



## Bazı Elma (*Malus domestica* Borkh.) Genotiplerinin SSR'lara (Simple Sequence Repeats) Dayalı Genetik Karakterizasyonu

Ali Emre AKPINAR<sup>1</sup> Serdar ALTINTAŞ<sup>2,3</sup> Sümeyye ALTUNOK<sup>3</sup>  
Mehmet Emin AKÇAY<sup>4</sup> Merve Dilek KARATAŞ<sup>5,3</sup> Ali ERGÜL<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Sivas

([orcid.org/0000-0002-9799-3197](https://orcid.org/0000-0002-9799-3197))

<sup>2</sup>Siirt Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Siirt

([orcid.org/0000-0001-6324-5265](https://orcid.org/0000-0001-6324-5265))

<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara

([orcid.org/0000-0002-9004-0617](https://orcid.org/0000-0002-9004-0617)); ([orcid.org/0000-0003-0070-0886](https://orcid.org/0000-0003-0070-0886))

<sup>4</sup>Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yalova

([orcid.org/0000-0002-6992-782X](https://orcid.org/0000-0002-6992-782X))

<sup>5</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Van

([orcid.org/0000-0002-1076-3648](https://orcid.org/0000-0002-1076-3648))

\*e-posta: [ergul@ankara.edu.tr](mailto:ergul@ankara.edu.tr)

Alındığı tarih (Received): 25.10.2017

Online Baskı tarihi (Printed Online): 06.12.2018

Kabul tarihi (Accepted): 27.11.2018

Yazılı baskı tarihi (Printed): 31.12.2018

**Öz:** Türkiye, alan ve üretim potansiyelinin yanında, zengin bir elma genetik çeşitliliğine sahiptir. Ancak, farklı isimlendirmelerden ve çeşit içi varyasyonlardan kaynaklanan çeşit karmaşası yaşanmaktadır. Bu nedenle, yetiştiricilikte kullanılmayan bazı eski elma çeşitlerinin kaybolma riski görülmektedir. Ülkemiz bitki gen kaynaklarının tanımlanması amacıyla; meyve türlerindeki tanımlamaların morfolojik özelliklere dayandığı, DNA düzeyinde yürütülen çalışmalar ise sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Bu çalışmada, söz edilen olumsuzlukların azaltılması amacıyla, "Atatürk Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü-Yalova" elma koleksiyonundan alınan 35 yerli ve 2 referans elma genotipi, 17 SSR (Simple Sequence Repeats) markör kullanılarak tanımlanmıştır. Elde edilen verilerde benzer ve sinonim genotiplere rastlanmazken, Tavşanbaşı, Tokat, Yaz Elması ve Demir gruplarında homonim durum tespit edilmiştir. CH01d08 lokusu, tanımlama olasılığı en yüksek lokus olarak göze çarparken, genotipler arası en yüksek benzerlik oranı %94 olarak tespit edilmiştir. Ülkemiz elma kaynaklarının SSR düzeyinde tanımlanmasına yönelik, gerçekleştirilen bu çalışma bulguları, ileride yürütülecek diğer çalışmalara ön veri oluşturacaktır. Aynı zamanda, bitki genetiği (genetik haritalama, gen klonlama vb.), ıslahı (kombinasyon ıslahında kullanılacak olan ebeveynlerin genetik benzerliklerinin belirlenmesi, mevcut çeşitlerde ana-baba-hibrid olası ilişkilerinin ortaya çıkarılması vb.) ve yetiştiricilik (bitkilerin tanısı ve DNA düzeyinde kontrol vb.) alanlarında katkılar sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Elma (*Malus domestica*), SSR, moleküler tanımlama, Türkiye

## Genetic Characterization of Some Apple (*Malus x domestica* Borkh.) Genotypes Based on SSRs (Simple Sequence Repeats)

**Abstract:** Turkey has a rich apple genetic diversity besides its area and production potential. However, there is a kind of confusion arising from different naming and variety variations. For this reason, some old apple varieties which are not used in cultivation face the danger of disappearance. However, it seems that characterization of the fruit species are based on the morphological characteristics and the studies carried out at the DNA level remain limited to define the plant gene sources in our country. In this study, 35 domestic and 2 reference apple genotypes from the "Atatürk Horticultural Research Institute-Yalova" apple collection were identified using 17 SSR (Simple Sequence Repeats) markers in order to reduce the mentioned negativity. Homologous status was determined in Tavşanbaşı, Tokat, Yaz Elması and Demir groups while similar and synonymous genotypes were not found in the obtained data. The CH01d08 locus was found to be the locus with the highest probability of identification, while

the highest similarity rate between genotypes was found to be 94%. The SSR data obtained from this work will provide preliminary data for future work of apple germplasm. Moreover, the obtained data will contribute to plant genetics, plant breeding (identification of genetic similarities of parents to be used in combination breeding, detection of parent-hybrid possible relationships in existing varieties) and plant growing.

**Keywords:** Apple (*Malus domestica*), SSR, molecular characterization, Turkey

## 1. Giriş

Türkiye birçok bitki türünün yetiştiriciliği açısından, sahip olduğu ekolojik koşullar ile zengin bir gen potansiyeline sahiptir. Bu türlerden en önemlilerinden biri olan elma (*Malus domestica*) yetiştirme alanları, üretim miktarı ve ihracattaki payı ile önemli bir meyve olarak dikkat çekmektedir. *Rosaceae* familyasının *Pomoideae* alt familyasında yer alan elma, vejetatif çoğaltılmakla birlikte, doğal gen akışı sonucu çeşitliliği oldukça fazla olan türlerden birisidir.

Dünya geneli elma üretimi 5 428 069 ha'lık alanda 76.4 milyon tondur. Dünyada en fazla elma üretiminin yapıldığı ülkeler ise; Çin, ABD, Hindistan, Türkiye'dir (Anonim, 2016). Türkiye'nin 2016 yılı elma üretimi 2 925 828 ton ve üretim alanı 108 600 ha'dır. Yumuşak çekirdekli meyve üretimimizin %83.59'unu elma oluşturmaktadır (Anonim 2016).

Ülkemizde elma üretiminin coğrafik dağılımına bakıldığında, Marmara Bölgesi (Bursa, Balıkesir ve Çanakkale illeri); Karadeniz-İç Anadolu geçit bölgesi (Kocaeli, Kastamonu, Amasya, Tokat illeri); Akdeniz-İç Anadolu geçit bölgesi (Isparta, Burdur, Denizli illeri) ve kurak ekolojik koşullara sahip İç Anadolu Bölgesi (Karaman, Niğde, Nevşehir, Konya illeri) elma yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı merkezleri oluşturmaktadır (Özçağırın ve ark. 2004).

Diğer taraftan koleksiyonlardaki gen kaynaklarının zenginliğini korumada veya ıslah amaçlı değerlendirmede, morfolojik özelliklere bağlı tanımlamaların son derece yetersiz kaldığı bilinmektedir. Ancak bilindiği üzere bu tür tanımlamaların yetersiz kaldığı, bu amaçla son yıllarda DNA'ya dayalı tanımlamaların ön plana çıktığı görülmektedir. Birçok ülkede elma gen kaynaklarının moleküler tanımları, diğer bazı teknikler (RAPD-Random Amplified Polymorphic DNA, AFLP-Amplified Fragment Length Polymorphism vb.) kullanılmakla birlikte temel

olarak SSR (Simple Sequence Repeats, mikrosatellit) markörlere dayalı olarak sürdürülmektedir.

Doğal seleksiyonla, yabancı formlardan kültür bitkilerinin gelişimi ve daha sonraki aşamalarda kültür bitkileri arasındaki yabancı tozlanma ve melezlenmeler, elma genomuna yüksek oranda bir heterozigotluk kazandırmıştır (Özbek 1978). Bölgede yer alan çeşitliliğin bir sonucu olarak, aynı çeşidin değişik isimlerle yetiştirilmesi yanında, farklı bazı çeşitlere aynı ismin verildiği, henüz tanımlanmamış ve numaralarla isimlendirilmemiş çeşitlerin varlığı, yine çeşit içi varyasyonlardan dolayı bir çeşit karmaşasının yaşandığı görülmektedir. Ayrıca yetiştiricilikte bazı elma çeşitlerinin ön plana çıkması sonucu, bölge koşullarına adapte olmuş ve yetiştiriciliği yapılan çeşitlerin giderek kaybolma riski bulunmaktadır. Bu nedenle, elma çeşitlerinin hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlanması elma yetiştiriciliği, ıslahı, endüstrisi, uluslararası veri paylaşımı vb. açısından büyük önem taşımaktadır.

Ülkemiz milli elma koleksiyonundaki elma gen kaynaklarımızın toplu tanımlanmasının çalışmalarına ek olarak Burak ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen araştırmada; 35 yerli ve 2 referans genotipin, 17 SSR (Simple Sequence Repeat) lokusundaki allel büyüklükleri (DNA kimlik verileri) tespit edilirken, çeşitler arası genetik ilişkiler, homonim ve sinonim durumları belirlenmiştir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Araştırmada Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü parsellerinde yer alan 35 yerli elma genotipi ve sonuçların laboratuvarlar arası karşılaştırılabilmesi amacıyla da Florina ve Goden Delicious çeşitleri referans olarak kullanılmıştır (Çizelge 1). DNA izolasyonu için sürgün ucu ve genç yapraklar kullanılmıştır.

**Çizelge 1.** Elma çeşitlerinin bazı lokuslardaki allel büyüklükleri (bç)**Table 1.** Allele sizes of the some loci of apple varieties (bp)

No	Genotip	CH02b03b	CH01f02	CH01h01	CH01h10	CH05e03
1	E-70	99:99	170:204	109:125	98:108	162:162
2	E-42	97:97	170:194	117:117	98:98	172:172
3	E-71	93:109	178:208	107:129	98:100	162:202
4	E-40	99:107	178:182	117:117	92:98	190:190
5	E-45	95:95	178:182	109:117	98:98	162:162
6	Batum	95:99	206:206	115:131	92:98	162:182
7	Demir (2562)	79:99	182:188:208	115:115	96:104	148:180:200
8	Demir (2486)	79:99	182:188:208	115:115	96:104	148:180:200
9	Demir	79:99	182:188	115:115	96:104	148:180:200
10	Demir (2514)	97:97	170:194	115:119	98:102	190:190
11	Susuz Elma	93:99	170:184	111:117	100:100	190:190
12	Tavşanbaşı (2531)	95:99	188:188	117:117	98:116	158:172
13	Güz Tavşanbaşı	95:99	170:182	117:117	96:100	158:158
14	Yaz Tavşanbaşı	97:97	170:192	115:115	102:102	158:162
15	42-KP-1 (Mayhoş Tavşanbaşı)	97:97	172:192	117:117	98:102	158:184
16	42-C-3 (Tatlı Tavşanbaşı)	97:101	184:192	117:117	100:100	162:190
17	Tokat-1	81:99	170:172	109:119	98:98	172:190
18	Tokat-2	95:95	170:194	115:115	100:100	158:162
19	Tokat-4	81:99	168:172	109:109	98:98	166:180
20	Yaz Elması (2384)	79:91:97	180:180	113:117:131	92:98	162:168
21	Yaz Elması (2484)	97:97	170:182	115:115	92:98	160:160
22	Yaz Elması(2563)	79:91:97	180:180	113:131	92:100	162:166
23	42-A-1 (Yaz Elması)	75:95	188:206	119:119	98:110	188:188
24	372-E	79:95	172:182	111:131	98:98	158:190
25	383-E	99:99	170:182	117:117	98:98	162:188
26	384-E	91:95	172:194	115:115	98:98	168:172
27	385-E	91:97	180:206	119:119	98:98	158:162
28	392-E	81:91:97	180:188:206	117:131	92:98	170:192
29	473-E	95:95	182:204	131:131	92:98	162:162
30	496-E	81:91:97	180:188:204	119:131	92:98	170:190
31	542-E	97:97	170:182	115:115	92:98	160:160
32	546-E	95:95	188:208	117:117	100:100	162:188
33	Kalkandelen	81:91:97	180:188:206	117:131	92:98	170:192
34	Uzun Yorma	95:95	192:206	115:131	92:98	160:174:182
35	Yenişehir	95:95	170:172	119:119	98:98	162:190
36	Florina*	95:99	182:206	117:131	92:112	162:188
37	Golden Delicious*	79:99	168:178	117:117	92:110	176:182

\*: Referans çeşitler

**2.2. Yöntem**

Araştırma DNA izolasyonu ve ölçümleri, PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR, Kapiller elektroforez ve Allel görüntülerinin alınması, Genetik analizler olmak üzere 4 aşamada gerçekleştirilmiştir.

**2.2.1. DNA İzolasyonu ve Ölçümleri**

Araştırmada çalışılan 37 elmanın DNA izolasyonları Lefort ve ark. (1998) yöntemine göre yapılırken, DNA kalite ve miktar ölçümleri %1'lik jel ve Nanodrop ND-1000 spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır.

### 2.2.2. PCR Reaksiyonlarının Hazırlanması ve PCR

PCR reaksiyonu; 15–200 ng DNA, 5 pmol işaretlenmiş ileri (forward) primer, 5 pmol floresan ters (revers) primer, 0.5 mM toplam dNTP, 0.5 ünite Go Taq DNA Polymerase (Promega) (1.5 mM MgCl<sub>2</sub> içermekte), 3 µl 5x buffer olmak üzere toplam 15 µl'de gerçekleştirilmiştir.

PCR reaksiyonu için kullanılan PCR programı:

1. 94 °C' de 3 dk,
  2. 94 °C' de 1 dk
  3. 50 – 64 °C'de 1 dk
  4. 72 °C' de 2 dk
  5. 72 °C' de 10 dk
- (2-4) 35 döngü

olacak şekilde uygulanmıştır.

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

#### SSR lokuslarına ait primerler:

Genetik kimlik tanıları amacı ile; toplam 17 SSR lokusu kullanılmıştır. İleri primerler D4 (mavi), D3 (yeşil) ve D2 (siyah) (Proligo, Fransa) renklerde floresan işaretlenmiş olup primerlere ait baz dizileri, kullanılan floresan boya değerleri Çizelge 2'de verilmiştir.

**Çizelge2.** SSR lokuslarına ait primerlerin baz dizileri

**Table 2.** Base sequences of SSR loci.

Lokus adı	Primer dizileri(5'...3')	Lokus adı	Primer dizileri(5'...3')
CH01d08-F*	CTCCGCCGCTATAACACTTC	CH02c06-F*	TGACGAAATCCACTACTAATGCA
CH01d08-R	TACTCTGGAGGGTATGTCAAAG	CH02c06-R	GATTGCGCGCTTTTTAACAT
CH01e12-F*	AAACTGAAGCCATGAGGGC	CH02d11-F*	AGCGTCCAGAGCAACAGC
CH01e12-R	TTCCAATTCACATGAGGCTG	CH02d11-R	AACAAAAGCAGATCCGTTGC
CH01f02-F*	ACCACATTAGAGCAGTTGAGG	CH02d12-F*	AACCAGATTTGCTTGCCATC
CH01f02-R	CTGGTTTGTTCCTCCAGC	CH02d12-R	GCTGGTGGTAAACGTGGTG
CH01h01-F*	GAAAGACTTGCAGTGGGAGC	CH02f06-F*	CCCTCTCAGACCTGCATATG
CH01h01-R	GGAGTGGGTTTGAAGAAGTT	CH02f06-R	ACTGTTTCCAAGCGATCAGG
CH01h10-F*	TGCAAAGATAGGTAGATATATGCCA	CH03g07-F*	AATAAGCATTCAAAGCAATCCG
CH01h10-R	AGGAGGGATTGTTTGTGCAC	CH03g07-R	TTTTTCAAATCGAGTTTCGTT
CH02b03b-F*	ATAAGGATACAAAAACCCTACACAG	CH04e03*	TTGAAGATGTTGGCTGTGC
CH02b03b-R	GACATGTTTGGTTGAAAATTG	CH04e03	TGCATGTCTGTCTCCTCCAT
CH02b10-F*	CAAGGAAATCATCAAAGATTCAAG	CH04g10*	CAAAGATGTGGTGTGAAGAGGA
CH02b10-R	CAAGTGGCTTCGGATAGTTG	CH04g10	GGAGGCAAAAAGAGTGAACCT
CH02b12-F*	GGCAGGCTTTACGATTATGC	CH05e03*	CGAATATTTTCACTCTGACTGGG
CH02b12-R	CCCACTAAAAGTTCACAGGC	CH05e03	CAAGTTGTTGTACTGCTCCGAC
		COL*	AGGAGAAAGGCGTTTACCTG
		COL	GACTCATTCTTCGTCGTCCTG

\*: Floresan işaretli

### 2.2.3. Kapiller Elektroforez ve Allel Görüntülerinin Alınması

Kapiller elektroforez amacıyla Beckman CEQ™ 8800 Genetik Analiz Sistemi kullanılmıştır. PCR ürünleri işleme

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.

#### 2.2.4. Genetik Analizler

Araştırmadaki 2 referans çeşit dahil toplam 37 genotipin genetik analizleri Şelli ve ark. (2007)'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Buna göre; genetik parametreler her lokusa ait allel sayısı (n), allel frekansı, beklenen heterozigotluk (He), gözlenen heterozigotluk (Ho) oranı, sessiz (null) allel frekansı (r) ve tespit olasılığı (Probability of Identity) (PI) IDENTITY 1.0 (Wagner ve Sefc 1999) yazılım programı ile, benzerlik oranı indeksi ise Microsat (Minch ve ark. 1995) programı

kullanılarak tespit edilmiştir. Genotiplere ait dendrogram NTSYS (versiyon 2.02g, Exeter Software, Setauket, NY) yazılım programıyla oluşturulmuş ve görüntülenmiştir. Dendrogram için UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means) yöntemi kullanılmıştır.

### 3. Bulgular ve Tartışma

#### 3.1. SSR Analizleri

Lokus-allel profillerinin kapiller elektroforezdeki farklı görünüşlerine göre her lokustaki allel büyüklükleri pik verisi olarak sistemin fragment analiz programı ile belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan 12 SSR lokusundan bazı SSR lokuslarına ait allel büyüklükleri Çizelge 1'de ve bazı genotiplerde görülen üçlü allel durumları ise Çizelge 3'de verilmiştir.

**Çizelge 3.** Üçlü allel tespit edilen genotipler ve allellerin lokuslara göre dağılımı

**Table 3.** Distribution of genotypes and alleles in which triple allele were detected according to loci.

No	Genotip	Lokus																
		CH02b03b	CH01f02	CH01h01	CH01h10	CH05e03	CH02a11	CH01d08	CH03g07	CH02a12	CH04e03	CH01e12	CH02b12	CH04g10	CH02b10	CH02f06	COL	CH02c06
3	E71																	
7	Demir (2562)		■			■						■			■	■		■
8	Demir (2486)		■			■									■	■		■
9	Demir					■									■	■		■
18	Tokat-2												■					
20	Yaz Elması (2384)	■		■					■			■						
21	Yaz Elması (2484)												■					
22	Yaz Elması (2563)								■									
25	383-E												■					■
28	392-E	■															■	
29	473-E																	
30	496-E	■	■														■	
31	542-E												■					
33	Kalkandelen	■	■										■					
34	Uzun Yorma					■						■						
36	Florina																	
37	Golden Delicious																	

37 elma genotipinin her bir SSR lokusundaki analizleri sonucu, lokuslardaki genetik parametreler; allel sayıları, beklenen-gözlenen

heterozigotluk oranları, tespit olasılıkları ve sessiz (null) allel frekansları Çizelge 4'de sunulmuştur.

Türkiye elma koleksiyonlarında bulunan 35 yerel ile 2 referans elmanın 17 SSR lokusu ile analizi sonucu toplam 207 polimorfik allel belirlenmiştir. Çizelge 4’de allel sayılarına bakıldığında en yüksek allel sayısı CH02b10, CH02c06 ve CH05e03 lokuslarında 17 olarak elde edilirken, bu lokusları 14 allelle CH01d08 ve 13’er allelle CH01f02, CH02b12, CH02d11 ve CH02d12 lokusları izlemektedir. Ortalama allel sayısı 12.17 olup, allel büyüklükleri Çizelge 4’de sunulmuştur. Beklenen heterozigotluk (He) 0.839 ortalama ile, 0.727 (CH01h10) ile 0.922(CH02c06) arasında değişirken, gözlenen heterozigotluk (Ho) ise 0,727 ortalama ile, 0,432 (CH01h01) ile 0,918 (Ch01d08) arasında belirlenmiştir. Tanımlama olasılığı (PI) 0,021 (CH02c06) ile 0,159 (CH01h10) arasında değişmiştir (Çizelge 4).

Genel olarak allelerin lokuslardaki dağılımlarına (frekanslarına) bakıldığında, en yüksek allel frekansları; CH01d08’de 272,

CH01e12’de 249, CH01f02’de 170-182, CH01h01’de 117, CH01h10’da 98, CH02b03b’de 95, CH02b10’da 132, CH02b12’de 127-139, CH02c06’da 250, CH02d11’de 128, CH02d12’de 177, CH02f06’da 156, CH03g07’de 118, CH04e03’de 197, CH04g10’da 132, CH05e03’de 162 ve COL’ da 232 olarak belirlenmiştir.

SSR’ a dayalı tanımlama araştırmalarında, veri paylaşımı yüksek heterozigotluk sahte allel olasılığının düşürülmesi vb. amaçla uygun lokus seçimi büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla, değişik türlerde (üzüm, kakao, zeytin vb.) “core set” olarak adlandırılan SSR lokusları belirlenmektedir. Ayrıca referans çeşitlerin ve bunlara ait allel değerlerinin belirlenmesi uluslararası daha iyi paylaşımında son derece önem taşımaktadır. Bu amaçla araştırmadaki SSR lokusları ve referans çeşitler uluslararası veri paylaşımına uygun olarak seçilmiştir.

**Çizelge 4.** Çalışılan lokuslardaki allel sayıları (n), beklenen heterozigotluk (He), gözlenen heterozigotluk (Ho), tespit olasılığı (PI) değeri ve sessiz (null) allel frekansı(r)

**Table 4.** The number of alleles (n), expected heterozygosity (He), observed heterozygosity (Ho), probability of detection (PI) value and null allele frequency (r)

Lokuslar	n	He	Ho	PI	r
CH01d08	14	0.850	0.918	0.069	-0.0369
CH01e12	12	0.837	0.540	0.086	0.1615
CH01f02	13	0.892	0.891	0.040	0.0003
CH01h01	10	0.794	0.432	0.126	0.2017
CH01h10	10	0.727	0.621	0.159	0.0611
CH02b03b	11	0.827	0.621	0.094	0.1127
CH02b10	17	0.912	0.864	0.027	0.0248
CH02b12	13	0.877	0.783	0.051	0.0498
CH02c06	17	0.922	0.783	0.021	0.0721
CH02d11	13	0.844	0.864	0.065	-0.0108
CH02d12	13	0.838	0.918	0.076	-0.0439
CH02f06	9	0.820	0.864	0.099	-0.0244
CH03g07	9	0.815	0.729	0.109	0.0472
CH04e03	9	0.829	0.594	0.090	0.1283
CH04g10	10	0.788	0.675	0.112	0.0629
CH05e03	17	0.883	0.702	0.041	0.0959
COL	10	0.820	0.567	0.100	0.1390
<b>Toplam</b>	207	14,27	12,36		
<b>Ortalama</b>	12.17	0.839	0.727		

Sonuçlarımıza göre; 10 allel sayısı ile CH01h01 (PI: 0,129) ayırım gücü en düşük lokus; CH02d11 (PI; 0,065) ise 16 allel sayısı ile en etkin ayırım gücüne sahip lokus olarak belirlenmiştir (Çizelge 4) Bu lokusun allel sayısı ve heterozigotluk oranı (n:16, He: 0,85, Ho: 0,89), 66 İspanya genotipinin

çalışıldığı Pereira-Lorenzo ve ark. (2008) ile (n:14 He: 0,86, Ho: 0,88) oldukça benzer bulunmuştur.

CH02b10 lokusunda; yüksek heterozigotluk ve fazla allel (Ho: 0,930, n:16) belirlenmesine karşın, 0,049’lık PI değeri ile tanımlama olasılığının düşük olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Bulgularımız, 68 genotipte 15 allel ve 0.960 heterozigotluk (Ho) tespit eden Garkava-Gustavson ve ark. (2008) ile uyumlu bulunmuştur. Benzer şekilde CH01f02 (PI: 0.040), CH02b10 (PI: 0.027), CH02c06 (PI: 0.021) ve CH05e03 (PI: 0.041) lokuslarında PI değerleri 0.05 den düşük olduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan; elmada tanımlama olasılığı yüksek bir lokusun heterozigotluk derecesinin %41-83 (ortalama; %70) arasında değişebileceği beklenmektedir (Galli ve ark. 2005). Dolayısıyla bu lokuslardaki yüksek heterozigotluk oranının, popülasyondaki ayırım gücünü azalttığı düşünülmektedir.

CH02c06 lokusunda 17 allel tespit edilirken, Garkava-Gustavson ve ark. (2008), tarafından da bu lokusta yüksek sayıda allel (15 allele) tespit edilmiştir. Araştırmada COL lokusunun allel verileri (10 allel) Guarino ve ark. (2006) (7 allel), Garkava-Gustavson ve ark. (2008) (10 allel) ve Pereira-Lorenzo ve ark. (2008) (10 allel) ya göre benzer bulunurken, heterozigotluk oranı da Guarino ve ark. (2006) ve Pereira-Lorenzo ve ark. (2008) değerlerine benzer şekilde düşük bulunmuştur. CH03g07 lokusunun allel sayısı (9 allel) ve heterozigotluk oranı (Ho: 0.720) ise; 66 İspanya çeşidinde (Pereira-Lorenzo ve ark. 2008) gerçekleştirilen analizlerle uyumlu bulunmuştur (Çizelge 4).

Diğer SSR lokuslarına ait genetik parametrelerin (allel büyüklükleri vb.) elmada yürütülen araştırma sonuçları ile düşük benzerlik göstermesi, coğrafik dolayısıyla genotip farklılığından kaynaklanabileceği gibi analiz edilen çeşit sayısından da kaynaklanabilir.

CH01d08, CH02d11, CH02d12 ve CH02f06 dışındaki lokuslarda null allel frekansları pozitif bulunmuştur. He'nin Ho'dan yüksek olduğu durumlarda null allel frekansının pozitif olduğu görülmektedir. Daha önce yayınlanan verilere göre de, COL (Pereira-Lorenzo ve ark. 2008; Guarino ve ark. 2006; Garkava-Gustavson ve ark. 2008) ve CH03g07 (Pereira-Lorenzo ve ark. 2008) He nin yüksek olduğu elma lokusları rapor edilmiştir. 13 lokusta He'nin Ho'dan yüksek olmasına sebep olarak allel frekanslarının popülasyonda eşit dağılım göstermemesi, PI değerini etkileyerek, null allel frekansını değiştirmektedir. Ancak, null allel

değerlerinin düşük olması, null allel varlığı şüphesini gidermektedir.

Bu araştırmada; referans çeşitler olarak kullanılan "Golden Delicious" ve "Florina" allel verileri Liebhard et al. (2002), Galli ve ark. (2005), Guarino ve ark. (2006), Garkava-Gustavson ve ark. (2008) sonuçları ile karşılaştırıldığında; allel büyüklüklerinin 4 bç farka kadar artıp azaldığı ancak her bir lokusdaki alleller arası farkın değişmediği ve korunduğu görülmektedir. Bu durum ise sonuçlarımızın uluslar arası elma SSR verileri ile karşılaştırma olanağı sunmaktadır.

Araştırmada kullanılan elma genotipleri diploid olmalarına rağmen bazı genotiplerde tri-allelliğe rastlanmıştır (Çizelge 3).

Elma ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda da diploid genotiplerde ikiden fazla allel varlığı görülmektedir (Liebhard ve ark. 2002, 2005; Guarino ve ark. 2006; Garkava-Gustavson ve ark. 2008). Bu konuda elma ile ilgili bir çalışma yapılmamakla birlikte, üzümde yapılan bir SSR temelli çalışmada diploid genotiplerde üçlü alleller rapor edilmiş ve buna sebep olarak kimerizm varlığı gösterilmiştir (Vouillamoz ve ark. 2006). Yapılan diğer bir çalışmada; üzümde meristem yapısında periklinal kimerizm olduğu rapor edilmiştir. Somatik mutasyon sonucunda yaprak üst ve alt dokusunda genetik olarak farklı hücre tabakaları oluştuğu ve mikrosatellit bölgelerinde meydana gelen mutasyona sebep olarak, replikasyon sırasında DNA polimeraz kayması nedeniyle meydana gelebileceği rapor edilmiştir (Martinez ve ark. 2006). Genotiplerin triploid genotip olup olmadığı sitolojik (kromozom sayımı) veya sitogenetik (Flow sitometre) yöntemleri ile teyit edilmedi.

### 3.2. Genotip-SSR İlişkilendirmeleri

Kullanılan elma genotipleri arasındaki homonim, sinonim ve benzerliler belirlenmiştir. Veriler Milli koleksiyondan-Yalova-ABKAE (Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü) 171 elma çeşidinin benzer lokuslarla analiz edildiği Burak ve ark. 2014 yayınının sonuçları ve Doğu Anadolu Elma Gen kaynaklarının yer aldığı Erzincan-BKAE (Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü)

koleksiyonu ile karşılaştırılmış ve sonuçlar Çizelge 5'te sunulmuştur.

SSR analizleri sonucu araştırma materyalinde benzer ve sinonim çeşitlere rastlanmazken, 4 homonim grup tespit edilmiştir. Gen kaynaklarına yönelik karşılaştırmada ise, Yalova-ABKME yer alan 1 adet Tavşanbaşı ve 1 adet Yaz elması genotipi araştırmadaki aynı isimli elmalarla benzer bulunmuştur. Diğer taraftan Yalova-ABKME'den bir adet ve Erzincan-BKAE'den bir adet olmak üzere 2 sinonim durumu tespit edilmiştir.

Araştırmadaki homonim gruplardaki en yakın benzerlik oranlarına bakıldığında, birinci grupta %94, ikinci grupta %38, üçüncü grupta %32 ve dördüncü grupta %77 olduğu görülmektedir. SSR allel büyüklüklerine dayalı benzerlik ilişki dendogramı sırası Şekil 1' de sunulmuştur.

Genetik ilişki dendogramına bakıldığında temel olarak iki ana dallanma görülmektedir. 10 çeşidin yer aldığı birinci grupta 19 numaralı genotip (Tokat-4) diğer gruplardan ayrı bir dallanma göstermiştir. Referans çeşitlerin içinde yer aldığı diğer 27 çeşit ise ikinci grupta kendi aralarında farklı dallanmalar göstermiştir. İkinci grup yine kendi içinde iki dallanma göstermiştir.

Çeşitler arasındaki genetik benzerlik oranları %0.3-94 arasında değişiklik göstermiştir. Çalışmadaki en yüksek benzerlik oranı (%94) Demir (2562) ile Demir (2486) çeşitleri arasında gözlenirken, bu oranı %91'lik değerle yine Demir (2562) ile Demir (2486) elmaları izlemektedir. Üçüncü en yüksek benzerlik oranı ise %88'le Yaz Tavşanbaşı ile Mayhoş tavşanbaşı ve Tatlı Tavşanbaşı elmalarında gözlenmiştir (Şekil 1). Homonim olarak tespit edilen gruplardan Tokat grubu, kendi içinde oldukça düşük benzerlik oranları göstermiştir. Bu grupta; en yüksek benzerlik, %33 lük değerle Tokat4 (19)-Tokat1 (17) çeşitleri arasında gözlenmiştir. Bu durum Tokat grubundaki elmaların, kendi aralarında bir grup olarak değerlendirilemeyecek kadar düşük benzerlikler göstererek diğer çeşitlere daha yüksek oranla yakınlık göstermeleri her birinin farklı çeşitler olduğunu göstermektedir. Demir grubu elmalarında Demir2562 (7)-Demir (9) arasında çalışmadaki en yüksek benzerlik oranı (%94) gözlenirken, Demir (2514) çeşidin diğer Demir grubu elmalarına olan düşük benzerliği (ortalama %25) dikkat çekmektedir. Tavşanbaşı grubu elmaları kendi içlerinde düşük benzerlik göstermiştir.

**Çizelge 5.** Araştırma sonucunda tespit edilen benzer, sinonim ve homonim genotipler

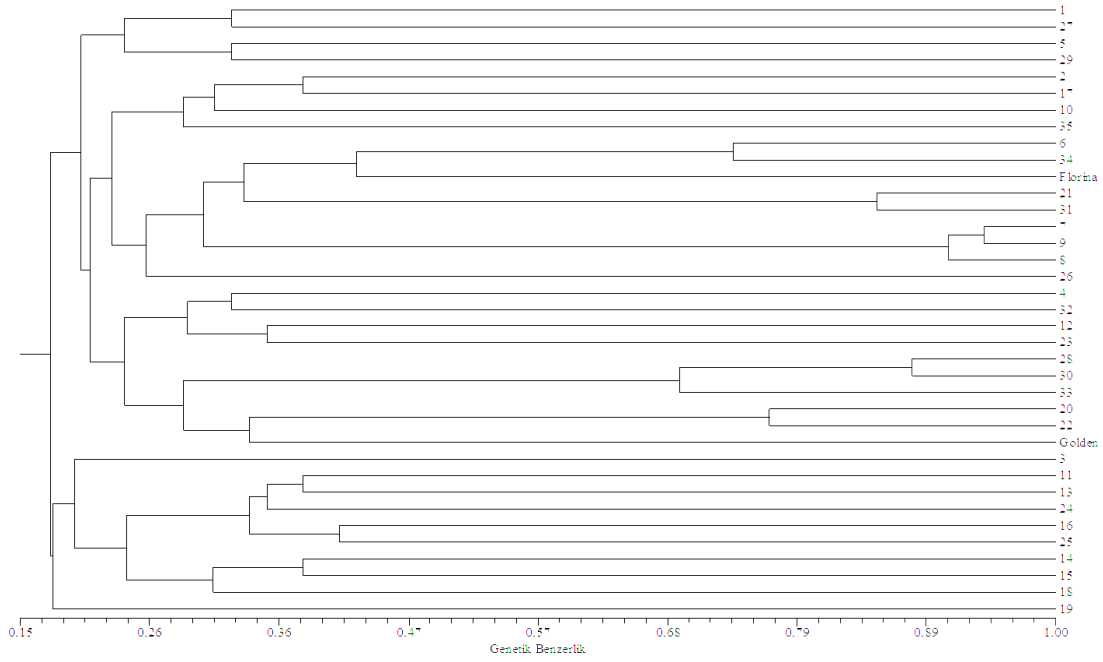
**Table 5.** Similar, synonymous and homogeneous genotypes detected in the research.

<b>Homonimler</b>	Demir (2562), Demir (2486), Demir, Demir (2514)	Tokat-1, Tokat-2, Tokat-4	Tavşanbaşı (2531), Güz Tavşanbaşı, Yaz Tavşanbaşı, 42-KP-1 (Mayhoş Tavşanbaşı), 42-C-3 (Tatlı Tavşanbaşı)	Yaz Elması (2384, Yaz Elması (2484), Yaz Elması(2563), 42-A-1 (Yaz Elması)
<b>Ülkesel Gen Kaynakları (Yalova-ABKME ve Erzincan-BKAE) İle Karşılaştırma</b>				
<b>Benzer çeşitler(*Yalova-ABKME koleksiyona göre)</b>	Tavşanbaşı (2531), Güz Tavşanbaşı, Yaz Tavşanbaşı, 42-KP-1 (Mayhoş Tavşanbaşı), 42-C-3 (Tatlı Tavşanbaşı)	Yalova-ABKME: 42-C-5 (Yaz Tavşanbaşı)		
	Yaz Elması (2384, Yaz Elması (2484), Yaz Elması(2563), 42-A-1 (Yaz Elması)	Yalova-ABKME: Yaz Elması (2482),		
<b>Sinonim</b>	Demir (2562)	Yalova-ABKME:25		
	E-71	24 APP021		

\*Yalova-ABKME: Yalova Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü

\*\*Erzincan-BKAE: Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü





**Şekil 1.** Çeşitlere ait genetik ilişki dendogramı  
**Figure 1.** Genetic relationship dendograms of varieties

Bu gruptaki en yüksek benzerlik oranı, %38'lik değerle Yaz Tavşanbaşı (14) ile Mayhoş Tavşanbaşı (15) ve Yaz Tavşanbaşı(14) ile Tatlı Tavşanbaşı(16) çeşitleri arasında görülmektedir. Bu grupta yer alan çeşitlerin de birbirlerinden farklı çeşitler oldukları görülmektedir. Yaz elması grubunda %77 lik değerle Yaz elması (2384) (20) ile Yaz elması (2563) çeşitleri arasındaki benzerlik en yüksek benzerlik derecesidir. Bu grupta Yaz elması (2384) (20) ile 42-A-1 (Yaz elması) (23) ve Yaz elması (2563) (22) ile 42-A-1(Yaz elması) (23) 3 çeşitlerinin birbirlerine sırasıyla %0.9 ve %0.6 değerdeki benzerlikleri yine dikkat çeken diğer bir farklılıktır. Bu fark, aynı grup içerisinde adlandırılmayacak kadar büyük olması sebebiyle, isimlendirmede bir yanlışlığı olduğunu göstermektedir (Şekil 1.).

Çalışmada referans olarak kullanılan iki yabancı çeşidin, yerli çeşitlere olan uzaklığı dikkat çekmektedir. Golden Delicious çeşidine en yakın benzerlik gösteren çeşit Yaz elması (2384) (%38), en uzak benzerlik gösteren çeşit Yaz Tavşanbaşı (14) (%0.3) olurken, Florina çeşidine en yakın benzerlik gösteren çeşit Batum (6) (%44), en uzak benzerlik gösteren çeşitler ise Yaz Tavşanbaşı(14)

ve Mayhoş Tavşanbaşı (15) (%0.9) olarak belirlenmiştir. Bizim genotiplerimiz arasında gözlenen düşük benzerlik değerlerinin, referans çeşitlere olan benzerliklere oranla daha az olması ve homonim grupların varlığı, gen kaynaklarımızın zenginliğini ispatlamakla beraber çok eski zamanlardan bu yana doğal olarak meydana gelen bir gen akışının göstergesi olabilir.

#### 4. Sonuç

Sonuç olarak; elde edilen bulgular ileride yapılacak elma gen kaynaklarının değerlendirilmesi, ıslahı ve yetiştiriciliği gibi tarımsal ve genetik çalışmalara yardımcı olacaktır. Ayrıca elde edilen bulgular, konuda ülkemiz araştırmacılarının karşılaştırma yapabilecekleri ön bilgi niteliği taşımaktadır.

#### Kaynaklar

- Anonim (2004). <http://www.fao.org>. FAO Statistical Databases Agriculture, Agriculture and Food Trade, Apple Export in The World.
- Anonim (2006). <http://www.fao.org>. FAO Statistical Databases, Agriculture, Agriculture and Food Trade, Apple Export in The World.
- Anonim (2016). <http://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BUGEM.pdf>.

- Burak M, Ergül A, Kazan, K, Akcay ME, Yüksel C, Bakır M, Mutaf F, Akpınar AE, Yaşasın AS, Ayanoğlu H (2014). Genetic analysis of Anatolian apples (*Malus* sp.) by simple sequence repeats. *Journal of systematics and evolution*, 52(5): 580-588.
- Decroocq V, Fave MG, Hagen G, Bordenave L and Decroocq S (2003). Development and transferability of apricot and grape EST microsatellite markers across taxa. *Theor Appl Genet*, 106: 912-922.
- Laigret F (2003). Development of microsatellite markers in peach (*Prunus persica* L.) and their uses in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theor. Appl. Genet*, 105: 127-138
- Galli Z., Halász G., Kiss E., Heszky, L., and Dobránszki, J. (2005). Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers. *HortScience*, 40: 1974-1977.
- Garkava-Gustavsson L, Kolodinska Brantestam A, Sehic J and Nybom H (2008). Molecular characterisation of indigenous Swedish apple cultivars based on SSR and S-allele analysis. *Hereditas*, 145: 99-112.
- Gianfranceschi L, Seglias N, Tarchini R, Komjanc M, Gessler C (1998). Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. *Theor. Appl. Genet*, 96: 1069-1076.
- Guarino C, Santoro S, De Simone L, Lain O, Cipriani G and Testolin R (2006). Genetic diversity in a collection of ancient cultivars of apple (*Malus domestica* Borkh.) as revealed by SSR-based fingerprinting. *J. Hort. Sci. Biotechnol*, 81: 39-44.
- 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 Tuallynally Ireland. *Silvae Genetica*, 47: 5-6.
- Litt M and Luty JA (1989). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet*, 44: 397-401.
- Liebhart R, Gianfranceschi L, Koller B, Ryder CD, Tarchini R, van de Weg E and Gessler C (2002). Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Mol. Breed*, 10:217-241.
- Minch E, Ruiz-Linares A, Goldstein DB, Feldman M and Cavalli-Sforza LL (1995). Microsat (version 1.4d): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data. Stanford California Stanford University.
- Özbek S (1978). Özel Meyvecilik (Kışın Yaprağını Döken Meyve Türleri). Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları No: 128 Ders kitabı: 11 Adana.
- Özçağiran R, Ünal A, Özeker E, İsfendiyaroğlu M. (2004). İliman İklim Meyve Türleri (Yumuşak Çekirdekli Meyveler). Cilt:2 E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 556 Bornova/İzmir.
- Pereira-Lorenzo S, Ramos-Cabrera AM and Diaz-Hernandez MB (2008). Genetic assessment of local apple cultivars from La Palma Spain using simple sequence repeats (SSRs). *Scientia Horticulturae*, 117: 160-166.
- Şelli F, Bakır M, İnan G, Aygün H, Boz Y, Yaşasın AS, Özer C, Akman B, Söylemezoğlu G, Kazan K and Ergül A (2007). Simple sequence repeat-based assessment of genetic diversity in Dimrit and Gemre grapevine accessions from Turkey. *Vitis*, 46(4):182-187.
- Vouillamoz JF, McGovern PE, Ergul A, Söylemezoğlu G, Tevzadze G, Meredith CP and Grando MS (2006). Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genetic Resources, Characterization & Utilization* 4(2):144-158.
- Wagner HW and Sefc KM (1999). Identity 1.0. Centre for Applied Genetics University of Agricultural Science Vienna.
- Weber JL and May PE (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet*, (44):388-396
- Yıkar E (2003). Elma. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü Yayınları T.E.A.E-Bakış Sayı 4 Nühsa 7.