

BAZI MELEZ ÜZÜM ÇEŞİTLERİNDE VE EBEVEYNLERİNDE İZOENZİM BANT
DESENİ VARYASYONLARI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

H. İbrahim Uzun

İlknur Sarıkaya

Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya-TÜRKİYE

Özet: Trakya ilkeren, 6B/54, 9B/1 ve Trakya Çekirdeksiz üzüm çeşitleri ile bunların ebeveynleri arasındaki izoenzim bant desenini farklılıkları incelenmiştir. Bu açıdan, Asit fosfataz(HP), Katesol oksidaz(CO), Glutamat oksaloasetat transaminaz(GOT), indofenol oksidaz(IPO), Leusin aminopeptidaz(LAP), Malat dehidrogenaz(MDH) ve Peroksidaz(PER) enzimleri, poliakrilamid jel elektroforezinde incelenmiştir. Enzimlerden özellikle CO, IPO ve PER izoenzimleri açısından melezler ile ebeveynleri arasında varyasyon saptanmıştır. Melezler ve ebeveynleri arasında, yaprak izoenzimleri açısından %80'in üzerinde, tane izoenzimleri açısından %70'in üzerinde benzerlik saptanmıştır.

Studies on The Variation of Isozyme Banding Patterns in Hybrid Grape Cultivars and Their Parents.

Abstract: Variation in isozyme banding patterns of hybrid grape cultivars such as Trakya Ilkeren, 6B/54, 9B/1 and Trakya Çekirdeksiz and their parents were investigated. Polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE) was performed to detect the isozymes of Acid phosphotase(HP), Catechol oxidase(CO), Glutamate oxaloacetate transaminase(GOT), Indophenol oxidase(IPO), Leucine aminopeptidase(LAP), Malate dehydrogenase(MDH) and Peroxidase(PER) enzymes. Variations between hybrids and their parents were mainly detected in the isozymes of CO, IPO and PER. Isozymes of hybrids and their parents were similar over 80% in leaves and 70% in berries.

Giriş

Üzüm çeşitlerinin büyük çoğunluğu doğada meydana gelen veya insanlar tarafından yapılan melezlemeler sonucunda elde edilmiştir. Daha sonra fertler arasında yapılan seleksiyonlar sonucunda bugün kullanılan çeşitler elde edilmiştir. Bunun dışında mutasyonlarla elde edilen çeşit sayısı son derece sınırlıdır.

Ebeveynlerin bilinmemesi durumunda, Üzüm çeşitleri arasındaki akrabalık ilişkileri, önceleri varsayımlardan yola çıkılarak açıklanmaya çalışılmıştır. Fakat günümüzde geliştirilen izoenzim veya DNA analizleri gibi modern laboratuvar teknikleri, akrabalık ilişkilerinin

araştırılmasına veya kemotaksonomiye yeni ufuklar açmıştır. Yapılan çalışmalar, önceleri çeşitlerin izoenzim yapılarının belirlenmesi üzerine dayanmaktaydı. Bu açıdan genellikle tane ve yaprak izoenzimleri incelenmiştir (1, 2). Daha sonraları sinonim çeşitlerin veya klonlar arası farklılıkların araştırılması süreci gelmiştir(3,4). Bunu, son aşama olarak DNA analizleriyle çeşitler arasındaki akrabalık ilişkilerinin araştırılması takip etmiştir(4, 5, 6, 7).

Yurdumuzdaki mevcut çeşitlerin büyük çoğunluğu uzun yıllar devam eden doğal seleksiyonlar sonucunda elde edilmiştir. Fakat son 20-30 yıl içerisinde Tarım bakanlığı bünyesinde yürütülen melezleme çalışmaları sonucunda birçok yeni çeşit tescil edilerek, değişik amaçlarla kullanıma sunulmuştur(8).

Bu çalışmada, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü tarafından yapılan melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen Trakya ilkeren, 6B/54, Tekirdağ Çekirdeksiz ve 9B/1 üzüm çeşitlerinin ebeveynleriyle olan genetik benzerliklerini yaprak ve tane izoenzimleri yardımıyla ortaya koymak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Deneme, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi bağlarında mevcut Trakya ilkeren, 6B/54, 9B/1 ve Tekirdağ Çekirdeksizi çeşitlerinde, 1996 yılında yürütülmüştür. İlk üç çeşit ve ebeveynleri 1990 yılında aşılı köklü fidan olarak dikilmiştir. Sadece Tekirdağ Çekirdeksiz çeşidi 1994 yılında bağa yeni dikilmiştir. Bu nedenle, sözkonusu çeşitten henüz üzüm elde edilememiştir. Çeşitler ve ebeveynleri aşağıda verilmiştir:

Trakya ilkeren	: Alphonse Lavallee x Perlette
6B/54	: Alphonse Lavallee x Perlette
9B/1	: Muscat Reine des Vignes x Perlette
Tekirdağ çekirdeksizi:	Alphonse Lavallee x Sultani Çekirdeksiz

Enzimler sözkonusu çeşitlerin ve ebeveynlerinin yaprak ve tanelerinden ekstrakte edilmiştir. Tekirdağ Çekirdeksizi çeşidinin yeni dikilmiş olması nedeniyle, sadece yaprak izoenzimleri incelenmiştir. incelenen enzimler Asit fosfataz(HP), Glutamat okzaloasetat transaminaz(GOT), indofenol oksidaz(IPO), Kateşol oksidaz(CO), Leusin aminopeptidaz(LAP), Malat dehidrogenaz(MDH) ve Peroksidaz (PER) dir. Bu enzimlerin, yaprak ve tanelerdeki bant desenleri saptanarak, benzerlik indeksleri çıkarılmış ve cluster analizine tabii tutulmuştur. Cluster analizi, UPGMA, (Unweighted pairs group) metodu esas alınarak yapılmıştır(9). Benzerlik indeksleri Sugiura ve ark. tarafından belirtilen formüle göre çıkarılmıştır(10). Enzimlerin ekstraksiyonunda Arulsekhar ve Parfitt tarafından önerilen ve bunlarda yapılan küçük çaplı değişiklikler sonucu oluşturulan yöntemler kullanılmıştır(3,11). Dikey poliakrilamid jel elektroforezi(PAGE)'nde elde edilen izoenzimler, Arulsekhar ve Parfitt ile Wolfe tarafından belirtilen enzim boyama

reçeteleri kullanılarak görünür hale getirilmiştir(2, 11).

Bulgular ve Tartışma

İzoenzim Bant Desenleri

Melez üzüm çeşitlerinin ve ebeveynlerinin yapraklarından ekstrakte edilen enzimlerde bant deseni farklılıkları saptanmıştır. Bu amaçla CO, GOT, HP, IPO, LAP, MDH ve PER enzimleri incelenmiştir. Bu enzimlerden özellikle CO, IPO ve PER izoenzimleri bakımından, melezler ile ebeveynleri arasında geniş çapta varyasyonlar saptanmıştır(Şekil 1).

İndofenol oksidaz enzimi yaprak ve tanelerde incelendiğinde, bantların 4 farklı bölgede olduğu görülür(IPO₁, IPO₂, IPO₃, IPO₄). Bunlardan 1. ve 4. bölgede birer bant bulunmakta ve tüm çeşitlerde sabittir. Esas farklılık, üçer bant içeren 2. ve 3. bölgede meydana gelmiştir. Örneğin sabit olan bölgelere ek olarak, Alphonse lavalée çeşidinde sadece 2. bölge; Perlette çeşidinde ise sadece 3. bölge saptanmıştır. Oysa bu iki çeşidin melezi olan Trakya ilkeren ve 6B/54 çeşitlerinde 2. ve 3. bölgenin her ikisinde mevcuttur(Şekil 1).

IPO (Yaprak, tane)	CO (Tane)	PER (Tane)
IPO ₁ ——— ——— ———	————— ——— ———	————— ——— ——— ——— ———
IPO ₂ ——— ———	————— ———	—————
IPO ₃ ——— ———	————— ———	
IPO ₄ ——— ———		
1,4,7 2 3,8	1,4 2 3	1,4 2,3 5 6 3
Üzüm çeşitleri	Üzüm çeşitleri	Üzüm çeşitleri

Şekil 1. Melez ve ebeveynleri olan üzüm çeşitlerinin yaprak veya tanelerindeki CO, IPO ve PER izoenzim bant varyasyonları (Çeşitler: 1. Trakya ilkeren, 2. Alphonse Lavalée, 3. Perlette, 4. 6B/54, 5. 9B/1 6. Muscat Reine des Vigne, 7. Tekirdağ Çekirdeksizi, 8. Sultanî Çekirdeksiz).

Kateşol oksidaz enziminin tane izoenzimlerinde bantlar iki bölge halinde olduğu saptanmıştır. Bunlardan özellikle ilk bölge kararsız bantlar içermesi nedeniyle değerlendirmeye alınmamıştır. Esas olarak 2. bölgede melezler ile ebeveynleri

arasında bant varyasyonları saptanmıştır. Trakya ilkeren ve 6B/54 çeşitleri 2. bölgede 5 bant içermesine karşın, Alphonse Lavallee çeşidinde 4, Perlette çeşidinde ise 3 bant saptanmıştır(Şekil 1).

Peroksidaz enziminde bantlar iki bölgede oluşmasına karşın, ilk bölge kararsız bantlar içerdiği için dikkate alınmamıştır. Melezler ile ebeveynleri arasındaki izoenzim varyasyonları esas olarak 2. bölgede saptanmıştır. Alphonse Lavallee ve Perlette çeşitleri peroksidazın iki bandını içermesine karşın, Trakya ilkeren ve 6B/54 çeşitleri ebeveynlerinde bulunmayan 3. bir banda daha sahip olduğu saptanmıştır(Şekil 1). Aynı enzimde benzer durum 9B/1 çeşidinin tane izoenzimlerinde saptanmıştır. Bu çeşidin ebeveyni olan Perlette 2 izoenzim bandı içermesine karşın, diğer ebeveyn olan Muscat Reine des Vignes çeşidi ile 9B/1 aynı bant desenine sahiptir(Şekil 1).

Benzerlik İndeksleri ve Cluster Analizi

Yaprak izoenzimleri

Üzüm çeşitleri ve bunların ebeveynlerine ilişkin yaprak izoenzimlerinin benzerlik indeksleri Tablo 1'de verilmiştir.

Alphonse Lavallee ve Perlette melezlemesinden elde edilen Trakya ilkeren ve 6B/54 çeşitleri arasında %92 oranında bir benzerlik vardır. Yaprak izoenzimlerinin benzerliği açısından, Trakya ilkeren ile 6B/54 çeşitlerinin ebeveynleri olan Alphonse Lavallee ve Perlette arasında ise sırasıyla %85 ve %91 oranında benzerlik vardır(Tablo 1). Bu açıdan her iki melez çeşidin ebeveynleri ile olan benzerliği aynıdır. Oysa ebeveynler arasındaki benzerlik ise oldukça uzak olup %78 oranında gerçekleşmiştir. Bu ise son derece doğaldır. Çünkü Alphonse Lavallee, siyah taneli ve çekirdekli; Perlette, beyaz taneli ve çekirdeksiz bir üzüm çeşididir. Her iki çeşidin morfolojik özellikleri birbirinden oldukça farklıdır. Dolayısıyla genotipik yapılarını yansıtan izoenzimler açısından da farklı bulunması normaldir. Şekil 2'deki dendogramda görüldüğü gibi, Alphonse Lavallee diğer çeşitlere nazaran ayrı bir grup oluşturmuştur. Dolayısıyla diğer çeşitlere göre oldukça farklı bir genetik yapıya sahiptir.

Tekirdağ Çekirdeksiz çeşidinde, ebeveynlerden Alphonse Lavallee ile %85, Sultani Çekirdeksiz ile %95 oranında benzerlik bulunmuştur. Ebeveynlerin kendi aralarında ise %80 gibi oldukça düşük sayılabilecek bir benzerlik vardır. Bu da yine ebeveynlerin morfolojik yapılarının farklı olması nedeniyle son derece doğaldır(Tablo 1). Yapılan cluster analizinde ise Alphonse Lavallee ayrı bir grupta yer almıştır(Şekil 2).

Tablo 1. Yaprak izoenzimleri bakımından Bazı Melez Üzüm Çeşitleri ile Ebeveynleri Arasındaki Benzerlik indeksi(%).

Çeşitler	1	2	3	4
1. Trakya ilkeren	-			
2. Alphonse Lavallee	85	-		
3. Perlette	91	78	-	
4. 6B/54	92	85	91	-

Çeşitler	1	2	3
1. Tekirdağ Çekirdeksiz	-		
2. Alphonse Çavalle	85	-	
3. Sultani Çekirdeksiz	95	80	-

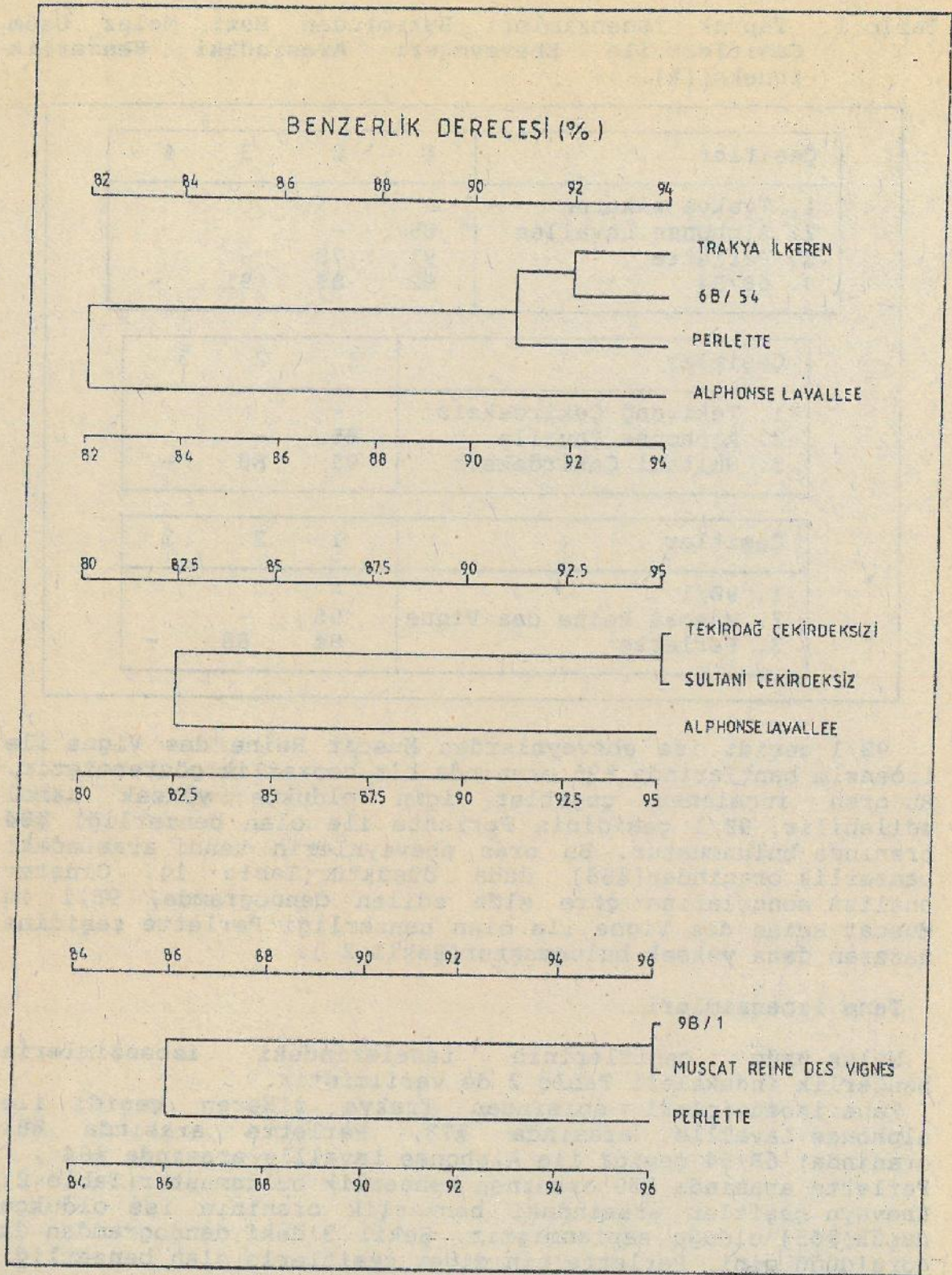
Çeşitler	1	2	3
1. 9B/1	-		
2. Muscat Reine des Vigne	96	-	
3. Perlette	84	88	-

9B/1 çeşidi ise ebeveynlerden Muscat Reine des Vigne ile izoenzim bantlarında %96 oranında bir benzerlik göstermiştir. Bu oran incelenen çeşitler için oldukça yüksek kabul edilebilir. 9B/1 çeşidinin Perlette ile olan benzerliği %84 oranında bulunmuştur. Bu oran ebeveynlerin kendi arasındaki benzerlik oranından(%88) daha düşüktür(Tablo 1). Cluster analizi sonuçlarına göre elde edilen dendogramda, 9B/1 in Muscat Reine des Vigne ile olan benzerliği Perlette çeşidine nazaran daha yüksek bulunmuştur(Şekil 2).

Tane izoenzimleri

Melez üzüm çeşitlerinin tanelerindeki izoenzimlerin benzerlik indeksleri Tablo 2 de verilmiştir.

Tane izoenzimleri açısından Trakya ilkeren çeşidi ile Alphonse Lavalle arasında %73, Perlette arasında %81 oranında; 6B/54 çeşidi ile Alphonse Lavalle arasında %84 , Perlette arasında %69 oranında benzerlik bulunmuştur(Tablo 2) Ebeveyn çeşitler arasındaki benzerlik oranının ise oldukça düşük(%65) olduğu saptanmıştır. Şekil 3'deki dendogramdan da görüldüğü gibi, Perlette'nin diğer çeşitlerle olan benzerliği en düşük olarak saptanmıştır.



Şekil 2. Yaprak izoenzimleri açısından melezler ve ebeveynleri arasındaki farkları gösteren ve cluster analizi sonucunda elde edilen dendrogram.

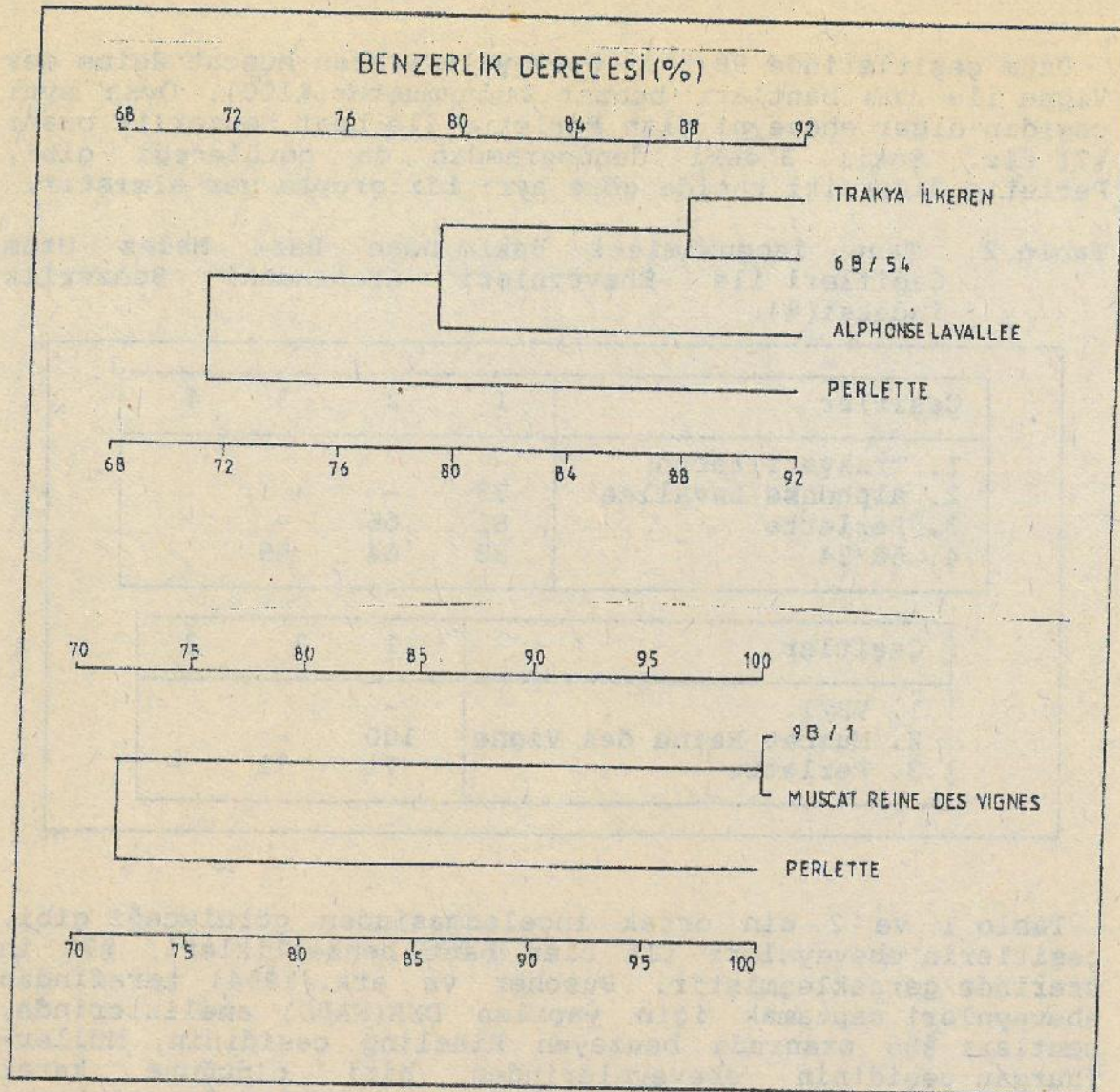
Üzüm çeşitlerinde 9B/1 in ebeveynleri olan Muscat Reine des Vigne ile tüm bantları benzer bulunmuştur(%100). Oysa aynı çeşidin diğer ebeveyni olan Perlette ile bant benzerlik oranı %71 dir. Şekil 3'deki dendogramdan da görüleceği gibi, Perlette diğer iki çeşide göre ayrı bir grupta yer almıştır.

Tablo 2. Tane izoenzimleri bakımından Bazı Melez Üzüm Çeşitleri ile Ebeveynleri Arasındaki Benzerlik indeksi(%).

Çeşitler	1	2	3	4
1. Trakya ilkeren	-			
2. Alphonse Lavallee	73	-		
3. Perlette	81	65	-	
4. 6B/54	88	84	69	-

Çeşitler	1	2	3
1. 9B/1	-		
2. Muscat Reine des Vigne	100	-	
3. Perlette	71	71	-

Tablo 1 ve 2 nin ortak incelenmesinden görüleceği gibi, çeşitlerin ebeveynleri ile olan bant benzerlikleri, %70 in üzerinde gerçekleşmiştir. Buscher ve ark.(1994) tarafından ebeveynleri saptamak için yapılan DNA(RAPD) analizlerinde, bantları %85 oranında benzeyen Riesling çeşidinin, Müller-Thurgau çeşidinin ebeveynlerinden biri olduğuna karar verilmiştir. Ebeveynler arasındaki benzerlikler ise Alphonse Lavallee ve Perlette olduğu gibi, bazen morfolojik özellikler ne kadar farklı ise o derece düşük oranda gerçekleşmiştir. incelenen enzimler açısından, ebeveynler ile sadece 9B/1 ve Muscat Reine des Vigne çeşitlerinin taneleri tamamen aynı izoenzim bantlarını içermiştir. Sözkonusu çeşitlerin yaprakları arasındaki benzerlik te oldukça yüksek bulunmuştur (%96). Üzüm çeşitlerinin genotipik yapısındaki farklılıkları izoenzimler ve DNA analizleriyle saptayarak, bunların genetik yapıları ve özelliklerinin kalıtımı, ıslah çalışmalarında karakterlerin kalıtımını incelemek amacıyla, ileride yapılacak ayrıntılı çalışmalarla incelenmelidir.



Şekil 3. Tane izoenzimleri açısından melez ve ebeveynleri arasındaki farkları gösteren ve cluster analizi sonucu elde edilen dendrogram.

Kaynaklar

1. Walker A., L. Lin. The use of isozymes to identify 60 rootstocks (Vitis spp). Am. J. Enol. Vitic., 46, 3, 289-305, 1995.
2. Wolfe W.H. Application of isozyme banding patterns to identification of cultivars and species of grapevines (Vitis). Ph.D. Thesis, Univ. of California, Davis, 1977.

3. Uzun H.i., S. Özışık, K. Gürnil, İ. Ayman. Bazı sinonim üzüm çeşitlerinin izoenzim ve protein bant desenlerinden tanısı üzerinde araştırmalar. Tübitak / TOGTAG proje no:1256, 1996.
4. Moreno S., Y. Gogorcena, J.M. Ortiz. The use of RAPD markers for identification of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae*, 62, 237-243, 1995.
5. Bowers J.E., E.B: Bandman, C.P. Meredith. DNA fingerprint characterization of some wine grape cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.*, 44, 3, 166-274, 1993.
6. Buscher N., E. Zyprian, O. Bachmann R. Blaich. On the origin of the grapevine variety Muller-Thurgau as investigated by the inheritance of random amplified polymorphic DNA(RAPD). *Vitis*, 33, 15-17, 1994.
7. Tschammer J., E. Zyprian. Molecular characterization of grapevine cultivars of Riesling type and of closely related Burgundies. *Vitis*, 33, 249-250, 1994.
8. Barış C. Tescil edilip üretime sunulan yeni çekirdeksiz ve erkenci sofralık üzüm çeşitleri. *Tarım ve köy.82*, 52-53, 1992.
9. Rohlf F.J. NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter software, New York, 1994.
10. Sugiura A., R. Tao, T. Tomana. Distinguishing between Japanese persimmon cultivars (*Diospyros kaki* L.) by means of pollen isozymes. *Scientia Horticulturae*. 36, 67-77, 1988.
11. Arulsekhar S., D.E. Parfitt. Isozyme analysis procedures for stone fruits, almond, grape, walnut, pistachio and fig. *Hortscience*, 21, 4, 928-933, 1986.