

ESKİŞEHİR İLİNDE YETİŞTİRİLEN ÜZÜM ÇEŞİTLERİNİN SSR MARKÖRLER İLE TANIMLANMASI

Ali BAYKUL^{1*}, Gökhan SÖYLEMEZOĞLU²

¹Dr., Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Eskişehir; ORCID: 0000-0002-7241-6959
²Prof. Dr., Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara; ORCID: 0000-0002-7959-0407

ÖZ

Anadolu bağcılığın anavatanlarından biri olarak kabul edilmektedir ve zengin bir asma gen potansiyeline sahiptir. Asma genetik kaynaklarının koleksiyonda korunması ve ampelografik özelliklerinin tespit edilmesi, moleküler markör yöntemleriyle genetik profillerin ortaya koyulması ve veri bankası oluşturulması oldukça önemlidir. Bu çalışmada; Eskişehir İlinde yetiştiriciliği yapılan yöresel tip/çeşitlerin geniş kapsamlı olarak incelenmesi ve tespit edilen üzüm çeşitlerinin moleküler yöntemlerden SSR markörleri kullanılarak tanımlanması amacıyla 2017-2018 yılların arasında yürütülmüştür. Araştırmada Eskişehir İlının farklı ilçelerinde tespit edilen 52 üzüm çeşit/tipinin genetik tanımlamaları yüksek ayırım gücüne sahip olan 18 SSR primeri (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD21, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVMD31, ZAG21, ZAG47, ZAG62, ZAG79, ZAG83, ZAG112, VMC2c3, VV1b01, VMC2h4, VVIH54) ile gerçekleştirilmiştir. Ampelografik özellikleri belirlenen 52 üzüm çeşidi ile 1 referans çeşidin 18 SSR lokusu ile genetik analizleri sonucu toplam 171 allel elde edilirken, en yüksek allel sayısı 14 adet ile ZAG79 lokusunda tespit edilmiş ve ortalama allel sayısı 9.5 olarak belirlenmiştir. SSR markörleri kullanılarak yapılan moleküler karakterizasyon çalışması sonucunda, 1 sinonim ve 4 homonim durum tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Eskişehir, moleküler tanımlama, SSR, asma, gen kaynakları

IDENTIFICATION OF GRAPE VARIETIES GROWN IN ESKİSEHIR WITH SSR MARKERS

ABSTRACT

Anatolia is one of the homelands of viticulture and has a rich vine gene potential. It is very important to preserve grapevine genetic resources in the collection and to determine their ampelographic characteristics, to reveal genetic profiles with molecular marker methods and to establish a data bank. In this study, it was carried out between 2017 and 2018 in order to comprehensively examine the local types/varieties cultivated in Eskişehir and to identify the detected grape varieties using SSR markers from molecular methods. In the study, genetic identification of 52 grape cultivars/types detected in different districts of Eskişehir Province, 18 SSR primers with high discriminatory power of (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD21, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVMD31, ZAG21, ZAG47, ZAG62, ZAG79, ZAG83, ZAG112, VMC2c3, VV1b01, VMC2h4, VVIH54). A total of 171 alleles were obtained as a result of genetic analyzes with 18 SSR loci of 52 grape varieties with ampelographic characteristics and 18 SSR loci of 1 reference variety, while the highest number of alleles was detected in ZAG79 locus with 14 and the average allele number was determined as 9.5. As a result of the molecular characterization study using SSR markers, 1 synonymous and 4 homonymous cases were determined.

Keywords: Eskişehir, molecular Identification, SSR, grapevine, germplasm

GİRİŞ

Asma anavatanı olarak nitelenen ülkemizin hemen her bölgesinde, akarsu, dere yataklarında, orman alanlarında ağaçlara sarılmış olarak yabancı asmalarla karşılaşmak mümkündür. Bu zengin genetik popülasyon içinde ve asırlardır doğal olarak devamlı gerçekleşen melezlemeler sonucunda oldukça zenginleşen yabancı asma genetik popülasyonunu ve gen potansiyelimizi teşkil eden çeşit/tiplerden pek çoğu, doğal ya da abiyotik ve/veya biyotik stres etmenleri sebebiyle kaybolsa da kendi arasında sürekli devam eden melezlemeler ile yeni çeşit/tipler

meydana gelmektedir [1, 23]. Özellikle son yıllarda küresel ısınma, doğal afetler, köyden şehre göç, plansız kentleşme, filoksera zararlısı gibi birçok biyotik ve abiyotik etmenler sebebiyle kaybedilen bağların modern yetiştirme teknikleri ile yeniden tesis edilememesi gibi nedenlerle ülkemizde bağ alanlarında devamlı bir azalış görülmektedir [6, 8].

Vitis vinifera L. türünde yaklaşık 6000 üzüm çeşidin olduğu, bu çeşitlerin 400 kadarının ticari öneme sahip olduğu belirtilmektedir [10]. Bu sebeple, bugün *Vitis vinifera* L. genetik kaynaklarının koleksiyonda korunması ve ampelografik özelliklerinin tespit edilmesi, moleküler markör

*Sorumlu yazar / Corresponding author: abaykul@ogu.edu.tr

yöntemleriyle genetik profillerin ortaya koyulması ve veri bankası oluşturulması oldukça önemlidir [19]. Üzüm çeşitlerinin belirlemesi ve farklılıklarının tespiti için kullanılan ampelografi yöntemleri, çeşitler arasında bulunan morfolojik farklılıkların tespitine dayanır. Fakat bu metodlar bitkinin vejetatif dönem boyunca uygulanabilirliği ve bitki fenotipinin, çevre şartları, bitki besleme durumu ve bitki sağlığı gibi durumlardan etkilenmesi bu tekniğin kullanılabilirliğini kısıtlamaktadır. Bundan dolayı, çeşit ayırımı kolaylaştırmak için genotip düzeyinde farklılıkları daha iyi gösteren moleküler markör yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Markörler asma ıslahında; genetik haritalama, asma çeşit ve Amerikan asma anaçlarının moleküler markör analizi, orijin belirleme, markör kullanarak seleksiyon, melezleme ıslahında bitki tanımlaması gibi farklı amaçlarla çeşitli kullanımı bulunmaktadır [1, 9].

Bu çalışmada, Eskişehir İlinde yetiştirilen üzüm çeşit/typlerinin SSR markör yardımıyla DNA düzeyinde moleküler tanımlanması hedeflenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, 2017-2018 yıllarında Eskişehir ili, ilçe ve mahalleleri ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan bitkisel materyal; Eskişehir ili sınırlarında yetiştirildiği tespit edilen 52 üzüm çeşit/tipi 1 adet referans çeşit ("Cabernet Sauvignon") ile toplam 53 genotip kullanılmıştır. Çalışmada incelenen üzüm çeşitlerinin isimleri Çizelge 1'de verilmiştir.

DNA İzolasyonu, DNA Saflığı Ölçümleri ve PCR

Çalışmada analiz edilen çeşitlerin DNA izolasyonları Lefort [13] yöntemine göre yapılmıştır. DNA miktar ve kalite ölçümleri %1'lik agaroz jel ve Nanodrop ND-1000 spektrofotometre ile belirlenmiştir. PCR reaksiyonu için; 15-100 ng DNA, 10 pmol ileri primer, 10 pmol ters primer, 1 µl Taq DNA Polymerase (Solis Bio Dyne), 0.5 mM dNTP, 3 µl tampon (10× 'buffer' tampon) 1.5 mM MgCl₂ olmak üzere toplam 15 µl'de gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada Kullanılan SSR Primerleri

Araştırmada yüksek ayırım gücüne sahip olan 18 SSR primeri (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD21, VVMD24, VVMD27, VVMD28, VVMD31, ZAG21, ZAG47, ZAG62, ZAG79, ZAG83, ZAG112, VMC2c3, VVIb01, VMC2h4, VVIH54) ile gerçekleştirilmiştir. SSR tekniğiyle elde edilen PCR ürünleri AATI Fragment Analyzer cihazıyla

fragmanlarına ayrılmıştır. Ürünlerin yüklenmesinde AATI Fragment Analyzer protokolü uygulanmıştır.

Genetik Analizler

Araştırmadaki 52 çeşit ve 1 referans çeşit ile toplam 53 genotipin genetik analizleri; genetik parametreler (beklenen ve görülen heterozigotluk oranı, tespit olasılığı (PI, Probability of Identity), her lokustaki allel sayısı, allel sıklığı, sessiz (null) allel sıklığı IDENTITY 1.0 [26] programı ile çeşitler arasındaki benzerlik oranı indeksi hesaplamasında ise Microsat [17] programı kullanılmıştır. Genotiplere ait genetik ilişki dendogramı NTSYS (versiyon 2.02g, Exeter Software, Setauket, NY) yazılım programı yardımıyla bulunmuştur. Genotipler arasındaki ilişkiyi grafiksel olarak göstermek için hazırlanan dendogram UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means) yaklaşımı ile hazırlanmıştır.

Çizelge 1 Araştırma kapsamında incelenen çeşit/typler ve lokasyonları

Table 1. Examined cultivars/types and their locations

Çeşit/Genotip Cultivar/Type	İlçe District	Çeşit/Genotip Cultivar/Type	İlçe District
1 Akdimit	Günyüzü	27 Karagevrek	Günyüzü
2 Alphonse Lavallée	Sarıcakaya	28 Karadeniz Kokulu	Odunpazarı
3 Amasya	Mihalgazi	29 Kardinal	Günyüzü
4 Anah Kızıl	Sivrihisar	30 Katı Kara	Sivrihisar
5 Arap Parmağı	Sivrihisar	31 Keçi Memesi	Sivrihisar
6 Ballı Kara	Günyüzü	32 Kekre	Sivrihisar
7 Bitli Kara	Günyüzü	33 Maarif	Sivrihisar
8 Beyaz Hevenk	Sivrihisar	34 Mor Festikan	Sivrihisar
9 Beyaz Köfter	Sivrihisar	35 Mor Hevenk	Günyüzü
10 Beyaz Şıralık	Sivrihisar	36 Narinci	Sivrihisar
11 Beylerce	Sarıcakaya	37 Razakı	Mihalgazi
12 Çavuş	Mihalgazi	38 Red Globe	Sarıcakaya
13 Erce	Günyüzü	39 Sakarya	Sivrihisar
14 Erkenci Kekre	Sivrihisar	40 Sarı Çilli	Tepebaşı
15 Gecek Karası	Günyüzü	41 Seyrek Kara	Sivrihisar
16 Gelin Üzümlü	Tepebaşı	42 Siyah Hevenk	Günyüzü
17 Hafızalı	Sarıcakaya	43 Siyah Festikan	Sivrihisar
18 İri Kara	Mihalgazi	44 Siyah Şıralık	Sivrihisar
19 İsimsiz Genotip 1	Günyüzü	45 Söbü Hevenk	Günyüzü
20 İsimsiz Genotip 2	Günyüzü	46 Tilki Kuyruğu 1	Tepebaşı
21 İsimsiz Genotip 3	Sarıcakaya	47 Tilki Kuyruğu 2	Mihalgazi
22 İsimsiz Genotip 4	Günyüzü	48 Tilki Kuyruğu 3	Günyüzü
23 İsimsiz Genotip 5	Tepebaşı	49 Turfanda 1	Mihalgazi
24 İsimsiz Genotip 6	Tepebaşı	50 Turfanda 2	Odunpazarı
25 İsimsiz Genotip 7	Tepebaşı	51 Turşu Üzümlü	Günyüzü
26 İslî Festikan	Günyüzü	52 Tülü Bağ	Sarıcakaya

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada incelenen genotiplerin izolasyon sonucunda elde edilen DNA'larının miktarını ve saflıklarını tespiti için iki tekrarlı olarak NanoDrop ND-1000 spektrofotometre ile ölçümleri yapılmıştır. İzole edilen DNA'ların spektrofotometrik ölçümlerinde A260/A280 DNA saflık oranının ortalama 1.8-2.0 değerleri aralığında bulunmuştur.

İncelenen lokuslarda PCR amplifikasyonunun gerçekleşip gerçekleşmediğinin tespiti için örnekler %2'lik agaroz jelde elektroforez edilmiştir. Agaroz jelde amplifikasyon ürünü bant elde edilen örneklerdeki allel sayısı ve allel büyüklükleri AATİ kapiller elektroforez sisteminde fragment analiz programı yardımıyla tespit edilmiştir. SSR lokuslarındaki genetik parametreler; sessiz (null), allel sıklıkları ve tespit olasılığı değeri, allel frekansı, beklenen ve görülen heterozigotluk oranları, allel sayıları, Çizelge 2'de sunulmuştur.

Çizelge 2. Çalışan lokuslardaki allel sayıları (N), görülen heterozigotluk (Ho), beklenen heterozigotluk (He), sessiz (null) allel sıklığı ve tespit olasılığı (PI) değeri

Table 2. Number of alleles at working loci (N), observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), silent (null) allele frequency and detection probability value (PI)

Lokuslar Loci	Allel sayıları (N) Number of alleles	Beklenen heterozigotluk (He) Expected heterozygosity	Görülen heterozigotluk (Ho) Observed heterozygosity	Tespit olasılığı (PI) Detection probability	Sessiz allel sıklığı (r) Silent allele frequency
VVS2	11	0.8371	0.8679	0.0462	-0.0167
VVMD5	12	0.8209	0.4339	0.0516	0.2125
VVMD7	8	0.7887	0.5094	0.0743	0.1561
VVMD21	7	0.7787	0.7735	0.0814	0.0029
VVMD24	7	0.7296	0.6603	0.1056	0.0400
VVMD27	11	0.7694	0.5660	0.0812	0.1149
VVMD28	13	0.7819	0.8867	0.0778	-0.0588
VVMD31	10	0.8309	0.9245	0.0491	-0.0511
ZAG21	8	0.7785	0.7358	0.0816	0.0240
ZAG47	8	0.7180	0.4150	0.1235	0.1763
ZAG62	8	0.7985	0.8301	0.0699	-0.0176
ZAG79	14	0.8673	0.7735	0.0317	0.0502
ZAG83	5	0.6701	0.8490	0.1651	-0.1071
ZAG112	12	0.7568	0.9056	0.0845	-0.0847
VMC2c3	11	0.8061	0.6226	0.0611	0.1016
VMC2h4	9	0.7678	0.8113	0.0825	-0.0245
VVIH54	13	0.8524	0.6415	0.0382	0.1138
VVIB01	4	0.6139	0.5660	0.2275	0.0296
Total	171	13.967	12.773	1.5300	
Ortalama	9.5	0.7759	0.7096	0.0852	

Eskişehir ilinde bulunan toplam 52 üzüm çeşit ve 1 referans çeşidin 18 SSR markörü ile yapılan genetik analizi sonucunda toplam 171 polimorfik allel bulunmuştur. Locus başına düşen allel sayısı ortalama 9.5 olarak bulunmuştur. Allel sayılarına göre ele alındığında en yüksek allel ZAG79 lokusunda 14 olarak elde edilmiştir. Beklenen heterozigotluk (Hb) 0.6139 (VVIB01) ile 0.8673 (VrZAG79) değerleri arasında değişim gösterirken, görülen heterozigotluk (Hg) 0.4150 (VrZAG47) ile 0.9245 (VVMD31) arasında bulunmuştur. Örneklerde beklenen heterozigotluk (Hb) ve görülen heterozigotluk (Hg), 0.7759 ve 0.7096 olarak tespit edilmiştir. Tespit olasılığı (PI) değerlerinin hepsi Sefc

[20] tarafından bulunan 0.05 eşik değerinin üstünde bulunmuştur. Sessiz allel değerleri genel olarak sıfıra yakın ve negatif bulunmuştur.

İncelenen lokusların frekansı en yüksek olan alleller göre ele alındığında ise en yüksek allel frekansı, VVS2'de 153, VVMD5'te 268, VVMD7'de 255, VVMD21'de 262, VVMD24'te 245, VVMD27'de 204, VVMD28'de 278, VVMD31'de 225, VrZAG21'de 215, VrZAG47'de 177, VrZAG62'de 204, VrZAG79'de 260, VrZAG83'te 197, VrZAG112'de 267, VMC2c3'te 197, VMC2h4'te 220, VVIH54'te 186, VVIB01'de 305 olarak belirlenmiştir. 52 genotip içerisinde tespit edilen bir sinonim (farklı isimle adlandırılan fakat genetik olarak birbiri ile aynı genotipler) ve dört homonim grup (aynı isimle adlandırılan fakat genetik olarak birbirinden farklı genotipler) tespit edilmiştir. SSR allel büyüklüklerine temel alan genetik ilişki dendogramı Şekil 1'de verilmiştir.

Genetik ilişki dendogramı değişik dallanmalar göstermiştir. İlk ayırım basamağında referans çeşit olan "Cabernet Sauvignon", "Karadeniz Kokulu" ve diğer Eskişehir çeşitleri ile farklı üç grup oluştururken, ikinci ayırım basamağında 4 alt gruptan, üçüncü ayırım noktası ise 4 gruptan oluşmaktadır. Bu 4 grupta kendi arasında alt gruplara ayrılmaktadır.

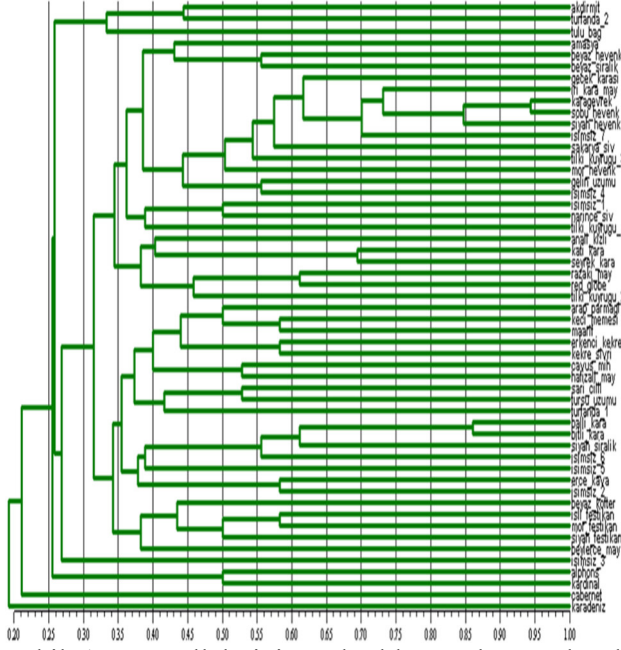
Çeşitlere/genotiplere ait benzerlik oranları arasındaki değişim Şekil 1'de gösterilmiştir. "Turfanda 2" ve "Karadeniz Kokulu" ile birbirlerine en uzak, "Karagevrek" ve "Söbü Hevenk" %94.4 ile birbirine en yakın çeşit olarak bulunmuştur. Çeşitler/Genotipler arası benzerlik oranı indeks değeri %95'in altında olan çeşitler farklı çeşit olarak değerlendirilmekte, %95 ve üzerindeki benzerlik oranı indeksi ise çeşitler arası klonal ayırımı ifade etmektedir. "Karagevrek" ve "Söbü Hevenk" çeşitlerine ait örneklere ait benzerlik oranı %94.4 ile tespit edilmiştir. Homonim çeşitlere ait benzerlikler %30 ile %39 arasında değişim göstermiştir.

Çizelge 3. Araştırma sonucunda tespit edilen sinonim ve homonim çeşitler

Table 3. Synonym and homonym varieties determined as a result of the research

	Çeşit/Genotip Cultivar/Genotype	Genetik benzerlik oranı Genetic similarity ratio
Sinonim Çeşitler / Synonym Cultivars		
Sinonim-1 Synonym-1	Karagevrek	%94.4
	Söbü Hevenk	
Homonim Çeşitler / Homonym Cultivars		
Homonim-1 Homonym-1	Turfanda 1	%30
	Turfanda 2	
Homonim-2 Homonym-2	Tilki Kuyruğu 1	%33
	Tilki Kuyruğu 2	
Homonim-3 Homonym-3	Tilki Kuyruğu 2	%33
	Tilki Kuyruğu 3	
Homonim-4 Homonym-4	Tilki Kuyruğu 1	%39
	Tilki Kuyruğu 3	

Çalışmada incelen çeşitler kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Araştırmadaki çeşitlere ait homonim, sinonim durumları Çizelge 3’te verilmiştir. Milli koleksiyon parselinde bulunan çeşitler ile ilgili karşılaştırma ilgili kuruma yapılan başvuru olumsuz olduğu için yapılamamıştır.



Şekil 1 SSR allellerinin yakınlık oranlarına dayalı ilişki dendrogramı

Figure 1 Association dendrogram based on affinity ratios of SSR alleles

Ampelografik analizleri tamamlanan 52 üzüm çeşidi ile 1 referans üzüm çeşidinin 18 SSR markörleri ile yapılan genetik analizler sonucunda 171 allel elde edilirken, allel sayısı en yüksek 14 ile VrZAG79 lokusunda tespit edilmiş ve ortalaması 9.5 allel sayısı tespit edilmiştir. Önceki çalışmalarda belirttiği gibi VrZAG 79 lokusunun [5, 7, 12, 14, 20, 22, 25] yüksek allel veren lokus arasında olduğu belirtilmektedir. Shidfar [21] çalışmasındaki, 41 genotipi 15 SSR markörü ile taranması sonucu toplam allel sayısını 100, 7.1428 ortalama allel değeri bulunmuştur. Yüksel [28], 55 yerel üzüm çeşidi ve 2 standart referans çeşidi 15 SSR markörü ile moleküler analizleri sonucunda 125 allel elde ederken, ortalama allel sayısını 8.33 olarak belirlemiştir. Yıldırım [27], 56 yerel üzüm çeşidi ve 2 referans çeşit ve 20 SSR markörü ile moleküler genetik analizleri sonucunda 192 allel elde ederken ortalama allel sayısı 9.6 olarak belirlenmiştir.

İspanya’da üzüm çeşitleri üzerinde yürüttükleri SSR analizinde lokus başına 9-13 arasında allel tespit etmişlerdir [15]. Bowers [4] 77 adet Avrupa kökenli üzüm çeşidinde yaptıkları SSR çalışmasında lokus başına 5-11 (ortalama 7.5) allel belirlemiştir. Gök

Tangolar [11], Doğu Akdeniz Bölgesinde yetiştirilen 59 üzüm çeşidini 14 SSR primeri ile karşılaştırmışlar ve çalışma sonunda toplam 117 allel tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ortalama allel sayısını 8.36, ortalama gözlenen heterozigotluğu (H_o) 0.743 ve beklenen heterozigotluğu ise 0.749 olarak belirlemiştir. Arjantin’de 25 üzüm çeşidi arasındaki genetik çeşitlilik ve akrabalık ilişkilerini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada, 6 SSR primeri kullanmışlardır [16]. Araştırmacılar toplam allel sayısını 58, ortalama allel sayısının 6-13 arasında değiştiğini, beklenen heterozigotluğu ise 0.71-0.89 (ortalama 0.81) ve gözlenen heterozigotluğu 0.62-1.0 (ortalama 0.82) arasında bulmuşlardır. Mikrosatelit teknolojisi üzümlerde genetik çalışmalarda en fazla kullanılan tekniktir.

Uluslararası Üzüm Mikrosatelit Konsorsiyumunun kurulmasıyla son birkaç yılda mikrosatelit lokuslarının sayısı hızla artmıştır. Mikrosatelit belirteçler bol, çok allelli ve yüksek derecede polimorfik özelliklere sahiptir. Kodominant özellikte olmaları da en büyük avantajlarıdır [3]. Farklı ülkelerde üzüm çeşitlerinde yürütülen birçok çalışmada çok sayıda allel veren primerler olan VrZAG79 bizim çalışmamızda olduğu gibi yüksek allel sayısı vermiştir [7, 11, 17, 24]. Yine bizim çalışmamızda düşük allel sayısı veren VrZAG83 lokusu diğer çalışmalarda da en düşük allel sayısını vermiştir [11, 20, 22].

Araştırmamızda tespit olasılığı (PI) değeri tüm primerlerde, Sefc [20]’nın belirttiği 0.05 değerinden yüksek bulunmuştur. Bu da bu seçilen mikrosatelit belirteçlerinin değerlendirilen çeşitlerde gerçekten yüksek oranda polimorfik olduklarının bir göstergesidir. Çalışmamızda tespit olasılığı 0.0317 ile 0.2275 arasında değişim göstermektedir. En bilgi verici lokus 14 allel ile VrZag79, en az bilgi verici allel ise VVIB01 bulunmuştur. Literatür incelendiğinde benzer sonuçlar alındığı görülmektedir. Gök Tangolar [7], 56 farklı üzüm çeşidinde yürüttükleri araştırmada PI değerini 0.07-0.53 ve ortalama olarak 0.13 olarak tespit etmişlerdir. Martinez [16], 25 yerel üzüm çeşidinde SSR markör analizi sonucu PI değerini 0.04-0.23 ve ortalama olarak 0.12 olarak belirlemiştir. Yıldırım [27] çalışmasında, VVS2 (0.077) ve VMC2H4 (0.075) lokuslarının en çok bilgi veren ve polimorfik olduğunu belirlerken, Yüksel [28], VVMD24, VVIB01, VrZAG83 ve VVS1 dışındaki lokusların ayırım güçlerini oldukça iyi bulmuştur. Shidfar [21] ise, en çok bilgi veren lokusun 12 allel veren VMC2H4 (0.125) lokusunun, en az bilgi veren lokusun VVIB01 lokusun olduğu ve 2 allel verdiğini tespit etmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak; Eskişehir ili ve ilçelerine ait 52 çeşit/tip ile 1 referans olmak üzere toplam 53 çeşidin SSR'a dayalı kimlik tanıları tamamlanarak 4 homonim ve 1 sinonim durum tespit edilmiştir. Eskişehir ilinde üzüm çeşitlerinin tanımlanmasına yönelik çalışmada moleküler olarak çeşitler arasında önemli varyasyonlar tespit edilmiştir. Ayrıca Eskişehir çeşitlerinin genetik parametreleri tanımlanıp benzerlik ilişkileri ortaya konurken, ileriki dönemlerde bu çeşitlerle yürütülecek olan araştırmalara genetik tanımlamalar ve teknik çalışmalar için veriler oluşturulmuştur. Araştırma bulgularının, bölgede günümüzde ve gelecekte yürütülecek benzer kapsamlı çalışmalara ve diğer bağcılık araştırmalarına ışık tutacağı ümit edilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: BAP 18L0447002. Bu makale Doktora çalışmasından elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Agarwal, M., N. Shrivastava, H. Padh, 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep*, 27:617-631.
2. Ağaoğlu, Y.S., Söylemezoğlu, G., Marasalı, B., Çalışkan, M., Ergül, A., Türkben, C. 1998. Bazı yerli ve yabancı kökenli üzüm çeşitlerinin poliakrilamid jel elektroforez tekniği ile tane kökenli izoenzimlerden yararlanılarak ayrımları. 4. Bağcılık Sempozyumu, 20-23.10.1998, Yalova.
3. Benjak, A., Ercisli, S., Vokurka, A., Maletic, E., Pejic, I., 2005: Genetic relationships among grapevine cultivars native to Croatia, Greece and Turkey. *Vitis* 44:73-77.
4. Bowers, J.E., Dangl, G.S., Vignani, R., Meredith, C.P. 1996. Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome* 39:628-633.
5. Costantini, L., Monaco, A., Vouillamoz, J.F., Forlani, M., Grando, M.S. 2005. Genetic relationships among local *Vitis vinifera* cultivars from Campania (Italy). *Vitis* 44(1):25-34.
6. Ecevit, F., Kelen, M. 1999. Isparta (Atabey)'de yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 23:511-518.

7. Fatahi, R., Ebadi, A., Mehlenbacher, S. 2003. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. *Vitis* 42(4):185-192.
8. Fidan, Y. 1985. Özel bağcılık. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 930, Ders Kitabı 265.
9. Filiz, E., Koç, İ. 2011. Molecular markers in plant biotechnology. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2(2011).
10. Galet, P. 2000. General viticulture. (J. Towey, translator). Collection Avenir Oenologie. Oenoplurimedia, Chaintré, France.
11. Gök Tangolar, S., Soydam, S., Bakır, M., Karaağaç, E., Tangolar, S., Ergül A. 2009. Genetic analysis of grapevine cultivars from the eastern Mediterranean region of Turkey, based on SSR Markers. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15:1-8.
12. Ibanez, J., Andres, M.T., Molino, A., Borrego, J. 2003. Genetic study of key Spanish grapevine varieties using microsatellite analysis. *American Journal Enology Viticulture*, 54(1):22-30.
13. Lefort, F., Lally, M., Thompson, D., Douglas, G.C. 1998. Morfolojical traits microsatellite fingerprinting and genetic relatedness of a stand of elite oaks (*Q. Robur* L.) at Tuallynally, Ireland. *Silvae Genetica* 47:5-6.
14. Lin, H., Walker, M.A. 1998. Extracting DNA from cambium tissue for analysis of grape rootstocks. *HortScience* 32(7):1264-1266.
15. Martin J.P., Borrego, J., Cabello, F., Ortiz, J.M. 2003. Characterization of Spanish grapevine cultivar diversity using sequence-tagged microsatellite site markers, *Genome* 46:10-18.
16. Martinez, L.E., Cavagnaro, P.F., Masuelli, R.W., Zuniga, M., 2006. SSR-based assessment of genetic diversity in South American *Vitis vinifera* varieties. *Plant Science* 170:1036-1044.
17. Minch, E., Ruiz-Linares, A., Goldstein, D., Feldman, M., Cavalli-Sforza, L.L. 1995. Microsat (ver. 1.4 d): a computer program for calculating various statistics on microsatellite allele data.
18. Núñez, V., Monagas, M., Gomez-Cordovés, M.C.; Bartolomé, B., 2004. *Vitis vinifera* L. cv. Graciano grapes characterized by its anthocyanin profile. *Postharvest Biol. Technol.*, 31:69-79.
19. Sanyürek Karaca, N., 2014. Tunceli ilinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin klasik yöntemle ve SSR markörlerle belirlenmesi, (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 285s.
20. Sefc, K.M., Lopes, M.S., Lefort, F., Botta, R., Roubelakis-Angelakis, K.A., Ibañez, J., Pejic, I., Wegner, H.W., Glössl, J., 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.* 100:498-505.
21. Shidfar M. 2008. Eskişehir ve Kayseri illerine ait asma gen kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a dayalı genetik karakterizasyonu. (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 69s.
22. Snoussi, H., Ben Slimane, H., Ruiz-Garcia, L., Martinez-Zapater, J.M., Arroyo-Garcia, R., 2004. Genetic relationship among cultivated and wild grapevine accessions from Tunisia. *Genome.* 47:1211-1219.
23. Söylemezoğlu, G., Ağaoğlu, Y.S., Marasalı, B., Ergül, A., Çalışkan M., Türkben, C. 1998. Üzüm çeşitlerinin yaprak kökenli kateşol oksidaz (Co), Peroksidaz (Per) ve Esteraz (Est) izoenzimlerinden yararlanılarak tanımlanmaları. 4. Bağcılık Sempozyumu, Yalova, s:138-144.
24. Şelli, F., Bakır, M., İnan, G., Aygün, H., Boz, Y., Yaşasın, A.S., 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.
25. Vouillamoz, J.F., McGovern, P.E., Ergül, A., Söylemezoğlu, G., Tevzadze, G., Meredith, C.P., Grado, M.S. 2006. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia. *Plant Genet Resources: Characterization & Utilization* 4(2):1448-1458.
26. Wagner, H.W., Sefc, K.M., 1999. Identity 1.0. Centre for applied genetics. University of Agricultural Science, Vienna.
27. Yıldırım, N. 2010. Kara (siyah) üzüm gruplarının SSR (Simple Sequence Repeat) markörlere dayalı karakterizasyonu ve ülke asma kaynakları ile genetik ilişkisi (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, 79s.
28. Yüksel, C. 2008. Manisa, İzmir, Aydın, Muğla ve Kütahya illerine ait asma gen kaynaklarının SSRS (Simple Sequence Repeats)'a dayalı genetik karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Ankara, 59s.