

**MELEZLEME ISLAHI İLE ELDE
EDİLEN BAZI ÜZÜM
ÇEŞİTLERİNİN EBEVEYN
ANALİZLERİ VE ÇEKİRDEKSİZ
FERTLERİN MARKÖRE DAYALI
SELEKSİYONU**

Ayça KARAUZ
Doktora Tezi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Salih ÇELİK
Prof. Dr. Ali ERGÜL

2013

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**MELEZLEME ISLAHI İLE ELDE EDİLEN BAZI ÜZÜM
ÇEŞİTLERİNİN EBEVEYN ANALİZLERİ VE ÇEKİRDEKSİZ
FERTLERİN MARKÖRE DAYALI SELEKSİYONU**

Ayça KARAUZ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**DANIŞMAN: Prof. Dr. Salih ÇELİK
Prof. Dr. Ali ERGÜL**

TEKİRDAĞ-2013

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Salih ÇELİK ve Prof. Dr. Ali ERGÜL danışmanlığında, Ayça KARAUZ tarafından hazırlanan “Melezleme Islahı İle Elde Edilen Bazı Üzüm Çeşitlerinin Ebeveyn Analizleri Ve Çekirdeksiz Fertlerin Marköre Dayalı Seleksiyonu” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Salih ÇELİK

İmza :

Üye : Prof. Dr. Ali ERGÜL

İmza :

Üye : Prof. Dr. Mustafa BÜYÜKYILMAZ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU

İmza :

Üye : Prof. Dr. Metin TUNA

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

MELEZLEME ISLAHI İLE ELDE EDİLEN BAZI ÜZÜM ÇEŞİTLERİNİN EBEVEYN ANALİZLERİ VE ÇEKİRDEKSİZ FERTLERİN MARKÖRE DAYALI SELEKSİYONU

Ayça KARAUZ

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman : Prof.Dr.Salih ÇELİK

Prof.Dr. Ali ERGÜL

Bu araştırmada; Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu tarafından melezleme çalışmaları sonucunda tescil edilmiş olan, Tekirdağ Çekirdeksizi, Trakya İlkeren, 2B-56 (Reçel üzümü), 3A-261 (Güz üzümü), Barış üzüm çeşitlerinin ve ebeveynlerinin 19 SSR lokusu (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VrZAG62, VrZAG79, VMC2C3, VMC2H4, VVIB01, VVS1, VVIH54, VrZAG83, VVMD21, ZAG112, ZAG64, ZAG47) kullanılarak, genetik düzeyde allel profilleriyle genetik tanımlamaları yapılmıştır. Tekirdağ Çekirdeksizi, Trakya İlkeren, 2B-56, 3A-261 çeşitlerinde, 19 SSR lokusundaki allellerin uyumluluğu söz konusu iken, Barış çeşidinde, 4 lokusta allellerin uyumluluğu görülmüş fakat 15 lokusta ebeveynleri ile ortak allele sahip olmadığı görülmüştür. Ayrıca İtalya x 2B-56 (65 adet) ve Ribol x 3A-261 (32 adet) melez kombinasyonlarından elde edilen F₁'lerin, SCC8 ve SCF27 çekirdeksiz lokusu primerleri ile çekirdeklilik ve çekirdeksizlikleri araştırılmış, bulunan sonuçlar morfolojik değerlendirmelerle paralellik göstermiştir. Melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen F₁'lerde, çekirdeksizliğin erken dönemde tespitinde adı geçen iki lokusun kullanılabilir olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Vitis vinifera* L., moleküler tanımlama, SSR, çekirdeksizlik

2013, 90 sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

THE PARENTAL ANALYSIS OF GRAPE CULTİVAR RELEASED BY CROSS-BREEDING AND THE SELECTION OF SEEDLESS INDIVIDUALS BASED ON MARKER ASSİSTED SELECTION

Ayça KARAUZ

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Horticulture

Supervisor : Prof.Dr.Salih ÇELİK

Prof.Dr. Ali ERGÜL

In this research, allele profiles in genetic level and genetic identification of Tekirdağ Çekirdeksizi, Trakya İlkeren, 2B-56 (Reçel üzümü), 3A-261 (Güz üzümü) and Barış grape varieties, which were registered by Tekirdağ Viticulture Research Station as a result of crossbreeding studies, and their parents have been done by using 19 SSR loci (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVMD31, VrZAG62, VrZAG79, VMC2C3, VMC2H4, VVIB01, VVS1, VVIH54, VrZAG83, VVMD21, ZAG112, ZAG64, ZAG47). It is observed that alleles in 19 SSR loci were compatible in Tekirdağ Çekirdeksizi, Trakya İlkeren, 2B-56, 3A-261 grape varieties whereas in Barış grape variety, alleles were compatible in 4 loci; but in 15 loci they were not sharing the same alleles with their parents. Moreover, SCC8 and SCF27 seedless locus primers and seeded/seedless traits of F₁s derived from the hybrid combinations of Italy x 2B-56 (65 pieces) and Ribol x 3A-261 (32 pieces) were investigated and the obtained results indicated parallelism with the morphological assessments. It is confirmed that the two abovementioned locus could be used in the early stage determination of seedlessness in F₁s obtained as a result of crossbreeding studies.

Keywords : *Vitis vinifera* L., molecular identification, SSR, seedlessness

2013, 90 pages

TEŞEKKÜR

Bağcılık konusunda deneyim, bilgi ve yardımlarından faydalandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Salih ÇELİK'e, tezimin ortaya çıkış aşamasından son anına kadar, özellikle moleküler çalışmalarda, değerli bilgi ve düşüncelerini paylaşan, yol gösteren, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'nda çalışmama imkân sağlayan, tezimin her aşamasında sabır gösteren ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ali ERGÜL'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez İzleme Komitesinde bulunan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa BÜYÜKYILMAZ'a, istatistik konusunda yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Cihat TÜRK BEN'e ve Sayın Prof. Dr. A. Tanju GÖKSOY'a, materyal temini aşamasında çalışmakta olduğum kurum müdürüm Dr. Yılmaz BOZ ve kurum müdür yardımcısı Mehmet SAĞLAM'a, istatistik konusunda yardımcı olan arkadaşım Evren ORUÇ'a, bağcılık konusunda fikir ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Cengiz ÖZER'e, tezimin her aşamasında yaptıkları katkı ve yardımlarından dolayı Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu'nda çalışan mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmalarım sırasında, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı'nda çalışmama emeği geçen tüm arkadaşlarıma, ayrıca her konuda göstermiş oldukları cana yakınlıkları ve dostluklarından dolayı Pelin ÇELİKKOL ve Semra SOYDAM'a teşekkür ederim.

Her zaman ve her konuda yanımda olan, tez süresi boyunca sabır gösteren, hayat arkadaşım, sevgili eşim Erdem KARAUZ'a, biricik kızım Dilara KARAUZ'a, sevgilerini hiç esirgemeyen ve tezimin tamamlanmasını benden çok isteyen değerli anneme ve babama, beni destekleyen tüm dostlarıma yürekten teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Asmada genetik tanımlamalar: Mikrosatelit (SSR, Simple Sequence Repeats).....	4
2.1.1.SSR tekniğinin bağcılıkta kullanım alanları.....	5
2.1.2 Asmada SSR'a dayalı çalışmalar.....	5
2.2 Asmada çekirdeksizlik.....	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	19
3.1 Materyal.....	19
3.1.1 Melez çeşitlere ait meyve ve tane özellikleri.....	20
3.2 Yöntem.....	23
3.2.1 DNA izolasyonu için yaprak örneklerinin toplanması.....	23
3.2.2 Tescilli çeşitlerin ebeveyn analizlerinde kullanılan yöntem.....	23
3.2.2.1 DNA izolasyonu ve ölçümleri.....	25
3.2.2.2 PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR.....	26
3.2.2.3 Kapilleri elektroforez ve allel görüntülerinin alınması.....	29
3.2.3 Çekirdeksiz çeşit adaylarında çekirdeksizlik belirlenmesi.....	29
3.2.3.1 DNA izolasyonu ve ölçümleri.....	29
3.2.3.2 PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR.....	30
3.2.4.Çekirdeksiz çeşit adaylarında çekirdeksizlik belirlenmesine yönelik yapılan gözlemler.....	31
3.2.4.1 Tane toplanması ve çekirdeklerin çıkarılması.....	31

3.2.4.2 Çekirdek yaş ve kuru ağırlığı.....	31
3.2.4.3 Çekirdek en ve boy ölçümleri.....	32
3.2.4.4 Çekirdekteki embriyo durumu.....	32
3.2.4.5 Yüzdürme testi.....	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	
4.1 Tescilli çeşitlerin ebeveyn tayini.....	33
4.1.1 DNA izolasyonu.....	33
4.1.2 PCR görüntüleri ve kapiller elektroforez yöntemi ile elde edilen allel büyüklükleri	35
4.1.3 Tescilli çeşitlerin ebeveyn tayini ile ilgili genetik bulgular.....	41
4.2 Çekirdeksiz çeşit adaylarında marköre dayalı seleksiyon yöntemi ile çekirdeksizliğin belirlenmesi.....	47
4.2.1 Morfolojik bulgular.....	47
4.2.2 DNA izolasyonu.....	50
4.2.3 Çekirdeksiz çeşit adaylarında çekirdeksizlik belirlenmesine yönelik genetik bulgular.....	59
4.3 İstatistiki analiz.....	67
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	69
6. KAYNAKLAR	78
ÖZGEÇMİŞ.....	90

SİMGELER DİZİNİ

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı)
BSA	Bulk Segregant Analyses (Bulk Segregasyon Analizi)
bp	Base pair (Baz çifti)
cM	Santi Morgan
CTAB	Setil Trimetil-Amonyum Bromür
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi-Nükleotid Trifosfat
EDTA	Etilen Diamine Tetra Asetik Asit
gr	Gram
LiCl	Lityum klorür
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
Mg	miligram
mM	Milimol
µl	Mikrolitre
MDS	Marköre Dayalı Seleksiyon
ng	nanogram
pmol	pikomol
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PVP	Polyvinylpyrrolidone
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA (Rastgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş Parça Uzunluğu Farklılığı)
RNase	Ribonükleaz-A
rpm	Dakikadaki dönüş sayısı (Random Per Minute)
SLS	Sample Loading Solution (Örnek Yükleme Solüsyonu)
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA Çözeltisi
TE	Tris-EDTA Çözeltisi
QTL	Quantitative Trait Loci (Kantitatif Özellik Lokusu)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çekirdeksiz melez çeşitlerin parseli.....	19
Şekil 3.2. Tezde uygulanan yöntem aşamaları.....	24
Şekil.3.3. Tanelerden çekirdeklerin çıkarılması ve örnek görünüm.....	31
Şekil 3.4. Yüzdürme testi için çekirdeklerin kavanozlara ayrılması.....	32
Şekil 4.1. VVMD5 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	35
Şekil 4.2. VVMD24 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	35
Şekil 4.3. VMC2C3 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	36
Şekil 4.4. VrZAG79 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	36
Şekil 4.5. VVMD27 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	36
Şekil 4.6. VVMD28 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	37
Şekil 4.7. VVS2 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	37
Şekil 4.8. VrZAG62 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	37
Şekil 4.9. VVIB01 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	38
Şekil 4.10. VVS1 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	38
Şekil 4.11. VMC2H4 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	38
Şekil 4.12. VVMD7 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	39
Şekil 4.13. VVIH54 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	39
Şekil 4.14. VVMD31 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	39
Şekil 4.15. VrZAG83 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	40
Şekil 4.16. VVMD21 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	40
Şekil 4.17. ZAG112 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	40
Şekil 4.18. ZAG64 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	41
Şekil 4.19. ZAG47 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü.....	41
Şekil 4.20. SCC8 primeri ile elde edilen 7xM (İtalya x 2B-56) melezlerine ait jel görüntüleri.....	60
Şekil 4.21. SCC8 primeri ile elde edilen 7xM (İtalya x 2B-56) melezlerine ait jel görüntüleri.....	60

Şekil 4.22. SCC8 primeri ile elde edilen 7xM (İtalya x 2B-56) melezlerine ait jel görüntüleri.....	61
Şekil 4.23. SCC8 primeri ile elde edilen 36 x L (Ribol x 3A-261) melezlerine ait jel görüntüleri.....	61
Şekil 4.24. SCC8 primeri ile elde edilen 36 x L (Ribol x 3A-261) melezlerine ait jel görüntüleri.....	62
Şekil 4.25. SCF27 primeri 7xM (İtalya x 2B-56) melezlerine ait jel görüntüleri.....	62
Şekil 4.26. SCF27 primeri 36xL (Ribol x 3A-261) melezlerine ait jel görüntüleri.....	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Tescil edilmiş melez çeşitler ve ebeveynleri	20
Çizelge 3.2. Çekirdeksizlik erken seleksiyonu amacı ile seçilmiş ve meyve aşamasına gelmiş olan F ₁ 'lerden bazılarının tane ve salkım özellikleri.....	22
Çizelge 3.3.SSR lokuslarına ait primerlerin baz dizileri, işaretleme boyası ve PCR ve Tm değerleri.....	27
Çizelge 4.1. Tescilli çeşitler ve ebeveynlerine ait DNA'ların saflık ve miktarları.....	34
Çizelge 4.2. 3A-261 çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç).....	42
Çizelge 4.3. Tekirdağ Çekirdeksizi çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç).....	43
Çizelge 4.4. Trakya İlkeren çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç).....	44
Çizelge 4.5. 2B-56 çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç).....	45
Çizelge 4.6. Barış çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç).....	46
Çizelge 4.7. 7 x M (İtalya x 2B-56) melez kombinasyonu çekirdek ölçüm ve gözlemleri.....	48
Çizelge 4.8. 36 x L (Ribol x 3A-261) melez kombinasyonu çekirdek ölçüm ve gözlemleri.....	49
Çizelge 4.9. 7xM (İtalya x 2/B-56) Melezlerine ait DNA'ların saflık ve miktarları.....	51
Çizelge 4.10. 36xL (Ribol x 3/A-261) Melezlerine ait DNA'ların saflık ve miktarları.....	56
Çizelge 4.11. 7xM (İtalyax2B-56) melez kombinasyonu için SCF27 ve SCC8 primeri ile çekirdek verileri.....	64
Çizelge 4.12. 36xL (Ribolx3A-261) melez kombinasyonu için SCF27 ve SCC8 primeri ile çekirdek verileri.....	66
Çizelge 4.13. Melez kombinasyonlarının istatistiki değerlendirmesi.....	68

1. GİRİŞ

Türkiye kuzey yarım kürede 36° – 42° enlem dereceleri arasında yer aldığından, bağcılık açısından çok uygun ekolojik koşullara sahiptir (**Fidan 1985**). Diğer taraftan bağcılık için dünyanın en elverişli iklim kuşağı üzerinde bulunan ülkemiz, asmanın gen merkezi olmasının yanı sıra, son derece eski ve köklü bir bağcılık kültürüne sahiptir. Anadolu'da bağcılık kültürünün M.Ö. 3500 yılına kadar dayandığı saptanmıştır (**Çelik 1998**).

Dünyanın önde gelen üzüm üreticileri arasında yer alan ülkemizde bağcılık, ekonomiye önemli derecede katkıda bulunur. Üzüm, zeytin, incir ve hurma Eski Dünya ülkelerinde, özellikle de Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde yetiştirilen ilk meyvelerdir (**Zohary ve Hoph 2000**). Bağcılık, tarımsal üretimden sağlanan gelirin %7'sini sağlamakla Türk tarımında önemli bir yer almaktadır. Türkiye İstatistik Kurumunun 2010 yılı verilerine göre ülkemizde 477.785 ha bağ alanı olup yaklaşık 4,2 milyon ton üzüm üretilmektedir (**Anonim 2011**). Mevcut bağ alanı ve üretim değerleri ile dünyada ilk beş ülke arasında yer alan Türkiye bağcılığını, birinci derecede çekirdeksiz ve çekirdekli üzüm; ikinci derecede ise sofralık üzüm üretimi karakterize etmektedir. Hemen hemen her bölgesi güçlü bir bağcılık potansiyeline sahip olan ülkemizde, bağcılığın tarım ürünleri arasındaki yeri ve gelişme durumu, bölgelere göre farklılık göstermektedir (**Çelik ve ark.1998**).

Üzümlerde çekirdeksizlik, pazarlama şansını arttıran ve tüketici tarafından arzu edilen önemli bir özelliktir. Buna rağmen dünya ticaretine konu olmuş oldukça az çekirdeksiz çeşit bulunmaktadır. Yeni çekirdeksiz çeşitler elde etmek amacıyla ıslah çalışmaları yapılmaktadır.

Ülkemizde, çeşitli yörelerde yetiştirilen sofralık ve şaraplık üzüm çeşitleri üzerinde birçok ampelografi çalışmaları yürütülmüştür (**Kısakürek 1956, İstar 1959, Fidan ve ark. 1972, Fidan 1973, 1975a, 1975b, 1976; Odabaş 1984, İlter ve Uzun 1988, Gürsöz 1993, Boz 1995**).

1965 yılında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından, yaklaşık 1000 üzüm çeşidi koleksiyona aktarılmıştır. Bu koleksiyon çeşitleri üzerinde ampelografi çalışmaları tamamlanmış, çeşit ve tiplerin katalog bilgileri saptanmıştır. Ampelografik yöntemler çeşit tanısında halen yaygın olarak kullanılsa da bazı sorunlar teşkil etmektedir. Bir asmanın ampelografik tanısı bu asmanın değişik mevsimlerdeki evrelerinin incelenmesini gerektirmekte, bu nedenle de yaklaşık iki yıl sürmektedir. Ayrıca ampelografik yöntemler, genotip-çevre ilişkilerinden büyük ölçüde etkilenmektedir. Neticede elde edilen bilgiler, sadece bitkinin genetik yapısını değil, araştırmanın yapıldığı yerdeki iklim ve toprak koşulları

gibi dış etmenleri de yansıtmakta bu nedenle de her zaman sağlıklı sonuç vermemektedir **(Levadoux 1956)**.

Son 15 yılda geliştirilen moleküler yöntemler, organizmaların genetik çeşitliliğini, kalıtsal kökenlerini ve birbirlerine yakınlıklarını araştırmada devreye girmiştir. Bunlardan DNA markörler, birçok araştırmacı tarafından ebeveyn tayini, çeşit tanımlama, sinonim ve homonimlerin belirlenmesinde kullanılmıştır **(Sánchez-Escribano ve ark. 1999, Dangl ve ark. 2001, Regner ve ark. 2001, Reale ve ark. 2002, Montaner ve ark. 2004, This ve ark. 2004, Núñez ve ark. 2004, Ortiz ve ark. 2004)**. Ayrıca ebeveyn analizi **(Thomas ve ark. 1994, Bowers ve Meredith 1997, Sefc ve ark. 1997, Grando ve ark. 2000)**, genetik farklılık çalışmaları, evrimsel gelişimin moleküler analizi ve orijin belirleme **(Sefc ve ark. 2000, Vouillamoz ve ark. 2003, Arroyo-Garcia ve ark. 2004)**, bitki ıslahçı haklarındaki ihlali saptama **(Ibañez ve Eeuwijk 2003)**, genetik haritalama **(Dalbo ve ark. 2000, Grando ve ark. 2000, Merdinoglu ve ark. 2003, Riaz ve ark. 2004)** gibi amaçlarla da mikrosatellitler (SSR= Simple Sequence Repeats) markörler kullanılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır.

Bağcılıkta daha verimli, kaliteli ve iri taneli pazar değeri yüksek sofralık üzüm çeşitleri ile sıra randımanı yüksek ve iyi kaliteli şaraplık, çeşitlerin elde edilmesi ancak yapılacak ıslah çalışmalarıyla, özellikle de kombinasyon (melezleme) ıslah çalışmalarıyla mümkün olacaktır **(Ergül 1994)**. Asma ıslahı çalışmaları, dünyada olduğu gibi ülkemizde de bağcılığın öncelikli konuları arasındadır. Son yıllarda önem kazanan melezleme (kombinasyon) ıslahı çalışmalarında öncelikli konular ise; tane kalite kriterlerinin artırılması, çekirdeksizlik, abiyotik ve biyotik koşullara dayanıklılığın artırılması, erkenci/geççi çeşitlerin elde edilmesi vb. oluşturmaktadır. Diğer taraftan zaman alıcı ve yoğun işgücü gerektiren bu ıslahı çalışmalarında; melezleme kombinasyonlarına uygun adına doğru çeşit geliştirmek önem taşımaktadır.

Bağcılık çalışmalarında gen kaynaklarının tanımlanması ve korunması çalışmalarına bakıldığında temel olarak; doğal gen kaynaklarının ön plana çıktığı görülmektedir. Bununla birlikte DNA'ya dayalı genetik karakterizasyon çalışmaları daha da önem kazanmıştır. Öncelikli ve özel popülasyonlar ise ıslah çalışmalarının ürünleri olan hibrit bitkilerdir. Hibrit bitkilerin, doğal popülasyonlara göre öncelik kazanmasının nedeni ise; üstün özelliklere sahip doğal gen kaynakları arasından seçilen ebeveynlere ait beğenilen karakterlerin, uzun yıllar süren ıslah çalışmaları ile bu hibritlerde kombine edilmesidir. Diğer ifade ile hibrit bitkileri, ebeveynleri olan doğal gen kaynakları bitkilerinden daha üstün özelliklere sahip olup, öncelikli olarak tescil ve genetik olarak karakterize edilmelidir. Yeni çeşitlerin tanımlanması;

doğru melezleme kombinasyonunun kontrolü ve bu çeşitlerin çoğaltımı aşamasında, ıslahçı araştırmacıların, kurumların ve hatta ülkelerin haklarının korunması açısından da büyük önem taşımaktadır. Bu doğrultuda; Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu'nda ıslah edilen Barış, Tekirdağ Çekirdeksizi, Trakya İlkeren, Güz Üzümü, Reçel Üzümü çeşitlerinin, SSR markörler ile ıslahda kullanılan ebeveynlerinin doğrulanması ve bu çeşitlerin DNA kimlik tanısı, tez çalışmasının ilk amacını oluşturmaktadır.

Bitkisel üretimin ve ürünlerdeki kalitenin artırılması açısından, ıslah çalışmaları büyük önem kazanmıştır. Kombinasyon ıslahı, melezleme çalışmaları ile başlayan, çok uzun süreç olup arzu edilen çeşitlerin elde edilmesi için geniş popülasyonlar içerisinden seçim gerektirmektedir. Diğer bir ifade ile bu çalışmaların işgücü fazla ve etkinliği düşüktür. Asma gibi çok yıllık bitkilerdeki heterozigotik yapı ise ıslah çalışmalarında amaca uygun hibritlere ulaşmayı zorlaştıran bir diğer faktördür. Günümüzde biyoteknoloji alanında her geçen gün artan değişiklikler devam etmektedir. Marköre Dayalı Seleksiyon (MDS = MAS = Marker Assited Selection) ile popülasyon içerisinden istenen özellikteki bitkilerin seçilmesi süreci minimuma inmektedir. Marköre Dayalı Seleksiyonun kullanıldığı ıslah çalışmalarının en önemlilerinden birisi ise çekirdeksizlik seleksiyonlarıdır. Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu'nda, uzun yıllar devam eden ıslah çalışmaları sonucunda elde edilen popülasyon için, arzu edilen ilk özelliklerin başında çekirdeksizlik gelir. Marköre Dayalı Seleksiyon yöntemi ile çekirdeksiz ıslahı için Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu'nda bulunan İtalya x 2B-56 (Reçel Üzümü) (65 adet), Ribol x 3A-261 (Güz Üzümü) (32 adet) melezleme kombinasyonlarına ait F₁'lerin çekirdeksizlik özelliği açısından Marköre Dayalı Erken Seleksiyonunun gerçekleştirilmesi de tez çalışmasının diğer amacıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Asmada Genetik Tanımlamalar: Mikrosatellit (SSRs, Simple Sequence Repeats)

Moleküler markörler, genomda bir gen ya da gen bölgesine ilişkin DNA parçası veya biyokimyasal madde olarak tanımlanmaktadır. Moleküler markörler bahçe bitkilerinde; gen kaynaklarındaki bireylerin tanımlanması, akrabalık ilişkilerin belirlenmesi, haritalama ve seleksiyon amacıyla kullanılmaktadır. Bu tekniklerde başlangıçta enzim alt birimleri kullanılmakla birlikte daha sonra genomik DNA, organel DNA'sı ya da satellit bölgeler gibi kısımların esas alındığı DNA markörleri uygulama alanı bulmuştur (**Ağaoğlu ve Ergül 1999**).

İlk dönemlerde yapılan çalışmalarda daha çok izoenzim markörlerine yer verildiği, daha sonraki yıllarda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) ve SSR (Simple Sequence Repeats) teknikleri yoğunlukta olmak üzere AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ve ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) gibi tekniklerin kullanıldığı görülmektedir. Bu araştırmaların ağırlıklı olarak çeşit tanımlama ve akrabalık ilişkilerinin saptanmasına yönelik olarak yürütüldüğü ortaya çıkmıştır. Çeşit tanımlama çalışmalarında SSR tekniğinin etkinliği vurgulanırken, çok yakın akraba bireylerin analizi düşünüldüğünde birden çok markör sistemlerinin kullanılmasının faydalı olacağı belirtilmektedir (**Sabır 2008**).

SSR (Simple Sequence Repeats) veya mikrosatellitler ökaryotik genomlar boyunca dağılmış bulunan ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır. Bu gruplar (AT)_n, (GT)_n, (ATT)_n veya (GACA)_n şeklinde gösterilmekte ve n ardışık tekrar sayısını belirtmektedir. Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş olduklarından, farklı genotiplerde çalışan SSR'ların PCR primerleri ile çoğaltılarak seçimine izin vermektedir. Ardışık SSR tekrarların sayısındaki farklılık PCR sonucunda farklı uzunlukta parça çoğaltımıyla sonuçlanmaktadır. Bu tekrarlar çok yakın tür ve çeşitler arasında dahi tekrarlanan ünitelerin sayısında değişikliğe yol açan mutasyonlar nedeni ile oldukça polimorfiktir ve SSR'ları çevreleyen korunmuş DNA dizileri primer olarak kullanılarak PCR metodu vasıtasıyla bir lokustaki farklı alleller tespit edilebilmektedir (**Gupta ve ark. 1994**).

PCR'la çoğaltılmış mikrosatellit markörler, özel lokusa sahip ve yüksek miktarda polimorfik olmanın avantajına sahiptir. Allel büyüklüğünün belirlenmesi, yüksek çözünürlü elektroforez aracılığıyla elde edilir. Bu markörler kodominanttır ve bu sayede homozigot ve

heterozigotların ayırımına izin verir. Mikrosatellit profili (analiz edilen lokusta belirlenen baz çifti), verilen allel büyüklüğüyle temsil edilir. Sonuçta, pratik açıdan mikrosatellit markörlerin, tekrarlanabilirliği ve standardizasyonu çok kolaydır ve bu nedenle farklı laboratuvarlar arasındaki verilerin transferi ve karşılaştırılması olanağı mevcuttur (**Sefc ve ark. 2001**).

Bitkideki genetik haritalama çalışmalarında ve genom projelerinde SSR markörlerin önemi her geçen gün artmaktadır (**Fischer ve ark. 2004, Welter ve ark. 2007, Akkurt ve ark. 2007, Velasco ve ark. 2007**).

Ko-dominatlık, diğer DNA markörlere göre yüksek polimorfiklik sağlama vb. özellikleri ile üzüm tanımlama ve diğer çalışmalarda SSR markörler önemli avantajlar sağlamaktadır.

2.1.1. SSR Tekniğinin Bağcılıkta Kullanım Alanları

SSR markörler asma ıslahında; *Vitis* cinsinde evrimsel gelişimin moleküler analizi, *Vitis vinifera* L. çeşitlerinin ve Amerikan asma anaçlarına ait gen kaynaklarının belirlenmesi, melezleme sonucu elde edilen çeşitlerin tanımlanması ile sinonim ve homonimlerin tespit edilmesi, orijin belirleme, melezleme ıslahında hibrit bitki tanısı ve genetik haritalama gibi değişik amaçlara yönelik olarak kullanılmaktadır.

2.1.2. Asmada SSR'a Dayalı Çalışmalar

İlk asma mikrosatellit çalışmaları Avusturya'da **Thomas ve Scott (1993)** tarafından yapılmıştır. Toplamda 26 *Vitis vinifera* L. çeşidi, 6 *Vitis* türü ile *Vitis rotundifolia*'da yapılan çalışmaya daha sonra 80'den fazla genotip eklenmiştir. **Thomas ve ark. (1994)** tarafından yürütülen diğer bir çalışmada ise; 5A Teleki ve Kober 5 BB anaçlarının SSR analizleri gerçekleştirilmiş, kullanılan primerler itibari ile ayırım sağlanamamıştır.

Walker ve Boursiquot (1992), Kaliforniya Üniversitesi'nde bulunan anaçlar üzerine yürüttükleri çalışmalarında, 7 adet SO4 asma anacının yanlış etiketlendiğini, aslında bunların Teleki 5C olduğunu saptamışlardır. Bu iki anacın yaprak ve sürgünle ilgili birçok özelliklerinin çok benzer olmasına rağmen sürgün ucu, genç yaprak ve sülük özellikleri bakımından farklılıklar gösterdiğini belirlemişlerdir. Diğer taraftan izoenzim analizlerinin de ampelografik bulgulara benzer sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Vignani ve ark. (1996), İtalyan şarap çeşidi olan Sangiovese'nin, 12 klonunda toplamda 7 mikrosatellit lokusu (VVMD5, VVMD6, VVMD7, VVMD8, VVMS2, VVMS4 ve VVMS29) taramışlar; 1 klonun (SG 8T) dışında 11 klonun benzer olduğunu, muhtemelen tek bir omcadan geldiğini, SG 8T'nin ise farklı ebeveyne sahip olabileceğini belirtmişlerdir.

Sefc ve ark. (1997), tarafından SSR markörler kullanılarak bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Genetik analizde mikrosatellitlerin kullanılması, üzümde kimlik saptama ve soy analizlerine imkân verir. Büyük ekonomik öneme sahip kültür bitkilerinin çoğu, örneğin Cabernet Sauvignon gibi, yüzyıllar önce seleksiyona uğramıştır ve çoğunlukla da kökenlerine yönelik güvenilir veriler bulunmamaktadır. Bu çalışmada, 51 üzüm çeşidi, 24 mikrosatellit ile çalışılmış ve muhtemel ebeveyn-melez kombinasyonları yönünden araştırılmıştır. Veriler Cabernet Sauvignon'un kökeninin, Cabernet Franc ve Sauvignon Blanc arasındaki bir çaprazlamaya dayandığını göstermektedir.

Sefc ve ark. (1998a), VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVS29, VVMD7, VVMD28, VVMD32 VVMD36 mikrosatellitlerini kullanarak 66 Avusturya üzüm çeşidinde tanımlama yapmışlardır. Çalışmada kullanılan anaçlarda benzerlik değerleri 0.29 -0.96 arasında tespit edilirken, çeşitlerde ise 0.53-0.87 arasında bulunmuştur. **Sefc ve ark. (1998b)**, Avusturya'dan alınan ve ticari öneme sahip 18 sofralık üzüm çeşidi 11 mikrosatellit markörü ile tanımlanmış, böylelikle genetik markörlerin ticari üzüm çeşitlerinde isim doğruluğu tespitinde kullanılabilirliği kanıtlanmıştır.

Lin ve Walker (1998), kambiyum dokularından DNA izole ederek ve 7 SSR lokusu kullanarak, 58 adet asma anacının dinlenme dönemlerinde de başarıyla tanımlanabileceğini bildirmişlerdir.

Maletic ve ark. (1999) tarafından 22 Hırvat üzüm çeşidi 9 mikrosatellit markörü ile taranmış, sinonim ve homonim çeşitler genetik analizler ile tanımlanmıştır. Ayrıca bu çeşitler 300 Avrupa çeşidinde yapılan mikrosatellit çalışmaları ile karşılaştırılmıştır.

Sánchez-Escribano ve ark. (1999), 43 sofralık üzüm çeşidinin 8 mikrosatellit markörü (VVS1, VVS2, VVS3, VVS4, VVS5, VVMD5, VVMD6 ve VVMD7) ile kimlik tespiti yapılmış ve 43 çeşitten 14 tanesinin allel büyüklükleri bakımından aynı olduğu açıklanmıştır.

Arroyo-Garcia ve Martínez-Zapater (2000), 9 yeni mikrosatellit lokusu geliştirmişler ve bu markörleri sofralık ve şaraplık bazı üzüm çeşitlerinde test etmişlerdir. Allel sayısını her lokusta 8 ile 10 arasında tespit ederlerken, bitki kloroplast genomunda

bulunan polimorfik mikrosatellit bölgelerinin tanımlamalarda büyük öneme sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Faria ve ark. (2000), en önemli 5 porto şarabı çeşidi ile 4 mikrosatellit lokusunda çalışmışlar ve mikrosatellit tekniği ile tek ve karışık şıranın tanımlanmasında başarılı sonuçlar almışlardır.

Grando ve ark. (2000), Trentino Bölgesi'ne (Kuzey İtalya) ait 36 eski asma çeşidi ile halen bu bölgede yetişmekte olan 12 yöresel asma çeşidini 7 mikrosatellit markörü ile taramışlardır. Toplamda 11 homonim çeşit bulunurken, araştırmada *Vitis vinifera* dışındaki *Vitis* cinsi türleri için karakteristik olan bazı alleller belirlenmiştir.

Regner ve ark. (2000a), RAPD, SSR ve ISSR markörler kullanarak, Beyaz Riesling çeşidinin 10 farklı klonunda genetik polimorfizmi incelemişlerdir. SSR ve ISSR markörlerin, farklı laboratuvarlarda yüksek stabilite gösterdikleri ve klonal materyalin tanımlanmasında uygun metotlar olarak görülmüştür.

Narvaez ve ark. (2001), 20 genotipte 12 mikrosatellit markörü ile bu çeşitlerin genetik kimliklerinin oluşturulduğunu bildirmişlerdir.

Lefort ve Roubelakis-Angelakis (2001), Yunanistan'da ampelografik özellikleri tanımlanmış olan asma genotiplerini moleküler karakterizasyonla desteklemek amacıyla mikrosatellit markörlerini kullanmışlardır. Başlıca sofralık ve şaraplık çeşitleri de içine alan 50 genotipin 11 SSR markörü ile mikrosatellit profilleri oluşturulmuştur. Çalışılan markörler genotiplerin ayrılmasında etkili olmuş ve lokus başına 7.9 olmak üzere toplam 87 allelin saptanmasını sağlamıştır. Lokus başına gözlenen heterozigotluk oranı 0.68-0.96 arasında olmuştur.

Regner ve ark. (2000b), 300 kadar asma çeşidi ve *Vitis silvestris*'in 20 farklı genotipini mikrosatellit markörlerle analiz etmişler ve çalışmalarını sonucunda *V. silvestris*'te bulunan allelerin çoğunun *V. vinifera*'da da bulunduğunu, bu nedenle *V. silvestris* ve *V. vinifera* arasında genetik olarak benzerlik olduğunu belirtmişlerdir.

Regner ve ark. (2001), *Vitis* türlerine ait 1200 kadar örneğin genetik tanımlamasını SSR, ISSR, AFLP ve RAPD gibi tekniklerle yapmışlardır. Ayrıca Avusturya'dan alınan 300'den fazla çeşitte 40 mikrosatellit markörü deneyerek genetik farklılık ve orijin araştırmaları gerçekleştirmişlerdir.

Schneider ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada sinonim olduğu düşünülen 31 çeşitte RAPD ve SSR analizleri yapılmış, 16 tanesinin sinonim olduğu görülmüştür.

Reale ve ark. (2002) “Tintilia” ve “Bovale” çeşitleri arasındaki sinonim ilişkisini araştırmışlar ve 14 SSR lokusu kullanmışlardır. İki çeşit arasında benzerliklere rastlarken, birbirinin sinonimi olan genotipler tespit edememişlerdir.

Reddy ve ark. (2002) göre basit dizi tekrarlar arası (ISSR) – PCR, çok alanlı markörleri elde etmek üzere polimeraz zincir reaksiyonunda mikrosatellit dizilerinin ara bölgelerinin kullanımına dayanan bir tekniktir. ISSR markörleri son derece polimorfiktir ve genetik çeşitlilik, filogeni, genetik takip, gen haritalaması ve evrimsel biyoloji ile ilgili çalışmalarda fayda sağlarlar. Bu inceleme, bu tekniğin detayları ve geniş çaplı kültür bitkilerinin genetiğinde ve yetiştirilmesinde uygulanması üzerine genel bir açıklama niteliği taşımaktadır.

Aradhya ve ark. (2003) tarafından 222 kültür (*Vitis vinifera*) ve 22 yabani (*V. vinifera ssp. sylvestris*) asma çeşidinin genetik ayırım için 8 mikrosatellit lokusu kullanılmış ve toplamda 94 allel tespit edilmiştir.

Crespan ve ark. (2003) yerel İtalyan asma genotiplerini tanımlamışlar ve farklı coğrafik bölgede yetiştirilen çeşitlerin sinonimlerini ortaya çıkarmışlardır.

Hajos-Novak ve Hajdu (2003), Macaristan’da bazı asma çeşit ve melezlerini izoenzim, RAPD ve SSR teknikleri yardımıyla karakterize etmişlerdir. Araştırmacılar kullanılan her üç moleküler markör tekniğinin de yeterli ayırım sağladığını belirtmişlerdir.

Manen ve ark. (2003), arkeolojik bulgularla elde edilen üzüm çekirdeklerini kullanarak mikrosatellit markörleri ile karakterizasyon çalışması yapmışlardır. Çalışılan 6 örnekten üçünün tanımlanması başarıyla gerçekleştirilmiştir. Avrupa’da farklı isimlerle yetiştirilen Zinfandel ile diğer bazı çeşitlerin de kullanıldığı başka bir çalışmada 25 SSR markörü test edilmiştir. Allel paylaşım oranlarını değerlendiren araştırmacılar (**Maletic ve ark. 2003**), çeşitlerin coğrafi orijinleri ve dağılımları hakkında önemli bulgular elde etmişlerdir.

Pollefeys ve Bousquet (2003), bu çalışmada doğu ve orta-batı Kuzey Amerika’da çok popüler olan Fransız- Amerikan melezlerinin, 6 SSR markörü ve 33 RAPD markörü ile genetik geçmişlerini ortaya koymuşlardır.

Constantini ve ark. (2005), tarafından yapılan çalışmada Güney İtalya- Campania bölgesinden alınan 114 genotip, 8 mikrosatellit markör ile genetik analizleri yapılmıştır. Campania üzüm çeşitlerinin çok farklı yerlerden gelmiş olabileceği ifade edilmiştir.

Vouillamoz ve ark. (2006), Türkiye, Gürcistan ve Ermenistan’dan toplanan 116 genotipte 6 mikrosatellit markör (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62, VrZAG79 ve VVS2) ile genetik analizler yapmışlardır. Türk çeşitlerinden Dımışkı, Luvanek, Morek,

Sungurlu ve Vilki’de 3 allel durumu gözlenmiştir. Ayrıca, Türkiye’deki çeşitler ile dünya çapında tanınmış diğer çeşitler arasında sinonim ilişkisi araştırılmış buna göre, İridaneli ile Italia, Parmak ile Jerusalem Bleu çeşitlerinin sinonim olabileceği belirtilmiştir.

Arroya–Garcia ve ark. (2006), 130 lokasyondan 1201 asma genotipi kullanmışlardır. Kültür ve yabani çeşitlerde kloroplast SSR (kSSR) ile yapılan çalışmada üzümün iki orjininden birinin Anadolu diğzerinin ise İspanya (şaraplık çeşitler) olduğu tespit edilmiştir.

Akkak ve ark. (2005), 12 SSR markörü (VVS2, VVS5, VVMD5, VVMD7, VVMD24, VVMD27, VVMD31, VVMD36, VrZAG21, VrZAG62, VrZAG67, VrZAG79) kullanarak Akdeniz Bölgesi’nde yetişen *Vitis vinefera L.* çeşitleri arasında genetik ilişkiyi tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada kullanılan 60 çeşit arasında genetik farklılık 0,79 olarak belirtilmiştir. Ayrıca araştırmada, 60 çeşitte 34 farklı genotipin olduğu gösterilmiştir.

Uzun ve Sarıkaya (1996), bazı üzüm çeşitleri arasındaki polimorfizmi 7 enzim sistemi ile araştırmışlardır. 43 üzüm çeşidinin 6 enzim sistemi ile tanımlandığı bir çalışmada en etkili enzimin kateşol oksidaz olduğu bildirilmiştir (**Escribano ve ark.1998**). Benzer çalışmalarda **Söylemezoğlu ve ark. (1998)** ile **Türkben ve ark. (2002)** kullandıkları enzim sistemlerinin çeşit bazında ayırım sağladığını belirtmişlerdir.

Karaağaç (2006), 48 üzüm çeşidinde 17 mikrosatellit markörü kullanarak genetik tanımlamalar yapmış ve araştırma sonucunda çeşitlere ait allel sayısını en az 4, en fazla 13 olarak bulmuştur. Ayrıca, Dusuzu ile Dımışkı çeşitlerini sinonim çeşitler olarak belirlemiştir.

Santana ve ark. (2007), İspanya üzüm çeşitlerinden 65’ini kullanarak 6 SSR lokusu ile gerçekleştirdikleri araştırmalarında, çeşitlerin ampelografik özelliklerine uygun olarak 13 sinonim ve 3 homonim grup tespit etmişlerdir.

Dilli (2008), Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidine ait 5 tip, Pembe Gemre, Osmanca, İpek üzüm çeşitlerine ait 9 klon ve Ege Bölgesi için önemi olan 15 yerel çeşit ile 2 referans çeşit olmak üzere toplam 31 üzüm çeşidinin (*Vitis vinifera L.*) SSR genetik analizleri 16 mikrosatellit markör kullanarak gerçekleştirmiştir. Araştırmacı klonal düzeyde polimorfiklik yakaladıklarını bildirmişlerdir.

41 çeşitle çalışan **Dangl ve ark. (2001)** ile 25 çeşit kullanan **Arnold ve ark. (2002)** da SSR markörlerinin *Vitis* cinsinde yüksek polimorfizm gösterdiğini belirlemişlerdir. 55 genotipi 6 SSR markörü ile tanımlayan **Kozjak ve ark. (2003)**, elde ettikleri SSR allel profilleri ile klonal farklılığın tespitini sağlamıştır. 74 çeşidi 9 SSR markörü ile karakterize eden **Hvarleva ve ark. (2004)** çeşitlerin kolaylıkla farklı gruplara ayrılabilmesini bildirmiştir. Genetik kaynakların korunmasına yönelik olarak son yıllarda yürütülen çalışmalarda **Martin**

ve ark. (2006) 56, Almadanim ve ark. (2007) 51, Costantini ve ark. (2007) 20, Dzhambazova ve ark. (2007) 20, Karataş ve ark. (2007) 39 ve Şelli ve ark. (2007) 31 üzüm çeşidinin DNA parmak izlerini oluşturmuşlardır.

Bağcılıkta moleküler markör tekniklerinin yoğun olarak uygulandığı laboratuvarlarda yürütülen araştırmaların sonuçlarına göre çeşit karakterizasyonun en uygun 6 SSR primeri (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VRZAG62 ve VRZAG79) seçilerek bu konudaki çalışmalarda kullanılması tavsiye edilmiştir (This ve ark. 2004).

Santiago ve ark. (2007), İspanya ve Portekiz’de halen yetiştirilmekte olan en eski üzüm çeşitlerinden olan Albarino ile genellikle bu çeşitle karıştırılan diğer bazı şaraplık üzüm çeşitlerini ampelografik ve moleküler yöntemlerle tanımlamışlardır. Araştırmacılar, sürgün, yaprak, salkım ve tane özelliklerine göre yapılan tanımlamaların sonuçlarına göre, ekonomik öneme sahip ve yaygın olarak yetiştirilmekte olan bazı çeşitlerin yanlış isimlendirildiğini saptamışlardır. Buna bağlı olarak, bazı çeşitlerin coğrafi orijinleri ile ilgili olarak araştırmacılar arasında görüş ayrılıklarının ortaya çıktığı bildirilmiştir. Ayrıca, bu sonuçlar çalışma kapsamında yapılan SSR analizleri ile de desteklenmiştir.

Moncada ve Hinrichsen (2007) Şili, Fransa ve İtalya’da Carmenere olarak bilinen kırmızı şaraplık çeşide ait 26 bireyin genetik benzerliklerini SSR ve AFLP markörleri ile araştırmışlardır. Markör analizlerine göre farklı bölgelerden alınan örnekler arasında önemli farklılıkların bulunduğu ve Fransa’da yetiştirilen bireylerin diğerlerine genetik olarak daha uzak olduğu belirlenmiştir.

Sladonja ve ark. (2007) Jarbola adı altında farklı bölgelerde yetiştirilmekte olan 1 kırmızı ve 20 beyaz taneli üzüm genotiplerini ampelografik ve moleküler yöntemlerle tanımlamışlardır. Genotiplerin ampelografik özellikleri ve SSR band desenlerine göre, 4 bireyin genetik olarak aynı özelliğe sahip olduğu ve bu nedenle aynı çeşide ait genotipler olduğu belirlenmiştir. Kırmızı tanelere sahip olan genotip ise diğerlerine uzak ilişkili olarak saptanmış ve ayrı bir çeşit olarak tanımlanmıştır.

Staraz ve ark. (2007), İtalya’nın en önemli üzüm çeşitlerinden olan Sangiovese çeşidinin akrabalık özellikleri ve tarihsel gelişimi hakkında bilgi elde etmek amacıyla yürüttükleri çalışmalarında SSR markörleri kullanmıştır. Muhtemel sinonim ve homonim genotipler ile diğer bazı bölgesel çeşitlerin de kullanıldığı araştırmada, genellikle bilinenlerin yanında yeni sinonimlerin de olabileceği bildirilmiştir. Araştırmacılar, çalışma kapsamındaki genotiplerin birlikte değerlendirilmesi sonucunda, bu çeşidin Sicilya orijinli olabileceği kanısına varmışlardır.

Vouillamoz ve ark. (2007), Tuscan bölgesinde yetiştirilen bazı şaraplık çeşitleri SSR markörleri ile analiz etmişlerdir. SSR bant desenlerine dayalı olarak elde edilen bilgilere göre Sangiovese çeşidinin Ciliegiole ve Calabrese çeşitlerinin melezi olabileceğini destekleyen bulgular elde edilmiştir.

Riaz ve ark. (2008), SSR markörlerinin *M.rotundifolia* kültür bitkilerini ve melezlerini belgelemek üzere ilk defa kullanılmasıyla ilgili bir çalışma yapmışlardır. Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı Ulusal Klonal Germplazm Deposu ve Kaliforniya Üniversitesi (Davis) Bağcılık ve Şarapçılık Bölümü'ndeki koleksiyonlardan toplam 57 katılımlar [39 *M. rotundifolia* çeşidi, 3 *V. vinifera* çeşidi, 3 *Vitis* spp. melezi ve 12 *V.vinifera* · *M.rotundifolia* (VR) melezi] 14 SSR markörü ile analiz edilmiştir. 31 *M.rotundifolia* çeşidi ve melezinin melezleme kayıtlarını doğrulamak için ebeveynlerin ve türün ortak alellerini karşılaştırarak parmak izi profilleri kullanılmıştır. Markör verileri, çeşitlerden dördünün hatalı tespit edildiğini göstermiş; bunların allelleri beş lokustan fazlasında uyum göstermemiştir.

Leão ve ark. (2009), Brezilya'da Embrapa Semi-Arido, Juazerio, Bahia koleksiyonundan iki yüz yirmi bir bitki ile yedi lokusta: VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD31, VrZAG62 ve VrZAG79 parmak izi çıkartılmıştır. Bunlardan, 187 katılımların üç gruba ayrılmalarına olanak veren güvenilir allel profillerinin mevcut olduğu görülmüştür. Bu çalışmada, 1. grup, doğru tanımlanan 86 katılımdan, 2. grup yanlış tanımlanan ancak farklı bir çeşidin referans profiline uyan 30 katılımdan ve 3. grup mevcut herhangi bir referans profiline uymayan SSR profilleri olan 71 katılımdan oluşmuştur. 3. grup içerisinde uluslararası olarak doğrulanmış referanslarına uymayan 11 katılımlar ve kendileri için herhangi bir uluslararası referans profili bulunmayan 60 katılımdan oluşmuştur. 3. gruptaki profiller bundan sonra bu katılımlar için referans oluşturacaktır. 3.grup katılımlarından 19'unun belirtilen ebeveynlerinden alınan SSR allel profilleri, bu katılımların doğru olarak adlandırılıp adlandırılmadığını tespit etmek üzere kullanılmış ve bunlardan 6'sı doğrulanmıştır.

Cipriani ve ark. (2010), Friuli Venezia Giulia (Kuzeydoğu İtalya) bölgesinden önemli 48 yerli asma çeşidi, iki mikrosatellit dizisi kullanılarak analiz edildi. Di-nükleotid çekirdek tekrarlarına dayalı bir markör dizisi, tri-, tetra-, ve penta-nükleotid tekrarlarına dayalı yakın zamanda geliştirilen bir markör dizisi ile genetik kimliklerini belirleme, genetik çeşitliliğini tahminleme ve ayırım yetkisini oluşturma amacıyla karşılaştırılmıştır. Kalıtımı incelemek için toplam 20 di-nükleotid SSR markörü ve 19 tri-, tetra-, ve penta-nükleotid SSR markörü kullanılmıştır. 39 primerin hepsi polimorfik PCR ampliconları üretmiştir. Her iki veri dizisi de iki tanesi hariç ('Refosco di Runcis' ve 'Refoscone') tüm çeşitlerin

tanımlanmasına imkan sağlamışlardır. Gözlenen zigotluk di-nükleotidler için 0.21 ile 1 arasında değişirken tri-, tetra-, ve penta-nükleotid tekrar motifli mikrosatellitler için 0.21'den 0.88'e kadar değişiklik göstermiştir.

2.2. Asmada Çekirdeksizlik

Çekirdeksizlik kavramı ilk olarak **Pearson (1932)** ve **Stout (1936)** tarafından tanımlanmıştır. Üzümlerde çekirdeksizlik, stenospermokarpik ve partenokarpik olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır. Çekirdeksizlik ıslahına yönelik melezleme çalışmalarında; klasik melezleme ıslah çalışmaları sonucu döllerde ulaşılan çekirdeksizlik oranının sınırlı olması nedeniyle stenospermokarpik asma çeşitlerinin abortif olmuş embriyolarının ilk kez başarılı bir şekilde kültüre alınması sonucunda çekirdeksiz x çekirdeksiz melezleme çalışmalarında F₁ generasyonunda çekirdeksizlik oranının artmasına olanak sağlanmıştır (**Cain ve ark. 1983, Emershad ve Ramming 1984, Perl ve ark. 2000**).

Asmalarda iki tip çekirdeksizlik görülmektedir. Birincisi tozlanma ve dölllenme olmaksızın tane tutumunun gerçekleştiği partenokarpi, ikincisi ise dölllenme sonunda çekirdeğin iz halinde gelişmesi ile sonuçlanan stenospermokarpik tane tutumudur. Asmalarda partenokarpik tane tutumu Corinth üzüm çeşidinde tanımlanmıştır. Tohum taslaklarının anatomik yapısına göre iki şekilde gerçekleşmektedir. Çiçek tozlarının uyarıcı etkisi sonucu gerçekleşen stimülatif partenokarpi ilk olarak Black Corinth üzüm çeşidinde tanımlanmıştır. Bir diğer partenokarpik tane tutumu ise tohum taslaklarının kusurlu yapısından dolayı gerçekleşen vejetatif partenokarpidir. İlk olarak White ve Red Corinth üzüm çeşitlerinde tanımlanmıştır. Üzüm çeşitlerinde tohum taslakları ve embriyo kesesi kusursuz geliştiği halde yetersiz tozlanma ve dölllenme sonucunda küçük çekirdeksiz tanelerin meydana geldiği tane tutumu sık rastlanılan bir durumdur. Boncuklanma (shot berry) olarak adlandırılan tane tutumunun bu şekli fakültatif partenokarpi olarak adlandırılmaktadır. Asmalarda çekirdeksizliğin ikinci tipi; tozlanma ve döllenmeden kısa bir süre sonra genetik olarak kontrol edilen gelişmeler sonucunda integümentlerin gelişmesinin engellenmesi sonucu, ipliksi ya da iz formu (rudimenter) olarak adlandırılan yapıda çekirdeklerin geliştiği stenospermokarpik tane tutumudur. Embriyo ve endosperm dejenerasyonu sonucunda abortif tohumların oluşması olayı stenospermi olarak ifade edilirken bu şekilde abortif tohumlara sahip çekirdeksiz tane tutumu ise stenospermokarpi olarak adlandırılmaktadır (**Ledbetter ve Ramming 1989, Değirmenci ve Kunter 2007**).

Çelik (1998) tarafından bildirildiğine göre, üzümlerde çekirdek dış kabuğu tam gelişmiş olmasına rağmen iç kısımda iz halinde oluşmuş embriyo veya dumura uğramış embriyo vardır. Stenospermokarpik çeşitlerde çekirdek dış kabuğu deforme olmasına karşın boş çekirdeklilikte dış kabuk normal formdadır. Böyle çekirdeklerin gelişmesinde de dölleme normal şekilde gerçekleşmekte ve zigot normale yakın yapı ve büyüklükte (çekirdek kabuğu meydana gelene kadar) geliştikten sonra körelmektedir. Boş çekirdekliliğe en tipik örnek Çavuş üzüm çeşididir. Bu çeşitte çekirdeklerin % 99,5'i boş olmaktadır (**Fidan ve Cemali, 1974**). **Bordelon ve Moore (1994)**, tohum gelişiminin tam çiçeklenme veya çiçeklenmeye yakın yüksek düzeyde büyümeyi uyarıcı hormonların neden olduğu fizyolojik koşullar sonucu gerçekleştiğini belirtmektedirler. Genetik olarak rudimenter çekirdek gelişiminin görüldüğü çeşitlerin başında Sultani Çekirdeksiz, Perlette, Pembe Çekirdeksiz, Black Monukka ve Flame Seedless gelmekte ve ıslah edilen yeni çeşitlerle beraber stenospermokarpik çeşit sayısı artmaktadır.

Dünya ve Türkiye pazarında sofralık olarak tüketilen çekirdeksiz üzüme talebi karşılamak amacıyla yeni çekirdeksiz, ilk ve son turfanda üzüm çeşitlerinin elde edilmesine yönelik bir çalışma yapılmış, 1974 yılında başlayan bu çalışma sırasında 38 çeşit ana ve 11 çeşit baba olarak kullanılmıştır. Bu kombinasyonlardan 15200 adet F₁ bitkisi elde edilmiştir. Bunlar üzerinde yapılan çalışmalar sonunda salkım ve tane özellikleri yönünden ümit var görülen 270 adedinden aşı kalemi alınarak çeşit adayı olarak seçilmişlerdir. Bu çeşit adaylarının verim ve kalite yönünden incelemeleri devam ederken Mersin yöresinde üretici bağlarında adaptasyon çalışmaları yapılmış ve 5 çeşit elde edilmiştir. Bu çeşitlerden birincisi Alphonse Lavellee x Perlette melezi olan Trakya İlkeren çeşidi çok erkenci ve siyahtır. Diğer çeşitler Barış, Reçel Üzümü, Güz Üzümü ve orta geççi olan Tekirdağ Çekirdeksiz'i çeşididir (**Gürnil ve ark. 1998**).

Yapılan araştırma sonuçlarına göre çeşidin genetik özelliğine bağlı olarak embriyo gelişimi değişen safhalarda durmaktadır (**Ledbetter ve Ramming 1989, Gribaudo ve ark. 1993**). **Weinberger ve Harmon (1964) ve Spiegel-Roy (1990)**, melezleme sonucu elde edilen döllerde çekirdeksizliği tane etinde iz yapısında gelişenler ve tane etinden kolaylıkla ayrılabilen yapıdakiler olmak üzere iki kategoride değerlendirmişlerdir. **Olmo ve Barris (1973)**, sınıflandırmada tohum ağırlığı ve jilette kesilebilme durumunu dikkate almıştır. **Merin ve ark. (1983)**, hibritlerin çekirdeksizlik durumunun belirlenmesinde duyuşal değerlendirmelere dayanan gözlemsel metotlara göre daha gerçekçi sonuç veren tanenin polifenol içeriğine dayanan bir sınıflandırma yapmışlardır. **Ledbetter ve Shonnard (1991)** ise *Vinifera* üzüm çeşitlerinde çekirdek büyüklüğü 2mm ve daha küçük olanlar ya da çekirdek

ağırlığı 20 mg ve daha az olanlar rudimenter olarak değerlendirilmişlerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda daha doğru bir fenotipik değerlendirme için sınıflandırmada çekirdek kabuğunun sertleşme düzeyi ve endosperm gelişim düzeyi bakımından değerlendirmenin daha uygun olduğu belirtilmektedir (**Striem ve ark. 1992, Bouquet ve Danglot, 1996**).

Ülkemizde melezleme yoluyla sofralık iri taneli üzüm çeşitlerinin eldesine yönelik ıslah çalışmaları 1973 yılında Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde başlatılmıştır. 1988 yılında Yalova Çekirdeksizi (Beyrut Hurması x Perlette), 1991 yılında Ergin Çekirdeksizi (Beyrut Hurması x Perlette) ve 1997 yılında ise Samancı Çekirdeksizi (Beyaz Şam x Perlette) tescil edilerek üretime sunulmuştur (**Uslu ve Samancı, 1998**).

Yeni çekirdeksiz çeşitlerin eldesine yönelik bir diğer çalışma 1974 yılında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nde yapılmıştır. Melezleme çalışmaları sonucunda çekirdeksiz olarak, Barış (Cardinal x Beauty Seedless), Tekirdağ Çekirdeksizi (Alphonse Lavellee x Sultani çekirdeksiz), Reçel Üzüümü (Elhamra x Perlette), Güz Üzüümü (Emperor x Sultani çekirdeksiz) çeşitleri tescil edilmiştir (**Gürnil ve ark. 1998**).

Üzümlerde çekirdeksizliğin oluşum mekanizmasının ortaya koyulması ve melezleme çalışmalarında erken seleksiyon amacıyla DNA'ya dayalı markörlerden yararlanılması yönünde çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır (**Adam- Blondon ve ark. 2001, Mejia ve Hinrichsen 2003, Fatahi ve ark. 2004**).

Melezlerde, çekirdekli-çekirdeksiz ayrımının etkin bir şekilde ön seleksiyonunun yapılabilmesi için son yıllarda moleküler markörlerin kullanımı ön plana çıkmıştır. Moleküler markörlerden RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA, Rastgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı) (**Striem ve ark. 1996**), SSR (Simple Sequence Repeats, Basit Dizi Tekrarları) (**Barticevic ve ark. 2004**), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism, Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı) (**Scott ve ark. 2000**) ve son yıllarda SCAR (Sequence Characterized Amplified Region Markers, Sıralı Karakterize Amplifiye Bölge) (**Adam- Blondon 2001, Mejia ve Hinrichsen 2003, Fatahi ve ark. 2004**) markörler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Ramming ve ark. (1990) tarafından üzüm meyvelerinin çekirdek özelliklerini tanımlamak üzere kullanılan parametreler (mesela meyve başına çekirdek ağırlığı gibi) ayırıcı bir yöntemin sunulmasını sağlamıştır. Abort edilen çekirdek başına 25 mg eşik değer olarak kabul edilmiştir.

Striem ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmada, çekirdekli F₁'lerin erken dönemde saf dışı bırakılması çekirdeksiz üzüm (*Vitis vinifera L.*) gelişimi ile ilgilenen

yetiştiriciye büyük değer sunabilmektedir. Moleküler genetik markörlerin tanımlanması için bu çalışmada RAPD tekniği kullanılarak “Early Muscat” ve “Flame Seedless” arasındaki çaprazlamadan oluşan 82 genotip analizi yapılmıştır (Analize seksen iki genotip dahil edilmiştir, görsel olarak 39 çekirdeksiz ve 43 çekirdekli). Çekirdeksiz çeşitleri temsilen yedi varyant analize tabi olmuştur. Bu kriterler; bir çekirdeğin ortalama taze ağırlığı, meyve başına çekirdeklerin toplamdaki taze ağırlığı, çekirdek yapısının algılanması, görsel olarak değerlendirilmiş olan çekirdek ebat kategorileri, çekirdek katmanının sertlik oranı, endosperm gelişim oranı ve embriyo gelişim düzeyidir. 160 adet, 10 bazlık primer arasından 110 tanesinde farklı çizgi karakteri görülmüştür. On iki adet markör ise çekirdeksizliğe ilişkin farklı alt özelliklerle beraber önemli korelasyonlar sağlamıştır. Bunlar arasında bir çekirdeğe ait ortalama taze ağırlık (mg) ve meyve başına çekirdeklerin toplamdaki taze ağırlığı (mg) bulunmaktadır. Çoklu lineer regresyon analizi yüksek katsayılara neden olmuştur mesela, $R=0.779$ meyve başına taze çekirdek ağırlığı ve bu ağırlık skalası model dahilinde bağımsız varyantlar olarak yedi markör dahil edilmiştir. Projenin takriben %44’ü gibi bir oranda çekirdekli türlerin pek çoğu markör yardımcı seleksiyonun iki adımlı süreci kullanılarak saf dışı bırakılabilmektedir.

Diğer taraftan asma üç ya da dört yaşından önce salkım vermediği için seleksiyon bu erken evrede yapılamamaktadır. Çekirdeksiz karakterle bağlantılı moleküler markörler, bu yüzden büyük bir öneme sahip olup, çekirdekli melezlerin elemine edilmesini sağlamaktadır. Bu şekilde zaman, yer ve genel anlamda maliyetten tasarruf sağlanmış olur. Marköre Dayalı Seleksiyon ile yürütülen çalışmalara bakıldığında; **This ve ark. (2004)** bildirdiğine göre invitro kültürü gibi teknolojiler, çekirdeksiz türlerde yüksek oranda bitkiye dönüşüme imkân vermekle beraber, bu teknikler güç ve zaman kaybına neden olmaktadır.

Önemli agronomik karakterleri taşıyan yabani türlerden ıslah materyallerinin geliştirilmesi, bu karakterlerin bulunduğu lokusla bağlantı gösteren moleküler markörlerin belirlenmesi ile hız kazanmıştır. Bu markörlerin ıslah programlarında istenen karakteri taşıyan bireylerin seçiminde kullanılması, diğer bir deyişle markörler-yardımla seleksiyon, (MAS- Marker-assisted selection) yeni çeşit geliştirilmesi çalışmalarında önemli avantajlar sunar (**Hvarleva ve ark. 2009**).

Moleküler markörler çevresel koşullardan çok etkilenen dolayısıyla fenotipik olarak gözlenmeleri zor olan karakterlerin seleksiyonunda son derece başarılıdır ve doğru bir şekilde seçilmelerine olanak tanır. Ayrıca farklı karakterlere etki eden birden fazla genin eş zamanlı aktarımında, gen piramitlerinin oluşturulmasında, resesif genlerin seleksiyonunda, çevre faktörlerinin ekstrem olduğu veya bitki gelişiminin geç dönemlerinde gözlemlenebilen

karakterlerin seçiminde de çok önemli avantajlar sunarlar (**Utomo ve Linscombe, Sönmezoğlu ve ark. 2010**).

Bouquet ve Danglot (1996) göre çekirdeksizlik, baskın gen I ile regüle edilen çekinik üç tamamlayıcı gen tarafından kontrol edilebilmektedir. “Bulk Segregant Analizi” yöntemi kullanılarak, Gen I ile ilişkisi olduğu düşünülen iki adet RAPD markörü üzerine tanımlama yapılmıştır (sırasıyla, 0.7 ve 3.5 cM). En yakın markör SCC8 adı verilen kodominant bir SCAR geliştirmek üzere kullanılmıştır. İkinci sırada adı geçen markörün çekirdekli türleri (scc8 / scc8) ebeveynden ayırt etmek üzere ya da çekirdeksiz türleri seçmek üzere (SCC8+ / SCC8+) büyük öneme sahip olarak düşünülmüştür. 70 yılı aşkın süredir yetiştiricilerin gösterdiği dikkate değer çabalara rağmen, üzümelerde çekirdeksizliğin kalıtımı tam olarak tanımlanamamıştır. İster çekinik ister baskın gene dayansınlar, ortaya atılan sayısız hipotezin hiçbiri tatmin edici değildir. Kısmen çekirdeksiz iki seleksiyonun çaprazlanmasıyla ve embriyoları kurtarmak için in vitro kültür kullanarak elde edilen bir türde, tam olarak çekirdekli/çekirdeksiz fenotip ayrılmaya çalışılmıştır. Üzümlerdeki çekirdeksizlik kalıtımının karmaşık bir sisteme dayandığı ve bunun vasıtasıyla üç bağımsız olarak kalıtsal geçişli çekinik genin ifadesinin baskın bir regülatör gen tarafından kontrol edildiği hipotezi ileri sürülmüştür. Bu hipotez bilimsel literatürde yayınlanan diğer sonuçlarla karşılaştırılmış ve üzümlerdeki çekirdeksizlik kalıtımı ile ilgili ileride yapılabilecek çalışmalara teorik bir temel oluşturmada kullanılabilecek kadar tutarlı olduğu görülmüştür.

Lahogue ve ark. (1998) göre Sultani çeşidi döllenenin gerçekleştiği ancak çekirdeklerin gelişme gösteremediği bir tür çekirdeksizlik örneği gösterir. Bu özelliğin I olarak adlandırılan dominant bir gen tarafından regüle edilen üç bütünlüyci çekinik gen tarafından kontrol edilebileceği ileri sürülmüştür. İki kısmen çekirdeksiz genotipin çaprazlanmasıyla elde edilen türdeki I geni bağlantılı RAPD markörlerini araştırmak üzere toplu segregant analizi kullanılmıştır. I ile yakından bağlantılı görünen iki RAPD markörü tespit edilmiştir (sırasıyla 0.7 ve 3.5 cM). En yakın markör SCC8 olarak adlandırılan bir kodominant SCAR geliştirmek için kullanılmıştır. Bu markörün potansiyel olarak çekirdekli ürünleri hariç tutma ya da çekirdeksiz çeşitler için seçim yapmada büyük önem taşımaktadır. Melez bitkilerdeki çekirdekli üyelerin tümünün homozigot scc8⁻/scc8⁻ olduğu ve homozigot SCC8⁺/SCC8⁺ olan tüm üyelerin de çekirdeksiz olduğu görülmüştür. Buna ek olarak, bu markör kodominantlığın kalıcı olduğu diğer doğal çekirdeksiz türlere başarıyla uygulanmıştır. SCC8 aynı zamanda çekirdeksizliğin genetiğinin daha kesin olarak incelenmesi için kullanılmıştır. ANOVA analizi bu SCAR markörün çekirdeğin yaş ağırlığının fenotipik varyasyonunun en az %64.9’undan ve çekirdeğin kuru kütlelerinin fenotipik varyasyonunun en

az %78.7'sinden sorumlu olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar bir ana genin varlığını ve de çekirdeksizlik ifadesini kontrol eden diğer tamamlayıcı çekinik genlerin mevcudiyetini de doğrulamıştır.

This ve ark. (2000) SCC8 markörünün faydalılığının boyutları birkaç doğal olarak oluşan çekirdeksiz bitki üzerinde test edilmiş ve test edilen tüm Sultani türevi çeşitlerde SCC8⁺ alellinin mevcut olduğu ortaya konmuştur. Maalesef, çekirdekli çeşitler arasında bir null alel tespit edilmiş ve bu da SCC8'i bir dominant markör durumuna dönüştürmüştür. Daha detaylı yapılan incelemeler, bu lokusta SCC8⁺ ve scc8⁻ olarak adlandırılan iki allelik form bulunduğunu ve bunlardan ikincisinin *Bgl*III için bir restriksiyon sitesi içerdiğini ortaya koymuştur. SCC8⁺/SCC8⁺ homozigot bireyler bir bant, scc8⁻/scc8⁻ homozigot bireyler iki bant gösterirken, SCC8⁺/scc8⁻ heterozigot bireyler üç bant deseni göstermişlerdir.

Blondon ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada, SCP18 ve SCC8 olarak isimlendirilen iki SCAR markör geliştirilmiştir. Bu markörler, çekirdeksiz x çekirdeksiz ve çekirdekli x çekirdekli çaprazlamalarından elde edilen toplam 81 çekirdeksiz ve çekirdekli çeşit içerisinde test edilmiştir. SCP18'in aksine, SSC8'in çekirdeksiz x çekirdeksiz melezlerindeki çekirdeksizliğin belirlenmesinde de kullanılabilir bir markör olduğu belirlenmiştir.

Mejia ve Hinrichsen (2003) tarafından bildirildiğine göre Şili Ziraat Araştırma Enstitüsü'nde sofralık üzüm yetiştirme üzerine bir çalışma yapılmış ve bu çalışma laboratuvar ortamında embriyo kurtarma tekniği ile desteklenmiştir. Ancak embriyo kurtarmanın zahmetli ve yüksek maliyetli bir teknik olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca melezlemelerden sonra 4-5 yıl ürün alınamaması, çekirdekli bireylerin elemine edilememesi nedeni ile moleküler yöntemlere başvurulmuştur. Çekirdeksizlikle ilgili markörleri aramak için bulk segregant analiz metodu kullanılmıştır. Ruby x Sultania (33 numaralı çaprazlama) melezleri farklı stenospermokarpi özellikleri açısından değerlendirilmiş ve bunun sonucunda seçilmiş bitkilerle çalışılmıştır. Test edilmiş olan 336 RAPD primerinden altı bant çekirdeksiz spesifik, biri çekirdekli fenotiple ilişkilendirilmiştir. WF27 – 2000 adı verilen RAPD bandı klonlanıp dizilenmiş ve daha sonrasında SCAR markörüne dönüştürülmüştür. SCF27 adı verilen bu SCAR yöntemi tüm çekirdeksizlerde 2.0 kb değerinde spesifik bir bant meydana getirmiştir. Markör, 33 sayılı melezlemenin meyveli segregant kısmında değerlendirildiğinde %81 oranında bir korelasyon saptanmıştır. Bu SCAR markörü, basit PCR reaksiyonunda bir bant vermekte ve bunların sonuçları agaroz jellerde rahatlıkla yorumlanmakta olup bu şekilde markör yardımcı seleksiyon şemasının rahat biçimde kullanımına olanak sağlanmıştır. Çalışmada grupları değerlendirmek üzere bazı fenolojik gözlemler de yapılmıştır. 20 üzüm tanesinden elde edilen

çekirdek ve çekirdek izlerinin toplam ağırlıklarına bakılmış, çekirdekli için belirlenen ağırlık 3.0 gr ve üzerinde, stenospermokarpik olanlar için ise 0.1 gr eşik değer kabul edilerek gerçekleştirilmiştir.

Fatahi ve ark. (2004), çekirdeksiz ‘Bidane Qermez’ ve çekirdekli ‘Muscat Hamburg’ üzüm çeşitleri arasında yapılan melezlemeden elde edilen F₁’lerde SCC8-SCAR ve 6 SSRs lokusu (VVS2, VVMD5, VVMD32, VVMD36, ssrVrZAG47, ssrVrZAG79) ile çekirdeksizliğin kalıtımını araştırmışlardır. 6 SSR lokusu için farklı renkli florasan primerler kullanılmış ve sonrasında kapiller elektroforez sistemi ile boyutlandırılmıştır. SCAR primeri de amplifiye edilmiş, Bgl II restriksiyon enzimi ile muamele edilen PCR ürününün yarısı ve orijinal PCR ürünü ile yan yana agaroz jel üzerinde elektroforez edilmiştir. 46 fideden DNA izolasyonu yapılmış SCC8 lokusunda üç şerit bant heterozigot olma durumunun bir işareti olurken, tek şerit bant görülen 23 tanesi homozigot olarak kabul edilmiştir. Sadece dışı ebeveyn allellerine sahip % 6’sı kendine tozlaşma sonucu oluşurken, % 94’ünün ebeveynleri ile her bir lokusta bir allel paylaştıkları belirlenmiştir.

Asmalarda çekirdeksizliğin kalıtımı ile ilgili günümüze kadar pek çok araştırmacı tarafından değişik fikirler ileri sürülmüştür (**Spiegel-Roy ve ark. 1990, Ledbetter ve Burgos 1994, Bouquet ve Danglot 1996, Fatahi ve ark. 2004**). Ancak henüz çekirdeksizliğin kalıtımı yönünde çalışmalar tamamlanmış değildir. Bu konuda araştırmacılar tarafından farklı hipotezler ileri sürülmüştür. Bir grup araştırmacı çekirdeksizliğin resesif genlerle kontrol edildiğini ifade ederken, diğer bir grup araştırmacı dominant genlerle kontrol edildiğini belirtmişlerdir. Ancak döllerde ortaya çıkan dağılım bu fikirleri çürütmüştür.

Mejia ve ark. (2011) göre stenospermokarpi moleküler seviyede henüz karakterize edilmemiştir. Genetik ve fiziksel haritalar, iki çekirdeksiz genotipin çaprazlanmasından sağlanan çekirdeksizliği ve meyve (tane) büyüklüğüne yönelik QTL (Quantitative Trait Loci) analizini geliştirmek üzere *Vitis vinifera* L genomik dizisi ile entegre edilmiştir. Başlıca QTL leri(n) kromozom 18 özellikleri üzerinde ortak konumlandırma 92 kb güven aralığını göstermiştir. Bu güven aralığında da yer alan *VvAGL11* olarak önerilen *Vitis* gibi örnek türlerden alınan işlevsel bilgi, çekirdek ve meyve (tane) gelişimden sorumlu temel konumsal aday gen olabileceğini göstermektedir. *VvAGL11*’i çekirdeksizlik için başlıca işlevsel aday gen olarak önermişler ve fenotipin destekleyici (düzenleyici) alandaki değişimlerden kaynaklanabileceğini öneren deneysel bulgular vardır. Bu sonuçlar çekirdek ve meyve gelişimindeki moleküler mekanizmaların ileri araştırmaları için yeni hipotezler öngörmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu araştırma 2007–2008 ve 2008–2009 yılları arasında Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu Bağları'ndan elde edilen bitkisel materyal ile Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Merkez Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak kullanılan tescilli üzüm çeşitleri ve melez bitkiler Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu Bağları'ndan elde edilmiştir (Şekil 3.1). Örnekler (yapraklar) süren genç yaz sürgünlerinden alınmıştır.



Şekil 3.1. Çekirdeksiz melez çeşitlerin parseli

Araştırmada kullanılan melez çeşit ve melezleme kombinasyonları Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Tescil edilmiş melez çeşitler ve ebeveynleri

Çeşit	Ana	Baba
Barış	Cardinal	Beauty Seedless
Güz Üzümü	Emperor	Sultani Çekirdeksiz
Tekirdağ Çekirdeksizi	Alphonse Lavellee	Sultani Çekirdeksiz
Trakya İlkeren	Alphonse Lavellee	Perlette
Reçel Üzümü	Elhamra	Perlette

3.1.1 Melez çeşitlere ait meyve ve tane özellikleri

Tekirdağ Çekirdeksizi; taneleri koyu kırmızı renkli, yuvarlak şekilli, orta büyüklükte, çekirdeksiz, özel aromasıdır. Salkım özellikleri; şekli dallı konik, orta büyüklükte, dolgun, orta mevsimde olgunlaşan bir çeşittir (**Çelik 2002**).

Trakya İlkeren; taneleri mavi-siyah renkli, yuvarlak şekilli, orta büyüklükte, çekirdekli, özel aromasıdır. Salkım özellikleri; şekli dallı konik, iri, dolgun, çok erken olgunlaşan bir çeşittir (**Çelik 2002**).

Reçel Üzümü; taneleri mavi-siyah renkli, oval şekilli, küçük-orta büyüklükte, çekirdeksiz ve özel aromasıdır. Salkım özellikleri; şekli silindirik, iri, dolgun-sık, orta erkenci bir çeşittir (**Çelik 2002**).

Güz Üzümü; taneleri yeşil-sarı renkli, eliptik şekilli, orta büyüklükte, çekirdeksiz, özel aromasıdır. Salkım özellikleri; dallı silindirik, iri, sık, orta mevsim olgunlaşan bir çeşittir (**Çelik 2002**).

Barış; taneleri sarımsı yeşil renkli, yuvarlak şekilli, orta büyüklükte, çekirdeksiz ve özel aromasıdır. Salkım özellikleri; konik şekilli, iri, dolgun, orta mevsim olgunlaşan bir çeşittir (**Çelik 2002**).

Çekirdeksizlik belirlemeye yönelik kullanılacak 7xM melez kombinasyonunun ebeveynleri Italia x 2B/56'dır.

Italia; taneleri sarı renkli, oval şekilli, iri, çekirdekli ve misket tadındadır. Salkım özellikleri; konik-piramit, iri, dolgun, orta geç olgunlaşan bir çeşittir (**Çelik 2002**).

Çekirdeksizlik belirlemeye yönelik kullanılacak 36xL melez kombinasyonunun ebeveynleri Ribolx3A/261'dir.

Ribol; Mor siyah renkli, iri taneli (6-7 gr), çekirdekli (2-3), bir çeşittir. Salkımları iri yapılıdır (450-500 gr). Geçici bir çeşit olup kısa budama önerilir (**Çelik 2006**).

Tezde, ekirdeksizlik Erken Seleksiyonu amacı ile seçilen ve meyve aşamasına gelmiş F₁lerden bazılarının tane ve salkım özellikleri izelge 3.2'de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Çekirdeksizlik erken seleksiyonu amacı ile seçilmiş ve meyve aşamasına gelmiş olan F₁'lerden bazılarının tane ve salkım özellikleri

İtalya x Reçel Üzüümü	DNA No	Tane Rengi	Tane Şekli	Salkım Şekli	Ribol x 3A261	DNA No	Tane Rengi	Tane Şekli	Salkım Şekli
1	145	Sarı-yeşil	Uzun elips	Konik	1	29-1	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik
2	153	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Silindirik	2	30-1	Kırmızı-siyah	Yumurta	Konik
3	159	Sarı-yeşil	Yuvarlakça	Konik	3	32-1	Mavi-siyah	Kısa eliptik	Konik
4	160	Kırmızı- gri	Kısa eliptik	Dallı	4	35-1	Koyu kırmızı menekşe	Yumurta	Silindirik
5	173	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik	5	38-1	Sarı-yeşil	Yumurta	Dallı
6	175	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik	6	40-1	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik
7	181	Kırmızı-gri	Kısa eliptik	Konik	7	42-2	Sarı-yeşil	Yuvarlakça	Dallı
8	188	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik	8	46-1	Sarı-yeşil	Yumurta	Kanatlı
9	195	Sarı-yeşil	Ters yumurta	Kanatlı	9	47-1	Mavi-siyah	Basık yumurta	Konik
10	197	Kırmızı-siyah	Kısa eliptik	Konik	10	48-1	Kırmızı-siyah	Yumurta	Dallı
11	201	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik	11	49-1	Mavi-siyah	Kısa eliptik	Dallı
12	202	Koyu kırmızı menekşe	Kısa eliptik	Kanatlı	12	52-1	Sarı-yeşil	Yuvarlakça	Silindirik
13	203	Koyu kırmızı menekşe	Kısa eliptik	Konik	13	54-2	Koyu kırmızı menekşe	Yuvarlakça	Silindirik
14	205	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik	14	57-1	Kırmızı-siyah	Kısa eliptik	Silindirik
15	207	Kırmızı-siyah	Kısa eliptik	Konik	15	58-1	Mavi-siyah	Kısa eliptik	Konik
16	209	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik	16	60-1	Sarı-yeşil	Yuvarlakça	Konik
17	221	Mavi-siyah	Kısa eliptik	Dallı	17	67-2	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Silindirik
18	231	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik	18	68-1	Mavi-siyah	Kısa eliptik	Konik
19	232	Kırmızı-siyah	Kısa eliptik	Konik	19	69-1	Sarı-yeşil	Kısa eliptik	Konik

3.2. Yöntem

3.2.1. DNA izolasyonu için yaprak örneklerinin toplanması

DNA izolasyonu için sürgün ucunda yeni açılmakta olan genç yapraklar kullanılmıştır. Çeşitlere ait yaprak örnekleri ilkbahar aylarında toplanmıştır. Örneklemede yaprakların genç, hastalık ile zararlılardan arı olmasına özen gösterilmiştir. Araştırma kapsamına dahil edilen asmalardan toplanan örnekler, etiketlenerek kuru buz ile laboratuara getirilmiştir. Laboratuar koşullarına getirilen yaprak örnekleri, DNA izolasyonuna kadar $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Tescilli çeşitlerin ebeveyn analizlerinde kullanılan yöntem

Tezde uygulanan yöntem Şekil 3.2' de gösterildiği şekilde aşağıdaki aşamalardan oluşmaktadır:

- (a) DNA izolasyonu ve ölçümleri
- (b) PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR
- (c) Kapilleri elektroforez
- (d) Allel görüntülerinin alınması
- (e) Allel büyüklüklerinin değerlendirilmesi

YÖNTEM

Bitkisel materyal



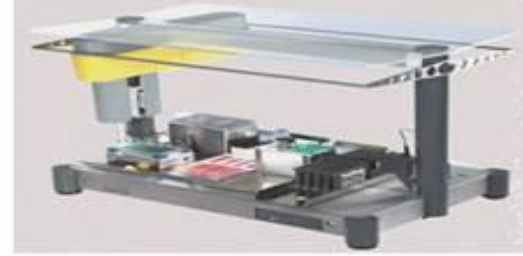
Üzüm

a) DNA izolasyonu ve ölçümleri



Spektrofotometre

b) PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR

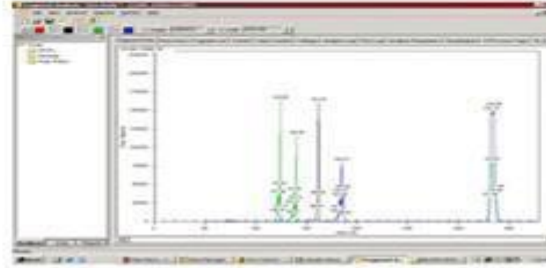


Pipetleme sistemi



Thermocycler

d) Allel görüntülerinin alınması



c) Kapilleri elektroforez



Beckman CE Q 8800 Genetik Analiz sistemi

e) Allel büyüklüklerinin belirlenmesi

Şekil 3.2. Tezde uygulanan yöntem aşamaları

3.2.2.1. DNA izolasyonu ve ölçümleri

Araştırmada çalışılan 12 üzüm çeşidinin DNA izolasyonları aşağıda metot açıklaması verilen **Lefort ve ark. (1998)** yöntemine göre yapılırken, DNA kalite ve miktar ölçümleri amacı ile %1'lik jel ve Nanodrop ND-1000 spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır.

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

İzolasyon çözeltisi (50 ml için):

2 ml TRIS (50 mM, pH 8.0)	0,5 ml TWEEN 20 (% 0.5)
4 ml EDTA (50 mM, pH 8.0)	%0,2 β-Mercapto Ethanol
10 ml LiCl (4M)	Kloroform/isoamil alkol; (24:1) (hacim: hacim)
1 g CTAB (% 1)	RNase-A (Applichem); 100mg/ml
2 g PVP (% 2)	

3.2.2.2. PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR

PCR reaksiyonu; 15–200 ng DNA, 5 pmol ileri (forward) primer, 5 pmol floresan işaretlemiş ters (revers) primer, 0.5 mM toplam dNTP, 0.5 ünite Go Taq DNA Polymerase (Promega) (1,5 mM MgCl₂ içermekte), 3 µl buffer (5x buffer) olmak üzere 15µl'de gerçekleştirilmiştir.

PCR reaksiyonu için kullanılan PCR programı:

1. 94 °C' de 3 dk,
2. 94 °C' de 1 dk
3. 48 – 66 °C'de 1 dk
4. 72 °C' de 2 dk * 2-4. basamaklar 34 döngü olmak üzere,
5. 72 °C' de 10 dk olmak üzere toplam 35 döngü olarak uygulanmıştır.

PCR sonrası lokuslara ait PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde kontrol edildikten sonra, amplifikasyonu gerçekleşmiş örneklerde kapilleri elektroforez aşaması gerçekleştirilmiştir.

SSR lokuslarına ait primerler:

Üzümde standart set olarak kabul gören VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VrZAG62 ve VrZAG79 (**This ve ark. 2004**) mikrosatellit lokusları da dahil olmak üzere toplam 19 SSR primeri kullanılmıştır. Her ileri primer D4 (mavi), D3 (yeşil) ve D2 (siyah) (Proligo, Fransa) renklerde floresan işaretlenmiş olup primerlere ait baz dizileri, kullanılan floresan boya ve Tm değerleri Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. SSR lokuslarına ait primerlerin baz dizileri, işaretleme boyası ve Tm değerleri

No	Lokus adı	Primer dizileri(5'...3')	İşaretleme boyası	Tm (°C)
1	VrZAG79F**	agattgtggaggagggaacaaaccg	Yeşil	66
	VrZAG79-R	tgcccccatttcaaactccctcc		
2	VVIH54 F**	ccgcactgtgttgaattcag	Siyah	55
	VVIH54 R	caaaccgtttttacaccagcag		
3	VVMD24-F**	gtggatgatggagtagtcacgc	Mavi	55
	VVMD24-R	gatttaggttcattgttggaagg		
4	VVMD7-F**	agagttgcggagaacaggat	Yeşil	55
	VVMD7-R	cgaaccttcacacgcttgat		
5	VVMD28-F**	aacaattcaatgaaaagagagagagaga	Yeşil	55
	VVMD28-R	tcatcaatttcgtatctctatttgctg		
6	VVMD27-F**	gtaccagatctgaatacatccgaagt	Siyah	55
	VVMD27-R	acgggtatagagcaaacggtgt		
7	VMC2H4 F**	accaggtgtgcctataagaatc	Yeşil	50
	VMC2H4 R	tctctggaacatccaatcaac		
8	VVIB01 F**	tgacctcgaccttaaaatctt	Mavi	55
	VVIB01 R	tggtagtgcaatgatagtaga		
9	VrZAG83-F**	ggcggaggcggtagatgagagggcg	Mavi	66
	VrZAG83-R	acgcaacggctagtaatacaacgg		
10	VVS2-F**	cagcccgtaaatgtatccatc	Mavi	55
	VVS2-R	aaattcaaaattctaattcaactgg		
11	VVMD5-F**	ctagagctacgccaatcaa	Siyah	55
	VVMD5-R	tatacaaaaatcatattcctaaa		
12	VrZAG62-F**	ggtgaaatgggcaccgaacacacgc	Mavi	55
	VrZAG62-R	ccatgtctctcctcagcttctcage		
13	VVMD31-F**	cagtggttttcttaaagtttcaagg	Siyah	55
	VVMD31-R	ctctgtgaaagaggaagagacgc		

Çizelge 3.3. (devam)

No	Lokus adı	Primer dizileri(5'...3')	İşaretleme boyası	Tm (°C)
14	VMC2C3 F**	tgcaatcccattattatctctt	Siyah	48
	VMC2C3 R	aatattttagaatgggtctttt		
15	VVS1 F**	acaattggaaaccgcgtggag	Siyah	53
	VVS1 R	cttctcaatgatatactaaaaccatg		
16	ZAG47-F**	ggctctgaatacatccgaagtatat	Siyah	55
	ZAG47-R	acgggtgtgctctcattgtcattgac		
17	ZAG64-F **	tatgaaagaaaccaacgcggcagc	Yeşil	55
	ZAG64-R	tgcaatgtggtcagcctttgatggg		
18	VVMD21-F**	ggttgtctatggagttgatgttgc	Mavi	55
	VVMD21-R	gcttcagtaaaaagggtattgcg		
19	ZAG112-F**	cgtttaaagccagctgaatcttggg	Yeşil	55
	ZAG112-R	tggtccatactgcttcacgtaggc		

** : Floresan işaretli

3.2.2.3. Kapilleri elektroforez ve allel görüntülerinin alınması

Tezde kapilleri elektroforez amacıyla Beckman CEQ™ 8800 Genetik Analiz Sistemi kullanılmıştır. Çeşit ve referanslarına ait genotiplerin PCR ürünleri işaretlemeye kullanılan floresan (Proligo,wellred işaretli primerler, Fransa) boyalara göre değişik oranlarda (1:5, 1:10 gibi) 20 µl SLS (Sample Loading Solution) ile seyreltilmiştir. Üzerlerine 0,2-0,4 µl Size Standart-400 eklendikten sonra CEQ™ 8800 Genetik Analiz Sistemi'nde elektroforez edilmiştir. Daha sonra her bir lokusa ait pikler; tipleri ve renkleri göz önüne alınarak heterozigot ve homozigot olarak görüntülenmiştir. Verilerin doğruluğundan emin olmak için reaksiyonlar en az iki kez tekrar edilmiştir.

3.2.3. Çekirdeksiz Çeşit Adaylarında Çekirdeksizlik Belirlenmesi

3.2.3.1. DNA izolasyonu ve ölçümleri

Araştırmada çalışılan 97 çekirdeksiz çeşit adayının izolasyonları aşağıda metot açıklaması verilen **Lefort ve ark. (1998)** yöntemine göre yapılmıştır. DNA kalite ve miktar ölçümleri amacı ile %1'lik jel ve Nanodrop ND-1000 spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır.

- Genç yaprak veya sürgün ucu sıvı azotla ezildi,
- 100 mg alınarak 2 µl ependorf tüplere aktarıldı,
- Tüplerin üzerine 1 ml DNA ekstraksiyon solüsyonu eklendi,
- 65 °C'de arasıra çalkalanarak 15 dk bekletildi,
- 0,5 ml kloroform/isoamil alkol (24:1) karışımı eklenerek, 30 dk buz üzerinde bekletildi,
- Oda sıcaklığında, 14.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi,
- Üst sıvı, temiz bir ependorf tüpe aktarıldı,
- Üzerine 0,8 ml isopropanol eklendi,
- Örnekler, 15-20 dk buz üzerinde tutularak 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi,
- Üst sıvı tekrar yeni bir ependorf tüpe aktarıldı,
- Pellet (alt katı) üzerine 1 ml % 70'lik etanol eklenerek, 14.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi ve DNA, 50-100 µl H₂O'da çözüldü,
- Her 100 µl için 1 µl RNase-A eklenerek, 37 °C'de 15 dk bekletilerek, RNA uzaklaştırıldı.

3.2.3.2. PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR

PCR reaksiyonu; 15–200 ng DNA, 10 pmol ileri (forward) primer, 10 pmol ters (revers) primer, 2,5 mM toplam dNTP, 0.1 ünite Go Taq DNA Polymerase (Promega) (25 mM MgCl₂ içermekte), 5µl buffer (5x buffer), 7,4 µl su olmak üzere 25µl’de gerçekleştirilmiştir.

PCR reaksiyonu için kullanılan Touch-Down PCR programı:

1. 94 °C’ de 3 dk,
2. 94 °C’ de 1 dk
3. 62 °C }
· } 10 döngü 1 dk
· } 1’er derece
· }
53 ° }
4. 72 °C’ de 2 dk 29x20
5. 72 °C’ de 10 dk
6. 10 °C’ de sürekli

PCR sonrası lokuslara ait PCR ürünleri, SCF27 primeri için %2’lik agaroz jele yüklenmiştir. Jel görüntüsünde tek bant olanlar çekirdeksiz, bant bulunmayanlar çekirdekli olarak değerlendirilmiştir (**Mejia ve Hinrichsen,2003**).

SCC8 primerinde PCR sonrası lokuslara ait PCR ürünleri %2’lik jele yüklenerek kontrol edilmiş, sonrasında Bq III enzimi ile kesim yapılmıştır.

Enzim Kesim Programı:

DNA	3 µl
Bq III	0,6 µl
BÇA	0,2 µl
Buffer	4 µl
Su	32,2 µl
Toplam	40 µl

Kesim protokolü:

- 37 °C’de 2 sa
- 70 °C’de 20 dk

Kesim sonrası ürünler %2'lik agaroz jele yüklenmiş ve elde edilen görüntü aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir (**Lahogue ve ark.1998**).

- 1000 bç'den büyük yukarıda tek bant → Çekirdeksiz
500 bç'den büyük aşağıda tek bant → Çekirdekli
900 bç tek bant → Sultani
Çift bant → Çekirdeksiz (heterozigot)

3.2.4. Çekirdeksiz Çeşit Adaylarında Çekirdeksizlik Belirlenmesine Yönelik Yapılan Gözlemler

3.2.4.1. Tane toplanması ve çekirdeklerin çıkarılması

Her melez bitkiden rastgele 10 tane alınmıştır. 10 tanedeki çekirdekler çıkarılmıştır.



Şekil.3.3. Tanelerden çekirdeklerin çıkarılması ve örnek görünüm

3.2.4.2. Çekirdek yaş ve kuru ağırlığı

10 taneden elde edilen çekirdeklerin, yaş ve kuru olarak ağırlıklarının tartımı ile gerçekleştirilmiştir. Değerler 'mg' olarak belirtilmiştir. Çekirdek yaş ve kuru ağırlıkları için 2 yıl veri alınmıştır.

3.2.4.3. Çekirdek en ve boy lümleri

Her melez bitkiye ait 9'ar ekirdeğın dijital kumpas ile en ve boy ölçümleri yapılmıştır.

3.2.4.4. Çekirdekdeki embriyo durumu

Her melez bitkiden 9'ar çekirdek alınarak, çekirdek bisturi yardımı ile kesilmiş ve embriyo durumu N (Normal), K (Küçük), F (Dolu), B (Boş), İ (ekirdek izi) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4.5. Yüzdürme testi

Her melez bitkiden 10'ar çekirdek alınarak kavanozlar içine yerleştirilmiş ve üzerine su konmak suretiyle 2 gün bekletilmiştir. 2 gün sonunda her melez bitki için batan ve yüzen çekirdek sayıları belirlenmiştir.



şekil 3.4. Yüzdürme testi için çekirdeklerin kavanozlara ayrılması

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

AraŐtırmadan elde edilen bulgular;

- Tescilli çeşitlerin ebeveyn tayini
- Çekirdeksiz çeşit adaylarında ‘‘Marköre Dayalı Seleksiyon’’ ile çekirdeksizliğin

belirlenmesi,

olmak üzere 2 ana baŐlık altında sunulmuştur.

4.1. Tescilli eŐitlerin Ebeveyn Tayini

4.1.1. DNA izolasyonu

DNA izolasyonunu takiben DNA’lar %1’lik agaroz jelde kontrol edilmiş ve bu işlemi takiben saflık ve miktar değerlerinin belirlenmesi spektrofotometrik ölçüm için NanoDrop ND-1000 kullanılmıştır (izelge 4.1).

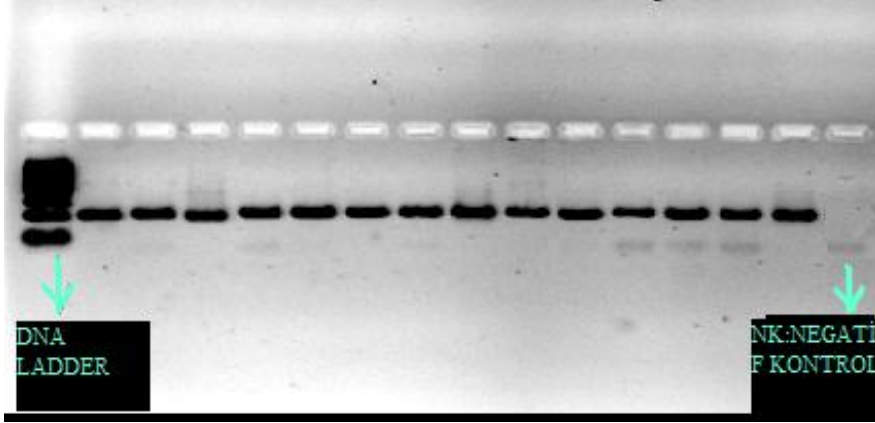
Çizelge 4.1. Tescilli çeşitler ve ebeveynlerine ait DNA'ların saflık ve miktarları

No	Çeşit ismi	ng/ul	A260	A280	260/280
1	Barış	3310.66	66.213	34.369	1.93
		3355.19	67.104	34.767	1.93
		3387.22	67.744	35.325	1.92
2	Cardinal	4331.74	86.635	47.319	1.83
		4305.21	86.104	46.872	1.84
		4312.31	86.246	46.978	1.84
3	B. Seedless	3715.47	74.309	39.438	1.88
		3770.61	75.412	40.048	1.88
		3831.9	76.638	40.85	1.88
4	Güz Üzüümü	3798.26	75.965	38.649	1.97
		3798.26	75.965	38.649	1.97
		3798.26	75.965	38.649	1.97
5	Emperor	3112.69	62.254	32.136	1.94
		3630.19	72.604	37.791	1.92
		3732.52	74.65	39.025	1.91
6	Sultani Çekirdeksiz	4636.99	92.74	50.351	1.84
		4678.17	93.563	51.111	1.83
		4691.33	93.827	51.286	1.83
7	Tekirdağ Çekirdeksiz	4502.34	90.047	48.082	1.87
		4416.12	88.323	46.92	1.88
		4506.52	90.13	48.013	1.88
8	Alphonse L.	4791.78	95.836	52.4	1.83
		4903.99	98.08	54.698	1.79
		4857.25	97.145	53.539	1.81
9	Trakya İlkeren	5322.56	106.451	63.113	1.69
		3325.01	66.5	33.644	1.98
		3334.47	66.689	33.829	1.97
10	Perlette	4406.74	88.135	49.857	1.77
		2782.98	55.66	30.285	1.84
		2866.2	57.324	31.312	1.83
11	Reçel Üzüümü	4606.6	92.132	50.342	1.83
		4416.77	88.335	47.685	1.85
		4403.86	88.077	47.605	1.85
12	Elhamra	1230	24.6	14.12	1.74
		1248.84	24.977	14.41	1.73
		1236.5	24.73	14.221	1.74

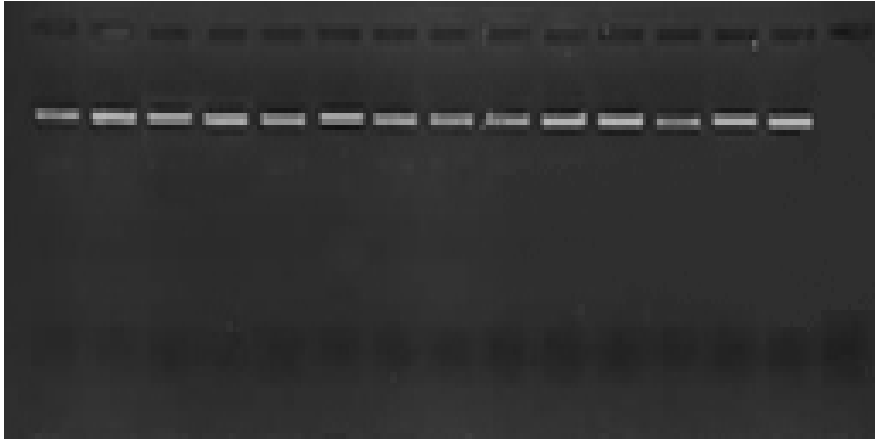
Spektrofotometre değerlerine bakıldığında DNA miktarının yeterli olduğu ve 260/280 (saflık) değerlerinin olması gereken 1.7-2.1 değerleri arasında bulunduğu görülmektedir.

4.1.2. PCR görüntüleri ve kapiller elektroforez yöntemi ile elde edilen allel büyüklükleri

PCR ürünleri önce % 2'lik agaroz jelde kontrol edilmiş (Şekil 4.1-Şekil 4.19) sonra CEQ™ 8800 Genetik Analiz Sistemi'nde elektroforez edilmiştir. Lokuslardaki allel büyüklükleri pik verisi olarak sistemin fragment analiz programı ile belirlenmiştir.



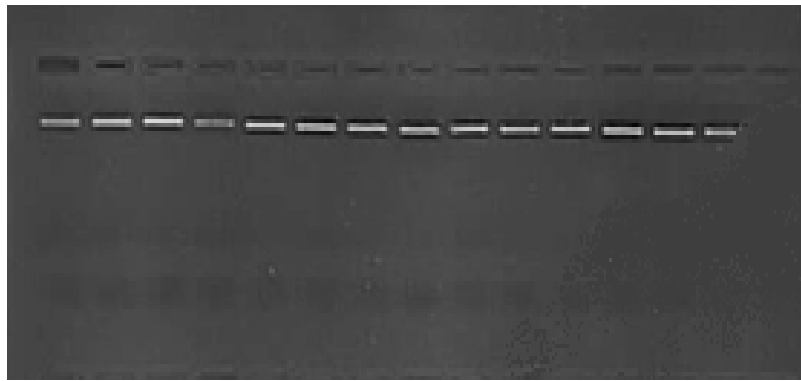
Şekil 4.1. VVMD5 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü



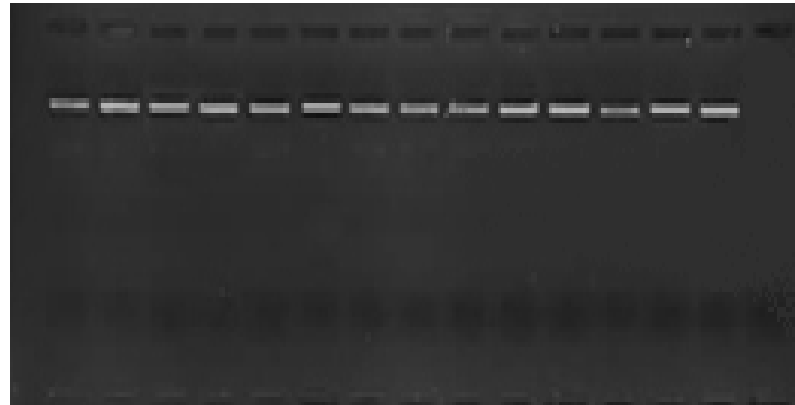
Şekil 4.2. VVMD24 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.3. VMC2C3 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.4. VrZAG79 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü



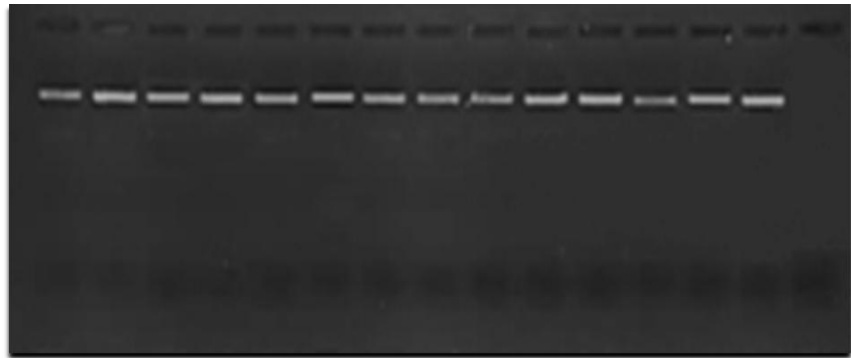
Şekil 4.5. VVMD27 lokusuna ait allelerin PCR sonrası jel görüntüsü



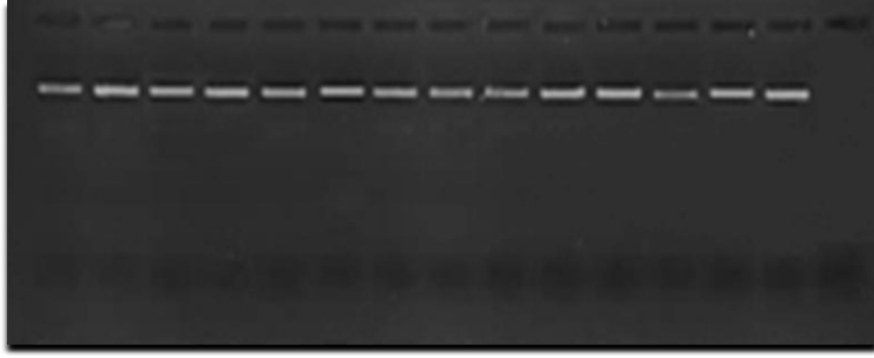
Şekil 4.6. VVMD28 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



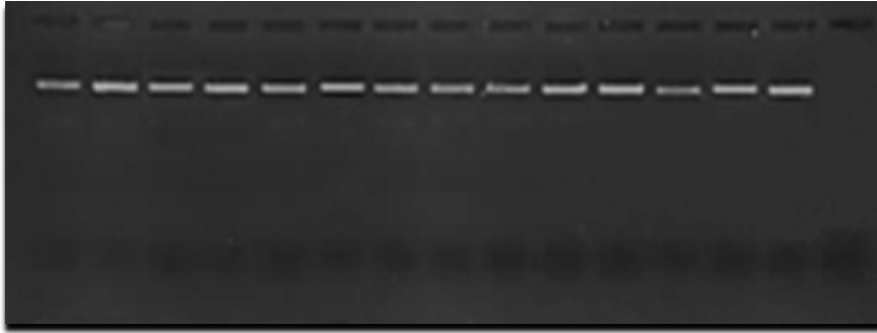
Şekil 4.7. VVS2 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



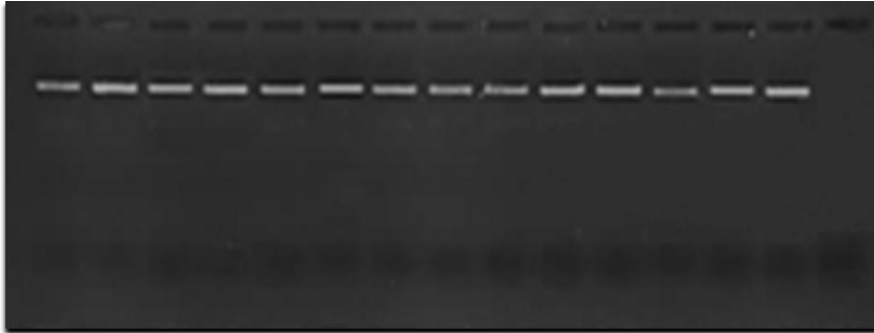
Şekil 4.8. VrZAG62 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



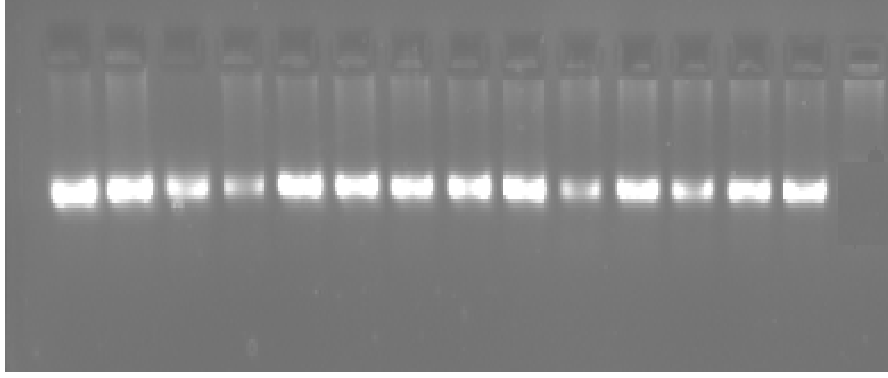
Şekil 4.9. VVIB01 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.10. VVS1 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



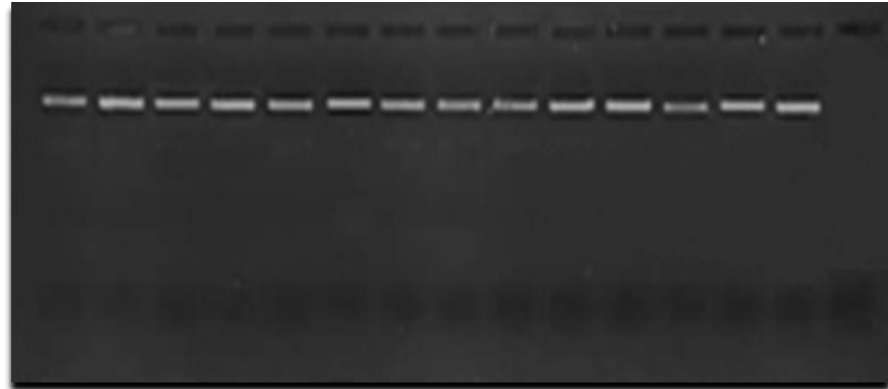
Şekil 4.11. VMC2H4 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.12. VVMD7 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.13. VVIH54 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



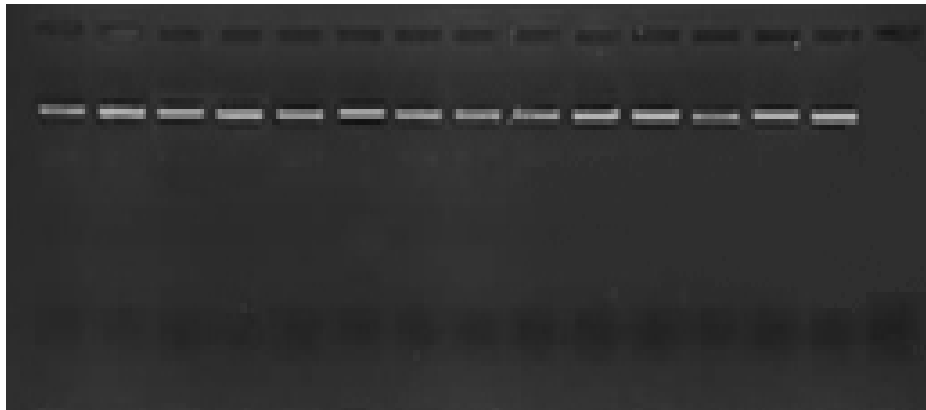
Şekil 4.14. VVMD31 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.15. VrZAG83 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.16. VVMD21 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.17. ZAG112 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.18. ZAG64 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü



Şekil 4.19. ZAG47 lokusuna ait allellerin PCR sonrası jel görüntüsü

4.1.3. Tescilli çeşitlerin ebeveyn tayini ile ilgili genetik bulgular

Her bir lokusa ait allel büyüklüğü baz çifti (bç, basepair) olarak Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5, Çizelge 4.6'da sunulmuştur. İki Fransız çeşit Cabernet Sauvignon ve Merlot çeşitleri referans çeşit olarak örneklerle beraber analiz edilmiştir. Analiz edilen mikrosatellit SSR markörler arasında, asma çeşit analizi için **This ve ark. (2004)** tarafından minimum standart mikrosatellit markör seti olarak kabul edilen markörler (VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVS2, VrZAG62, VrZAG79) de bulunmaktadır.

Çizelge 4.2. Güz Üzümü çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç)

DNA No	Çeşit	VVMD5	VVMD5	VMC2C3	VMC2C3	VrZAG 79	VrZAG 79	VVMD 24	VVMD 24	VVMD 27	VVMD 27	VVMD 28	VVMD 28
4	Güz Üzümü	233	235	163	191	250	260	207	217	183	197	219	247
5	Emperor	233	233	163	169	250	260	207	207	183	197	247	257
6	Sultani Çekirdeksizi	233	235	161	191	250	260	207	217	183	187	219	243

Çizelge 4.2. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVS2	VVS2	VrZAG62	VrZAG62	VVIB01	VVIB01	VVS1	VVS1	VMC2H4	VMC2H4	VVMD7	VVMD7
4	Güz Üzümü	137	153	190	206	292	300	181	187	204	212	236	244
5	Emperor	135	137	190	206	292	296	181	181	212	212	240	244
6	Sultani Çekirdeksizi	147	153	190	196	292	300	181	187	204	214	236	250

Çizelge 4.2. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVIH 54	VVIH 54	VVMD 31	VVMD 31	VrZAG 83	VrZAG 83	VVMD 21	VVMD 21	ZAG 112	ZAG 112	ZAG 64	ZAG 64	ZAG 47	ZAG 47
4	Güz Üzümü	164	164	211	219	185	195	244	256	227	231	134	156	157	171
5	Emperor	164	164	209	219	185	191	244	248	231	237	134	134	157	171
6	Sultani Çekirdeksizi	164	164	211	211	191	195	248	256	227	231	140	156	157	171

Çizelge 4.3. Tekirdağ Çekirdeksizi çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç)

DNA No	Çeşit	VVMD5	VVMD5	VMC2C3	VMC2C3	VrZAG79	VrZAG79	VVMD24	VVMD24	VVMD27	VVMD27	VVMD28	VVMD28
7	Tekirdağ Çekirdeksizi	233	235	169	191	252	260	207	211	183	187	243	243
6	Sultani Çekirdeksizi	233	235	161	191	250	260	207	217	183	187	219	243
8	Alphonse Lavallee	223	235	163	169	240	252	207	211	187	187	243	243

Çizelge 4.3. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVS2	VVS2	VrZAG62	VrZAG62	VVIB01	VVIB01	VVS1	VVS1	VMC2H4	VMC2H4	VVMD7	VVMD7
7	Tekirdağ Çekirdeksizi	137	153	188	190	296	300	181	187	202	214	244	250
6	Sultani Çekirdeksizi	147	153	190	196	292	300	181	187	204	214	236	250
8	Alphonse Lavallee	135	137	188	190	296	296	181	181	202	214	244	250

Çizelge 4.3. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVIH 54	VVIH 54	VVMD 31	VVMD 31	VrZAG 83	VrZAG 83	VVMD 21	VVMD 21	ZAG112	ZAG112	ZAG64	ZAG64	ZAG47	ZAG47
7	Tekirdağ Çekirdeksizi	164	164	211	215	191	191	248	248	227	243	140	156	157	161
6	Sultani Çekirdeksizi	164	164	211	211	191	195	248	256	227	231	140	156	157	171
8	Alphonse Lavallee	164	164	209	215	191	195	248	248	231	243	156	190	161	161

Çizelge 4.4. Trakya İlkeren çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç)

DNA No	Çeşit	VVMD5	VVMD5	VMC2C3	VMC2C3	VrZAG79	VrZAG79	VVMD24	VVMD24	VVMD27	VVMD27	VVMD28	VVMD28
9	Trakya İlkeren	233	235	163	169	240	248	207	211	183	187	243	243
8	Alphonse Lavallee	223	235	163	169	240	252	207	211	187	187	243	243
10	Perlette	231	233	163	191	248	258	207	207	181	183	233	243

Çizelge 4.4. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVS2	VVS2	VrZAG62	VrZAG62	VVIB01	VVIB01	VVS1	VVS1	VMC2H4	VMC2H4	VVMD7	VVMD7
9	Trakya İlkeren	135	135	190	206	292	296	181	187	202	214	244	248
8	Alphonse Lavallee	135	137	188	190	296	296	181	181	202	214	244	250
10	Perlette	135	145	190	206	292	292	181	187	204	214	244	248

Çizelge 4.4. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVIH 54	VVIH 54	VVMD 31	VVMD 31	VrZAG 83	VrZAG 83	VVMD 21	VVMD 21	ZAG112	ZAG112	ZAG64	ZAG64	ZAG47	ZAG47
9	Trakya İlkeren	164	164	209	211	191	191	248	248	239	243	156	156	157	161
8	Alphonse Lavallee	164	164	209	215	191	195	248	248	231	243	156	190	161	161
10	Perlette	164	164	211	211	185	191	248	256	227	239	136	156	155	157

Çizelge 4.5. Reçel Üzümü çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç)

DNA No	Çeşit	VVMD5	VVMD5	VMC2C3	VMC2C3	VrZAG79	VrZAG79	VVMD24	VVMD24	VVMD27	VVMD27	VVMD28	VVMD28
11	Reçel Üzümü	225	231	163	191	248	260	207	207	183	183	243	243
12	Elhamra	225	231	163	177	260	260	207	217	183	183	243	257
10	Perlette	231	233	163	191	248	258	207	207	181	183	233	243

Çizelge 4.5. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVS2	VVS2	VrZAG62	VrZAG62	VVIB01	VVIB01	VVS1	VVS1	VMC2H4	VMC2H4	VVMD7	VVMD7
11	Reçel Üzümü	145	145	190	202	292	292	181	181	198	204	238	248
12	Elhamra	145	151	202	202	292	308	181	187	198	198	238	248
10	Perlette	135	145	190	206	292	292	181	187	204	214	244	248

Çizelge 4.5. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVIH 54	VVIH 54	VVMD 31	VVMD 31	VrZAG 83	VrZAG 83	VVMD 21	VVMD 21	ZAG112	ZAG112	ZAG64	ZAG64	ZAG47	ZAG47
11	Reçel Üzümü	158	164	209	211	185	191	248	248	227	239	136	156	157	157
12	Elhamra	158	158	209	209	185	189	242	248	227	227	136	156	157	171
10	Perlette	164	164	211	211	185	191	248	256	227	239	136	156	155	157

Çizelge 4.6. Barış çeşidi ve ebeveynlerinin 19 lokustaki allel büyüklükleri (bç)

DNA No	Çeşit	VVMD5	VVMD5	VMC2C3	VMC2C3	VrZAG79	VrZAG79	VVMD24	VVMD24	VVMD27	VVMD27	VVMD28	VVMD28
1	Barış	223	223	163	177	248	260	207	217	187	197	243	267
2	Cardinal	223	235	163	163	258	258	207	207	181	187	243	267
3	Beauty Seedless	233	235	161	195	248	258	213	221	181	183	219	233

Çizelge 4.6. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVS2	VVS2	VrZAG62	VrZAG62	VVIB01	VVIB01	VVS1	VVS1	VMC2H4	VMC2H4	VVMD7	VVMD7
1	Barış	151	153	188	190	292	300	181	187	198	200	240	246
2	Cardinal	137	137	188	188	292	296	181	181	200	212	246	246
3	Beauty Seedless	135	153	190	206	292	292	181	181	212	214	244	250

Çizelge 4.6. (Devam)

DNA No	Çeşit	VVIH 54	VVIH 54	VVMD 31	VVMD 31	VrZAG 83	VrZAG 83	VVMD 21	VVMD 21	ZAG112	ZAG112	ZAG64	ZAG64	ZAG47	ZAG47
1	Barış	164	176	203	211	185	191	242	254	231	233	138	156	161	171
2	Cardinal	164	164	211	215	185	189	248	266	231	239	156	156	155	161
3	Beauty Seedless	162	162	211	215	185	191	256	256	237	257	140	156	157	157

4.2. Çekirdeksiz eşit Adaylarında Marköre Dayalı Seleksiyon Yöntemi İle ekirdeksizliğin Belirlenmesi

4.2.1. Morfolojik bulgular

Melez parselinden alınarak DNA izolasyonu yapılan çeşit adaylarından, salkımı bulunan omcalardan tane alınarak, çekirdekleri çıkarılmış ve 9'ar çekirdekte aşağıdaki ölçüm ve gözlemler yapılmıştır:

- a. Çekirdek eni
- b. Çekirdek boyu
- c. Çekirdekteki embriyo durumu

Ayrıca 10 tanedeki;

- a. Çekirdek sayısı
- b. Çekirdek yaş ağırlığı
- c. Çekirdek kuru ağırlığı
- d. Tek ekirdek kuru ağırlığı
- e. Tanedeki ekirdek sayısı
- f. Yüzdürme testi

Yukarıdaki değerlerle ilgili ölçüm ve gözlemler izelge 4.7'de ve izelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. 7xM (İtalyaxReçel Üzümü) melez kombinasyonu çekirdek ölçüm ve gözlemleri

Sıra no	DNA no	Ortalama çekirdek eni (mm)	Ortalama çekirdek boyu (mm)	Embriyo durumu	10 tanedeki çekirdek sayısı		Çekirdek yaş ağırlığı (g)		Çekirdek kuru ağırlığı (g)		Tek çekirdek kuru ağırlığı (mg)		Yüzdürme testi		Primere göre çekirdek durumu	
													Yüzen çekirdek	Batan çekirdek	SCF27 primerine göre	SCC8 primerine göre
1	145	3,58	5,23	Küçük	19	23	0,670	0,950	0,582	0,791	30,63	34,39	2	8	Çekirdekli	Çekirdekli
2	153	4,00	6,56	Normal	29	14	1,328	0,725	1,076	0,551	37,10	39,36	-	10	Çekirdekli	Çekirdekli
3	159	4,08	6,21	Normal	24	18	1,044	0,861	0,792	0,670	33,00	37,22	-	10	Çekirdekli	Çekirdekli
4	160	1,66	4,57	Boş	12	13	0,213	0,118	0,133	0,063	11,08	4,85	9	1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
5	173	4,34	7,68	Dolu	28	17	1,606	0,962	1,369	0,877	48,89	51,58	4	6	Çekirdekli	Çekirdekli
6	175	1,94	4,88	Boş	36	39	1,299	0,967	0,736	0,475	20,44	12,18	6	4	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
7	181	4,15	7,06	Dolu	23	28	1,340	1,373	1,111	1,125	48,30	40,17	1	9	Çekirdekli	Çekirdekli
8	188	3,78	6,68	Dolu	18	13	0,960	0,713	0,718	0,532	39,88	40,92	1	9	Çekirdekli	Çekirdekli
9	195	3,61	6,68	Normal	17	17	0,920	0,457	0,62	0,372	36,47	21,88	1	9	Çekirdekli	Çekirdekli
10	197	1,96	5,80	Boş	25	24	0,660	0,325	0,363	0,227	14,52	12,5	6	4	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
11	201	2,31	4,20	Boş	13	15	0,195	0,256	0,137	0,211	10,53	14,06	10	-	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
12	202	3,68	6,62	Normal	28	18	1,307	0,996	1,109	0,765	39,61	42,50	1	9	Çekirdekli	Çekirdekli
13	203	3,81	6,03	Normal	30	14	1,414	0,828	1,117	0,631	37,23	45,07	-	10	Çekirdekli	Çekirdekli
14	205	4,08	6,32	Normal	23	26	1,380	0,966	1,120	0,740	48,69	28,46	1	9	Çekirdekli	Çekirdekli
15	207	2,13	4,51	Boş	15	17	0,282	0,258	0,215	0,143	14,33	8,41	6	4	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
16	209	2,15	5,45	Boş	24	-	0,793	-	0,436	-	18,17	-	8	2	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
17	221	2,28	5,32	Boş	28	-	0,984	-	0,581	-	20,75	-	6	4	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
18	231	2,02	4,66	Küçük	29	9	0,900	0,061	0,500	0,056	17,24	6,20	7	3	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
19	232	2,04	4,99	Boş	10	-	0,080	-	0,045	-	4,50	-	6	4	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz

Çizelge 4.8. 36xL (RibolxGüz Üzümü) melez kombinasyonu çekirdek ölçüm ve gözlemleri

Sıra no	DNA no	Ortalama çekirdek eni (mm)	Ortalama çekirdek boyu (mm)	Embriyo durumu	10 tanedeki çekirdek sayısı		Çekirdek yaş ağırlığı (g)		Çekirdek kuru ağırlığı (g)		Tek çekirdek kuru ağırlığı (mg)		Yüzdürme testi		Primere göre çekirdek durumu	
													Yüzen çekirdek	Batan çekirdek	SCF27 primerine göre	SCC8 primerine göre
1	29-1	2,15	3,68	Boş	7	-	0,318	-	0,151	-	21,57	-	10	-	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
2	30-1	1,79	3,85	Boş	26	26	0,379	0,374	0,155	0,166	5,96	6,38	10	-	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
3	32-1	4,36	5,61	Dolu	22	29	1,098	1,130	0,821	0,909	37,32	31,34	1	9	Çekirdekli	Çekirdekli
4	35-1	3,17	4,99	Boş	24	-	0,894	-	0,501	-	20,88	-	6	4	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
5	38-1	3,62	5,21	Küçük	16	12	0,542	0,480	0,375	0,355	23,44	29,58	6	4	Çekirdekli	Çekirdekli
6	40-1	4,15	7,52	Dolu	17	26	1,380	1,275	0,881	1,063	51,82	40,88	-	10	Çekirdekli	Çekirdekli
7	42-2	2,13	4,32	Boş	31	21	0,551	0,376	0,262	0,193	8,45	9,19	10	-	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
8	46-1	4,10	6,30	Küçük	25	22	0,658	0,669	0,505	0,516	20,20	23,45	2	8	Çekirdekli	Çekirdekli
9	47-1	4,00	5,93	Normal	17	17	1,256	0,774	0,830	0,670	48,82	39,41	-	10	Çekirdekli	Çekirdekli
10	48-1	3,05	4,66	Boş	16	18	0,39	0,582	0,213	0,313	13,31	17,39	7	3	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
11	49-1	3,11	5,30	Boş	13	15	0,403	0,378	0,269	0,180	20,69	12,00	8	2	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
12	52-1	2,56	4,96	Küçük	33	-	0,900	-	0,486	-	14,73	-	10	-	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
13	54-2	2,07	4,46	Boş	36	-	0,445	-	0,175	-	4,86	-	10	-	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
14	57-1	1,21	2,85	Çekirdekizi	10	17	0,082	0,109	0,035	0,053	3,5	3,12	10	-	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
15	58-1	4,33	7,01	Normal	35	33	1,791	1,692	1,346	1,330	38,46	40,30	-	10	Çekirdekli	Çekirdekli
16	60-1	2,58	4,65	Boş	22	15	0,446	0,346	0,315	0,220	14,32	14,67	8	2	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
17	67-2	0,37	0,70	Çekirdekizi	36	25	0,227	0,247	0,174	0,113	4,80	4,50	10	-	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
18	68-1	3,95	5,97	Dolu	19	17	0,760	0,692	0,61	0,573	32,11	33,71	1	9	Çekirdekli	Çekirdekli
19	69-1	3,56	6,03	Normal	20	-	0,820	-	0,597	-	29,85	-	2	8	Çekirdekli	Çekirdekli

4.2.2. DNA izolasyonu

Çekirdeksiz çeşit adaylarının DNA izolasyonunu takiben DNA'lar %1'lik agaroz jelde kontrol edilmiş ve bu işlemi takiben saflık ve miktar değerlerinin belirlenmesi için NanoDrop ND-1000 spektrofotometrede ölçülmüştür (Çizelge 4.9 - 4.10).

Çizelge 4.9. 7xM (İtalya x Reçel Üzümlü) Melezlerine ait DNA'ların saflık ve miktarları

No	Melez no	ng/ul	A260	A280	260/280
1	143	1878,44	37,569	18,626	2,02
	143	2010,39	40,208	20,08	2
	143	1956,85	39,137	19,586	2
2	144	1914,65	38,293	18,805	2,04
	144	1949,89	38,998	19,182	2,03
	144	1953,19	39,064	19,223	2,03
3	145	1201,14	24,023	11,234	2,14
	145	1211,91	24,238	11,329	2,14
	145	1244,87	24,897	11,689	2,13
4	146	3839,76	76,795	38,334	2
	146	3788,94	75,779	37,745	2,01
	146	3909,76	78,195	39,126	2
5	147	2759,59	55,192	29,427	1,88
	147	2823,92	56,478	30,102	1,88
	147	2847,43	56,949	30,364	1,88
6	148	2722,35	54,447	27,318	1,99
	148	2961,18	59,224	29,949	1,98
	148	2924,24	58,485	29,484	1,98
7	149	951,73	19,035	9,069	2,1
	149	1049,05	20,981	10,123	2,07
	149	1036,42	20,728	9,958	2,08
8	152	1589,68	31,794	18,375	1,73
	152	1055,3	3,106	7,733	1,7
	152	1096,21	3,924	7,836	1,8
9	153	1208,11	24,162	12,712	1,9
	153	1203,24	24,065	12,71	1,89
	153	1441,69	28,834	15,277	1,89
10	154	2014,35	40,287	18,737	2,15
	154	1778,39	35,568	16,31	2,18
	154	1700,24	34,005	15,517	2,19
11	158	995,25	19,905	10,295	1,93
	158	1083,93	21,679	11,219	1,93
	158	1048,4	20,968	10,893	1,92
12	159	1812,96	36,259	18,204	1,99
	159	1681,79	33,636	16,847	2
	159	1671,72	33,434	16,768	1,99
13	160	2529,15	50,583	26,924	1,88
	160	2259,72	45,194	23,913	1,89
	160	2449,99	49	25,971	1,89
14	161	1890,9	37,818	18,779	2,01
	161	1873,61	37,472	18,655	2,01
	161	1839,53	36,791	18,248	2,02
15	163	1717,85	34,357	16,837	2,04
	163	1712,71	34,254	16,804	2,04
	163	1792,47	35,849	17,567	2,04

Çizelge 4.9. (Devam)

No	Melez no	ng/ul	A260	A280	260/280
16	164	2280,36	45,607	24,512	1,86
	164	2293,87	45,877	24,483	1,87
	164	2249,98	45	24,001	1,87
17	166	2370,57	47,411	23,843	1,99
	166	2435,13	48,703	24,54	1,98
	166	2377,9	47,558	23,999	1,98
18	169	1798,33	35,967	16,739	2,15
	169	1825,06	36,501	17,02	2,14
	169	1993,99	39,88	18,679	2,14
19	172	2807,05	56,141	27,866	2,01
	172	2788,72	55,774	27,728	2,01
	172	2833,3	56,666	28,2	2,01
20	173	601,84	12,037	6,039	1,99
	173	647,11	12,942	6,527	1,98
	173	685,85	13,717	7,06	1,94
21	175	2730,64	54,613	27,549	1,98
	175	2889,26	57,785	29,212	1,98
	175	2972,79	59,456	30,18	1,97
22	176	873,43	17,469	8,045	2,17
	176	843,45	16,869	7,701	2,19
	176	846,94	16,939	7,715	2,2
23	177	966,6	19,332	8,843	2,19
	177	965,7	19,314	8,902	2,17
	177	956,97	19,139	8,667	2,21
24	180	1317,3	26,346	13,114	2,01
	180	1306,89	26,138	13,014	2,01
	180	1304,21	26,084	12,964	2,01
25	181	1326,2	26,524	12,5	2,12
	181	1321,23	26,425	12,421	2,13
	181	1327,65	26,553	12,529	2,12
26	183	1410,21	28,204	14,027	2,01
	183	1408,35	28,167	13,936	2,02
	183	1416,08	28,322	14,088	2,01
27	184	2736,82	54,736	28,266	1,94
	184	2758,51	55,17	28,568	1,93
	184	2758,77	55,175	28,501	1,94
28	185	2613,48	52,27	26,499	1,97
	185	2616,84	52,337	26,553	1,97
	185	2617,05	52,341	26,551	1,97

Çizelge 4.9. (Devam)

No	Melez no	ng/ul	A260	A280	260/280
29	186	1695,18	33,904	17,47	1,94
	186	1708,81	34,176	17,61	1,94
	186	1683,7	33,674	17,317	1,94
30	187	1466,96	29,339	14,71	1,99
	187	1438,58	28,772	14,705	1,96
	187	1493,13	29,863	14,99	1,99
31	188	1703,79	34,076	16,577	2,06
	188	1694,95	33,899	16,393	2,07
	188	1696,52	33,93	16,437	2,06
32	189	1295,83	25,917	12,431	2,08
	189	1318,11	26,362	12,595	2,09
	189	1304,06	26,081	12,399	2,1
33	190	910,39	18,208	10,624	1,71
	190	888,48	17,77	10,347	1,72
	190	893,55	17,871	10,399	1,72
34	191	1543,81	30,876	14,945	2,07
	191	1569,73	31,395	15,207	2,06
	191	1541,71	30,834	14,85	2,08
35	193	791,43	15,829	8,792	1,8
	193	782,83	15,657	8,709	1,8
	193	782,81	15,656	8,729	1,79
36	194	1699,57	33,991	17,157	1,98
	194	744,26	14,885	7,008	2,12
	194	764,33	15,287	7,232	2,11
37	195	2414	48,28	22,68	2,13
	195	2448,44	48,969	23,016	2,13
	195	2433,78	48,676	22,989	2,12
38	197	1953,14	39,063	19,91	1,96
	197	1946,57	38,931	19,812	1,97
	197	1947,92	38,958	19,859	1,96
39	198	2375,47	47,509	23,273	2,04
	198	2389,22	47,784	23,429	2,04
	198	2331,1	46,622	22,754	2,05
40	199	1326,2	26,524	12,5	2,12
	199	1321,23	26,425	12,421	2,13
	199	1327,65	26,553	12,529	2,12
41	200	2436,95	48,739	23,024	2,12
	200	2441,79	48,836	23,053	2,12
	200	2441,39	48,828	23,056	2,12
42	201	2515,11	50,302	25,207	2
	201	2511,81	50,236	25,109	2
	201	2523,54	50,471	25,282	2

Çizelge 4.9. (Devam)

43	202	1898,39	37,968	18,097	2,1
	202	1891,2	37,824	17,983	2,1
	202	1888,51	37,77	18,004	2,1
44	203	552,43	11,049	6,017	1,84
	203	544,64	10,893	6,05	1,8
	203	1699,57	33,991	17,157	1,98
45	204	744,26	14,885	7,008	2,12
	204	764,33	15,287	7,232	2,11
	204	756,34	15,127	7,069	2,14
46	205	570,44	11,409	5,738	1,99
	205	581,9	11,638	5,91	1,97
	205	585,15	11,703	5,898	1,98
47	206	961,94	19,239	8,857	2,17
	206	962,93	19,259	8,831	2,18
	206	984,09	19,682	9,107	2,16
48	207	1459,1	29,182	15,386	1,9
	207	1458,15	29,163	15,375	1,9
	207	1458,69	29,174	15,331	1,9
49	208	3336,26	66,725	34,12	1,96
	208	3313,12	66,262	33,966	1,95
	208	3345,81	66,916	34,197	1,96
50	209	814,71	16,294	7,76	2,1
	209	810,61	16,212	7,689	2,11
	209	823,7	16,474	7,823	2,11
51	211	909,3	18,186	8,821	2,06
	211	907,29	18,146	8,791	2,06
	211	912,63	18,253	8,843	2,06
52	212	1202,57	24,051	14,411	1,67
	212	1192,25	23,845	14,297	1,67
	212	1194,32	23,886	14,33	1,67
53	213	778,86	15,577	7,53	2,07
	213	779,02	15,58	7,53	2,07
	213	780,31	15,606	7,527	2,07
54	218	356,76	7,135	3,482	2,05
	218	1442,9	28,858	13,718	2,1
	218	1417,24	28,345	13,401	2,12
55	219	707,26	14,145	6,971	2,03
	219	708,14	14,163	6,996	2,02
	219	710,12	14,202	7,021	2,02
56	220	963,41	19,268	10,431	1,85
	220	965,84	19,317	10,405	1,86
	220	967,97	19,359	10,404	1,86

Çizelge 4.9. (Devam)

No	Melez no	ng/ul	A260	A280	260/280
57	221	1553,33	31,067	14,284	2,17
	221	1548,03	30,961	14,191	2,18
	221	1567,27	31,345	14,357	2,18
58	222	2386,32	47,726	24,072	1,98
	222	2410,64	48,213	24,333	1,98
	222	2408,06	48,161	24,315	1,98
59	224	1623,41	32,468	17,071	1,9
	224	1642,42	32,848	17,133	1,92
	224	1634,96	32,699	17,085	1,91
60	225	1538,25	30,765	15,201	2,02
	225	1538,53	30,771	15,15	2,03
	225	1537,41	30,748	15,167	2,03
61	227	1775,72	35,514	17,757	2
	227	1786,13	35,723	17,885	2
	227	1771,77	35,435	17,76	2
62	229	588,11	11,762	6,127	1,92
	229	575,94	11,519	5,975	1,93
	229	591,85	11,837	6,19	1,91
63	231	1379,61	27,592	13,892	1,99
	231	1357,68	27,154	13,662	1,99
	231	1371,24	27,425	13,787	1,99
64	232	1184,42	23,688	12,015	1,97
	232	1188,77	23,775	12,054	1,97
	232	1175,81	23,516	11,965	1,97
65	233	2129,35	42,587	21,142	2,01
	233	2117,93	42,359	21,104	2,01
	233	2119,94	42,399	21,098	2,01

Çizelge 4.10. 36xL (Ribol x Güz Üzümü) Melezlerine ait DNA'ların saflık ve miktarları

No	Melez no	ng/ul	A260	A280	260/280
1	27-1	1185,52	23,71	12,716	1,86
	27-1	4893,16	97,863	58,648	1,67
	27-1	1344,98	26,9	14,42	1,87
2	29-1	551,55	11,031	5,661	1,95
	29-1	530,83	10,617	5,435	1,95
	29-1	5026,47	100,529	58,58	1,72
3	30-1	1373,95	27,479	14,753	1,86
	30-1	1063,15	21,263	11,479	1,85
	30-1	1098,87	21,977	11,778	1,87
4	31-1	2250,1	45,002	23,591	1,91
	31-1	2061,04	41,221	21,562	1,91
	31-1	1559,35	31,187	16,26	1,92
5	32-1	1890,98	37,82	20,943	1,81
	32-1	1718,76	34,375	18,942	1,81
	32-1	3237,81	64,756	36,875	1,76
6	35-1	908,7	18,174	9,968	1,82
	35-1	1762,25	35,245	19,653	1,79
	35-1	1111,33	22,227	12,143	1,83
7	37-2	2451	49,02	28,542	1,72
	37-2	772,86	15,457	8,652	1,79
	37-2	2241,37	44,827	26,079	1,72
8	38-1	2270,34	45,407	24,612	1,84
	38-1	2546,34	50,927	27,648	1,84
	38-1	2393,44	47,869	26,045	1,84
9	39-1	1914,61	38,292	19,54	1,96
	39-1	1848,21	36,964	18,836	1,96
	39-1	1825,16	36,503	18,603	1,96
10	40-1	2850,48	57,01	31,05	1,84
	40-1	2425,36	48,507	26,027	1,86
	40-1	2655,14	53,103	28,612	1,86
11	42-2	3442,34	68,847	36,577	1,88
	42-2	4125,22	82,504	44,915	1,84
	42-2	2292,3	45,846	23,688	1,94
12	43-1	2577,94	51,559	27,127	1,9
	43-1	1908,29	38,166	19,747	1,93
	43-1	862,14	17,243	8,743	1,97
13	44-1	2676,62	53,533	29,868	1,79
	44-1	2306,42	46,128	25,272	1,83
	44-1	2155,6	43,112	23,597	1,83

Çizelge 4.10. (Devam)

No	Melez no	ng/ul	A260	A280	260/280
14	45-1	2558,29	51,166	27,338	1,87
	45-1	2432,15	48,643	25,928	1,88
	45-1	2178,15	43,563	23,195	1,88
15	46-1	1752,36	35,047	18,941	1,85
	46-1	1600,2	32,004	17,36	1,84
	46-1	1677,85	33,557	18,181	1,85
16	47-1	2204,52	44,09	25,065	1,76
	47-1	2229,51	44,59	25,419	1,75
	47-1	2866,1	57,322	32,953	1,74
17	48-1	1238,15	24,763	12,473	1,99
	48-1	1192,09	23,842	11,962	1,99
	48-1	1589,39	31,788	16,06	1,98
18	49-1	4419,44	88,389	48,569	1,82
	49-1	3479,46	69,589	36,538	1,9
	49-1	4341,12	86,822	47,232	1,84
19	50-1	2856,39	57,128	30,462	1,88
	50-1	4885,23	97,705	56,206	1,74
	50-1	2836,71	56,734	30,245	1,88
20	51-1	5648,3	112,966	99,09	1,14
	51-1	2554,01	51,08	26,496	1,93
	51-1	2307,64	46,153	23,927	1,93
21	52-1	1445,17	28,903	14,736	1,96
	52-1	1066,62	21,332	10,914	1,95
	52-1	1245,83	24,917	12,739	1,96
22	54-2	2017,14	40,343	20,924	1,93
	54-2	2015,74	40,315	20,951	1,92
	54-2	1992,96	39,859	20,689	1,93
23	56-1	3152,83	63,057	32,256	1,95
	56-1	2274,38	45,488	23,062	1,97
	56-1	5449,76	108,995	67,535	1,61
24	57-1	4584,66	91,693	50,809	1,8
	57-1	4371,57	87,431	47,724	1,83
	57-1	2547,73	50,955	26,26	1,94
25	58-1	1989,88	39,798	21,09	1,89
	58-1	1953,78	39,076	20,701	1,89
	58-1	1963,06	39,261	20,833	1,88
26	60-1	1617,22	32,344	16,895	1,91
	60-1	4342,58	86,852	47,205	1,84
	60-1	1870,99	37,42	19,461	1,92

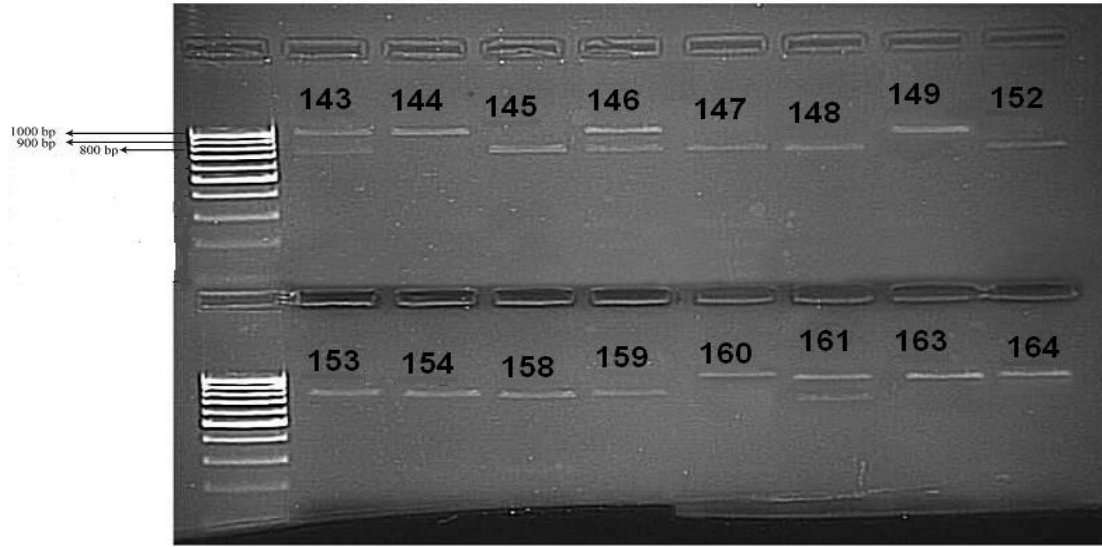
Çizelge 4.10. (Devam)

No	Melez no	ng/ul	A260	A280	260/280
27	61-1	1702,85	34,057	17,152	1,99
	61-1	1499,7	29,994	14,903	2,01
	61-1	1638,99	32,78	16,312	2,01
28	62-1	2857,92	57,158	30,571	1,87
	62-1	1482,06	29,641	15,522	1,91
	62-1	1438,71	28,774	15,044	1,91
29	64-1	5725,58	114,512	87,565	1,31
	64-1	5732,04	114,641	84,169	1,36
	64-1	4365,37	87,307	45,758	1,91
30	67-2	1602,28	32,046	17,075	1,88
	67-2	1429,91	28,598	15,249	1,88
	67-2	1499,67	29,993	15,981	1,88
31	68-1	3761,09	75,222	40,256	1,87
	68-1	2340,91	46,818	24,562	1,91
	68-1	2106,25	42,125	22,121	1,9
32	69-1	4007,38	80,148	43,332	1,85
	69-1	4442,06	88,841	49,128	1,81
	69-1	1666,12	33,322	17,013	1,96

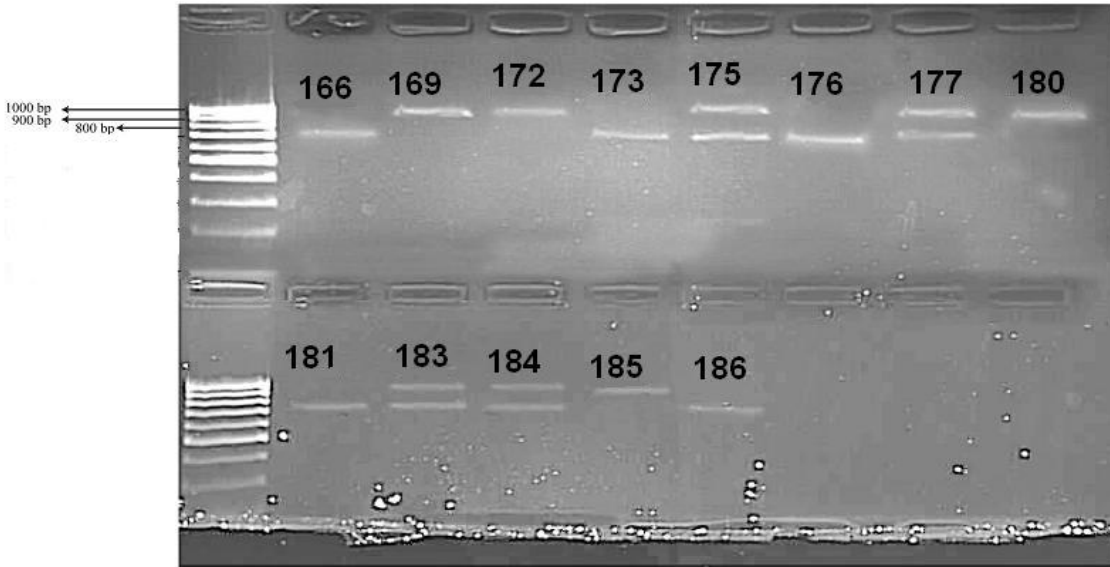
4.2.3. Çekirdeksiz çeşit adaylarında çekirdeksizlik belirlenmesine yönelik genetik bulgular

PCR sonrası lokuslara ait PCR rnleri, SCF27 primeri için %2'lik agaroz jele yüklenmiştir. Jel görüntüsünde tek bant olanlar ekirdeksiz, bant bulunmayanlar çekirdekli olarak değerlendirilmiştir.

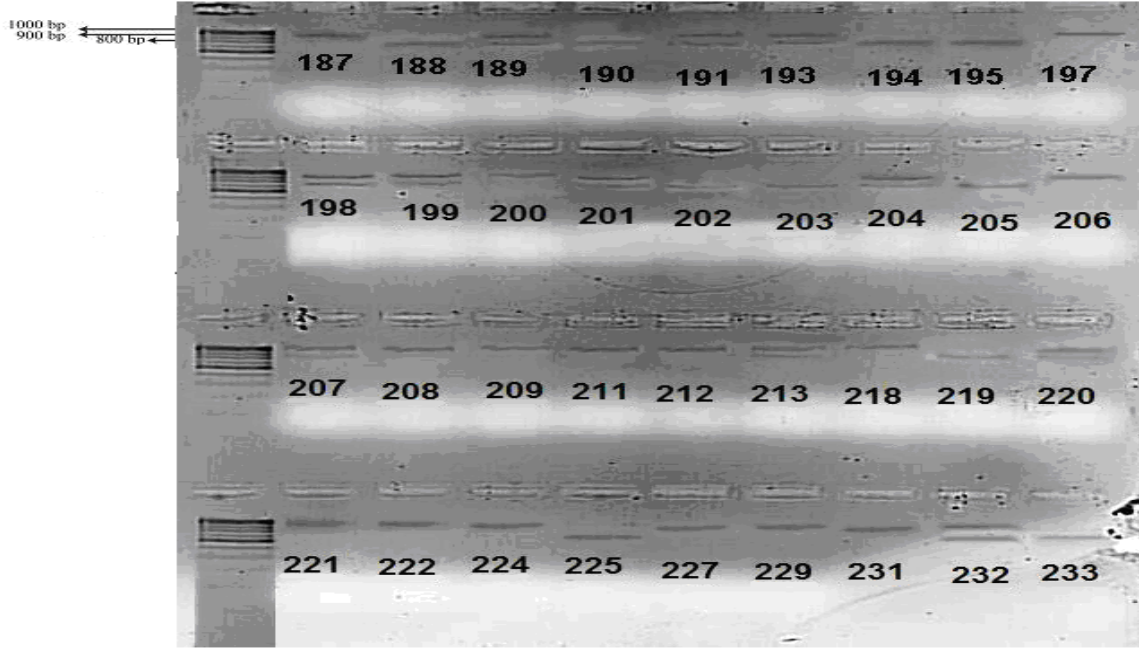
SCC8 primerinde PCR sonrası lokuslara ait PCR rnleri %2'lik jele yüklenerek kontrol edilmiş, sonrasında Bq III enzimi ile kesim yapılmıştır. Kesim sonrasında %2'lik jele yüklenerek çekirdeksizlik açısından değerlendirilmiştir.



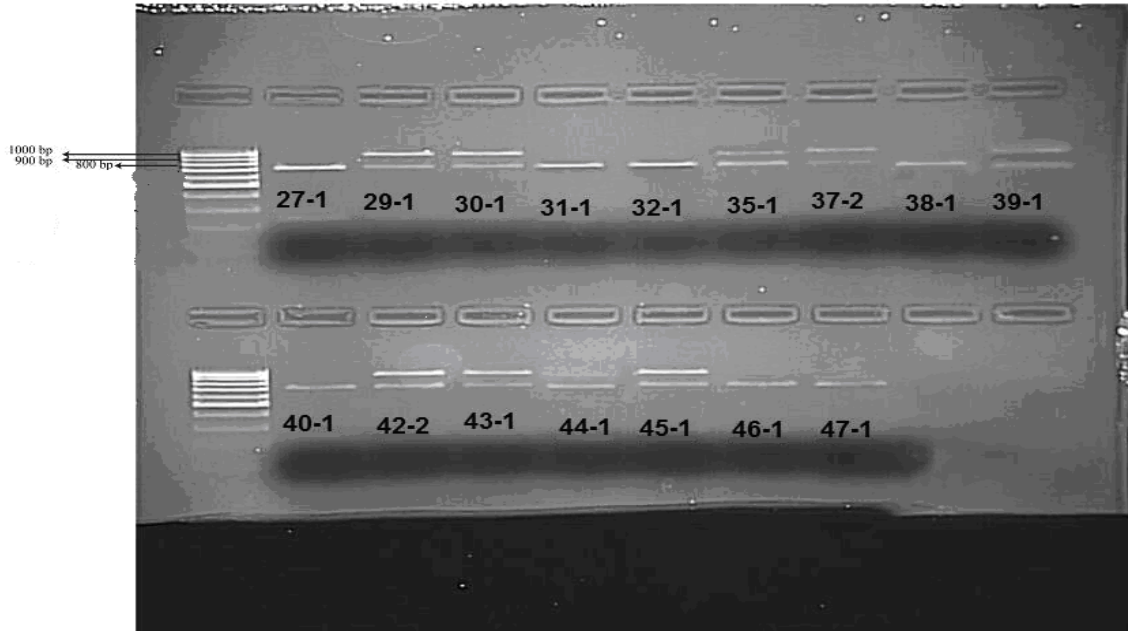
Şekil 4.20. SCC8 primeri ile elde edilen 7xM (İtalya x Reçel Üzümü) melezlerine ait jel görüntüleri



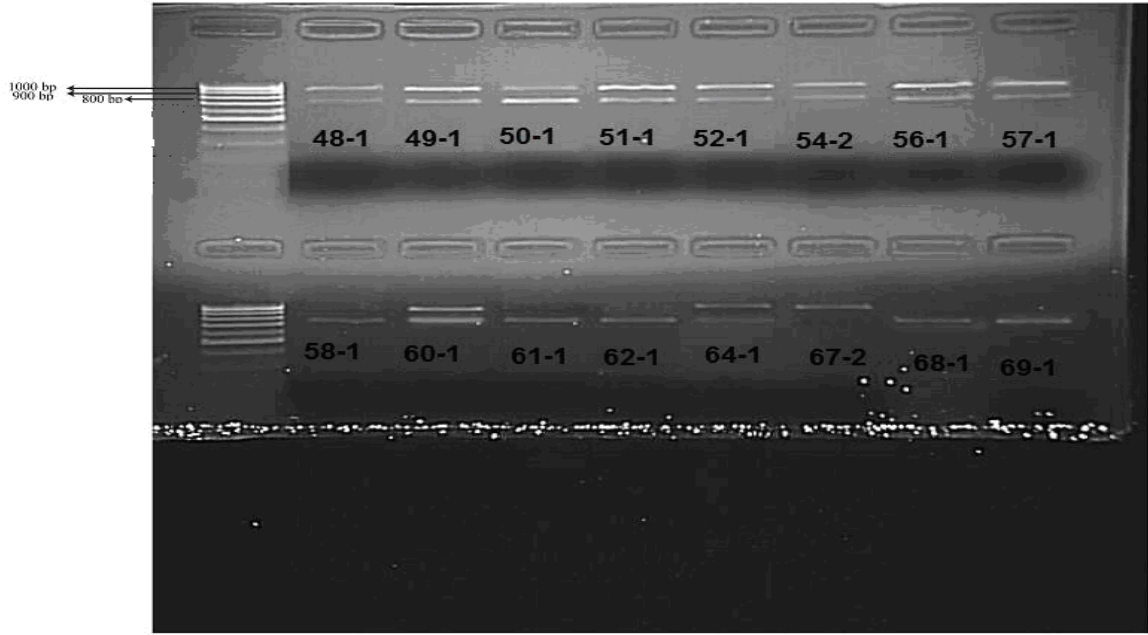
Şekil 4.21. SCC8 primeri ile elde edilen 7xM (İtalya x Reçel Üzümü) melezlerine ait jel görüntüleri



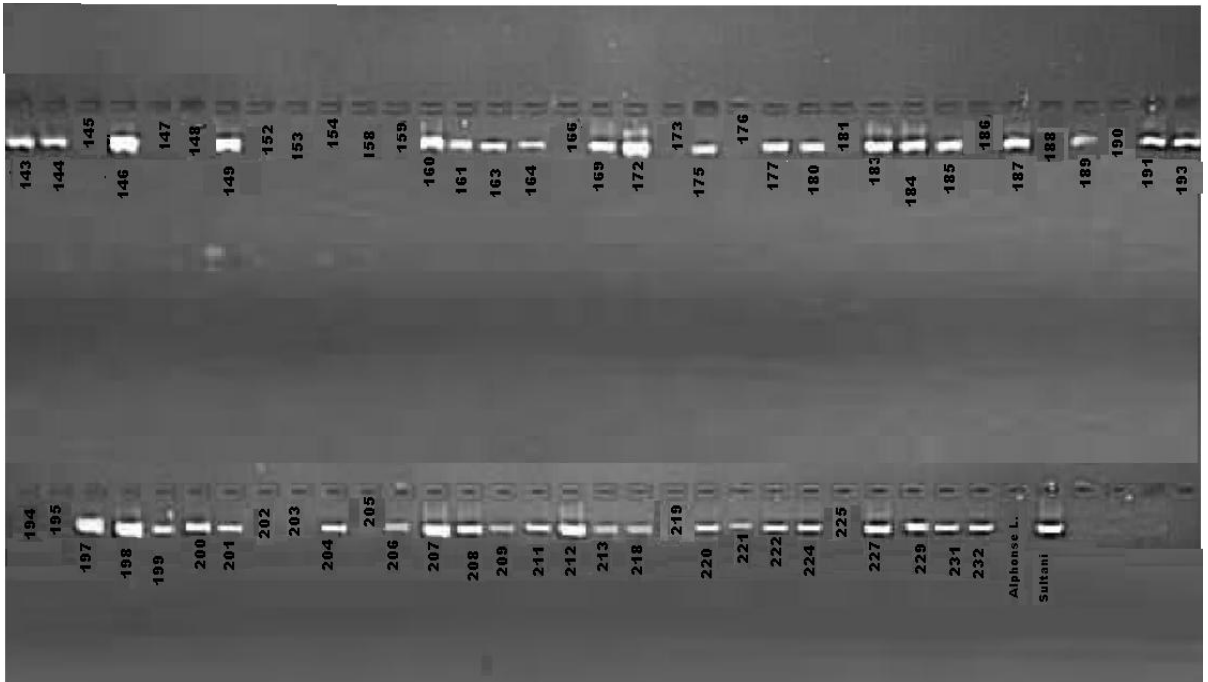
Şekil 4.22. SCC8 primeri ile elde edilen 7xM (İtalya x Reçel Üzümü) melezlerine ait jel görüntüleri



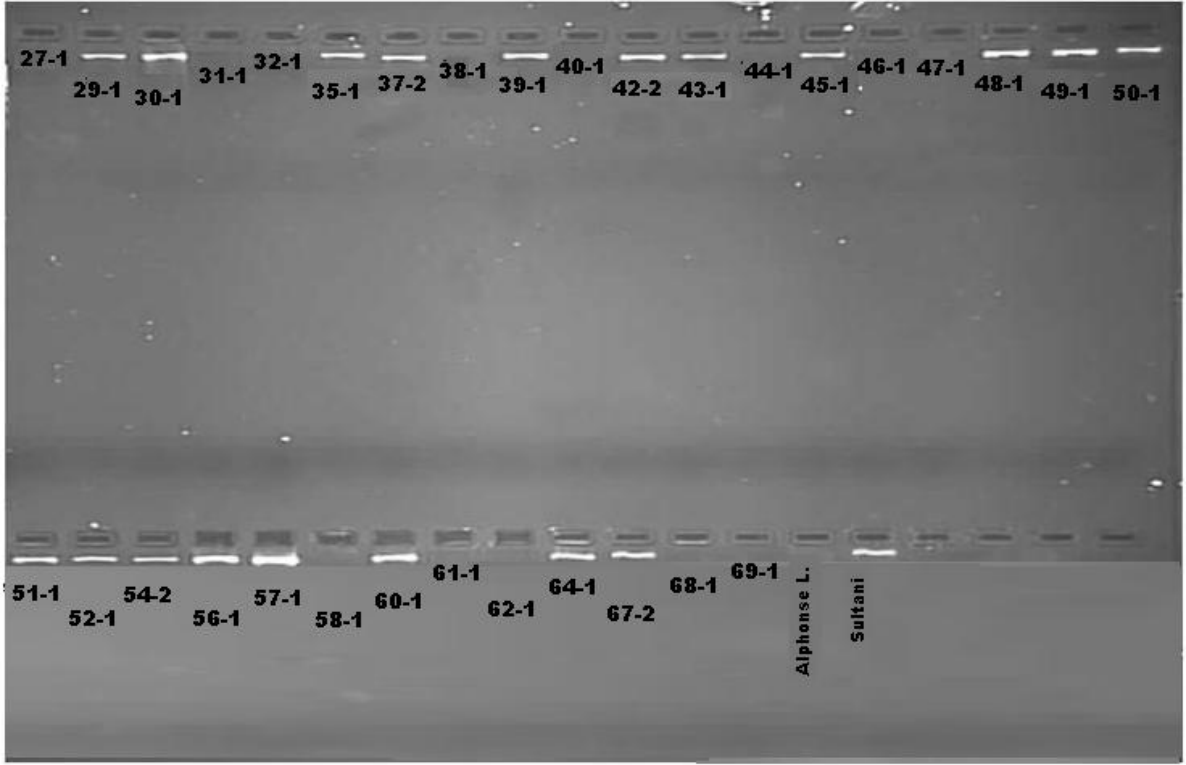
Şekil 4.23. SCC8 primeri ile elde edilen 36 x L (Ribol x Güz Üzümü) melezlerine ait jel görüntüleri



Şekil 4.24. SCC8 primeri ile elde edilen 36 x L (Ribol x Güz Üzümü) melezlerine ait jel görüntüleri



Şekil 4.25. SCF27 primeri 7xM (İtalya x Reçel Üzümü) melezlerine ait jel görüntüleri



Şekil 4.26. SCF27 primeri 36xL (Ribol x Güz Üzüümü) melezlerine ait jel görüntüleri

Çizelge 4.11. 7xM (İtalya x Reçel Üzüümü) melez kombinasyonu için SCF27 ve SCC8 primeri ile çekirdek verileri

NO	DNA NO	SCF27 primerine göre	SCC8 primerine göre
1	143	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
2	144	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
3	145	Çekirdekli	Çekirdekli
4	146	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
5	147	Çekirdekli	Çekirdekli
6	148	Çekirdekli	Çekirdekli
7	149	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
8	152	Çekirdekli	Çekirdekli
9	153	Çekirdekli	Çekirdekli
10	154	Çekirdekli	Çekirdekli
11	158	Çekirdekli	Çekirdekli
12	159	Çekirdekli	Çekirdekli
13	160	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
14	161	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
15	163	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
16	164	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
17	166	Çekirdekli	Çekirdekli
18	169	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
19	172	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
20	173	Çekirdekli	Çekirdekli
21	175	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
22	176	Çekirdekli	Çekirdekli
23	177	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
24	180	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
25	181	Çekirdekli	Çekirdekli
26	183	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
27	184	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
28	185	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
29	186	Çekirdekli	Çekirdekli
30	187	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
31	188	Çekirdekli	Çekirdekli
32	189	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
33	190	Çekirdekli	Çekirdekli
34	191	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
35	193	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
36	194	Çekirdekli	Çekirdekli
37	195	Çekirdekli	Çekirdekli
38	197	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
39	198	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz

Çizelge 4.11. (devam)

NO	DNA NO	SCF27 primerine göre	SCC8 primerine göre
40	199	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
41	200	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
42	201	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
43	202	Çekirdekli	Çekirdekli
44	203	Çekirdekli	Çekirdekli
45	204	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
46	205	Çekirdekli	Çekirdekli
47	206	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
48	207	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
49	208	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
50	209	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
51	211	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
52	212	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
53	213	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
54	218	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
55	219	Çekirdekli	Çekirdekli
56	220	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
57	221	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
58	222	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
59	224	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
60	225	Çekirdekli	Çekirdekli
61	227	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
62	229	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
63	231	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
64	232	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
65	233	Çekirdekli	Çekirdekli

Çizelge 4.12. 36xL (Ribol x Güz Üzümü) melez kombinasyonu için SCF27 ve SCC8 primeri ile çekirdek verileri

NO	DNA NO	SCF27 primerine göre	SCC8 primerine göre
1	27-1	Çekirdekli	Çekirdekli
2	29-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
3	30-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
4	31-1	Çekirdekli	Çekirdekli
5	32-1	Çekirdekli	Çekirdekli
6	35-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
7	37-2	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
8	38-1	Çekirdekli	Çekirdekli
9	39-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
10	40-1	Çekirdekli	Çekirdekli
11	42-2	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
12	43-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
13	44-1	Çekirdekli	Çekirdekli
14	45-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
15	46-1	Çekirdekli	Çekirdekli
16	47-1	Çekirdekli	Çekirdekli
17	48-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
18	49-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
19	50-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
20	51-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
21	52-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
22	54-2	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
23	56-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
24	57-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
25	58-1	Çekirdekli	Çekirdekli
26	60-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
27	61-1	Çekirdekli	Çekirdekli
28	62-1	Çekirdekli	Çekirdekli
29	64-1	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
30	67-2	Çekirdeksiz	Çekirdeksiz
31	68-1	Çekirdekli	Çekirdekli
32	69-1	Çekirdekli	Çekirdekli

4.3. İstatistiki Analiz

İtalya x Reçel Üzümü ve Ribol x Güz Üzümü melez kombinasyonlarındaki, salkımı bulunan omcalardan alınan taneler üzerinde, çekirdek eni (mm) ve çekirdek boyu (mm) ölçümleri yapılmıştır. Toplam 38 melezin her biri için 9'ar çekirdekte en ve boy ölçümleri yapılmıştır. Bu değerler Jump 7 istatistik programı ile değerlendirilmiştir. Melez kombinasyonlarının istatistiki değerlendirmesi Çizelge 4.13'de yer almaktadır. Çekirdek eni ve boyuna göre gruplamalar yapılmış, ortaya çıkan gruplamalara ait çekirdek yaş ağırlığı, çekirdek kuru ağırlığı ve tek çekirdek kuru ağırlıkları da değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.13. Melez kombinasyonlarının istatistikî değerlendirmesi

Melez No	DNA No	<i>İtalyaxReçel Üzümü</i>				<i>RibolxGüz Üzümü</i>				
		Ort. Çekirdek Eni (mm)	Grup	Ort. Çekirdek Boyu (mm)	Grup	DNA no	Ort. Çekirdek Eni (mm)	Grup	Ort. Çekirdek Boyu (mm)	Grup
1	197	1,96	h	5,81	ef	29-1	2,16	f	3,69	ı
2	175	1,95	hı	4,89	hı	30-1	1,80	g	3,85	hı
3	221	2,29	fg	5,33	gh	32-1	4,37	a	5,61	c
4	173	4,34	a	7,69	a	35-1	3,17	d	5,00	de
5	181	4,15	ab	7,07	b	38-1	3,63	c	5,21	de
6	153	4,01	bd	6,57	bd	40-1	4,15	a b	7,52	a
7	160	1,67	ı	4,58	ij	42-2	2,14	f	4,32	g
8	159	4,08	ac	6,21	ce	46-1	3,52	c	4,25	gh
9	209	2,16	fh	5,46	fg	47-1	4,01	b	5,93	c
10	203	3,81	ce	6,04	de	48-1	3,05	d	4,66	ef
11	207	2,14	fh	4,52	j	49-1	3,11	d	5,30	cd
12	202	3,68	e	6,63	bc	52-1	2,57	e	4,96	ef
13	205	4,08	ac	6,33	ce	54-2	2,08	fg	4,47	g
14	231	2,02	gh	4,67	ij	57-1	1,21	h	2,86	j
15	232	2,04	fh	4,99	gı	58-1	4,34	a	7,02	b
16	195	3,61	e	6,67	bc	60-1	2,58	e	4,66	fg
17	188	3,79	de	6,69	bc	67-2	0,37	ı	0,71	k
18	201	2,31	f	4,20	j	68-1	3,96	b	5,98	c
19	145	3,58	e	5,24	gh	69-1	3,56	c	6,03	c
CV %		1,78		3,37			1,72		2,83	
Önem Derecesi		1%		1%			1%		1%	
t Değeri		1,97658		1,97658			1,97658		1,97658	
Prob > F değeri		<,0001		<,0001			<,0001		<,0001	
Melez Tekerrür		0,838		0,7422			0,2118		0,1697	
LSD										
Melez Tekerrür		0,2857		0,5619			0,3226		0,4598	
		0,1966		0,3867			0,222		0,3165	

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemiz, bağıcılık konusunda dünyadaki ilk altı ülke arasında yer almaktadır. Dünyada bağıcılık araştırmalarında kullanılan moleküler markör tekniklerinde, ağırlıklı olarak çeşit tanımlama ve akrabalık ilişkilerini belirlemeye yönelik çalışmalar olduğu dikkat çekmektedir. Moleküler markörlerden mikrosatellitler; ebeveyn tayini, çeşit tanımlaması, sinonim ve homonimlerin belirlenmesinde birçok araştırıcı tarafından kullanılmıştır. (**Lamboy 1997, Ibáñez ve ark. 2003, Martin ve ark. 2003**).

Tekirdağ Bağıcılık Araştırma Enstitüsü tarafından tescil ettirilen Tekirdağ Çekirdeksizi, Trakya İlkeren, Barış, 2B/56 (Reçel üzümü), 3A/261 (Güz üzümü) çeşitlerine ait ebeveyn analizleri, 19 SSR lokusu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Güz üzümü çeşidinde, VVMD5 (233 bç ve 235 bç), VMC2C3 (163 bç ve 191 bç), VrZAG79 (250 bç ve 260 bç), VVMD24 (207 bç ve 217 bç), VVMD27 (197 bç ve 183 bç), VVMD28 (247 bç ve 219 bç), VVS2 (137 bç ve 153 bç), VrZAG62 (206 bç ve 190 bç), VVIB01 (292 bç ve 300 bç), VVS1 (181 bç ve 187 bç), VMC2H4 (212 bç ve 204 bç), VVMD7 (244 bç ve 236 bç), VVMD31 (219 bç ve 211 bç), VrZAG83 (185 bç ve 195 bç), VVMD21 (244 bç ve 256 bç), ZAG112 (231 bç ve 227 bç), ZAG64 (134 bç ve 156 bç), ZAG47 (157 bç ve 171 bç) lokuslarında bir allel anadan, bir allel babadan gelmiştir. VVIH54 (164 bç) lokusunda, anadan ve babadan ortak allellere sahiptir (Çizelge 4.2).

Tekirdağ Çekirdeksizi çeşidinde, VVMD5 (233 bç ve 235 bç), VMC2C3 (191 bç ve 169 bç), VrZAG79 (260 bç ve 252 bç), VVMD24 (207 bç ve 211 bç), VVMD27 (183 bç ve 187 bç), VVS2 (153 bç ve 137 bç), VrZAG62 (190 bç ve 188 bç), VVIB01 (300 bç ve 296 bç), VVS1 (187 bç ve 181 bç), VMC2H4 (214 bç ve 202 bç), VVMD7 (250 bç ve 244 bç), VVMD31 (211 bç ve 215 bç), ZAG112 (227 bç ve 243 bç), ZAG64 (140 bç ve 156 bç), ZAG47 (157 bç ve 161 bç) lokuslarında bir allel anadan, bir allel babadan gelmiştir. VVIH54 (164bç) lokusunda, anadan ve babadan ortak allellere sahiptir. VVMD28 (243bç), VrZAG83 (191bç), VVMD21 (248bç) lokuslarında, anadan ve babadan aynı alleli almıştır (Çizelge 4.3).

Trakya İlkeren çeşidinde, VVMD5 (233 bç ve 235 bç), VMC2C3 (169 bç ve 163 bç), VrZAG79 (240 bç ve 248 bç), VVMD24 (211 bç ve 207 bç), VVMD27 (187 bç ve 183 bç),

VrZAG62 (190 bç ve 206 bç), VVIB01 (296 bç ve 292 bç), VVS1 (181 bç ve 187 bç), VMC2H4 (202 bç ve 214 bç), VVMD7 (244 bç ve 248 bç), VVMD31 (209 bç ve 211 bç), ZAG112 (243 bç ve 239 bç), ZAG47 (161 bç ve 157 bç) lokuslarında bir allel anadan, bir allel babadan gelmiştir. VVIH54 (164 bç) lokusunda, anadan ve babadan ortak allellere sahiptir. VrZAG83 (191 bç), VVMD21 (248 bç), ZAG64 (156 bç), VVMD28 (243 bç), VVS2 (135 bç) lokuslarında, anadan ve babadan aynı alleli almıştır (Çizelge 4.4).

Reçel Üzümü çeşidinde, VVMD5 (225 bç ve 231 bç), VMC2C3 (163 bç ve 191 bç), VrZAG79 (260 bç ve 248 bç), VrZAG62 (202 bç ve 190 bç), VMC2H4 (198 bç ve 204 bç), VVMD7 (238 bç ve 248 bç), VVIH54 (158 bç ve 164 bç), VVMD31 (209 bç ve 211 bç), VrZAG83 (185 bç ve 191bç), ZAG112 (227 bç ve 239 bç), ZAG64 (136 bç ve 156 bç) lokuslarında bir allel anadan, bir allel babadan gelmiştir. VVMD24 (207bç), VVMD27 (183 bç), VVS2 (145 bç), VVMD28 (243 bç), VVIB01 (292 bç), VVMD21 (248 bç), VVS1 (181 bç), ZAG47 (157 bç) lokuslarında, anadan ve babadan aynı alleli almıştır (Çizelge 4.5).

Barış çeşidinin ana ve baba ebeveynleri açısından allel büyüklükleri incelendiğinde; 4 SSR lokusu (VVMD5, VVMD28, VRZAG62, VRZAG83) açısından hibrit özellikleri taşıdığı görülmekle birlikte, çeşidin 14 SSR lokusunda (VMC2C3, VRZAG79, VVMD24, VVMD27, VVS2, VVIB01, VVS1, VMC2H4, VVMD7, VVIH54, VVMD31, ZAG112, ZAG64, ZAG47) ise ebeveynlerinden yalnızca 1 allel, VVMD21 lokusunda ebeveynlerinden herhangi bir allel almadığı görülmektedir. (Çizelge 4.6).

Çekirdeksizlik

Değirmenci ve Kunter (2007), asmalarda iki tip çekirdeksizlik görüldüğünü; birincisinin tozlanma ve dölleme olmaksızın tane tutumunun gerçekleştiği partenokarpi, ikincisinin ise dölleme sonunda çekirdeğin iz halinde gelişmesi ile sonuçlanan stenospermokarpi olduğu bildirilmiştir. Üzümlerde çekirdek dış kabuğu tam gelişmiş olmasına rağmen iç kısımda iz halinde oluşmuş embriyo veya dumura uğramış embriyo olduğu, stenospermokarpik çeşitlerde çekirdek dış kabuğu deforme olmasına karşın, boş çekirdeklilikte dış kabuğun normal formda olması gerektiği bildirilmiştir (**Çelik, 1998**). Çalışmamızda İtalya x Reçel Üzümü ve Ribol x Güz Üzümü kombinasyonlarına ait salkımı bulunan, her kombinasyona ait 19'ar F₁'e ait toplam 38 omcadan alınan örneklerin incelenmesi sonucunda 20 çekirdeksiz, 18 çekirdekli F₁ olduğu belirlenmiştir. F₁

çekirdeklerinin jilet ve bistüri ucu ile kesilerek binoküler mikroskop altında embriyo durumlarının incelenmesi sonucunda; Ribol x 3A/261 kombinasyonundan elde edilen F₁'lerde çekirdeksizlik 8 boş çekirdeklilik, 2 çekirdek izi, 1 küçük embriyo olarak belirlenmiş olup, aynı durum İtalya x 2B/56 kombinasyonundan elde edilen F₁'lerde ise 8 boş çekirdeklilik, 1 küçük embriyo olarak saptanmıştır.

Vinifera üzüm çeşitlerinde tohum (çekirdek) büyüklüğü 2 mm ve daha küçük olanlar ya da tohum ağırlığı 20 mg ve daha az olanlar rudimenter olarak değerlendirilmiştir (Ledbetter ve Shonnard 1991).

7xM (İtalya x Reçel Üzümü) kombinasyonuna ait, çekirdekli ve çekirdeksiz olarak belirlenen F₁'lerin, çekirdek eni (mm) ve çekirdek boyu (mm) ölçümleri ile elde edilen veriler istatistiki olarak değerlendirilmiş ve gruplar elde edilmiştir. Çekirdekli F₁'lerin çekirdek enleri dikkate alınarak yapılan analizde 5 grup oluşmuştur. Büyükten küçüğe yapılan gruplamalarda 1. grup için çekirdek eni ortalaması 4,16 mm, 2. grup çekirdek eni ortalaması 4,01 mm, 3. grup çekirdek eni ortalaması 3,81 mm, 4. grup çekirdek eni ortalaması 3,79 mm ve 5. grup çekirdek eni ortalaması 3,62 mm olmuştur. Aynı kombinasyona ait çekirdekli F₁'lerin çekirdek boylarının istatistiki analizi sonucunda 5 grup oluşmuştur. 1. grup çekirdek boyu ortalaması 7,69 mm, 2. grup ortalaması 6,66 mm, 3. grup ortalaması 6,21 mm, 4. grup ortalaması 6,04 mm ve 5. grup ortalaması 5,24 mm'dir. Çekirdekli F₁'lerde çekirdek enine göre yapılan gruplamada; 1. grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 1,191 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,941 gram, son grupta ise çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,883 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,706 gramdır. Yine çekirdekli F₁'lerde çekirdek boyuna göre yapılan gruplamada; 1. grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 1,284 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 1,123 gram, son grupta ise çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,81 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,686 gramdır.

7xM (İtalya x Reçel Üzümü) kombinasyonuna ait çekirdeksiz F₁'lerin çekirdek enleri (mm) dikkate alınarak yapılan analizde 4 grup oluşmuştur. 1. grup için çekirdek eni ortalaması 2,188 mm, 2. grup için çekirdek eni ortalaması 2,02 mm, 3. grup için çekirdek eni ortalaması 1,95 mm, 4. grup için çekirdek eni ortalaması 1,67 mm olmuştur. Aynı kombinasyona ait çekirdeksiz F₁'lerin çekirdek boylarına göre yapılan istatistiki analiz sonucunda 6 grup ortaya çıkmıştır. 1. grup çekirdek boyu ortalaması 5,81 mm, 2. grup çekirdek boyu ortalaması 5,46 mm, 3. grup çekirdek boyu ortalaması 5,33 mm, 4. grup

çekirdek boyu ortalaması 4,89 mm, 5. grup çekirdek boyu ortalaması 4,62 mm, 6. grup çekirdek boyu ortalaması 4,36 mm'dir. Çekirdeksiz F_1 'lerde çekirdek enine göre yapılan grupta; 1. grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,470 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,132 gram, son grupta ise çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,165 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,098 gram olmuştur. Çekirdeksiz F_1 'lerde çekirdek boyuna (mm) göre yapılan grupta; 1. grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,492 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,295 gram, son grupta ise çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,247 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,176 gramdır.

36xL (Ribol x Güz Üzümü) kombinasyonuna ait çekirdekli ve çekirdeksiz olarak belirlenen F_1 'lerin, çekirdek eni (mm) ve çekirdek boyu (mm) ölçümleri ile elde edilen veriler istatistiki olarak değerlendirilmiş ve gruplar elde edilmiştir. Çekirdekli F_1 'lerin çekirdek enleri dikkate alınarak yapılan analizde 3 grup oluşmuştur. 1. grup çekirdek eni ortalaması 4,28 mm, 2. grupta çekirdek eni ortalaması 3,985 mm, 3. grupta çekirdek eni ortalaması 3,595 mm'dir. Çekirdek boyuna göre yapılan grupta ise 4 grup oluşmuş ve ilk grupta çekirdek boyu ortalaması 7,52 mm, 2. grupta 7,02 mm, 3. grupta 5,88 mm, 4. grupta ise 5,21 mm olmuştur. Çekirdekli F_1 'lerde çekirdek enine göre yapılan grupta; 1. grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 1,394 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 1,058 gram, 3. grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,665 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,481 gramdır. Çekirdekli F_1 'lerde çekirdek boyuna göre yapılan grupta; 1. grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 1,327 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,972 gram, 4. grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,511 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,365 gramdır.

36xL (Ribol x Güz Üzümü) kombinasyonuna ait çekirdeksiz F_1 'lerin çekirdek enleri dikkate alınarak yapılan analizde 7 grup oluşmuştur. 1.grup için çekirdek eni ortalaması 3,52 mm, 2. grup çekirdek eni ortalaması 3,11 mm, 3. grup çekirdek eni ortalaması 2,57 mm, 4. grup çekirdek eni ortalaması 2,15 mm, 5. grup çekirdek eni ortalaması 1,80 mm, 6. grup çekirdek eni ortalaması 1,21 mm, 7. grup çekirdek eni ortalaması 0,37 mm'dir. Çekirdeksiz F_1 'lerde çekirdek boyuna göre yapılan grupta ise 9 grup oluşmuştur. 1. grup çekirdek boyu ortalaması 5,30 mm, 2. grup çekirdek boyu ortalaması 5 mm, 3. grup çekirdek boyu ortalaması 4,81 mm, 4. grup çekirdek boyu ortalaması 4,66 mm, 5. grup çekirdek boyu ortalaması 4,34 mm, 6. grup çekirdek boyu ortalaması 3, 85 mm, 7. grup çekirdek boyu ortalaması 3, 69 mm, 8. grup çekirdek boyu ortalaması 2, 86 mm, 9. grup çekirdek boyu ortalaması 0, 71 mm'dir. Çekirdeksiz F_1 'lerde çekirdek enine göre yapılan grupta; 1.

grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0, 663 gram, çekirdek kuru ağırlık ortalaması 0,510 gramdır. Son grupta ise çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,237 gram, kuru ağırlık ortalaması ise 0,143 gramdır. Çekirdeksiz F₁'lerde çekirdek boyuna göre yapılan grupta; 1. grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,390 gram, kuru ağırlık ortalaması 0,224 gramdır. Son grupta çekirdek yaş ağırlık ortalaması 0,237 gram, kuru ağırlık ortalaması 0, 143 gramdır.

Ledbetter ve Shonnard (1991), üzüm çeşitlerinde, tohum ağırlığı 20 mg ve daha az olanları rudimenter olarak değerlendirirken, **Ramming ve ark.(1990)** embriyo ve endosperm dejenerasyonu sonucu oluşan abortif tohumlar için 25 mg eşik değer olarak kabul etmişlerdir. **Barış ve Gürnil (1991)**, 2371 F₁ ferdinin çekirdeklerinde inceleme yapmışlar, tüm çeşitlerde 20 mg'dan aşağı ağırlıktaki çekirdeklerde hiç çimlenme görülmemiş, bunun yanısıra Alphonse, Müşküle, Black Rose gibi nispeten iri çekirdek oluşturan çeşitlerde ise 25 mg'a kadar ağırlıkta olan çekirdeklerde hiç çimlenme olmamıştır. Buradan stenospermik yapıda çekirdek ağırlığının embriyonun dejenerasyonun zamanına bağlı olarak 20-25 mg'a kadar artabildiği sonucu çıkmaktadır. Bizim çalışmamızda; İtalya x Reçel Üzümü kombinasyonunda çekirdeksiz F₁'ler için tek çekirdek kuru ağırlığında en küçük değer 4,5 mg, en büyük değer 20,75 mg, çekirdekli çeşitler için en küçük değer 30,63 mg, en büyük değer 48,89 mg'dır. Ribol x Güz Üzümü kombinasyonuna ait F₁'lerde ise çekirdeksiz olarak belirlenen F₁'lerde en küçük değer 3 mg, en büyük değer 21,57 mg, çekirdekli çeşit adaylarında en küçük değer 23,44 mg, en büyük değer 51,82 mg olmuştur.

İki kombinasyonun çekirdeksiz fertlerine ait tek çekirdek kuru ağırlığı değerlerinin ortalamalarına bakıldığında ise bu değer 13 mg olduğu görülmüştür.

İstatistiki analizler sonucunda; 7xM (İtalya x Reçel Üzümü) kombinasyonunda çekirdeksiz F₁'ler için çekirdek enine göre yapılan grupta; 1. grubun tek çekirdek kuru ağırlığı ortalaması 13, 533 mg, son grubun ise 7,965 mg, çekirdek boyuna göre yapılan grupta; 1. grubun tek çekirdek kuru ağırlığı ortalaması 13,51 mg, son grubun ise 11,832 mg olmuştur. Aynı kombinasyondaki çekirdekli F₁'ler için çekirdek enine göre yapılan grupta; 1. gruptaki tek çekirdek kuru ağırlığı ortalaması 44, 567 mg, son grubun 34,245 mg, çekirdekli F₁'ler için çekirdek boyuna göre yapılan grupta; 1. gruptaki tek çekirdek kuru ağırlığı ortalaması 50,235 mg, son gruptaki değer 32,51 mg'dır.

36 x L (Ribol x Güz Üzümü) kombinasyonunda çekirdeksiz F₁'ler için çekirdek enine göre yapılan grupta 1. grubun tek çekirdek kuru ağırlık ortalaması 21,825 mg, son grubun 4,65 mg, çekirdek boyuna göre yapılan grupta ilk grubun 16,34 mg, son grubun ise 4,65 mg olmuştur. Aynı kombinasyonun çekirdekli F₁'ler için çekirdek enine göre yapılan grupta 1. grup tek çekirdek kuru ağırlık ortalaması 40,02 mg, son grup 28,23 mg, çekirdek boyuna göre yapılan grupta 1. grup tek çekirdek kuru ağırlık ortalaması 46,35 mg, son grubun ise 26,51 mg'dır.

Karataş ve Ağaoğlu (2007), tohumların canlılığını tespit edebilmek için 1537 tohumdan yüzdürme testi sonucu 1350 tohum (çekirdek) ayırmışlar ve çimlenme yüzdelerini incelemişlerdir. Ayrıca **Ebadi ve ark. (2009)**, çalışmalarında inceledikleri tohumların canlılığını tespit etmek için bütün çekirdekleri ve çekirdek izlerini tanelerden ayırmışlar, temizlemişler ve yüzdürme testi yöntemini kullanmışlardır. Ribol x Güz Üzümü ve İtalya x Reçel Üzümü kombinasyonlarından; 19'ar adet F₁'e ait çekirdek örneklerinden her F₁ için 10'ar çekirdek alınmış, toplamda iki melez kombinasyonu için 380 çekirdek temizlenerek ayrı ayrı su dolu kaplara konmuştur. 48 saat bekletildikten sonra yüzen ve batan çekirdek sayıları tespit edilmiştir. Buna göre; Ribol x Güz Üzümü kombinasyonundaki 7 F₁'in çekirdeklerinin tamamı yüzmüş, 2 F₁'de 6 çekirdek yüzmüş, 4 çekirdek batmış, 2 F₁'de 1 çekirdek yüzmüş, 9 çekirdek batmış, 2 F₁'de 8 çekirdek yüzmüş, 2 çekirdek batmış, 3 F₁ de 10 çekirdekte batmış, 2 F₁'de 2 çekirdek yüzmüş, 8 çekirdek, 1 F₁'de 7 çekirdek yüzmüş, 3 çekirdek batmıştır. İtalyaxReçel Üzümü kombinasyonunda ise 5 F₁'de 1 adet yüzen 9 adet batan çekirdek, 5 F₁'de 6 adet yüzen 4 adet batan çekirdek, 3 F₁'de 10 adet batan çekirdek, 1 F₁'de 2 adet yüzen, 8 adet batan çekirdek, 1 F₁'de 9 adet yüzen 1 adet batan çekirdek, 1 F₁'de 4 adet yüzen 6 adet batan çekirdek, 1 F₁'de 10 adet yüzen çekirdek, 1 F₁'de 8 adet yüzen 2 adet batan çekirdek ve 1 F₁'de 7 adet yüzen 3 adet batan çekirdek olmuştur.

Melezlerde, çekirdekli-çekirdeksiz ayrımının etkin bir şekilde ön seleksiyonunun yapılabilmesi için son yıllarda moleküler markörlerin kullanımı ön plana çıkmıştır. Moleküler markörlerden RAPD (**Striem ve ark. 1996**), SSR (**Barticevic ve ark. 2004**), AFLP (**Scott ve ark. 2000**) ve son yıllarda SCAR (**Adam-Blondon 2001, Mejia ve Hinrichsen 2003, Fatahi ve ark. 2004**) teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bouquet ve Danglot (1996), iki adet RAPD markör üzerinde tanımlama yapmışlardır. SCC8 adı verilen kodominant bir SCAR geliştirmişler ve bunun çekirdeksiz çeşitleri seçmek üzere kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Mejia ve Hinrichsen (2003), tarafından bildirildiğine göre WF27-2000 adı verilen RAPD fragmanı klonlanıp dizilenmiş ve daha sonrasında SCAR markörüne dönüştürülmüştür. SCF27 adı verilen bu markör tüm çekirdeksizlerde 2.0 kb değerinde spesifik bir amplikon meydana getirmiştir.

Lahoque (1998), SCC8'in kodominant bir markör olduğunu, bu nedenle homozigot ve heterozigot bireylerin seçiminde kullanılabildiğini belirtmişlerdir. SCC8 primerinde PCR sonrası lokuslara ait PCR ürünleri %2'lik jele yüklenerek kontrol edilmiş, sonrasında Bq III enzimi ile kesim yapılmıştır. Kesim sonrasında %2'lik jele yüklenerek çekirdeksizlik açısından değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede; 1000 bç'dan büyük yukarıda tek bant çekirdeksiz, 500 bç'dan büyük aşağıda tek bant çekirdekli, 900 bç tek bant Sultani, çift bant ise çekirdeksiz heterozigot olarak ifade edilmiştir. **Barış ve Gürnil (1991)**, normal çekirdekliliğin homozigot resesif, stenospermik çekirdeksizliğin dominant ve heterozigot yapıda olduğu ve karakterin bir allel çifti tarafından kontrol edildiği belirtilmiştir.

İtalya x Reçel Üzümü kombinasyonundan 65 adet F_1 , Ribol x Güz üzümü kombinasyonundan ise 32 adet F_1 ' den yaprak örneği alınmıştır. Toplam 97 bitkiden alınan yapraklardan DNA izolasyonu yapılmış ve takiben SCC8 ve SCF27 primerleri ile çekirdeklilik ve çekirdeksizlik belirlenmiştir. Primerlerle çekirdek durumları belirlenen 97 F_1 'in 38'inde salkım görülmüş, bu 38 F_1 için primerlerle yapılan incelemelerin yanısıra morfolojik incelemelerde yapılmıştır. 97 adet F_1 'in 61 adedi çekirdeksiz olarak belirlenmiştir. İtalya x Reçel Üzümü kombinasyonuna ait 65 adet F_1 için SCC8 primeri ile yapılan uygulama sonucunda, F_1 'lerin 23'ünde aşağıda tek bant görülmüş ve çekirdekli olarak değerlendirilmiştir. 24 adedinde yukarıda tek bant görülmüş ve çekirdeksiz olarak değerlendirilmiş, 18 adedinde ise çift bant görülmüş ve çekirdeksiz heterozigot olarak değerlendirilmiştir. Çekirdeksiz heterozigot 4 adet F_1 için; tek çekirdek kuru ağırlığında en küçük değer 4,5 mg, en büyük değer 20,44 mg'dır. Yüzdürme testi sonucunda 3 F_1 'de 6 yüzen, 4 batan çekirdek, 1 F_1 'de ise 10 yüzen çekirdek olmuştur. İtalya x Reçel Üzümü kombinasyonuna ait 65 adet F_1 için SCF27 primeri ile yapılan uygulama sonucunda F_1 'lerin 42'si çekirdeksiz, 23'ü çekirdekli olarak sınıflandırılmıştır. Ribol x Güz Üzümü

kombinasyonuna ait 32 adet F₁'in SCC8 primeri ile yapılan uygulaması sonucunda 1 adedinde yukarıda tek bant çekirdeksiz, 18 adedinde çift bant çekirdeksiz heterozigot, 13'ünde aşağıda tek bant görülmüş ve çekirdekli olarak belirlenmiştir. Çekirdeksiz heterozigot 10 adet F₁ için tek çekirdek kuru ağırlığında en küçük değer 3 mg, en büyük değer 21,57 mg'dır. Yüzdürme testi sonucunda 6 adet F₁'in tüm çekirdekleri yüzmüş, 4 adedinde de yüzen çekirdek sayısı 6 ve üzeri olmuştur. Ribol x Güz Üzümü kombinasyonuna ait 32 adet F₁'in SCF27 primeri ile yapılan uygulaması sonucunda 13 adet çekirdekli, 19 adet çekirdeksiz olarak değerlendirilmiştir.

Araştırmada bulunan sonuçları kısaca özetlersek;

-Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından tescil ettirilen; Tekirdağ Çekirdeksizi, Trakya İlkeren, Barış, Reçel Üzümü, Güz Üzümü üzüm çeşitlerine ait ebeveyn analizleri, 19 SSR lokusu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre; 4 çeşit için 19 SSR lokusundaki allellerin uyumluluğu tespit edilmiştir. Fakat Barış çeşidinde 4 lokusta allellerin uyumluluğu görülmüş, 15 lokusta ise allelerde uyuma rastlanmamıştır. Bu sonuç, Barış çeşidinin ebeveyn kombinasyonun doğrulanmadığını göstermektedir.

-İtalya x Reçel Üzümü kombinasyonuna ait F₁'ler üzerinde yapılan gözlemler sonucunda, çekirdeksiz olarak belirlenenlerde, çekirdek enine göre iri çekirdekten küçüğe doğru yapılan grupta ilk grup 2,18 mm, son grup 1,67 mm, çekirdek boyuna göre yapılan grupta ise ilk grup 5,81 mm, son grup 4,36 mm olarak ölçülmüştür. Çekirdekli olarak belirlenenlerde, çekirdek enine göre iri çekirdekten küçüğe doğru yapılan grupta ilk grup 4,16 mm, son grup 3,62 mm, çekirdek boyuna göre yapılan grupta ise ilk grup 7,69 mm, son grup 5,24 mm olarak ölçülmüştür.

-Ribol x Güz Üzümü kombinasyonuna ait F₁'lerde ise çekirdeksiz olarak belirlenenlerde çekirdek eni dikkate alınarak yapılan grupta ilk grup 3,52 mm, son grup ise 0,37 mm, çekirdek boyuna göre yapılan grupta ilk grup 5,30 mm, son grup 0,71 mm olarak ölçülmüş ve sınıflandırılmıştır. Çekirdekli olarak belirlenen F₁'ler için; çekirdek enine göre yapılan grupta ilk grup 4,28 mm, son grup 3,59 mm, çekirdek boyuna göre yapılan grupta ilk grup 7,52 mm, son grup 5,21 mm olarak belirlenmiştir.

-İki kombinasyondaki çekirdeksiz bireylere ait çekirdek eni ortalama değeri 2,1 mm, çekirdek boyu ortalama değeri 4,4 mm, çekirdekli bireylere ait çekirdek eni ortalama değeri 3,9 mm ve çekirdek boyu ortalama değeri 5,9 mm olarak ölçülmüştür.

-7xM (İtalya x Reçel Üzümü) kombinasyonunda çekirdeksiz F₁'ler için çekirdek enine göre yapılan grupta, 1. grubun tek çekirdek kuru ağırlığı ortalama 13, 533 mg, son grubun ise 7,965 mg, çekirdek boyuna göre yapılan grupta 1. grubun tek çekirdek kuru ağırlığı ortalama 13,51 mg, son grubun ise 11,832 mg olmuştur.

-36xL (Ribol x Güz Üzümü) kombinasyonunda çekirdeksiz F₁'ler için çekirdek enine göre yapılan grupta 1. Grubun tek çekirdek kuru ağırlık ortalama 21,825 mg, son grubun 4,65 mg, çekirdek boyuna göre yapılan grupta ilk grubun 16,34 mg, son grubun ise 4,65 mg olmuştur.

-7xM (İtalya x Reçel Üzümü) kombinasyonunda, çekirdeksiz heterozigot 4 adet F₁ için; tek çekirdek kuru ağırlığında en küçük değer 4,5 mg, en büyük değer 20,44 mg'dır.

- 36xL (Ribol x Güz Üzümü) kombinasyonunda, çekirdeksiz heterozigot 10 adet F₁ için tek çekirdek kuru ağırlığında en küçük değer 3 mg, en büyük değer 21,57 mg'dır.

-SCC8 ve SCF27 primerleri ile melezleme çalışmalarından elde edilen F₁'lerdeki, çekirdeklilik ve çekirdeksizliğin erken dönemde tespit edilebileceği söylenebilir.

6. KAYNAKLAR

- Adam-Blondon AF, Lahogue-Esnault F, Bouquet A, Boursiquot JM, This P (2001). Usefulness of Two SCAR Markörs for Markör-Assisted Selection of Seedless Grapevine Cultivars. *Vitis*. (40) 147-155.
- Ağaoğlu YS, Ergül A (1999). Amasya Üzüm Çeşidi Ekotiplerinin RAPD Markörler ile Genetik Tanımlamaları. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. 14-17 Eylül 1999, 369-372. Kızılcahamam, Ankara.
- Akkak A, Boccacci P, Lacombe T, Botta R (2005). Relationships and Genetic Diversity of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Grown in Algeria and in Mediterranean Basin. Electronic Forum on Biotechnology in Food and Agriculture, Conference 13. International Workshop, 5- March 2005, Turin, Italy. (Poster).
- Akkurt M, Welter L, Töpfer R and Zyprian E (2007). Development of SCAR Markörs Linked to Downy Mildew (*Plasmopora viticola*) Resistance in Grapevine (*Vitis vinifera* L. and *Vitis sp.*). *Mol. Breeding*. 19:103-111.
- Almadanım MC, Baleiras-Couto MM, Pereira HS, Carneiro LC, Fevereiro P, Eiras- Dias JE, Morais-Cecilio L, Viegas W, Veloso MM (2007). Genetic Diversity of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Cultivars Most Utilized for Wine Production in Portugal. *Vitis*, 46 (3): 116-119.
- Anonim (2011). Bitkisel Üretim İstatistikleri, www.tuik.gov.tr
- Aradhya MK, Dangl GS, Prins BH, Boursiquot JM, Walker MA, Meredith CP, Simon CJ (2003). Genetic Structure and Differentiation in Cultivated Grape, *Vitis vinifera* L. *Genet. Res. Camb.* 81: 179–192.
- Arnold C, Rossetto M, McNally J, Henry HJ (2002). The Application of SSRs Characterized for Grape (*Vitis vinifera*) to Conservation Studies in *Vitaceae*. *Amer. J. of Botany*, 89 (1): 22-28.
- Arroyo-Garcia R, Martinez-Zapater JM (2000). Characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci and chloroplast microsatellites in grape *Vitis vinifera* L. *Plant & Animal Genomes VIII. Conference, Town & Country Hotel, San Diego, CA.*
- Arroyo-Garcia R, Bolling L, Ruiz-Garcia L, Ocate R, Söylemezoğlu G, Aras S, Uzun İ and Martinez-Zapater JM (2004). Chloroplasts Haplotype Distribution in *Vitis vinifera* L. Along The Mediterranean Basin and The Pattern of Domestication of Wine Grapevine Cultivars. *Plant&Animal Genomes XII. Conference. Town&Country Convention Center. San Diego, CA.*

- Arroya-Garcia R, Ruiz-Garcia L, Bolling L, Ocete R, Lopez MA, Arnold C, Ergül A, Söylemezoğlu G, Uzun HI, Cabello F, Ibanez J, Aradhya MK, Atanassov A, Atanassov I, Balint S, Cenis JL, Constantini L, Gorislavets S, Grando MS, Klein BY, Mcgovern PE, Merdinoglu D, Pejic I, Pelsy F, Primikirios N, Risovannaya V, Roubelakis-Angelakis KA, Snoussi H, Sotiri P, Tamhankar S, This P, Troshin L, Malpica JM, Lefort F, Martinez-Zapater JM (2006). Multiple Origins of Cultivated Grapevine (*Vitis vinifera* L. Ssp. *Sativa*) Based on Chloroplast DNA Polymorphisms, *Molecular Ecology* 15 (12): 3707-3714.
- Barış C, Gürnil K (1991). Üzüm Çeşitlerinde (*V. vinifera*) Çekirdeksizliğin Kalıtımı. *Bahçe* 20, 1-2, 87-100.
- Barticevic M, Zavala K, De Felice S, Valenzuela Jİ, Munoz C, Hinrichsen P (2004). Phenotypic Characterization of Microsatellite-Fingerprinted Segregants, Focused on Seedlessness and Gibberellic Acid Response on Berry Size of Grapes. *Agricultura Technica*. 64 (1): 3-16.
- Blondon A, Francoise A, Bououet A, Boursiouot M, This P, Lahogue F (2001). Usefulness of Two SCAR Markers for Marker-Assisted Selection of Seedless Grapevine Cultivars. *Vitis* 40 (3), 147-155.
- Bordelon BÇ, Moore JN (1994). Promoting Stenospermic Grape Seed Trace Development and Germination with Plant Growth Regulators. *J Amer Soc Hort Sci*. 119(4): 719–726.
- Bouquet A, Danglot Y (1996). Inheritance of Seedlessness in Grapevine (*Vitis Vinifera* L.). *Vitis*. (35): 35-42.
- Bowers JE and Meredith CP (1997). The Parentage Of A Classic Wine Grape, Cabernet Sauvignon. *Nat. Genet*. 16; 84-87.
- Boz Y (1995). Melezleme ile Elde Edilen Çekirdeksiz ve Sofralık Ümit var Çeşit Adaylarının Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Kışlık Gözlerin Buldukları Yere Göre Verimliliklerinin Saptanması. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Cain DW, Emershad RL, Tarailo RE (1983). *In ovulo* Embryo Culture and Seedling Development of Seeded and Seedless Grapes (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*. (22): 9-14.
- Cipriani G, Marrazzo T, Peterlunger E (2010). Molecular Characterization of The Autochthonous Grape Cultivars of The Region. *Vitis* 49 (1), 29-38.
- Constantini L, Monaco A, Vouillamoz JF, Forlani M, Grando MS (2005). Genetic Relationships Among Local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy), *Vitis* 44 (1): 25-34.

- Costantini L, Grando MS, Feingold S, Ulanovsky S, Mejja N, Hinrichsen P, Doligez A, This P, Cabezas JA, Martinez-Zapater JM (2007). Generation of a Common Set of Mapping Markers to Assist Table Grape Breeding. *Amer. J. Enol. Vitic.*, 58 (1): 102-111.
- Crespan M, Cancelliar S, Costacurta A, Guist M, Carraro R, Stefano R and Santangelo S (2003). Contribution to The Clearing up of Synonymies in Some Groups of Italian Grapevine Cultivars. *Proc. VIII IC on Grape, Acta Horticulturae*. No:603; 275-289.
- Çelik H (2002). Üzüm çeşit Kataloğu, Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi:2 Ankara, 137 s.
- Çelik H (2006). Üzüm çeşit Kataloğu, Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi:3 Ankara, 137 s.
- Çelik H, Ağaoğlu Y S, Fidan Y, Marasalı B ve Söylemezoğlu, G (1998). Genel Bağcılık. Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi: 1, Ankara.253s.
- Çelik S (1998). Bağcılık (Ampeloloji). Cilt: 1, Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri, 425s Tekirdağ.
- Dalbo MA, Ye GN, Weeden NF, Steinkellner H, Sefc KM, Reisch BI (2000). A Gene Controlling Sex in Grapevines Placed on a Molecular Based Genetic Map. *Genome*, 43: 333-340.
- Dangl GS, Mendum ML, Prins BH, Walker MA, Meredith CP, Simon CJ (2001). Simple Sequence Repeat Analysis of a Clonally Propagated Species: A Tool for Managing a Grape Germplasm Collection. *Genome*, 44 (3): 432-438.
- Değirmenci D, Kunter Marasalı B (2007). Üzümlerde Çekirdeksizlik ve Islah Amaçlı Kullanımı. *Alatırım*, 6 (1): 10 – 17.
- Dilli Y (2008). Ege Bölgesindeki Bazı Önemli Üzüm Çeşitleri, Tipleri ve Klonlarının Mikrosatellit (SSR) Markörleriyle Karakterizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 94s.
- Dzhambazova T, Hvarleva T, Hadjinicoli A, Tsvetkov I, Atanassov A, Atanassov I (2007). Characterization of Grapevine Rootstocks Using Microsatellite Markers. *Biotech and Biotech Equip*, 21 (1): 58-62.
- Ebadi A, Moghadam JE, Fatahi R (2009). Evaluation of 22 populations achieved from controlled crossing between some seed x seedless grapevine cultivars. *Scientia Horticulture* 119: 371-376.
- Emershad RL, Ramming DW (1984). *In ovulo* Embryo Culture of *Vitis vinifera* L. cv. Thompson Seedless. *Amer. J. Bot.* (71): 873-877.

- Escribano ES, Ortiz JM, Cenis JL (1998). Identification of Table Grape Cultivars (*Vitis vinifera* L.) by the Isoenzymes from the Woody Stems. Gen. Res. Crop Evo., 45 (2): 173-179.
- Ergül A (1994). Bağcılıkta Kombinasyon Islahı Üzerinde Araştırmalar: Bazı Şaraplık Üzüm Çeşitlerinde Tozlayıcı Çeşitlerin Döl Verimine Etkileri. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü. (Basılmamış Yüksek Lisans Tezi). 144 s., Ankara.
- Faria MA, Magalhaes R, Ferreira MA, Meredith CP, Ferreira-Monteiro F (2000). Vitis Vinifera Must Varietal Authentication Using Microsatellite DNA Analysis (SSR). J. Agric. Food Chem. 48, 1096-1100.
- Fatahi R, Zamani Z, Ebadi A, Mehlenbacher SA (2004). The Inheritance of Seedless SCC8-SCAR and SSRS Loci Alleles in Progeny of “Muscat Hamburg” x “Bidane Qermez” Grapes. Acta Horticulturae 652:329-335.
- Fidan Y (1973). Bağ Bahçe Kürsüsü Araştırma Bağında Yetiştirilen Kayırcık Üzümünün Ampelografik Vasıfları Üzerinde Araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı. 22 (3-4): 404-413.
- Fidan Y (1975a). Ziraat Fakültesi Fermantasyon Teknolojisi Kürsüsü Koleksiyon Bağında Yetiştirilen Papaz Karası, Öküz Gözü ve Merzifon Karası Üzümlerinin Ampelografik Vasıfları Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı. 24 (1-2): 67-95.
- Fidan Y (1975b). Ziraat Fakültesi Fermantasyon Teknolojisi Kürsüsü Koleksiyon Bağında Yetiştirilen Ada Karası, Kuntra ve Karalahana Üzümlerinin Ampelografik Vasıfları Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı. 24 (1-2): 156-181.
- Fidan Y (1976). Bağ Bahçe Kürsüsü Araştırma Bağında Yetiştirilen Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Vasıfları Üzerinde Araştırma. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No:590. A.Ü. Basımevi, Ankara.
- Fidan Y (1985). Özel Bağcılık. A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları 930. Ders Kitabı. 401s.
- Fidan Y, Tamer MS, Eriş A (1972). Güdül İlçesi Bağcılığı Geliştirme İmkanları ve Önemli Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Vasıfları Üzerinde Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı. 21(3-4): 495-524.
- Fidan Y, Cemali O (1974). Asmalarda Döllenme Biyolojisi Üzerine Araştırmalar, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yıllığı, 23 (3): 321-345.
- Fischer BM, Salakhudtinov I, Akkurt M, Eibach R, Edwards KJ, Töpfer R and Zyprian EM (2004). Quantitative Trait Locus Analysis of Fungal Disease Resistance Factor on A Molecular Map of Grapevine Theor. Appl. Genet. 108 (3), 501-515.

- Grando MS, Frisinghelli C, Stefanini M (2000). Genotyping of Local Grapevine Germplasm. ISHS Acta Horticulturae 528: VII. International Symposium on Grapevine Genetics And Breeding, May 2000, Montpellier, France.
- Gribaudo I, Zanetti R, Botta R, Vallania R, Eynard I (1993). In Ovulo Embryo Culture of Stenospermic Grapes. *Vitis* (32): 9-14.
- Gürnil K, Usta K, Özer C, Kebeli N (1998). Bazı Üzüm Çeşitleri Arasında Melezleme Yolu ile Çekirdeksiz Erkenci ve Son Turfanda Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Elde Edilmesi. 4.Bağcılık Sempozyumu Bildirileri: 87-90, 20-23 Ekim 1998, Yalova.
- Gürsöz S (1993). GAP Alanına Giren Güneydoğu Anadolu Bölgesi Bağcılığı ve Özellikle Şanlıurfa İlinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Nitelikleri İle Verim ve Kalite Unsurlarının Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma. Basılmamış Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Adana.
- Gupta M, Chyi YS, Romero Severson J, Owen JL (1994). Amplification of DNA Markörs From Evolutionarily Diverse Genomes Using Single Primers of Simple-Sequence Repeats. *Theor.Appl.Genet.* 89:998-1006.
- Hajos-Novak M, Hajdu E (2003). Isozyme and DNA Fingerprinting Characterization of two Hungarian wine Grape Hybrids and Their Parents. *Acta Hort.*, 603.
- Hvarleva T, Rusanov K, Lefort F, Tsvetkov I, Atanassov A, Atanassov I (2004). Genotyping of Bulgarian *Vitis vinifera* L. Cultivars by Microsatellite Analysis. *Vitis*, 43 (1): 27-34.
- Hvarleva T, Tarpomanova I, Hristova-Cherbadji M, Hristov M, Bakalova A, Atanasov A, Atanasov I (2009). Toward marker assisted selection for fungal disease resistance in sunflower. Utilization of *H. Bolanderi* as a source of resistance to downy mildew, *Biotechnol. and Biotechnol. Eq.* 23(4): 1427-1430.
- Ibañez J and Eeuwijk FA (2003). Microsatellite profiles as a basis for intellectual property in grape. *Proc. VIIIth IC on Grape, Acta Horticulturae* 603; 41-47.
- Ibanez J, Andres MT, Molino A and Borrego J (2003). Genetic Study Of Key Spanish Grapevine Varieties Using Microitcsatellite Analysis. *Am. J. Enol. Vitic.* 54 (1); 22-30.
- İlter E, Uzun İ (1988). Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özellikleri, İzoenzim Bantları Yardımıyla Teşhisleri ve Fenolojik Safhalarının Çevre Şartlarıyla İlişkileri Üzerinde Araştırmalar. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu. Proje No: TOAG-566, 183.

- İştar A (1959). Akdeniz Bölgesi ve Bilhassa İçel Bağcılığı ve Bu Bölgede Yetiştirilen Başlıca Üzüm eşitlerinin Ampelografileri ile İçel İli Bağcılığının Geliştirilme İmkanları Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 149, Ankara, 158.
- Karaağaç E (2006). Gaziantep İli Asma Gen Potansiyelinin SSR (Simple Sequence Repeats Markörlerle Moleküler Analizi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi.
- Karataş H, Değirmenci D, Velasco R, Vezzulli S, Bodur , Ağaoğlu S (2007). Microsatellite Fingerprinting of Homonymous Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Varieties in Neighboring Regions of South-East Turkey. *Scientia Hort.*, 114 (3): 164-169.
- Kısakürek H (1956). İzmir ve Manisa Bağlarında Yetiştirilen Önemli Üzüm eşitlerinde İstihsal Standardizasyonu ve Standart eşitlerin Ampelografik Vasıfları Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 88, Ankara, 119.
- Kozjak P, Korosec-Koruza Z, Javornik B (2003). Characterisation of cv. Refosk (*Vitis vinifera* L.) by SSR Markörs. *Vitis*, 42 (2): 83-86.
- Lahogue F, This P, Bouquet A (1998). Identification of Codominant SCAR Markör Linked to the Seedlessness Character in Grapevine. *Theor. Appl. Genet.*, 97: 950-959.
- Lamboy WF (1997). Prospects for DNA fingerprinting the Genova *Vitis* Genetic Resources Collection using SSR markes. *Plant & Animal Genomes V. Conference. Town & Country Hotel. San Diego, CA.*
- Leão PCS, Riaz S, Graziani R, Dangl GS, Motoike SY, Walker MA (2009). Characterization of A Brazilian Grape Germplasm Collection Using Microsatellite Markers. *Am. J. Enol. Vitic.* 60:4,517-524.
- Ledbetter CA, Burgos L (1994). Inheritance of Stenospermocarpic Seedlessness in *Vitis vinifera* L. *Journal-of-Heredity.* 85 (2): 157-160.
- Ledbetter CA, Ramming DW (1989). Seedlessness in Grapes. *Horticultural Revives*, 11:159-184.
- Ledbetter CA, Shonnard CB (1991). Berry and Seed Characteristics Associated with Stenospermocarpy in *Vinifera* Grapes. *Journal of Horticultural Science.* 66 (2): 247-252.

- Lefort F, Roubelakis- Angelakis KKA (2001). Genetic Comparison of Greek Cultivars of *Vitis Vinifera* L. By Nuclear Microsatellite Profiling. *Amer. J. Enol. Vitic.*, 52 (2): 101-108.
- Lefort F, Lally M, Thompson D and Douglas GC (1998). Morphological Traits, Microsatellite Fingerprinting And Genetic Relatedness Of A Stand Of Elite Oaks (*Q. robur* L.) at Tullynally, Ireland. *Silvae Genetica* 47:257-262.
- Levadoux L (1956). Les Populations Sauvages Et Cultivees De *Vitis Vinifera* L. *Ann Amelior Plantes*. 6: 59-118.
- Lin H, Walker MA (1998). Identifying Grape Rootstocks With Simple Sequence Repeat (SSR) DNA Markers. *Am.J.Enol.Vitic.*49,403-407.
- Maletic E, Sefc KM, Steinkellner H, Kontic JK, Pejic I (1999). Genetic Characterization of Croatian Grapevine Cultivars and Detection of Synonymous Cultivars in Neighboring Regions. *Vitis* 38 (2): 79-83.
- Maletic E, Pejic I, Kontic JK, Piljac J, Dangl G, Vokurka A, Lacombe T, Mirosevic N, Meredith C (2003). The Identification of Zindanfel on the Dalmation Coast of Croatia. *Acta Hort.*, 603: 251-254.
- Manen Jf, Bouby L, Dalnoki O, Marinval P, Turgay M, Schlumbaum A (2003). Microsatellites from Archeological *Vitis vinifera* seeds Allow a Tentative Assignment of the Geographical Origin of Ancient Cultivars. *J. Arch. Sci.*, 30: 721-729.
- Martin JP, Borrega J, Cabello F and Ortiz JM (2003). Characterization Of The Spanish Diversity Grapevine Cultivars Using Sequence-tagged microsatellite Site Markers. *Genome* 46; 1-9.
- Martin JP, Santiago JL, Pinto-Carnide O, Leal F, Martinez MC, Ortiz JM (2006). Determination of Relationship among Autochthonous Grapevine Varieties (*Vitis vinifera* L.) in the Northwest of the Iberian Peninsula by Using Microsatellite Markers. *Gen. Res. and Crop Evo.*, 53: 1255-1261.
- Mejia N, Hinrichsen P (2003). A New, Highly Assertive SCAR Marker Potentially Useful to Assist Selection for Seedlessness in Table Grape Breeding. *Acta Horticulturae* 603:559-564.
- Mejía N, Soto B, Guerrero M, Casanueva X, Houel C, Miccono MA, Ramos R, Cunff LL, Boursiquot JM, Hinrichsen M and Adam-Blondon (2011). Molecular, Genetic And Transcriptional Evidence For A Role Of *Vvagl11* in Stenospermocarpic Seedlessness in Grapevine. *BMC Plant Biology* 2011, <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/11/57>.

- Merdinoğlu D, Wiedeman-Merdinoglu S, Coste P, Dumas V, Haetty S and Butterlin G (2003). Genetic Analysis Of Downy Mildew Resistance Derived From *Muscadinia Rotundifolia*. ISHS Acta: VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding. Horticulturae 603;451-456.
- Merin U, Rosenthal I, Lavi U (1983). A Chemical Method for the Assessment of Grapes According to Their Seed Content. *Vitis* (22): 306-310.
- Moncada X and Hinrichsen P, 2007. Limited Genetic Diversity Among Clones of Red Wine Cultivar ‘Carmenere’ as Revealed by Microsatellite and AFLP Markers. *Vitis*, 46 (4): 174-180.
- Montaner C, Martín JP, Casanova J, Martí C, Badia D, Cabello F and Ortiz JM (2004). Application of Microsatellite Markers 146 for the Characterization of Parraleta an Autochthonous Spanish Grapevine Cultivars. *Scientia Hort.*, 101: 343-347.
- Narvaez Hc, Castro Pmh, Valenzuela Bj, Hinrichsen Rp (2001). Patrones Genéticos de los Cultivares de Vides de Vinificación más Comúnmente Usados en Chile Basados en Marcadores de Microsatélites. *Agric. Tec.*, 61 (3): 249-261.
- Núñez Y, Fresno J, Torres V, Ponz F and Gallego FJ (2004). Practical Use Of Microsatellite Markers To Manage *Vitis Vinifera* Germplasm: Molecular Identification Of Grapevine Samples Collected Blindly In D.O. “El Bierzo” (Spain). *Journal Of Horticultural Science&Biotechnology*. 79 (3); 437-440.
- Odabaş F (1984). Iğdır Ovası Bağcılığı ve Burada Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. *Doğa*. 8 (1): 57-64.
- Olmo HP, Barris C (1973). Obtention de Raisins de Table Pernes. O.I.V. Symposium International sur les Raisins de Table. Limassol. Chypre. 16-21. Juillet. Paper No:20,17p.
- Ortiz JM, Martín JP, Borrego J, Chavez J, Rodríguez I, Muñoz G and Cabello F (2004). Molecular and Morphological Characterization of a *Vitis* Gene Bank for the Establishment of a Base Collection. *Gen. Resour. Crop. Evolution*, 51 (4): 403-409.
- Pearson HM (1932). Parthenocarpy and Seed Abortion in *Vitis vinifera*. *Proc. Amer. Soc.Hort. Sci.* 29:169.
- Perl A, Sahar N, Spiegel-Roy P, Gavish S, Elyasi R, Orr E, Bazak H (2000). Conventional and Biotechnological Approaches in Breeding Seedless Table Grapes. *Acta Horticulturae* 528: 613-618.
- Pollefeys P, Bousquet J (2003). Molecular Genetic Diversity Of The French-American Grapevine Hybrids Cultivated In North America. *Genome* 46: 1037-1048.
- Ramming DW, Ledbetter CA, Tarailo R (1990). Hybridization of Seedless Grapes. *Vitis* (special issue):439-444.

- Reale S, Pilia F, Angiolillo A (2002). Molecular Characterization of an Autochthonous Grape Cultivar of Central Italy. Proceedings of the XLVI Italian Society of Agricultural Genetics- SIGA Annual Congress Giardini Naxos, Italy, 18-21 September.
- Reddy M, Sarla N, Siddiq EA (2002). Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Polymorphism and Its Application in Plant Breeding. *Euphytica* 128:9-17.
- Regner F, Wiedeck E, Staldbauer A (2000a). Differentiation and Identification of White Riesling Clones by Genetic Markers. *Vitis* 39 (3): 103-107.
- Regner F, Staldbauer A, Eisenheld C, Kaserer H (2000b). Consideration About The Evolution of Grapevine and The Role of Traminer. Proc. VIIth Int. Symp. On Grapevine Genetics and Breeding. *Acta Hort.* 528: 177-179.
- Regner F, Staldbauer A, Eisenheld C (2001). Molecular Markers for Genotyping Grapevine and for Identifying Clones of Traditional Varieties. Proc. Int. Symp. On Molecular Markers. *Acta Hort.* 546: 331-342.
- Riaz S, Dangl GS, Edwards KJ. and Meredith CP (2004). A Microsatellite Marker Based Framework Linkage Map of *Vitis vinifera* L. *Theor. Appl. Genet.*, 108: 864-872.
- Riaz S, Tenschler AC, Smith BÇ, Ng DA, Walker MA (2008). Use of SSR Markers to Assess Identity, Pedigree, and Diversity of Cultivated Muscadine Grapes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 133 (4):559-568.
- Sabır A (2008). Bazı Üzüm Çeşit Ve Anaçlarının Ampelografik Ve Moleküler Karakterizasyonu (Doktora Tezi), Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Sánchez-Escribano, EM Martín, JP Carreño, J Cenis, JL (1999). Use of Sequence- Tagged Microsatellite Site Markers for Characterizing Table Grape Cultivars. *Genome* 42: 87-93.
- Santana JC, Hidalgo E, de Lucas AI, Recio P, Ortiz JM, Martín JP, Yuste J, Arranz C, Rubio JA (2007). Identification and Relationships of Accessions Grown in The Grapevine (*Vitis Vinifera* L.) Germplasm Bank of Castilla Y León (Spain) and The Varieties Authorized in the VQPRD Areas of The Region by SSR-marker analysis. *Genet Resour Crop Evol*, 55: 573-583.
- Santiago JL, Boso S, Gago P, Villaverde AV and Martínez Martín MC (2007). La Caracterización Molecular y Ampelográfica de Clones de 'Albariño', 'Savagnin Blanc' y 'Caiño Blanco' (*Vitis vinifera* L.) Demuestra que son Cultivares Diferentes. *Spanish J. Agric. Research*, 3: 333-340.
- Schneider A, Carra A, Boccacci P, Akkac A, Botta R (2001). Verifying Synonymies Between Grape Cultivars from France and Northwestern Italy Using Molecular Markers. *Vitis* 40 (4): 197-203.
- Scott KD, Ablett EM, Lee LS, Henry RJ (2000). AFLP Markers Distinguishing an Early Mutant of Flame Seedless Grape. *Euphytica*. 113:245-249.

- Sefc KM, Steinkellner H, Wagner HW, Glössl J, Regner F (1997). Application of Microsatellite Markers to Parentage Studies in Grapevine. *Vitis* 36 (4):179-183.
- Sefc KM, Guggenberger S, Regner F, Lexer C, Glössl J, Steinkellner H (1998b). Genetic Analysis of Grape Berries and Raisins Using Microsatellite Markers. *Vitis* 37 (3): 123-125.
- Sefc KM, Regner F, Glössl J, Steinkellner H (1998a). Genotyping of Grapevine and Rootstock Cultivars Using Microsatellite Markers. *Vitis* 37 (1): 15-20.
- Sefc KM, Lopes MS, Lefort F, Botta R, Angelakis KAR, Ibanez, J, Pejic I, Wagner HW, Glössl J and Steinkellner H (2000). Microsatellite Variability in Grapevine Cultivars from Different European Regions and Evaluation of Assignment Testing to Assess the Geographic Origin of Cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 100 (3-4): 498-505.
- Sefc KM, Lefort F, Grando MS, Scott KD, Steinkellner H, Thomas MR (2001). Microsatellite Markers for Grapevine: A state of the art. In "Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine". Roubelakis-Angelakis KA. ed., 1-29, Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- Sladonja B, Poljuha D, Plavsca T, Persurić D and Crespan M (2007). Autochthonous Croatian Grapevine Cultivars Jarbola, Molecular, Morphological and Ecnological Characterization. *Vitis*, 46 (2): 99-100.
- Söylemezoğlu G, Ağaoğlu YS, Marasalı B, Ergül A, Çalışkan M, Türkben C (1998). Üzüm Çeşitlerinin Yaprak Kökenli Kateşol Oksidaz (CO), Peroksidaz (PER) ve Esteraz (EST) İzoenzimlerinden Yararlanılarak Tanımlanmaları. IV. Bağ. Semp., Yalova, 138-144.
- Spiegel-Roy P, Sahar N, Baron Y, Sahar N (1990). Inheritance of Seedlessness in Seeded xSeedless Progeny of *Vitis vinifera* L. *Vitis* (29): 79-83.
- Staraz MD, Bandinelli R, Boselli M, This P, Borsicquod JM, Laucou V, Lacombe T and Vares, D (2007). Genetic Structuring and Parentage Analysis for Evolutionary Studies in Grapevine: Kin Group 150 and Origin of the Cultivar Sangiovese Revealed. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 132 (4): 514-524.
- Stout AB (1936). Seedlessness in Grapes. Technical Bulletin, No:238.
- Striem MJ, Ben-Hayyim G, Spiegel-Roy P (1996). Identifying Molecular Genetic Markers Associated with Seedlessness in Grape. *J. Amer.Soc. Hort. Sci.* 121(5): 758-763.
- Striem MJ, Spiegel-Roy P, Baron I, Sahar N (1992). The Degrees of Development of the Seed Coat and the Endosperm, as Separate Subtraits of Stenospermocarpic Seedlessness in Grapes. *Vitis* (31): 149-155.

- Şelli F, Bakır M, İnan G, Aygün H, Boz Y, Yaşasın AS, Özer C, Akman B, Söylemezoğlu G, Kazan K, Ergül A (2007). Simple Sequence Repeat-Based Assessment of Genetic Diversity in ‘Dimrit’ and ‘Gemre’ Grapevine Accessions from Turkey. *Vitis*, 46 (4): 182-187.
- This P, Lahogue F, Adam-Blondon AF, Doligez A and Bouquet A (2000). Towards Marker-Assisted Selection for Seedlessness in Grapevine. VII Int’l Symp.on Grapevine Genetics and Breeding.Hort.528.
- This P, Jung A, Boccacci P, Borrego J, Botta R, Costantini L, Crespan M, Dangl GS, Eisenheld C, Ferreira-Monteiro F, Grando S, Ibanez J, Lacombe T, Laucou V, Magalhaes R, Meredith CP, Milani N, Peterlunger E, Regner F, Zulini L, Maul E (2004). Development of a Standard Set of Microsatellite Reference Alleles for Identification of Grape. *Theor. Appl. Genet.*, 109 (7): 1448-1458.
- Thomas MR, Scott NS (1993). Microsatellite Repeats in Grapevine Reveal DNA Polymorphisms When Analysed as Sequence-Tagged Sites (STSs). *Theor. Appl.*
- Thomas MR, Cing Cain P and Scott NS (1994). DNA Typing Of Grapevines: A Universal Methodology And Database for Describing Cultivars And Evaluating Genetic Relatedness. *Plant mol. Biol*: 25;939-949.
- Türkben C, Söylemezoğlu G, Ergül A, Ağaoğlu YS, (2002). Isoenzymatic Polymorphism Differentiation of Turkish Grapevine Cultivars by Poliacrilamide Gel Elctrophoresis. *Biotech.&Biotech Equip.*, 16 (1): 148-151.
- Uslu İ, Samancı H (1998). Melezleme İle Yeni Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Elde Edilmesi.4.Bağcılık Sempozyumu Bildirileri: 17-23, 20-23 Ekim 1998, Yalova.
- Utomo HS, Linscombe SD (2009). Current patents and future development underlying marker-assisted breeding in major grain crops. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences*, 3, 53-62 53 1872-2156. Bentham Science Publishers Ltd.
- Uzun Hİ, Sarıkaya İ (1996). Bazı Melez Üzüm Çeşitlerinde Ve Ebeveynerinde İzoenzim Bant Deseni Varyasyonları Üzerinde Çalışmalar. *Ankara Üniv. Zir. Fak. Derg.* 9:1-9.
- Velasco R, Zharkikh A, Troggio M, Cartwright DA, Cestaro A (2007). A High Quality Draft Consensus Sequence Of The Genome Of A Heterozygous Grapevine Variety. *PLoS ONE* 2(12): e1326. Doi:10.1371/journal.pone.0001326.
- Vignani R, Bowers JE, Meredith CP (1996). Mikrosatellite DNA polymorphism analysis of clones of *Vitis vinifera* “Sangiovese”. *Scientia Horticulturae* 65: 163–169.
- Vouillamoz JF, Grando MS, Ergül A, Ağaoğlu YS, Tevzadze G, Meredith CP and McGovern P (2003). ‘Is Transcaucasia The Cradle Of Viticulture’ DNA Might Provide An Answer’. Communication For The III: Symp. Of The International Association Of History and Civilization Of The Vine and The Wine, Funchal (Madeira) October 5-8,2003.

- Vouillamoz JF, McGovern PE, Ergül A, Söylemezoğlu G, Tevzadze G, Meredith CP, Grando MS (2006). Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genetic Resources* 4(2): 144–158.
- Vouillamoz JF, Monaco A, Costantini L, Stefanini M, Scienza A and Grando MS (2007). The parentage of 'Sangiovese', the most important Italian wine grape. *Vitis*, 46 (1): 19-22.
- Walker MA, Boursiquot JM (1992). Ampelographic and Isoenzyme Data Correcting the Misnaming of the Grape Rootstock SO4 at the University of California, Davis. *Amer. J. Enol. Vitic.* 43 (3): 261-265.
- Weinberger JH, Harmon FN (1964). Seedlessness in *Vinifera* Grapes. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 85:270-274.
- Welter LJ, Göktürk-Baydar N, Akkurt M, Maul E, Eibach R, Töpfer R and Zyprian E (2007). Genetic Mapping And Localisation Of Quantitative Trait Loci affecting Fungal Disease Resistance And Leaf Morphology in Grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Mol. Breed.* 20:359-374.
- Zohary D and Hopf M (2000). *The Domestication Of The Plants In The Old World: The Origin And Spread Of Cultivated Plants In West Asia, Europe And Nile Valley*, 3rd Edn. Oxford University Press, Oxford.

ÖZGEÇMİŞ

20.01.1974 tarihinde İstanbul'da doğdu. 1991 yılında Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne girdi ve 1995 yılında Ziraat Mühendisi unvanı ile mezun oldu. 1997-2001 yılları arasında Milli Eğitim Bakanlığı'na bağlı olarak çalıştı. 2001 yılında Tarım Bakanlığı'na geçerek Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nde çalışmaya başladı. 2002-2005 yılları arasında Trakya Üniversitesi'nde 'Yüksek Lisans' eğitimi aldı. Bağcılıkta Meristem Kültürü, Embriyo Kültürü ve Islah alanlarında çalıştı.

Evli ve bir kız çocuk annesidir.