

**Türk Erik (*Prunus cerasifera*) Genetik Kaynaklarında
Genetik Çeşitlilik Analizleri**

Program Kodu: 1002

Proje No: 118Z172

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Anne FRARY

Araştırmacı(lar):

Danışman(lar):

Bursiyer(ler):

MAYIS 2019
İZMİR

Önsöz

Prunus türleri, lezzetli tadı ve yüksek besin içeriği olan popüler meyvelerinden ve ekonomik olarak değerli bir ürün olmasından dolayı dünya genelinde yetiştirilmektedir. Türkiye önemli bir erik üreticisi olmasına rağmen, yüksek ekonomik karlılık için üretimin artırılması gerekmektedir. Bu nedenle, yüksek verimde erik çeşitlerinin geliştirilmesi için moleküler araçlar kullanılmalıdır. Bu çalışma, SRAP markör sistemini kullanarak moleküler araçları erik ıslah programlarına entegre etmeyi amaçlamıştır. Bu amacı gerçekleştirmek için, Türkiye'nin değişik yörelerinden toplanan 66 adet genotipi içeren bir *Prunus cerasifera* Ehrhart popülasyonunun moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Bu karakterizasyon çalışması, erikte ıslah programlarını başlatmak için değerli bilgileri sağlayacak olan popülasyon içerisindeki mevcut genetik çeşitlilik düzeyini ve popülasyon yapısını ortaya çıkaracaktır. Bu proje TÜBİTAK tarafından 1002 - Hızlı Destek Programı kapsamında Prof. Dr. Anne Frary'ye sağlanan destekle yürütülmüştür.

İçindekiler

Tablo listeleri	iv
Şekil listeleri	v
Özet	vi
Abstract	vii
Giriş	1
Gereç ve Yöntem	2
Bitki Materyali	2
DNA İzolasyonu	4
SRAP Analiz Metotları	4
SSR Analiz Metotları	5
SSR Primerlerinin Geliştirilmesi	6
Veri Analiz Metotları	7
Bulgular	8
DNA konsantrasyonları	8
SRAP analizler sonuçları	9
SSR analiz sonuçları	11
Eriğe özgü yeni SSR primerleri	14
Veri analizleri	16
SRAP veri analizleri	16
SSR veri analizleri	23
Sonuç ve Tartışma	32
Kaynaklar	34

Tablo Listeleri

Tablo 1. Projede kullanılan genotipler	2
Tablo 2. Analizlerde kullanılan SRAP primerlerinin listesi	4
Tablo 3. Projede kullanılan daha önce geliştirilmiş SSR primerlerinin listesi	6
Tablo 4. Erik örneklerine ait DNA konsantrasyonları	8
Tablo 5. Tüm markörler için ortalama genetik çeşitlilik değerleri ve hata payları	10
Tablo 6. SSR markörüne ait genetik çeşitlilik değerleri ve ilişkili hata payları	12
Tablo 7. Geliştirilen SSR primerlerinin listesi	14
Tablo 8. <i>Prunus cerasifera</i> alt popülasyonlarının dağılımı	17
Tablo 9. Erik bireylerinin Structure analizine göre en uygun alt popülasyonları	25
Tablo 10. Proje dahilindeki erik popülasyonlarının AMOVA analizi	31

Şekil Listeleri

Şekil 1. EM1-ME1 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel fotoğrafı	11
Şekil 2. Cps33 markörüne ait allel profilini gösteren agaroz jel görüntüsü	13
Şekil 3. Pceg5 markörüne ait allel profilini gösteren agaroz jel fotoğrafı	13
Şekil 4. SRAP verileri ile elde edilen her bir alt popülasyona (K) ait ΔK değerleri	20
Şekil 5. SRAP verileri ile elde edilen alt popülasyonları için standart hata payı	20
Şekil 6. SRAP verileri ile elde edilen popülasyon Q grafiği	21
Şekil 7. <i>P. cerasifera</i> genotipleri arasındaki dendrogram	22
Şekil 8. <i>P. cerasifera</i> genotipleri için oluşturulan PCoA grafiği	23
Şekil 9. SSR verileri ile elde edilen her bir alt popülasyona (K) ait ΔK değerleri	27
Şekil 10. SSR verileri ile elde edilen alt popülasyonlarının için standart hata payı	27
Şekil 11. SSR verileri ile elde edilen alt popülasyonlarının Structure Q grafiği ($K=2$)	28
Şekil 12. SSR verileri ile elde edilen alt popülasyonlarının Structure Q grafiği ($K=5$)	28
Şekil 13. SSR analizleri sonucu <i>P. cerasifera</i> genotiplerinin dendrogram grafiği	29
Şekil 14. <i>P. cerasifera</i> genotipleri için oluşturulan PCoA grafiği	30

Özet

Dünyada üretiminde beşinci sırada yer alan erik, Türkiye'de ekonomik açıdan önemli ve popüler bir meyvedir. Bu meyve, güzel kokusu ve piyasalarda lezzetli tadıyla tüketiciler için caziptir. Buna ek olarak, zengin mineral, vitamin ve fitokimyasal içeriği ile önemli bitki türüdür. *Prunus* cinsi üç gruba ayrılmıştır (Avrupa, Asya ve Amerikan erikleri). Bu çalışmada kullanılan *Prunus cerasifera* Ehrhart Avrupa grubuna aittir. *Prunus cerasifera* ($2n = 2x = 16$), bir erik tomurcuk türüdür. Çok sayıda alt tür olduğu için, Türkiye'nin birçok yerinde doğal olarak yetişmektedir. Ülkemiz *Prunus cerasifera* Ehrhart genetik kaynaklarının sahip olduğu genetik çeşitlilik düzeyi ve populasyon yapısı moleküler teknikler kullanılarak henüz incelenmemiştir. Bu projede, sekansla ilişkili amplifiye polimorfizm (SRAP) markörleri kullanılarak Türkiye'den toplanan 66 adet *Prunus cerasifera* genetik kaynağındaki genetik çeşitlilik düzeyi ve populasyon yapısı SRAP markör kombinasyonları uygulanarak çalışılmıştır. SRAP markör kombinasyonları makul polimorfizm gösterdikleri için bu tip çalışmalarda kullanılmaktadır. Dice katsayısı ve ağırlıksız komşu birleştirme algoritması kullanılarak bir dendrogram oluşturulmuştur. Populasyon yapısı analizi ile alt popülasyonu grupları belirlenmiştir. Genetik çeşitlilik ve populasyon yapısı verileri, *Prunus cerasifera* Ehrhart genetik kaynakları için yapılacak ıslah çalışmaları stratejilerini belirlemek için yararlı olacaktır.

Abstract

Plum is an economically important and popular fruit in Turkey, which ranks in sixth place in world plum production. This fruit is attractive to consumers with its beautiful scent and its delicious taste. In addition, it is an important plant species with its wealthy mineral, vitamin and phytochemical content. The genus *Prunus* is classified into three groups (the European, the Asian and the American plums). *Prunus cerasifera* Ehrhart ($2n=2x=16$), the species studied in this project, belongs to the European group and is a Turkish plum species. Since there are many subspecies, this tree can grow naturally in many parts of Turkey. The genetic diversity and structure of *Prunus cerasifera* have not been previously studied using molecular techniques. Here, we studied the genetic diversity of 66 *Prunus cerasifera* accessions collected from Turkey at the molecular level using the sequence related amplified polymorphism (SRAP) marker system. A dendrogram was constructed using the Dice coefficient and unweighted neighbor joining algorithm. Population structure analysis identified subpopulations. This is the first genetic diversity analysis of *Prunus cerasifera* using SRAP markers. Genetic diversity and population structure data can be useful to determine breeding strategies in *P. cerasifera* accessions.

Giriş

Prunus, Rosaceae ailesine mensup bir cins olup; erik, şeftali, kayısı ve kiraz gibi ekonomik önemi yüksek olan birçok çekirdekli meyveyi bünyesinde barındırmaktadır (Potter vd., 2007). Bu meyvelerin arasında erik, meyvelerinin lezzeti ve yüksek besin içeriği nedeniyle dünya çapında yaygın olarak yetiştirilen, ekonomik açıdan önem arz eden bir türdür. Erik; Kuzey Yarımküre'de daha çok ılıman bölgelerde yetişmekteyken, zaman içinde tüm dünyaya yayılmıştır (Oz vd., 2013).

Dünya üzerinde üç ana erik tipi yayılış göstermektedir. Bunlar; Avrupa, Asya ve Amerikan eriğidir. Avrupa erikleri; *Prunus domestica*, *Prunus spinosa*, *Prunus avium*, *Prunus mahaleb*, *Prunus institia* ve *Prunus cerasifera* olarak sınıflandırılmıştır. Türkiye'de en çok *Prunus cerasifera* yaygındır ve 2017 yılına bağlı FAO verilerine göre Türkiye'de yıllık 136.513 hg/ha miktarda erik üretilmiştir (FAOSTAT, 2017). Ancak, Türkiye'nin erik üreticisi olarak yüksek ekonomik kazançlar elde edebilmesi için, yıllık erik üretim miktarının artırılması gerekmektedir. Bu nedenle, yeni erik türlerinin geliştirilmesi ihtiyacı doğmuştur. Bu ihtiyaca kısa sürede cevap verebilecek olan yaklaşım, moleküler yöntemlerin kullanılmasıdır. Geleneksel yöntemlerle çeşit geliştirmek zaman, emek ve maddi kayıplara sebep olurken, moleküler metotların kullanılması ile bu kayıpların önüne geçilerek, yüksek verim gibi istenilen özelliklerin yeni erik çeşitlere aktarımı kolaylaşacaktır.

Moleküler araştırmalar; tehlikede olan endemik bitkilerin korunması, türler arası veya türler içi taksonomik ilişki derecesinin belirlenmesi, gen akışının ve kirliliğinin araştırılması konularında oldukça faydalıdır. DNA polimorfizminin araştırılmasında en çok kullanılan methodlar; Restrüksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi - RFUP (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP), Rastgele Çoğaltılan Polimorfik DNA - RÇPD (Random Amplified Polymorphic DNA), Güçlendirilmiş Fragment Uzunluk Polimorfizmi - GFUP (Amplified Fragment Length Polymorphism - AFLP), Basit Dizi Tekrarları - BDT (Simple Sequence Repeat - SSR), ve bu markörlerin haricinde, Sekansla İlişkili Amplifiye Polimorfizm - SIAP (Sequence Related Amplified Polymorphism - SRAP) (Li ve Quiros, 2001) markörleri de, fazla sayıda polimorfik allel vermesi açısından önemli bir genetik markördür. Erikte moleküler araştırmalar sınırlı sayıda olup, bu tür denemelerin ilk örneklerinden birisi, 1999 yılında Shimada vd., (1999) yürüttüğü genetik çeşitlilik çalışmasıdır. Bu çalışmada, 42 erik çeşidini RAPD markörleri ile taramışlardır.

Bu yılı izleyen yıllarda Dirlewanger vd. (2002), Liu vd. (2002) ve Makovics vd. (2017) benzer genetik çeşitlilik araştırmaları gerçekleştirmişlerdir. Liu ve arkadaşlarının çalışmasında, 103

içsel BDT – IBDT (Inter Simple Sequence Repeat – ISSR) markörü 104 genotipe ait genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılmıştır (Liu vd., 2002). Ayrıca, DIÇP analizleri ise, günümüze kadar erik haricindeki diğer bazı *Prunus* türlerinde genetik çeşitliliği tayin etmek amacıyla kullanılmıştır. *Prunus* alt türlerinden, 47 adet Mahaleb kokulu kiraz genotipi (*P. mahaleb*) ile 66 adet tatlı kiraz genotiplerine ait (*P. avium*) genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısı, 13 adet DIÇP markörü kullanılarak incelenmesi örnek olarak verilebilir (Abedian vd., 2012). Bu tür genetik araştırmalar erik popülasyonlarının nitelikli derecede genetik çeşitliliğe sahip olduğunu göstermiştir. Ancak erikte Türkiye’de bu kapsamda yapılmış bir genetik çeşitlilik çalışması bulunmamaktadır.

Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü’nde bulunan erik çeşitleri, morfolojik ve agronomik analizlere tabii tutulmuşlardır, ancak henüz genetik bir çalışma yürütülmemiştir. Yürütülen bu çalışma ile, İzmir – Menemen’de yer alan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü bünyesindeki *Prunus cerasifera* erik çeşitlerinin genetik farklılık veya benzerliklerinin tespit edilmesi hedeflenmiştir. Böylece, Türkiye’de yetişmekte olan *P. cerasifera* çeşitleri için gelecekte yürütülmesi hedeflenen erik ıslahı çalışmalarına başlamaya önemli katkı sağlayacak olan genetik veriler yayınlanmış olacaktır.

Gereç ve Yöntem

Bitki Materyali

Balıkesir (Marmara Bölgesi), İzmir, Aydın, Manisa, Muğla ve Denizli (Ege bölgesi) şehirlerine ait 66 adet *Prunus cerasifera* genotipi; Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü (ETAE; Menemen, İzmir) bünyesinden temin edilmiş ve deney materyali olarak kullanılmıştır. Temin edilen genetik materyale ait genotip numaraları ve ait olduğu lokasyon bilgileri gibi veriler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Projede kullanılan genotiplerin Bitki Tanımı (BT) (uluslararası isimlendirmesi ise şöyledir; Plant Identification number: PI number) numarası, yerel isimleri, toplandıkları lokasyonlar ve analizlerde kullanılan popülasyon isimleri aşağıda verilmiştir.

Sıra Numarası	BT numarası	Yerel İsmi	Lokasyon	Popülasyon İsmi
1	TUR0010131	Can	İzmir	Pop 1
2	TUR0010132	Can	İzmir	Pop 1
3	TUR0010139	Can	Aydın	Pop 1
4	TUR0010143	Can	İzmir	Pop 1
5	TUR0010146	Can	Balıkesir	Pop 1
6	TUR0010150	Can	İzmir	Pop 1
7	TUR0010151	Can	İzmir	Pop 1
8	TUR0010153	Can	İzmir	Pop 1

9	TUR0010155	Can	İzmir	Pop 1
10	TUR0010158	Can	İzmir	Pop 1
11	TUR0010163	Can	Manisa	Pop 1
12	TUR0010164	Can	Manisa	Pop 1
13	TUR0010165	Can	Manisa	Pop 1
14	TUR0010167	Can	Balıkesir	Pop 1
15	TUR0010171	Can	Muğla	Pop 1
16	TUR0010172	Can	Muğla	Pop 1
17	TUR0010181	Can	Manisa	Pop 1
18	TUR0010182	Can	İzmir	Pop 1
19	TUR0010183	Can	İzmir	Pop 1
20	TUR0010184	Can	İzmir	Pop 1
21	TUR0010188	Can	İzmir	Pop 1
22	TUR0010189	Can	İzmir	Pop 1
23	TUR0010190	Can	Aydın	Pop 1
24	TUR0010270	Can	Bilinmiyor	Pop 1
25	TUR0010608	Can	Bilinmiyor	Pop 1
26	TUR0010133	Papaz	Manisa	Pop 2
27	TUR0010135	Papaz	Denizli	Pop 2
28	TUR0010137	Papaz	Aydın	Pop 2
29	TUR0010141	Papaz	İzmir	Pop 2
30	TUR0010142	Papaz	İzmir	Pop 2
31	TUR0010145	Papaz	Balıkesir	Pop 2
32	TUR0010149	Papaz	İzmir	Pop 2
33	TUR0010152	Papaz	İzmir	Pop 2
34	TUR0010154	Papaz	İzmir	Pop 2
35	TUR0010156	Papaz	Aydın	Pop 2
36	TUR0010160	Papaz	İzmir	Pop 2
37	TUR0010173	Papaz	Muğla	Pop 2
38	TUR0010174	Papaz	Muğla	Pop 2
39	TUR0010175	Papaz	Aydın	Pop 2
40	TUR0010176	Papaz	Aydın	Pop 2
41	TUR0010177	Papaz	İzmir	Pop 2
42	TUR0010178	Papaz	İzmir	Pop 2
43	TUR0010179	Papaz	Manisa	Pop 2
44	TUR0010180	Papaz	Manisa	Pop 2
45	TUR0010185	Papaz	İzmir	Pop 2
46	TUR0010186	Papaz	İzmir	Pop 2
47	TUR0010130	Havran	İzmir	Pop 3
48	TUR0010147	Havran	Bilinmiyor	Pop 3
49	TUR0010157	Havran	İzmir	Pop 3
50	TUR0010159	Havran	İzmir	Pop 3
51	TUR0010187	Havran	İzmir	Pop 3
52	TUR0010140	Kebap	İzmir	Pop 4
53	TUR0010162	Kebap	Manisa	Pop 4
54	TUR0010134	Akpapaz	Manisa	Pop 5
55	TUR0010144	Bekiroğlu	İzmir	Pop 5
56	TUR0010191	Halil Efendi	Tokat	Pop 5
57	TUR0010170	Ödemiş	Balıkesir	Pop 5

58	TUR0010148	Şam	Balıkesir	Pop 5
59	TUR0010168	Yeşil Şam	Balıkesir	Pop 5
60	TUR0010169	Sarı Şam	Balıkesir	Pop 5
61	TUR0010161	Bilinmiyor	Manisa	Pop 6
62	TUR0010252	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Pop 6
63	TUR0010604	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Pop 6
64	TUR0010605	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Pop 6
65	TUR0010606	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Pop 6
66	TUR0010607	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Pop 6

DNA İzolasyonu

Genomik DNA'lar, 66 adet örneğe ait taze erik yapraklarından modifiye edilmiş olan CTAB methodu ile izole edilmiştir (Doyle ve Doyle, 1990). Tüm *Prunus* örneklerine ait DNA konsantrasyonları (ng/µl), Nanodrop ND-1000 spektrofotometresi ile (Thermo Scientific™, Vantaa, Finland) Abs 260/280 (nm) ve Abs 260/230 (nm)'de ölçülmüştür.

SRAP Analizleri

Polimeraz zincir reaksiyonları (PZR'lar) 47 adet SRAP primer kombinasyonu ile gerçekleştirilmiştir (Li ve Quiros 2001; Lin vd., 2005). Her bir 25 µl PZR reaksiyonundaki kimyasal içerik, 2.5 µl Tango Tamponu, 1 µl (20 ng) DNA örneği, 2 µl Mg²⁺ (25 mM), 1.5 µl dNTP (0.2 mM), 0.5 µl ileri primer (10pmol) (Tablo 2), 0.5 µl geri primer and 1 µl Taq DNA polymerase (0.25 U)'dan oluşmuştur. Reaksiyon koşulları ise şöyledir: 94 °C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonunu izleyen 94 °C'de 1 dakika 5 döngü, 35 °C'de 1 dakika bağlanma, 72 °C'de 1 dakika uzama olarak gerçekleştirilmiştir. Bu döngüleri, 94 °C'de 1 dakika 35 döngü, 50°C'de 1 dakika bağlanma ve 72°C'de 1 dakika uzama döngüleri izlemiştir. Bu döngüleri 10 dakikalık 72°C'de son uzama döngüsü takip etmiştir. PZR ürünleri, %2'lik agaroz jelde (Lonza, Sea Kem® LE Agarose) 110 Volt'ta yürütülmüştür ve UV ışığı altında görüntülenmiştir (BIO-RAD, California, USA).

Tablo 2. Analizlerde kullanılan SRAP primerlerinin listesi

1	Me1-Em1	TGAGTCCAAACCGGATA	25	Me5-Em5	TGAGTCCAAACCGGAAG
		GACTGCGTACGAATTAAT			GACTGCGTACGAATTAAC
2	Me2-Em1	TGAGTCCAAACCGGAGC	26	Me6-Em5	TGAGTCCAAACCGGTAA
		GACTGCGTACGAATTAAT			GACTGCGTACGAATTAAC
3	Me3-Em1	TGAGTCCAAACCGGAAT	27	Me1-Em6	TGAGTCCAAACCGGATA
		GACTGCGTACGAATTAAT			GACTGCGTACGAATTGCA
4	Me4-Em1	TGAGTCCAAACCGGACC	28	Me2-Em6	TGAGTCCAAACCGGAGC
		GACTGCGTACGAATTAAT			GACTGCGTACGAATTGCA
5	Me5-Em1	TGAGTCCAAACCGGAAG	29	Me3-Em6	TGAGTCCAAACCGGAAT
		GACTGCGTACGAATTAAT			GACTGCGTACGAATTGCA
6	Me1-	TGAGTCCAAACCGGATA	30	Me4-	TGAGTCCAAACCGGACC

	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC		Em6	GACTGCGTACGAATTGCA
7	Me2-Em2	TGAGTCCAAACCGGAGC	31	Me5-Em6	TGAGTCCAAACCGGAAG
		GACTGCGTACGAATTTGC			GACTGCGTACGAATTGCA
8	Me3-Em2	TGAGTCCAAACCGGAAT	32	Me1-Em7	TGAGTCCAAACCGGATA
		GACTGCGTACGAATTTGC			GACTGCGTACGAATTCAA
9	Me4-Em2	TGAGTCCAAACCGGACC	33	Me2-Em7	TGAGTCCAAACCGGAGC
		GACTGCGTACGAATTTGC			GACTGCGTACGAATTCAA
10	Me5-Em2	TGAGTCCAAACCGGAAG	34	Me3-Em7	TGAGTCCAAACCGGAAT
		GACTGCGTACGAATTTGC			GACTGCGTACGAATTCAA
11	Me1-Em3	TGAGTCCAAACCGGATA	35	Me5-Em7	TGAGTCCAAACCGGAAG
		GACTGCGTACGAATTGAC			GACTGCGTACGAATTCAA
12	Me2-Em3	TGAGTCCAAACCGGAGC	36	Me6-Em7	TGAGTCCAAACCGGTAA
		GACTGCGTACGAATTGAC			GACTGCGTACGAATTCAA
13	Me3-Em3	TGAGTCCAAACCGGAAT	37	Me9-Em7	TGAGTCCAAACCGGATG
		GACTGCGTACGAATTGAC			GACTGCGTACGAATTCAA
14	Me4-Em3	TGAGTCCAAACCGGACC	38	Me1-Em8	TGAGTCCAAACCGGATA
		GACTGCGTACGAATTGAC			GACTGCGTACGAATTCTC
15	Me5-Em3	TGAGTCCAAACCGGAAG	39	Me2-Em8	TGAGTCCAAACCGGAGC
		GACTGCGTACGAATTGAC			GACTGCGTACGAATTCTC
16	Me1-Em4	TGAGTCCAAACCGGATA	40	Me3-Em8	TGAGTCCAAACCGGAAT
		GACTGCGTACGAATTTGA			GACTGCGTACGAATTCTC
17	Me2-Em4	TGAGTCCAAACCGGAGC	41	Me4-Em8	TGAGTCCAAACCGGACC
		GACTGCGTACGAATTTGA			GACTGCGTACGAATTCTC
18	Me3-Em4	TGAGTCCAAACCGGAAT	42	Me5-Em8	TGAGTCCAAACCGGAAG
		GACTGCGTACGAATTTGA			GACTGCGTACGAATTCTC
19	Me4-Em4	TGAGTCCAAACCGGACC	43	Me1-Em9	TGAGTCCAAACCGGATA
		GACTGCGTACGAATTTGA			GACTGCGTACGAATTCTC
20	Me5-Em4	TGAGTCCAAACCGGAAG	44	Me2-Em9	TGAGTCCAAACCGGAGC
		GACTGCGTACGAATTTGA			GACTGCGTACGAATTCTC
21	Me1-Em5	TGAGTCCAAACCGGATA	45	Me3-Em9	TGAGTCCAAACCGGAAT
		GACTGCGTACGAATTAAC			GACTGCGTACGAATTCTC
22	Me2-Em5	TGAGTCCAAACCGGAGC	46	Me4-Em9	TGAGTCCAAACCGGACC
		GACTGCGTACGAATTAAC			GACTGCGTACGAATTCTC
23	Me3-Em5	TGAGTCCAAACCGGAAT	47	Me6-Em6	TGAGTCCAAACCGGTAA
		GACTGCGTACGAATTAAC			GACTGCGTACGAATTCTC
24	Me4-Em5	TGAGTCCAAACCGGACC			
		GACTGCGTACGAATTAAC			

SSR Analizleri

SSR analizleri için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile DNA çoğaltımları, örnek başına 25 µl'lik hacimde gerçekleştirilmiştir. Bu reaksiyonda kullanılan kimyasallar sırasıyla; 2.5 µl 10X Buffer, 2 µl (50 ng) DNA örneği, 2 µl Mg₂⁺ (25 mM), 1.5 µl dNTP (0.2 mM), 0.5 µl ileri primer (10pmol), 0.5 µl geri primer (Tablo 3) ve 1 µl Taq DNA polimeraz enzimidir (0.25 U). Reaksiyonlar GeneAmp PCR System 9600 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) cihazında birbirini izleyen bir dizi reaksiyon koşulunda gerçekleştirilmiştir: 95°C'de 5 dakika

başlangıç denatürasyonu, (35 döngü x [94°C'de 1 dakika denatürasyon, 55 – 60°C'de 1 dakika primerlerin bağlanması, 72°C for 1 dakika uzama]) ve 72°C'de 10 dakika final uzaması gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri %3'lük agaroz jelde (Lonza, Sea Kem® LE Agarose) 1X TAE buffer ile elektroforeze tabii tutulmuş, Etidyum Bromür ile boyanıp, UV altında görüntülenmiştir (BIO-RAD, California, USA).

Tablo 3. Projede kullanılan daha önce geliştirilmiş SSR primerlerinin listesi

Primer İsmi	İleri Primer Dizisi (5'-3')	Geri Primer Dizisi (5'-3')
BPPCT008	ATGGTGTGTATGGACATGATGA	CCTCAACCTAAGACACCTTCACT
BPPCT028	TCAAGTTAGCTGAGGATCGC	GAGCTTGCCTATGAGAAGACC
BPPCT040	ATGAGGACGTGTCTGAATGG	AGCCAAACCCCTCTTATACG
CPDCT025	GACCTCATCAGCATCACCAA	TTCCCTAACGTCCTGACAC
CPSCT011	ATTTGGGTTTGC GACTCAAG	ACTCATCCCTTGCCCTTTCT
CPSCT018	AGGACATGTGGTCCAACCTC	GGTTCCCGTTACTTTTCAT
CPSCT021	GCCACTTCGGCTAAAAGAGA	TCCATATCTCCTCCTGCTTGA
CPSCT022	TGTCTGCCTCTCATCTTAACCA	TTCTTGAGCAGCCATCTTCT
CPSCT030	CAACAGCGAGTGTACGTTT	AGGCAACGGACAAAATCTG
CPSCT033	TCCTCATTTGAGTGTGTGGA	TGCCCAATTTGAAACTTTGT
CPSCT034	AGGTGGACAATAGCCGTGAT	TTTCCAGACCCTGAGAAAGC
CPSCT042	TGGCTCAAAGCTCGTAGTG	CCAACCTTTCGTTTCGTCTC
CPSCT044	CCAGCACAGAGAAAACGATG	GAGCTCCTACTCTGAGTCTGAAAA
EPDCU3117	CAGAGGGAACAGTGTGAGCA	TGTTGTTGTGACCCCTGAAA
CPSCT002	CATGTGCCTCAATGCATCTT	CGGCCACAAAATTGAACTA
CPSCT005	CTGCAAGCACTGCGGATCTC	CCCATATCCCAACCCATTA
CPSCT008	TGGATCCAATCCAAGAGTCTG	GCAGCAAGTTGTTCTTGGTTC
CPSCT0013	CCTGCAAGAAAGGCAAAAAG	GGTTACGCCTATCCATGGTC

Not: N/A; primere ait dizi bilgisinin verilememekte olduğunu ifade etmek amacıyla kullanılmış bir kısaltmadır.

SSR Primerlerinin Geliştirilmesi

Prunus cerasifera genomu sekans bilgisi, İleri Jenerasyon Dizi Analizi Teknolojisi ile analiz edilmiş, eşleşmiş sonlu okumalar (“paired-end reads”) içeren ham veriler, NCBI'nin SRA veri bankasından elde edilmiştir. “SRR4036106” etiketli Illumina HiSeq 2000 cihazı kullanılarak yapılan çalışmaya ait veriler adaptör ve bağlayıcı dizi bilgisi için “fastqc” algoritması ile analiz edilmiş ve herhangi bir yapay kontaminanta rastlanmamıştır. İşlenmiş okumalar, insan kaynaklı kontaminant dizilerden temizlemek amacıyla Bowtie algoritmasıyla tüm “İnsan Genomu” na eşleştirilmiştir. Kalan okumaların birleştirilmesi amacıyla ABYSS de novo

birleştiricisi kullanılmıştır. Farklı parametrelerle 100'e yakın genom hizalanması sonucunda en iyi N50 değerine sahip genom belirlenmiştir. Analiz edilecek genomun belirlenmesinden sonra, 200 nükleotitten büyük kontigler kendi geliştirdiğimiz SiSeer aracı ile SSR belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Primer tasarımı için, 350 nükleotidden büyük kontiglere bağlı belirlenen SSR'ların bir kısmı (en az 50 en fazla 100 adet), Primer3 (primer_core) program kullanılarak primer geliştirmede kullanılmıştır. Sonuç olarak 100 adet SSR primeri geliştirilmiş, sonucunda 50 adet primer çifti elde edilmiştir. Geliştirilen primerler isimlendirilirken, "*Prunus cerasifera* (Pce) genomic (g) SSR" kodlaması yapılmış olup, primerler "PcegSSR" kod adını almışlardır.

Veri Analizi Metotları

SRAP ve SSR analizleri sonucunda elde edilen alleller var (1), yok (0) veya eksik veri (9) olmak üzere skorlanmıştır. SRAP ve SSR markörlerine ait veriler, ayrı ayrı analiz edilmiştir. Her bir markör başına ortalama, maksimum ve minimum genetik çeşitlilik değerleri Gene Diversity yazılımı ile (GDdom) belirlenmiştir (Abuzayed vd., 2017). Markörlere dayalı popülasyon yapısı genotiplerin modele bağlı sınıflandırılması amacıyla Structure (Structure 2.3.4) isimli bilgisayar programı ile analiz edilmiştir (Pritchard vd., 2000). Bu analiz sırasında, optimal popülasyon sayısının belirlenmesi için 10.000 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) yanma döngüsünden ve özel istatistiklerden sonra farklı modeller ($K=1-10$) denenmiştir. Ayrıca her bir model, 20'şer kere 300.000 tekrar ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ΔK değerine bağlı en iyi popülasyon modelini (K) belirleyebilmek amacıyla Structure Harvester yazılımı ile analiz edilmiştir (Earl vd., 2012). En yüksek ΔK değerine sahip olan model popülasyon için en iyi model olarak kabul edilmiştir. Seçilen en iyi model (K) içerisindeki alt popülasyon bireylerinin belirlenmesinde, genotipler için ≥ 0.70 genetik kimlik eşiği sınır olarak kabul edilmiştir. Bu eşiğinin altında kalan genotipler, bir alt popülasyona dahil olamayıp, genetik olarak karışık genotipler olarak kabul edilmişlerdir.

Markör verileri hiyerarşık sınıflandırma ile analiz edilmiştir. Bu amaçla, Dice katsayısı ve "Unweighted Neighbor Joining" ağırlıksız komşu birleşme algoritması kullanılarak DARwin programında dendrogram elde edilmiştir (Perrier ve Jacquemoud, 2006). Ayrıca, farklılık matrisi ile dendrogram arasındaki korelasyonu belirlemek amacıyla Mantel testi (Mantel, 19678) yapılmıştır. Bu program ayrıca PCoA analizi (Principal Coordinate Analysis) için de kullanılmıştır.

Erik popülasyonları arası ve içi genetik çeşitlilik, excel içerisinde GenAlEx eklentisi kullanılarak AMOVA analizi ile belirlenmiştir. Popülasyonlar arası gen akışının belirlenmesinde gen akışı varlığı 0.15'ten küçük *PhiPT* değerleri için olumlu kabul edilmiştir

(Frankham, Briscoe, ve Ballou, 2002). Genetik ayrılma analizi “9999” eşli permütasyonla gerçekleştirilmiş olup, anlamlı *P* değerleri 0.05'in altında olarak kabul edilmiştir. Tüm bunlara ek olarak, göç eden bireylerin sayısı da hesaplanmış olup, formül şu şekildedir: $Nm=0.25*[(1/PhiPT)-1]$ (Wood ve Gardner, 2007).

Bulgular

DNA konsantrasyonları

Erik genotiplerine (66 adet) ait izole edilen DNA'ların konsantrasyonları 177 (ng/μl) ile 1103 (ng/μl) arasında değişiklik göstermiş olup, PZR çoğaltımlarına uygun bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 4. Erik örneklerine ait DNA konsantrasyonları.

Sıra No	Genotip Kodu	DNA Konsantrasyonu (ng/μl)	Abs 260/280 (nm)	Abs 260/230 (nm)	Lokal Adı	Şehir
1	TUR0010131	434.01	1.77	1.8	Can	İzmir
2	TUR0010132	273.64	1.8	2.11	Can	İzmir
3	TUR0010139	638.02	1.92	1.88	Can	Aydın
4	TUR0010143	462.63	1.92	2.05	Can	İzmir
5	TUR0010146	177.038	1.82	2.05	Can	Balıkesir
6	TUR0010150	441.05	1.85	1.8	Can	İzmir
7	TUR0010151	402.07	1.87	1.92	Can	İzmir
8	TUR0010153	639.59	1.85	1.93	Can	İzmir
9	TUR0010155	811.26	1.76	1.88	Can	İzmir
10	TUR0010158	518.38	1.83	1.91	Can	İzmir
11	TUR0010163	368.71	1.82	1.88	Can	Manisa
12	TUR0010164	989.13	1.82	1.85	Can	Manisa
13	TUR0010165	372.76	1.8	1.81	Can	Manisa
14	TUR0010167	566.17	1.85	1.94	Can	Balıkesir
15	TUR0010171	341.66	1.94	1.99	Can	Muğla
16	TUR0010172	507.83	1.87	2.11	Can	Muğla
17	TUR0010181	487.33	1.83	1.77	Can	Manisa
18	TUR0010182	265.92	1.9	1.81	Can	İzmir
19	TUR0010183	298.11	1.87	1.88	Can	İzmir
20	TUR0010184	503.87	1.85	1.76	Can	İzmir
21	TUR0010188	233.25	1.84	2.04	Can	İzmir
22	TUR0010189	224.22	1.78	1.93	Can	İzmir
23	TUR0010190	574.93	1.82	1.78	Can	Aydın
24	TUR0010270	229.91	1.86	2.15	Can	Bilinmiyor
25	TUR0010608	533.44	1.81	1.85	Can	Bilinmiyor
26	TUR0010133	493.45	1.82	2.12	Papaz	Manisa
27	TUR0010135	588.41	1.9	2.15	Papaz	Denizli
28	TUR0010137	564.73	1.77	1.9	Papaz	Aydın
29	TUR0010141	288.24	1.8	1.97	Papaz	İzmir
30	TUR0010142	941.65	1.84	2.1	Papaz	İzmir
31	TUR0010145	1002.51	1.79	1.97	Papaz	Balıkesir
32	TUR0010149	471.06	1.81	1.96	Papaz	İzmir
33	TUR0010152	311.38	1.84	1.88	Papaz	İzmir

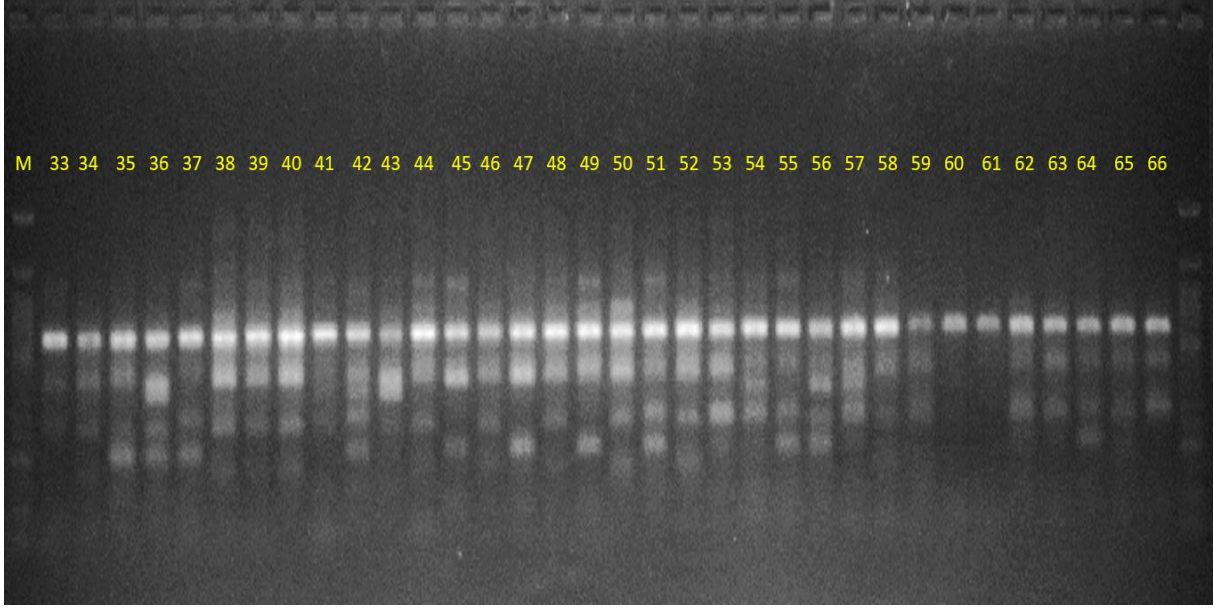
34	TUR0010154	540.35	1.9	1.95	Papaz	İzmir
35	TUR0010156	235.84	1.75	1.85	Papaz	Aydın
36	TUR0010160	2114.14	1.81	2.07	Papaz	İzmir
37	TUR0010173	1103.21	1.83	2.01	Papaz	Muğla
38	TUR0010174	413.91	1.82	2.04	Papaz	Muğla
39	TUR0010175	783.94	1.77	1.98	Papaz	Aydın
40	TUR0010176	272.87	1.78	1.87	Papaz	Aydın
41	TUR0010177	375.66	1.98	1.92	Papaz	İzmir
42	TUR0010178	241.24	1.89	1.78	Papaz	İzmir
43	TUR0010179	416.87	1.8	1.86	Papaz	Manisa
44	TUR0010180	465.23	1.79	1.85	Papaz	Manisa
45	TUR0010185	303.26	1.93	1.93	Papaz	İzmir
46	TUR0010186	268.55	1.88	1.99	Papaz	İzmir
47	TUR0010130	387.14	1.9	1.77	Havran	İzmir
48	TUR0010147	310.97	1.8	2.11	Havran	Bilinmiyor
49	TUR0010157	213.82	1.82	1.84	Havran	İzmir
50	TUR0010159	455.72	1.82	1.89	Havran	İzmir
51	TUR0010187	492.11	1.89	1.93	Havran	İzmir
52	TUR0010140	392.32	1.78	1.98	Kebab	İzmir
53	TUR0010162	246.23	1.78	1.96	Kebab	Manisa
54	TUR0010134	753.95	1.88	2.1	Akpapaz	Manisa
55	TUR0010144	463.81	1.75	1.95	Bekiroğlu	İzmir
56	TUR0010191	627.11	1.86	1.76	Halil Efendi	Tokat
57	TUR0010170	692.65	1.9	1.93	Ödemiş	Balıkesir
58	TUR0010148	449.03	1.81	1.91	Şam	Balıkesir
59	TUR0010168	513.42	1.87	1.93	Yeşil Şam	Balıkesir
60	TUR0010169	722.83	1.84	1.85	Sarı Şam	Balıkesir
61	TUR0010161	585.91	1.86	1.94	Bilinmiyor	Manisa
62	TUR0010252	409.42	1.88	1.99	Bilinmiyor	Bilinmiyor
63	TUR0010604	268.96	1.9	1.8	Bilinmiyor	Bilinmiyor
64	TUR0010605	396.12	1.91	1.87	Bilinmiyor	İzmir
65	TUR0010606	306.87	2.01	1.73	Bilinmiyor	Bilinmiyor
66	TUR0010607	833.56	1.77	1.95	Bilinmiyor	Bilinmiyor

SRAP analiz sonuçları

Proje materyali olan 66 erik genotipi, 47 SRAP markörü ile test edilmiş olup, 495 adet allel elde edilmiştir. Elde edilen allellerin %98'i polimorfiktir. Markörlerde ortalama allel sayısı, 10.4'tür. Markör başına en yüksek allel sayısı, 13 ile em1-me1 primer kombinasyonuna aittir (Şekil 1). En düşük polimorfik allel sayısı ise, 8 ile em9-me3 primer kombinasyonundan elde edilmiştir. Maksimum ortalama genetik çeşitlilik 0.46 ile em3-me4 marköründen elde edilirken, en düşük ortalama genetik çeşitlilik 0.19 ile em1-me5 ve em4-me3 markörlerinden elde edilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Tüm markörler için ortalama genetik çeşitlilik (GÇ) değerleri ve hata payları (standard error – SE).

Primer çifti	Ortalama GÇ Değeri ± SE	Primer çifti	Ortalama GÇ Değeri ± SE
em3-me4	0.46 ± 0.01	em4-me5	0.32 ± 0.03
em7-me3	0.44 ± 0.02	em4-me4	0.32 ± 0.04
em5-me5	0.43 ± 0.03	em8-me4	0.31 ± 0.05
em3-me1	0.40 ± 0.04	em1-me4	0.31 ± 0.05
em7-me8	0.39 ± 0.04	em8-me3	0.31 ± 0.04
em3-me2	0.39 ± 0.04	em6-me3	0.31 ± 0.04
em2-me5	0.38 ± 0.04	em6-me2	0.30 ± 0.05
em5-me1	0.38 ± 0.05	me6-em1	0.29 ± 0.05
em5-me2	0.38 ± 0.04	em1-me3	0.29 ± 0.04
em6-me4	0.37 ± 0.03	em3-me3	0.29 ± 0.05
em7-me6	0.37 ± 0.04	em6-me5	0.29 ± 0.04
em4-me2	0.37 ± 0.05	em1-me2	0.28 ± 0.05
em7-me1	0.36 ± 0.05	em4-me1	0.27 ± 0.04
em2-me3	0.36 ± 0.10	em2-me4	0.27 ± 0.05
em8-me2	0.35 ± 0.05	em9-me3	0.27 ± 0.06
em5-me3	0.35 ± 0.06	em6-me6	0.26 ± 0.05
em8-me1	0.34 ± 0.05	em9-me2	0.25 ± 0.06
em8-me5	0.34 ± 0.05	em2-me1	0.24 ± 0.04
em3-me5	0.34 ± 0.05	em5-me4	0.24 ± 0.06
em7-me5	0.33 ± 0.06	em5-me6	0.20 ± 0.05
em9-me4	0.33 ± 0.07	em9-me1	0.20 ± 0.04
em2-me2	0.33 ± 0.05	em1-me5	0.19 ± 0.07
em7-me2	0.33 ± 0.04	em4-me3	0.19 ± 0.05
em1-me1	0.32 ± 0.05		



Şekil 1. Em1-me1 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel fotoğrafı. Örneklerin jele yükleme sırası kodları sarı renkle gösterilmiş olup; M: markör'dür. 33: TUR0010162, 34: TUR0010164, 35: TUR0010165, 36: TUR0010167, 37: TUR0010168, 38: TUR0010169, 39: TUR0010170, 40: TUR0010171, 41: TUR0010172, 42: TUR0010173, 43: TUR0010174, 44: TUR0010175, 45: TUR0010176, 46: TUR0010177, 47: TUR0010178, 48: TUR0010179, 49: TUR0010180, 50: TUR0010181, 51: TUR0010182, 52: TUR0010183, 53: TUR0010184, 54: TUR0010185, 55: TUR0010186, 56: TUR0010187, 57: TUR0010188, 58: TUR0010189, 59: TUR0010607, 60: TUR0010190, 61: TUR0010608, 62: TUR0010191, 63: TUR0010252, 64: TUR0010606, 65: TUR0010604, and 66: TUR0010605.

Elde edilen allelik veriler (1: var; 0: yok; 9: eksik veri) daha sonra genetik çeşitlilik, popülasyon yapısı ve genetik uzaklık analizlerinde kullanılmıştır.

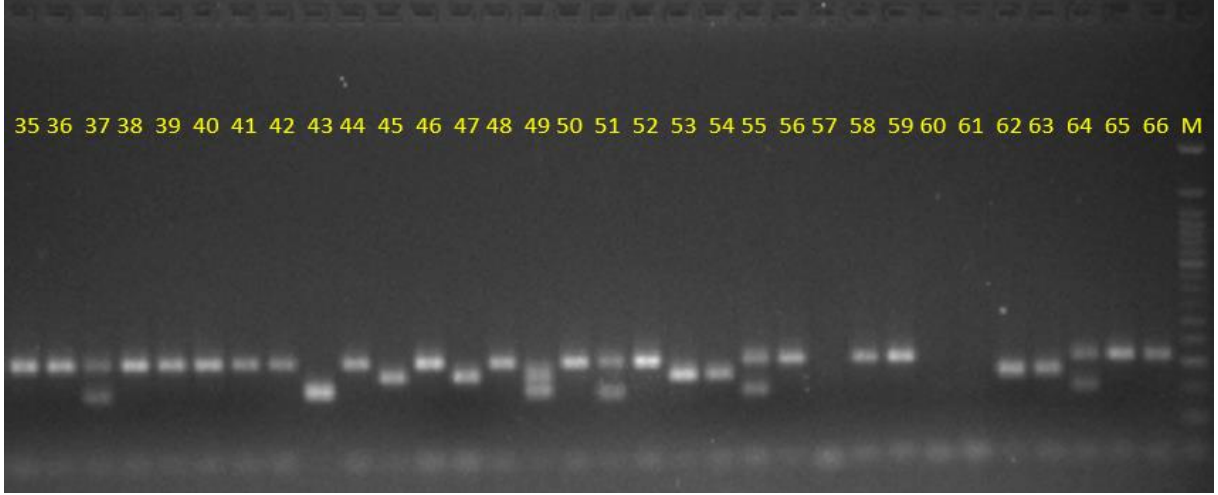
SSR analiz sonuçları

Proje materyali olan 66 adet erik genotipi, toplam 38 adet SSR markörü ile genetik çeşitlilik taramasına tabii tutulmuştur. Bu 38 adet markörden 20 tanesi proje dahilinde geliştirilen yeni SSR primerleridir ve toplam alel sayısına katkısı %52.63 olmuştur. Toplam markör taramasından elde edilen 196 alelin tamamı (%100'ü) polimorfiktir. Her bir marköre ait genetik çeşitlilik değerleri hata payları (standart error – standart hata payı) ile Tablo 6'da verilmiştir. Buna göre, en yüksek genetik çeşitlilik % 50 ile Cpd25 ve Cps22 markörlerinden elde edilirken, en düşük genetik çeşitlilik % 23 ile Cps8 marköründen elde edilmiştir.

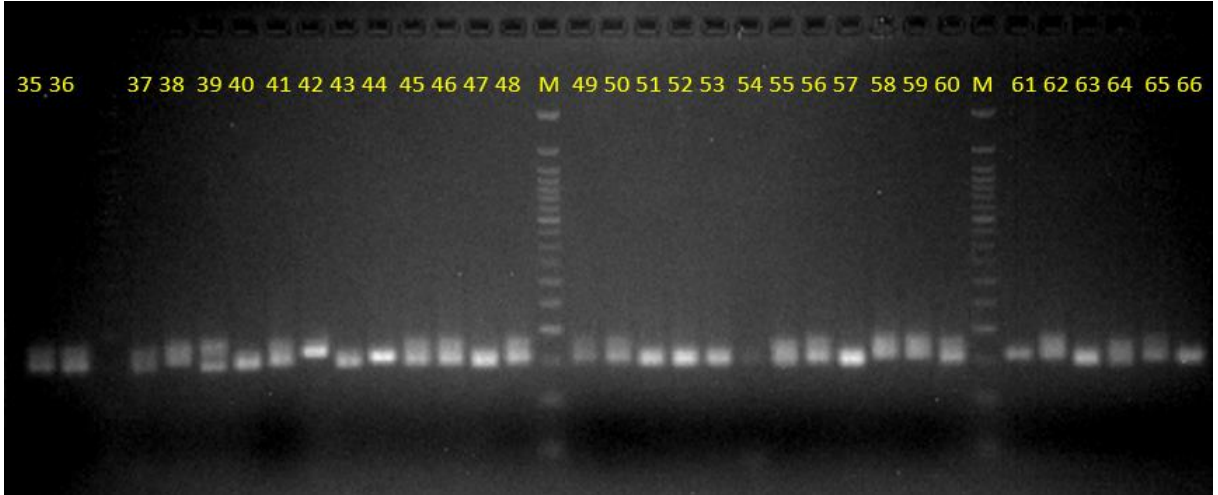
Tablo 6. Proje dahilinde erik genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla kullanılan 38 SSR markörüne ait genetik çeşitlilik değerleri ve ilişkili hata payları (HP)

Markör	GÇ ± HP	Markör	GÇ ± HP
Bpp8	0.42 ± 0.09	Pceg1	0.26 ± 0.06
Bpp28	0.32 ± 0.07	Pceg2	0.31 ± 0.06
Bpp40	0.33 ± 0.06	Pceg5	0.38 ± 0.05
Cpd25	0.50 ± 0.00	Pceg6	0.33 ± 0.07
Cps1	0.26 ± 0.06	Pceg7	0.35 ± 0.04
Cps2	0.31 ± 0.09	Pceg8	0.37 ± 0.04
Cps8	0.23 ± 0.05	Pceg12	0.31 ± 0.09
Cps11	0.30 ± 0.06	Pceg13	0.38 ± 0.06
Cps13	0.31 ± 0.04	Pceg14	0.35 ± 0.04
Cps18	0.28 ± 0.04	Pceg15	0.36 ± 0.04
Cps21	0.25 ± 0.05	Pceg17	0.33 ± 0.04
Cps22	0.50 ± 0.00	Pceg19	0.37 ± 0.05
Cps30	0.26 ± 0.05	Pceg21	0.29 ± 0.05
Cps33	0.39 ± 0.04	Pceg23	0.42 ± 0.03
Cps34	0.22 ± 0.04	Pceg24	0.44 ± 0.03
Cps42	0.35 ± 0.07	Pceg26	0.28 ± 0.04
Cps44	0.33 ± 0.06	Pceg28	0.37 ± 0.05
Edp3117	0.49 ± 0.00	Pceg32	0.26 ± 0.05
		Pceg47	0.35 ± 0.04
		Pceg49	0.32 ± 0.04

SSR primerleri arasında elde edilen maksimum alel sayısı, 14 olup, %36.84 ile Cps44 isimli markörden elde edilmiştir. En düşük alel sayısı 2 (%5.26) ile Cpd25 ve Cps22 isimli markörlerden elde edilmiştir. Analizler sonucunda elde edilen polimorfizmin jel fotoğrafları ile örneklendirilmesi amacıyla; Cps33 ve Pceg5 markörlerine ait agaroz jel fotoğrafları seçilmiş olup, görüntüler aşağıdaki gibidir (Şekil 2 ve 3).



Şekil 2. Cps33 markörüne ait alel profilini gösteren agaroz jel görüntüsü. Örneklerin yüklenme sırasına dair kodları sarı renkle gösterilmiş olup; M: markör'dür. 35: TUR0010156, 36: TUR0010160, 37: TUR0010173, 38: TUR0010174, 39: TUR0010175, 40: TUR0010176, 41: TUR0010177, 42: TUR0010178, 43: TUR0010179, 44: TUR0010180, 45: TUR0010185, 46: TUR0010186, 47: TUR0010130, 48: TUR0010147, 49: TUR0010157, 50: TUR0010159, 51: TUR0010187, 52: TUR0010140, 53: TUR0010162, 54: TUR0010134, 55: TUR0010144, 56: TUR0010191, 57: TUR0010170, 58: TUR0010148, 59: TUR0010168, 60: TUR0010169, 61: TUR0010161, 62: TUR0010252, 63: TUR0010604, 64: TUR0010605, 65: TUR0010606, and 66: TUR0010607.



Şekil 3. Pceg5 markörüne ait alel profilini gösteren agaroz jel fotoğrafı. Örneklerin yüklenme sırasına dair kodları sarı renkle gösterilmiş olup; M: markör'dür. 35: TUR0010156, 36: TUR0010160, 37: TUR0010173, 38: TUR0010174, 39: TUR0010175, 40: TUR0010176, 41: TUR0010177, 42: TUR0010178, 43: TUR0010179, 44: TUR0010180, 45: TUR0010185, 46: TUR0010186, 47: TUR0010130, 48: TUR0010147, 49: TUR0010157, 50: TUR0010159, 51: TUR0010187, 52: TUR0010140, 53: TUR0010162, 54: TUR0010134, 55: TUR0010144, 56: TUR0010191, 57: TUR0010170, 58: TUR0010148, 59: TUR0010168, 60: TUR0010169, 61: TUR0010161, 62: TUR0010252, 63: TUR0010604, 64: TUR0010605, 65: TUR0010606, and 66: TUR0010607.

Eriğe özgü yeni SSR primerleri

Erik genomuna özgün, 100 adet (50 çift) SSR primeri geliştirilmiş olup, PcegSSR koduyla isimlendirilmiştir (Tablo 7). Geliştirilen bu primerlerin %40'ı skorlanabilir bantlar vermiş olup, genetik çeşitlilik taramasında kullanılmıştır.

Tablo 7. Geliştirilen SSR primerlerinin listesi

Primer No	SSR Primeri İsmi	Dizi (5' – 3')	Motif	Tekrar Sayısı
1	PcegSSR 001 F	(TCAAGTGTGCCCTTTATAC)	AAT	39
	PcegSSR 001 R	(ACAACCTTCCGGAAATCTCA)		
2	PcegSSR 002 F	(ATTTGGATGCAAGGAGGTAG)	AAT	45
	PcegSSR 002 R	(ATTTTGTGGGCAGCTAATG)		
3	PcegSSR 003 F	(TGCTGGGGATTTTAACGTTA)	AAT	42
	PcegSSR 003 R	(CAAATTGCAAACATGGAACG)		
4	PcegSSR 004 F	(ATATTGGCTTGTGGTTGC)	AGA	42
	PcegSSR 004 R	(CATTCTCTCCCTCAACCAA)		
5	PcegSSR 005 F	(AGTTCAGAGTGTACCTTGC)	AGA	42
	PcegSSR 005 R	(ACTTCGTTGTAGGTTGAAT)		
6	PcegSSR 006 F	(GGTTAGTTATTAGGGAGCTTCA)	ATA	45
	PcegSSR 006 R	(GAGTTTTGGGTGTGTTCCCTA)		
7	PcegSSR 007 F	(CGCATCATCAATAGCATTCC)	ATC	69
	PcegSSR 007 R	(GTGGAGCTACTTCATGAGAG)		
8	PcegSSR 008 F	(TTGTTACAGAGGCATCAACA)	CAG	45
	PcegSSR 008 R	(AGTGCCATTTAGAAGCTGG)		
9	PcegSSR 009 F	(GATGCGAACTCACATTGAAA)	CAT	45
	PcegSSR 009 R	(GTCAAAGGATGGTGATACTGA)		
10	PcegSSR 010 F	(TCATCACCCTGTATCATA)	CAT	54
	PcegSSR 010 R	(TCAAGGCTGAAATGGAGAAA)		
11	PcegSSR 011 F	(TGTTCAACCACAATTCTTT)	CTT	63
	PcegSSR 011 R	(TAATTTCCAATCAGCACCCA)		
12	PcegSSR 012 F	(GTCATCGTTGTCATCTCTCC)	GAA	72
	PcegSSR 012 R	(GCATGAGGAGAATAGGAAGG)		
13	PcegSSR 013 F	(ACAAGGGTTTAAGGTTTCAA)	GAA	45
	PcegSSR 013 R	(AAGCACCTATTCTCCAACAG)		
14	PcegSSR 014 F	(AGCTGTTTCATCACAACTT)	GAA	51
	PcegSSR 014 R	(TGCCAATTTCTCACACTTA)		
15	PcegSSR 015 F	(AGGATGAAGCTAAACCACAG)	GAA	39
	PcegSSR 015 R	(GACCAAACAAACCAAAACCA)		
16	PcegSSR 016 F	(AGCATTAGAAAAGTGGCTTC)	TAA	51
	PcegSSR 016 R	(ACCTTGCCATATCCCAAAT)		
17	PcegSSR 017 F	(CCAGGAAGAAGACAGACAATGA)	TCA	48
	PcegSSR 017 R	(GCAATTGGGTGTTTCTTGAT)		
18	PcegSSR 018 F	(ACCCACCATGATTAAGCATT)	TCT	51
	PcegSSR 018 R	(AACCCCTAAACCCGAAAGTAC)		
19	PcegSSR 019 F	(TACATAACCCACACACCATG)	TCT	93
	PcegSSR 019 R	(AGAAGAAGAAGAGGAGGAAGA)		
20	PcegSSR 020 F	(TCGTTATGAGTTTGGAAAGCA)	TTA	48
	PcegSSR 020 R	(AAGAGACATGTGGGTTGATG)		
21	PcegSSR 021 F	(CCCCAACACAGTTTTAACG)	TTC	51

	PcegSSR 021 R	(CCTGGAGGTCACCTTTGAAG)		
22	PcegSSR 022 F	(TTTTACTAGAAGGGTGGGCT)	TTC	51
	PcegSSR 022 R	(CATTGGTTGCTTGTTCCATT)		
23	PcegSSR 023 F	(GGTCATCTTGCCATACTCAA)	TTC	42
	PcegSSR 023 R	(GTAGATGAACTTCCACCAGG)		
24	PcegSSR 024 F	(CTACACCAATTGCTTCTCCT)	TTC	39
	PcegSSR 024 R	(CAAACCATGCAAGCTTACAA)		
25	PcegSSR 025 F	(AAAGTAGTCCAGTGGCAAAA)	TTC	39
	PcegSSR 025 R	(GGTCTAGTTTGCGAAAGAGA)		
26	PcegSSR 026 F	(ACCTCATCCCACCATAAAAC)	TTC	39
	PcegSSR 026 R	(TTTTCTGTTTTGGGTGTTG)		
27	PcegSSR 027 F	(TTCTGAACAACCTTCCAGTC)	AAAG	36
	PcegSSR 027 R	(AGCAGCACTTAAAATTCACG)		
28	PcegSSR 028 F	(TCATGACGGTACACACAATT)	AAAT	40
	PcegSSR 028 R	(CCTGGAGAATGTAAAGCACT)		
29	PcegSSR 029 F	(TACTTGAACCAACCAACCAA)	AGAT	52
	PcegSSR 029 R	(TCTCTCTCTCTCTCTCCA)		
30	PcegSSR 030 F	(AGACAGAGAGACAGAGAGAC)	AGAC	36
	PcegSSR 030 R	(CAACATGAGCTCAGATCAGA)		
31	PcegSSR 031 F	(GCTTCAAATTCTCCTTCTGC)	ATAG	40
	PcegSSR 031 R	(CACTCTCATCTTCACGCTAA)		
32	PcegSSR 032 F	(GGGATCCCTCAATAGAAAAGG)	ATAC	68
	PcegSSR 032 R	(ATTCAGGCATTTCAGTCACTT)		
33	PcegSSR 033 F	(CCACGTTACATAGAGCTAT)	CATC	36
	PcegSSR 033 R	(ACAAAGCATATCCATCGACA)		
34	PcegSSR 034 F	(GTTGAGAGCTTGCACTACTT)	CTTT	36
	PcegSSR 034 R	(TCCCTTTTGTGTATGATCGA)		
35	PcegSSR 035 F	(TCATACGTGTTAATCCCGAG)	GTAT	36
	PcegSSR 035 R	(CGTAACACCGCCTCATAATA)		
36	PcegSSR 036 F	(CTCCTCCTTTTCTCTGTCTG)	TCTG	72
	PcegSSR 036 R	(TTTGAGCCTATGAAAGTCCC)		
37	PcegSSR 037 F	(CATAACGATGGTGTGGTGAA)	TG	86
	PcegSSR 037 R	(GTGCAAAGTACTCTCAATGC)		
38	PcegSSR 038 F	(GGTGCGGTAAATTCTAGCTA)	TC	78
	PcegSSR 038 R	(GTAGCGCATCTGTATACCAA)		
39	PcegSSR 039 F	(TATTTCCATGTGCATTGCTG)	GT	80
	PcegSSR 039 R	(GCAAGAAAACGCAAATGATG)		
40	PcegSSR 040 F	(TTGTCTCTTTTGTGTTCTGT)	GA	78
	PcegSSR 040 R	(CCTCCTCCCATCAAATCAAA)		
41	PcegSSR 041 F	(CCATTGTGAAGCCATGATTC)	CT	78
	PcegSSR 041 R	(GTGAGCCTAAGTCCAGATTT)		
42	PcegSSR 042 F	(CTCGAACACACAAACAAACA)	AC	80
	PcegSSR 042 R	(ACCAAGAGAGAGATCGAGAA)		
43	PcegSSR 043 F	(CGGGTGGTAATTTTAGGAGT)	AGAAT	40
	PcegSSR 043 R	(AGCGTATCTCTTTCGTCTTC)		
44	PcegSSR 044 F	(CCTCCTACAAAACCCTACAC)	AAGAA	35
	PcegSSR 044 R	(CACTTTCCATGCAACTGTTT)		
45	PcegSSR 045 F	(CTAGAAAATCTGTTGCGTGC)	TGCGTG	42
	PcegSSR 045 R	(TTGAGTCCTCTAGTACTGCA)		
46	PcegSSR 046 F	(TGGCATTACAGTCAGAATCA)	GGGAGA	42
	PcegSSR 046 R	(AACTGCAGCAAGTACCATAA)		
47	PcegSSR 047 F	(AATGGGGTTCAAACAAAAGC)	CAGAAGC	49
	PcegSSR 047 R	(GGTTCTCTGTCTCTCTCTCT)		

48	PcegSSR 048 F	(CATGAAAAGGGCAGAAACAA)	ATGAATG	49
	PcegSSR 048 R	(ATGCTTTCTTTTGCTTTGCT)		
49	PcegSSR 049 F	(AAGAAGATATATGTCGCCGT)	GAAAAAAG	56
	PcegSSR 049 R	(ATCTGCTACCCACTACATCT)		
50	PcegSSR 050 F	(ACCTCAAGTTGTCCTTCATC)	AAAAACAA	48
	PcegSSR 050 R	(GGAGAAATGTGGGGTCTTTT)		

Veri analizleri

SRAP veri analizleri

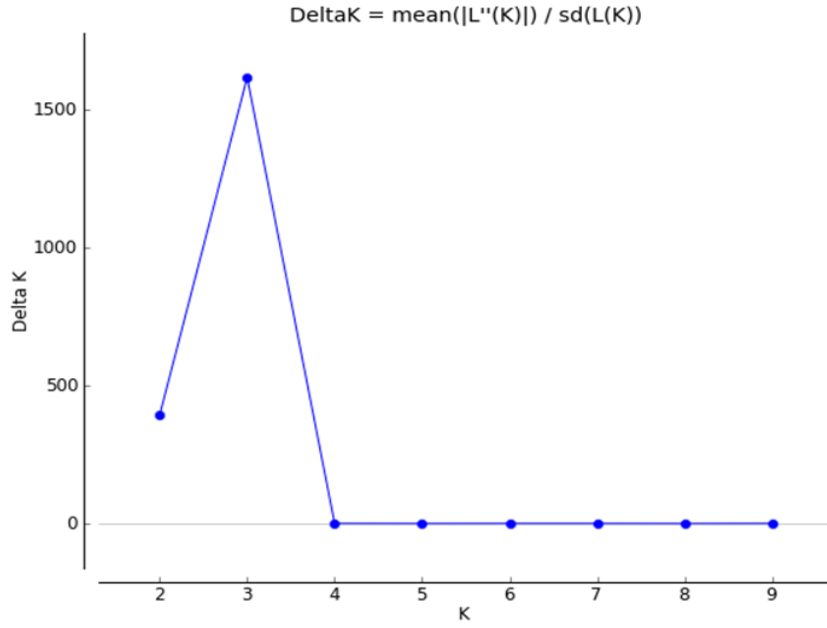
Erik genotiplerinde 47 adet SRAP markörü ile yapılan genetik çeşitlilik taraması sonucunda elde edilen alleller, popülasyon yapısı ve genetik çeşitlilik analizlerinde kullanılmıştır. Popülasyon yapısı analizleri, Structure programında gerçekleştirilmiş olup, elde edilen sonuçlar Structure Harvester programında en uygun alt popülasyon sayısının belirlenmesinde kullanılmıştır. Sonuç olarak, proje dahilindeki 66 bireyden oluşan erik popülasyonu, en uygun alt popülasyon sayısının $K=3$ olduğunu belirlemiştir (Şekil 4). Buna ek olarak, muhtemel alt popülasyonlara ait standart hata payı grafiği, Şekil 5'te verilmiştir. Popülasyondaki her bir bireyin herhangi bir altpopülasyona aitlik durumu, Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. *Prunus cerasifera* alt popülasyonlarının dağılımı

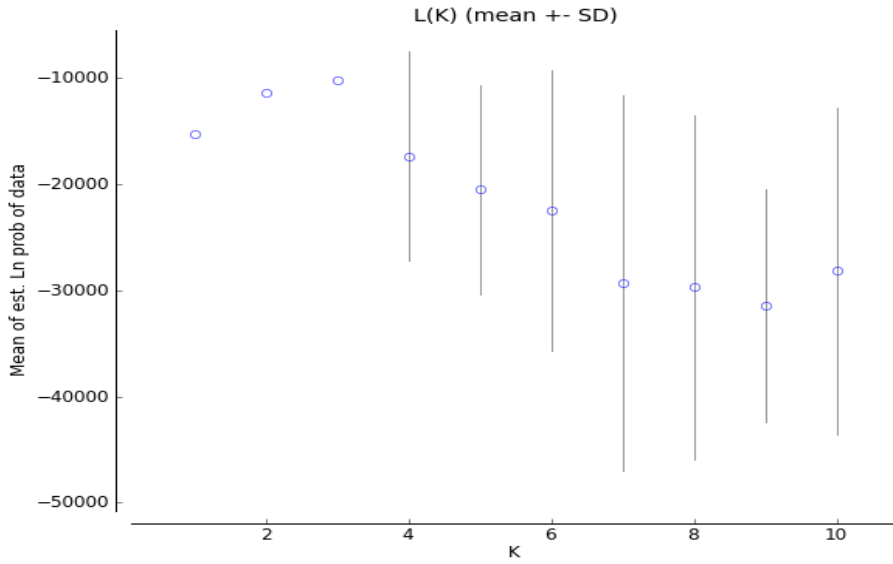
Lokal popülasyon adı	SRAP analiz kodu	PI numarası	Toplanıldığı yer	Alt Popülasyon A	Alt popülasyon B	Alt popülasyon C	Ait olduğu alt popülasyon
Can	55	TUR0010131	İzmir	0.002	0.997	0.001	B
Can	34	TUR0010132	İzmir	0.227	0.007	0.766	C
Can	13	TUR0010139	Aydın	0.046	0.001	0.952	C
Can	45	TUR0010143	İzmir	0.002	0.99	0.009	B
Can	62	TUR0010146	Balıkesir	0.002	0.995	0.003	B
Can	19	TUR0010150	İzmir	0.001	0.001	0.998	C
Can	63	TUR0010151	İzmir	0.002	0.997	0.001	B
Can	35	TUR0010153	İzmir	0.323	0.677	0.001	Karışık
Can	18	TUR0010155	İzmir	0.002	0.004	0.994	C
Can	58	TUR0010158	İzmir	0.036	0.962	0.002	B
Can	38	TUR0010163	Manisa	0.019	0.978	0.003	B
Can	61	TUR0010164	Manisa	0.547	0.453	0.001	Karışık
Can	50	TUR0010165	Manisa	0.002	0.997	0.001	B
Can	60	TUR0010167	Balıkesir	0.599	0.453	0.001	Karışık
Can	20	TUR0010171	Muğla	0.053	0.001	0.946	C
Can	30	TUR0010172	Muğla	0.284	0.002	0.715	C
Can	24	TUR0010181	Manisa	0.326	0.003	0.671	Karışık
Can	22	TUR0010182	İzmir	0.002	0.037	0.962	C
Can	46	TUR0010183	İzmir	0.028	0.971	0.001	B
Can	28	TUR0010184	İzmir	0.019	0.002	0.979	C
Can	23	TUR0010188	İzmir	0.179	0.001	0.82	C
Can	66	TUR0010189	İzmir	0.006	0.992	0.002	B
Can	53	TUR0010190	Aydın	0.001	0.999	0.001	B
Can	8	TUR0010270	Bilinmiyor	0.002	0.001	0.997	C
Can	40	TUR0010608	Bilinmiyor	0.001	0.999	0.001	B
Papaz	29	TUR0010133	Manisa	0.993	0.006	0.001	A

Papaz	7	TUR0010135	Denizli	0.003	0.003	0.994	C
Papaz	47	TUR0010137	Aydın	0.003	0.995	0.001	B
Papaz	12	TUR0010141	İzmir	0.997	0.002	0.001	A
Papaz	3	TUR0010142	İzmir	0.001	0.001	0.998	C
Papaz	36	TUR0010145	Balıkesir	0.001	0.998	0.001	B
Papaz	5	TUR0010149	İzmir	0.396	0.002	0.602	Karışık
Papaz	9	TUR0010152	İzmir	0.982	0.017	0.001	A
Papaz	10	TUR0010154	İzmir	0.001	0.002	0.997	C
Papaz	33	TUR0010156	Aydın	0.246	0.004	0.749	C
Papaz	21	TUR0010160	İzmir	0.413	0.002	0.585	Karışık
Papaz	51	TUR0010173	Muğla	0.001	0.998	0.002	B
Papaz	11	TUR0010174	Muğla	0.002	0.003	0.994	C
Papaz	41	TUR0010175	Aydın	0.001	0.999	0.001	B
Papaz	2	TUR0010176	Aydın	0.002	0.996	0.001	C
Papaz	42	TUR0010177	İzmir	0.001	0.003	0.996	C
Papaz	6	TUR0010178	İzmir	0.001	0.999	0.001	B
Papaz	26	TUR0010179	Manisa	0.996	0.003	0.001	A
Papaz	1	TUR0010180	Manisa	0.001	0.002	0.997	C
Papaz	49	TUR0010185	İzmir	0.165	0.003	0.832	C
Papaz	59	TUR0010186	İzmir	0.018	0.98	0.001	B
Havran	39	TUR0010130	İzmir	0.132	0.867	0.001	B
Havran	56	TUR0010147	Bilinmiyor	0.013	0.987	0.001	B
Havran	52	TUR0010157	İzmir	0.001	0.998	0.001	B
Havran	25	TUR0010159	İzmir	0.001	0.001	0.998	C
Havran	27	TUR0010187	İzmir	0.003	0.003	0.994	C
Kebab	43	TUR0010140	İzmir	0.214	0.785	0.001	B
Kebab	64	TUR0010162	Manisa	0.004	0.995	0.001	B
Akpapaz	48	TUR0010134	Manisa	0.131	0.868	0.001	B
Bekiroğlu	14	TUR0010144	İzmir	0.008	0.001	0.991	C
Halil Efendi	16	TUR0010191	Tokat	0.001	0.041	0.958	C
Ödemiş	15	TUR0010170	Balıkesir	0.053	0.007	0.94	C

Şam	57	TUR0010148	Balıkesir	0.002	0.996	0.002	B
Sarı Şam	37	TUR0010169	Balıkesir	0.001	0.998	0.001	B
Yeşil Şam	44	TUR0010168	Balıkesir	0.003	0.997	0.001	B
Bilinmiyor	17	TUR0010161	Manisa	0.208	0.001	0.791	C
Bilinmiyor	32	TUR0010252	Bilinmiyor	0.002	0.151	0.846	C
Bilinmiyor	31	TUR0010604	Bilinmiyor	0.645	0.019	0.336	Karışık
Bilinmiyor	54	TUR0010605	Bilinmiyor	0.001	0.998	0.001	B
Bilinmiyor	65	TUR0010606	Bilinmiyor	0.008	0.991	0.001	B
Bilinmiyor	4	TUR0010607	Bilinmiyor	0.004	0.057	0.939	C

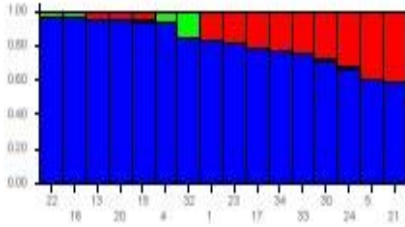
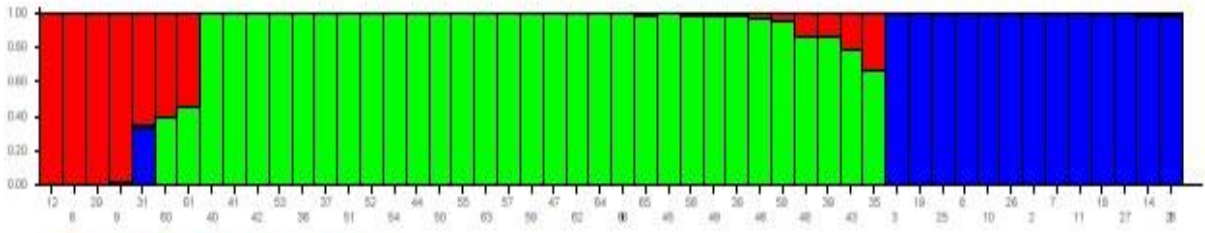
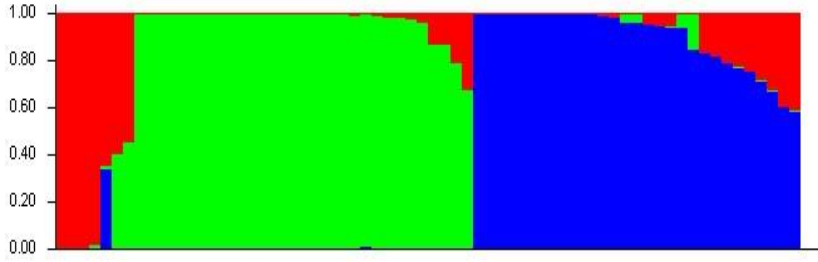


Şekil 4. SRAP analizlerinden elde edilen *P. cerasifera* için her bir alt popülasyona (K) ait ΔK değerleri



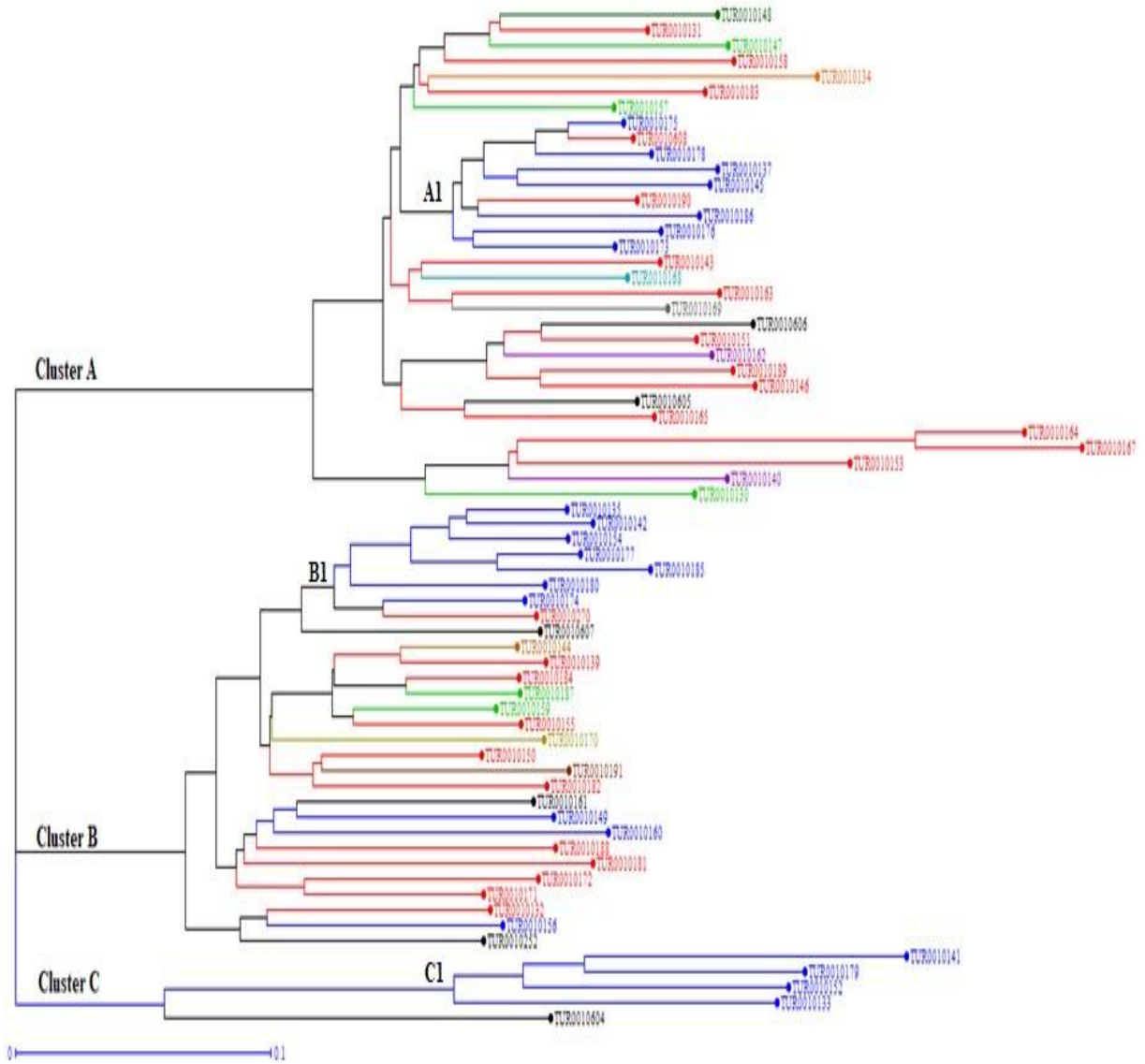
Şekil 5. SRAP analizlerinden elde edilen *Prunus cerasifera* muhtemel alt popülasyonları için Standart Hata Payı değerleri

SRAP analizine göre erik genotiplerinin $K=3$ için alt popülasyon yapısı, Structure Q grafiği ile Şekil 6'da gösterildiği gibidir.



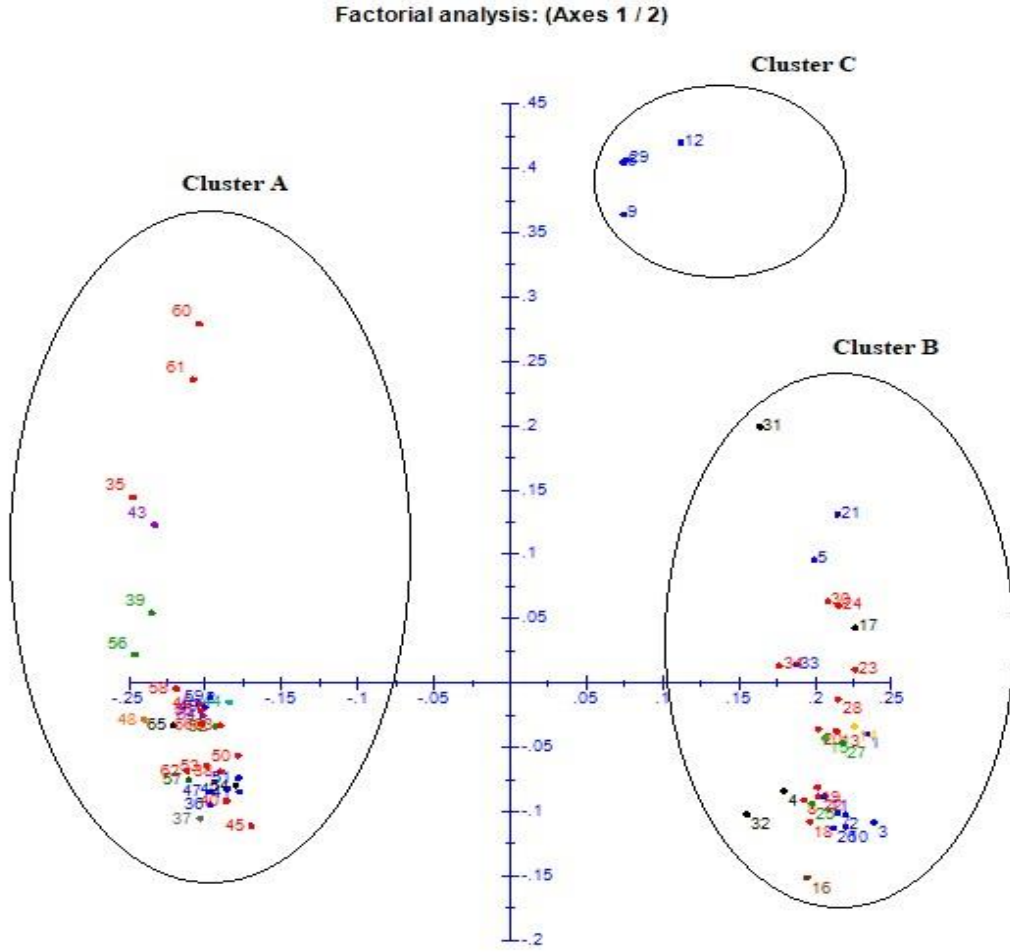
Şekil 6. *P. cerasifera* genotipleri ile SRAP markörleri kullanılarak elde edilen popülasyon Q grafiği. Grafik $K=3$ için oluşturulmuştur.

SRAP markörleri ile elde edilen verilerle oluşturulan “unweighted Neighbor Joining” dendrogram, aşağıdaki gibidir (Şekil 7). Buna göre, erik genotipleri üç ana grupta ayrılmış, ancak Papaz popülasyonunun bireyleri tüm alt gruplara dağılım göstermiştir. Ayrıca Can popülasyonunun bireyleri de, alt popülasyon C dışında tüm alt popülasyonlara dağılım göstermiştir.



Şekil 7. SRAP analizleri sonucunda *P. cerasifera* genotipleri arasındaki genetik çeşitliliği gösteren dendrogram gruplaması. Dice katsayısına göre yapılan hiyerarşik gruplama ile *P. cerasifera* genotipleri ağırlıksız Komşu-birleşim methodu ile oluşturulmuştur. Bu grafikte popülasyon 1; Can erik: kırmızı, popülasyon 2; Papaz erik: koyu mavi, popülasyon 3; Havran erik: yeşil, popülasyon 4; Kebap erik: mor, popülasyon 5 ve 6; yerel adı bilinen ve bilinmeyen diğer erik genotipleri farklı renklerle gösterilmiştir. Cluster: Grup.

Erik genotiplerinin lineer genetik uzaklıklarına bağlı olarak uzaysal düzlemde oluşturulan PCoA grafiği Şekil 8'de olduğu gibidir. Buna göre örnekler 3 ana alt grupta toplanmıştır. Alt grup C, Papaz genotiplerinden oluşmuştur.



Şekil 8. SRAP analizlerinden elde edilen alelik verilerle *P. cerasifera* genotipleri için oluşturulan PCoA grafiği. Genotipler yerel isimlerine göre kırmızı, koyu mavi, yeşil, mor, siyah, kahverengi, turuncu, koyu yeşil, açık mavi, koyu gri, sarı renklerle gösterilmiştir. Bu grafikte popülasyon 1; Can erik: kırmızı, popülasyon 2; Papaz erik: koyu mavi, popülasyon 3; Havran erik: yeşil, popülasyon 4; Kebap erik: mor, popülasyon 5 ve 6; yerel adı bilinen ve bilinmeyen diğer erik genotipleri farklı renklerle gösterilmiştir. Cluster: Grup.

AMOVA analizi ise, en çok bireye sahip olan Can ve Papaz genotipleri arasında gerçekleştirilmiş olup, sonuçta %2 genetik çeşitlilik popülasyonlar arasında olurken, %98 genetik çeşitlilik popülasyon içi olarak tespit edilmiştir.

SSR veri analizleri

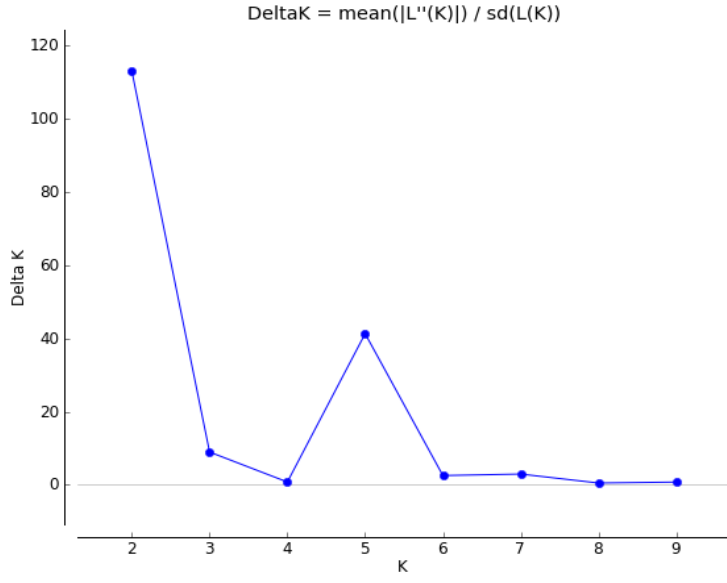
Erik genotiplerinde toplam 38 adet SSR markörü ile yapılan genetik çeşitlilik taraması sonucunda elde edilen aleller, popülasyon yapısı ve genetik çeşitlilik analizlerinde kullanılmıştır.

Popülasyon yapısı analizleri, Structure programında gerçekleştirilmiş olup, elde edilen sonuçlar Structure Harvester programında en uygun alt popülasyon sayısının belirlenmesinde kullanılmıştır. Sonuç olarak, proje dahilindeki 66 bireyden oluşan erik popülasyonu, en uygun alt popülasyon sayısının $K=2$ ve $K=5$ (sahip olunan yerel popülasyonların sayısı ile uyumlu) olduğunu belirlemiştir (Şekil 9, 10, 11 ve 12). Ayrıca, erik genotiplerinin popülasyon analizi sonucunda alt popülasyonlara aitlik durumu, Tablo 9'da verilmiştir.

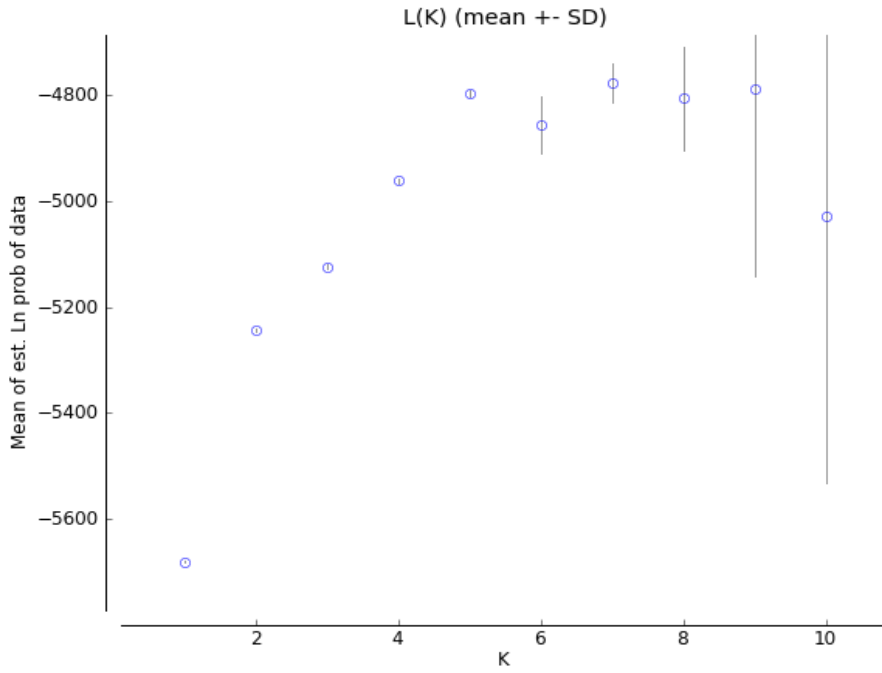
Tablo 9. Erik bireylerinin Structure analizine göre en uygun alt popülasyonlarına ($K=2$ ve $K=5$) göre dağılım tablosu. Pop: Popülasyon, SPI: subpopulation – alt grup 1, SPII: subpopulation – alt grup 2, ADX: admixed – karışık popülasyon bireyi

No	PI Numarası	Pop	Lokasyon	$K=2$	$K=5$	No	PI Numarası	Pop	Lokasyon	$K=2$	$K=5$
1	TUR0010131	Can	İzmir	SPII	SPI	37	TUR0010173	Papaz	Muğla	SPII	SPI
2	TUR0010132	Can	İzmir	SPII	SPI	38	TUR0010174	Papaz	Muğla	SPII	SPI
3	TUR0010139	Can	Aydın	SPII	SPI	39	TUR0010175	Papaz	Aydın	SPII	ADX
4	TUR0010143	Can	İzmir	SPII	SPV	40	TUR0010176	Papaz	Aydın	SPI	SPII
5	TUR0010146	Can	Balıkesir	SPI	ADX	41	TUR0010177	Papaz	İzmir	ADX	ADX
6	TUR0010150	Can	İzmir	SPII	SPI	42	TUR0010178	Papaz	İzmir	SPII	SPI
7	TUR0010151	Can	İzmir	SPII	SPI	43	TUR0010179	Papaz	Manisa	SPI	SPII
8	TUR0010153	Can	İzmir	SPII	SPI	44	TUR0010180	Papaz	Manisa	SPII	SPI
9	TUR0010155	Can	İzmir	SPI	SPIV	45	TUR0010185	Papaz	İzmir	ADX	ADX
10	TUR0010158	Can	İzmir	SPII	ADX	46	TUR0010186	Papaz	İzmir	SPII	SPV
11	TUR0010163	Can	Manisa	SPII	ADX	47	TUR0010130	Havran	İzmir	SPI	SPII
12	TUR0010164	Can	Manisa	ADX	SPI	48	TUR0010147	Havran	Bilinmiyor	SPII	SPV
13	TUR0010165	Can	Manisa	SPI	SPIV	49	TUR0010157	Havran	İzmir	SPII	SPV
14	TUR0010167	Can	Balıkesir	SPII	SPV	50	TUR0010159	Havran	İzmir	SPII	ADX
15	TUR0010171	Can	Muğla	SPI	SPIV	51	TUR0010187	Havran	İzmir	SPII	ADX
16	TUR0010172	Can	Muğla	SPI	SPIV	52	TUR0010140	Kebap	İzmir	SPI	SPII
17	TUR0010181	Can	Manisa	SPI	SPIV	53	TUR0010162	Kebap	Manisa	SPI	SPII
18	TUR0010182	Can	İzmir	SPII	SPV	54	TUR0010134	Akpapaz	Manisa	ADX	SPII
19	TUR0010183	Can	İzmir	SPI	SPIV	55	TUR0010144	Bekiroğlu	İzmir	SPII	SPI
20	TUR0010184	Can	İzmir	SPII	SPI	56	TUR0010191	Halil Efendi	Tokat	SPII	ADX
21	TUR0010188	Can	İzmir	SPII	ADX	57	TUR0010170	Ödemiş	Balıkesir	ADX	SPII
22	TUR0010189	Can	İzmir	SPI	SPIV	58	TUR0010148	Şam	Balıkesir	SPII	SPI
23	TUR0010190	Can	Aydın	SPII	SPI	59	TUR0010168	Yeşil Şam	Balıkesir	SPII	SPI
24	TUR0010270	Can	-	SPI	SPIV	60	TUR0010169	Sarı Şam	Balıkesir	SPII	SPV
25	TUR0010608	Can	-	ADX	ADX	61	TUR0010161	Bilinmiyor	Manisa	SPII	SPI
26	TUR0010133	Papaz	Manisa	SPI	ADX	62	TUR0010252	Bilinmiyor	Bilinmiyor	spıı	SPI

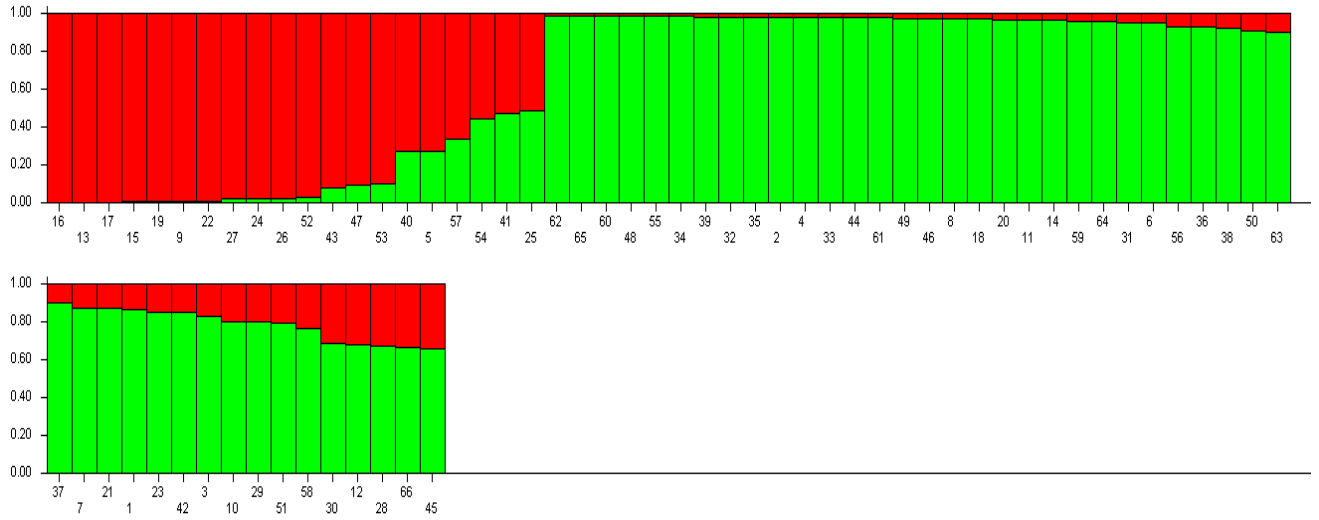
27	TUR0010135	Papaz	Denizli	SPI	ADX	63	TUR0010604	Bilinmiyor	Bilinmiyor	SPII	SPI
28	TUR0010137	Papaz	Aydın	ADX	SPIII	64	TUR0010605	Bilinmiyor	İzmir	SPII	ADX
29	TUR0010141	Papaz	İzmir	SPII	SPIII	65	TUR0010606	Bilinmiyor	Bilinmiyor	SPII	ADX
30	TUR0010142	Papaz	İzmir	ADX	ADX	66	TUR0010607	Bilinmiyor	Bilinmiyor	ADX	ADX
31	TUR0010145	Papaz	Balıkesir	SPII	SPI	34	TUR0010154	Papaz	İzmir	SPII	SPV
32	TUR0010149	Papaz	İzmir	SPII	SPI	35	TUR0010156	Papaz	Aydın	SPII	SPV
33	TUR0010152	Papaz	İzmir	SPII	SPI	36	TUR0010160	Papaz	İzmir	SPII	SPI



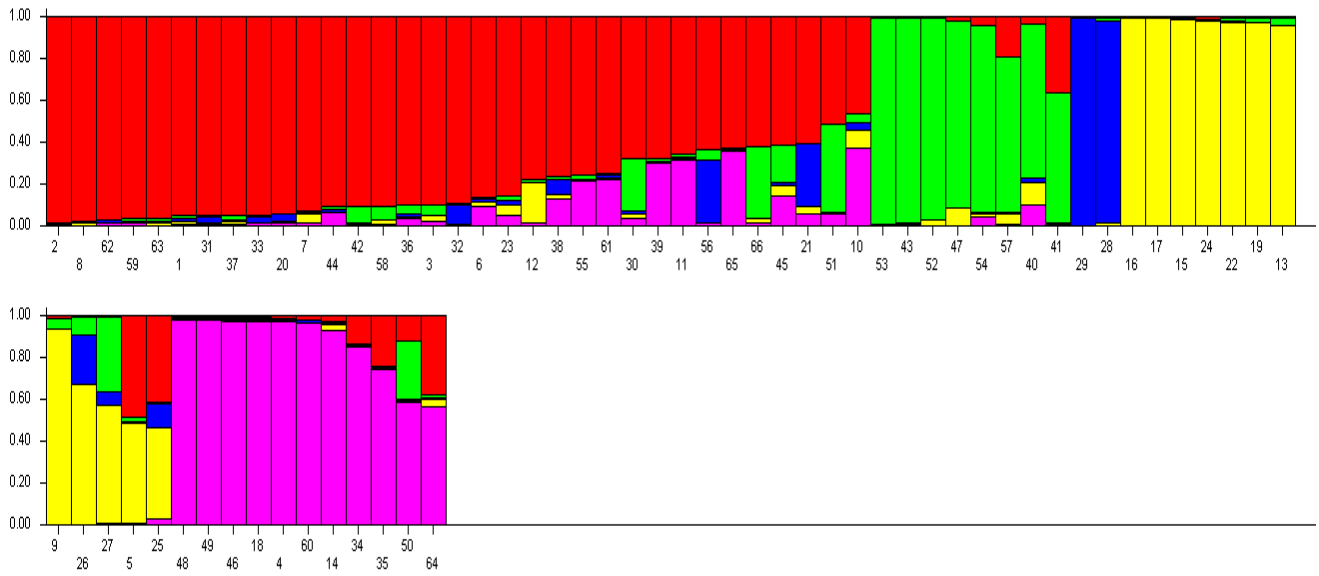
Şekil 9. SSR analizlerinden elde edilen *P. cerasifera* için her bir alt popülasyona (K) ait ΔK değerleri



Şekil 10. SSR analizlerinden elde edilen *Prunus cerasifera* muhtemel alt popülasyonları için Standart Hata Payı değerleri

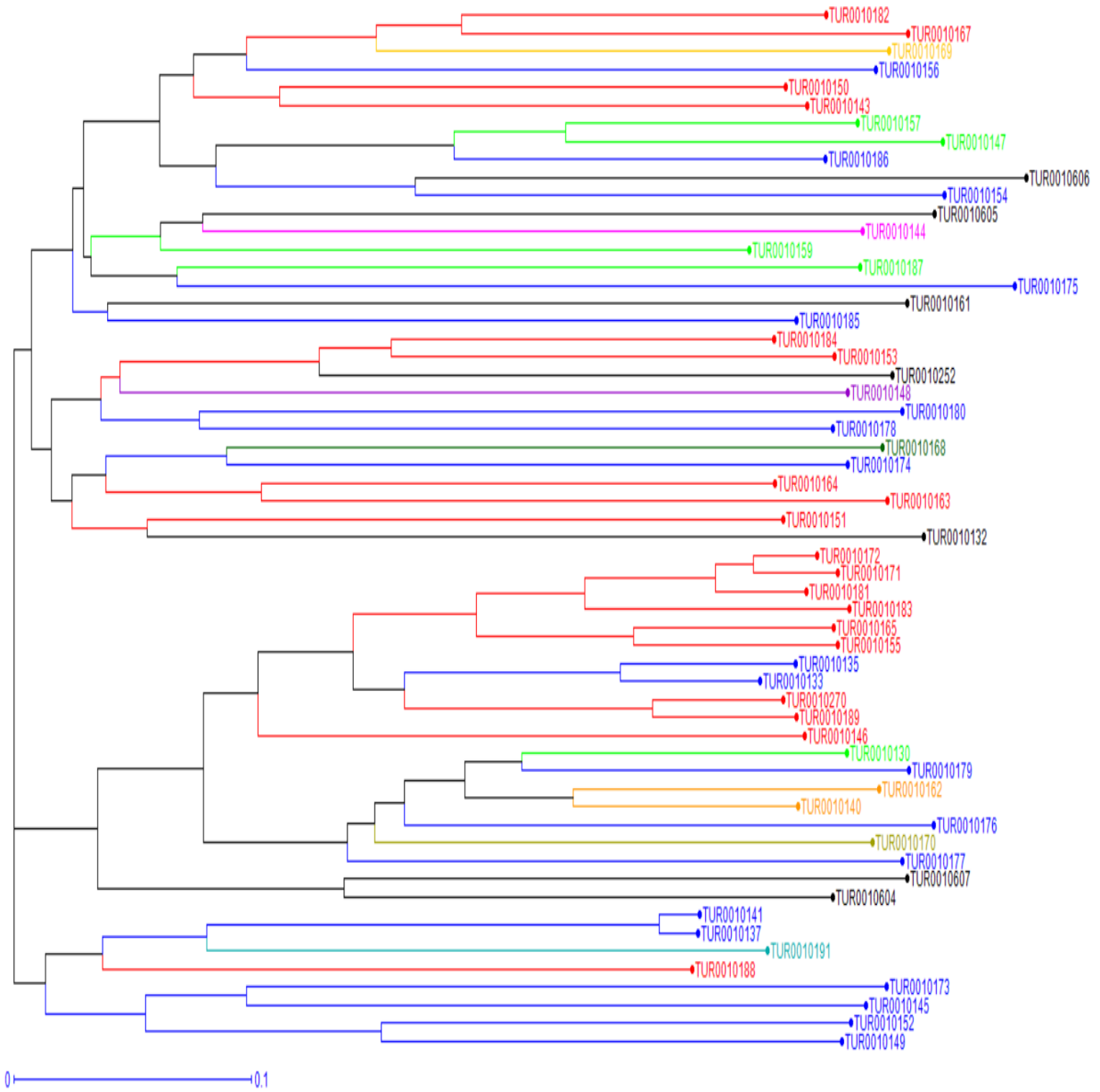


Şekil 11. SSR analizlerinden elde edilen *P. cerasifera* alt popülasyonlarının Structure Q grafiği ($K=2$)



Şekil 12. SSR analizlerinden elde edilen *P. cerasifera* alt popülasyonlarının Structure Q grafiği ($K=5$)

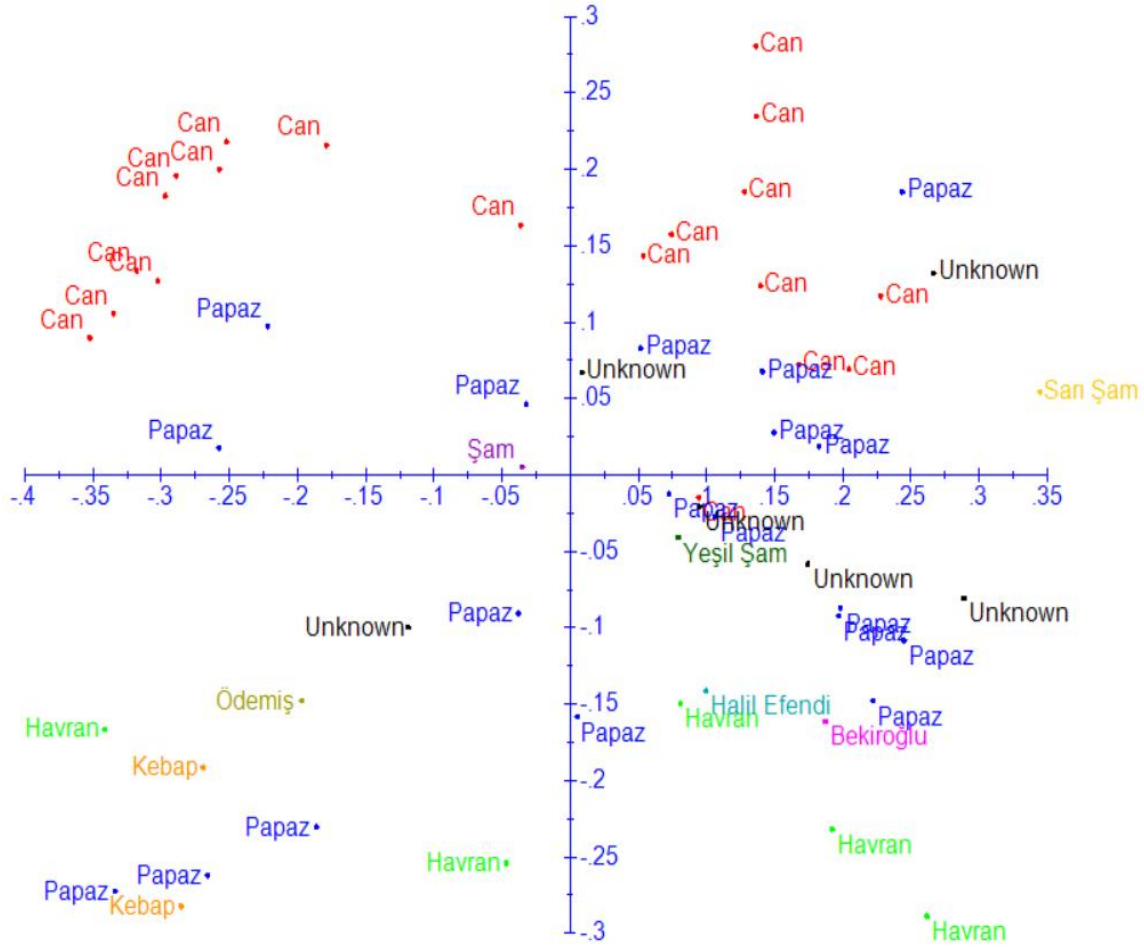
SSR markörleri ile oluşturulan dengrogram grafiğinde toplam 3 grup elde edilmiştir. En çok bireye sahip Can ve Papaz popülasyonlarına ait bireyler, tüm gruplara dağılmış olup, iki bireyi olan Kebap popülasyonu tek bir alt grupta toplanmıştır(Şekil 13).



Şekil 13. SSR analizleri sonucu *P. cerasifera* genotiplerinin dendrogram grafiğine göre dağılımı.

Erik popülasyonları arasındaki genetik uzaklığa göre oluşturulan PCoA grafiği, Şekil 14'te verilmiştir.

Factorial analysis: (Axes 1 / 2)



Şekil 14. SSR analizlerinden elde edilen alelik verilerle *P. cerasifera* genotipleri için oluşturulan PCoA grafiği. Genotipler yerel isimlerine göre; Can erik: kırmızı, Papaz erik: mavi, Havran erik: yeşil, Kebap erik: Turuncu, tanımlanmamış/ bilinmeyen erik çeşitleri: siyah, diğer erik popülasyonları: çeşitli renkler ile renklendirilmiştir.

Birden fazla genotipi olan popülasyonlar gruplandırılmış olup, SSR markör sonuçları için AMOVA analizi yapılmıştır (Tablo 10). AMOVA analizi sonucunda, popülasyonlar arası genetik çeşitlilik %4 olup, popülasyon içi genetik çeşitliliğin %96 ile çok daha önemli olduğu tespit edilmiştir. *PhiPT* değeri 0.15'ten küçük olmasına göre değerlendirildiğinde, en anlamlı gen akışının, Papaz popülasyonu ile Karışık (Akpapaz, Bekiroğlu, Halil Efendi, Ödemiş, Şam, Yeşil Şam, Sarı Şam) popülasyon arasında 8.34 ile en yüksek olduğu tespit edilmiştir. En düşük gen akışı ise, 0.50 ile Bilinmeyen genotiplerin popülasyonu ile Kebap popülasyonu arasında olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 10. Proje dahilindeki erik popülasyonlarının AMOVA analizi sonucunda elde edilen *PhiPT* (F_{ST} değerinin analoğu) ve *Nm* değerleri. *Nm*= göç eden bireylerin sayısı. Gri dolgular: $PhiPT < 0.15$, kırmızı dolgular: popülasyonlar arası gen önemsiz gen akışı

<i>PhiPT/ Nm</i> değerleri	Can	Papaz	Havran	Kebap	Karışık	Bilinmeyen
Can	0.00	0.04	0.09	0.12	0.05	0.11
Papaz	5.51	0.00	0.03	0.10	0.03	0.09
Havran	2.44	8.10	0.00	0.17	0.06	0.14
Kebap	1.87	2.37	1.23	0.00	0.07	0.34
Karışık	4.62	8.34	3.98	3.10	0.00	0.07
Bilinmeyen	2.06	2.54	1.52	0.50	3.34	0.00

Sonuç ve Tartışma

Erik, zengin besin içeriği ve ülkemize ekonomik katkıları nedeniyle önemli bir çekirdekli meyvedir. *Prunus* ailesine bağlı bu tür, kayısı, şeftali, kiraz gibi ülkemizde ve dünyada oldukça popüler olan ve tüketilen diğer meyveler ile yakın akrabadır. Ülkemizde özellikle *Prunus cerasifera* türü erik çeşidi yaygın olarak yetişmektedir. Gerçekleştirilen bu proje ile, Türkiye'nin Ege (İzmir, Aydın, Denizli, Muğla, Manisa), Marmara (Balıkesir) ve Karadeniz (Tokat) Bölgeleri'nde yetişen erik çeşitlerinden oluşan bir popülasyon, genetik çeşitlilik taramasına tabii tutulmuş olup, popülasyon yapısı aydınlatılmıştır.

SRAP ve SSR analizleri karşılaştırıldığında, popülasyonlar arası genetik çeşitliliğin ve popülasyon yapısının aydınlatılmasında, SSR analiz sonuçlarının SRAP analiz sonuçlarına göre daha etkili bir method olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonucun değerlendirilmesinde, 495 allel sayısına sahip olan SRAP markörlerinin ortalama genetik çeşitlilik verilerinin (%32) 196 allel ile elde edilen ortalama genetik çeşitlilik verileriyle (%34) hemen hemen aynı hatta %2 oranında daha az elde edilmesi göz önünde bulundurulmuştur.

SRAP ve SSR veri analizleri sonuçlarına göre, her iki analizde de oluşturulan dendrogramda elde edilen ana alt grupların sayısı 3'tür. Buna karşılık, popülasyon yapısı analizinde SRAP analizleri 3 alt popülasyon oluştursa da SSR analizleri sonucunda en uygun alt popülasyon sayısı $K=2$ ve $K=5$ olmuştur. Bu durum, en çok bireyin Can ve Papaz popülasyonunda olması ve tek bireyi olan genotipler ile bilinmeyen genotiplerin 5. ve 6. gruplar altında toplanması ile açıklanabilir. PCoA analiz grafiğinde ise, SRAP analizlerinde 3 ana grup oluşmuşken, SSR analiz sonuçlarına göre elde edilen PCoA grafiğinde erik bireyleri grafiğin her koordinatına yaygın bir şekilde dağılmıştır.

SRAP analiz sonucunda dendrogramda Can popülasyonu bireyleri sadece iki alt grupta toplanmışken, SSR analizlerinde üç grupta da bireyleri yerleşmiştir. Mnejja vd., (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, *P. salicina* ve *P. domestica* popülasyonlarından toplam 29 birey kullanılmış, SSR markörleri ile analiz edildiğinde iki ana gruba ayrılmıştır. Yine *P. domestica*'da yapılan başka bir çalışmada, 55 genotip 7 SSR markörü ile taranmış olup, iki ana grupta toplanmış olup, aynı türe ait bireylerin dendrogramda birarada yerleşmediği kaydedilmiştir (Makovics-Zsohar vd., 2017). Başka bir çalışmada, 27 romanya erik genotipi, 9 SSR markörü kullanılarak analiz edilmiş, sonucunda iki ana grup ve 4 alt popülasyon tespit edilmiştir (Rodica vd., 2018). Zhao vd., (2015) tarafından yürütülen bir çalışmada ise, 40 adet *P. cerasifera* genotipi, 14 SSR markörü ile analiz edilmiş ve sonucunda 3 ana grup oluşturulmuştur. Yapılan bu çalışmada, bu gruplamanın morfolojik karakterlere göre yapılan sınıflandırmayla örtüşmediği vurgulanmıştır. Bu çalışma, analiz sonucunda özellikle Can ve

Papaz genotiplerinin tüm gruplara yayılış göstermesini destekler niteliktedir. Bu tür bir karmaşanın, uzun mesafelerden gen akışı, insan ve polinatör gibi faktörlerin de muhtemelen bu genetik yapıyı etkilemesiyle oluşabileceği, daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir (Wöhrmann vd., 2011). Bu bilgilere ek olarak, yürütülen bu proje ile SRAP analizinde olduğu gibi, bazı Papaz genotipleri üçüncü grupta baskın şekilde yer almışlardır. SRAP analizlerinde, Yeşil Şam ve Sarı Şam genotipleri birbirine ve Can popülasyonu bireylerine yakın çıkarken Şam genotipine uzak çıkmışlardır, SSR analizlerinde ise Şam genotipi Yeşil Şam bireyi ile yakın çıkmış olup, Sarı Şam Can popülasyon bireyleriyle aynı alt popülasyonda bulunmuştur.

SRAP analizlerinden elde edilen dendrogramda; Havran, Kebap, Halil Efendi ve Bekiroğlu genotipleri Can eriği bireylerine yakınlığı tespit edilmiştir. SSR analizleri ile oluşturulan dendrogramda ise, Halil Efendi genotipi, bu genotiplerden uzakta, Can ve Papaz genotipleriyle 3. Ana grupta yerleşmiştir. Buna karşılık, Havran genotipleri daha çok birinci ana grupta toplanmış olup, Bekiroğlu ile aynı alt grupta toplanmıştır. Ancak, Havran genotiplerinden bir tanesi ve Kebap genotipleri, ikinci ana grupta aynı alt grupta toplanmıştır. Ayanoğlu vd., (2007) tarafından yürütülen bir çalışmada, Havran, Can ve Papaz popülasyonları Hatay ilinden temin edilmiş olup, dendrogram analizine göre, yakın bölgelerden toplanmış diğer örneklerle karşılaştırıldığında genetik olarak ayrılmış ve aynı alt grupta toplanmışlardır. Ancak, yine kendi aralarında da Havran genotipleri ayrı bir alt grupta toplanırken, Can ve Papaz bireyleri başka bir alt grupta toplanmıştır. Yürüttüğümüz bu çalışmadan elde ettiğimiz veriler, bu çalışmayı destekler niteliktedir. Çünkü, dendrogram analizlerinde Havran bireylerinin çoğu, aynı alt grupta toplanmıştır. Can popülasyonuna ait bireyler ise, SRAP markörleri ile oluşturulan dendrogramda sadece iki ana popülasyonda bulunurken, SSR analizlerine göre, 3. Ana grupta da bir adet birey (TUR0010188) bireyi Papaz ve Halil Efendi genotipleri ile yer almıştır. PCoA analizine göre hem SRAP hem de SSR analizlerinde, Can ve Papaz popülasyonlarının birçok bireyi, kendi içlerinde birarada (yakın) yerleşmiştir.

AMOVA analizine dayanarak, Papaz popülasyonu ile farklı yerel bireyler (Akpapaz, Bekiroğlu, Şam vb.) arasında Can popülasyonu ile aralarındaki gen akışı karşılaştırıldığında, daha fazla birey geçişi olduğu belirlenmiştir. Can popülasyonu ise, diğer popülasyonlarla ilişkisine bakıldığında daha izole bir profil görülmektedir. Altı ana popülasyon için gerçekleştirilen AMOVA analizine göre, popülasyonlar arası genetik çeşitlilik %4 iken popülasyon içi genetik çeşitlilik %96 olmuştur. Başka bir çalışmada, 117 *P. divaricata* (*P. cerasifera*'nın alternatif ismi) genotipi, 25 SSR ve EST-SSR markörü ile analiz edilmiş ve sonucunda popülasyonlar arası genetik çeşitlilik %3,2 çıkarken, popülasyon içi genetik



çeşitlilik %96,8'dir (Wöhrmann vd., 2011). Değerlerin yakınlığı dikkat çekmektedir. Popülasyon içi genetik çeşitliliğin bu kadar yüksek çıkmasının sebebi, örneklerin Türkiye'nin üç bölgesindeki farklı lokasyonlardan toplanması ve bu nedenle uzak mesafe gen akışının zor olacağı ile yorumlanmıştır (Wöhrmann vd., 2011).

Yürütülen bu çalışma, ekonomik değeri çok yüksek olan erik için, moleküler ıslah yöntemleri ile yeni çeşitlerinin geliştirilebilmesine yardımcı olacaktır.

Kaynaklar

- Abedian, M., Talebi, M., Golmohammdi, H.R., Sayed-Tabatabaei, B.E. (2012). "Genetic diversity and population structure of mahaleb cherry (*Prunus mahaleb* L.) and sweet cherry (*Prunus avium* L.) using SRAP markers", *Biochemical Systematics and Ecology*, 40, 112-117.
- Abuzayed, M., El-Dabba, N., Frary, A., Doganlar, S. (2017). "GDdom: An online tool for calculation of dominant marker gene diversity", *Biochemical Genetics*, 55(2), 155-157.
- Ayanoğlu, H., Bayazit, S., Inan, G., Bakır, M., Akpınar, A. E., Kazan, K., Ergül, A. (2007). "AFLP analysis of genetic diversity in Turkish green plum accessions (*Prunus cerasifera* L.) adapted to the Mediterranean region", *Scientia Horticulturae*, 114(4), 263-267.
- Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M., Poizat, C., Zanetto, A., Laigret, F. (2002). "Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.)", *Theoretical and Applied Genetics*, 105(1), 127-138.
- Doyle, J.J. (1987). "A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue", *Phytochem Bull Bot Soc Am*, 19, 11-15.
- Earl, D.A. (2012). "STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method", *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359-361.
- Liu, W., Liu, D., Zhang, A., Feng, C., Yang, J., Yoon, J., Li, S. (2007). "Genetic diversity and phylogenetic relationships among plum germplasm resources in China assessed with inter-simple sequence repeat markers", *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(5), 619-628.
- Makovics-Zsohár, N., Tóth, M., Surányi, D., Kovács, S., Hegedűs, A., Halász, J. (2017). "Simple Sequence Repeat Markers Reveal Hungarian Plum (*Prunus domestica* L.) Germplasm as a Valuable Gene Resource", *HortScience*, 52(12), 1655-1660.
- Öz, M.H., Vurgun, H., Bakır, M., Büyük, İ., Yüksel, C., Ünlü, H.M., Çukadar, K., Karadoğan, B., Kçse, Ö., Ergül, A. (2013). "Molecular analysis of East Anatolian traditional plum and cherry accessions using SSR markers", *Genetics and Molecular Research*, 12(4), 5310-5320.
- Li, G., Quiros, C.F. (2001). "Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica", *Theoretical and Applied Genetics*, 103(2-3), 455-461.
- Lin, Z. X., He, D., Zhang, X. L., Nie, Y., Guo, X., Feng, C., Stewart, J.M. (2005). "Linkage map construction and mapping QTL for cotton fibre quality using SRAP, SSR and RAPD", *Plant Breeding*, 124(2), 180-187.
- Lin, Z., Zhang, X., Nie, Y., He, D., Wu, M. (2003). "Construction of a genetic linkage map for cotton based on SRAP", *Chinese Science Bulletin*, 48(19), 2064-2068.
- Makovics-Zsohár, N., Tóth, M., Surányi, D., Kovács, S., Hegedűs, A., Halász, J. (2017). "Simple Sequence Repeat Markers Reveal Hungarian Plum (*Prunus domestica* L.) Germplasm as a Valuable Gene Resource", *HortScience*, 52(12), 1655-1660.

- Mantel, N. (1967). "The detection of disease clustering and a generalized regression approach", *Cancer Research*, 27(2): 209–220.
- Mnejja, M., Garcia-Mas, J., Howad, W., Badenes, M.L., Arús, P. (2004). "Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond", *Molecular Ecology Resources*, 4(2), 163-166.
- Perrier, X., Jacquemoud-Collet, J.P. (2006). DARwin software. <http://darwin.cirad.fr/darwin>.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). "Inference of population structure using multilocus genotype data", *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R.C., Oh, S., Smedmark, J.E.E., Morgan, D.R., Kerr, M., Robertsen, K.R., Arsenault, M., Dickinson, T.A., Campbell, C. S. (2007). "Phylogeny and classification of Rosaceae", *Plant Systematics and Evolution*, 266(1-2), 5-43.
- Rodica, P.O.P., Harta, M., Szabo, K., Zanescu, M., Sisea, C.R., Catana, C., Pamfil, D. (2018). "Genetic Diversity and Population Structure of Plum Accessions from a Romanian Germplasm Collection Assessed by Simple Sequence Repeat (SSR) Markers", *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1), 90-96.
- Shimada, T., Hayama, H., Haji, T., Yamaguchi, M., Yoshida, M. (1999). "Genetic diversity of plums characterized by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis", *Euphytica*, 109(3), 143.
- FAO (2017). Production quantity of plums and sloes, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>; 11.01.2019.
- Wöhrmann, T., Guicking, D., Khoshbakht, K., Weising, K. (2011). "Genetic variability in wild populations of *Prunus divaricata* Ledeb. in northern Iran evaluated by EST-SSR and genomic SSR marker analysis", *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(8), 1157-1167.
- Zhang, L., Xu, Y., Ma, R. (2008). "Molecular cloning, identification, and chromosomal localization of two MADS box genes in peach (*Prunus persica*)", *Journal of Genetics and Genomics*, 35(6), 365-372.
- Zhao, Y., Li, Y., Liu, Y., Yang, Y.F. (2015). "Genetic diversity of wild *Prunus cerasifera* Ehrhart (wild cherry plum) in China revealed by simple-sequence repeat markers", *Gene Conserve*, 14(56).

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. ANNE FRARY
Proje No:	118Z172
Proje Başlığı:	Türk Eriğinde (Prunus cerasifera) Moleküler Genetik Analizler
Proje Türü:	1002 - Hızlı Destek
Proje Süresi:	8
Araştırmacılar:	
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	İZMİR YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ FEN FAKÜLTESİ MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	15/08/2018 - 15/04/2019
Onaylanan Bütçe:	30000.0
Harcanan Bütçe:	30000.0
Öz:	<p>Prunus türleri, lezzetli tadı ve yüksek besin içeriği olan popüler meyvelerinden ve ekonomik olarak değerli bir ürün olmasından dolayı dünya genelinde yetiştirilmektedir. Türkiye önemli bir erik üreticisi olmasına rağmen, yüksek ekonomik karlılık için üretimin artırılması gerekmektedir. Bu nedenle, yüksek verimde erik çeşitlerinin geliştirilmesi için moleküler araçlar kullanılmalıdır. Bu çalışma, SRAP markör sistemini kullanarak moleküler araçları erik ıslah programlarına entegre etmeyi amaçlamıştır. Bu amacı gerçekleştirmek için, Türkiye'nin değişik yörelerinden toplanan 66 adet genotipi içeren bir Prunus cerasifera Ehrhart popülasyonunun moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Bu karakterizasyon çalışması, erikte ıslah programlarını başlatmak için değerli bilgileri sağlayacak olan popülasyon içerisindeki mevcut genetik çeşitlilik düzeyini ve popülasyon yapısını ortaya çıkaracaktır. Bu proje TÜBİTAK tarafından 1002 - Hızlı Destek Programı kapsamında Prof. Dr. Anne Frary'ye sağlanan destekle yürütülmüştür.</p>
Anahtar Kelimeler:	Erik, Genetik Çeşitlilik, Popülasyon Yapısı, Moleküler Markör, SRAP, SSR
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır