

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serap GÜNAYDIN

**BAZI ÇİLEK ÇEŞİT VE GENOTİPLERİNİN MOLEKÜLER MARKÖR
TEKNİKLERİ İLE KARAKTERİZASYONU**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2008

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI ÇİLEK ÇEŞİT VE GENOTİPLERİNİN
MOLEKÜLER MARKÖR TEKNİKLERİ İLE KARAKTERİZASYONU**

**Serap GÜNAYDIN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez 21/11/ 2008 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği İle
Kabul Edilmiştir.**

İmza.....İmza.....İmza.....

Prof. Dr. Salih KAFKAS
DANIŞMAN

Doç.Dr. Hakan ÖZKAN
ÜYE

Doç.Dr. Bahattin TANYOLAÇ
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü**

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
Desteklenmiştir.

Proje No: ZF2008YL23

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ver başka kaynaktan yapılan bildirilerin, şekil ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere
tabidir.

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI ÇİLEK ÇEŞİT VE GENOTİPLERİNİN
MOLEKÜLER MARKÖR TEKNİKLERİ İLE KARAKTERİZASYONU**

Serap GÜNAYDIN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman: Prof. Dr. Salih KAFKAS

Yıl: 2008, Sayfa: 57

Jüri : Prof. Dr. Salih KAFKAS

Doç. Dr. Hakan ÖZKAN

Doç. Dr. Bahattin TANYOLAÇ

Bu çalışma Türk ve yabancı orijinli 34 çilek çeşit ve genotipi arasındaki genetik ilişkileri ortaya çıkarmak amacıyla CAPS ve SSR DNA moleküler markör teknikleri kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada 17 adet CAPS primer enzim kombinasyonu ve 12 adet SSR primer çifti kullanılmıştır. CAPS primer-enzim kombinasyonları 52'si polimorfik olan toplam 60 adet bant üretmiştir. Kullanılan SSR primer çiftlerinden ise 145'i polimorfik olan toplam 150 adet allel elde edilmiştir. CAPS tekniğinde genetik benzerlik katsayısı 0.56–0.95 arasında değişmiştir. Call Giant-4 ile Festival'in (0.95) genetik olarak birbirlerine en yakın, Maya ile Whitney'in (0.56) genetik olarak birbirine en uzak genotipler olduğu belirlenmiştir. SSR tekniğinde elde edilen sonuçlara göre, genetik benzerlik katsayısı 0.55-0.94 arasında değişmiştir. Call Giant-2 ile Call Giant-3'ün (0.94) birbirine en yakın, 8 nolu genotip ile Call Giant-4'ün (0.55) ise en uzak genotipler olduğu tespit edilmiştir. CAPS ve SSR verilerinin birlikte analiz edilmesi sonucunda ise, genetik benzerlik katsayısı 0.59-0.91 arasında değişim göstermiştir. Call Giant-2 ile Call Giant-3 (0.91) en yakın, 8 nolu genotip ile Call Giant-4 (0.59) ise en uzak genotipler olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, çilek çeşit ve genotiplerinin karakterizasyonunda, SSR yöntemi CAPS tekniğine göre polimorfizm oranı (PO) ve polimorfizm bilgi içeriği (PBI) bakımından daha üstün bulunurken, CAPS tekniği ise ayırma gücü bakımından SSR yönteminden daha üstün bulunmuştur.

Anahatar Kelimeler: Çilek, Genetik benzerlik, SSR, CAPS, *Fragaria x ananassa*.

ABSTRACT
MSc THESIS

**CHARACTERIZATION OF SOME STRAWBERRY CULTIVARS AND
GENOTYPES by MOLECULAR MARKERS**

Serap GÜNAYDIN
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
INSTITUTE OF BASIC AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF CUKUROVA

Supervisor: Prof. Dr. Salih KAFKAS

Year: 2008, Page: 57

Jury : Prof. Dr. Salih KAFKAS

Assoc. Prof. Dr. Hakan ÖZKAN

Assoc. Prof. Dr. Bahattin TANYOLAÇ

This study was performed to reveal the value of genetic relationship among 34 Turkish and foreign strawberry cultivars and genotypes using CAPS and SSR DNA molecular markers. Seventeen primer-enzyme combinations in CAPS and 12 SSR primer pairs in SSR analysis were used. In CAPS analysis, 60 bands were produced and 52 of them were polymorphic. In SSR analysis, 150 alleles were generated and 145 of them were polymorphic. The similarity index in CAPS technique ranged between 0.56 and 0.95. Call Giant-4 and Festival (0.95) were found the closest cultivars, while Maya and Whitney (0.56) were the most distant cultivars. According to SSR results, genetic similarity index changed from 0.55 to 0.94. Call Giant-2 and Call Giant-3 (0.94) were the closest cultivars, while Genotype 8 and Call Giant-4 (0.55) were the most distant ones. In the analysis of combined CAPS and SSR data, genetic similarity index ranged between 0.59 and 0.91. Call Giant-2 and Call Giant-3 (0.91) were the closest cultivars, while Genotype 8 and Call Giant-4 were the most distant genotypes. As a result, SSR was better than CAPS from the point of view of polymorphism rates and polymorphism information contents, whereas CAPS was better than SSR from the point of view of resolving power values, in the characterization of strawberry cultivars and genotypes.

Key Words: Strawberry, CAPS, SSR, Genetic similarity, *Fragaria x ananassa*.

TEŞEKKÜR

Öncelikle bana bu konuyu veren, araştırmaya yönlendiren ve bugüne kadar yapmış olduğum çalışmalarda yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ve çalışmalarına her zaman önder olan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Salih KAFKAS'a yürekten teşekkürü borç bilirim.

Tezimde kullanmış olduğum bitki materyallerini temin etmemde yardımcı olan, çalışmalarımnda maddi, manevi yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Ebru KAFKAS'a, Bahçe Bitkileri bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Sevgi PAYDAŞ ve Sayın Prof. Dr. Nurgül TÜREMİŞ hocalarıma, Yalex A.Ş.'ne ve Çiltar Ltd. Şti. teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen ve bilgilerini benimle paylaşan değerli arkadaşlarım Ziraat Yüksek Mühendisi Yıldız DOĞAN, Biyolog Aysun TURHAN, Biyolog Burcu ÖZCAN'na çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezim süresince desteğini esirgemeyen arkadaşım Ziraat Yüksek Mühendisi Özlem KÖYBAŞI'na yürekten teşekkür ederim. Bugüne kadar her zaman yanımda olan ve çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli babam Yusuf GÜNAYDIN, annem Zöhre GÜNAYDIN ve kardeşlerime yürekten sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	IX
1.GİRİŞ.....	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
2.1. <i>Fragaria</i> Türlerinde CAPS Yöntemi İle İlgili Çalışmalar	6
2.2. <i>Fragaria</i> Türlerinde SSR Yöntemi İle İlgili Çalışmalar	6
2.3. <i>Fragaria</i> Türlerinde AFLP Yöntemi İle İlgili Çalışmalar	8
2.4. <i>Fragaria</i> Türlerinde RFLP Yöntemi İle İlgili Çalışmalar	8
2.5. <i>Fragaria</i> Türlerinde RAPD Yöntemi İle İlgili Çalışmalar	8
2.6. <i>Fragaria</i> Türlerinde ISSR Yöntemi İle İlgili Çalışmalar	10
2.7. <i>Fragaria</i> Türlerinde Mikrosatellit Markör Geliştirilmesi ve Türler Arasında Haritalama İle İlgili Çalışmalar	11
3. MATERYAL ve METOD.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.2. Metod.....	14
3.2.1. Yaprak Örneklerinin Toplanması.....	14
3.2.2. DNA İzolasyonu.....	14
3.2.3. DNA Miktarının Belirlenmesi ve DNA Konsantrasyonunun PCR Reaksiyonları için Ayarlanması.....	15
3.2.4. CAPS Analizleri.....	17
3.2.5. SSR Analizleri.....	21
3.2.5.1. SSR-PCR Reaksiyonu ve Döngü Koşulları	21
3.2.5.2. SSR-PCR Reaksiyonlarının Kapiler Elektroforezi	23
3.2.6. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının ve Bilgi İçeriklerinin	

Belirlenmesi.....	24
3.2.7. Primerlerin Ayırma Güçlerinin Belirlenmesi.....	24
3.2.8. Çilek Çeşit ve Genotiplerinin Arasındaki Genetik İlişkilerin Belirlenmesi ve Soyağacı Analizleri	25
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	26
4.1 Çilek Çeşit ve Genotiplerinin CAPS Tekniği ile Karakterizasyonunda Polimorfizm ve Ayırma Gücü	26
4.1.1. Çilek Genotiplerinin CAPS Yöntemi ile Aralarındaki Genetik İlişkilerinin Belirlenmesi	30
4.2. Çilek Çeşit ve Genotiplerinin SSR Tekniği ile Karakterizasyonunda Polimorfizm ve Ayırma Gücü	33
4.2.1. Çilek Genotiplerinin SSR Yöntemi ile Aralarındaki Genetik İlişkilerinin Belirlenmesi	36
4.3. CAPS ve SSR Analizlerinin Birlikte Değerlendirilmesi ve Karşılaştırılması	40
4.3.1. CAPS ve SSR Yöntemlerinin Polimorfizm ve Ayırma Gücü Bakımından Karşılaştırılması	40
4.3.2. Çilek Çeşitleri Arasındaki Genetik İlişkilerin CAPS ve SSR Verilerinin Birlikte Değerlendirilmesi ile Belirlenmesi	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	53
EK 1	54
EK 2	55
EK 3	56

ÇİZELGELER DİZİNİ	SAYFA
Çizelge 1.1. 2005 Dünya Çilek Üretimi (Faostat, 2005)	2
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan çilek çeşitlerinin adları, ebeveynleri, orijinleri ve gen kaynakları	13
Çizelge 3.2. CAPS çalışmasında kullanılan primerler, baz dizilimleri ve kesimlerinde kullanılan enzimler	17
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan kesim enzimleri ve kesim bölgesi	19
Çizelge 3.4. SSR analizinde kullanılan sıcaklık ve döngü koşulları.....	21
Çizelge 3.5. SSR analizinde kullanılacak SSR primer adı, baz dizilimi, primerin DNA'ya yapışma sıcaklığı ve beklenen allel büyüklüğü	22
Çizelge 4.1. CAPS analizlerinde kullanılan primerlerin 36 adet çilek çeşit ve genotipinden elde edilen toplam bant sayısı (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) değerleri	29
Çizelge 4.2. SSR primerlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam allel sayıları (TAS), polimorfik allel sayıları (PAS), polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri	34
Çizelge 4.3. CAPS ve SSR primerlerinin amplifikasyonu sonucunda elde edilen toplam bant sayısı (TBS), polimorfik bant sayısı (PBS), polimorfizm oranı(PO), primer başına düşen toplam bant sayısı (PBDTBS), primer başına düşen polimorfik bant sayısı (PBDPBS), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve primerlerin ayırma gücü (AG) değerleri	40

ŞEKİLLER DİZİNİ	SAYFA
Şekil 3.1. DNA izolasyonu için toplanan çilek yaprakları	15
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan örneklerin DNA miktarlarının tahmini..	17
Şekil 3.3. nada kullanılan bazı örneklerin DNA miktarlarının 5 ng/µl'ye ayarlanması.....	17
Şekil 3.4. Bant büyüklüklerinin belirlenmesinde kullanılan lamda DNA'nın <i>EcoRI</i> ve <i>HindIII</i> kesim enzimlerinin jel görüntüsü (MA: Molekül ağırlık).....	21
Şekil 3.5. Laboratuarda çalışmada elde edilen bir jelden görüntü alınması ile ilgili bir görüntü	21
Şekil 3.6. SSR analizlerinin yapıldığı otomatik genetik analizör cihazı (ABI 3130xl)	24
Şekil 4.1. APX primerinin bazı çilek çeşidi ve genotipinde CAPS-PCR ürünün jel görüntüsü Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, 1. Fern 2. Festival 3. Gianna 4. Kabarla 5. Call Giant-2 6. Call Giant-3 7. Call Giant-4 8. Call Giant-5 9. Sweet Charlie 10. Rubygem 11. Whitney 12. Redlans Hope MA: Molekül ağırlık	26
Şekil 4.2. B-APX primerinin bazı çilek çeşidi ve genotipinde CAPS-PCR ürünün jel görüntüsü Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, 1. Fern 2. Festival 3. Kabarla 4. Call Giant-2 5. Call Giant-3 Call 6. Giant-4 7. Call Giant-5 8. Sweet Charlie 9. Rubygem 10. Whitney 11. Redlans Hope MA: Molekül ağırlık	26
Şekil 4.3. APX- <i>Mlu</i> I primer enzim kombinasyonun CAPS-RES jel görüntüsü Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, 1. Fern 2. Festival 3. Gianna 4. Kabarla 5. Call Giant-2 6. Call Giant-3 7. Call Giant-4 8. Call Giant-5 9. Sweet Charlie 10. Rubygem 11. Whitney 12. Redlans Hope 13. 11 nolu genotip 14. 17 nolu genotip MA: Molekül ağırlık	27
Şekil 4.4. B-APX- <i>MluI</i> primer enzim kombinasyonun CAPS-RES jel	

	görüntüsü Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, 1. Fern 2. Festival 3. Gianna 4. Kabarla 5. Call Giant-2 6. Call Giant-3 7. Call Giant-4 8. Call Giant-5 9. Sweet Charlie 10. Rubygem 11. Whitney 12. Redlans Hope 13. 11 nolu genotip 14. 17 nolu genotip MA: Molekül ağırlık	27
Şekil 4.5.	34 Çilek çeşit ve genotipinin CAPS tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı	32
Şekil 4.6.	5'ucu VIC flourosan boya ile etiketli UFFa 04-G04 SSR lokusunun bazı çilek genotiplerinde amplifikasyonu ile kapiler elektroforez sonucu elde edilen elektroferogramın görüntüsü	33
Şekil 4.7.	34 Çilek çeşit ve genotipinin SSR tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı	39
Şekil 4.8.	34 Çilek çeşit ve genotipinin CAPS ve SSR tekniklerinin birlikte uygulanması sonucu elde edilen soyağacı	43

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABI	: Applied Biosystems
AE	: Elüsyon tampon çözeltisi
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AG	: Ayırma Gücü
AW	: Yıkama tampon çözeltisi
bç	: Baz çifti
CAPS	: Cleaved Amplified Polymorphic Sequences
cDNA	: Complementary DNA
CTAB	: Setil Trimetil amonyum bromit
dk	: Dakika
dATP	: deoksi adenzin trifosfat
dCTP	: Deoksi sitidin trifosfat
dGTP	: Deoksi guanozin trifosfat
dTTP	: Deoksi timidin trifosfat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
EST	: Esteraz
F	: İleri (forward) primer
g	: Gram
ha	: Hektar
HCl	: Hidroklorik asit
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
LIZ	: Size standart
m	: Metre
M	: Molar
MA	: Moleküler ağırlık
mg	: Miligram
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre

mM	: Milimolar
NaCl	: Sodyum klorür
Na ₂ S ₂ O ₅	: Sodyum metabisülfid
ng	: Nanogram
NTSYSpc	: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System
PAS	: Polimorfik Allel Sayısı
PBI	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
PBS	: Polimorfik Bant Sayısı
PBDTBS	: Primer Başına Düşen Toplam Bant Sayısı
PBDPBS	: Primer Başına Düşen Polimorfik Bant Sayısı
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	: Geri (revers) primer
RNase A	: Ribonuclease A
PO	: Polimorfizm oranı
PVP	: Polivinilpirolidon
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
rpm	: Revolutions per minute
SSR	: Simple Sequence Repeat
SRAP	: Sequence Related Amplified Polymorphism
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TAS	: Toplam Allel Sayısı
TBE	: Tris/borik asit/EDTA tampon çözeltisi
Tris	: Tris (hidroksil metil) aminometan
Tris-HCl	: Tris hidroklorür
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average
UV	: Ultraviolet
µM	: Mikromolar
µl	: Mikrolitre
λ DNA	: Lambda deoksiribonükleik asit
6-FAM	: 6-Carboxyfluorescein

1. GİRİŞ

Dünyada ve ülkemizde ticari olarak yetiştiriciliği yapılan çilekler, botanik olarak sınıflandırıldıklarında Rosales takımı, Rosaceae (Gülgiller) familyasından, *Fragaria* cinsi içerisinde yer alır (**Hancock ve Luby, 1993**).

Anavatanı Kuzey ve Güney Amerika'dır. Kuzey yarımkürenin ılıman iklim bölgeleriyle birlikte, Güney yarımkürede de geniş ölçüde tarımı yapılmaktadır. ABD, Avrupa, Güney ve Doğu Afrika ülkeleri, Yeni Zelanda, Avustralya ve Japonya en çok çilek yetiştiren ülkelerdir. Deniz seviyesinden 3255 m yükseklikte, soğuk yörelerde, subtropik bölgelerde, sulanabilen çöllerde, yaz aylarında gece gündüz aydınlık olan Arktik bölgelerde, Ekvator gibi çok farklı ekolojik koşullarda doğal olarak yetişebilmektedir (**Nacar, 2005**).

Çilek yetiştiriciliğinde özellikle son yıllarda dünyada ve ülkemizde giderek önem kazanmasının en büyük etkeni değişik iklim ve toprak koşullarında ekonomik olarak yetiştirilmesi olmuştur. Ayrıca çilek, pazarda taze meyvenin az olduğu dönemlerde olgunlaşması nedeniyle de iyi bir pazar avantajına sahiptir. Çilek her yaştaki insanlar tarafından sevilerek tüketilebilen bir meyve olmakla birlikte her mevsim değişik tüketim olanaklarına da sahiptir. Bunun yanında bu meyve, yatırımların kısa sürede geri dönmesi nedeniyle küçük aile işletmeciliğine de uygundur. Ayrıca çilek yetiştiriciliğinde birim alandan elde edilen gelirden öteki ürünlere göre daha yüksektir (**Ağaoğlu, 1986; Aybak, 2000; Türemiş ve ark., 2000**).

Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde çilek yetiştiriciliğinin yapılabilmesi, çilek meyvesinin daha uzun süre piyasada bulunabilmesine imkân vermektedir. Çileğin özellikle diğer meyvelerin piyasada bulunamadığı mevsimde satışa sunulabilmesi üreticilere iyi bir gelir kaynağı sağlarken, aynı zamanda tüketiciler için de damağa hitap eden ve meyve ihtiyacını karşılayan hoş bir türdür (**Kılıçel, 2005**).

Çilek yetiştiriciliğinin önem kazanmasında etkili olan başka bir etken ise çileğin insan sağlığı ve beslenme açısından sağladığı yararlarıdır. Özellikle C vitamini bakımından zengin olan bu meyvenin 100 gramında 100 mg'a kadar çıkabilen C vitamini (**Türemiş ve ark., 2000**), 92 g su, 0.6 g protein, 0.4 g yağ, 0.5 g lif bulunmaktadır (**Maas ve ark., 1996**). Ayrıca çilek, sindirimin kolaylaştırılmasında

önemli bir rolü olan selüloz bakımından da zengindir. Günümüzde çileğin ellajik asit içeriğinin yüksek olması nedeniyle kanseri önleyici özelliğe sahip olduğu da bilinmektedir. Ayrıca 100 g çilek meyvesi 40-45 kalori vermekte, önemli miktarda salisilik asit, A, B vitaminleri, kalsiyum, demir, fosfor gibi mineral maddeler ile çok az miktarda brom, silisyum, iyot ve kükürt de içermektedir (**Türemiş ve ark., 2000**).

Çilek meyvesi taze olarak tüketimi yanında, reçel, marmelât, dondurma, pasta ve likör yapımında geniş ölçüde kullanılır. Ayrıca derin dondurularak saklanır, konservesi yapılır, meyve suyu elde edilir ve son zamanlarda da süt ve yoğurt üreten sanayi kuruluşlarının bir vazgeçilmezi haline gelmiştir (**Özdemir, 1999; Erenoğlu ve ark., 2000; Nacar, 2005**).

FAO raporuna göre dünya çilek üretimi incelendiğinde; 1980 yılında toplam çilek üretimi 1.767.924 ton iken; 2005 yılında 3.259.300 tona ulaşmıştır (**Faostat, 2005**). Bu belirtilen üretimin yaklaşık %34'ünü ABD karşılamakla birlikte İspanya, Polonya, Japonya, İtalya, Meksika, Türkiye, Almanya, Fransa, Rusya, Kore ve İngiltere yetiştiricilik açısından önemli ülkeler arasında yer almaktadır (**Çizelge 1.1**).

Çizelge 1.1. 2005 Dünya çilek üretimi (Faostat, 2005)

ÜLKELER	ÜRETİM (ton)
ABD	1.108.000
İspanya	308.000
Rusya	217.000
Japonya	200.000
Kore	200.000
Türkiye	160.000
İtalya	154.495
Meksika	150.261
Almanya	131.915
Diğer	1.028.100
Ortalama	277.352
Toplam	3.259.300

Bunun ötesinde çilek üretimi bakımından önemli ülkeler arasında son on yılda en fazla artışın ülkemizde olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde çilek yetiştiriciliği 1970'li yıllarda başlamış, özellikle son yıllarda hızlı bir artış göstermiştir. Nitekim, 1970 yılında 2100 ha alanda 9700 ton ürün alınırken, 2005 yılında 14.000 ha alandan

200.000 ton ürün alınmıştır. Bu 35 yıl içerisinde üretim alanı bakımından yaklaşık %6.7'lik, üretim miktarı bakımından ise %20.6'lık bir artış sağlanmıştır **(Kafkas, 2004; Faostat, 2005)**.

Ülkemizdeki duruma bakıldığında ise Kuzey ve Doğu bölgesi hariç diğer bölgelerde çilek yetiştiriciliği yapılmaktadır. Üretimin büyük çoğunluğu Akdeniz (%62), Marmara (%20) ve Ege (%12) bölgelerinde yoğunlaşmıştır **(Turhan ve Paydaş-Kargı, 2007)**. Akdeniz bölgesinin erkenci çilek yetiştiriciliği bakımından ayrı bir önemi vardır **(Nacar, 2005)**.

Rosaceae familyasından çilek çeşitleri arasında *Fragaria x ananassa* ($2n=8x=56$) ekonomik öneme sahiptir **(Basil ve ark., 2006a)**. *Fragaria* cinsine bağlı olan yaklaşık 20 yabancı türün kromozom sayıları $x=7$ 'dir ve 4 poliploidi seviyesi vardır. Bunlar diploid, tetraploid, hekzaploid ve oktoploid türlerdir **(Hancock, 1999)**.

Bitkiler arasındaki genetik varyasyonların belirlenmesinde ve bunların sınıflandırılmasında öncelikle morfolojik, fizyolojik ve sitolojik özellikler kullanılmış, daha sonra ise biyokimyasal markörler geliştirilmiştir. Son zamanlarda ise moleküler seviyede çalışmalar yapılmaktadır **(Scarano ve ark., 2002)**.

Moleküler markörler, kaynağını kendilerinin üretildiği bitkilerin hücrelerinde bulunan DNA'lardan alır. Canlıların yapısını belirleyen şifrede DNA zincirlerinde olduğundan moleküler markörler, bitki popülasyonundaki çeşitlilik veya o popülasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100'e yakın güvenilirlikle değerlendirilirler. Bugün moleküler markörler bitki sistematğinde, ıslahında ve gen kaynaklarının değerlendirilmesinde etkin olarak kullanılmaktadır **(Gülşen ve Mutlu, 2005)**.

Bitkilerde genetik ilişkileri ortaya çıkarmak için kullanılan ilk DNA markörü RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) olmuştur. Fakat bu yöntemin maliyetinin çok yüksek ve yavaş olması PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı moleküler markörlerin gelişmesine neden olmuştur. Bu markörlerin bazıları RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ve mikrosatellitlerdir. **(Tanskley ve ark., 1989)**.

Çilekte tür ve çeşit ayrımının yapılması ve tanımlanması konularında DNA markörlerinin kullanılması morfolojik, biyokimyasal ve izoenzim markörlerinin kullanılmasına oranla daha fazla avantaj sağlamaktadır. PCR'a dayalı DNA markörleri; SSR (Simple Sequence Repeats), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences), AFLP, ISSR ve RAPD yöntemleri ile ilgili farklı orijinli birçok çilek çeşidinde araştırmalar yapılmıştır (**Arnau ve ark., 2002; Tyrkal ve ark., 2002; Jadwiga ve ark., 2003; Kunihiya ve ark., 2003; 2005; Kashyap ve ark., 2005; Sugimoto ve ark., 2005; Basil ve ark., 2006a; 2006b; Gil-Ariza 2006; Miella ve ark., 2006; Monfort ve ark., 2006; Shimomura ve Hirashima, 2006**).

RAPD, ISSR ve AFLP dominant moleküler markör yöntemleridir. SSR, RFLP ve CAPS yöntemleri ise ko-dominant moleküler markörlerdir. İdeal bir DNA markörün; kuruluş ve uygulama maliyetinin düşük olması, tehlikeli kimyasallarla çalışmayı gerektirmemesi, otomasyona uygunluğu, ko-dominant olması, yüksek polimorfizm göstermesi, birçok bilgi içermesi, sonuçların tekrarlanabilir olması, analizinin kolay ve basit olması istenir (**Kafkas, 2006**).

CAPS metodunda genellikle bilinen DNA dizilerinden çoğaltması söz konusudur ve uygun kesim enzimleri ile belirlenir. Bu yöntemde polimorfizm oranının yüksek olması için uygun CAPS primerleri ve uygun enzim kombinasyonuna ihtiyaç vardır (**Kunihiya ve ark., 2005**).

SSR tekniğinde polimorfizm oranı yüksek olmasına karşın, primerlerin belirlenmesi için ön çalışma gerektirdiğinden dolayı maliyetli bir yöntemdir (**Goulao ve ark., 2001**). Ancak öteki PCR'a dayalı tekniklere göre daha fazla bilgi içermesi, ko-dominant olması, tekrarlanabilir ve otomasyona uygun olması, az DNA gerektirmesi ve yüksek polimorfizm göstermesinden ve çoklu allel vermesinden dolayı çok kullanışlı bir yöntemdir (**Powell ve ark., 1996a; 1996b**). SSR yönteminde ortaya çıkacak bantlar arasındaki mesafe çok yakın olacağından analizde ya radyoaktif madde kullanmak ya da Li-Cor veya ABI gibi genetik analizör cihazlarını kullanmak gerekebilir. Ayrıca diploid *Fragaria* türlerinde SSR ile yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır (**Sargent ve ark., 2003; Cipriani ve Testolin, 2004; Hadonou ve ark., 2004**).

Yukarıda belirtilen RFLP, RAPD, AFLP, ISSR, CAPS ve SSR yöntemleri kullanılarak çilek çeşitlerinin karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar farklı birçok bölgenin gen kaynakları kullanılarak yapılmış olup böylece bu gen kaynaklarında bulunan bazı çilek çeşitleri genetik olarak tanımlanmıştır. Çilek yetiştiriciliği yapan ve gen kaynağına sahip olan her ülkenin yapması gerektiği gibi ülkemizin de kendi gen kaynaklarını ve yetiştirdiği çeşit veya genotiplerin DNA düzeyinde tanımlaması gerekmektedir. Bu amaçla ülkemizde ilk olarak moleküler seviyede bazı çilek çeşit ve genotiplerinin karakterizasyonu bu çalışma ile yapılmıştır. Bu nedenle, bu çalışma çilek yetiştiriciliği ve ıslahı için oldukça önemlidir.

İşte bu çalışmanın amacı, 34 adet yerli ve yabancı çilek çeşit ve genotiplerini CAPS ve SSR ko-dominant moleküler markör teknikleri ile karakterize etmek ve çilek çeşit ve genotipleri arasındaki genetik ilişkileri ortaya çıkararak ileride yapılacak çilek ıslah çalışmalarına altyapı oluşturmaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR**2.1. *Fragaria* Türlerinde CAPS Yöntemi İle Yapılan Çalışmalar**

Kunihisa ve ark. (2003) bazı çilek çeşitlerinin tanımlanması için CAPS (kesilmiş çoğaltılmış polimorfik bölgeler) markörlerinin geliştirilmesi amaçlı çalışmalarında 6 tane CAPS markörü geliştirdiklerini belirtmişlerdir. Geliştirdikleri markörleri kullanarak 14 ticari çilek çeşidini ayırt etmede başarılı olduklarını ifade etmişlerdir.

Kunihisa ve ark. (2005) oktoploid (*Fragaria x ananassa*) çilek çeşitlerinin tanımlanmasında geliştirdikleri 18 adet CAPS primerini kullandıklarını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; diploid olanlarda 13 adet primerin Mendel kalıtımına uygunluğunu elde ettiklerini ifade etmişlerdir. Oktoploid çileklerin genom yapısını küme ve ayırım analizleri ile incelediklerinde birbirine bağlı olmayan genomların varlığını tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca çalışmada 64 çilek çeşidini ayırmada bu CAPS markörlerini kullandıklarını ifade etmişlerdir.

2.2. *Fragaria* Türlerinde SSR Yöntemi İle Yapılan Çalışmalar

Ciprani ve Testolin (2004) yabani çilek (*Fragaria vesca*)’te 20 adet mikrosatellit primer çifti kullanarak bunların karakterizasyonu yapmak ve yeni primer geliştirmek amaçlı yaptıkları çalışmada AC zengin olan kütüphaneden ‘Ilaria’ çeşidinden 100 adet markör geliştirmişlerdir. Bu markörleri 8 adet *Fragaria vesca*’ da kullanmışlar ve ortalama 7.0 allel elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca bu primerlerden 90 tanesinde oktoploid çilek (*Fragaria x ananassa*) çeşitlerinde kullandıklarını belirterek heterozigot durumunun 0.32-0.73 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Bassil ve ark. (2006a) Festival çilek çeşidi için mikrosatellit markörlerle etiketlenmiş bölgelerin tanımlanması konulu çalışmalarında, materyal olarak cDNA kütüphanesinden geliştirilmiş 37 mikrosatellit primer çiftini kullandıklarını belirtmişlerdir. Sonuçlara göre, 70 çilek çeşidinde 32 primer çiftinden 5 tanesinde

polimorfizm oranı %16.1 olarak saptanmıştır. *F. vesca*'da melezlenmiş türlerde amplifikasyon oldukça yüksek (%89) bulunmuştur.

Gil-Ariza ve ark. (2006) çilek çeşitlerini tanımlarken özel *Fragaria* türleri arasında EST-polimorfik mikrosatellitlerini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda *Fragaria x ananassa*'dan 10 set EST mikrosatellit geliştirdiklerini belirtmişlerdir. Bu markörlerin farklı çilek çeşitlerinde yüksek polimorfizm sağladığını rapor etmişlerdir.

Keniry ve ark. (2006) 45 adet EST-SSR markörlerini kullanarak 13 adet kültür çileğini (*Fragaria x ananassa*) karakterizasyonunu yapmışlardır. 14 primer çifti amplifikasyon göstermiş ve polimorfizm bilgi içeriğini 0.69 olarak bulduklarını belirtmişlerdir.

Monfort ve ark. (2006) yabani çileklerde SSR markör geliştirmek ve bunu diploid *Fragaria* türlerine ve *Fragaria x ananassa*'ya aktarma amaçlı çalışma yapmışlardır. *Fragaria vesca* cv. Reine des vallées çeşidinin CT/AG genomik kütüphanesi kullanılarak 41 tane polimorfik mikrosatellit markör geliştirmişlerdir. Bunların 35 tanesi *F. vesca*'da polimorfik bulunmuştur. 6 tane özel diploid *Fragaria* ve oktoploid *Fragaria x ananassa*'da test etmişlerdir. *F. vesca* 'da her bir lokusun ortalama 5.3 allel verdiğini bildirmişlerdir.

Shimomura ve Hirashima (2006) Japonya'da ticari olarak önemli olan oktoploid çilek çeşitlerinde SSR markörü geliştirme ve karakterizasyonu konulu çalışmalarında güvenilir olduklarına inandıkları yeni geliştirilmiş 4 SSR markörünü çilek çeşitlerini tanımlamak için kullanmışlardır. Yapılan çalışmalarda özellikle 2 markörde yüksek polimorfizm görülmüş ve taranması için 10 majör ticari çilek çeşidi seçilmiştir. Sonuç olarak, ıslah edilen oktoploid çilek çeşitlerinde SSR markörlerinin yeterli olduğu araştırmacılar tarafından saptanmıştır.

2.3. *Fragaria* Türlerinde AFLP Yöntemi İle Yapılan Çalışmalar

Degani ve ark. (2001) AFLP ve RAPD yöntemlerini kullanarak çilek (*Fragaria ananassa* Duch.) çeşitleri arasındaki akrabalık ilişkilerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar, 19 çilek çeşidini 228 adet AFLP markörü ile incelediklerini belirtmişlerdir. 41 adet çilek çeşidini ise 15 adet RAPD markörü ile incelemişler ve

sonuçlarında yöntemleri karşılaştırmışlardır. Benzerlik katsayılarını ve korelasyonları hesaplamışlar ve AFLP yönteminin çilek çeşitlerini tanımlamada başarılı olduğunu çalışmalarında rapor etmişlerdir.

Tyrkal ve ark. (2002) çilek çeşitlerini tanımlamak ve ileri ıslah programlarına yardımcı olmak için AFLP prosedürlerini kolaylaştırmak amaçlı yaptıkları çalışmalarında *Fragaria x ananassa* Duch. çeşitleri arasından seçtikleri 6 çilek çeşidini ve 13 adet F₁ bitkisini materyal olarak kullanmışlardır. Bu çalışmada 129 amplifikasyon ürünü ile birlikte 10 adet primer seçilmiş ve 116 markörün polimorfizm durumlarına göre analiz edilecek materyalde kullanılacağını ifade etmişlerdir. Grup içindeki çeşitlerde ve ıslah programlarından seçilmiş bitkilerde genetik benzerliklerinin F₁ melez bitkilerine göre daha fazla bulduklarını bu çalışmada rapor etmişlerdir.

2.4. *Fragaria* Türlerinde RFLP Yöntemi İle Yapılan Çalışmalar

Angeles-Viriuel ve ark. (2002) oktoploid çileklerde RFLP ve SSR ile ilgili genetik haritalama konulu çalışmaların da 123'ü RFLP ve 177'si SSR toplam 300 moleküler markör kullanmışlardır. 86 adet F₁ bitkisi arasındaki polimorfizm oranı %60-%75 arasında bulunduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada haritalamada 17 farklı grup oluştuğunu ve bu gruplarda toplam uzaklığın 627 cM olduğunu ifade etmişlerdir.

2.5. *Fragaria* Türlerinde RAPD Yöntemi İle Yapılan Çalışmalar

Davis (1993) diploid çileklerde RAPD markörü kullanılarak genetik haritalama amaçlı yaptığı çalışmada RFLP'ye göre olağanüstü başarılar elde ettiğini bildirmiştir. Ticari çilek çeşitlerinin genomik yapısının oktoploid olmasından kaynaklanan karışıklığı önlemek için diploid seviyesinde *F. vesca*'yı genetik haritalama çalışmasında kullanmıştır. F₁ generasyonunda RAPD markörü ile 4 bağlantı grubu oluşturmuş ve en büyük bağlantı grubunun 10 markör içerdiğini bildirmiştir.

Graham ve ark. (1996) dört farklı ıslah programında yetiştirilen 8 adet çilek çeşidini tanımlamak amaçlı yaptıkları çalışmada 10 adet RAPD markörünü kullanmışlardır. Sonuçta çilek çeşitleri arasındaki akrabalık ilişkilerini belirlemişlerdir.

Jadwiga ve ark. (2003) 9 farklı çilek çeşidinde RAPD markör kullanılarak çeşitlerinin tanımlanması ve genetik çeşitlilik konulu çalışmada 73 RAPD marköründen 6 adet monomorfik primer bulunmuş; 11 (%15) markörün ise bazı çilek çeşitlerine (Ambryo, Cambridge Favaourite, Rapella, Teresa ve Senga Senga) spesifik oldukları belirlenmiştir. Sırayla tanımlanan bütün çeşitlerde E20, D6 ve D7 primerlerinde ayrı ayrı elde edilen bant profilleri yeterli bulunmuştur. Sonuç olarak, çilek çeşitleri için elde edilen RAPD markörler uygunluğu ve kullanılabilirliği doğrulanmıştır. Analiz edilen çilek genotiplerinde %53 benzerlik olduğu saptanmıştır.

Kashyap ve ark. (2005) 13 adet *Fragaria x ananassa* Duch. çeşidi ve 2 yabani türde (*Fragaria indica* Andr. ve *Fragaria vesca* Linn.) 20 adet RAPD pimeri kullanarak moleküler karakterizasyon yapmışlardır. 13 çeşitte ebeveynler göz önünde bulundurularak polimorfizmi belirlemişlerdir. Toplam 15 adet örnekte UPGMA analizi yapmışlar ve soyağacında iki farklı grup (*Fragaria indica* ve *Fragaria vesca* grupları) bulmuşlardır. Her bir genom arasındaki uzaklığın benzer türler arasında %36'dan büyük olduğunu çalışma sonucunda belirtmişlerdir.

Sugimoto ve ark. (2005) RAPD yöntemiyle, yediveren Japon çilek çeşitlerinden 199 yavru (Ever Berry x Toyonoko) bitki kullanarak haritalama çalışması yapmışlardır. Çileklerin yediveren bitkilerden 97 tanesi ve hazıranda meyve veren bitkilerden 102 tanesini denemeye aldıklarını belirtmişlerdir. Every Berry ve Toyonoko çeşitlerine ait özellikleri RAPD analizleri ile saptayarak 2 ebeveyn arasında toplam 71 primerde 89 polimorfik bant elde ettiklerini belirtmişlerdir. 199 yavru bitkiden seçilen 26 tanesinde yediveren özelliği olduğu 5 markörle tespit ettiklerini ifade etmişlerdir. Yapılan haritalama çalışmasında 199 yavru bitkinin hepsini kullanmışlar ve bağlantı gruplarda uzunğu 39.7 cM olarak bulduklarını belirtmişlerdir.

Milella ve ark. (2006) 65 adet Etna dağından selekte edilmiş ve 1 adet orijini doğrulanmış (Madame Moutot), toplam 66 çilek çeşidini ve bunların ebeveynlerini kullanarak aralarındaki akrabalığı 222 RAPD markörü kullanarak belirlemişlerdir. Polimorfizm oranını %90.8 olarak saptamışlardır. Elde edilen sonuçlarda *Fragaria x ananassa* Duch. ex Rozier'da filogenetik çalışmalarda kullanılan RAPD markörlerinin güvenilir olduğunu bildirmişlerdir.

Redmann ve ark. (2006) 26 adet RAPD markörü kullanarak 10 adet çilek çeşidinde genetik çeşitlilik ve karakterizasyon amaçlı yaptıkları çalışmada elde edilen sonuçları NTSYSpc programı ile değerlendirdiklerini belirtmişlerdir. Kullandıkları çeşitler arasındaki genetik benzerlik indeksi 'Dice' katsayısına göre hesaplayıp soyağacının elde edilmesinde UPGMA yöntemi kullandıklarını ifade etmişlerdir. Sonuç olarak, soyağacında iki farklı grup oluştuğunu (Endüstri çeşitleri ve market çeşitleri) ve market çeşitlerini oluşturan grupta genetik benzerlik katsayısını %44-74 arasında bulduklarını belirtmişlerdir.

2.6. *Fragaria* Türlerinde ISSR Yöntemi İle Yapılan Çalışmalar

Cekic ve ark. (2001) 168 adet geriye melezlenmesi yapılmış çilek (*F.vesca* f. *vesca* x *F. vesca* f *semperflorens*) çeşitlerinde 10 adet ISSR primeri kullanarak DNA parmak izi çalışması yaptıklarını belirtmişlerdir. Çalışmada tekrarlanabilirliğin yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada 85 adet ISSR primeriyle de yalnız 5 adet *F. vesca* çeşidinde yaptıkları incelemede bu primerlerin mevsimlik çiçek açan çeşitlerin lokusları ile bağlantılı olmadığını ifade etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre türe özgü 14 adet primer bulduklarını ve bu primerler arasındaki uzaklığın ise 2.2 cM olduğunu belirtmişlerdir.

Arnau ve ark. (2002) çilek çeşitlerinde ISSR yöntemini kullanarak ve ikili, üçlü ya da dörtlü tekrarlar içeren, 3' ya da 5' ucunda seçici nükleotid bulunan 18 adet ISSR primer kombinasyonu kullanarak tarama yaptıklarını belirtmişlerdir. PCR reaksiyonu ve poliakrilamit jel elektroforezi sonrasında elde edilen bilgi verici 5 primeri, genetik ve coğrafik orijinleri farklı olan 30 adet çilek çeşidinin karakterizasyonunda kullanmışlardır. Sonuçta, 5 primerin kullanılması ile 390 banttan 113'nün polimorfik olduğunu belirlemişlerdir.

Kuras ve ark. (2004) Polanya Pomoloji ve Flora Kültür Enstitüsü ıslah programından alınan 24 çilek çeşidinde RAPD ve ISSR tekniklerini kullanarak çeşitler arasındaki akrabalıkları belirlemişlerdir. Ayrıca RAPD ve ISSR tekniklerini birbirleri ile kıyaslamışlardır. ISSR yönteminde 90 adet primerden 41'i polimorfik ve 48 adet RAPD primerinden de 23'ü polimorfik bulunmuştur. UPGMA analizleri ile akrabalıkları belirlemişler ve soyağacı elde etmişlerdir. ISSR sonuçlarında RAPD'e göre daha fazla genetik benzerlik elde ettiklerini araştırmacılar sonuçlarında rapor etmişlerdir.

Debnath ve ark. (2008) 27 adet çilek çeşidi arasındaki ilişkiyi ISSR markörü yardımıyla araştırılması amaçlı yaptıkları çalışmada 17 adet primer çifti kullanmışlardır. Sonuçta bu primerlerden 225 adet polimorfik bant elde ettiklerini ifade etmişlerdir. Sonuçları UPGMA küme analizleri yardımıyla değerlendirdiklerini ve genetik benzerliğin çeşitler arasında %63-77 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

2.7. *Fragaria* Türlerinde Mikrosatellit Markör Geliştirilmesi ve Genetik Haritalama İle Yapılan Çalışmalar

James ve ark. (2003) diploid (*Fragaria vesca* L.) çilek çeşitlerinin haritalanması amaçlı yaptıkları karakterizasyon çalışmasında 10 adet polimorfik mikrosatellit markörü kullandıklarını belirtmişlerdir. Primer dizaynını *F. vesca* türlerine ait 'Rugen' çeşidinin genomik kütüphanesinden yapmışlardır. 9 adet *F. vesca*'da tekli lokuslarda polimorfizm görüldüğünü ve 2 adedinde her lokusta 6 adet allel olduğunu bildirmişlerdir. *Fragaria vesca* 'da polimorfizm seviyesinin düşük bulunduğunu ve 3 adet primer çiftinin çeşitleri tanımlamada yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Sargent ve ark. (2003) yabani diploid çilek türleri (*Fragaria viridis*) kullanarak geliştirdikleri 22 adet mikrosatellit primeri 6 adet *F.viridis* türünde kullanmışlar ve amplifikasyon sonucunda 21 adet primerin polimorfik olduğunu belirtmişlerdir. Her lokustan ortalama 4.95 allel elde ettiklerini ifade etmişlerdir.

Hadonou ve ark. (2004) *Fragaria vesca* (Ruegen) ve diploid *F.vesca* türleri kullanılarak genomik kütüphaneden 21 adet yeni markör geliştirmişlerdir. Toplam 31 adet primerden 3 tanesi oktoploid çilek çeşitlerinde kullanılmış ve 24 tanesi de diğer

diploid *Fragaria* türlerinde (7 adet) kullandıklarını belirtmişlerdir. Çalışmada araştırmacılar 15 adet *F. vesca* türünde 21 mikrosatellit kullanarak allellik durumlarını rapor etmişlerdir. Bu mikrosatellitlerde polimorfizm seviyesi oldukça yüksek bulunmuş ve 5 lokusda monomorfizm görüldüğünü ifade etmişlerdir.

Bassil ve ark (2006b) tohumlarına ısı muamelesi yapılarak elde edilen *F.vesca* cv. Yellow Wonder çeşidini kullanarak cDNA kütüphanesinden 40 adet mikrosatellit primer çifti geliştirdiklerini belirtmişlerdir. Bu primerlerin 13 farklı türde kullanılabileceğini (diploid türlerde %71 ve oktoploid türlerde %100) ifade etmişlerdir. Poliploid türlerde polimorfizmin yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Sargent ve ark. (2006) diploid *Fragaria* türlerinde 45 mikrosatellit (SSR) markör geliştirmişler ve bu örneklerde haritalama yapmışlardır. 31 tanesini *F. nubicola*'dan ve 14 tanesini de EST-SSR kütüphanesi kültür çileklerinden aldıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada 182 moleküler markör ve uzaklıkları 424 cM olan 7 tane haritalama grubu elde ettiklerini ifade etmişlerdir.

Sargent ve ark. (2007) *Fragaria* türleri içinde mikrosatellit markörlerin geliştirilmesi, haritalanması ve onların diğer cinslere transfer edilebilmesi için araştırmacılar EMBL sonuçlarına göre 23 *Fragaria* ve 1 tane *Malus* türünden 46 tane primer geliştirdiklerini belirtmişlerdir. *F. vesca* x *F. nubicola* ve *F. vesca* x *F. viridis* BC₁ yavrularında 24 genin ayırımında yapılan skorlamalarda araştırmacılar 29 adet farklı lokuslarda 7 grubun haritalanmasının yapılabileceğini elde ettikleri toplam 35 adet haritalanmış genlere göre belirlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar sonuçlarında *Malus* ve *Prunus*'da 20 adet primer çifti geliştirdiklerini ve geliştirilen bu primerleri Rosaceae'de kullanılabilir olduğunu bildirmişlerdir.

Sargent ve ark. (2008) diploid *Fragaria*'dan elde edilen 103 markörü, *F. vesca* 815 x *F. nubicola* 601'in melezlenmesi ile oluşturulan yeni bir F₂ haritalama popülasyonda kullanmayı amaçlamışlardır. Yaptıkları çalışmada 6 adet F₂ bitkisi 1'er adet *F. vesca* 815 ve F₁ bitkisinden olmak üzere toplam 8 adet örnek kullandıklarını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada önceden kullanılmış 61 markör, *Fragaria* x *ananassa*'dan elde edilen 38 SSR (genomik) markörü ve *Prunus*'dan elde edilen 4 adet SSR (EST) markörünü kullandıklarını ifade etmişlerdir. Sonuçlarında 7 bağlı grup oluştuğunu bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve METOD**3.1.Materyal**

Araştırmada; Çukurova Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Bahçesinden, Yaltır Tarım A.Ş. deneme parsellerinden ve Çiltar LTD. ŞTİ. tarım alanlarından olmak üzere toplam 34 çilek çeşidi materyal olarak kullanılmıştır (**Çizelge 3.1**).

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan çilek çeşitlerinin adları, ebeveynleri, orijinleri ve gen kaynakları

NO	ÇEŞİT veya GENOTİP	EBEVEYNLER	ORİJİN	GEN KAYNAĞI
1	Osmanlı	Bilinmiyor	Türkiye	Çukurova Üniversitesi, Adana
2	Camarosa	Douglas x Cal.85.218-605	ABD	Çukurova Üniversitesi, Adana
3	Maya	Design patent UE 7818	İtalya	Çukurova Üniversitesi, Adana
4	Cigoulette	Belrubi x Pajaro	Fransa	Çukurova Üniversitesi, Adana
5	Paros	Marmolada x Irvine	İtalya	Çukurova Üniversitesi, Adana
6	Ciloe	Belrubi x Allstar	Fransa	Çukurova Üniversitesi, Adana
7	Alba	Design patent NF 311	İtalya	Çukurova Üniversitesi, Adana
8	Marlette	Selection x Selection	Fransa	Çukurova Üniversitesi, Adana
9	3 nolu Genotip	504/7 x Early Glow	Türkiye	Çukurova Üniversitesi, Adana
10	5 nolu Genotip	499/1 x Oso Grande	Türkiye	Çukurova Üniversitesi, Adana
11	6 nolu Genotip	499/1 x Oso Grande	Türkiye	Çukurova Üniversitesi, Adana
12	8 nolu Genotip	499/1 x Oso Grande	Türkiye	Çukurova Üniversitesi, Adana
13	94/516/2	Bilinmiyor	İtalya	Çukurova Üniversitesi, Adana
14	MT99/324/22	Bilinmiyor	İtalya	Çukurova Üniversitesi, Adana
15	MT99/20/1	Bilinmiyor	İtalya	Çukurova Üniversitesi, Adana
16	NR/95/42/3	Bilinmiyor	İtalya	Çukurova Üniversitesi, Adana
17	Aromas	Bilinmiyor	ABD	Çiltar LTD. ŞTİ., Adana
18	Selva	Brighton x (Tufts x Pajaro)	ABD	Çiltar LTD. ŞTİ., Adana
19	Honeoye	Vibrant x Holiday	ABD	Çiltar LTD. ŞTİ., Adana
20	Elsanta	Gorella x Holiday	Hollanda	Çiltar LTD. ŞTİ., Adana
21	Fern	Tufts x Cal. 69-62.103	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
22	Festival	Rosa Linda x Oso Grande	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
23	Gianna	Bilinmiyor	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
24	Kabarla	Bilinmiyor	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
25	Call Giant-2	Bilinmiyor	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
26	Call Giant-3	C1 x NWFV	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
27	Call Giant-4	A41 x Seascape	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
28	Call Giant-5	F39 x F15.1	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
29	Sweet Charlie	FL 80-45 x Pajara	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
30	Rubygem	Earlibrite x Carlsbad	Avustralya	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
31	Whitney	89530-506 x 89542-504	ABD	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
32	Red Lans Hope	Parker x Redlands Promise	Avustralya	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
33	11 nolu Genotip	499/1 x Chandler	Türkiye	Yaltır Tarım A.Ş., Adana
34	17 nolu Genotip	504/7 x 216	Türkiye	Yaltır Tarım A.Ş., Adana

3.2.Metod**3.2.1. Yaprak Örneklerinin Toplanması**

Çukurova Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Bahçesi, Çiltar Tarım ve Yaltır Tarım firmalarından alınan 34 adet çilek çeşidine ait yaprak örnekleri erken ilkbahar döneminde toplanmıştır. Toplanan genç yapraklar ayrı ayrı kese kâğıtlarına konulduktan sonra buz kutusu içerisinde Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Moleküler Genetik Laboratuvarına ulaştırılmıştır (**Şekil 3.1**). Yaprak örnekleri laboratuvarda önce çeşme suyu ile ve sonra %50'lik alkolle yıkandıktan sonra kurutulmuş ve sıvı azot (-196°C) ile muamele edildikten sonra DNA izolasyonuna kadar -80°C 'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. DNA izolasyonu için toplanan çilek yaprakları

3.2.2. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonunda Qiagen DNeasy Mini kiti kullanılmıştır. DNA izolasyonu Qiagen firmasının önerdiği protokole göre yapılmıştır.

Bu yöntemde; her bir çilek çeşidi ve genotipi için genç yaprak örnekleri ezilerek, yaklaşık 50-100 mg örnek 2 ml'lik tüplere konulmuştur. Tüpler içerisine 400 µl ekstraksiyon tampon çözeltisi (AP1) ve 4 µl RNase eklenip homojen oluncaya kadar karıştırılmıştır. Önceden 65°C 'ye hazır hale getirilen su banyosunda 10 dk inkübasyona bırakılarak, örnekler su banyosunda iken 2-3 kez karıştırılmıştır. Su banyosundan çıkarılan örneklerle 130 µl AP2 tampon çözelti eklenip iyice karışması sağlanmıştır. Daha sonra 5 dk 20.000 x g'de santrifüj yapılmıştır. Santrifüjden çıkan

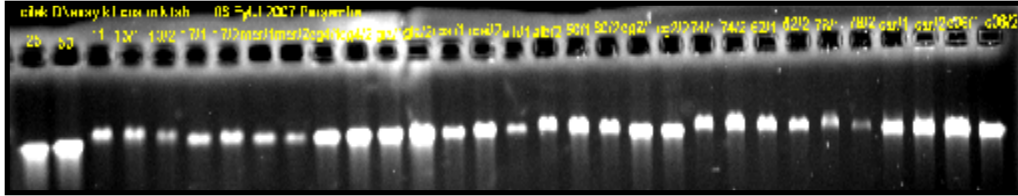
örneklerin orta fazını kit ile birlikte gelen renkli kapaklı mini spin kolon tüp içerisine alınarak 2 dk 20.000 x g'de santrifüj yapılmıştır. Santrifüjden sonra kirli olan filtre atılmıştır. Tüp içerisinde kalan kısım yeni 2 ml'lik tüp içerisine yaklaşık 450 µl olarak alınmıştır. Örneğin hacmi belirlenerek üzerine hacmin 1.5 katı kadar AP3/E tampon çözeltisi eklenip daha sonra karıştırılmıştır. Bu karışımdan, kit içerisinde gelen 2 ml'lik filtreli DNeasy mini spin kolona 650 µl konulup 1 dk 6000 x g'de santrifüj yapılmıştır. Santrifüjden sonra Mini spin kolon kaldırılarak, tüpe akan sıvı dökülmüştür. Daha sonra kolon yeni kapaksız 2 ml'lik tüp içerisine yerleştirilip üzerine 500 µl yıkama tampon çözeltisi olan AW eklenmiştir. 2 dk 6000 x g'de santrifüj yapılmış ve bu yıkama aşaması tekrar edilmiştir. Kolon önceden etiketlenmesi yapılmış DNA stok tüpüne aktarılmıştır. Önceden su banyosunda ısıtılmış AE tampon çözeltisinden 100 µl alınarak membranın tam ortasına pipetleme yapılmıştır. Daha sonra 5 dk oda sıcaklığında bekletilmiş ve 1 dk 6000 x g'de santrifüj yapılmıştır. Bu aşama AE tampon çözeltisinden 50 µl daha ilave edilerek tekrar edilmiştir. Tüp üzerinde buluna kolon atılmış ve böylece yaklaşık 150 µl hacimde olan DNA elde edilmiştir.

3.2.3. DNA Miktarının Belirlenmesi ve DNA Konsantrasyonun PCR Reaksiyonu için Ayarlanması

Yapılacak PCR reaksiyonu çalışmalarından önce kullanılacak olan DNA konsantrasyonun belirlenmesi ve 5 ng/µl olarak ayarlanması PCR reaksiyonu için oldukça önemlidir. Çalışmada her bir örneğin DNA miktarı, konsantrasyonu belli lamda DNA ile jel-elektroforez yöntemiyle UV altında karşılaştırılarak belirlenmiş ve 5 ng/µl ayarlanması yine aynı şekilde konsantrasyonu belli lamda DNA ile karşılaştırmak suretiyle tahmini olarak yapılmıştır. Bu aşamada %0.8'lik agaroz jel kullanılmıştır.

Bu amaçla her bir çilek genotipi ve çeşidinden izole edilen DNA'dan 2 µl, yükleme boyasından 4 µl ve saf sudan 14 µl alınmak suretiyle örnekler konsantrasyonu belli lambda DNA'lar (25 ng ve 50 ng) ile birlikte hazırlanmış olup, bu örneklerin 10 µl'si %0.8'lik konsantrasyonda hazırlanmış agaroz jel üzerinde

bulunan yuvalara yüklenmiştir. Elektroforezde 45 dk 90 voltta koşturma işlemi yapılmış ve UV ışığı altında jelin resmi alınmıştır. Daha sonra bu stok DNA'lar konsantrasyonu belli lamda DNA'lar ile karşılaştırılarak her bir örneğin DNA miktarları tahmin edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan örneklerin DNA miktarlarının tahmini

Stok DNA'lardan CAPS ve SSR analizlerinde kullanmak üzere 5 ng/μl konsantrasyonunda olacak şekilde seyreltik DNA'lar hazırlanmıştır. Hazırlanan DNA'ların 5 ng konsantrasyonlarda olup olmadıklarının saptanması için DNA'dan 10 μl, yükleme boyasından 4μl ve saf sudan 6 μl alınarak tüpte karıştırılmıştır. Bu örneklerin 10 μl'si %0.8'lik konsantrasyonda hazırlanmış agaroz jeli konsantrasyonu belli 25 ve 50 ng'lık lamda DNA'lar ile birlikte yüklenip, 90 voltta 45 dk koşturulmuş ve UV altında resimleri çekilmiştir. Tahmini olarak 5 ng/μl'den fazla olanlara saf su, az olanlara ise DNA'dan eklenerek tüm örneklerin konsantrasyonu 5 ng/μl'ye ayarlanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan bazı örneklerin DNA miktarlarının 5ng/μl'ye ayarlanması

3.2.4. CAPS Analizleri

25 µl amplifikasyon reaksiyonu 75 mM Tris-HCl, pH=8.8, 20 mM (NH₄)₂SO₄ 2 mM MgCl₂, %0.01 Tween 20, 100 µM dATP, 100 µM dTTP, 100 µM dGTP, 100 µM dCTP, her bir primerden 0.2 µM, 1.0 ünite Taq DNA polimeraz ve 10 ng DNA içermiştir.

CAPS analizlerinde **Kunihisa ve ark.’nın (2003; 2005)** geliştirdikleri 20 adet primer çifti ve enzim kombinasyonu (toplam 22 adet) kullanılmıştır (**Çizelge 3.2**). Öncelikle bu primerler polimorfik bant üretme bakımından 6 genotip kullanılarak taranmış ve tarama sonucunda polimorfizm görülen primerler 34 çilek çeşidinin CAPS yöntemi ile moleküler karakterizasyonunda kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. CAPS çalışmasında kullanılan primerler, baz dizilimleri ve kullanılan kesim enzimleri

	CAPS PRIMER ADI	ENZİM ADI	BAZ DİZİLİMİ (5'- 3')	BAZ SAYISI
1	APX-F	<i>MluI</i>	GTG GTC ACA CCT TGG TGC	18
	APX-R	<i>MluI</i>	AGT ATA ATA TTT AAG CAG AAT GCA GAC TTC	30
2	APX2-F A	<i>DraI</i>	CAG AGG CCT CAT CGC CG	17
	APX2-R	<i>DraI</i>	TCA GGT CCA CCG GTG ACC	18
3	APX3-F B	<i>DraI</i>	GAG GCC TCA TCG CCG AG	17
	APX3-R	<i>DraI</i>	TCA GGT CCA CCG GTG ACC	18
4	APX4-F	<i>TaqI</i>	GTC TCC GAT CCC TAT CTT TTC TTT	24
	APX4-R	<i>TaqI</i>	TCA GGT CCA CCG GTG ACC	18
5	CHI-F	<i>Pvu II</i>	AGG AGT TGA CAG AGT CGG TTG	21
	CHI-R	<i>Pvu II</i>	GAC TTG TGA GTA TGA TAG TCT GCT G	25
6	F3H2-F	<i>Acc I</i>	TAA TAG GGT CTA GGT GCG TGG	21
	F3H2-R	<i>Acc I</i>	GAG TTC ACT ACK GCC TGG TGA TC	23
7	CT11-F	<i>Hinf I</i>	TTC TAA TGA TCA ACA CCT ACT TTC CC	26
	CT11-R	<i>Hinf I</i>	GTA GCC CAC CCG CCT G	16
8	MSR- F	<i>Alu I</i>	AGC ACT TTC ACC ATA GGC ATA ATC	24
	MSR-R	<i>Alu I</i>	CCT TGA GCA TAA ATG AAC TGG CA	23
9	PGPA-F A	<i>Acc I</i>	CCT CAC CTT CCT CGA GCT C	19
	PGPA-R B	<i>Rsa I</i>	ACA ATC TGG GTC GTC TTG TTC ATC	24
10	PGPB-F B	<i>Rsa I</i>	ACC TCA CCT TCC TTG AGC TT	20
	PGPB-R B	<i>Rsa I</i>	GAC AAG TCT ATC CGA TCA AAG TTC ATA	27
11	AUB-F	<i>Hha I</i>	ATT CAA GTG GGT GTT TGT GAA TTG	24
	AUB-R	<i>Hha I</i>	GCC TGT GTA TCG GTG TGC C	19
12	OLP-F	<i>Dde I</i>	TGT GTC CAA AAC CGA TCA GTA TTG C	25
	OLP-R	<i>Dde I</i>	TCT TTC AGA GTG GTA CGT ACC CC	23
13	CT12-F	<i>Mbo I</i>	GTC AAA CCT CTC ACG AAA CCA CT	23
	CT12-R	<i>Mbo I</i>	GTT RCT AAG AAA ATG AAA GAG CTG ATG	27

Çizelge 3.2' nin devamı

	CAPS PRİMER ADI	ENZİM ADI	BAZ DİZİLİMİ (5'- 3')	BAZ SAYISI
14	CYT-F	<i>BsaB</i> I	CTT TGG TGG TTG TGA GAG CAT CG	23
	CYT-R	<i>BsaB</i> I	CCG TAC TTG AGC CTA TCT GAC TGG	24
15	PYDA -F A	<i>Cfr13</i> I	CTT TCA GGT AAG GAA CAT GAT CAA G	25
	PYDA -F A	<i>Hae</i> III	GTA AGA ACT TAA CAA AAC CAT AAT CTC TCT A	31
16	PYDB -F A	<i>Hae</i> III	AGG TAA GGA ACA TGA TCA ACT TTG AG	26
	PYDB-F B	<i>Hae</i> III	ATC TGA AAA ACC AAG TAG AAA CTT ACG	27
17	B-APX-F	<i>Mlu</i> I	ATT GTT GCT CTC TCT GGT GGT C	22
	B-APX-R	<i>Mlu</i> I	AGA GGG CGG AAG ACA GGG	18
18	CHI-F	<i>Pvu</i> II	AGG AGT TGA CAG AGT CGG TGG	21
	CHI-R	<i>Pvu</i> II	GGA CCT GCA AAA TGA TAG CCA AG	23
19	CTI ₂₋₁ -F	<i>Hinf</i> I	CTG CAG CCT TCT AAT GAT CAA CAC C	25
	CTI ₂₋₁ -R	<i>Hinf</i> I	GTA GCC CAC CCG CCT G	16
20	F3H-F	<i>Nco</i> I	AMC CTG TGG AAG GAC CTT TCG	21
	F3H-R	<i>Nco</i> I	GAG TTC ACT ACK GCC TGG TGA TC	23
21	F3H-F	<i>Acc</i> I	AMC CTG TGG AAG GAC CTT TCG	21
	F3H-R	<i>Acc</i> I	GAG TTC ACT ACK GCC TGG TGA TC	23
22	F3H-F	<i>Hpa</i> II	AMC CTG TGG AAG GAC CTT TCG	21
	F3H-R	<i>Hpa</i> II	GAG TTC ACT ACK GCC TGG TGA TC	23

CAPS analizleri sırasında 20 adet CAPS primer çifti ile birlikte 16 adet kesim enzimi (toplam 22 adet) kullanılmıştır. Kullanılan bu enzimlerin kesim bölgeleri Çizelge 3.3'de verilmiştir.

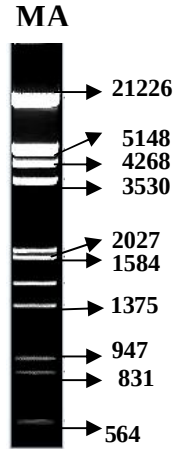
Sıcaklık ve döngü koşulları olarak, **Kunihisa ve ark.'nın (2003)** geliştirdikleri metoda göre uygun değişiklikler yapılmıştır. 94⁰C'de 5 dk ön denatürasyon işleminden sonra 35 döngü boyunca örnekler denatürasyon için 94⁰C'de 45 sn, primerin DNA'ya yapışması için 55-58⁰C'de 45 sn ve uzama safhası için 72⁰C'de 1 dk tutulmuşlardır. Örnekler son uzama safhası için 72⁰C'de 5 dk bekletilmişlerdir.

Elde edilen PCR ürünleri 0.5 x TBE tampon çözeltisinde (44.5 mM Tris-Cl, 44.5 mM borik asit, 10 mM EDTA) %1.5'luk agaroz jelde elektroforez edilerek etidiyum bromit ile boyanmış ve UV altında fotoğrafları çekilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan kesim enzimleri ve kesim bölgeleri

	Enzim adı	Kesim Bölgesi
1	<i>Acc I (Xmil)</i>	5'-G T [^] C G A C-3' 3'-C A G C [^] T G-5'
2	<i>Alu I</i>	5'-A G [^] C T-3' 3'-T C [^] G A-5'
3	<i>BsaB I (BseII)</i>	5'-G A T N N [^] N N A T C-3' 3'-C T A N N [^] N N T A G-5'
4	<i>Cfr 13 I</i>	5'-G [^] G N C C-3' 3'-C C N G [^] G-5'
5	<i>Dde I (HpyF3I)</i>	5'-C [^] T N A G-3' 3'-G A N T [^] C-5'
6	<i>Dra I</i>	5'-T T T [^] A A A-3' 3'-A A A [^] T T T-5'
7	<i>Hae III (BsuRI)</i>	5'-G G [^] C C-3' 3'-C C [^] G G-5'
8	<i>Hha I</i>	5'-G C G [^] C-3' 3'-C [^] G C G-5'
9	<i>Hinf I</i>	5'-G [^] A N T C-3' 3'-C T N A [^] G-5'
10	<i>Hpa II</i>	5'-C [^] CGG-3' 3'-GGC [^] C-5'
11	<i>Nco I</i>	5'-C [^] C A T G G-3' 3'-G G T A C [^] C-5'
12	<i>Mbo I</i>	5'- [^] G A T C -3' 3'- C T A G [^] -5'
13	<i>Mlu I</i>	5'-A [^] C G C G T-3' 3'-T G C G C [^] A-5'
14	<i>Pvu II</i>	5'-C A G [^] C T G-3' 3'-G T C [^] G A C-5'
15	<i>Rsa I</i>	5'-G T [^] A C-3' 3'-C A [^] T G-5'
16	<i>Taq I</i>	5'-T [^] C G A-3' 3'-A G C [^] T-5'

Bant büyüklüklerinin belirlenmesinde lambda DNA'nın *EcoRI* ve *HindIII* kesim enzimleri ile hazırlanmış olan DNA'sı kullanılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.4. Bant büyüklüklerinin belirlenmesinde kullanılan lamda DNA'nın *EcoRI* ve *HindIII* kesim enzimlerinin jel görüntüsü (MA: Molekül ağırlık).

Bu ürünlerin görüntüsü alındıktan sonra çalışan primerler belirlenmiş ve daha sonra **Kunihisa ve ark.'**nın (2003; 2005) geliştirdikleri metoda göre elde edilen PCR ürününe uygun enzimlerle kesimleri yapılmıştır. Bu yöntemle göre, 10 µl kesim reaksiyonu, 5 µl PCR amplifikasyon solüsyonu, 4 ünite endonükleaz enzimi ve %10 uygun tampon çözelti içermiştir. DNA'ların **Kunihisa ve ark.'**nın (2003; 2005) belirledikleri enzimler tarafından kesilebilmesi için 37°C'de 5 saat ve enzimlerin inaktif olabilmesi içinde 65°C'de 5 dk tutulmuşlardır. *Taq I* enzimi ile DNA'ların kesilebilmesi işlemi diğer enzimlerinden farklı olarak 65°C'de yapılmıştır.

Yukarıda belirtilen DNA'nın enzimler tarafından kesilmesi ve enzimlerin inaktif olması aşamalarından sonra elde edilen PCR ürünleri, 0.5 x TBE tampon çözeltisinde (44.5 mM Tris-Cl, 44.5 mM borik asit, 10 mM EDTA) %1.5'luk agaroz jelde elektroforez edilerek etidiyum bromit ile boyanmış ve UV altında fotoğrafları çekilmiştir (**Şekil 3.5**).



Şekil 3.5. Çalışmada elde edilen bir jelden görüntü alınması ile ilgili bir görüntü

3.2.5. SSR Analizleri

3.2.5.1. SSR-PCR Reaksiyonu ve Döngü Koşulları

12 µl amplifikasyon reaksiyonu; 75 mM Tris-HCl, pH=8.8, 20 mM (NH₄)₂SO₄, 2 mM MgCl₂, %0.01 Tween 20, 200 µM dATP, 200 µM dTTP, 200 µM dGTP, 200 µM dCTP, 50 nM 5' ucunda M13 universal primerinin baz dizisi eklenmiş ileri primer, 200 nM geri primer, 200 nM 5' ucu 6-FAM (mavi), VIC (yeşil), NED (sarı) ve PET (kırmızı) ile işaretlenmiş M13 universal primer, 0.6 ünite Taq DNA polimeraz ve 10 ng DNA içermiştir.

PCR reaksiyonu sıcaklık ve döngü koşulları olarak ise bazı değişiklikler ile Schuelke'nin (2000) kullandığı protokol kullanılmıştır (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.4. SSR analizinde kullanılan sıcaklık ve döngü koşulları

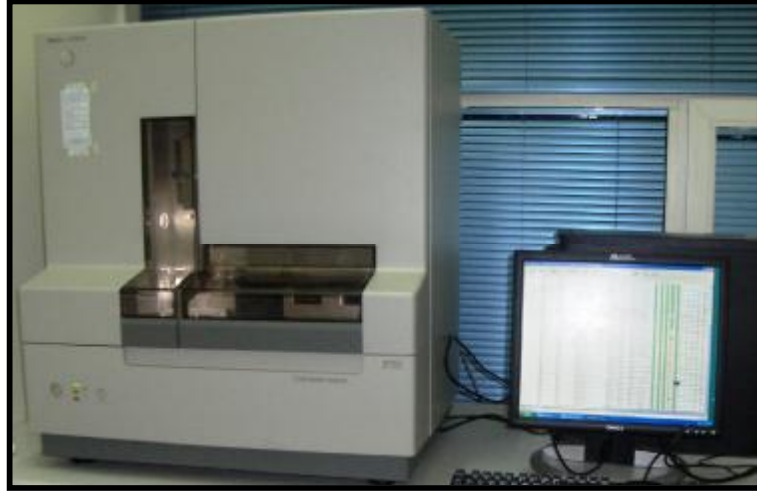
Program No	İşlem	Sıcaklık (°C)	Süre (sn)	Döngü sayısı
1.	Ön denatürasyon	94	300	1
2.1	Denatürasyon	94	45	25-30
2.2	Primerin DNA'ya yapışma safhası	50-66	600	
2.3	Uzama safhası	72	120	
3.1	Denatürasyon	94	45	8
3.2	Primerin DNA'ya yapışma safhası	53	60	
3.3	Uzama safhası	72	120	
4.	Son Uzama safhası	72	300	1

SSR analizlerinde elde edilen bantların büyüklüklerin birbirine çok yakın ve bantları ayırmada güçlüklerin olması nedenleriyle, elektroforez işlemleri kapiler elektroforez yöntemi ile ABI 3130xl otomatik genetik analizör cihazı kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.6). Çalışmada Bassil ve ark. (2006a)'nın geliştirdikleri 16 adet primer çiftinin (Çizelge 3.6) ileri primerlerinin 5 ucuna M13 universal (5'-TGTAACGACGGCCAGT-3') primeri (Schuelke, 2000) eklenerek SSR

analizinde kullanılmıştır. Altı genotipte yapılan tarama işleminden sonra 12 SSR primer çifti çalışmada kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. SSR analizinde kullanılan SSR primer çiftleri, baz dizilimleri, primer çiftlerinin DNA'ya yapışma sıcaklıkları ve beklenen allel büyüklükleri

	Primer Adı	Baz dizilimi (5' 3')	Primerin DNA'ya yapışma sıcaklığı (T _a)	Beklenen Allel büyüklüğü
1	UFFa 01H05-F	GGG AGC TTG CTA GCT AGA TTT G	64	246
	UFFa 01H05-R	AGA TCC AAG TGT GGA AGA TGC T		
2	UFFa 02C07-F	CTC TCC CCA CAA AAC CCT AAA C	66	167
	UFFa 02C07-R	AAA GAT CGG TAG GCA CAG AGA G		
3	UFFa 02F07 F	GAG GCT TAC CGT TCC AAT CTT C	50	182
	UFFa 02F07-R	GTT GGG ATC CTC TAA CAT CTG G		
4	UFFa 02G01-F	ACG AGG TGG GTT TTG TGT TGT	64	159
	UFFa 02G01-R	CCC AGA TGA AGA AAC CGA TCT A		
5	UFFa 02H04-F	ATC AGT CAT CCT GCT AGG CAC T	63	202
	UFFa 02H04 -R	TAC TCT GGA ACA CGC AAG AGA A		
6	UFFa 03B05-F	GGA ATC CAA GTT ACA GGC TTC A	65	231
	UFFa 03B05-R	AAG GAG CCT CTC CAA TAG CTT C		
7	UFFa 03D11-F	GCC TTG ATG TCT CGT TGA GTA G	64	189
	UFFa 03D11-R	TAC CTT CTG CAT TCA CCA TGA C		
8	UFFa 04G04-F	ACG AGG CCT TGT CTT CTT TGT A	65	187
	UFFa 04G04-R	GCT CCA GCT TTA TTG TCT TGC T		
9	UFFa 08C11-F	GGA CGT CCC CTT CTT TAT TTC T	62	203
	UFFa 08C11 -R	ACC CCA CAT TCC ATA CCA CTA C		
10	UFFa 08H09-F	CTT CAC CTA ATC ACT TGC CTG A	65	188
	UFFa 08H09 -R	GGT CTG TTC CTT TCC TTG TTT G		
11	UFFa 10H04-F	AGA TCA TCA GGA CAG CTA CGA CT	50	186
	UFFa 10H04-R	CCT TCA CAA GAT AGT AAC CAC AGC		
12	UFFa 11G07-F	TCT CTG TGT CTT CTC CGA AAC T	52	174
	UFFa 11G07-R	CTA CTG CTC CAA CTT CAA ATC G		
13	UFFa 11A11-F	ACG AGGCTC CAA TAG AGT TCT G	50	165
	UFFa 11A11 -R	CTG AGC AGA AGC CAT AGT ATC AC		
14	UFFa 13C07-F	GGA GTC AAC AGT AGT GCA GGT AA	60	172
	UFFa 13C07-R	GGT TTT CTT GCA GTT GGA GTA G		
15	UFFa 14H09-F	AGG CTT CTT ACT CTC CCA TAT C	64	173
	UFFa 14H09 -R	CCA AAG CCA TAG CAG ACT GTA G		
16	UFFa 18H04-F	CCT TCG TTA CTC TAG TAG CTC A	60	157
	UFFa 18H04 -R	GTG ATG AAG ACG ATG ATG AGG T		



Şekil 3.6. SSR analizlerinin yapıldığı otomatik genetik analizör cihazı (ABI 3130xl)

3.2.5.2. SSR-PCR Reaksiyonlarının Kapiler Elektroforezi

Öncelikle 16 SSR primer çiftinden seçilen 12 adet primer çifti FAM (mavi), VIC (yeşil), NED (sarı), PET (kırmızı) flüoresan boya ları da kullanılarak 12 µl'de PCR işlemi yapılmıştır. Daha sonra bunun 0,5 µl'si ABI cihazında kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerine ait bant büyüklüklerinin belirlenmesinde ise LIZ (turuncu) ile etiketli 500 bazlık size standart kullanılmıştır. İlk önce her bir kuyucu ğa 9.8 µl Hi-Di Formamide ve 0.2 µl LIZ–500 size standart eklenmiştir. Elde edilen her PCR ürününden 0.5 µl, 96 kuyucuklu pleytlere yüklenmiştir. Bu şekilde PCR aşamasında FAM, VIC, NED ve PET ile boyanmış primerler aynı kuyucukta analiz edilebilmiştir. 96 kuyucuklu pleyt yukarıda belirtilen şekilde hazırlandıktan sonra santrifüj edilip, daha sonra da örnekler 95⁰C'de 5 dk denatürasyon işlemine bırakılmıştır. Denatürasyon bittikten hemen sonra örnekler buz içerisine alınmıştır. Denatürasyon aşamasındaki süre kadar buz içerisinde bekletildikten sonra ABI 3130xl cihazına yüklenmiştir. Böylelikle DNA'nın tek iplikçik halinde yüklenmesi sağlanmıştır.

3.2.6. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının ve Bilgi İçeriklerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan CAPS ve SSR primerlerinin polimorfizm oranları (PO), primerlerden elde edilen polimorfik bant sayılarının (PBS), toplam bant sayısına (TBS) bölünüp 100 ile çarpılması ile bulunmuştur.

$$PO = PBS / TBS \times 100$$

Polimorfizm bilgi içeriklerinin (PBİ) belirlenmesinde ise çalışmada öncelikle polimorfik bantlarda toplam var (1) ve yok (0) olan bant sayıları belirlenmiş olup **Smith ve ark.’nın (1997)** geliştirdikleri yöntemle çalışmada kullanılan primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Formülde bulunan P_i , i bandının frekansını göstermektedir.

$$PBİ = 1 - \sum P_i^2$$

3.2.7 Primerlerin Ayırma Güçlerinin Belirlenmesi

Çalışmada primerlerin ayırma güçleri **Prevost ve Wilkinson (1999)** tarafından geliştirilen aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Formüldeki p , I bandının toplam çilek çeşit ve genotipindeki oranıdır.

$$\text{Ayırma gücü} = \sum I_b$$

$$I_b = 1 - (2 \times |0.5 - p|)$$

3.2.8. Çilek Çeşit ve Genotiplerinin Arasındaki Genetik İlişkilerin Belirlenmesi ve Soyağacı Analizleri

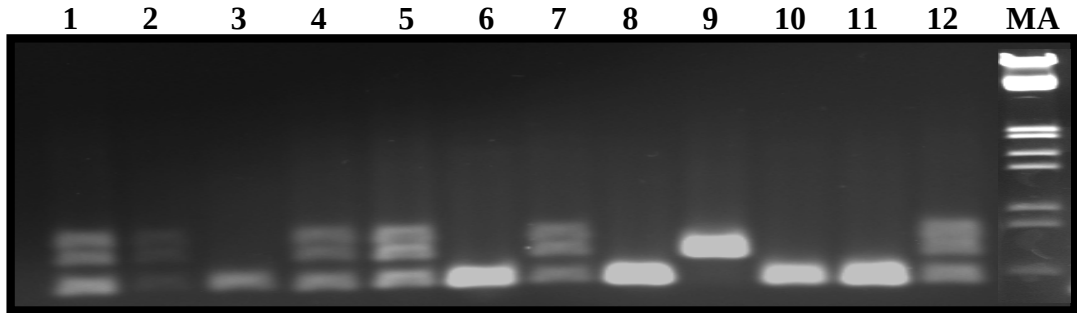
CAPS ve SSR amplifikasyon ürünleri var (1) ya da yok (0) şeklinde değerlendirilmiş ve elde edilen veriler NTSYSpc 2.11V (**Rohlf, 2004**) adlı bilgisayar paket programında analiz edilmiştir. Her bir markör tekniğinden elde edilen veriler ayrı ayrı değerlendirildiği gibi birlikte de değerlendirilmiştir. Genetik benzerlik indeksi 'Simple Matching'(SM) katsayısına göre hesaplanmıştır. Soyağacının elde edilmesinde UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) yöntemi kullanılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

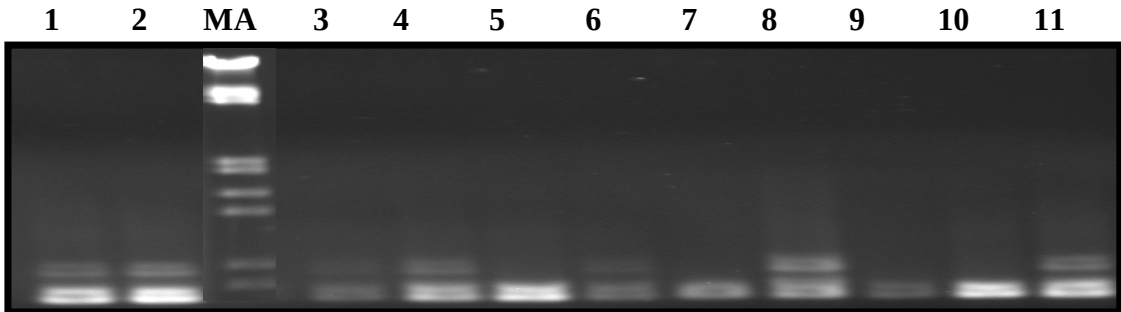
4.1. Çilek Çeşit ve Genotiplerinin CAPS Tekniği ile Karakterizasyonunda Polimorfizm ve Ayırma Gücü

CAPS tekniğinde ilk olarak çilek çeşit ve genotiplerinde en polimorfik CAPS primerlerini saptamak amacıyla, 6 adet örnekte toplam 22 adet CAPS primer çifti ve kesim enzimi kombinasyonu denenmiş olup, bunların içerisinde 17 adedinin bant verdiği saptanmıştır.

Tarama sonucunda polimorfik olarak belirlenmiş olan CAPS primerlerinden APX ve B-APX primerlerinin denemedeki bazı çilek çeşit ve genotiplerindeki PCR reaksiyonu sonucu elde edilen jel görüntüleri **Şekil 4.1** ve **Şekil 4.2**'de verilmiştir.

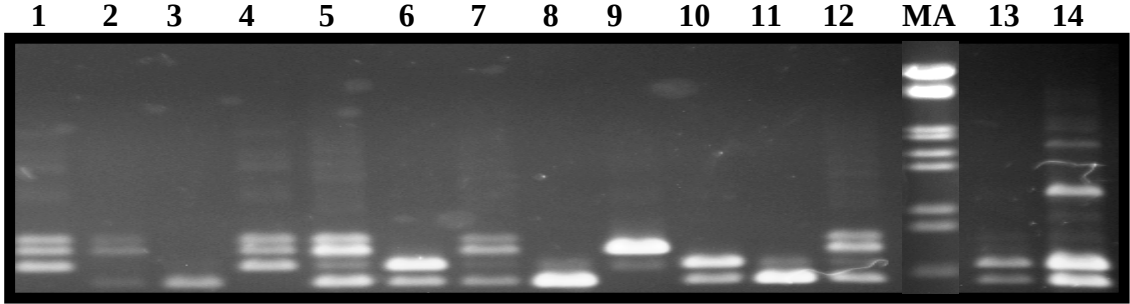


Şekil 4.1. APX primerinin bazı çilek çeşidi ve genotiplerinde CAPS-PCR ürünün jel görüntüsü. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, **1.** Fern **2.** Festival **3.** Gianna **4.** Kabarla **5.** Call Giant-2 **6.** Call Giant-3 **7.** Call Giant-4 **8.** Call Giant-5 **9.** Sweet Charlie **10.** Rubygem **11.** Whitney **12.** Redlans Hope **MA:** Molekül ağırlık

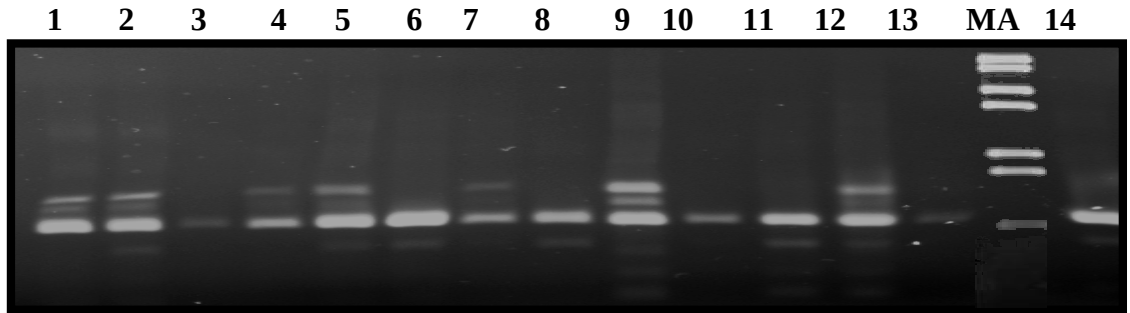


Şekil 4.2. B-APX primerinin bazı çilek çeşidi ve genotiplerinde CAPS-PCR ürünün jel görüntüsü. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, **1.** Fern **2.** Festival **3.** Kabarla **4.** Call Giant-2 **5.** Call Giant-3 **6.** Call Giant-4 **7.** Call Giant-5 **8.** Sweet Charlie **9.** Rubygem **10.** Whitney **11.** Redlans Hope **MA:** Molekül ağırlık

APX ve B-APX primerlerinin *MluI* enzimi ile kesilmesi sonucu elde edilen jel görüntüsü Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.3. APX primerinin *MluI* enzim ile kesilmesi sonucu elde edilen jel görüntüsü. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, 1. Fern 2. Festival 3. Gianna 4. Kabarla 5. Call Giant-2 6. Call Giant-3 7. Call Giant-4 8. Call Giant-5 9. Sweet Charlie 10. Rubygem 11. Whitney 12. Redlans Hope 13. 11 nolu genotip 14. 17 nolu genotip MA: Molekül ağırlık



Şekil 4.4. B-APX primerinin *MluI* enzim ile kesilmesi sonucu elde edilen jel görüntüsü. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, 1. Fern 2. Festival 3. Gianna 4. Kabarla 5. Call Giant-2 6. Call Giant-3 7. Call Giant-4 8. Call Giant-5 9. Sweet Charlie 10. Rubygem 11. Whitney 12. Redlans Hope 13. 11 nolu genotip 14. 17 nolu genotip MA: Molekül ağırlık

14 çilek çeşit ve genotipinde APX primeri kullanılarak elde edilen ürünlerde *MluI* kesim enzimi ile kesim yapılarak elde edilen jel görüntüsünde toplam 6 adet bandın 6'sı da polimorfik (%100) olduğu tespit edilmiştir. Polimorfik bantların büyüklüklerinin 400–1580 bp arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Kunihisa ve ark. (2003) *MluI* kesim enzimi ile kesilmiş APX primerini kullanarak 3'ü polimorfik olan 8 bant (%37.5) elde etmişlerdir. Bu çalışmada ise APX primerinden elde edilen toplam 6 adet bandın 6 adedinin (%100) polimorfik olduğu görülmüştür. Bu çalışmada **Kunihisa ve ark.'nın (2003)** sonuçları ile farklı

değerler elde edilmiştir. Bunun nedeni çalışmada kullanılan çeşitlerin farklı orijinli olmasından kaynaklanmaktadır.

14 çilek çeşit ve genotipinde B-APX primeri kullanılarak elde edilen ürünlerde *Mlu* I kesim enzimi ile kesim yapılarak elde edilen jel görüntüsünde elde edilen 3 adet bandın 3'ünün de (%100) polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Polimorfik bant büyüklüklerinin 360–700 bp arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Kunihisa ve ark. (2005) *Hae* III kesim enzimi ile kesilmiş PYDA primerini kullanarak 3'ü de polimorfik olan 3 bant (%100) elde etmişlerdir. **Kunihisa ve ark.'nın (2005)** sonuçları ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar benzerlik göstermektedir.

CAPS analizinde yapılan tarama işlemi sonucu bant verdiği belirlenen 17 adet primer çifti ve kesim enzimi kombinasyonu 34 çilek çeşidi ve genotipinin amplifikasyonunda kullanılmıştır. Elde edilen amplifikasyon ürünlerinden çok güçlü ve belirgin olanlar dikkate alınarak bantlar var (1) ve yok (0) şeklinde değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), bu primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri **Çizelge 4.1'**de verilmiştir.

Tarama sonucunda CAPS analizinde kullanılan 17 adet primer çifti ve kesim enzim kombinasyonu, 34 çilek çeşidi ve genotipinde 52'si polimorfik olan toplam 60 bant vermiş olup, bunların 8 adedinin ise monomorfik olduğu tespit edilmiştir. APX2-*Dra*I primerinin toplam ve polimorfik bant sayısı bakımından en yüksek değeri verdiği saptanmıştır. Primer başına düşen toplam bant sayısı 3.53 olarak hesaplanmıştır. Polimorfik bant sayısı bakımından incelendiğinde ise primer başına düşen polimorfik bant sayısı 3.06 olarak bulunmuştur.

Çalışmada polimorfizm oranı ise %85.03 olarak tespit edilmiştir. En düşük polimorfizm oranı *AUB-Hha* I, *CT11-Hinf* I ve *OLP-Dde* I primerlerinden %50 olarak elde edilirken, en yüksek polimorfizm oranı B-CT1-*Hinf*I, PGPB-*Rsa*I, PYDB-*Hae*III, APX-*Mlu*I, APX3-*Dra*I, B-APX-*Mlu*I, F3H-*Nco*I, CHI-*Pvu*II, PGPA-*(Acc*I-*Rsa*I) ve PYDA-*(Cfr*13-*Hae*III) primerlerinden %100 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. CAPS analizlerinde kullanılan primerlerin 34 adet çilek çeşit ve genotipinden elde edilen toplam bant sayısı (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) değerleri

PRİMER KOMBİNASYONU	TBS	PBS	PO (%)	PBI	AG
AUB- <i>Hha</i> I	2	1	50.0	0.39	1.46
CT11- <i>Hinf</i> I	2	1	50.0	0.49	1.17
OLP- <i>Dde</i> I	2	1	50.0	0.35	1.56
B-CT1- <i>Hinf</i> I	2	2	100	0.33	1.58
PGPB- <i>Rsa</i> I	2	2	100	0.50	1.03
PYDB- <i>Hae</i> III	3	3	100	0.32	0.95
B-CHI- <i>Pvu</i> II	5	4	80.0	0.11	0.67
F3H2- <i>Acc</i> I	3	2	66.7	0.33	0.82
APX- <i>Mlu</i> I	6	6	100	0.19	0.44
APX2- <i>Dra</i> I	9	8	88.9	0.03	0.41
APX3- <i>Dra</i> I	3	3	100	0.35	0.71
B-APX- <i>Mlu</i> I	3	3	100	0.32	0.78
CYT- <i>Bsa</i> B I	5	3	60.0	0.42	0.80
F3H- <i>Nco</i> I	6	6	100	0.07	0.60
CHI- <i>Pvu</i> II	3	3	100	0.31	0.82
PGPA-(<i>Acc</i> I- <i>Rsa</i> I)	2	2	100	0.34	1.62
PYDA-(<i>Cfr</i> 13- <i>Hae</i> III)	2	2	100	0.45	1.41
TOPLAM	60	52	-	-	16.81
ORTALAMA	3.53	3.06	85.0	0.31	-

En düşük polimorfik bilgi içeriği değerinin F3H-*Nco* I primerinden (0.07) ve en yüksek polimorfik bilgi içeriği değerinin PGPB-*Rsa* I (0.50) primerinden elde edildiği belirlenmiştir. Primerlerin ayırma güçleri incelendiğinde, ayırma gücünün 1.62 ile 0.41 arasında değiştiği ve toplam ayırma gücünün 16.81 olduğu tespit edilmiştir. En yüksek ayırma gücü değeri PGPA-(*Acc* I-*Rsa* I) primerinden (1.62) elde edilirken en düşük ayırma gücü değeri APX2-*Dra*I (0.41) primerinden elde edilmiştir (**Çizelge 4.1**).

CAPS metodu, genellikle bilinen DNA dizilerinin çoğaltılması ve uygun kesim enzimleri ile belirlenmesidir. Bu yöntemde polimorfizm oranının yüksek olması için uygun CAPS primerleri ve uygun enzim kombinasyonuna ihtiyaç vardır (**Kunihisa ve ark., 2005**). Ayrıca bu yöntemde tekrarlanabilirliğin yüksek olduğu, maliyetinin düşük olduğu ve AFLP yöntemi gibi pahalı ekipmana gerek olmadığı ve

CAPS tekniğinin çilek çeşitlerini tanımlamada kullanılabilir bir metot olduğu **Kunihisa ve ark. (2003)** tarafından bildirilmiştir.

4.1.1. Çilek Genotiplerinin CAPS Yöntemi ile Aralarındaki Genetik İlişkilerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan çilek çeşitleri ve genotipleri arasındaki Simple Matching (SM) benzerlik katsayıları **Ek 1**'de verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre çilek çeşitleri ve genotipleri arasında genetik benzerlik indeksinin 0.56–0.95 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Redmann ve ark. (2006) 26 adet RAPD markörü kullanarak 10 adet çilek çeşidinde genetik çeşitlilik ve karakterizasyon amaçlı yaptıkları çalışmada genetik benzerlik katsayısını %44-74 arasında bulduklarını belirtmişlerdir. Literatürde yapılan çalışma ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, farklı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Bunun nedeni değişik orijinli bitki materyalinin ve farklı tekniklerin kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

34 çilek çeşidi ve genotipi genetik benzerlik açısından incelendiğinde, birbirine en yakın çeşitler sırasıyla; Call Giant-4 ile Festival (0.95), Ciloe ile Marlette (0.94), MT 99/324/22 ve MT 99/20/1 (0.93), Call Giant-3 ile Sweet Charlie (0.93), 11 nolu genotip ile 17 nolu genotip (0.93) ve Honeoye ile Festival (0.93) olmuştur.

Genetik olarak en uzak çeşitler ise sırasıyla; Maya ile Whitney (0.56), Maya ile Selva (0.59), MT 99/20/1 ile Gianna (0.60), Camarosa ile Honeoye (0.61), Maya ile Rubygem (0.61), Maya ile 8 nolu genotip (0.61) ve Maya ile Aromas (0.61) olarak bulunmuştur (**Ek 1**).

Yapılan CAPS analizi sonucunda çalışmada kullanılan tüm genotip ve çeşitlerin birbirinden ayrıldığı görülmüştür. Elde edilen soyağacında 2 ana grup oluşmuştur. Maya çeşidi bu iki ana gruba ait çeşit ve genotiplerden ayrılarak grup dışında kalmıştır (**Şekil 4.4**). Birinci grupta 15 çeşit ve genotip, ikinci grupta ise 18 çeşit ve genotip yer almıştır.

Birinci grup kendi arasında iki alt gruba ayrılmış ve birinci alt grupta Camarosa ve Paros çeşitleri (0.82) ile Cigoulette çeşidi birbiriyle yakın ilişkili

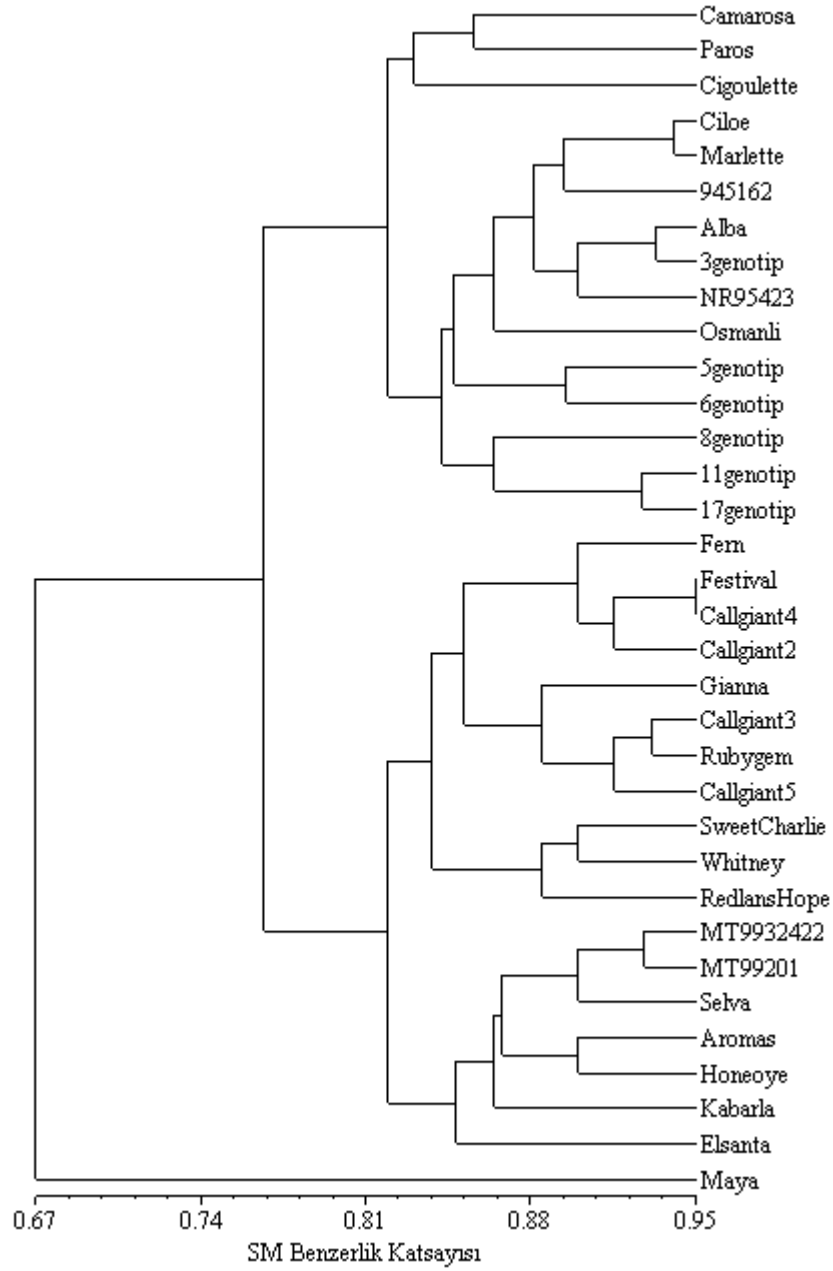
bulunmuştur. İkinci alt grupta ise Fransa orijinli olan Ciloe ve Marlette (0.94) çeşitleri ile İtalya orijinli 94/516/2 genotipi yakın ilişkili bulunmuştur.

Türkiye orijinli Osmanlı çeşidi ve bu çeşitten gelen 6 genotip aynı grupta yer almıştır. Bu alt grupta yer alan 5 ve 6 nolu genotiplerin (0.89) birbirine yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yine bu grupta yer alan 11 ve 17 nolu genotipler (0.93) ile 8 nolu genotipin birbirleriyle yakın akraba oldukları ortaya çıkmıştır.

İkinci ana grup da kendi arasında iki alt gruba ayrılmıştır. Birinci alt grupta ABD ve Avustralya orijinli çeşitlerin yer aldığı görülmüştür. Bu alt grupta Festival ve Call Giant-4 çeşitleri (0.95) ile Call Giant-2 çeşidi bir grup oluşturmuş ve Fern çeşidi ile yakın ilişkili bulunmuştur. Bu alt grupta bulunan Call Giant-3 ve Rubygem çeşitleri ile Call Giant-5 çeşidinin yakın ilişkili oldukları belirlenmiştir. Bu üç çeşit ile Gianna çeşidi bağlantılı bulunmuştur. Sweet Charlie ve Whitney çeşitleri ile Redlans Hope çeşidi birbirleri ile yakın ilişkili oldukları belirlenmiştir.

İkinci alt grupta ise İtalya orijinli MT-99/324/22 ve MT99/20/1 (0.93) genotipleri ile Selva çeşidi birlikte kümelenmiştir. Aromas ve Honeoye (0.90) çeşitleri ile yukarıda belirtilen üç çeşit arasında yakın ilişki bulunmuştur. Belirtilen bu çeşit ve genotipler ile Kabarla ve Elsanta çeşitleri arasında yakın ilişki olduğu görülmüştür. (**Şekil 4.5**).

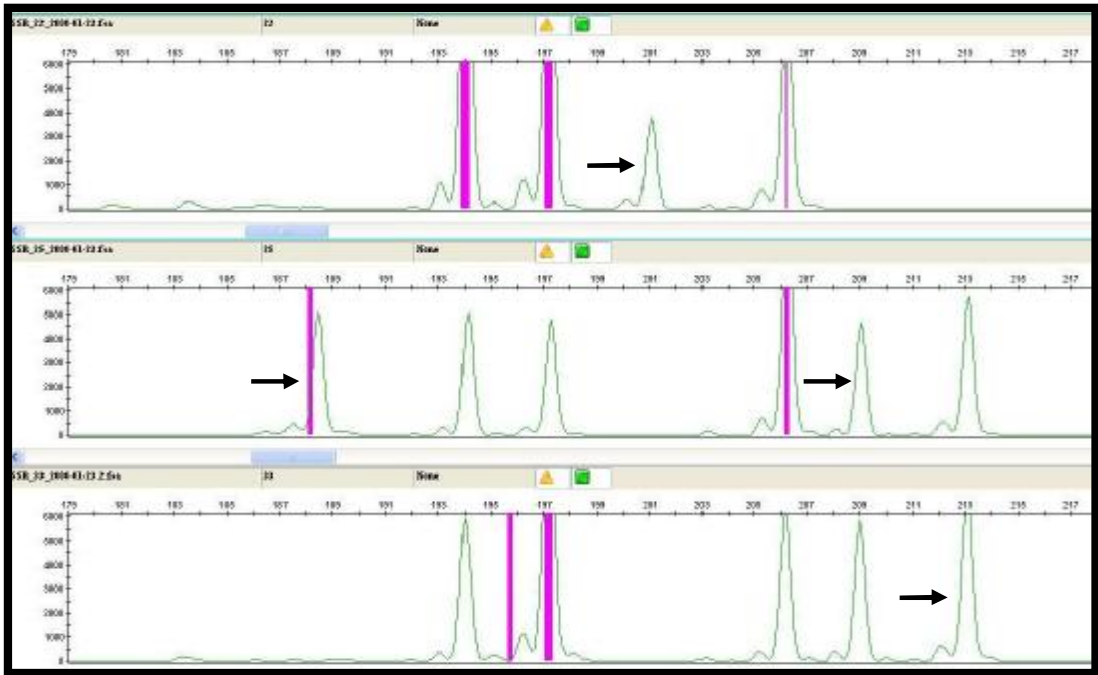
Degani ve ark. (2001) 19 çilek çeşidi arasındaki genetik ilişkiyi tanımlamak amacıyla AFLP ve RAPD yöntemlerini kullandıklarını belirtmişleridir. Yaptıkları çalışmada Camarosa ve Honeoye çeşitleri arasındaki benzerlik katsayısını 228 adet AFLP markörü kullanarak 0.60 bulduklarını ifade etmişlerdir. **Jadwiga ve ark. (2003)** RAPD analizleri ile genetik çeşitlilik amaçlı yaptıkları çalışmada Honeoye (Vibrant x Holiday) ve Elsanta (Gorella x Holiday) çeşitlerini soyağacında aynı grup içerisinde yer aldığını belirtmişlerdir. Literatürde yapılan çalışmalar ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında benzer sonuç elde edilmiştir.



Şekil 4.5. 34 Çilek çeşit ve genotipinin CAPS tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı

4.2 Çilek Çeşit ve Genotiplerinin SSR Tekniği ile Karakterizasyonunda Polimorfizm ve Ayırma Gücü

Çilek çeşit ve genotiplerinde en polimorfik SSR primerlerini saptamak amacıyla, öncelikle 6 çilek çeşidi ve genotipinde 16 SSR primeri ile tarama yapılmış ve bu primerlerden 12 tanesinin skorlanabilir allel verdiği tespit edilmiştir. Skorlanabilir allel veren bu 12 primer çifti 34 çilek çeşidinin karakterizasyonunda kullanılmıştır. Elektroforez işlemi, kapiller elektroforez yöntemi ile ABI 3130xl otomatik genetik analizör cihazı kullanılarak yapılmış (**Şekil 4.6**), amplifikasyon ürünleri var (1) ya da yok (0) şeklinde GeneMapper 4.0 bilgisayar paket programında skorlanmıştır. Çalışma sonucunda primer kombinasyonlarından elde edilen toplam allel sayısı (TAS), polimorfik allel sayısı (PAS), polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) ve ayırma güçleri (AG) hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Çizelge 4.2**'de verilmiştir.



Şekil 4.6. 5'ucu VIC flüoresan boya ile etiketli UFFa 04-G04 SSR lokusunun bazı çilek genotiplerinde amplifikasyonu ile kapiler elektroforez sonucu elde edilen elektroferogramın görüntüsü

Çizelge 4.2. SSR primer çiftlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam allel sayıları (TAS), polimorfik allel sayıları (PAS), polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri

PRİMER ADI	TAS	PAS	PO (%)	PBI	AG
UFFa 01-H05	13	13	100	0.72	0.89
UFFa 02-G01	16	14	87,5	0.88	0.42
UFFa 02-H04	9	9	100	0.81	0.56
UFFa 03-B05	8	8	100	0.78	0.77
UFFa 03-D11	18	17	94,44	0.51	1.03
UFFa 04-G04	9	9	100	0.87	1.04
UFFa 08-C11	14	13	92,85	0.83	0.63
UFFa 08 -H09	20	20	100	0.90	0.61
UFFa 10-H04	19	19	100	0.96	0.47
UFFa 11-A11	12	12	100	0.92	0.35
UFFa 13-C07	3	2	66,66	0.33	1.33
UFFa 14-H09	9	9	100	0.85	0.49
TOPLAM	150	145	-	-	8.15
ORTALAMA	12.50	12.08	95.12	0.79	-

SSR tekniğinde 12 primer çifti ile 145'i polimorfik olan toplam 150 allel elde edilmiştir. Primer başına düşen toplam allel sayısı 3–20 (ortalama 12.5) arasında değişmiş olup, primer başına düşen polimorfik allel sayısının 2–20 (ortalama 12.08) arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Toplam allel sayısı bakımından UFFa 13-C07 lokusu en düşük (3 adet) allel sayısını üretmiş olup, UFFa 08-H09 lokusu ise en fazla (20 adet) alleli vermiştir. Polimorfik allel sayısı bakımından ise, UFFa 13-C07 lokusu en düşük (2 adet) allel sayısını üretmiş olup, UFFa 08-H09 lokusu ise en fazla (20 adet) alleli vermiştir.

Sargent ve ark. (2003) yabani diploid çilek türleri (*Fragaria viridis*) kullanarak geliştirdikleri 22 adet mikrosatellit primeri 6 adet *F.viridis* genotipinde kullanmışlar ve her lokustan ortalama 4.95 allel elde ettiklerini ifade etmişlerdir. **Hadonou ve ark. (2004)** 15 adet *Fragaria vesca* genotipinde 31 adet mikrosatellit primerini denemişler ve yaptıkları çalışmada lokus başına ortalama 4.9 polimorfik allel elde etmişlerdir. **Gil-Ariza ve ark. (2006)** çilekte mikrosatellit markör geliştirme üzerine yaptıkları çalışmada 50 adet çilek çeşidini 27 primerde test etmişlerdir. Lokus başına ortalama 8.8 polimorfik allel elde edildiğini belirtmişlerdir. **Monfort ve ark. (2006)** yabani çileklerde (*Fragari vesca*) SSR markörü geliştirmek

ve diğer türlere aktarılabilirliğini araştırmak amaçlı yaptıkları çalışmada lokus başına ortalama 5.3 allel elde edildiğini bildirmişlerdir. **Shimomura ve Hirashima (2006)** 10 ticari Japon çilek çeşidinde geliştirdikleri 4 mikrosatellit markörünü kullanarak poliakrilamit jelde yaptıkları çalışmada lokus başına ortalama 5 allel elde ettiklerini belirtmişlerdir. Bu çalışmada lokus başına düşen polimorfik allel sayısı araştırmacıların yaptıkları çalışmalara göre daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni kullanılan çilek çeşitlerinin tamamının oktoploid olması ve daha geniş bir genetik kaynağın kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

Başka bitkilerde yapılmış çalışmalarda lokus başına düşen allel sayısı karşılaştırıldığında, **Wünsch ve Hormaza, (2002b)** kirazda (*Prunus avium* L.) SSR yöntemiyle yaptıkları çalışmada lokus başına ortalama 3.7 allel düştüğünü **Hong-Li ve ark. (2008)** şeftalide (*Prunus persica* L.) SSR yöntemiyle yaptıkları çalışmada lokus başına ortalama 5 allel düştüğünü belirlemişlerdir. Bu çalışmada primer başına düşen polimorfik allel sayısı araştırmacıların yaptıkları çalışmalara göre oldukça yüksek bulunmuştur. Bunun asıl nedeni bu türlerin diploid, çileğin ise oktoploid olmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü heterozigot diploid bitkilerde bir genotipte bir lokusta en fazla iki allel görülürken, oktoploid türlerde ise bir lokusta en fazla 8 allel görülebilmektedir.

Primerlerin polimorfizm oranı %95.12 olarak bulunmuştur. UFFa 13-C07 lokusundan en düşük (%66.66) polimorfizm oranı elde edilirken, UFFa 01-H05, UFFa 02-H04, UFFa 03-B05, UFFa 04-G04, UFFa 08-H09, UFFa 10-H04, UFFa 11-A11 ve UFFa 14-H09 lokuslarından ise en yüksek (%100) polimorfizm oranı elde edilmiştir.

Basil ve ark. (2006a) 70 çilek çeşidinde SSR yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada 13 primer çiftinde polimorfizm oranını %16.1 olarak saptanmıştır. **Milella ve ark. (2006)** 66 çilek çeşidini ve bunların ebeveynlerini kullanarak aralarındaki akrabalığı RAPD markörleri ile belirlemede polimorfizm oranını %90.8 olarak saptamışlardır. **Monfort ve ark. (2006)** yabani çileklerde (*Fragaria vesca*) SSR markörü geliştirmek ve diğer türlere aktarılabilirliğini araştırmak amaçlı yaptıkları çalışmada diploid *Fragaria* türlerinde ortalama %81 polimorfizm oranı (en yüksek %97 ile *Fragaria nubicola*’ da ve en düşük %63 ile *Fragaria iinumae*’den) elde

ettiklerini belirtmişlerdir. Literatürde yapılan çalışmalarla bu çalışmada elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, bu çalışmadaki polimorfizm oranları daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve ayırma güçleri de yapılan analizler sonuçlarına göre hesaplanıp değerlendirmeleri yapılmıştır. Ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.74 olarak bulunmuştur. En düşük (0.33) polimorfizm bilgi içeriği değeri UFFa 13-C07 lokusundan, en yüksek (0.92) polimorfizm bilgi içeriği değeri ise UFFa 11-A11 lokusundan elde edilmiştir.

Gil-Ariza ve ark. (2006) çilekte mikrosatellit markör geliştirme üzerine yaptıkları çalışmada 50 adet çilek çeşidini 27 SSR primer çifti kullanarak test etmişlerdir. Ortalama polimorfizm bilgi içeriğinin 0.76 olduğunu belirtmişlerdir. **Keniry ve ark. (2006)** SSR yöntemini kullanarak 13 adet çilek (*Fragaria x ananassa*) çeşidini 14 primer çifti kullanarak tanımlamışlar ve polimorfizm bilgi içeriğini 0.69 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacıların elde ettiği sonuçlar ile bu çalışmadaki sonuçlar benzerlik göstermektedir.

Primerlerin ayırma gücü (AG) değerleri incelendiğinde ise; toplam ayırma gücü değeri 8.15 olarak belirlenmiş olup, en düşük (0.35) UFFa 11-A11 lokusundan elde edilirken, en yüksek (1.33) ayırma gücü değeri ise UFFa 13-C07 lokusundan elde edilmiştir.

Hadonou ve ark. (2004) 15 adet *Fragaria vesca*'da 31 adet mikrosatellit primerini denemişler ve yaptıkları çalışmada ayırma gücünün 0.24 ile 0.90 (ortalama 0.53) arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Literatürde yapılan araştırma ile bu çalışmadan elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, bu çalışmadaki değerin yüksek bulunmasının nedeni kullanılan farklı primer çiftlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.1. Çilek Genotiplerinin SSR Yöntemi ile Aralarındaki Genetik İlişkilerinin Belirlenmesi

Analiz sonuçlarına göre, çilek çeşitleri ve genotipleri arasında genetik benzerlik indeksinin 0.55-0.94 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada

kullanılan çilek çeşitleri ve genotipleri arasındaki Simple Matching (SM) benzerlik katsayıları **Ek 2'**de verilmiştir.

34 çilek çeşidi ve genotipi genetik benzerlik açısından incelendiğinde, birbirine en yakın çeşitler sırasıyla; Call Giant-2 ile Call Giant-3 (0.94), Alba ile Marlette (0.89), Call Giant-3 ile Call Giant-5 (0.88), Call Giant-5 ile Sweet Charlie (0.86) olmuştur.

Genetik olarak en uzak çeşitler ise sırasıyla; 8 nolu genotip ile Call Giant-4 (0.55), Osmanlı ile Aromas (0.56), 5 nolu genotip ile Call Giant-4 (0.56), Maya ile Festival (0.57), Ciloe ile Call Giant-4 (0.57), 5 nolu genotip ile Festival (0.58), Maya ile Call Giant-4 (0.58) ve Aromas ile Call Giant-4 (0.58) olarak bulunmuştur (**Ek 2**).

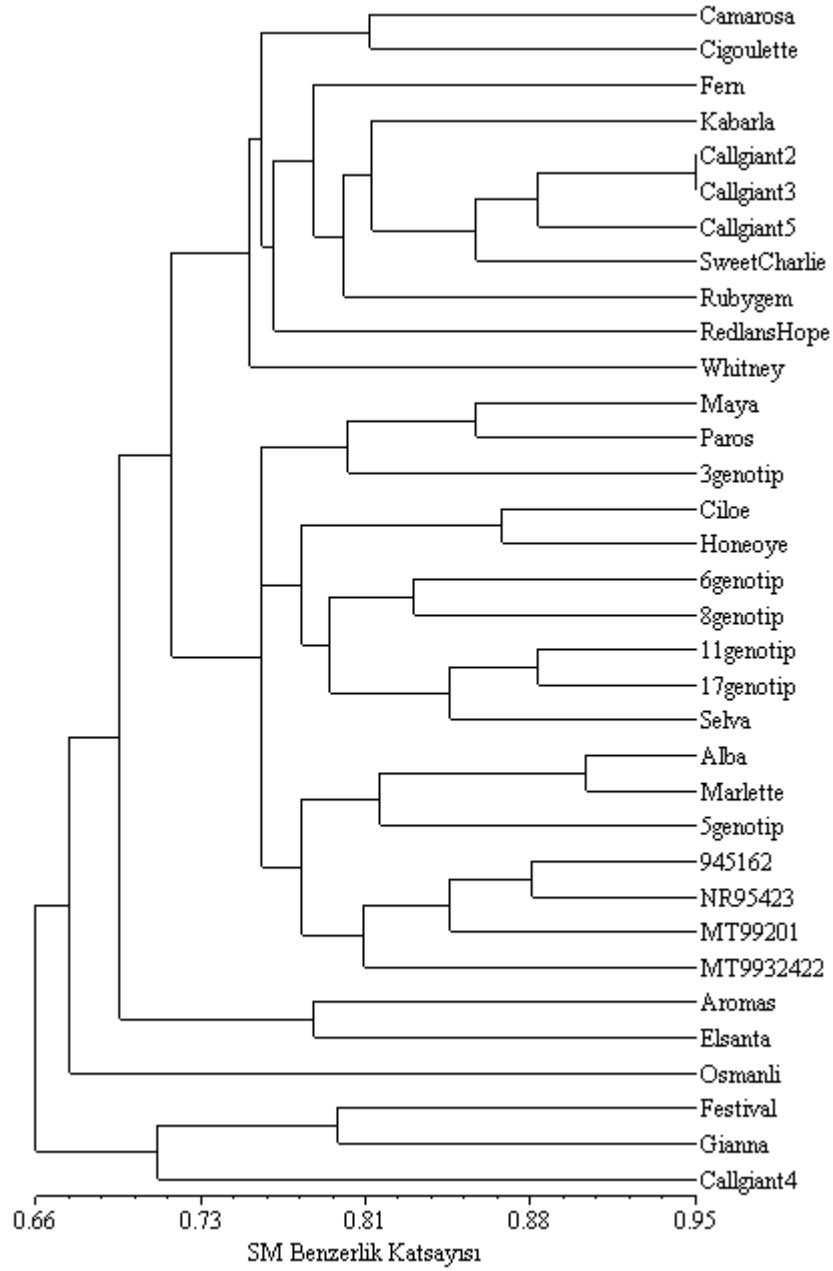
Yapılan SSR analizi sonucunda çalışmada kullanılan tüm genotip ve çeşitlerin birbirinden ayrıldığı görülmüştür. Elde edilen soyağacında 5 farklı ana grup oluşmuştur (**Şekil 4.7**). Birinci grupta 11 çeşit, ikinci grupta 17, üçüncü grupta 2, dördüncü grupta sadece Osmanlı ve son grupta ise 3 çeşit yer almıştır.

Birinci ana grupta bulunan Whitney çeşidi diğer 10 çilek çeşidinden ayrılmış ve bu 10 çeşitte kendi arasında iki alt gruba ayrılmıştır. Birinci alt grupta Camarosa ve Cigoulette (0.80) çeşitleri arasında yakın bir ilişki olduğu belirlenmiştir. İkinci alt grupta ise Call Giant-2 ve Call Giant-3 (0.94) ile Call Giant-5 çeşitleri arasında yakın bir ilişki olduğu ve bu çeşitlerinde Sweet Charlie çeşidi ile aynı grupta olduğu görülmüştür. Belirtilen bu dört çeşit ile Kabarla çeşidi grup oluşturarak Rubygem çeşidi ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. Aynı grupta yer alan Fern çeşidi yukarıda belirtilen 6 çeşitle grup oluşturmuş ve bu çeşitlerinde Redlans Hope çeşidi ile yakın ilişkili olduğu görülmüştür.

İkinci ana grupta kendi arasında üç alt gruba ayrılmıştır. Birinci alt grupta Maya ve Paros (0.85) çeşitleri ile 3 nolu genotip yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. İkinci alt grupta ise 11 ve 17 nolu (0.87) genotipler ile Selva çeşidinin yakın ilişkili olduğu görülmüş ve bu örneklerle 6 ve 8 nolu genotiplerin yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu alt grupta Ciloe ve Honeoye çeşitleri yakın ilişkili bulunmuş ve bu beş örnekten ayrı bir grup oluşturmuştur. Üçüncü alt grupta ise Alba ve Marlette (0.89) çeşitleri ile 5 nolu genotipin ayrı bir grup oluşturduğu görülmüştür. 94/516/2 ve NR-95/42/3 (0.87) no'lu genotipler ile MT-99/20/1 genotipi yakın ilişkili olduğu

bulunmuş, MT-99/324/22 genotipi ile ayrı grup oluşturarak diğer üç çeşit ve genotip ile bağlantı oluşturduğu saptanmıştır. Üçüncü ana grupta da Aromas ve Elsanta (0.78) çeşitlerinin yakın ilişkili olduğu bulunmuş olup ayrı bir grup oluşturduğu belirlenmiştir. Dördüncü ana grubu ise sadece Osmanlı çeşidinin oluşturduğu saptanmıştır. Beşinci ana grupta Festival ve Gianna (0.70) çeşitleri ile Call Giant-4 çeşidinin yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. (**Şekil 4.7**).

Arnau ve ark. (2002) 18 adet ISSR primerini 30 adet çilek çeşidinin karakterizasyonunda kullandıklarını belirtmişlerdir. Elde ettikleri soyağacında Fransa orijinli Cigoulette (Belrubi x Pajaro), ABD orijinli Sweet Charlie (FL 80-45 x Pajara) ve ABD orijinli Camarosa (Douglas x Cal.85.218-605) çeşitlerinin aynı grupta yer aldığını ifade etmişlerdir. **Kuras ve ark (2004)** 24 çilek çeşidi arasındaki akrabalık ilişkilerini belirlemek amacıyla RAPD ve ISSR tekniklerini kullandıklarını belirtmişlerdir. RAPD analizleri sonuçlarına göre elde ettikleri soyağacında ABD orijinli Selva (Brighton x (Tufts x Pajaro)) ve Honeoye (Vibrant x Holiday) çeşitleri arasında yakın ilişki olduğunu ve Hollanda orijinli olan Elsanta (Gorella x Holiday) çeşidinin ise bu gruptan olmadığını sonuçlarında ifade etmişlerdir. **Redmann ve ark. (2006)** 26 adet RAPD markörü kullanarak 10 adet çilek çeşidinde genetik çeşitlilik ve karakterizasyon amaçlı yaptıkları çalışmada Camrosa ve Sweet Charlie çeşitlerini soyağacında aynı grupta olduklarını ifade etmişleridir. Literatürde yapılan çalışmalar ile bu çalışmada benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür.



Şekil 4.7. 34 adet çilek çeşit ve genotipine SSR tekniğinin uygulanması sonucu elde edilen soyağacı

4.3. CAPS ve SSR Analizlerinin Birlikte Değerlendirilmesi ve Karşılaştırılması

4.3.1. CAPS ve SSR Yöntemlerinin Polimorfizm ve Ayırma Gücü bakımından Karşılaştırılması

CAPS ve SSR yöntemlerinin polimorfizm ve ayırma gücü bakımından karşılaştırılması **Çizelge 4.5**'de verilmiştir. CAPS ve SSR yöntemleri toplam bant sayısı ve polimorfik bant sayısı bakımından karşılaştırıldığında, CAPS tekniğinden toplam 63 bant elde edilmiş, bunlardan ise 53 adedi polimorfik olarak tespit edilmiştir. SSR yönteminde ise toplam 150 bant elde edilmiş, bunlardan ise 145 adedi polimorfik bant olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. CAPS ve SSR primerlerinin amplifikasyonu sonucunda elde edilen toplam bant sayısı (TBS), polimorfik bant sayısı (PBS), polimorfizm oranı(PO), primer başına düşen toplam bant sayısı (PBDTBS), primer başına düşen polimorfik bant sayısı (PBDPBS), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve primerlerin ayırma gücü (AG) değerleri

	Primer Çifti	TBS	PBS	PO (%)	PBDTBS	PBDPBS	PBİ	AG
CAPS	17	60	52	85.03	3.53	3.06	0.31	16.81
SSR	12	150	145	95.12	12.5	12.08	0.79	8.15

Polimorfizm oranı açısından CAPS yöntemi %85.03 değerini verirken, SSR yöntemi ise %95.12 değerini vermiştir. Polimorfizm bilgi içeriği bakımından CAPS yönteminden 0.31'lik bir değer elde edilirken, SSR yönteminden ise 0.79'luk bir değer elde edilmiştir. İncelenen bu özellikler bakımından SSR yönteminin CAPS yöntemine göre daha polimorfik bir teknik olduğu ortaya çıkmıştır.

Kullanılan primer çifti esas alınarak primerlerin ayırma gücü bakımından teknikler karşılaştırıldığında ise, SSR tekniğinin 12 primer çifti ile 8.15, CAPS tekniğinin ise 17 primer çifti ile 22.81 ayırma gücüne sahip olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu sonuca göre, CAPS tekniğinde kullanılan primerlerin SSR tekniğinde kullanılan primerlere göre daha fazla ayırma gücüne sahip olduğu bulunmuştur.

CAPS metodunda genellikle bilinen gen dizilerinin çoğalması söz konusudur ve uygun kesim enzimleri ile belirlenir. Bu yöntemde polimorfizm oranının yüksek olması ve temiz bant elde edilebilmesi için uygun CAPS primerleri ve uygun enzim

kombinasyonuna ihtiyaç vardır (**Kunihisa ve ark., 2005**). Ancak çilekte farklı poliploidi seviyelerinden dolayı bazı istenen sonuçların elde edilemediği **Kunihisa ve ark. (2003; 2005)** tarafından belirtilmiştir. Kültür çilekleri (*Fragaria x ananassa*) $2n=8x=56$ kromozoma sahiptir. Bu sebeple bir genotipte bir lokusta beklenen en fazla allel sayısı 8'dir.

PCR'la çoğaltılmış mikrosatellit markörler, özel lokusa sahip ve yüksek miktarda polimorfik olmanın avantajına sahiptir. Allel büyüklüğünün belirlenmesi, yüksek çözünürlü elektroforez aracılığıyla elde edilir. Ancak bu durumun belirlenmesi için ön çalışma gerektirir. Bu sebeple maliyetli bir yöntemdir. Bu markörler ko-dominanttır 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 imkânlarına sahiptir. Ayrıca öteki PCR'a dayalı tekniklere göre daha fazla bilgi içermesi ve otomasyona uygun olması, az DNA gerektirmesinden dolayı çok kullanışlı bir yöntemdir. Ayrıca son zamanlarda farklı bitkilerde moleküler seviyede yapılan karakterizasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (**Litt ve Luly, 1989; Powell ve ark., 1996a;1996b, Gupta ve Varshney, 2000; Goulao ve Oliveira., 2001; Sefc ve ark., 2001; Wünsch ve Hormaza, 2002a; 2002b**).

4.3.2. Çilek Çeşitleri Arasındaki Genetik İlişkilerin CAPS ve SSR Verilerinin Birlikte Değerlendirilmesi ile Belirlenmesi

Analiz sonuçlarına göre çilek çeşitleri ve genotipleri arasında genetik benzerlik indeksinin 0.59-0.91 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan çilek çeşitleri ve genotipleri arasındaki Simple Matching (SM) benzerlik katsayıları **Ek 3**'de verilmiştir.

34 çilek çeşidi ve genotipi genetik benzerlik açısından incelendiğinde birbirine en yakın çeşitler sırasıyla; Call Giant-2 ile Call Giant-3 (0.91), Alba ile

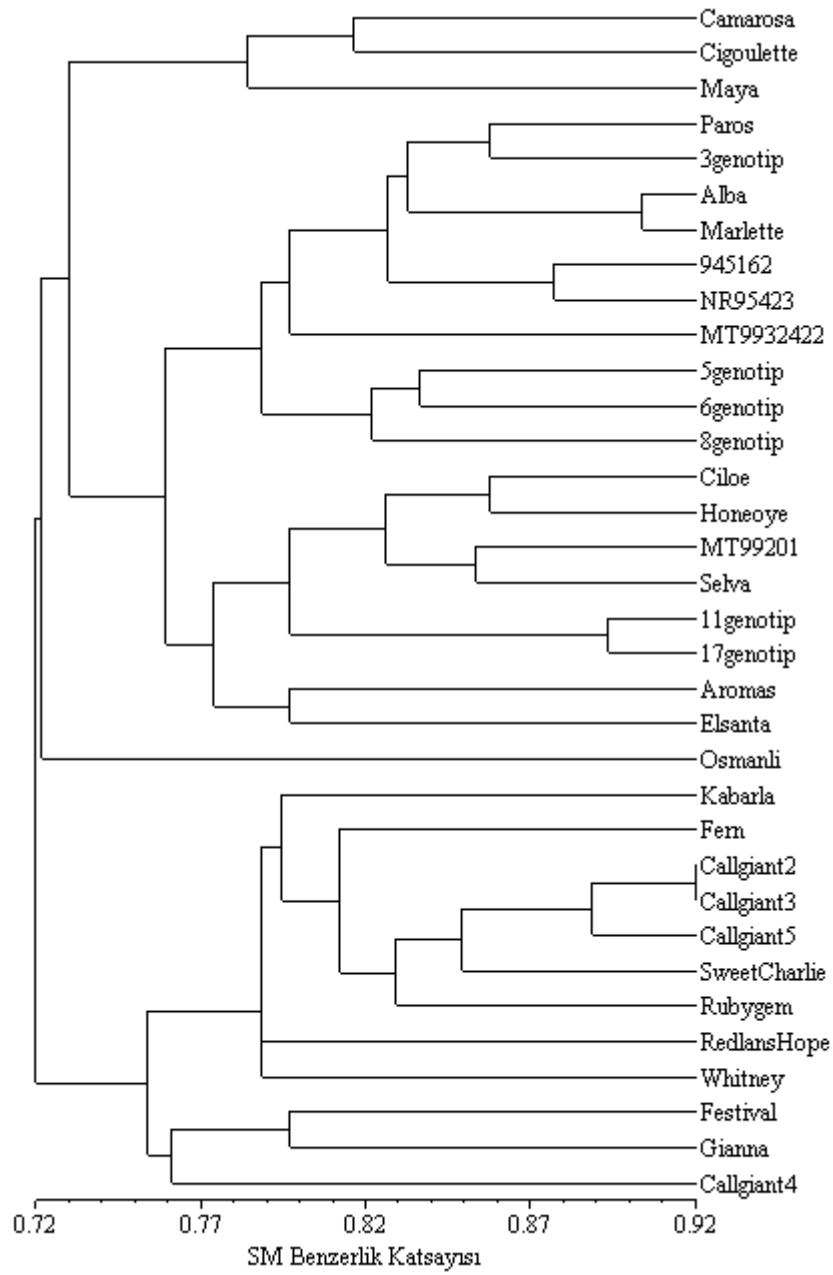
Marlette (0.90), 11 ile 17 nolu (0.89) genotipler ve Call Giant-3 ile Call Giant-5 (0.89) olmuştur.

Genetik olarak en uzak çeşitler ise sırasıyla; 8 nolu genotip ile Call Giant-4 (0.59), 5 nolu genotip ile Call Giant-4 (0.60), 5 nolu genotip ile Festival (0.61), Osmanlı ile Aromas (0.62), Maya ile Call Giant-4 (0.62) ve 6 nolu genotip ile Festival (0.62) çeşitleri olmuştur (**Ek 3**).

CAPS ve SSR verilerinin birlikte değerlendirilmesi sonucu elde edilen soyağacına (**Şekil 4.8**) göre iki ana grup oluşmuştur. Birinci ana grubu Türkiye, İtalya ve Fransa orijinli genotipler oluştururken, ikinci ana grubu ise ABD ve Avustralya orijinli genotipler oluşturmıştır.

Birinci ana grupta Osmanlı çeşidi aynı grupta yer alan 21 çeşit ve genotipten ayrılmıştır. Geriye kalan 21 çeşit ve genotipte kendi arasında iki alt gruba ayrılmıştır. Birinci alt grupta Camarosa ve Cigoulette (0.81) ile Maya çeşitleri yer almıştır. İkinci alt grup ise yine kendi arasında iki gruba (a ve b) ayrılmıştır. A grubunda Paros ve 3 nolu genotip (0.85) ile Alba ve Marlette (0.90) arasında yakın bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu dört çeşit ve genotipin 94/516/2 ve NR-95/42/3 nolu genotipler ile ayrı bir grup oluşturduğu görülmüştür. Yukarıda belirtilen altı çeşit ve genotipe MT-99/324/22 nolu genotipinde yakın ilişkili olduğu bulunmuştur. İkinci alt grupta yer alan Ciloe ve Honeoye (0.69) ile MT-99/20/1 ve Selva (0.71) çeşitlerinin yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yine bu grupta yer alan 11 ve 17 nolu genotiplerinde bu dört çeşitle bağlantılı olduğu görülmüştür. Yapılan analizler sonucunda elde edilen soyağacına göre, bu grupta yer alan Aromas ve Elsanta çeşitlerinin bu altı genotiple yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir.

İkinci ana grubun ise yine aynı şekilde iki alt gruba ayrıldığı görülmüştür. Birinci alt grupta Call Giant-2 ve Call Giant-3 (0.91) ile Call Giant-5 çeşitlerinin yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu 3 çeşidin, Sweet Charlie ve Rubygem çeşitleri ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir. Fern çeşidinin ise bu çeşitlerle bir grup oluşturduğu yine bu gruba Kabarla çeşidinde yakın bir ilişkisi olduğu saptanmıştır. Bu dört çeşide Whitney ve Redlans Hope çeşitlerinin de bağlantılı olduğu bulunmuştur. İkinci alt grupta ise Festival ve Gianna (0.79) ile Call Giant-4 çeşitlerinin yakın ilişkili olduğu saptanmıştır (**Şekil 4.8**).



Şekil 4.8. 34 adet çilek çeşit ve genotipinin CAPS ve SSR tekniklerinin birlikte uygulanması sonucu elde edilen soyağacı

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada CAPS ve SSR moleküler markör yöntemleri kullanılarak 34 adet çilek çeşit ve genotipinin karakterizasyonu yapılmıştır. Çilek çeşitlerini ve genotiplerini CAPS ve SSR yöntemleri ile tanımlamada kullanılacak polimorfik primerler belirlenmiş olup bu çeşit ve genotipler arasındaki genetik ilişkiler ortaya çıkartılmıştır. Ayrıca her iki yöntemden elde edilen veriler ayrı ayrı değerlendirilerek yöntemler karşılaştırılmıştır.

Elde edilen bulgular aşağıda kısaca özetlenmiştir:

1. CAPS analizleri sonucunda elde edilen verilere göre; *APX2-Dra* I primeri toplam ve polimorfik bant açısından en fazla bantı sağlayan primer olduğu saptanmıştır. *AUB-Hha* I, *CT11-Hinf* I ve *OLP-Dde* I primerleri ise en az polimorfik bant üreten ve en düşük polimorfizm oranına sahip primerler olduğu belirlenmiştir. En yüksek polimorfizm oranı *B-CT1-Hinf* I, *PGPB-Rsa* I *PYDB-Hae* III, *APX-Mlu* I, *APX3-Dra* I, *B-APX-Mlu* I, *F3H-Nco* I, *CHI-Pvu* II, *PGPA-(Acc I-Rsa I)* ve *PYDA-(Cfr13-Hae* III) primerlerinden elde edilmiştir. En düşük polimorfik bilgi içeriği değerinin *F3H-Nco* I primerinden ve en yüksek polimorfik bilgi içeriği değerinin ise *PGPB-Rsa* I primerlerinden elde edildiği görülmüştür. En yüksek ayırma gücü değeri *PGPA-(Acc I-Rsa I)* elde edilirken en düşük ayırma gücü değeri ise *APX2-Dra* I primerinden elde edilmiştir.
2. CAPS verileri kullanılarak elde edilen soyağacı ve benzerlik indeksi matrisine göre; yabancı orijinli olan Festival ve Call Giant-4 çeşitlerinin yakın akraba oldukları ve Türk çilek çeşit ve genotiplerinin ise Ciloe ve Marlette çeşitleri ile yakın ilişkili gösterdiği belirlenmiştir. İtalya orijinli Maya çeşidi ise soyağacında oluşan grupların hepsinden ayrılarak grup dışı oluşum göstermiştir. Genel olarak 34 çilek çeşidi ve genotipine bakıldığında ise Türk orijinli çeşitlerin yabancı orijinli çeşitler arasında grup oluşturarak dağılım gösterdiği ve ülkemizde genetik çeşitliliğin olduğu CAPS analizi sonucunda elde edilen verilere göre saptanmıştır.

3. SSR analizleri sonucunda elde edilen verilere göre; Toplam allel sayısı ve polimorfik allel sayısı açısından UFFa 13-C07 lokusu en düşük allel sayısını üretmiş olup, UFFa 08-H09 lokusu ise en fazla alleli vermiştir. Polimorfizm oranı bakımından ise UFFa 13-C07 lokusundan en düşük polimorfizm oranı elde edilirken, UFFa 01-H05, UFFa 02-H04, UFFa 03-B05, UFFa 04-G04, UFFa 08-H09, UFFa 10-H04, UFFa 11-A11 ve UFFa 14-H09 lokuslarından en yüksek polimorfizm oranı elde edilmiştir. En düşük polimorfizm bilgi içeriği değeri UFFa 13-C07 lokusundan, en yüksek polimorfizm bilgi içeriği değeri ise UFFa 10-H04 lokusundan elde edilmiştir. Primerlerin ayırma gücü değerleri incelendiğinde ise; en düşük ayırma gücü UFFa 11-A11 lokusundan elde edilirken, en yüksek ayırma gücü değeri ise UFFa 13-C07 lokusundan elde edilmiştir.
4. SSR verileri kullanılarak elde edilen soyağacı ve benzerlik indeksine göre; ABD orijinli 3 çeşit (Kabarla, Gianna ve Call Giant-4) grup dışı oluşum göstererek diğer çeşit ve genotiplerden ayrılmışlardır. Osmanlı çeşidi ise bu oluşan diğer 3 gruptan ayrıldığı görülmüştür. Genel olarak elde edilen soyağacına göre 34 çilek çeşidi ve genotipine bakıldığında ise Türk orijinli çeşitlerin yabancı orijinli çeşitler arasında grup oluşturarak dağılım gösterdiği ve ülkemizde genetik çeşitliliğin var olduğu SSR analizi sonucunda elde edilen verilere göre saptanmıştır.
5. Çalışmada kullanılan teknikler karşılaştırıldığında, incelenen özellikler bakımından SSR tekniğinin CAPS tekniğine göre polimorfizm oranı (PO) ve polimorfizm bilgi içeriği (PBI) bakımından daha üstün olduğu bulunmuştur. Ancak ayırma gücü (AG) bakımından ise CAPS tekniğinin SSR tekniğine göre daha üstün olduğu belirlenmiştir.

Çilek tüm dünyada yetiştiriciliği yapılan ve ülkemiz için önemli olan bir bitkidir. Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan birçok çilek çeşidi ekonomik öneme sahiptir. Bu çeşitlerin karakterize edilmesi ıslahçılar için oldukça önemlidir. Ancak, genetik çeşitliliğin karakterize edilmesi için kullanılan morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yöntemler oldukça zaman almakta ve çevresel faktörlerden

etkilenmektedir. DNA markörleri ile farklı ekolojik bölgelerdeki genetik materyallerin karakterize edilmesi sağlanmaktadır.

Bu çalışma ile Türkiye de ilk defa yaygın yetiştiriciliği yapılan ve yurtdışından gelen çeşit ve genotiplerin moleküler karakterizasyonu CAPS ve SSR yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmanın devamı olarak ileriki dönemlerde diğer DNA markör tekniklerinin de (AFLP, ISSR ve SRAP vb) çileğe uygulanmasına devam edilmelidir. Ayrıca bu çalışmalara ek olarak genetik yakınlık çalışmalarında primer sayısının ve kullanılan çeşit sayısının artırılması önerilmektedir. Çilekte ekonomik öneme sahip bazı bitki özellikleri ile ilişkili DNA markörlerinin geliştirilmesi ıslah süresini kısaltma bakımından oldukça önemlidir.

Çilek çeşit ve genotiplerinin yayılım alanlarının belirlenmesinde, gen kaynaklarının karşılaştırılmasında, çilek çeşit ve genotiplerinin karakterizasyonunda ve çilek ıslah programlarında en iyi ebeveynlerin seçilmelerine yardımcı olmak amacı ile bu çalışmadan çıkan sonuçlar kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR

- AĞAOĞLU, Y.S., 1986.** Üzümsü Meyveler. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, Yayın No: 984, 290s.
- ANGELES-VIRUEL, M., SANCHEZ, D., and ARUS, P., 2002.** An SSR and RFLP Linkage Map for The Octoploid Strawberry. International Plant, Animal and Microbe Genomes Conference, San Diego, Poster: 12-16
- ARNAU, G., LALLEMAND, J., and BOURGOIN, M., 2002.** Fast and Reliable Strawberry Cultivar Identification Using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Amplification. Euphytica 129:69-79.
- AYBAK, H.Ç., 2000.** Çilek Yetiştiriciliği. İstanbul, Hasad Yayıncılık 7 s
- BASSIL, N.V., GUNN, M., FOLTA, K., and LEWERS, K., 2006a.** Microsatellite Markers for *Fragaria* From 'Strawberry Festival' Expressed Sequence Tags. Molecular Ecology Notes, 6: 473-476.
- BASSIL, N.V., NJUGUNA, W., and SLOVIN, J.P., 2006b.** EST-SSR Markers From *Fragaria vesca* L. cv. Yellow Wonder. Molecular Ecology Notes, 6: 806-809.
- CEKIC, C., BATTEY, N. H., and WILKINSON, M., 2001** The Potential of ISSR-PCR Primer-Pair Combinations for Genetic Linkage Analysis Using the Seasonal Flowering Locus in *Fragaria* as a Model. Theoretical and Applied Genetics, 103: 540–546.
- CIPRIANI, G., and TESTOLIN, R., 2004.** Isolation and Characterisation of Microsatellite Loci in *Fragaria* . Molecular Ecology Notes, 4: 366–368.
- DAVIS, T.M., 1993.** Genetic Mapping of the Diploid Strawberry Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. (J.L. Maas, G.J. Galletta editors). II International Strawberry Symposium. International Society for Horticultural Science Acta Horticulturae Maryland, USA 348: 87
- DEBNATH, S.C., KHANIZADEH, S., JAMIENSON, A.R., and KEMPLER, C., 2008.** Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers to Assess Genetic Diversity and Relatedness Within Strawberry Genotypes. Canadian Journal of Plant Science, 88: 313-322.

- DEGANI, C., ROWLAND, L.J., SAUNDERS, J.A., HOKANSON, S.C., OGDEN, E.L., GOLAN-GOLDHIRSH, A., and GALETTA G.J., 2001.** A Comparison of Genetic Relationship Measures in Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) Based on AFLPs, RAPDs, and Pedigree Data. *Euphytica* **117**: 1–12, 2001.
- ERENOĞLU, B., ERBİL, Y., ve UFUK, S., 2000.** Melezleme Yolu ile Elde Edilen Bazı Çilek Çeşitlerinin *in vitro* Şartlarda Tuza (NaCl) Mukavemetleri Üzerine Araştırmalar. Bilimsel Araştırma ve İncelemeler, Yayın No:130 Yalova, 36s.
- FAOSTAT, 2005.** FAO web page.(<http://www.fao.org>).
- GIL-ARIZA, D.J. AMAYA, I., BOTELLA, M.A., MUNOZ BLANCO, J., CABELLERO, L., LOPEZ-ARANDA, J.M. VALPUESTA, V., and SANCHEZ SEVILLA, F., 2006.** EST-Derived Polymorphic Microsatellites From Cultivated Strawberry (*Fragaria x ananassa*) are Useful for Diversity Studies and Varietal Identification Among *Fragaria* Species. *Molecular Ecology Notes*, 6:1195-1197.
- GOULAO, L., and OLIVEIRA, C.M., 2001.** Molecular Characterization of Cultivars of Apple (*Malus X domestica* Borkh.) Using Microsatellite (SSR and ISSR) Markers. *Euphytica*, 122: 81–89.
- GRHAM, J., MCNICOL, R.J., and MCNICOL, J.W., 1996.** A Comparison of Methods for the Estimation of Genetic Diversity in Strawberry Cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 402–406.
- GUPTA, P.K., and VARSHNEY, R.K., 2000.** The Development and Use of Microsatellite Markers for Genetic Analysis and Plant Breeding with Emphasis on Bread wheat. *Euphytica* 113: 163–185.
- GÜLŞEN, O., ve MUTLU, N., 2005.** Genetic Markers Used in plant Sciences and Their Utilization. *Alatırım*, 4 (2): 27–37.
- HADONOU, AM., SARGENT, DJ., WILSON, F., JAMES, CM., and SIMPSON, DW., 2004.** Development of Microsatellite Markers in *Fragaria*, Their use Genetic Diversity Analysis and Their Potential for Genetic Linkage Mapping. *Genome*, 47: 429–438.

- HANCOCK, J.F., and LUBY, J.J., 1993.** Genetic Resources at Our Door Step the Wild Strawberries. Bioscience 43: 141–147.
- HANCOCK, JF., 1999.** The Strawberry Species in Strawberries. CABI Publishing, Cambridge, Massachusetts, USA. 18 p.
- HONG-LI, T., XIA-LI, Y., CHAO-LI, Z., WEN-QI, Y., and WANG, T., 2008.** Simple Sequence Repeat Analysis of Genetic Diversity in Primary Core Collection of Peach (*Prunus persica*). Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences. 10.1111/j.1744-7909
- JADWIGA, I., ZEBRWSKA. I., and MIROSŁOAW, T., 2003.** The Use of Markers for Strawberry Identification and Genetic Diversity Studies WFL Publisher Science and Tecnology, Vol 1(1): 115-117.
- JAMES, C. M., WILSON, F., HADONOU, M., and TOBUTT, K. R., 2003.** Isolation and Characterization of Polymorphic Microsatellites in Diploid Strawberry (*Fragaria vesca* L.) for Mapping, Diversity Studies and Clone Identification. Moleculer Ecology Notes 3: 171-173.
- KAFKAS, N.E., 2004.** Bazı Çilek Genotiplerinde Aroma Bileşiklerinin Tayini ve Aroma Bileşikleri ile Bazı Meyve Kalite Kriterleri Arasındaki İlişkiler. Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, 2s.
- KAFKAS, S., 2006.** DNA Markörleri ve Bitki Islahında Kullanımı Kursu, 1-20 Ocak 2006. Kurs notu (Yayınlanmamış).
- KASHYAP, S., KAUR, R., SHARMA, D.R., KUMAR, K., and SHARMA, S.K., 2005.** Moleculer Characterization and Genetic Diversity in *Fragaria* Genotypes as Revealed by Randomly Amplified DNA Polymorphisms (RAPDS). ISHS Acta Horculturae 696 : VII International Symposium on Temperate Zone Fruits in the Tropics and Subtropics- Part Two:135-142
- KENIRY, A., HOPKINS, C. J., JEWELL, E., MORRISON, B., SPANGENBERG, G. C., EDWARDS, D., and BATLEY, J., 2006** Identification and Characterization of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers From *Fragaria x ananassa* Expressed Sequence. Moleculer Ecology Notes 6: 319-322.

- KILIÇEL, İ., 2005.** Bazı Çilek Çeşitlerinin Van Ekolojik Koşullarında Fide Verim Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Yayınlanmamış.
- KUNIHISA, M., FUKINO, F., and MATSUMOTO, S., 2003.** Development of Cleavage Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) Markers for Identification of Strawberry Cultivars. *Euphytica* 134: 209-215.
- KUNIHISA, M., FUKINO, F., and MATSUMOTO, S., 2005.** CAPS Markers Improved by Cluster-Specific Amplification for Identification of Octoploid Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) Cultivars, and Their Disomic Inheritance. *Theoretical and Applied Genetics*, 110: 1410–1418.
- KURAS, A., KORBIN, M., and ZURAWICZ, E., 2004.** Comparison of Suitability of RAPD and ISSR Techniques for Determination of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) Relationship. *Plant Cell, Tissue and Organ culture*, 79:189-194.
- LITT, M., and LULY, J.A., 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.
- MAAS, J. L., WANG, S. Y., and GALETTA, G. J., 1996.** Enhancing Properties of Strawberry Fruit. In : Pritts, M. P., CHANDLER, C. K. and CROCKER, T.E. (eds). *Proceeding of The V North American Strawberry Conference*, Orlando, Florida. 11-18.
- MILELLA, L., SALUZZI, D., LAPELOSA, M., BERTINO, G., SPADA, P., GRECO, I., and MARTELLI, G., 2006.** Relationships Between an Italian Strawberry Ecotype and Its Ancestor Using RAPD Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53:1715-1720.
- MONFORT, A., VILANOVA, S., DAVIS, M.T., and ARUS, P., 2006.** A New Set of Polymorphic Simple Sequence Repeat (SSR) Markers from a Wild Strawberry (*Fragaria Vesca*) are Transferable to Other Diploid *Fragaria* Species and to *Fragaria x ananassa*. *Molecular Ecology Notes* 6: 197-200.
- NACAR, Ç., 2005.** Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü. Web Page. (www.alata.gov.tr/yayinlar/brosurler/brosurler/cilek_yet.html)

- ÖZDEMİR. E., 1999.** Çilek Yetiştiriciliği. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü. Yayın Dairesi Başkanlığı, Ankara, 17s.
- POWELL, W., MORGANTE, M., ANDRE, C., HANAFEY, M., VOGEL, J., TINGEY, S., and RAFALSKI, A., 1996a.** The Comparison of RFLP, RAPD, AFLP ve SSR (microsatellite) Markers for Germplasm Analysis. *Molecular Breeding*, 2: 225–38.
- POWELL, W., MACHRAY, G.C., and PROVAN, J., 1996b.** Polymorphism Revealed by Simple Sequence Repeats. *Trends in Plant Science*, 1(7):215-221.
- PREVOST, A., and WILKINSON, M. J., 1999.** A New System of Comprasing PCR Primers Applied to ISSR Fingerprinting of Potato Accessions. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 107–112.
- REDMANN, E. B., BIANCHI, V. J., OLIVEIRA, R.P., and FACHINELLO, J.C., 2006** Characterization and Genetic Diversty of Strawberry Cultivars. *Horticultura Brasileira*, 26:84-87.
- ROHLF, F.J., 2004.** NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1, Exeter Software, Setauket, New York.
- SARGENT, D. J., HODONOU, A.M., and SIMPSON, D.W., 2003.** Devolopment and Characterisation of Polymorphic Microsatellite Markers from *Fragaria Viridis*, a Wild Diploid Strawberry . *Molecular Ecology Notes*, 3: 550–552.
- SARGENT, D. J., CLARKE, J., SIMPSON, D.W., TOBUTT, ARUS, P., MONFORT, A., VILANOVA, S., DENOYES-ROTHAN, B., ROUSSEAU, M., FOLTA, K.M., BASSIL, N.V. and BATTEY, N. H. 2006.** An Enhanced Microsatellite Map of Diploid *Fragaria*. *Theoretical and Applied Genetics*, 112:1349-1359.
- SARGENT, D. J., RYS, A., NIER, S., SIMPSON, D.W., and TOBUTT, KR., 2007.** The Devolopment and Mapping of Functional Markers in *Fragaria* and Their Transferability and Potential for Mapping in Other Genera. *Theoretical and Applied Genetics*, 114:373-384.

- SARGENT, D. J., CIPRIANI, G., VILANOVA, S., GIL-ARIZA, D., ARUS, P., SIMPSON, D.W., TOBUTT, K. R., and MONFORT, A., 2008.** The Development of a Bin Mapping Population and the Selective Mapping of 103 Markers in the Diploid *Fragaria* Reference Map. *Genome*, 51:120-127.
- SCARANO, M. T., ABBATE, L., FERRANTE, S., LUCRETTI, S., and TUSA, N., 2002.** ISSR-PCR Technique: a Useful Method for Characterizing New Allotetraploid Somatic Hybrids of Mandarin. *Plant Cell Reports*, 20: 1162–1166.
- SCHUELKE, M., 2000.** An Economic Method for The Fluorescent Labeling of PCR Fragments. *Nature Biotechnology*, 18: 233–234.
- SEFC, K.M., LEFORT, F., GRANDO, M.S., SCOTT, K.D., STEINKELLNER, H., and THOMAS, M.R. 2001.** Microsatellite Markers for Grapevine: A State of the Art. In “Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine”. Roubelakis-Angelakis K.A. ed., 1-29, Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- SHIMOMURA, K., and HIRASHIMA, K., 2006.** Development and Characterization of Simple Sequence Repeats (SSR) as Markers to Identify Strawberry Cultivars (*Fragaria x ananassa*). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 75 (5): 399-402.
- SMITH, J.S.C., CHIN, E.C.L., SHU, H., SMITH, O.S., WALL, S.J., SENIOR, M.L., MITCHEL, S.E., KRESORICH, S., and TIEGLE, J., 1997.** An Evaluation of The Utility of SSR Loci as Molecular Marker in Maize (*Zea mays*):Comparisons with Data from RFLP and Pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 163–173.
- SUGIMOTO, T., TAMAKI, K., MATSUMOTO, J., YAMAMOTO, Y., SHIWAKU, K., and WATANABE, K., 2005.** Detection of RAPD Markers Linked to The Everbearing Gene in Japanese Cultivated Strawberry. *Plant Breeding* 124: 498-501
- TANKSLEY, S.D., YOUNG, N.D., PATERSON, A.H., and BONIERBALE, M.W., 1989.** RFLP Mapping in Plant Breeding, New Tools for an Old Science. *Biotechnology*, 7: 257-264.

- TURHAN ve PAYDAŞ-KARGI, 2007.** Strawberry Production in Turkey. *Chronica Horticulturae*, 47(2):18–20.
- TÜREMİŞ, N., ÖZGÜVEN, A.I. ve PAYDAŞ, S., 2000.** Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Çilek Yetiştiriciliği. Tübitak. Tarp Yayınları, Adana, 36s.
- TYRKAL, M., DZIADCZYK, P., and HORTIYONSKI, A., 2002.** Simplified AFLP Procedure as a Tool for Identification of Strawberry Cultivars and Advanced Breeding Lines. *Euphytica* 125: 273-280.
- WUNSCH A., and HORMAZA J.I., 2002a.** Cultivar Identification and Genetic Fingerprinting of Temperate Fruit Tree Species Using DNA Markers. *Euphytica* 125:59-67.
- WUNSCH A., and HORMAZA J.I., 2002b.** Molecular Characterisation of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Genotypes Using Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] SSR Sequences. Nature Publishing Group All Rights Reserved. *Heredity* 89: 56–63

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Yozgat'ın Çekerek ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Çekerek'te tamamladım. 2001 yılında Ondokuz mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim Bölümü'nde lisansımı yapmaya hak kazandım. 2004 yılında Bahçe Bitkileri Alt Programına yerleştim ve 2005 yılında Ziraat Mühendisi olarak aynı bölümden mezun oldum. 2006 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimime başladım ve halen devam etmekteyim.

Ek 1. Araştırmada yer alan tüm çilek çeşit ve genotipleri arasındaki CAPS verilerinin değerlendirilmesine ait Simple Matching (SM) genetik benzerlik katsayıları tablosu

	Camarosa	Maya	Cigoulette	Paros	Ciloe	Alba	Marlette	Osmanlı	3 nolu genotip	5 nolu genotip	6 nolu genotip	8 nolu genotip	11 nolu genotip	17 nolu genotip	94/516/2	MT-99/324/22	MT-99/20/1	NR/95/42/3	Aromas	Selva	Honeoye	Elsanta	Fern	Festival	Gianna	Kabarla	Call giant-2	Call giant-3	Call giant-4	Call giant-5	Sweet Charlie	Rubygem	Whitney	Reslans Hope
Camarosa	-																																	
Maya	0.82	-																																
Cigoulette	0.84	0.76	-																															
Paros	0.86	0.75	0.82	-																														
Ciloe	0.82	0.70	0.91	0.85	-																													
Alba	0.82	0.67	0.82	0.90	0.89	-																												
Marlette	0.85	0.70	0.81	0.86	0.94	0.91	-																											
Osmanlı	0.82	0.69	0.85	0.82	0.87	0.87	0.86	-																										
3 nolu genotip	0.82	0.71	0.79	0.85	0.87	0.93	0.91	0.88	-																									
5 nolu genotip	0.78	0.71	0.81	0.86	0.88	0.87	0.89	0.79	0.86	-																								
6 nolu genotip	0.71	0.62	0.72	0.83	0.83	0.83	0.86	0.78	0.84	0.90	-																							
8 nolu genotip	0.73	0.61	0.70	0.79	0.83	0.88	0.87	0.78	0.90	0.82	0.83	-																						
11 nolu genotip	0.85	0.63	0.77	0.84	0.88	0.87	0.89	0.82	0.84	0.81	0.80	0.89	-																					
17 nolu genotip	0.80	0.67	0.78	0.83	0.83	0.85	0.82	0.82	0.82	0.83	0.80	0.83	0.93	-																				
94/516/2	0.80	0.64	0.75	0.83	0.87	0.90	0.91	0.82	0.87	0.88	0.88	0.85	0.89	0.88	-																			
MT-99/324/22	0.74	0.67	0.83	0.77	0.86	0.79	0.76	0.79	0.79	0.76	0.77	0.77	0.83	0.88	0.86	-																		
MT-99/20/1	0.73	0.67	0.86	0.77	0.90	0.82	0.81	0.82	0.82	0.74	0.75	0.80	0.83	0.82	0.82	0.93	-																	
NR/95/42/3	0.77	0.67	0.78	0.86	0.84	0.89	0.87	0.88	0.90	0.84	0.79	0.82	0.83	0.81	0.88	0.82	0.84	-																
Aromas	0.67	0.61	0.80	0.71	0.84	0.75	0.74	0.75	0.75	0.79	0.75	0.75	0.81	0.86	0.80	0.90	0.87	0.75	-															
Selva	0.66	0.59	0.77	0.72	0.86	0.72	0.79	0.70	0.72	0.78	0.74	0.77	0.83	0.82	0.83	0.91	0.87	0.77	0.88	-														
Honeoye	0.61	0.62	0.76	0.72	0.84	0.74	0.76	0.78	0.72	0.76	0.72	0.75	0.78	0.79	0.75	0.84	0.84	0.79	0.90	0.86	-													
Elsanta	0.65	0.64	0.75	0.77	0.85	0.81	0.76	0.75	0.75	0.83	0.81	0.73	0.75	0.81	0.87	0.87	0.81	0.81	0.85	0.85	0.89	-												
Fern	0.65	0.66	0.81	0.69	0.81	0.75	0.74	0.74	0.76	0.71	0.69	0.70	0.70	0.70	0.75	0.86	0.93	0.79	0.88	0.83	0.83	0.81	-											
Festival	0.68	0.73	0.74	0.72	0.76	0.75	0.72	0.74	0.76	0.69	0.70	0.67	0.70	0.74	0.79	0.86	0.86	0.78	0.80	0.76	0.93	0.85	0.90	-										
Gianna	0.72	0.63	0.77	0.75	0.80	0.79	0.79	0.77	0.79	0.76	0.72	0.74	0.77	0.75	0.80	0.79	0.60	0.81	0.84	0.79	0.81	0.79	0.84	0.81	-									
Kabarla	0.72	0.69	0.84	0.72	0.87	0.75	0.79	0.74	0.77	0.76	0.70	0.70	0.74	0.77	0.80	0.88	0.88	0.76	0.90	0.86	0.81	0.83	0.87	0.81	0.81	-								
Call giant-2	0.70	0.74	0.79	0.74	0.81	0.77	0.77	0.75	0.77	0.71	0.70	0.72	0.75	0.74	0.74	0.84	0.89	0.78	0.82	0.78	0.81	0.81	0.92	0.92	0.85	0.79	-							
Call giant-3	0.80	0.67	0.78	0.83	0.86	0.86	0.85	0.81	0.87	0.80	0.81	0.80	0.84	0.85	0.90	0.89	0.91	0.87	0.85	0.80	0.77	0.82	0.87	0.88	0.92	0.83	0.85	-						
Call giant-4	0.70	0.71	0.76	0.74	0.78	0.77	0.74	0.75	0.77	0.71	0.72	0.69	0.72	0.75	0.77	0.84	0.84	0.76	0.78	0.74	0.78	0.83	0.85	0.95	0.79	0.79	0.90	0.87	-					
Call giant-5	0.74	0.65	0.77	0.78	0.83	0.87	0.82	0.80	0.85	0.77	0.78	0.78	0.78	0.80	0.81	0.82	0.89	0.82	0.79	0.73	0.77	0.80	0.85	0.87	0.90	0.75	0.90	0.92	0.88	-				
Sweet Charlie	0.66	0.64	0.72	0.70	0.83	0.73	0.73	0.72	0.74	0.70	0.72	0.72	0.75	0.75	0.80	0.86	0.87	0.77	0.84	0.79	0.79	0.83	0.88	0.85	0.77	0.84	0.84	0.85	0.84	0.83	-			
Rubygem	0.74	0.61	0.76	0.77	0.81	0.84	0.79	0.79	0.84	0.79	0.80	0.78	0.79	0.85	0.87	0.91	0.89	0.84	0.88	0.81	0.81	0.87	0.85	0.85	0.85	0.79	0.84	0.93	0.84	0.92	0.84	-		
Whitney	0.68	0.56	0.71	0.72	0.81	0.75	0.75	0.73	0.76	0.72	0.74	0.74	0.77	0.77	0.80	0.83	0.84	0.78	0.80	0.78	0.72	0.77	0.81	0.77	0.84	0.77	0.79	0.88	0.82	0.90	0.90	0.85	-	
Redlans Hope	0.65	0.63	0.67	0.65	0.71	0.72	0.72	0.67	0.73	0.65	0.67	0.70	0.74	0.70	0.80	0.83	0.84	0.74	0.82	0.78	0.76	0.81	0.84	0.87	0.81	0.81	0.85	0.83	0.89	0.85	0.90	0.82	0.87	-

Ek 2. Araştırmada yer alan tüm çilek çeşit ve genotipleri arasındaki SSR verilerinin değerlendirilmesine ait Simple Matching (SM) genetik benzerlik katsayıları tablosu

	Camarosa	Maya	Cigoulette	Paros	Ciloe	Alba	Marlette	Osmanlı	3 nolu genotip	5 nolu genotip	6 nolu genotip	8 nolu genotip	11 nolu genotip	17 nolu genotip	94/516/2	MT-99/324/22	MT-99/20/1	NR/95/42/3	Aromas	Selva	Honeoye	Elsanta	Fern	Festival	Gianna	Kabarla	Call giant-2	Call giant-3	Call giant-4	Call giant-5	Sweet Charlie	Rubygem	Whitney	Reslans Hope
Camarosa	-																																	
Maya	0.78	-																																
Cigoulette	0.80	0.77	-																															
Paros	0.76	0.85	0.73	-																														
Ciloe	0.76	0.71	0.76	0.75	-																													
Alba	0.75	0.81	0.78	0.85	0.80	-																												
Marlette	0.71	0.73	0.74	0.77	0.79	0.89	-																											
Osmanlı	0.68	0.73	0.70	0.75	0.66	0.70	0.69	-																										
3 nolu genotip	0.71	0.73	0.65	0.85	0.69	0.80	0.78	0.76	-																									
5 nolu genotip	0.67	0.68	0.66	0.70	0.81	0.79	0.82	0.63	0.68	-																								
6 nolu genotip	0.69	0.68	0.67	0.73	0.75	0.75	0.72	0.67	0.79	0.81	-																							
8 nolu genotip	0.61	0.67	0.64	0.73	0.80	0.73	0.79	0.65	0.75	0.81	0.82	-																						
11 nolu genotip	0.73	0.71	0.74	0.68	0.76	0.77	0.77	0.72	0.71	0.77	0.79	0.76	-																					
17 nolu genotip	0.76	0.66	0.68	0.71	0.71	0.71	0.74	0.65	0.75	0.75	0.79	0.77	0.87	-																				
94/516/2	0.72	0.73	0.70	0.78	0.80	0.84	0.80	0.68	0.77	0.80	0.83	0.78	0.80	0.78	-																			
MT-99/324/22	0.73	0.74	0.73	0.76	0.70	0.80	0.76	0.71	0.76	0.69	0.76	0.70	0.76	0.75	0.80	-																		
MT-99/20/1	0.74	0.75	0.75	0.74	0.78	0.75	0.73	0.65	0.70	0.75	0.81	0.81	0.79	0.76	0.84	0.80	-																	
NR/95/42/3	0.71	0.78	0.73	0.78	0.75	0.84	0.79	0.69	0.81	0.72	0.79	0.75	0.75	0.71	0.87	0.81	0.83	-																
Aromas	0.67	0.64	0.64	0.66	0.71	0.68	0.68	0.56	0.66	0.77	0.67	0.72	0.68	0.68	0.72	0.64	0.73	0.70	-															
Selva	0.73	0.71	0.73	0.71	0.81	0.73	0.74	0.66	0.71	0.76	0.80	0.81	0.84	0.83	0.82	0.75	0.84	0.79	0.78	-														
Honeoye	0.68	0.66	0.75	0.68	0.86	0.70	0.68	0.65	0.63	0.75	0.75	0.79	0.77	0.74	0.75	0.72	0.80	0.72	0.72	0.84	-													
Elsanta	0.68	0.62	0.68	0.71	0.72	0.64	0.65	0.65	0.70	0.69	0.68	0.72	0.74	0.77	0.71	0.62	0.72	0.67	0.78	0.78	0.77	-												
Fern	0.73	0.66	0.78	0.74	0.71	0.74	0.72	0.65	0.73	0.64	0.68	0.69	0.73	0.76	0.70	0.75	0.75	0.71	0.64	0.75	0.72	0.70	-											
Festival	0.66	0.57	0.67	0.67	0.61	0.66	0.63	0.61	0.68	0.58	0.59	0.62	0.66	0.65	0.69	0.62	0.62	0.62	0.61	0.64	0.62	0.67	0.74	-										
Gianna	0.68	0.67	0.70	0.69	0.66	0.74	0.71	0.61	0.67	0.65	0.63	0.62	0.67	0.66	0.70	0.71	0.67	0.71	0.64	0.71	0.63	0.64	0.74	0.79	-									
Kabarla	0.79	0.68	0.73	0.78	0.64	0.73	0.67	0.66	0.73	0.62	0.69	0.63	0.68	0.71	0.72	0.76	0.71	0.73	0.69	0.72	0.66	0.69	0.76	0.72	0.76	-								
Call giant-2	0.76	0.70	0.75	0.80	0.69	0.75	0.70	0.67	0.79	0.65	0.74	0.72	0.71	0.76	0.73	0.76	0.76	0.76	0.70	0.79	0.71	0.73	0.79	0.70	0.74	0.82	-							
Call giant-3	0.75	0.68	0.73	0.78	0.70	0.72	0.68	0.66	0.75	0.65	0.70	0.71	0.69	0.75	0.70	0.77	0.76	0.71	0.69	0.76	0.71	0.71	0.78	0.68	0.72	0.81	0.94	-						
Call giant-4	0.70	0.58	0.70	0.63	0.57	0.63	0.61	6.57	0.65	0.56	0.60	0.55	0.62	0.61	0.59	0.64	0.60	0.59	0.58	0.65	0.61	0.67	0.68	0.70	0.72	0.72	0.72	0.71	-					
Call giant-5	0.77	0.69	0.76	0.79	0.71	0.76	0.73	0.68	0.75	0.68	0.71	0.71	0.73	0.73	0.75	0.76	0.75	0.72	0.71	0.78	0.73	0.74	0.77	0.70	0.76	0.80	0.87	0.88	0.74	-				
Sweet Charlie	0.78	0.69	0.82	0.76	0.72	0.71	0.68	0.68	0.71	0.64	0.69	0.69	0.71	0.73	0.70	0.72	0.75	0.72	0.66	0.75	0.76	0.73	0.80	0.73	0.68	0.76	0.84	0.84	0.74	0.86	-			
Rubygem	0.72	0.68	0.73	0.74	0.70	0.76	0.70	0.62	0.69	0.69	0.75	0.70	0.72	0.75	0.74	0.74	0.77	0.72	0.65	0.76	0.71	0.68	0.78	0.70	0.74	0.74	0.79	0.78	0.66	0.83	0.82	-		
Whitney	0.69	0.69	0.74	0.69	0.70	0.70	0.68	0.66	0.68	0.60	0.63	0.69	0.72	0.69	0.72	0.74	0.76	0.76	0.64	0.76	0.69	0.66	0.74	0.65	0.69	0.73	0.74	0.76	0.69	0.76	0.81	0.78	-	
Redlans Hope	0.76	0.71	0.76	0.73	0.68	0.72	0.69	0.69	0.69	0.63	0.66	0.66	0.79	0.76	0.70	0.73	0.72	0.70	0.73	0.77	0.71	0.73	0.76	0.74	0.68	0.78	0.77	0.74	0.66	0.78	0.78	0.73	0.75	-

Ek 3. Araştırmada yer alan tüm çilek çeşit ve genotipleri arasındaki CAPS ve SSR verilerinin birlikte değerlendirilmesine ait Simple Matching (SM) genetik benzerlik katsayıları tablosu

	Camarosa	Maya	Cigoulette	Paros	Ciloe	Alba	Marlette	Osmanlı	3 nolu genotip	5 nolu genotip	6 nolu genotip	8 nolu genotip	11 nolu genotip	17 nolu genotip	94/516/2	MT-99/324/22	MT-99/20/1	NR/95/42/3	Aromas	Selva	Honeoye	Elsanta	Fern	Festival	Gianna	Kabarla	Call giant-2	Call giant-3	Call giant-4	Call giant-5	Sweet Charlie	Rubygem	Whitney	Reslans Hope
Camarosa	-																																	
Maya	0.79	-																																
Cigoulette	0.81	7.72	-																															
Paros	7.91	8.23	7.58	-																														
Ciloe	6.98	7.15	8.03	7.82	-																													
Alba	7.71	7.71	7.96	8.66	8.28	-																												
Marlette	7.53	7.26	7.62	8.00	0.83	0.90	-																											
Osmanlı	0.72	0.72	0.74	0.77	0.71	0.75	0.74	-																										
3 nolu genotip	0.74	0.72	0.69	0.85	0.74	0.84	0.81	0.80	-																									
5 nolu genotip	0.69	0.69	0.70	0.74	0.83	0.82	0.84	0.68	0.73	-																								
6 nolu genotip	0.70	0.66	0.69	0.76	0.77	0.77	0.76	0.70	0.80	0.83	-																							
8 nolu genotip	0.64	0.65	0.67	0.74	0.81	0.77	0.81	0.68	0.79	0.81	0.82	-																						
11 nolu genotip	0.76	0.69	0.75	0.72	0.79	0.79	0.80	0.75	0.75	0.78	0.79	0.79	-																					
17 nolu genotip	0.77	0.66	0.71	0.74	0.75	0.75	0.76	0.70	0.77	0.77	0.80	0.79	0.89	-																				
94/516/2	0.74	0.70	0.72	0.80	0.82	0.85	0.83	0.72	0.80	0.82	0.84	0.80	0.83	0.81	-																			
MT-99/324/22	0.73	0.72	0.76	0.76	0.75	0.80	0.76	0.73	0.77	0.71	0.76	0.72	0.78	0.79	0.81	-																		
MT-99/20/1	0.74	0.72	0.78	0.75	0.81	0.77	0.75	0.70	0.73	0.75	0.79	0.81	0.80	0.77	0.84	0.83	-																	
NR/95/42/3	0.75	0.75	0.74	0.80	0.78	0.85	0.81	0.74	0.83	0.75	0.79	0.77	0.77	0.74	0.87	0.85	0.83	-																
Aromas	0.67	0.63	0.68	0.67	0.74	0.70	0.70	0.62	0.69	0.78	0.69	0.73	0.71	0.73	0.74	0.71	0.77	0.71	-															
Selva	0.71	0.67	0.75	0.71	0.82	0.73	0.75	0.67	0.71	0.76	0.78	0.80	0.84	0.83	0.82	0.80	0.85	0.78	0.81	-														
Honeoye	0.66	0.65	0.75	0.69	0.85	0.71	0.70	0.69	0.66	0.75	0.74	0.78	0.77	0.75	0.75	0.75	0.81	0.74	0.77	0.85	-													
Elsanta	0.67	0.63	0.70	0.72	0.75	0.68	0.68	0.68	0.72	0.72	0.72	0.72	0.74	0.78	0.75	0.69	0.74	0.71	0.80	0.80	0.80	-												
Fern	0.71	0.66	0.78	0.72	0.74	0.74	0.72	0.68	0.73	0.66	0.68	0.70	0.72	0.74	0.71	0.78	0.80	0.73	0.71	0.77	0.75	0.73	-											
Festival	0.67	0.62	0.69	0.68	0.65	0.68	0.66	0.64	0.70	0.61	0.62	0.63	0.67	0.67	0.66	0.69	0.68	0.66	0.66	0.67	0.67	0.72	0.79	-										
Gianna	0.69	0.65	0.72	0.71	0.69	0.75	0.73	0.65	0.70	0.68	0.66	0.65	0.70	0.68	0.73	0.73	0.72	0.74	0.70	0.73	0.68	0.68	0.76	0.79	-									
Kabarla	0.77	0.68	0.76	0.76	0.70	0.73	0.70	0.68	0.74	0.66	0.69	0.65	0.70	0.72	0.74	0.79	0.76	0.73	0.75	0.76	0.70	0.73	0.79	0.75	0.77	-								
Call giant-2	0.74	0.71	0.76	0.78	0.72	0.75	0.72	0.69	0.78	0.67	0.73	0.72	0.72	0.75	0.73	0.78	0.80	0.77	0.73	0.78	0.74	0.75	0.83	0.76	0.77	0.81	-							
Call giant-3	0.76	0.67	0.74	0.79	0.74	0.76	0.73	0.70	0.78	0.69	0.73	0.74	0.73	0.77	0.76	0.8	0.80	0.76	0.73	0.77	0.72	0.73	0.80	0.74	0.77	0.81	0.91	-						
Call giant-4	0.70	0.62	0.70	0.66	0.63	0.67	0.64	0.68	0.68	0.60	0.63	0.59	0.65	0.65	0.64	0.70	0.66	0.64	0.63	0.67	0.65	0.71	0.73	0.77	0.74	0.74	0.77	0.75	-					
Call giant-5	0.76	0.67	0.76	0.78	0.74	0.78	0.75	0.71	0.78	0.70	0.73	0.73	0.74	0.77	0.77	0.78	0.79	0.75	0.73	0.77	0.74	0.76	0.79	0.75	0.80	0.79	0.87	0.89	0.78	-				
Sweet Charlie	0.75	0.68	0.82	0.74	0.75	0.71	0.69	0.69	0.72	0.66	0.70	0.70	0.72	0.73	0.73	0.76	0.79	0.73	0.71	0.76	0.76	0.76	0.82	0.76	0.71	0.71	0.78	0.84	0.84	0.77	-			
Rubygem	0.72	0.66	0.73	0.75	0.73	0.78	0.72	0.67	0.73	0.71	0.77	0.72	0.74	0.78	0.78	0.79	0.80	0.75	0.71	0.77	0.74	0.73	0.80	0.74	0.77	0.75	0.80	0.82	0.71	0.85	0.82	-		
Whitney	0.69	0.65	0.74	0.70	0.73	0.72	0.70	0.68	0.70	0.64	0.66	0.70	0.73	0.72	0.75	0.76	0.78	0.76	0.68	0.76	0.70	0.69	0.76	0.69	0.74	0.74	0.76	0.79	0.73	0.80	0.83	0.80	-	
Redlans Hope	0.73	0.68	0.76	0.71	0.69	0.72	0.70	0.68	0.70	0.64	0.66	0.67	0.78	0.74	0.73	0.75	0.75	0.71	0.75	0.77	0.72	0.75	0.78	0.77	0.71	0.79	0.79	0.77	0.72	0.80	0.81	0.75	0.79	-