



**ÇORUH VADİSİ'NDEKİ ARMUTLARIN (*Pyrus spp.*)
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Mehmet Ramazan BOZHÜYÜK

Doktora Tezi

**Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Meyve Yetiştiriciliği ve Islahı Bilim Dalı
Prof. Dr. Rafet ASLANTAŞ**

2017

Her hakkı saklıdır

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**ÇORUH VADİSİ'NDEKİ ARMUTLARIN (*Pyrus* spp.)
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Mehmet Ramazan BOZHÜYÜK

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
Meyve Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı**

**ERZURUM
2017**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
TEZ ONAY FORMU



**ÇORUH VADİSİ'NDEKİ ARMUTLARIN (Pyrus spp.) MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

Prof. Dr. Rafet ASLANTAŞ danışmanlığında, Mehmet Ramazan BOZHÜYÜK tarafından hazırlanan bu çalışma, 02/08/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Meyve Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Lütfi PIRLAK

İmza :

Üye : Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI

İmza :

Üye : Prof. Dr. Rafet ASLANTAŞ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Ümmügülsüm ERDOĞAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 10.08/2017 tarih ve 32...../35..... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

ÇORUH VADİSİ'NDEKİ ARMUTLARIN (*Pyrus spp.*) MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Mehmet Ramazan BOZHÜYÜK

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Meyve Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Rafet ASLANTAŞ

Bu araştırmada 1994 yılında başlayan “Doğu Anadolu Bölgesi Meyve ve Bağ Genetik Kaynaklarının Araştırılması” projesi kapsamında 2011-2012 yılları arasında Çoruh Vadisi biyoçeşitliliği içerisinde selekte edilmiş ve Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu’ndaki koleksiyon parselinde muhafaza edilmekte olan 65 adet armut genotipi ile yerli ve uluslararası çeşitler arasındaki genetik ilişkinin moleküler düzeyde karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada ülkemizin önemli çeşitlerinden Mustafabey, Limon, Ankara ve Deveci çeşitleriyle, yabancı orijinli Santa Maria, Coscia B PLMO, Williams ve Kieffer çeşitleri referans çeşit olarak kullanılmıştır.

Moleküler karakterizasyon için SSR yöntemi kullanılmıştır. Armut genomundan geliştirilen NH0021a, NH0027a, BGT23b, NH004A, KA4B, KA14 lokuslarının yanı sıra elma genomundan geliştirilen CH02d11, CH02b10, CH02f06 lokusları polimorfizm ve tanımlayıcı özellikleri yüksek olduğundan dolayı kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan 74 armut genotipi (standart çeşitler dahil) için 9 SSR lokusunda ortalama beklenen heterozigotluk değeri 0,552 olurken, ortalama gözlenen heterozigotluk değeri 0,425 olarak bulunmuş, ortalama Shannon Sabiti değeri 0,892 olarak hesaplanmıştır. CH02f06 lokusu en tanımlayıcı lokus olmuştur (PIC:0,557, Shannon sabiti:1,073, F_{IS} :0,047). 2 genotipte (Arpa Armudu, Boşkova Armut) üçlü allellere rastlanılmıştır. Genotipler arasındaki genetik ilişki dendogramı (soyağacı) UPGMA metoduna göre oluşturulmuştur. Dendogramda birbirine yakın ve uzak genotiplerin yer aldığı 6 alt grup oluşmuştur. Çalışmada 2 sinonim durum (12-21 nolu ve 51-56 nolu genotipler) ve 5 homonim durum (3-21-23-43, 31-41, 51-56, 57-58 ve 26-38 nolu genotipler) tespit edilmiştir.

Bu çalışmayla Çoruh Vadisi armut genetik kaynaklarının birbiri ve bazı önemli standart çeşitlerle aralarındaki genetik ilişkiler belirlenmiştir. Elde edilen veriler ışığında sonraki genetik orijin çalışmalarına, ileri ıslah çalışmalarına, ülke ekonomisi açısından genetik çeşitliliğin korunmasına ve genetik kaynakların yönetimine katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

2017, 90 sayfa

Anahtar Kelimeler: Armut, Çoruh Vadisi, Genetik Çeşitlilik, SSR

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF CORUH VALLEY PEARS (*Pyrus* spp.)

Mehmet Ramazan BOZHÜYÜK

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture
Department of Fruit Cultivation and Breeding

Supervisor: Prof. Dr. Rafet ASLANTAŞ

In this research it was aimed to characterize genetic relationship between 65 Coruh Valley pear genotypes and standart cultivars at molecular level. Pear genotypes were selected from Coruh Valley biodiversity between 2011-2012 years within the scope of the project “Investigation of Fruit Genetic Resources in Eastern Anatolian Region” which started in 1994 year. These genotypes preserved in the collection parcel in Erzincan Horticultural Research Station. Some international pear cultivars (Santa Maria, Coscia B PLMO, Williams and Kieffer) and Turkish local pear cultivars (Mustafabey, Limon, Ankara and Deveci) were used as reference cultivars.

SSR method was used for molecular chracterization. SSR markers NH0021a, NH0027a, BGT23b, NH004A, KA4B and KA14 which were derived from pear genome and CH02d11, CH02b10, CH02f06 which were derived from apple genome were used because of their high polymorphism and defining properties.

For 74 pear genotypes (including standard cultivars) used in the study, the average expected heterozygosity value was found 0,552, the average observed heterozygosity value was found 0,425 and the mean Shannon Information Index value was calculated as 0,892. CH02f06 loci was the most identifying loci (PIC:0,557, Shannon Information Index:1,073, F_{IS} :0,047). Triple alleles were observed in 2 genotypes (Arpa Pear, Boşkova Pear). The genetic relationship dendogram between genotypes was constructed according to UPGMA method. In the dendogram, 6 subgroups were formed. 2 synonyms (genotypes 12-21 and 51-56) and 5 homonymous (genotypes 3-21-43, 31-41, 51-56, 57-58 and 26-38) were identified.

In this research genetic relationships between Coruh Valley pear germplasm and some important standard cultivars were determined. It is considered that the obtained data will contribute to the study of next genetic origin studies, advanced breeding studies, protection of genetic diversity in terms of country economy and management of genetic resources.

2017, 90 pages

Keywords: Pear, Coruh Valley, Genetic Diversity, SSR

TEŞEKKÜR

Doktora tezimin planlanıp yürütülmesinde ilgi, yardım ve katkılarını gördüğüm danışman hocam Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Rafet ASLANTAŞ'a,

Çalışmaya katkı sağlayan ve darboğazların aşılmasında yardımlarını esirgemeyen doktora tez izleme komitesi üyesi Atatürk Üniversitesi Rektör Yardımcısı ve Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ'ye,

Çalışmanın yürütülmesinde her türlü desteği sağlayan doktora tez izleme komitesi üyesi Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI'ya,

Doktora tez sınavı jüri üyeleri Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Lütfi PIRLAK ve Bayburt Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Ümmügülsüm ERDOĞAN'a,

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan PINAR ve Sayın Ömer Faruk COŞKUN'a,

Biyoinformatik analizlerde yardımcı olan Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. Kamil HALILOĞLU ve Sayın Doç. Dr. Murat AYDIN'a,

Bana her türlü maddi ve manevi desteği sağlayan değerli eşim Sayın Ayşe USANMAZ BOZHÜYÜK, kıymetli annem Sayın Nevim BOZHÜYÜK ve aileme şükranlarımı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu günlere gelmemde büyük emeği olan kıymetli babam Sayın Prof. Dr. Mehmet Emin BOZHÜYÜK'ü rahmetle anıyorum.

Mehmet Ramazan BOZHÜYÜK

Temmuz 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	18
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	34
3.1. Materyal.....	34
3.2. Yöntem	36
3.2.1. DNA izolasyonu	36
3.2.2. PCR reaksiyonlarının hazırlanması ve PCR safhası.....	38
3.2.2.a. SSR lokuslarına ait primerler	39
3.2.3. Elektrophorez safhası ve allel görüntülerinin elde edilmesi	40
3.2.4. Genetik analizler.....	41
3.2.4.a. Allel frekansları	41
3.2.4.b. Allel sayıları	42
3.2.4.c. Etkili allel sayısı	42
3.2.4.d. Shannon sabiti	42
3.2.4.e. Heterozigotluk	43
3.2.4.f. F istatistiği.....	43
3.2.4.g. Genetik mesafe	45
3.2.4.h. Polimorfik bilgi içeriği	46
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	47
4.1. Mikrosatellite (SSR) primerlerine ait analiz sonuçları.....	47
4.1.1. NH0021a Primerine ait SSR Analizi Sonuçları	47
4.1.2. NH0027a Primerine ait SSR Analizi Sonuçları	49
4.1.3. BGT23b Primerine ait SSR Analizi Sonuçları	50

4.1.4. NH004a Primerine ait SSR Analizi Sonuçları	52
4.1.5. KA4b Primerine ait SSR Analizi Sonuçları	53
4.1.6. KA14 Primerine ait SSR Analizi Sonuçları	55
4.1.7. CH02d11 Primerine ait SSR Analizi Sonuçları	56
4.1.8. CH02b10 Primerine ait SSR Analizi Sonuçları	58
4.1.9. CH02f06 Primerine ait SSR Analizi Sonuçları	59
4.2. Armut Genotiplerinden Elde Edilen Allel Sayıları ve Allel Frekansları.....	61
4.3. Armut Genotiplerinde Hesaplanan Shannon Sabiti.....	67
4.4. Armut Genotipleri Arasındaki Heterozigotluk.....	67
4.5. Armut Genotiplerinde Kullanılan SSR Primerlerinin Polimorfik Bilgi İçeriği ..	68
4.6. Armut Genotiplerinin F İstatistiği	68
4.7. Genetik Mesafe Değerleri ve Genetik İlişki Dendogramı.....	69
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	74
KAYNAKLAR	82
ÖZGEÇMİŞ	91

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

bç	Baz çifti (çift zincirli DNA'da birbirine karşılık gelen 2 baz)
<	Küçük
⁰ C	Santigrat Derece
dk	Dakika
g	Gram
H _e	Expected heterozygosity (Beklenen heterozigotluk)
H _o	Observed heterozygosity (Gözlenen heterozigotluk)
I	Shannon's Information Index (Shannon Sabiti)
kb	Kilobaz çifti (1kb=1000bp)
kg	Kilogram
km	Kilometre
m ³	Metreküp
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
M	Molar
ng	Nanogram
rpm	Revolutions per minute (Dakikada devir)
sn	Saniye
Taq	Taq DNA polymerase (<i>Thermus aquaticus</i> 'dan izole edilen enzim)
%	Yüzde

Kısaltmalar

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Amplifiye Olan Parça Uzunluğu Polimorfizmi)
CTAB	Cetyl methyl tri-ammonium bromide
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi-Nükleotit Trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
ISSR	Inter Simple Sequence Repeats (Basit Diziler Arası Tekrarlar)
IBPGR	International Board for Plant Genetic Resources (Uluslararası Bitki Genetik Kaynakları Birliği)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PIC	Polymorphic Information Content (Polimorfik Bilgi İçeriği)
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş Parçaların Uzunluk Polimorfizmi)
RNA	Ribonucleic Acid
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region (Amplifiye Edilmiş Karakterize Dizi Bölgesi)
SRAP	Sequence Related Amplified Polymorphism (Sekansa Bağlı Çoğaltılmış Polimorfizm)
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
TBE	Tris Borate EDTA
TE	Tris-EDTA
Tris	Tris (hydroxymethyl) aminomethane
Tm	Temperature of Melting (Primerin DNA'ya Bağlanma Sıcaklığı)
UPGMA	Unweighted Pair-Group Method Analysis with Arithmetic Average (Aritmetik Ortalamaları İle Tartılı Olmayan Çift Grup Metot Analizi)
UV	Ultra Violet

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Çoruh Vadisi kaynaklı anıt ağacı hüviyetindeki armut genetik kaynaklarının görünümü	15
Şekil 1.2. Çoruh Vadisi'nden temin edilen armut genotiplerinin bulunduğu arazi	16
Şekil 3.1. Yaprak dokularının parçalandığı roller press cihazı	38
Şekil 3.2. PCR ürünlerinin yürütüldüğü elektroforez	40
Şekil 4.1. NH0021a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	48
Şekil 4.2. NH0021a Primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	48
Şekil 4.3. NH0027a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	49
Şekil 4.4. NH0027a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	50
Şekil 4.5. BGT23b primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	51
Şekil 4.6. BGT23b primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	51
Şekil 4.7. NH004a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	52
Şekil 4.8. NH004a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	53
Şekil 4.9. KA4b primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	54
Şekil 4.10. KA4b primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	54
Şekil 4.11. KA14 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	55
Şekil 4.12. KA14 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	56
Şekil 4.13. CH02d11 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	57
Şekil 4.14. CH02d11 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	57
Şekil 4.15. CH02b10 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	58
Şekil 4.16. CH02b10 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	59
Şekil 4.17. CH02f06 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	60
Şekil 4.18. CH02f06 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri	60
Şekil 4.19. Armut genotipleri ve çeşitleri arasındaki genetik ilişki dendogramı	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. 2014 yılı verilerine göre dünya armut üretimi ve önemli üretici ülkeler.....	4
Çizelge 1.2. Türkiye armut üretim istatistikleri	4
Çizelge 3.1. Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Bahçeliköy arazisinde bulunan ve bitkisel örnek alınan armut genotiplerinin çalışmada kullanılan genotip numaraları	35
Çizelge 3.2. Moleküler Karakterizasyonda referans çeşit olarak kullanılan standart armut çeşitleri	36
Çizelge 3.3. Araştırmada kullanılan SSR primerlerinin baz dizileri ve PCR T _m (temperature of melting) değeri	39
Çizelge 4.1. Çalışılan SSR primerlerine göre armut genotiplerine ait genetik parametreler	61
Çizelge 4.2. Armut genotiplerinin 9 SSR lokusundaki allel büyüklükleri	62
Çizelge 4.3. Çalışılan SSR lokuslarında tespit edilen üçlü aleller.....	66
Çizelge 4.4. SSR primerlerine ait allel frekansları	67
Çizelge 4.5. SSR primerlerine ait F _{IS} değeri	69
Çizelge 4.6. Armut genotipleri arasındaki genetik mesafe değeri	72

1. GİRİŞ

Dünyada sıcak-ılıman iklim kuşağında yer alan pekçok ülkede yetiştiriciliği yapılan ve sevilerek tüketilen türlerden birisi armuttur. Günümüzde 5000'den fazla armut çeşidi bulunmasına rağmen, sadece küçük bir miktarı ticari olarak yetiştirilmektedir (Bell 1996). İnsanlık tarihi ile ilgili bilinen en eski kayıtlardan, armut kültürünün oldukça uzun bir geçmişe sahip olduğu anlaşılmaktadır. MÖ 9. yüzyılda yaşamış eski Yunan şairi ve yazarı Homeros "Odisa" adlı eserinde Allah'ın insanlara bir armağanı olan armudun Avrupa'daki Alcineus bahçelerinde yaklaşık MÖ 1000 yıllarından beri yetişmekte olduğunu bildirmiştir (Özbek 1978; Bell 1996; Özçağırın vd 2011). Homeros'dan 600 yıl sonra ise yine Yunanlı araştırmacı Theophrastus'un (MÖ 4. yy) armut yetiştiriciliği üzerinde vermiş olduğu bilgiler bugünkü bilgilerimizle uyumludur. Bu çağlarda da Theophrastus, kültür armutlarını yabani armutlardan ayırmakta, armudun tohum, çelik ve aşı ile yetiştirilmesinden söz etmekte ve tohumdan yetiştirilen armutların dejenere olduklarını ifade etmektedir (Özbek 1978). Romalı yazar M. Cato (MÖ 235-120) da armut yetiştiriciliği üzerine geniş bilgiler vermiştir. Armut tarihi süreç içerisinde Fransa, Belçika ve İngiltere'de yayılmıştır. 9. yüzyılda Fransa'da, 18. yüzyıldan itibaren de Belçika'da ıslah çalışmaları yapılarak birçok armut çeşidi elde edilmiştir. Armut, Amerika'ya Fransız ve İngiliz kolonistler tarafından 17. yüzyılın başında götürülmüştür. Daha sonraları armut yetiştiriciliği Amerika'da çok hızlı bir gelişme göstermiştir (Güleryüz 1979; Akçay ve Yücer 2008).

Armut üretiminin ilk yapıldığı yerlerin başında Anadolu, antik Yunanistan ve Roma gelmektedir. Batı dünyasının yanı sıra armut üretiminin, Çin'de de uzun bir geçmişe sahip olduğu belirtilmektedir (Akçay ve Yücer 2008). Doğu ülkelerinde; Çin ve Hun hanedanlıklarında yaklaşık 3000 yıl önce armut yetiştirildiğini tarihi kayıtlar ortaya koymaktadır (Shen 1980; Lombard and Westwood 1987). Japon armutları üzerine bilinen en eski yazılı kaynak 693 yılında yazılan Emperör Jito'nun antik el yazmalarıdır (Kajiura 1994). Paleontolojik deliller depolarda armudun bulunduğunu ve taş devrinde yabani ağaçlardan toplandığını göstermiştir. Armutta seleksiyon ve kültüre alma

işlemleri yüzyıllar boyu devam etmiş, günümüzde dünyanın birçok ılıman bölgesinde değer verilerek yetiştirilmesine imkan sağlamıştır (Bell 1996).

Armut, *Rosales* takımının *Roseaceae* familyasının *Pomoideae* alt familyasından *Pyrus* cinsi içerisinde yer almaktadır. *Pyrus* cinsi içerisine giren birçok tür kendine kısırdır ve diploitlerin kromozom sayısı $2n=34$ dür, kültür çeşitlerinde tetraploid $4n= 68$ armutlara da rastlanmaktadır (Zohary 1997). Bu cins içerisinde şimdiye kadar birçok tür tespit edilmiş, meyvecilik bakımından dünyada yaygın olarak kullanılan 22 tür önem kazanmıştır. Bu türler Asya ve Avrupa'nın ılıman ve Kuzey Afrika'nın dağlık bölgelerinde bulunmakta, türlerin evrimi çeşitli iklim ve toprak şartlarına adaptasyonun sağlanmasıyla gerçekleşmiştir (Bell 1996; Itai 2007). Armut türlerinin Çin, Asya ve Yakın Doğu Asya olan gen merkezleri Vavilov (1994) tarafından tanımlanmıştır. Özbek (1978) kökenlerine göre armutları Doğu ve Batı olmak üzere iki büyük grup içerisinde toplamıştır. Doğu armutlarının asıl köken alanını Çin, Mançurya, Kore ve Sibiryaya teşkil etmektedir. Bu coğrafyada yayılmış olan türlerden yapılan seleksiyonlar, tür içindeki melezlemeler veya bu türlerin kendi aralarında meydana getirdikleri hibritler hiçbir zaman meyve kalitesi bakımından batı grubuna giren armutlar kadar kaliteli çeşitler vermemişlerdir. Avrupa armutları özellikle sulu, lezzetli ve aromalı bir yapıya sahipken, Asya armutları gevrek ve tatlı bir lezzete sahiptirler (Bell 1996). Doğu armut türlerinin önemi, bunların türüne göre soğuklara ve ateş yanıklığı hastalığına daha fazla dayanıklı olmaları ve bir kısmının da Batı kültür çeşitleri için iyi anaç özellikleri göstermelerindendir. Bu bakımdan dikkati çeken Doğu armutlarını *Pyrus serotina* Rehder, *P. ussuriensis* Maximovicz, *P. betulaefolia* Bunge ve *P. serrulata* Rehder türlerinin oluşturduğu bildirilmiştir (Özbek 1978; Silva *et al.* 2014). Batı grubu armutlarına ise bugün dünyanın çeşitli yerlerinde yetiştirilen önemli kültür çeşitleri girmektedir. Bunlar arasında meyvecilik açısından en önemli olanlar *P. communis* L., *P. elaeagnifolia* Pallas, *P. cordata* ve *P. salicifolia* L. türleridir (Özbek 1978).

Kültür armudu olarak bilinen *P. communis*, doğal popülasyonlardan isabetli seleksiyonlarla ve muhtemelen *P. nivalis* ile *P. cordata* arasındaki doğal melezlerden ortaya çıkmıştır (Ercişli 2004). *P. communis*'in anavatanı olarak Anadolu, Kafkasya ve Orta Asya gösterilmektedir. Armudun önemli gen kaynaklarından biri olarak kabul

edilen ülkemizde yazlık, güzlük ve kışlık gruplarda yer alan, standart ya da yerel olmak üzere her bölge/yöreye uygun 600'ün üzerinde armut çeşidi bulunmaktadır (Özbek 1978; Bostan ve Acar 2012). Bu armut çeşitleri çoğunlukla yazlık çeşitler olup, özel veya kamu arazilerinde kendiliğinden yetişmiş Ahlat (*P. elaeagrifolia*) veya diğer *Pyrus* türlerine aşılanarak yetiştirilmektedir. Standart yerli ve yabancı armut çeşitlerinden oluşan kapama bahçeler oldukça azdır. Bu nedenle Türkiye'de armut yetiştiriciliği çoğunlukla iç pazar ve mahalli gereksinimleri karşılayacak şekilde oluşmuştur (Ünal vd 1997).

Ülkemizin Asya ve Avrupa kıtaları arasında ve armudun yetişebileceği en uygun enlem derecelerinde bulunması, aynı zamanda armudun, ayva, ahlat ve alıç gibi toprak istekleri bakımından birbirinden çok farklı anaçlar üzerinde yetişebilme imkanı ve ilkbahar aylarında don olaylarından daha az etkilenme gibi olumlu özellikleri armudun, ülkemizde farklı ekolojilerde yayılmasına imkan sağlamıştır (Özbek 1947).

Ekonomik açıdan gerek dünyada gerekse ülkemizde armut üretimi büyük öneme sahiptir. Yumuşak çekirdekli meyveler grubu içerisinde elmadan sonra dünyada en çok üretilen ve tüketilen meyvelerden birisi armuttur. Son istatistiki verilere göre dünya armut üretimi 25.798.644 ton olarak gerçekleşmiştir. Türkiye 462.336 tonluk üretimi ile dünya üretiminde %1,79'luk payla 5. sırada yer almıştır. Dünya armut üretiminde söz sahibi olan başlıca ülkeler sırasıyla Çin (17.964.400 ton), Arjantin (771.271 ton), ABD (754.415 ton) ve İtalya (701.558 ton)'dır (Çizelge 1.1).

Türkiye'de son 5 yıla ait armut üretim alanı, üretim miktarı, ağaç başına ortalama verim, meyve veren ve meyve vermeyen yaştaki ağaç sayısı ile toplam ağaç sayısı Çizelge 1.2'de özetlenmiştir. 2016 yılı verilerine göre meyve veren yaştaki 11.193.426 adet armut ağacından 472.250 ton armut üretilmiştir. Ağaç başına ortalama verim ise 42 kg olarak gerçekleşmiştir. Türkiye'deki armut üretim istatistikleri incelendiğinde yıllara göre artış trendinin söz konusu olduğu belirtilebilir.

Çizelge 1.1. 2014 yılı verilerine göre dünya armut üretimi ve önemli üretici ülkeler (Anonymous 2017)

ÜLKELER	Üretim (ton)	Üretimdeki Payı (%)
Çin	17.964.400	69,63
Arjantin	771.271	2,99
ABD	754.415	2,92
İtalya	701.558	2,72
Türkiye	462.336	1,79
İspanya	429.548	1,66
Güney Afrika	404.260	1,57
Belçika	374.300	1,45
Hollanda	349.000	1,35
Hindistan	316.700	1,23
Diğer Ülkeler	3.270.856	12,68
DÜNYA	25.798.644	100

Çizelge 1.2. Türkiye armut üretim istatistikleri (Anonim 2017)

Yıl	Armut Üretim Alanı (da)	Üretim (ton)	Verim (kg/ağaç)	Meyve Veren Yaşta Ağaç Sayısı (adet)	Meyve Vermeyen Yaşta Ağaç Sayısı (adet)	Toplam Ağaç Sayısı (adet)
2012	232.233	442.646	43	10.220.294	2.371.427	12.591.721
2013	235.283	461.826	45	10.329.914	2.528.061	12.857.975
2014	244.741	462.336	43	10.827.071	2.539.222	13.366.293
2015	249.673	463.623	43	10.872.694	2.718.206	13.590.900
2016	254.076	472.250	42	11.193.426	2.798.198	13.991.624

Ülkemizde standart yerli ve yabancı çeşitlerle kurulmuş kapama armut bahçelerinin sayısı son yıllarda artış göstermiştir. Ancak, yapılan introduksiyon ve adaptasyon denemeleri (Onur 1977; Büyükyılmaz vd 1984; Ercan 1992; Büyükyılmaz vd 1994; Akçay vd 2005) sonucunda pek çok yeni çeşit üretime sunulmuş olsa da armut yetiştiriciliğinde tam olarak çeşit problemi çözülememiş ve yeterli düzeyde kapama bahçelerle entansif yetiştiriciliğe geçilememiştir. Ülkemizde armut yetiştiriciliği çoğunlukla mahalli ihtiyaçları karşılayacak şekilde olup çeşitlerimizin çoğu ülke çapında yaygınlaşmadan kendi mahallinde kalmakta ve bunlar da dağınık halde yetiştirilmektedir (Ünal vd 1997). Bu şekilde bir yetiştiricilik dış pazar isteklerini karşılamaktan uzak olduğu gibi iç pazar için de ekonomik değildir. Ekonomik bir yetiştiricilik için iç ve dış pazarın isteklerine uygun standart yerli ve yabancı çeşitlerle yetiştiricilik yapmak şarttır. Bu nedenle mevcut armut çeşit zenginliğimiz içinden, ülkemizin değişik ekolojilerine uygun verimli ve kaliteli çeşitleri gün ışığına çıkarmak önemlidir (Öz 2012).

Dünyada küresel iklim değişikliği şeklinde kendini gösteren küresel sorunlar, bitki genetik kaynaklarının önemini ve değerini gün geçtikçe artırmaktadır. Artan dünya nüfusunun gıda gereksinimi günümüze kadar bir ölçüde girdi kullanımı ve yüksek verimli çeşitler geliştirme yolu ile karşılanmıştır. Geçtiğimiz yüzyılın ikinci yarısı çevre sorunlarının sınır aşan niteliğinin tüm dünyada belirgin bir şekilde hissedilmesine paralel olarak, uluslararası düzeyde çözümlerin geliştirilmesine yönelik çalışmaların da yoğunlaştığı bir dönemdir (Karakurt 2013).

Biyolojik çeşitlilik, başta gıda olmak üzere insanların temel ihtiyaçlarının karşılanmasında vazgeçilmez bir yere ve öneme sahiptir (Karagöz vd 2010). Bitki genetik kaynakları, ekotipler ve yabani akrabaları, kullanılmayan eski çeşitler ve genetik özellikleri tam olarak belirlenmiş hatlardan oluşmaktadır. Bitki genetik kaynakları, genetik çeşitlilik açısından önemli kaynak niteliğinde olmakla beraber, bir bitki türüne ait gen havuzundaki kalıtsal bilginin çeşitliliği ve zenginliğini içermektedir. Bitki genetik kaynaklarının karakterizasyonu, temel olarak popülasyonlar arasındaki genetik farklılıklar ile genetik varyasyonun miktarı ve dağılımının ortaya konulması amacıyla yapılmaktadır. Florasında 163 familyaya ait 1.225 cins ve 9.000 taksonu bulunan ve

bunlardan 3.000'inin endemik olduğu düşünölen Türkiye'nin; 203 familyaya ait 2.500'ü endemik 12.000 taksona sahip Avrupa kıtası ile karşılaştırıldığında bitkisel gen kaynakları bakımından oldukça zengin bir ölkede konumunda olduğu kolaylıkla anlaşılabilir (Özgen vd 2000). Bu sebeple, genetik materyalin toplanması, korunması ve devamında kullanımına ilişkin çalışmalar Türkiye için büyük önem arz etmektedir. Bitkisel gen kaynaklarının korunmasında ve ıslah programlarında daha etkin biçimde kullanılmasında son yıllarda geliştirilen, moleküler genetik, rekombinant DNA teknolojisi ve doku kültürü gibi konuları kapsayan teknikler ile yeni imkanlar sağlanmıştır (Özgen vd 2000; Köse 2008). Son yüzyılda modern tarım teknolojilerinin kullanıldığı entansif tarım ve monokültür meyve türlerinin dahil olduğu bitki türlerinde genetik farklılığın azalmasına neden olmuştur. Gen havuzlarındaki genetik erozyon çok ciddi seviyelere ulaşmıştır (Miller and Schaal 2006). Son yıllarda kendine özgü spesifik özellikleri ve birçok yararlı amaç için kullanılabilme potansiyelinden dolayı yabancı bitkilere de ilgi artmıştır (Ercişli *et al.* 2008).

Günümüzde bitkisel açıdan yeni teknolojileri, kimya, biyoloji ve mühendislik temel bilim dallarının içerisinde yer alan genetik, mikrobiyoloji, moleküler biyoloji, hücre ve doku kültürü, bileşikler, madde ve enzim teknolojisi konularını kapsayan; organizma, biyolojik yöntem ve biyolojik sistemler aracılığı ile bitkisel üretim yapmak demek olan biyoteknoloji ile bitkisel kalıtım materyalini belirleme, izolasyon ve aktarma çalışmalarını temel alan genetik mühendisliği tekniklerini içermektedir. Biyoloji ve biyokimya bilimlerinde olduğu kadar, bilgi teknolojisindeki gelişmeler de bu konuda yeni olanaklar sağlamaktadır. Genetik farklılık geleneksel olarak fenotipik gözlemlerle özellikle Uluslararası Bitki Genetik Kaynakları Birliği'ne (International Board for Plant Genetic Resources IBPGR) dayalı olarak değerlendirilmektedir. Ancak uzun gençlik kısırlık dönemi, meyve ağaçlarının hacimli olması, kantitatif özelliklere ekolojinin etkisi, kişiden kişiye değerlendirme farklılıkları, gelişim farklılıkları bitki materyallerinin uygun ve güvenilir şekilde sınıflandırılmasında zorluklar çıkarabilmektedir. DNA bazlı primerler kullanılarak moleküler tanımlama çoğu meyve türünü genetik kaynak koleksiyonlarının karakterizasyonu ve kontrolü için temel araç haline gelmiştir (Marti *et al.* 2009).

Günümüzde kullanılan ileri teknoloji ile doğru, geniş dağılımlı ve güvenilir izleme için ‘Çoğaltılan Parça Uzunluğu Polimorfizmi’ (Amplified Fragment Length Polymorphism AFLP), ‘Basit Dizi Tekrarları’ (Simple Sequence Repeats SSRs) ve diğer bazı moleküler metotlar geliştirilmiş ve yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu teknikler sayesinde genetik materyalde DNA düzeyindeki en küçük değişiklikler bile belirlenebilmektedir (Powell *et al.* 1996; Özgen vd 2000; Maguire *et al.* 2002; Wünsch and Hormaza 2002; Köse 2008; Furan ve Yüce 2009; Vardar-Kanlıtepe vd 2010; Karakurt 2013).

Genetik analizler için moleküler tekniklerin gelişimi, bitki genomlarının yapısı ve davranışlarının anlaşılmasında önemli olmaktadır. Bu moleküler teknikler, bölge ırklarından yeni ve istenen özelliklerin belirlenerek yeni genetik varyasyon kaynakları oluşturmak ve türler arasında ve içinde DNA dizi varyasyonlarının gözlemlenmesinde kullanılmaktadır. Geleneksel bitki ıslahı metotları zaman alıcı ve çevresel şartlara bağlıdır. Yeni bir meyve çeşidinin ıslahı 8-10 yıl gibi bir süreyi almakta, hatta ıslah edilmiş bir çeşidin yaygınlaştırılmasının da garantisi bulunmamaktadır. Bu sebeple, bitki ıslahçıları bu sürecin daha verimli kullanılması için yeni teknolojilerin geliştirilmesine büyük önem vermektedirler. Moleküler markör teknolojisi, seleksiyon stratejilerini geliştirmek için önemli oranda yeni yaklaşımlar sunmaktadır. Bitki verimliliğini, biyotik ve abiyotik streslere dayanıklılık amacı ile yeni çeşitlerin geliştirilmesine izin veren yeterli çeşitliliğe sahip bitki ıslah programları çok önemlidir (Korzun 2003; Marti *et al.* 2009; Bhat *et al.* 2010).

Kalıtım şekilleri morfolojik (çiçek rengi gibi fenotipik), biyokimyasal (izoenzimler gibi) ve DNA düzeyinde (moleküler markör) izlenebilen karakterlere genetik markörler (işaretleyiciler) denilmektedir. Bu karakterlerin primer olarak isimlendirilmesinin nedeni, çalışılan organizmadaki ilgilenilen diğer özelliklerin genetiği hakkında, dolaylı da olsa, bilgi sağlamalarıdır (Yıldırım ve Kandemir 2001; Furan ve Yüce 2009; Bhat *et al.* 2010). Bitkiler için kullanılan genetik markörler ve bunların önemli özellikleri aşağıda özetlenmiştir.

Morfolojik (Fenotipik) markörler: Uzun yıllardan beri ıslahçılar tarafından bilinmelerine rağmen sayılarının az olması, çevre ve diğer lokuslardan etkilenmeleri yüzünden fazla tercih edilmemektedir. Çoğunlukla dominant fenotipi resesif fenotipten ayırabilirler. Ancak heterozigotları homozigotlardan ayırt edemezler (Kleinhofs *et al.* 1993). Bitki popülasyonu içinde, bir bitki ya da bir grubu diğerlerinden ayıran seçici özellik, o genotipi ayıran bir markör (meyve kabuğu, yaprak şekli, çiçek rengi, bitki ağaç özellikleri gibi) olarak değerlendirilir. Bu tip markörler, genetik olarak uzak akraba olarak kabul edilen bitki toplulukları arasında etkili olarak kullanılabilmesine karşın, yakın akraba olan bitki toplulukları için etkili bir markör değildir. Bununla birlikte farklı ekolojilerde markörlerin üretilebilirliği her zaman mümkün olmamaktadır. Kantitatif karakterlerin tezahürü çevreye bağlı olarak değişmektedir. Yine de önemli bazı tarımsal karakterlere bağlı morfolojik markörler bitki ıslahı çalışmalarında kullanım alanı bulmuştur (Gülşen ve Mutlu 2005).

Biyokimyasal markörler: Yapraklardaki kimyasal maddeler, tohum kabuğundaki proteinler, sekonder metabolitler, izoenzimler gibi maddeler bu grup içerisinde yer almaktadırlar. Yaygın olarak kullanılmakta olan bileşenler izoenzimler ve tohum proteinleridir. Bu tip markörlerin masrafı, moleküler markörlere oranla daha düşüktür ve daha az iş gücüyle elde edilmektedirler. Fakat bitkilerde günümüze kadar yeterli sayıda biyokimyasal markör üretilememiştir. Biyokimyasal markörlerdeki varyasyonlar, kodlayıcı DNA bölgelerindeki benzer olmayan değişikliklerden ya da translasyon sonrası protein modifikasyonlarından kaynaklanmaktadır. Zira bu markörlerin kullanılabilirliği, araştırılan popülasyonun yapısına bağlı olmaktadır. İzoenzimler, türler arası veya daha uzak bitkiler arasındaki varyasyonu belirlemede oldukça yararlıdır, ancak yakın akrabalar arasındaki ilişkileri belirlemek için uygun değildir. Diğer bir dezavantajı ise sayısal olarak çalışılacak izoenzimlerin veya proteinlerin az olmasıdır. Test edilmek istenen izoenzimlerin bitkilerde, bol miktarda ve sürekli biçimde sentezlenmesi de gerekmektedir (Yıldırım ve Kandemir 2001; Gülşen ve Mutlu 2005).

Moleküler markörler: Sistematik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bu markörler çok sayıda avantaja sahiptir;

- Çevre faktörlerinden etkilenmemektedirler,
- Çekirdek ve farklı kalıtım şekline sahip kloroplast ve mitokondri gibi organel genomlar ayrı ayrı çalışılabilir,
- Genetik değişikliği daha fazla yansıttıklarından dolayı daha az pleiotrofikdir (bir genin birden fazla karakteri kontrol etmesi),
- Ebeveynlerden gelen farklı karakterlerin tespitine imkan sağladığı için bitkilerin genetik kökeni tespit edilebilmektedir,
- Sınırsız sayıda moleküler markör elde edilebilmektedir. Bu markörlerin kullanılmasındaki amaç, bireyler (tür, çeşit, hat, vb.) arasında DNA düzeyindeki farklılığın ortaya konulmasıdır. Şayet bu farklılık genomda tek bir bölgeyi gösteriyorsa bu bir allel olarak isimlendirilir. DNA seviyesinde bunu yapmanın başlıca avantajı, herhangi bir DNA zincirinin, iki birey arasındaki allellik farklılığını gösterebilmesidir. Bunun için o DNA dizininin herhangi bir proteini kodlayıp kodlamadığını bilmeye gerek yoktur (Gülşen ve Mutlu 2005).

Moleküler markörler, kaynağını kendilerinin üretildiği bitkilerin hücrelerinde bulunan DNA'lardan alır. Canlıların yapısını belirleyen şifre de 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).

Polimorfizmin seviyesi veya popülasyonun tipi, farklı çevrelerdeki stabilitesi, lokus sayısı, kolaylık, analiz maliyeti, altyapı gibi bazı faktörler kullanılacak markör sistemini etkileyen faktörlerdendir. Her moleküler markör yöntemi avantaj ve dezavantajlara sahip olduğundan bütün kriterler göz önünde bulundurularak, morfolojik parametreler de dikkate alınarak amaca uygun olarak markör seçimi yapılmalıdır (Berloo 2000).

Markör destekli seçim amaca uygun seleksiyonun etkinliğini önemli ölçüde artırmaktadır. Moleküler markörler ile erken dönemdeki seleksiyon, olgun bitki

özelliklerinin bahçede değerlendirilmesinden önce çöğürlerin birkaç yıl daha erken seçilmesine imkan vermektedir. İstenen tarımsal özelliklerin bir araya toplanması ve yabani türlerdeki istenen özelliklerin taşınmasında generasyon süresini kısaltmaktadır (Kadkhodaei *et al.* 2011).

Temelde iki farklı DNA markör tekniği vardır:

1) DNA hibridizasyonuna dayalı RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism),
2) PCR (Polymerase Chain Reaction)'a dayalı ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), SSR (Simple Sequence Repeats), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) vb. teknikleridir (Yıldırım ve Kandemir 2001).

PCR tekniğine dayalı moleküler markörler birkaç markör sistemine temel teşkil etmektedir. Bu markör sistemlerinde 6-25 bp uzunluğunda primer olarak isimlendirilen oligonükleotidler kullanılır. Bu primerler (başlatıcı baz dizileri) genomda bağlandıkları yerlerin arasını, eğer 3-4 kb'nin altında olursa 1,0-1,5 milyon defa çoğaltırlar. PCR kaynaklı polimorfizmin sebebi, kromozom düzeyinde meydana gelen yerleştirme/iptal ve mutasyon nedeniyle oluşan primer yapışma bölgesi kazancı/kaybı olabilir (Yıldırım ve Kandemir 2001).

PCR yönteminin gelişmesinde en büyük katkısı Taq Polimeraz enziminin bulunması yapmıştır. Zira bu enzim yüksek sıcaklıklarda dahi dayanabilen tek enzimdir. PCR, basitçe tüp içerisinde nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılması esasına dayanır. Bir çeşit *in vitro* klonlama olarak da tanımlanan PCR; 94-97°C aralığında gerçekleştirilen “denatürasyon” (DNA çift zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılması), 47°-70°C aralığında gerçekleştirilen “primerin bağlanması” ve 72°C’de gerçekleştirilen “uzama” aşamalarından oluşur ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır. PCR yöntemine dayalı olarak DNA primerleri (RAPD, AFLP, SSR ve ISSR) geliştirilmiştir. Bu teknikler birçok bitki ve hayvanda genetik akrabalığın teşhisinde gerek tür içi ve gerekse türler arasında kullanılmaktadır (Hokanson *et al.* 1998).

Genom haritalama çalışmalarında moleküler markörlerin kullanılması, çeşit geliştirme ve bitki ıslahında sürenin kısılmasına neden olmuştur. Moleküler markör metotlarının uygulanabilmesi için uygun miktar ve kalitede DNA izolasyonunun yapılmış olması mutlak gereklidir. Bununla birlikte, yüksek polisakkarit içeriğine sahip bitki türlerinde bu temel gereksinimin sağlanması oldukça güç olmaktadır (Do and Adams 1991; Fang *et al.* 1992). Bitki organlarının farklılığı, farklı yaprak dokusu ve yaprak yaşı doku bileşiminde bulunan nükleik asitlerin yapısını ve saflığını etkileyen organik kökenli kimyasallar nedeniyle her zaman iyi bir nükleik asit izolasyonu mümkün olamamaktadır (Doyle and Doyle 1990). Bahsedilen bu ikincil bileşikler, DNA'nın çözülmesini engelleyerek büyük miktarda DNA kayıplarına ve sıklıkla analizlerde kullanılan enzimlerin (restriksiyon enzimleri, modifikasyon enzimleri ve DNA polimeraz enzimi gibi) çalışmamasına neden olmaktadır (Scarafani and Duranti 2001). Bir DNA izolasyon yöntemi, bitkiden bitkiye farklı sonuçlar verebilmekte ve hatta başka türlerle çalışma olanağı vermemektedir.

Çalışkan (2005)'a göre başarılı bir izolasyonun aşamalarında dikkat edilmesi gereken noktalar şunlardır:

- Hücre içi madde ve organellerin uzaklaştırılması için hücre duvarlarının parçalanması işlemi; bu genellikle sıvı azot veya kuru buz içerisinde dondurarak yada sıcak tampon izolasyon çözeltisiyle havan içerisinde ezme yoluyla yapılmaktadır.
- DNA'nın izolasyon tamponuna geçmesi için hücre duvarlarının parçalanması işlemi; genellikle SDS (Sodyum Dodezil Sülfat) veya CTAB (Cetyl metyl tri-ammonium bromide) gibi deterjanlarla yapılmaktadır.
- DNA'nın içsel nükleazlardan korunması işlemi; bunun için, nükleazların çalışmasında ko-faktör olan $MgCl_2$ iyonlarını (Mg^{+2}) bağlayan şelatlaştırıcı bir madde olan EDTA (Ethylene di-amin tetra acetic acid)'dan faydalanılmaktadır. Sonrasında ise DNA'dan proteinlerin ayrılması ve parçalanması için fenol veya kloroform çözeltisi içerisinde muamele edilir.
- DNA kırılmalarının azaltılması işlemi; kuvvetli çalkalama ve karıştırma işlemleri sonucunda çözelti içerisindeki DNA'lar kırılabileceğinden çok hassas yürütülmeyen bir DNA izolasyon işleminde 50-150 kb'lik uzunlukta DNA'lar elde edilmektedir.

Moleküler markörlerin genel kullanım alanları genetik parmak izi analizi, genetik haritaların hazırlanması, doğrudan gen etiketlenmesi, genlerin klonlanması ve markör destekli seleksiyonları (Marker Assisted Selection) içerir (Berloo 2000; Yıldırım ve Kandemir 2001). Genetik markörler bu alanların yanında çok çeşitli çalışmalarda da kullanılmaktadır. Bunlar arasında; genom analizleri, evrimsel gelişmeler, kromozomlarda oluşan yapısal değişmelerin belirlenmesi, genetik kaynakların ve çeşitlerin korunması çalışmaları ile genetik varyasyonun artırılması sayılabilir.

Moleküler markörler birçok meyve türünün çeşit ayırımı ve polimorfizmi için, çeşitlerin genetik farklılığı, ilişkiler ve orijinlerini belirlemek için de kullanılmaktadır (Monte-Corvo *et al.* 2001; Pomper *et al.* 2003; Sunar *et al.* 2009).

DNA bazlı moleküler markörler izoenzim markörlerine göre çevreden etkilenmemeleri, sayı olarak fazla olmaları, genom haritalama ve seleksiyona yardımcı olmaları nedeniyle avantajlıdır. Bitki genetik kaynaklarının korunmasında, etkili koruyucu metotların geliştirilmesi ve mevcut varyasyonun belirlenmesi gerekmektedir. Moleküler markör metotları kullanılarak bugüne kadar armut, dut, üzüm, elma, kayısı, kiraz, badem, antepfıstığı ve limon gibi meyve türlerinde ve domates, kavun gibi sebze türlerinde yoğun bir şekilde kullanılmıştır (Yamamoto *et al.* 2001; Özrenk vd 2010; Akgül 2012; Bauchet and Causse 2012; Erfani *et al.* 2012; Sehic *et al.* 2012; Karakurt 2013; Köse 2013).

Bir türe ait değişik genotiplerin genetik özelliklerini tanımlamak için bir kaç farklı metot kullanılabilir. Geleneksel metotlar, sadece bitkiler belirli olgunluk düzeylerine ulaştıklarında belirlenebilen fenotipik özelliklere dayanırken, moleküler primerler bitki gelişim döneminin herhangi bir aşamasında da kullanılabilirler.

Bitki tür ve çeşitleri arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde çevresel şartlardan etkilenebilmeleri nedeniyle morfolojik primerler, sınırlı sayıda olmaları nedeniyle de biyokimyasal primerler günümüzde çok fazla kullanılmamaktadırlar. Moleküler yöntemler uzun generasyon süreleri, büyük boyutları ve vejetatif olarak çoğaltılabilme özellikleri nedeniyle çok yıllık odun dokuya sahip bitkilerde büyük önem taşımaktadır.

Son yıllarda çok yıllık bitki türlerindeki genetik ilişkilerin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalarda AFLP ve Mikrosatelit (SSR) moleküler yöntemlerinin daha kolay yapılabilmesi ve daha başarılı sonuçlar vermesi nedeniyle yürütülen çalışmalarda önemli oranda kullanılmaktadır. Mikrosatellitler belli bir lokusta farklı sayılardaki tekrarlı motiflere dayalı bir polimorfizm göstermesi, kodominant özellikte olması, multiallellik durumu, PCR-bazlı ve uygulamasının kolay oluşu ve genom boyunca hızlı yayılım gösterebilir olması nedeniyle pek çok bitkide genetik farklılığın ortaya konulmasında tercih edilebilmektedir (Badjakov *et al.* 2006; Chalak *et al.* 2006).

Mevcut moleküler yöntemler kullanılarak klon ve çeşitlerin doğru tanısı etkin seleksiyon, ıslah ve genetik kaynakların etkin yönetimi, çeşitlere ait kontrol, koruma, kayıt ve ıslah sonucu elde edilen anaçların verimli şekilde kullanımı açısından önemlidir (Rahman and Rajora 2002). Yüksek organizmalarda henüz görevleri bilinmeyen, ancak düzenleyici rollere sahip olduğu düşünülen, rastgele tekrarlanan DNA bölgeleri vardır. Bu tekrarların her ünitesindeki nükleotid sayısına göre, mikrosatellit ve minisatellit olarak adlandırılır. Mikrosatellitler içerisinde en yaygını dinükleotid (örneğin ATATAT) tekrarlar olmakla birlikte, 1-6 bç'lik tekrarlar da bulunabilmektedir. Mikrosatellitler, aynı zamanda STR (short tandem repeats) veya SSR olarak da anılır ve 11-60 bç uzunluğundaki tekrarlardan oluşan minisatellitlerden farklıdır. Minisatellitler genellikle kromozomların uç kısımlarında, yani telomere yakın bölgelerde bulunmasına karşın, mikrosatellitler yüksek organizma (Eucaryote)'lara ait kromozomlar üzerinde daha bol ve gelişigüzel bir dağılım gösterir (Tautz 1989). Bu nedenle, bu tür tekrarlara dayalı bilgiler bütün genomu daha doğru temsil etmektedir. Bitkilerde (AT)_n, (AAG)_n ve (AAT)_n gibi tekrarlar çok yaygındır (Akkaya *et al.* 1992; Karakurt 2013).

Armut genotiplerinin tanımlanmasında uzun yıllardır morfolojik özellikleri temel alınmıştır (Kiper 1941; Özbek 1947; Kikuchi 1946; Westwood 1978; Öz 2012). Bitkinin fenotipik özelliğine dayanan morfolojik markörlerin gözlemciye göre değişmesi, çevreden fazla etkilenmeleri ve heterozigot bireyleri ayırt edememe gibi özellikleri ile bitki tanımlamadaki yerini biyokimyasal markörlere bırakmıştır. Biyokimyasal markörler ise bitkide az miktarda sentezlenmekte ve çevre koşullarından etkilenmektedir (Santamour and Demuth 1980, Chevreau *et al.* 1997). Ülkemizde var

olan armut genotiplerinin homonim/sinonim durumlarının belirlenmesi, buna bağı olarak genetik kaynakların tespiti, korunması ve tescili için yapılan morfolojik ve biyokimyasal çalışmalar yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle bu çalışmalara ilave olarak son zamanlarda gerçekleştirilen moleküler markör çalışmaları önem kazanmıştır. Temeli DNA'ya dayanan SSR markörlerin, genomda çok sayıda bulunması, ko-dominant, yüksek polimorfik, tekrar edilebilir, aynı cinse ait türler ve aynı familyaya ait cinsler arası transfer edilebilir özelliklerinin bulunması ile tür tayininde tercih edilmektedir (Weber and May 1989; Yamamoto *et al.* 2001; Wünsch and Hormaza 2002; Nishitani *et al.* 2009).

Biyçeşitlilik açısından çok önemli olan Çoruh Vadisi toplam uzunluğu 431 km olan Çoruh Nehri'nin ana ve yan kolları üzerindedir. Çoruh Nehri'nin 410 km'lik kısmı ülkemiz 21 km'lik kısmı ise Gürcistan sınırları içerisinde. Kısa mesafede değişen topoğrafik yapı ve ekolojik çeşitlilik sayesinde canlı çeşitliliğine önemli imkanlar sunmaktadır (Tüfekçioğlu vd 2013; Anonim 2014). Çoruh Havzası Türkiye'nin kuzeydoğusunda ve 39°-40' ile 42°-35' boylamları ve 39°-52' ile 41°-32' enlemleri arasında yer almaktadır. Havza 19.748 km²'lik yüzölçümü ile Türkiye yüzölçümünün %2,53'ünü kaplamaktadır. Havzanın sınırlarını kuzeyden Doğu Karadeniz Dağları batıdan Giresun Dağları güneyden Otlukbeli, Dumlu Kargapazarı, Güllü, Allahuekber Dağları doğudan ise Yalnızçam Dağları ve Gürcistan oluşturmaktadır (Erdoğan vd 2014). Çoruh Vadisi jeolojik, jeomorfolojik ve iklimsel özellikleri ile zengin biyolojik çeşitliliğe sahiptir. Çoruh Vadisi Kafkasya Ekosistemi'nin batı bölümünde bulunmakta ve Dünya Doğa Koruma Birliği (International Union for Conservation of Nature) tarafından biyçeşitlilik açısından dünyanın en önemli 35 noktasından birisi olarak işaret edilmektedir (Anonymous 2007; Ercişli *et al.* 2011). Çoruh Vadisi UNESCO tarafından 29 Haziran 2005 tarihinde Türkiye'nin ilk ve tek "Biyosfer Rezerv Alanı" olarak ilan edilmiştir (Aslantaş 2010).

Çoruh Havzasının sahip olduğu ormanlar, göller, yüksek dağlar, çalılıklar gibi farklı ekosistemler önemli flora ve fauna zenginliğine yol açmıştır. Çoruh Vadisi'nin bu zenginliği şehir merkezlerine olan ulaşım güçlüğü, yaşanan yoğun göçler, büyük çaplı altyapı ve kalkınma projelerinin gerçekleşmemesi gibi nedenler sayesinde korunmuştur

(Erdoğan vd 2014). Ancak son yıllarda kamu yararına yapılan projeler (büyük ve küçük ölçekli enerji yatırımları), enerji nakil hatlarının inşası sırasında salınım alanlarını kapsayan irtifak alanlarının oluşturulması, yeni yapılan yollar ve tüneller gibi birçok tehdit sebebiyle Çoruh Vadisi biyolojik çeşitliliği ciddi oranda tahribata uğramıştır.

Çoruh Vadisi'nde, Çoruh Nehri'nin ve yüksek dağların koruyucu etkisi sebebiyle ılıman iklim meyve türlerinin hemen tamamının az ya da çok yetiştiriciliği yapılabilmektedir (Güleryüz ve Ertürk 2001). Yörede çok sayıda meyve tür ve çeşidi dar vadi içlerinde, sınırlı alanlarda yetiştirilmektedir. Uluslararası kriterlere göre bahçe bitkileri yöresi olarak kabul edilen vadi genelinde iklimin uygunluğu yöreye meyve yetiştiriciliği açısından büyük avantajlar sağlamıştır (Aslantaş 2006; Karlıdağ ve Eşitken 2006). Armut açısından da Çoruh Vadisi son derece zengin genetik çeşitlilik barındırmaktadır. Anıt ağacı hüviyetine sahip armut genetik kaynaklarının yörede varlığı tespit edilmiştir. Bunlardan alınmış olan görüntüler Şekil 1.1'de verilmiştir. Yörede meyvecilik genel olarak geleneksel usullerle yapılmakta, kapama bahçelere de rastlanılmamaktadır. Meyve ağaçları genel olarak bakımsız halde bırakılmakta, herhangi bir tarım ilacı kullanılmamaktadır. Bu durum organik yetiştiriciliğe imkan sağladığı gibi biyoçeşitliliğin korunmasına da katkı sağlamıştır. Yöredeki sosyal hayat biyoçeşitliliği artıran diğer unsurlardandır.



Şekil 1.1. Çoruh Vadisi kaynaklı anıt ağacı hüviyetindeki armut genetik kaynaklarının görünümü

1994 yılında TAGEM tarafından desteklenen “Doğu Anadolu Bölgesi Meyve ve Bağ Genetik Kaynaklarının Araştırılması” projesi kapsamında başlatılan ve Çoruh Vadisi biyoçeşitliliği içerisinde ağırlıklı olarak seçilen meyve genetik kaynakları toplanmakta ve ex-situ koruma amaçlı olarak Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu’ndaki koleksiyon parselinde muhafaza edilmektedir (Şekil 1.2). Koleksiyonda bulunan armut genotipleri üzerinde daha önce yürütölen morfolojik karakterizasyon çalışmasında doğrudan üretim programına kaynak olabilecek armut genotipleri tespit edilmiştir (Öz ve Aslantaş 2015). Bugüne kadar oluşturulan koleksiyon parselindeki 65 adet armut genotipinin değişik amaçlarla kullanılabilirliğini belirlemek, hem kendi aralarındaki, hem de standart yerli ve yabancı orijinli çeşitlerle aralarındaki genetik ilişkileri moleküler düzeyde karakterize etmek amacıyla bu çalışma yürütölmüştür.



Şekil 1.2. Çoruh Vadisi’nden temin edilen armut genotiplerinin bulunduğu arazi (Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Bahçeliköy Koleksiyon Parseli)

Araştırmada üstün özellikleri itibariyle ulusal ve uluslararası piyasada en çok tercih edilen ve yetiştirilen önemli yazlık, güzlük ve kışlık armut çeşitleri referans çeşit olarak kullanılmıştır. Çoruh Vadisi armutlarının genetik açıdan tanımlanması ve armutlar arasındaki genetik ilişkinin belirlenmesi suretiyle referans olarak kullanılan çeşitlere genetik açıdan yakın genotiplerin tescil sürecine katkı sağlaması da beklenmektedir. Bu itibarla üstün özellikli genotiplerin ekonomiye kazandırılması sürecine katkı sağlanması diğer amaçlardandır.

Çoruh Vadisi orijinli armut genotiplerinin moleküler düzeyde tanılandığı ilk çalışma niteliğindeki bu araştırmayla genetik kaynak olarak muhafaza edilmekte olan armutlar arasındaki muhtemel genotip karışıklığı giderilecektir. Ayrıca ileri ıslah çalışmaları (gen aktarımı, mutasyon ıslahı, kontrollü melezleme, vb) için menşey materyali gruplarının oluşturulması çalışmanın diğer amaçları arasındadır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya çapında zengin ve köklü genetik çeşitliliğe sahip armut türünde yaklaşık çeyrek asırdan beri birçok ülkede farklı moleküler metotlarla genetik karakterizasyon çalışmaları yürütülmektedir. Bu çalışmalarla ağırlıklı olarak farklı armut genotipleri arasındaki genetik ilişkiler ortaya koyulmaya çalışılmıştır. Bugüne kadar farklı moleküler markör teknikleriyle ve SSR tekniğiyle yapılan çalışmalar ayrı ayrı özetlenmiştir.

2.1. Farklı Moleküler Markör Teknikleriyle Yapılan Çalışmalar

Gelişen teknolojiyle beraber moleküler markör teknikleri de geliştirilmiş ve birçok ülkede genetik çalışmalarda kullanılmıştır. Armutlardaki genetik ilişkileri belirlemek amacıyla farklı moleküler markör teknikleriyle (RAPD, ISSR, AFLP, SCAR, RFLP, Ty1-Copia Retrotransposons) yapılan çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

Iketani *et al.* (1998), Japonya’da yaptıkları çalışmada *Pyrus* cinsine ait 106 genotipin (çoğu Doğu Asya orijinli) kloroplast DNA’larının polimorfizmini RFLP tekniğiyle incelemişlerdir. 4 haplotip sırasıyla EcoO109 I, Sal ve Xba I ile kesilen 3 bağımsız restriksiyon bölge mutasyonlarıyla gözlemlenmiştir. Batı armutlarında plesiomorfik (Atalarınınkiyle aynı olan bir karakter özelliğini taşıyan) tip gözlenmişken, doğu armutlarında 4 haplotip özelliğinin tamamı gözlenmiştir. Bu durumun doğu ve batı armutlarının bağımsız olarak evrimleştiğine işaret ettiği ifade edilmiştir.

Oliveira *et al.* (1999), Portekiz’de yaptıkları çalışmada *P. communis* ve *P. pyrifolia*’nın birkaç çeşidi ve *P. cordata*, *P. bourgaeana* ve *P. pyraster* genotiplerinin moleküler karakterizasyonunu ve fenotipik (morfolojik) benzerliklerini RAPD markörleriyle araştırmışlardır. 60 markör kullanılarak Batı ve Doğu armutlarının polimorfik modelleri görüntülenmiştir. Seçilen markörlerden 22 tanesi tekrarlanabilir bant oluşturmuş, toplamda 358 bant elde edilmiştir. Bunların 327 tanesinin polimorfik olduğu ifade

edilmiştir. Analiz edilen 12 genotipin 10'unda genotipe özgü RAPD'ler ve fragment kalıpları bulunmuş, bunların çeşit tanılamada kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Monte-Corvo *et al.* (2001), Portekiz'de 24 armut çeşidi (*P. communis* L.) arasındaki fenotipik ilişkinin belirlenmesi ve çeşit tanılaması için ISSR markörlerini kullanmışlardır. 8 ISSR markörünün her biri 24 armut çeşidini ayırabilmiştir. Toplamda 337 bant edilmiş, bunların %79,5'inin polimorfik olduğu ifade edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen dendogram aynı armut çeşitleri üzerinde RAPD ve AFLP çalışmaları sonucu elde edilen dendograma benzerlik göstermiş, 'Pérola', 'Carvalhal' ve 'Lawson' çeşitlerinin diğer çeşitlerden farklılığı doğrulanmıştır.

Shi *et al.* (2002), Japonya'da yaptıkları çalışmada armutta copia-like Retrotranspozonları karakterize etmeyi amaçlamışlardır. Çalışmada 51 copia-like Retrotranspozon klonlanmış ve tanımlanmıştır. Filogenetik analizlere dayalı olarak retroelementler 15 bağımsız grupta sınıflandırılmış ve armut genomunda yüksek oranda heterozigot oldukları ifade edilmiştir. Ancak grupların çoğu bazı kaydedilmiş copia-like Retrotranspozonlarla kümelenmiştir. Birkaç klon bilinen sekanslarda nispeten düşük benzerlik göstermiştir. 8 temsili klonun prob olarak kullanıldığı Southern Blot analizleri bu retroelementlerin *Pyrus* türlerinde dağıldığını ispatlamıştır. *Pyrus* türleri arasında ve içerisinde polimorfizmler tespit edilmiş, retrotranspozonların yer değiştirmesinin evrimde bir yer tuttuğu ve genetik çeşitliliğe öncülük ettiği iddia edilmiştir. Southern Blot analizlerine dayalı olarak copia-like Retrotranspozonların kopya sayısının armut genomunda en az 1000'in üzerinde olduğunu tahmin etmişlerdir.

Katayama and Uematsu (2003), Japonya'da yaptıkları çalışmada armutun (*Pyrus ussuriensis* var. *hondoensis*) kloroplast DNA (cpDNA)'larının fiziksel haritasını 5 restriksiyon enzimi (SalI, XhoI, BamHI, SacI, PstI) kullanarak oluşturmuşlardır. Bu bilgi *Pyrus* türleri arasındaki filogenetik ilişkinin incelenmesine olanak sağlamıştır. Armut kloroplast DNA'sının toplam boyutu 156 kb olan, 24,8 kb'lık iki ters çevrilmiş tekrarın, molekülü küçük (17kb) ve büyük (90kb) tekli kopyalama bölgelerine bölen dairesel bir molekül olduğu bulunmuştur. RFLP analizleri 5 armut türünün (*Pyrus pyrifolia*, *Pyrus ussuriensis*, *Pyrus calleryana*, *Pyrus elaeagnifolia*, *Pyrus communis*)

kloroplast DNA'larıyla gerçekleştirilmiştir. İki mutasyon, bir tanıma bölgesi mutasyonu ve bir parça kaybı mutasyonu (delesyon) sadece *P. pyrifolia* çeşitlerinin cpDNA' sında bulunmuştur. Bu mutasyonların armut cpDNA fiziksel haritasında lokalize olduğu ifade edilmiştir.

Dolatowski *et al.* (2004), Polonya'da kırsal alanların en önemli unsurlarından olan yabani, yarı yabani (*Pyrus pyrastra* ve *P. amphigenea*) ve doğal olarak yetiştirilen kültür armutları (*P. communis*) arasındaki genetik ilişkiyi AFLP markörleri kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada Kuzeydoğu Polonya'da bulunan birçok armut ağacının *P. amphigenea* türüne ait olduğu belirlenmiştir. *Pyrus pyrastra* türüne ait ağaçların çeşitli özelliklerinin, *P. communis* türüne ait ağaçlara benzerlik gösterdiği ifade edilmiştir.

Lee *et al.* (2004), Güney Kore'de *P. pyrifolia* (Japon armudu) ve *P. communis* (Avrupa armudu) çeşitlerini sınıflandırmak ve tanımlamak için RAPD, SCAR ve korunmuş 18S rDNA markörleri geliştirmişlerdir. DNA ekstraksiyonu yapılmış 25 *P. pyrifolia* ve *P. communis* çeşidiyle seçilen LCH327UP ve LCH327DOWN primerleriyle PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. *P. communis* türüne ait Beurre Giffard, Cascade, Conference, Clapp's Favorite, Packhams Triumph ve Winter Nelis çeşitlerinden 1380 bç büyüklüğünde bant elde edilmiştir. RAPD tekniğiyle dominant tek bir bant elde edilirken, SCAR tekniğiyle bir veya daha fazla sayıda bant elde edilmiştir. *P. pyrifolia* türüne ait çeşitlerin tamamında 1190 bç büyüklüğünde bant elde edilmiştir. 25 armut çeşidinin 18S rDNA fragmentlerinin korunmuş dizileri 42 restriksiyon enzimiyle amplifiye edilmiştir. *P. pyrifolia* türüne ait Okusankichi ve Shinil armutlarında TaqI markörünün tanılama için en iyi markör olduğu ifade edilmiştir.

Sisko *et al.* (2009), Slovenya'da bulunan geleneksel 94 armut (*Pyrus L.*) genotipi arasındaki genetik ilişkiyi AFLP ve SSR markörleriyle değerlendirmişlerdir. Çalışmada *P. communis* L., *P. nivalis* Jacq. ve *P. pyrastra* L. türlerine ait genotipler analiz edilmiştir. 5 EcoRI ve MseI primer kombinasyonu kullanılarak yapılan AFLP analizi sonucu skorlanan toplam 141 bandın 93 tanesinin polimorfik olduğu, polimorfizm seviyesinin %65,95 olduğu belirlenmiştir. 7 SSR markörünün kullanıldığı SSR analizleri sonucu 64 polimorfik allel elde edilmiş, lokus başına ortalama 9,14 allel

bulunmuştur. Çalışılan armut genotipleri arasındaki genetik mesafe değerleri Dice Benzerlik Katsayısı değerleri hesaplanarak bulunmuş, dendogram AFLP ve SSR analizleri sonuçlarını destekler nitelikte neighbor-joining metodu kullanılarak oluşturulmuştur. Kümeleme metodu analiz edilen genotipleri 3 ana grupta ayırmıştır. Birinci grupta *P. communis* L. genetik kaynakları yer almıştır. *P. nivalis* Jacq.'e benzeyen genotipler ikinci en büyük grupta yer almış, bu grup 4 alt gruba ayrılmıştır. Bu gruptaki *P. pyramider* L. genetik kaynaklarının varsayılandan daha az belirgin olduğu bulunmuştur. Üçüncü gruptaki en tipik çeşit grubu "Vinska Mostnica" olmuştur. Bu çalışma Slovenya'da *P. nivalis* genetik kaynaklarının sıklıkla bulunduğunu ancak saf türlerle bulunmadığını ortaya koymuştur.

Lisek and Rozpara (2010), Polonya'da yaptıkları çalışmada RAPD ve ISSR tekniklerini kullanarak 26 armut çeşidini tanımlamışlardır. Çalışmada 25 RAPD markörü kullanılmış, 103 polimorfik DNA fragmenti elde edilmiştir. OPT 15, OPG 16 ve OPG 19 markörleriyle en yüksek sayıda polimorfik DNA fragmentleri (7-8) üretilmiştir. OPT 15, OPG 19 ve OPU 07 markörlerinin kullanılması çeşitlerin ve anaçların tanımlanmasında başarı sağlamıştır. 22 ISSR markörünün kullanımıyla da armut çeşitlerine ait 135 allel elde edilmiştir. Elde edilen fragmentlerin boyutu 280 ile 1790 bp arasında değişmiştir. 830, 840 ve 844 markörleriyle en yüksek sayıda polimorfik bantlar (9) elde edilmiştir. 840 ve 844 markörleri bütün genotiplerin tanımlanmasını mümkün kılmıştır. DNA polimorfizm derecesi RAPD için %56,3, ISSR için %71,5 olarak hesaplanmıştır. Araştırma sonuçları armut çeşitlerinin tanımlanmasında her 2 tekniğinde kullanışlı olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Cho *et al.* (2012), Güney Kore ve Japonya'daki 39 armut çeşidini güvenilir DNA markörleriyle tanımlamayı amaçlamışlar, 40 farklı rastgele primerden toplamda 147 polimorfik RAPD markörü elde etmişlerdir. 51 RAPD fragmenti seçilmiş, dizileri (sekansları) belirlendikten sonra SCAR markörlerine dönüştürülmüştür. Sonuçta 51 RAPD fragmentinin 19'u başarılı şekilde SCAR markörlerine dönüştürülmüştür. 17 SCAR markörünün primer kombinasyonlarına bağlı olarak RAPD veya daha küçük DNA fragmentleri aynı boyuttaki tek bir polimorfik bantla ampliyeye olmuştur. 2 SCAR markörü (PK10_514 ve PK15_616) kullanılarak da co-dominant polimorfizmler

gözlenmiştir. 8 SCAR markör (P561_331, P561_372, PH02_405, PH15_452, PT16_472, PK10_514, P270_593, PK15_616) kombinasyonu bu çalışmada incelenen 39 armut çeşidi arasında yeterli düzeyde ayırım yapılabileceği ifade edilmiştir. Geliştirilen bu markörlerin Güney Kore armut çeşitlerinin hızlı ve güvenilir şekilde tanımlamasında kullanışlı olacağı ifade edilmiştir.

Muzher *et al.* (2014), Suriye’de yaptıkları çalışmada 32 RAPD ve 10 AFLP markör kombinasyonu ile 7 armut genotipi (*Pyrus syriaca* ’ya ait 3 yabancı tip, 3 yerel Suriye çeşidi, 1 Mısır Licotei çeşidi) arasındaki genetik ilişkiyi belirlemişlerdir. Bütün genotipler için polimorfizm seviyesi RAPD ve AFLP markörleriyle sırasıyla %81,47 ve %92,5 olmuştur. 7 armut genotipi arasında RAPD ve AFLP markörleri farklı oranda genetik benzerlik ortaya çıkarmıştır (Jaccard katsayısına göre). En yüksek benzerlik RAPD markörleriyle WT1 ve WT3 (%62) genotipleri arasında bulunmuşken, AFLP markörleriyle %54 oranla Abu-Satel ve WT2 genotipleri arasında bulunmuştur. Her 2 metodla elde edilen dendogramlar Licotei ve Suriye armut genotiplerini ayırmıştır. RAPD kümeleri Romi ve Licotei arasındaki genetik benzerliği ortaya çıkarırken, AFLP Licotei genotipini ayrı bir grupta kümelemiştir. RAPD ve AFLP teknikleri 7 armut genotipini sırasıyla 67 ve 227 bant sayısı ile karakterize etmiştir. RAPD tekniğiyle polimorfik lokuslarda yüksek oranda heterozigotluk (0,945) elde edilirken AFLP tekniğiyle yüksek markör indeksi (207,04) elde edilmiştir. RAPD ve AFLP markör tipleri arasındaki korelasyon katsayısı yüksek bulunmuştur (0,945). Sonuç olarak birbiriyle yakın ilişkisi bulunan armut genotiplerinin tanımlanmasında RAPD ve AFLP tekniklerinin kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Khorshidi *et al.* (2017), İran’da yaptıkları çalışmada “Mashhad Esteghlal” bahçesinde bulunan “Dare Gazi” armut genotiplerinin birbirleri ile diğer ticari ve yerel çeşitler arasındaki genetik ilişkiyi ISSR markörlerin kullanarak belirlemeyi amaçlamışlardır. Mashhad Esteghlal” bahçesinde bulunan “Dare Gazi” armut genotipleri arasından ağaç kuvveti, yaprak rengi, şekil ve meyve rengi parametrelerine göre 23 armut genotipi seçilmiş aynı zamanda 33 yerel ve ticari armut çeşidi ile çalışılmıştır. 11 ISSR primerinin kullanıldığı çalışmada toplam 230 DNA bandı elde edilmiş bu bantların 225’inin polimorfik olduğu belirlenmiştir. Her primer ortalama 20,9 bant üretmiştir.

Dice benzerlik katsayısı 0,27 (“Dom Kaj” ile Asya armutları arasında) ile 1 (“Dare Gazi” 1 ve 2 genotipleri arasında) arasında değişmiştir. Genetik ilişki dendogramı UPGMA methoduna göre Dice benzerlik katsayısı değerleriyle oluşturulmuştur. Dendogramda 56 armut genotipi 12 farklı kümeye ayrılmıştır. “Dare Gazi” genotiplerinin %100 benzerlik göstermediği bu durumun da tohumdan çoğaltılmaları veya mutasyon etkisine bağlı olabileceği ifade edilmiştir. “Dare Gazi” 3 ve 18 genotipleri en düşük benzerlik katsayısına (0,64) sahip olmuştur. Avrupa ve Asya armutları farklı gruplara ayrılmıştır. Farklı bahçelerdeki “Dare Gazi” genotipleri farklı gruplara ayrılmış ancak tamamı “Dare Gazi” armut genotipleri olarak isimlendirilmiştir. ISSR moleküler markörlerinin armut genotipleri ve çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği tanımlamada uygun olduğu ifade edilmiştir.

2.2. SSR Tekniğiyle Yapılan Çalışmalar

Yamamoto *et al.* (2002), Japonya’da yaptıkları çalışmada ıslah için agronomik açıdan önemli özellikleri seçmek ve armuttaki genetik çalışmalar için Basit Dizi Tekrarları (SSR) gibi yüksek oranda tanımlayıcı DNA markörlerinin geliştirilmesinin gerekliliğini ileri sürmüşlerdir. RAHM (Rastgele Çoğaltılmış Hibridizasyon Mikrosatelitleri) ve 5’ anchored PCR metodlarını kullanarak SSR markörleri geliştirilmişlerdir. Armut varyeteleri arasında melezlemelerden elde edilmiş 3 takım armut kullanılarak çoğaltılmış DNA parçalarının aynı lokustan türetildiğini SSR’ların ayırım analizleri açığa çıkarmıştır. Genetik çeşitlilik, 10 Japon armudu (*Pyrus pyrifolia*), 9 Çin armudu (*P. bretschneideri*, *P. ussuriensis*), 10 Avrupa armudu (*P. communis*) ve 3 adet yabani armut (*P. calleryana*) olmak üzere 32 genotipin kullanılmasıyla karakterize edilmiştir. SSR genotiplerinin çeşitliliği hem türler arasında hem de türler içinde gözlemlenmiş ve 65 putatif allel saptanmıştır. 7 SSR markörünün 32 genotipin tamamı arasındaki farklılaşmayı belirlemede yeterli olduğu ifade edilmiştir.

Volk *et al.* (2006), Amerika Birleşik Devletleri’nde yaptıkları çalışmada Ulusal Bitki Gen Kaynakları Sistemi’nde (NPGS) muhafaza edilmekte olan 145 yabani ve kültüre alınmış *P. communis* genotipi arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek amacıyla 13 mikrosatellit markörü kullanmışlardır. Bayesian Kümeleme metodu armut genotiplerini

12 gruba ayırmıştır. Rusya'nın Kafkasya Dağları, Kırım ve Ermenistan' da endemik olarak yetişen *P. communis* ssp. *caucasica* (Fed.) Browicz, Makedonya, Moldova, Polonya ve Türkiye'yi içeren Doğu Avrupa ülkelerindeki *P. communis* subsp. *pyraster* L.'den genetik açıdan farklılaşabilmiştir. Kültüre alınan armutlar, *P. communis* ssp. *caucasica* ve *P. communis* ssp. *pyraster* arasında kümelenen gruba çok yakın olarak bir arada kümelenmiştir. 12 grubun her birindeki yüksek sayıdaki eşsiz allel sayısı ve heterozigotluğa dayanılarak, Ulusal Bitki Gen Kaynakları Sistemi'nde (NPGS) yabancı *P. communis*' in genetik çeşitliliğinin tam olarak temsil edilmediği sonucuna varılmıştır.

Brini *et al.* (2008), SSR markörleri kullanarak yerel Tunus armutlarının genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. Çalışmada, elmadan elde edilen 7 SSR markörü Avrupa'da yetiştirilen *P. communis*'un 6 yaygın varyetesi ve 25 yerel Tunus armut genotipinde başarılı sonuçların alınmasına olanak sağlamıştır. 7 SSR lokusu kullanılarak toplamda 36 allel elde edilmiştir. Çalışılan genotiplerin birçoğunda kullanılan markörler birden fazla allel üretmiştir. Analiz edilen Tunus çeşitlerinde ortalama beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri ortalama 0,71 olmuştur. Bu durum yerel Tunus armut gen kaynakları arasındaki genetik çeşitliliğin yüksek seviyede olduğunu göstermiştir. Çalışmada yüksek oranda tehlike altında olan Tunus armut gen kaynaklarının korunmasında SSR markörlerinin kullanışlı olabileceği ifade edilmiştir.

Evans *et al.* (2009), İngiltere'de, East Malling Araştırma Enstitüsü'nde yaptıkları çalışmada bir dizi armut referans kontrol çeşidi ve armut genetik kaynak koleksiyonlarının parmak izi tanısında kullanılabilecek 17 SSR seti seçmişlerdir. Çalışmada bu SSR setlerinden elde edilmiş sonuçlar sunulmuş ve sinonim ve homonim genotiplerin tespit edilmesinde farklı genetik kaynak koleksiyonlarına ait veri setlerinin kolaylıkla karşılaştırılmasında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Miranda *et al.* (2010), İspanya'da yaptıkları çalışmada Lleida ilinde bulunan Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria-Universidad de Lleida (ETSIA-UdL) Armut Gen Kaynakları Bankası'ndan temin edilen 141 tarihi ve yerel İspanyol armut (*P. communis*) genotipinden oluşan koleksiyonun genetik çeşitliliğini değerlendirmeyi, genotipler arasındaki genetik yapı ve ilişkiyi tanımlamayı ve örnek çekirdek koleksiyon

oluşturmayı amaçlamışlardır. İlave olarak İspanya’da halihazırda yetişen ve geniş genetik çeşitlilik sunan 13 iyi bilinen armut çeşidi referans olarak kullanılmıştır. Çalışmada 8 mikrosatellite markör seti kullanmıştır. 8 SSR lokusu 97 allel açığa çıkarmış, lokus başına 9 ile 15 allel elde edilmiş ve beklenen heterozigotluk değeri 0,65 - 0,89 aralığında belirlemişlerdir. 16’sı hariç genotiplerin tamamı 48 nadir allellin en az birini bulundurarak (frekans<0.05) tanımlanmış ve 6 genotipte 7 özgün allel bulunmuştur. 15 genotip sinonim olarak tanımlanmış ve analizlerden hariç tutulmuştur. Genetik analizler hiyerarşik kümeleme, Bayesian modeli tabanlı kümeleme ve Faktöriyel Bağlılık Analizi ile gerçekleştirilmiş; ortalama fiksasyon indeksi (F_{ST}) 0.074 olmuş ve önemli farklılaşmalarla genotipler arasında 3 grubun bulunduğunu bildirilmiştir. Bir bütün olarak, koleksiyondan seçilen birçok gen kaynağının (yaklaşık %75), Avrupa meyve bahçelerinde kullanılan başlıca armut çeşitlerine göre genetik farklılık gösterdiği ifade edilmiştir. Farklı orijinlerden seçilmiş heterozigot materyaller olmalarına rağmen, aslında birçok refereans çeşit bir tek küme içerisinde bulunmuş, ayrıca en düşük genetik farklılığa ve allelik zenginliğe sahip olmuştur. Elde edilen sonuçlar 35 genotip ile etkili ve ulaşılabilir girdi noktaları teşkil ederek ıslah ve araştırma toplulukları için ETSIA-UdL’deki armut koleksiyonları çekirdek koleksiyon oluşturmak için de kullanılmıştır

Wolko *et al.* (2010), Polonya’da yaptıkları çalışmada Avrupa armut çeşitlerinin (*P. communis* L.) ve yabani armutların (*P. pyraeaster* L. Burgsd.) genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. Çalışmada 6 armut çeşidi (*P. communis*) ve 2 yabani armut (*P. pyraeaster*) tipi yüksek oranda polimorfik mikrosatellite markörlerle tanımlanmıştır. Armut genotiplerindeki genetik çeşitliliğin profillenmesi için 40 test edilmiş SSR markörü arasından yüksek polimorfik 19 tanesi seçilmiştir. Bu markörler yüksek seviyede heterozigosite göstermiş (0,5-1) ve her bir markör için ortalama 6,4 allel bulunmuştur. Çalışmada incelenen yabani formların yetiştirilen armut çeşitlerinden açıkça farklı olduğu ifade edilmiştir.

dos Santos *et al.* (2011), İspanya’da Kuzeybatı İber Yarımadası’ndan seçilen armut genotiplerine dayanan basit dizi tekrarları lokuslarıyla alakalı bilinen ilk büyük ölçekli moleküler çalışmayı gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada 1978 ve 1981 yılları arasında

kurulan Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (Xunta de Galicia)'daki armut genetik kaynakları bankasındaki 221 genotip ve 20 ticari *Pyrus* spp. çeşidi çalışmanın materyalini oluşturmuştur. SSR analizlerinde 19 mikrosatelit markörü kullanılmıştır. Koleksiyonda ortalama %43 klonalite (benzerlik) ile 221 genotip arasından 127 genotip tanımlanmıştır. Genotipler arasındaki genetik ilişkiler Bayesian prosedürü, faktöriyel bağlılık analizi ve moleküler varyans analizleri kullanılarak belirlenmiş ve Jaccard katsayıları hesaplanmıştır. Asya çeşitleriyle akraba olan 1, Fransız ve İngiliz çeşitleriyle akraba olan 2 ve Galiçya çeşitleriyle akraba olan 1 popülasyondan oluşan yeniden oluşturulmuş 4 popülasyon, Structure analiziyle tanımlanmıştır. Armutların tanımlanan 4 grubu bağımsız olarak evrimleşmiştir. Kuzeybatı İspanya armut genotiplerinin genetik çeşitlilik süreci melezleme (%16), triploitlerin seçimi (%38) ve koleksiyondaki ticari armut çeşitlerine gen akışına (%4) dayanılarak açıklanmıştır.

Urbanovich *et al.* (2011), Belarus' da yetiştirilen 43 armut genotipinin genetik polimorfizmini *Malus domestica* Borkh için dizayn edilmiş SSR markörleriyle incelemişlerdir. Her bir markör için ortalama allel sayısı 12,8 olmak üzere toplam 217 allel tanımlanmıştır. Ortalama PIC (Polimorfik Bilgi İçeriği) değeri 0,81, tanımlayıcı allellerin ortalama sayısı 6,49 olmuştur. Heterozigotluk seviyesi 0,30 ile 0,84 aralığında bulunmuştur. Armut ve elma genomlarındaki SSR allellerinin genetik çeşitliliği karşılaştırılmıştır. Ticari armut çeşitlerinin 6 SSR markör seti kullanılarak tanımlanması önerilmiştir.

Yakovin *et al.* (2011), Rusya'da yaptıkları çalışmada 46 genotip ve 5 farklı armut türünde (*Pyrus ussuriensis*, *P. bretschneideri*, *P. pyraster*, *P. elaeagnifolia*) 5 SSR markörü kullanarak mikrosatellite lokusların polimorfizm durumlarını incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan birçok genotipte özgün allel kümelerinin varlığını tespit edilmiştir. SSR analizleriyle Rusya ve Batı Avrupa armut çeşitleri arasındaki ilişki derecesi belirlenmiştir. *P. ussuriensis* ve ilk nesillerinin, tipik *P. communis* çeşitlerinden ve sonraki nesillerde *P. communis* x *P. ussuriensis* melezlerinden genetik açıdan uzak olduğu tespit edilmiştir. Çeşitler arasındaki genetik akrabalığın tahmininde SSR ve Pedigree temelli tahminlerin korelasyon içerisinde olduğu ifade edilmiştir. Çalışmada *P.*

ussuriensis'e ait spesifik alleller tanımlanmıştır. Her çeşit için allel kompozisyonu, mikrosatellite lokusların analizine dayalı olarak belirlenmiş, bu verilerin çeşitlerin moleküler sertifikası olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Dequigiovanni *et al.* (2012), Brezilya'da yaptıkları çalışmada armut genetik kaynak koleksiyonlarının karakterizasyonunda etkili, armut ve diğer meyve türleri için geliştirilmiş, genetik ıslah programlarına destek sağlayan SSR markörlerinin tanımlanmasını amaçlamışlardır. Bu amaçla 62 SSR markörü araştırılmıştır. Brezilya Armut Gen Kaynakları Bankası (PGB)'ndan elde edilmiş 42 armut genotipine ait örneklerin tanımlanması için 23 verimli, tekrar üretilebilir ve polimorfik hat kullanılmıştır. Bu 23 SSR markörü kıyaslandığında H_e , PIC ve P_{Id} değerlerine dayanılarak seçilen 11 markör dizisi genotiplerin ayırt edilmesinde ve benzer etkiyle küme analizlerinin oluşturulmasında kullanılmıştır. Genetik çeşitlilik analizleri Avrupa, Japon ve Çin genotiplerini farklı gruplarda kümelemiştir. Bu markör setlerinin armut genetik kaynaklarının yönetimi ve ıslahıyla ilgili çeşitli uygulamalar için kıymetli araç teşkil edeceği ifade edilmiştir.

Erfani *et al.* (2012), İran da yaptıkları çalışmada 28 mikrosatellit primer çifti kullanarak, 4 Japon armudu (*P. pyrifolia*), 40 Avrupa armudu (*P. communis*), 1 Çin armudunun (*Pyrus bretschneideri*) yanı sıra 2 yabani armut (*Pyrus salicifolia* ve *P. mazandaranica*) içeren 47 armut genotipi arasındaki genetik çeşitlilik ve akrabalığı incelemişlerdir. 28 SSR lokusundan boyutları 81 ile 290 bp arasında değişen toplamda 174 allel elde edilmiştir. Her lokus için gözlenen allel sayısı 3 (TsuENH014 ve TsuENH046) ile 12 (NB103a) arasında değişmiş her lokus için ortalama allel sayısı 6,21 olmuştur. Bazı genotiplerde, farklı SSR lokuslarında 2 den fazla allel amplifiye olmuş, bu genotiplerde duplikasyon meydana geldiği öne sürülmüştür. Amplifiye olan lokusların gözlenen heterozigotluk (H_o) değerleri 0,17 (TsuENH006) ile 0,97 (NB103a) arasında bulunmuştur. Shannon's information index (I) değeri NB103a lokusunda en yüksek oranda (2,14) gözlenmiş iken, SSR lokusları arasında TsuENH006 lokusunda ortalama 1,37 değeri ile en düşük değerler gözlenmiştir. The Dice genetik benzerlik katsayısı örnekler arasında 0,29 (Nijisseiki ve *P. mazandaranica*) ile 0,91 (Chojuro ve Nijisseiki) değerleri arasında değişmiştir. UPGMA küme analizleri Japon ve Avrupa armutlarıyla

ilgili 2 ana grubu ortaya çıkarmıştır. Japon armutları 1. Ana grupta yer alırken diğer armutlar 2. ana grupta yer almıştır.

Sehic *et al.* (2012), İsveç'te yaptıkları çalışmada armut genotiplerini tanımlamak için, Avrupa Bitki Genetik Kaynakları İşbirliği Programı (ECPGR) tarafından saptanan 17 standart SSR lokus seti kullanmışlardır. Çalışmada Brogdale'den elde edilmiş 49 tarihi genotip ve 8 referans çeşidi de içeren İsveç armut koleksiyonlarından toplam 86 adet genotipi 17 SSR lokusunun 10 tanesini kullanarak incelemişlerdir. Elde edilen verilerin daha önceden Brogdale koleksiyonunda aynı lokus ile elde edilen parmak izi verileriyle kıyaslanmasının mümkünlüğü bazı çeşitlerin etiketlenmesinin doğrulanmasını aynı zamanda birkaç sinonim ve hatalı etiketlendirmenin de belirlenmesine imkan sağlamıştır. Analiz edilen çeşitlerin 14'ü (%29) yanlış etiketlendirmeden açıkça etkilenmiştir. Temel Koordinat Analizleri (PCA) genel olarak tanımlanan eski İsveç genotiplerinin İsveç' teki armutların atası olabileceğini ve yeni İsveç çeşitlerinin birçok yabancı çeşitten farklılaştığını göstermiştir.

Tian *et al.* (2012), Çin armutlarını tanımlamak için yaptıkları çalışmada, elma ve armutlardan elde edilmiş 9 mikrosatelit lokusu kullanmışlardır. Çalışmada *P. bretschneideri* türüne ait 92 yerel Çin armudunu içeren 109 armut genotipi genetik açıdan tanımlanmıştır. 9 SSR lokusuyla 109 armut genotipinde 129 allel ve 92 Çin armudunda 114 allel elde edilmiştir. *P. bretschneideri* türüne ait 92 yerel Çin armudu arasından 10 takım sinonim veya mutanttan ayrı olarak 70 tanesi başarılı bir şekilde farklılaşabilmiştir. 92 genotip için, lokus başına putatif allellerin sayısı ortalama 12,67 olmak üzere 7 ile 18 arasında değişmiştir. Ortalama gözlenen heterozigotluk değeri 0,60 ve Shannon's Tanımlayıcı Index değeri 1,85 olarak hesaplanmıştır. Genotiplerin SSR'a bağlı fenogramı oluşturulmuş, coğrafik kökene bağlı olarak 109 armut genotipi 11 grup içinde kümelenmiştir. Avrupa ve Asya armutları birbirinden bağımsız 2 grup oluşturmamış ancak 3 *P. communis* çeşidi bağımsız olarak birlikte gruplanmıştır. Japon *P. pyrifolia* çeşitleri, Çin *P. bretschneideri* çeşitleri ile birlikte gruplanmış ancak 1 çeşit (Jianbali) hariç 4 *P. ussuriensis* çeşidi bağımsız olarak birlikte gruplanmıştır. Çalışma sonucunda diğer çeşitlere göre *P. bretschneideri* ve *P. pyrifolia* çeşitlerinin daha yakın akraba olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Gasi *et al.* (2013), hem Doğu Asya hem de Batı Avrupa armut gen kaynaklarına ait çeşitleri içeren Bosna Hersek'te yaptıkları çalışmada; 27 geleneksel Bosna Hersek çeşidi ve 9 uluslararası referans çeşitle birlikte Sarajevo'daki birkaç bahçe ve küçük çiftlikten toplanan 28 geleneksel kabul edilen armut genotipi ile birlikte toplam 64 armut genotipini, 13 mikrosatelit markörü kullanarak değerlendirmeye almışlardır. Kullanılan 13 primer çiftinden 2 tanesi (CH02C06 ve CH05e03) ya hiç amplifiye olmamış ya da örneklerle düşük amplifikasyonlar gerçekleştirmiştir. Kalan 11 primer çiftiyle 159 farklı allel, lokus başına ise ortalama 14,5 allel elde edilmiştir. Analiz edilen genotiplerin %31'inde üçüncü allelin varlığı tespit edilmiştir. Duplikasyonların elemine edilmesinden sonra, 53 armut genotipi daha ileri araştırmalarda kullanılmıştır. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA), geleneksel armut grupları ve uluslararası referans armut çeşitlerinin arasında önemli bir genetik farklılaşmayı ortaya çıkarmıştır. Ancak Srebrenik'de bulunan geleneksel Bosna Hersek çeşitleri ve Sarajevo'daki genotipler arasında önemli bir farklılaşma bulunamamıştır. AMOVA ile elde edilen sonuçlar Faktöryel Uyum Analizi (FCA) ile de doğrulanmıştır. Bütün genotiplerin 5 popülasyon (RPP) grubu içinde sınıflandırılmasına Bayesian methodu ve allel frekansının karışım analizi imkan sağlamıştır. Birçok uluslararası referans çeşit (%78) RPP2 popülasyonu içinde gruplanmıştır. Srebrenik'deki ex situ koleksiyonlar ve Sarajevo'daki genotiplerden oluşan geleneksel Bosna Hersek çeşitleri 5 popülasyon grubu içinde de yer almıştır. Uluslararası referans çeşitlerin hiçbirisi RPP1 veya RPP5 popülasyonları içerisinde gruplanmamıştır. Moleküler Varyans Analizi ile popülasyonlar arasında önemli farklılaşmalar ($f_{CT} = 0.082$; $P < 0.001$) tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan biyoinformatik analizlerle Srebrenik ve Sarajevo'da bulunan birçok geleneksel Bosna Hersek armut genotipinin önemli bir genetik kaynak olduğu ortaya koyulmuştur.

Rugienius *et al.* (2013), Litvanya'nın çeşitli bölgelerinde doğal olarak yetişen ve Litvanya Bahçe Bitkileri Enstitüsü Tarım ve Ormancılık Araştırma Merkezi'nde (IH LRCA) bulunan armut tiplerinin morfolojik ve moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmeyi amaçlamışlardır. Çalışma materyalini Litvanya'da doğal olarak yetişen ve kültür armuduna (*P. comminus* L.) yakın akraba olan yabani armutlar (*Pyrus pyrastra* L.) oluşturmuştur. Çalışmada bazı durumlarda *P. pyrastra* ve *P. comminus*

arasındaki çeşitli hibridizasyon safhalarındaki bitkilerin *P. pyraster* olarak tanımlandığı, bu nedenle kültür armudu, introdüksiyon bitkileri ve yabani armutlar arasında bir belirsizlik ortaya çıktığı ifade edilmiştir. Türlerin spesifik tanımlanması ve armut popülasyonunun genetik yapısının değerlendirilmesi üzerine kapsamlı markörler kullanılmıştır. Değerlendirilen 13 morfolojik parametre *Pyrus* genotipleri arasında yüksek varyasyon açığa çıkarmıştır. Genotipler arasındaki morfolojik farklılıkların kalitatif farklılıklardan ziyade kantitatif olduğu ifade edilmiştir. 9 polimorfik mikrosatelit markör kullanılarak 84 armut genotipinin karakterizasyonunda 152 polimorfik allel tanımlanmıştır. Her lokustaki allel sayısı 12 ile 20 arasında değişmiştir. EMPc106, EMPc117, NB109a ve CH02c11 lokusları en yüksek polimorfik mikrosatelit lokuslar olmuşlardır. Genotipler arasında genetik ilişki ve heterozigosite analizleri yüksek genetik polimorfizm açığa çıkarmıştır. Çalışmada elde edilen gözlenen heterozigotluk değerlerinin beklenen heterozigotluk değerlerinden daha düşük olmasıyla doğal olarak yetişen armutların kendine döllenebilmesinin mümkün olduğu ifade edilmiştir. Çalışılan armut genotipleri arasındaki düşük morfolojik farklılıklar genotipler arasındaki genetik varyasyonunun zayıf olduğunu yansıtmıştır. Doğal olarak yetişen armut koleksiyonlarına ait genotiplerin moleküler markör analiz sonuçları mahalli armut popülasyonlarının genetik altyapısı hakkında bilgi sağlamıştır, Elde edilen bu bilgilerin ormanların genetik çeşitliliğinin restorasyonu ve korunması için kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Akçay *et. al.* (2014), Türkiye’de yaptıkları çalışmada değişik ekolojik bölgelere uyum sağlamış 6 farklı eko-coğrafik bölgeden seçilmiş 228 armut genotipini 18 SSR markörü kullanılarak analiz etmişler ve 308 SSR alleli tanımlamışlardır. İncelenen genotipler arasındaki genetik yakınlıklar genellikle %80’in üzerinde bulunmuştur. En yüksek heterozigotluk oranı elmalardan elde edilen “CH02D11” ve armutlardan elde edilen “KA16 ve NH0021a” SSR lokuslarından elde edilmiştir. Çalışmada herhangi bir benzer veya sinonim genotip bulunamamış, 5 homonim genotip tanımlanmıştır. Faktoriyel Bağlılık Analizi ile, çalışılan armut gruplarında açıkça ayırım yapılamamış, Anadolu armut genotiplerinin gen akışı ve/veya farklı eko-coğrafik bölgeler arasındaki genetik kaynak hareketleri ile birbirine karıştığı öne sürülmüştür. Ancak birçok armut genotipi toplandıkları bölgelere göre structure analizlerine göre gruplandırılmıştır. Anadolu

armut genotipleri için rapor edilen SSR verilerinin hem gelecekteki genetik kaynak yönetim çalışmaları için hem de Anadolu ve çevreleyen bölgelerden elde edilen armutlardaki genetik ilişkinin mukayeseli olarak incelenmesiyle alakalı çalışılmalar için kıymetli olacağını ifade etmişlerdir.

Asanidze *et al.* (2014), Gürcistan'da yaptıkları çalışmada 108 yabancı armudu (*P. communis* subsp. *caucasica*, *P. balansae*, *P. salicifolia*, *P. syriaca*, *P. demetrii*, *P. bulgarica*, *P. ketzkhovelii*, *P. sachokiana*), yerel ve introdüksiyon armutlarına ait 35 genotipi, USDA-ARS National Plant Germplasm System (NPGS) koleksiyonunda bulunan *P. communis* subsp. *caucasica* ve *P. communis* subsp. *pyraster* türlerine ait 73 yabancı armut ile karşılaştırılmışlardır. 11 mikrosatelit markörünün kullanıldığı çalışmada Gürcistan ve NPGS'deki *P. communis* subsp. *caucasica* armut türleri, NPGS'deki *P. communis* subsp. *pyraster* armut türleri ve Gürcistan'daki *P. salicifolia* armut türleri farklılaşabilmiştir. Gürcistan'daki *P. communis* subsp. *caucasica* genotipleri aynı altvaryete içerisinde bulunan, diğer Avrupa ve Orta-Doğu Asya ülkelerinden orijinlenen ve NPGS koleksiyonlarında muhafaza edilen armutlardan genetik olarak ayrılmıştır. Gürcistan'daki yerel armut çeşitlerinin Gürcistan'da yabancı olarak yetişen *P. communis* subsp. *caucasica* ve *P. balansae* türleri ile genetik açıdan benzer olduğu bulunmuş, yerel armut ağaçlarından orijinlenen bu çeşitlerin armut ıslah programları için eşsiz genetik kaynaklar olabileceği ifade edilmiştir.

Queiroz *et al.* (2015), Portekiz'de SSR primerlerini kullanarak yerel Portekiz armut (*P. communis* L.) çeşitlerini moleküler açıdan karakterize etmişlerdir. Çalışmada Vidago ve Felgueiras'da bulunan ulusal referans koleksiyondan temin edilen 48 armut genotipinin moleküler karakterizasyonu sunulmuştur. Çalışmada Avrupa Bitki Genetik Kaynakları İşbirliği Programı tarafından tavsiye edilen 6 çekirdek mikrosatelit markör seti kullanılmıştır. 3 homonim çeşit tespit edildikten ve çeşitli sinonimler bulunduktan sonra 36 farklı genotip değerlendirilmiştir. 3 çeşit triploid olarak bulunmuştur. Ortalama beklenen heterozigotluk yüksek bulunmuş (0,806) ve ortalama lokus başına allel sayısı 11,3 olmuştur. Etkili allel sayısı 3,3 ile 9,0 arasında değişmiştir. CH05c06 markörü en düşük bilgi verici primer olurken CH0If07a markörü en yüksek bilgi verici primer olmuş, Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC) sırasıyla 0,675 ve 0,876 olmuştur. Küme

analizleri, genotipleri 8 sınıf içerisinde gruplamıştır. Sonuçlar hem eski varyetelerin fidanlarından çiftçi seleksiyonlarının hem de 19. yüzyılda getirilen Fransız ve İngiliz varyetelerinden lokal genotiplere gen akışının, armut genetik kaynakları içinde bulunan mevcut genetik farklılığın şekillenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Çalışmada SSR analizleri sonuçlarının armut gen kaynakları yönetiminin ilerlemesine iyi bir katkı sağlanabileceği ve yerel Portekiz armutlarıyla ilgili stratejilerin belirlenmesinde kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Rana *et al.* (2015), Hindistan'ın Himalayalar Bölgesi'nde bulunan *Pyrus* genotiplerinin morfolojik ve SSR markörlerine dayanan yapısı ve genetik çeşitliliği üzerine yaptıkları çalışmada, 6 türe ait 48 armut genotipinin genetik çeşitliliği ve filogenetik akrabalığını, 23 morfolojik özellik ve 20 SSR primeri kullanarak belirlemişlerdir. 20 SSR markörüyle toplam 190 polimorfik allel, lokus başına ortalama 9,5 allel elde edilmiştir. Amplifiye olmuş allellerin boyutları 85 ile 450 bp arasında değişmiştir. Ortalama polimorfik bilgi içeriği (PIC) 0,80 olmuş, yüksek oranda SSR polimorfizmi göstermiştir. Bayesian modeli tabanlı structure analizleri, genotipleri 5 küme içerisinde gruplamış ve bireyler arasındaki karışıklığın kapsamını göstermiştir. *P. pyrifolia* türüne giren genotipler 2 farklı grupta kümelenmiş, bu kümeler bu türler için geniş genetik taban olduğunu göstermiş iken, *P. communis* genotipleri korunmuş genetik karakterli gözükmiştir. Jaccard'ın benzerlik indeksi ve neighbor-joining tree'ye göre oluşturulan dendrogram, Asya (*P. pyrifolia*, *P. pashia*, *P. serotina* ve *P. jacquemontiana*) ve Avrupa (*P. communis*) armutlarını iki temel gruba ayırmıştır. Ancak *P. pyrifolia*'ya ait genotipler daha uzak alt gruplara bölünmüştür. Morfolojik özelliklere dayananan küme analizlerinin, SSR verileri ile elde edilen dendrogram ve structure kümeleriyle uyumlu olduğu ifade edilmiştir. The Mantel matrix uyum testi moleküler ve morfolojik benzerlik matrislerini karşılaştırmak için kullanılmış ve pozitif korelasyon katsayısı ($r=0.164$; $P=0.001$) elde edilmiştir. Çalışma sonuçlarıyla Hindistan armut genotiplerinin genetik yapısı hakkında önemli bilgiler sağlanmış, bu bilgilerin bu türlerde ileri ıslah ve geliştirme programları için kayda değer ölçüde katkı sağlayabileceği ileri sürülmüştür.

Stracieri *et al.* (2015), Brezilya'da yaptıkları çalışmada mikrosatelit markörlerini kullanarak Minas Gerais Eyaleti'nin güney bölgesinde yetişen armut çeşitlerini

karakterize ederek tanımlanmışlardır. 19 armut çeşidi Güney Minas Gerais Eyaleti'nin, Ribeirao Vermelho ve Lavras bölgelerinden toplanmıştır. Genç yapraklardan ekstrakte edilen DNA'lar, 21 SSR markörü (NH001c, NH002b, NH005b, NH007b, NH008b, NH009b, NH011b, NH013b, NH012a, NH014a, NH015a, NH017a, KA4b, KA5, KA14, KA16, KB16, KU10, BGA35, BGT23b ve HGA8b) kullanılarak amplifiye edilmiştir. Elde edilen veriler, UPGMA küme analizi ile incelenmiş; temel bileşen analizleri, Shannon index ve her primer için beklenen heterozigotluk değerlerinin hesaplanması suretiyle analiz edilmiştir. Kullanılan markörler Asya ve Avrupa çeşitlerinin hem de hibrit çeşitlerin ayrılmasında etkili olmuştur. Temel bileşenler ile gruplama, UPGMA kümelerine benzer bulunmuş, her 2 analizde de Asya ve Avrupa armutları 2 farklı grupta yer almıştır. The Shannon index ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla ortalama 0,440 ve 0,300 olmuştur. Çalışmada Güney Minas Gerais'deki armut çeşitlerinin temelde zor (sıcak) koşullar nedeniyle sıklıkla düşük verimlilik gösterdiği ifade edilmiştir. Bu problemin üstesinden gelmek için çalışma sonuçlarının en uygun materyalin seçimine katkı sağlayacağı bildirilmiştir.

Wolko *et al.* (2015), yabani armut (*P. pyraeaster*) genetik kaynaklarının moleküler karakterizasyonunu sağlamak amacıyla Polonya'nın farklı bölgelerinden elde edilen 6 popülasyonu (192 genotip) 17 SSR lokusu ile incelemişlerdir. Locus başına ortalama 19,5 allel ve ortalama PIC değeri 0,806 ile kullanılan her SSR lokusu polimorfik bulunmuştur. Hem yüksek heterozigotluk ($H_o = 0,751$) hem de düşük F_{is} (0,007) değeri yabani armut popülasyonlarının nispeten yüksek seviyede çeşitliliği muhafaza ettiğini gösterirken, ortalama F_{index} değeri (0,039) ve her generasyona göç eden birey sayısı ($N_m=6,996$) gen akışının yüksek ve popülasyonlar arası farklılaşmanın düşük olduğunu açığa çıkarmıştır. AMOVA analizleri polimorfizmleri çoğunlukla popülasyonlar içerisinde (%96) saptamıştır. Popülasyonlar arasındaki genetik ilişkilerin coğrafik uzaklıklar ile korelasyonlar göstermediği belirlenmiştir. Çalışmada küçük popülasyonlar arası farklılaşma ve popülasyonlar içerisinde bozulan ilişki gen akışının yayılım etkisine bağlanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmanın materyalini, 1994 yılında başlayan TAGEM tarafından desteklenen “Doğu Anadolu Bölgesi Meyve ve Bağ Genetik Kaynaklarının Araştırılması” projesi kapsamında 2011 ve 2012 yıllarında yürütülen araştırmalar kapsamında Çoruh Vadisi biyoçeşitliliği içerisinde olgunlaşma periyodu itibarıyla yazlık, güzlük ve kışlık gruplarda; değerlendirme şekli itibarıyla ise taze-sofralık, kurutmalık, şıralık ve pasta sanayisine uygun olarak tespit edilen 65 armut genotipi oluşturmuştur. Halihazırda tespit edilen bu genotipler kayıt altına alınmış olup, Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu Bahçeliköy koleksiyon parselinde ex situ muhafaza edilmektedir. Koleksiyon parselinde her genotipi en az 3 bitki temsil edecek şekilde 5x4 metre aralık ve mesafede dikim yapılmış ve yıllık bakım işleri aksatılmadan yerine getirilmektedir. Genotiplerin moleküler karakterizasyonda kullanılan numaraları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Farklı dönemlerde olgunlaşan ÷lkemizin önemli armut çeşitlerinden Mustafabey, Limon, Ankara ve Deveci çeşitleriyle, yabancı orijinli çeşitlerden B PLMO, Coscia, Santa Maria, Williams ve Kieffer çeşitleri moleküler karakterizasyonda referans çeşit olarak kullanılmıştır. Bu çeşitlerin önemli özellikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Mustafabey, Limon, Ankara, Deveci, B PLMO, Coscia ve Santa Maria çeşitlerine ait bitkisel materyal Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğü damızlık parselinden, Williams ve Kieffer çeşitlerine ait bitkisel materyaller Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü’nden temin edilmiştir.

Armut genotiplerinin yıllık sürgün örneklerine ait bitki örnekleri alındıktan sonra soğuk zincirde taşınmış ve -80°C’deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Muhafaza edilen armut yaprakları moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılmıştır. Moleküler analizlerin tamamı Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakùltesi Bahçe Bitkileri Bölümü’ne ait Moleküler Biyoloji laboratuvarında yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Bahçeliköy arazisinde bulunan ve bitkisel örnek alınan armut genotiplerinin çalışmada kullanılan genotip numaraları

Genotip	Genotip Adı	Genotip No	Genotip Adı
1	Elfaz I	34	Hanım Armutu
2	Şenashora Armut	35	Sasela Armut
3	Kış Armutu I	36	Turşu Armutu
4	Kazbudu Armut	37	Hacecür
5	Odrevül Armut	38	Arpa Armutu II
6	Velibey Armut	39	Acı Panta
7	Kışlık Armut	40	Bozsoğan Armut
8	Harman Sasela	41	Lale Armut II
9	Kleşya Armut	42	Nevga
10	Sarı Armut	43	Kış armudu IV
11	Ahil Kelek Armut	44	Panta
12	Mayroba Armut	45	Nesva I
13	Uzun Armut	46	Uruset I
14	Acura II	47	Üzüm Armut
15	Tezgelen Sasela	48	Elfaz II
16	Mayhoş Panta	49	Yağ Armutu
17	Bozdoğan Armut	50	Yeşil Anıt Armut
18	Yazlık Kaba Armut	51	Görsitela I
19	Bey Armutu	52	Küle Armut
20	Sakide Armutu	53	Alaattin
21	Kış Armutu II	54	Bal Armutu
22	Kırmızı Armut	55	Boz Armut
23	Kış Armutu III	56	Görsitela II
24	Sıgaltabla Armut	57	Tevrecül I
25	Acura Armut	58	Tevrecül II
26	Arpa Armutu I	59	Cocula Armut
27	Kabak Armut	60	Beyaz Armut
28	Meşe Armut	61	Kınatora
29	Işık Memed	62	Tekkale I
30	Hınışya Armut	63	Akçaköy
31	Lale Armut I	64	Derecik- Koloyna
32	Kara Armut	65	Yusufeli I
33	Boşkova Armut		

Çizelge 3.2. Moleküler Karakterizasyonda referans çeşit olarak kullanılan standart armut çeşitleri

Çeşit No	Çeşit Adı	Çeşit Özelliği
66	Mustafabey	Yazlık yerel bir çeşittir
67	Limon	Erkenci, yazlık, yerel bir çeşittir
68	B PLMO	Yabancı orijinli klonal bir çeşittir
69	Coscia	Orijini İtalya olan yazlık bir çeşittir
70	Ankara	Yerel, kışlık bir çeşittir
71	Deveci	Yerel kışlık bir çeşittir
72	Santa Maria	Williams x Coscia melezi kışlık bir çeşittir
73	Williams	İngiltere orijinli güzlük-kışlık bir çeşittir
74	Kieffer	Kısmen armut ateş yanıklığına dayanıklı olan kışlık bir çeşittir

3.2. Yöntem

Armut genotiplerinin moleküler karakterizasyonu;

- DNA izolasyonu,
 - PCR reaksiyonların için hazırlık ve PCR aşaması,
 - Elektroforez safhası ve allel görüntülerinin elde edilmesi,
 - Genetik analizler,
- olmak üzere dört aşamada gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. DNA İzolasyonu

Çalışmada kullanılan armut genotiplerinin yaprakları sıvı azot içerisinde ezilerek DNA izolasyonuna geçilmiştir. DNA izolasyonu için Doyle and Doyle (1990)'un yönteminden modifiye edilmiş, CTAB protokolü kullanılmıştır. Buna göre;

- 50 mg genç yaprak dokusu roller press cihazı (Qiagen Tissuelyser II) (Şekil 3.1) ile ezildikten ve aynı anda üzerine 1,2 ml ekstraksiyon buffer [1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl (pH 8), %2 CTAB, ve 1.2 µl beta-mercaptoethanol (son konsantrasyonu %0,1)] eklendikten sonra elde edilen karışım tüpe alınmıştır.

- Tüpler daha önce hazırlanan 62°C'deki su banyosunda birkaç kez ters düz edilerek 1 saat boyunca inkübe edilmiştir.
- İnkübasyondan sonra tüplerin üzerine 600 µl Cloroform: Octanol (24:1) eklenmiş, ters düz edilerek iyice karıştırılmış ve 14000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüj (Genofuge 16M, Techne Co. Cambridge, UK) edilmiştir.
- Üstteki sıvı kısım (süpernatant) pipetle alınarak 1,5 ml lik temiz bir tüpe aktarıldıktan sonra üzerine 600 µl soğuk isopropanol eklenerek hafifçe karıştırılmıştır.
- 1 dk 14000 rpm'de santrifüj işleminden sonra sıvı kısım (süpernatant) tüpten uzaklaştırılmıştır.
- Çökelti (pellet) üzerine 500µl yıkama çözeltisi [%76 Ethyl Alkol (C₂H₅OH), 10 mM Ammonium acetate (NH₄AC)] eklenmiş, 14000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir.
- Sıvı kısım (süpernatant) tüpten uzaklaştırıldıktan sonra, pellet üzerine 200µl TE (10 mM Tris, 0,1 mM EDTA, pH 7,4) ilave edilmiş ve 10 µg/ml son konsantrasyonda olacak şekilde RNase ilave edilmiştir. 37°C'de 30 dk inkübe edildikten sonra üzerine 200 TE ve 15 µl Ammonium acetate (10 M, pH 7,7) eklenmiştir. Çözelti üzerine son olarak 800 µl soğuk ethanol ilave edilerek 30 dk beklenmiştir.
- 14000 rpm'de 2 dk santrifüj işlemi yapılmış ve sulu kısmı dikkatlice döküldükten sonra pelletin bir miktar kuruması sağlanmıştır. Üstüne 200 µl TE eklenerek -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Çalışmada kullanılan bütün materyallere ait DNA izolasyonları gerçekleştirildikten sonra DNA kalitesi ve konsantrasyonu önce %1,0'lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiş sonra 260 ve 280 nm dalga boylarında spektrofotometre ile okumalar yapılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Yaprak dokularının parçalandığı roller press cihazı

3.2.2. PCR Reaksiyonları İçin Hazırlık ve PCR Aşaması

PCR reaksiyonu; 8,27 ml distile su, 1,5 ml 10x DNA polymerase buffer, 0,33 ml dNTP (her birinden 2,5 mM), 1 ml ileri (forward) ve geri (revers) primer (5 mM), 0,2 ml Taq DNA Polymerase (10 u/ml), 0,7 ml $MgCl_2$ ve 20ng DNA olmak üzere 15 μ l PCR karışımı ile gerçekleştirilmiştir. PCR safhasında Bio-Rad C1000 marka Thermal Cyclers PCR cihazı kullanılmıştır.

PCR reaksiyonu için kullanılan PCR programı:

1. 94°C’de 3 dk, 1 döngü başlangıç aşaması,
 2. 94°C’de 1 dk, denatürasyon aşaması,
 3. 55-60°C’de 2 dk, DNA komponenti ile birleşme ve tekrar ayrışması aşaması,
 4. 72°C’de 2 dk, uzama aşaması,
 5. 72°C’de 10 dk, 1 döngü son uzama aşaması,
- 2-4. basamaklar arası 35 döngü olacak şekilde uygulanmıştır.

3.2.2.a. SSR lokuslarına ait primerler

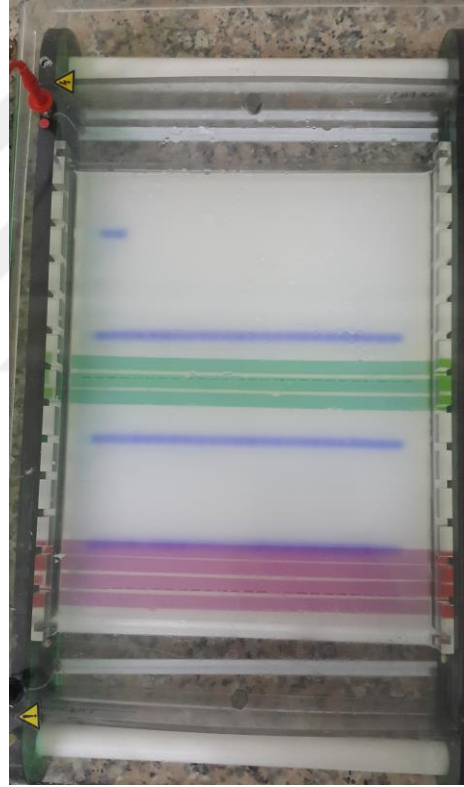
Çalışmada daha önce birçok araştırmada kullanılan ve başarılı sonuçların alınmasına olanak sağlayan polimorfizm ve tanımlayıcı özellikleri yüksek olan SSR primer çiftleri kullanılmıştır (Altınbay 2012; Erfani *et al.* 2012; Akçay *et al.* 2014). Armut genomundan geliştirilen NH0021a, NH0027a, BGT23b, NH004A, KA4B, KA14 (Yamamoto *et al.* 2001; Yamamoto *et al.* 2002) lokuslarının yanı sıra elma genomundan geliştirilen CH02d11, CH02b10, CH02f06 (Gianfranceschi *et al.* 1998; Liebhard *et al.* 2002) lokusları olmak üzere toplam 9 SSR lokusu kullanılmış, primerlere ait baz dizileri ve Tm değerleri Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Araştırmada kullanılan SSR primerlerinin baz dizileri ve PCR Tm (Temperature of Melting) değerleri

Primer No	Lokus adı	Primer dizileri (5’-3’)	Tm (°C)
1	NH0021a (F)	ATCTCAATTTTCTCGGTAACCA	55
	NH0021a (R)	CTGATATCTCTCTGCACTCCCT	
2	NH0027a (F)	TAATGTGTTGGGGAGAGAGAG	58
	NH0027a (R)	GCTCTTGTTCCCTTGCTCCTAA	
3	BGT23b (F)	CACATTCAAAGATTAAGAT	50
	BGT23b (R)	ACTCAGCCTTTTTTTCCCAC	
4	NH004a (F)	AGGATGGGACGAGTTTAGAG	58
	NH004a (R)	CCACATCTCTCAACCTACCA	
5	KA4b (F)	AAAGGTCTCTCTCACTGTCT	60
	KA4b (R)	CCTCAGCCCAACTCAAAGCC	
6	KA14 (F)	TCATTGTAGCATTTTTATTTTT	53
	KA14 (R)	ATGGCAAGGGAGATTATTAG	
7	CH02d11 (F)	AGCGTCCAGAGCAACAGC	57
	CH02d11 (R)	AACAAAAGCAGATCCGTTGC	
8	CH02b10 (F)	CAAGGAAATCATCAAAGATTCAAG	56
	CH02b10 (R)	CAAGTGGCTTCGGATAGTTG	
9	CH02f06 (F)	CCCTCTTCAGACCTGCATATG	60
	CH02f06 (R)	ACTGTTTCCAAGCGATCAGG	

3.2.3. Elektroforez Safhası ve Allel Görüntülerinin Elde Edilmesi

PCR işleminden sonra PCR ürünleri yüksek konsantrasyonlu agaroz jel (%3'lük) elektroforezinde (Morgante *et al.* 1998) 110 volt elektrik akımı altında 2 saat süreyle yürütülmüştür (Şekil 3.2) (Hokanson *et al.* 1998). Agaroz jel 1X TBE (Tris Borate EDTA) içermektedir. DNA'yı boyamak ve UV ışık altında görünürlüğünü sağlamak için jele 1µg/mL ethidium bromide solüsyonu ilave edilmiştir. UV transiluminator yardımıyla jeldeki allel görüntüleri alınmıştır.



Şekil 3.2. PCR ürünlerinin yürütüldüğü elektroforez (Mavi çizgiler Ethidium bromide ile boyanan PCR ürünlerinin jelde ulaştığı mesafeyi göstermektedir)

3.2.4. Genetik analizler

Araştırmada kullanılan 9 referans çeşit ve 65 armut genotipi dahil toplam 74 genotipe ait genetik analizler farklı bilgisayar programlarıyla hesaplanmıştır. Her program için SSR dataları farklı şekilde skorlanmış ve kontrol edilmiştir. Skorlama işlemi co-dominant markör sistemine göre yapılmıştır. POPGENE 1.32 programı ile her bir lokustaki allellerin sayısı (n), etkili allel sayısı (ne), allel frekansı, Shannon Endeksi (I), beklenen heterozigotluk (He) ve gözlenen heterozigotluk (Ho) değerleri tespit edilmiştir (Yeh and Boyle 1997; Yeh *et al.* 1998). Yine POPGENE 1.32 programıyla F istatistiği değerlendirilmiştir (Wright 1978; Nei 1987; Weir 1996). POWERMARKER v3.25 programıyla Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC: Polymorphic Information Content) değerleri hesaplanmış (Botstein *et al.* 1980; Liu and Muse 2005), Nei (1973)'nin benzerlik katsayısına göre genotipler arasında genetik mesafe değerleri (dissimilarity index) hesaplanmış, UPGMA (Unweighted Pair-Group Method of the Arithmetic Average) methoduna göre dendrogram (soyağacı) oluşturulmuştur. Dendrogram MEGA 6.0 programıyla düzenlenmiştir. Dendrogramdaki cluster (küme) grupları discriminant analizleriyle SPSS 17 programıyla doğrulanmıştır (Mohammadi and Prasanna 2003).

3.2.4.a. Allel frekansları

Allel frekansları Nei (1987) ve Velioğlu vd (2002)'ne göre aşağıda formüle göre hesaplanmıştır:

$$f(A_i) = \hat{x}_i = \frac{(2N_{ii} + \sum_{j=1}^m N_{ij})}{2N}$$

Bu formüldeki

$f(A_i)$: herhangi bir allelin frekansını,

N : popülasyondaki birey sayısını,

N_{ii} ve N_{ij} : sırasıyla A_{ii} ve A_{ij} genotiplerinin sayısını,

m : bir lokustaki allel sayısını temsil etmektedir.

3.2.4.b. Allel sayıları

Genetik varyasyonun önemli bir göstergesi lokus başına düşen allel sayısıdır. Allelik zenginlik olarak da nitelendirilen bu ölçüt örnek sayısından etkilenmektedir. Allel sayıları Nei (1987)' ye göre aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$Ortalama(n_a) = \frac{\sum_i n_{a_i}}{r}$$

n_a : i lokusunun allel sayısı

r : lokus sayısıdır

3.2.4.c. Etkili allel sayısı

Kimura ve Crow (1978) tarafından geliştirilen bu ölçüt önemli bir heterozigotluk parametresidir (Hartl and Clark 1989).

$$N_e = 1 / \sum x_i^2$$

N_e : etkili allel sayısı

x_i : i allelinin frekansısıdır.

3.2.4.d. Shannon sabiti

Shannon sabiti her bir popülasyondaki varyasyon düzeyini göstermekte ve genetik çeşitliliğinin hesaplanmasında kullanılmaktadır. Allel frekanslarına dayanılarak Lewontin (1972)'e göre aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır. Her bir lokus için hesaplanıp, ortalaması alınarak tüm lokuslar için ortalama değeri bulunmaktadır.

$$H_0 = -\sum p_i \ln p_i$$

H_0 : Shannon sabiti

p_i : Allel frekansısıdır

3.2.4.e. Heterozigotluk

Bir popülasyondaki genetik varyasyonun en yaygın kullanılan ölçütü heterozigotluktur. Nei (1987)'ye göre bir lokustaki beklenen heterozigotluk (h) tahmininde aşağıdaki formül kullanılmaktadır:

$$\hat{h} = \frac{2N \left(1 - \sum x_i^2 \right)}{2N - 1}$$

N : Birey sayısı

X : allel frekansıdır

3.2.4.f. F istatistiği

Heterozigotluk soy içi eşleşmenin (inbreeding) 3 seviyede tespitinde kullanılmaktadır (Nei 1987).

F_{IS} her bir alt -popülasyon içindeki fiksasyon endeksini yani her bir alt- popülasyondaki heterozigotluğun Hardy-Weinberg dengesinden sapmasını göstermektedir. F_{IS} değeri -1 ile +1 arasında değişir. Negatif değerler heterozigotluk fazlalığına, pozitif değerler ise heterozigotluk azlığına işaret etmektedir.

$$F_{IS} = \frac{H_s - H_t}{H_s} = 1 - \frac{H_t}{H_s}$$

H_t : Bir popülasyondaki bireyin gözlenen heterozigotluk değeri,

H_s : Bir popülasyondaki bireyin beklenen heterozigotluk değeridir.

F_{IT} tüm popülasyonlardaki fiksasyon endeksini yani tüm popülasyonlardaki heterozigotluğun Hardy-Weinberg dengesinden sapmasını göstermektedir.

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_s}{H_T} = 1 - \frac{H_s}{H_T}$$

H_T : Tüm popülasyonlardaki bireyin beklenen heterozigotluk değeridir.

F_{ST} ise popülasyonlar arasındaki allel frekansları farklılıkları nedeniyle meydana gelen fiksasyon endeksindeki azalmayı göstermektedir. Ayrıca, popülasyonlar arası genetik farklılaşmayı gösteren en kapsamlı ölçütlerden biridir. Daima 0 ile +1 arasında değişen pozitif değerler alır. F_{ST} değeri 0,05 ve daha azsa popülasyon içi genetik farklılaşma ihmal edilebilir düzeyde, 0,25'den büyükse ciddi ölçüde genetik farklılaşmadan sözedilebilir.

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$$

H_I , Nei (1987)'ye göre aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$H_I = \frac{\sum_{j=1}^s \hat{h}_{oj}}{s}$$

s: Popülasyon sayısı

h_{oj} : j popülasyonundaki gözlenen heterozigotluk değeridir.

H_S , Nei (1987)'ye göre aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$H_S = \frac{\sum_{j=1}^s \hat{h}_j}{s}$$

h_j : j popülasyonundaki beklenen heterozigotluk değeridir.

H_T , Nei (1987)'ye göre aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$H_T = 1 - \sum_i x_{ia}^2$$

x_{ia} : i allelinin tüm popülasyonlar için ortalama frekansıdır.

Bu 3 endeks aşağıdaki şekilde ilişkilidir:

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

Ayrıca, F_{ST} kullanılarak popülasyonlar arasındaki gen akışı (N_m) aşağıdaki formülle hesaplanabilmektedir:

$$N_m = 0.25 (1 - F_{ST}) / F_{ST}$$

Her generasyonda 1 bireyin göçü genetik sürüklenmeden kaynaklanan genetik varyasyon azalmasını önleyecektir. Bu değer popülasyon büyüklüğünden bağımsızdır. Eğer N_m değeri 1'den küçükse popülasyonlar arası farklılaşma gözlenmektedir. (Wright 1951).

F istatistiği açısından çalışma bölgesi olan Çoruh Vadisi'nden selekte edilen armut genotipleri tek bir popülasyonda değerlendirilmiş, heterozigotluk eksikliği veya fazlalığı F_{IS} değerleriyle hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan 9 SSR lokusundan elde edilen her bir allel için ayrı ayrı F_{IS} değeri hesaplanmıştır.

3.2.4.g. Genetik mesafe

Genetik mesafe popülasyon (genotip ya da tür) çiftleri arasındaki gen farklılıklarının büyüklüğüdür. Bu değerler genellikle geometrik uzaklıklara eşitir, yani mesafe değerinin "0" olması farklılık olmadığına işarettir. Benzerlik (I) ve mesafe (D) değerleri birbirini tamamlarlar (I+D=1). En fazla kullanılan genetik mesafe Nei (1972, 1973)'nin genetik mesafesidir.

$$I = \frac{J_{xy}}{(J_x J_y)^{1/2}}$$

$$J_{xy} = \sum_i^m x_i y_i \quad J_x = \sum_i^m x_i^2 \quad J_y = \sum_i^m y_i^2$$

I: x ve y popülasyonlarının genetik benzerliğidir.

x_i ve y_i : i allelinin x ve y popülasyonlarındaki frekanslarıdır.

Çalışılan tüm lokuslar için J_{xy} , J_x ve J_y toplanıp lokus sayısına bölünerek tüm alleller için ortalaması alınmaktadır. Elde edilen ortalama değerler (J_{xy} , J_x ve J_y) genetik mesafe (D) ve benzerliğin tahmininde kullanılmaktadır.

$$I' = \frac{J'_{xy}}{(J'_x J'_y)^{1/2}} \quad D' = -\ln I'$$

3.2.4.h. Polimorfik bilgi içeriği

Bir popülasyondaki genetik çeşitliliği ölçmek için kullanılan endekslerden en önemlilerinden birisi Polimorfik Bilgi İçeriği'dir (Botstein *et al.* 1980). PIC değeri bir popülasyon içindeki polimorfizmin belirlenmesinde, tespit edilebilen allellerin sayısı ve dağılım frekanslarına bağlı olarak kullanılan bir markörün değerini ifade etmektedir. Bu şekilde, markörün ayırım gücünün belirlenmesini sağlamaktadır (Nagy *et al.* 2012). PIC değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i^2 p_j^2$$

p_i : i allelinin frekansını,

p_j : j allelinin frekansını,

n : allel sayısını ifade etmektedir.

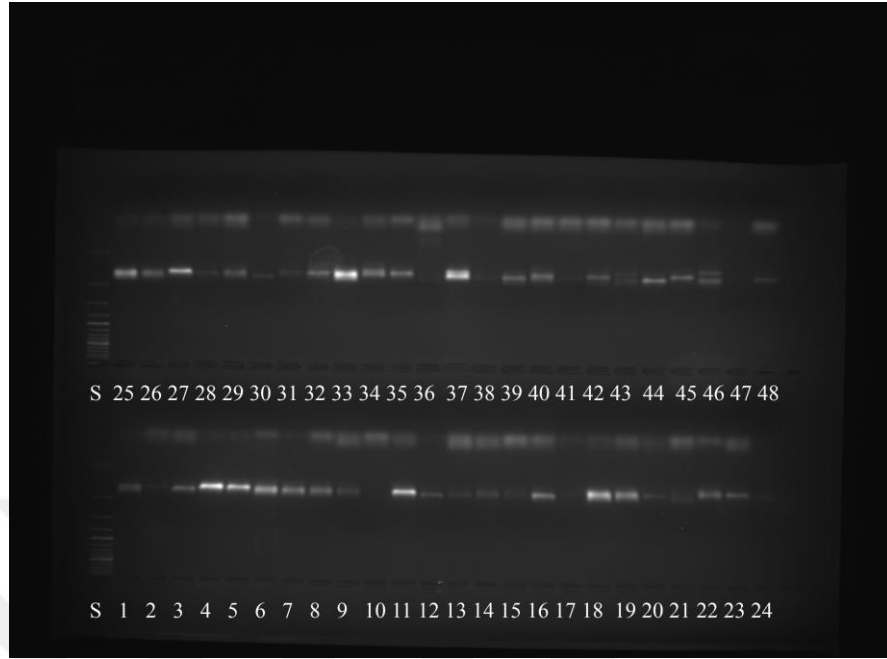
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Mikrosatellite (SSR) Primerlerine Ait Analiz Sonuçları

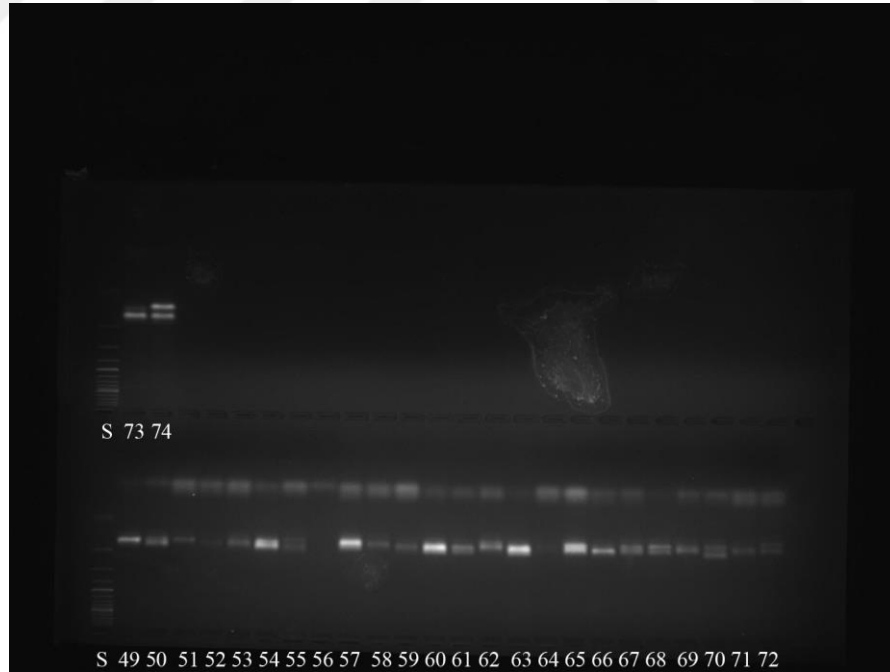
Çoruh Vadisi kaynaklı armut genotiplerinin moleküler karakterizasyonu amacıyla yürütülen araştırmada 6 adet armut ve 3 adet elma olmak üzere toplam 9 adet SSR primeri kullanılmıştır. 9 adedi standart çeşit, toplam 74 adet armut genotipinin kullanıldığı çalışmada kullanılan SSR primerinin tamamıyla istenilen amplifikasyonlar gerçekleşmiştir. Her primerle elde edilen bulgular ayrı ayrı ifade edilmiştir.

4.1.1. NH0021a Primerine ait SSR Analizi Sonuçları

İleri primeri %36,4 GC tekrarı içeren 22 baz uzunluğundaki, geri primeri %50 GC tekrarı içeren 22 baz uzunluğundaki 1 nolu primerden 150, 160 ve 175 bp olmak üzere toplam 3 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Materyal ve yöntem bölümünde belirtilmiş olan SSR protokolü ile istenilen amplifikasyon sağlanmış, karakterizasyon için kaliteli bantlar elde edilmiştir. 1-65 numaralı genotipler Çoruh Vadisi orijinli genotipleri, 66-74 numaralı genotipler standart çeşitleri ifade etmektedir. Çalışmada referans çeşit olarak kullanılan standart çeşitlerin tamamında arzu edilen bantlar elde edilmiştir. NH0021a isimli primere ait jel görüntüleri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1. NH0021a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri



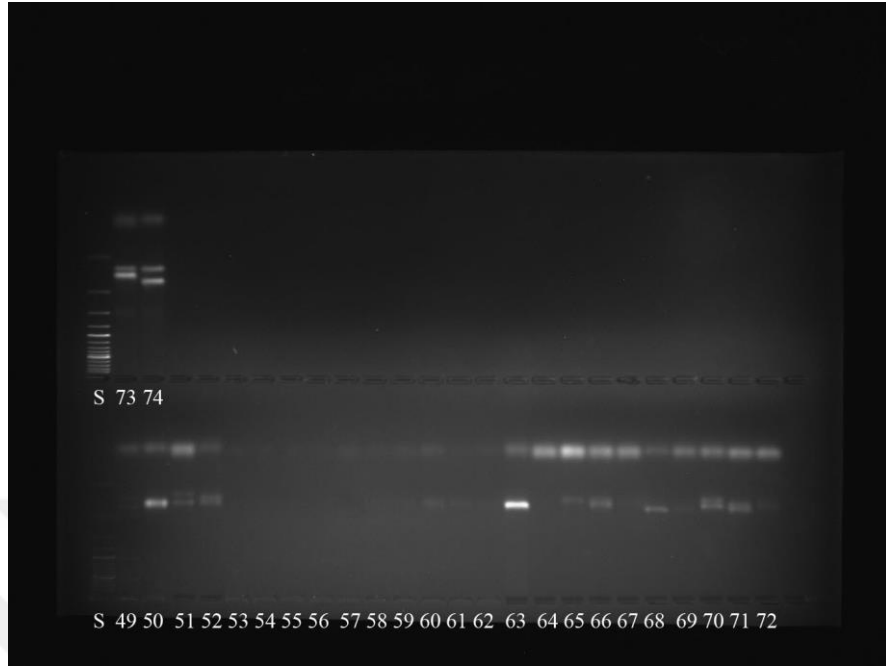
Şekil 4.2. NH0021a Primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri

4.1.2. NH0027a Primerine ait SSR Analizi Sonuçları

İleri primeri %47,6 oranda GC tekrarı içeren 21 baz uzunluğundaki, geri primeri aynı oranda GC tekrarı içeren 21 baz uzunluğundaki 2 nolu primerden 130, 140 ve 155 bp olmak üzere toplam 3 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Materyal ve yöntem bölümünde belirtilmiş olan SSR protokolü ile istenilen amplifikasyon sağlanmış, karakterizasyon için kaliteli bantlar elde edilmiştir. Çalışmada referans çeşit olarak kullanılan 67 numaralı Limon standart çeşidi hariç referans çeşitlerin tamamında arzu edilen bantlar elde edilmiştir. NH0027a isimli primere ait jel görüntüleri Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’de verilmiştir.



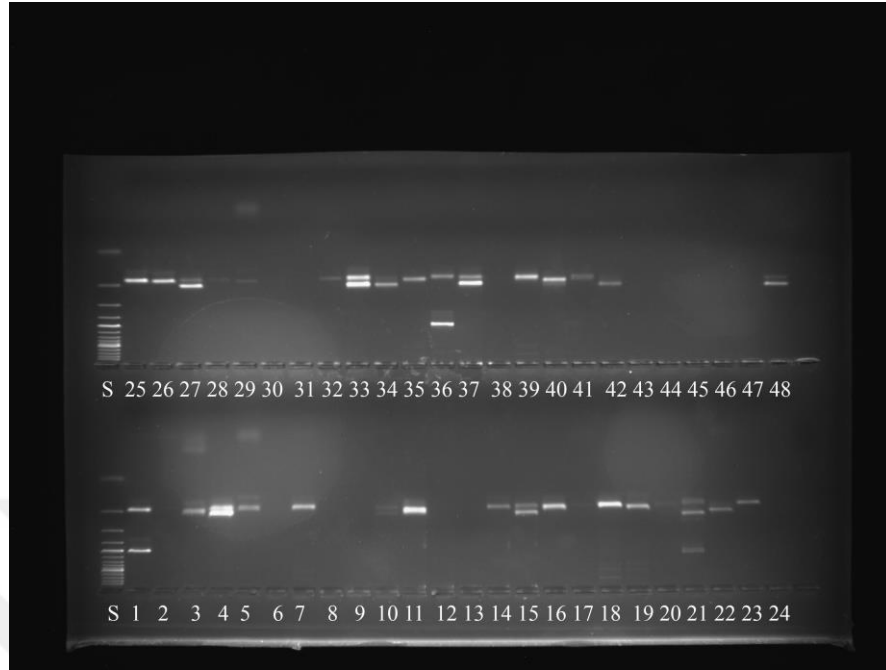
Şekil 4.3. NH0027a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri



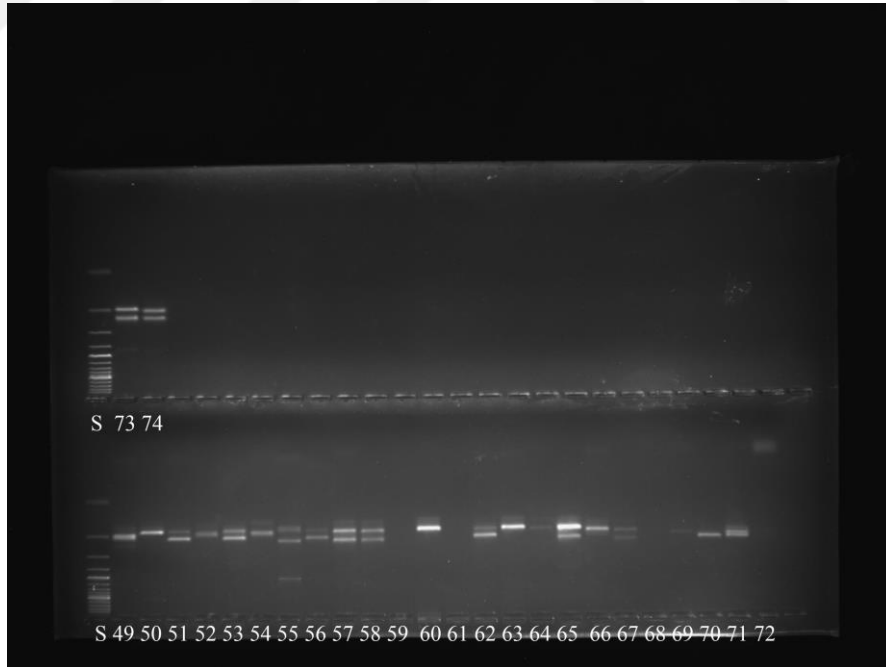
Şekil 4.4. NH0027a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri

4.1.3. BGT23b Primerine ait SSR Analizi Sonuçları

İleri primeri %26,3 GC tekrarı içeren 19 baz uzunluğundaki, geri primeri %45 GC tekrarı içeren 20 baz uzunluğundaki 3 nolu primerden 190, 205 ve 220 bp olmak üzere toplam 3 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Materyal ve yöntem bölümünde belirtilmiş olan SSR protokolü ile istenilen amplifikasyon sağlanmış, karakterizasyon için kaliteli bantlar elde edilmiştir. Çalışmada referans çeşit olarak kullanılan 68 numaralı B PLMO standart çeşidi hariç referans çeşitlerin tamamında arzu edilen bantlar elde edilmiştir. BGT23b isimli primere ait jel görüntüleri Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir.



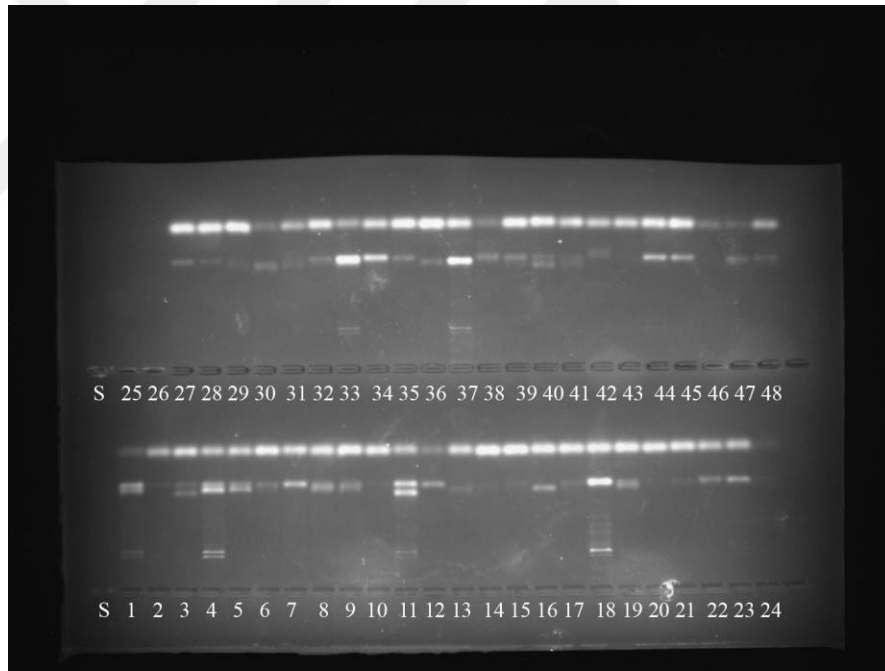
Şekil 4.5. BGT23b primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri



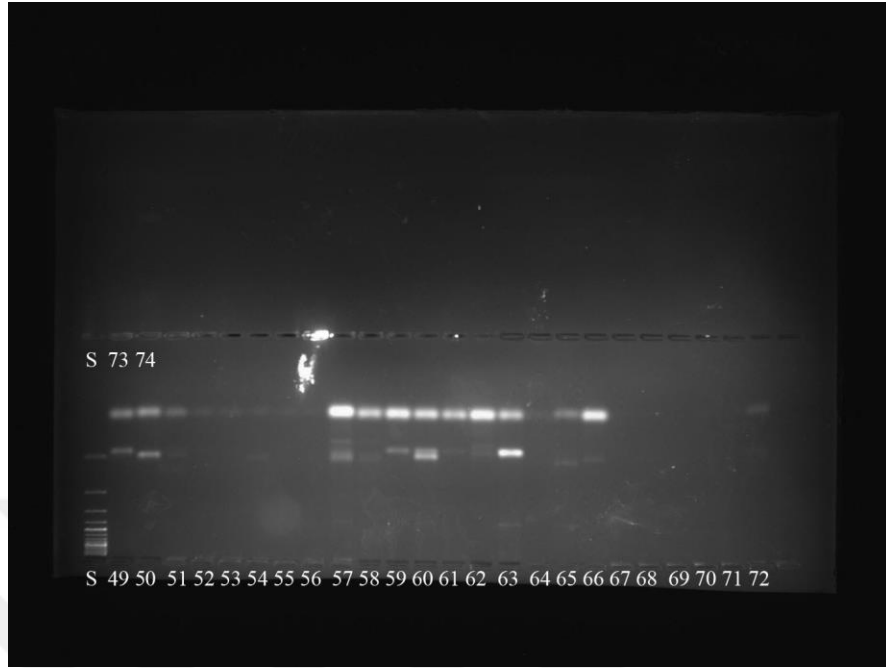
Şekil 4.6. BGT23b primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri

4.1.4. NH004a Primerine ait SSR Analizi Sonuçları

İleri primeri %50 GC tekrarı içeren 20 baz uzunluğundaki, geri primeri %50 GC tekrarı içeren 20 baz uzunluğundaki 4 nolu primerden 85, 95, 105 bp olmak üzere toplam 3 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Materyal ve yöntem bölümünde belirtilmiş olan SSR protokolü ile istenilen amplifikasyon sağlanmış, karakterizasyon için kaliteli bantlar elde edilmiştir. Çalışmada referans çeşit olarak kullanılan 66 numaralı Mustafabey ve 74 numaralı Kieffer çeşidi hariç diğer standart çeşitlerde istenilen bantlar elde edilememiştir. NH004a isimli primere ait jel görüntüleri Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de verilmiştir.



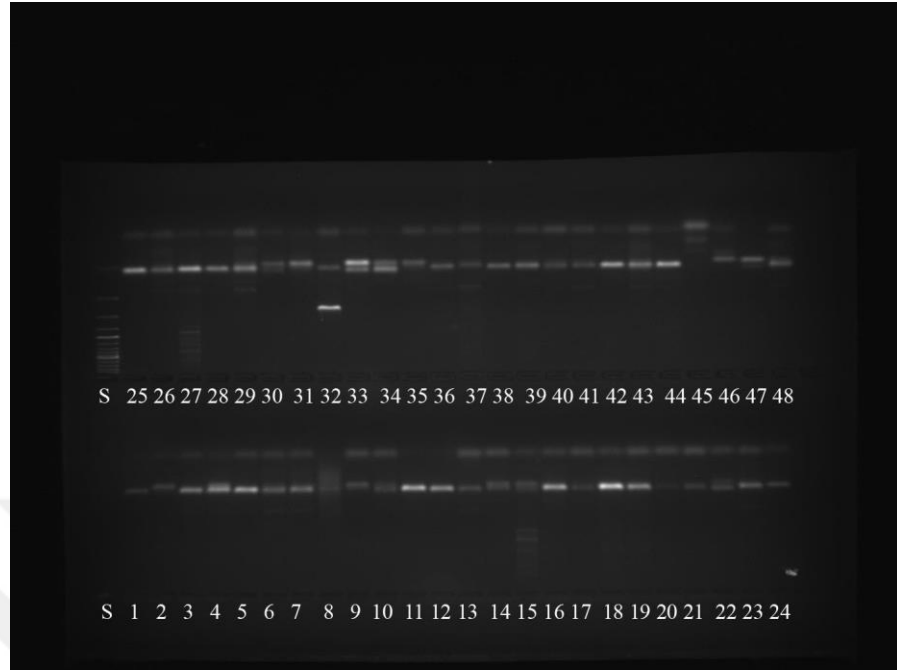
Şekil 4.7. NH004a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri



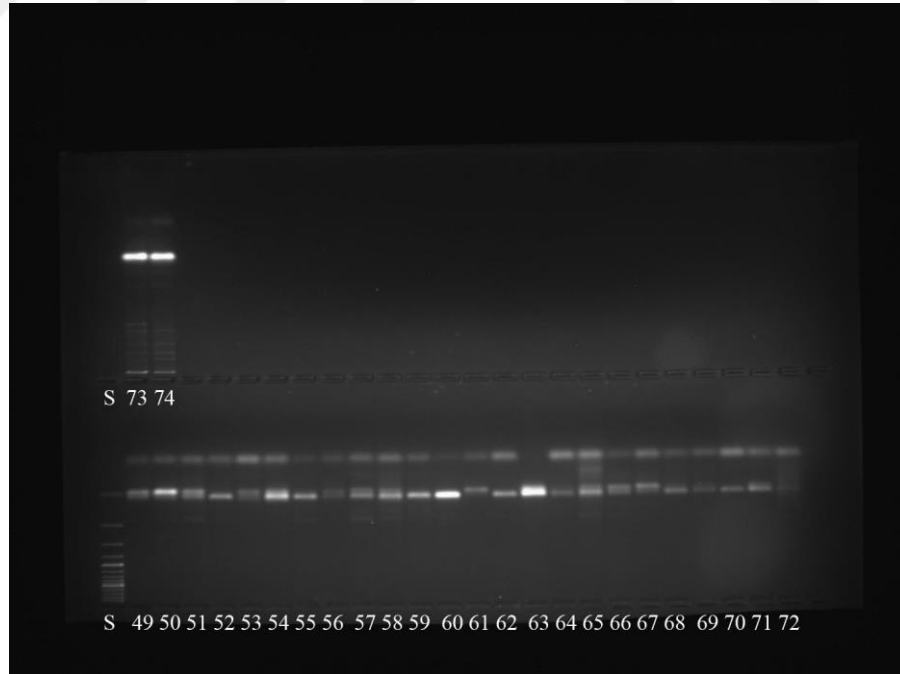
Şekil 4.8. NH004a primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri

4.1.5. KA4b Primerine ait SSR Analizi Sonuçları

İleri primeri %45 GC tekrarı içeren 20 baz uzunluğundaki, geri primeri %60 GC tekrarı içeren 20 baz uzunluğundaki 5 nolu primerden 100 ve 110 bç olmak üzere toplam 2 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Materyal ve yöntem bölümünde belirtilmiş olan SSR protokolü ile istenilen amplifikasyon sağlanmış, karakterizasyon için kaliteli bantlar elde edilmiştir. Çalışmada referans çeşit olarak kullanılan çeşitlerin tamamında istenilen bantlar elde edilmiştir. KA4b isimli primere ait jel görüntüleri Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.



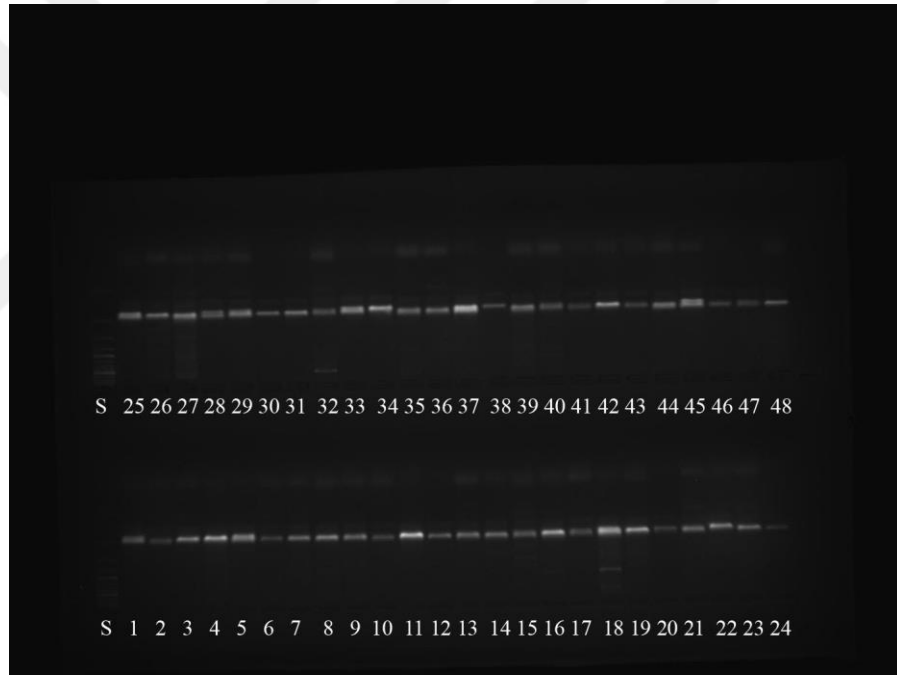
Şekil 4.9. KA4b primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri



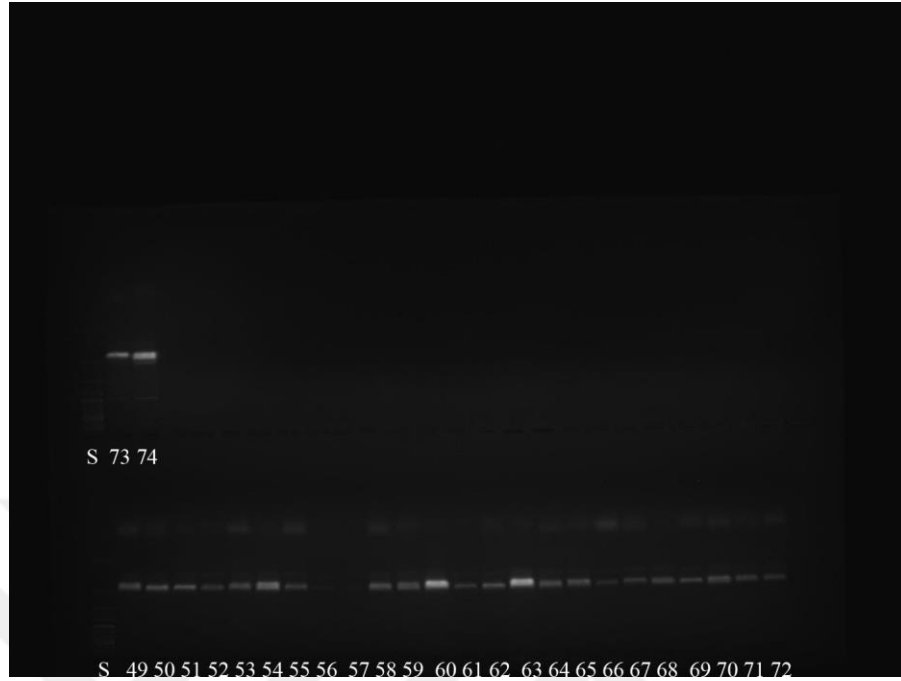
Şekil 4.10. KA4b primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri

4.1.6. KA14 Primerine ait SSR Analizi Sonuçları

İleri primeri %18,2 GC tekrarı içeren 22 baz uzunluğundaki, geri primeri %40 GC tekrarı içeren 20 baz uzunluğundaki 6 nolu primerden 185 ve 190 bp olmak üzere toplam 2 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Materyal ve yöntem bölümünde belirtilmiş olan SSR protokolü ile istenilen amplifikasyon sağlanmış, karakterizasyon için kaliteli bantlar elde edilmiştir. Çalışmada referans çeşit olarak kullanılan çeşitlerin tamamında istenilen bantlar elde edilmiştir. KA14 isimli primere ait jel görüntüleri Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de verilmiştir.



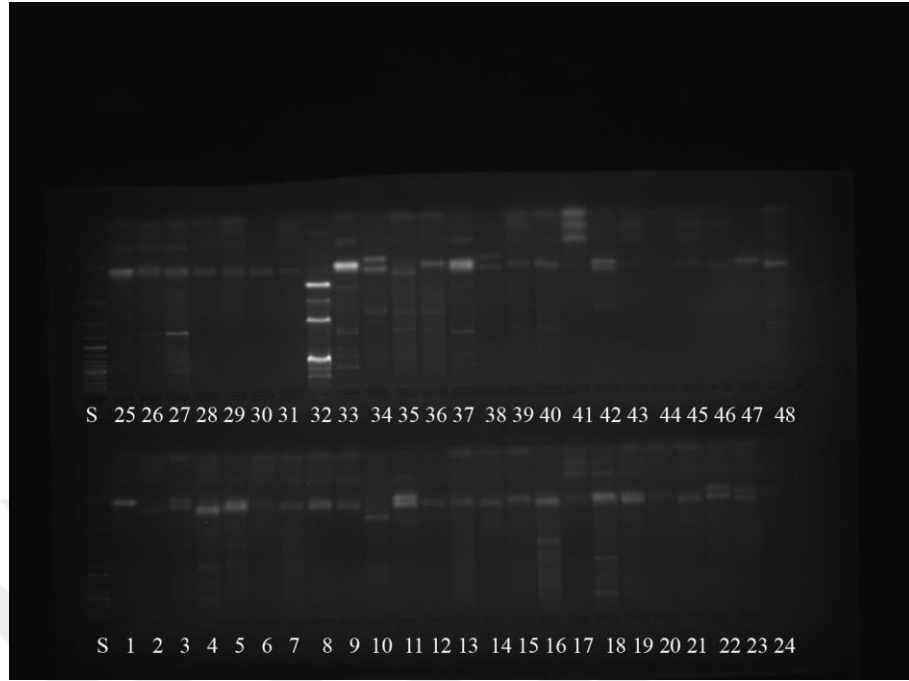
Şekil 4.11. KA14 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri



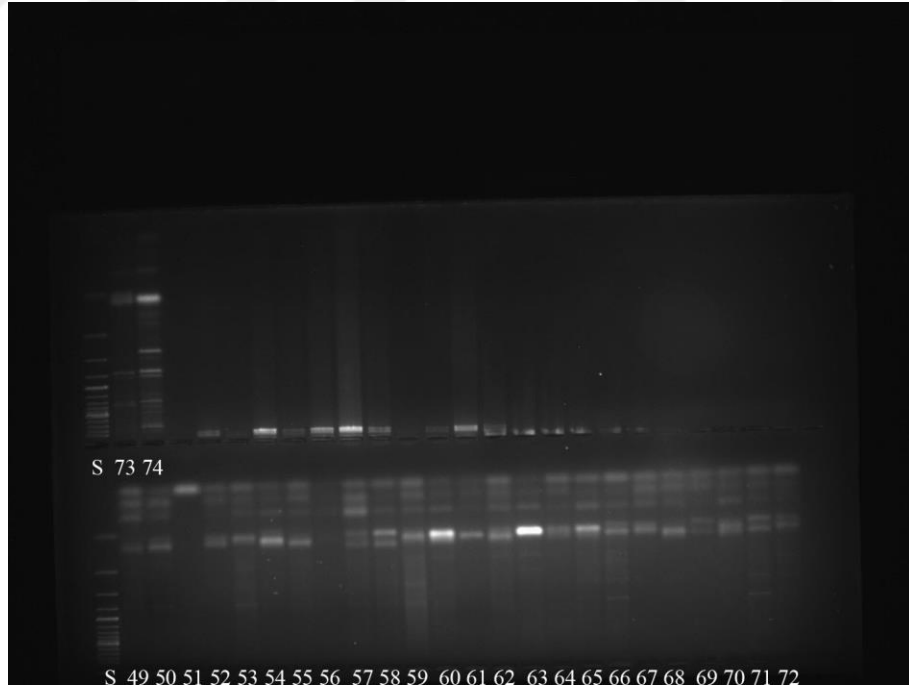
Şekil 4.12. KA14 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri

4.1.7. CH02d11 Primerine ait SSR Analizi Sonuçları

İleri primeri %61,1 GC tekrarı içeren 18 baz uzunluğundaki, geri primeri %45 GC tekrarı içeren 20 baz uzunluğundaki 7 nolu primerden 120, 130 ve 140 bp olmak üzere toplam 3 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Materyal ve yöntem bölümünde belirtilmiş olan SSR protokolü ile istenilen amplifikasyon sağlanmış, karakterizasyon için kaliteli bantlar elde edilmiştir. Çalışmada referans çeşit olarak kullanılan çeşitlerin tamamında istenilen bantlar elde edilmiştir. CH02d11 isimli primere ait jel görüntüleri Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de verilmiştir.



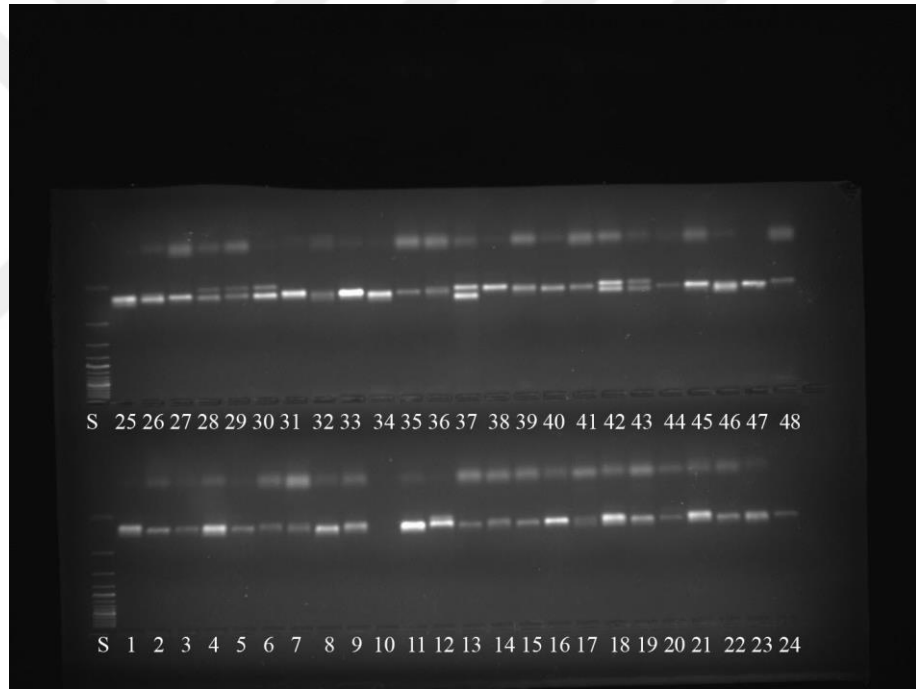
Şekil 4.13. CH02d11 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri



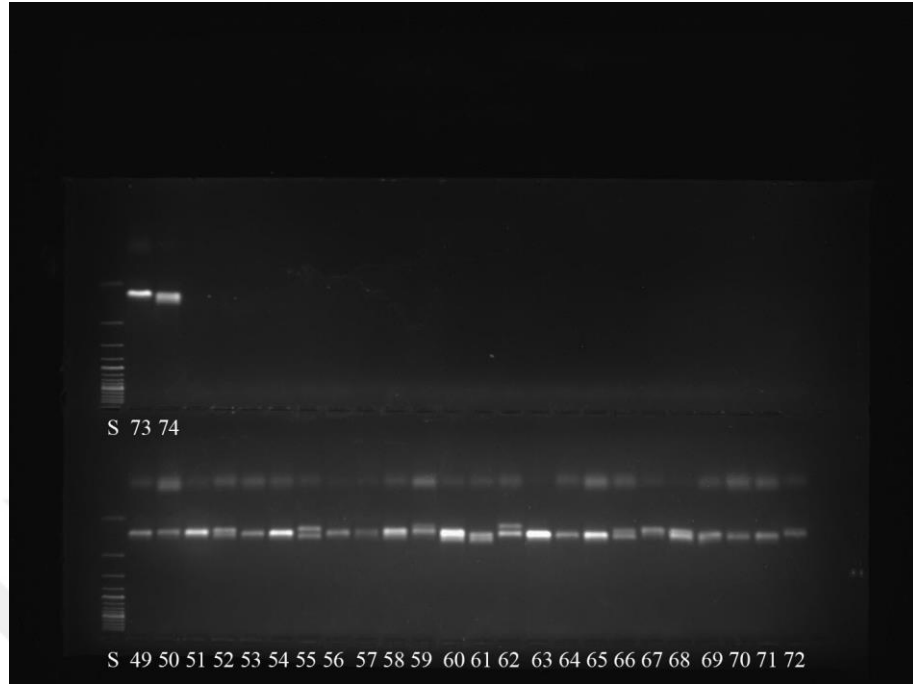
Şekil 4.14. CH02d11 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri (devamı)

4.1.8. CH02b10 Primerine ait SSR Analizi Sonuçları

İleri primeri %33,3 GC tekrarı içeren 24 baz uzunluğundaki, geri primeri %50 GC tekrarı içeren 20 baz uzunluğundaki 8 nolu primerden 120, 140 ve 150 bp olmak üzere toplam 3 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Materyal ve yöntem bölümünde belirtilmiş olan SSR protokolü ile istenilen amplifikasyon sağlanmış, karakterizasyon için kaliteli bantlar elde edilmiştir. Çalışmada referans çeşit olarak kullanılan çeşitlerin tamamında istenilen bantlar elde edilmiştir. CH02b10 isimli primere ait jel görüntüleri Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir.



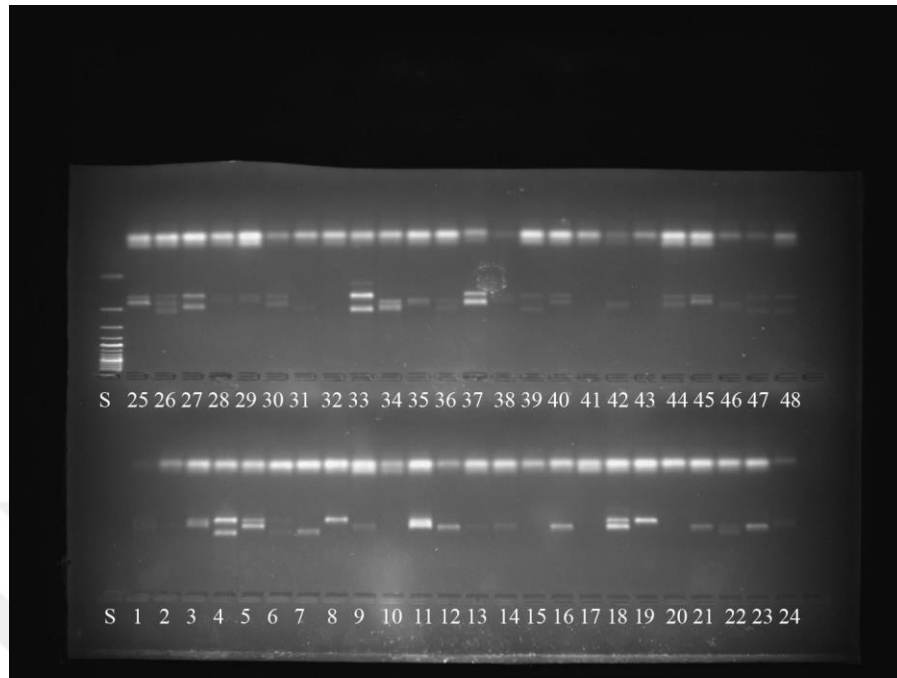
Şekil 4.15. CH02b10 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri



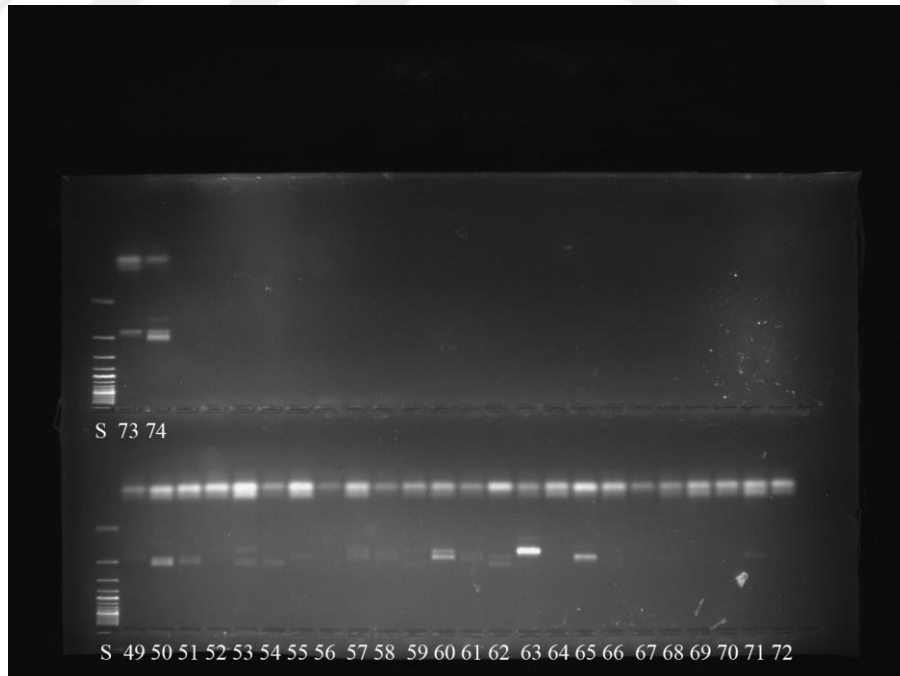
Şekil 4.16. CH02b10 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri

4.1.9. CH02f06 Primerine ait SSR Analizi Sonuçları

İleri primeri %52,4 GC tekrarı içeren 21 baz uzunluğundaki, geri primeri %50 GC tekrarı içeren 20 baz uzunluğundaki 10 nolu primerden 140, 170, 190 ve 205 bp olmak üzere toplam 4 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Materyal ve yöntem bölümünde belirtilmiş olan SSR protokolü ile istenilen amplifikasyon sağlanmış, karakterizasyon için kaliteli bantlar elde edilmiştir. Çalışmada referans çeşit olarak kullanılan Deveci, Williams ve Kieffer çeşitlerinden istenilen bantlar elde edilmiştir. CH02f06 isimli primere ait jel görüntüleri Şekil 4.17 ve Şekil 4.18’de verilmiştir.



Şekil 4.17. CH02f06 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri



Şekil 4.18. CH02f06 primeri ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profilleri

4.2. Armut Genotiplerinden Elde Edilen Allel Sayıları ve Allel Frekansları

Çalışmada 9 SSR primeri kullanılarak Çoruh Vadisi kaynaklı 66 genotip ve 9 standart çeşit olmak üzere toplam 74 armut genotipinde genetik çeşitliliğe ait allel sayıları ve frekansları tespit edilmiş ve bulgular Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Armut genotiplerinin 9 SSR lokusundaki allel büyüklükleri baz çifti (bç) olarak Çizelge 4.2’de belirtilmiştir.

SSR lokuslarından elde edilen bant büyüklükleri SSR analizi sonucunda toplam 26 allel belirlenmiştir. Ortalama allel sayısı 2,88 olurken, lokus başına allel sayısı 2 ile 4 arasında değişmiştir. En yüksek allel sayısı 4 allel ile CH02f06 primerinden elde edilirken, en düşük allel sayısı 2 allel ile KA4b ve KA14 primerlerinden elde edilmiştir. Kullanılan diğer 6 primerde ise 3 allel elde edilmiştir.

Lokus başına etkili allel sayısı 1,644 ile 2,695 arasında değişirken, ortalama etkili allel sayısı 2,265 olarak belirlenmiş, toplam etkili allel sayısı 20,387 olmuştur. En yüksek etkili allel sayısı CH02f06 (2,695) lokusundan, en düşük etkili allel sayısı KA4b (1,644) lokusundan elde edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Çalışılan SSR Primerlerine Göre Armut Genotiplerine Ait Genetik Parametreler

Primer	n	n _e	He	Ho	I	PIC
NH0021a	3	2,473	0,600	0,451	0,995	0,526
NH0027a	3	2,478	0,602	0,518	0,998	0,528
BGT23b	3	2,685	0,633	0,444	1,036	0,551
NH004a	3	2,133	0,536	0,250	0,881	0,456
KA4b	2	1,644	0,394	0,315	0,580	0,315
KA14	2	1,873	0,469	0,274	0,659	0,357
CH02d11	3	2,354	0,579	0,514	0,970	0,511
CH02b10	3	2,052	0,516	0,466	0,835	0,430
CH02f06	4	2,695	0,635	0,589	1,073	0,557
Toplam	26	20,387				
Ortalama	2,88	2,265	0,552	0,425	0,892	0,470

(n: allel sayısı, n_e: etkili allel sayısı, He: Beklenen Heterozigotluk, Ho: Gözlenen Heterozigotluk, I: Shannon Sabiti, PIC: Polimorfik Bilgi İçeriği)

Çizelge 4.2. Armut genotiplerinin 9 SSR lokusundaki allel büyüklükleri (bç)

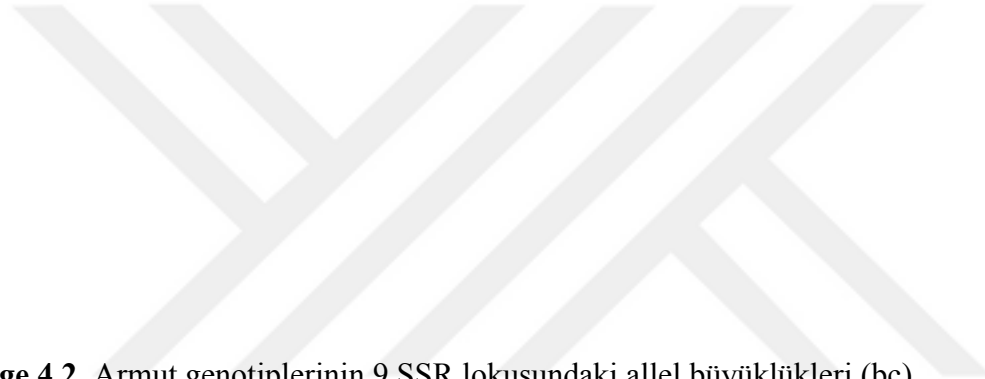
Genotip No	Genotip Adı	NH0021a	NH0027a	BGT23b	NH004a	KA4b	KA14	CH02d11	CH02b10	CH02f06
1	Elfaz I	160:175	130:140	205/205	85:95	110:110	185:190	120:120	120:140	170:190
2	Şenashora Armut	160:160	140:140	-:-	85:85	100:100	190:190	140:140	140:140	170:170
3	Kış Armudu I	160:160	155:155	205/205	85:105	110:110	185:185	120:130	120:120	170:190
4	Kazbudu Armut	150:150	140:140	190/205	85:95	100:110	185:185	140:140	120:140	170:205
5	Odrevül Armut	150:150	140:140	190/190	85:95	110:110	185:190	120:130	120:120	170:190
6	Velibey Armut	160:175	---	-:-	85:85	110:110	190:190	120:130	120:120	170:205
7	Kışlık Armut	160:175	140:140	190/190	85:85	110:110	190:190	130:130	120:120	205:205
8	Harman Sasela	160:175	130:130	-:-	95:95	110:110	190:190	120:130	140:140	170:170
9	Kleşya Armut	160:160	130:140	-:-	95:95	100:100	190:190	120:130	120:140	190:190
10	Sarı Armut	-:-	140:140	205/220	85:85	100:110	190:190	120:140	---	---
11	Ahil Kelek Armut	160:160	155:155	205/205	85:105	110:110	185:185	120:130	140:140	170:190
12	Mayroba Armut	175:175	140:140	-:-	85:85	110:110	190:190	130:130	120:140	190:190
13	Uzun Armut	175:175	140:140	-:-	95:95	110:110	190:190	130:130	140:140	190:190
14	Acura II	175:175	130:140	190/190	-:-	100:110	190:190	130:130	120:140	190:190
15	Tezgelen Sasela	160:160	130:140	190/205	85:85	100:110	190:190	120:120	120:120	---
16	Mayhoş Panta	175:175	140:140	190/190	95:95	110:110	190:190	130:130	120:120	190:190
17	Bozdoğan Armut	150:150	-:-	-:-	85:85	110:110	190:190	120:130	120:140	---
18	Yazlık Kaba Armut	160:175	140:140	190/190	85:85	110:110	185:190	120:130	120:140	170:190
19	Bey Armudu	160:175	130:130	205/205	95:95	110:110	185:185	120:130	120:140	170:170
20	Sakide Armudu	160:160	-:-	190/190	-:-	110:110	185:185	130:130	120:120	---
21	Kış Armudu II	175:175	140:140	190/220	85:85	110:110	190:190	130:130	120:140	190:190
22	Kırmızı Armut	160:160	130:140	205/220	85:85	100:110	185:185	120:130	120:140	190:205

Çizelge 4.2. Armut genotiplerinin 9 SSR lokusundaki allel büyüklükleri (bç)

Genotip No	Genotip Adı	NH0021a	NH0027a	BGT23b	NH004a	KA4b	KA14	CH02d11	CH02b10	CH02f06
23	Kış Armudu III	160:160	140:140	190/190	85:85	110:110	190:190	130:140	120:140	190:190
24	Sıgaltabla	175:175	-:-	-:-	85:85	110:110	190:190	130:130	120:120	170:170
25	Acura Armut	160:175	140:155	190/205	-:-	110:110	185:190	130:140	140:150	170:190
26	Arpa Armudu I	160:175	140:140	190/205	-:-	110:110	185:185	130:140	120:140	170:190:205
27	Kabak Armut	150:150	140:155	205/220	85:85	110:110	190:190	130:130	140:140	170:205
28	Meşe Armut	160:160	155:155	205/205	85:85	110:110	185:190	130:130	120:140	190:190
29	Işık Memed	160:160	140:155	190/205	95:95	110:110	185:190	130:140	120:140	170:190
30	Hınışya Armut	175:175	130:140	-:-	105:105	100:110	190:190	130:140	120:140	170:190
31	Lale Armut I	160:160	130:155	-:-	85:95	100:100	190:190	130:130	140:140	205:205
32	Kara Armut	160:160	-:-	205/205	85:85	110:110	190:190	130:130	140:150	---
33	Boşkova Armut	160:175	140:155	190/205/220	85:95	100:110	185:190	130:130	140:140	140: 170:205
34	Hanım Armudu	150:160	140:155	205/220	85:85	100:110	185:185	120:140	140:150	190:205
35	Sasela Armut	160:160	155:155	205/205	85:85	100:100	190:190	140:140	140:140	190:190
36	Turşu Armudu	175:175	140:155	190/190	95:95	110:110	190:190	130:130	140:140	190:205
37	Hacecür	150:160	140:155	205:220	95:95	110:110	185:190	130:140	140:150	170:190
38	Arpa Armudu II	160:160	---	---	85:85	110:110	185:185	120:140	140:140	170:170
39	Acı Panta	160:175	140:155	205:205	85:85	110:110	190:190	130:130	140:140	170:205
40	Bozsoğan	160:160	130:140	220:220	85:105	110:110	190:190	130:130	140:140	170:190
41	Lale Armut II	160:160	---	205:205	85:105	110:110	190:190	---	140:140	---
42	Nevga	160:175	140:155	220:220	85:85	110:110	185:185	130:140	120:140	190:190
43	Kış armudu IV	150:175	---	---	---	110:110	185:185	130:130	120:140	---
44	Panta	175:175	140:155	---	85:85	110:110	190:190	---	140:140	170:190

Çizelge 4.2. Armut genotiplerinin 9 SSR lokusundaki allel büyüklükleri (bç)

Genotip No	Genotip Adı	NH0021a	NH0027a	BGT23b	NH004a	KA4b	KA14	CH02d11	CH02b10	CH02f06
45	Nesva I	160:160	140:140	---	85:85	---	185:190	130:130	140:140	170:190
46	Uruset I	150:175	155:155	---	---	100:100	190:190	140:140	140:150	190:190
47	Üzüm Armut	---	---	---	85:85	100:110	185:190	130:130	140:140	170:205
48	Elfaz II	160:160	140:140	205:220	85:85	100:110	190:190	130:140	120:120	170:205
49	Yağ Armudu	160:160	140:155	205:205	85:85	100:110	185:190	130:130	140:140	170:190
50	Yeşil Anıt Armut	160:175	140:140	190:190	95:95	100:110	190:190	120:130	140:150	190:205
51	Görsitela I	150:150	130:140	190:205	85:95	100:110	190:190	---	140:140	190:205
52	Küle Armut	160:160	130:140	190:190	---	110:110	190:190	120:130	120:140	---
53	Alaattin	150:160	---	190:205	---	100:110	185:185	130:130	140:140	170:205
54	Bal Armudu	160:175	---	190:190	95:95	100:110	185:190	120:130	140:140	205:205
55	Boz Armut	150:175	---	190:220	---	110:110	190:190	130:130	120:140	190:190
56	Görsitela II	---	---	190:205	---	100:110	190:190	---	140:140	---
57	Tevrecül I	150:160	---	190:220	95:105	100:110	---	120:140	140:140	170:190
58	Tevrecül II	160:160	---	190:220	95:105	100:110	185:190	120:140	140:140	170:190
59	Cocula Armut	160:160	---	---	85:85	110:110	185:190	130:130	120:140	170:205
60	Beyaz Armut	160:175	140:155	190:190	85:95	110:110	185:190	120:130	140:140	170:190
61	Kınatora	160:175	140:155	---	85:85	100:100	190:190	130:130	140:150	170:190
62	Tekkale I	150:160	140:140	190:205	85:95	110:110	190:190	130:130	120:140	190:205
63	Akçaköy	160:175	140:140	190:190	95:95	110:110	185:190	120:120	140:140	140:170
64	Derecik- Koloyna	160:160	---	190:190	---	110:110	190:190	120:130	140:140	---
65	Yusufeli I	150:160	130:130	190:220	105:105	100:110	185:190	120:130	140:140	190:190



Çizelge 4.2. Armut genotiplerinin 9 SSR lokusundaki allel büyüklükleri (bç)

Genotip No	Çeşit Adı	NH0021a	NH0027a	BGT23b	NH004a	KA4b	KA14	CH02d11	CH02b10	CH02f06
66	Mustafabey	160:160	130:140	190:190	95:95	100:110	190:190	120:130	120:140	---
67	Limon	150:160	---	190:220	---	100:110	185:185	120:130	120:140	---
68	B PLMO	150:160	155:155	---	---	110:110	185:190	140:140	120:140	---
69	Coscia	150:160	155:155	190:190	---	100:110	185:185	120:140	140:150	---
70	Ankara	150:175	130:140	205:205	---	110:110	185:190	130:140	140:140	---
71	Deveci	160:160	140:155	190:205	---	100:110	185:185	120:140	140:150	190:190
72	Santa Maria	150:160	130:140	220:220	---	110:110	185:185	120:130	120:120	---
73	Williams	160:175	130:140	190:220	---	100:100	185:185	120:130	120:120	190:190
74	Kieffer	150:175	130:155	190:220	85:85	100:100	185:190	130:130	120:140	190:205

Lokuslarda genel olarak tekli (homozigot) ve ikili (heterozigot) alleller gözlenirken, BGT23b lokusunda 33 nolu genotipte (Boşkova Armut) ve CH02f06 lokusunda 26 ve 33 nolu genotiplerde (Arpa Amudu I, Boşkova Armut) üçlü alleller tespit edilmiştir. Tespit edilen üçlü alleller Çizlege 4.3'te özetlenmiştir.

Çizelge 4.3. Çalışılan SSR lokuslarında tespit edilen üçlü aleller

Lokus Adı	Tri Alleller - Allel Büyüklüğü (Genotip No)
BGT23b	190, 205, 220 (33)
CH02f06	170, 190, 205 (26); 140, 170, 205 (33)

Lokuslar itibari ile en yüksek allel frekansı veren alleller; NH0021a lokusunda 160 bp büyüklüğündeki allel (0,542), NH0027a lokusunda 140 bp büyüklüğündeki allel (0,545), BGT23b lokusunda 190 bp büyüklüğündeki allel (0,463), NH004a lokusunda 85 bp büyüklüğündeki allel (0,607), KA4b lokusunda 110 bp büyüklüğündeki allel (0,733), KA14 lokusunda 190 bp büyüklüğündeki allel (0,630), CH02d11 lokusunda 130 bp büyüklüğündeki allel (0,579), CH02b10 lokusunda 140 bp büyüklüğündeki allel (0,616) ve CH02f06 lokusunda 190 bp büyüklüğündeki alleldir (0,482) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. SSR primerlerine ait allel frekansları

Allel No	NH0021a	Allel Frekansı	NH0027a	Allel Frekansı	BGT23b	Allel Frekansı
1	150	0,176	130	0,188	190	0,463
2	160	0,542	140	0,545	205	0,352
3	175	0,282	155	0,268	220	0,185
Allel No	NH004a	Allel Frekansı	KA4b	Allel Frekansı	KA14	Allel Frekansı
1	85	0,607	100	0,267	185	0,370
2	95	0,304	110	0,733	190	0,630
3	105	0,090				
Allel No	CH02d11	Allel Frekansı	CH02b10	Allel Frekansı	CH02f06	Allel Frekansı
1	120	0,236	120	0,322	140	0,009
2	130	0,579	140	0,616	170	0,321
3	140	0,186	150	0,062	190	0,482
4					205	0,188

4.3. Armut Genotiplerinde Hesaplanan Shannon Sabiti

Genetik çeşitliliğin tespitinde önemli bir parametre olan Shannon Sabiti heterozigotluğu destekleyen bir parametredir. Her bir lokus için hesaplanan Shannon Sabiti lokuslara göre 0,580 ile 1,073 değerleri arasında bulunmuştur. En düşük değer KA4b lokusunda elde edilirken en yüksek değer CH02f06 lokusunda elde edilmiştir. Ortalama Shannon Sabiti değeri 0,892 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

4.4. Armut Genotipleri Arasındaki Heterozigotluk

Genetik varyasyonun bir ifadesi olarak heterozigotluk (beklenen ve gözlenen) değerleri incelendiğinde; lokuslara göre beklenen heterozigotluk 0,394 ile 0,635 değerleri arasında bulunmuş, en düşük beklenen heterozigotluk değeri KA4b lokusunda elde

edilirken, en yüksek beklenen heterozigotluk değeri CH02f06 lokusundan elde edilmiştir. Lokuslara göre gözlenen heterozigotluk 0,250 ile 0,589 değerleri arasında bulunmuştur. En düşük gözlenen heterozigotluk değeri NH004a lokusundan elde edilirken, en yüksek gözlenen heterozigotluk değeri CH02f06 lokusundan elde edilmiştir. Çalışmada ortalama beklenen heterozigotluk değeri 0,552 olurken, ortalama gözlenen heterozigotluk değeri 0,425 olarak belirlenmiştir. Bütün lokuslarda beklenen heterozigotluk değerleri gözlenen heterozigotluk değerlerinden yüksek bulunmuştur. (Çizelge 4.1).

4.5. Armut Genotiplerinde Kullanılan SSR Primerlerinin Polimorfik Bilgi İçeriği

Polimorfik Bilgi İçeriği çalışmada kullanılan lokuslara göre 0,315 ile 0,557 değerleri arasında bulunmuştur. En düşük Polimorfik Bilgi İçeriği değerine sahip lokus KA4b lokusu olurken en yüksek Polimorfik Bilgi İçeriği değerine sahip lokus CH02f06 lokusu olmuştur. Ortalama Polimorfik Bilgi İçeriği değeri 0,470 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

4.6. Armut Genotiplerinin F İstatistiği

Armut genotipleri arasındaki çeşitliliğin bir başka ifadesi olarak Fiksasyon indeksi kullanılmaktadır. Fiksasyon indeksi soy içi eşleşme indeksi olarak da anılmaktadır. Lokuslar itibari ile ortalama Fiksasyon indeksi (F_{IS}) 0,047 ile 0,490 değerleri arasında bulunmuştur. En yüksek F_{IS} değeri NH004a lokusunda elde edilirken en düşük F_{IS} değeri CH02f06 lokusundan elde edilmiştir. Her bir lokustan elde edilen allellere göre hesaplanan F_{IS} değerleri Çizelge 4.5'te sunulmuştur. CH02d11, CH02b10 ve CH02f06 lokuslarında bazı allellerde görülen negatif değerler heterozigotluk fazlalığını işaret etmektedir.

Çizelge 4.5. SSR primerlerine ait F_{IS} değerleri

Allel No	NH0021a	F_{IS}	NH0027a	F_{IS}	BGT23b	F_{IS}
1	150	0,272	130	0,121	190	0,330
2	160	0,234	140	0,028	205	0,350
3	175	0,234	155	0,272	220	0,141
Total		0,246		0,140		0,273
Allel No	NH004a	F_{IS}	KA4b	F_{IS}	KA14	F_{IS}
1	85	0,551	100	0,195	185	0,412
2	95	0,578	110	0,195	190	0,412
3	105	0,341				
Total		0,490		0,195		0,412
Allel No	CH02d11	F_{IS}	CH02b10	F_{IS}	CH02f06	F_{IS}
1	120	-0,071	120	0,216	140	-0,009
2	130	0,150	140	0,015	170	-0,064
3	140	0,244	150	-0,066	190	0,142
4					205	0,121
Total		0,107		0,099		0,047

4.7. Genetik Mesafe Değerleri ve Genetik İlişki Dendogramı

Çoruh Vadisi orijinli armut genotipleri arasındaki genetik mesafe değerleri Çizelge 4.6'da, genetik mesafe değerleriyle elde edilen genetik ilişki dendogramı Şekil 4.19'da sunulmuştur.

Araştırmada kullanılan armut genotipleri arasındaki genetik mesafe (benzerlik) değerleri 0,0 ile 0,9 arasında tespit edilmiştir. Sıfır değeri benzerliği, sıfırdan uzaklaşan her değer farklılığı ifade etmektedir. Genotipler arasındaki en yüksek benzerlik oranı %100 ile 21

(Kış Armudu II) ve 12 (Mayroba Armut) numaralı genotipler ile 56 (Görsitela I) ve 51 (Görsitela II) numaralı genotipler arasında tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Bazı genotipler arasındaki genetik benzerlik oranları yüksek bulunmuştur. 45 (Nesva I) ve 49 (Yağ Armudu) numaralı genotipler arasındaki, 21 (Kış Armudu II) ve 55 (Boz Armut) numaralı genotipler arasındaki, 57 (Tevrecül I) ve 58 (Tevrecül II) numaralı genotipler arasındaki, Mustafabey çeşidi (66) ve 52 (Küle Armut) numaralı genotip arasındaki, Mustafabey çeşidi (66) ve 9 (Kleşya Armut) numaralı genotip arasındaki genetik farklılık oranı %3,6 olarak hesaplanmıştır. Yani bu genotipler arasındaki genetik benzerlik oranı %96,4'tür. Ayrıca 10 (Sarı Armut) ve 48 (Elfaz II) numaralı genotipler arasındaki, 47 (Üzüm Armut) ve 49 (Yağ Armudu) numaralı genotipler arasındaki genetik farklılık oranı %4,2 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).

En yüksek genetik farklılık oranı %90,0 ile 46 (Uruset I) ve 20 (Sakide Armutu) numaralı genotipler arasında tespit edilmiştir. 35 (Sasela Armut) ve 20 (Sakide Armutu) numaralı genotipler arasındaki genetik farklılık oranı %83,3 olmuş, 38 (Arpa Armutu II) ve 16 (Mayhoş Panta) numaralı genotipler ve 72 (Santa Maria) numaralı standart çeşit ve 35 (Sasela Armut) numaralı genotip arasındaki genetik farklılık oranı %82,2 olarak tespit edilmiştir. 2 (Şenashora Armut) ve 20 (Sakide Armutu) numaralı genotipler arasındaki, 2 (Şenashora Armut) ve 43 (Kış armudu IV) numaralı genotipler arasındaki, 35 (Sasela Armut) ve 43 (Kış armudu) numaralı genotipler arasındaki ve 73 (Williams) numaralı standart çeşit ve 41 (Lale Armut II) numaralı genotip arasındaki genetik farklılık oranı %80,0 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Armut genotipleri arasındaki genetik ilişki dendogramı incelendiğinde 2 ana grup ortaya çıkmış, 1. ana grupta 2 (Şenashora Armut), 35 (Sasela Armut) ve 46 (Uruset I) numaralı genotipler yer almış, bu genotipler diğer bütün genotiplerden farklılaşmıştır. 2. ana grubun 1. grubunun 1. alt grubu 2 alt gruba daha ayrılmıştır. Birinci alt grupta 8, 64, 66, 52, 54, 50, 63, 9, 21, 12, 55, 16, 36, 13, 30, 14 numaralı genotipler ikinci alt grupta 49, 45, 47, 59, 53, 60, 33, 32, 28, 41, 40 56, 51, 62, 27, 17, 44, 39, 70, 74, 61, 31 numaralı genotipler yer almıştır. 2. ana grubun 1. grubunun 2. alt grubunda ise 7,6, 24, 48, 10 ve

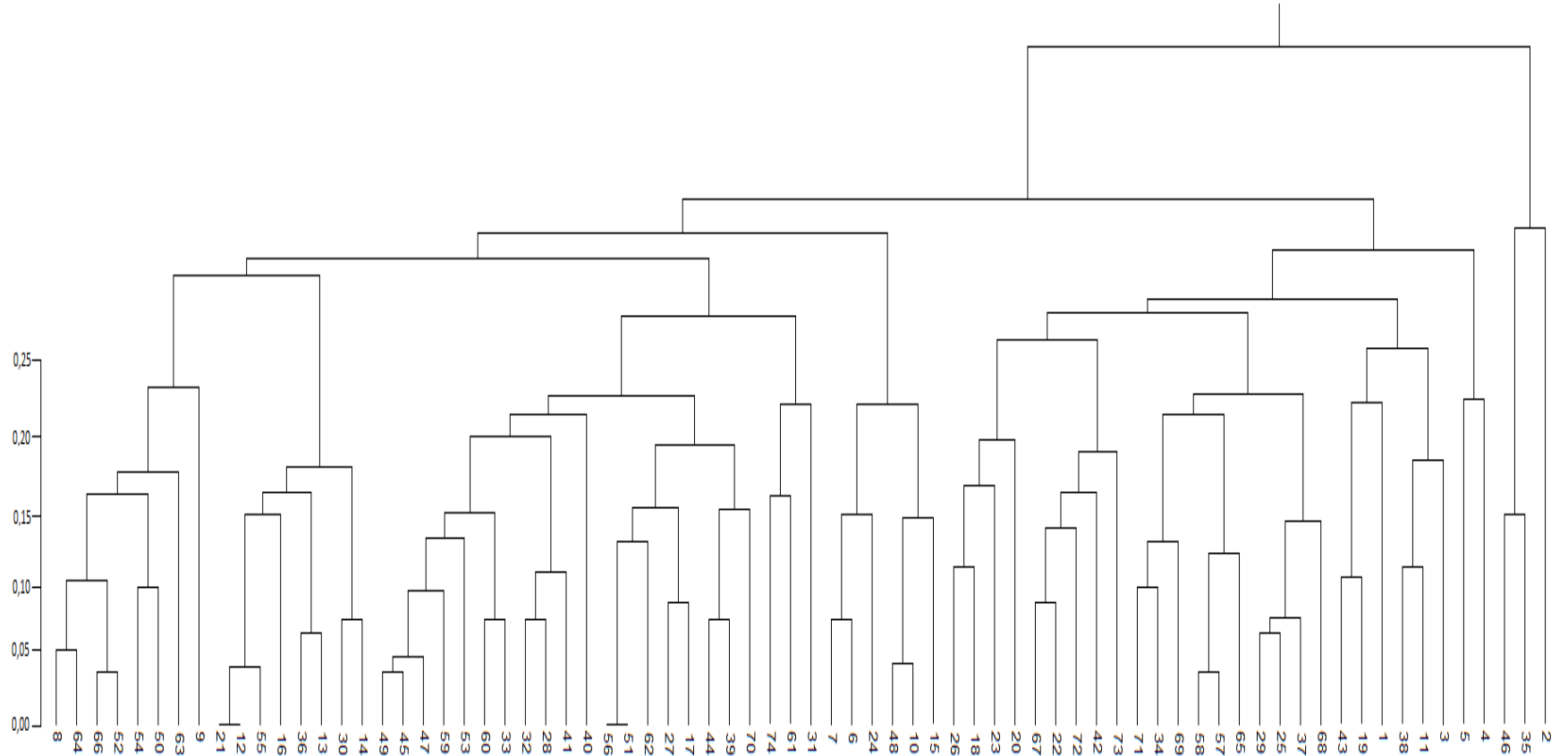
15 numaralı genotipler yer almıştır. Standart çeşitlerden Mustafabey (66), Ankara (70) ve Kieffer (74) armut çeşitleri bu grupta yer almıştır.

2. ana grubun 2. grubunun 1. alt grubunda 26, 18, 23 20, 67, 22, 72, 42, 73, 71, 34, 69, 58, 57, 65, 29, 25, 37, 68 numaralı genotipler ve 43, 19, 1, 38, 11, 3 numaralı genotipler yer almış, 2. ana grubun 2. grubunun 2. alt grubunda ise 4 ve 5 numaralı genotipler yer almıştır. Standart çeşitlerden Limon (67), Santa Maria (72) , Williams (73), Deveci (71), Coscia (69) ve B PLMO (68) armut çeşitleri bu grupta yer almıştır.

Genetik ilişki dendogramı discriminant analizleriyle de değerlendirildiğinde 6 alt grubun ortaya çıktığı doğrulanmıştır.

Çizelge 4.6. Armut genotipleri arasındaki genetik mesafe değerleri

[illegible]



Şekil 4.19. Armut genotipleri ve çeşitleri arasındaki genetik ilişki dendogramı (soyağacı)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Araştırmada “Doğu Anadolu Bölgesi Meyve ve Bağ Genetik Kaynaklarının Araştırılması” isimli proje kapsamında 2011 ve 2012 yıllarında Çoruh Vadisi’nden selekte edilmiş ve Erzincan Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu’ndaki koleksiyon parselinde ex-situ koruması yapılan 65 armut genotipi ile referans olarak kullanılan 9 standart çeşidi içeren toplam 74 armut genotipinin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Genomda çok sayıda bulunabilen, ko-dominant, yüksek polimorfik, tekrar edilebilir, aynı cinse ait türler ve aynı familyaya ait cinsler arası transfer edilebilir özellikleriyle ön plana çıkan armut ve elmadan elde edilen SSR markörleri moleküler karakterizasyonun başarılı şekilde gerçekleştirilmesine olanak sağlamıştır. Daha önceki birçok çalışmalarda rapor edildiği üzere armut genotipleri için çalışmamızda da elmadan izole edilen SSR markörleriyle başarılı şekilde amplifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. Rosaceae familyası, Maloideae alt familyası içine giren türlere ait genomlarda SSR markörlerinin homolog bağlanma noktaları bulabileceği birçok çalışmada ifade edilmiştir. Ayrıca, birçok SSR lokusunun elma ve armut kromozomlarında benzer bölgelerde bulunabileceği ortaya konulmuştur (Pierantoni *et al.* 2004; Celton *et al.* 2009). 2013 yılında Çin’de tamamlanan armut genom projesi sonuçlarına göre armut ve elmanın genetik açıdan çok yakın olduğu, iki tür arasındaki temel farkın aktif olarak yer değiştiren tekrar bölgelerinden kaynaklandığı ileri sür÷lm÷ştür. Aynı araştırmanın sonuçlarına göre elma ve armudun gen sayısı açısından da eşit olduğu ifade edilmiştir (Silva *et al.* 2014). Yamamoto *et al.* (2004) ve He *et al.* (2011) elma ve armuttan izole edilen SSR markörlerinin ayvada da kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır. Fan *et al.* (2013) bünyesinde 3000’den fazla türü barındıran Rosaceae familyasındaki türlerde armuttan izole edilen SSR primerlerinin kullanılabileceğini ifade etmişlerdir. Araştırmada kullandığımız elmalardan izole edilen 3 SSR markörüyle (CH02d11, CH02b10, CH02f06) arzu edilen amplifikasyonlar gerçekleşmiş, bu markörler armut SSR markörleri gibi polimorfik alleller üretmiştir.

Armut genotiplerinde farklı SSR primerlerinden elde edilen allel büyüklükleri genetik çeşitliliğin önemli bir göstergesidir. Ulusal ve uluslararası genetik orijin çalışmaları açısından benzer SSR primerlerinin kullanımı önem arz etmektedir. Bu açıdan aynı SSR lokusundan elde edilen allellerdeki (bantlardaki) büyüklüklere dikkat etmek gerekmektedir. Araştırmada kullanılan SSR primerlerinden elde edilen bant büyüklükleri diğer araştırmalarda elde edilen bant büyüklükleriyle uyumludur. Nitekim, bu araştırmada NH0021a isimli 1 numaralı primerde 150-175 bp arasındaki büyüklüklerde polimorfik bantlar elde edilmiştir. Benzer olarak Altınbay (2012) 137-171 bp büyüklüğünde, Faoro *et al.* (2012) 145-200 bp büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir. Bu araştırmada NH0027a isimli 2 numaralı primerde 130-155 bp arasındaki büyüklüklerde polimorfik bantlar elde edilirken; önceki araştırmalarda Wolko *et al.* (2010) 138-160 bp büyüklüğünde, Faoro *et al.* (2012) 130-185 bp büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir. Çalışmamızda BGT23b isimli 3 numaralı primerde 190-220 bp arasındaki büyüklüklerde polimorfik bantlar elde edilirken; önceki araştırmalarda Yamamoto *et al.* (2002) 184-236 bp büyüklüğünde, Bao *et al.* (2007) 180-230 bp büyüklüğünde, Wolko *et al.* (2010) 176-214 bp büyüklüğünde, Yakovin *et al.* (2011) 174-240 bp büyüklüğünde, Erfani *et al.* (2012) 185-241 bp büyüklüğünde, Rana *et al.* (2015) 235-350 bp büyüklüğünde, Wolko *et al.* (2015) 164-239 bp büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir. Çalışmamızda NH004a isimli 4 numaralı primerde 85-105 bp arasındaki büyüklüklerde polimorfik bantlar elde edilirken; önceki araştırmalarda Bao *et al.* (2007) 73-130 bp büyüklüğünde, Altınbay (2012) 78-104 bp büyüklüğünde, Yakovin *et al.* (2011) 82-108 bp büyüklüğünde, Erfani *et al.* (2012) 87-120 bp büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir. Bu çalışmada KA4b isimli 5 numaralı primerde 100-110 bp arasındaki büyüklüklerde polimorfik bantlar elde edilirken; önceki araştırmalarda Yamamoto *et al.* (2002) 95-137 bp büyüklüğünde, Altınbay (2012) 81-137 bp büyüklüğünde, Faoro *et al.* (2012) 100-180 bp büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir. KA14 isimli 6 numaralı primerde 185-190 bp arasındaki büyüklüklerde polimorfik bantlar elde edilmiştir. Bu primerde Yamamoto *et al.* (2002) 179-193 bp büyüklüğünde, Wolko *et al.* (2010) 170-205 bp büyüklüğünde, Altınbay (2012) 177-189 bp büyüklüğünde, Faoro *et al.* (2012) 280-300 bp büyüklüğünde, Tian *et al.* (2012) 177-187 bp büyüklüğünde, Wolko *et al.* (2015) ise 171-199 bp büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir. Bu araştırmada CH02d11 isimli 7 numaralı primerde 120-140 bp arasındaki büyüklüklerde polimorfik bantlar elde

edilirken; bu primerde önceki araştırmalarda Brini *et al.* (2008) 99-130 bç büyüklüğünde, dos Santos *et al.* (2011) 95-129 bç büyüklüğünde, Faoro *et al.* (2012) 100-160 bç büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir. CH02b10 isimli 8 numaralı primerde 120-150 bç arasındaki büyüklüklerde polimorfik bantlar elde edilmiştir. Bu primerde Evans *et al.* (2008) 112-160 bç büyüklüğünde, dos Santos *et al.* (2011) 112-161 bç büyüklüğünde, Altınbay (2012) 120-144 bç büyüklüğünde, Erfani *et al.* (2012) 82-95 bç büyüklüğünde, Faoro *et al.* (2012) 120-165 bç büyüklüğünde, Gasi *et al.* (2013) 103-155 bç büyüklüğünde, Asanidze *et al.* (2014) 107-149 bç büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir. Bu araştırmada CH02f06 isimli 9 numaralı primerde 140-205 bç arasındaki büyüklüklerde polimorfik bantlar elde edilirken; önceki çalışmalarda Altınbay (2012) 154-202 bç büyüklüğünde ve Faoro *et al.* (2012) ise 130-185 bç büyüklüğünde bantlar elde etmişlerdir.

Genetik varyasyonun en önemli göstergelerinden birisi olan lokus başına düşen allel sayısı allelik zenginlik olarak da nitelendirilmekte ve popülasyondaki çeşitlilik hakkında bilgi vermektedir. Allel sayısı itibarıyla 65 armut genotipi ve 9 standart çeşitte 9 SSR lokusu kullanılarak toplam 26 allel, lokus başına 2,88 allel elde edilmiştir. Ortalama etkili allel sayısı 2,265 olarak belirlenmiştir. Yamamoto *et al.* (2002) 8 SSR lokusu kullanarak 32 armut varyetesinde toplam 65 allel, lokus başına 8,12 allel elde etmiş; Urbanovich *et al.* (2011) 17 SSR lokusu kullanarak 43 armut genotipinde toplam 217 allel, lokus başına 12,8 allel elde etmiş; Erfani *et al.* (2012) 28 SSR lokusu kullanarak 47 armut genotipinde toplam 174 allel, lokus başına 6,21 allel elde etmiş; Altınbay (2012) 10 SSR lokusu kullanarak 46 yerli ve 4 referans çeşitte toplam 117 allel, lokus başına ortalama 11,7 allel elde etmiş; Sehic *et al.* (2012) 10 SSR lokusu kullanarak 86 armut genotipinde 104 allel, lokus başına ortalama 10,4 allel elde etmiş; Gasi *et al.* (2013) 11 SSR lokusu kullanarak 64 armut aksesyonunda toplam 159 allel, lokus başına 14,5 allel elde etmiş; Rugienius *et al.* (2013) 9 SSR lokusu kullanarak 84 armut aksesyonunda toplam 152 allel, lokus başına 17 allel elde etmiş; Akçay *et al.* (2014) ise 18 SSR lokusu kullanarak 228 armut aksesyonunda toplam 308 allel, lokus başına 17,11 allel elde etmişlerdir. Araştırmada farklı SSR lokuslarından elde edilen allel sayısı diğer çalışmalarda farklı armut genotipleri kullanılarak elde edilen allel sayıları ile kıyaslandığında düşük ya da yüksek olduğu ifade edilebilir. Bu durum PCR reaksiyonu

sonrası kullanılan hassas elektroforez cihazlarıyla (kapiler elektroforez vb.), analizi yapılan az veya çok sayıdaki farklı genotiplerle ve kullanılan farklı SSR lokuslarıyla alakalı olabilmektedir. Birçok çalışmada düşük veya yüksek sayıda elde edilen allel sayıları farklı araştırmacıların da (Liebhard *et al.* 2002; This *et al.* 2004; Urbanovich *et al.* 2011; Sakar *et al.* 2016) ifade ettiği üzere çalışmalarda kullanılan ekipmanlarla da alakalı olabilmektedir.

Çalışmamızda en düşük allel sayısı veren lokuslar 2 allel ile KA4b ve KA14 lokusları, en yüksek allel sayısı veren lokus 4 allel ile CH02f06 lokusu olmuştur. Yamamoto *et al.* (2002) ve Altınbay (2012)'in çalışmalarında KA4b ve KA14 lokusları; Stracieri *et al.* (2015)'in çalışmasında KA4b lokusu; Wolko *et al.* (2010), Tian *et al.* (2012) ve Akçay *et al.* (2014)'in çalışmalarında KA14 lokusu çalışmalarda kullanılan diğer lokuslarla kıyaslandığında düşük allel sayısı vermiştir.

Genetik çeşitliliğinin yoğun olduğu Çoruh Vadisi'nde birbirinden farklı genetik yapıda armutlar bulunabilmektedir. Çalışmada bazı lokuslarda tespit edilen üçlü alleller diğer birçok araştırmada aynı veya farklı SSR lokuslarında da tespit edilmiştir (Bao *et al.* 2007; dos Santos *et al.* 2011; Altınbay 2012; Gasi *et al.* 2013; Akçay *et al.* 2014; Queiroz *et al.* 2015). Çalışmada BGT23b ve CH02f06 lokuslarında üçlü alleller tespit edilmiş; BGT23b lokusundaki üçlü alleller Bao *et al.* (2007), Altınbay (2012) ve Akçay *et al.* (2014)'in çalışmalarında da gözlenmiştir. Birçok çalışmada tespit edilen üçlü allel sayısı yüksek oranda bulunmuş, bu durum genotiplerin triploid olmasına dayandırılmıştır. Örneğin dos Santos *et al.* (2011) 147 armut genotipi kullanarak yaptıkları çalışmada, armut genotiplerinin %36'sında (53 adet genotip) en az bir lokusta, %27'sinde ise birden fazla lokusta üçlü alleller tespit etmişlerdir. Araştırmacılar diploid genotiplerde hatta çalışmada kullanılan standart çeşitlerden Castell, Pendula, Chanticleer, Hosui ve Rome çeşitlerinde dahi bir lokusta üçlü allellerin gözlendiğini rapor etmişlerdir. Diploidlere göre daha ağır ve büyük meyvelere sahip triploid genotiplerin yetiştiriciler tarafından seçilmesi çalışmalarda yüksek oranda triploid genotiplere rastlanılmasına neden olduğu Ramos-Cabrer *et al.* (2007), dos Santos *et al.* (2011) ve Queiroz *et al.* (2015) tarafından ifade edilmiştir. Başka bir yaklaşımda buğdayda SSR analizleri sonucu elde ettikleri bant profillerini inceleyen Manifesto *et*

al. (2001) üçüncü bandın soluk (fainter), kalın (strong) veya tekrarlayan (stutter) bant olabileceğini vurgulamışlardır. Aslında farklı genotiplerin farklı bant profili vermesi de önemli bir varyasyon ifadesidir. Bu çıkarımlardan, üçlü allel tespit edilen genotiplerin gerçekten triploid olduklarını doğrulamak için Sehic *et al.* (2007) in belirttiği gibi ploidy testleri (flow cytometry) ve sitolojik çalışmaların yapılmasında fayda görülmektedir.

Araştırma sonuçları heterozigotluk açısından değerlendirildiğinde 74 armut genotipinde 9 SSR lokusunda beklenen heterozigotluk 0,394 ile 0,635 değerleri arasında (ortalama 0,552) bulunurken; gözlenen heterozigotluk değerleri 0,250 ile 0,589 arasında (ortalama 0,425) değişim göstermiştir. Çalışmada kullanılan BGT23b primerinde beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0,633-0,444 olarak belirlenmiştir. Diğer birçok araştırmada da bu primer kullanılmış, Bao *et al.* (2007) 0,8410-0,5102, Yakovin *et al.* (2011) 0,88-0,57, Altınbay (2012) 0,921-0,600, Erfani *et al.* (2012) 0,80-0,76, Akçay *et al.* (2014) 0,920-0,625 ve Rana *et al.* (2015) 0,89-0,87 değerlerini elde etmişlerdir. Bütün lokuslarda beklenen heterozigotluk değerleri gözlenen heterozigotluk değerlerinden yüksek bulunmuştur. Benzer olarak Wünsch and Hormaza (2007), Miranda *et al.* (2010), dos Santos *et al.* (2011), Yakovin *et al.* (2011), Dequigiovanni *et al.* (2012), Tian *et al.* (2012), Rugienius *et al.* (2013), Wolko *et al.* (2015) 'in çalışmalarında da birçok lokusta beklenen heterozigotluk değerleri gözlenen heterozigotluk değerlerinden yüksek bulunmuştur. Rugienius *et al.* (2013), gözlenen heterozigotluk değerlerinin beklenen heterozigotluk değerlerinden daha düşük olmasını doğal olarak yetişen armutların kendine dölenebilme olasılığına bağlamış, ayrıca bu durumun düşük allel sayıları veya sınırlı gen akışına bağlı olabileceğini ifade etmişlerdir. Popülasyon genetiği açısından bir popülasyondaki heterozigotluk değerleri o popülasyonun Hardy-Weinberg Eşitliğine uyup uymadığını göstermektedir. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinin aynı olması popülasyonun Hardy-Weinberg Eşitliğine uyduğunu yani bireyler arasında sorunsuzca eşleşmenin olabileceğini göstermektedir. Bu durum popülasyonun dengede olduğunu ve herhangi bir tehdidin popülasyonun geleceğini etkilemediğini göstermektedir. Beklenen heterozigotluk değerlerinin gözlenen heterozigotluk değerlerinden küçük olması heterozigotluğu artıran bir etkinin olduğuna işaret etmektedir. Beklenen heterozigotluk değerlerinin

gözlenen hetetozigotluk değerlerinden yüksek olması bireylerin birbiri arasında eşleşme ihtimalini ortaya çıkarmaktadır (McDonald 2008). Diğer taraftan Brookfield (1996) ve Yakovin *et al.* (2011) beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri arasındaki önemli farklılıkların bazı çeşitlerde homolog kromozomlarda bulunan boş (null) allellere bağlı olduğunu ifade etmişlerdir. Nispeten yüksek heterozigotluk değerleri armutların gametofitik kendine uyumsuz olmasıyla ve yabancı tozlanmasıyla alakalı olduğu diğer birçok araştırmada (Bao *et al.* 2007; Erfani *et al.* 2012; Akçay *et al.* 2014) rapor edilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz heterozigotluk değerlerini bu duruma bağlamak mümkündür.

Genetik çeşitliliğin önemli bir göstergesi olan Shannon Sabiti değerleri ile popülasyon içerisindeki fiksasyon (soy içi eşleşme) endeksini gösteren F_{is} değerlerinin negatif korelasyon içinde olduğu görülmüştür. Wolko *et al.* (2015) de yüksek heterozigotluk ve düşük F_{is} değerlerinin yüksek genetik çeşitliliğe işaret ettiğini ifade etmişlerdir. Çalışmada lokuslara göre ortalama PIC değeri 0,470 olarak hesaplanırken, ortalama Shannon Sabiti değeri 0,892 olarak, ortalama F_{is} değeri ise 0,229 olarak tespit edilmiştir.

Çoruh Vadisi orijinli armut genotipleri ve standart çeşitler arasındaki genetik mesafe değerleri hesaplandıktan sonra genetik ilişki dendogramı oluşturulmuş ve çalışmada kullanılan 4 yerel ve 5 uluslararası standart çeşidin de içerisinde yer aldığı 6 alt grup oluşmuştur. Genetik ilişki dendogramında diğer genotiplere göre ayrı bir grup oluşturan 2 (Şenashora Armut), 36 (Turşu Armudu) ve 46 (Uruset I) numaralı genotiplerin dayanıklılık ve heterosis gibi ıslah çalışmalarında kaynak olarak kullanılabilme potansiyeline sahip oldukları söylenebilir. Ancak morfolojik parametrelerin de dikkate alınması önem arz etmektedir.

Ülkemiz armut gen kaynaklarının doğru şekilde değerlendirilmesi için genotip karışıklığının ortadan kaldırılması önem arz etmektedir. Araştırmamızda kullandığımız armut genotipleri arasında benzerlik oranı %100 olan 2 şer adet genotip tespit edilmiştir. 21 numaralı Kış Armudu II ve 12 numaralı Mayroba Armut ile 51 numaralı Görsitela I ve 56 numaralı Görsitela II'nin sinonim oldukları düşünülmektedir. Muhafaza altında

olan bu genotiplerin morfolojik parametreleri de dikkate alınarak koruma parselinden uzaklaştırılması tavsiye edilmektedir. Aynı isimle anılan 3, 21, 23 ve 43 numaralı(Kış Armudu) genotipler, 31 ve 41 numaralı (Lale Armut) genotipler, 51 ve 56 numaralı (Görsitela) genotipler, 57 ve 58 numaralı (Tevrecül) genotipler ile 26 ve 38 numaralı (Arpa Armudu) genotiplerin homonim oldukları tespit edilmiş, farklı rakımlardan selekte edilen bu genotiplerin birbirinden farklı olduğu ortaya konulmuştur.

Genetik mesafe değerleri incelendiğinde genetik açıdan %96,4, %95,8 gibi oldukça yüksek oranlarda birbirine yakın genotiplerin olduğu görülmüştür. Bu genotiplerin birbirine çok yakın klonlar olabileceği düşünülebilir. Ancak %90, %83,33 gibi yüksek oranda birbirinden farklı genotipler de tespit edilmiştir. Aynı coğrafi orijinli birbirine çok uzak genotiplerin varlığı Karakurt (2013)'un da ifade ettiği üzere bu genotipler arasında genetik farklılığı meydana getiren çeşitli faktörlerden (bölgeler arasında farklı armut genotiplerinin taşınması, mutasyon etkisi gibi) kaynaklandığı söylenebilir.

Araştırmada referans çeşit olarak kullanılan üstün özellikleriyle bilinen yerli ve yabancı standart çeşitlere genetik açıdan yakın genotiplerin sonraki ıslah çalışmalarında kıymetli materyal olarak dikkate alınması gerekmektedir. Genetik açıdan uzak genotiplerin ise genetik kaynak olarak değerlendirilebileceği ifade edilebilir. Mustafabey (66) standart çeşidiyle aynı grupta yer alan Küle Armutu (52); Limon (67), Santa Maria (72) ve Williams (73) standart çeşidiyle aynı grupta yer alan Kırmızı Armut (22) ve Nevga (42); B PLMO (68) standart çeşidiyle aynı grupta yer alan Acura Armut (25), Işık Memed (29) ve Hacecür (37); Coscia (69) ve Deveci (71) standart çeşidiyle aynı grupta yer alan Hanım Armudu (34); Ankara (70) standart çeşidiyle aynı grupta yer alan Acı Panta (39) ve Panta (44); Kieffer (70) standart çeşidiyle aynı grupta yer alan Kınatora (61) armut genotiplerinin tescilli yeni çeşitlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalarda kullanılabileceği ifade edilebilir. Örneğin kısmen ateş yanıklığına dayanıklı Kieffer armuduna genetik olarak yakın olan Kınatora armudu ateş yanıklığına karşı ıslah çalışmalarında kullanılabilir.

Sonuç olarak, ülkemizin önemli armut gen kaynağı yörelerinden birisi olan Çoruh Vaidisi'nden selekte edilmiş armutlar üzerinde moleküler düzeyde ilk çalışma

niteliğinde olan bu çalışmayla armut genotipleri arasındaki genetik ilişkiler belirlenmiştir.

Dünyada artan küreselleşmenin, plansız yürütülen seleksiyon ve ıslah çalışmalarının ve yoğun entansif tarım uygulamalarının sonucu olarak meyve çeşitleri sayısında önemli oranda düşüş meydana gelmiştir. Yabancı kökenli standart çeşitlerin modern usullerle yaygın şekilde yetiştirilmeye başlanması özellikle ıslah çalışmalarında büyük önem taşıyabilecek mahalli çeşitlerimizin yok olmasına sebep olmuştur. Bu durumun önüne geçilmesi genetik bilgi potansiyeline sahip olan gen kaynaklarının belirlenerek koruma altına alınmasına bağlıdır. Belirli bir popülasyondan seçilen tiplerden klasik yöntemler ile gen kaynaklarının belirlenmesi hem zaman alıcı hem de çok daha maliyetli olduğu için gen kaynağı olma potansiyeline sahip örneklerin moleküler yöntemlerle belirlenmesi büyük önem kazanmıştır.

Çalışma kapsamında aralarındaki genetik ilişkileri belirlenen Çoruh Vadisi armutlarının sonraki ıslah çalışmalarında gen kaynağı olarak kullanılabilme potansiyeline sahip oldukları ifade edilebilir. Farklı genetik karakterleri barındıran gen kaynaklarının yüksek verim ve kaliteli, biyotik ve abiyotik stres şartlarına toleranslı bireylerin eldesi için ileri ıslah çalışmalarına önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca sonraki genetik orijin çalışmalarına, ileri ıslah çalışmalarına (gen aktarımı, mutasyon ıslahı, kontrollü melezleme, vb), ülke ekonomisi açısından genetik çeşitliliğin korunmasına ve genetik kaynakların yönetimine katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akçay, M.E., Burak, M., Büyükyılmaz, M., 2005. Yerli ve Yabancı Bazı Armut Çeşitlerinin Yalova Ekolojisindeki Verim ve Gelişme Performanslarının İncelenmesi. Yumuşak Çekirdekli Meyveler Sempozyumu, Antalya.
- Akçay, M.E., Yücer, M.M., 2008. Armut. Hasad Yayıncılık, 95 s, İstanbul.
- Akçay, M.E., Burak, M., Kazan, K., Yüksel, C., Muta, F., Bakir, M., Ayanoğlu, H., Ergül, A., 2014. Genetic analysis of Anatolian pear germplasm by simple sequence repeats. *Annals of Applied Biology*, 164, 441–452.
- Akgül, N., 2012. SSR ve ISSR moleküler belirteçlerinin bazı Doğu ve Güneydoğu Anadolu kavun genotipleri arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde fenolojik belirteçler ile birlikte kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Akkaya, M.S., Bhagwat, A.A., Creagan, P.B., 1992. Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics*, 132, 1131-1139.
- Altınbay, H., 2012. Doğu Anadolu’da Yetişen Bazı Armut Gen Kaynaklarının SSR’s (Simple Sequence Repeats) Markörlere Dayalı Genetik Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2014. Çoruh Nehri’nin Altın Gerdanlığı: Yusufeli Barajı ve HES. Su Dünyası, 134, 53-59.
- Anonim, 2017. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (01.05.2017).
- Anonymous, 2007. The World Conservation Union, www.iucn.org (05.05.2016).
- Anonymous, 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (01.05.2017).
- Asanidze, Z., Akhalkatsi, M., Henk, A.D., Richards, C.M., Volk, G.M., 2014. Genetic relationships between wild progenitor pear (*Pyrus* L.) species and local cultivars native to Georgia, South Caucasus. *Flora*, 209, 504-512.
- Aslantas R., 2006. Identification of superior walnut (*Juglans regia*) genotypes in north-eastern Anatolia, Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34 (3): 231-237.
- Aslantaş, R., 2010. Çoruh Havzası’nda HES Gölgesi. <http://www.erkurumgazetesi.com.tr/haber/Coruh-Havzasi-nda-HES-golgesi/48109> (05.05.2016).
- Badjakov, I., Todorovska, E., Kondakova, V., Boicheva, R., Atanassov, A., 2006. Assessment the genetic diversity of bulgarian raspberry germplasm collection by microsatellite and RAPD markers. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 14, 61-76.
- Bao, L., Chen, K., Zhang, D., Cao, Y., Yamamoto, T., Teng, Y., 2007. Genetic diversity and similarity of pear (*Pyrus* L.) cultivars native to East Asia revealed by SSR (simple sequence repeat) markers. *Genetic Resources Crop Evol.*, 54, 959-971.
- Bauchet, G., Causse, M., 2012. Genetic Diversity in Tomato (*Solanum lycopersicum*) and Its Wild Relatives. *Genetic Diversity in Plants*, Ed: Mahmut Çalışkan. InTech Publication, Rijeka, 133-162.
- Bell, R.L., 1996. Pears (*Pyrus*). *Genetic Resources of Temperate Fruit Nut Crops 2*, Eds: Moore JN, Ballington JR. International Society for Horticultural Science, Acta Hort. 290, Wageningen, Netherlands, 657-697.

- Berloo, R.V., 2000. Use of molecular markers in plant breeding. (ISBN 90-5808-167-2), p.104, Wageningen University, The Netherlands.
- Bhat, Z.A., Dhillon, W.S., Rashid, R., Bhat, J.A., Dar, W.A., Ganaie, M.Y., 2010. The Role of molecular markers in improvement of fruit crops. *Not Sci Biol.*, 2(2), 22-30.
- Bostan, S.Z., Acar, Ş., 2012. Ünye’de (Ordu) yetiştirilen mahalli armut çeşitlerinin özellikleri. *Akademik Ziraat Dergisi*, 1 (2), 97-106.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32, 314-331.
- Brini, W., Mars, M., Hormaza, J.I., 2008. Genetic diversity in local Tunisian pears (*Pyrus communis* L.) studied with SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 115, 337-341.
- Brookfield, J.F., 1996. A Simple New Method for Estimating Null Allele Frequency from Heterozygote Deficiency. *Mol. Ecol.*, 5, 453-455.
- Büyükyılmaz, M., Bulagay, A.N., 1984. Marmara Bölgesi İçin Ümitvar Armut Çeşitleri II. Bahçe, 12 (2), 5-14.
- Büyükyılmaz M., Bulagay, A.N., Burak, M., 1994. Marmara Bölgesi İçin Ümitvar Armut Çeşitleri III. Bahçe, 23 (1-2), 79-92.
- Celton, J.M., Chagne, D., Tustin, D.S., Terakami, S., Nishitani, C., Yamamoto, T., Gardiner, S.E., 2009. Update and comparative genome mapping between *Malus* and *Pyrus*. *BMC Res. Notes*, 2, 182.
- Chalak, L., Chehade, A., Elbitar, A., Cosson P., Zanetto, A., Dirlenwanger, E., Laigret, F., 2006. Morphological and molecular characterization of peach accessions (*Prunus persica* L.) cultivated in Lebanon. *Lebanese Science Journal*, 7, 23-31.
- Chevreau, E., Leuliette, S., Gallet, M. 1997. Inheritance and linkage of isozyme loci in pear (*Pyrus communis* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 94, 498-506.
- Cho, K.H., Shin, I.S., Kim, S.H., Kim, J.H., Kim, D.H., Shin, Y.U., Hwang, H.S., 2012. Identification of Korean Pear Cultivars Using Combinations of SCAR Markers. *Hort. Environ. Biotechnol.*, 53 (3), 228-236.
- Çalışkan, M., 2005. RAPD Analizi İle Güllerde Genetik Tanımlama. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Dolatoski, J., Nowosielski, J., Podyma, W., Szymanska M., Zych, M., 2004. Molecular Studies On The Variability of Polish Semiwild Pears (*Pyrus*) Using AFLP. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 12, 331-337.
- Dequigiovanni, G., Rech, F., Gomes, F.G.G., Cerotti, I.S., Faoro, I., de Oliveira, P.R.D., Quecini, V., Ritschel, P., 2012. Identification of a Simple Sequence Repeat molecular-marker set for large-scale analyses of pear germplasm. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 12, 118-125.
- Do, N., Adams, R.P., 1991. A simple technique for removing plant polysaccharides contaminants from DNA. *BioTechniques*, 10, 162-166.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Ercan, N., 1992. Armut Çeşit İntroduksiyon ve Adaptasyon Denemesi Sonuç Raporu. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, İzmir.
- Ercişli, S., 2004. A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evoluation*, 51, 419-435.

- Ercişli, S., Badjakov, I., Kondakova, V., Atanasov, A., Todorovska, E., 2008. AFLP-based genetic relationships in wild and cultivated red raspberry genotypes (*Rubus ideaus* L.). *Biotechnol. & Biotechnol. EQ.* 22 (4): 907-910.
- Ercişli, S., Kafkas, E., Orhan, E., Kafkas, S., Doğan, Y., Eşitken, A., 2011. Genetic characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes by AFLP markers. *Biol. Res.*, 44, 345-350.
- Erdoğan, Ü., Erdoğan, Y., Çakmakçı, R., Çakmakçı, S., 2014. Çoruh Vadisinin Yabani Meyveleri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 7 (1), 49-52.
- Erfani, J., Ebadi, A., Abdollahi, H., Fatahi, A., 2012. Genetic Diversity of Some Pear Cultivars and Genotypes Using Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. *Plant. Mol. Biol. Rep.*, 30, 1065-1072.
- Evans, K.M., Fernández- Fernández, F., Govan, C., 2009. Harmonising fingerprinting protocols to allow comparisons between germplasm collections – *Pyrus*. *Acta Horticulturae*, 814, 103-106.
- Fan, L., Zhang, M.Y., Liu, Q.Z., Li, L.T., Song, Y., Wang, L.F., Zhang, S.L., Wu, J., 2013. Transferability of newly developed pear SSR markers to other Rosaceae species. *Plant Mol Biol Rep*, 31, 1271-1282.
- Fang, G., Hammer, S. and Grumet, R., 1992. A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genomic DNA. *BioTechniques* 13 (1), 52-56.
- Faoro, I. D., Quecini, V., Oliveira, P.R.D., Ferreira, M. E., Ritschel, P., 2012. Marcadores moleculares para análise genética de germoplasma de pereira: uso na organização dos recursos genéticos e no melhoramento genético. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, Circular Técnica 93, 20 p, Brazil.
- Furan, M.A., Yüce, S., 2009. Buğdayda sarı pasa dayanıklı ve duyarlı bazı çeşit ve hatların SSR analizleri. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 46 (1), 1-8.
- Gasi, F., Kurtovic, M., Kalamujic, B., Pojskic, N., Grahic, J., Kaiser, C., Meland, M., 2013. Assessment of European pear (*Pyrus communis* L.) genetic resources in Bosnia and Herzegovina using microsatellite markers. *Scientia Horticulturae*, 157, 74-83.
- Gianfranceschi, L., Seglias, N., Tarchini, R., Komjanc, M., Gessler, C. 1998. Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. *Theoretical and Applied Genetics*, 96, 1069-1076.
- Gülşen, O. ve Mutlu, N., 2005. Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. *Alatarım*, 4 (2), 27-37.
- Güleryüz, M., 1979. Ilıman İklim Meyve Türleri. Özel Meyvecilik. Ders Notları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 128 s. Erzurum.
- Güleryüz, M., Ertürk, Y., 2001. Çoruh Vadisi'nde Meyveciliğin Genel Durumu. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 39 (1), 9-14.
- Hartl, D.L., Clark, A.G., 1989. Principles of population genetics 2nd ed. Sinauer Associates, 682 p, Sunderland, Massachusetts, USA.
- He, Q., Li, X.W., Liang, G.L., Ji, K., Guo, Q.G., Yuan, W.M., Zhou, G.Z., Chen, K.S., van de Weg, W.E., Gao, Z.S., 2011. Genetic diversity and identity of Chinese loquat cultivars/accessions (*Eriobotrya japonica*) using apple SSR markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 29, 197-208.
- Hokanson, S.C., Szewc-McFadden, A.K., Lamboy, W.F., McFerson, J.R., 1998. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and

- relationships in a *Malus x domestica* Borkh. Core Subset Collection. Theor. Appl. Genet., 97, 671-683.
- Iketani, H., Manabe, T., Matsuta, N., Akihama, T., Hayashi Iketani, T., 1998. Incongruence between RFLPs of chloroplast DNA and morphological classification in east Asian pear (*Pyrus* spp.). Genetic Resources and Crop Evolution, 45, 533-539.
- Itai, A., 2007. Pear. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants (Chittaranjan Kole Ed.). (ISBN-10 3-540-34531-0), p.370, New York, USA.
- Kadkhodaei, S., Nekouei, M.K., Shahnazari, M., Etminani, H., Imani, A., Ghaderi-Zefrhei, M., Elahy, M., Ariff, A.B., 2011. Molecular tagging of agronomic traits using simple sequence repeats: Informative markers for almond (*Prunus dulcis*) molecular breeding. AJCS, 5 (10), 1199-1209.
- Kajiura, I., 1994. Nashi (Japanese pear). Horticulture in Japan, Ed: Konishi K, Iwahori S, Kitagawa H, Yukawa T. Asakura, Tokyo, Japan, 40-47.
- Karagöz, A., Zincirci, N., Tan, A., Taşkın, T., Köksel, H., Sürek, M., Toker, C., Özbek, K., 2010. Bitki genetik kaynaklarının korunması ve kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisleri VII: Teknik Kongresi, Ankara.
- Karakurt, H., 2013. Doğu Anadolu Bölgesinden Selekte Edilen Yazlık Elma, Badem ve Ahududu Genotiplerinin AFLP ve SSR Moleküler Primerleri ile Genetik Çeşitliliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Karlıdağ, H., Eşitken, A., 2006. Yukarı Çoruh Vadisinde Yetiştirilen Elma ve Armut Çeşitlerinin Bazı Pomolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.), 16 (2), 93-96.
- Katayama, H., Uematsu, C., 2003. Comparative analysis of chloroplast DNA in *Pyrus* species: physical map and gene localization. Theor. Appl. Genet., 106, 303-310.
- Khorshidi, S., Davarynejad, G., Samiei, L., Moghaddam M., 2017. Study of Genetic Diversity of Pear Genotypes and Cultivars (*Pyrus communis* L.) Using Inter-Simple Sequence Repeat Markers (ISSR). Erwerbs-Obstbau, 1-8.
- Kikuchi, A., 1946. Speciation and taxonomy of Chinese pears. Collected Records Horticulture Research, Kyoto Univ 3, 1-8.
- Kimura, M., Crow, J.M., 1978. Effect of Overall Phenotypic Selection on Genetic Change at Individual Loci. Proc. Natl. Acad. Sci., Washington, 75, 6168-6171.
- Kiper, N.Ş. 1941. Orta Anadolu armutçuluğu ve en mühim armut çeşitleri. Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Matbaası, s. 97, Ankara, Türkiye.
- Kleinhofs, A., Kilian, A. and Saghai-Maroo, M.A., 1993. A Molecular, isozyme, and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) Genome. Theor. Appl. Genet., 86, 705-712.
- Korzun, V., 2003. Molecular markers and their applications in cereals. marker assisted selection: A Fast Track to Increase Genetic Gain in Plant and Animal Breeding. Session I: MAS In Plants, 18-22.
- Köse, M.T., 2008. Türkiye Acurlarının (*Cucumis melo* var. *flexuosus*) Genetik ve Morfolojik Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Köse, M., 2013. Erzurum ili İspir ilçesinde doğal olarak yetişen badem (*Amygdalus communis* L.) tiplerinin seleksiyon yolu ile ıslahı ve seçilen tiplerde RAPD

- yöntemiyle genetik çeşitliliğin belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Lee, G.P., Lee, C.H., Kim, C.S., 2004. Molecular markers derived from RAPD, SCAR and the conserved 18S rDNA sequences for classification and identification in *Pyrus pyrifolia* and *P. communis*. Theoretical and Applied Genetics, 108, 1487-1491.
- Lewontin, R.C., 1972. The Apportionment of Human Diversity. Evolutionary Biology, 6, 381-398.
- Liebhart, R., Gianfranceschi, L., Koller, B., Ryder, C.D., Tarchini, R., Van de Weg, W.E., Gessler, C., 2002. Development and characterization of 140 new microsatellites in apple (*Malus x domestica* Borkh.). Mol. Breed., 10, 217-241.
- Lisek, A., Rozpara, E., 2010. Identification of Pear Cultivars with RAPD and ISSR Markers. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 18 (2), 17-22.
- Liu, K.J., Muse, S.V., 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics, 21, 2128-2129.
- Lombard, P.B., Westwood, M.N., 1987. Pear Rootstocks. Rootstocks For Fruit Crops, Ed: Rom R.C., Carlson R.F. John Wiley and Sons, New York, USA, 145-183.
- Maguire, T.L., Peakall, R., Saenger, P., 2002. Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs and SSRs. Theoretical and Applied Genetics, 104, 388-398.
- Manifesto, M.M., Schlatter, A.R., Hopp, H.E., Suarez, E.Y., Dubcovsky, J., 2001. Quantitative Evaluation of Genetic Diversity in Wheat Germplasm Using Molecular Markers. Crop Sci., 41, 682-690.
- Marti, A.F., Alonso, J.M., Espiau, M.T., Rubio-Cabetas, M.J., Socias R., 2009. Genetic diversity in spanish and foreign almond germplasm assessed by molecular characterization with simple sequence repeats. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 134 (5), 535-542.
- McDonald, D., 2008. Heterozygosity Population Genetics II. Zoology & Physiology Dept, Univ. of Wyoming, <http://www.uwyo.edu/dbmcd/molmark/lect04/lect4.html> (29.06.2017).
- Miller, A.J., Schaal, B.A., 2006. Domestication and the distribution of genetic variation in wild and cultivated populations of the mesoamerican fruit tree *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae). Molecular Ecology, 15, 1467-1480.
- Miranda, C., Urrestarazu, J., Santesteban, L.G., Royo, J.B., 2010. Genetic Diversity and Structure in a Collection of Ancient Spanish Pear Cultivars Assessed by Microsatellite Markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 135 (5), 428-437.
- Mohammadi, S.A., Prasanna, B.M., 2003. Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants- Salient Statistical Tools and Considerations. Crop Science, 43, 1235-1248.
- Monte-Corvo, L., Goulao, L., Oliveira, C., 2001. ISSR Analysis of cultivars of pear and suitability of molecular markers for clone discrimination. J. Amer. Soc. Sci., 126 (5), 517-522.
- Morgante, M., Pfeiffer, A., Jurman, I., Paglia, G., Olivieri, A.M., 1998. PCR Analysis of SSR Polymorphisms in Plants Using Agarose Gels. Molecular Tools for Screening Biodiversity (Plants and animals), Ed: Angela Karp, Peter G. Isaac, David S. Ingram. Chapman & Hall, Weinheim, Germany, 206-207.
- Muzher, B.M., Sharaf, A.N., Abdallah, N.A., 2014. Genetic Relationships Among some Pears Genotypes Using RAPD and AFLP Molecular Markers. Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences), 15 (2), 1-18.

- Nagy, S., Poczai, P., Cernak, I., Gorji, A.M., Hegedus, G., Taller, J., 2012. PICcalc: an online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies. *Biochemical Genetics*, 50, 670–672.
- Nei, M., 1972. Genetic Distance Between Populations. *American Naturalist*, 106, 283-292.
- Nei, M., 1973. The theory and estimation of genetic distance. *Genetic Structure of Populations*, Ed: N.E. Morton, University Press of Hawaii, Honolulu, 45-54.
- Nei, M., 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, 512 p, New York, USA.
- Nishitani, C., Terakami, S., Sawamura, Y., Takada, N., Yamamoto, T., 2009. Development of novel EST-SSR markers derived from Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). *Breed Sci.*, 59, 391-400.
- Oliveira, C.M., Mota, M., Monte-Corvo, L., Goulao, L., Silva, D.M., 1999. Molecular typing of *Pyrus* based on RAPD markers. *Scientia Horticulturae*, 79, 163-174.
- Onur, S., 1977. Yerli ve Yabancı Armut Çeşitlerinin Seçimi. *Bahçe*, 8 (2), 1-12.
- Öz, M. H., 2012. Doğu Anadolu Bölgesi Armut Genotiplerinin Morfolojik Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Öz, M.H., Aslantaş, R., 2015. Doğu Anadolu Bölgesi Armut Genotiplerinin Morfolojik Karakterizasyonu. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*, 46 (2), 93-106.
- Özbek, S., 1947. Türkiye Armut Yetiştiriciliği ve Önemli Armut Çeşitlerimiz. *Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Dergisi*, 8 (4), 54-143.
- Özbek, S., 1978. Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:128, 485 s, Adana.
- Özçağırın, R., Ünal, A., Özeker, E., İsfendiyaroğlu, M., 2011. Ilıman İklim Meyve Türleri (Yumuşak Çekirdekli Meyveler Cilt II). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 556, 166 s, İzmir.
- Özgen, M., Adak, M., Söylemezoğlu, G., Ulukan, H., 2000. Bitkisel gen kaynaklarının korunma ve kullanımında yeni yaklaşımlar. V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 17-20 Ocak 2000, Ankara 259-284.
- Özrenk, K., Gazioğlu, S.R.I., Erdinç, C., Güleriyüz, M., Aykanat, A., 2010. Molecular characterization of mulberry from Eastern Anatolia. *African Journal of Biotechnology*, 9 (1), 1-6.
- Pierantoni, L., Cho, K.H., Shin, I.S., Chiodini, R., Tartarini, S., Dondini, L., Kang, S.J., Sansavini, S., 2004. Characterisation and transferability of apple SSRs to two European pear F₁ populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 109 (7), 1519-1524.
- Pomper, K.W., Crabtree, S.B., Brown, S.P., Jones, S.C., Bonney, T.M., 2003. Assessment of genetic diversity of pawpaw (*Asimina triloba*) cultivars with intersimple sequence repeat markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 128 (4), 521-525.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., Rafalski, A., 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2, 225-238.
- Queiroz, A., Assunção, A., Ramadas, I., Viegas, W., Veloso, M.M., 2015. Molecular characterization of Portuguese pear landraces (*Pyrus communis* L.) using SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 183, 72-76.
- Rahman, M.H., Rajora, O.P., 2002. Microsatellite dna fingerprinting, differentiation, and

- genetic relationships of clones, cultivars, and varieties of six poplar species from three sections of genus *populus*. *Genome*, 45, 1083-1094.
- Ramos-Cabrer, A., Diaz-Hernandez, M., Pereira-Lorenzo, S., 2007. Use of microsatellites in the management of genetic resources of Spanish apple cultivars. *J. Hortic Sci Biotechnol.*, 82, 257-265.
- Rana, J.C., Chahota, R.K., Sharma, V., Rana, M., Verma, N., Verma, B., Sharma, T.R., 2015. Genetic diversity and structure of *Pyrus* accessions of Indian Himalayan region based on morphological and SSR markers. *Tree Genetics & Genomes*, 11, 821.
- Rugienius, R., Blazytė, A., Lukoseviciūtė, V., Siksnianienė, J.B., Frercks, B., Gelvonauskienė, D., Gelvonauskis, B., Sasnauskas, A., Baniulis, D., Stanys, V., 2013. Genetic Polymorphism of Wild Pear Accessions Collected in Lithuania. *Baltic Forestry*, 19 (1), 13-21.
- Sakar, E., Unver, H., Ercisli, S., 2016. Genetic Diversity Among Historical Olive (*Olea europaea* L.) Genotypes from Southern Anatolia Based on SSR Markers. *Biochem. Genet.* 54, 842-853.
- Santamour, F.S., P. Demuth., 1980. Identification of Callery pear cultivars by peroxidase isozyme patterns. *Journal of Heredity*, 71, 447-449.
- dos Santos, A.R. F., Ramos-Cabrer, A.M., Díaz-Hernández, M.B., Pereira-Lorenzo, S., 2011. Genetic variability and diversification process in local pear cultivars from northwestern Spain using microsatellites. *Tree Genetics & Genomes*, 7, 1041-1056.
- Scarafani, A., Duranti, M., 2001. An approach to critical assesment of the experimental conditions in practical molecular biology: Isolation of plant DNA. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 29, 21-23.
- Sehic, J., Garkava-Gustavsson, L., Fernandez-Fernandez, F., Nybom, H., 2012. Genetic diversity in a collection of European pear (*Pyrus communis*) cultivars determined with SSR markers chosen by ECPGR. *Scientia Horticulturae*, 145, 39-45.
- Shen, T., 1980. Pears in China. *HortScience*, 15, 13-17.
- Shi, Y.Z., Yamamoto, T., Hayashi, T., 2002. Characterization of copia-like retrotransposons in pear. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 71, 723-729.
- Silva, G.J., Souza, T. M., Barbieri, R. L., Costa de Oliveira, A., 2014. Origin, Domestication and Dispersing of Pear (*Pyrus* spp.). *Advances in Agriculture*, Hindawi Publishing Corporation, 1-8.
- Sisko, M., Javornik, B., Siftar, A., Ivancic, A., 2009. Genetic Relationships among Slovenian Pears Assessed by Molecular Markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 134 (1), 97-108.
- Stracieri, J., Magalhaes, H.M., Resende, L.V., Carvalho, L.C.C., 2015. Simple sequence repeat (SSR) markers are effective for identifying pear cultivars and selections. *African Journal of Biotechnology*, 14 (2), 68-75.
- Sunar, S., Aksakal, O., Yildirim, N., Agar, G., Gulluce, M., Sahin, F., 2009. Genetic diversity and relationships and detected by FAME and RAPD analysis among *Thymus* species growing in Eastern Anatolia Region of Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*, 14 (2), 4313-4318.
- Tautz, D., 1989. Hypervariability of Simple Sequences as general source for polymorphic DNA Markers. *Nucleic acid research*, 17, 463-6471.

- This, P., Jung, A., Boccacci, P., Borrego, J., Botta, R., Costantini, L., Crespan, M., Dangel, G.S., Eisenheld, C., Ferreira-Monteiro, F., Grando, S., Ibáñez, J., Lacombe, T., Laucou, V., Magalhães, R., Meredith, C.P., Milani, N., Peterlunger, E., Regner, F., Zulini, L., Maul, E., 2004. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 109, 1448-1458.
- Tian, L., Gao, Y., Cao, Y., Liu, F., Yang, J., 2012. Identification of Chinese white pear cultivars using SSR markers. *Genet. Resour. Crop Evol.*, 59, 317-326.
- Tüfekçioğlu, A., Yavuz, M., Küçük, M., Duman, A., Dinç, M., 2013. Vejetasyon İzleme Ara Raporu (1 Mayıs-30 Ekim 2013). Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Çoruh Nehri Havzası Rehabilitasyon Projesi, Ankara.
- Urbanovich, O.Y., Kazlouvskeyab, Z.A., Yakimovichb, O.A., Kartela, N.A., 2011. Polymorphism of SSR Alleles in Pear Cultivars Grown in Belarus. *Russian Journal of Genetics*, 47 (3), 305–313.
- Ünal A., Saygılı H., Hepaksoy S., H. Z., Can ve Türküsay H., 1997. Ege Bölgesinde Armut Yetiştiriciliği ve Seçilen Bazı Armut Çeşitlerinin Pomolojik Özellikleri. Yumuşak Çekirdekli Meyveler Sempozyum Bildiri Kitabı, Yalova 29-35.
- Vardar-Kanlıtepe, Ç., Aras, S., Cansaran-Duman, D., 2010. Bitki ıslahında moleküler primerlerin kullanımı ve gen aktarımı. *Türkiye Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67 (1), 33-43.
- Vavilov, N.I., 1994. Origin and geography of cultivated plants (translator: D. Love). Cambridge University Press, 498 p, Cambridge, England.
- Velioğlu, E., Çengel, B., İçgen, Y., Kandemir, G., Alan, M., Kaya, Z., 2002. Moleküler Belirteçler Yardımıyla Karaçam (*Pinus nigra* Arnold subspecies *pallasiana* (Lamb.) Holmboe) Tohum Meşcerelerinde, Tohum Bahçelerinde ve Ağaçlandırmalarında Bulunan Genetik Çeşitliliğin Karşılaştırılması. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Orman Ağaçları Ve Tohumları Islah Araştırma Müdürlüğü Teknik Bülten No:11, Ankara.
- Volk, G.M., Richards, C.M., Henk, A.D., Reilley, A.A., Bassil, N.V., Postman, J.D., 2006. Diversity of wild *Pyrus communis* based on microsatellite analyses. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 131 (3), 408-417.
- Weber, J.L., May, P.E. 1989. Abundant Class of Human DNA Polymorphisms Which Can Be Typed Using the Polymerase Chain Reaction. *The American Journal of Human Genetics*, 44, 388-396.
- Weir, B.S., 1996. Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data. Sinauer Associates, 376 p, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Westwood, M.N., 1978. Temperate-Zone Pomology. W.H. Freeman and Company, 428p, San Francisco, USA.
- Wolko, L., Antkowiak, W., Lenartowicz, E., Bocianowski, J., 2010. Genetic diversity of European pear cultivars (*Pyrus communis* L.) and wild pear (*Pyrus pyraster* (L.) Burgsd.) inferred from microsatellite markers analysis. *Genetic Resources Crop Evol.*, 57, 801-806.
- Wolko, L., Bocianowski, J., Antkowiak, W., Slomski, R., 2015. Genetic diversity and population structure of wild pear (*Pyrus pyraster* (L.) Burgsd.) in Poland. *Open Life Sci.*, 10, 19-29.
- Wright, S., 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15 (1),

323-354.

- Wright, S., 1978. Evolution and the Genetics of Populations Volume 4. The University of Chicago Press Books, 590 p, Chicago.
- Wünsch, A., Hormaza, J.J., 2002. Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. *Euphytica*, 125, 59-67.
- Wünsch, A., Hormaza, J.I., 2007. Characterization of variability and genetic similarity of European pear using microsatellite loci developed in apple. *Scientia Horticulturae*, 113, 37-43.
- Yakovin, N.A., Fesenko, I.A., Isachkin, A.V., Karlov, G. I., 2011. Polymorphism of Microsatellite Loci in Cultivars and Species of Pear (*Pyrus* L.). *Russian Journal of Genetics*, 47 (5), 564-570.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Sawamura, Y., Kotobuki, K., Ban, Y., Hayashi, T., Matsuta, N. 2001. SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 865-870.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Sawamura, Y., Manabe, T., Kotobuki, K., Hayashi, T., Ban, Y., Matsuta, N. 2002. Simple Sequence Repeats for genetic analysis in pear. *Euphytica*, 124, 129-137.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Soejima, J., Sanada, T., Ban, Y., Hayashi, T., 2004. Identification of quince varieties using SSR markers developed from apple and pear. *Breed. Sci.*, 54 (3), 239-244.
- Yıldırım, A. ve Kandemir, N., 2001. Genetik primerler ve analiz metodları. *Bitki Biyoteknolojisi, Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları*, Özcan, S., Gürel, E. ve Babaoğlu, M..Selçuk Üniversitesi Yayınları, 334-363.
- Yeh, C.F., Boyle, T.J.B., 1997. POPGENE Version 1.31. Windows-based Software for Population Genetic Analysis of Co-Dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belg. J. of Bot.*, 129, 157-163.
- Yeh, C.F., Yang, R., Boyle, T., 1998. POPGENE: Microsoft Windows- based Freeware for Population Genetic Analysis. Edmonton, Canada: University of Alberta.
- Zohary, D., 1997. Wild apples and Wild Pears. *Bocconeae*, 7, 409-416.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Erzurum’da doğdu. İlkokulu Erzurum Atatürk İlkokulu’nda, ortaokul ve liseyi Erzurum Anadolu Lisesi’nde okudu. 2004 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Bölümü’nde lisans öğrenime başladı. 2006 yılında Bahçe Bitkileri Bölümü’ne geçti. 2008 yılında Bahçe Bitkileri Bölümü’nden mezun olup aynı yıl yüksek lisans öğrenimine başladı. 2010 yılında Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. 2011 yılında yüksek lisans öğrenimini tamamladı. 2011 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Bölümü’nde doktora öğrenimine başladı. 2014-2017 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde Araştırma Görevlisi olarak çalıştı. Halen Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır. Evlidir.