, T94, T159, T216, Sarı, Keller

Giresun ilinden seçilmiş genotip: G40

Ordu ilinden seçilmiş genotipler: O44, O20, O26, O29, O27

Samsun ilinden seçilmiş genotipler: S25, S21, S24, S37, S16, S51, S3



Şekil 3.1. Ordu Őniversitesi Ziraat Fakóltesi Araştırma ve Uygulama Alanında bulunan bir karayemiş bitkisi (O29 nolu genotip)



Şekil 3.2. Ordu Őniversitesi Ziraat Fakóltesi Araştırma ve Uygulama alanı karayemiş parseli

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan karayemiş genotipleri

NO	GENOTİP	NO	GENOTİP
1	R126	23	R137
2	R135	24	R19
3	T214	25	G40
4	T203	26	R25
5	R27	27	R149
6	A19	28	S24
7	R20	29	S37
8	O44	30	T193
9	R24	31	T219
10	A4	32	T217
11	T87	33	S16
12	A14	34	T94
13	O20	35	R142
14	R27x	36	S51
15	R5	37	R24X
16	O26	38	T159
17	O29	39	O27
18	T303	40	T216
19	KELLER	41	S3
20	Sarı	42	A23
21	S25	43	R14
22	S21		

3.2. Yöntem

3.2.1. DNA İzolasyonu İçin Yaprak Örneklerinin Alınması

DNA izolasyonu için bitkilerin hasatlıktan ve zararlılardan arı olan yeni açmakta olan genç sürgün yaprakları kullanılmıştır. Bitkiden sürgünler ile birlikte alınan yapraklar laboratuvara getirildikten sonra burada sürgünlerden ayrılmış yapraklar Tissue Lyser cihazında sıvı azot (-196 °C) ile muamele edilerek öğütülmüş ve DNA izolasyonuna kadar -80 °C de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Yaprak örneklerinin tüplere konulması ve Tissue Lyser cihazında öğütülmesi

3.2.2. DNA İzolasyonu

Öğütülmüş örneklerinin üzerine 700 µl CTAB solüsyonu (CTAB + % 2 mercaptaetol) eklenerek örnekler karıştırılmıştır. İşlem aşamaları aşağıda sırayla açıklanmış ve Şekil 3.4'te sunulmuştur.

1. 65 °C de 30 dk örnekler bekletilmiştir.
2. Ara ara tekrar karıştırılmıştır
3. 700 µl kloroformisoamil (24:1) eklendi ve 13000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiştir.
4. Üst sıvı temiz bir ependorf tüpe aktarılarak üzerine 5 M NaCl solüsyonu ve 420 µl izopropanol eklenmiştir.
5. Tüpler karıştırılıp ve 13000 rpm de 20 dk santrifüj yapılmıştır.
6. Tüplerdeki sıvılar dökülüp ve pellet 1 ml % 70'lik alkol ile yıkanmıştır.
7. 13000 rpm de 20 dk santrifüj yapılmıştır.
8. Alkol tüplerden boşaltıldı kısa santrifüj yapıp ve pellet iyice kuruduktan sonra üzerine 55 µl Tris EDTA eklenerek ve pellet çözülmüştür.

DNA ekstraksiyon solüsyonunun içeriği:

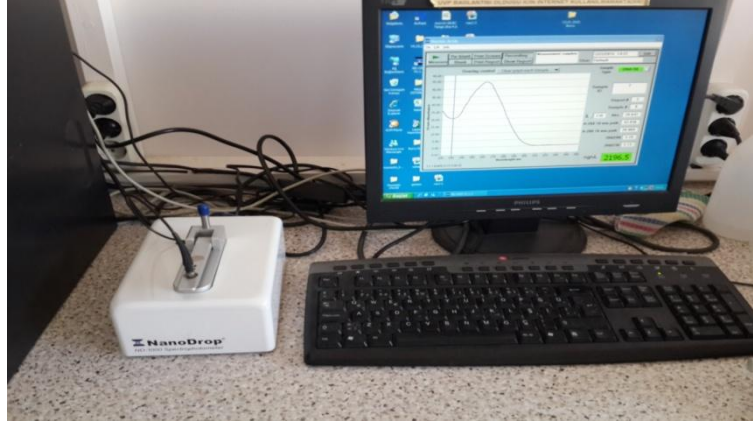
- % 2'lik CTAB solüsyonu için (100 ml)
- 2 gr CTAB
- 2 ml NaCl (M)
- 4 ml EDTA (0.5 M) pH:8.0
- 10 ml Tris – HCl(1 M) pH:8.0
- 40.3 ml saf su



Şekil 3.4. DNA izolasyon aşamaları

3.2.3. DNA Kalite ve Miktarının Belirlenmesi

İzolasyonu gerçekleştirilen DNA'ların kalitesi ve miktarları spektrofotometre ile (NanoDrop ND 100) ölçümler yapılarak belirlenmiştir (Şekil 3.5). Ölçümleri gerçekleştirilen DNA'lar ile ilgili hesaplamalar yapılmış ve DNA miktarları aynı olacak şekilde seyreltilmiştir.



Şekil 3.5. DNA miktar ve kalitesinin NanoDrop'da ölçülmesi

3.2.4. SSR Analizleri

Tez çalışmasında kullanılan genotiplere ait yaprak örneklerinden izole edilen DNA'lar ve sentetik SSR primerleri kullanılarak PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan PCR reaksiyon ve döngü koşulları aşağıda belirtilmiştir.

<u>Kimyasallar ve konsantrasyonları</u>	<u>Kullanılan miktar (µl)</u>
dd H ₂ O	5.00
PCR Master Mix 2X	8.00
MgCl ₂ (25 mM)	0.50
M13 primer (Forwed ve Reverse)	0.50
F+R primer (2 µM)	1.00
Tag DNA polimeraz(500 Ünite)	0.05
DNA (5 ng)	5.00
Toplam hacim	20 µl

olacak şekilde aşağıdaki reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir.

PCR döngü programı ise toplam 35 döngü olacak şekilde aşağıda verilmiştir.

- 95 °C 5 dk ön denatürasyon
- 95°C 1 dk DNA çift iplikçığının ayrılması "denatürasyon"
- 55 °C 30 sn primer bağlanması "annealing"
- 72°C 1 dk yeni iplikçiklerin yazılımı "uzama"
- 72°C 6 dk son yazılım
- 4°C ∞
- Toplam 35 döngü

3.2.4.1. SSR Lokuslarına Ait Primerler

Çalışmada, PMS49, PceG25, PMS40, PMS67, PceGA34, UDP98-21, PMS2, PMS3, PceGA59, UDP96-005, UCD-CH17, UDAp-401, BBCT001, BBCT002 ve BBCT005 olmak üzere 15 SSR primeri kullanılmıştır (Çizelge 3.2). Protokole uygun hazırlanan primerler PCR yapıldıktan sonra poliakrilamid jelde koşturulana kadar +4 °C de bekletilmiştir.

Çizelge 3.2. SSR lokuslarına ait bazı primerlerin baz dizileri, Tm (°C), hangi türde kullanıldıkları, baz büyüklükleri ve referansları

No	Primer adı	Primer dizisi	Tm	Tür adı	Bp	Referans
1	PMS49	F: TCA CGA GCA AAA GTG TCT CTG	50	Karayemiş	79-185	Hajyzadeh ve ark., (2013)
		R: CAC TAA CAT CTC TCC CCT CCC		Kiraz		Cantini ve ark., (2001)
2	PceGA25	F: GCA ATT CGA GCT GTA TTT CAG ATG	49	Karayemiş	141-198	Hajyzadeh ve ark., (2013)
		R: CAG TTG GCG GCT ATC ATG TCT TAC		Kiraz		Cantini ve ark., (2001)
3	PMS40	F: TCA CTT TCG TCC ATT TTC CC	50	Karayemiş	181-226	Hajyzadeh ve ark., (2013)
		R: TCA TTT TGG TCT TTG AGC TCG		Kiraz		Cantini ve ark.,(2001)
4	PMS67	F: AGT CTC TCA CAG TCA GTT TCT	48	Karayemiş	144-191	Hajyzadeh ve ark.,(2013)
		R: TTA ACT TAA CCC CTC TCC CTC C		Kiraz		Cantini ve ark., (2001)
5	PceGA34	F: GAA CAT GTG GTG TGC TGG TT	45	Karayemiş	140-174	Hajyzadeh ve ark.,(2013)
		R: TCC ACT AGG AGG TGC AAA TG		Vişne		Downey ve lezzoni, (2001)
6	UDP98-021	F: AAG CAG CAA TTG GCA GAA TC	54	Karayemiş	145	Hajyzadeh ve ark.,(2013)
		R: GAA TAT GAG ACG GTC CAG AAG C		Şeftali		Testolin ve ark.,(2000)
7	PMS2	F: CAC TGT CTC CCA GGT TAA ACT	-	Karayemiş	132-152	Hajyzadeh ve ark.,(2013)
		R: CCT GAG CTT TTG ACA CAT GC		Kiraz		Cantini ve ark.,(2001)
8	PMS3	F: TGG ACT TCA CTC ATT TCA GAG A	-	Karayemiş	152-200	Hajyzadeh ve ark.,(2013)
		R: ACT GCA GAG AAT TTC ACA ACC A		Kiraz		Cantini ve ark.,(2001)
9	PceGA59	F: AGA ACC AAA AGA ACG CTA AAT C	-	Karayemiş	181-256	Hajyzadeh ve ark.,(2013)
		R: CCT AAA ATG AAC CCC TCT ACA AAT		Kiraz		Cantini ve ark.,(2001)
10	UDP96-005	F: GTA ACG CTC GCT ACC ACA AA	55	Karayemiş	93-101	Türkoğlu ve ark.,(2010)
		R: CCT GCA TAT CAC CAC CCA G		Kiraz	115-135	
		Vişne		99-113		
		Mahlep		117-119		
		İğde		156-186		
11	UCD-CH17	F:TGG ACT TCA CTC ATT TCA GAG A	58	Kiraz	180-200	Türkoğlu ve ark.,(2010)
		R: ACT GCA GAG AAT TTC CAC AAC CA		Vişne	178-202	
		Mahlep		164		
		İğde		14-160		
		Kiraz		186-190		
12	UDAp-401	F:AAA CCC TAG CCG CCA TAA CT	60	Karayemiş	106-116	
		R: GCT AAA GGC CTT CCG ATA CC		Kiraz	260-270	
		Vişne		262-272		
		Mahlep		138-146		
		İğde		146-162		
Kayıtı	201	Messine ve ark.,(2004)				

3.2.4.2. Poliakrilamid Jel Hazırlığı

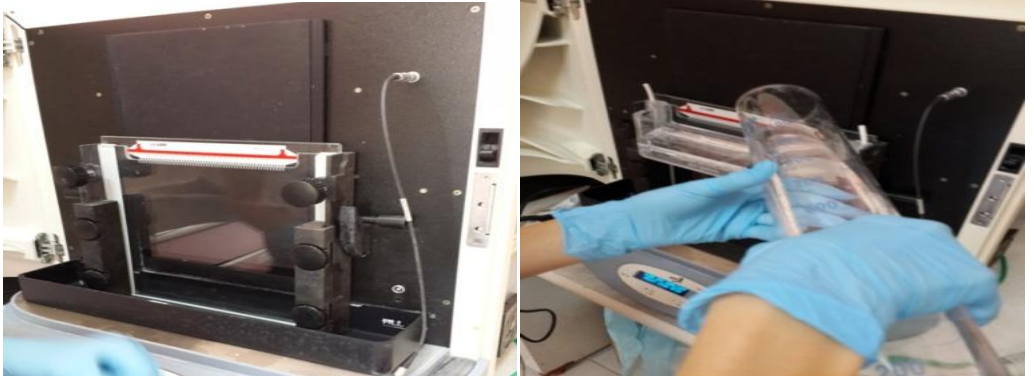
PCR reaksiyonlarının görüntülenmesi amacıyla Li Cor 4300 DNA Analizor Cihazı kullanılmıştır. Bu amaçla ilk olarak poliakrilamid jel hazırlanmıştır. Jel hazırlığı için işlem aşamaları aşağıda verilmiş olup Şekil 3.7’de görülmektedir.

- 5 g üre,
- 2.4 ml % 40’lık Akrlamid solüsyon(19 g Akrlamid + 1 g Bisakrlamid)
- 2 ml 10x’lik TBE buffer
- 10 ml saf su
- 0.1 g amonyum persülfat + 1 ml saf su

İyice karıştırıldıktan sonra son aşamada 20 µl Temed ve 140 µl APS karışımının içine eklenerek jel iki cam arasında dökülerek ve 1 saat bekletilmiştir. Hazırlanan jel Li-Cor DNA 4300 Analizor Cihazına yerleştirilerek 25 dk ön ısıtma yapılmıştır.

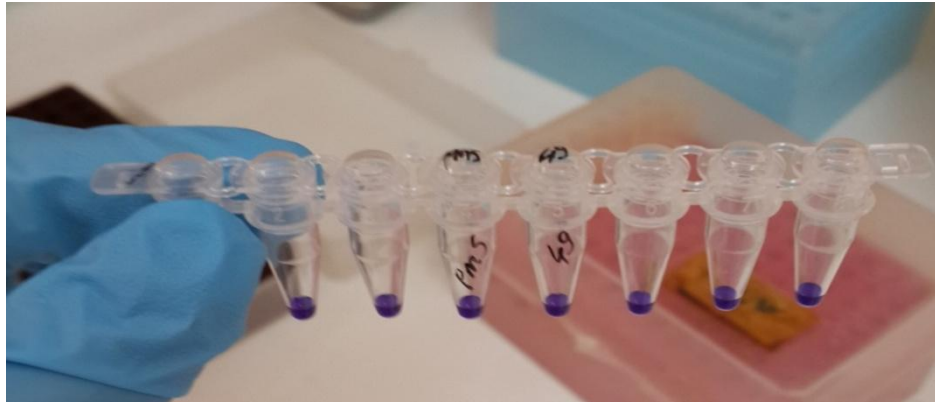


Şekil 3.6. Poliakrilamid jel hazırlığı



Şekil 3.7. Jelin cihaza yerleştirilmesi

DNA ların koşturulması için gerekli formamid boya miktarlarını belirlemek amacı ile tüm primerlerin ilk 4 örneklerinde 1 µl alınarak 1 µl, 5 µl ve 10 µl oranlarındaki boyalar bu örneklere eklenmiş, ön denatürasyona tabi tutulduktan sonra örnekler jele yüklenerek boya miktarları belirlenmiştir. Tüm örneklerde belirlenen boya miktarlarına göre 1 µl DNA ve gerekli boya miktarları ile hazırlanan örnekler yükleme öncesinde ön denatürasyona tabi tutulup jele yüklenerek DNA'ların koşturulması sağlanmıştır (Şekil 3.8 ve 3.9).



Şekil 3.8. Hazırlanan primerlere boyaların eklenmesi

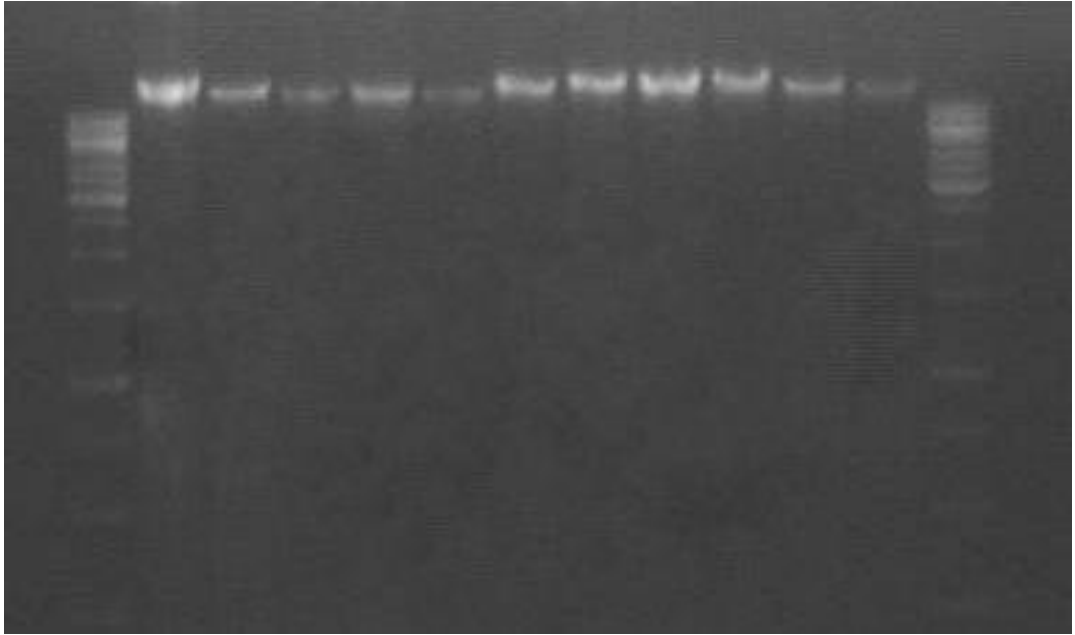
3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi, Benzerlik İndeksi ve Dendrogramın Oluşturulması

SSR markörleri ile yapılan moleküler analizler sonucunda elde edilen jel görüntüleri değerlendirilmiş ve DNA bant varlığı durumunda (1), yokluğu durumunda (0) değerleri verilerek ikili (binary) matriks veri dosyası hazırlanmıştır. Dendrogramın oluşturulmasında DARwin (Dissimilarity Analysis and Representation for Windows) paket programı kullanılmıştır (Perrier ve Jacquemoud-Collet, 2006). Öncelikle Jaccard, (1908), yöntemi kullanılarak bir benzerlik matriksi oluşturulmuştur. Bu matriks kullanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average) metodu ile kümeleme (Cluster) analizleri yapılmış ve dendrogram elde edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. DNA İzolasyonu

Araştırmada kullanılan çeşitlere ait DNA'ların % 1'lik agaroz jel elektroforezi görüntüleri Şekil 4.1'de, spektrofotometrik ölçümleri (NanoDrop ND-1000) ise Çizelge 4.1'de verilmiştir. Spektrofotometrik ölçümlerde A260 değeri DNA miktarını, A260/280 oranı ise DNA'nın saflığını belirlemede kullanılmakta olup, oranın 1.18-2.21 arasında olması DNA'nın PCR reaksiyonları için kullanılabilir düzeyde olmasını ifade etmektedir.



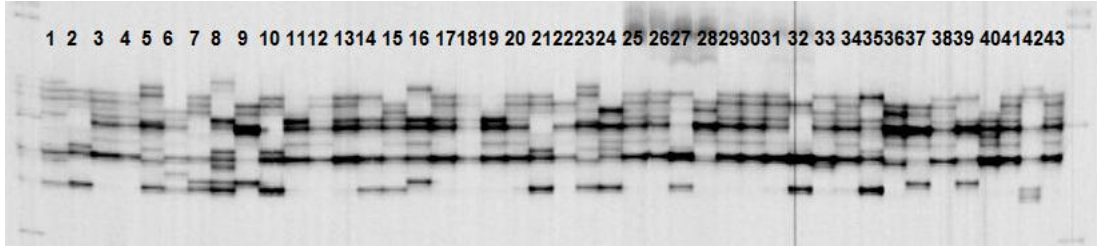
Şekil 4.1. Araştırmada kullanılan bazı çeşitlere ait DNA'ların % 1'lik agaroz jel elektroforez görünümü

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

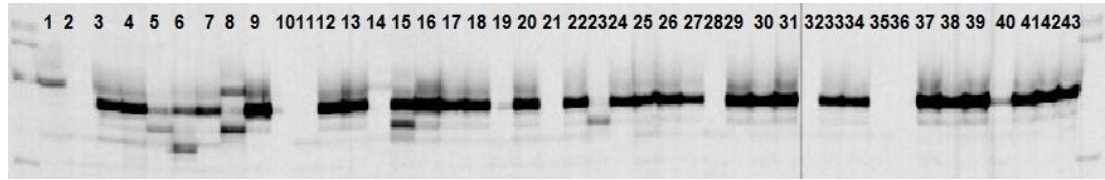
TİP NO	A260(ng/µl)	A260/280
1	790.03	2.07
2	5363.34	1.18
3	919.26	2.15
4	1337.89	2.19
5	1263.51	2.24
6	5181.25	1.49
7	584.3	2.09
8	78.79	2.06
9	567.66	2.12
10	482.96	2.14
11	385.91	2.13
12	308.3	2.12
13	2316.59	2.04
14	456.92	2.14
15	585.64	2.09
16	4895.77	1.79
17	5346.79	1.22
18	334.88	2.1
19	210.22	2.21
20	520.73	2.11
21	1519.69	2.21
22	2396.15	1.9
23	4947.52	1.59
24	310.64	2.05
25	353.04	2.11
26	543.12	1.94
27	2220.49	2.12
28	1477.06	2.17
29	418.61	2.13
30	625.89	2.08
31	4327.36	1.73
32	1192.35	2.2
33	1882.09	2.13
34	1620.36	2.07
35	451.18	2.05
36	1275.47	2.15
37	498.94	1.74
38	2396.5	2.12
39	3579.06	2.04
40	405.19	2.11
41	1279.37	2.1
42	4494.53	1.73
43	4100.06	1.8

4.2. Poliakrilamid Jel Görüntülerinin Değerlendirilmesi

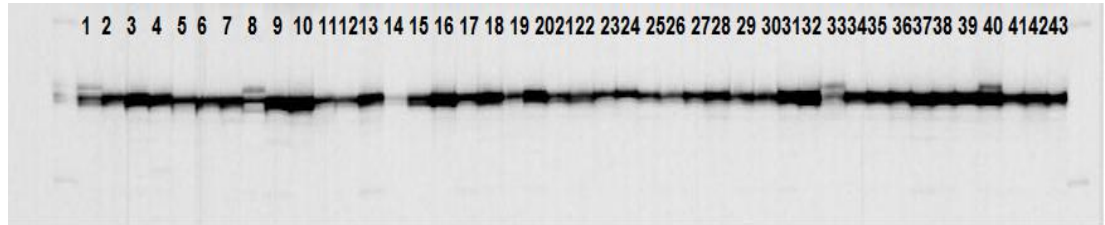
Çalışmadan elde edilmiş olan bazı jel görüntüleri Şekil 4.2 - 4.10'da verilmiştir. Elde edilen bantlardan binary matrix oluşturmak için bantların varlığında (1) yokluğunda (0) olarak skorlanmıştır.



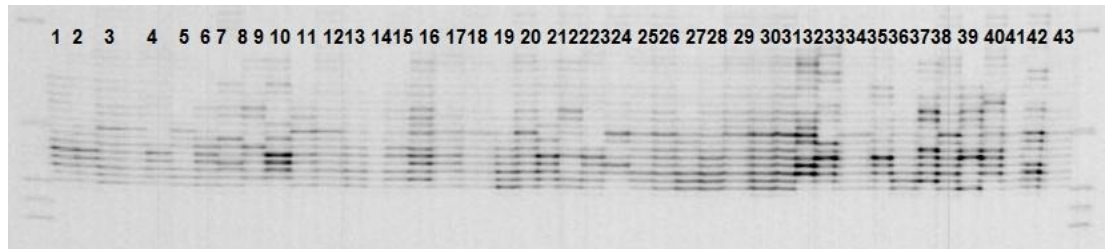
Şekil 4.2. PMS67 SSR Primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü



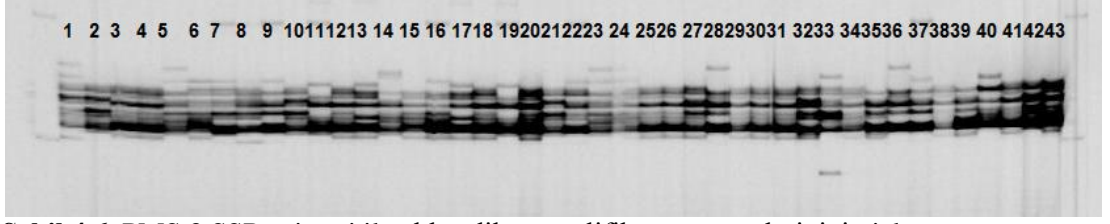
Şekil 4.3. PMS 49 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü



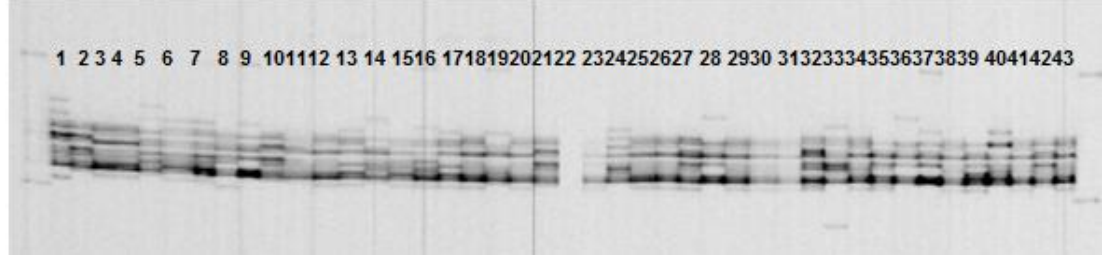
Şekil 4.4. UDAp-401 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü



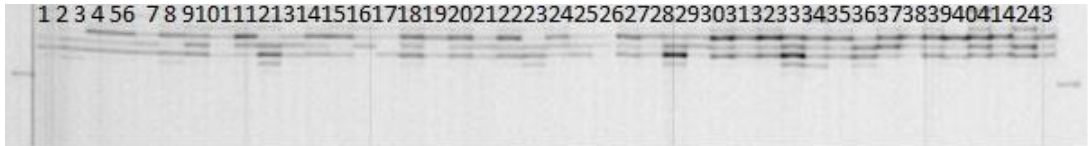
Şekil 4.5. UDP98-021 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü



Şekil 4.6. PMS 3 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü



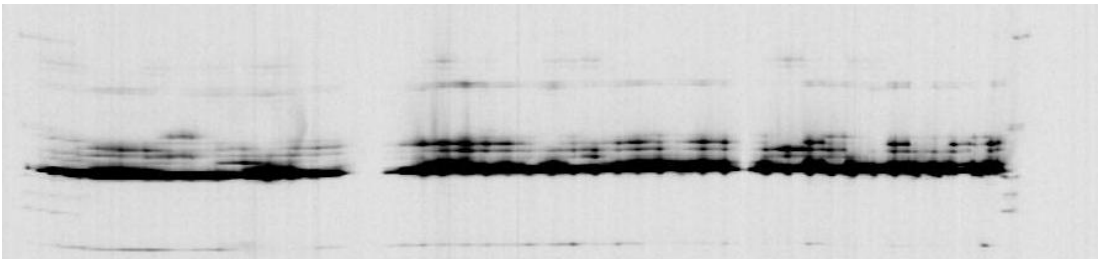
Şekil 4.7. UCD-CH17 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü



Şekil 4.8. BBCT005 SSR primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü



Şekil 4.9. PceGA25 primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü



Şekil 4.10. PMS40 primeri ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüsü

Araştırmada kullanılan 15 SSR lokusuna ait allel büyüklükleri baz çifti (bp, base pair) olarak Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Tabloda UDP98-021 primerinin allel büyüklüğü 108-124 arasında bulunurken, BBCT005 primerinin 220-246 arasında bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Kullanılan SSR lokuslarına ait allel büyüklükleri (bp)

Kullanılan SSR primerleri	Elde Edilen bp	Diğer Araştırmacıların Bulguları bp		Referanslar
		Karayemiş	Kiraz	
PMS67	154-180	-	144-191	Cantini ve ark.,(2001)
			149-161	Struss ve ark., (2003)
PMS49	180-186	-	79-185	Cantini ve ark.,(2001)
UDAp-401	150-154	106-116	260-270	Messiani ve ark.,(2010)
PMS2	146-162		132-152	Cantini ve ark.,(2001)
			127-151	Struss ve ark., (2003)
UDP98-021	108-124	-	-	Hajzadeh ve ark., (2013)
				Testolin va ark., (2000)
UDP96-005	112-146	93-101	115-135	Türkoğlu ve ark., (2010)
PceGA59	220-236	-	181-256	Cantini ve ark., (2001)
PMS3	135-160	-	152-200	Hajzadeh ve ark., (2013)
			153-203	Struss ve ark., (2003)
UCD-CH17	150-162	-	180-200	Türkoğlu ve ark., (2010)
PceGA34	142-155	-	-	Hajzadeh ve ark., (2013)
				Downey ve lezoni., (2001)
BBCT001	315-350	-	-	-
BBCT002	194-222	-	-	-
BBCT005	220-246	-	-	-
PceGA25	-	-	141-198	Cantini ve ark., (2001)
PMS40	-	-	181-226	Cantini ve ark., (2001)

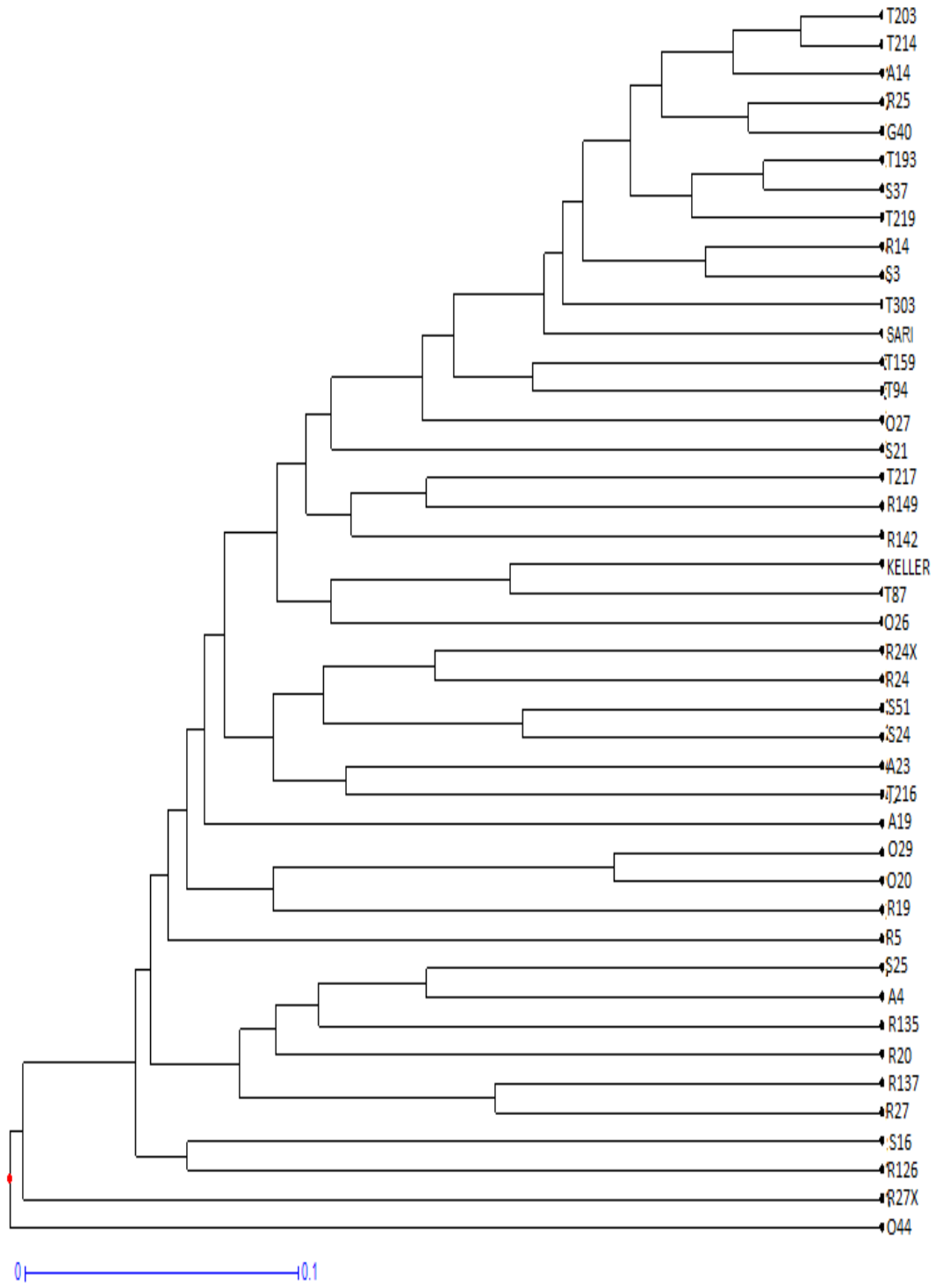
Karayemiş genotipleri arasındaki genetik ilişkinin belirlenmesi amacıyla 15 SSR primeri kullanılarak yapılan PCR çalışmaları ile elde edilen analiz sonucunda 13 tane SSR primeri skorlanabilir bant vermiştir. 13 SSR primerlerinden (PMS67, PMS49, UDAp-401, PMS2, UDP98-021, UDP96-005, PceGA59, PMS3, UCD-CH17, PceGA34, BBCT001, BBCT002, BBCT005) skorlanabilen bant sayısı 3 (UDAp-

401) ile 17 (BBCT001) arasında değişmektedir (Çizelge4.3). Toplam elde edilen bant sayısı 117'dir. Toplam bant sayısı primer başına ortalama 9' dur. Polimorfik bant sayısı primer başına ortalama 8.38'dir. En yüksek polimorfik bant sayı 17 olup BBCT001 primerinden elde edilmiştir. Elde edilen toplam 117 banttan 109'u polimorfik bulunmuş ve polimorfizm oranı % 93.5 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. SSR primerleri, toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı, polimorfizm oranı

SSR Primerleri	TBS (Toplam Bant Sayısı)	PMS (Polimorfik Bant Sayısı)	PO(%) (Polimorfizm Oranı)
PMS67	11	9	81.81
PMS49	4	4	100
UDAp-401	3	3	100
PMS2	9	9	100
UDP98-021	9	8	88.88
UDP96-005	14	13	91.85
PceGA59	7	7	100
PMS3	10	8	80
UCD-CH17	6	5	83.33
PceGA34	7	7	100
BBCT001	17	17	100
BBCT002	10	10	100
BBCT005	10	9	90
Ortalama	9	8.38	93.52
TOPLAM	117	109	

Çalışmada incelenen karayemiş genotiplerinde yapılan SSR taramalarına dayalı benzerlik indeksi Şekil 4.11'de, dendrogram ise 4.12'de verilmiştir.



DARwin programı kullanılarak benzerlik indeksine dayalı dendrogram oluşturulmuştur. UPGMA gruplandırmasıyla elde edilen dendrogram Şekil 4.12'de sunulmuştur.

Farklı illerden toplanan karayemiş genotiplerinin Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de bulunan benzerlik indeksi ve dendrogram kümesi beraber incelendiğinde benzerlik oranları 0.94-0.26 arasında olmuştur.

41 genotip kendi arasında 2 ana gruba ayrılmış olup 1. grubu 0.50 oranı ile Rize ve Samsun ilinden seçilen R16-S16 genotipleri oluşturmaktadır.

2. grup ise yine kendi içerisinde gruplara ayrılmıştır. Yukarıdan aşağıya 2. grup incelendiğinde ilk alt grupta T203-T214 genotipleri 0.94 benzerlik oranı birbirine en yakın bireyleri oluşturmuştur. Yine bu grup içerisinde A14 genotipi bu genotiplere 0.90 oranında benzerdir. 2. alt grup değerlendirildiğinde Trabzon ve Samsun illerinden seçilen T193 ve S37 genotipleri 0.92 oranı ile ikinci birbirine en yakın genotipleri oluşturmaktadır. Yine Trabzon ilinden seçilen T219 genotipi 0.87 oranı ile bu genotiplere benzerdir.

R14 ve S3 genotipleri 0.88 oranı ile 3. alt grubu oluşturmaktadır. Bütün bu alt gruplara T303 ve Sarı genotipleri sırasıyla 0.79 ve 0.78 oranı ile benzerdir.

4. alt grupta ise T159 ve T94 genotipleri bulunmakta ve benzerlik oranı 0.75’tir. Yine bütün bu 14 genotipe 0.67 oranı ile O27 genotipi, O27 genotipi dahil 15 genotipe ise 0.60 oranı ile S21 genotipi benzer bulunmuştur.

Dendrogram kümesinde 5. alt grupta Trabzon ve Rize illerinden seçilen T217 ve R149 genotipleri 0.67 oranı ile benzer bulunmuştur. Bu iki gruba Rize ilinden seçilen R142 genotipi 0.62 oranında benzerlik oluşturmuş olup bu grupta yer almaktadır.

6. alt grupta ise Trabzon illerinden seçilmiş Keller ve T87 genotipleri 0.73 oranında benzerlik oluşturmuş olup, bu iki genotipe Ordu ilinden seçilen O26 genotipi 0.60 benzerlik oranı ile bu grupta yer almıştır.

R24 ve R24x genotipleri 0.68 oranı ile 7. alt grupta yer almaktadır. Yine bu grupta Samsun ilinden seçilen S51 ve S24 genotipleri 0.74, Artvin ve Trabzon ilinden seçilen A23 ve T216 genotipleri 0.61 oranı ile yer almıştır. Bütün bu 28 genotipe ise 0.53 benzerlik oranı ile Artvin ilinden seçilen A19 genotipi benzer bulunmuştur.

Ordu ilinden seçilen O29 ve O20 genotipleri 0.81 benzerlik oranı ile 8. alt grupta yer almaktadır. Bu iki genotipe 0.56 benzerlik oranı ile Rize ilinden seçilen R19 genotipi

bu grupta yer almaktadır. Toplam bu 32 genotipe 0.49 benzerlik oranı ile Rize ilinden seçilen R5 genotipi benzer bulunmuştur.

Dendrogramda 9. alt grubu Samsun ve Artvin ilinden seçilen S25 ve A4 genotipleri 0.67 oranı ile ve bu iki genotipe 0.58 oranı ile Rize ilinden seçilen R135 genotipi ve bu üç genotipe 0.56 oranı ile Rize ilinden seçilen R20 genotipi bağlanmıştır. Yine Rize ilinden seçilen R137 ve R27 genotipi 0.72 oranında benzer bulunmuş ve bu grup altında yer almıştır.

Dendrogram kümesinde alt gruplara inildikçe benzerlik oranlarının azaldığını görülmektedir.

Şekil 4.11'de verilen benzerlik indeksi incelendiğinde Rize ilinden seçilen R24x ve R27x genotipleri 0.26 oranı ile en uzak bireyler seçilmişken yine Rize ilinden R135-R27x genotipleri ile R135-R25 genotipleri 0.29 oranı ile 2. sırada en uzak bireyleri oluşturmuştur.

Ordu ilinden seçilen O44 nolu genotip ve Rize ilinden seçilen R27x nolu genotip diğer 41 genotipten ayrılarak ayrı dallanma oluşturmuştur. Dendrogram kümesinde ayrı dallanma oluşturan Ordu ilinden seçilen O44 ve R27x genotiplerinin birbirine olan benzerlik oranları 0.36'dır.

Yine R27x'in 41 genotipe benzerlik oranı 0.36, O44 genotipinin 42 genotipe benzerlik oranı 0.32 olarak tespit edilmiştir.

Genotipler orjinleri olan iller içerisinde değerlendirildiğinde Rize ilinden seçilen 14 genotip (R126, R135, R27, R20, R24, R27x, R5, R137, R19, R25, R149, R142, R24x, R14) ortalama olarak 0.43 oranı ile en düşük benzerlik oranını vermiştir. R27 ve R137 genotipleri 0.72 oranı ile Rize ilinden alınan örnekler arasında en yakın bireyleri oluştururken, R27x ve R24x genotipleri 0.26 oranı ile en uzak bireyleri oluşturmuştur. Yine benzer bir şekilde R135-R27x ve R135-R5 genotipleri 0.29 oranı ile uzak bireyler seçilmiştir.

Trabzon ilinden seçilen 12 genotip (T214, T203, T87, T303, T193, T219, T217, T94, T159, T216, Sarı, Keller) kendi içerisinde değerlendirildiğinde ise Şekil 4.12'deki dendrogramda görüldüğü üzere T214-T203 genotipleri 0.94 ve T193-T219 genotipleri 0.88 oranı ile en yakın bireyleri oluştururken, T87-T159 ve T87-T216

genotipleri 0.48 oranı ile en uzak bireyleri oluşturmuştur. Genotiplerin kendi içlerindeki benzerlik oranları ortalama 0.60 olarak bulunmuştur.

Samsun ilinden seçilen 7 genotip (S25, S21, S24, S37, S16, S51, S3) arasında birbirine en yakın genotip 0.74 oranı ile S24-S51 genotipleri oluştururken en uzak bireyleri 0.41 oranı ile S25- S16 genotipleri oluşturmuştur. Ortalama olarak Samsun ilinden seçilen genotiplerin benzerlik oranları ise 0.52 olarak bulunmuştur.

Ordu ilinden seçilen genotiplerde 5 genotipten (O44, O20, O26, O29, O27) birbirine en yakın bireyi 0.81 oranı ile O20-O29 genotipleri oluştururken, birbirine en uzak genotipleri O44-O26 genotipleri oluşturmuştur. Yine Şekil 4.12'deki dendrogramda görüldüğü gibi O44 nolu genotip dendrogramda ayrı bir dallanma oluşturmuştur. O44 nolu genotip Ordu ilinden seçilen diğer 4 genotip ile değerlendirildiğinde ortalama benzerlik oranları 0.37 olarak tespit edilmiştir. Ordu ilinden seçilen tüm 5 genotipin ortalama benzerlik oranı ise 0.51 olarak bulunmuştur.

Artvin ilinden seçilen 4 genotip (A19, A4, A14, A23) kendi içerisinde değerlendirmeye alındığında ise birbirine en yakın bireyleri A4-A23 genotipleri oluştururken, birbirine en uzak genotipleri A19-A4 genotipleri oluşturmuştur. Ortalama olarak aralarındaki benzerlik oranı 0.55 bulunmuştur.

Seçilen genotipler birbiri içerisinde değerlendirildiğinde en düşük benzerlik ortalamasını 0.43 oranı ile Rize ilinden seçilen genotipler oluşturmuş olup, en yüksek benzerlik ortalamasını 0.60 oranı ile Trabzon ilinden seçilen genotipler oluşturmuştur.

Benzerlik indeksleri ve dendrogramda da görüldüğü üzere Rize ilinden seçilen genotipler birbiri içerisinde en uzak dağılımı göstermiştir. Bütün olarak incelendiğinde iller arasında karayemiş genotiplerinde gen akışının olduğu söylenebilir.

DNA markörler *Prunus* türlerinin genetik tanımlamalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Çalışmada kullanılan 15 SSR primerinden 13 SSR primeri skorlanabilir bant deseni vermiştir.

Araştırmada kullanılan SSR lokuslarından kirazdan geliştirilen (Struss ve ark., 2003) UCDC-17, PMS67, PMS49, PMS2, PMS3 lokusları, kayısıdan geliştirilen (Messina ve ark., 2004) UDAp-401 lokusları, şeftaliden geliştirilen (Cipriani ve ark., 1999) UDP98-021, UDP96-005 lokusları ve vişneden geliştirilen PceGA34, PceGA59 lokuslarının karayemiş tanımlamasında kullanılması, diğer araştırmalarda (Mnejja ve ark.,2004; Wünsch, 2009) olduğu gibi bu araştırmada da SSR markörlerin *Prunus* türler arası geçişkenliğini göstermektedir. Çelikkol, (2011), ve Hayaski ve ark., (2009), türler arası geçişkenliğin söz konusu olduğunu ifade etmektedir.

Hajyzadeh ve ark., (2013), yaptıkları çalışmada kullanılan primerler (PMS49, PMS67, PceGA34, UDP98-021, PMS2, PMS3, PceGA59) ve elde edilen allel sayıları çalışmamızı destekler niteliktedir.

Çalışmada kullanılan SSR primerlerinden skorlanabilen bant sayısı toplam 117 bulunmuştur. Skorlanabilen bantlar 3 allel (UDAp-401) ve 17 (BBCT001) allel arasında değişmektedir. Toplam bant sayısı primer başına ortalama 9'dur. Polimorfik bant sayısı primer başına ortalama 8.38'dir. En yüksek polimorfik bant sayısı 17 olup BBCT001 primerinden elde edilmiştir. Elde edilen toplam 117 banttan 109'u polimorfik bulunmuş ve polimorfizm oranı % 93.5 olarak hesaplanmıştır.

Testoline ve ark., (2000) ile Cantinive ark., (2001)'nin yaptıkları çalışmalar incelendiğinde bu çalışmada kullanılan SSR markörlerinin polimorfizm oranlarının birbirlerine yakın olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Guilford ve ark., (1997)'nin yaptıkları çalışmada SSR lokuslarının polimorfizm oranlarının yüksek olduğunu ve elma genotipini tanımlamada kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Kiraz, vişne, karayemiş birçok ılıman meyve türünün yer aldığı *Rosacea* familyasına dahildir (Acunalp, 2012). Kiraz kökeninin haploit sekiz (n=8) kromozoma sahip olan yabani kiraz olduğu, bunlardan yapılan seleksiyonlarla kültür çeşitlerinin elde edildiği ve vişneninde kirazdan doğan tetraploit bir tip olduğu kabul edilmektedir (Acunalp, 2012). *Prunus* türlerinden diploit türler olarak bilinen şeftali, kayısı, erik türlerinde ise kromozom sayıları sırasıyla $2n=24$, $2n=16$, $2n=16$ 'dır (Çelikkol, 2011).

Ancak karayemişte yapılan çalışmada jel görüntüleri incelendiğinde bant desenleri çoklu allel vermiştir. Bu durum karayemişte poliploidi özelliğini düşündürmektedir.

Tez çalışması sonucunda SSR-PCR ürünleri incelendiğinde tek bir genotipte 2'den fazla DNA bant profili oluştuğu tespit edilmiştir. Diploid bir bitki türünde yürütülen SSR analizlerinde çoğaltılan bölge heterozigot ise en fazla iki DNA bandı elde edilmelidir. Çalışmamızda elde edilen çoklu bantların sebebi karayemiş bitkisinin yüksek ploidi seviyesidir.

Nitekim Meurman, (1929)'nın yaptığı çalışmada karayemiş türlerinde kromozom sayısının $2n=22x$ 'e kadar çıktığını ifade etmektedir. Zahra ve ark., (2010), ise karayemişte temel kromozom dizilişini $8x$ olarak belirtmektedir. Hajyzadeh ve ark., (2013), karayemişte gerçekleştirdiği SSR analizlerinin sonuçları incelendiğinde tek bir karayemiş genotipinde 2'den fazla DNA bant profilinin tespit edildiği gözlenmiştir.

Çalışmamızda karayemiş genetik ilişki dendrogramı değerlendirildiğinde seçilen genotipler arasında Ordu ilinden seçilen O44 nolu genotipi ve Rize ilinden seçilen R27x nolu genotip diğer 41 genotipten ayrılmış ve Trabzon, Artvin, Rize, Giresun, Samsun, Ordu illerinden seçilen bu 41 genotip birbiri içerisinde dağılım göstermiştir. Türkoğlu ve ark., (2010), yaptıkları çalışmada Türkiye'nin Karadeniz ve Kuzeydoğu bölgelerinde beş *P. laurocerasus* ve üç standart anaç (SL64, F12/1 ve Montmorency) arasından seçilen 20 kiraz anacı arasında ilişkide benzerlik oranını 0.95 bulunmuştur.

Karayemişlerde benzerlik indeksi incelendiğinde 0.94 oranı ile T203-T214 arasında; bunu takiben 0.92 oranı ile T193-S37 genotipleri arasında; 0.91 oranı ile R25-G40 genotipleri arasında olmuş olup bu değerler bütün genotipler içerisinde birbirine en yakın bireyler olduğu saptanmıştır. Birbirine en uzak bireyler ise 0.26 oranı ile R27x-R24x genotipleri ile 0.29 oranı ile R27x - R135 ve R27x - R5 genotipleri olduğu tespit edilmiştir.

Benzer bir şekilde R27x nolu genotip dendrogramda 41 genotipten ayrılmıştır. Bu durum R27x nolu genotipin diğerlerinden oldukça farklı bir genotip olabileceği sonucunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçların değerlendirilmesi için araştırmamızın pomolojik ve morfolojik çalışmalarla desteklenmelidir. Ercişli ve ark., (2011),

yaptıkları çalışmada 18 yabani kiraz genotiplerinin 10 SSR primerleri ile genetik varyasyonunu belirlenmeye çalışmış ve 9 genotipin yüksek oranda benzerlik oranına sahip olduğu, 2 genotipin ise ağaç ve meyve özellikleri bakımından farklılık gösterdiği sonucuna vararak bu çalışmanın morfolofik ve pomolojik çalışmalarla elde edilen sonuçları desteklemektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Karadeniz Bölgesi'nin değişik illerinde yetişen karayemiş genotiplerinin akrabalık ilişkilerini belirlemek amacı ile SSR moleküler markır tekniği kullanılmış olup 43 karayemiş genotipinin moleküler karakterizasyonu yapılmış, genotipler arasındaki genetik ilişki ortaya koyulmuştur.

Moleküler incelemeye alınan 43 karayemiş genotiplerinin birbirleri içerisinde benzerlikleri olmasıyla birlikte farklılıkları da ortaya çıkmıştır.

Çalışmada dendrogram grafiği 2 ana dallanma göstererek 9 alt gruba ayrılmıştır. Dendrogram kümelemesinde aşağıdan yukarıya ilk alt grupta T203, T214, ve A14 ile R25 ve G40 genotipleri ile T193, S37 ve T219 genotipleri olmak üzere 8 genotipten oluşmaktadır. Birbirine en yakın genotip 0.94 oranı ile Trabzon ilinden seçilen T203-T214 genotipleri birbirine en yakın genotip seçilmiştir. Bu grupta birleşen A14 genotipi ise bu genotiplere 0.90 oranında benzerlik saptanmıştır. Bunu takiben Trabzon ve Samsun illerinden seçilen T193 nolu genotip ile S37 nolu genotip arasında 0.92 oranında benzerlik bulunmuştur.

Ordu ve Rize illerinden seçilen 2 genotip (O44 ve R27X) diğer 41 genotipten ayrılarak her biri ayrı dallanma göstermiştir. Bütün genotipler değerlendirildiğinde R27x ve R24x genotipleri 0.26 oranı, R27x ve R135 ile R27x ve R5 genotipleri 0.29 oranı ile en uzak bireyleri oluşturmuştur

Yine çalışmamızda genotipler kendi illeri içerisinde değerlendirildiğinde Rize ilinden seçilen genotipler kendi içerisinde ortalama olarak 0.49 oranında en düşük benzerliği oluştururken, Trabzon ilinden seçilen genotipler ortalama 0.61 oranı ile en yüksek benzerliği oluşturmuştur.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, karayemiş genotiplerinin yayılma alanlarının belirlenmesinde, genetik koleksiyonların karşılaştırılmasında, karayemiş genotiplerinin karakterizasyonunda ve gelecekte yapılacak ıslah programlarında ebeveyn seçiminde kullanılmasına olanak sağlayacaktır.

Bu çalışmanın devamı olarak ileriki dönemlerde diğer DNA markör tekniklerinin de (AFLP, ISSR, SRAP, SNP vb.) karayemiş üzerinde uygulanmasına devam edilmelidir.

Son yıllarda PCR'a dayalı yeni markör sistemlerinin geliştirilmesi pek çok bitki türünde olduğu gibi karayemiş bitkisinde yapılacak olan moleküler ıslah çalışmalarında stratejik rol oynayacaktır. Teknolojinin gelişmesi ile analiz başına harcanan emek ve maliyet azalacaktır. Bunun sonucu olarak ıslah süreci kısalarak çalışılan bitkilere ait daha kesin ve detaylı bilgiler elde edilecektir.

Benzer bir şekilde R27x nolu genotip dendrogramda 0.39 oranı ile en uzak bireyi oluşturmaktadır. Bu durum yine R27x nolu genotipin tamamen farklı bir genotip olabileceği sonucunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçların değerlendirilmesi için çalışma pomolojik ve morfolojik bakımdan desteklenmelidir.

Elde edilen sonuçlara göre karayemiş genotiplerinin tanımlama ve sınıflandırmalarının yapılabilmesi için SSR markörlerinin kullanışlı olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmanın devamı olarak diğer DNA markör tekniklerinin de (AFLP, ISSR, SRAP vb) karayemiş türüne uygulanmasına devam edilmesi önerilmektedir.

Tüm dünyada ve ülkemizde karayemiş ile ilgili yapılan çalışmalar sınırlı düzeydedir. Bu çalışmadan elde edilen araştırma sonuçları, bundan sonraki yapılacak çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.

6. KAYNAKLAR

- Acunalp, S. 2012. Ekonomik Öneme Sahip Yerli Kiraz (*Prunus avium* L.) Genotiplerinin SSRs (Simple Sequence Repeats)'a Dayalı Genetik Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Aka-Kaçar, Y. 2001. Türkiye'de yetiştirilen önemli kiraz (*Prunus avium* L.) ve vişne (*Prunus cerasus* L.) çeşit ve tiplerinin DNA parmakizi yöntemi ile sınıflandırılması. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana, 192.
- Aka Kaçar, Y. Iezzoni, A.F., Çetiner, S. 2005. Sweet cherry cultivar identification by using SSR markers. Journal of Biological Sciences, 5 (5):616-619.
- Aksu, M. Sarısu, H.C., Kaymak, S., Öztürk, Y., Gür, İ., Koçal, H. 2012. Bazı Yabancı Vişne (*Prunus cerasus* L.) Tiplerinin RAPD Tekniği İle Moleküler Karakterizasyonu. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi 5 (1) : 78-81.
- Altınbay, H. 2012. Doğu Anadolu'da Yetişen Bazı Armut Gen Kaynaklarının SSR's (Simple Sequence Repeats) Markörlere Dayalı Genetik Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Anşin, R. ve Özkan, Z.C. 1993. Tohumlu Bitkiler (*Spermatophyta*). Odunsu Taksonlar. K.T.Ü. Orman Fak. Genel Yayın No: 167, Fakülte Yayın No: 19, Trabzon, 512.
- Aranzana, M. J., Pineda, A., Cosson, P., Dirlewanger, E., Ascasibar, J., Cipriani, G., Ryder, C. D., Testoni, R., Abbott, A., King, G. J., Iezzoni, A. F. and Arús, P. 2003. A set of simple-sequence repeat (SSR) markers covering the *Prunus* genome. Theor. Appl. Genet. 106:819-825.
- Ayaz, F.A., Kadioğlu, A., Reunanen, M., Var, M. 1997a. Sugar composition in fruits of the *Laurocerasus officinalis* Roem. and its tree cultivars. Journal of Food Composition and Analysis. 10:82-86.
- Ayaz, F.A., Kadioğlu, A., Reunanen, M., Var, M. 1997b. Phenolic acid and fatty acid composition in the fruit of the *Laurocerasus officinalis* Roem. and its cultivars. Journal of Food Composition and Analysis. 10:350-357.
- Baytop, T. 1999. Türkiye'de bitkiler ile tedavi . Nobel Tıp Kitabevi, Yayın no:21, Türkiye, 480.
- Boritzki, M., Plieske, J., Struss, D. 2000. Cultivar identification in sweet cherry (*Prunus avium* l.) using AFLP and microsatellite markers. Acta Horticulturae, 538: 505-510.
- Bostan, S.Z., ve İslam, A. 2003. Trabzon'da Yetiştirilen Mahalli Karayemiş (*Prunus Laurocerasus* L.) Tiplerinin Pomolojik ve Fenolojik Özellikleri. OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 18 (1) : 27-31.
- Cantini, C., Iezzoni, A.F., Lamboy, W., Boritzki, M., Struss, D. 2001. DNA fingerprinting of tetraploid cherry germplasm using simple sequence repeats. Journal of the American Society for Horticultural Science, 126 : 205-209.

- Cipriani, G., Lot, G., Huang, W.G., Marrazzo, M.T., Peterlunger, E., Testoline, R. 1999. AC/GT And AG/CT Microsatellite Repeats in Peach [*Prunus Persica* (L) Batsch] Isolation, Characterisation And Cross-Species Amplification in Prunus. Theoretical And Applied Genetics, 99: 65-72.
- Çelikkol, B.P. 2011. Önemli erik (*Prunus* sp.) gen kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a dayalı genetik karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Downey, S.L. and Lezzoni, A.F. 2000. Polymorphic DNA markers in black cherry (*Prunus serotina*) are identified using sequences from sweet cherry, peach and sour cherry. Journal of the American Society for Horticultural Science 125(1) : 76-80.
- Doğan, A. 2011. Bazı kiraz (*Prunus avium* L.) genotiplerinin moleküler karakterizasyonu ve F1 bireylerde S allellerinin belirlenmesi. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü – Haber Bülteni No:112, 1.
- Ercisli, S., Agar, G., Yildirim, N., Duralija, B., Vokurka, A., Karlidag, H. 2011. Genetic diversity in wild sweet cherries (*Prunus avium*) in Turkey revealed by SSR markers. Genetic Molecular Research, 10 (2) : 1211-1219.
- Eser, M., Şentürkoğlu S., Tunçdemir M., Öztürk Sezgin M., Balcı H., Karaca Ç. , Uslu E., Atikeren P., Karabulut, E., İslam, A. 2014. The Antidiabetic Effects of The Fruits of '*Laurocerasus officinales* Roemer' on Pancreatic Islands of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, 18th International Microscopy Congress, Prag, September 7-12, pp.3398-3398
- Güven, K.L, Geçgil, T.H. 1961. Taflan suyu hazırlanması hakkında. Eczacılık Bülteni No:3, 117.
- Guilford, P., Prakash, S., Zhu, J.M., Rikkerink, E., Gardiner, S., Bassett, H. and Forster, R. 1997. Microsatellites in *Malus domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. Theoretical Applied Genetics, 94(2) : 249-254.
- Hajyzadeh , M., Cavusoglu, A., Sulusoglu, M., Unver, T. 2013. DNA SSR Fingerprinting Analysis Among Cherry Laurel (*Prunus laurocerasus* L.) Types. Journal Of Food Agriculture And Enviroment, 11(2): 630-638.
- İslam, A. ve Odabaş, F. 1996. Vakfıkebir ve Çevresinde Yetiştirilen Karayemişlerin Seleksiyon Yoluyla Islahı-1. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 6(4):147-158.
- İslam, A. 2002. 'Kiraz' Cherry laurel (*Prunus laurocerasus*). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 30(4):301-302.
- İslam, A. 2005. Karayemiş yetiştiriciliği ve önemi. Ege Karadeniz Dergisi, 4:53-57
- İslam, A. 2008. Doğu Karadeniz'e Özgü Bir Meyve: Karayemiş. Doğu Karadeniz Tanıtım, Kültür ve Aktüalite Dergisi, 63-68
- İslam, A., Çelik, H., Aygün A., Kalkışım, Ö. 2010. Selection of native cherry laurels (*Prunus laurocerasus* L.) in the blacksea region International Conference on Organic Agriculture in Scope of Environmental Problems, Famagusta. Proceedings 15-17.

- İslam, A., Deligöz, H. 2012. Ordu İlinde Karayemiş (*Prunus laurocerasus* L.) Seleksiyonu. Akademik Ziraat Dergisi, 1(1):37-44
- Jaccard, P. 1908. Nouvelles Reserches sur la Distribution Florale. Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat., 44: 223-270.
- Kaçar, Y. A., Çetiner, M. S., Cantini, C., Iezzoni, A. F. 2006. Simple sequence repeat (SSR) markers differentiate Turkish sour cherry germplasm. Journal of the American Pomological Society, 60(3): 136-143.
- Kadıoğlu, A., Yavru, I. 1998. Changes in the chemical content and polyphenol oxidase activity during development and ripening of cherry laurel fruits. Phyton 37(2):241-251.
- Koç, H. 2003. Lokman Hekimden Günümüze Bitkilerle Sağlıklı Yaşama. Kültür Bakanlığı Yayınları 2883, Kültür Eserleri Dizisi 373, Ankara.
- Litt, M. ve Luty, J.A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. The American Journal of Human Genetics, 44: 397-401.
- Messina, R., Lain, O., Marrazzo, M.T., Cipriani, G. 2004. New set of microsatellite loci isolated in apricot. Molecular Ecology, Notes 4: 432-434.
- Meurman, O. 1929. *Prunus laurocerasus* L. A species showing high poliploidy. J.Genet, 21:85-94.
- Mnejja, M. Garcia-Mas, J., Howad, W., Badenest, L. M., Arus, P. 2004. Simple Sequence Repeat (SSR) Markers Of Japanese Plum (*Prunus Salicina* Lindl.) Are Highly Polymorphic And Transferable To Peach And Almond. Molecular Ecology Notes 4: 163-166.
- Özbek, S. 1978. Genel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No:31, Adana, 386.
- Perrier, X., Jacquemoud-Collet, J.P. (2006). DARwin software <http://darwin.cirad.fr/>
- Sandallı, C. 2002. Karayemiş (*Laurocerasus officinalis* Roem.) Bitkisinin RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) Tekniği ile Moleküler Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Scarano, M. T. Abbate, L., Ferrante, S., Lucretti, S., Tusa, N. 2002. ISSR-PCR Technique: a Useful Method for Characterizing New Allotetraploid Somatic Hybrids of Mandarin. Plant Cell Rep, 20: 1162-1166.
- Stanys, V., Baniulis, D., Morkunaite-Haimi, S., Siksnianiene, J.B.,Frercks, B., Gelvonauskiene, D., Stepulaitiene, I.,Staniene, G., Siksnianas, T. 2012. Characterising the genetic diversity of Lithuanian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using SSR markers. Scientia Horticulturae 142:136–142
- Struss, D., Ahmad, R., Aman, M., Southwick, S.M. 2003. Analysis of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using SSR and AFLP markers. Journal of the American Society for Horticultural Science, 128(6): 904-909.
- Tarakçı, Z., Anıl, M., Koca, I., İslam, A. 2014. Effects of adding cherry laurel (*laurocerasus officinalis*) on some physicochemical and functional properties

- and sensorial quality of tarhana. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*. Wageningen Academic Publishers 5(4):347-355.
- Testolin, R., Marazzo, T., Cipriani, G., Quarta, R., Verde, I., Dettori, M. T., Pancaldi, M., Sansavini, S. 2000. Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batsch) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. *Genome* 43:512-520
- Turkoglu, Z., Bilgener, S., Ercisli, S., Bakir, M., Koc, A., Akbulut, M., Gercekcioglu, R., Gunes, M., Esitken, A. 2010. Simple sequence repeat-based assessment of genetic relationships among *Prunus* rootstocks. *Genetics Molecular Research* 9(4): 2156-2165.
- Yamamoto, Y., Kobayashi, Y., Matsumoto, H. 2001. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. *Plant Physiol*, 125: 199–208.
- Yilmaz, K.U., Paydaş-Kargı S. , Doğan Y., Kafkas, S. 2012. Genetic Diversity Analysis Based On Issr, Rapd And Ssr Among Turkish Apricot Germplasms In Iran Caucasian Eco-Geographical Group . *Scientia Horticulturae*, 138: 138-143.
- Weber, J.L. and May, P.E. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*, 44: 388-396.
- Wünsch, A., Hormaza, J.I. 2002. Molecular characterisation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] SSR sequences. *Heredity*, 89(1): 56-63.
- Wünsch, A. 2009. Cross-transferable polymorphic SSR loci in *Prunus* species. *Scientia Horticulturae*, 120: 348–352.
- Zahra, S., Cici, H. and Van Acker, R.C. 2010. Gene flow in *Prunus* species in the context of novel trait risk assesment. *Environ. Biosafety Res.* 9:75-85.
- Zeybek, N. 1960. Türkiye'nin Tıbbi Bitkileri. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Zietkiewicz, E., Rafalski A., Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by Simple Sequence Repeats (SSR) Anchored Polimerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, 20: 176-183.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : HALE ORTA
Doğum Yeri : KORGAN
Doğum Tarihi : 04/12/1989
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : haleorta@gmail.com
İletişim Bilgileri : Ordu Korgan Fındık Tarım Satış Kooperatifleri Birliği/FİSKOBİRLİK, Korgan/Ordu.

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	2013

İş Deneyimi:

Görev	Görev Yeri	Yıl
Yönetici (Tarım Danışmanı)	Korgan Fındık Tarım Satış Kooperatifi Birliği	2014-Halen