

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ADAPAZARI VE BOLU ORMAN BÖLGE
MÜDÜRLÜKLERİ'NDEKİ YABANI KIRAZ
(*Prunus avium* L.) POPULASYONLARININ GENETİK
KARAKTERİZASYONU

BURCU UZAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

GEBZE
2018

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ADAPAZARI VE BOLU ORMAN BÖLGE
MÜDÜRLÜKLERİ'NDEKİ
YABANI KİRAZ (*Prunus avium* L.)
POPULASYONLARININ GENETİK
KARAKTERİZASYONU

BURCU UZAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
PROF. DR. YELDA ÖZDEN ÇİFTÇİ

GEBZE
2018

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

GENETIC CHARACTERIZATION
OF WILD CHERRY (*Prunus avium* L.)
POPULATIONS IN ADAPAZARI AND BOLU
FORESTRY REGIONAL DIRECTORATES

BURCU UZAN
A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

THESIS SUPERVISOR
PROF. DR. YELDA ÖZDEN ÇİFTÇİ

GEBZE

2018



YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 10..01..2018 tarih ve 2018..03... sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 29/01/2018 tarihinde tez savunma sınavı yapılan BURCU UZAN 'ın tez çalışması Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : PROF. DR. YELDA ÖZDEN ÇİFTÇİ

ÜYE

: DOÇ. DR. YILDIZ AYDIN

ÜYE

: YRD. DOÇ. DR. BAHAR YILDIZ KUTMAN

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

ÖZET

Ülkemizde doğal olarak bulunan, hızlı büyüyen ve genelde serpili yayılış gösteren yabani kiraz (*Prunus avium* L, syn. *Cerasus avium* L. Moench.) ekolojik ve ekonomik açıdan önemli bir yere sahip yapraklı bir orman ağacıdır. Ülkemiz ormancılığında değeri yeterince anlaşılmamış olan yabani kirazın populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliği birçok sebeple tehdit altındadır. Bu nedenle, yabani kirazın genetik yapısı hakkında bilgi edinilerek, ekolojik ve ekonomik değeri yüksek olan yabani kiraz için ıslah ve koruma programı oluşturulmalıdır. Bu kapsamda, Türkiye’de yabani kirazın en çok yayılış gösterdiği bölgelerden olan Adapazarı ve Bolu Orman Bölge Müdürlükleri’ndeki 3 populusyona ait 7 alt populusyondan 140 birey örneklenmiştir. Bu populusyonlarda bulunan yabani kiraz bireylerinin genetik yapısı 10 SSR (Simple Sequence Repeat, Basit Dizi Tekrarı) molekül belirteci ile belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda toplamda 90 allel tespit edilmiştir. Alt populusyonlar bazında bakıldığı zaman gözlenen heterozigotluk değeri 0.68-0.74 arasında olmak üzere ortalama olarak 0.71 bulunmuştur. Beklenen heterozigotluk değeri de 0.67-0.74 arasında olmak üzere ortalama olarak 0.71 tespit edilmiştir. Populusyonların farklılaşmasını gösteren F_{st} değeri alt populusyonlar bazında bakıldığı zaman 0.02-0.05 değerleri arasında bulunmuş ve böylece alt populusyonların birbirlerinden çok farklı olmadığı görülmüştür. AMOVA testiyle yapılan analiz sonucunda da populusyon içi genetik farklılık yaklaşık olarak %96, populusyonlar arası genetik farklılık ise yaklaşık olarak %4 bulunmuştur. SSR analizi sonucu elde edilen bulgulardan yabani kirazda genetik çeşitliliğin yüksek olduğu ve çeşitliliğin daha çok populusyon içinde yapılandığı anlaşılmaktadır. Filogenetik analiz, temel bileşenler analizi ve genetik yapı analizi sonucunda populusyonların coğrafik yerleşimlerine göre ayrıldığı görülmüş ve yapılan üç farklı analiz sonucunda da Düzce ve Bolu populusyonlarının bir arada gruplandığı, Kocaeli populusyonunun ise bu iki populusyondan biraz daha uzakta gruplandığı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucu olarak, ülkemizde yayılan yabani kiraz ağacının genetik yapısı hakkında bilgi elde edilmiştir. Bu genetik bilgi, türün genetik kaynaklarının korunmasına ve ıslahına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Yabani kiraz, *Prunus avium* L., Genetik çeşitlilik, SSR belirteçleri.

SUMMARY

Wild cherry (*Prunus avium* L, syn *Cerasus avium* L. Moench.) which is naturally found in our country, is a leafy forest tree which has an ecologically and economically importance. The genetic diversity of wild cherries within and between populations, whose value is not well understood in our country's forestry are under threat for many reasons. Therefore, information about the genetic structure of wild cherries should be obtained and a breeding and protection program for wild cherries with high ecological and economic value should be established. In this context, 140 individuals were sampled from 7 subpopulations belonging to the 3 populations of Adapazarı and Bolu Forest Regional Directorates, which are the regions where wild cherry is most widely distributed in Turkey. The genetic structure of wild cherry individuals in these populations is determined by 10 SSR (Simple Sequence Repeat) molecular markers. A total of 90 alleles were identified as the result of the analysis. On the basis of subpopulations, the observed heterozygosity value ranged from 0.68 to 0.74, with an average of 0.71. The expected heterozygosity value ranged from 0.67 to 0.74, with an average of 0.71. The F_{st} value indicating the differentiation of the populations was observed between 0.02-0.05 values when evaluated on the basis of the subpopulations. Thus, the subpopulations were not significantly different from each other. According to the AMOVA test, the intra-population genetic difference was found approximately 96%, while the genetic difference between populations was approximately 4%. The results obtained from the SSR analysis, it is understood that the genetic diversity is high in the wild cherry and the diversity is more organized in the population. According to the results of phylogenetic analysis, principle component analysis and genetic structure analysis, it was observed that populations were separated according to their geographical locations. As a result of three different analyses, it is observed that, Düzce and Bolu populations were grouped together, whereas Kocaeli population was grouped separately from the other tested populations. As a consequence of this thesis study, information about the genetic structure of the wild cherry tree which is spread in our country has been obtained. This genetic information will contribute to the conservation and breeding of wild cherry genetic resources.

Key Words: Wild cherry, *Prunus avium* L., Genetic diversity, SSR markers.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde ve akademik hayatımda desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyip deneyimi, motivasyonu ve bilgisi ile beni yönlendiren danışman hocam Prof. Dr. Yelda ÖZDEN ÇİFTÇİ'ye,

Tez konusuna başladığım ve bitirdiğim güne kadar attığım her adımda bana yol gösteren, engin bilgisi ve tecrübesinden yararlandığım Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Ercan VELİOĞLU'na,

Ayrıca, tezimin kontrolü ve yazımı aşamasında, yardım ve katkılarından dolayı Doç. Dr. Yıldız AYDIN'a ve Yrd. Doç. Dr. Bahar YILDIZ-KUTMAN'a,

Tez kapsamında yaptığım moleküler ve istatistiksel analizler konusunda çalışmama büyük katkısı olan Dr. Emrah KIRDÖK'e,

Tez çalışması boyunca her zaman yardımını gördüğüm, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan Dr. Yasemin TAYANÇ'a,

Örneklerin toplanması aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Gürkan GÖRE, Sayın Rahim ÖNDER, Sayın Nurettin ÇORAP, Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne ayrıca Düzce, Bolu ve Kocaeli Orman İşletme Müdürlükleri'ne ve çalışanlarına,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Dr. Doğa KAYIHAN, Yrd. Doç. Dr. Ceyhun KAYIHAN, Hamit EKİNCİ, Selin ÜNSAL ve Dr. Özlem AKKAYA'ya; ayrıca yüksek lisans çalışmalarım boyunca aynı laboratuvarı paylaştığımız değerli arkadaşlarım Büşra KÖKSAL, Nil TÜRKÖLMEZ ve Maria BATOOL'a,

Çalışmalarım boyunca tavsiyeleriyle beni yönlendiren, desteği ve bana duyduğu sonsuz güveni ile hayatımda olduğu için kendimi şanslı hissettiğim Sayın Hamid Emre EKEN'e,

Ve son olarak tüm hayatım boyunca yanımda olan ve bana yol gösteren canım annem ve babam; Hüsnüye-Hasan UZAN'a, sevgili kardeşlerim Gonca UZAN DURAL ve Seyhun UZAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği	3
2. YABANİ KİRAZ	4
2.1. Yabani Kiraz Ağacının Yayılışı	4
2.2. Yabani Kiraz Ağacının Ekolojik ve Biyolojik Özellikleri	5
2.3. Yabani Kiraz Ağacının Kullanım Alanları	8
2.4. Yabani Kiraz İle İlgili Yapılan Klasik İslah Çalışmaları	8
2.5. Yabani Kiraz İle İlgili Ülkemizde Yapılan Çalışmalar	10
3. MOLEKÜLER BELİRTEÇLER	14
3.1. Moleküler Belirteç Tipleri	15
3.1.1. Hibridizasyona Dayalı Belirteçler	16
3.1.1.1. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunlukları Polimorfizmi)	16
3.1.2. PZR'a Dayalı Belirteçler	16
3.1.2.1. RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)	16
3.1.2.2. AFLP (Çoğaltılmış Dizi Uzunluk Polimorfizmi)	17
3.1.2.3. ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)	17
3.1.2.4. SSR (Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatelitler)	17
4. YABANİ KİRAZ AĞACININ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN BELİRLENMESİNE YÖNELİK YAPILAN ÇEŞİTLİ ÇALIŞMALAR	20
4.1. Yabani Kirazda Yapılan Mikrosatellit Çalışmaları	21
4.2. Yabani Kirazda Diğer Moleküler Belirteçlerle Yapılan Çalışmalar	25

5. MATERYAL ve YÖNTEMLER	27
5.1. Materyal	27
5.1.1. Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi	27
5.1.2. Tez Çalışması Kapsamında Kullanılan Gereçler	28
5.2. Yöntem	30
5.2.1. Yapraklardan DNA İzolasyonu	30
5.2.2. PZR Reaksiyonlarının Hazırlanması ve SSR Analizleri	31
5.2.3. PZR Ürünlerinin Kapiller Elektroforezi	33
5.2.4. Genetik Analizler	34
5.2.4.1. Heterozigotluk	35
5.2.4.2. Hardy-Weinberg Dengesinin (HWE) Hesaplanması	35
5.2.4.3. F-istatistiği ve Gen akışı (Nm)	36
5.2.4.4. Moleküler Genetik Verilerinin Varyans Analizi (AMOVA)	37
5.2.4.5. Temel Bileşenler Analizi (PCA)	37
5.2.4.6. Genetik Yapı Analizi (Structure)	38
5.2.4.7. Filogenetik Analiz	39
6. BULGULAR	40
6.1. DNA İzolasyonları	40
6.2. SSR Lokuslarının PZR Reaksiyonu	41
6.3. SSR Lokuslarına Ait Allel Büyüklüklerinin Belirlenmesi	42
6.4. Genetik Analizler	48
6.4.1. Populasyonlardaki Kayıp Veri Yüzdeleri ve Klon Durumu	48
6.4.2. Lokuslara Ait Genetik Parametrelerin İncelenmesi	49
6.4.3. Hardy-Weinberg Dengesi (HWE)	51
6.4.4. Populasyonlara ve Alt Populasyonlara Ait Genetik Parametrelerin İncelenmesi	53
6.4.5. Alt Populasyonlardaki Farklılaşmanın İncelenmesi	55
6.4.6. Alt Populasyonlardaki Gen Akışı (Nm)	55
6.4.7. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)	56
6.4.8. Temel Bileşenler Analizi (PCA)	57
6.4.9. Genetik Yapı Analizi (Structure)	60
6.4.10. Filogenetik Analiz	62
7. TARTIŞMA	65

7.1. Çalışılan Populasyonlardaki ve Lokuslardaki Allelik Çeşitlilik Sonuçlarının Değerlendirilmesi	65
7.2. Heterozigotluk Analizi	66
7.3. F İstatistikleri ve Hardy-Weinberg Dengesi	66
7.4. Gen Akışının Değerlendirilmesi (Nm)	68
7.5. AMOVA Analizi	69
7.6. Temel Bileşenler Analizi (PCA), Genetik Yapı Analizi (Structure) ve Filogenetik Analizlerin Değerlendirilmesi	69
8. SONUÇ ve ÖNERİLER	71
 KAYNAKLAR	 73
ÖZGEÇMİŞ	85
EKLER	86

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u> <u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
°C	: Derece Santigrat
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
%	: Yüzde
Δ	: Delta
λ	: Lambda
C	: Karbon
EtOH	: Etanol
GA ₃	: Gibberellik Asit
K	: Potasyum
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
MgO	: Magnezyum Oksit
N	: Azot
(NH ₄) ₂ SO ₄	: Amonyum Sülfat
P	: Fosfor
S	: Kükürt
Tris-HCl	: Tris-Hidroklorür
X ²	: Ki-kare
AFLP	: Çoğatılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
AMOVA	: Moleküler Varyans Analizi
Bç	: Baz Çifti
cm	: Santimetre
cpDNA	: Kloroplast DNA
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksi Nükleotit Trifosfat
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
DPT	: Devlet Planlama Teşkilatı
F	: F İstatistikleri

F _{it}	: Toplam Populasyonun Hardy-Weinberg Genetik Dengesinden Dengesinden Sapma Değeri
F _{is}	: Akrabalı Yetiştirme Katsayısı ya da Populasyonların Hardy-Weinberg Genetik Dengesinden Sapma Derecesini İfade Eden Değer
F _{st}	: Populasyonlar Arasındaki Farklılaşma Değeri
GTÜ	: Gebze Teknik Üniversitesi
ha	: Hektar
H _e	: Beklenen Heterozigotluk
H _o	: Gözlenen Heterozigotluk
HWE	: Hardy-Weinberg Dengesi
ISSR	: Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm
kg	: Kilogram
m	: Metre
m ³	: Metre Küp
mm ²	: Milimetre Kare
n	: Allel Sayısı
ng	: Nanogram
N _m	: Populasyonlar Arası Her Jenerasyon Göç Eden Birey Sayısı
OGM	: Orman Genel Müdürlüğü
PCA	: Temel Bileşenler Analizi
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	: Hidrojenin Gücü
ppm	: Milyonda Bir
RAPD	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	: Restriksiyon Fragmentlerinin Uzunluk Polimorfizmi
rpm	: Dakikada Dönüş Hızı
SCAR	: Amplifiye Edilmiş Karakterize Dizi Bölgesi
SD	: Serbestlik Derecesi
sn	: Saniye
SSR	: Basit Tekrarlı Diziler
TAE	: Tris Asetik Asit EDTA
UPGMA	: Unweighted Pair-Group Method With Arithmetical Average

UV : Ultraviolett
Volt : Volt

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Yabani kiraz ağacının yayılışı.	4
2.2: Yabani kiraz ağacının yaşama olasılığının olduğu yerler.	5
2.3: Yabani kiraz ağacının kabuğu üzerindeki enine uzanan lentiseller.	6
2.4: a) Yabani kiraz ağacına ait siyah renkli meyveler, b) Yabani kiraz ağacına ait kırmızı renkli meyveler, c) Yabani kiraz ağacının gövdesi.	7
5.1: Çalışma kapsamında örnekleme yapılan alanlar.	27
5.2: Toplanan yaprak örneklerinin ayrı ayrı etiketlenerek torbalara konulmasının görüntüsü.	28
6.1: Gölcük alt popülasyonuna ait bireylerin DNA jel görüntüsü.	40
6.2: Yedigöller alt popülasyonuna ait bireylerin DNA jel görüntüsü.	41
6.3: Abant-9 bireyine ait 10 SSR lokusuyla yapılmış PZR jel görüntüsü.	42
6.4: Empas01 lokusuna ait a) 235 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü, b) 241 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü, c) 231-253 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.	43
6.5: Empas02 lokusuna ait a) 131-140 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 144-146 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.	44
6.6: Empa004 lokusuna ait a) 182-192 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 188-190 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.	44
6.7: Empa005 lokusuna ait a) 247-257 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 247-253 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, c) 245 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü.	45
6.8: Empas06 lokusuna ait a) 212-226 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 202-204 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.	45
6.9: Empas10 lokusuna ait a) 156 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü, b) 156-162 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin	46

görüntüsü, c) 158-160 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.	
6.10: Empas11 lokusuna ait a) 62-73 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 62-83 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, c) 73-95 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.	46
6.11: Empas12 lokusuna ait a) 123 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü, b) 145-153 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, c) 145-147 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.	47
6.12: Empas14 lokusuna ait a) 200-210 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 196-198 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.	47
6.13: Empa015 lokusuna ait a) 203-221 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 203-231 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, c) 219 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü.	48
6.14: Dış grup ve yabancı kiraz alt populasyonlarının lokuslarda belirlenen kayıp veri yüzdeleri.	49
6.15: Populasyonlar bazında lokuslara ait HWE dengesi ($p \leq 0.05$).	52
6.16: Alt populasyonlar bazında lokuslara ait HWE dengesi ($p \leq 0.05$).	53
6.17: Alt-populasyonlarda gözlenen ikili <i>Fst</i> değerleri.	55
6.18: Alt populasyonlar arasında görülen gen akış (<i>Nm</i>) oranı.	56
6.19: PCA analizi sonucu dış grup olan erik ve yabancı kiraz alt populasyonlarından elde edilen gruplar.	58
6.20: Yabancı kiraz populasyonlarında PCA analizi sonucu elde edilen gruplar.	59
6.21: Yabancı kiraz alt populasyonlarında PCA analizi sonucu elde edilen gruplar.	59
6.22: 140 yabancı kiraz bireyinin ayrıldığı ideal populasyon yapı sayısını (DeltaK) gösteren grafik.	60

6.23:	10 SSR lokusuna ait genetik verilerle yapılan <i>structure</i> analizi sonucunda 7 alt populasyonun gruplandırılmasını gösteren şema (K değeri 2-7 arasında).	61
6.24:	UPGMA yöntemi kullanılarak elde edilen dış grup olan erik ve yabani kiraz bireylerine ait filogenetik dendrogram.	63
6.25:	UPGMA yöntemi kullanılarak elde edilen yabani kiraz alt populasyonlarına ait filogenetik dendrogram.	64

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
3.1: Sık kullanılan moleküler belirteç tekniklerinin farklı karakterlerinin karşılaştırılması.	19
5.1: Toplanan yabani kiraz populasyonlarının özellikleri.	28
5.2: Tez kapsamında; DNA izolasyonu, PZR reaksiyonu, agaroz jelin hazırlanıp görüntülenmesi, fragment analizi sırasında kullanılan kimyasal maddelerin isimleri, alınan firmalar ve katalog numaraları.	29
5.3: Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlar.	29
5.4: İ-Genomik Bitki DNA Ekstraksiyon Mini Kiti içeriği.	31
5.5: PZR reaksiyonunda kullanılan SSR primerleri.	32
6.1: Lokuslara ait elde edilen allel büyüklükleri.	43
6.2: Lokuslar bazında hesaplanan genetik parametreler.	50
6.3: Lokusların HWE Dengesi ($p \leq 0.05$).	51
6.4: Populasyonlar içinde gözlenen genetik çeşitlilik değerleri.	53
6.5: Alt populasyonlar içinde gözlenen genetik çeşitlilik değerleri.	54
6.6: AMOVA analizi sonucu elde edilen genetik çeşitlilik yüzdeleri.	57

1. GİRİŞ

Ülkemiz, bitki çeşitliliği açısından etrafındaki birçok ülkeden farklı olmasıyla dikkat çekmektedir. Türkiye florasında bitki taksonu sayısı (tür, alt tür veya varyete düzeyinde) yaklaşık olarak 12.000 civarındadır ve bu sayı Avrupa kıtasının tümünde yayılım göstermekte olan bitki türlerinin sayısına yakındır [Davis et al., 1988], [Ekim, 2005], [Özhatay ve Kültür, 2006], [Demir, 2013]. Türkiye'nin bu özelliği; iklimin kısa mesafede değişmesinden, yükselti farklılığı ve toprak tiplerindeki çeşitlilik gibi birçok farklı coğrafik faktörden kaynaklanmaktadır [Demir, 2013]. Ülkemiz; Avrupa-Sibiryaya, Akdeniz ve İran-Turan flora bölgesi gibi 3 önemli gen merkezinin kesiştiği konumda bulunmakta, bu durum da bitki dağılımını ve çeşitliliğini etkilemektedir [Avcı, 1993]. Ayrıca ülkemiz Avrupa-Asya kıtaları arasında köprü konumunda olduğundan, iki kıta arasında yaşanan bitki göçleri de bitki çeşitliliğine katkı sağlamıştır. Tarihsel süreçte baktığımızda Anadolu, göç yolları üzerinde bulunmuş ve birçok medeniyete ev sahipliği yapmıştır, bu durum da gen kaynaklarımızın çeşitlenmesini sağlamıştır [Demir, 2013]. Türkiye'nin sahip olduğu birçok koşuldan kaynaklanan bu yüksek bitki çeşitliliğinin içerisinde, yaklaşık olarak 700'ün üzerinde de odunsu bitki türünün yer aldığı tahmin edilmektedir [Yaltırık, 1998], [Yaman, 2003].

Bitki çeşitliliği açısından oldukça zengin olan ülkemizin ormanlık alan miktarı 22.3 milyon hektar olup, ülke genel alanının % 28.6'sını oluşturmaktadır. Geçen 42 yılda 2.1 milyon hektarlık ormanlık alan artışı olmuştur [OGM, 2015]. Orman sanayisindeki gelişmeler ve hammadde beklentisi ile beraber Orman Genel Müdürlüğü (OGM) odun üretimini arttırmış ve ülkemizde 2002 öncesi 7 milyon m³ olan endüstriyel odun üretimi 2015 yılında 16.6 milyon m³'e çıkarılmıştır. Sektörün 29 milyon m³ olan yıllık odun talebinin %66'sını endüstriyel odun oluşturmakta ve bunun da 16.6 milyon m³'ü Devlet ormanlarından, 3.4 milyon m³'ü özel sektör tarafından geriye kalan kısmı ise ithal edilerek karşılanmaktadır. Son yıllarda ise odun ithalatında artış olmuştur ve bunun nedenleri; istenilen kalite ve miktarda ürünün arz edilememesi ve fiyatlarda olan artıştır. Ayrıca endüstriyel odun hammadde ihraç eden ülkelerin son yıllarda daha yüksek katma değer yaratılması için işlenmiş ürünlere ağırlık verdiği görülmektedir. Bu nedenle, hammadde ithalatındaki karşılaşılan zorluklar ve gelecekte ithalat imkanlarının azalması göz önüne alınarak kaliteli odun üretimini arttırmaya

yönelik tedbirler alınmalı, orman yönetiminde yeni teknikler ve uygulamalara ağırlık verilmelidir [OGM, 2016].

Ülkemizdeki bu odun hammaddesindeki ihtiyacın karşılanabilmesi için ekonomik ve ekolojik değeri yüksek olan ve hızlı gelişen yerli türler kullanılarak endüstriyel plantasyonların kurulması önerilmiştir [Boydak ve Dirik, 1998], [Tunçtaner, 1998], [TGRP, 2003], [DPT, 2005], [DPT, 2006]. Gerek Türkiye, gerekse Avrupa’da doğal yapraklı türlerle yapılacak ağaçlandırma çalışmaları, endüstriyel odun ihtiyacını karşılamak için kullanılabilecek seçeneklerden bir tanesi olarak önem kazanmıştır [Kahveci ve Tüfekçioğlu, 1998], [Löf et al., 2004]. Yapraklı orman alanlarının arttırılmak istenmesinin birçok sebebi vardır. Bunlar;

- Giderek değişen iklim koşullarına ibrelilere kıyasla yapraklı orman ağaçlarının büyüme hızlarının daha çok artacağıının düşünülmesi [Sykes and Prentice, 1996], [Löf et al., 2004],
- Yapraklı orman ağaçlarının kereste fiyatlarının sürekli artması [Abildtrup et al., 1997], [Löf et al., 2004], [Eastin and Turner, 2009],
- Biyoçeşitliliğin korunması, arttırılmak istenmesi ve yapraklı ormanların rekreasyon amaçlarına hizmet etmesi, böylece ormanların çok yönlü kullanımının sağlanmasıdır [Löf et al., 2004].

Yapraklı orman ağaçlarından biri olan yabani kirazın da plantasyon çalışmalarında kullanımı; hızlı gelişmesi, odununun değerli olması, neslinin tükenmekte olması ve bu nedenle gen kaynaklarının korumaya alınmak istenmesi gibi birçok sebepten dolayı her geçen gün artmaktadır. Ülkemizde de doğal olarak bulunan ve ekonomik değer taşıyan yabani kiraz Avrupa Orman Genetik Kaynakları (EUFORGEN)’nın “Değerli Yapraklılar (Noble Hardwoods)” listesine alınmıştır [Kleinschmit et al., 2001]. Yabani kiraz, ülkemiz ormancılığında ise gereken değeri yeterince görmemiş; uzun yıllar boyunca Karadeniz ve Marmara Bölgesi’ndeki ormanlarda kalın ve düzgün gövdeli fertleri kaçak olarak kesilmiş, tatlı kiraza altlık olarak kullanılmış ve bu yüzden ormanlık alanlarımızdaki yabani kiraz ağaçları oldukça azalmıştır [Tosun ve Özpay, 1988], [Yaman, 2003], [Eşen vd., 2005], [Eşen et al., 2006a], [Eşen et al., 2009]. Ayrıca, ülkemizde oldukça ihmal edilen yabani kiraz ağacının genetiğine ve biyolojisine dair ise fazla sayıda kaynak bulunmamaktadır. Yüksek kalitede oduna sahip olan, hızlı gelişen, peyzaj bakımından estetik değerlere

sahip ve yaban hayatı için de önemli olan yabani kirazla ilgili kapsamlı ıslah ve koruma çalışmaları yapılmalıdır [Yaman, 2003], [Eşen vd., 2006b]. Islah ve koruma çalışmalarına başlamadan önce de türün populasyon içi ve populasyonlar arası genetik yapısının bilinmesi gerekmektedir. Bu nedenle, tez kapsamında yabani kiraz türünün en fazla yayılış gösterdiği Batı Karadeniz’de bulunan Adapazarı ve Bolu Orman Bölge Müdürlükleri mntıkasındaki populasyonlar örneklenip, bu bölgede yetişen yabani kiraz ağaçlarındaki genetik yapı SSR (basit dizi tekrarı) moleküler belirteçleri ile değerlendirilmiştir.

1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği

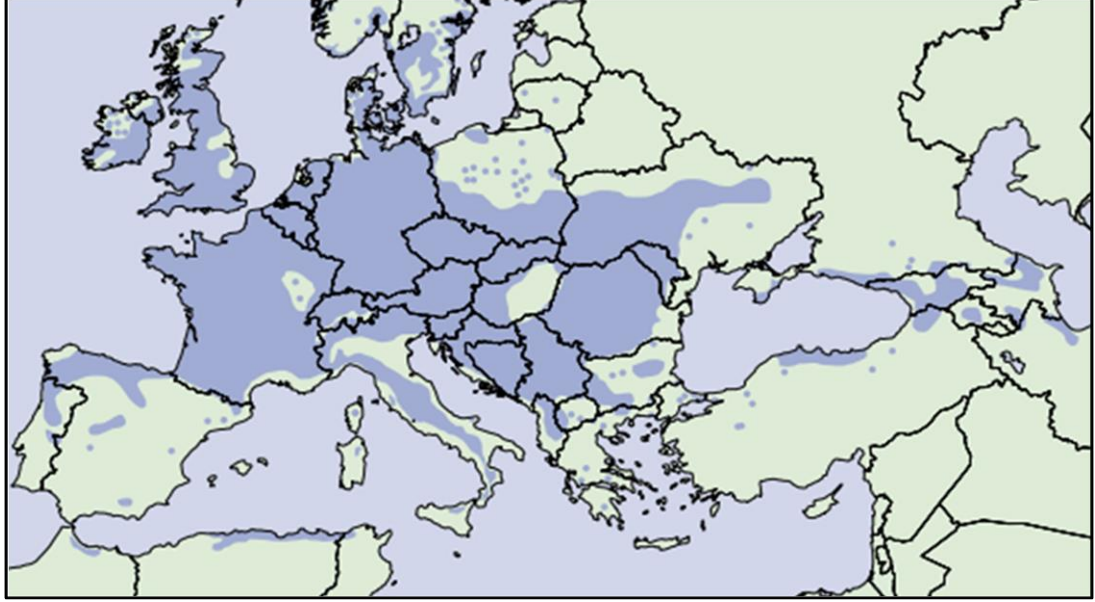
Avrupa’da değeri anlaşılan ve birçok çalışma yapılan yabani kiraz ağacının ülkemizde ise değeri tam olarak anlaşılamamıştır ve bu tür ile ilgili yapılan çalışmalara daha çok ağırlık verilmesi gerektiğini destekleyen pek çok yayın vardır [Russell, 2003], [Yaman, 2003], [Eşen et al., 2006a]. Genetik çeşitlilik bakımından tehdit altında olan yabani kiraz ağacı için Avrupa’da olduğu gibi ülkemizde de bir koruma ve ıslah programı oluşturulmalıdır. Etkili bir program oluşturulabilmesi için de ilk olarak ilgili türün doğal populasyonlarının sahip olduğu genetik çeşitliliğin belirlenmesi gereklidir. Genetik yapısı belirlenen populasyonlarda, öncelikli alanlar belirlenerek ıslah ve gen koruma çalışmaları başarılı bir şekilde yürütülmektedir [Conkle et al., 1988]. Bu nedenle, sunulan tez çalışmasında Türkiye’de yabani kiraz türünün en fazla yayılışının olduğu bölgelerden olan Batı Karadeniz’de bulunan Adapazarı ve Bolu Orman Bölge Müdürlükleri mntıkasındaki 3 populasyon örneklenmiştir. Bu populasyonlardan alınan yaprak örneklerinden DNA izolasyonu yapıp, SSR moleküler belirteçleri yardımıyla incelenerek, genetik çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Tez kapsamında, yabani kirazın 3 populasyonuna (Kocaeli, Düzce, Bolu) ait 7 farklı alt populasyondan (Kefken, Gölcük, Mollafenari, Düzce, Melen, Yedigöller, Abant) toplamda 140 yaprak örneği alınmış ve 10 farklı SSR belirteci kullanılarak genetik çeşitlilik irdelenmeye çalışılmıştır. Tez kapsamında, örneklenen populasyonlar incelenerek ekonomik ve ekolojik değeri olan yabani kiraz ağacının koruma ve ıslah programına katkı sağlanacaktır.

2. YABANI KIRAZ

2.1. Yabani Kiraz Ağacının Yayılışı

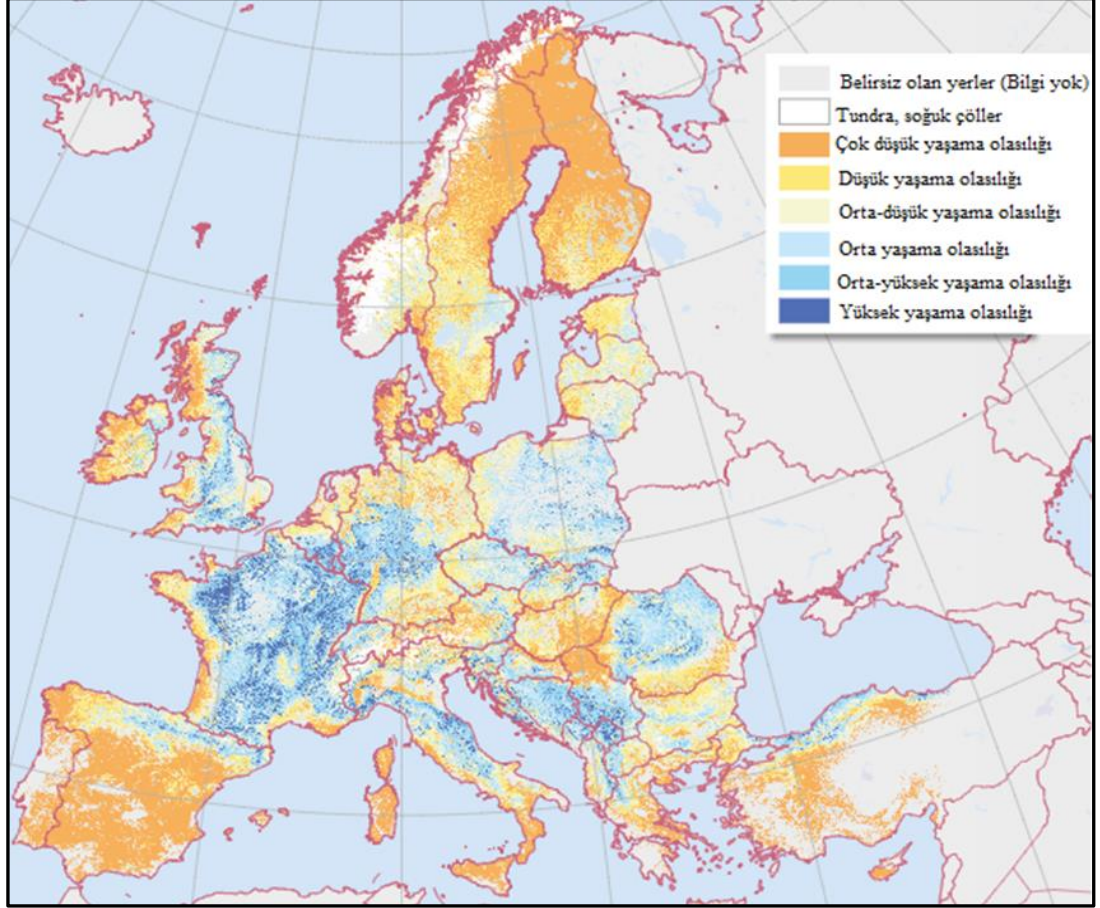
Yabani kiraz; Avrupa, Kuzey Afrika, Batı Asya ve dolayısıyla da ülkemizde doğal olarak bulunan (Şekil 2.1) ve odunuyla değerli, dağınık dağılımlı, yapraklı bir orman ağacı türüdür [Davis, 1972], [Savill, 1991], [Santi et al., 1998], [Russell, 2003], [Welk et al., 2016]. Bu tür genel olarak Karadeniz Bölgesi'nde orman kenarlarında ve nadiren de sık karışık ormanlarda tek tek veya küme halinde meşçere tür bileşimine katılmaktadır [Dönmez, 1997], [Yaman, 2003], [Eşen vd., 2005]. Genelde düşük rakımlı sahaları tercih eden yabani kirazın [Savill, 1991], ülkemizde 1700 m'li yükseltilere kadar çıktığı belirtilmekte [Yaman, 2003], fakat çalıştığım kurum olan Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından yaptığımız envanter çalışmalarında Artvin-Veliköy'de 1950 m'li yükseltilere çıktığı da görülmüştür.



Şekil 2.1: Yabani kiraz ağacının yayılışı.

Yabani kiraz ağacının yayılışı, Şekil 2.1'de gösterildiği gibi EUFORGEN'de Russell tarafından yayınlanmıştır [Russell, 2003]. Fakat haritada türün Türkiye'deki yayılışına baktığımızda bazı eksiklikler görülmektedir. Yabani kiraz ağacı ülkemizde

bütün kuzey hattı boyunca bulunmakta, ayrıca ana yayılış alanı Karadeniz Bölgesi ve Kuzey Marmara Bölgesi olsa da Ege, İç Anadolu, Akdeniz, Batı ve Güney Marmara Bölgeleri'nde de yaşama ihtimali düşük de (Şekil 2.2), [Welk, 2016] olsa yetiştiği görülmektedir [Yaman, 2003].



Şekil 2.2: Yabani kiraz ağacının yaşama olasılığının olduğu yerler.

2.2. Yabani Kiraz Ağacının Ekolojik ve Biyolojik Özellikleri

Yabani kiraz (*Prunus avium* L.), vişne ve mahlep gibi birçok ılıman iklim meyve türünün yer aldığı *Rosaceae* familyasına dahil olan, $2n=16$ kromozom sayısına sahip bir diploittir [Arumuganathan and Earle, 1991], [Russell, 2003].

Yabani kiraz böcek (entomogami) ve rüzgâr (anemogami) aracılığıyla taşınan polenlerle tozlaşarak generatif veya kökten sürgün vererek vejetatif olarak çoğalabilmektedir [Frascaria et al., 1993]. Başlıca eşleşme sistemi kendinden başka bireylerle döllenme (outcrossing) şeklindedir ve kendine uyumsuz bir bitkidir

[Vaughan et al., 2007]. Kirazlardaki uyumsuzluk gametofitik olarak S-allel genleri ile belirlenmekte, yani dişicik borusu polen taneleri ile aynı S allel genlere sahipse uyumsuzluk meydana gelmektedir [şehirali ve zgen, 1988]. Son zamanlarda bu uyumsuzluk problemini özlemek için S-allelleleriyle yapılan moleküler çalışmalarda artış olmuştur [De Cuyper et al., 2005], [Schueler et al., 2006], [Stoeckel et al., 2006], [Doğan, 2011], [ztrk-Erdem, 2012], [Jolivet et al., 2013].

Yabani kiraz derin, iyi bir su kaynağıyla beslenen alüvyonlu, nemli, besince zengin ve aydınlık yerleri sever. Farklı pH'lara karşı toleranslı olsa da hafif asidik toprakları daha çok tercih etmektedir. Kış şartlarına karşı dayanıklı olan yabani kiraz ilkbahar donlarından ise zarar görebilmektedir [Russel, 2003], [Yaman, 2003].

Yabani kirazın parlak ve düzgün gövde kabuğu üzerinde geniş ve enine uzanan lentiselleri bulunmaktadır (şekil 2.3) ve bu durum diğer ağaçlardan ayırt edilebilmesi açısından kolaylık sağlamaktadır [Yaman, 2002], [Russel, 2003].

Mart – Mayıs ayları arasında çiçeklenen yabani kiraz, Mayıs - Ağustos ayları arasında olgun meyve oluşturmaktadır [Dönmez, 1997], [Yaman, 2002]. Çiçeklenme ve tohum üretimi optimal koşullarda yaklaşık 4 yılda başlamaktadır. Küçük siyah (şekil 2.4a) veya kırmızı (şekil 2.4b) renkte olan meyveleri kuşlar ve memeliler tarafından yenmekte ve bu durum tohumlarının yayılmasını sağlamaktadır [Russell, 2003]. Kuraklığa dayanıklı olan tohumları olgun haldeyken uzun bir uyku dönemi geçirirler. Fizyolojik ve embriyo kaynaklı olduğu belirtilen tohumlarındaki çimlenme engelini aşmak için birçok çalışma yapılmıştır [Sallard, 1996], [etinbaş, 2004], [Kutsal, 2005], [Eşen vd., 2005], [Kulaç vd., 2009].



şekil 2.3: Yabani kiraz ağacının kabuğu üzerindeki enine uzanan lentiseller.

Meşçere kapalılığında diğer yapraklı türlerden daha hızlı gelişen yabani kiraz, uygun yetiştirme ortamında 25 m boya ve 50-70 cm çapa, daha iyi koşullarda ise 35 m boya ve 120 cm çapa ulaşabilmektedir [Savill, 1991], [Russell, 2003], [Eşen vd., 2005]. Belirli bir kapalılık ve sıklıkta doğal olarak büyüyen yabani kiraz bireyleri kapalılıktan dolayı doğal dal budanmasına uğramakta, gövdenin yaklaşık olarak 2/3'ü dalsız olmakta ve dallanma daha üst kısımlardan başlayarak tepe tacını oluşturmaktadır. Böylece yabani kiraz bireyleri oldukça düzgün gövdeler meydana getirmektedir (Şekil 2.4c). Bu düzgün gövde formu yüksek rakımlarda ve meşçere kapalılığının olmadığı yerlerde bozulmaktadır. Yüksek rakımlarda büyüyen bireylerin gövde formu bozuk, ağaç boyları kısadır ve meşçere kapalılığı yoksa da yabani kiraz bireyleri yine bozuk gövde formu oluşturmaktadır ve dallanmanın gövdenin daha aşağı kısımlarından başladığı görülmektedir [Yaman, 2002]. Yabani kirazın yıllık odun üretimi doğal koşullarda 6-10 m³/ha arasında olup diğer yapraklı orman ağaçlarından oldukça yüksektir ve odununun ortalama yoğunluğunun 630 kg/m³ olduğu belirtilmiştir [Savill, 1991], [Russell, 2003].



Şekil 2.4: a) Yabani kiraz ağacına ait siyah renkli meyveler, b) Yabani kiraz ağacına ait kırmızı renkli meyveler, c) Yabani kiraz ağacının gövdesi.

2.3. Yabani Kiraz Ağacının Kullanım Alanları

Ekonomik değeri yüksek ve değerli bir oduna sahip olan yabani kiraz ağacı birçok alanda kullanılmaktadır. Bunları sıralayacak olursak:

- Pembemsi kahverengi öz oduna ve daha az olan diri oduna sahip düz, ince taneli, kolay çalışılan kerestesiyle yabani kiraz mobilyacılık ve kabin yapımında ayrıca kaplamacılık, panel yapımı ve tornacılıkta kullanılmaktadır [Savill, 1991], [Russell, 2003].
- Yabani kirazın kültürlenmiş formu tatlı kiraz olarak anılır ve yabani kiraz tatlı kiraza altlık olarak da kullanılmaktadır [Kulaç vd., 2009], [Eroğul, 2012].
- Ayrıca bu tür ilkbahar başlangıcında açan beyaz renkli çiçeği, sonbaharda yaprak renklenmeleri, kışın değişik renkteki gövdesi ve yazın farklı tonlardaki meyvesiyle oldukça etkileyici olduğundan peyzaj amaçlı da kullanılmaktadır [Saatçioğlu, 1971], [Gültekin, 2014].
- Yabani kiraz yaban hayatı için de önemlidir, insanlar tarafından da yenebilen meyveleri ayı, kuş, küçük memeliler gibi birçok hayvan için besin kaynağıdır [Russel 2003].
- Yabani kiraz meyve saplarının diüretik özelliği vardır ve bu amaçla kaynatılarak insanlar tarafından içilmektedir [Baytop, 1963].

2.4. Yabani Kiraz İle İlgili Yapılan Klasik İslah Çalışmaları

Yabani kiraz ağacı son derece değerli olan odun potansiyelinden dolayı, dünya genelinde birçok klasik ıslah çalışmasına konu olmuştur.

Yabani kiraza ait ilk klasik ıslah programı Almanya’da 1960’lı yıllarda başlamış ve 33 yıllık sonuçlar pratikte kullanılması için Weiser tarafından 1996 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada klonlar mortalite, yükseklik, çap, dallanma, gövde şekli karakterleri açısından değerlendirilmiş ve seçilen en iyi klonlarla bir tohum bahçesi kurulmuştur. Ardından birçok Avrupa ülkesinde bu türle ilgili ıslah çalışmaları başlamıştır.

Fransa’da Santi ve arkadaşları (1998) tarafından yapılan bir çalışmada 33 klon 7 yıl boyunca dalların inceliği, açısı, sayısı, yaprak boyutu, çap, yükseklik, yaprak bitine

ve antraknoza karşı duyarlılık gibi faktörler açısından değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda 6 klon sertifikalanmıştır ve bunlar Avrupa’da yabani kiraza ait seçilen ilk resmi klonlardır.

Belçika’da yabani kirazın ilk çok alanlı klonal testi çalışması 2003 yılında Curnel ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Bu çalışmada yabani kiraza ait seçilen 19 klon 1989-90 yıllarında Belçika’da 12 farklı bölgede dikilmiştir. Bu klonların yükseklik, yükseklik artışı, gövde büyüklüğü, gövde düzgünlüğü, çatallanma miktarları ve antraknoz hastalığına karşı duyarlılığı 10 yıl boyunca takip edilmiştir. Beklenen genetik kazanç özelliklerin çoğunda yüksek ve %7’den fazla bulunmuştur. Uzun klonların daha düzgün gövdeye ve hastalık için daha düşük duyarlılığa sahip, fakat daha fazla çatallanma eğiliminde olduğu bildirilmiştir.

İspanya’da ise Diaz ve Merlo 2008 yılında Kuzey-Batı İspanya’daki klonal bir tohum bahçesinde yabani kiraz ağaçlarının üreme fenolojisini araştırmışlardır. Kuzey İspanya’daki 7 bölgeden alınan 103 klon 2 yıl üst üste kiraz ve çiçek sayısı ve farklı tarihlerde en ileri çiçeklenme evresi açısından gözlenmiştir. Klonlar arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. 7 klondan 2’si daha geç çiçeklenmesine rağmen, tohum bahçesinde genel olarak iyi üreme senkronizasyonu olduğu bildirilmiştir. Jeo-iklimsel durumla çiçeklenme arasında bir ilişki bulunmuş, düşük rakım ve yüksek sıcaklıktaki klonların daha erken çiçeklenme eğiliminde olduğu bildirilmiştir.

Hajnala ve arkadaşlarının 2007 yılında yayınladıkları çalışmada Çek Cumhuriyeti’ndeki 6 farklı bölgede bulunan yabani kiraza ait 6 yaşındaki klonal denemelerdeki 13 klonu 2004 yazı boyunca yükseklik, çap, sağlık durumu, ölüm oranı özellikleri açısından değerlendirilmiş ve sadece bir klonun diğerlerinden daha iyi performans gösterdiği bildirilmiştir.

Ayrıca Litvanya’da Petrokas ve Pliura’nın 2014’te yaptıkları çalışmada Litvanya’ya transfer edilen yabani kiraz nesillerinin kalıcılığı incelenmiştir. Bu çalışmada sert çevre koşullarına uyum sağlayacak nitelikte olan yabani kiraz nesillerini araştırmak amaçlı; 9 Avrupa ülkesinden alınan yabani kiraz yavruları Kuzey Litvanya’da test edilmiştir. Bu bireylerden Polonya ve Avusturya’dan gelen materyallerin Litvanya’ya en uygun populasyonlar olma ihtimalinin olduğu ve ileri testler yapılması gerektiği bildirilmiştir.

2.5. Yabani Kiraz İle İlgili Ülkemizde Yapılan Çalışmalar

Türkiye’de özellikle 2000’li yıllarda yabani kiraza yönelik çalışmalar başlamış ve bu türe yönelik en çok çalışma Prof. Dr. Derya Eşen tarafından yapılmıştır [Eşen vd., 2005], [Eşen et al., 2006a], [Eşen vd., 2006b], [Eşen et al., 2009], [Eşen vd., 2010], [Eşen et al., 2011], [Eşen vd., 2012]. Ülkemizde yabani kirazın ekolojik ve ekonomik önemine dikkat çeken tanıtıcı yayınlar da bulunmaktadır ve bu yayınlarda ülkemizde yabani kiraza gereken değerin verilmediğinden, odunu ve meyvesi değerli ve hızlı gelişen bir tür olan yabani kirazla ilgili verimliliğini ve ekonomik girdisini arttıracak kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiğinden bahsedilmiştir [Tosun ve Özpay, 1988], [Yaman, 2003], [Eşen vd., 2005].

Ülkemizde yabani kirazın tohumlarının çimlenmesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde; Kutsal (2005) tarafından özel katlama metotlarının yabani kiraz tohumunun çimlenmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Farklı orijinlere ait doğal ortamlarından toplanan tohumların çeşitli fiziksel özellikleri incelenmiş ve çimlenme engeli olan yabani kiraz tohumları sonrasında çimlenme yüzdelelerini değerlendirmek için kontrollü iklim koşullarıyla beraber kum ortamında çimlenme dolabında çimlenmeye alınmıştır. Yabani kiraz orijin tohumları fiziksel özellikler bakımından farklılık göstermiş ve katlama metotlarının çimlenme üzerine etkisi orijinlere göre farklılık göstermiştir. En başarılı orijin olarak “Ereğli” tespit edilmiştir. Çimlenmede en başarılı olan katlama metotlarının ise “sıcak ve soğuk işlemlerin birlikte kullanıldığı suni katlama ve ikinci derecede doğal katlama (sonbahar ekimi)” olduğu bildirilmiştir.

Eşen ve arkadaşları 2006 yılında yerli ve yabancı yabani kiraz tür ve orijinlerinin uyku ve çimlenme davranışı ile en uygun katlama işlemini belirlemek amacıyla denemeler yapmış ve farklı orijinlerden elde edilen bir yaşlı fidanların Batı Karadeniz Bölgesi’ndeki 6 farklı yetiştirme ortamındaki büyüme performanslarını incelemiştir. Dikimden bir yıl sonra dikim sahaları arasında canlı fidan sayısı, çap ve boy verileri açısından önemli farklılıklar gözlenmiştir. Düşük rakımlı sahalardaki fidanların daha yüksek büyüme performansı sergilediği bildirilmiştir. Ayrıca ardışık olarak nemli sıcak ve soğuk katlama işlemlerini içeren bir önışlem uygulanarak veya doğadan yaz aylarında olgun meyvenin toplanıp etinden ayrıldıktan sonra hemen sahaya dikilmesiyle yabani kirazın çimlenme oranının arttığı bildirilmiştir.

Edizer ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları çalışmada; Kastamonu ilinde doğal olarak yetişen ve anaçlık özelliği iyi olan bazı kiraz tiplerinin çimlenme özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplanan tohumlar, canlılık testi sonrası GA₃'ün farklı dozlarında, 24 saat süreyle bekletilmiş, katlama ortamına konulmuş ve farklı sürelerde çıkartılarak çimlendirme ortamına alınmıştır. En yüksek çimlenme oranı, 1000 ppm GA₃ uygulandıktan sonra 105 gün boyunca +4°C'de katlama uygulamasında saptanmıştır.

Yabani kirazın çimlenme engeli üzerine başka bir çalışma da 2009 yılında Kulaç ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada Karadeniz Teknik Üniversitesi yerleşkesinden 3 farklı zamanda yabani kiraz tohumları toplanmış ve bu tohumlardan 200'er adet 4 farklı çimlendirme ortamına meyve etli ve meyve etsiz olarak ekilmiştir. Çalışma sonucunda 20 Haziran'da toplanan meyve etsiz olarak ibre çürüğü içerisine ekilen tohumların çimlenme yüzdesi en yüksek (% 82.52) olarak bulunmuştur. Meyve etiyle ekilen tohumlarda ise yine aynı tarihte toplanan ve yaprak çürüğü içerisine ekilen tohumlarda en yüksek çimlenme yüzdesi (% 34) elde edilmiştir.

Hocoğlu (2013); Doğu Karadeniz'de doğal olarak yayılışı olan kuş üvezi, kızılıcık ve yabani kiraz tohumlarının her birinde en uygun çimlenme yöntemini bulmak için, bazı ön işlemlerden geçirerek çimlenme yüzdesi ve hızlarını belirlemeye çalışmıştır. Yabani kiraz tohumları hasat edilip hemen (haziran ayında) ekildiğinde %52.9, +4°C'de katlama yapıp sonbaharda ekildiğinde ise %52.6 çimlenme yüzdesi elde edildiği belirlenmiştir.

Tohum çimlenmesi çalışmalarının yanı sıra Erdoğan (2008); 2006 sonbaharında doğu kayını ağırlıklı yapraklı karışık meşcerelerde, çapları 24 m ve 50 m olan toplam 32 adet boşluk oluşturmuş, açılan her boşluğa bir yaşlı yabani kiraz fidanlarını dikmiş ve 2007 vejetasyon dönemi sonunda fidanların büyüme performanslarını tespit etmiştir. Ayrıca 2008 ilkbaharında ise açılan bu boşluklara gelen yeni türler belirlenmiştir. Meşcerelerde açılan küçük ve büyük boşluklarda, boşluk içi bölgelerdeki ortalama ışık miktarları arasında farklılıklar bulunmuştur. Işık ağacı olan yabani kiraz doğru orantılı olarak büyük boşlukları, yarı gölge ağacı olan Anadolu kestanesi %70 oranında kenar bölgeleri, kayın ağacı ise küçük boşluklarda orta ve kenar bölgeleri yaklaşık aynı oranda, büyük boşluklarda ise, orta bölgeye göre kenar bölgeyi daha fazla tercih etmiştir. Bu sonuçlara göre, küçük boşlukların gençleştirilmesinde gölge ve yarı gölge ağaçlarının olduğu karışık meşcerelerin, büyük

boşluklarda ise ışık ihtiyacı yüksek olan ağaç türlerinin olduğu karışık meşcerelerin kullanılmasının uygun olduğu görülmüştür.

Eşen ve arkadaşları 2010 yılında yabani kirazın yetiştirilmesi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bir yaşındaki çıplak köklü ve tüplü fidanlar Batı Karadeniz'deki 5 bölgeye dikilerek mekanik ve kimyasal diri örtü mücadelesi, toprak işleme, suni gübreleme, karışık dikim gibi çeşitli kültürel işlemlerden geçirilmişlerdir ve daha sonra fidan yaşama oranı ve büyümesi ile beslenmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Projenin 2 yıllık sonuçlarına göre emek-yoğun plantasyonların kurulumunda tüplü fidanların tercih edilmesi ve diri örtüyle etkili mücadele edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Fakat herbisit kullanımı otsu diri örtüyü önemli oranda kontrol etse de fidanlara büyük zarar vermiştir. Bu nedenle zararlı diri örtü mücadelesinin geleneksel işgücüyle yapılması gerektiği belirtilmiştir. Yine projenin 2 yıllık sonuçlarına göre yapılan yüksek maliyetli toprak işleme ve suni gübreleme işlemleri yabani kirazın tutma başarısı ve gelişimine katkısı olmadığı fakat bu durumun ileriki dönemlerde değişebileceği belirtilmiştir. Yabani kiraz fidanlarının en başarılı olduğu yerler yağışın dengeli olduğu, edafik özellikleri bakımından elverişli sahalar olan Ereğli, Bendere ve Akçakoca sahaları olduğu bildirilmiş, Düzce'deki Merkez ve Cumayeri sahalarında ise kuraklık ve kötü edafik etkilerden dolayı fidan tutma başarısının kötü olduğu tespit edilmiştir. 1 yıl sonraki analizlerde yapılan kültürel işlemlerin fidanların tutma başarısı üzerinde önemli bir fark yarattığına dair istatiki bir kanıt bulunamamıştır. Dikimlerde boylu ve çaplı fidanların kullanılmasının yabani kirazın tutma başarısını arttırmasıyla beraber olumsuz şartlara da daha iyi uyum sağladığı bildirilmiştir.

Eşen ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada Batı Karadeniz'de alçak ve yüksek rakımlı sahalarda çeşitli yabani ve kara kiraz tohumlarının bir yıllık fidelerinin erken büyüme performansları ekildikten 1 yıl ve 5 yıl sonra incelenmiştir ve fidelerin büyümesinde tür-içi ve türler-arası varyasyonlar bulunmuştur. Tür bazında düşük rakımlarda yabani kiraz fidelerinin çap ve boy açısından büyüme performansı kara kiraz fidelerinden daha üstün olduğu bildirilmiş, fakat yüksek rakımlarda önemli bir farklılık bulunamamıştır. Genelde fideler düşük rakımlı bölgelerde daha fazla hayatta kalım oranına sahiptir. Yerel yabani kiraz kaynakları diğer tohumlardansa düşük rakımlı alanlara daha iyi uyum sağlamıştır, bu tarz alanlarda yerel tohumların seçilmesi önerilmiştir.

Dinçer (2011); Zonguldak ili Alaplı yöresinde 3 yükselti kuşağında, 3'er adet olmak üzere 9 adet deneme alanı kurarak, yabani kiraz fidanlarının arazideki tutma

başarısı, iki yıllık kök boğaz çapı ve boy gelişimleri ve gürbüzlük oranlarını araştırmıştır. Bu çalışmada; Dikmenaltı 1 ve Avuluboğaz deneme alanlarının toprak havalanması ve toprak suyundan yararlanması Dikmenaltı 2 deneme alanına göre daha iyi olduğundan fidanların gelişimlerinin de bu iki alanda daha iyi olduğu bildirilmiştir. Araştırmanın sonucunda; yabani kiraz ağaçlarının organik maddece zengin, kireçsiz, kumlu-killi toprak yapısına sahip ve toprak havalanmasının iyi olduğu, ılıman iklim kuşağında bulunan sahalara dikilmesinin daha faydalı olabileceği belirtilmiştir.

Eşen ve arkadaşları 2012 yılında kontrollü salımlı bir gübrenin (%16 N, %18 P, %12 K, %2 MgO, ve %5 S); nemli bir sahaya sahip olan Düzce, Akçakoca'ya dikilen bir yaşındaki yabani kiraz fidelerinin yaşama ve büyümesi üzerine ön etkisini araştırmışlardır. Bu gübrenin beş farklı dozu uygulanmış ve denemeden bir ve iki yıl sonra, gübreleme denemeleri arasında fidan yaşama yüzdesinde, C ve N fidan yaprak besin elementi yoğunluklarında ve C/N oranında önemli bir fark bulunamamıştır. Denemenin ikinci yılı sonunda gübre atılmayan fidanlara kıyasla en düşük dozlu deneme (80 g) fidan çapını önemli oranda arttırdığı ve en yüksek gübre dozunun fidan yaşama yüzdesini bir miktar düşürdüğü tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda dikimden sonraki ilk dönemlerde, yabani kiraz fidan büyüme performansını arttırmak için kontrollü salımlı gübrenin en düşük dozunun uygulanması, yüksek dozlarının genç fidanlara zarar verebileceğinden dolayı kullanılmaması önerilmiştir.

Yukarıda bahsi geçen çalışmalara ek olarak son zamanlarda yabani kiraz odunu üzerine de çalışmalar yapılmıştır. Aytin (2013) yabani kiraz odununa ısıtma işlemi ve sonrasında hızlandırılmış yaşlandırma uygulayarak, bazı fiziksel, mekanik ve teknolojik özellikleri incelemiştir. Elde edilen sonuçlara göre ısıtma işlemi görmüş yabani kiraz odununun, yük taşıyıcı yapısal eleman olarak değerlendirilmesinin uygun olmadığı, boyutsal stabilitenin ön planda olduğu kullanım alanları için (dış cephe kaplamaları, deck ve bahçe mobilyası) uygun olduğunu belirlenmiştir.

Gül (2014) yabani kiraz odununun kâğıt üretim koşullarını araştırmıştır. Çalışma sonucunda; yabani kiraz ağacının hem diri hem öz odunundan kâğıt hamuru üretmek için optimum Aktif Alkali/Sülfidite oranı 20/26 olacak şekilde Kraft yönteminin kullanılabileceğini bildirmiştir.

3. MOLEKÜLER BELİRTEÇLER

Ülkemizde 1980’li yıllarda çalışılmaya başlanılan moleküler genetik çalışmalarıyla beraber moleküler biyoteknoloji alanı da gelişmiş ve bu alanda önemli bir yol katedilmiştir. Moleküler biyoteknolojide kullanılan en önemli araçlardan biri de bireyler arasındaki çeşitliliğin tayin edilmesinde kullanılan belirteçlerdir ve bunlar 3 temel sınıfa ayrılmaktadırlar [Agarwal et al., 2008].

- Morfolojik belirteçler

Bitkilerdeki fenotipik (tüy, çiçek rengi, gövde uzunluğu, tohum yapısı, yaprak şekli vb.) olarak var olan ve görsel olarak karakterize edilebilen karakterler morfolojik belirteçler olarak kullanılmaktadır ve bu yöntem pahalı bir teknolojiye ihtiyaç duymamaktadır. Fakat uzun zaman aralıkları gerektiğinden muhtemelen moleküler değerlendirmeye göre daha pahalı olacaktır. Genotipte bulunan karakterlerin bazen fenotipe yansımaması, fenotipik karakterlerin çevreden etkilenmesi ve birbirine yakın genotipler arasında sınırlı düzeyde polimorfizm göstermesi bu yöntemin dezavantajlarıdır [Mohan et al., 1997], [Mondini et al., 2009], [Jiang, 2013].

- Biyokimyasal belirteçler (izoenzim ve allozimler)

İzoenzimler; farklı lokuslardaki genler tarafından kodlanan, aynı reaksiyonu katalizyen ve farklı kimyasal yapıya sahip enzimlerin çoklu moleküler formlarıdır [Markert and Moller, 1959]. Allozimler ise yapısal genler tarafından kodlanan enzimlerin allelik varyantlarıdır ve enzimatik aktiviteleri aynı olan fakat aminoasit dizileri arasındaki farklılıklar sebebiyle çeşitlilik gösteren proteinlerdir. İzoenzimler ve allozimler elektroforetik olarak ayrıştırıldıktan sonra oluşan bant desenleri kullanılarak, bitkilerin genetik yapılarındaki benzerlik ve farklılıklar ortaya konulabilmektedir. Düşük maliyetli olması, DNA özütlemesi ve dizi bilgisi istemediğinden kolay kullanımlı olması bu belirteçlerin avantajları olsa da tür başına düşen birkaç izozim sisteminin olması, gözlenen çeşitliliğin tüm genomu temsil etmemesi, DNA üzerindeki polimorfizmi dolaylı olarak ifade etmesi, alındığı dokuya göre bantlama profilinin değişmesi yöntemin dezavantajlarıdır [Soltis and Soltis, 1989], [Kumar et al., 2009].

- Moleküler veya genetik belirteçler (DNA belirteçleri)

Moleküler belirteçler; bitki ıslahı çalışmalarında hızlı sonuç vermeleri ve çevresel şartlardan etkilenmemeleri nedeniyle bitki biyoteknolojisi (bitki genetiği, bitki ıslahı, bitki genomik çalışmaları, filogenetik çalışmalar, evrimsel ilişkilerin araştırılmasında) araştırmalarına büyük katkılar sağlamışlardır. Eski çalışmalarda evrimsel teoriler coğrafik ve morfolojik farklılaşma temeline dayanırken, moleküler belirteçler ile genetik yapının detaylarının aydınlatılması kolaylaşmıştır [Agarwal et al., 2008].

Moleküler belirteçler; genom içinde bir DNA parçasındaki eklenmeler, silinmeler, yer değiştirmeler, duplikasyonlar gibi değişimlerden meydana gelen genom seviyesindeki farklılıkları temsil eder. Böylece incelenen bireyler arasındaki benzerlik ve farklılıkları tespit ederek, çeşitliliğin tayin edilmesinde kullanılmaktadırlar. Moleküler belirteçler, bir özelliğin fenotipik ifadesiyle ilişkili olabilir veya olmayabilir [Schlotterer, 2004].

Bir moleküler belirteç tekniğinin ideal olması için aşağıdaki kriterlere sahip olması gerekmektedir [Agarwall et al., 2008]:

- Polimorfik olmalı ve bütün genomda dağılmalı,
- Yeterli seviyede genetik farklılıkların çözünürlüğünü sağlamalı,
- Çoklu ve güvenilir belirteçler üretmeli,
- Basit, hızlı ve ucuz olmalı,
- Az miktarda doku ve DNA örneğine ihtiyaç duymalı,
- Farklı fenotiplere bağlanmalı,
- Bir organizmanın genomu hakkında daha önce herhangi bir bilgiye ihtiyaç duymamalı,
- Tercihen kodominant olmalıdır.

3.1. Moleküler Belirteç Tipleri

Moleküler belirteçler kullanılan yöntem bakımından 2 ana gruba ayrılmaktadırlar. Bunlar, Hibridizasyona Dayalı Belirteçler ve Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PZR) Dayalı Belirteçler'dir.

3.1.1. Hibridizasyona Dayalı Belirteçler

3.1.1.1. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunlukları Polimorfizmi)

Hibridizasyon temelli teknik olarak en yaygın kullanılan RFLP tekniği; bitkilerde genetik ilişkilerin incelenmesinde kullanılan bir moleküler belirteç yöntemidir [Tanksley et al., 1989]. Bu teknik, restriksiyon (endonükleaz) enzimleriyle özgün olarak kesilen DNA parçalarının jel elektroforezinde yürütülüp, daha sonra nitroselüloz membran üzerine transfer edilip, kimyasal etiketli problemlerle hibridize edildikten sonra oluşan farklı uzunluktaki DNA parçalarının incelenmesine dayanmaktadır. RFLP belirteçleri yüksek polimorfizme sahip, kodominant ve tekrarlanabilirliği yüksek belirteçler olmasına rağmen birçok dezavantaja sahiptir. Bunlar; fazla miktarda ve kaliteli DNA ihtiyacı, problemlerin pahalı ve toksik olması, fazla zaman ihtiyacı ve yoğun iş gücü gereksinimi istemesidir [Young et al, 1992].

3.1.2. PZR'a Dayalı Belirteçler

PZR, küçük miktarda spesifik bir DNA parçasının *in vitro* koşullarda enzimatik olarak milyonlarca kez çoğaltılmasıdır ve bu tekniğin gelişmesinde *Thermus aquaticus*'dan elde edilen sıcaklığa dayanıklı polimeraz enziminin (Taq DNA polimeraz) keşfi ana rol oynamıştır. PZR'a dayalı teknikte kullanılan primer ve hedef bölge çeşitliliğine göre farklı yöntemler geliştirilmiştir [Parveen et al., 2016].

3.1.2.1. RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)

PZR tekniğine dayalı moleküler belirteçlerden ilk olarak geliştirilen RAPD yöntemi, Williams ve arkadaşları tarafından 1990'da bulunmuştur. RAPD tekniği, basit ve kısa oligonükleotid primerlerin genomik DNA'nın rastgele bölgelerine bağlanıp arada kalan bölgeleri çoğaltarak, türler arasındaki benzerlik ve farklılığın analiz edilmesini sağlar. RAPD tekniğinin az miktarda DNA istemesine, aynı anda birçok lokusu analiz etmesine, kolay uygulanabilir, genom üzerinde geniş bir yayılışa sahip ve maliyeti düşük olmasına karşın, dominant özellik göstermesinden dolayı heterozigot bireyleri ayırt edemediğinden, tekrarlanabilirlik özelliğinin az olmasından

ve rastgele bağlanmasından dolayı kullanımı bazı çalışmalar için tercih edilmemektedir [Williams et al., 1990], [Williams et al., 1993], [Parveen et al., 2016].

3.1.2.2. AFLP (Çoğaltılmış Dizi Uzunluk Polimorfizmi)

RFLP ve PZR temelli belirteçlerin birleşimi olan AFLP tekniğinin, tekrarlanabilirliği ve polimorfizm oranı çok yüksektir. AFLP tekniği, genomik DNA'nın restriksiyon endonukleazları ile kesildikten sonra nükleotid dizilerinin uçlarına seçici primerlerin bağlanarak çoğaltılması esasına dayanmaktadır. Tek bir reaksiyonda çok sayıda bant vermesi, yüksek tekrarlanabilirlik ve yüksek oranda polimorfizm göstermesi, ön dizi bilgisi gerektirmemesi, çalışma için çok az miktarda DNA'ya ihtiyaç duyması en büyük avantajlarındandır. Ancak tekniğin uygulanmasının pahalı olması, çoğunlukla dominant belirteç vermesi ve çoğaltılan bantların görüntülenmesinde radyoaktif madde veya floresan boyama istemesi bu yöntemin uygulanmasını sınırlamaktadır [Vos et al., 1995].

3.1.2.3. ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)

ISSR tekniği, tekrar eden 2, 3, 4 ve 5'li nükleotidlere sahip olan primerler kullanılarak iki mikrosatellit arası bölgenin çoğaltıldığı, RAPD yöntemine göre daha hassas, tekrarlanabilirliği yüksek ve AFLP tekniğine göre daha ucuz olan bir yöntemdir [Gupta et al., 1994], [Zietkiewicz et al., 1994]. ISSR, dizi bilgisi gerekmeden primer dizaynı yapılabilen, yüksek polimorfizm ve üretkenlik gösteren, düşük miktarda DNA kullanımının yeterli olduğu, hızlı ve uygulanması kolay dominant bir belirteçtir [Gupta et al., 1994], [Zietkiewicz et al., 1994], [Joshi et al., 2000].

3.1.2.4. SSR (Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatellitler)

Mikrosatelit tekniği, birli, ikili, üçlü, dörtlü veya beşli basit dizi tekrarlarının yan bölgelerinde bulunan 20-25 bp büyüklüğündeki bölgelerden elde edilen primerlerin kullanılarak, tekrar eden bu bölgelerin çoğaltıldığı bir yöntemdir. PZR ile çoğaltılan SSR bölgeleri daha sonra agaroz jel, poliakrilamid jel ya da kapiller jel

elektroforezinde büyüklüklerine göre ayrılarak incelenir. Bu dizilerin tekrar sayısındaki farklılıklar da polimorfizmi oluşturmaktadır [Powell et al., 1996], [Matsuoka et al., 2002], [Kumar et al., 2009].

Mikrosatelit terimi, ilk olarak Litt and Luty (1989) tarafından ortaya atılmış ve insanlarda yapılan çalışmalardan sonra bu çalışmalar farelerde [Love et al., 1990], domuzlarda [Johansson et al., 1992] ve sığırlarda [Kemp et al., 1993] yapılmıştır. Bitkilerde de başarılı bir şekilde kullanılan SSR belirteçleri populasyon genetiği, türler arası benzerlik ve farklılıkların tespit edilmesi çalışmalarında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır [Parveen et al., 2016].

SSR belirteçlerinin; küçük miktarda DNA gereksinimi, yüksek polimorfizm göstermesi, otomasyon özelliği, ko-dominant olması, her lokus için çok sayıda allel üretebilir olması, tekrar edilebilir olması, aynı cinse ait türler ve aynı familyaya ait cinsler arasında transfer edilebilir olması gibi birçok avantajı vardır. Bu avantajlarından dolayı bitki tanımlamada oldukça fazla bir şekilde kullanılmaktadır [Powell et al., 1996], [Parveen et al., 2016].

Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuştur ve bu spesifik diziler primer olarak kullanılarak PZR metodu ile bir lokustaki farklı alleller tespit edilmektedir. Fakat bu yöntemin kullanılması için bu primer dizilerinin önceden bilinmesi gerekmektedir ve bu nedenle geliştirilmesi biraz pahalıdır [Parveen et al., 2016].

Her genotipin DNA dizilişi farklı olduğundan aynı primerler kullanılsa da her bir genotipte genetik belirteç olarak kullanılan farklı DNA ürünleri elde edilir. Bu amaçla çok sayıda kendine özel prensipleri olan moleküler belirteç teknikleri geliştirilmiş ve böylece bitki biyoteknolojisi çalışmalarına da yeni boyutlar kazandırılmıştır [Yorgancılar vd., 2015]. Tablo 3.1’de sık kullanılan moleküler belirteç teknikleri farklı karakterler açısından karşılaştırılmıştır [Meksem and Kahl, 2005].

Tablo 3.1: Sık kullanılan moleküler belirteç tekniklerinin farklı karakterlerinin karşılaştırılması.

Markör Tekniği	PCR Temelli olması	Polimorfizim	Dominantlık	Verimlilik	Otomasyon	Maliyet
RFLP	Hayır	Düşük/Orta	Kodominant	Yüksek	Düşük	Yüksek
RAPD	Evet	Orta/Yüksek	Dominant	Düşük	Orta	Düşük
AFLP	Evet	Yüksek	Dominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Orta
ISSR	Evet	Yüksek	Dominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Düşük
SSR	Evet	Yüksek	Kodominant	Yüksek	Orta/Yüksek	Yüksek
SCARS	Evet	Yüksek	Kodominant	Yüksek	Orta	Orta

4.YABANI KIRAZ AĞACININ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN BELİRLENMESİNE YÖNELİK YAPILAN ÇEŞİTLİ ÇALIŞMALAR

Yabani kiraz ile ilgili ilk çalışmalar genelde morfolojik açıdan yapılmıştır [Weiser, 1996], [Santi et al., 1998]. Fakat morfolojik karakterlerle yapılan çalışmalar uzun zaman aldığından, çevre koşullarına hassas ve kullanılan özellikler bakımından sınırlı olduğundan [Mohan et al., 1997], [Mondini et al., 2009], [Jiang, 2013] bu kısıtlamaları ortadan kaldırmak için daha sonra biyokimyasal ve moleküler belirteçler geliştirilmiştir [Mohan et al., 1997], [Kumar et al., 2009]. Yabani kiraz ağacının genetik çeşitliliğini belirlemek için bu belirteçlerden ilk olarak izozimler kullanılmıştır [Fracaria et al., 1993], [Ducci and Santi, 1997], [Mariette et al., 1997], [Gömöry, 2004].

Yabani kiraz ve kestane ağaçlarına ait populasyonların genetik çeşitliliği Fracaria ve arkadaşları (1993) tarafından izozim belirteçleri kullanılarak analiz edilmiş ve çalışma sonucunda, populasyonlarda bir lokus hariç Hardy-Weinberg dengesinden önemli bir sapma olmadığı görülmüştür. F-istatistiği ve genetik uzaklık ölçümleri de bu türlerin populasyonlar arası genetik farklılığının az olduğunu ortaya koymuştur. Kestane populasyonları için *Fst* değeri 0.027 iken yabani kiraz populasyonları için 0.049 olarak bulunmuştur. Ayrıca populasyonların genetik ve coğrafik uzaklıkları arasında bir korelasyon görülmemiştir. Bu durumu; insan aktiviteleriyle, polenlerin böcekler tarafından kolayca bulunmasıyla ve son buzul döneminden sonra Avrupa'da çoğu ağacın *Fst* değerinin henüz dengeye ulaşmamasıyla açıklamışlardır.

Ducci ve Santi (1997) yaptıkları bir çalışmada yabani kiraza ait yönetilen ve yönetilmeyen doğal populasyonlarındaki klonların dağılımlarını, 9 enzim lokusunun elektroforetik analiziyle değerlendirmişlerdir. Genotip sayısının toplam birey sayısının %6-%49'u arasında olduğu belirlenmiş ve genelde klonların sürgünlerden filizlendiğini bildirmişlerdir. Bu durum daha çok kısa mesafelerde görülmektedir. Bu nedenle plantasyonlarda heterojenliği ve kendi kendine sürdürülebilirliği arttırmak için, plantasyonları iyileştirmede seçilen bireylerin arasındaki mesafe en az 100 m olması ve farklı orijinlerden en azından 5-10 farklı klon karışımı kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Fransa’da bulunan yabani kiraza ait 6 popülasyon arasındaki genetik farklılık ve gen çeşitliliği Mariette ve arkadaşları (1997) tarafından izozimlerle analiz edilmiş ve yeni kolonize olmuş bir popülasyonla köklü bir popülasyonun genetik özellikleri karşılaştırılmıştır. Lokus başına düşen allel sayısı 1.4 olarak bulunmuş, ayrıca %33.2 oranında ortalama polimorfik lokus tespit edilmiştir. Bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Yabani kiraz bireylerinin genetik yapısını analiz etmek için yapılan ve izozim belirteçlerinin kullanıldığı başka bir çalışma da Gömöry (2004) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada Slovakya’daki terk edilmiş mera ve çayırarda yayılmış yabani kiraza ait bir popülasyonun kolonizasyonu esnasında allelik ve genetik yapıların değişimi analiz edilmiştir. Gözlenen heterozigotluk değeri 0.113-0.147 arasında bulunmuştur. Popülasyon genişlemesi sırasında allelik zenginliğin arttığı ve kolonizasyon esnasında popülasyonda 3 yeni allelin ortaya çıktığı bildirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; yeni oluşan bir popülasyonun yakınında bulunan bahçelerden tohumların dağılması veya polenlerin taşınması yoluyla verimli bir gen akışı sayesinde allelik olarak zengin seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir.

4.1. Yabani Kirazda Yapılan Mikrosatellit Çalışmaları

Schueler ve arkadaşları (2003), *Prunus persica* türüne ait 20 SSR primerini kullanarak bunlardan 7 tanesinin *Prunus avium* türünde polimorfik olduğunu tespit etmişlerdir. Bu SSR primerleriyle doğal popülasyonlardan örneklenen 75 tane yabani kiraz ağacı analiz edilmiştir. Lokus başına düşen allel sayısı 4-9 arası, beklenen heterozigotluk oranı 0.39-0.77 arasında bulunmuştur. Ayrıca 13 tatlı kiraz çeşidi de incelenmiş ve bunlardan 12’si ayırt edilmiştir.

Yabani kirazın büyük ölçekli popülasyon çalışmalarında kullanılmak üzere; türe özgü SSR belirteçlerinin karakterizasyonu ve multipleks PZR geliştirilmesi için Vaughan ve Russell (2004) tarafından 16 yabani kiraz bireyi 14 SSR primeriyle karakterize edilmiştir. 10 SSR lokusunun polimorfik, 4 SSR lokusunun monomorfik olduğu belirlenmiştir. Lokuslar bazında bakıldığı zaman gözlenen heterozigotluk değeri 0-0.81; beklenen heterozigotluk değeri 0.22-0.75 arasında bulunmuş, ayrıca lokuslara ait ayırım değerinin ise 0.22-0.87 arasında olduğu bildirilmiştir.

İngiltere’de doğal olarak oluşan veya düşük kalitedeki ağaçların çıkarıldığı iki farklı eski ormanlık alandaki vejetatif olarak üreyen yabani kiraz ağaçlarının dağılımı ve sıklığı 13 SSR primeri ile Vaughan ve arkadaşları (2007) tarafından incelenmiştir. Toplamda örneklenen 551 ağaçta 246 genotip belirlenmiştir, yani klonal üreme seviyesi iki popülasyonda da yüksek olarak bulunmuştur. Yönetilen alanların %48’i, yönetilmeyen alanların ise %65’inin klonal ağaçlardan oluştuğu belirlenmiştir. Ayrıca hem seksüel üreme hem de aseksüel üremenin dışarıdan müdahale edilmeyen ormanlık alanda daha yüksek olduğu görülmüştür. Çalışma sonucunda yabani kirazın olduğu ormanlık alanlara müdahale etmeme politikasının uygulanması önerilmiştir. Bu yolla; türün seksüel ve aseksüel üreme seviyesinin artacağı ve olumsuz kış şartlarına karşı genetik çeşitliliğin korunacağı düşünülmektedir.

SSR belirteçleri kullanılarak yapılan başka bir çalışma da Guarino ve arkadaşları (2009) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada; İtalya, Slovenya ve Hırvatistan’dan örneklenen 5 yabani kiraz popülasyonunun ve İtalya’nın farklı coğrafyalarından alınan 87 tatlı kiraz kültürünün genetik çeşitliliği belirlenmiştir. Eskiden bu türde geliştirilen 28 SSR belirteci polimorfik amplifikasyon ürünleri üretmiş ve bu analizler sonucunda yabani popülasyonlarında gözlenen toplam allel sayısının 78, lokus başına düşen allel sayısının 1-6 arasında olduğu bildirilmiştir. Kültüvarlarda ise gözlenen allel sayısı 200, lokus başına düşen allel sayısı da 1-14 arasında bulunmuştur. Yabani popülasyonlarda beklenen heterozigotluk oranı 0.18-0.80, gözlenen heterozigotluk oranı ise 0.2-1 arasında tespit edilmiştir.

Avramidou ve arkadaşları (2010), 4 Kuzey Yunan popülasyonundan alınan 36 yabani kiraz orijini 14 SSR lokusuyla analiz etmişlerdir. Genetik çeşitlilik miktarının dikkate değer olduğu görülmüş ve ortalama polimorfik bilgi içeriği 0.473 ve çeşitlilik indeksi 0.536 olarak bulunmuştur. 14 SSR belirteciyle yapılan analiz sonucunda ortalama gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0.399 ve 0.472 olarak bulunmuştur. Ayrıca Kuzey Yunanistan’da yaygın olduğu bilinen 5 tane tatlı kiraz kültürü ve yabani kiraz örnekleri 11 SSR lokusuyla karşılaştırılmıştır. Yabani kiraz ve kültürlerin bariz bir şekilde farklı olduğu belirlenmiştir.

ISSR ve SSR primerleri kullanılarak Kuzey Yunanistan’daki yabani kiraza ait 5 popülasyonun genetik çeşitliliği Ganopoulos ve arkadaşları (2011) tarafından analiz edilmiştir. Popülasyonların genetik çeşitliliği nispeten yüksek çıkmıştır. Beklenen heterozigotluk değeri sırasıyla ISSR ve SSR primerleri için 0.166 ve 0.740 olarak bulunmuştur. ISSR ve SSR primerleriyle yapılan analiz sonucu lokus başına düşen

ortalama allel sayısı ise sırasıyla 9.2 ve 12.7 olarak tespit edilmiştir. SSR analizi sonucu *Fst* değeri ise 0.097 olarak bulunmuş ve populasyonlar arasında orta dereceli genetik farklılaşma gözlemlenmiştir. AMOVA testiyle yapılan analiz sonucunda ise populasyonlar arasında önemli farklılıklar saptanmıştır.

Tanceva-Crmaric ve arkadaşları (2011), Hırvatistan'ın farklı bölgelerinden seçilmiş yabani kiraza ait plus ağaçlarla kurulan klonal tohum bahçesindeki 24 tane plus ağacın genetik çeşitliliğini 15 SSR belirteci ile analiz etmişlerdir. Yapılan analizler sonucunda lokus başına düşen ortalama allel sayısı 6.667 olarak bulunmuştur. Ayrıca beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri lokuslar bazında bakıldığında sırasıyla 0.680 ve 0.661 olarak tespit edilmiştir. AMOVA analizi sonucunda populasyon içi genetik çeşitlilik %95.88, populasyonlar arası ise %4.12 bulunmuştur. Klonlar arasında polimorfizm oranı yüksek ve SSR lokuslarında allelik varyasyon fazla olarak bulunmuştur. 24 klon arasındaki genetik mesafe ortalama 0.573 olarak hesaplanmıştır.

Slovenya'da yabani kiraza ait olan doğal 4 tohum standındaki (her standtan en az 30 örnek) yabani kiraz örnekleri 10 SSR belirteciyle Jarni ve arkadaşları (2012) tarafından genotiplemiş ve bu analizler sonucunda toplam genetik çeşitliliğin yüksek olduğu tespit edilmiştir ($He=0.704$). Ayrıca standlar arasında küçük ama önemli farklılıklar bulunmuştur ($Fst=0.053$). D standında genetik çeşitliliğin diğerlerine göre düşük olduğu görülmüş, 36 ağaçtan 11 farklı genotip bulunmuştur. Yani D standında fazlasıyla vejetatif üreme tespit edilmiştir. Diğer standlarda ise genetik çeşitliliğin daha fazla olduğu görülmüştür. Bu çalışma sonucunda; genetik çeşitliliği fazla olan bir tohum standı belirlenecekse öncelikle bitkilerin genetik çeşitliliğinin belirlenmesinin ve biyolojilerinin hesaba katılmasının önemi bildirilmiştir.

İtalya'daki yabani kiraz ağaçlarının genetik çeşitlilik seviyesini ve dağılımını tanımlamak için Rogatis ve arkadaşları (2012) tarafından 11 homojen bölgeden 278 tane yabani kiraz ağacı örneklenmiştir. Daha sonra bu bireyler kullanılarak 8 SSR primeri ile genetik analizleri yapılmıştır. Lokus başına düşen allel sayısı ortalama 15.5, gözlenen heterozigotluk değeri 0.573 ve beklenen heterozigotluk değeri 0.698 olarak tespit edilmiştir. Populasyonlar arasındaki farklılaşmayı gösteren *Fst* değeri ise 0.046 olarak tahmin edilmiştir. Populasyon yapısını test etmek için yapılan genetik yapı analizi (*structure*) sonucunda genetik yapı ile coğrafik yerleşim arasında bir uyum olmadığı görülmüştür.

İspanya’da bulunan 5 popülasyondan örneklenen 131 tane yabani kiraz ağacı Fernandez-Cruz ve arkadaşları (2014) tarafından 9 SSR belirteci kullanılarak genotiplenmiştir. PZR analizi sonucunda en fazla Empa015 lokusunda olmak üzere toplamda 84 allel belirlenmiştir. Ayrıca 131 bireyde toplam 122 multilokus genotip tespit edilmiştir. *Structure* analizi sonucunda popülasyonlar iki kümeye ayrılmıştır. Bu çalışmada belirlenen eşsiz genotiplerin ıslah programlarına dahil edilmesi önerilmiştir.

Khadivi-Khub ve arkadaşları (2014), 16 SSR ve 5 kloroplast DNA’sına özgü SSR belirteçleriyle İran’daki *Cerasus*’un yabani türleri ve kültüvarları arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Tür içi ve türler arası genetik çeşitlilik incelenmiş ve yüksek seviyede polimorfizm gözlenmiştir. Coğrafi dağılım ve tür içi genetik çeşitlilik arasında yakın bir ilişki bulunmuştur. Gelecekteki ıslah çalışmaları için bu doğal popülasyonlardaki yüksek genetik çeşitliliğin korunması önerilmiştir.

Çin’deki 3 *Prunus* türünün kloroplast ve mitokondriyal DNA’larına özgü SSR primerleri kullanılarak Pervaiz ve arkadaşları (2015) tarafından genetik çeşitlilikleri incelenmiştir (*Prunus persica*, *Prunus domestica*, *Prunus avium*). Genotiplerin çoğu filogenetik analiz sonuçlarında ortaya çıktığı gibi genetik olarak benzer bulunmuştur. Ayrıca; cpSSR ve mtSSR dendogramları yapılmıştır. Bu analizlerde mtSSR için CCB256 ve NAD6 primerleri; cpSSR için ise ARCP511 primeri kullanılmıştır. Bu araştırma ile evrim süreci boyunca *Prunus* türleri arasında kloroplast ve mitokondriyal genomlarının yüksek düzeyde koruma altında olduğu bildirilmiştir.

Yurtdışında yabani kirazın genetiğine dair birçok moleküler çalışma yapılmışken, Türkiye’de ise yapılan moleküler çalışmalar (SSR, AFLP, cpSCAR) yabani kirazın kültürlenmiş formu olan tatlı kiraza daha çok yoğunlaşmaktadır [Kaçar et al., 2005], [Türkeç et al., 2005], [Demirsoy et al., 2008], [Demir et al., 2010], [Gülen et al., 2010], [Türkoğlu et al., 2010], [Acunalp, 2012], [Türet-Sayar et al., 2012], [Öz et al., 2013]. Yabani kirazın genetik çeşitliliğine dair ise sınırlı sayıda çalışma vardır.

Ercişli ve arkadaşları (2011), Çoruh vadisinden elde ettikleri yabani-tatlı kiraz ağaçlarına ait 18 kiraz genotipinin genetik varyasyonunu analiz etmek için 10 SSR primeri kullanmışlar ve toplamda 46 allel bulmuşlardır. Locus başına düşen allel sayısının 3-7 arasında değişmekle birlikte ortalama 4.6 olduğu bildirilmiştir. Bu analizlere göre, 18 kiraz çeşidi için çizilen dendrogram incelendiğinde kiraz çeşitlerinin 7 farklı gruba ayrıldığı görülmüştür. Çalışma sonucunda analiz edilen yabani-tatlı kiraz ağaçlarının yüksek genetik çeşitliliğe sahip oldukları bildirilmiştir.

Türkoğlu ve arkadaşları (2012), Ordu ilinden örnekledikleri 58 adet *Prunus avium*, *Prunus cerasus* ve *Prunus mahaleb* türlerine ait bireyleri 12 SSR belirteci kullanarak incelemişlerdir. Toplam allel sayısı 108, lokus başına düşen ortalama allel sayısı ise 9 olarak bulunmuştur. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ortalama olarak sırayla 0.609 ve 0.720 bulunmuştur. Analizler sonucunda oluşturulan dendrogram incelendiği zaman kiraz genotiplerinin çok fazla dallandığı görülmüş ve yine yabani kirazda genetik çeşitliliğin yüksek olduğu bildirilmiştir.

4.2. Yabani Kirazda Diğer Moleküler Belirteçlerle Yapılan Çalışmalar

Yabani kirazın genetik çeşitliliğini analiz etmek için SSR belirteçlerinin yanında başka belirteç sistemleri de kullanılmıştır.

Fransa’da Tavaud ve arkadaşlarının (2001) gerçekleştirdiği bir çalışmada, 63 Fransız kiraz kültüvarının ve 165 tane yabani kiraz ağacının genetik çeşitliliği AFLP belirteçleri kullanılarak analiz edilmiştir. UPGMA metodu ile kümeleme analizi yapılmış ve yabani-tatlı kiraz ağaçları için 4 küme tespit edilmiştir. Bunlardan 2’si tamamen kültüvarlara, 1’inin 55 kültüvar ve 3 yabani kiraz ağacına, 1’inin ise 1 kültüvar ve 162 yabani kiraz ağacına ait olduğu bildirilmiştir.

PZR-RFLP tekniği kullanılarak, Mohanty ve arkadaşları (2001a) tarafından bazı tatlı kiraz kültüvarlarının ve Avrupa’nın 5 tane yaprak döken ormanından alınan yabani kiraz örneklerinin kloroplast DNA çeşitliliği incelenmiştir. Toplam kloroplast genomunun %10.8’i üzerinde yapılan çalışmada, 12 haplotip üzerinde dağılan 8 insersiyon/delesyon mutasyonu belirlenmiştir. Haplotiplerden 6’sı (1, 2, 3, 4, 5, 6) yabani popülasyonda, 8’i (2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) kültüvarlarda bulunmuştur. 2 haplotip (2, 6) ortak olarak görülmüştür. Yabani popülasyonda en çok görülen haplotipin H2 olduğu tespit edilmiştir (%78) ve bu haplotipin eski kökenli olduğunu düşünmüşlerdir. Yabani popülasyonlarda toplam cpDNA çeşitliliğinin 0.40 olduğu ve bunun da büyük kısmının popülasyon içinde olduğu bildirilmiştir (0.37). Popülasyonlar arası genetik çeşitliliğin düşük olduğu görülmüştür.

Mohanty ve arkadaşlarının (2001b) yaptıkları başka bir çalışmada da, Avrupa’da bulunan 23 yabani kiraz popülasyonunun kloroplast DNA’sının genetik analizi gerçekleştirilmiştir. Kloroplast DNA’sının yaklaşık olarak %9’unun analiziyle,

çoğunlukla insersiyon/delesyon ve bir nokta mutasyonu ve toplamda 16 haplotip belirlenmiştir. Bir haplotip 23 popülasyonun 21'inde, 211 bireyin 161'inde tespit edilmiş ve onun eski bir köken olabileceği düşünülmüştür. Yabani kiraz popülasyonlarında coğrafik yapı ve haplotip filogenisi arasında korelasyon bulunamamıştır. Yabani kirazdaki bu filocoğrafik yapının yokluğu hayvan, kuş ve antropogenik aktivitelerle popülasyonlar arası uzak mesafe gen akışından olabileceği düşünülmüştür.

Seçilen 96 tatlı kiraz bireyinin kloroplast DNA çeşitliliği Panda ve arkadaşları (2003) tarafından değerlendirilmiş ve 23 yabani kiraz popülasyonunda kloroplast DNA çeşitliliğinin analiz edildiği önceki bir çalışmanın sonucuyla [Mohanty et al., 2001b] karşılaştırılmıştır. 5 evrensel primer çifti ve 3 restriksiyon enzimiyle kloroplast genomunun %9'u analiz edilmiştir. 10 polimorfik bantın yabani ve tatlı kirazda ortak olarak bulunduğu tespit edilmiş ve 8 polimorfik bant ise sadece yabani kirazda bulunmuştur. Yabani kirazda indel mutasyona ek bir nokta mutasyonu bulunmuşken, tatlı kirazda ise bütün mutasyonlar indel olarak bulunmuştur. Yabani kirazda 16 haplotip belirlenmiş, kùltivarlarda ise 3 haplotip belirlenmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında yabani kirazın cpDNA çeşitliliğinin tatlı kirazınkinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

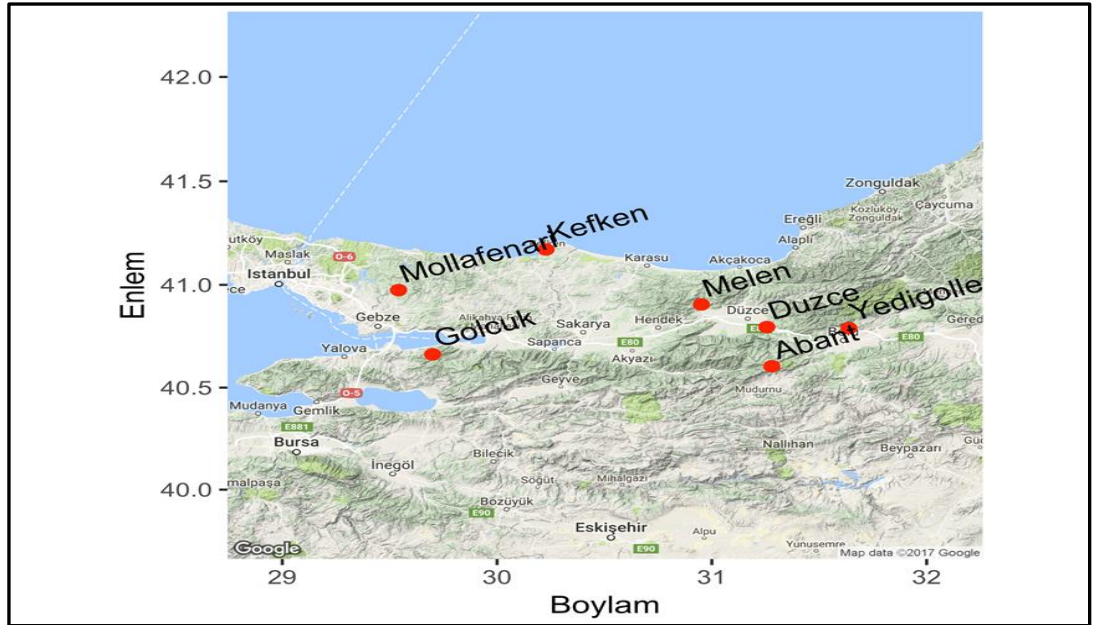
5. MATERİYAL ve YÖNTEMLER

5.1. Materyal

5.1.1. Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi

Türkiye’de yabani kiraz ağacının en çok yayılış gösterdiği alanlardan olan, Adapazarı ve Bolu Orman Bölge Müdürlükleri’ndeki 3 farklı populasyona ait 7 alt populasyon (Kefken, Gölcük, Mollafenari, Düzce, Melen, Yedigöller, Abant) belirlendi (Şekil 5.1). Bu 7 alt populasyonun her birinden 20 olmak üzere toplamda 140 ağaçtan yaprak örnekleri alındı. Populasyonlardan yaprak örnekleri alınırken; ağaçlar arasında en az 100 m mesafe olmasına ve ağaçlar arasında 300 m’den fazla yükselti farkı olmamasına dikkat edildi.

Her ağaç numaralandırılarak yaprak örnekleri toplandı ve alınan yapraklar ayrı ayrı torbalara konuldu (Şekil 5.2). Ayrıca dış grup olarak seçilen yabani erik ağacından da (*Prunus cerasifera*) bir birey olmak üzere yaprak örneği alındı. Daha sonra alınan yaprak örnekleri soğutucu çanta ve soğutucu buz aküleri kullanılarak en kısa sürede Gebze Teknik Üniversitesi’ne getirildi ve burada -80°C’de DNA izolasyonu yapılabilecek kadar saklandı. Örneklenen populasyonlara ait özellikler Tablo 5.1’de belirtilmiştir.



Şekil 5.1: Çalışma kapsamında örnekleme yapılan alanlar.



Şekil 5.2: Toplanan yaprak örneklerinin ayrı ayrı etiketlenerek torbalara konulmasının görüntüsü.

Tablo 5.1: Toplanan yabani kiraz populasyonlarının özellikleri.

No	Bölge Md.	Orijin	Rakı m	Kuzey	Doğu
1	Adapazarı	Kocaeli-Gölcük	670	40°39'43.96"	29°41'59.59"
2	Adapazarı	Kocaeli-Kefken	150	41°7'59.51"	30°11'33.62"
3	Adapazarı	Kocaeli-Mollafenari	300	40°58'28.87"	29°32'29.88"
4	Bolu	Bolu-Abant	950	40°39'30.50"	31°24'19.97"
5	Bolu	Bolu-Yedigöller	960	40° 47' 24.03"	31° 38' 17.75"
6	Bolu	Düzce-Düzce	250	40° 47' 42.87"	31° 15' 21.42"
7	Bolu	Düzce-Melen	320	40°47' 32.06"	30° 53' 26.52"

5.1.2. Tez Çalışması Kapsamında Kullanılan Gereçler

Tez çalışması kapsamında DNA izolasyonu sırasında kullanılan kimyasallar, enzimler ve kitler Tablo 5.2’de, cihazlar ise Tablo 5.3’te ayrıntılı olarak listelenmiştir.

Tablo 5.2: Tez kapsamında; DNA izolasyonu, PZR reaksiyonu, agaroz jelin hazırlanıp görüntülenmesi, fragment analizi sırasında kullanılan kimyasal maddelerin isimleri, alınan firmalar ve katalog numaraları.

Kimyasal Adı	Firma Adı	Katalog No
Etil alkol (%96)	Pro-Lab	-
i-genomik bitki DNA ekstraksiyon mini kit	İntron biotechnology	17371
Hazır 5x FIREPol® Master Mix (12.5 mM MgCl ₂)	Solis biodyne	04-12-00125
Agaroz	Sigma	T6066
Trizma base	Sigma	S3014
Asetik asit	Calbiochem	324503
EDTA	Applichem	A,11080,0100
Red safe dye	İntron biotechnology	21141
100 bp DNA belirteç (TrackIt™)	İntron biotechnology	32181
Jel Yükleme boyası	Sigma	372978
λ DNA-Hind III	AppliChem	A3461.1000
ExoSAP-IT PZR ürünü temizlik kit	Applied Biosystems	78201.1.ML
GeneScan 400HD ROX dye Size Standard	Applied Biosystems	402985
Hi-Di Formamide	Applied Biosystems	4311320

Tablo 5.3: Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlar.

Cihaz Adı	Cihaz Modeli	Firma
Hassas terazi	TP3030	Denver Instrument
Otoklav	HV-110L	Hirayama
Etüv	DIN 12880	Binder
Manyetik karıştırıcı	MR3001	Heidolph
Derin dondurucu (-20°C)	GS26DN13NE	Simens
Buzdolabı (4 °C)	RG 1380	İndesit
Derin dondurucu (-80°C)	DW-86L628AH	VWR
Sıvı azot tankı	ARPEGE 40	Dmc-airliquide
Havan	H 100 MM	İsolab
Sıcak su banyosu	D-77960	Julabo
Vorteks	AC230	VNR International
Mikrodalga fırın	MW71E	Samsung
Otomatik pipet	3862243	Eppendorf Research

Tablo 5.3: Devam.

Santrifüj	Universal 32	Hettich
Jel elektroforezi ve güç kaynağı	MP300	Claver Scientific
Jel görüntüleme cihazı	Universal Hood II	BIO-RAD
Termal döngü cihazı	PTC-200	MJ Research INC
3730xl DNA Analyzer	3730XL	Applied Biosystems

5.2. Yöntem

5.2.1. Yapraklardan DNA İzolasyonu

Tez kapsamında yapılan DNA izolasyon çalışması, *i-genomik Bitki DNA Ekstraksiyon Mini Kit (intron biotechnology)* ile gerçekleştirildi. İlgili kit ile ilgili DNA izolasyon protokolü aşağıdadır:

- Bitki parçaları havanda, sıvı azot ile ezilerek toz haline getirildi.
- Toz haline gelen yapraklardan 5 mg ölçülerek 1.5'lik ependorf tüpe aktarıldı.
- Tüp içerisine daha sonra 390µl Buffer PG (lisis tamponu), 7 µl Enhancer Solution (bağlayıcı güçlendirici tampon), 20 µl Proteinaz K, 5 µl Rnase A konulup, iyice karıştırıldı.
- Karışım 65 °C'lik su banyosunda 30 dakika inkübe edildi.
- Lizat üzerine 100 µl Buffer PPT (çökeltme tamponu) konulup, iyice karıştırdıktan sonra 5 dakika buzda bekletildi.
- Daha sonra oda sıcaklığında 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj yapıldı.
- Santrifüj sonrası tüpün içindeki örnekten 200 µl üst sıvı alınarak yeni bir 1.5'lik ependorf tüpe aktarıldı.
- Alınan üst sıvının üzerine 650 µl Buffer PB (bağlama tamponu) eklendi.
- 850 µl'lik bu karışımdan 650 µl pipetle çekilip 2 ml'lik koleksiyon tüp içine yerleştirilen spin kolona aktarıldı ve 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
- Koleksiyon tüp içinde biriken sıvı döküldükten sonra karışımda kalan 200 µl'lik sıvı tekrar spin kolona aktarılıp 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Daha sonra koleksiyon tüple beraber biriken sıvı atıldı.

- Kullanılan spin kolon yeni bir 2 ml’lik koleksiyon tüp içerisine yerleştirildi ve spin kolona 700 µl Buffer PWA (yıkama tamponu) eklendi. Daha sonra 13000 rpm’de 1 dakika santrifüj yapıp koleksiyon tüpte kalan sıvı döküldü ve tekrar spin kolon aynı koleksiyon tüpe yerleştirildi.
- 700 µl Buffer PWB (yıkama tamponu) spin kolona eklendi ve 13000 rpm’de 1 dakika santrifüj yapıldı. Tüpte biriken sıvı döküldü. Membranın kuruması için tekrar 1 dakika santrifüj yapıp kalan sıvı koleksiyon tüple beraber atıldı.
- Spin kolon yeni bir 1.5’luk ependorf tüp içerisine yerleştirildi. Üzerine 100 µl Buffer PE (elüsyon tamponu) eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika bekletildikten sonra 13000 rpm’de 1 dakika santrifüj yapıldı ve böylece DNA 1.5’luk ependorf tüp içerisine aktarılmış oldu. Elde edilen DNA -20 °C’ye kaldırıldı.

Tablo 5.4: İ-Genomik Bitki DNA Ekstraksiyon Mini Kiti içeriği.

İçerik	Tanımlama
Buffer PG	Liziz tampon
Buffer PPT	Çöktürme tampon
Buffer PB	Bağlama tampon
Buffer PWA	Yıkama tamponu A
Buffer PWB	Yıkama tamponu B
Buffer PE	Elüsyon tampon
Encancer Solution	Bağlanmayı güçlendirici tampon
RNase A	Enzim
Proteinase K	Enzim

İzole edilen DNA’lar λ /HindIII belirteci ile %1.5 agaroz konsantrasyonuna sahip jel elektroforez sisteminde 80 volt altında 30 dakika yürütülerek incelendi.

5.2.2. PZR Reaksiyonlarının Hazırlanması ve SSR Analizleri

SSR analizinde amplifikasyon reaksiyonu, 0.3 µM floresan işaretlenmiş ileri primer, 0.3 µM ters primer, 10-50 ng DNA kalıbı ve 5 µl hazır 5x FIREPol® Master

Mix (Solis Biotek) ile toplam 25 µl reaksiyon hacminde gerçekleştirildi. DNA çoğaltımı için Peltier Termal Döngü cihazı kullanıldı.

SSR protokolü 10 işaretli primer kullanılarak gerçekleştirildi. Bu primerlerden 7 tanesi yabancı kiraza spesifik [Vaughan and Russell, 2004]; diğer 3'ü ise başlangıçta tatlı kiraza yönelik olarak dizayn edilmiş [Clarke and Tobutt, 2003] ve Tablo 5.5'te primerlere ait özellikler verilmiştir.

Tablo 5.5: PZR reaksiyonunda kullanılan SSR primerleri.

Lokus	Baz Dizisi (5' _ 3')	Referans
Empas01	F:TAMRA- CAAAATCAACAAAATCTAAACC R: CAAGAATCTTCTAGCTCAAACC	Vaughan ve Russell, 2004
Empas02	F: FAM-CTACTTCCATGATTGCCTCAC R: AACATCCAGAACATCAACACAC	Vaughan ve Russell, 2004
Empas06	F:HEX- AAGCGGAAAGCACAGGTAG R:TTGCTAGCATAGAAAAGAATTGTAG	Vaughan ve Russell, 2004
Empas10	F: TAMRA-GCTAATATCAAATCCCAGCTCTC R: TGAAGAAGTATGGCTTCTGTGG	Vaughan ve Russell, 2004
Empas11	F: FAM-ACCACTTTGAGGAAGTTGGG R: CTGCCTGGAAGAGCAATAAC	Vaughan ve Russell, 2004
Empas12	F:FAM- TGTGCTAATGCCAAAAATACC R: ACATGCATTTCAACCCACTC	Vaughan ve Russell, 2004
Empas14	F: HEX-TCCGCCATATCACAATCAAC R: TTCCACACAAAAACCAATCC	Vaughan ve Russell, 2004
Empa004	F:TAMRA-TACGGTAGGCTTCTGCAAGG R:TTGGCAGGTTCTGTTCACAT	Clarke ve Tobutt, 2003
Empa005	F:TAMRA-TGGGTTTGAGCAATATGCAA R:CACCAATACACATGCACACG	Clarke ve Tobutt, 2003
Empa015	F:FAM-TTTTGGTCAATCTGCTGCTG R:CTCTCATCTTCCCCCTCCTC	Clarke ve Tobutt, 2003

Kullanılan primerlere göre değişmekle beraber iki çeşit PZR programı kullanıldı. DNA çoğaltımı için kullanılan PZR programları:

- Empas01, Empas02, Empas06, Empas10, Empas11, Empas12, Empas14 primerleri için;

- 95°C’de 15 dakika		
- 94°C’de 30 sn		
- Her döngüde 1°C azalarak 60°C’de 90 saniye	}	10 Döngü
- 72°C’de 60 saniye		
- 94°C’de 30 saniye	}	25 Döngü
- 48°C’de 90 saniye		
- 72°C’de 60 saniye		
- 60°C’de 30 dakika		

olarak uygulandı [Vaughan and Russell, 2004].

- Empa004, Empa005, Empa015 primerleri için ise;

- 94 °C’de15 dakika		
- 94 °C’de 30 sn		
- Her döngüde 0,5°C azalarak 60 °C’de 45 sn	}	10 Döngü
- 72 °C’de 1 dakika		
- 94 °C’de 30 sn	}	25 Döngü
- 55 °C’de 45 sn		
- 72 °C’de 1 dakika		
- 72 °C’de 5 dakika		

olarak uygulandı [Clarke and Tobutt, 2003].

PZR sonrası elde edilen SSR reaksiyon ürünleri 100 bp DNA belirteçleri kullanılarak %1.5 agaroz içeren jel üzerinde 80 voltta 30 dakika yürütüldü. Elektroforez sonrası SSR bantları floresan görüntüleme cihazında (Biorad, Chemidoc) incelenerek fotoğrafları çekildi.

5.2.3. PZR Ürünlerinin Kapiller Elektroforezi

Jel elektroforezinde yürütülen SSR ürünlerinden uygun olduğu belirlenenler fragment analizi için BM Yazılım Danış. ve Lab. Sis. Ltd. Sti. adlı şirkete gönderildi. Fragment analizi sırasında ExoSAP-IT PZR ürünü temizlik kiti kullanılarak

saflaştırma işlemleri yapılmış daha sonra saflaştırılan PZR ürünleri farklı primer setlerine göre seyreltilerek analize gönderilmiştir. Analizden önce örnekler GeneScan 400HD ROX dye Size Standard ve Hi-Di formamide eklenmiştir. Örnekler 3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems) cihazında 400HD size standart marker için DS-30 boya seti kullanılarak okuma yapılmıştır. Okuma analizleri de Genemapper v.5 programı kullanılarak düzenlenmiştir.

Okuma sonrası gelen fragment analizi sonuçlarını değerlendirmek için Peak Scanner Software v1.0 adlı program kullanıldı. Lokuslardaki allellerin uzunlukları kapiller jel elektroforezi sırasında kullanılan ölçüt markörüne göre hesaplandı. Primerlerin her biri floresan etiketli farklı bir boya ile işaretli olduğu için lokuslara ait bant boyutları belirlenirken piklerin renkleri göz önüne alındı ve lokuslardaki piklere bakıldığı zaman en fazla yüksekliğe sahip olan pik o lokustaki allelin ait olduğu bant uzunluğu olarak belirlendi. Eğer programla allel uzunlukları araştırılan lokusta iki tane aynı şekile sahip yüksek pik varsa o lokus için incelenen birey heterozigot, bir tane yüksek pik varsa o lokus için incelenen birey homozigot olarak kabul edildi.

5.2.4. Genetik Analizler

Yapılan çalışmada; allel sayısı (n), beklenen heterozigotluk (H_e), gözlenen heterozigotluk (H_o), tahmin edilen sessiz allel frekansı (null allel), kayıp veri oranı, F istatistiği tahminleri, popülasyonlar arası gen akışı değerleri (N_m) ve her bir grup için özel allel sayıları hesaplanmıştır. Daha sonra bu veriler kullanılarak popülasyonlar ve alt popülasyonlar arasındaki akrabalık ilişkisini gösteren genetik ilişki dendrogramı oluşturulmuştur. Yapılan analizler için R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde çalışan poppr [Kamvar et al., 2014], ape [Paradis et al., 2004], adegenet [Jombart, 2008], pegas [Paradis, 2010], PopGenReport [Adamack and Gruber, 2014], hierfstat [Goudet, 2005], diveRsity [Keenan et al., 2013] popülasyon genetiği analiz kütüphaneleri kullanılmıştır.

Sessiz (null) alleller, genomda var olan fakat primerlerin bağlanma bölgesindeki varyasyonlar nedeniyle ya da başka bir sebepten PZR ile güvenilir bir şekilde çoğaltılamamış allellerdir. Beklenenden daha az heterozigotluğa sebep olurlar ve analiz sonucunda bulunan değer negatif ya da sıfıra yakınsa null allel olma olasılığı düşük demektir. Null allel analizi; R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde

alışan PopGenReport [Adamack and Gruber, 2014] analiz kütüphanesi ile Brookfield tarafından belirtilen yöntem [Brookfield, 1996] kullanılarak yapılmıştır.

Örneklenen bireylerde klonal çoğalma olup olmadığını öğrenmek için R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde çalışan poppr [Kamvar et al., 2014] analiz kütüphanesi kullanılmıştır.

5.2.4.1. Heterozigotluk

Bir popülasyondaki genetik varyasyonun en yaygın kullanılan ölçütlerinden biri olan heterozigotluk derecesi, R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde çalışan poppr [Kamvar et al., 2014] analiz kütüphanesi ile gözlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk olmak üzere iki şekilde hesaplanmıştır. Bir lokustaki heterozigot bireylerin toplam birey sayısına olan oranı o lokus için gözlenen heterozigotluğu vermektedir. Beklenen heterozigotluk (H_e, H_{ei}) tahminleri ise allel frekansı (P_i), lokus sayısı (r), örnek genişliği (n) verileri kullanılarak yansız olarak Nei (1978)'e göre hesaplanmış ve bu hesaplama yapılırken aşağıdaki formüller kullanılmıştır:

$$H_e = \sum_i H_{ei} / r \quad (5.1)$$

$$H_{ei} = (2n (1 - \sum_i P_i^2)) / (2n - 1) \quad (5.2)$$

$$V(H_e) = V(H_{ei}) / r \quad (5.3)$$

$$V(H_{ei}) = \sum_i (H_{ei} - H_e)^2 / (r - 1) \quad (5.4)$$

5.2.4.2. Hardy-Weinberg Dengesinin (HWE) Hesaplanması

1908 yılında iki bilim adamı tarafından ortaya konulan Hardy-Weinberg prensibi temel olarak evrimsel süreçlerin var olmadığı durumda bir popülasyon içindeki allel frekansları toplamının nesiller boyunca sabit kalmasını ifade eder. Bu dengeye göre eğer bir popülasyon Hardy-Weinberg dengesinden uzaklaşmışsa mutasyon, doğal seçim, genetik sürüklenme, gen akışı, genetik göç ve rastgele olmayan çiftleşme gibi olaylar gerçekleşmiş demektir [Campbell et al., 2006].

Bu çalışmada lokusların, populasyonların ve alt populasyonların Hardy-Weinberg dengesinden anlamlı bir şekilde uzaklaşıp uzaklaşmadığını analiz etmek için istatistiksel önemlilik testi olan ki-kare testi kullanılmıştır. Bu analiz için R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde çalışan pegas [Paradis, 2010] analiz kütüphanesinden yararlanılmıştır. Genom çalışmalarında hipotez testleri için yaygın olarak kullanılan ki-kare testi bir veri setindeki gözlenen ve beklenen frekanslar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı temeline dayanır. X^2 testinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır [Thompson and Thompson 1986], [Liu, 1998].

$$X^2 = \sum \frac{(H_o - H_e)^2}{H_e} \quad (5.5)$$

5.2.4.3. F-istatistiği ve Gen Akışı (Nm)

Akrabalı yetiştirilen (*inbreeding*) populasyonların genotip frekanslarında Hardy-Weinberg dengesinin beklenen oranlarından homozigotlaşmaya doğru bir değişim olur. Çalışılan populasyonlarda veya lokuslarda Hardy-Weinberg genetik dengesinden ne kadar sapma olduğunu gösteren bu homozigotlaşma indeksi F istatistiği (*F*, *fixation index*) olarak isimlendirilmektedir [Wright, 1978]. Akrabalı yetiştirme durumunun belirlenmesinde kullanılan bu F istatistik modeli; *F_{it}*, *F_{is}* ve *F_{st}* parametrelerini kullanmakta ve aralarındaki ilişki aşağıdaki şekilde formüle edilmektedir [Nei, 1987], [Hartl and Clark, 2007].

$$1-F_{it}=(1-F_{is}).(1-F_{st}) \quad (5.6)$$

F_{is}, her bir alt populasyonun içindeki heterozigotluğun Hardy-Weinberg dengesinden sapmasını göstermekte ve -1 ile +1 arasında değerler almaktadır. Bu değer negatif olması heterozigotluk fazlalığına, pozitif olması homozigotluk fazlalığına ve sıfıra yakın bir değer alması Hardy Weinberg dengesinde olduğuna işaret eder. *F_{it}* değeri, tüm populasyonlardaki heterozigotluğun Hardy-Weinberg dengesinden sapmasını göstermektedir. *F_{st}* değeri ise populasyonlar ya da alt populasyonlar arasındaki farklılaşmayı göstermekte ve 0 ile 1 arasında değer almaktadır. *F_{st}* değeri 0-0.05 arasındaysa populasyonlar arasındaki genetik farklılık

düşük, 0.05-0.15 arasındaysa populasyonlar arasındaki genetik farklılık orta, 0.15-0.25 arasında ise populasyonlar arasındaki genetik farklılık yüksek ve 0.25'ten büyük ise populasyonlar arasındaki genetik farklılık çok yüksek seviyededir [Hartl and Clark, 2007]. Çalışmada bulunan populasyonların ve lokusların F istatistikleri; R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde çalışan pegas [Paradis, 2010] analiz kütüphanesi ile Weir ve Cockerham tarafından belirtilen yöntemle göre hesaplanmıştır [Weir and Cockerham, 1984]. Ayrıca populasyonların birbirleri arasındaki farklılıklarını gösteren ikili *Fst* değerlerini hesaplamak için Nei tarafından geliştirilen yöntem kullanılmış [Nei, 1973] ve bu hesaplama R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde çalışan hierfstat [Goudet, 2005] analiz kütüphanesi ile yapılmıştır.

Bir alt popülasyondaki bir bireyin başka bir alt popülasyona genetik faktör olarak katkıda bulunması gen akışı (*Nm*) ile ifade edilmekte ve bu *Nm* değeri her generasyon göç eden bireylerin gerçek sayısını vermektedir. Bu çalışmada *Nm* (gen akışı) değeri hesaplanırken Slatkin tarafından geliştirilmiş *Fst* metodu kullanılmıştır [Slatkin, 1985].

5.2.4.4. Moleküler Genetik Verilerinin Varyans Analizi (AMOVA)

Weir ve Cockerham (1984) ile Excoffier ve arkadaşları (1992) tarafından geliştirilen moleküler varyans analizi (AMOVA) popülasyon genetiği çalışmalarında moleküler bilgilerden elde edilen verileri kullanarak populasyonlar arasındaki farklılaşmaların ve farklılaşma ile ilgili hipotezlerin tespit edilmesi amacıyla kullanılan istatistik bir analizdir. Bu analizle toplam genetik çeşitlilik, bileşenlerine ayrılarak genetik çeşitliliğin her bir faktörünün toplam varyasyondaki payı belirlenmektedir. AMOVA analizi Excoffier tarafından belirtilen yöntemle uygun olarak, 1000 permütasyon testi ile birlikte yapılmıştır [Excoffier et al., 1992]. Bu analiz, R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde çalışan poppr [Kamvar et al., 2014] analiz kütüphanesi ile yapılmıştır.

5.2.4.5. Temel Bileşenler Analizi (PCA)

Temel bileşenler analizi (PCA) popülasyonları görsel olarak en az grup ve ekseninde toplamayı amaçlayan bir istatistiksel analiz aracıdır. Bu analiz,

populasyonlardaki bireylere ait verileri kullanarak onları tek bir nokta gibi değerlendirek kombinasyonlar oluşturmakta ve daha sonra uygun bir açı yani koordinat sistemi seçmektedir. *PCA*'da uygun koordinat sistemi ararken birinci eksen olarak verilerin en büyük değişiminde olan yön seçilir, ikinci eksen olarak birinci eksene dikey olan ve kalan verilerin en büyük değişiminde olan yön seçilir. Bu şekilde seçilen en büyük değişim yönlerine temel bileşenler denir [Dytham, 2003], [Özkan, 2005]. 10 SSR primeriyle yapılan PZR analizi sonucu elde edilen allellerin frekansları kullanılarak bireylerin uzaysal düzlemde gruplaşmasını sağlayan temel bileşenler analizi (*PCA*) R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde çalışan adegenet [Jombart, 2008] analiz kütüphanesine göre gerçekleştirilmiştir.

5.2.4.6. Genetik Yapı Analizi (*Structure*)

Genetik yapı analizi, populasyon genetiği çalışmalarında birbirleriyle ilişkisi olmayan belirteçlerden elde edilen genotipik veriler kullanılarak populasyonları oluşturan bireylerin benzer gruplarının tespit edilmesi için yaygın olarak kullanılan model tabanlı bir gruplama yöntemidir [Pritchard et al., 2000], Evanno et al., 2005]. Model tabanlı bu yöntemde, K sayısı kadar populasyon olduğu kabul edilmekte ve her lokus için tahmin edilen allel frekansları kullanılarak populasyonun genetik yapısı belirlenmektedir. Böylece birbirleriyle ilişkili olan bireylerin bulundukları populasyonlara doğru bir şekilde ataması yapılmaktadır [Pritchard et al., 2000], [Rosenberg et al., 2001]. Doğru populasyon sayısını (K) tespit etmek için ΔK temelli istatistiksel yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde ΔK 'ya ulaşmak için öncelikle her bir K değerinin tekrarlama sayılarındaki ortalama olasılık $[L(K)]$, daha sonra bu K değerlerinin ardışık olasılık değerleri arasındaki ortalama fark $[L'(K)]$ hesaplanmaktadır. Bu ardışık $L'(K)$ değerlerinin arasındaki fark mutlak değer formülüyle hesaplandıktan sonra mutlak değer ortalaması, tekrarlama sayıları için hesaplanan $L(K)$ değerinin standart sapmasına bölünmektedir [Evanno et al., 2005].

$$L'(K) = L(K) - L(K - 1) \quad (5.7)$$

$$|L''(K)| = |L'(K + 1) - L'(K)| \quad (5.8)$$

$$\Delta K = m(|L''(K)|)/s[L(K)] \quad (5.9)$$

Bu çalışmada genetik yapı analizi için *Structure* 2.3.4 bilgisayar paket programından yararlanılmıştır [Pritchard et al., 2010].

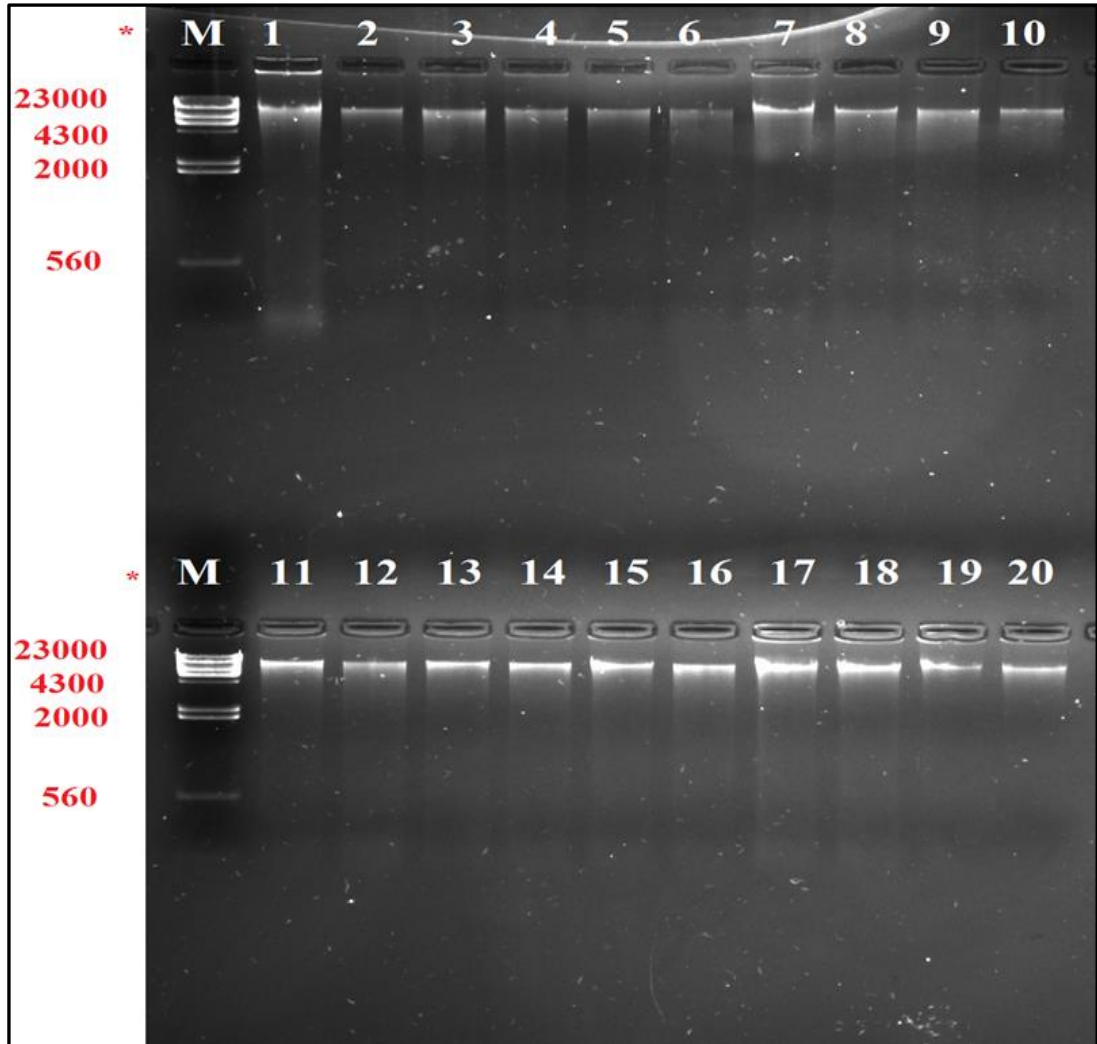
5.2.4.7. Filogenetik Analiz

UPGMA ile filogenetik dendrogram çizme yönteminde, üzerinde çalışılan taksonomik üniteler arasındaki benzerlik algoritmasına dayanan bir gruplama yapılır. Genetik benzerliği en yakın olan iki taksonomik üniteden başlayarak en uzak genetik benzerlik gösteren üniteye kadar tüm grupları dalların köklerini esas alarak birleştirir ve oluşan filogenetik ağacın dalları boyunca mutasyon hızının sabit olduğu kabul edilir. Filogenetik ağaçlar oluşturulurken UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) [Sokal and Michener, 1958] yöntemi kullanılmış ve UPGMA ağacı, R istatistik programlama dili (3.3.2) üzerinde çalışan poppr [Kamvar et al., 2014] analiz kütüphanesi ile çizilmiştir.

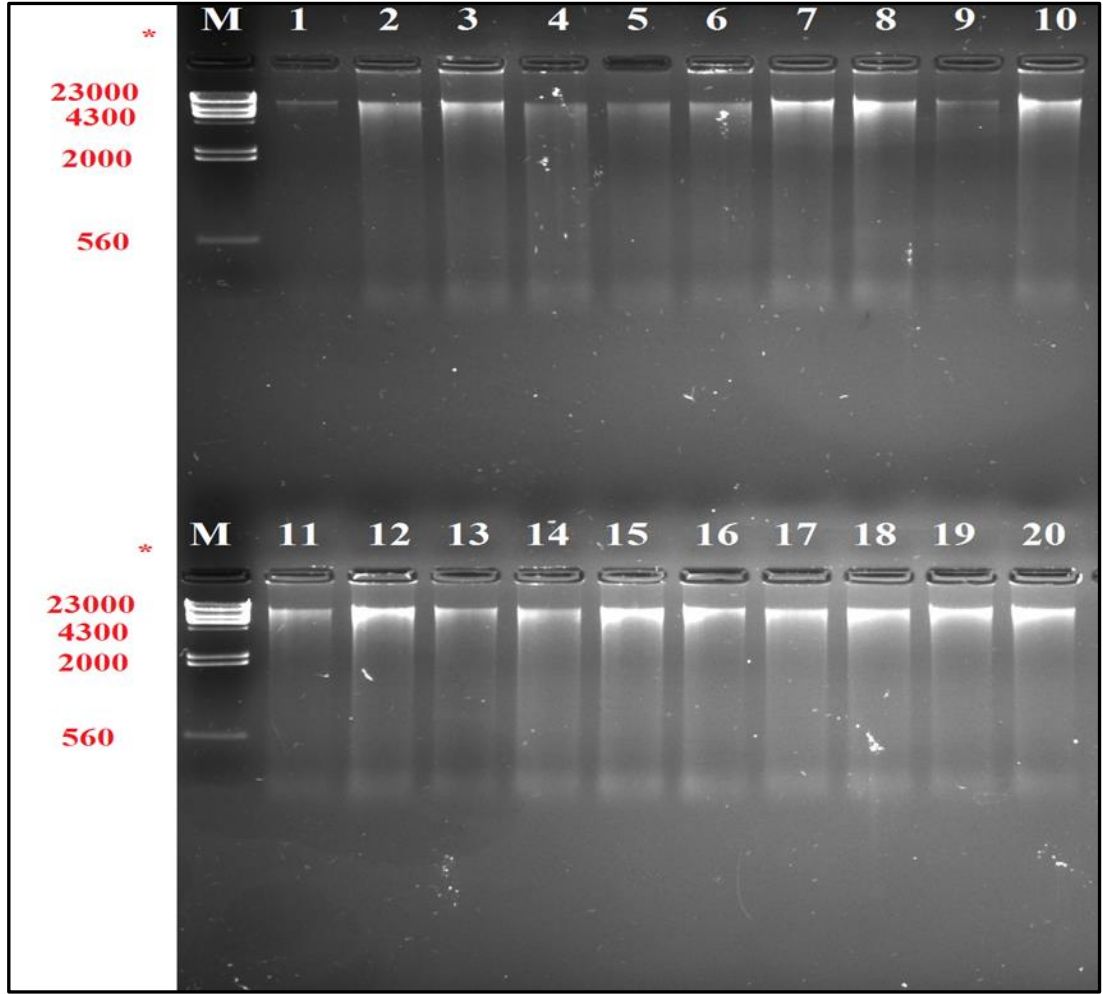
6. BULGULAR

6.1. DNA İzolasyonları

Araştırmada kullanılan 7 alt popülasyona ait 140 tane yabani kiraz örneğinden ve dış grup olarak seçilen 1 tane erik örneğinden elde edilen DNA'ların agaroz jel elektroforez sonrası resimleri UV görüntüleme sisteminde incelenmiştir. Şekil 6.1 ve Şekil 6.2'de Gölcük ve Yedigöller alt popülasyonlarına ait DNA görüntüleri örnek olarak sunulmuştur. Yabani kiraz genotiplerinin DNA bantları Şekil 6.1 ve Şekil 6.2'de olduğu gibi çok net görüntülenmiş, SSR yöntemi ile gerçekleştirilecek PZR çalışmaları için yeterli saflıkta ve miktarda oldukları görülmüştür.



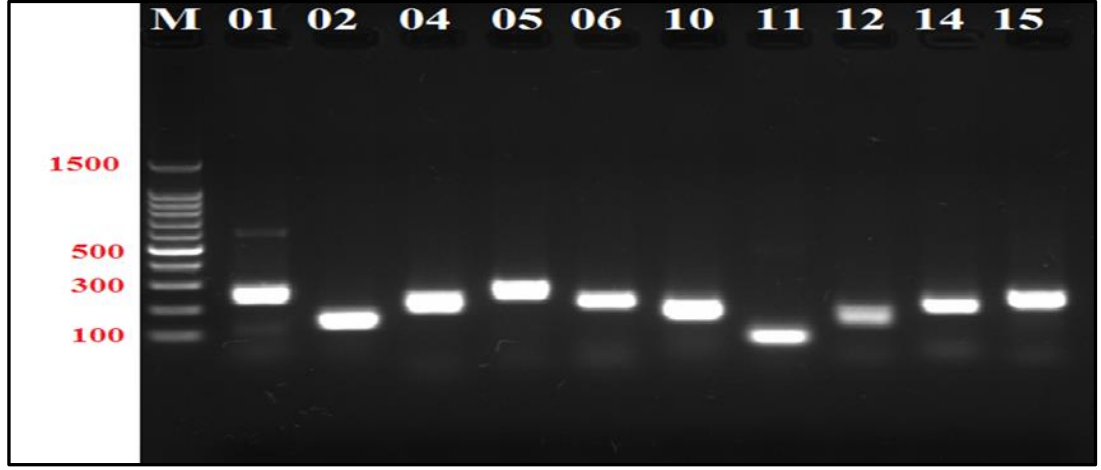
Şekil 6.1: Gölcük alt popülasyonuna ait bireylerin DNA jel görüntüsü.
(*Belirteç: λ HindIII ile kesilmiş, M=Ladder.)



Şekil 6.2: Yedigöller alt popülasyonuna ait bireylerin DNA jel görüntüsü.
(*Belirteç: λ HindIII ile kesilmiş, M=Ladder.)

6.2. SSR Lokuslarının PZR Reaksiyonu

7 alt popülasyona ve erik örneğine ait DNA örnekleri elde edildikten sonra metot bölümünde bahsedildiği gibi 10 SSR lokusuyla PZR analizleri yapılmış ve PZR sonrası çalışılan lokuslarda amplifikasyon olup olmadığı agaroz jelde kontrol edilmiştir. Şekil 6.3'te Abant-9 bireyinin 10 SSR lokusuyla yapılan PZR amplifikasyon sonucu örnek olarak sunulmuştur. Şekil 6.3 incelendiği zaman her lokusun Tablo 5.5'te verilen baz çifti aralığına uygun olarak çoğaldığı ve bu PZR ürünlerinin fragment analizine gönderilmesi için yeterli miktarda oldukları belirlenmiştir.



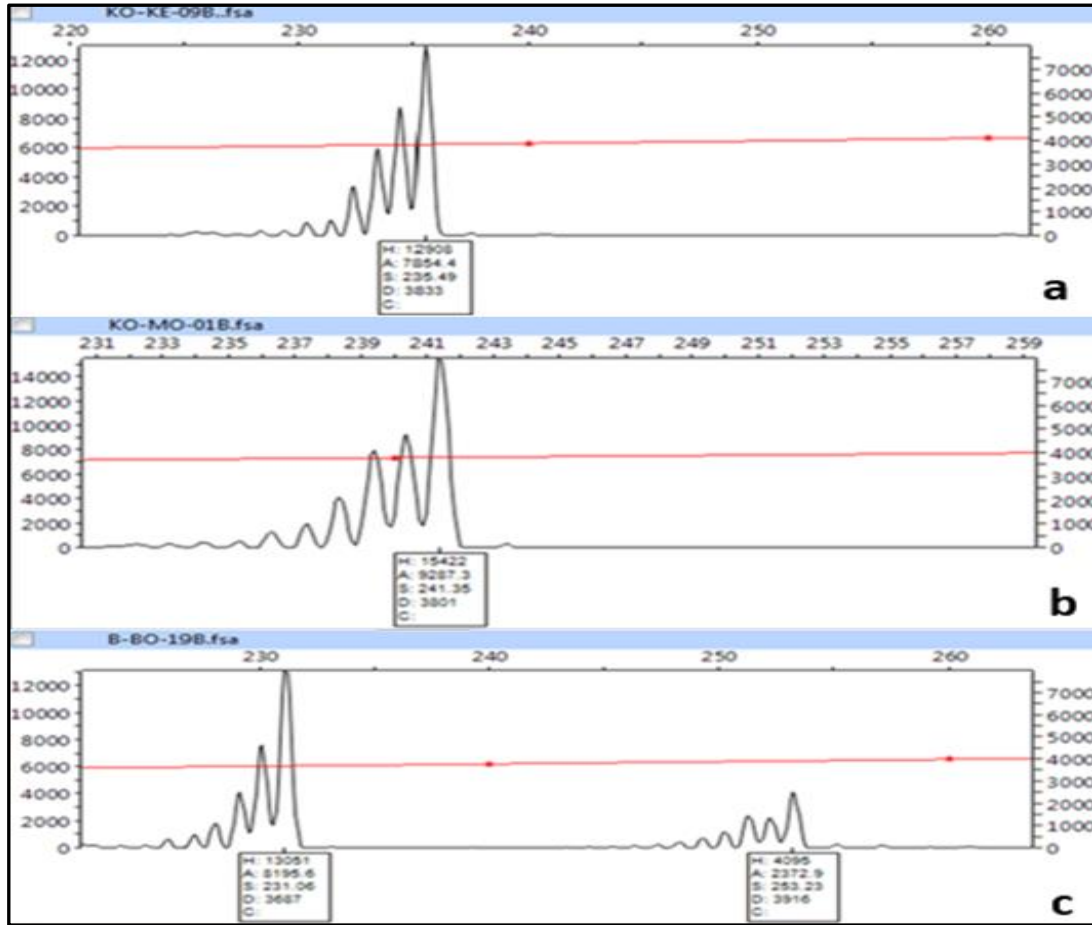
Şekil 6.3: Abant-9 bireyine ait 10 SSR lokusuyla yapılmış PZR jel görüntüsü. (M=Ladder, 01=Empas01, 02=Empas02, 04=Empa004, 05=Empa005, 06=Empas06, 10=Empas10, 11=Empas11, 12=Empas12, 14=Empas14, 15=Empa015).

6.3. SSR Lokuslarına Ait Allel Büyüklüklerinin Belirlenmesi

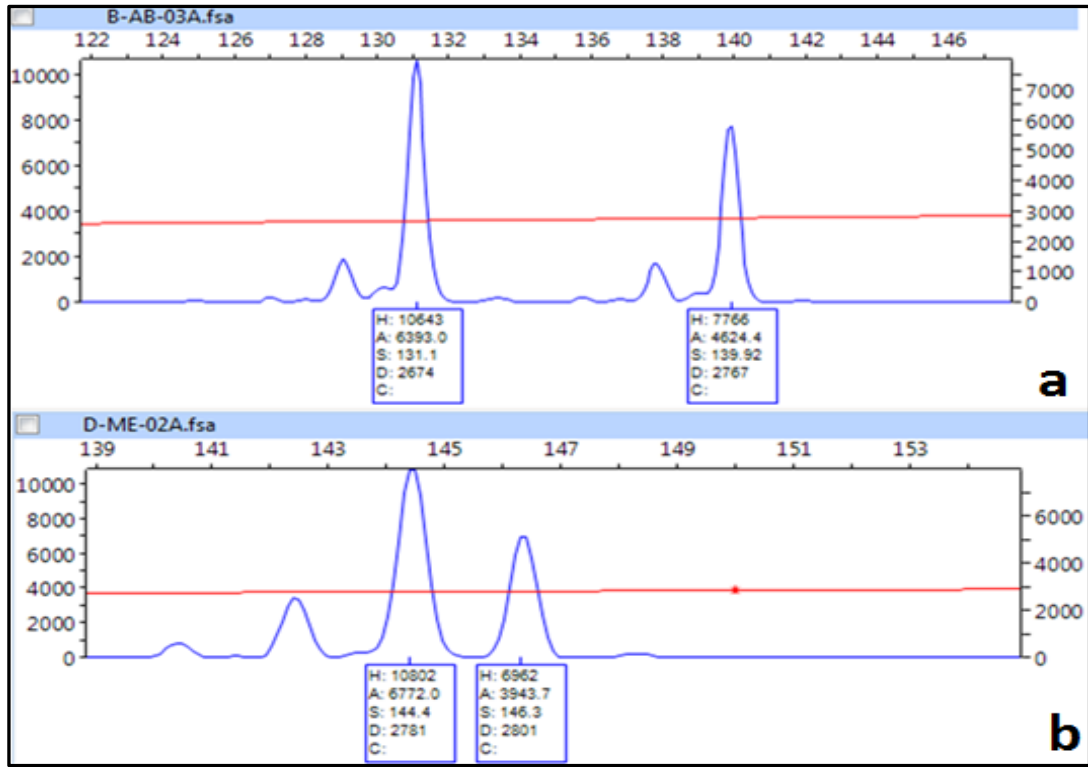
Uygun görülen PZR ürünleri 3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems) cihazında elektroforez edilmiştir. Her lokustaki allel büyüklükleri sistem dahilinde yazılım programı (Peak Scanner Software v1.0) ile belirlenmiş ve Tablo 6.1’de bant boyutları lokuslar bazında verilmiştir. Tablo 6.1’de de görüldüğü gibi fragment analizi sonrası Empas01 lokusunda 225-253, Empas02 lokusunda 131-146, Empa004 lokusunda 182-196, Empa005 lokusunda 239-264, Empas06 lokusunda 202-226, Empas10 lokusunda 152-190, Empas11 lokusunda 62-110, Empas12 lokusunda 123-153, Empas14 lokusunda 196-210 ve Empa015 lokusunda 203-245 bp aralığında yer alan alleller tespit edilmiştir. Ayrıca; Şekil 6.4, Şekil 6.5, Şekil 6.6, Şekil 6.7, Şekil 6.8, Şekil 6.9, Şekil 6.10, Şekil 6.11, Şekil 6.12 ve Şekil 6.13’te sırasıyla Empas01, Empas02, Empa004, Empa005, Empas06, Empas10, Empas11, Empas12, Empas14 ve Empa015 lokuslarına ait seçilen dört allelin görünüşü sunulmuştur. Belirtilen şekillerde de sunulduğu gibi lokuslara ait allel profilleri kapilleri elektroforezde net bir şekilde belirlenebilmiş ve her lokusa ait homozigot ve heterozigot olan alleller tespit edilmiştir. Bu da tezin metot aşamalarında iyi optimizasyon yapıldığının göstergesi olup, tüm lokuslardaki allel büyüklüklerinin başarılı bir şekilde tespit edilmesini sağlamıştır.

Tablo 6.1: Lokuslara ait elde edilen allel büyüklükleri.

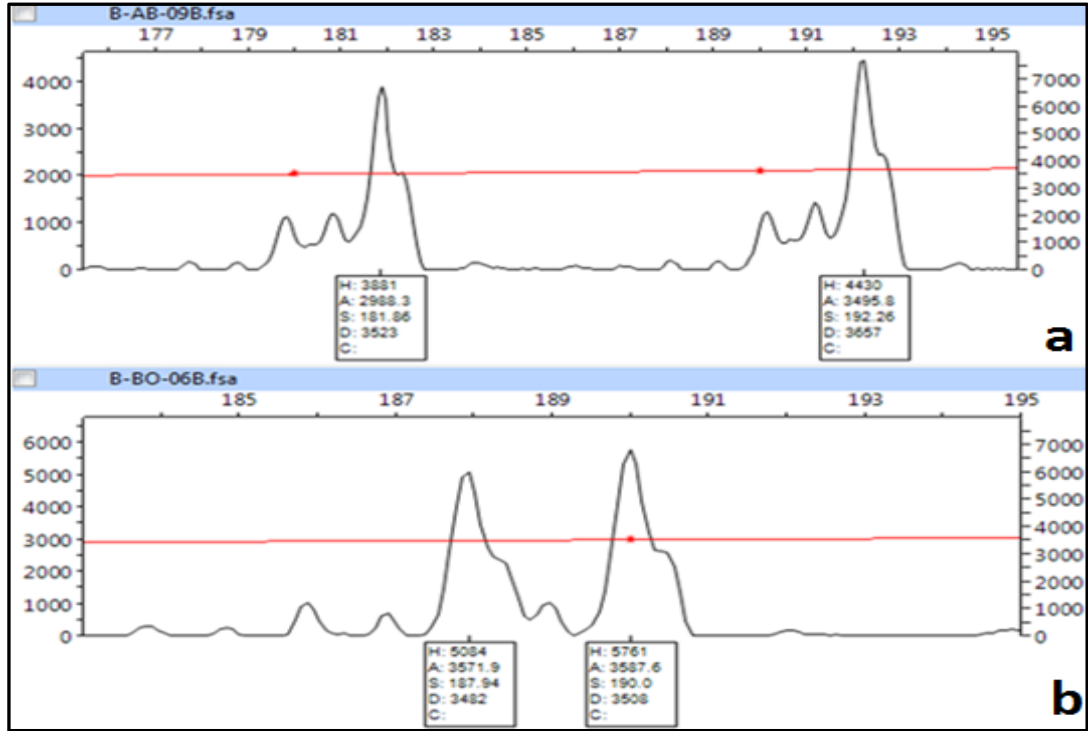
Lokuslar	Lokuslar Bulunan Allel Büyüklükleri (bç)
Empas01	225, 227, 231, 233, 235, 237, 241, 243, 247, 253
Empas02	131, 134, 138, 140, 142, 144, 146
Empa004	182, 184, 188, 190, 192, 194, 196
Empa005	239, 241, 245, 247, 249, 253, 255, 257, 259, 264
Empas06	202, 204, 206, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 226
Empas10	152, 156, 158, 160, 162, 164, 170, 184, 190
Empas11	62, 71, 73, 75, 83, 85, 91, 95, 101, 103, 106, 110
Empas12	123, 137, 139, 141, 145, 147, 149, 153
Empas14	196, 198, 200, 210
Empa015	203, 205, 211, 213, 215, 219, 221, 223, 231, 239, 241, 245



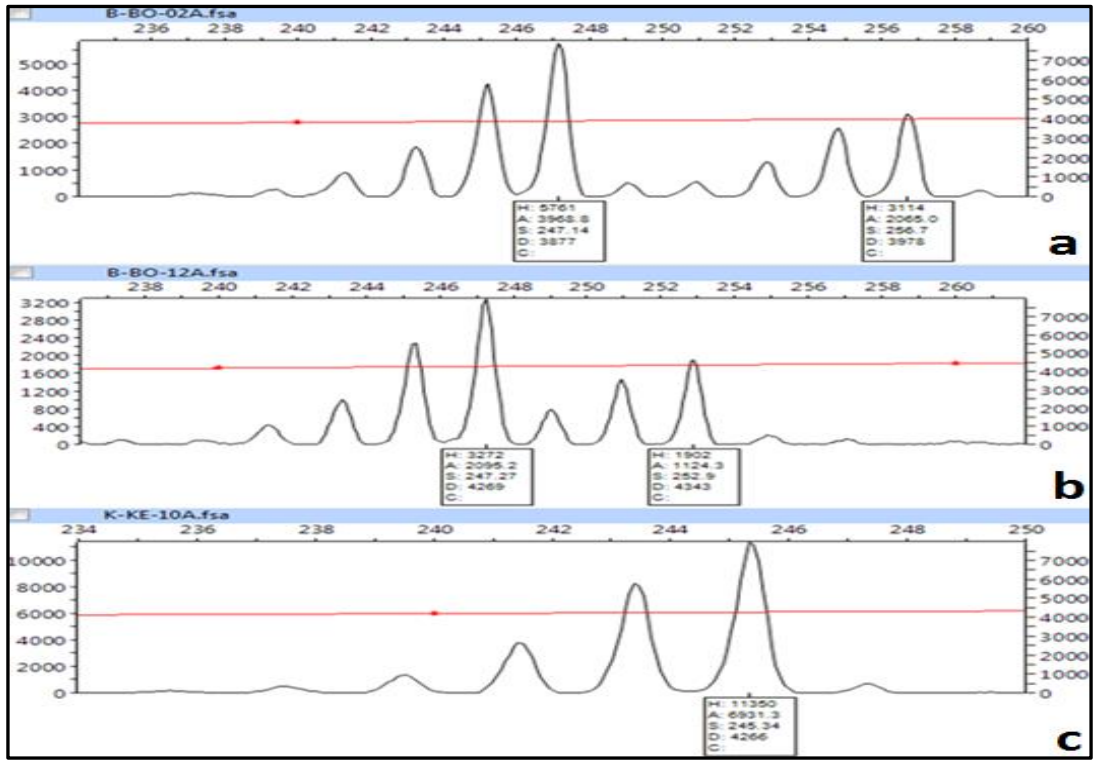
Şekil 6.4: Empas01 lokusuna ait a) 235 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü, b) 241 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü, c) 231-253 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.



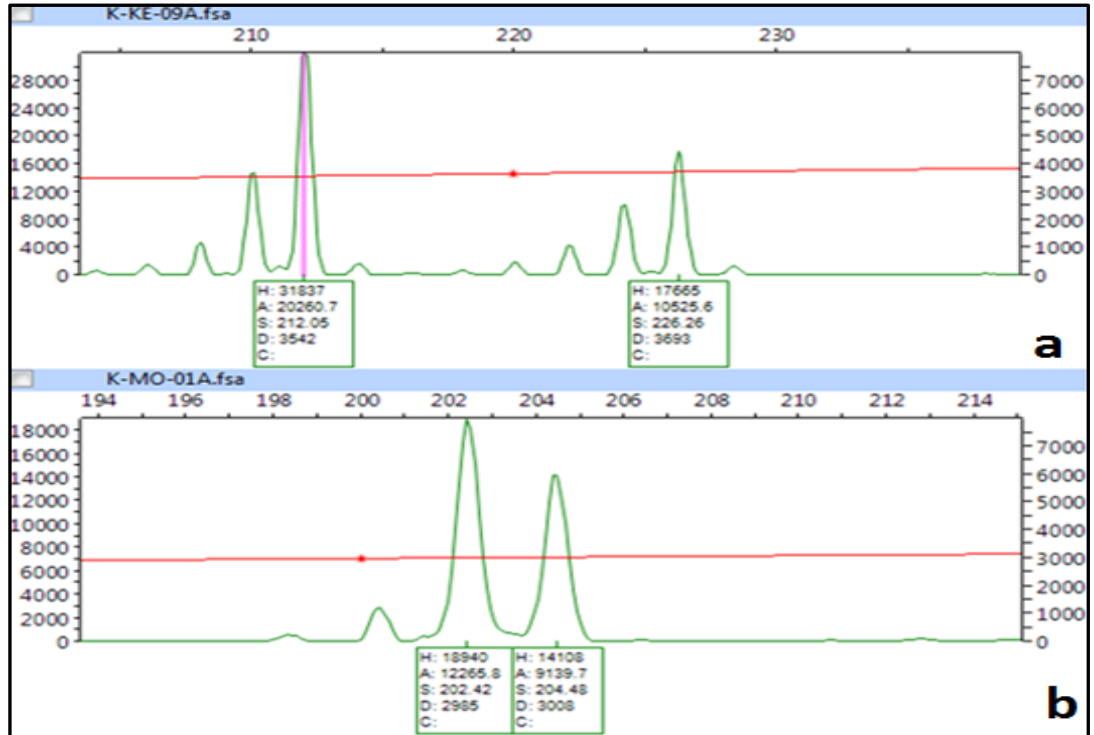
Şekil 6.5: Empas02 lokusuna ait a) 131-140 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 144-146 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.



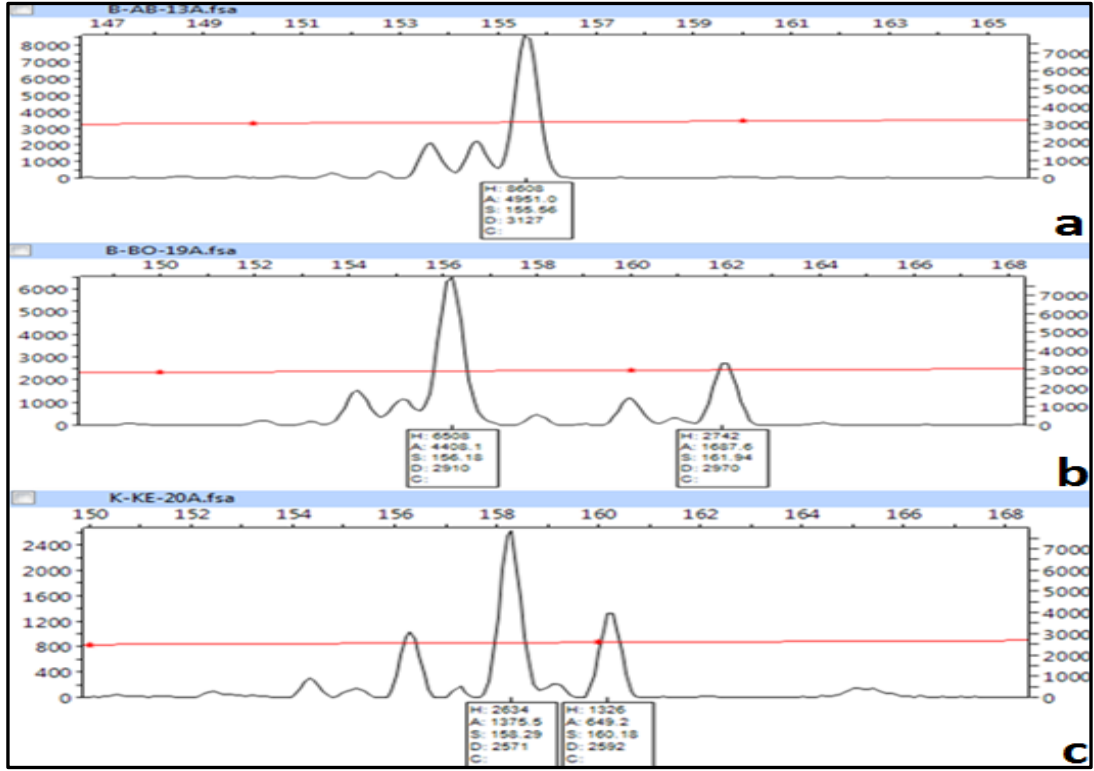
Şekil 6.6: Empa004 lokusuna ait a) 182-192 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 188-190 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.



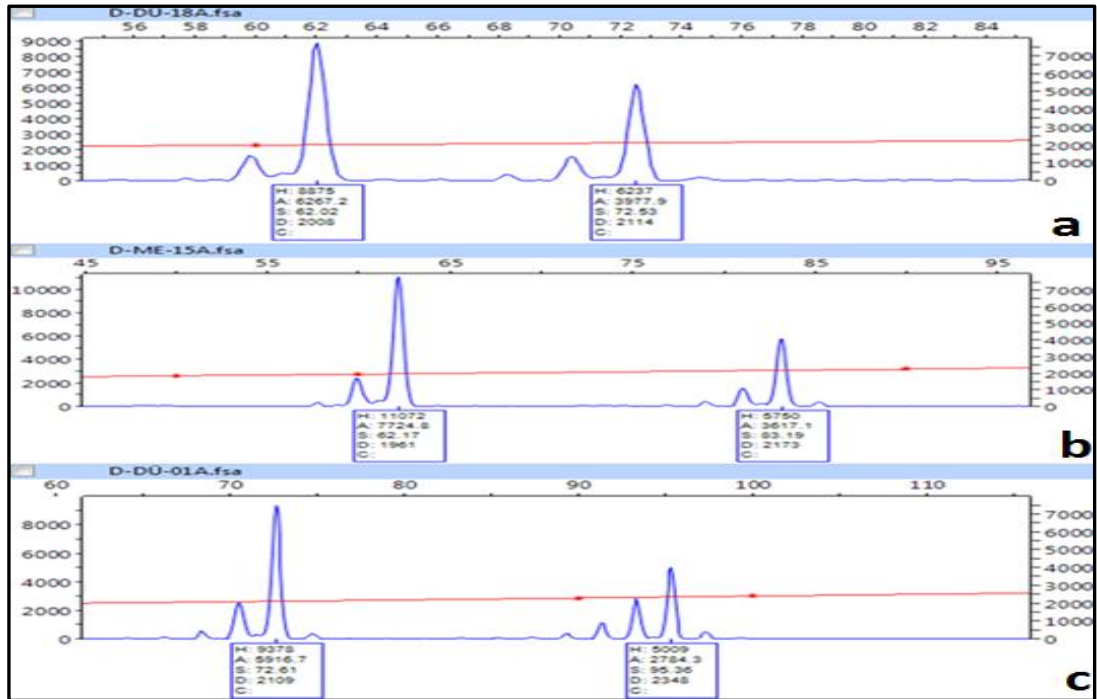
Şekil 6.7: Empa005 lokusuna ait a) 247-257 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 247-253 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, c) 245 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü.



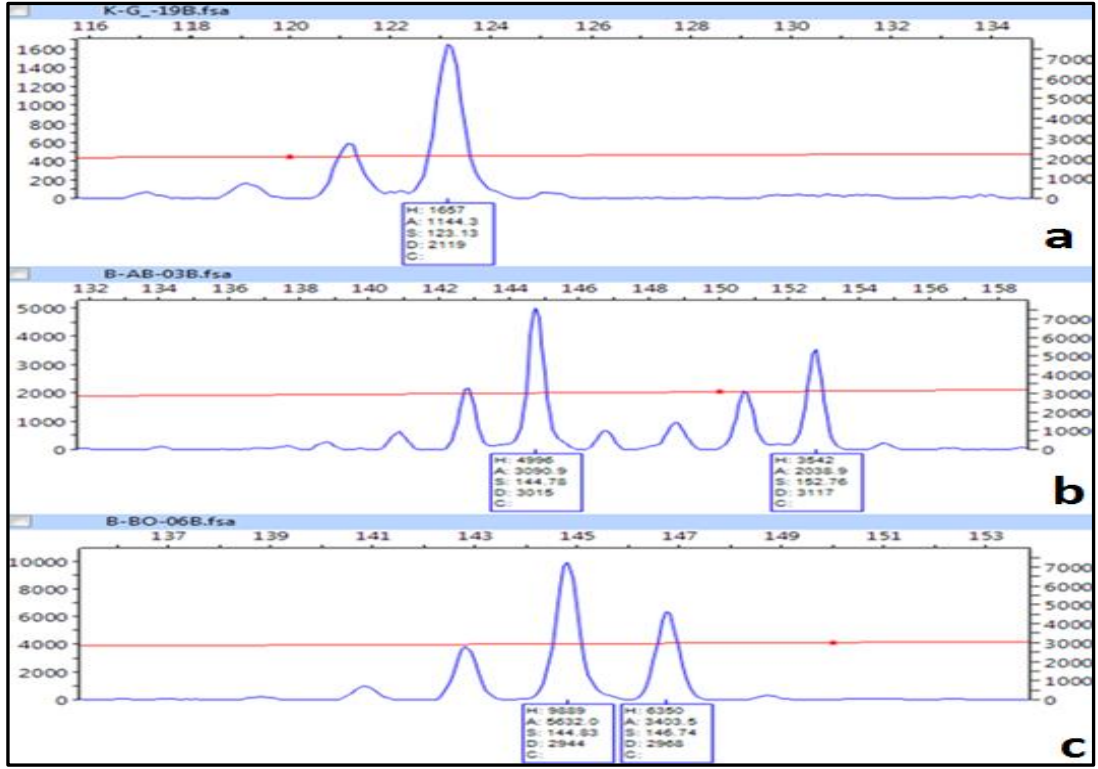
Şekil 6.8: Empas06 lokusuna ait a) 212-226 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 202-204 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.



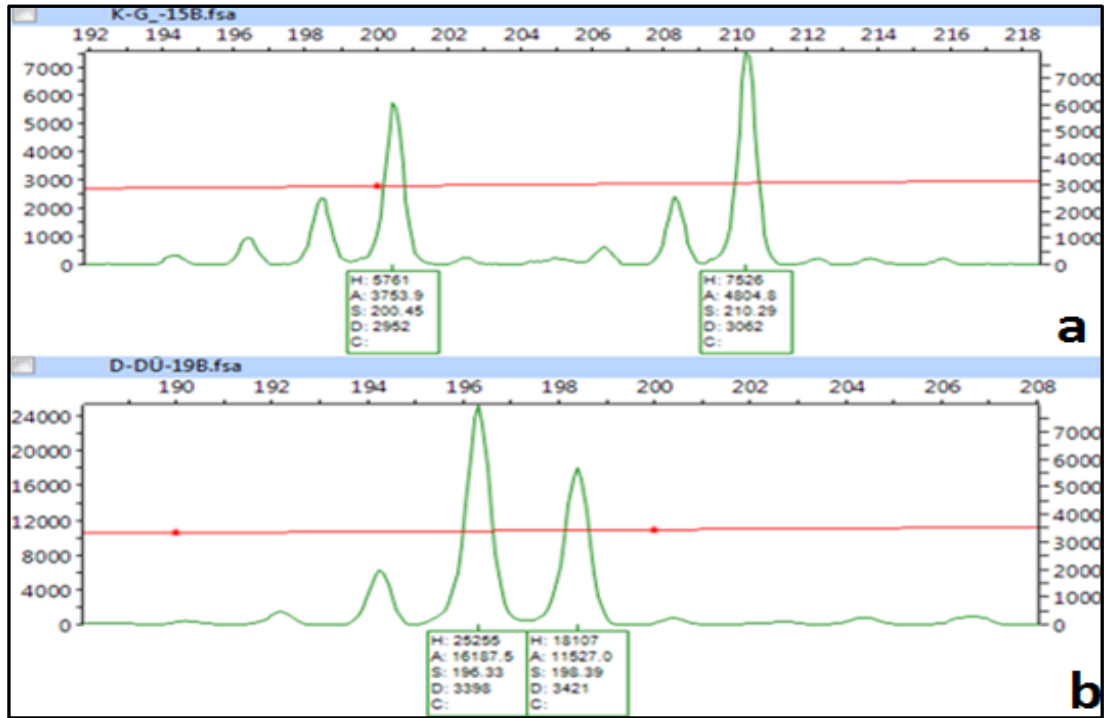
Şekil 6.9: Empas10 lokusuna ait a) 156 bp uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü, b) 156-162 bp uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, c) 158-160 bp uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.



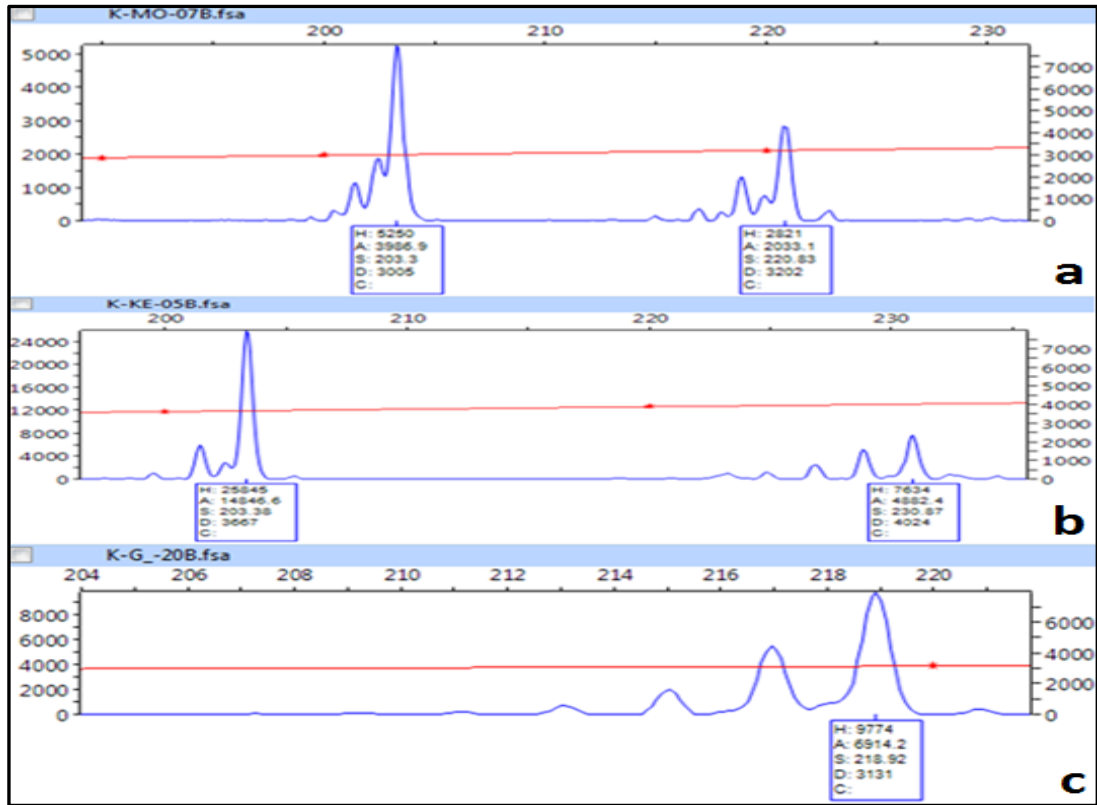
Şekil 6.10: Empas11 lokusuna ait a) 62-73 bp uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 62-83 bp uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, c) 73-95 bp uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.



Şekil 6.11: Empas12 lokusuna ait a) 123 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü, b) 145-153 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, c) 145-147 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.



Şekil 6.12: Empas14 lokusuna ait a) 200-210 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 196-198 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü.

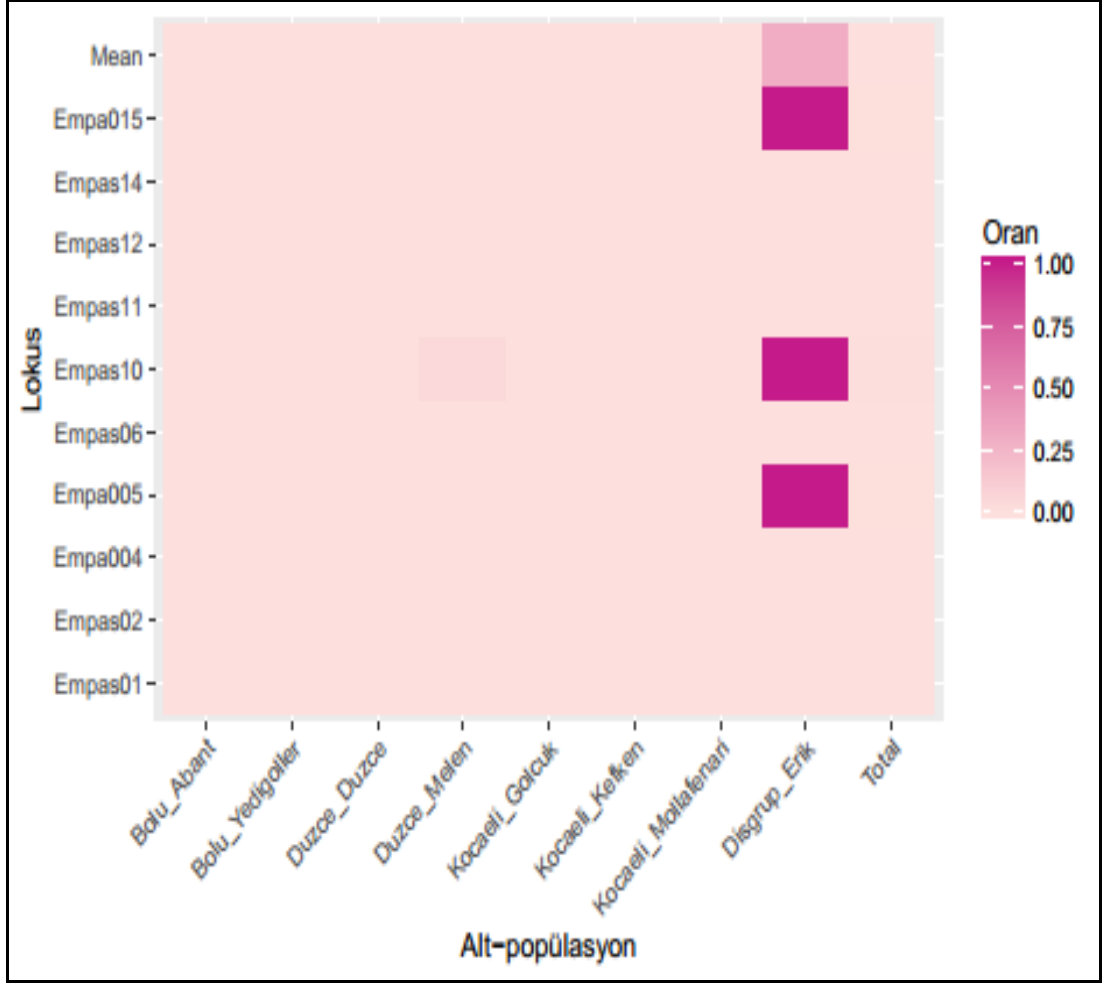


Şekil 6.13: Empa015 lokusuna ait a) 203-221 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, b) 203-231 bç uzunluğunda olan heterozigot allellerin görüntüsü, c) 219 bç uzunluğunda olan homozigot allel görüntüsü.

6.4. Genetik Analizler

6.4.1. Populasyonlardaki Kayıp Veri Yüzdeleri ve Klon Durumu

Çalışılan 10 SSR lokusuyla yapılan analiz sonucu elde edilen verilere göre öncelikle 7 yabani kiraz alt populasyonu ve dış grup olarak seçilen erik örneğinde kayıp veri olup olmadığına bakılmıştır. Şekil 6.14'te, dış grup ve her alt populasyonun lokuslardaki belirlenen kayıp veri yüzdeleri gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre, sadece Melen alt populasyonunun 2. bireyinin Empas10 lokusunda ve dış grup olarak seçtiğimiz erik örneğinin Empa005, Empas10, Empa015 lokuslarında kayıp veri olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 6.14: Dış grup ve yabani kiraz alt populasyonlarının lokuslarda belirlenen kayıp veri yüzdeleri.

Ayrıca; örneklenen bireylerde yapılan SSR analizleri sonucunda klon veriye rastlanılmamıştır. Bu durum materyal-metod kısmında anlatılan ağaçların örneklenmesi kısmının (ağaçlar arasında en az 100 metre mesafe olması) doğru yapıldığını göstermektedir.

6.4.2. Lokuslara Ait Genetik Parametrelerin İncelenmesi

140 bireyin her bir SSR lokusundaki analizleri sonucu, lokuslardaki genetik parametreler; allel sayıları, beklenen-gözlenen heterozigotluk oranları, sessiz (null) allel frekansları, N_m , F_{it} , F_{is} ve F_{st} değerleri Tablo 6.2’de sunulmuştur.

Tablo 6.2: Lokuslar bazında hesaplanan genetik parametreler.

	Allel sayısı	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>F_{it}</i>	<i>F_{st}</i>	<i>F_{is}</i>	<i>N_m</i>	Null Allel
Empas01	10	0.75	0.769	0.032	0.029	0.003	8.373	0.012
Empas02	7	0.821	0.778	-0.049	0.02	-0.07	12.56	-0.027
Empa004	7	0.793	0.784	-0.003	0.034	-0.038	7.185	-0.005
Empa005	10	0.793	0.774	-0.015	0.043	-0.06	5.55	-0.012
Empas06	11	0.864	0.832	-0.03	0.041	-0.074	5.825	-0.019
Empas10	9	0.647	0.694	0.078	0.032	0.047	7.545	0.035
Empas11	12	0.679	0.7	0.04	0.048	-0.008	4.942	0.015
Empas12	8	0.65	0.762	0.157	0.057	0.106	4.136	0.079
Empas14	4	0.421	0.458	0.091	0.062	0.032	3.808	0.042
Empa015	12	0.714	0.778	0.091	0.045	0.048	5.284	0.043
Ortalama	9	0.713	0.733	0.039	0.041	-0.001	6.521	0.016

Hesaplanan genetik parametreler incelendiğinde, genetik varyasyonun bir göstergesi olan lokus başına düşen allel sayısı ortalama olarak 9 bulunmuş ve allel sayısı en fazla olan lokuslar Empa015 (12) ve Empas11 (12), en az olan lokus ise Empas14 (4) olduğu belirlenmiştir. Ortalama gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0.713 ve 0.733 bulunurken, lokuslar itibari ile değer aralıkları *Ho* için; 0.421-0.864, *He* için; 0.458-0.832 olarak tespit edilmiştir.

Nei (1978)'nin beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerlerinden yararlanılarak Weir ve Cockerham (1984)'a göre hesaplanan *F_{is}* değeri her bir lokus içinde, *F_{it}* değeri lokusların tümünde Hardy-Weinberg dengesinden sapmanın derecesini vermektedir. *F_{is}* değeri lokuslar bazında ortalama -0.001 olarak bulunmuş, -0.074 ile 0.106 arasında değişmiştir. *F_{it}* değeri ise ortalama olarak 0.039 olarak bulunmuş, lokuslara bakıldığında -0.049 ile 0.157 arasında değiştiği görülmüştür. Hesaplanan bu sonuçlara göre en fazla *F_{is}* (0.106) ve *F_{it}* (0.157) değerlerinin Empas12 lokusunda olduğu tespit edilmiştir. Bu değerler bu lokusta homozigot fazlalığına işaret etmektedir. En düşük *F_{is}* değerinin Empas06 (-0.074) ve Empas02 (-0.07), en düşük *F_{it}* değerinin ise yine Empas06 (-0.03) ve Empas02 (-0.049) lokuslarında olduğu tespit edilmiştir. Bu değerler de bu lokuslardaki heterozigot fazlalığına işaret etmektedir.

Fakat lokuslar genel olarak *F_{is}* ve *F_{it}* değerleri bakımından sıfıra yakın değerler almış ve lokusların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür.

Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmayı gösteren *F_{st}* değeri lokuslar bazında bakıldığı zaman ortalama olarak 0.041 olarak bulunmuş ve bu değer 0.05'in altında olduğu için populasyonlar arası genetik farklılaşmanın ihmal edilebilir düzeyde olduğu görülmüştür. *F_{st}* değerleri dikkate alınarak hesaplanan *N_m* değerine lokuslar bazında bakıldığı zaman ortalama olarak 6.521 olarak bulunmuş ve bu değer her bir kuşakta yaklaşık olarak 7 bireyin göç ettiğini göstermektedir.

Sessiz (null) allel frekansına baktığımızda ise değerlerin -0.027 ile 0.079 arasında olduğu görülmüş ve bu değerlerin negatif veya sıfıra yakın pozitif değerler alması null allel varlığı olasılığını düşürmüştür.

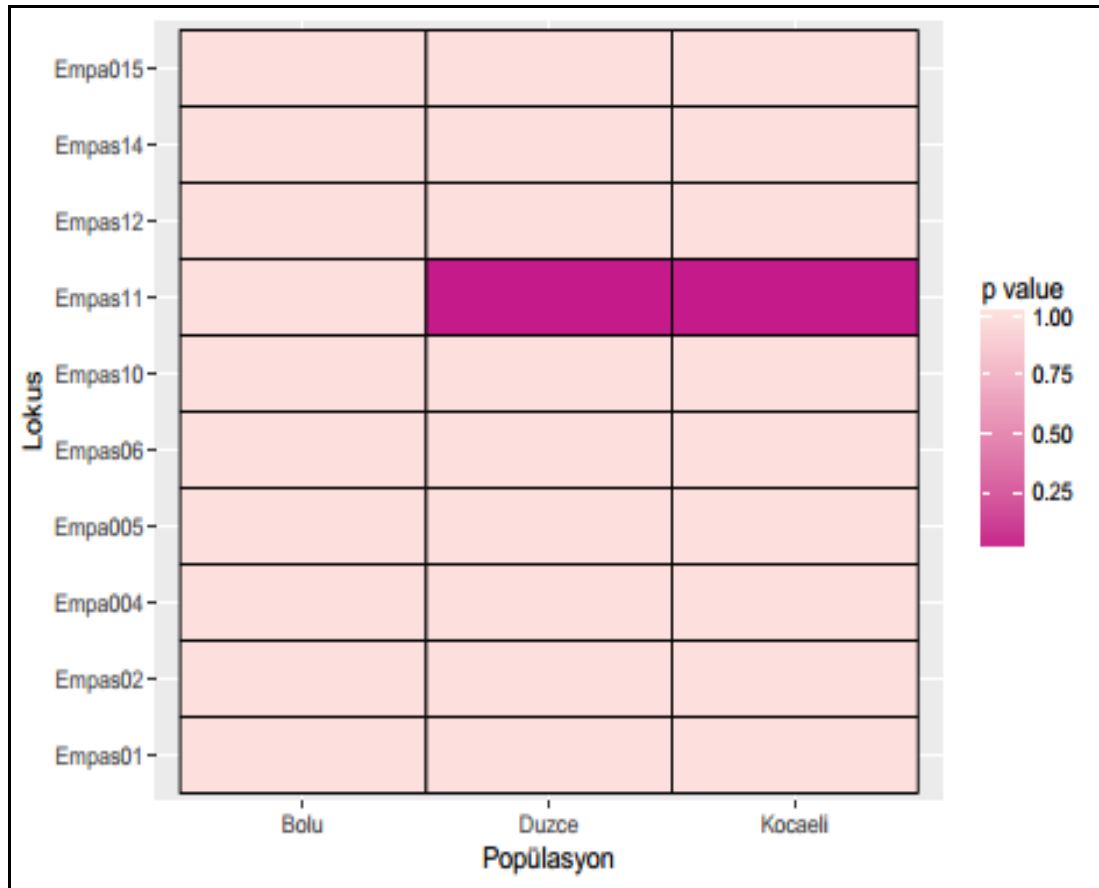
6.4.3. Hardy-Weinberg Dengesi (HWE)

Lokuslar bazında ki-kare testinin hesaplanan değerleri Tablo 6.3'te verilmiştir. Hesaplanan değerlere bakıldığı zaman Empas11 lokusu hariç diğer lokusların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür. Empas11 lokusu ise Hardy-Weinberg dengesinden anlamlı bir şekilde uzaklaşmıştır ($p \leq 0.05$).

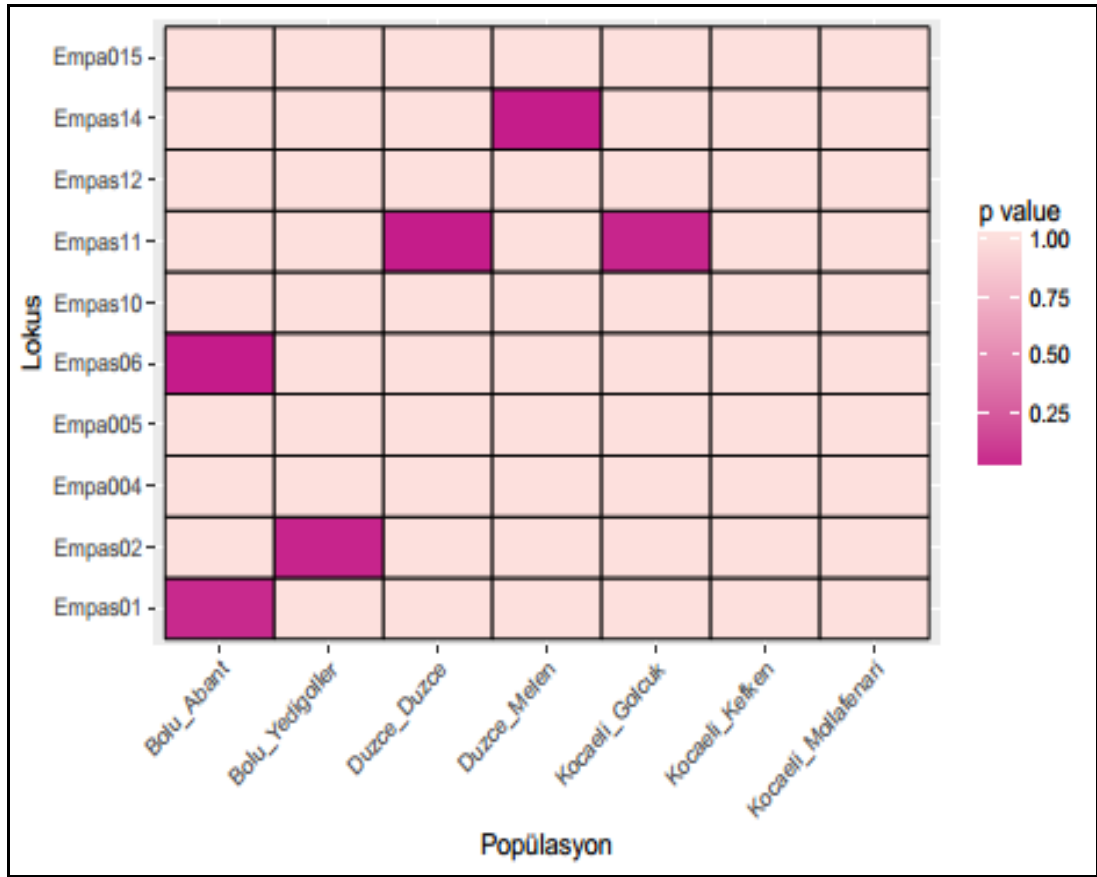
Tablo 6.3: Lokusların HWE Dengesi ($p \leq 0.05$).

Lokus	Ki-kare	Serbestlik derecesi	P
Empas01	26.85	45	0.99
Empas02	22.54	21	0.37
Empa004	24.25	21	0.28
Empa005	53.9	45	0.17
Empas06	70.88	55	0.07
Empas10	28.18	36	0.82
Empas11	219.2	66	0
Empas12	31.43	28	0.3
Empas14	4.11	6	0.66
Empa015	47.52	66	0.96

Populasyonların ve alt populasyonların hangi lokuslar bakımından Hardy-Weinberg dengesinden uzaklaştığı sırasıyla Şekil 6.15'te ve Şekil 6.16'da gösterilmiştir. Populasyonlar bazında baktığımızda Empas11 lokusu Kocaeli ve Düzce populasyonlarında HWE dengesinden anlamlı bir şekilde uzaklaşmış ve diğer bütün lokusların HWE dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Alt populasyonlar bazında baktığımızda ise Kefken ve Mollafenari alt populasyonlarının bütün lokuslar bakımından HWE dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Düzce ve Gölcük alt populasyonlarında Empas11 lokusunun, Melen alt populasyonunda Empas14 lokusunun, Yedigöller alt populasyonunda Empas02 lokusunun, Abant alt populasyonunun da ise Empas01 ve Empas06 lokuslarının HWE dengesinden anlamlı bir şekilde uzaklaştığı görülmüştür. 10 SSR lokusuyla yapılan analiz sonuçlarına baktığımızda yabani kiraz bireylerinin populasyonlar ve alt populasyonlar bazında genel olarak HWE dengesinde olduğu görülmüştür.



Şekil 6.15: Populasyonlar bazında lokuslara ait HWE dengesi ($p \leq 0.05$).



Şekil 6.16: Alt populasyonlar bazında lokuslara ait HWE dengesi ($p \leq 0.05$).

6.4.4. Populasyonlara ve Alt Populasyonlara Ait Genetik Parametrelerin İncelenmesi

Yabani kiraza ait 140 bireyin 10 SSR lokusundaki analizleri sonucu, öncelikle populasyonlar ve daha sonra alt populasyonlar bazında hesaplanan genetik parametreler; ortalama allel sayıları, private (özel) allel sayıları, beklenen-gözlenen heterozigotluk oranları, *Fis* değerleri sırasıyla Tablo 6.4 ve Tablo 6.5’te sunulmuştur.

Tablo 6.4: Populasyonlar içinde gözlenen genetik çeşitlilik değerleri.

Populasyon	Örnek sayısı	Ortalama allel sayısı	Özgün allel sayısı	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>
Kocaeli	60	9	12	0.7	0.73	-0.05
Düzce	40	9	4	0.72	0.73	-0.05
Bolu	40	9	9	0.73	0.7	-0.06
Ortalama	46.67	9	8.33	0.72	0.72	-0.05

Populasyonlar bazında genetik çeşitlilik parametreleri incelendiğinde 3 populasyon için de ortalama allel sayısı 9 olarak belirlenmiştir. Bu populasyonlardan Kocaeli populasyonunda 12, Düzce populasyonunda 4 ve Bolu populasyonunda ise 9 adet populasyona özgün allele rastlanmıştır. Populasyonların gözlenen (0.70-0.73) ve beklenen (0.70-0.73) heterozigotluk değerlerinin birbirlerine yakın olduğu tespit edilmiştir. Populasyonların *Fis* değerlerine baktığımızda ise 3 populasyon da negatif değer almış, ortalama *Fis* değeri -0.05 olarak bulunmuştur. Bu değerlerin negatif olması heterozigotluk fazlalığına işaretir.

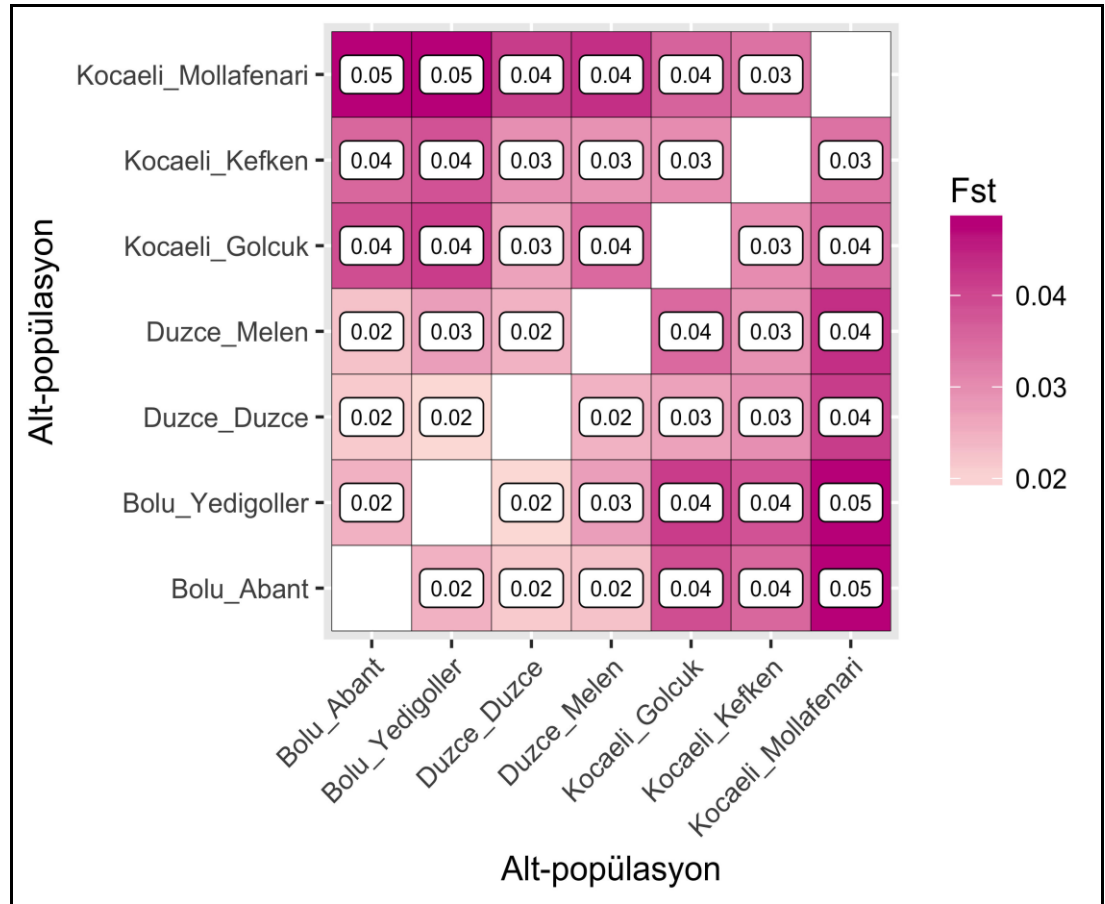
Tablo 6.5: Alt populasyonlar içinde gözlenen genetik çeşitlilik değerleri.

Alt popülasyon	Örnek Sayısı	Ortalama allel sayısı	Özgün allel sayısı	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>
Kocaeli-Gölcük	20	9	4	0.72	0.74	-0.08
Kocaeli-Kefken	20	9	6	0.68	0.73	-0.03
Kocaeli-Mollafenari	20	9	0	0.71	0.67	-0.07
Düzce-Düzce	20	9	1	0.74	0.73	-0.06
Düzce-Melen	20	9	3	0.69	0.72	-0.04
Bolu-Abant	20	9	5	0.72	0.68	-0.05
Bolu-Yedigöller	20	9	4	0.73	0.7	-0.07
Ortalama	20	9	3.29	0.71	0.71	-0.06

Alt populasyonlar bazında genetik çeşitlilik parametreleri incelendiğinde 7 alt populasyon için de ortalama allel sayısı 9 olarak belirlenmiştir. Bu alt populasyonlardan en fazla özgün allel sayısı Kefken (6), en az Mollafenari (0) alt populasyonunda tespit edilmiştir. Ortalama gözlenen (*Ho*) ve beklenen (*He*) heterozigotluk değerleri incelendiğinde, bu değerlerin eşit (0.71) olduğu görülmüştür. Alt populasyonlar itibari ile değer aralıkları *Ho* için; 0.68-0.74, *He* için; 0.67-0.74 olduğu tespit edilmiştir. Alt populasyonların *Fis* değerlerine baktığımızda ise 7 alt populasyon da negatif değer almış, ortalama *Fis* değeri -0.06 olarak bulunmuştur. Bu değerlerin negatif olması alt populasyonlarda heterozigotluk fazlalığına işaretir.

6.4.5. Alt Populasyonlardaki Farklılaşmanın İncelenmesi

Nei (1973)'ye göre hesaplanan ve alt populasyonların birbirinden ne kadar farklılaştığını gösteren ikili *Fst* değerleri Şekil 6.17'de gösterilmiştir. Hesaplanan sonuçlara göre *Fst* değerlerinin 0.02-0.05 arasında değiştiği görülmüştür. *Fst*'nin bu değerler arasında olması alt populasyonlar arasında düşük farklılaşma olduğunu göstermektedir. En fazla farklılaşmanın Mollafenari alt populasyonu ile Abant ve Yedigöller alt populasyonları arasında olduğu görülmüştür.

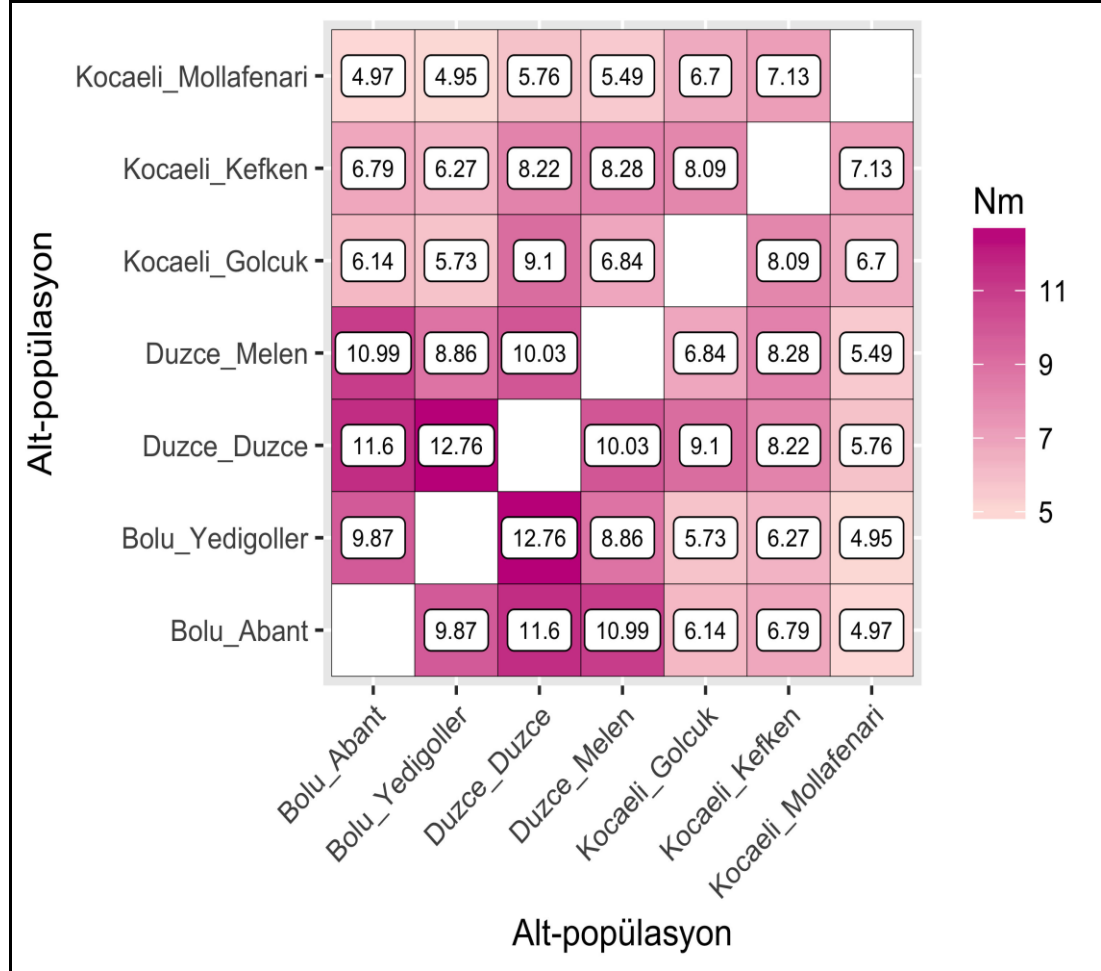


Şekil 6.17: Alt-populasyonlarda gözlenen ikili *Fst* değerleri.

6.4.6. Alt Populasyonlardaki Gen Akışı (*Nm*)

Nm değeri *Fst* değerine bağlı olarak hesaplanmış ve en az göç eden birey sayısının Mollafenari-Yedigöller alt populasyonları arasında (4.95), en fazla göç eden birey sayısının Düzce-Yedigöller alt populasyonları arasında (12.76) olduğu tespit

edilmiştir (Şekil 6.18). Bu sonuçlara göre her generasyon yaklaşık olarak en az 5, en fazla 13 yabancı kiraz bireyi alt populasyonlar arasında göç etmiş ve alt populasyonların birbirlerine benzer olmasına katkı sağlamıştır.



Şekil 6.18: Alt populasyonlar arasında görülen gen akış (N_m) oranı.

6.4.7. Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)

AMOVA analizi ile toplam genetik farklılaşma değeri bileşenlerine göre ayrı ayrı hesaplanmıştır. Tablo 6.6’da verilen AMOVA sonuçlarına göre, populasyonların birbiri arasındaki genetik farklılık %1.098, populasyonlardaki alt populasyonlar arasındaki genetik farklılık %3.169, alt populasyonlardaki bireyler arasındaki genetik farklılık %0 (-0.4659) ve toplam bireyler arasındaki genetik farklılık %96.2 olarak bulunmuştur. Bu farklılıkların anlamlı olup olmadığı 1000 permütasyon ile tekrarlanarak test edilmiş ve istatistiksel olarak sadece alt populasyonların birbirleri

arasındaki genetik farklılık değeri ve toplam bireylerin birbirleri arasındaki genetik farklılık değeri anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Bu sonuçlara göre asıl genetik farklılaşmanın populasyonlar içinde olduğu görülmüştür.

Tablo 6.6: AMOVA analizi sonucu elde edilen genetik çeşitlilik yüzdeleri.

Varyasyon kaynağı	SD	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Phi	P	%VARYANS
Populasyonlar arasında	2	23.89	11.95	0.01098	0.069	1.098
Populasyonlardaki alt populasyonlar arasında	4	32.91	8.227	0.03204	0.0009	3.169
Alt populasyonlardaki bireyler arasında	133	469.5	3.53	-0.0049	0.611	-0.4659
Toplam bireyler arasında	140	499.1	3.565	0.038	0.0199	96.2

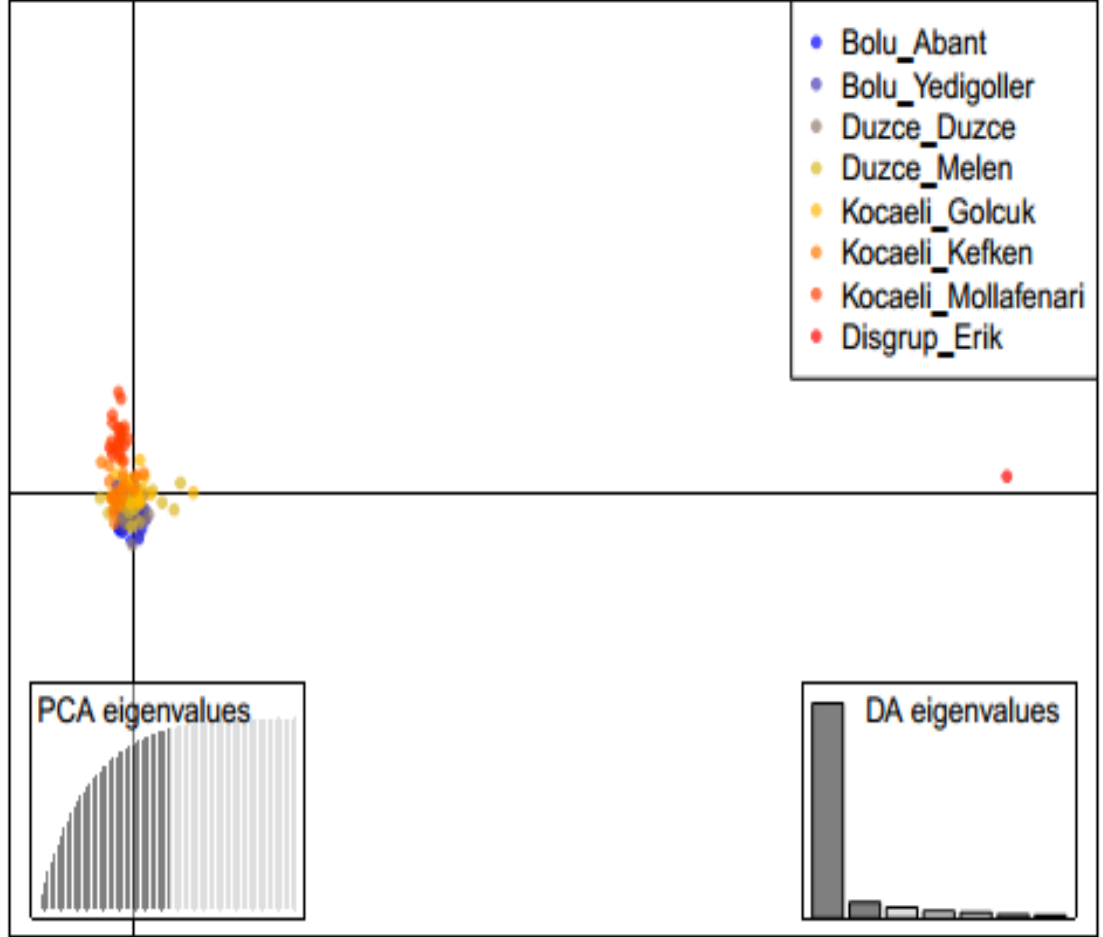
6.4.8. Temel Bileşenler Analizi (PCA)

Yabani kiraz alt populasyonlarını ve dış grup olarak seçilen erik örneğini uzaysal düzlemde gruplayan PCA analizi sonucuna ait grafik Şekil 6.19’da gösterilmiştir. PCA grafiği incelendiğinde dış grup olarak seçilen erik örneğinin yabani kiraz bireylerinden ayrı gruplandığı görülmüştür. 1. grupta yabani kiraz alt populasyonları, 2. grupta ise dış grup olarak seçilen erik örneğinin olduğu tespit edilmiştir.

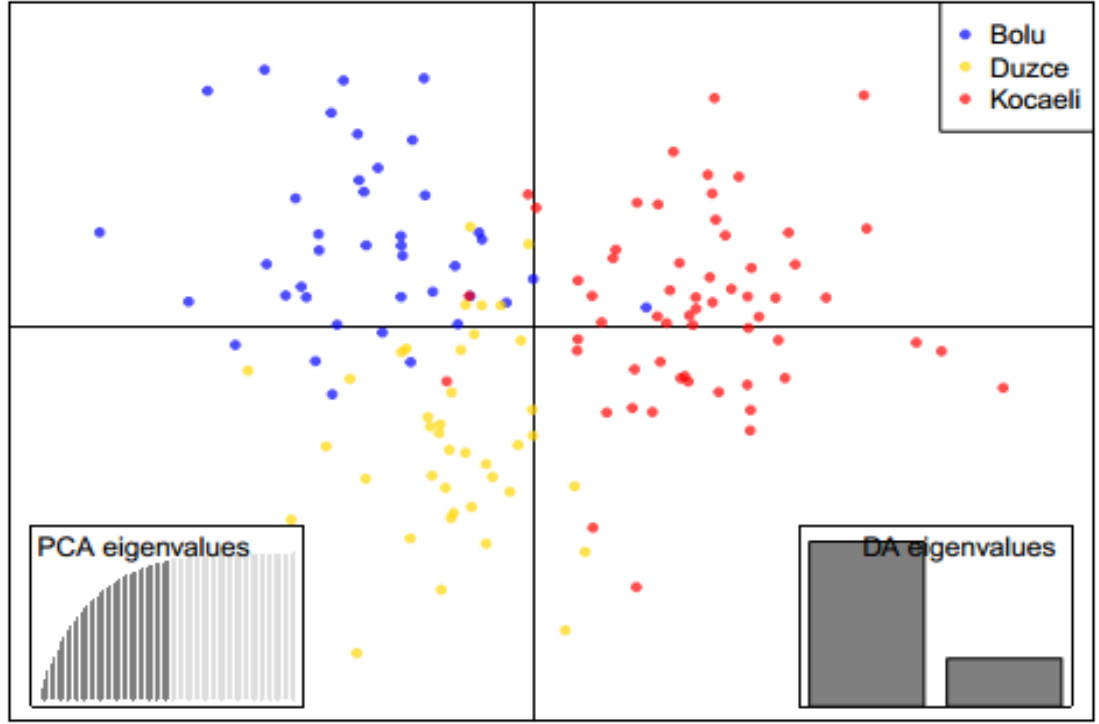
Yabani kiraz bireylerini dış grup olmadan populasyonlar bazında uzaysal düzlemde gruplayan PCA analizi sonucuna ait grafik ise Şekil 6.20’de gösterilmiştir. PCA analizi sonucuna baktığımızda Bolu, Düzce ve Kocaeli populasyonlarının 3 gruba ayrıldığı ama yine de birbirlerinden çok uzakta gruplanmadığı görülmüştür.

Yabani kiraz bireylerini dış grup olmadan alt populasyonlar bazında uzaysal düzlemde gruplayan PCA analizi sonucuna ait grafik ise Şekil 6.21’de gösterilmiştir. PCA analizi sonucuna baktığımızda 7 alt populasyondan Abant, Yedigöller, Melen ve Düzce alt populasyonları bir arada gruplanmıştır. Kocaeli’ye ait alt populasyonlardan

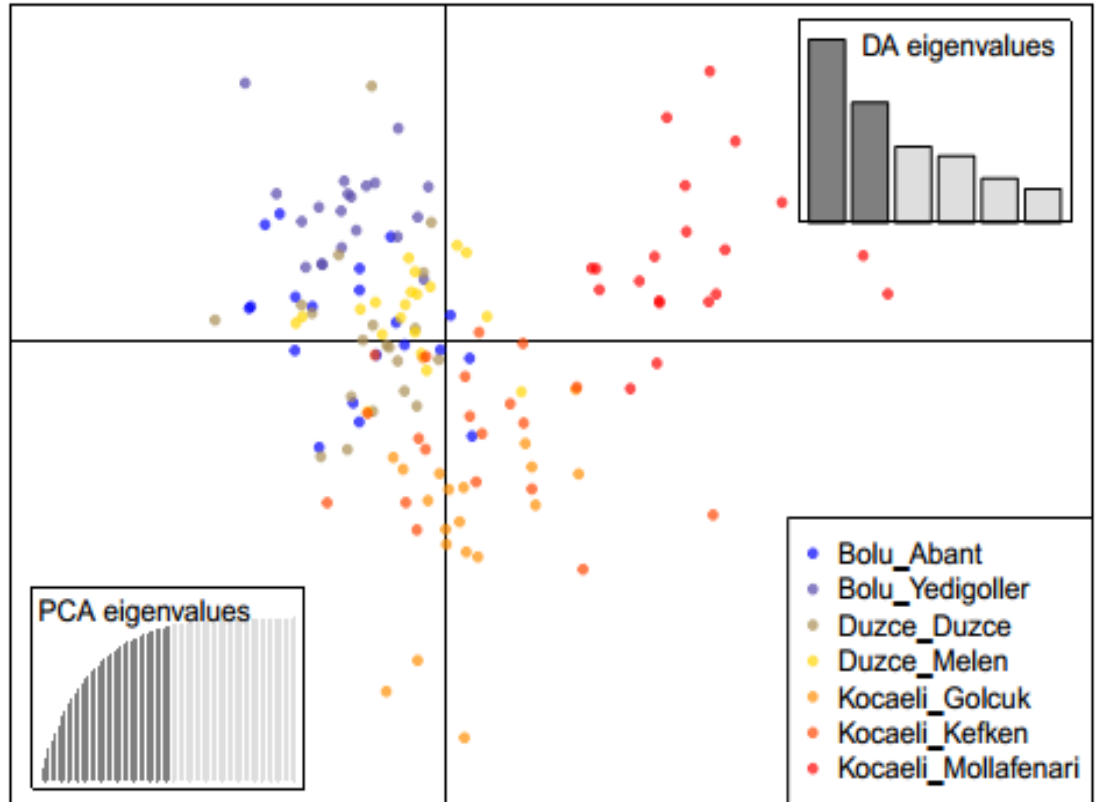
Kefken ve Gölçük alt populasyonlarının da bu 4 alt populasyona yakın gruplandığı görülmüş fakat Mollafenari alt populasyonu Kefken ve Gölçük alt populasyonlarına daha yakın olsa da bütün alt populasyonlardan biraz daha uzakta gruplandığı tespit edilmiştir.



Şekil 6.19: PCA analizi sonucu dış grup olan erik ve yabani kiraz alt populasyonlarından elde edilen gruplar.



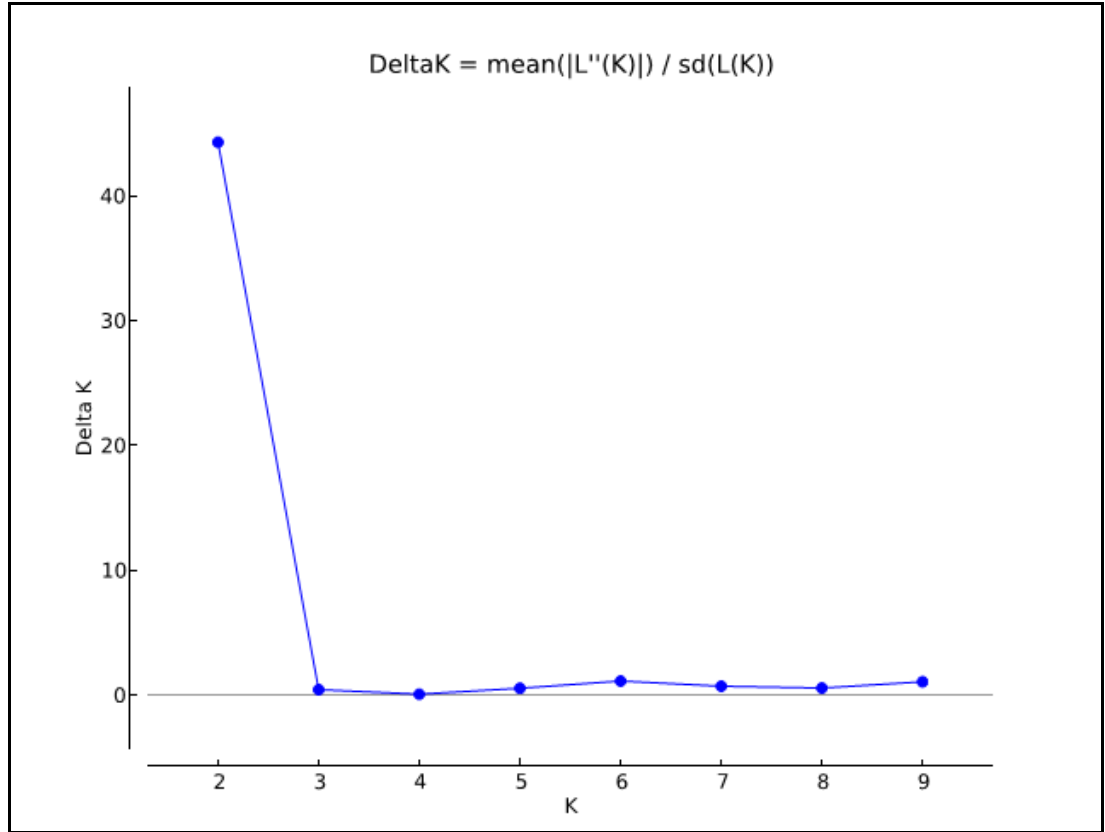
Şekil 6.20: Yabani kiraz populasyonlarında PCA analizi sonucu elde edilen gruplar.



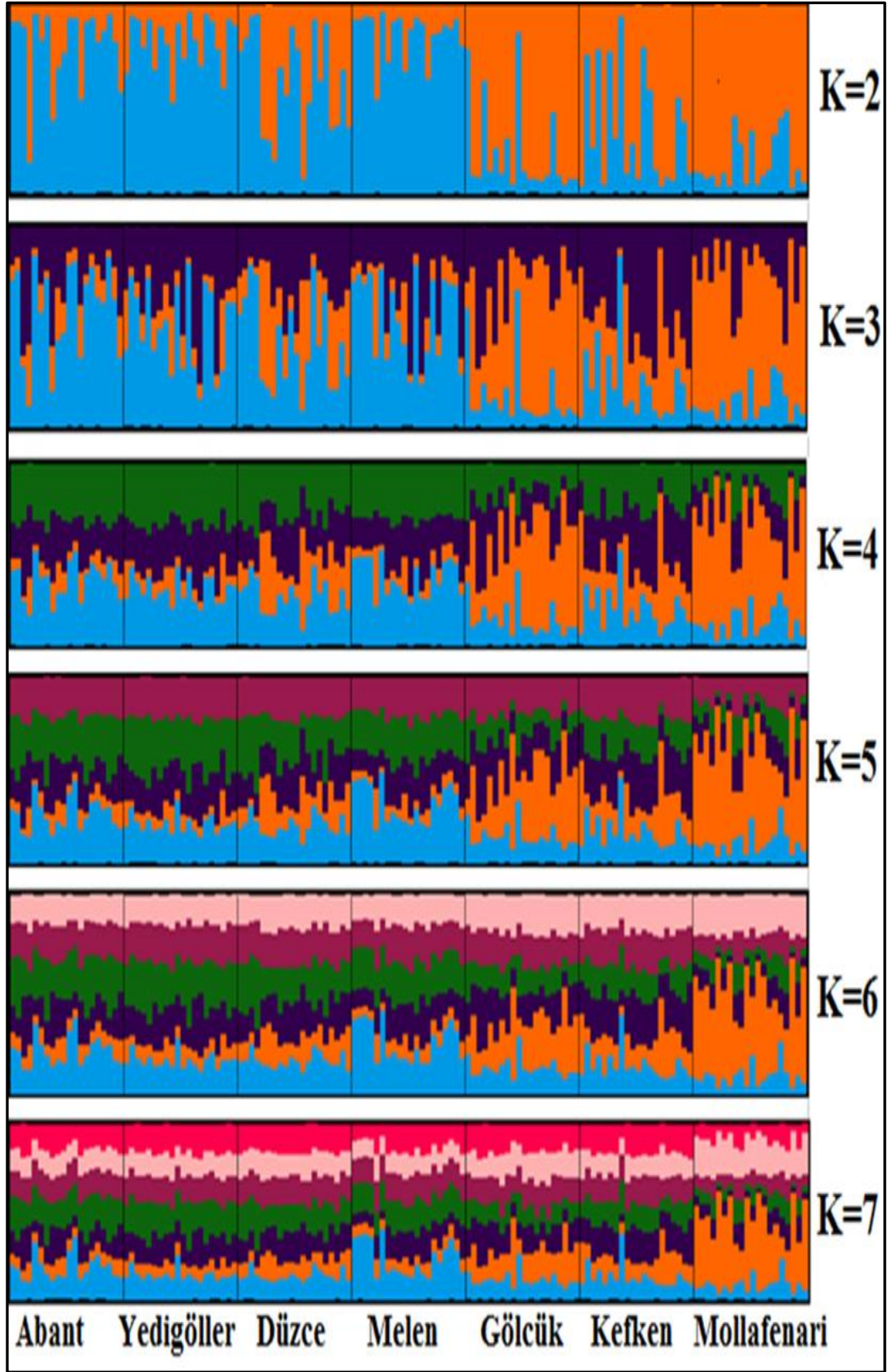
Şekil 6.21: Yabani kiraz alt populasyonlarında PCA analizi sonucu elde edilen gruplar.

6.4.9. Genetik Yapı Analizi (Structure)

Genetik yapı analizinden yararlanılarak, yabani kiraza ait bireyler ait oldukları alt popülasyonlara göre tanımlanıp çalışılan popülasyonlar kökenlerine uygun olarak sınıflandırılmış ve temelde kaç gruba ayrıldıkları belirlenmiştir (Şekil 6.22). Evanno ve arkadaşları (2005) tarafından önerilen yöntemle göre yapılan denemeler sonucunda popülasyonlardaki bireyleri ve popülasyonları en iyi ayıran K değeri 2 olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.22: 140 yabani kiraz bireyinin ayrıldığı ideal popülasyon yapı sayısını (DeltaK) gösteren grafik.



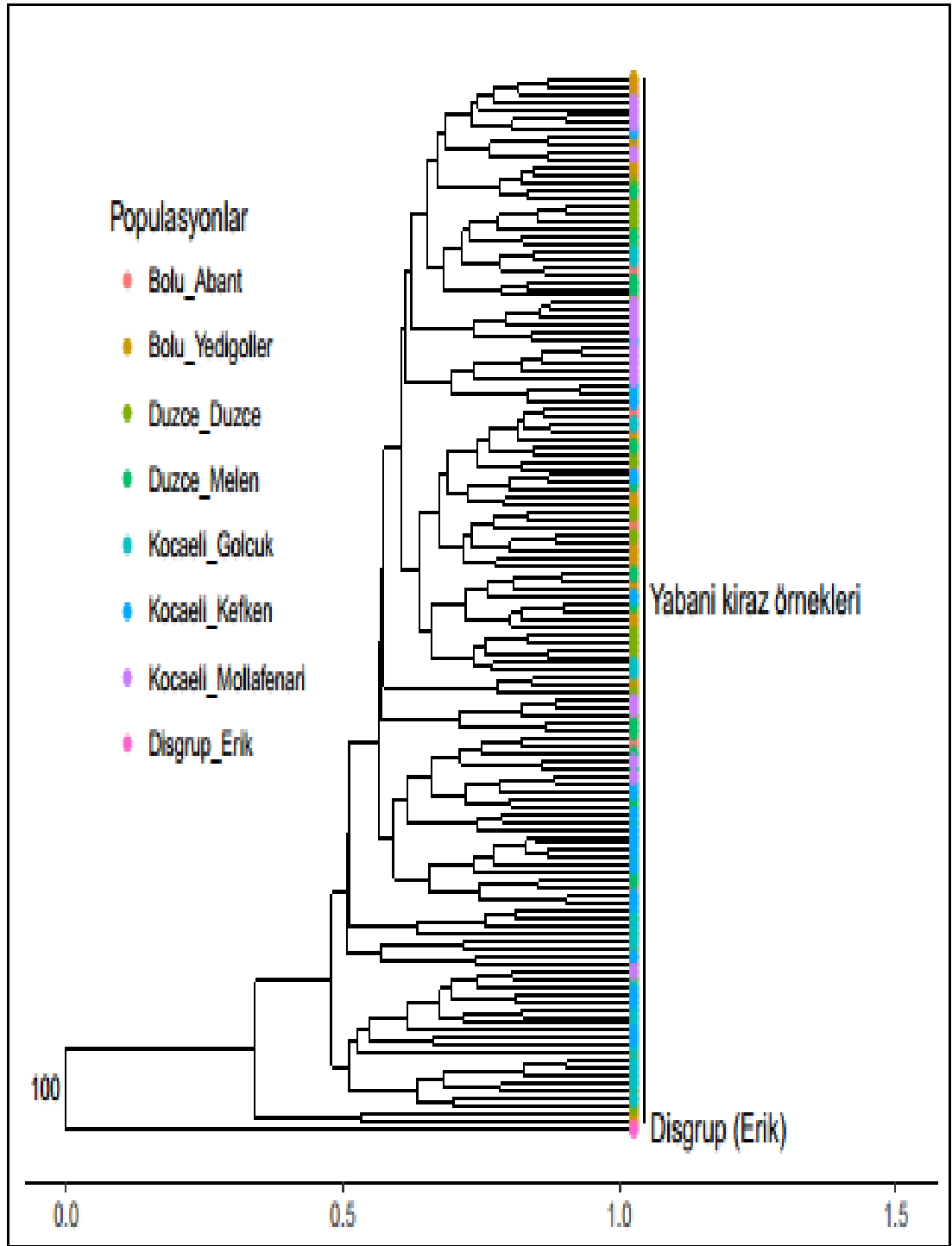
Şekil 6.23: 10 SSR lokusuna ait genetik verilerle yapılan *structure* analizi sonucunda 7 alt popülasyonun gruplandırılmasını gösteren şema (K değeri 2-7 arasında).

Yapılan genetik yapı analizi sonucunda K değerinin en fazla pik yaptığı nokta olan $K=2$ 'deki populasyon yapısına baktığımız zaman; Düzce ve Bolu populasyonlarının birbirlerine benzedikleri fakat Kocaeli populasyonlarının özellikle de Mollafenari ve Gölcük alt populasyonlarının onlardan biraz daha farklılaştığı görülmüş ve bu gruplaşmayı gösteren şema Şekil 6.23'te sunulmuştur. 2 ve 7 arasındaki K değerlerini incelendiğinde, K değeri arttıkça Mollafenari alt populasyonunun diğer populasyonlardan daha da farklılaştığı görülmüştür.

6.4.10. Filogenetik Analiz

Yabani kiraz bireyleri ve alt populasyonlar arasındaki genetik ilişkiyi tahmin etmek için Nei (1978)'nin genetik mesafe değerleri hesaplanmış ve bu genetik mesafe değerleri kullanılarak "UPGMA" metoduyla dendrogramlar oluşturulmuştur. Dendrogramlar 1000 farklı permütasyonla oluşturulmuş ve ağaçlar üzerinde belirtilen tekrar kümeleme değerleri o örneklerin yüzde kaç oranında gruplandıklarını göstermektedir. Bu yüzde oran ne kadar büyükse ağaç o kadar güvenilir demektir.

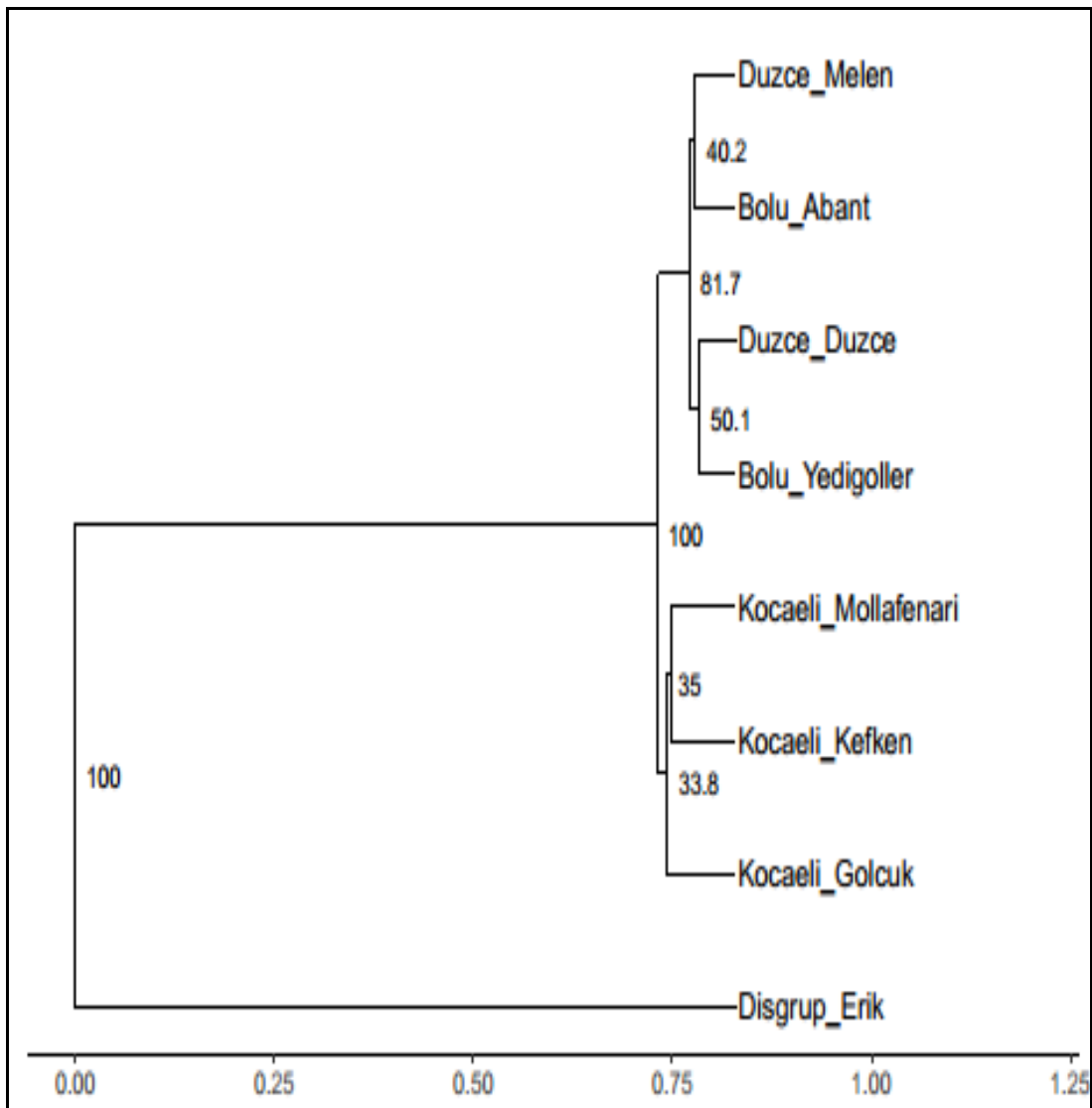
Yabani kiraz bireylerini bulundukları alt populasyonlara dahil etmeden birbirleriyle ve dış grup olan erik örneğiyle olan genetik ilişkisini gösteren dendrogram (Şekil 6.24) incelendiğinde 140 yabani kiraz bireyinin dış grup olan erik örneğinden ayrı gruplandığı görülmüştür. Populasyonlar ve alt populasyonlar arası farklılaşma değerlerinin düşük olmasından dolayı birinci grupta yer alan yabani kiraz bireylerinin birbirleriyle iç içe geçmiş şekilde gruplandığı belirlenmiştir.



Şekil 6.24: UPGMA yöntemi kullanılarak elde edilen dış grup olan erik ve yabani kiraz bireylerine ait filogenetik dendrogram.

Alt populasyonların birbirleri ve dış grup olarak seçilen erik örneği ile arasındaki genetik ilişkiyi gösteren dendrogram (Şekil 6.25) incelendiğinde temel olarak iki ana dal oluşmuştur. Yabani kiraz alt populasyonları birinci ana dalı, dış grup olarak seçilen erik örneği ise ikinci ana dalı oluşturmuş ve bu iki grup %100 oranında ayrı

gruplanmıştır. Yabani kiraz alt populasyonları da kendi içlerinde Kocaeli populasyonu bir grupta, Düzce ve Bolu populasyonları diğer grupta olacak şekilde %100 oranında ayrı gruplanmıştır. Birinci grupta yer alan Kocaeli populasyonu incelendiği zaman Kefken ve Mollafenari alt populasyonları birinci dalda gruplanmış, Gölcük alt populasyonu ise ikinci dalda gruplanmıştır. Düzce ve Bolu populasyonlarına ait alt populasyonlar incelendiği zaman ise birinci dalda Melen ve Abant alt populasyonlarının, ikinci dalda ise Düzce ve Yedigöller alt populasyonlarının bir arada gruplandığı görülmüştür. Alt populasyonlar genel olarak coğrafik yerleşimine uygun olarak gruplanmıştır.



Şekil 6.25: UPGMA yöntemi kullanılarak elde edilen yabani kiraz alt populasyonlarına ait filogenetik dendrogram.

7. TARTIŞMA

7.1. Çalışılan Populasyonlardaki ve Lokuslardaki Allelik Çeşitlilik Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tez çalışmasında, yabani kiraza yönelik geliştirilen Empas01, Empas02, Empas06, Empas10, Empas11, Empas12, Empas14 [Vaughan and Russell, 2004] ve tatlı kiraza yönelik geliştirilen Empa004, Empa005, Empa015 [Clarke and Tobutt, 2003] SSR primerleri 140 yabani kiraz genotipinin ve dış grup olarak seçilen erik örneğinin moleküler tanımlanmasında kullanılmıştır. 10 SSR lokusu kullanılarak 140 genotipte toplam allel sayısı 90, ortalama allel sayısı ise 9 olarak bulunmuş ve en yüksek allel sayısı Empa015 (12) ve Empas11 (12) lokuslarında, en az allel sayısı ise Empas14 (4) lokusunda tespit edilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında zaman bazı çalışmalarda lokus başına düşen ortalama allel sayısı 3.27-6.6 arasında değerler aldığı görülmüş [Schueler et al., 2003], [Avramidou et al., 2010], [Ercişli et al., 2011], [Tanceva-Crmaric et al., 2011] ve bu tez kapsamında elde edilen sonucun daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmalar dışında İngiltere’de 551 yabani kiraz ağacının 13 SSR primeriyle yapılan moleküler analizi sonucunda, toplamda 116 allel belirlenmiş ve lokus başına düşen allel sayısı 8.77 olarak bulunmuştur [Vaughan et al., 2007]. Yunanistan’da bulunan 93 yabani kiraz bireyinde 11 SSR lokusu kullanılarak yapılan başka bir çalışmanın genetik analizi sonucunda lokus başına düşen ortalama allel sayısı 12.7 olarak bulunmuştur [Ganopoulos et al., 2011]. Slovenya’daki 131 yabani kiraz bireyinin 10 SSR belirteciyle genotiplenmesi sonucunda toplamda 71 allel bulunmuştur. Ortalama allel sayısı 7.1 olarak belirlenmiştir. En fazla allel sayısının Empa015 (13), en az allel sayısının ise Empas14 (3) lokusunda olduğu görülmüştür [Jarni et al., 2012]. 8 SSR primeriyle İtalya’daki 11 yabani kiraz populasyonuna ait 278 yabani kiraz bireyi analiz edilmiş ve lokus başına düşen allel sayısı ortalama 15.5 olarak bulunmuş, toplamda 124 allel tespit edilmiştir [Rogatis et al., 2012]. Türkiye’de Ordu ilinden toplanan *Prunus avium*, *Prunus cerasus* ve *Prunus mahaleb* türlerinin 12 SSR primeriyle yapılan genetik analizi sonucu toplam allel sayısı 108 ve lokus başına düşen ortalama allel sayısı 9 olarak bulunmuştur [Türkoğlu et al., 2012]. İspanya’da 131 yabani kiraz bireyi kullanılarak 9 SSR primeriyle yapılan bir genetik analiz çalışmasında da toplam

allel sayısı 84 ve ortalama allel sayısı 9 olarak bulunmuştur. En fazla allel sayısı Empa015 (17) lokusunda en az allel sayısı ise Empas14 (4) lokusunda tespit edilmiştir [Fernandez-Cruz et al., 2014]. Bu çalışmalara bakıldığı zaman genel olarak bizim sonuçlarımızla örtüşmektedir. Bu çalışmalardan bazılarında ise lokus başına düşen ortalama allel sayısının fazla olduğu görülmekte, bu durumun da çalışmalarda örneklenen populasyonlar arası mesafenin (yaklaşık olarak en uzak mesafe 400 km) bizim çalışmamızda kullandığımız populasyonlara (yaklaşık olarak en uzak mesafe 200 km) göre daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

7.2. Heterozigotluk Analizi

Lokuslar bazında ortalama gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0.713 ve 0.733 bulunurken, lokuslar itibari ile değer aralıkları gözlenen heterozigotluk için; 0.421-0.864, beklenen heterozigotluk için; 0.458-0.832 olarak tespit edilmiştir. Alt populasyonlar bazında ortalama gözlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk değerleri incelendiğinde ise, bu değerlerin eşit (0.71) olduğu görülmüştür. Alt populasyonlar itibari ile değer aralıkları gözlenen heterozigotluk değeri için; 0.68-0.74, beklenen heterozigotluk değeri için; 0.67-0.74 olduğu tespit edilmiştir. Bu heterozigotluk değerleri dikkate alındığında incelenen populasyonlarda ve alt populasyonlarda genetik varyasyonun yüksek olduğu görülmektedir.

Bolu, Düzce ve Kocaeli populasyonlarındaki yabani kiraz bireylerinin beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri farklı çalışmalardaki beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleriyle benzer [Vaughan et al., 2007], [Ganopoulos et al., 2011] [Türkoğlu et al., 2012] olsa da bu değerlerin yabani kiraz ile ilgili yapılan bazı çalışmalardan [Schueler et al., 2003], [Vaughan and Russell 2004], [Avramidou et al., 2010], [Tanceva-Crmaric et al., 2011], [Jarni et al., 2012], [Rogatis et al., 2012] daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu değerler literatürde bulunan önceki çalışmalarda sırasıyla H_e için 0.472-0.698 ve H_o için 0.399-0.740 arasında bulunmuştur.

7.3. F İstatistikleri ve Hardy-Weinberg Dengesi

Yabani kiraz bireylerinin lokuslar bazında hesaplanan F_{it} değeri 0.039, F_{is} değeri ise -0.001 olarak bulunmuştur. Ayrıca Ki-kare testiyle lokusların Hardy-

Weinberg dengesinden uzaklaşıp uzaklaşmadığı incelenmiş ve hesaplanan değerlere bakıldığında Empas11 lokusu hariç diğer lokusların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür. Alt populasyonlar bazında baktığımızda ise Şekil 6.16'da görüldüğü gibi bazı alt populasyonların bir ya da iki lokus bakımından Hardy-Weinberg dengesinden anlamlı bir şekilde uzaklaştığı tespit edilmiştir. Özellikle Empas11 lokusunda görülen HWE dengesinden sapmadan dolayı sessiz allel varlığından şüphelenilmiş ve lokuslar için sessiz (*null*) allel analizi yapılmıştır. Lokusların sessiz allel değeri -0.027 ile 0.079 arasında tahmin edilmiştir. Tahmin edilen bu değer üst sınır olarak kabul edilen 0.19 değerinin [Chapuis et al., 2008] altında olduğu için lokuslarımızda null allel tespit edilmemiştir. Bu değer PZR analizinin güvenilir bir şekilde yapıldığını göstermektedir.

Yabani kiraz bireylerinin populasyonlar bazında ve alt populasyonlar bazında hesaplanan *Fis* değerlerine baktığımızda ortalama olarak sırasıyla -0.05 ve -0.06 olarak bulunmuştur. Akrabalar arası döllenme derecesini saptamak için hesaplanan *Fis* değeri +1 ile -1 arasında değerler almakta ve negatif değer alması heterozigot fazlalığına işaretler. Bu çalışma sonucunda tahmin edilen *Fis* değerinin sıfırdan farklı ve negatif bir değer aldığı tespit edilmiş ve bu da örneklediğimiz yabani kiraz populasyonlarındaki bireylerin benzer genotipler arası değil farklı genotipler arası döllenme yaptıklarına işaretler. Literatürde bulunan çalışmalarla karşılaştırıldığı zaman bazı çalışmalarda bizim bulduğumuz *Fis* değerine yakın negatif değerler bulunduğu bildirilmiştir [Frascaria et al., 1993], [Vaughan et al., 2007], [Guarino et al., 2009]. Fakat yabani kirazın genetik yapısını anlamaya yönelik yapılan çoğu çalışmada *Fis* değerinin 0.001-0.185 arasında sıfırdan büyük değerler aldığı görülmüştür [Avramidou et al., 2010], [Ganopoulos et al., 2011], [Jarni et al., 2012], [Rogatis et al., 2012].

Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmayı gösteren *Fst* değeri 0 ile +1 arasında değerler almakta ve bu değer 0.05 ve bu değer altındaysa genetik farklılaşma ihmal edilebilir düzeydedir [Hartl and Clark, 2007]. Yabani kiraza ait örneklediğimiz alt populasyonların *Fst* değeri 0.02-0.05 arasında bulunmuştur. Hesaplanan *Fst* değerine göre de alt populasyonlar bazındaki en fazla farklılaşma 0.05 değeri ile Mollafenari alt populasyonu ile Abant ve Yedigöller alt populasyonları arasında olduğu görülmüştür. Fakat *Fst* değeri 0.05 ve altında olduğu için alt populasyonlar arasındaki farklılaşmanın ihmal edilebilir düzeyde olduğu görülmektedir. Eski çalışmalara baktığımız zaman bu düşük farklılaşma değeri diğer

çalışmalarda da tespit edilmiştir [Frascaria et al., 1993], [Tanceva-Crmaric et al., 2011], [Jarni et al., 2012], [Rogatis et al., 2012]. Ganopoulos ve arkadaşlarının (2011) yaptıkları çalışmada ise örnekledikleri yabani kiraz populasyonlarının arasındaki farklılaşma değerinin 0.097 olarak ortalama düzeyde bir farklılaşmaya sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bizim populasyonlarımız arası mesafenin (yaklaşık olarak en uzak mesafe 200 km) yapılan bu çalışmaya göre daha az (yaklaşık olarak en uzak mesafe 400 km) olmasından dolayı *Fst* değerimizin daha düşük olduğu düşünölmektedir.

Başlıca eşleşme sistemi kendinden başka bireylerle döllenme şekilde olan yabani kiraz kendine uyumsuz bir bitki olduğundan [Vaughan et al., 2007] bu eşleşme sisteminden dolayı birçok allel heterozigot durumda varlığını sürdürmeye devam etmektedir. Akrabalar arası döllenme yapan bitkilerde ise benzer genotiplerle döllenme olduğundan dolayı çekinik alleler seleksiyona uğrayarak homozigotlaşma yönünde bir artış görölmektedir. Ȉalıřmamızdaki *Fis* değerinin negatif çıkması ve heterozigotlaşma yönünde olan artışın yabani kiraz ağacının bu eşleşme sisteminden dolayı olduğu düşünölmektedir. Ayrıca akrabalar-arası döllenme yapan gruplar arasında, kendinden-başka bireylerle döllenme yapan gruplar arasında olduğundan daha büyük farklılaşma beklenir [Ledig, 1998]. Bizim çalışmamızdaki *Fst* değerinin yabani kiraz ağacının sahip olduğu bu eşleşme sisteminden ve populasyonlar arası mesafenin uzak olmamasından dolayı düşük çıktığı düşünölmektedir.

7.4. Gen Akışının Değerlendirilmesi (*Nm*)

Ȉalıřmamız sonucunda *Fst* değerine bağlı olarak hesaplanan *Nm* değeri en düşük Mollafenari-Yedigöller alt populasyonları arasında 4.95 olarak, en fazla ise Düzce-Yedigöller alt populasyonları arasında 12.76 olarak bulunmuştur. Tahmin edilen *Nm* değeri incelendiğinde; her jenerasyon yaklaşık olarak en az 5, en fazla 13 yabani kiraz bireyinin bir alt populasyondan diğerine göç ettiği ve alt populasyonların birbirlerine benzer olmasına katkı sağladığı tespit edilmiştir. Bu sonuçların Slovenya'da 131 yabani kiraz bireyinde 10 SSR lokusuyla yapılan genetik analiz sonucunda tahmin edilen *Nm* değeriyle (4.2) paralel olduğu görölmüştür [Jarni et al., 2012]. Populasyonlar arası mesafe azaldıkça gen akışı dolayısıyla *Nm* değeri de artmaktadır [Kara, 1996] ve dışarıdan dölenen türlerde ortalama *Nm* değerinin 4.750 olarak bulunduğu bildirilmiştir [Hamrick, 1989]. Örnekleğimiz populasyonlar arası

mesafenin fazla olmamasından dolayı ve yabani kirazın eşleşme şekline göre dolayı bulunduğumuz *Nm* değerinin yüksek bulunduğu düşünülmektedir. Ayrıca yabani kiraz meyvelerinin memeliler ve kuşlar aracılığıyla yenilmesi ve bu sayede tohumlarının uzak mesafelere taşınabilmesinden dolayı [Russell, 2003] gen akışı oranının yüksek çıktığı düşünülmektedir.

7.5. AMOVA Analizi

10 SSR belirteciyle elde edilen verilerle örneklediğimiz yabani kiraz bireylerinin populasyon içi ve populasyonlar arası farklılaşma yüzdeleri AMOVA testiyle tespit edilmiştir. Tablo 6.6’da verilen AMOVA sonuçlarına göre asıl genetik farklılaşmanın populasyonlar içinde olduğu görülmüştür. Hırvatistan’da 15 SSR primeri kullanarak yapılan analiz sonucunda yabani kiraz bireylerinde populasyon içi genetik çeşitlilik %95.88, populasyonlar arası genetik çeşitlilik %4.12 olarak bildirilmiş ve sonuçların bizim sonuçlarımızla benzer olduğu görülmüştür [Tanceva-Crmaric et al., 2011]. Kendinden başka bireylerle döllen, coğrafik olarak kesintisiz yayılım gösteren ve uzun ömürlü bitki türlerine ait populasyonlar genel olarak yüksek düzeyde populasyon içi genetik çeşitlilik taşımaktadır [Brown, 1978], [Ledig and Conkle, 1983], [Conkle et al., 1988], [Giannini et al., 1991]. Yabani kiraz bireylerinin populasyon içi genetik çeşitliliğin yüksek olması, toplam genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu göstermektedir.

7.6. Temel Bileşenler (PCA), Genetik Yapı (Structure) ve Filogenetik Analizlerinin Değerlendirilmesi

Yabani kiraza ait örneklediğimiz Kocaeli, Bolu, Düzce populasyonlarının gruplandırılmasında ve populasyonlar arasındaki filogenetik ilişkilerin grafikler halinde ifade edilmesinde temel bileşenler analizi (PCA), genetik yapı analizi (structure) ve filogenetik analiz yöntemlerinden yararlanılmıştır. Şekil 6.21, Şekil 6.23 ve Şekil 6.25’te görüldüğü gibi farklı yöntemler kullanılarak yapılan tüm kümeleme analizleri sonucunda, Düzce ve Bolu populasyonlarının birbirlerine daha yakın gruplandıkları, Kocaeli populasyonunun ise onlardan biraz daha uzakta gruplandığı görülmüştür. Yani, alt populasyonlar genel olarak coğrafik yerleşimine uygun olarak gruplanmıştır.

Yabani kiraz alt populasyonlarının dış grup olan erik örneğiyle olan genetik ilişkisini analiz etmek için; Şekil 6.24'teki UPGMA dendrogramı ve Şekil 6.19'daki temel bileşenler analizi (PCA) incelendiğinde her iki analizde de 140 yabani kiraz bireyinin dış grup olan erik örneğinden ayrı gruplandığı görülmüştür. Çalışılan bu iki türün genetik yapılarının incelenen lokuslar bakımından farklı olmasından dolayı birbirlerinden uzakta gruplandıkları düşünülmektedir.

Populasyon yapısı analizinde, 10 SSR lokusuyla elde edilen genotipik veriler kullanılarak yabani kiraz populasyonlarını oluşturan bireylerin benzer grupları tespit edilmiş ve Şekil 6.23'te sunulduğu gibi populasyonların genetik yapıları belirlenmiştir. Yapılan populasyon yapısı analizinde, 7 alt populasyon için en uygun K değerinin 2 olduğu belirlenmiştir. Yabani kirazla ilgili yapılan eski genetik çalışmalara bakıldığında zaman İtalya'da yabani kiraza ait 11 populasyondan alınan 278 bireyin 8 SSR primeriyle elde edilen verileri kullanılarak yapılan *structure* analizi sonucu K=11 bulunmuştur. Populasyonlarda belirli bir coğrafik yapılanma bulunmadığı bildirilmiştir [Rogatis et al., 2012]. Kuzey, Kuzey-batı ve Orta İspanya'daki 5 populasyondan örneklenen 131 yabani kiraz bireyinin 9 SSR lokusuyla analizi sonucu elde edilen verilerle yapılan *structure* analizinde K değeri 2 olarak belirlenmiştir [Fernandez-Cruz et al., 2014]. Yunanistan'da yabani kiraza ait 5 populasyondan alınan 93 bireyde 11 SSR lokusuyla yapılan *structure* analizi sonucu ise K değeri 5 olarak bulunmuştur [Ganopoulos et al., 2011].

Çalışmamızda elde edilen bütün analizler incelendiği zaman yabani kirazın populasyon içi genetik çeşitliliğinin yüksek olduğu görülmüştür. Yabani kiraz ağacında bulduğumuz populasyon içi yüksek genetik çeşitlilik miktarının; kuşlar ve memeliler tarafından meyvelerinin yenmesi ve tohumlarının uzak mesafelere taşınabilmesinden, kendine uyumsuz bir bitki olması böylece kendinden başka bireylerle döllenmesinden, coğrafik olarak kesintisiz bir yayılım göstermesinden ve çok uzun yıllardan beri ülkemizde varlığını sürdürmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yabani kiraz ağaçlarında toplam genetik çeşitliliğin yüksek olması bu türde yapılacak ıslah çalışmalarında genetik kazancın da fazla olacağının göstergesidir [Işık ve Kaya, 1995].

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda Kocaeli, Düzce ve Bolu illerine ait 7 alt populasyondan örneklenen 140 yabani kiraz ağacındaki genetik çeşitliliğin boyutu ve yapılanması SSR belirteçleri kullanılarak analiz edilmiştir. Yapılan analizler ve değerlendirmeler sonucunda çalışılan yabani kiraz populasyonlarıyla ilgili önemli bilgiler elde edilmiştir.

Yabani kiraz populasyonları 10 SSR belirteciyle taranmış ve toplamda 90 allel tespit edilmiştir. Hesaplanan genetik çeşitlilik parametreleri populasyon ayrımı yapılmaksızın tüm lokuslar üzerinden Tablo 6.2’de verilen ortalama değerlerden hareketle incelendiğinde;

- Lokus başına düşen ortalama allel sayısı 9,
- Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0.713 ve 0.733,
- *Fis* değeri -0.001, *Fit* değeri 0.039, *Fst* değeri 0.041,
- *Nm* değeri ise 6.521

olarak tahmin edilmiştir.

PZR sonucu elde edilen allellik farklılıklarla alt populasyonlardaki genetik çeşitlilik parametreleri Tablo 6.5’te verilen değerden hareketle incelendiğinde;

- Ortalama allel sayısı 9 olarak hesaplanmıştır.
- Özgün allel sayısı en fazla Kefken (6), en az Mollafenari (0) alt populasyonunda bulunmuştur.
- Ortalama gözlenen (*Ho*) ve beklenen (*He*) heterozigotluk değerleri eşit (0.71) olarak hesaplanmıştır
- *Fis* değerleri ortalama -0.06 olarak tahmin edilmiştir.
- Alt populasyonlar arasındaki farklılığı gösteren *Fst* değeri 0.02-0.05 arasında, ortalama 0.03 olarak hesaplanmıştır.
- Alt populasyonlar arasındaki gen akışı miktarını gösteren *Nm* değeri ise 4.95-12.76 değerleri arasında tahmin edilmiştir.

- Örneklenen yabani kiraz bireylerinin populasyonlar arası genetik farklılaşma değeri yaklaşık olarak %4, populasyon içi genetik farklılaşma değeri ise yaklaşık olarak %96 bulunmuştur.
- Kümeleme analizleri sonucunda; Düzce ve Bolu populasyonlarının birbirlerine daha yakın, Kocaeli populasyonunun ise onlardan biraz daha uzakta gruplandığı tespit edilmiştir.

Orman ağaçlarının gelecekte çevre koşullarındaki değişimlere ve biyolojik zararlılara karşı adapte olabilmesi için genetik çeşitliliğinin yüksek olması gerekir [Wei, 1995]. Olumsuz birçok koşulla beraber oluşacak riskler şimdiden tahmin edilemediğinden genetik çeşitlilik önemli bir savunma mekanizması olarak değerlendirilmektedir [Ledig, 1988], [Lindgren, 1993]. Bu nedenle karşılaştığı birçok riske rağmen genetik çeşitliliği yüksek olan yabani kiraz ağacı için koruma ve ıslah programı geliştirilmelidir. Bu çalışma kapsamında yapılan genetik analizlerle elde edilen sonuçlar ülkemiz ormanlarında çeşitli faktörlerden dolayı sayısı giderek azalan yabani kiraz ağacının korunması ve devamının sağlanması ayrıca ıslahı için önemli bir aşamadır. Ülkemizde bu populasyonlara ek olarak yabani kiraz ağacına ait olan farklı populasyonlar da belirlenip örnek genişliği arttırılarak daha fazla populasyonlara ait bireylerle genetik çalışmaların yapılması önerilmektedir. Ayrıca, tez bulgularının, günümüzde ve gelecekte orman ağaçlarının genetiği üzerine yürütülecek benzer kapsamlı çalışmalara ışık tutacağı ümit edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abildtrup J., Riis J., Jellesmark-Thorsen B., (1997), "The reservation price approach and internationally efficient markets", *Journal of Forest Economics*, 3, 229-246.
- Acunalp S., (2012), "Genetic characterization of domestic sweet cherry (*P. avium* L.) germplasms based on SSR's", Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi.
- Adamack A. T., Gruber B., (2014), "PopGenReport: simplifying basic population genetic analyses in R", *Methods in Ecology and Evolution* 5, 384-387.
- Agarwal M., Shrivastava N., Padh H., (2008) "Advances in molecular marker techniques and their application in plant sciences", *Plant Cell Reports*, 27, 617-631.
- Arumuganathan K., Earle E. D., (1991), "Nuclear DNA content of some important plant species", *Plant Molecular Biology Reporter*, 9, 208-219.
- Avcı M., (1993), "Türkiye'nin flora bölgeleri ve Anadolu Diagonali'ne coğrafi bir yaklaşım", *Türk Coğrafya Dergisi*, 28, 225-248.
- Avramidou E., Ganopoulos I. V., Aravanopoulos F. A., (2010), "DNA fingerprinting of elite Greek wild cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using microsatellite markers", *Forestry*, 83, 1-7.
- Aytin A., (2013), "Yabani kiraz (*Cerasus avium* (L.) Moench) odununun fiziksel, mekanik ve teknolojik özellikleri üzerine yüksek sıcaklık uygulamasının etkisi", Doktora Tezi, Düzce Üniversitesi.
- Baytop T., (1963), "Medical and poisonous plants of Turkey", I. U., Publications, 1039, p. 501.
- Boydak M., Dirik H., (1998) "Ülkemizde hızlı gelişen türlerle bugüne kadar yapılan çalışmalarda ulaşılan aşama, uygulanan politika ve stratejiler, buna bağlı olarak uygulanabilecek strateji ve politika önerileri, hızlı gelişen türlerle yapılan ağaçlandırma çalışmalarının değerlendirilmesi ve yapılacak çalışmalar", Orman Bakanlığı Yayın Dairesi, 83, 13-24.
- Brookfield J. F., (1996), "A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency", *Molecular ecology*, 5, 453-455.
- Brown A. H. D., (1978). "Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation", *Theoretical and Applied Genetics*, 52, 145-157.
- Campbell N. A., Reece, J. B., Meyers N., (2006), "Biology", 7th Edition, Pearson Education Australia.
- Chapuis M., Lecoq M., Michalakakis Y., Loiseau A., Sword G. A., Piry S., Estoup A., (2008), "Do outbreaks affect genetic population structure? A worldwide survey in

Locusta migratoria, a pest plagues by microsatellite null alleles”, *Molecular Ecology*, 17, 640–653.

Clarke J. B., Tobutt K. R., (2003), “Development and characterization of polymorphic microsatellites from *Prunus avium* Napoleon”, *Molecular Ecology Notes*, 3, 578–580.

Conkle M. T., Schiller G., Grunwald C., (1988), “Electrophoretic analysis of diversity and phylogeny of *Pinus brutia* and closely related taxa”, *Systematic Botany*, 13(3), 411-424.

Curnel Y., Jacques D., Nanson A., (2003), “First multisite clonal test of wild cherry (*Prunus avium* L) in Belgium”, *Silvae Genetica*, 52 (2), 45-52.

Çetinbaş M., (2004), “Bazı kimyasal uygulamaların ve katlamanın kuş kirazı (*P. avium*), tohumlarının çimlenme yeteneği üzerine araştırmalar”, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi.

Davis P. H., (1972), “Flora of Turkey and Aegean Island”, 4th Edition, Edinburgh University Press.

Davis P. H., Tan K., Mill R. R., (1988), “Flora of Turkey and the East Aegean Islands”, 11th Edition, Edinburgh University Press.

De Cuyper B., Sonneveld T., Tobutt K. R., (2005), “Determining self-incompatibility genotypes in Belgian wild cherries”, *Molecular Ecology*, 14, 945-955.

Demir T., Demirsoy L., Demirsoy H., Kaçar Y. A., Yılmaz M., Macit I., (2010), “Determination of sweet cherry genetic resources in Giresun (Turkey) and their identification with SSR markers”, *Fruits*, 66, 53-62.

Demir A., (2013), “Sürdürülebilir gelişmede yükselen değer; biyolojik çeşitlilik açısından Türkiye değerlendirmesi”, *İstanbul Ticaret Üniversitesi-Fen Bilimleri Dergisi*, 24, 67-74.

Demirsoy L., Demir T., Demirsoy H., Okumuş A., Kaçar Y. A., (2008), “Identification of some sweet cherry cultivars grown in Amasya by rapid markers”, *Acta Horticulturae*, 795, 147-153.

Diaz R., Merlo E., (2008), “Genetic variation in reproductive traits in a clonal seed orchard of *Prunus avium* in northorn Spain”, *Silvae Genetica*, 57 (3), 110-118.

Dinçer F., (2011), “Zonguldak-Alaplı yöresinde yabani kiraz fidanlarının gelişimi üzerine araştırmalar”, Yüksek Lisans Tezi, Çoruh Üniversitesi.

Doğan D., (2011), “Moleküler tekniklerin kirazda (*Prunus avium* L.) genetik ilişki ile f1 bireylerde S allelerinin belirlenmesinde kullanımı”, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi.

Dönmez A. A., (1997), “Türkiye *Pruneae* (*Rosaceae*) Tribusunun Revizyonu”, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi.

DPT, (2005), “Dokuzuncu Kalkınma Planı (2007–2013)”, Ormancılık Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Ankara.

DPT, (2006), “Dokuzuncu Kalkınma Planı (2007–2013)”, Ormancılık Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Ankara.

Ducci F., Santi F., (1997), “The distribution of clones in managed and un-managed population of wild cherry”, Canadian Journal of Forest Research, 27,1998-2004.

Dytham C., (2003), “Choosing and using statistics: A biologist’s guide. Blackwell Publishing Company”, 3rd Edition, Wiley-Blackwell.

Eastin I., Turner J., (2009), “The impact of the Russian log export tariff on the global market for logs and lumber”, The Winter Cintrafor, University of Washington, 8, 8.

Edizer Y., Hancı F., Güneş M., (2009), “Kastamonu yöresinde yetişen bazı kuş kirazı (*Prunus avium* L.) tiplerinin çimlenme özelliklerinin belirlenmesi”, GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 26 (1), 7-11.

Ekim T., (2005), “Bitkiler, Tohumlu Bitkiler, Türkiye’nin Biyolojik Zenginlikleri”, Türkiye Çevre Vakfı Yayını,167-195.

Ercişli S., Agar G., Yildirim N., Duralıja B., Vokurka A., Karlidağ H., (2011), “Genetic diversity in wild sweet cherries (*Prunus avium*) in Turkey revealed by SSR markers”, Genetics and Molecular Research, 10, 1211–1219.

Erdoğan G., (2008), “Batı Karadeniz Bölgesi’nde Karışık Yapraklı Ormanlarda Açılan Farklı Büyüklüklerdeki Boşluklarda Doğal Gençleştirme ve Yabani Kiraz (*Cerasus avium* (L.) Moench) Dikimi”, Yüksek Lisan Tezi, Düzce Üniversitesi.

Eroğul D., (2012), “Kiraz Yetiştiriciliğinde Anaçların Kullanımı”, Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 9(2), 19 – 24.

Eşen D., Yıldız O., Kulaç Ş., Sargıncı M., (2005), “Türkiye ormanlarının ihmal edilen değerli yapraklı türü yabani kiraz”, TMMOB, Orman Mühendisleri Odası Dergisi, 4, 5, 6, 18-22.

Eşen D., Yıldız O., Çiçek E., Kulaç Ş., Kutsal Ç., (2006a), “Effects of different pretreatments on the germination of different wild cherry (*Prunus avium* L.) seeds Sources”, Pakistan Journal of Botany, 38(3), 735-743.

Eşen D., Güneş N., Yıldız O., Çiçek E., Sargıncı M., (2006b), “Ekolojik ve ekonomik değeri yüksek yabani kirazın vejetatif üretimi”, 18. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, 18, 134.

Eşen D., Güneş N., Yıldız O., (2009), “Effects of citric acid presoaking and stratification on germination behavior of *Prunus avium* L. seed”, Pakistan Journal of Botany ,41(5), 2529-2535.

Eşen D., Yıldız O., Çetintaş C., (2010), “Ekolojik ve ekonomik bakımdan değerli doğal yapraklı bir türümüz olan yabani kirazın (*Prunus avium* L.) yetiştirilmesi”, TÜBİTAK, Proje No: 1060817.

Eşen D., Yıldız O., Kulaç Ş., Çiçek E., Çetintaş C., Çetin B., Güneş N., Kutsal Ç., (2011), “Early growth performances of various seed sources of black (*Prunus serotina* Ehrh.) and wild cherry (*Prunus avium* L.) seedlings on low and high elevation sites in the western black sea region of turkey”, African Journal of Biotechnology, 10(9), 1566-1572.

Eşen D., Ediş S., Esen U., Çetintaş C., Yıldız O., (2012), “Early effects of a control-release fertilizer on the survival and growth of wild cherry (*Prunus avium* L.) seedlings in Düzce”, Bartın Orman Fakültesi Dergisi, 14, 77-83.

Evanno G., Regnaut S., Goudet J., (2005), “Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study”, Molecular Ecology, 14, 2611–20.

Excoffier L., Smouse P. E., Quattro J. M., (1992), “Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data”, Genetics, 131, 479-491.

Fernandez-Cruz J., Fernandez-Lopez J., Miranda-Fontaiña M. E., Diaz R., Toval G., (2014), “Molecular characterization of Spanish *Prunus avium* plus trees”, Forest Systems, 23(1), 120-128.

Frascaria N., Santi F., Gouyon P. H., (1993) “Genetic differentiation within and among populations of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and wild cherry (*Prunus avium* L.)”, Heredity, 70, 634-641.

Ganopoulos I., Aravanopoulos F. A., Argiriou A., Kalivas A., Tsaftaris A., (2011), “Is the genetic diversity of small scattered forest tree populations at the southern limits of their range more prone to stochastic events? A wild cherry case study by microsatellite-based markers”, Tree Genetics and Genomes, 7, 1299–1313.

Giannini R., Morgante M., Vendramin G. C., (1991), “Allozyme Variation In Italian Populations of *Picea abies*”, Silvae Genetica, 40,160-166.

Goudet J., (2005), “HIERFSTAT, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics”, Molecular Ecology Notes, 5,184–186.

Gömöry D., (2004), “Mutual links of demographic and genetic processes in a wild cherry population during the colonization”, Biologia, 59(4), 493-500.

Guarino C., Santoro S., De Simone L., Cipriani G., (2009), “*Prunus avium*: nuclear DNA study in wild populations and sweet cherry cultivars”, Genome, 52, 320–337.

Gupta M., Chyi Y. S., Romero-Severson J., Owen J. L., (1994), “Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats”, Theoretical and Applied Genetics, 89, 998-1006.

Gül H., (2014), “Bartın yöresinde yetişen yabani kiraz (*Cerasus avium* (L.) Moench) odununun kâğıt üretim koşullarının belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Bartın Üniversitesi.

Gülen H., İpek A., Ergin S., Akçay M. E., (2010), “Assessment of genetic relationships among 29 introduced and 49 local sweet cherry accessions in Turkey using AFLP and SSR markers”, Journal of the American Society for Horticultural Science, 85, 427-431.

Gültekin H. C., (2014), “Önemli orman ağaçlarının fidan üretim teknikleri (kozalaklılar, yapraklı ağaçlar)”, Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayını, 26, 337.

Hajnal M., Lstiburek M., Kobliha J., (2007), “First evaluation of growth parameters in clonal test with wild cherry”, Journal of Forest science, 53 (2), 57-65.

Hartl D. L., Clark A. G., (2007), “Principles of population genetics”, 4th Edition, Sinauer Associates.

Hamrick J. L., (1989). “Isozymes and the Analysis of Genetic Structure in Plant Populations”, In: Soltis D.E., Soltis P.S., Dudley T.R. (eds), Isozymes in Plant Biology, 1th Edition, Springer.

Hocoğlu C., (2013), “Üvez (*Sorbus aucuparia*), kızılçık (*Cornus mas*) ve yabani Kiraz (*Prunus avium*) tohumlarının çimlenmesi üzerine bazı ön işlemlerin etkilerinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Çoruh Üniversitesi.

Işık F., Kaya Z., (1995), “Toroslarda güney-kuzey doğrultusunda örneklenen kızılçam populasyonlarında genetik çeşitliliğin yapısı”, Batı Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 1, 20-54.

Jolivet C., Rogge M., Degen B., (2013), “Molecular and quantitative signatures of biparental inbreeding depression in the self-incompatible tree species *Prunus avium*”, Heredity, 110, 439–448.

Kaçar Y. A., Lezzoni A., Çetiner S., (2005), “Sweet cherry cultivar identification by using SSR markers”, Journal of Biological Sciences, 5(5), 616-619.

Kahveci O., Tüfekçioğlu U., (1998), “Ülkemizde Hızlı Gelişen Türlerle Yapılan Çalışmaların Değerlendirilmesi. Hızlı Gelişen Türlerle Yapılan Ağaçlandırma Çalışmalarının Değerlendirilmesi ve Yapılacak Çalışmalar”, Orman Bakanlığı Yayını, 83, 103-108.

Kamvar Z. N., Tabima J. F., Grünwald N. J., (2014) “Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction”, PeerJ, 2, e281.

Kara N., (1996), “Kızılçamın (*Pinus brutia* Ten.) Doğal Populasyonlarında İzoenzim Çeşitliliğinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi.

- Keenan K., McGinnity P., Cross T. F., Crozier W. W., Prodöhl P. A., (2013), “DiveRsity : An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors”, *Methods in Ecology and Evolution*, 4, 782–788.
- Kemp S. J., Brezinsky L., Teale A. J., (1993), “A panel of bovin, ovine and caprine polymorphic microsatellites”, *Animal Genetics*, 24, 363-365.
- Khadivi-Khub A., Zamani Z., Fattahi R., Wünsch A., (2014) “Genetic variation in wild *Prunus* L. subgen. *Cerasus* germplasm from Iran characterized by nuclear and chloroplast SSR markers”, *Trees*, 28, 471–485.
- Kleinschmit J., Stephan R., Wagner I., (2001), “Conservation of genetic resources of wild fruit trees (*Prunus avium*, *Malus sylvestris* and *Pyrus pyraster*)”, *European Forest Genetics Tesources Programme (EUFORGEN)*, 5, 6.
- Kulaç Ş., Güney D., Turna İ., (2009), “Tohum toplama ve ekim zamanı ile yetiştirme ortamının yabani kiraz (*Prunus avium* L.) tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi”, *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 10 (1), 37-44.
- Kumar P, Gupta V. K., Misra A. K., Modi D. R., Pandey B. K., (2009), “Potential of molecular markers in plant biotechnology”, *Plant Omics*, 2, 141-162.
- Kutsal Ç., (2005), “Katlama koşulları ve orijinin yabani Kiraz (*Prunus avium* L.) tohumun çimlenmesine etkileri”, *Yüksek Lisans Tezi, Düzce Üniversitesi*.
- Ledig F. T., (1998), “Genetic diversity in tree species: with special reference to conservation in Turkey and the eastern Mediterranean”. In: Zencirci et al. (Eds.) *The Proceedings of International Symposium on in situ Conservation of Plant Genetic Diversity*, 1st Edition, Central Research Institute for Field Crops.
- Ledig F. T., Conkle M. T., (1983), “Gene diversity and genetic structure in a narrow endemic, torrey pine (*Pinus torreyana*)”, *Evolution*, 37(1), 79- 85.
- Lindgren D., (1993), “The Population Biology of Clonal Deployment”, In: *Clonal Forestry I, Genetics and Biotechnology*, Ahuja M. R., Libby W. J., (Eds.), 1th Edition, Springer.
- Litt M., Luty J. A., (1989), “A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle action gene”, *American journal of human genetics*, 44, 397-401.
- Liu B. H., (1998), “Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis”, 1th Edition, CRC Press LLC.
- Love J. M., Knight A. M., Mcaleer M. A., Todd J. A., (1990), “Towards construction of a high-resolution map of the mouse genome using PCR analysed microsatellites”, *Nucleic Acids Research*, 21, 1111-1115.

Löf M., Thomsen A., Madsen P., (2004), “Sowing and transplanting of broadleaves (*Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L., *Prunus avium* L., and *Crataegus monogyna* Jacq.) for afforestation of farmland”, *Forest Ecology and Management*, 188, 113-123.

Jarni K., De Cuyper B., Brus R., (2012), “Genetic variability of wild cherry (*Prunus avium* L.) seed stands in Slovenia as revealed by nuclear microsatellite loci”, *Plos One*, 7(7), 1-8.

Jiang G. L., (2013), “Molecular markers and marker-assisted breeding in Plants.” In S. B. Andersen (Ed.), *Plant Breeding from Laboratories to Fields*, pp. 45–83, 1th Edition, InTech.

Johansson M., Ellegren H., Andersson L., (1992), “Cloning and characterization of highly polymorphic porcine microsatellites” *Journal of Heredity*, 83, 196-198.

Jombart T., (2008), “Adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers”, *Bioinformatics*, 24, 1403–1405.

Joshi S. P., Gupta V. S., Aggarwal R. K., Ranjekar P. K., Brar D. S., (2000), “Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*”, *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 1311–1320.

Mariette S., Lefranc M., Legrand P., Taneyhill D., Frascaria-Lacoste N., Machon N., (1997), “Genetic variability in wild cherry populations in France. Effects of colonizing processes”, *Theoretical and Applied Genetics*, 94, 904(908).

Markert C. L., Moller F., (1959), “Multiple forms of enzymes”, *Proceeding National Academy Sciences*, 45, 753-763.

Matsuoka Y., Mitchell S. E., Kresovich S., Goodman M., Doebley J., (2002), “Microsatellites in *Zea*-variability, patterns of mutations and use for evolutionary studies”, *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 436-450.

Meksem K., Kahl G., (2005), “The handbook of plant genome mapping, genetic and physical mapping”, 1th Edition, Wiley.

Mohan M., Nair S., Bhagwat A., Krishna M. Y., Bhatia C. R., Sasaki T., (1997), “Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants”, *Molecular Breeding*, 3, 87-103.

Mohanty A., Martí n J. P., Aguinagalde I., (2001a), “Chloroplast DNA study in wild populations and some cultivars of *Prunus avium* L”, *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 112– 117.

Mohanty A., Martí n J. P., Aguinagalde I., (2001b), “A population genetic analysis of chloroplast DNA in wild populations of *Prunus avium* L. in Europe”, *Heredity*, 87, 421-427.

Mondini L., Noorani A., Pagnotta M. A., (2009). "Assessing plant genetic diversity by molecular tools." *Diversity*, 1(1), 19–35.

Nei M., (1973), "Analysis of gene diversity in subdivided populations", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70, 3321–3.

Nei M., (1978), "Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals", *Genetics*, 89, 583–590.

OGM, (2015), "Orman Varlığımız". T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Yayını, Ankara.

OGM, (2016), "Oduna Dayalı Orman Ürünlerinin Üretim Pazarlama Faaliyetleri", Orman Genel Müdürlüğü İşletme ve Pazarlama Dairesi Başkanlığı Yayını, Ankara.

Öz M. H., Vurgun H., Bakır M., Büyük İ., Yüksel C., Ünlü H. M., Çukadar K., Karadoğan B., Köse Ö., Ergül A., (2013), "Molecular analysis of East Anatolian traditional plum and cherry accessions using SSR markers", *Genetics and Molecular Research*, 12 (4), 5310-5320.

Özhatay N., Kültür S., (2006), "Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey III", *Turkish Journal of Botany*, 30, 281-316.

Özkan E., (2005), "Türkiye’de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatelitler ile incelenmesi", Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi.

Öztürk-Erdem, S., (2012), "Bazı yerli kiraz (*Prunus avium* L.) çeşit ve genotiplerinde uyuşmazlığı düzenleyen S allel genlerinin polimorfik zincir reaksiyonu (PCR) tekniğine dayalı spesifik allel analizi kullanılarak belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi.

Panda S., Martin J. P., Aguinalde I., Mohanty A., (2003), "Chloroplast DNA variation in cultivated and wild *Prunus avium* L.: a comparative study", *Plant Breeding*, 122, 92–94.

Paradis E., Claude J., Strimmer K., (2004), "APE: Analyses of Phylogenetics and Evolution in R language", *Bioinformatics Applications Note*, 20, 289–290.

Paradis E., (2010) "Pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach", *Bioinformatics*, 26, 419–420.

Parveen S., Shahzad A., Yadav V., (2016), "Molecular markers and their application in plant biotechnology", In A. Shahzad, S. Sharma, S. A. Siddiqui (Eds.), *Biotechnological strategies for the conservation of medicinal and ornamental climbers*, 1th Edition, Springer.

Pervaiz T., Sun X., Zhang Y., Tao R., Zhang J., Fang J., (2015), "Association between Chloroplast and Mitochondrial DNA sequences in Chinese *Prunus* genotypes (*Prunus persica*, *Prunus domestica*, and *Prunus avium*)", *BMC Plant Biology*, 15, 4.

Petrokas R., Pliura A., (2014), “Persistence of progenies of wild cherry (*Prunus avium* L.) at northern limit of natural distribution range in transfer to Lithuania”, *Baltic Forestry*, 2(1), 58-69.

Powell W., Machray G. C., Provan J., (1996). “Polymorphism revealed by simple sequence repeats”, *Trends in Plant Science*, 1 (7), 215–222.

Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P., (2000), “Inference of population structure using multilocus genotype data”, *Genetics*, 155, 945–59.

Pritchard J. K., Wen X., Falush D., (2010), “Documentation for structure software: Version 2.3.4”, <http://dendrome.ucdavis.edu/resources/tooldocs/structure/readme.pdf>.

Rogatis A., De Ferrazzini D., Ducci F., Guerri S., Carnevale S., Bellett P., (2012), “Genetic variation in Italian wild cherry (*Prunus avium* L.) as characterized by nSSR markers”, *Forestry*, 86, 391–400.

Rosenberg N. A., Burke T., Elo K., Feldman M. W., Freidlin P. J., Groenen M. A. M., Hillel J., Mäki-Tanila A., Tixier-Boichard T., Vignal A., Wimmers K., Weigend S., (2001), “Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds”, *Genetics*, 159, 699–713.

Russell K., (2003), “EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for wild cherry (*Prunus avium*)”, International Plant Genetic Resources Institute Press, 6.

Saatçioğlu F., (1971), “Orman Ağacı Tohumları”, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, 173, 1649.

Sallard A., (1996), “L'Ami des Arbres”, 1th Edition, Bordas Nature.

Santi F., Muranty H., Dufour J., Pâques L. E., (1998), “Genetic parameters and selection in a multisite wild cherry clonal test”, *Silvae Genetica*, 47(2-3), 61-67.

Savill P. S., (1991), “The silviculture of trees used in british forestry”, 2nd Edition, CAB International.

Schlotterer C., (2004), “The evolution of molecular markers-just a matter of fashion?”, *Nature Reviews Genetics*, 5, 63-69.

Schueler S., Tusch A., Schuster M., Ziegenhagen B., (2003), “Characterization of microsatellites in wild and sweet cherry (*Prunus avium* L.) markers for individual identification and reproductive processes”, *Genome*, 46, 95–102.

Schueler S., Tusch A., Scholz F., (2006), “Comparative analysis of the within-population genetic structure in wild cherry (*Prunus avium* L.) at the self-incompatibility locus and nuclear microsatellites”, *Molecular Ecology*, 15, 3231–3243.

Slatkin M., (1985), "Gene Flow in Natural Populations, Annual Review of Ecology and Systematics", Annual Review of Ecology and Systematics, 16, 393–430.

Soltis D. E, Soltis P. S., (1989), "Isozymes in plant biology", 1st Edition, Dioscorides Press.

Stoeckel S., Grange J., Fernandez-Manjarres J. F., Bilger I., Frascaria-Lacoste N., Mariette S., (2006), "Heterozygote excess in a self-incompatible and partially clonal forest tree species - *Prunus avium* L.", Molecular Ecology, 15, 2109–2118.

Sykes M. T., Prentice I. C., (1996), "Climate change, tree species distribution and forest dynamics: A case study in the mixed Conifer/Northern hardwood zone of Europe", Climatic Change, 34, 161-177.

Sokal R. R., Michener C. D., (1958), "A statistical method for evaluating systematic relationships", University of Kansas Science Bulletin, 38, 1409–1438.

Şehirali S., Özgen M., (1988), "Bitki Islahı", 1st Edition, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.

Tanceva-Crmaric O., Stambuk S., Satovic Z., Kajba D., (2011), "Genotypic diversity of wild cherry (*Prunus avium* L.) In the part of its natural distribution in croatia", Sumarski List, 135, 543-555.

Tanksley S. D., Young N. D., Paterson A. H., Bonierbale M. W., (1989), "RFLP mapping in plant breeding, New Tools for an Old Science", Biotechnology, 7, 257-264.

Tavaud M., Zanetto A., Santi F., Dirlewanger E., (2001), "Structuration of genetic diversity in cultivated and wild cherry trees using AFLP markers", Acta Horticulturae, 546, 263-269.

TGRP, (2003) "TÜBİTAK Vizyon 2023 Bilim ve Teknoloji Öngörüsü Projeleri Tarım ve Gıda Paneli Ön Raporu", 57.

Thompson J. S., Thompson M. W., (1986), "Genetics in medicine", 4th Edition, Elsevier.

Tosun S., Özpays Z., (1988), "Klonal silvikültürde ümit vaat eden bir ağaç türü: kiraz (*Prunus avium* L.)", Orman Mühendisliği Dergisi, 10, 17-20.

Tunçtaner K., (1998), "Yabancı Tür İthal Çalışmaları ve Endüstriyel Plantasyonlar için Tür Seçimi. Hızlı Gelişen Türlerle Yapılan Ağaçlandırma Çalışmalarının Değerlendirilmesi ve Yapılacak Çalışmalar", Orman Bakanlığı Yayını, 83, 65-74.

Turet-Sayar M., Turkeç A., Demir T., (2012), "Identification of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.) and analysis of their genetic relationship using microsatellite DNA fingerprinting", Journal of Agricultural Science, 4, 8.

Turkec A., Sayar M., Heinze B., (2006), "Identification of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.) and analysis of their genetic relationships by chloroplast sequence-characterised amplified regions (cpSCAR)". Genetic Resources and Crop Evolution, 53, 1635–1641.

Turkoglu Z., Bilgener S., Ercisli S., Bakir M., Koc A., Akbulut M., Gercekcioglu R., Gunes M., Esitken A., (2010), "Simple sequence repeat-based assessment of genetic relationships among *Prunus* rootstocks", Genetics Molecular Research, 9(4), 2156-2165.

Turkoglu Z., Bilgener S., Ercisli S., Yildirim N., (2012), "Simple sequence repeat (SSR) analysis for assessment of genetic variability in wild cherry germplasm", Journal of Applied Botany and Food Quality, 85, 229 - 233.

Welk E., De Rigo D., Caudullo G., (2016), "*Prunus avium* in Europe: distribution, habitat, usage and threats". In: San-Miguel-Ayanz J., De Rigo D., Caudullo G., Houston-Durrant T., Mauri A., (Eds.), European Atlas of Forest Tree Species, e01491d.

Wei R. P., (1995), "Predicting Genetic Diversity And Optimizing Selection In Breeding Programmes", PhD Thesis, Sweedish University of Agricultural Sciences.

Weir B., Cockerham C., (1984), "Estimating F-Statistics for the analysis of population structure", Evolution, 38, 1358–1370.

Weiser F., (1996), "Ergebnisse einer 33 jährigen Einzelbaum – Nachkommenschaftsprüfung nach freiem Abblühen von Vogelkirsche, *Prunus avium* L. var. *avium*", Silvae Genetica, 45, 260–266.

Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V., (1990), "DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers", Nucleic Acid Research, 18(22), 6531-6535.

Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V., (1993), "Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers", Methods in Enzymology, 218, 704-740.

Wright S., (1978), "The theory of gene frequencies. Evolution and the genetics of populations", 4th Edition, University of Chicago Press.

Vaughan S. P., Russell K., (2004), "Characterization of novel microsatellites and development of multiplex PCR for large-scale population studies in wild cherry, *Prunus avium*", Molecular Ecology Notes, 4, 429–431.

Vaughan S. P., Cottrell J. E., Moodley D. J., Connolly T., Russel K., (2007), "Clonal structure and recruitment in British wild cherry (*Prunus avium* L.)", Forest Ecology and Management, 242, 419–430.

Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van de Le T., Hornes M., (1995). "AFLP: a new technique for DNA fingerprinting." Nucleic Acids Res, 23 (21), 4407–4414.

Yaltırık F., (1998), “Dendroloji II (*Angiospermae*)”, 1st Edition, İstanbul Üniversitesi Yayını.

Yaman B., (2002), “Türkiye’nin Euro-Siberian (Euxine) Bölgesinde doğal olarak yetişen yabani Kiraz (*Cerasus avium* (L.) Moench)’ın morfolojik, anatomik ve palinolojik özellikleri”, Doktora Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi.

Yaman B., (2003), “Yabani kiraz (*Cerasus avium* (L.) Moench)”, Gazi Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi, 3(1), 1303-2399.

Yorgancılar M., Yakışır E., Tanur-Erkoyuncu M., (2015), “Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı”, Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi, 4 (2), 1-12.

Young N. D., Menancio-Hautea D., Fatokun C. A., Danesh D., (1992), “RFLP technology, crop improvement and international agriculture”, In Thottappilly G., Monti L. M., Moham D. R., Moore A. W., eds, Biotechnology: Enhancing research on tropical crops in Africa, 1th Edition, Technical Center for Agriculture and Rural Cooperation, International Institute of Tropical Agriculture, 221–230.

Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D., (1994). “Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification.” Genomics, 20 (2), 176–183.

ÖZGEÇMİŞ

Burcu UZAN, 15 Ağustos 1988 yılında İstanbul-Kadıköy’de doğdu. İlkokul ve lise eğitimini Kocaeli-Gebze’de tamamladıktan sonra 2006 yılında Uludağ Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nde lisans eğitimine başladı. 2011 yılında lisans eğitimini tamamlayarak 2013 yılında OGM-Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü’ne biyolog olarak atandı. 2014 yılında Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

EKLER

Ek A: SSR Analizleri Sonucunda Bireylerde Belirlenen Bant Uzunlukları

Tablo A.1: Bireylerde Empas01, Empas02, Empa004, Empa005 ve Empas06 Lokuslarında Tespit Edilen Allel Uzunlukları.

	Empas01		Empas02		Empa004		Empa005		Empas06	
Abant-01	233	241	140	144	182	184	245	257	202	204
Abant-02	235	241	140	142	194	194	247	257	204	204
Abant-03	225	233	131	140	192	194	245	257	202	218
Abant-04	231	231	134	138	184	192	245	257	202	218
Abant-05	231	235	142	146	182	194	245	247	204	226
Abant-06	231	233	138	140	188	192	245	247	204	218
Abant-07	231	233	134	138	188	194	245	245	226	226
Abant-08	231	233	140	140	192	194	257	264	210	212
Abant-09	235	241	138	140	182	192	239	247	202	204
Abant-10	231	233	138	144	184	194	245	247	216	220
Abant-11	231	231	138	144	182	194	245	247	204	218
Abant-12	235	241	140	142	182	194	245	247	218	226
Abant-13	225	235	138	142	188	194	239	257	204	212
Abant-14	231	233	142	144	184	194	257	257	202	204
Abant-15	233	241	140	142	188	194	247	249	202	204
Abant-16	231	241	140	146	188	194	247	257	204	226
Abant-17	225	233	138	138	188	192	247	247	204	218
Abant-18	231	233	142	144	194	194	247	257	202	204
Abant-19	231	233	140	144	192	194	245	245	204	226
Abant-20	225	235	140	140	190	194	245	247	202	204
Yedigöller-01	231	235	140	146	192	192	239	257	202	220
Yedigöller-02	233	241	140	144	182	184	247	257	202	226
Yedigöller-03	231	233	140	146	190	192	245	247	202	204
Yedigöller-04	231	231	140	146	184	194	257	257	202	220
Yedigöller-05	233	235	144	144	188	192	247	257	204	204
Yedigöller-06	231	233	144	146	188	190	239	247	202	202
Yedigöller-07	231	233	140	140	192	192	239	245	204	212
Yedigöller-08	231	233	140	140	192	194	247	257	202	202
Yedigöller-09	231	233	140	144	188	188	239	245	202	212

Tablo A.1: Devam.

Yedigöller-10	241	241	142	146	182	182	239	247	202	204
Yedigöller-11	231	241	140	144	184	192	239	257	202	206
Yedigöller-12	231	233	140	144	182	192	247	253	204	226
Yedigöller-13	231	253	140	144	188	192	245	247	212	218
Yedigöller-14	233	233	134	138	188	192	247	257	206	218
Yedigöller-15	233	233	140	144	182	194	239	253	204	206
Yedigöller-16	225	231	140	140	182	184	245	247	204	216
Yedigöller-17	233	235	134	140	188	192	247	257	206	226
Yedigöller-18	235	241	140	144	188	192	247	257	214	226
Yedigöller-19	231	253	140	140	188	192	247	257	204	226
Yedigöller-20	225	233	144	144	188	188	245	247	202	202
Düzce-01	225	231	140	144	190	192	245	257	204	226
Düzce-02	231	233	140	140	188	188	247	247	202	204
Düzce-03	225	233	142	142	188	192	247	257	204	218
Düzce-04	225	233	140	144	192	192	245	247	202	226
Düzce-05	231	233	140	144	192	194	247	247	204	212
Düzce-06	231	235	140	144	188	192	247	247	202	204
Düzce-07	233	235	138	140	194	194	245	247	202	212
Düzce-08	231	233	144	144	188	194	245	247	202	202
Düzce-09	231	233	134	146	188	192	241	247	202	202
Düzce-10	225	233	140	144	182	192	247	247	202	202
Düzce-11	225	231	138	142	184	192	245	247	202	216
Düzce-12	235	235	140	142	184	190	247	257	204	212
Düzce-13	231	235	138	140	192	194	241	247	204	212
Düzce-14	233	235	144	146	188	194	241	247	202	204
Düzce-15	231	231	140	144	190	192	247	247	204	218
Düzce-16	225	233	140	146	192	194	245	245	204	220
Düzce-17	235	235	140	146	182	192	241	249	202	212
Düzce-18	231	235	138	140	188	192	239	247	212	218
Düzce-19	231	241	138	146	182	194	245	257	202	204
Düzce-20	231	235	140	146	188	192	241	241	202	202
Melen-01	233	235	140	146	182	188	241	249	204	218
Melen-02	233	235	144	146	190	194	247	249	204	218
Melen-03	225	243	138	142	182	194	247	249	210	218
Melen-04	231	231	140	142	192	194	245	257	210	218
Melen-05	231	235	138	138	188	192	247	247	202	204
Melen-06	231	243	144	146	182	194	249	257	202	218
Melen-07	225	231	140	144	184	194	245	247	206	210

Tablo A.1: Devam.

Melen-08	231	233	138	144	194	194	247	257	210	212
Melen-09	233	243	140	144	192	192	247	259	202	204
Melen-10	233	235	144	146	190	192	247	257	202	204
Melen-11	225	231	134	140	182	188	245	259	210	218
Melen-12	225	231	140	144	190	194	247	249	204	204
Melen-13	235	247	140	146	192	192	249	259	206	218
Melen-14	225	235	140	140	188	194	257	257	202	204
Melen-15	225	231	142	142	194	194	247	257	202	226
Melen-16	235	241	140	146	192	192	249	259	214	226
Melen-17	231	233	140	142	182	192	241	247	204	218
Melen-18	241	241	142	142	190	192	241	247	204	216
Melen-19	231	241	140	144	182	190	245	245	202	218
Melen-20	233	235	140	146	188	192	249	257	206	210
Gölcük-01	225	231	140	146	182	192	245	247	204	204
Gölcük-02	235	235	138	144	184	192	239	247	204	220
Gölcük-03	227	231	138	140	188	196	257	257	202	210
Gölcük-04	225	225	140	146	190	192	241	257	202	210
Gölcük-05	235	235	134	146	184	194	241	257	202	220
Gölcük-06	231	237	138	140	190	192	241	257	202	202
Gölcük-07	235	235	138	146	192	192	247	257	204	218
Gölcük-08	231	235	134	146	190	190	241	257	202	218
Gölcük-09	235	235	138	144	184	190	239	245	204	220
Gölcük-10	231	231	138	142	192	194	245	247	218	220
Gölcük-11	231	231	138	144	188	192	239	241	202	204
Gölcük-12	231	235	138	140	188	192	241	245	202	204
Gölcük-13	231	235	140	140	188	192	241	257	212	214
Gölcük-14	235	235	138	140	190	190	247	247	212	218
Gölcük-15	231	235	138	144	188	192	241	257	212	214
Gölcük-16	225	231	140	144	188	192	245	257	218	218
Gölcük-17	235	235	134	140	182	184	247	257	202	202
Gölcük-18	231	235	138	140	184	188	241	241	212	220
Gölcük-19	231	233	138	142	188	190	245	257	204	212
Gölcük-20	235	235	140	146	190	192	247	257	202	220
Kefken-01	235	235	138	144	188	190	247	257	202	212
Kefken-02	235	253	138	144	192	194	247	247	210	218
Kefken-03	231	235	140	144	192	194	247	257	202	212
Kefken-04	225	231	134	138	182	188	241	247	202	218

Tablo A.1: Devam.

Kefken-05	233	235	142	146	188	192	245	257	202	202
Kefken-06	233	235	140	140	192	192	245	257	202	218
Kefken-07	231	231	144	144	192	194	257	257	212	220
Kefken-08	231	233	142	144	182	194	245	257	204	218
Kefken-09	235	235	138	144	188	192	245	247	212	226
Kefken-10	233	241	140	144	188	192	245	245	212	218
Kefken-11	231	235	140	144	188	192	257	257	202	210
Kefken-12	233	235	146	146	192	192	245	245	212	218
Kefken-13	225	235	134	140	188	192	239	245	202	218
Kefken-14	225	225	134	138	184	188	245	257	202	222
Kefken-15	235	235	144	144	192	192	245	247	220	220
Kefken-16	231	231	142	144	188	192	245	255	202	212
Kefken-17	225	235	134	140	184	188	257	257	212	222
Kefken-18	235	241	140	146	192	192	241	245	204	212
Kefken-19	231	235	140	144	188	188	257	257	202	210
Kefken-20	231	233	134	146	190	196	245	257	202	202
Mollafenari-01	241	241	138	140	192	192	247	247	202	204
Mollafenari-02	231	241	138	144	184	192	247	257	202	206
Mollafenari-03	231	235	140	140	188	190	241	245	202	220
Mollafenari-04	231	231	138	144	188	192	245	247	212	220
Mollafenari-05	235	235	138	140	184	192	247	247	202	220
Mollafenari-06	233	233	142	144	188	190	257	257	204	220
Mollafenari-07	231	235	140	144	188	190	241	257	202	220
Mollafenari-08	231	233	140	140	192	192	247	257	206	220
Mollafenari-09	231	233	138	138	188	192	247	257	204	210
Mollafenari-10	231	235	140	140	188	190	241	257	202	220
Mollafenari-11	231	241	140	142	190	192	241	257	204	220
Mollafenari-12	231	235	138	140	190	192	257	257	204	220
Mollafenari-13	231	231	138	140	192	194	247	257	220	220
Mollafenari-14	231	235	140	142	192	192	239	245	202	220
Mollafenari-15	225	233	142	144	188	190	247	257	204	220
Mollafenari-16	235	241	138	140	190	190	245	247	210	218
Mollafenari-17	231	231	138	140	192	192	247	257	206	210
Mollafenari-18	231	231	138	140	192	192	241	257	202	220
Mollafenari-19	225	235	138	144	188	192	247	257	202	204
Mollafenari-20	231	231	140	142	184	188	241	257	204	220
Erik	243	251	107	107	164	164	NA	NA	222	243

Tablo A.2: Bireylerde Empas10, Empas11, Empas12, Empas14 ve Empa015 Lokuslarında Tespit Edilen Allel Uzunlukları.

	Empas10		Empas11		Empas12		Empas14		Empa015	
Abant-01	156	156	73	73	137	145	196	196	219	223
Abant-02	162	162	73	101	153	153	196	196	221	223
Abant-03	158	162	73	110	145	153	196	210	223	223
Abant-04	156	170	62	101	137	139	196	198	219	221
Abant-05	156	162	73	73	139	139	196	196	223	223
Abant-06	162	162	83	103	137	137	196	196	223	223
Abant-07	156	158	73	101	145	145	196	196	223	223
Abant-08	158	162	73	73	137	139	196	210	221	241
Abant-09	156	162	73	73	137	145	196	196	211	223
Abant-10	156	156	73	103	145	153	196	196	219	223
Abant-11	158	162	73	73	137	137	196	196	223	223
Abant-12	156	162	73	83	137	145	196	210	219	223
Abant-13	156	156	73	101	137	145	196	196	211	223
Abant-14	162	162	73	85	145	145	200	200	223	223
Abant-15	156	162	73	73	145	153	196	210	219	223
Abant-16	156	162	73	83	137	137	196	210	223	241
Abant-17	156	162	73	73	137	139	196	196	219	223
Abant-18	158	158	73	73	137	153	196	200	219	223
Abant-19	156	162	73	101	137	149	196	210	219	223
Abant-20	156	156	73	73	137	141	196	196	213	223
Yedigöller-01	158	162	83	101	145	145	196	210	223	223
Yedigöller-02	152	158	73	73	137	139	196	200	223	223
Yedigöller-03	156	158	73	95	139	145	196	196	205	219
Yedigöller-04	158	158	73	101	145	153	196	196	205	223
Yedigöller-05	158	158	73	101	139	153	196	196	223	223
Yedigöller-06	156	162	73	73	145	147	196	196	219	223
Yedigöller-07	156	162	73	95	139	139	196	200	205	223
Yedigöller-08	156	158	73	73	137	139	196	196	219	221
Yedigöller-09	156	158	62	83	145	145	196	210	205	221
Yedigöller-10	152	158	62	73	137	145	200	210	213	223
Yedigöller-11	158	162	73	73	139	153	196	196	221	223
Yedigöller-12	156	162	95	101	145	153	196	200	223	223
Yedigöller-13	156	158	73	73	137	139	198	200	205	223
Yedigöller-14	158	190	73	73	137	153	196	196	205	241
Yedigöller-15	156	158	73	101	139	145	196	196	221	223
Yedigöller-16	156	162	62	73	145	145	196	196	223	223

Tablo A.2: Devam.

Yedigöller-17	158	162	73	73	153	153	196	196	215	223
Yedigöller-18	156	158	73	73	137	137	196	196	221	223
Yedigöller-19	156	162	73	73	145	153	196	200	219	223
Yedigöller-20	156	158	73	83	137	145	196	196	205	219
Düzce-01	156	162	73	95	145	145	210	210	219	221
Düzce-02	162	162	73	101	137	145	196	196	213	219
Düzce-03	158	162	73	95	139	145	196	196	213	223
Düzce-04	158	162	73	101	145	153	196	196	223	223
Düzce-05	156	162	62	73	137	145	210	210	213	221
Düzce-06	156	162	62	73	137	145	196	210	213	219
Düzce-07	156	156	73	75	137	137	196	198	203	213
Düzce-08	162	162	73	75	137	145	196	210	221	223
Düzce-09	156	158	73	73	137	153	196	196	213	223
Düzce-10	158	158	75	101	137	137	196	196	219	241
Düzce-11	156	156	73	75	139	145	196	198	223	223
Düzce-12	156	184	91	106	145	145	196	196	221	241
Düzce-13	158	184	73	101	137	145	196	196	219	223
Düzce-14	156	158	83	101	145	145	196	200	223	223
Düzce-15	158	162	62	73	137	137	196	210	219	219
Düzce-16	156	162	73	101	145	153	196	200	223	241
Düzce-17	156	156	73	73	145	145	196	198	203	221
Düzce-18	158	162	62	73	137	153	200	210	219	223
Düzce-19	158	170	73	73	139	145	196	198	241	241
Düzce-20	156	162	73	101	145	149	196	200	223	223
Melen-01	158	158	73	83	139	139	196	196	213	223
Melen-02	NA	NA	73	83	139	139	196	196	213	219
Melen-03	156	158	73	83	137	137	196	196	213	223
Melen-04	158	158	83	83	139	145	196	200	219	241
Melen-05	156	158	73	101	145	145	196	210	221	223
Melen-06	156	156	83	83	139	139	196	196	223	223
Melen-07	156	156	73	83	137	137	196	196	211	219
Melen-08	158	158	73	101	137	145	196	196	219	223
Melen-09	156	162	73	101	137	153	196	196	219	219
Melen-10	158	158	73	73	137	137	196	196	221	223
Melen-11	158	162	73	75	137	145	198	198	219	223
Melen-12	162	162	73	73	145	153	196	200	213	223
Melen-13	156	162	73	73	139	153	196	196	223	223

Tablo A.2: Devam.

Melen-14	156	156	75	101	137	137	196	196	219	223
Melen-15	162	162	62	83	137	139	196	210	221	223
Melen-16	158	158	62	83	137	137	196	196	219	223
Melen-17	156	162	83	101	137	137	196	196	219	221
Melen-18	156	156	83	83	137	137	196	200	219	223
Melen-19	156	158	73	103	139	145	196	196	219	223
Melen-20	156	156	62	101	137	139	196	196	219	223
Gölcük-01	156	156	73	101	123	137	196	196	213	223
Gölcük-02	156	170	73	73	123	153	196	200	223	241
Gölcük-03	162	162	62	73	123	137	196	210	223	223
Gölcük-04	158	158	73	73	137	145	196	210	219	245
Gölcük-05	156	162	73	83	123	137	196	210	219	223
Gölcük-06	156	158	62	73	137	153	196	200	223	223
Gölcük-07	158	162	73	73	123	137	210	210	221	221
Gölcük-08	158	162	62	83	123	145	196	196	223	223
Gölcük-09	156	156	91	101	137	139	196	210	203	203
Gölcük-10	158	158	73	83	137	145	200	210	223	223
Gölcük-11	158	162	73	91	137	137	196	210	219	241
Gölcük-12	162	170	73	75	137	137	196	210	211	223
Gölcük-13	156	158	73	73	137	145	210	210	221	221
Gölcük-14	156	184	62	83	137	137	196	196	221	241
Gölcük-15	158	158	73	73	137	137	200	210	221	221
Gölcük-16	156	158	73	83	123	145	196	210	203	223
Gölcük-17	156	162	73	75	123	137	196	210	213	213
Gölcük-18	156	170	73	73	137	145	196	200	213	221
Gölcük-19	156	170	73	73	123	123	196	210	219	241
Gölcük-20	156	156	71	71	137	139	210	210	219	219
Kefken-01	156	164	83	103	137	137	196	210	213	231
Kefken-02	156	162	83	103	137	139	196	196	219	241
Kefken-03	156	162	101	103	123	153	196	196	223	241
Kefken-04	156	156	83	101	145	153	196	196	219	221
Kefken-05	164	170	73	91	137	137	198	210	203	231
Kefken-06	156	158	73	103	137	139	196	196	223	223
Kefken-07	156	164	73	73	145	153	196	198	223	223
Kefken-08	156	156	83	83	145	145	196	196	219	241
Kefken-09	156	162	62	91	137	145	196	210	219	231
Kefken-10	156	160	103	103	137	137	196	196	223	231

Tablo A.2: Devam.

Kefken-11	156	162	73	75	123	137	196	198	211	241
Kefken-12	156	156	73	73	139	153	196	198	223	223
Kefken-13	156	162	62	101	137	137	196	196	223	223
Kefken-14	156	156	62	75	153	153	196	196	203	223
Kefken-15	162	184	62	83	123	149	210	210	211	223
Kefken-16	156	156	73	73	149	153	196	210	213	239
Kefken-17	156	156	62	62	139	153	196	196	203	223
Kefken-18	156	156	62	101	137	139	196	196	223	223
Kefken-19	162	162	73	95	123	137	196	196	223	223
Kefken-20	158	160	62	101	137	149	196	196	221	241
Mollafenari-01	156	156	62	73	137	149	196	196	203	213
Mollafenari-02	156	156	62	73	137	149	196	210	213	223
Mollafenari-03	156	158	83	83	137	137	196	210	203	241
Mollafenari-04	156	162	62	73	153	153	196	196	213	221
Mollafenari-05	156	156	73	73	137	149	196	210	203	203
Mollafenari-06	162	170	62	103	137	139	196	196	203	213
Mollafenari-07	156	162	73	73	137	149	196	196	203	221
Mollafenari-08	156	162	62	73	153	153	196	196	213	223
Mollafenari-09	162	170	62	73	139	153	196	196	213	219
Mollafenari-10	156	162	73	103	137	149	196	210	203	205
Mollafenari-11	156	162	62	83	137	137	196	196	223	223
Mollafenari-12	156	162	73	103	149	149	196	196	203	223
Mollafenari-13	156	170	73	73	139	139	196	196	203	241
Mollafenari-14	158	162	62	73	137	139	196	210	213	241
Mollafenari-15	156	162	73	103	139	149	196	196	213	223
Mollafenari-16	156	162	73	83	137	139	196	196	221	221
Mollafenari-17	162	162	73	103	137	153	196	196	213	223
Mollafenari-18	156	156	62	73	149	149	196	210	213	221
Mollafenari-19	156	156	62	73	137	147	196	196	213	213
Mollafenari-20	156	158	62	73	137	149	196	196	203	241
Erik	NA	NA	71	77	114	125	204	208	NA	NA