



T. C.
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI
ÇÖLLEŞME VE EROZYONLA MÜCADELE GENEL MÜDÜRLÜĞÜ



DOĞAL AHLAT (*Pyrus elaeagrifolia* Pall.)

POPULASYONLARINDAKİ İRİ MEYVELİ TİPLERİN BELİRLENMESİ,
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU, VEJETATİF ÇOĞALTMA KAPASİTELERİ İLE
KURAK-YARIKURAK ALANLARDA KULLANIM İMKÂNLARININ
BELİRLENMESİ VE MUHAFAZASI

ARGE PROJE SONUÇ RAPORU

Kasım 2018





T. C.
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI
ÇÖLLEŞME VE EROZYONLA MÜCADELE GENEL MÜDÜRLÜĞÜ



**DOĞAL AHLAT (*Pyrus elaeagrifolia* Pall.) POPULASYONLARINDAKİ İRİ
MEYVELİ TİPLERİN BELİRLENMESİ, MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU,
VEJETATİF ÇOĞALTMA KAPASİTELERİ İLE KURAK-YARIKURAK
ALANLARDA KULLANIM İMKÂNLARININ BELİRLENMESİ VE MUHAFAZASI**

ARGE PROJE SONUÇ RAPORU

Kasım 2018



Proje Yürütücüsü

Prof. Dr. Aydın UZUN (Erciyes Üniversitesi)

Araştırmacılar

Arif Karakaya (Çölleşme ve Erozyonla Mücadele Genel Müdürlüğü)

Mehmet UYSAL (Çölleşme ve Erozyonla Mücadele Genel Müdürlüğü)

Muammer COŞKUN (Çölleşme ve Erozyonla Mücadele Genel Müdürlüğü)

Dr. Öğr. Üyesi Hasan PINAR (Erciyes Üniversitesi)

Doç. Dr. Kahraman GÜRCAN (Erciyes Üniversitesi)

Dr. Gökhan ÖZTÜRK (Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü)

Recep Ali EMRE (Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü)

Mustafa ÜNLÜ (Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü)

Arş. Gör. Mehmet YAMAN (Erciyes Üniversitesi)

Hakan KELEŞ (Mersin Orman Bölge Müdürlüğü)



TEŞEKKÜR

Ülkemizde özellikle iç ve geçit bölgelerinde yaygın bir şekilde doğal olarak yetişmekte olan ahlat, bu bölgelere uyum sağlamış önemli yabani meyve türlerinden biridir. Bu alanlardaki ahlat genotiplerinin incelenmesi, pomolojik özelliklerinin, mikroçoğaltım etkinliklerinin ve genetik ilişkilerinin belirlenmesi, kurak ve yarı kurak alanların ağaçlandırılmasında kullanılabilecek durumlarının ortaya konulması amacıyla bu proje yapılmıştır. Projeyi destekleyen ve çalışmaların yapılmasını sağlayan Tarım ve Orman Bakanlığı Çölleşme ve Erozyonla Mücadele Genel Müdürlüğü nezdinde, proje süresince görev yapan Genel Müdürler, Sayın Hanifi AVCI'ya, Sayın M. Mustafa GÖZÜKARA'ya, Sayın Dr. Ahmet İPEK'e ve Daire Başkanı Sayın Yaşar ÇAKIROĞLU'na çok teşekkür ederiz. Aynı zamanda desteklerinden dolayı Erciyes Üniversitesi BAP birimi, Ziraat Fakültesi Dekanlığı ve Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanlığına teşekkür ederiz. Öte yandan projenin her aşamasında beraber görev yaptığımız projede yer alan tüm araştırmacılarımıza ve laboratuvar çalışmalarındaki emeklerinden dolayı Merve Arefe YİĞİT'e teşekkür ederiz.

ÖZET

Ahlat, Anadolu’ da doğal olarak yetişen kloroza ve kuraklığa dayanıklı, anaç geliştirmede kullanılabilecek önemli türlerden biridir. Bu çalışma ülkemizin farklı noktalarından belirli morfolojik kriterlere ve yetiştirme alanlarına göre toplanmış farklı ahlat genotiplerinde yapılmıştır. Bu genotiplerde mikroçoğaltım etkinliğinin belirlenmesi, moleküler karakterizasyonunun yapılması ve bazı pomolojik özelliklerin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Erciyes Üniversitesi laboratuvarlarında genotipler 9.0 μ M BA (benzyladenine), 0.5 μ M IAA (indole-3-aceticacid), 0.3 μ M giberillic acit (GA3) ile desteklenmiş, MS besin ortamında kültüre alınmış, in vitro tepkileri belirlenmiştir. Yedi adet SSR primeri kullanılarak moleküler analizleri yapılmıştır. Bu çalışmalar ayrı ayrı değerlendirilmiş ve moleküler bulgulara göre 96 genotip 3 ana grup ve 9 alt gruba ayrılmıştır. Genotiplerin tamamı birbirinden ayrılmış ve bazı genotipler coğrafik dağılıma göre gruplanmışlardır. Pomolojik verilere göre, meyve ağırlığı $31,73 \pm 4,76 - 3,40 \pm 0,28$ g arasında, meyve uzunluğu $34,80 \pm 2,15 - 15,79 \pm 1,35$ mm, meyve genişliği $42,91 \pm 1,98 - 17,47 \pm 1,14$ mm, meyve sap uzunluğu $38,91 \pm 5,00 - 7,66 \pm 4,20$ mm, tohum sayısı $9,30 \pm 0,82 - 1,14 \pm 1,06$ adet, SÇKM ise $23,01 \pm 1,01$ ile $12,36 \pm 1,10$ arasında değişmiştir. Çalışılan özellikler bakımından genotipler arasında yüksek düzeyde varyasyonlar tespit edilmiştir. Meyve iriliği ve bazı ağaç özellikleri bakımından öne çıkan ve değişik amaçlar (kurak ağaçlandırması, meyve verimi vb.) için kullanılabilecek genotipler belirlenmiştir. Çalışma, ülkemizdeki ahlat popülasyonların farklı parametreler yönünden incelenmesi ve değerlendirilmesi adına önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ahlat, *Pyrus elaeagrifolia*, SSR, mikroçoğaltım, MS



ABSTRACT

Wild pear (ahlat) is one of the important species that can be used for rootstock development which is resistant to drought and chlorosis which grows naturally in Anatolia. This study was carried out in some ahlat genotypes collected from different points of Turkey according to the specific morphological criteria and growing areas. It is aimed to determine micropropagation activity, molecular characterization of these genotypes and to determine some pomological characters. Genotypes were supplemented with 9.0 μ M BA (benzyladenine), 0.5 μ M IAA (indole-3-acetic acid), 0.3 μ M gibberillic acid (GA_3) cultured in MS medium and in vitro responses were determined. Molecular analyzes were performed using seven SSR primers. According to the molecular findings, 96 genotypes consisted of 3 main groups and 9 subgroups. All genotypes were distinguished and some genotypes were grouped according to geographic distribution. According to pomological data, fruit weight was $31,73 \pm 4,76$ - $3,40 \pm 0,28$ g, fruit length was $34,80 \pm 2,15$ - $15,79 \pm 1,35$ mm, fruit width was $42,91 \pm 1,98$ - $17,47 \pm 1,14$ mm, pedicel length was $38,91 \pm 5,00$ - $7,66 \pm 4,20$ mm, number of seeds was $9,30 \pm 0,82$ - $1,14 \pm 1,06$, and total soluble solids was $23,01 \pm 1,01$ to $12,36 \pm 1,10$. High level of variations between genotypes were determined in terms of the studied properties. Also genotypes that can be used for different purposes (arid forestation, fruit yield, etc.) are defined in terms of fruit size and some tree characteristics. The study is important to examine and evaluate the wild pear populations in Turkey in terms of different parameters.

Keywords: Ahlat, *Pyrus elaeagrifolia*, SSR, micropropagation, MS

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	3
ÖZET	4
Anahtar Kelimeler	4
ABSTRACT	5
Keywords	5
İÇİNDEKİLER	6
SİMGELER ve KISALTMALAR	10
ÇİZELGELER LİSTESİ	8
ŞEKİLLER LİSTESİ	9

BÖLÜM

GİRİŞ	11
-------------	----

BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	16
2.1. Ahlatta ve Diğer Yumuşak Çekirdeklielerde in vitro Çoğaltım Üzerine Yapılmış Çalışmalar	16
2.2. Ahlat ve Diğer Yumuşak Çekirdeklielerde Yapılmış Moleküler Çalışmalar	18
2.3. Ahlat ve Diğer Yumuşak Çekirdeklielerde Yapılmış Pomolojik Çalışmalar	20

BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Materyal	22
3.2. Metot	26
3.2.1. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları	26
3.2.2. Doku kültürü analizleri	30
3.2.3. Morfolojik Analizler	33



BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1. Morfolojik Özellikler	35
4.2. Moleküler Analizler	42
4.3. Doku Kültürü Analizleri.....	46
4.3.2. İklim kabininden genel bir görünüm.....	47
Sürgünlerin Uzatılması	55
Köklendirme	56

BÖLÜM

SONUÇLAR ve ÖNERİLER	59
-----------------------------------	-----------

BÖLÜM

KAYNAKLAR	65
------------------------	-----------

SİMGELER ve KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AgNO₃	: Gümüşnitrat
BA	: Benzyl-adenine
GA₃	: Giberellic acid
IAA	: Indole-3-acetic acid
IBA	: Indole-3-butyric acid
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MS	: Murashige&Skoog Medium
NAA	: Naphthalene acetic acid
NaOH	: Sodyum Hidroksit
ng	: Nanogram
NH₄NO₃	: Amonyumnitrat
PCR	: Polymerase Chain Reaction
QTL	: Quantative Trait Loci
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA
RIL	: Recombinant Inbreed Line
SRAP	: Sequence Related Amplified Polymorfism
SSR	: Simple Sequence Repeat
TDZ	: Thidiazuron



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge.3.1.1. Türkiye’ nin farklı bölgelerinden toplanan ahlat genotipleri ve toplandığı iller.....	26
Çizelge 3.2.1.1. DNA Ekstraksiyon Çözeltisi.....	27
Çizelge 3.2.1.2. PCR Mix Konsantrasyonları.....	29
Çizelge.4.1.1. Çalışmada kullanılan ahlat genotiplerine ait pomolojik sonuçlar.....	36
Çizelge 4.3.1. Çalışma kapsamında in vitro kültüre alınan genotiplerin listesi.....	47
Çizelge 4.3.2. 2017 yılında in vitro kültüre alınan genotiplerin listesi.....	54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Arazi açma ve değişik amaçlara yönelik olarak kesilmiş ve tahrip edilmiş ahlat ağaçları	15
Şekil 3.1.1. Farklı büyüme formları gösteren ahlat ağaçları.....	23
Şekil 3.1.2. Eskişehir’de geniş bir arazide tek birey şeklinde gelişmiş ahlat ağacı.....	24
Şekil 3.1.3. Ankara-Bey pazarı’nda büyük populasyonlar şeklindeki ahlat ağaçları.....	24
Şekil 3.1.4. Çankırı’da yaşlı ve kalın gövdeli bir ahlat ağacı (üstte) ve Kayseri’de ekstrem koşullarda gelişmiş ahlat ağaçları (altta)	25
Şekil.3.2.1.1. DNA izolasyonu.....	28
Şekil.3.2.1.2.PCR cihazı ve görüntüleme ünitesi.....	29
Şekil 3.2.1.3. Moleküler çalışmaların yapıldığı laboratuvar.....	30
Şekil 3.2.1.4. Moleküler çalışmaların yapıldığı ABI cihazı.....	30
Şekil 3.2.2.1. Besi ortamlarının hazırlanması	31
Şekil 3.2.2.2. Eksplantların yüzey sterilizasyonu	32
Şekil 3.2.2.3. Eksplantların kültür kaplarına dikilmesi.....	32
Şekil 3.2.2.4. İklimlendirme dolabında gözlemlenen kültüre alınmış doku parçaları	33
Şekil 4.1.1. Farklı ahlat genotiplerinin meyve görünüşleri.	39
Şekil 4.1.2. Farklı ahlat genotiplerinin meyve görünüşleri	39
Şekil 4.1.3. Ahlat bitkisi genel görünüm.....	40



Şekil 4.1.4. Ahlat ağacında meyvelerin görünümü	40
Şekil 4.1.5. Meyve tutumu çok yüksek bir ahlat ağacı	41
Şekil 4.1.6. Ahlat bitkilerinin doğal yayılışı	41
Şekil 4.1.7. Ahlat bitkilerinin doğal yayılışı	42
Şekil 4.2.1. Çalışmada kullanılan SSR markırlarına ait görüntüler	43
Şekil 4.2.2. Çalışmada kullanılan SSR markırlarına ait görüntüler	43
Şekil 4.2.3. Çalışmada kullanılan SSR markırlarına ait görüntüler	44
Şekil 4.2.4. Ssr Markırlarına Bağlı Olarak Ahlat Genotipleri Dendogramı.....	45
Şekil 4.3.1. Sürgünlerde kallus oluşumu.....	46
Şekil 4.3.2. İklim kabininden genel bir görünüm	46-47
Şekil 4.3.3. Doku kültüründe ahlat genotiplerinden genel bir görünüm.....	55
Şekil 4.3.4. Kardeşlenen ahlat genotipleri	56
Şekil 4.3.5. iklimlendirmeye tabi tutulan genotipler.....	57
Şekil 5.1. Afyonkarahisar (üstte) ve Isparta’da (altta) büyük taçlı ahlat ağaçları.....	61
Şekil 5.2. Büyük taçlı ahlat genotipleri (Ankara-Beypazarı (üst), Çankırı (alt)).....	62
Şekil 5.3. Kayalık, taşlık ve olumsuz şartlarda yetişmiş ahlat genotipleri	64





1 BÖLÜM

GİRİŞ

Genel olarak ‘ahlat’ yaygın adıyla bilinen fakat bazı yörelerde farklı yöresel isimleri de olan *Pyrus elaeagnifolia* Pall. (Anonim, 2016), Güneydoğu Avrupa’dan başlayarak, Anadolu, Kafkasya ve Kırım’ a kadar olan bölgede geniş yayılım alanı bulmuş, kurak ve elverişsiz koşullara çok iyi uyum sağlamış yabani armut türleri içinde yer almaktadır. Ahlat bilimsel olarak yirmi iki *Pyrus* türünden olmakla beraber, yabani armut ve badem yapraklı ahlat taksonları sistematik olarak Gülgiller (*Rosaceae*) familyası, Pomoideae alt familyası içerisinde incelenmektedir (Davis 1972; Anşın ve Özkan 1993).

Ülkemizde geniş bir yayılım göstermesine ek olarak, özellikle Kütahya, Eskişehir, Bolu, İstanbul, Kastamonu, Sivas, Ankara, Antalya ve Kayseri bölgelerinde yaygın olarak bulunmakta, bunun dışındaki birçok bölgede de değişik düzeylerde ahlat populasyonlarına rastlanmaktadır. Ahlat ağaçları yuvarlak taçlı, orta boylu, sık dallı ve dikenli özelliğe sahiptir. Meyveleri küçük, topaç şeklinde ve çok kumlu yapıdadır. Ahlat kurak iklim şartlarına iyi uyum sağlamış, derin köklü, tamamen kserofit özellikte olup armut yetiştiriciliğinde kullanılabilecek bir anaç potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir (Özbek 1978; Özçağırın ve ark., 2005). Mevcut ahlat populasyonlarından Anadolu’ nun değişik bölgelerinde farklı amaçlarla kullanım görmektedir. Çeşit değiştirme aşuları ile üzerine değişik armut çeşitleri aşılanmakta, kurak koşullarda kırsal alanlarda ağaçlandırma amaçlı kullanılabilmekte, meyveleri taze olarak, turşu yapılarak ya da kurutulularak farklı şekillerde değerlendirilmektedir.

Doğada serbest tozlanma sonucu oluşan tohumlara sahip ahlata türünde, uzun yıllar boyunca tür içi ve türler arası doğal melezlemeler ile çok geniş bir çeşitliliğin oluştuğu kabul edilmekle birlikte bu türde genetik çeşitlilik ve populasyon yapısına ilişkin daha önce yapılmış geniş kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Genel olarak kireçli ve kurak alanlara uyum sağladığı gözlemlenen ahlatta bu zengin çeşitliliğin özellikle anaç ıslahı çalışmaları için biyotik ve abiyotik stres (kuraklık, kireç, tuz vb.) koşullarına dayanıklılık potansiyelini içerisinde barındırdığı öngörülmektedir. Son yıllarda özellikle odunsu özelliğe sahip bitkilerin, beklenen küresel iklim değişikliğine nasıl uyum sağlayacakları konusu önemli araştırma alanları arasında yer almaktadır. Sıcak ve kurak çevre koşullarında yetiştirme yeteneğine sahip olan yabani armut türlerinin bu noktada önemli bitkilerden biri konumundadır ve bunların çok değerli olduğu ancak arazilere ve orman alanlarına dağılmış halde bulundukları belirtilmektedir. Küresel iklim değişikliğinin giderek artması özellikle kurak koşullara adapte olmuş türlerin önemini her geçen gün daha da artırmaktadır. Bu noktada ülkemizde özellikle kurak koşullara çok iyi adapte olmuş olan ahlata çok önemli bir bitki konumundadır. Bu materyallerin genetik varyasyon düzeyinin ve bunların populasyon yapısının belirlenmesi ile muhtemel orijin gruplarının ortaya konulması ve bunlar arasında vejetatif olarak daha kolay çoğaltılabilen tiplerin belirlenmesi, bu genetik kaynakların yönetimi, kullanımı ve muhafazası açısından oldukça önemlidir. Ahlat populasyonlarının yoğun olarak bulunduğu yörelerden özellikle meyve iriliği başta olmak üzere belirli kriterlere göre seçilecek genotiplerin çoğaltılması, vejetatif çoğaltılma imkanlarının ortaya konulması, erozyon kontrolü ve kurak-yarı kurak sahaların ağaçlandırılma, rehabilitasyon ve kapama bahçeleri (özel ağaçlandırma) tesislerinde kullanım imkanlarının belirlenmesi, orman köylüleri ile kırsal alanlarda yaşayan yöre halkının ekonomik gelir elde etmesi, ülkemizde ilk olarak “ahlata genetik kaynakları koleksiyonu” oluşturulması, bu koleksiyonun muhafaza edilmesi ve yapılacak sonraki çalışmalara kaynak teşkil edecek bir veri tabanı oluşturulması gereklidir.

Ahlata kış soğuklarına (-30°C) ve yetiştiği ortamdan yüksek düzeyde Fe ve Zn alma yeteneği ile kloroza, diğer bir ifadeyle yüksek pH'ya çok dayanıklıdır ve bu nedenle toprak ve iklim özellikleri diğer birçok *Pyrus* türünün yetişmesi için uygun olmayan kireçli ve kurak koşullara çok iyi adaptasyon sağlamıştır. Armut çeşitlerine ait kalemler, *Pyrus elaeagrifolia* anacı ile kuraklığa tolerans kazanır ve topraktan yüksek seviyelerde azot, fosfor, demir, bor ve çinko alır (Lombard ve Westwood, 1987). Demir-Kloroz özellikle kireçli topraklara sahip bölgelerde armut için yaygın bir sorunlar arasındadır[8]. *Pyrus*



elaegnifolia kuraklık ve kloroza toleranslı anaç geliştirmek için kullanılan çok önemli gen kaynaklarından (Lombard ve Westwood, 1987).

Ahlat tipleri arasında meyve ağırlığı, abiyotik stres koşullarına dayanıklılık ve vejetatif çoğalma potansiyelleri konusunda farklılıklar olduğundan, bu özellikler yönünden öne çıkan ve daha kolay çoğaltılabilen tiplerin belirlenmesi, yapılacak olan kurak- yarı kurak bölge ağaçlandırma ve rehabilitasyon çalışmaları için çok önemli bir alternatiftir.

Uzun yıllar boyunca doğada kendiliğinden ve açık tozlanarak yetişmekte olan ahlatlar tohumla çoğalmaktadır. Bu nedenle yıllar boyunca farklı genetik yapıda birçok genotipin karışımı ile doğadaki ahlatlar içerisinde çok geniş bir genetik varyasyonun meydana gelmiş olması kuvvetle muhtemeldir. Bu konuda bilimsel çalışmanın şimdiye kadar yapılmamış olması nedeniyle, bu çeşitliliğin boyutları konusunda net bilgiler mevcut değildir. Doğada bulunan ahlatlar içerisinde gözlemlere dayanarak belirlenen farklı morfolojik özellikler (yaprak büyüklüğü ve rengindeki farklılıklar, ağaç taçı genişliğindeki farklılıklar, meyve iriliği ve olgunlaşma dönemlerindeki farklılıklar vb.) içerisinde genetik olarak da bir çeşitliliğin olduğunu göstermektedir. Ahlat, özellikle ülkemizin orta kesimlerinde doğada yoğun olarak bulunmakta olup ağaç sayısı konusunda net bilgiler mevcut değildir. Genel olarak bu ağaçların açık tozlanma sonucunda oluşmuş tohumlardan meydana gelmelerinden dolayı genetik olarak birbirinden farklı yapıda olduğu kabul edilebilir. Ancak özellikle kırsal kesimde arazi açmak için yapılan tahribatlar, odun olarak kullanımı nedeniyle ahlat populasyonu tehlike altındadır. Bunun yanında bazı yörelerde ahlatın, kültür armut çeşitleri ile aşılansarak değerlendirilmesi ile bir kısım ahlat populasyonu çalışılmaz duruma gelmekte doğal genetik yapımız daralmaktadır (Şekil 1.1).

Armut anaçlarında modern ıslah yaklaşımları olarak anacın taç şeklinin küçültülmesi, hastalıklara dayanıklılık, kış soğuklarına ve kurağa dayanıklılık gibi özellikler öne çıkmaktadır (Bell ve ark., 1996). Buradan hareketle, üzerine aşılı çeşitte orta büyüklükte taç oluşturan, kış soğuklarına ve kuraklığa oldukça dayanıklı olan ahlat; anaç ıslah çalışmaları için çok önemli bir materyaldir. Yapılan bir diğer çalışmada, ahlatın demir klorozuna dayanıklı ve ağaç tacını azaltıcı özellikte (Bonany ve ark., 2005) ve tuza dayanıklı anaç ıslahı çalışmaları (Matsumota ve ark., 2006) için uygun bir tür olduğu tespit edilmiştir. Bu özellikler hususunda uygun ahlat genotipleri doğrudan anaç olarak kullanılabileceği gibi ıslah yoluyla özellikleri daha da iyileştirilerek ve klonal olarak üretilerek standart bir ahlat anacı geliştirilmesi yapılacak çalışmalar sonucunda mümkün olabilir.



Şekil 1.1. Arazi açma ve değişik amaçlara yönelik olarak kesilmiş ve tahrip edilmiş ahlat ağaçları

Türkiye toplam olarak 12000 civarında takson barındırmakta olup bunların dört binden fazlası endemik olarak bilinmektedir. Ancak yine bu türlerin 1944 tanesi tehlike altındaki türler olup bunların sayısı her geçen gün giderek artış göstermektedir. Bitki genetik kaynaklarının korunmasına yönelik olarak geliştirilen eylem planında özellikle doğal olarak yetişen bitkiler için; 1) bunların toplanarak *ex-situ* muhafazası, 2) karakterizasyon çalışmaları ve ekonomik olarak değerlendirme aşamaları çok önemli iki aşamadır (Cooper ve ark., 1996). Ahlatla ilgili olarak ülkemizin önemli bir bitkisi olan ve korunması gereken bu türün *ex-situ* muhafazaya alınması ve moleküler karakterizasyonlarının yapılması, ayrıca meyve özelliklerinin incelenmesi yapılan bu çalışma ile kısmen de olsa katkı sağlayacaktır.

Moleküler karakterizasyonun uygulanmasında kullanılan bitki biyoteknolojisinde görülen yeni ve hızlı gelişmeler, bitki gen kaynaklarına ait yapılan çalışmalarda, özellikle genetik çeşitliliğin korunması, üretimi, karakterizasyonu, ıslah gibi amaçlara katkılar



sağlamıştır. Bu gelişmeler sayesinde meyve türlerinin karakterizasyonu genom analizleri ile yapılabilmekte, homozigotinin çok kısa sürede sağlanması, melezlerin embriyo kültürü ile yaşatılması, kalıtsal yapıları gen aktarımı, somaklonal varyasyon ve somatik hibridizasyon gibi *in vitro* teknikler ile taksonomik bir sınırlama olmaksızın hızlı ve etkili bir şekilde değiştirilebilmekte, hızlı, yoğun ve virüslerden arı çoğaltım, gen kaynaklarının korunması ve birçok etkene karşı genotiplerin reaksiyonlarının kısa sürede test edilmesine imkan sağlamaktadır. (Litz ve Gray, 1992; Aygün ve Dumanoglu, 2006).

Bu biyoteknolojik yöntemlerin birçoğunun farklı bitki tiplerinde uygulanabilmesinin ilk şartı *in vitro* koşullarda organogenesis için uygun protokollerin geliştirilmesidir. Bitki parçalarından doğrudan ya da kallus gelişiminden sonra dolaylı olarak meydana gelebilen *in vitro* organogenesis; kültür tipi, besin ortamlarının bileşimi ve inkübasyon koşullarının değiştirilmesi ile hücre ve dokuların yeni sürgün ve kök taslağı meydana getirmesi yönünde uyarılması olarak tanımlanabilir.

Ahlatın *in vitro* çoğaltımı mevcut araştırmalarda uygulanmıştır. Ahlat tipleri arasında *in vitro* çoğalma potansiyelleri bakımından farklılıklar olabileceğinden, daha kolay çoğaltılabilen tiplerin ortaya konulması, yapılacak olan kurak- yarı kurak bölge ağaçlandırma ve rehabilitasyon çalışmaları için çok önemlidir.

Öte yandan genetik kaynakların karakterizasyonunda klasik morfolojik karakterlerden yararlanılmakla birlikte (Ford-Loyd, 2001), günümüzde bu amaçla moleküler teknikler de yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Genetik kaynakların değerlendirilmesinde ilk olarak yapılması gereken işlemlerin başında gelen morfolojik karakterizasyon, hem seleksiyon çalışmalarında hem de bu çalışmalar sonucunda oluşturulan koleksiyonlar içerisinde yer alan genotiplerin doğru şekilde tanımlanmasını sağlama yönünden son derece önemlidir (Escribano ve Lazaro, 2009).

Bu çalışmada seleksiyon yoluyla elde edilen farklı ahlat genotiplerinden morfolojik özellikler yönünden öne çıkanlarda mikroçoğaltım etkinlikleri; sürgün oluşturma potansiyelleri incelenerek farklılıklar tespit edilmiş, kolay çoğaltılabilen ümitvar tipler belirlenmiştir. Genotipler arası *in vitro* çoğaltım potansiyellerinde ciddi bir varyasyon saptanmış, bu varyasyonun kalıtsal özelliklerle bağlantısı ABI moleküler markör yöntemi kullanılarak açığa çıkarılmıştır.

2 BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Ahlatta ve Diğer Yumuşak Çekirdeklilerde *in vitro* Çoğaltım Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Ahlatlar uzun yıllar boyunca doğada kendiliğinden, açık tozlanarak yetişmekte ve tohumla çoğalmaktadır. Bu sebeple yıllar boyunca farklı genetik yapıda birçok genotipin karışımından dolayı doğadaki ahlatlar da çok geniş bir genetik varyasyonun meydana gelmiş olması muhtemeldir. Ahlatlarda tohumla çoğaltma üzerine az sayıda çalışmanın yapıldığı bildirilmekte (Gültekin ve ark. 2006), vejetatif çoğaltma üzerine yapılan çalışmaların ise daha sınırlı olduğu belirlenmiştir (Aygün ve Dumanoglu 2015).

Yeo ve Reed (1995), *Pyrus* anacında mikroçoğaltım etkinliğini incelediğinde eksplantlarını açık alanda yetişen *Pyrus calleryana* Dcne 'Oregon Pear Rootstock (OPR) 157', *P. betulifolia* Bunge 'OPR 260', and *P. communis* L. 'Old Home' x 'Farmingdale 230' ('OH x F 230') ın güçlü dallarından seçmiştir. 'OPR 260' and 'OH x F 230' sürgünleri IBA ile desteklenmiş Cheng ortamında, NAA'a göre daha iyi sonuç vermiştir. 0.5 μM ' dan büyük NAA ve IBA konsantrasyonları sürgün çoğaltımını bloke etmiştir. 'OPR 260' ve 'OH x F 230' için en başarılı mikroçoğaltım ortamı 8 μM BA ve 0.5 μM IBA ile desteklenmiş Cheng ortamı olarak tespit edilmiştir. 'OPR 157' in en iyi sürgün çoğaltımı 8 μM BA ile sağlanmış ve 0.5 μM dan düşük NAA' dan ve oksin içermeyen ortamdan IBA' ya göre daha iyi sonuç elde edilmiştir. 'OH x F 230' IBA ve NAA etkisiyle kolayca köklenmiştir (>80%). 'OPR 260' için en iyi köklenme oranı (% 42.9), 10 μM IBA içeren besi ortamının karanlıkta 1 hafta bekletilmesiyle, 'OPR 157' için en iyi köklenme oranı (23.9%) 10 μM NAA ya 15 sn daldırma ile sağlanarak iklimlendirme için köklenen bitkiler serada 4 hafta süre ile tutulmuştur (Yeo ve Red, 1995).



Shibli ve ark. (1997) tarafından yapılan çalışmada başarılı sürgün oluşumunun 1.5-2.0 mg l-¹ benzyl adenine ile desteklenmiş MS besi ortamında sağlandığını, benzyl adenine (2.0 mg l-¹) ve zeatin (1.5-2.0 mg l-¹ in kallus oluşumunu artırdığı belirlenmiştir. Indole butyric acid, indole acetic acid ve naphthalene acetic acid in vitro köklenmeyi uyarak maximum %72 köklenme 3.0 mg l-¹ indole acetic acid ile tespit edilmiştir. Aktif kömürün ve polyvinylpyrrolidoneun *in vitro* köklenmeyi etkilemediğini gözlemlemiştir. Cam veya k kapaklı serada aralıklı sis kullanılarak köklenen sürgünlerde aklimizasyon işleminde hayatta kalma başarısı sağlanmıştır (Shibli ve ark., 1997).

Dumanoglu ve ark., (1999), iki ahlat tipinde yeşil çeliklerde IBA ve Putrescine' nin köklenme ve sürme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Köklenme oranlarının ortalamaları Ahlat 1 tipinde % 11,4, Ahlat 2 tipinde ise % 43,8 olarak bulunmuştur.

Gültekin ve ark., (2006) ahlat (*Pyrus elaeagrifolia* Pall.), yabani armut (*P. communis* L.) ve badem yapraklı ahlat (*P. amygdaliformis* Vill.)'ta bazı tohum özellikleri ve farklı soğuk ıslak katlama işlem kombinasyonları ile değişik ekim zamanlarının bu türlerin tohumlarının çimlenme yüzdelere etkilerini araştırmışlardır. Her 3 türde de 9 (2 Kasım tarihinde doğrudan ekim), 11 (2 Ocak 2005 tarihinde doğrudan ekim) ve 2 (6-7°C sıcaklıkta 2 ay soğuk-katlama 2 Mart tarihinde ekim) nolu ön işlemler çimlenme yüzdesine en fazla pozitif etki eden işlemler olmuştur. Buna karşılık, her 3 türde de tohumun çimlenme yüzdesine en az katkı sağlayan ön işlemler 15 (2 Mayıs 2005 tarihinde doğrudan ekim) ve 14 (2 Nisan 2005 tarihinde doğrudan ekim) nolu ön işlemlerdir(Gültekin ve ark., 2005).

Koltarla (2007) yapmış olduğu bir çalışmada *in vitro* koşullarda çimlendirilmiş ahlat çöğürü üzerine *in vitro* mikro aşılama yöntemi ile yarı bodur 'OHF-333' klon anacı aşılanmış ve farklı uygulamaların aşı başarısına ve materyallerin dış ortama alıştırılması üzerine olan etkilerini araştırmıştır. Aşı kombinasyonu *in vitro* mikro aşılama tekniği ile başarılı bir şekilde elde edilmiş ve aşıli bitkilerin dış koşullara alıştırılması konusunda daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğunu rapor etmiştir. Bu çalışma ahlat ile 'OHF-333' anacının aşı uyuşması hakkında olumlu bilgiler sunmaktadır.

Aygün ve Dumanoglu (2015), ahlat (*P. elaeagrifolia*) bitkisinde *in vitro* sürgün çoğalmasını ve *in vitro* ve *ex vitro* köklenme oluşumunu incelemişler ve temel MS ortamını yalnızca benzyladenine (BA) nın farklı konsantrasyonları veya oksinlerle birlikte kombinasyonu ile desteklemişlerdir.

İlk kültürde sürgün çoğalması yüzdesi 9.0 μM BA ve 0.5 μM indole-3-acetic acid ile desteklenmiş MS ortamında %80' in üzerinde olarak belirlenmiştir. Alt kültürlerde en yüksek oranda sürgün çoğalması 4.5 ve 9.0 μM BA içeren MS ortamında görülmüştür. *In vitro* köklenme denemelerinde yüksek performans 5 μM indole-3-butyric acid (IBA) içeren besi ortamından sağlanmıştır. *Ex vitro* köklenme denemelerinde ise 10 μM IBA'nın çabuk daldırma yöntemi ile uygulanmasından önemli ölçüde etkilenmiştir (Aygün ve Dumanoglu 2015).

Yiğit (2017), farklı ahlat genotiplerinde mikroçoğaltım etkinliğini tespit etmek amacıyla yürütmüş olduğu çalışmada, genotipler 9.0 μM BA (benzyladenine), 0.5 μM IAA (indole-3-acetic acid), 0.3 μM giberilic asit (GA3) ile desteklemiş, MS besin ortamında kültüre almıştır. Bulgulara göre 40 genotipten 20 tanesi %3.3 ile %16.6 arasında değişen oranlarda *in vitro* sürgün oluşumu göstermiştir.

2.2. Ahlat ve Diğer Yumuşak Çekirdeklielerde Yapılmış Moleküler Çalışmalar

Pyrus spp. dünyada geniş yayılım alanı gösteren türler arasındadır. *Pyrus* cinsi taksonomik olarak Rosaceae familyasının Pomoideae alt familyasında incelenmektedir. *Pyrus* spp. $x=17$ kromozom sayısına sahip olduğu ve 20 türünün olduğu tespit edilmiştir (Chalice ve Westwood, (1973)). Bu kadar türe rağmen, *Pyrus* türleri arasında kültüre alınmış, ticari olarak üretimi yapılan çok az tür bulunmaktadır. Ülkemiz bünyesinde bulunan bitki çeşitliliği ve genetik kaynaklar bakımından dünyadaki önemli merkezlerdendir. yumuşak çekirdekli meyveler içerisinde ikinci önemli olan *Pyrus*'lar hemen hemen tüm bölgelerde de yetiştirilmektedir.

Pyrus cinsinde DNA temelli moleküler markörler genetik akrabalığın ilişkileri ve çeşit farklılığının ortaya konulmasında etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Bao ve ark 2008).

Monte Corvo ve ark. (2000), tarafından Portekizde 8 yerel armut çeşidinin de bulunduğu toplam 25 armut çeşidinde AFLP ve RAPD markörleriyle yaptıkları çalışmada çeşitlerin genetik akrabalıklarını incelemişlerdir. (Şekil 2.1).

Forte ve ark. (2002), *matK* geni markırlarına göre Orta Asya yabani elması olan *Malus sieversii*'nin kültürü yapılan elmalara en yakın tür olduğunu tespit etmişlerdir.



Ashok ve ark. (2006), Kuzey Amerika da 28 ticari armut çeşidinin SSR markörleri ile akrabalıklarını araştırmışlar ve çalışmada 7 armut çeşidinin diğerlerinden farklı olduğunu tespit etmişlerdir [63].

Erdoğan ve ark., (2007), tarafından yapılan çalışmada Ankara ve çevresinde daha önceden seçilmiş 39 ‘Ankara’ armudu klonu arasındaki genetik farklılıkların RAPD tekniği ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır. DNA miktarı 18.4 ng/μl ile 103.9 ng/μl arasında değişkenlik göstermiş ve 25 adet primerden (Operon) 2 tanesinde amplifikasyon zayıf olmuş diğerleri ise açıkça okunabilen ve tekrarlanabilen bantlar ortaya koymuştur. Ancak bu bantlar da polimorfizm meydana gelmediğinden ‘Ankara’ armudu klonlarının genetik ayrımı yapılamamıştır .

Malus sieversii’ nin farklı bölgelerden toplanmış genotiplerinde genetik ilişki çalışmaları yapılmış ve çeşit veya genotiplerin coğrafik orijinleri ile genetik yapıları arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Buna göre, aynı coğrafik bölgede ortaya çıkan genotipler diğer bölgelerin genotiplere göre birbirlerine genetik olarak daha yakın bulunmuştur (Zang ve ark., 2007).

Richards ve ark. (2009), tarafından Kazakistan’ ın sekiz farklı bölgesinden toplanmış olan toplam 949 adet *Malus sieversii* genotipinde genetik çeşitliliği araştırılmıştır. Genetik çeşitlilik bakımından bölgeler arasında önemli farklılıklar belirlenmiş ve güneybatı bölgelerden alınan örneklerin kuzey bölgelerden alınanlara göre daha fazla varyasyon gösterdiği ortaya konulmuştur. Bunun yanında her bölge içerisinde de önemli düzeyde varyasyon meydana gelmiştir. Araştırmacılar aynı popülasyonda yapılan diğer çalışmalarda elma hastalıklarına karşı tepkilerin de belirlendiğini ve toplama yapılan bölgeler arasında bu bakımdan da varyasyon olduğunu rapor etmişlerdir.

Volk ve ark., (2009), Kırgızistan orijinli ve *Malus kirghisorum* olarak bilinen türe ait 49 elma genotipi ile Kazakistan orijinli *M. sieversii* elmalarını genetik yapı olarak karşılaştırmışlar ve çalışmada Kırgızistan’ daki *M. kirghisorum* türünün bazı farklı allleri taşıdığı ancak *M. sieversii* ile ilişkili bir tür olabileceği tespit edilmiştir.

Forsline ve ark., (2010), tarafından Kazakistan’ da 1989, 1993, 1995 ve 1996 yıllarında elma genetik kaynaklarını toplama çalışmaları yapılmıştır. Çalışmada çoğunlukla tohum örnekleri alınmış ve aynı miktarda aşı gözü şeklinde de toplama yapılmıştır. Toplam 894 ağaçtan 12 bin civarında tohum alınmış ve bu örnekler ABD’ ye götürülmüştür.

Kazakistan’ dan toplanan elma genetik kaynakları üzerinde ABD’ de farklı araştırma kuruluşlarında, soğuğa dayanıklılık ve başta ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* Burrill) ve karaleke (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.) olmak üzere birçok hastalığa karşı olan tepkileri belirlenmiş ve bu konularda dayanıklı çeşit eldesi için pozitif sonuçlar bulunmuştur.

Gasi ve ark. (2010), Bosna Hersek ve yabancı orijinli elma çeşitlerinde morfolojik ve moleküler markırlarla akrabalık ilişkilerini araştırmışlar ve sonuçta yerli ve yabancı materyallerin belirgin olarak birbirinden farklı olduklarını tespit etmişlerdir.

Ülkemizde bulunan elma genetik kaynaklarında varyasyon düzeyini belirlemek için peroksidaz markırları ile çalışmalar ortaya konulmuştur [Gülsen ve Mutlu, 2005]. Bu çalışmada genetik kaynaklar içerisinde kullanılan markırlar yönünden yüksek düzeyde varyasyonun olduğu tespit belirlenmiştir. Orijin bölgeleri ülkemizin birbirine yakın coğrafik alanları olan ve morfolojik özellikler yönünden benzerlik gösteren genotipler genel olarak birbirine yakın olarak yer almışlardır. Bu durum bu genotiplerin muhtemelen aynı genetik atadan gelebileceğini göstermektedir.

Bayazıt ve ark., (2011), tarafından yapılan çalışmada Türkiye’ nin farklı bölgelerinden seçilen 13 ayva çeşidinde RAPD tekniğini kullanarak genetik haritalama yapılmıştır. Kullandıkları 30 primerden 14 tanesi hiç polimorfizm göstermemiş ve polimorfizm gösteren 16 primer ile çalışmalarını sürdürmüştür. Genotipler arasında 0.483 ile 0.925 arasında değişen benzerlik bulunmuştur.

Uzun ve ark., (2016), Türkiye’ deki elma gen kaynakları arasındaki ilişkiyi belirlemek için yaptıkları ISSR taramasında 14 primerle çalışmış, toplamda 111 band elde etmiş ve bunlardan 76 tanesini polimorfik olarak tespit edilmiştir.

Yiğit (2017), farklı ahlal genotiplerinde genetik ilişkilerini tespit etmek amacıyla yürütmüş olduğu çalışmada, moleküler analizler sonucu elde edilen dendograma göre genotipler arasındaki genetik benzerlik 0.75-0.98 arasında değişmiştir. En uzak genotip 0.75 benzerlik oranıyla AN64 nolu genotip olurken, birbirine en yakın genotipler N40 ve N41 nolu genotipler olmuştur.



2.3. Ahlat ve Diğer Yumuşak Çekirdeklielerde Yapılmış Pomolojik Çalışmalar

Edizer ve Bekar (2006), tarafından Tokat merkez ilçede yetiştirilen 10 yerli elma çeşidinin fenolojik ve pomolojik özelliklerini belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışma sonuçlarına göre; çeşitlerde tam çiçeklenme 9-25 Nisan tarihleri arasında, meyvelerin olgunlaşması 26 Temmuz-25 Eylül tarihleri arasındadır. Çeşitlerin ortalama meyve ağırlıkları 48 g (Yer elması)-311 g (Alyanak); suda çözünebilir kuru madde miktarı %9 (Arapkızı)-%16 (Gelin elma) ve titre edilebilir asitlik ise 4,02 g/l (Yer Elması)-10.72 g/l (Tavar) arasında değişkenlik göstermiştir.

Yukarı Çoruh Vadisi'nde yetiştirilen elma ve armut çeşitlerinin bazı pomolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmada, bazı elma çeşitleri (Demir, Karasakı, Büyük, Hışhış, Kış, Havyalı, Gelin, Amasya, Gümüşhane, Baba ve Misket) ile bazı armut çeşitleri (Ankara, Van, Hacıhamza, Limon ve Bozdoğan) üzerinde fenolojik ve pomolojik araştırmalar yürütülmüştür. Elma çeşitlerinde meyve ağırlıkları 92.35 gr (Demir) ile 238.50 gr (Hışhış), meyve eni 60.21 mm (Havyalı) ile 87.61 mm (Hışhış), meyve boyu 51.84 mm (Demir) ile 77.10 mm (Hışhış), meyve eti sertliği 3.70 kg/cm² (8.14 lb) (Hışhış) ile 5.25 kg/cm² (11.55 lb) (Baba), SÇKM %9.10 (Büyük) ile %13.80 (Kış, Karasakı ve Baba elmaları) ve titre edilebilir asit miktarı da %0.26 (Hışhış) ile %0.73 (Büyük Elma) arasında değişmiştir (Karlıdağ ve Eşitken, 2006)

Acar, (2007) tarafından Ünye ve çevresinde yetişen mahalli elma çeşitlerinde meyve ağırlıkları 59.79-273.41 g, meyve boyu 43.85-74.61 mm, meyve eni 53.4-86.6 mm, SÇKM oranı %9.5-13.5, asitlik değeri %1.5-11.88 ve pH değerinin ise 3.09-4.17 olarak belirlememiştir.

Ahlatın kendine hasas tadı sebebiyle sofralık meyve olarak tüketilir ve 'ahlat' lar, pekmez (Cansaran ve ark., 2007) ve turşu (Yerlitürk ve ark., 2008) yapımında kullanılmaktadır. Özkan, 2005'e göre meyvelerde, tanen, malik asit, şeker ve vitaminler bulunmaktadır. Astringent, kabızlığı giderici, hazmı kolaylaştırıcı etkileri de vardır. (Birinci, 2008).

Özlük (2015), Merzifon yöresinde 44 ahlat genotipinde yapmış olduğu seleksiyon çalışmasında morfolojik, fenolojik, pomolojik özellikleri incelemiştir. İncelenen bu genotiplerde ortalama meyve ağırlıkları 8.35-25.77 g, SÇKM % 13.50-23.50, meyve eti sertliği 4.15-10.00 kg, pH değeri % 2.73-3.38, toplam kuru madde içeriği % 22.32-29.84 ve asitlik değerleri % 0.620-1.811 arasında değişkenlik göstermiştir.

Yılmaz ve ark., (2015), yaptıkları çalışmada ‘‘Kayseri’ de doğal olarak yetişen ahlat (*Pyrus elaeagnifolia* Pall.)’in bazı morfolojik ve meyve özellikleri incelemiştir. Çalışmada 43 farklı ahlat genotipinde meyve ağırlığının 5,84 g ile 27,09 g arasında, meyve uzunluğunun 17,26 mm ile 36,14 mm; meyve genişliğinin ise 20,82 mm ile 35,31mm arasında, meyve sap uzunluğu değerleri 6.89 mm ile 21.85 mm değişiklik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Keçeci (2017), Hakkari yöresinde üstün özelliklere sahip ahlat genotiplerinin tespit edilmesi amacıyla yapmış olduğu çalışmada 100 adet genotip belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre SÇKM ortalama %13.94, pH ortalama % 4.37, titre edilebilir asit miktarı (TA) ortalama % 3.1 şeklinde belirlenmiş ve ayrıca meyve ağırlığı en yüksek Gürbüz köyündeki genotipte 55 gr, meyve boyu Taşaltı Köyündeki genotipte 44.3mm. olarak rapor edilmiştir.



BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu araştırma, Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi Araştırma Birimi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü ve Moleküler Biyoloji Laboratuvarı ve Genom ve Kök Hücre Merkezi Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Bu çalışmanın bitkisel materyalini ülkemizin farklı illerinden öncelikle meyve özellikleri, ağaç özellikleri ve ekstrem şartlarda yetiştirme durumlarına göre toplanan ahlat genotipleri oluşturmaktadır. Çalışma yapılan ve örnek alınan farklı özelliklere sahip genotiplere ait bazı resimler aşağıdaki şekillerde verilmiştir.



Şekil 3.1.1. Farklı büyüme formları gösteren ahlat ağaçları



Şekil 3.1.2. Eskişehir’de geniş bir arazide tek birey şeklinde gelişmiş ahlat ağacı



Şekil 3.1.3. Ankara-Beypazarı’nda büyük popülasyonlar şeklindeki ahlat ağaçları



Şekil 3.1.4. Çankırı’da yaşlı ve kalın gövdeli bir ahlat ağacı (üstte) ve Kayseri’de ekstrem koşullarda gelişmiş ahlat ağaçları (altta)

Çalışmada toplanan genotiplerin illere göre dağılımı aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 3.1.1. Türkiye’ nin farklı bölgelerinden toplanan ahlat genotipleri ve toplandığı iller

Genotip No	Alındığı İl	Genotip No	Alındığı İl	Genotip No	Alındığı İl
2	Kayseri	61	Ankara	105	Kastamonu
3	Kayseri	62	Ankara	106	Kastamonu
4	Kayseri	63	Ankara	107	Kastamonu
5	Kayseri	64	Ankara	108	Kastamonu
6	Kayseri	65	Ankara	113	Çankırı
7	Kayseri	67	Ankara	114	Çankırı
8	Kayseri	68	Eskişehir		
9	Kayseri	69	Eskişehir		
10	Kayseri	70	Eskişehir		
11	Kayseri	71	Eskişehir		
12	Kayseri	72	Eskişehir		
13	Kayseri	73	Afyonkarahisar		
14	Kayseri	74	Afyonkarahisar		
16	Kayseri	75	Afyonkarahisar		
17	Kayseri	76	Afyonkarahisar		
18	Kayseri	77	Afyonkarahisar		
19	Kayseri	78	Afyonkarahisar		
20	Kayseri	79	Afyonkarahisar		
21	Kayseri	81	Afyonkarahisar		
22	Kayseri	82	Afyonkarahisar		
23	Kayseri	83	Denizli		
24	Kayseri	84	Denizli		
26	Kayseri	85	Denizli		
27	Kayseri	86	Uşak		
28	Kayseri	87	Uşak		
29	Kayseri	88	Isparta		
31	Adana	89	Isparta		
32	Adana	90	Konya		
33	Adana	91	Konya		
34	Adana	92	Konya		
35	Adana	93	Konya		
36	Adana	94	Konya		
37	Nevşehir	95	Konya		
38	Nevşehir	96	Konya		
39	Nevşehir	97	Konya		
40	Nevşehir	98	Konya		
41	Nevşehir	99	Konya		
42	Nevşehir	100	Konya		
43	Nevşehir	E1	Isparta		
44	Nevşehir	E2	Isparta		
45	Nevşehir	E3	Isparta		
48	Kayseri	E4	Isparta		
52	K. Maraş	E5	Isparta		
53	K. Maraş	E6	Isparta		
54	K. Maraş	E7	Isparta		
55	K. Maraş	E13	Isparta		
57	K. Maraş	101	Kastamonu		
58	Ankara	102	Kastamonu		
59	Ankara	103	Kastamonu		
60	Ankara	104	Kastamonu		



3.2. Metot

3.2.1. Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları

Araştırmada kullanılan ahlat genotiplerine ait DNA izolasyonu için bitkilerin hastalık ve zararlılardan arı, yeni açmakta olan genç sürgün yapraklar kullanılmış olup, bitkilerden alınan yapraklar laboratuvara getirildikten sonra izolasyon işlemi modifiye edilmiş CTAB protokolüne göre yapılmıştır. Genotiplerin DNA kalite ve miktar ölçümleri %1' lik agaroz jelde yürütülerek yapılmıştır. DNA örnekleri analizler yapılincaya kadar -20 °C' de muhafaza edilmiştir.

DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Çizelge 3.1.1.1 DNA Ekstraksiyon Çözeltisi

Kimyasal	Oran
CTAB	% 2
EDTA	20Mm
Tris-Cl	100Mm
NaCl	1.4M
Mercaptoethanol	%0.2

DNA izolasyon protokolü:

- 62°C' de su banyosunu önceden hazırlanır.
- Taze yapraklar (0.2 gr) 0.6 ml ekstraksiyon çözeltisi (Çizelge 3.2) içerisinde ezilmiştir.
- 62 °C' de 30 - 60 dakika boyunca inkubasyon yapılır, örnekler arası ters-düz edilir.
- 300 ul chloroform: octanol (24 : 1) çözeltisi ilave edilir ve yavaşça ters-düz yapılarak karıştırılır (100 defa).
- 14000 rpm.' de 5 dk santrifüj edilir.
- Sulu kısmı pipetle çekilerek başka steril 1,5 ml' lik bir tüpe aktarılır.
- 500 ul chloroform: octanol (24:1) çözeltisi ilave edilir ve yavaşça ters-düz yapılarak karıştırılır (100 defa).
- 14000 rpm.' de 5 dk santrifüj edilir.
- 2. kez 500 ul chloroform: octanol (24:1) çözeltisi ilave edilir ve yavaşça ters-düz yapılarak karıştırılır (100 defa).

- 14000 rpm.' de 5 dk santrifüj edilir.
- Üst faz pipetle çekilerek başka steril 1,5 ml' lik bir tüpe aktarılır.
- Üzerine toplam hacmin 2/3 ü kadar (550 ul) soğuk isopropanol ilave edilir (beyaz çökelek halinde DNA + diğer organik bileşikler gözle görülebilir). 30 dk veya daha fazla süre ile -20°C 'de bekletilir.
- 14000 devirde 2 dk santrifüj edilir ve sıvı kısmı uzaklaştırılır.
- Elde edilen pelletin üzerine 500 ul yıkama çözeltisi (% 76 etanol ve 10 mM NH_4Ac (amonyum asetat)) ilave edilir ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.
- 14000 rpm' de 3 dk santrifüj yapılır ve sıvı kısım uzaklaştırılır.
- Beyaz çökelek tamamen kuruyuncaya kadar çeker ocakta bekletilir.
- Beyaz çökelti üzerine 300 ul TE (10 mM Tris, 0,1 mM EDTA, pH 7,4) ilave edilir.
- Çökelti tamamen çözünene kadar oda sıcaklığında gece boyunca veya 65°C ' de 60 dk boyunca bekletilir.
- 10 ug/ml son konsantrasyon olacak şekilde RNase ilave edilir ve 37°C ' de 30 dk inkube edilir.
- 200 ul TE ve 15 ul amonyum asetat (10 mM, pH 7,7) ilave edilir. Son olarak çözelti üzerine 2 hacim kadar soğuk etanol ilave edildikten sonra 20 dk süre ile veya gece boyunca -20°C ' de bekletilir.
- 14000 rpm.' de 3 dk santrifüj yapılır ve sulu kısmı dikkatlice döktükten sonra oda koşullarında çökelti iyice kurutulur.
- Uygun miktarda TE (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA, pH 7.4) ilave edilir (100-200ul)



Şekil 3.2.1.1. DNA izolasyonu



PCR optimizasyonu;

Çalışmada farklı SSR primerleri kullanılmış olup, bu primerlere ön test yapılmış ve 7 adet primer bant vermiştir. Çalışmada bant veren primerler AT565, AT550, AT532, AT565 kırmızı, FAM 1,2,3 şeklindedir.



Şekil 3.2.1.2. PCR cihazı ve görüntüleme ünitesi

Çizelge 3.2.1.2 te her primer için optimize edilmiş ddH₂O, Buffer, MgCl₂, dNTP, primer, DNA Taq Polimeraz ve DNA miktarları ve Çizelge 3.4’ te döngü programları verilmiştir.

Çizelge 3.2.1.2 PCR Mix Konsantrasyonları

	DNA	Buffer	MgCl ₂	dNTP	Primer	Taq	Su	Tp.Hacim
Kimyasal içerik	20ng/μl	10x μl	50mM	100mM		0.5U	μL	μL
Miktar	2 μl	1,5 μl	1,5 μl	0,33	1,5 μl	0,2 μl	7,97 μl	15 μl

PCR sonuçları Genom ve Kök Hücre Merkezi’imizde bulunan ABI 3500 kapiler elektroforez sisteminde koşturulmak suretiyle allel uzunlukları belirlenmiştir. Bu polimorfik primerler florasan işaretli [6-FAM, VIC, NED, PED (Applied Biosystems)] olarak işaretlenmiştir. Primerlerle işaretleme ve fragman analizi Schuelke (2000)’in raporuna göre yapılmıştır.

Polimorfik primerlerle araştırmanın ekonomik olarak yürütülmesi için 4 civarında işaretlenmiş primer ürünü literatürde belirtildiği üzere birlikte analiz edilmiştir. Öncelikle

çeşit ve tipler işaretli primerlerle PCR’da çoğaltılmıştır. PCR ürünleri, işaretlenmiş primerlerden 4 tanesi işaret rengine (6-FAM, VIC, NED, PED) ve uzunluğuna göre (100-200 arası SSR’lar; 200-300 arası SSR’lar; 300-400 arası SSR’lar) havuzlanmıştır. 4 primer ürününden alınan 1 µl PCR ürünü toplam 80 µl’ye gradient su ile tamamlanmak suretiyle mültepleks yapıllara ve ABI 3500 sistemine yüklenmiştir.



Şekil 3.2.1.3. Moleküler çalışmaların yapıldığı laboratuvar



Şekil 3.2.1.4. Moleküler çalışmaların yapıldığı ABI cihazı



Yükleme özetle şu şekilde yapılmıştır:

Yükleme tamponu ve formamide 5:1 oranında karıştırılıp, bu karışımdan 1 µl, 0.3 µl liz 500 standart ve 1 µl PCR seyreltiği ile karıştırılır. Bu karışım önce 95 oC de 5 dk bekletilip ardından derhal 5 dk buzda bekletilerek tek sarmallı hale çevrilmiştir. Tek sarmallı fragmantları içeren ABI 3500 cihazına enjekte edilecektir. PCR fragmantlarının analizi ABI şirketi tarafından sağlanan GeneScan Analiz programı kullanılarak yapılmıştır. Program allel uzunluklarını excel dosyası olarak ve fenogram şeklinde araştırmacıya sunmaktadır.

3.2.2. Doku kültürü analizleri

Besin ortamının hazırlanması;

Çalışmada Aygün ve Dumanoglu (2015)' in geliştirdikleri protokol uygulanmıştır. 0.3 µM giberellik asit (GA₃) ile desteklenmiş MS (Murashige&Skoog Medium - Murashige, 1962) besi ortamı kullanılmış olup; bu besi ortamı 30 g/l sukroz, 7.0 g/l agar ve benzyladenine (BA; 9.0 µM), indole-3-aceticacid (IAA; 0.5 µM) ile desteklenmiştir. Besin ortamında kültüre alınan eksplantların bu işlemde kısa süre sonra ortama salgıladıkları fenolik maddelerin absorpsiyonu amacıyla 2 g/l toz aktif karbon ilavesi yapılmıştır. Besin ortamlarının pH'sı agar eklenmeden ve otoklavlanmadan önce 5.7' ye ayarlanmış ve sonrasında otoklavda 121 °C' de 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir (Şekil 3.2.2.1).



Şekil 3.2.2.1. Besi ortamlarının hazırlanması

Eksplantların yüzey sterilizasyonu;

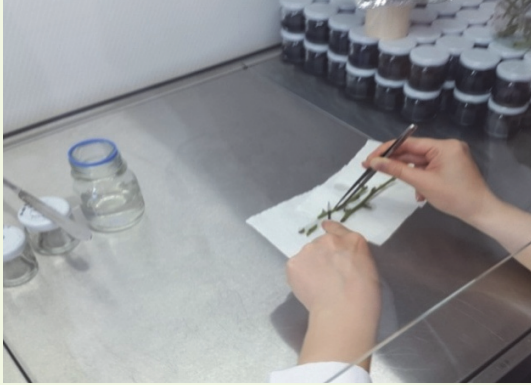
Kültüre alınan genotiplerde sürgünler o yılı sürmüş ve belli bir pişkinliğe ulaşmış olanlardan alınmıştır. Laboratuvar ortamına getirilen sürgünler yapraklarından ayrıldıktan sonra yaklaşık 3' er göz içerecek şekilde kesilmiş, öncelikle akan çeşme suyu altında 5 dk yıkanmıştır, ardından %0.1 fungusit içeren sulu çözeltide 10 dk süre ile bekletildikten sonra steril kabine alınmış, %70 etil alkole 1 dk muamele edilip steril saf sudan geçirilmiş, ardından %10 ticari sodyum hipoklorit çözeltisine % 0.1 Tween 20 ilave edilmiş, eksplantlar bu çözelti ile 18 dk çalkalanmış ve steril distile su ile 3 kez durulanmıştır (Şekil 3.2.2.2).



Şekil 3.2.2.2. Eksplantların yüzey sterilizasyonu



Yüzey sterilizasyonunun ardından ≈ 1 cm uzunluğunda 1' er göz içerecek şekilde yeniden kesilen eksplantlar BA, GA₃ ve IAA ile desteklenmiş 10 ml MS besin ortamı içeren kültür kaplarına dikine kültürlenmiştir (Şekil 3.2.2.3).

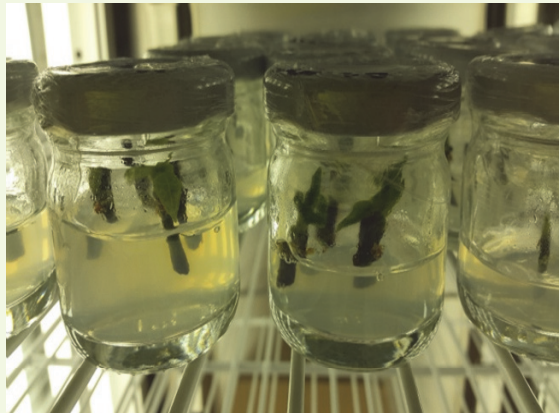
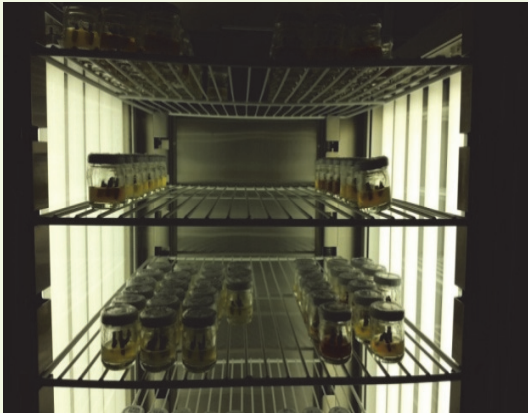


Şekil 3.2.2.3. Eksplantların kültür kaplarına dikilmesi

Her bir genotipte 1 kültür kabında 3' er eksplant olacak şekilde 30 eksplant tekerrürlü olarak kültüre alınmıştır. İlk kültürden 4 hafta sonra gözlerden süren sürgün uzunluğu 1 cm' yi geçtiğinde eksplantlar 9.0 μ M BA ve 0.3 μ M GA₃ ile desteklenen alt kültür MS ortamına aktarılmıştır. Eksplantların sürgün geliştirme oranları kaydedilmiştir.

Kültür ortamının şartları;

İklim kabininin ışığı 35 μ mol/m²/s (yaklaşık 3200 lüks) ışık yoğunluğunda, ortam sıcaklığı 24 $\pm$ 1 °C olacak şekilde ayarlanmış ve fotoperyot (zamanlayıcı yardımıyla 16/8 saat ışık/karanlık) uygulanmıştır.



Şekil 3.2.2.4. İklimlendirme dolabında gözlemlenen kültüre alınmış doku parçaları

3.2.3. Morfolojik Analizler

Hasat olgunluğuna gelmiş ahlat genotiplerine ait yaklaşık 25 meyvede yapılan pomolojik analizler aşağıda yer almaktadır.

Meyve Ağırlığı (g)

Örnek olarak seçilmiş meyveler 0.01 g'a duyarlı hassas terazi ile hasattan sonra teker teker tartılmıştır.

Meyve Boyu (mm)

Meyvelerin sap çukuru ile çiçek çukurunu birleştiren eksen, dijital kumpas yardımıyla mm cinsinden ölçülmüştür.

Meyve Uzunluğu (mm)

Meyvelerin sap çukuru ile çiçek çukurunu birleştiren eksene dikey olan geniş ekvatorial kısımda, dijital kumpas yardımı ile mm cinsinden ölçülmüştür.

Çekirdek Sayısı

Meyvenin içerisinde bulunan tohumlar ayıklanıp teker teker sayılmıştır

Sap Uzunluğu

Meyvelerin saplarıyla birlikte hasat edildikten sonra sap çukuruna kadar olan kısımların dijital kumpas yardımıyla mm cinsinden ölçümlüyle bulunmuştur.

SÇKM

El refraktometresi yardımıyla belirlenmiştir.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Morfolojik çalışmalardan elde edilen verilerde, ortalamalar alındıktan sonra excel programında standart sapma değerleri hesaplanmış ve bu iki değer birlikte verilmiştir.



4 BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Morfolojik Özellikler

Yeterli sayıda meyve alınabilen genotiplerde bazı meyve özellikleri belirlenmiştir. Genel olarak meyve özellikleri bakımından genotipler arasında yüksek düzeyde varyasyon olduğu görüşmüştür.

Meyve ağırlıkları hassas terazi ile ölçülmüştür ve ‘g’ cinsinden değerlendirilmiştir. Genotipler arasında en yüksek ortalama meyve ağırlığına sahip genotip Adana’dan alınan 36 ($31,73 \pm 4,76$ g) olurken en düşük meyve ağırlığına sahip genotip Kastamonu’dan alınan 108 numaralı genotiptir ($3,40 \pm 0,28$ g).

Kumpasla ölçülen meyve uzunluğu ve genişliği değerlerine bakıldığında; en yüksek meyve uzunluğu yine Isparta-Eğirdir’den alınan E1 no’lu genotipte (34,97 mm), en kısa meyve uzunluğu Kastamonu-Azdavay’dan alınan 106 no’lu genotipte (14,37 mm) ölçülmüştür. Ortalama meyve uzunlukları ise en yüksek 15 nolu genotipte $34,80 \pm 2,15$ mm, en düşük meyve uzunluğu ise $15,79 \pm 1,35$ ile 106 nolu genotiptendir.

Meyve genişlikleri ise $42,91 \pm 1,98$ mm (36 no’lu genotip) ile $17,47 \pm 1,14$ mm (58 nolu genotip) arasında değişmiştir. Meyvelerin sap uzunluğu değerlerine bakıldığında ciddi bir varyasyon tespit edilmiştir. En uzun meyve sapı Isparta-Eğirdir’den alınan E14 no’lu genotipte (41,0mm), en kısa meyve sapı Afyonkarahisar’den alınan 74 no’lu genotipte (4,0mm) ölçülmüştür. Ortalama meyve sap uzunluğu değerlerinde ise en yüksek $38,91 \pm 5,00$ mm ile E14 numaralı genotip, en düşük $7,66 \pm 4,20$ ile 74 numaralı genotip oluşturmuştur.

Ortalama tohum sayısı verilerinde yine geniş bir varyasyon meydana gelmiştir. En yüksek ortalama tohum sayısına $9,30 \pm 0,82$ adet ile E14 numaralı genotip, en düşük ortalama tohum sayısına $1,14 \pm 1,06$ adet ile 29 numaralı genotip sahip olmuştur. SÇKM değerlerinde de varyasyon oluşmuş ve $23,01 \pm 1,01$ ile $12,36 \pm 1,10$ arasında değişmiştir.

Çizelge.4.1.1. Çalışmada kullanılan ahlat genotiplerine ait pomolojik sonuçlar

Tip No	Meyve ağı. (gr)	Meyve Uz. (mm)	Meyve Gen. (mm)	Sap Uz. (mm)	Tohum Sayısı	SÇKM
1	9,27±1,18	24,31±1,08	25,87±1,52	13,68±1,46	3,00±1,15	12,36±1,10
2	12,05±0,99	24,46±0,80	29,35±1,13	31,67±4,90	3,20±1,61	13,60±1,05
3	13,89±2,98	24,71±1,72	30,40±2,71	10,39±2,63	4,80±1,39	15,66±1,52
4	12,34±1,02	22,59±0,72	29,46±1,16	21,00±3,66	4,50±2,01	19,00±4,58
5	16,02±1,73	23,28±1,09	32,39±1,44	11,11±2,22	4,70±1,70	13,43±0,61
6	14,18±1,66	24,06±1,40	31,30±1,59	4,86±0,95	4,30±1,49	14,23±1,15
7	14,17±1,73	23,79±1,61	29,63±1,32	21,57±2,53	6,50±1,26	16,26±0,96
8	16,51±2,39	26,61±1,88	32,51±1,80	10,09±1,96	5,90±2,13	20,26±3,43
9	19,65±3,76	24,92±1,14	33,25±2,57	17,76±2,72	3,90±1,19	23,01±1,01
10	5,50±0,71	19,52±1,31	22,41±1,32	12,02±2,27	4,20±1,93	18,03±2,60
11	19,17±2,88	26,97±1,53	35,60±1,50	20,73±2,51	4,30±1,63	17,23±1,53
12	15,95±2,90	25,63±1,89	32,27±2,03	12,20±1,96	7,30±1,41	14,13±1,70
13	20,04±2,80	25,49±1,85	35,84±2,09	10,97±1,43	6,30±1,82	12,90±0,78
14	16,89±1,59	30,66±1,35	31,90±1,22	16,35±2,51	4,40±1,64	17,20±1,73
15	22,75±4,35	34,80±2,15	36,01±2,54	15,00±3,71	8,30±1,05	15,46±1,10
16	22,08±3,89	27,26±2,08	34,96±2,56	12,05±2,31	3,00±1,41	12,06±0,95
17	15,74±2,38	27,19±1,42	30,69±2,00	15,34±1,18	4,10±1,10	13,70±2,04
18	18,11±2,48	29,91±1,50	33,00±2,04	10,37±2,24	3,10±2,33	22,05±0,69
19	14,21±1,54	26,60±1,02	30,24±1,60	15,24±2,06	3,50±0,84	15,30±1,47
20	27,76±1,99	34,36±1,67	37,72±1,23	20,42±1,69	7,00±1,82	13,20±1,90
21	16,76±1,50	27,94±1,29	31,71±1,03	18,70±1,93	8,60±1,17	15,46±0,55
22	8,30±0,77	23,45±0,78	24,51±1,15	16,72±2,56	6,70±1,63	22,00±4,35
23	9,49±0,83	23,13±0,53	25,40±1,06	17,20±2,66	7,00±1,33	19,90±0,26
24	12,81±1,65	24,33±1,40	29,31±1,39	16,69±1,71	4,20±1,47	16,00±0,95
25	11,50±1,69	21,98±1,58	27,66±3,30	22,10±6,40	5,30±1,15	15,86±3,80
27	17,31±2,69	25,50±1,21	33,32±2,12	7,93±1,43	3,50±2,01	16,03±2,00
28	26,42±2,47	33,81±1,70	35,49±1,45	18,18±2,08	2,10±1,19	18,53±0,58
29	15,48±2,63	34,24±4,17	31,96±3,17	28,64±4,14	1,14±1,06	13,36±4,47
30	14,97±2,47	27,19±1,47	31,53±1,87	13,05±1,96	5,40±2,98	17,10±1,81
31	14,06±2,48	26,68±1,71	30,05±2,26	13,43±2,09	3,80±0,91	17,83±0,60
32	16,77±1,43	27,70±0,55	32,74±1,36	10,91±1,81	4,30±2,16	19,53±4,97
33	16,71±2,27	26,99±1,35	33,71±2,53	18,95±4,13	3,70±2,40	15,90±1,04
34	22,35±2,86	29,15±2,26	36,03±1,53	17,44±3,15	5,30±2,00	19,26±1,00
35	24,23±5,29	27,69±1,84	36,52±2,98	11,45±1,88	3,00±1,56	12,43±3,66
36	31,73±4,76	30,58±1,95	42,91±1,98	18,79±2,84	2,70±1,82	17,23±0,90
37	15,60±1,83	23,66±1,73	32,09±1,96	11,70±2,34	3,20±2,34	13,83±0,64
38	15,47±2,22	27,04±2,81	30,97±2,22	11,65±1,88	5,50±2,41	22,90±3,65
39	11,90±1,26	23,68±1,09	29,47±1,71	16,34±3,07	6,60±1,71	22,53±1,40
40	13,75±2,89	27,09±2,10	30,36±2,09	23,05±2,92	4,40±0,84	12,60±0,72
41	13,80±2,91	24,79±2,33	30,13±1,96	16,48±1,95	6,70±1,76	17,73±0,41
42	16,43±3,27	27,82±2,24	32,84±2,63	19,38±5,84	4,50±2,17	18,90±3,23
43	24,20±3,73	30,22±2,01	37,36±1,93	13,17±3,83	6,10±1,91	13,43±1,49



44	28,01±4,78	30,51±1,08	38,85±2,79	12,95±1,57	3,30±1,82	18,73±0,75
45	15,78±2,52	30,39±1,04	30,03±1,43	16,22±2,46	2,28±0,75	15,56±2,05
51	9,44±0,48	18,34±0,72	20,51±1,03	13,65±5,21	4,10±0,88	
52	10,89±1,14	22,65±1,33	22,70±1,60	25,78±3,54	6,90±1,97	
53	9,74±0,55	20,38±1,54	20,65±1,18	10,56±2,43	6,30±1,70	
54	10,90±0,82	23,98±1,09	22,31±1,36	17,10±2,93	5,00±1,41	
56	10,23±0,85	21,80±1,30	20,25±1,28	26,61±7,18	4,70±1,49	
57	12,10±1,25	27,36±1,90	23,14±1,44	20,50±4,89	3,60±1,51	
58	8,37±0,39	19,14±1,10	17,47±1,14	16,17±5,21	4,10±1,20	
61	9,12±0,61	19,71±0,95	19,43±1,36	29,51±6,20	4,50±1,35	
63	9,52±0,42	20,32±1,10	20,43±0,81	15,88±1,81	7,20±1,23	
67	10,19±0,59	21,40±1,33	20,81±0,81	14,93±4,86	6,90±1,73	
68	10,51±0,89	20,96±1,51	21,82±1,85	25,74±3,88	5,00±1,15	
72	13,42±2,58	23,89±2,73	25,99±3,09	19,22±2,99	2,10±1,29	
74	8,76±0,56	19,14±1,26	18,39±1,38	7,66±4,20	2,00±1,05	
76	9,71±0,67	20,28±1,71	20,32±1,04	18,01±2,56	3,10±0,99	
81	14,15±2,19	24,08±1,80	26,17±2,26	23,23±1,89	4,60±2,17	
82	15,74±1,66	26,93±0,88	27,70±1,59	24,42±2,59	5,00±1,63	
83	12,48±1,00	24,40±1,08	24,14±1,33	18,98±4,27	8,10±1,85	
84	14,63±1,56	26,35±1,53	25,82±2,67	17,39±2,60	6,90±1,73	
85	14,37±0,69	23,59±0,71	26,33±0,61	24,25±2,13	8,40±1,71	
86	12,56±1,23	22,49±1,08	24,64±1,75	11,76±3,82	6,00±1,41	
87	15,16±1,93	26,84±2,11	26,66±1,61	13,14±4,10	9,00±1,41	
88	14,08±1,77	27,00±1,46	26,27±1,46	25,43±2,87	4,20±0,92	
89	10,00±0,76	20,87±1,41	21,73±0,97	27,91±7,11	6,50±1,90	
90	13,43±1,14	27,06±1,89	25,03±1,32	32,24±8,28	3,30±1,77	
91	8,38±0,53	17,48±1,50	18,16±1,45	10,68±5,10	2,90±0,99	
92	10,99±0,89	21,76±1,01	22,76±1,58	26,65±5,50	5,50±1,84	
93	15,05±1,88	26,32±2,57	27,03±1,86	21,29±2,03	5,00±1,89	
E1	24,55±2,83	33,48±1,57	33,63±1,79	34,18±3,59	6,38±2,39	
E3	21,89±2,53	28,13±1,21	33,75±2,04	29,40±3,49	8,80±1,55	
E4	20,71±1,50	28,17±1,50	32,07±0,99	18,16±5,68	8,00±1,63	
E6	18,08±2,66	29,76±2,43	30,48±2,19	23,08±8,64	5,20±1,93	
E14	21,42±1,56	30,42±1,66	32,48±1,07	38,91±5,00	9,30±0,82	
101	9,96±0,91	22,25±0,85	24,49±1,64	25,83±4,82	3,34±0,56	
102	10,97±1,08	21,72±0,93	26,14±3,18	15,82±3,72	6,20±1,69	
103	12,90±0,94	23,13±1,89	26,20±1,34	12,29±3,94	3,90±1,02	
104	11,54±1,07	20,12±1,49	24,61±1,70	21,06±1,44	6,54±2,24	
105	14,64±0,41	23,94±0,99	27,51±1,05	28,03±4,11	4,65±2,13	
106	13,66±0,78	23,79±1,35	28,57±1,56	15,68±5,89	5,73±1,56	
107	17,24±0,94	25,05±1,33	31,17±1,29	19,86±2,14	7,54±2,07	
108	11,40±0,28	20,13±1,55	25,75±0,57	16,18±3,96	6,13±1,38	
113	13,38±1,27	22,49±2,97	27,85±1,58	19,51±3,04	4,27±1,46	
114	14,27±0,71	24,08±0,80	28,31±1,11	17,43±6,12	4,80±1,31	

Ahlatla ilgili morfolojik özelliklerin belirlendiği az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Bu nedenle tartışma bölümünde ahlat yanında elma konusunda da bazı çalışmalara değinilmiştir.

Balta ve Kaya (2015), 1998-1999 yılları ile 2005, 2006 ve 2007 yıllarında Van yöresi elma genetik kaynaklarının fenolojik, morfolojik ve pomolojik özelliklerinin tanımlanması amacıyla, Van Merkez, Edremit ve Gevaş ilçelerinde yapmış oldukları araştırmalarda genotiplerin meyve çapının 45,00 mm ile 70,00 mm, meyve ağırlığının 70 g ile 130 g, pH değerinin 4,00 ile 4,50, titre edilebilir asit oranının 0,01 ile 0,30 ve SÇKM oranının %10,51 ile 13,50 arasında değişkenlik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Şenyurt ve ark., (2015), 2011-2012 yılları arasında Gümüşhane Merkez ilçede yetişen bazı standart ve mahalli elma çeşitlerinin pomolojik özelliklerinden meyve ağırlığının 80,70 g ile 195,61 g, meyve boyunun 52,09 mm ile 66,29 mm, meyve çapının 57,27 mm ile 80,77 mm, SÇKM oranının %11,50 ile %15,25, pH değerinin 3,53 ile 4,87, titre edilebilir asitliğin %0,20 ile %1,24 şeklinde belirtmişlerdir.

Karakaya ve ark., (2015), 2013-2014 yıllarında Yağlıdere (Giresun) İlçesinden seleksiyon yoluyla elde edilen 29 elma genotipinin fenolojik ve pomolojik özelliklerinden meyve ağırlığının 76,18 g ile 244,12 g, meyve çapının 59,51 mm ile 87,62 mm, pH değerinin 2,89 ile 4,80, SÇKM oranının %8,40 ile %14,25, titre edilebilir asitlik miktarının %0,16 ile %1,08 arasında farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Yılmaz ve ark., (2015), ‘‘Kayseri’’ de doğal olarak yetişen ahlat (*Pyrus elaeagrifolia* Pall.)’in bazı morfolojik ve meyve özellikleri’’ isimli çalışmalarında 43 farklı ahlat genotipinde meyve ağırlığının 5,84g ile 27,09g arasında, meyve uzunluğunun 17,26mm ile 36,14mm; meyve genişliğinin ise 20,82mm ile 35,31mm arasında, meyve sap uzunluğu değerleri 6.89 mm ile 21.85 mm değişiklik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Keçeci (2017), Hakkari bölgesinde yaptığı çalışmada ahlat genotiplerinde meyve ağırlığını 55.04 g ile 18.49 g arasında belirlemiştir.

Ahlatlarda, önceki çalışmalarda elde edilen sonuçlar incelendiğinde genel olarak çalışmamızda elde edilen meyve ağırlığı sonuçları ile uyumlu olmakla birlikte farklılıkların da olduğu görülmektedir. Bu durum ahlat bitkilerinin tohumla çoğalmalarından ve farklı ekolojik şartlarda yetişmiş olmalarından kaynaklanabilmektedir.



Şekil 4.1.1. Farklı ahlat genotiplerinin meyve görünüşleri



Şekil 4.1.2. Farklı ahlat genotiplerinin meyve görünüşleri



Şekil 4.1.3. Ahlat bitkisi genel görünümü



Şekil 4.1.4. Ahlat ağacında meyvelerin görünümü



Şekil 4.1.5. Meyve tutumu çok yüksek olan bir ahlat ağacı



Şekil 4.1.6. Ahlat bitkilerinin doğal yayılışı

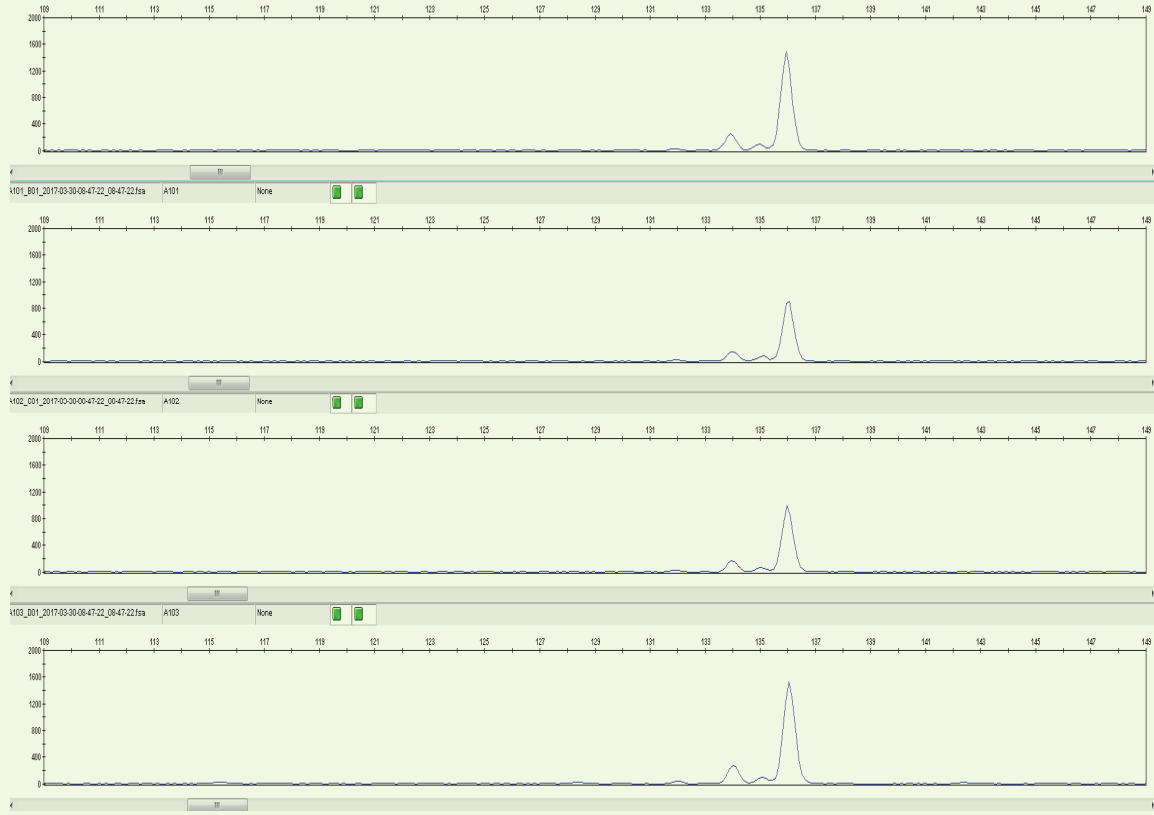


Şekil 4.1.7. Ahlat bitkilerinin doğal yayılışı

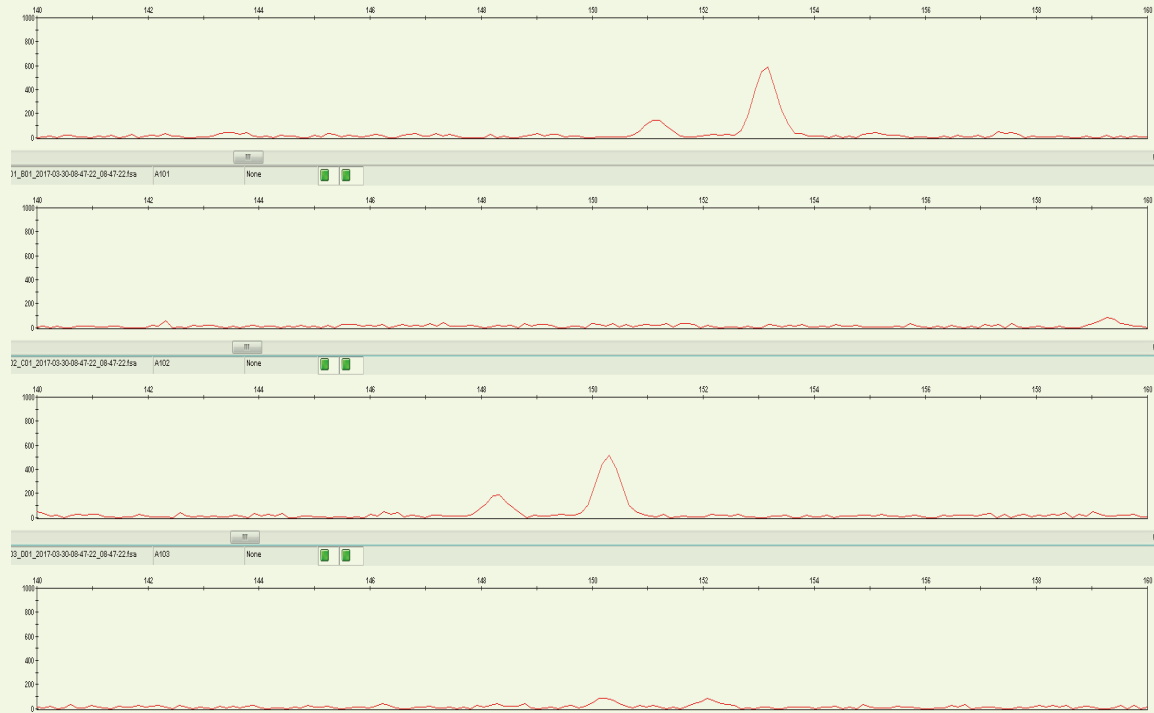
4.2. Moleküler Analizler

Farklı ahlat genotiplerinde genetik ilişkinin SSR markırlarıyla belirlenmesi amacıyla 7 farklı primer kullanılarak araştırma yapılmıştır. Bu primerlerden toplamda 93 adet farklı skorlanabilir baz uzunluğu (pig) elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan primerlerden elde edilen baz uzunlukları 124-210 arasında değişkenlik göstermiştir. En fazla farklı bazı AT565 numaralı primer 25 skorlanabilir bant ile oluşturmuştur. Öte yandan en az farklı bazı 7 adet ile FAM-1 primeri oluşturmuştur. Primer başına düşen ortalama farklı bant sayısı ise 13.28 olarak gerçekleşmiştir. Ayrıca her primerde polimorfizm oranı %100'dür.

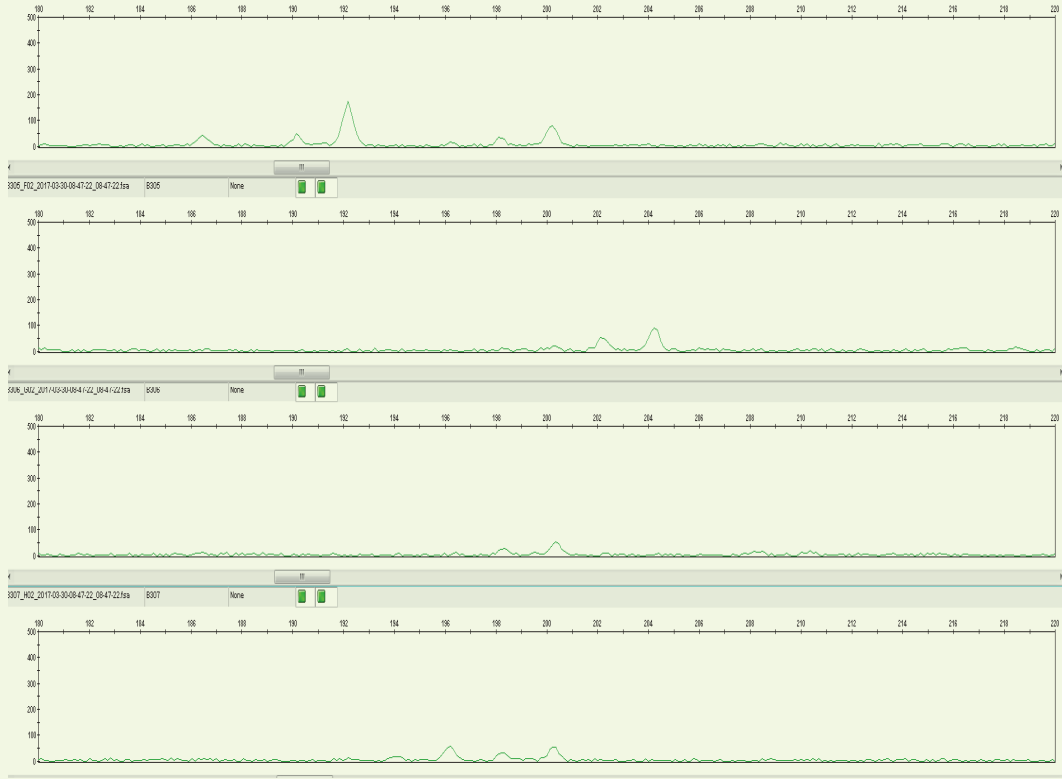
Çalışmada kullanılan SSR primerlerine bağlı olarak elde edilen dendogram şekilde yer almaktadır. Dendograma göre ahlat genotipleri 3 farklı grup oluşturmaktadır. Dendogram genel olarak incelendiğinde ahlat genotipleri genel olarak bölgelere göre ayrılmış görünmektedir. Diğer taraftan aynı bölgeden seçilen bazı genotipler ayrı gruplarda yer almış olup bunun nedeni genetik farklılıktan kaynaklanabileceği gibi kullanılan markır sistemi de olabilir.



Şekil 4.2.1. Çalışmada kullanılan SSR markırlarına ait görüntüler



Şekil 4.2.2. Çalışmada kullanılan SSR markırlarına ait görüntüler

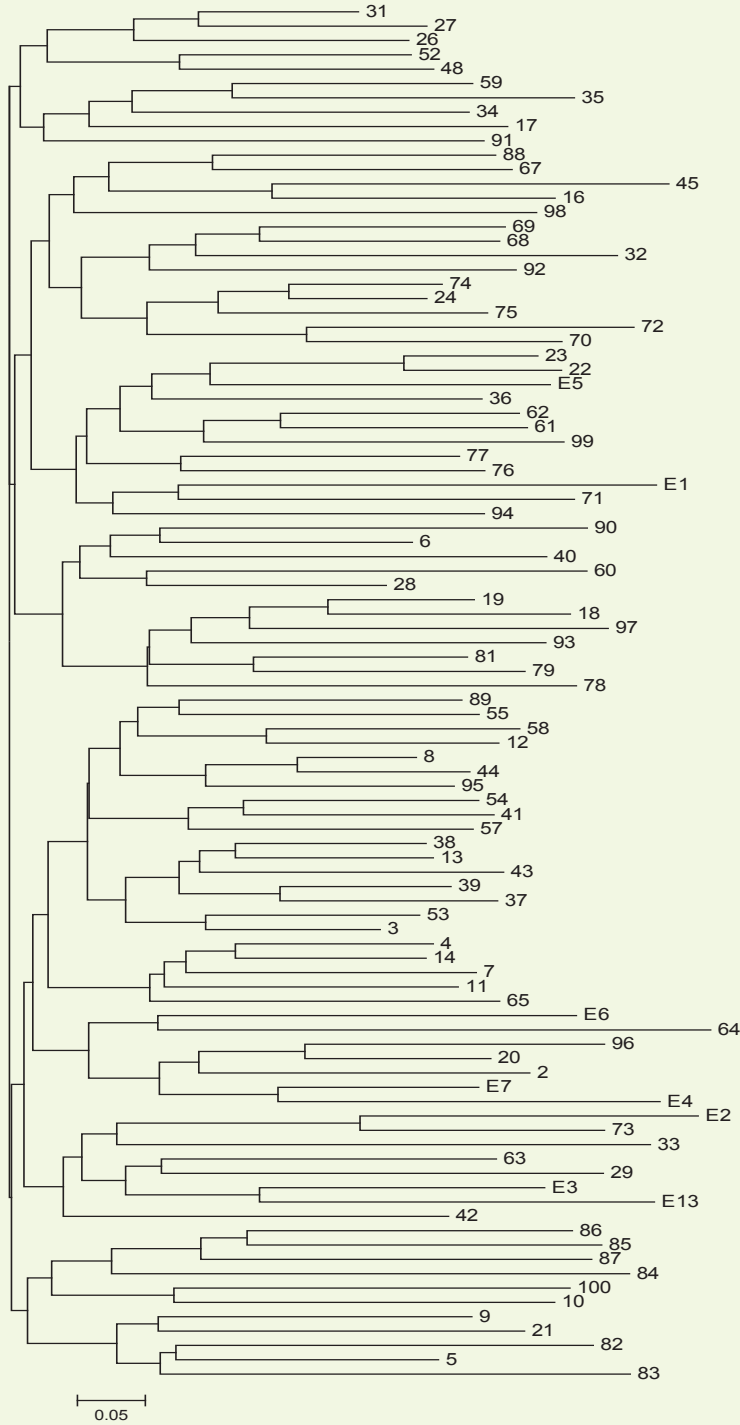


Şekil 4.2.3. Çalışmada kullanılan SSR markırlarına ait görüntüler

Dendrograma göre genetik benzerlik bakımından birbirine en yakın genotipler 22 ve 23 numaralı genotipler iken, en uzak genotipler 83 ve 31 numaralı genotiplerdir. Ahlat genotiplerinin oluşturduğu bu 3 farklı grupta, en fazla genotip 1. Grupta yer almaktadır. Sırasıyla bunu 2 ve 3 numaralı grup takip etmektedir (Şekil 4.2.4).

Erdoğan ve ark., (2007) yaptıkları çalışmada Ankara ve çevresinde daha önceden seçilmiş 39 ‘Ankara Armudu’ klonu arasındaki genetik farklılıkları RAPD tekniği ile araştırmıştır. 25 adet primerden 2 tanesinde amplifikasyon zayıf olmuş diğerleri ise açıkça okunabilen ve tekrarlanabilen bantlar vermiştir.

Richards ve ark., (2009), Kazakistan’ın sekiz farklı bölgesinden toplanmış olan toplam 949 adet *Malus sieversii* genotipinde genetik çeşitliliği incelemişlerdir. Genetik çeşitlilik bakımından bölgeler arasında önemli farklılıklar belirlenmiş ve güneybatı bölgelerden alınan örneklerin kuzey bölgelerden alınanlara göre daha fazla varyasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun yanında her bölge içerisinde de önemli düzeyde varyasyon saptanmıştır.



Şekil 4.2.4. SSR markırlarına bağlı olarak elde edilen ve ahlal genotipleri arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram

Yiğit 2017, farklı ahlal genotiplerinde genetik çeşitliliği ISSR primer sistemi kullanarak araştırmıştır. Moleküler analizler sonucu elde edilen dendrograma göre genotipler arasındaki genetik benzerlik 0.75-0.98 arasında değişmiştir. En uzak genotip 0.75 benzerlik oranıyla AN64 nolu genotip olurken, birbirine en yakın genotipler N40 ve N41 nolu genotipler olmuştur.

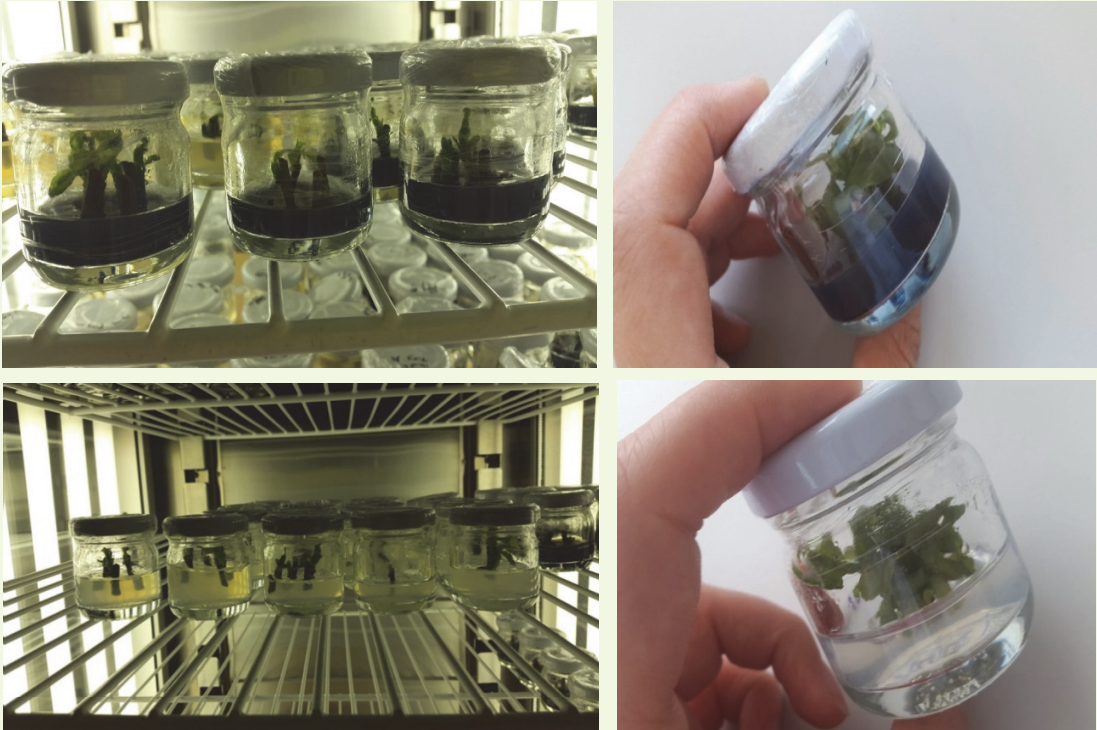
4.3. Doku Kültürü Analizleri

Genotiplerin bir kısmının fungus/bakteri oluşturma kapasitelerinin çok yüksek olduğu, bu yüzden gelişme gösteremediği; bir kısmının ise fungus/bakteri oluşturmadıkları, gelişmelerinin seyrinde devam edip sürgün gelişimi gösterdiği görülmüştür. Tiplerin bazılarının fenolik madde yoğun şekilde salgılamayıp, fungus/bakteri oluşturmaya bile gelişme gösteremediği de belirlenmiştir. Ayrıca kültüre alınan gözlerin etrafında kallus oluşumu, bu kallus dokusundan sürgün verip vermediği de gözlemlenmiştir (Şekil 4.3.1).



Şekil 4.3.1. Sürgünlerde kallus oluşumu

Çalışmanın bu kısmında incelemeler sonucunda, incelenen 102 farklı ahlat genotipi arasında *in vitro* çoğaltım tepkileri arasında çok ciddi varyasyon tespit edilmiştir .



Şekil 4.3.2. İklim kabininden genel bir görünüm



Çalışmanın süresi boyunca kültüre alınan bütün genotiplerde kullanılan sterilizasyon yöntemleri, genotiplerin çalışılma adetleri Tablo 1.' de verilmiştir. Ümitvar 27 tip ‘***’ şeklinde işaretlenmiştir.

Çizelge 4.3.1 Çalışma kapsamında *in vitro* kültüre alınan genotiplerin listesi

Genotip Numarası	Sterilizasyon Şekli ve Süresi	Kültürlenen Bitki Adedi (kavanoz)	Sürgün Veren Bitkiler
1	(%20D-10dk) (%0.1C-4dk)	9(ab.li)+21(ab.süz)= 30 25 +0 = 25	
2	(%20D-10dk) (%0.1C-4dk) (%10D-20dk)	7(ab.li)+0(ab.süz)= 7 7 +0 = 7 5(ak.lü)+5(ak.süz)= 10 (10sert)	
5	(%10D-20dk)	2(ak.lü)+7(ak.süz)= 9 (1sert/ (1sert/1yum) 1yum)	
12	(%10D-20dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	8(ak.lü)+10(ak.süz)= 18 (11sert/6yum+1Tomurcuk) 2(ak.lü)+3(ak.süz)= 5	
14	(%10D-20dk)	12(ak.lü)+0(ak.süz)= 12 (1sert/10yum+1Tomurcuk)	
15	(%10D-20dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)= 10 (4sert/ (2sert/3yum) 1yum)	
16	(%10D-20dk)	6(ak.lü)+6(ak.süz)= 12 (3sert/ (3sert/3yum) 3yum)	
19	(%10D-20dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)= 9 (2sert/ (3sert/2yum) 2yum)	***
25	(%5D-20dk) (%10D-20dk) (%15D-20dk)	13(ak.lü)+2(ak.süz)= 15 (4sert/ (1sert/1yum) 9yum) 11(ak.lü)+0(ak.süz)= 11 (4sert/7yum) 14(ak.lü)+0(ak.süz)= 14 (10sert/3yum+1tmrck)	
26	(%10D-20dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)= 10 (1sert/ (2sert/3yum) 4yum)	
27	(%10D-20dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+6(ak.süz)= 10 (2sert/ (3sert/3yum) 2yum) 4(ak.lü)+3(ak.süz)= 7	

30	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)= (4sert/ (5yum)	9	
32	(%10D-20dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+7(ak.süz)= (10yum)	10	***
		4(ak.lü)+4(ak.süz)=	8	
33	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)= (10sert)	10	***
34	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	2(ak.lü)+7(ak.süz)= (9sert)	9	
35	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= (8sert)	8	
36	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= (7sert+1tmrck)	8	
37	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)= (4sert/ (5yum)	9	***
		4(ak.lü)+5(ak.süz)=	9	
38	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+6(ak.süz)= (7sert+1tmrck)	11	***
39	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= (8sert)	8	
		9(ak.süz)	9	
40	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+6(ak.süz)= (3sert/ (3sert/2 yum+1tmrck) 2 yum)	11	***
		2(ak.lü)+7(ak.süz)=	9	
41	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)= (9sert+1tmrck)	10	***
		2(ak.lü)+8(ak.süz)=	10	
42	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)= (10sert)	10	***
		2(ak.lü)+6(ak.süz)=	8	
43	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)= (9sert)	9	
		0(ak.lü)+8(ak.süz)=	8	
44	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+7(ak.süz)= (10sert)	10	***
		2(ak.lü)+6(ak.süz)=	8	



45	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)= 10 (9sert+1tmrck)	***
D-31	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)= 10	***
46	(%20D-10dk) (%0.1C-4dk) (%10D-20dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	15(ab.li)+0(ab.siz)= 15 22 +0 = 22 6(ak.lü)+6(ak.süz)= 12 (5sert/ (3sert/2 yum+1tmrck) 1 yum) 3(ak.lü)+3(ak.süz)= 6	***
47	(%20D-10dk) (%0.1C-4dk) (%10D-20dk)	11(ab.li)+20(ab.siz)= 31 14 +0 = 14 3(ak.lü)+7(ak.süz)= 10 (1sert/ (5sert/2 yum) 2 yum)	
48	(%0.1fung5dk+%20D-10dk) (%0.1fung5dk+%0.1C-4dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	10(ak.süz) 10 9(ak.süz) 9 5(ak.lü)+4(ak.süz)= 9 (4sert/ (3sert/1yum) 1yum) 0(ak.lü)+8(ak.süz)= 8	
49	(%0.1fung5dk+3d.t20+%0.1C -4dk) (%0.1fung5dk+%20D-10dk) (%10D-20dk)	8(ab.siz,ak.süz) 8 7(ab.siz,ak.süz) 7 4(ak.lü)+6(ak.süz)= 10 (2sert/ (4sert/2yum+1tmrck) 1yum)	***
50	(%0.1fung5dk+3d.t20+%0.1C -4dk) (%0.1fung5dk+%20D-10dk) (%10D-20dk)	6(ab.siz,ak.süz) 6 10(ab.siz,ak.süz) 10 4(ak.lü)+10(ak.süz)= 14 (3sert/ (9sert/1yum) 1yum)	
52	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+6(ak.süz)= 10 (9sert+1tmrck) 2(ak.lü)+5(ak.süz)= 7	***
53	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+6(ak.süz)= 9 (8sert+1tmrck) 2(ak.lü)+5(ak.süz)= 7	***

54	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+7(ak.süz)= 10 (9sert+1tmrck) 3(ak.lü)+3(ak.süz)= 6	***
55	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	2(ak.lü)+5(ak.süz)= 7 (6sert+1tmrck) 3(ak.lü)+4(ak.süz)= 7	***
56	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)= 9 (2sert/ (3sert/2yum) 2yum)	
57	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+6(ak.süz)= 9 (9sert+1tmrck) 3(ak.lü)+5(ak.süz)= 8	***
58	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= 8 (3sert/ (3sert/1yum) 1yum)	
59	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)= 9 (1sert/ (5yum) 3yum)	
60	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= 8 (3sert/ (2sert/2yum) 1yum)	
61	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= 8 (2sert/ (4yum) 2yum)	
62	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+6(ak.süz)= 10 (10sert)	
63	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+6(ak.süz)= 10 (10sert) 10(ak.süz) 10	
64	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+5(ak.süz)= 8 (8sert)	
65	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= 8 (2sert/ (2sert/2yum) 2yum) 10(ak.süz) 10	
66	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)= 10 (4sert/ (4sert/1yum) 1yum)	
67	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+8(ak.süz)= 11 (11sert)	



68	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= 7 (3sert/ (2sert/1yum) 1yum)	
69	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)= 9 (9sert)	
70	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)= 9 (9sert)	
71	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	6(ak.lü)+2(ak.süz)= 8 (8sert) 10(ak.süz) 10	
72	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= 8 (2sert/ (4sert) 2yum)	
73	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= 8 (8sert)	
74	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= 8 (3sert/ (4sert) 1yum) 12(ak.süz) 10	
75	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)= 9 (9sert) 10(ak.süz) 10	
76	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)= 8 (8sert)	
77	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	6(ak.lü)+3(ak.süz)= 9 (3sert/ (1sert/3yum) 3yum)	
78	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= 7 (2sert/ (2sert/1yum) 2yum) 10(ak.süz) 10	
79	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= 7 (7sert) 2(ak.lü)+2(ak.süz)= 4	
80	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= 7 (7sert) 2(ak.lü)+2(ak.süz)= 4	
81	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+4(ak.süz)= 7 (1sert/ (2sert/2yum) 2yum)	

82	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= (7sert)	7	
83	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= (7sert)	7	
	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+4(ak.süz)=	8	
84	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= (7sert)	7	***
	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	2(ak.lü)+2(ak.süz)=	4	
93	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= (7sert)	7	
94	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= (2sert/ (1sert/2yum) 2yum)	7	
95	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+4(ak.süz)= (7sert)	7	***
96	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+4(ak.süz)= (2sert/ (1sert/3yum) 1yum)	7	
97	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+3(ak.süz)= (7sert)	7	
98	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+3(ak.süz)= (6sert)	6	
99	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+3(ak.süz)= (2sert/ (2sert/1yum) 1yum)	6	
100	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+3(ak.süz)= (6sert)	6	
E1	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk) (%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+3(ak.süz)= (6sert)	6	
		1(ak.lü)+2(ak.süz)=	3	
E2	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	2(ak.lü)+1(ak.süz)= (3sert)	3	***
	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	2(ak.lü)+1(ak.süz)=	3	
E7	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	2(ak.lü)+1(ak.süz)= (3sert)	3	
	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	2(ak.lü)+2(ak.süz)=	4	
E13	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	1(ak.lü)+2(ak.süz)= (3sert)	3	***
	(%0.1 fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	1(ak.lü)+1(ak.süz)=	2	



E14	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	1(ak.lü)+2(ak.süz)= (3sert)	3	
48-x	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	18(ak.lü)+16(ak.süz)=	34	***
48	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	27(ak.lü)+26(ak.süz)=	53	***
50-x	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	12(ak.lü)+11(ak.süz)=	23	***
50	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	8(ak.lü)+5(ak.süz)=	13	
53	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	2(ak.lü)+15(ak.süz)=	17	
54	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	3(ak.lü)+18(ak.süz)=	21	
55-x	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	15(ak.lü)+2(ak.süz)=	17	***
57	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	2(ak.lü)+15(ak.süz)=	17	
101	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	4(ak.lü)+5(ak.süz)=	9	
102	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)=	10	
103	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	6(ak.lü)+6(ak.süz)=	12	
104	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	8(ak.lü)+6(ak.süz)=	14	
106	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	8(ak.lü)+8(ak.süz)=	16	
107	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	8(ak.lü)+8(ak.süz)=	16	
108	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	6(ak.lü)+9(ak.süz)=	15	
109	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	8(ak.lü)+8(ak.süz)=	16	
110	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	5(ak.lü)+5(ak.süz)=	10	***
111	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	6(ak.lü)+6(ak.süz)=	12	
112	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	8(ak.lü)+6(ak.süz)=	14	
113	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	10(ak.lü)+12(ak.süz)=	22	
114	(%0.1fung5dk+%10ace+3d.t20-18dk)	6(ak.lü)+6(ak.süz)=	12	

ak: aktif kömür

Toplamda incelenen 102 farklı ahlat genotipi arasında *in vitro* çoğaltım tepkilerinde çok ciddi varyasyon görülmüştür. **19, 32, 33, 37, 38, 40, 41, 42, 44, 45, D-31, 46, 49, 52, 53, 54, 55, 57, 84, 95, E2, E13, 48, 48-x, 50-x, 55-x, 110** genotip numaralı ümitvar 27 tipin alt kültüre alınması uygun bulunmuştur. Bu genotiplerin 2017 yılında yapılan sürgün oluşturma çalışmalarına ilişkin sonuçlar aşağıdaki çizelge ve şekilde verilmiştir. Bunlardan 46, 84 ve 50-x nolu genotiplere ait birer bitki köklendirme aşamasına kadar ulaşmıştır.

Çizelge 4.3.2. 2017 yılında *in vitro* kültüre alınan genotiplerin listesi

Genotip Numarası	Besin Ortamı (Kavanoz Sayısı) Aktif Kömür +	Besin Ortamı (Kavanoz Sayısı) Aktif Kömür -	Toplam (Kavanoz Sayısı)	Sürgün Çoğalma Yüzdesi	Köklendirme Aşamasında Bulunan Bitkiler
19	4	5	9	6.6	-
32	7	11	18	3.3	-
33	10	10	20	3.3	-
37	8	10	18	16.6	-
38	5	6	11	6.6	-
40	7	13	20	10	-
41	7	13	20	10	-
42	7	11	19	13.3	-
44	5	11	16	6.6	-
45	5	5	10	10	-
D-31	5	5	10	3.3	-
46	46	9	55	3.3	1 kavanoz 1 bitki
49	4	21	25	10	-
52	6	11	17	6.6	-
53	5	11	16	16.6	-
54	6	10	16	13.3	-
55	5	9	14	10	-
57	6	11	17	3.3	-
84	6	5	11	3.3	1 kavanoz 1 bitki
95	3	4	7	3.3	-
E2	4	2	6	13.3	-
E13	11	2	13	3.3	-
48	27	26	53	7.4	-
48-x	18	16	34	8.8	-
50-x	12	11	23	13.0	1 kavanoz 1 bitki
55-x	15	2	17	11.7	-
110	5	5	10	20.0	-



Şekil 4.3.3. Doku kültüründe ahlat genotiplerinden genel bir görünüm

Sürgünlerin Uzatılması

Bu aşamada çoğaltılan sürgünlerin köklendirilmesi için uygun boyutlara gelmesi amacı ile uzamaya teşvik edici ortamlar içerisinde uygun uzunluğa gelmesi sağlanır. Bu alt kültür ortamında ana eksplanttan gelişen sürgünlerin yan sürgünler oluşturarak kardeşlenme tepkisi gözlemlenmiştir. Besin ortamı içeriğinde 0.3 μ M giberellik asit (GA_3) ile desteklenmiş MS (Murashige&Skoog Medium - Murashige, 1962) besi ortamı kullanılmış olup; bu besi ortamı 30 g/l sukroz, 7.0 g/l agar ve benzyladenine (BA; 9.0 μ M) ile desteklenmiştir. Kültüre alınan genotiplerden **48x**, **50x**, **55**, **57** ve **110** numaralı genotipler kardeşlenme aşamasına geçmiştir (Şekil 4.3.4).



Şekil 4.3.4. Kardeşlenen ahlat genotipleri

Köklendirme

Bu aşamada yeterli uzunluğa gelen sürgünler köklendirme ortamları içerisinde köklendirilmiştir. Bu şekilde her bir sürgünden tam bir bitkicik oluşturulmaya çalışılmıştır. Ahlatın *in vitro* köklendirmesi ilk yılda getirilen bitkilerde de denenmiş ancak kallus oluşumu gözlemlense de kök oluşumu sağlanamamıştır. Bu sebeple kök oluşumunu sağlamak adına 4 farklı köklendirme ortamı oluşturulmuştur. Bunlar; 1 lt ortam için;

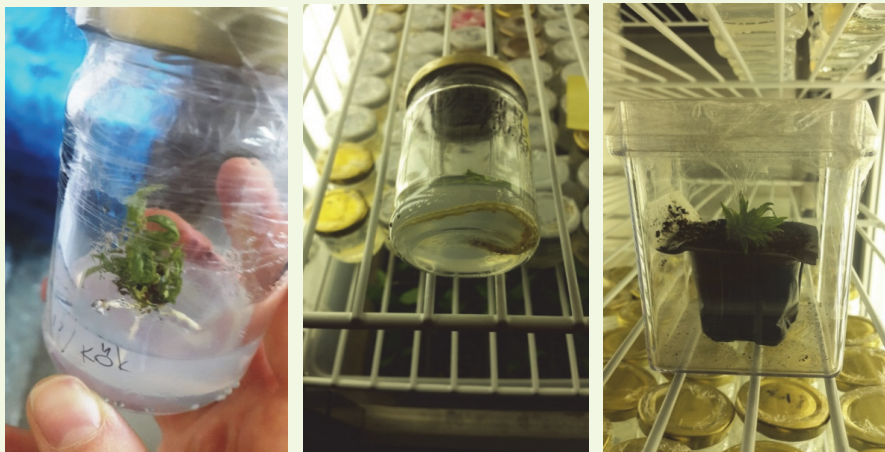
Protokol 1' e göre; 5 µM IBA (indole-3-butyric acid), 1.5 g/lt toz aktif karbon, 6 g agar, 30 g sukroz ile desteklenmiş 2.15 g MS besisi ortamına ekilen bitkiler iklim kabinine alınmıştır.

Protokol 2' ye göre; 3 mg/l IBA, 6 g agar, 30 g sukroz ile desteklenmiş 4.30 g MS besisi ortamına ekilen bitkiler iklim kabinine alınmış, 3 gün karanlık, ardından 4 haftaya kadar ışık uygulamasına tabi tutulmuştur.

Protokol 3' e göre; 3 mg/l NAA (naftelen asetik asit), 6 g agar, 30 g sukroz ile desteklenmiş 4.30 g MS besisi ortamına ekilen bitkiler iklim kabinine alınmış, 3 gün karanlık, ardından 4 haftaya kadar ışık uygulamasına tabi tutulmuştur.

Protokol 4' e göre; 0.25 mg/l NAA ve 0.25 mg/lt IBA, 6 g agar, 30 g sukroz ile desteklenmiş 4.30 g MS besisi ortamına ekilen bitkiler iklim kabinine alınmış, 3 gün karanlık, ardından 4 haftaya kadar ışık uygulamasına tabi tutulmuştur.

Köklenmenin sağlanması için bitkiler 4 haftada bir yeni ortamlara aktarılmıştır. Mevcut durumda beş adet genotipte köklendirme çalışması sürdürülmüş, sonuçta **50-x** numaralı genotip Protokol 3' te köklendirme aşamasını geçerek iklimlendirmeye tabii tutulmuştur (Şekil 4.3.5).



Şekil 4.3.5. İklimlendirmeye tabi tutulan genotipler



Oysa Aygün ve Dumanoglu (2015), yaptıkları çalışmada *P. elaeagnifolia* Pall.’ da başlangıç kültüründe sürgün çoğalması oranını yüksek seviyelerde (>80%) 9.0 μ M BA ve 0.5 μ M IAA ile desteklenmiş MS besisi ortamında gözlemlemiştir. Alt kültürlerde ise en yüksek başarıyı 4.5 μ M ve 9.0 μ M BA ile desteklenmiş besisi ortamlarında sağlamıştır.

Boudabous ve ark., (2013) ise *Malus domestica* L. kültür çeşidi Douce de Djerba’ da mikroçoğaltım çalışmalarında nodal eksplantlarda BAP (1.0 mg.L⁻¹) ve IBA (0.1 mg.L⁻¹) ile desteklenmiş temel MS besisi ortamında yüksek oranda sürgün oluşumu (85%) ve farklılaşma gözlemlemiş, *in vitro* çoğaltılmış mikro sürgünleri en yüksek çoğalma oranını gösteren BAP (1.0 mg.L⁻¹) ve IBA (0.1 mg.L⁻¹) ile desteklenen ortama aktarmış, kardeşlenme hızlıca gerçekleştirilmiştir.

Yine aynı şekilde bir başka *Pyrus* türü olan *Pyrus pyrifolia*’ da Thakur ve Kanwar (2008), mikroçoğaltımda eksplant kuruluşunu ve sürgün oluşumunu incelemiş, çalışma sonucunda kış mevsimi boyunca dahi yüksek oranda sürgün oluşumu gözlemlenmiş (77.88%), bu oran bahar mevsimi boyunca da yaklaşık olarak aynı kalmıştır (Thakur ve Kanwar, 2008).

Pyrus elaeagnifolia Pall.’ın (ahlat) “Ahlat 1” (boz ahlat) ve “Ahlat 2” (ak ahlat) tipleri ile *Pyrus communis* L.’ nin “Ankara” armudu çeşidinden yeşil çeliklerin köklenmesi ve sürmesi üzerine IBA ve Putrescine’ in etkileri araştırılırken sürme oranı, köklenen ve süren çelik oranı, köklenme oranı Ahlat 1’ de sırasıyla %0.0, %0.0 ve %11.4; Ahlat 2’ de %32.4, %32.4 ve %43.8 olarak belirlenmiştir, sürme-köklenme oranlarının düşük olduğu görülmektedir (Dumanoglu ve ark., 1999).

Bir başka çalışmada ise Aygün ve Dumanoglu (2006), ‘Bazı Ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) Genotiplerinde Yaprak Disklerinden Sürgün Organogenesisi’ uyarmaya çalışırken bitkisel materyal olarak, 8 farklı ayva genotipi kullanmış ve uygulamaları sonucunda sürgün oluşturma oranı Quince A’ da %80.0, S.Ö. 39-200’ de %56.7, S.Ö. 18-82’ de %17.5, S.Ö. 58-315’ de %37.5, Eşme’ de %36.7, Limon’ da %40.0 ve Çukurgöbek’ te %43.3 olarak belirlemiştir. Ortalama sürgün sayısı genotiplere göre oldukça farklılık göstermektedir (Aygün ve Dumanoglu., 2006).

Farklı ahlat genotiplerinde mikroçoğaltım etkinliğini belirlemek amaçlı yapılan bu çalışmada da genotiplerin sürgün oluşturma oranları düşük ve *in vitro* tepkileri birbirinden farklıdır. Bu farklılığın genetik farklılıktan ve ağacın kendiliğinden oluşup gelişme gösterdiği alanın şartlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



BÖLÜM

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Türkiye sahip olduğu farklı iklim koşulları sebebiyle bir çok meyve türünün yetişmesine imkan sağlayan bir konumdadır. Bu nedenle çoğu meyve türü hem doğal hemde yetiştiriciler tarafından başarıyla yetişmektedir. Farklı meyvelerin ekonomik olarak yetiştirilmesi meyveciliğin ülke ekonomisine katkı sağladığını göstermektedir. Meyve türlerinin farklı iklim koşullarında yetişmesi ve çeşitliliğin artması için çalışmalar yapılması ve bu çalışmaların devamlılığının getirilmesi gerekmektedir.

Son yıllarda, yaşanan gelişmeler, içinde bulunduğumuz yüzyılın en önemli doğal kaynaklarının genetik kaynaklar olduğunu göstermektedir. Bir ülkede mevcut gen kaynaklarının korunabilmesi için bitkisel çeşitliliğin muhafaza edilmesi gerekmektedir. Bitki genetik kaynakları, genetik çeşitlilik için önemli kaynak niteliğinde olup, bir bitki türünün gen havuzundaki kalıtsal bilginin çeşitliliği, o türün zenginliğini içermektedir. Bu genetik kaynaklar ile hem çeşit geliştirme hem de anaç özelliği yüksek genotiplerin bulunması ve ülke ekonomisine kazandırılması gerekmektedir.

Bu çalışmada, Türkiye' nin farklı bölgelerinden toplanan olumsuz koşullar ve kuraklık gibi stres koşullarına, aşırı kış soğuklarına dayanıklı, elverişsiz koşullara çok iyi uyum sağlamış bir tür olan ahlat genotiplerinden seçilen genotiplerin kapsamlı bir şekilde incelenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, klonal çoğaltıma uygun tiplerin belirlenmesi amacıyla fidanlık koşullarında gereksinim duyulan uzun üretim sürecini kısaltacak *in vitro* çoğaltım etkinlikleri, söz konusu genotiplerin genetik akrabalık ilişkileri ve bu genotiplerin pomolojik olarak değerlendirilmesi yapılmıştır.

1. Çalışma kapsamında moleküler tanımlama yöntemlerinden SSR markör teknikleri kullanılarak ahlat genotiplerinin genetik olarak parmak izleri çıkarılmış ve genetik benzerlik oranları belirlenmiş, elde edilen grafiksel veriler yardımı ile genotipler arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Çalışmada, ele alınan ahlat genotiplerinin SSR teknikleri ile tanımlanmalarında kullanılacak polimorfizm oranı yüksek primerler belirlenmiştir.



Çalışmada kullanılan primerlere bağlı olarak elde edilen dendogramda genotipler 3 farklı grupta toplanmıştır. Bu gruplarda aynı bölgeden toplanan genotipler genellikle ayrı grupta yer almıştır. Yapılan çalışmada kullanılan SSR tekniğinin başarılı bir şekilde yürütüldüğü, sonraki çalışmalarda bu tekniğin kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

SSR analizlerine göre benzerlik indeksi bakımından en yüksek genetik benzerlik N40 ve N41 genotipleri arasında bulunurken, bunu sırasıyla KY8, KY14 ve N42 genotipleri izlemiştir. En uzak genetik benzerliğe sahip genotip AN64 nolu genotip olarak saptanmıştır.

2. Meyveciliğin ülke ekonomisindeki katkısı diğer tarım ürünleri arasında önemli bir konuma sahiptir. Çalışmada kullanılan ahlat genotiplerinin meyve özellikleri incelendiğinde özellikle kurak ve kıraç alanları değerlendirmede ve pazar değerine sahip genotiplerin mevcut olduğu görülmektedir. Seleksiyon yapılan iller bazında incelendiğinde ise Kayseri de 28 numaralı genotipin ortalama meyve ağırlığı yaklaşık olarak 26 grama ulaşmıştır. Yine benzer şekilde Adana bölgesinden toplanan genotiplerde ortalama meyve ağırlığı 31,73 gram şeklindedir. Nevşehir bölgesinde de iri meyvelere sahip genotipler bulunmakta olup ortalama meyve ağırlığı 28 grama ulaşmıştır. Özellikle Kayseri ve Nevşehir gibi kurak ve kıraç alanlarda iri meyveli ahlat genotipleri yetiştiriciler açısından ekstra gelir kaynağı olabilir.

Ayrıca Ankara, Eskişehir Afyonkarahisar, Denizli, Uşak, Isparta, Konya Kastamonu ve Çankırı gibi çalışmada genotip toplanan illerde de iri meyvelere sahip genotipler mevcut olup, bu yerlerde de ahlat genotipleri meyve olarak yerel pazarda kullanılabilmektedir. Öte yandan bu yöredeki üstün özellik gösteren genotipler anaç olarak kullanım imkanı bulabilir ve yumuşak çekirdekli diğer meyve türlerinin aşılınması ile tarımsal anlamda üretime katkı sağlayabilirler.

3. Yapılan doku kültürü çalışmaları neticesinde ahlat genotipleri arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan genotipler arasında mikroçoğaltım etkinliği yüksek 27 genotip belirlenmiştir. Bu bireylerin konumsal dağılımı incelendiğinde Uşak, Isparta Kastamonu, Çankırı, Konya, Kayseri ve Ankara gibi illerde mikroçoğaltım başarısı oldukça düşüktür. Öte yandan Nevşehir ve Kahramanmaraş illerinden selekte edilen genotiplerde mikroçoğaltım başarısı oldukça fazladır ve hemen hemen bütün genotipleri mikroçoğaltıma olumlu tepkiler vermiştir. Dolayısıyla bu bölgelerde bu genotiplerin çoğaltımları başarıyla yapılabilecek nitelikte olup bunlar, anaç olarak veya kurak ve yarı kurak alanların ağaçlandırılması çalışmalarında kullanılabilecek özelliktedir.

Çalışmada yer alan bazı genotipler (36, 62, 64, 68, 72, 78, 112 nolu genotipler gibi) bulundukları doğal ortamda çok büyük taçlı ağaçlar oluşturmuşlardır (Şekil 5.1 ve 5.2). Bu durum, genotipler, ortama çok iyi uyum sağlamış ve biyotik, abiyotik stres koşullarına dayanabilmiş olduklarının göstergesidir. Bu genotipler tohum bahçelerinin oluşturulması ve ağaçlandırma amaçlı kullanım için önerilebilir.



Şekil 5.1. Afyonkarahisar (üstte) ve Isparta’da (altta) büyük taçlı ahlat ağaçları



Şekil 5.2. Büyük taçlı ahlat genotipleri (Ankara-Beyşehir (üst), Çankırı (alt))

Çalışmada yer alan ahlatların tamamına yakını kurak alanlarda bulunmaktadır. Bununla birlikte, bazı ahlat genotipleri (22, 23, 25, 28, 74 nolu genotipler gibi) yetiştikleri ekstrem koşullar ve kayalık alanlarla dikkati çekmişlerdir (Şekil 5.3). Bu genotipler dayanıklılık açısından değerlendirilebilir ve olumsuz koşullarda ağaçlandırma vb. çalışmalarda kullanılabilir niteliktedir.

Ahlat genotiplerinden bazıları diğerlerine göre meyve ağırlığını yüksek olması ile ön plana çıkmıştır. Bunlardan 15, 20, 28, 36, 43 ve 44 nolu genotipler, ileride yapılacak kırsal kesim ağaçlandırmaları için meyve ağırlığı açısından önerilebilecek genotipler olup aynı zamanda meyveleri ile yöre halkına alternatif gelir getirici araçlar olabilir. Nevşehir yöresinden alınan 44 numaralı genotip ayrı olarak incelendiğinde bu genotipte hem mikroçoğaltım etkinliği hemde pomolojik olarak meyve ağırlığı gibi parametrenin yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Meyve ve çiçeklerinin insan sağlığı için sağladığı yarar, bahçe kültürleri açısından değerlendirildiğinde bazı yumuşak çekirdekli meyve türleri için anaç olarak kullanılma potansiyeli ayrıca ağaç şekli, rengi ve diğer morfolojik özelliklerinden dolayı süs bitkisi olarak peyzajda geniş bir kullanım alanına sahip olması, küresel iklim değişikliği ile özellikle kurak koşullara adapte olmuş türlerin öneminin bir kat daha artması ve ahlatın da bu noktada ülkemizde özellikle kurak koşullara çok iyi adapte olmuş bir genetik materyal olması, bu materyallerin genetik varyasyon düzeyinin ve bunların populasyon yapısının belirlenmesi ile muhtemel orijin gruplarının ortaya konulması ve bunlar arasında vejetatif olarak daha kolay çoğaltılabilen tiplerin belirlenmesi, bu genetik kaynakların yönetimi, kullanımı ve muhafazası açısından çok önemlidir ve yapılacak sonraki çalışmalara kaynak teşkil edecek bir veri tabanı oluşturmaktadır.

Proje sonucunda seleksiyonu yapılan genotipler Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsünde aşılanmış ve aşılanan her genotipten yeterli sürgün elde edildikten sonra minimum 20 adet olacak şekilde anaçlar üzerine aşılanmıştır. Bu genotiplerin fidanları yeterli büyüklüğe ulaştığında Tarım ve Orman Bakanlığı bünyesinde farklı bölgelerde tohum bahçeleri kurulması amacıyla kullanılacaktır. Ayrıca bu genotipler hem Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü bünyesinde hem de Erciyes Üniversitesi bünyesinde kurulacak koleksiyon bahçeleri ile muhafaza altına alınacaktır.



Şekil 5.3. Kayalık, taşlık ve olumsuz şartlarda yetişmiş ahlat genotipleri

Bu çalışmanın materyallerini içeren ahlat gen havuzunun ciddi bir genetik çeşitlilik barındırdığı yapılan bu çalışmayla ortaya konmuş, meyve özellikleri bakımından öne çıkan ve vejetatif çoğaltımda başarılı sonuç gösterebilecek genotipler ve bu genotiplerin lokasyonları belirlenmiştir.



BÖLÜM

KAYNAKLAR

- Acar, Ş., 2007. Ünye (Ordu) ve Çevresinde Yetiştirilen Mahalli Elma ve Armut Çeşitlerinin Morfolojik ve Pomolojik Özellikleri. (yüksek lisans tezi, basılmamış). OÜ Fen Bil. Enst., Ordu.
- Anonim, [https://tr.wikipedia.org/wiki/Ahlat_\(bitki\)](https://tr.wikipedia.org/wiki/Ahlat_(bitki)), 2016.
- Anşin, R., Özkan, Z. C., 1993. Tohumlu Bitkiler (Spermatophyta) Odunsu Taksonlar. KTÜ Orman Fak. Yayın No: 19, Trabzon.
- Ashok K. G., Lukens, L.N., Hunter, D.M., Strommer, J.N., 2006. European and Asian Pears: Simple Sequence Repeat–Polyacrylamide Gel Electrophoresis-based Analysis of Commercially Important North American Cultivars. Hort Science. Print ISSN: 0018-5345 Online ISSN: 2327-9834.
- Aygün, A., Dumanoğlu, H., 2006. Bazı Ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) Genotiplerinde Yaprak Disklerinden Sürgün Organogenesisi. Tarım Bilimleri Dergisi, 13: 54-61.
- Aygün, A., Dumanoğlu, H., 2015. In vitro shoot proliferation and in vitro and ex vitro root formation of *Pyrus elaeagrifolia* Pallas. Front. Plant Sci. 6:225. doi: 10.3389/fpls.2015.00225.
- Bao L., Chen K., Zhang D., Li X. Yuanwen Teng. 2008. An assessment of genetic variability and relationships within Asian pears based on AFLP (amplified fragment length polymorphism) markers.
- Bayazit, S., Imrak, B., Küden, A., Kemal, G. M., 2011. “RAPD analysis of genetic relatedness among selected quince (*Cydonia oblonga* Mill.) accessions from different parts of Turkey” Hort Sci, 38: 134-141.
- Bell, R.L., Quamme, H.A., Layne, R.E.C., Skirvin, R.M. 1996. Pears, In: Fruit Breeding Volume I Tree and Tropical Fruits, Editor: Janick, J. and Moore, J.N. New York, John Wiley and Sons. Inc., 441-513.



- Birinci, S., 2008. Doğu Karadeniz Bölgesinde Doğal Olarak Bulunan Faydalı Bitkiler ve Kullanım Alanlarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s. 71.
- Bonany, J., Dolcet-Sanjuan, R., Claveria, E., Iglesias, I., Asin, L., Simard, M.H. 2005. “Breeding of pear rootstocks. First evaluation of new interspecific rootstocks for tolerance to lime-induced chlorosis and induced vigour under field conditions”. Acta Hort. 671: 239-242.
- Boudabous, M., Mars, M., Marzougui, N., Ferchichi, A., 2013. Micropropagation of apple (*Malus domestica* L. cultivar Douce de Djerba) through *in vitro* culture of axillary buds. Acta Botanica Gallica, Botany Letters, 157: 513-524.
- Cansaran, A., Kaya, Ö. F., Yıldırım, C., 2007. Ovabaşı, Akpınar, Güllüce ve Köşeler Köyleri (Gümüşhacıköy/Amasya) Arasında Kalan Bölgede Etnobotanik Bir Araştırma. Fırat Üniversitesi, Fen ve Müh. Bil. Dergisi, 19 (3): 243-257.
- Challice, J.S., Westwood, M.N., 1973. Numerical taxonomic studies of the genus *Pyrus* using both chemical and botanical characters. Bot J Linn Soc 67 (2): 121-148. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1973.tb01734.x>.
- Cooper, H.D., Spilane, C., Anishetty, N.M., Griffie, P. 1996. “Promoting the identification, conservation and use of wild plants for food and agriculture in the Mediterranean: The FAO global plan of action”. CIHEAM - Options Mediterraneennes, 17-31.
- Davis, P.H., 1972, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburg at the University Press., 4.
- Dumanoglu, H., Aygün, A., Alay, A., Güneş, N.T., Özkaya, M.T., 1999. Ahlatın (*Pyrus elaeagrifolia* pall.) yeşil çeliklerinde köklenme ve sürme üzerine çelik alma zamanı IBA ve Putrescine’in etkileri. Tr. J. of Agriculture and Forestry, 23: 559-565.
- Edizer, Y., Bekar, T., 2006. Tokat Merkez İlçede Yetiştirilen Bazı Yerel Elma Çeşitlerinin Fenlojik ve Pomolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. GOP, Ziraat Fak. Dergisi, 24 (1): 1-8.
- Erdoğan, V., Aygün, A., Şan, B., Koltarla, A., Güneş, N., Dumanoglu, H. 2007. ‘Ankara’ armudu (*Pyrus communis* L.) klonlarının RAPD tekniği ile moleküler analizi. Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Bildiriler kitabı, Cilt 1: 56-59.
- Escribano, S., Lazaro, A. 2009. Agro-morphological diversity of Spanish traditional melons (*Cucumis melo* L.) of the Madrid provenance. Genet. Resour. Crop Evol. 56: 481-497.

- Ford-Loyd, B.V., 2001. Genotyping in Plant Genetic Resources. In: Plant Genotyping: The DNA Fingerprinting of plants (ed. R.J. Henry), pp. 59-82. CAB International, UK.
- Forsline, P. L., Aldwinckle, H. S., Dickson, E. E., Luby, J. J. Hokanson, S. C. 2010. Collection, Maintenance, Characterization, and Utilization of Wild Apples of Central Asia, in Horticultural Reviews: Wild Apple and Fruit Trees of Central Asia, 29 (ed J. Janick), John Wiley & Sons, Inc., Oxford, UK. doi: 10.1002/9780470650868.ch1.
- Forte, A. V., Ignatov, A.N., Ponomarenko, V.V., Dorokhov, D.B., Savelyev, N.I. 2002. Phylogeny of the *Malus* (Apple Tree) species, inferred from the morphological traits and molecular DNA analysis. *Rus. J. of Genet.* 3:1150–1160.
- Gasi, F., Simon, S., Pojskic, M., Kurtovic, N, Pejic, I., 2010. Genetic assessment of apple germplasm in Bosnia and Herzegovina using microsatellite and morphologic markers. *Sci. Hort.*, doi:10.1016/j.scienta.2010.07.002.
- Gülşen, O., Mutlu, N., 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları, *Alatarım*, 4 (2): 27-37.
- Gültekin, H.C., Gezer, A., Yücedağ, C., 2006. Bazı Ahlat (*Pyrus L.*) Türlerinin Tohum Özellikleri ve Çimlendirme Olanakları Üzerine Araştırmalar. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 2, 80-88.
- Karakaya O, Balta MF, Kaya T ve Uzun S (2015).Yağlıdere (Giresun) elmaları: fenolojik ve pomolojik özellikler. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 25-29 Ağustos 2015, Bahçe Özel Sayı-VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri, Cilt 1, s. 925-929, Çanakkale.
- Karlıdağ, H., Eşitken, A., 2006. Yukarı Çoruh Vadisinde Yetişen Elma ve Armut Çeşitlerinin Bazı Pomolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. *YYÜ, Ziraat Fak. Dergisi*, 16 (2): 93-96 s.
- Kaya, T , Balta, F , Şensoy, S . (2015). Fruit quality parameters and molecular analysis of apple germplasm resources from Van Lake Basin, Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39 (6), 864-875.
- Keçeci, L.D., 2017. Hakkari Yöresi Üstün Nitelikli Ahlat (*Pyrus elaeagnifolia L.*) Genotiplerinin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 53 s.



- Koltarla, A., 2007. Ahlatın (*Pyrus elaeagrifolia* Pallas) bodurlaştırıcı ara anaç “OH x F-333” ile birlikte in vitro çoğaltımında mikro aşılama tekniğinin kullanımı. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Litz, R. E. and D. J. Gray. 1992. Organogenesis and Somatic Embriyogenesis. P. 3-34. In: F. A. Hammerschlag and R. E. Litz (eds). Biotechnology of Perennial Fruit Crops. CABI, University Press, Cambridge.
- Lombard, P.B. and Westwood, M.N., 1987. Pear rootstocks, In: Rootstocks for Fruit Crops. Rom, R.C. and Carlson, R.F. (eds), A Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons, Inc., pp. 145–183, New York.
- Matsumoto, K., Tamura, F., Chun, J.P., Tanabe, K. 2006. “Native Mediterranean *Pyrus* rootstock, *P.amygdaliformis* and *P.elaeagrifolia*, present higher tolerance to salinity stress compared with Asian natives”. J. Japanese Soc. Hort. Sci. 75, 450-457.
- Monte-Corvo L., Cabrita L., Oliveira C. and Leitão J., 2000. Assessment of genetic relationships among *Pyrus* species and cultivars using AFLP and RAPD markers. Genetic Resources and Crop Evolution 47: 257–265.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-97.
- Özbek, S., 1978. Özel Meyvecilik. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Yayın No:128, Adana. 486 s.
- Özçağırın, R., Ünal, A., Özeker, E., İsfendiyaçoğlu, M. 2005. Ilıman İklim Meyve Türleri (Yumuşak Çekirdekli Meyveler Cilt II), Ege Üniversitesi Basımevi, Yayın No: 556, İzmir, 200 s.
- Özkan, Z. C., Akbulut, S., 2005. Ladin Ormanlarındaki Önemli Bazı Şifalı Bitkiler. Ladin Sempozyumu Bildiriler Kitabı, I. Cilt, s. 26-34.
- Özlük, A., 2015. Merzifon Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Ahlat’ ların (*Pyrus elaeagnifolia* L.) Seleksiyonu, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Richards, C.M., Volk, G.M., reilley, A.a., Henk, A.D., et al. 2009. Genetic diversity and population structure in *Malus sieversii*, a wild progenitor species of domesticated apple. Tree Genetics & Genomes, 5:339–347. Volk, G.M., Richards, C.M., Henk, A.D., Reilley, A., Miller, D.D., Forsline, P.L. 2009. Novel Diversity Identified in a Wild Apple Population from the Kyrgyz Republic. Hortscience, 44: 516-518.

- Schuelke, M. (2000) An Economic Method for the Fluorescent Labelling of PCR Fragments. *Nature Biotechnology*, 18, 233-234.
- Shibli, R.A., Ajlouni, M.M., Jaradat, A., Aljanabi, S., Shatnawi, M., 1997. Short Communication Micropropagation in wild pear (*Pyrus syrica*). *Scientia Horticulturae* 68, 237-242.
- Şenyurt, M , Kalkışım, Ö , Karadeniz, T . (2015). Gümüşhane yöresinde yetiştirilen bazı standart ve mahalli elma (*Malus communis* L.) çeşitlerinin pomolojik özellikleri. *Akademik Ziraat Dergisi*, 4 (2), 59-64.
- Thakur A., Kanwar J.S., 2008. Micropropagation of ‘Wild Pear’ *Pyrus pyrifolia* (Burm F.) Nakai.I. Explant Establishment and Shoot Multiplication. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 36 (1), 103-108.
- Uzun, A., Ozongun, S., Gulsen, O., Yılmaz, K.U., Kaymak, S., Ercisli, S., 2016. Determination of genetic relatedness among Turkish apple germplasm based on ISSR markers. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 89, 82-88 (2016), DOI:10.5073/JABFQ.2016.089.010.
- Volk, G.M., Richards, C.M., Henk, A.D., Reilley, A., Miller, D.D., Forsline, P.L. 2009. Novel Diversity Identified in a Wild Apple Population from the Kyrgyz Republic. *Hortscience*, 44: 516-518.
- Yeo, Y.D., Reed, M.B., 1995. Micropropagation of Three *Pyrus* Rootstocks. *Hortscience* 30(3):620–623.
- Yerlitürk, F. Ü., Arslan, O., Sinan, S., Gencer, N., Özensoy, Ö., 2008. Characterization of Polyphenoloxidase from Wild Pear (*Pyrus elaeagnifolia*). *Journal of Food Biochemistry*, 32: 368–383.
- Yiğit, M.A., 2017. Farklı ahlal genotiplerinin mikroçoğaltım etkinliğinin belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Yılmaz K.U., Uzun A., Çam M., Ercişli S., 2015. Some morphological and fruit characteristics of naturally grown *Pyrus elaeagnifolia* Pall. of Kayseri Province (Central Anatolia, Turkey), *Genetic Resources and Crop Evolution*, 62: 711-720.
- Zhang, Z., Chen, X., He, T., Liu, X., Feng, T., Yuan, Z. 2007. Genetic structure of *Malus sieversii* population from Xinjiang, China, revealed by SSR Markers. *J. of Genet. and Genomics*, 34: 947-955.

[illegible]

[illegible]





www.tarimorman.gov.tr/cem