T.C

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI YERLİ BADEM ÇEŞİTLERİNDE FENOLOJİK GÖZLEMLER İLE BAZI YAPRAK ÖZELLİKLERİ VE MEYVELERDE ACILIK-TATLILIK GENLERİNİN SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Birgül DİKMETAŞ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2020

Prof. Dr. Bekir Erol AK danışmanlığında, Birgül DİKMETAŞ' ın hazırladığı **"Farklı Yerli Badem Çeşitlerinde Fenolojik Gözlemler İle Bazı Yaprak Özellikleri Ve Meyvelerde Acılık-Tatlılık Genlerinin Snp (Single Nucleotide Polymorphisms) Yöntemiyle Belirlenmesi"** konulu bu çalışma …/…/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Prof. Dr. Bekir Erol AK …….

Üye : Doç. Dr. Ebru SAKAR ……..…

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Yusuf NİKPEYMA …….……

Bu Tezin Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Doç. Dr. İsmail HİLALİ
Enstitü Müdürü

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET…… i
ABSTRACT…… ii
TEŞEKKÜR…… iii
ŞEKİLLER DİZİNİ…… iv
ÇİZELGELER DİZİNİ…… v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ…… vi
1.GİRİŞ…… 1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR…… 22
2.1. Badem İle İlgili Dünyada Yapılan Çalışmalar…… 22
2.2. Badem İle İlgili Ülkemizde Yapılan Çalışmalar…… 26
3. MATERYAL VE YÖNTEM…… 29
3.1. Materyal…… 29
3.1.1.Araştırma Alanı…… 29
3.1.2. Araştırma Alanının İklim Özellikleri …… 29
3.1.3. Araştırmada Yer Alan Yerli Badem Çeşitleri ve Bunların Anacı …… 30
3.1.3.1. 48-1…… 30
3.1.3.2. Ak Badem (48-2)…… 30
3.1.3.3. Hacı Alibey (48-5)…… 31
3.1.3.4. Gülcan-1(101-23)…… 31
3.1.3.5. Gülcan-2(101-13)…… 32
3.1.3.6. Dokuzoğuz-2 (120-1)…… 32
3.1.3.7. Nurlu…… 32
3.1.3.8. 17-4…… 33
3.1.3.9. GF-677 Anacı…… 33
3.2 Yöntem…… 34
3.2.1. Fenolojik Gözlemler…… 34
3.2.1.1. Çiçeklenme Başlangıcı…… 35
3.2.1.2. Tam Çiçeklenme…… 35
3.2.1.3. Çiçeklenme Sonu…… 36
3.2.1.4. Küçük Meyve Safhası…… 36
3.2.2. Yaprak Özellikleri…… 36
3.2.2.1. Yaprak Uzunluğu(L) (cm)…… 36
3.2.2.2. Yaprak Genişliği(l) (cm)…… 37
3.2.2.3. Yaprak Sapı (Pedisel) Boyu(cm)…… 37
3.2.2.4. Yaprak Genişlik/Uzunluk Oranı…… 38
3.2.2.5. Yaprak Alanı (cm^2)…… 38
3.2.2.6. Yaprak Yaş Ağırlığı (g)…… 38
3.2.2.7. Yaprak Kuru Ağırlığı (g)…… 39
3.2.2.8. Turgor Halindeki Yaprak Ağırlığı (g)…… 39

3.2.2.9. Yaprak Nisbi Su İçeriği (%)…….. 40
3.3. Acılık-Tatlılık Genlerinin SNP İle Analizi…… 40
3.3.1. DNA İzolasyonu…….. 40
3.3.1.1. DNA İzolasyonu İçin Gerekli Solüsyonların Hazırlanması ……... 41
3.3.1.2. DNA İzolasyon İşlem Aşamaları ……... 41
3.3.2. DNA Kalite ve Saflığının Spektrometre ile Belirlenmesi …..…… 43
3.3.3. DNA Kalite ve Saflık Belirleme İşlemi Aşamaları ……..…… 43
3.3.4. SNP Analizi İçin PCR (Polymerase Chain Reaction) Koşulları ……..…… 44
3.3.5. Agaroz Jel Elektroforezi ve Fotoğraflama …….. 46
3.4. SNP Analizi…… 48
4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA…… 49
4.1. Fenolojik Gözlemler……... 49
4.2. Yaprak Analizleri……... 50
4.2.1. Yaprak Uzunluk, Yaprak Genişlik ve Yaprak Sapı Uzunluğu …… 50
4.2.2. Yaprak Genişlik/Yaprak Uzunluk Oranı …… 51
4.2.3. Yaprak Alanı …….. 52
4.2.4. Yaprak Ağırlıkları…….. 52
4.2.5. Yaprak Nisbi Su İçeriği…….. 53
4.3. Acılık-Tatlılık Genlerinin SNP İle Analizi…… 54
4.3.1. DNA Kalite ve Saflığının Spektrofotometre ile Belirlenmesi……... 54
4.3.2. Agaroz Jel Elektroforezi ve Fotoğraflama ……... 55
4.3.3. SNP Analizi…….. 56
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER……... 59
5.1. Sonuçlar……... 59
5.2. Öneriler…… 61
KAYNAKLAR…… 62
ÖZGEÇMİŞ…….. 68

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI YERLİ BADEM ÇEŞİTLERİNDE FENOLOJİK GÖZLEMLER İLE BAZI YAPRAK ÖZELLİKLERİ VE MEYVELERDE ACILIK-TATLILIK GENLERİNİN SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Birgül DİKMETAŞ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bekir Erol AK
Yıl: 2020, Sayfa:68

Bu çalışma 2019 yılında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi badem koleksiyon parselinde bulunan bazı yerli çeşitler (Nurlu, Hacı Alibey(48-5), 48-1, Akbadem, 17-4, Gülcan-2(101-13), Dokuzoğuz-2 (120-1) ve Gülcan-1(101-23)) üzerinde yürütülmüştür. Çalışmada er yer alan çeşitlere ait örnekler Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri laboratuvarı ve İspanya CEBAS-CSIC Enstitüsü laboratuvarında analiz edilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre fenolojik gözlemlere göre Hacı Alibey(48-5) 10 Mart tarihinde tam çiçeklenme dönemine girmiştir. En geç Gülcan-2(101-13) çeşidi 20 Mart tarihinde tam çiçeklenme dönemine girmiştir. Bu çeşitlere ait fenolojik gözlemler ve bazı yaprak özellikleri incelenmiştir. Yapılan incelemelerde genel olarak ortalama yaprak uzunluk değeri: 8.29 cm, yaprak genişlik değeri: 2.79 cm, yaprak sap uzunluk değeri: 2.12 cm, yaprak genişlik/yaprak uzunluk oranı: 0.33, yaprak alanı: 16.405 cm², yaprak yaş ağırlığı: 1.85 g, turgor halindeki yaprak ağırlığı: 2.13 g, yaprak kuru ağırlığı: 0.71 g, yaprak nisbi su içeriği: %80.13 saptanmıştır. Bu çalışmada kullanılan yaprak örnekleri 2019 yaz döneminde İspanya CEBAS-CSİC Enstitüsünde bulunan biyoteknoloji laboratuvarında DNA ve Snp (Single Nucleotide Polymorphisms) analizleri yapılmıştır. Bu analizlere göre; incelenen 8 adet yerli badem çeşidinde Sk/sk alellerine göre acılık tatlılıkları belirlenmiştir. Fenotipik olarak tatlı olmasına rağmen genotip olarak 6 çeşidin (Nurlu, Hacı Alibey(48-5), 48-1, Akbadem, 17-4 ve Gülcan-2(101-13)) homozigot (Sk/Sk) tatlı, 2 çeşidin (Dokuzoğuz-2 (120-1) ve Gülcan-1(101-23)) ise heterozigot (Sk/sk) tatlı olduğu saptanmıştır. Bazı Yerli badem çeşitlerinde yapılacak olan ıslah çalışmalarında resesif bireylerin oluşmasını önlemek için heterozigot bireyler yerine homozigot bireyler tercih edilmelidir.

ANAHTAR KELİMELER: Badem, yaprak, SNP, DNA, Acılık

ABSTRACT

MSc Thesis

PHENOLOGICAL OBSERVATIONS IN DIFFERENT DOMESTIC ALMOND VARIETIES WITH SOME LEAF TRAITS AND DETERMINATION OF BITTERNESS-SWEETNESS GENES IN FRUITS BY SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) METHOD

Birgül DİKMETAŞ

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticultural

Supervisor: Prof. Dr. Bekir Erol AK
Yıl: 2020, Page:68

This study was conducted on some local cultivars (Nurlu, Hacı Alibey (48-5), 48-1, Akbadem, 17-4, Gülcan-2 (101-13), Dokuzoğuz-2 (120-1) and Gülcan-1 (101-23)) found in the almond collection plot of Harran University Faculty of Agriculture in 2019. The samples belonging to the varieties included in the study were analyzed in the Faculty of Agriculture Horticulture laboratory and the Spain CEBAS-CSIC Institute laboratory.

According to the findings and phenological observations, Hacı Alibey (48-5) entered the full flowering period on March 10th. At the latest, Gülcan-2 (101-13) variety entered its full flowering period on 20 March. Phenological observations and some leaf characteristics of these varieties were investigated. In the examinations, the average leaf length value in general: 8.29 cm, leaf width value: 2.79 cm, leaf stem length: 2.12 cm, leaf width / leaf length ratio: 0.33, leaf area: 16.405 cm², leaf age weight: 1.85 g, turgor Leaf weight in the form: 2.13 g, leaf dry weight: 0.71 g, leaf relative water content: 80.13%. Leaf samples used in this study were analyzed for DNA and Snp (Single Nucleotide Polymorphisms) in the biotechnology laboratory at the Spain CEBAS-CSİC Institute in the summer of 2019. According to these analyzes; The bitterness sweetness of 8 local almond varieties was determined according to Sk / sk alleles. Although phenotypically sweet, genotype of 6 varieties (Nurlu, Hacı Alibey (48-5), 48-1, Akbadem, 17-4 and Gülcan-2 (101-13)) homozygous (Sk / Sk) sweet, 2 varieties (Dokuzoğuz-2 (120-1) and Gülcan-1 (101-23)) were found to be heterozygous (Sk / sk) sweet. Homozygous individuals should be preferred instead of heterozygous individuals in order to prevent the formation of recessive individuals in the breeding studies to be carried out on some domestic almond varieties.

KEY WORDS: Almond, Leaf, SNP, DNA, Bitterness

TEŞEKKÜR

Bu çalışma ile bana araştırma ve öğrenme olanağı sağlayan, çalışmanın her safhasında bilgi ve tecrübesi ile yardımlarını esirgemen ve beni destekleyen kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Bekir Erol AK hocama en içten dileklerimle teşekkürlerimi sunuyorum.

Araştırma çalışmam süresice yardımlarına başvurduğum saygıdeğer hocalarım Dr. Federico DICENTA ve Dr. Raquel SANCHEZ-PEREZ'e en içten dileklerimle teşekkür ediyorum. Ayrıca çalışmamın DNA ile ilgili analizler kısmında İspanya'da bulunan CEBAS-CSIC Enstitüsüne gitme konusunda fon sağlayan Harran Üniversitesi AB Ofisine teşekkür ediyorum.

Araştırmamdaki arazi çalışmaları sürecinde yardımına başvurduğum Yüksek Kimyager Hilmi DOĞAN arkadaşıma ve çalışmanın istatistik analiz kısmında yardımına başvurduğum Peyzaj Yük. Mimarı İbrahim Halil HATİPOĞLU arkadaşıma teşekkür ediyorum.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez çalışmam boyunca da maddi ve manevi desteklerini, ilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen aileme sevgilerimi, saygılarımı ve en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. DNA Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Aydoğan-Çifçi, 2010)……... 11
Şekil 1.2. Elektroforez…….. 12
Şekil 1.3. RAPD markerlerinin oluşumu……. 18
Şekil 3.1. Harran Üniversitesi Badem Koleksiyon Parselinin uydudan çekilmiş fotoğrafı……... 29
Şekil 3.2. Akbadem Çeşidi……... 31
Şekil 3.3. Nurlu Çeşidi…… 33
Şekil 3.4. GF 677 Anacı…….. 34
Şekil 3.5. Badem çiçeklenme başlangıcı…… 35
Şekil 3.6. Badem tam çiçeklenme (a,b)…… 35
Şekil 3.7. Badem küçük meyve safhası……... 36
Şekil 3.8. Badem yaprak uzunluk ölçümü……... 37
Şekil 3.9. Badem yaprak genişlik ölçümü……... 37
Şekil 3.10. Image-j programında yaprak alan ölçümü…… 38
Şekil 3.11. Badem yaprak yaş ağırlık ölçümü…….. 39
Şekil 3.12. Badem yaprakları etüvde kurutma işlemi…….. 39
Şekil 3.13. Badem yaprakları saf su içerisinde 6 saat bekletme …….. 40
Şekil 3.14. Tissue lyser (A), Duman dolabı içerisinde numunelere tampon solüsyon eklenmesi (B), Örneklerin santrifüje yerleştirilmesi (C)…..…… 43
Şekil 3.15. Numunelerin buz içerisine konulması (A), Nanodrop kaidesine örnek yükleme (B), Nanodrop ile okuma yapma (C)……...…… 44
Şekil 3.16. PCR bileşenleri ve stok primerlerin hazırlanması…… 45
Şekil 3.17. Eppendorf Mastercycler Gradient PCR cihazı…….…….. 46
Şekil 3.18. Agaroz jel (A), Agaroz jelin taraklara dökülmesi (B)…….……... 47
Şekil 3.19. Jel tepsisine TAE solüsyon eklenmesi(A), Jel tepsisine elektrik verilmesi (B), Elektroforezden sonra jelin görüntüsü……...……... 48
Şekil 3.20. Elektroforez işleminden sonra jelin konulduğu tepsi(A), Fotoğraflamanın yapıldığı makine (B), Fotoğraflama opsiyonun seçildiği program (C)…….…….. 48
Şekil 4.1. SNP-PCR Elektroforez jel görüntüsü……... 56
Şekil 4.2. SNP dizi analizi……..……... 57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1.Dünya Badem Üretimi (ton)……..... 4
Çizelge 1.2.Dünya Badem Üretimi Yapılan Alan (ha)……... 5
Çizelge 1.3. Ülkemiz İllerine Göre Badem Üretimi (ton)……... 5
Çizelge 1.4. Ülkemizin Yıllara Göre Ağaç Sayısı (bin)…….. 6
Çizelge 3.1. Araştırma alanına ait 2019 yılı iklim verileri……..…… 30
Çizelge 3.2. DNA izolasyon işleminde kullanılan CTAB tampon solüsyon çözeltisinin içeriği…… 41
Çizelge 3.3. SNP analizi için PCR bileşenleri ve miktarları……..……. 45
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan SNP primerlerine ait bilgiler……...…. 46
Çizelge 4.1. Yerli Badem çeşitlerine ait fenolojik gözlemler……. 49
Çizelge 4.2. Badem yaprak uzunluk, genişlik ve yaprak sap uzunluğu (cm)……. 51
Çizelge 4.3. Badem yaprak genişlik/ yaprak uzunluk oranı…… 51
Çizelge 4.4. Badem yaprak alanı (cm²)…….. 52
Çizelge 4.5. Badem yaprak ağırlıkları (g)……... 53
Çizelge 4.6. Yaprak nisbi su içeriği (%)……. 53
Çizelge 4.7. İzole edilen DNA'lara ait spektrofotometre verileri……..... 54

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	:Yüzde
°C	:Santigrat derece
µl	:mikrolitre
AAD	:Arbitrarily Amplified Dominat markers/ rastgele çoğaltılış dominant markörler
AC	:Adenin Citozin
ADNbc	:çift sarmal DNA
AFLP	:Amplified Fragment Lenght Polymorphism/ Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
AP-PCR	:Arbitrarily Primed PCR
ASO	:Allel spesifik oligonükleotit
AT	:Adenin Timin
bç	:baz çifti
CAPS	:Çoğaltılmış Kesilmiş Polimorfik Dizi/Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
cDNA	:Tamamlayıcı DNA
CEBAS-SCIC	:Centro de Edafología y Biología Aplicada Del Segura Consejo Superior de Investıga de Cıenticas/ Segura Bilim Araştırmaları Yüksek Konseyi Edafoloji ve Uygulamalı Biyoloji Merkezi
cm	:santimetre
cm²	:santimetrekare
CTAB	:centyltrimeyhtlaminium bromide
DAF	:DNA Amplification Fingerprinting
dH_2O	:deiyonize su
dk	:dakika
dNTP	:DNA nükleotit bazları
EDTA	:Ethilenediaminetetraaceticacit
EST	:İfade edilen dizi etiketi/Expressed Sequence Tags
ETS	:Expressed Tagged Site/Etiketlenmiş Bölge
g	:gram
HA	:heterodupleks analizi
ISSR	:Basit Dizi Arası Tekrar/Inter Simple Sequence Repeats
l	:yaprak genişliği
L	:yaprak uzunluğu
M	: mol
$MgCl_2$	:Magnezyum klorür
ml	:mililitre
mm	:milimetre
NaCI	:Sodyum Clorür
ng	:nanogram
nm	:nanometre
Ö.D.	:Önemli değil
PCR	:Polymerase Chain Reaction/Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PVP	:Polyvinylpyrrolidone
RAPD	:Random Amplified Polymorphic DNA/ Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	:Restriksiyon Fragment Lenght Polymorphism/Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi
rpm	:Revolutions Per Minute
SCAR	:Dizisi karakterize edilmiş çoğaltılmış bölge/ Sequence Characterized Amplified Region
SCARs	:Dizisi Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler/Sequence Characterized Amplified

	Regions
sn	:saniye
SNP	:Tek nükleotid polimorfizmi/ Single Nucleotide Polymorphisms
SSCP	:Tek iplik konformasyonal polimorfizmi
SSR	:Basit dizi tekrarları/Simple Sequences Repeats
STS	:Dizisi Etiketlenmiş Bölge/Sequence Tagged Sites
STS	:Dizisi etiketlenmiş bölge/Sequences Tagged Sites
TA	:Turgor Ağırlığı
TAE	:Tris (acetete) EDTA (buffer)
Taq	:Thermophylus aquatif
TE	:Tris EDTA Buffer
TG	:Timin Guanin
Tris	:Tris (hydroxymethyl) aminomethane
UV	:Ultra Violet
vb.	:ve benzeri

1.GİRİŞ

Rosales takımının, Rosaceae (gülgiller) familyasından *Prunus L*. cinsinin *Prunus dulcis* Miller türü olan badem sert kabuklu bir meyve türüdür. 1753 yılında kültür bademi Linnueus tarafından *Amygdalus communis L*. olarak adlandırılmıştır (Özbek, 1978; Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979).

Dünya da geniş bir alanda yetiştiriciliği yapılan Amygdalus alt cinsinin euamygdalus grubuna giren *Prunus dulcis* (Miller) D. A. Webb ismi ile anılan kültür bademi, *Prunus amgdalus Batsch* ve *Amygdalus communis* sinonimleriyle de bilinmektedir(Socias I Company ve Felipe, 1992). Bu kultür bademinin Orta Asya'nın dağlık ve kurak bölgelerinden orijinlendiği bildirilmiştir (Ladizinsky, 1999).

Anavatanı Orta ve Batı Asya olan badem buradan Çin, İran, Hindistan, Suriye ve Akdeniz ülkelerine kadar yayılım göstermiştir (Küden ve ark., 2014). Ülkemizde bodur acı badem türü olan *Amygdalus nana* L. zengin bir değişim göstererek yetişmektedir (Küden ve ark., 2014). Ülkemizin kıraç bölgelerine uyum sağlayarak yetişebilen *Amygdalus nana* L, ülkemizin tipik bitkilerindendir (Küden ve ark., 2014). Dünya da yaygın olarak yetiştirilen Amygdalus, Roseceae familyasından olan Prunus cinsinin bir türüdür (Martinez-Gomez ve ark., 2007).

Kültür bademi Orta Asya çıkışlı olup buradan Akdeniz havzasına kadar yayılmıştır. Yayılma şekli, tarihçilerin ve dil bilginlerinin eserlerinden elde edilen bilgiler ışığında belirlenebilmiştir. Badem ağaçları için Schaked, Luz veya Lus, meyveleri için ise Schekedim kelimelerinin eski İbranicede kullanılması bademin Batı Asya'daki varlığının daha eski dönemlere dayandığını ifade etmektedir. Sami dillerinde (Arapça ve Asur dili) Luz, Louz veya Louza kelimeleri halen kullanılmaktadır (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979).

Ülkemiz sahip olduğu farklı ilkim özelliklerinden ve coğrafi konumundan dolayı birçok meyve türünün olduğu gibi bademinde gen merkezi ve yayılma alanı durumundadır. Ülkemizin yaygın olarak her bölgesinde yetiştiricilik yapılmasına rağmen yetiştiriciliğin yaygın olduğu bölgeler Akdeniz, Marmara ve Ege bölgesidir.(Özbek, 1971). Fakat çok erken çiçek açan meyve türlerinden biri olduğu için Ege Bölgesinin iç kesimleri ve Orta Anadolu gibi ilkbahar geç donlarının etkili olduğu yerlerde bazı yıllar ürün alınamamaktadır (Özbek,1978). Hemen hemen her yıl ilkbahar geç donlarından dolayı zarar gören ve ürün alınamayan bölgelerde, badem ağaçları kıraç alanların ağaçlandırılması için kullanılmaktadır (Özbek, 1978).

Badem kuraklığa dayanıklılığı ile bilinen bir ılıman iklim meyvesidir. Bu özelliği sayesinde yazları kurak ve sıcak geçen Akdeniz iklim koşullarında ideal bir yetiştiricilik yapılmasına imkân sağlamaktadır. Dünyada badem yetiştiriciliğinin çok geniş alanlarda yapılmasına karşın her meyve türünde olduğu gibi bademde de bazı ekolojik faktörler sınırlayıcı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu meyve türünün sınırlayıcısı ise soğuklama isteklerinin çok az olması, bunun sonucu olarak da erken çiçek açmasıdır. Hava sıcaklığının tozlanma ve döllenme için yeterli olmadığı bir sıcaklıkta ve yağış gibi ekolojik faktörlerden olumsuz etkilenebilmektedir (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979). Badem ağaçlarının çiçek açtığı sırada kısa bir süreliğine -4,4 °C' dayandıkları ama taç yapraklarının dökülmeye başlamasıyla dayanma sıcaklığının -2,2 °C olduğu ve oluşan küçük meyvelerin ise -1, -0,6 °C de zarar gördükleri tespit edilmiştir (Küden ve ark., 2014).

Badem Türkiye'de ve İran'da Saharan ovasında oradan da Hindistan ve Nepal'e kadar bulunabilen sıcak iklimlere özgü olan bir bitkidir. Badem mezokarp denilen sert bir kabuğa sahiptir ve bu kabuk soyulduğunda endokarp denilen kısım ortaya çıkmaktadır (Cantor ve ark., 2006; Zohary ve Hopf, 2000).

Dünya da bademin kültüre alınması İran, Türkiye, Suriye ile Filistin'de başladığı tahmin edilir, daha sonra Yunanistan, İspanya, İtalya ve Kuzey Afrika'da yayılım göstermiştir (Kester ve Asay, 1975). İlk İspanyol kolonistler tarafından

1800'lü yılların ortalarında Kuzey Amerika'ya götürülmüş en büyük gelişmeyi Kaliforniya eyaletinde göstermiştir (Kester ve Asay, 1975; Kester ve ark., 1990).

Dünyada ki badem yetiştiriciliği ve ticaretinde başta gelen ülkelerden olan ABD'de, üretimin önemli bir kısmını seleksiyon çalışmalarıyla elde etmiş ve şans eseri bulunmuş olan Texas (Mission), Solano, Sonora, Price, Avalon, Kahl, Ne Plus Ultra, Peerless, Rosetta, Velenta, Thompson, Ruby, Monterey ve Fritz çeşitleri oluşturmaktadır (Kester ve Asay, 1975; Kester ve ark., 1991; Wesley ve ark., 1996; Dicenta ve ark., 1999; Okie, 2000; Balta, 2002; Gülsoy, 2012). Amerika da olduğu gibi pek çok Akdeniz ve Avrupa ülkesinde günümüzde yetiştiriciliği yapılan çok sayıda badem çeşidi geçmişte tesadüf eseri bulunmuş şans çöğürüdür (Balta, 2002).

ABD ile Avrupa ülkeleri uzun yıllar süren çalışmaları sonucunda yeni çeşitler ıslah ederek badem yetiştiriciliğinde karşılaşılan sorunların çözülmesine katkıda bulunuşlardır. Karşılaşılan sorunların giderilmesiyle birlikte bu ülkeler modern ve yeni yetiştirme teknikleri kullanarak birim alanda daha fazla bitki yetiştirmiş ve daha fazla ürün almışlardır. Ülkemizin bu ülkelere yetişebilmesi için gerekli olan toprak iklim ve sulama suyu gibi konularda üstünlükleri vardır (Kaşka ve ark., 1999). Eğer ülkemiz bu modern yetiştirme tekniklerini uygularsa badem ve diğer sert kabuklu meyvelerde elde edilecek toplam ürün miktarıyla hem Avrupa ülkelerini hem de ABD'nin üretim miktarına ulaşabilecek hatta üretimde bu ülkeleri geçebilecektir (Aslan, 2015)

Ülkemizin badem üretimde geri kalış nedenleri arasında, çoğaltma yönteminde bir standardın olmaması, aşılı badem üretim kapasitemizin yetersiz olması, iklim özellikleri, verimi ve kalitesi belli olan çeşitler ile üretimin yapılamamış olması, üretimin yaygın olarak tek ağaçlar halinde yapılması, bununla bağlantılı olarak yetiştiricilikte sulama, hastalık-zararlılarla mücadele gübreleme gibi kültürel ve teknik uygulamaların yeteri kadar kullanılmamış olması, tozlanma ve döllenme biyolojisi yönünden yeterli bilgiye sahip olmayan üreticilerin kendilerini bu konularda geliştirmek için herhangi bir önlem almamış olmaları, badem

yetiştiriciliğinin uygun olmayan iklim ve toprak koşullarında yapılıyor olması hususları sayılabilir (Balta, 2002).

Ülkemizde 2015 yılında üretilen badem miktarı 80.000 ton iken 2018 yılında bu miktar 100.000 tona yükselmiştir. Badem üretimimizdeki bu artışın önemli sebeplerinden biri verimli kültür çeşitleriyle kurulan kapama badem bahçelerindeki artış bir diğer sebep ise modern yetiştiricilik tekniklerinin uygulanışının geçen yıllara göre artış göstermesidir. Son 4 yılın (2015-2018) üretim miktarının ortalamalarına bakıldığında, dünyada en çok badem üreten ülke 1.507.094 ton ile ABD'dir. İkinci sırada 251.197 ton ile İspanya, üçüncü sırada 131.610 ton ile İran yer almaktadır. Ülkemiz ise bu sıralamada 88.750 ton ile beşinci sırada yer almaktadır(Çizelge 1.1.). Türkiye bu üretim miktarı ile dünyadaki badem üretiminin %3,3 oluşturmaktadır (FAO, 2020).

Çizelge 1.1. Dünya Badem Üretimi (ton)

ÜLKELER	YILLAR				ORTALAMA
	2015	2016	2017	2018	
ABD	1 302 998	1 376 337	1 476 539	1 872 500	1 507 094
İspanya	211 084	199 167	255 503	339 033	251 197
İran	146 000	111 845	129 566	139 029	131 610
Fas	97 723	112 681	116 923	117 270	111 149
Türkiye	80 000	85 000	90 000	100 000	88 750
Avustralya	63 331	72 902	75 373	69 880	70 372
İtalya	70 399	74 584	79 599	79 801	76 096
Tunus	70 500	61 000	67 000	66 733	66 308
Suriye	34 700	34 700	34 700	34 700	34 700
Diğer	370 458	365 087	362 607	363 956	371 527
Dünya	2 447 193	2 493 303	2 687 810	3 182 902	2 708 802

Ülkemizde 2015 yılında badem yetiştiriciliği için ayrılan alan 29.671 ha iken 2018 yılında bu değer 42.191 ha'ra yükselmiştir. Badem yetiştiriciliğinde son 4 yıla (2015-2018) bakıldığında üretim konusunda ikinci sırada olan İspanya badem yetiştiriciliği yapılan alan konusunda ilk sırada yer almaktadır. İkinci sırada 405.702 ha ile ABD, üçüncü sırada ise 192.262 ha ile Tunus yer almaktadır. Ülkemiz ise bu sıralamada 35.097 ha ile dokuzuncu sırada yer almaktadır (Çizelge 1.2.). Üretimde üçüncü sırada olan ülkemizin yetiştiricilik için kullanılan alanda ise dokuzuncu

sırada olması daha az alandan daha fazla ürün almamız şeklinde yorumlanabilmektedir. Ülkemiz dünyada badem üretiminin yapıldığı alanların %1,8'lik kısmına sahiptir (FAO,2020).

Çizelge 1.2. Dünya Badem Üretimi Yapılan Alan (ha)

ÜLKELER	YILLAR				ORTALAMA
	2015	2016	2017	2018	
İspanya	548 604	583 673	633 562	657 768	605 902
ABD	372 311	392 550	416 840	441 107	405 702
Tunus	182 970	184 500	208 541	193 036	192 262
Fas	160 018	165 817	170 864	186 255	170 739
İran	93 000	126 569	50 856	156 822	106 812
Suriye	72 000	72 000	72 000	72 000	72 000
İtalya	58 112	57 421	57 598	57 987	57 780
Avustralya	31 115	37 000	38 000	36 940	35 764
Türkiye	29 671	33 322	35 202	42 191	35 097
Diğer	22 5987	238 304	236 390	227 778	232 112
Dünya	1 773 788	1 891 156	1 919 853	2 071 884	1 914 170

TÜİK 2020 verilerine göre ülkemizde son dört yıllık badem üretim ortalamasına bakıldığında ilk sırada 14 029 ton ile Mersin ili ikinci sırada 8 847 ton ile Adıyaman ve üçüncü sırada 6 934 ton ile Antalya ili yer almaktadır. Şanlıurfa ise 4 807 ton ile altıncı sıradadır (Çizelge 1.3.) (TÜİK,2020).

Çizelge 1.3. Ülkemiz İllerine Göre Badem Üretimi (ton)

İLLER	YILLAR				ORTALAMA
	2016	2017	2018	2019	
Mersin	9 190	9 856	14 141	22 929	14 029
Adıyaman	3 576	4 593	11 747	15 470	8 847
Antalya	5 639	5 942	6 358	9 795	6 934
Muğla	5 281	5 972	5 028	9 955	6 559
Çanakkale	4 337	5 142	5 098	7 786	5 591
Şanlıurfa	4 534	4 245	4 515	5 933	4 807
Denizli	3 575	4 086	3 972	6 316	4 487
Diyarbakır	3 671	3 080	2 899	5 846	3 874
Isparta	3 320	3 424	2 700	3 802	3 312
Diğer	41 877	43 660	43 542	62 168	47 812
Türkiye	85 000	90 000	100 000	150 000	106 250

Ülkemizde ki badem üretim alanları yıldan yıla hızlı bir artış göstermektedir. Bunu Çizelge 1.4'de de görebilmekteyiz. Ülkemizde 2015 yılında toplam 10.159 badem ağacı varken 2019 yılında badem ağaç sayısı 15.855'e yükselmiştir (Çizelge 1.4.) (TÜİK,2020).

Çizelge 1.4. Ülkemizin Yıllara Göre Ağaç Sayısı (bin)

YILLAR	MEYVE VEREN	MEYVE VERMEYEN	TOPLAM
2015	5 864	4 295	10 159
2016	6 664	4 964	11 628
2017	6 810	5 099	11 909
2018	8 490	5 401	13 891
2019	9 522	6 333	15 855

İlkbaharda çağla evresinden hasat edilinceye kadar istenilen zamanda yenebilen bir meyve olan badem, çerez olarak; çağla, taze iç badem ve kavrulmuş badem (tuzlu ve tuzsuz) olarak tüketilmektedir (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979). Şekerleme, çikolata ve pasta sanayisinde; draje olarak, badem ezmesi, badem şekeri, çeşitli çikolatalar, çeşitli pastalar olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca diğer kullanım alanı olarak badem yağı (kozmetik ve ilaç sektöründe), çeşitli yemek ve tatlılarda kullanılmaktadır (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979).

Bademlerde yaprak yoğunluğu, yaprak büyüklüğü ve belli bir oranda yaprak rengi farklılık göstermektedir. Yaprak boyutu çeşitlere göre iri, orta ve ufak olmak üzere farklılıklar gösterir. Ayrıca yaprağın ağaç üzerinde bulunduğu yere göre de değişmektedir. Esas sürgünlerde meydana gelen yapraklar iriyken dalcıklarda meydana gelen yapraklar ufaktır. Bunlara ek olarak çevre koşulları da yaprak iriliğini etkileyen etmenlerdendir (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979).

Moleküler sınıflandırma çalışmalarında amaç, popülasyon yapısının coğrafi farklılık, heterozigotluluk, çiftleşme bireyler arası akrabalık yapılarının aydınlatılması ve hibridizasyon dahil bitkiler arasındaki sınırların belirlenmesi ve filogenin tahmin edilmesidir. Bu amaçlarla kullanılan en yaygın başvuru yöntemi genetik (moleküler) markör sistemleridir. Genetik markörlerin polimorfik,

kalıtılabilir, tekrarlanabilir ve kolay yorumlanabilir olması, markörlerin verimli ve etkin olabilmesi için gereklidir. Bir türe ait olan genotipler arasındaki varyasyonlarının belirlenmesini sağlayacak genetik markörlerle çalışırken genomik analizler için önemli olan ham bilgileri ve kullanılması gereken markör sistemi seçilen test örneklerindeki mevcut varyasyonları saptayabilmelidir (Karcicio, 2006).

Genomik analizlerde kullanılan üç tip temel markör mevcuttur. Seçilecek markör sisteminin sağlayacağı fayda sistemin özellikleri ile sınırlıdır. Bu bağlamda pre-DNa markör sistemleri ve onların özellikleri ve sunduğu olanaklar dikkate alınmalıdır.

Kullanılan farklı yaklaşımlar ile bitki ıslah çalışmalarındaki sorunlar çözülmeye çalışılmıştır. Yapılan ilk çalışmalar fenotip (gözle görülebilen) özeliklerin değerlendirilip yorumlanması üzerene kurulmuştur. Son dönemlere kadar bu çalışmalarda büyük ölçüde Mendel tipi kalıtım göstererek bitki morfolojisini etkileyen, cücelik, yaprak morfolojisi ve albinizm ile ilgili genlerle çalışılmıştır (Karcicio, 2006).

Bazı özgül genlerin takibini kolaylaştıran morfolojik karakterler büyük çoğunlukla dominant veya resesif özellikte kalıtılırlar. Kullanım aşaması herhangi bir ön hazırlık protokol ve araç-gereç gerektirmeyen bir markör sistemidir. Bu olumlu özelliklerinin yanı sıra genomik analizlerde morfolojik markörlerin kullanımı sınırlıdır. Bunun sebepleri, 1) fenotipler üzerinde oluşabilecek olumsuz etkileri, 2) bazı istenilen özellikleri taşıyan genlerin maskelenebilmeleri, 3) sınırlı sayıda olabilmeleri, 4) yüksek oranda çevresel şartlardan etkilenebilmeleridir. Ayrıca genetik ve çevre arasındaki ilişki karmaşıklığı yıllara veya farklı coğrafi bölgelerden alınan çeşitlerin morfolojik bilgilerinin karşılaştırılmasındaki sorunlara, yanlış yorumlamalara sebep olabilmektedir (Chawla, 2002; Farooq ve Azam, 2002).

Proteinler, sistematik sorunların üstesinden gelmek için kullanılan ilk biyokimyasal markörlerdir. Nuttal (1904) immünolojik yaklaşımlarda ilk kez proteinleri kullanarak öncülük etmiştir. Genetik analizler için geliştirilmiş ikinci

genetik markör grubunu protein markörler oluşturmaktadır (Yıldırım ve Kandemir, 2001).

Doğal popülasyonlarda, izoenzimler (enzim) ve glutenin ve gliadin gibi enzim olmayan depo proteinleri,genetik değişkenliğin anlaşılmasında, tür sınırları tespitinde, gen akışında, genlerin açılıp kapanma zamanlarının saptanması gibi çalışmalarda kullanıldığı bilinmektedir (Murphy ve ark., 1990). Proteinlerin yapı taşını oluşturan amino asit dizilerindeki değişikliklerden meydana gelen büyüklük ve yük farklılıkları jel elektroforezi kullanılarak kolayca saptanıp genetik markör gibi kullanılabilmektedir.

İzoenzimler bir enzimin alternatif formları olarak ifade edilir ve farklı genler veya bir genin farklı allelleri tarafından kodlanan ve en fazla protein markörü kullanılan unsurlardır. Tarihte ilk kez izozim terimi Markert ve Möller (1957) tarafından kullanılmıştır (Stebbins, 1989) ve bitki genetiğinde 1960 yılların ikinci yarısına kadar gereken önemi kazanamamıştır. Aynı reaksiyonları katalizlemelerime rağmen izozimlerin substrat ilgileri kinetikleri, alt ünite sayıları, amino asit dizileri ve sayıları, Km değerleri faklıdır.

İzoenzim markörlerinin temel avantajı, izozimlerin metabolizmadaki aktif rolünün iyi bilinmesi hızlı ve maliyetinin düşük olmasıdır. Ama izozimlerin kullanımını lokus sayısının az oluşu, belirli dokularda, belirli gelişme dönemlerinde bulunması ve post-translasyonel modifikasyonlara uğramaları kısıtlamaktadır (Staub ve ark., 1996;Yıldırım ve Kandemir, 2001; Karcicio, 2006).

Histokimyasal boyama ve nişasta jel elektroforezi gibi boyama tekniklerinin enzimlerde kullanılabilmesinden sonra çeşitli enzim formları ortaya çıkmaya başlamıştır. Elektroforetik ortamda izozimlerin büyüklükleri, biçimi taşıdıkları net yük ve iyonizasyon farklılıklarına göre ayrım yapılabilmektedir. Elektroforezden sonra jeller koenzim ve uygun substrat karışımını içeren boyalar ile boyanır ve izozimlerin jel üzerinde ki yerleri saptanır. Böylelikle aynı substratı kullanan enzimler yüzlerce protein arasından tanımlanılabilir hale gelmektedir. Uygun ve

etkin biçimde kullanılan izozim bilgisi jel üzerinde görülen izozim bant modellerinin doğru yorumlanmasıyla elde edilebilir. Jel üzerinde görülebilen bu izozim bant modelleri, fenotip oluşturur ve parmak izi niteliği taşır. Bu yöntemin bitki sistematiğinde ve filogenisinde büyük faydalar sağladığı birçok çalışma ile kanıtlanmıştır (Karcicio, 2006).

Moleküler biyolojinin bitki ıslah çalışmalarında başvurduğu önemli araçlardan biri olan ve etkin gelişmelere olanak sağlayan DNA markörleri, farklı genotipler arası dizi polimorfizmini gösteren özelleşmiş genom parçalarıdır (Karcicio, 2006).

Bitki ıslah çalışmalarında DNA temelli yöntemler son yıllarda büyük bir ilerleme gösterilmesini sağlayan önemli araçlardandır. Son zamanlarda DNA bazlı birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler deneysel farklılarının dışında genellikle PCR temellidir (Karcicio, 2006; Aydoğan-Çifçi, 2010). Uygulanan bu yöntemler için kullanılacak DNA markörlerinde istenilen özellikler;

- Kolay bulunur olması
- Kolay ve hızlı denenebilir olması
- Polimorfik üretimi yüksek oranlı olması
- Genom ve kodominant kalıtım tekrarlanılabilmesi
- Çevre şartlarından kolay etkilenmeyen
- Laboratuarlar arasında veri transferi kolay olmalıdır (Sharma ve ark. 2008).

DNA'yı temel alan markör sistemleri diğer markör sistemlerinden özelliklede morfolojik markörlerden daha etkilidir. Bu durumun başlıca nedenlerini şu şekilde sıralayabiliriz.

- Morfolojik markörlerin çoğu bitki bütününde fenotipik bir şekilde gözlemlenirken moleküler markörler bitkide, dokuda hatta hücresel düzeyde tespit edilebilmektedir.
- Morfolojik markörler ile moleküler markörler karşılaştırıldığında moleküler lokusların allel frekansının daha yüksek oluşur.

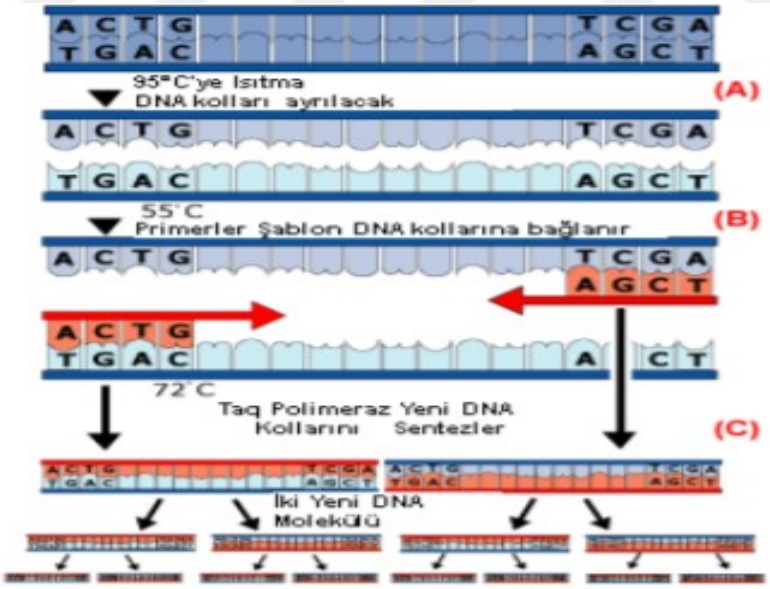
- Morfolojik mutantların fenotipik olarak istenmeyen sonuç oluşturabilmesi.
- Morfolojik markörler heterozigot genotiplerin tanımlanmasında yetersiz olur ve dominant-resesif durum sergiler buna karşın moleküler markörler çoğunlukla kodominant kalıtım sergiler (Karcicio, 2006).

Lui ve Cordes (2004) moleküler DNA markörlerini tip I ve tip II olarak iki kategoride sınıflandırmıştır. Tip I de fonksiyonu bilinen genlerle ilişkili olarak RFLP (Kesilmiş parça uzunluk polimorfizmi/ Restriksiyon Fragment Lenght Polymorphism), ETS (Etiketlenmiş bölge/ Expressed Tagged Site) gibi markörler bulunurken tip II de anonim genom bölgeleriyle ilgili RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA/ Random Amplified Polymorphic DNA), ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm/ Inter-Simple Sequences Repeats), AFLP (Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi/ Amplified Fragment Lenght Polymorphism), gibi markörler bulunmaktadır. Son yıllarda özellikle AFLP, ISSR ve RAPD gibi PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu/ Polymerase Chain Reaction) temelli rastgele çoğaltılış dominant markörlerin (AAD/Arbitrarily Amplified Dominat markers) kullanılmasıyla biyolojik sorunların çözümü hızlanmış ve taksonomik düzeyde yeterli bilgi elde edilmiştir (Wolf ve Liston, 1998). AAD markörleri en çok kullanıldığı alanları genetik tanımlama, genetik haritalandırma, popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik yapının ortaya çıkarılması oluşturmaktadır. Bu markörler çok yakın akraba türleri ve türe ait alt türlerin filogenisinde ve sistematiğinde çok faydalı bilgiler sağlayabilir.

Diğer DNA markör sistemlerinden olan SSR (Basit dizi tekrarları/Simple Sequences Repeats), STS (Dizisi etiketlenmiş bölge/Sequences Tagged Sites), ETS (İfade edilen dizi etiketi/Expressed Sequence Tags), SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi/ Single Nucleotide Polymorphisms) ve SCAR (Dizisi karakterize edilmiş çoğaltılmış bölge/Sequence Characterized Amplified Region) da PCR temeli DNA markörlerine örnektir (Karcicio, 2006).

PCR, DNA Polimeraz enzimi kullanılarak yapay şartlarda DNA üretilmesidir. Diğer bir değişle seçilen DNA parçasının çok sayıda kopyasını yapabilen enzimatik

yöntemdir. Genetik çalışmalarda devrim niteliği taşıyan bu yöntem 1980 li yılların ortalarında geliştirilmiştir. Bu teknik ile istenilen dizilim birkaç saat içerisinde hatasız biçimde milyonlarca kopyası üretilebilmektedir. Üstelik istenilen dizilimin diğer dizilimlerle karışık bir karışım halindeyken başarılı bir şekilde çoğaltılmasını sağlar. Bu metodun çalışma prensibi hücrenin DNA kopyalama sürecinin aynısıdır. Reaksiyonda en önemli unsur kısa başlatıcı dizilimlerdir. Bu yapay üretim süreci için 6-25 nükleotid uzunluğunda primer adı verilen DNA'lar kullanılmaktadır. DNA üretimi birbirini izleyen çok özel bir seri işlem sonucu sağlanmaktadır. *Thermophylus aquatif* adındaki bakteriden elde edilen Taq polimeraze isimli özel DNA polimeraz enzimine ve dört DNA bazına ihtiyaç duyulmaktadır. Daha sonra 95 °C kadar bir sıcaklık kullanılarak DNA iplikleri açılır ve DNA tek sarmal haline gelir (A). 30-60°C arasındaki bir sıcaklıkta primer DNA kalıbı DNA'ya bağlanır (B) ve 72 °C'de DNA üretimi sağlanır (C) (Şekil 2.1). Bu evrelerin her biri 1-2 dakika sürmektedir. Bu üç evre istenildiği kadar tekrarlanılabilir ve istenilen oranda DNA üretilebilir (Maniatis ve ark.1982, Kumar 1989, Soysal 2002).



Şekil 1.1. DNA polimeraz zincir reaksiyonu (Aydoğan-Çifçi, 2010)

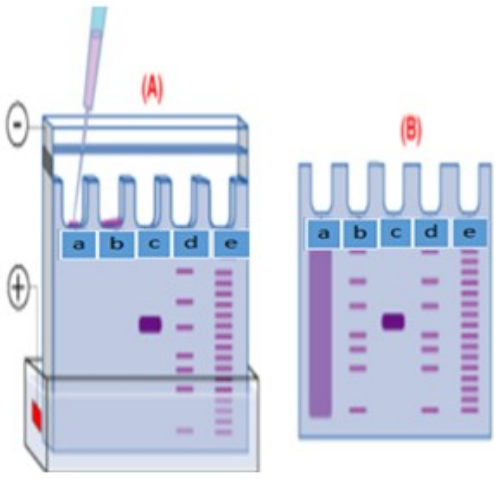
Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)'nun kullanım alanları;

- Genetik harita çalışmaları
- Türler arası polimorfizmin hesaplanması

- Evrim araştırmaları
- Bitki tohum saflığının tespiti
- Anne-baba tayini ve kimlik tespiti vb. (adli tıp çalışmaları)
- Rekombinant DNA teknolojileri
- Kalıtsal hastalıkların doğum öncesi tespiti
- Popülasyondaki mutant genlerin sürekliliğinin izlenmesi
- Genetiği değiştirilmiş organizmaların tespiti
- Su, gıda maddeleri ve toprak içindeki mikroorganizmaların tespiti

PCR'ın kullanım alanları olarak sayılabilir (Eriş ve Gülen 2004).

DNA'ya PCR' dan sonra uygulanan elektroforez, değişik uzunluklara sahip olan DNA parçalarını ayırmayı sağlayan bir yöntemdir. Ayırma işlemi için akrilamid veya agaroz kullanılarak elde edilen jel kullanılmaktadır. Bu jel içine DNA örneklerinin konulacağı açıklıklar oluşturulan özel kaplara dökülerek hazırlanır. Örneklerin jel üzerindeki açıklıklara konulması için belirli bir süre jelin sertleşmesi için beklenmelidir. Şekil 2.2 de a/b/c/d ve e harfleri ile gösterilen açıklıklara DNA örnekleri konmuştur. Bu açıklıklardan ilkine özelliğini bildiğimiz ve diğerlerinin karşılaştırmasını yapacağımız kontrol örneği konur. Şekil 2.2 e harfi verilmiş dizilim ebadı bilinen ve farklı parçacıkların yerini gösteren örnektir.



Şekil 1.2. Elektroforez

Jel içerisine DNA örnekleri yüklendikten sonra jel buffer solüsyona daldırılır ve jel sürekli bir elektrik akımına maruz bırakılır. DNA molekülleri genellikle negatif yüklü olduğundan pozitif kimyasal yapısından dolayı katoda doğru çekilmektedir. Birkaç saat süre geçtikten sonra elektroforez işlemi bitirilir. Bu işlem bittiğinde jel içindeki DNA Etidium Bromid ile boyanmış olacaktır. Böylelikle DNA, UV (ultraviyole) ışık altında kolay bir şekilde görülür hale gelmektedir. Eğer DNA'da jel üzerindeki hatta yapışma durumu (Şekil 2.2-B, örnek a) ya da PCR örneği söz konusuysa jel içerisine yüklenen DNA'nın çoğu bir uzunluk ifade ettiğinden bir bant şeklinde görülür (Şekil 2.2-B, örnek 3) (Soysal 2002). Moleküler DNA markörlerinden en yaygın şekilde kullanılan yöntemlerin bazıları ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

AFLP (Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı/Amplified Fragment Lenght Polymorphism); DNA polimorfizmini genomun bütününde tespit etmek için kullanılan bir markör sistemidir. PCR ve RFLP yöntemlerinin bir kombinasyonudur. Genomik DNA bu teknikle önce altı taban tanıyan sonra dört taban tanıyan iki kesim enzimi yardımıyla kesilmektedir. Kesilen bu parçaların uçlarına sentetik dizilişli nükleotidlere sahip DNA parçaları eklenir (Eriş ve Gülen,2004). Eklenen bu sentetik dizilişli DNA parçasının nükleotid dizilişini taşıyan primer DNA'ların kullanılmasıyla oldukça spesifik DNA çoğaltım işlemi yapılabilir (Yıldırım ve Kandemir, 2001; Eriş ve Gülen,2004). Üretilen DNA parçacıkları bir baz uzunluğu farklarını bile ayırt edebilen poliakrilamid jelde hareket ettirilerek tespit edilen parçacıklar farklı genotiplere ait olan farklılıklar gösterir (Yıldırım ve Kandemir, 2001; Eriş ve Gülen,2004).

Haritalama işlemlerinde kullanılabilmesinin yanı sıra tüm genomun taranmasına olanak vermesi, parmak izi analizini mümkün kılması ve fazla lokuz üretmesi gibi avantajlara sahiptir. Pahalı oluşu, teknik optimizasyonun zaman alması, fazla miktarda DNA'ya ihtiyaç duyması ,çoğunlukla baskın kalıtım göstermesi bu yöntemin dezavantajlarındandır (Karcicio, 2006; Sharma ve ark., 2008).

RFLP (Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi/Restriksiyon Fragment Lenght Polymorphism) kullanılan ilk DNA markör yöntemidir (Botstein ve ark., 1980). Hibridizasyon temelli bir yöntem olup genetik analizlerde yaygın bir şekilde tercih edilmektedir. RFLP analizi dokulardan izole edilen genomik DNA zincirinde, DNA'nın nükleik asit dizilişini tanımlayan özgül kesim (restriksiyon) enzimleri yardımıyla spesifik olarak oluşturulan kesim sonucunda oluşan parçaların baz değişikliği/ değişiklikleri sebebiyle meydana gelen uzunluk farkları esasına dayanır Eriş ve Gülen 2004). En yaygın şekilde görülen mutasyon hali restriksiyon noktalarını ortadan kaldıran veya yenisini oluşturan tek bazlı değişimlerdir. Farklı türlerde, popülasyonlar içinde ve popülasyonlar arasındaki restriksiyon noktalarında meydana gelebilecek insersiyon, inversiyon, transpozisyon, translokasyon, delesyon veya DNA replikasyon işlem hatası sonucu oluşabilen ve allel olarak isimlendirilen DNA sekanslarında oluşan yeniden düzenlemeler RFLP analiziyle tanımlanabilir ve filogenik analizler için DNA bilgisi oluşturabilir. Elde edilecek bu bilgiler DNA parmak izi olarak bilinen ve bireylerin tanımlanmasında kullanılabilir DNA profilini ortaya koyar. Değişik sayıda tanıma bölgelerinin bulunması ve farklı restriksiyon enzimlerinin varlığı, çok faydalı bilgilerin elde edilmesini sağlar. RFLP markörleri türler, cinsler ve familyalar arasında transferi mümkün kılmaktadır ve böylelikle bir türde bir kez haritalanan RFLP markörleri ile pek çok akraba bitki sistemi için o haritalamanın yapıldığı bölgede potansiyel bir markör bulunabilmektedir (Kochert, 1997; Xu ve ark., 2001; Eriş ve Gülen 2004).

RFLP tekniği çok kolay uygulanabilen bir yöntem olmasına rağmen en önemli unsur enzim seçimidir. Enzim seçimi yorumların doğru yapılabilmesinde kilit nokta denilecek faktördür. Çok fazla veya birbirine yakın bantların yorumlanabilmesi mümkün olmayabilir (Karcicio, 2006).

RFLP markörleri kullanarak aynı çeşit üzerinde çalışan araştırmacıların birbiriyle tamamen aynı sonuçlar elde edilmesi beklenmelidir. RFLP markörleri ko-dominant(eş baskın) özelliklerdedir. Böylece heterozigot bireylerin karakterizasyonu mümkün hale gelmektedir. RFLP markör analizlerinin en büyük dezavantajları ise pahalı olması, fazla iş gücü ve zaman gerekmesidir. Bu yöntemde kullanılan yaygın

radyoaktif etiketleme bir risk oluşturmaktadır. Bunlar haricinde RFLP analizlerinde fazla ve yüksek kalite DNA gerekliliği ve genomlarda az kopya olan dizilişlerin belirli noktalarda kümelenmesinden dolayı RFLP markörlerinin genom üzerindeki rastgele dağılış göstermemeleri de diğer dezavantajlarındandır. Bundan dolayı bu markörlere dayalı oluşturulmuş haritalarda yaygın olarak büyük boşluklar tespit edilebilmektedir (Eriş ve Gülen 2004).

Bitkilerin RFLP analizleri yapılırken bir seri işlem gereklidir. Bunlar; ilk olarak analizi yapılacak olan DNA materyali bitkiden elde edilir ve değişik sayıda restriksiyon enzimi ile muamele yapılarak kesilir. Elde edilen bu DNA parçaları agaroz jel veya poliakrilamid jel kullanılarak ayrıştırılır. Daha sonra bu DNA parçaları hibridizasyon membranlarına aktarılır. Aktarım işleminden sonra problar (200 ile2000 baz uzunluğundaki cDNA (tamamlayıcı DNA) veya RNA probları) ile hidrolize edilirler. Hibridizasyonu görebilmek için radyoaktif 32P ile veya radyoaktif olmayan biotin-disoksigenin gibi maddelerle işaretli olması gerekmektedir. Bu problar hibridize olacakları DNA parçaları ile ortak homolog diziler işlemin özgüllüğü artırılmış olur. En son aşamada hibridizasyondan elde edilen ürünlerin X-ray filmi üzerine otoradyogramı alınır ve farklı kesim ürünlerinin tespit edilmesi ve değerlendirilmesi yapılır. Genellikle filogenetik amaçlar için Tip II restriksiyon enzimleri kullanılır. Bu enzimler çift sarmallı DNA'yı özgül olarak belirli bölgelerinden keser ve değişik uzunluklarda parçalar oluştururlar (Farooq ve Azam, 2002).

SSR (Basit Dizi Tekrarları/Single Sequence Repeats); PCR yardımıyla oluşturulan ve genetik markör olarak kullanılabilen bantlaşma modellerinin temel alınmasıyla organizmaların ayırt edilebilmesi ve tanımlanmasında etkili olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Tekrar dizileri birbirine çok yakın çeşit ve türler arasında bile tekrarlanan ünitelerin değişikliğe sebep olan mutasyonlardan dolayı oldukça polimorfiktir (Gupta ve ark., 1994).

SSR'lar ya da basit dizi tekrarları bütün ökaryotik genomlarda bulunmaktadır. Dağınık ve ardışık olarak tekrarlanan, genom boyunca 1-6 veya 2-6 nükleotid

uzunluğundaki sıralı tekrarlardan meydana gelmektedir (Tautz, 1989, Eriş ve Gülen, 2004).

Oluşturulan diziler örneğin; bir(A, T)n, 2(AT, GA)n, 3(AGG)n, 4(AAAC)n ve 5(GGAGT)n şeklinde gösterilebilen ve n ardışık olarak tekrar sayısını belirtmektedir (Akkaya ve ark., 1992). Bu tekrar desenine bitki ve hayvan genomlarında sıkça rastlanır. Basit dizi tekrarları(SSR) ilk kez 1989 yılında Litt ve Lutty tarafından kullanılan mikrosatellitler olarak da bilinir. Litt ve Lutty ilk kez insanlarda SSR DNA markör lokuslarının özelliklerini göstermişlerdir. Bitkiler üzerinde yapılan ilk SSR markör lokuslarının frekansı ve polimorfik doğası çalışmaları 1992 yılına dayanmaktadır (Akkaya ve ark., 1992).

Bitkilerde en fazla olan tekrar dizisinin AT dizisi olduğu birçok araştırma tarafından ispat edilmiştir (Morgante ve ark., 1993). Hayvanlarda ise en fazla tekrarlanan dizi AC/TG dizisidir(Weber ve ark., 1989)

DNA dizileriyle çevrili olan satellitler genellikle aynı türe ait bireyler arasında korunmuş olup, ardışık SSR tekrar sayısındaki farklılıktan dolayı PCR sonucunda farklı uzunluklarda DNA parçaları ortaya çıkmaktadır. Bu tekrarlar birbirine çok yakın çeşit ve türler arasında bile tekrarlanan ünitelerin sayısında değişikliğe sebep olan mutasyonlardan dolayı oldukça polimorfiktir (Yeşbek, 2007). DNA dizileriyle çevrili SSR'lar primer olarak kıllanılırlar ve PCR yöntemi kullanılarak lokustaki farklı yapıdaki allellerin tespitine imkan sağlanır. Amplifikason sonrasında elde edilen farklı uzunluklara sahip SSR allelleri, jel elektroforezi yardımıyla ayrılabilir, otoradyografi ve gümüş boama gibi görüntüleme yöntemleri ile görüntülenebilir (Yeşbek, 2007).

Basit dizi tekrarı (SSR) tekniği yaygın bir şekilde genetik haritalama çalışmalarında kullanılmaktadır. Bitkilerde, büyük ölçüde polimorfik olduklarından fazla miktarda bilgi verici bir özellik gösterirler (Yıldırım ve Kandemir, 2001; Eriş ve Gülen, 2004). Markör geliştirmenin oldukça zahmetli olması ve fazla zaman istemesi, poliakrilamid jel elektroforezine ihtiyaç duyulması, zor ve pahalı bir işlem olması en önemli dezavantajlarındandır. Günümüzde birçok bitki türü için

geliştirilmiş SSR markörleri bulunmaktadır (Yıldırım ve Kandemir, 2001; Eriş ve Gülen, 2004).

RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) 1990 yılında geliştirilmiş olan ve DNA'yı temel alarak sekans bilgisine gerek duyman modifiye bir PCR tekniğidir. Tekniğe bulunduğu dönemden itibaren giderek artmıştır. Bakteri, bitki ve insana varan birçok organizmanın genomu RAPD markörlerinin meydana getirebilecek komplementer DNA dizisine sahiptir (Karcicio, 2006).

Aynı dönemlerde farklı bir çalışma grubunun uyguladığı RAPD yöntemi Arbitrarily Primed PCR (AP-PCR) diye adlandırılmıştır. 1991 yılında ise bu yöntemle aynı temellere dayanan fakat RAPD'den faklı olarak 10 nükleotidden daha kısa uzunluğa sahip primerlerle daha karmaşık DNA parmak izi profili elde edilen ve DNA Amplification Fingerprinting (DAF) olarak adlandırılan benzer bir yöntem yayınlanmıştır (Özaydın, 2004).

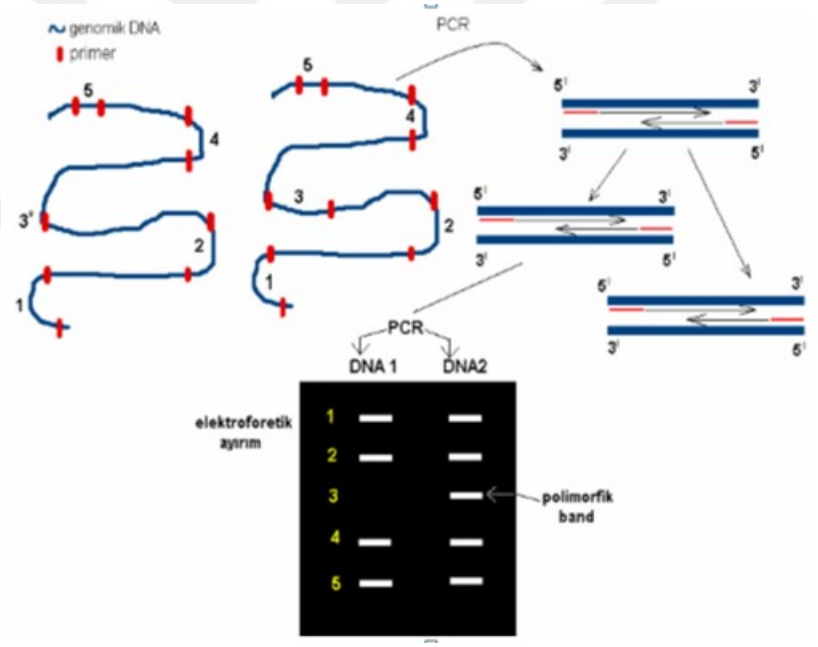
Tekniğin temel ilkesi ilgili türden alınmış genomik DNA üzerinde ki rastgele bir şekilde seçilmiş tek bir 9-10 baz çifti oligonükleotidin tesadüfi bir şekilde düşük bağlanma sıcaklığında bağlanması ve PCR yardımıyla çoğaltılmasıdır (Aydoğan-Çifçi, 2010). Tekniğin devamında ise oluşan çoğaltma ürünü radyoaktif olmayan standart jel elektroforezinde yürütülerek çalışan organizmaların oluşturdukları bant modellere göre ayırt edilebilir (Aydoğan-Çifçi, 2010).

Dominant özellik taşıyan RAPD markörlerinin görüldüğü dominant allelleri (A) görülmeyen bantlar ise allelleri (a) karakterize eder. Bantlar + (var) ya da – (yok) durumuna göre değerlendirilir. Bu yüzden homozigot (AA) ve heterozigot (Aa) bireyler birbirlerinden ayırt edilemez (Backeljau ve ark., 1995).

Bu metodun tekrarlanabilirliğini ve güvenirliliğini etkileyen pek çok farklı değişken vardır (Welsh ve ark., 1990; Williams ve ark., 1990; Rafalski ve ark.; 1994). Hedef DNA değişkenlerden en önemlisidir. Tag DNA polimeraz, MgCl2 konsantrasyonu, primer bağlanması, primer konsantrasyonu, primer karışımları,

dNTP konsantrasyonu ve başlangıç denaturasyonu RAPD tekniğini etkileyen diğer ana değişkenlerdir (Özaydın, 2004). PCR' da oluşan çelişkili sonuçlardan dolayı yabancı DNA tarafından oluşan kontaminasyonun yanında DNA izolasyon tekniğinde meydana gelen varyasyonlar, kullanılan doku kaynağı, PCR cihazının tipi ve PCR koşulları da sorumlu olabilmektedir (Özaydın, 2004).

RAPD yöntemi belirli bir DNA bölgesi değil genom üzerinde birçok DNA lokusu aynı anda çoğaltılabilme imkanı sağlamaktadır. Çalışan organizmalar bant üzerinde oluşturdukları modellere göre ayırt edilirler. RAPD spesifik olarak akraba organizmalar arasındaki DNA dizilerindeki farklılığın ortaya çıkarılmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Elde edilen nükleotid farklılıkları RAPD markörleri olarak adlandırılmaktadır (Karcicio, 2006).



Şekil 1.3. RAPD markerlarının oluşumu

Kullanım alanları; genetik bağlantı haritalarının oluşturulması, genetik çeşitliliğin belirlenmesi, popülasyon genetik yapısının analizi, filogenetik ilişkilerin araştırılması, somatik hibritlerin tanımlanması, bireysel parmak izi analizi, tür içi ve türler arası genetik değişkenliğin tespit edilmesi, çeşitlerin tanımlanması, hastalık ve zararlılara karşı dirençlik genlerinin işaretlenmesi, atasal türlerin saptanması, genlerinin işaretlenmesi, germplazm koleksiyonlarının genetik yapılarının ortaya

çıkarılması ve bu konudaki bazı karışıklıkların giderilmesi, genetik erozyonun izlenmesi ve cinsiyet belirlenmesidir (Özaydın, 2004).

Yöntemin en büyük avantajları, çabuk sonuç vermesi, ucuz olması, yüksek kalite DNA gerektirmemesi, az miktarda DNA'ya ihtiyaç duyması, ekipman gereksiniminin az olması, radyoaktiviteye, DNA hibridizasyonuna ya da Southern transferlere gerek duyulmamasıdır (Williams ve ark.1990, Özaydın, 2004). Bunun yanında heterozigotları teşhisin güç oluşu, belirteçlerin dominant oluşu, elde edilen sonuçların tekrarlanılabilirliliğinin düşük oluşu gibi dezavantajlara sahiptir (Tingey ve ark., 1993; Gupta ve ark., 1999; Özaydın 2004).

CAPS (Çoğaltılmış Kesilmiş Polimorfik Dizi/Cleaved Amplified Polymorphic Sequence); PCR-RFLP olarak da bilinen, PCR eldelerinin restriksiyon enzimleri ile kesiminden oluşan DNA parçalarında ki polimorfizimlerini yansıtan bir metoddur. Primer dizayn etmek için gereken dizi bilgisini gen bankası, genomik DNA, cDNA veya klonlanmış PCR eldesinden sağlanmaktadır. Kesim enzimleri tarafından kesilmiş ürünlerin uzunlukları karşılaştırılarak polimorfizmleri ortaya çıkarılabilir. Kodominant özellik gösteren bir markör sistemidir (Karcicio, 2006).

STS (Dizisi Etiketlenmiş Bölge/Sequence Tagged Sites) yöntemi, amplifikasyon profillerinin rastgele ortaya çıktığı yöntemlerin aksine, hedef alınan belirli bölgelerin çoğaltılması esasına dayanır. Kromozomal yerleşimiyle nükleotid dizisi bilinen 60-1000 bç boyutundaki genom bölgesidir. Bu genom bölgelerinin çoğaltma işleminde kullanılan 16-24 baz primerler genomda az sayıda bulunur fakat genomlar arasında yüksek oranda korunmuş dizilere has olarak seçilmektedir. Uzunluk farkları olmamasına rağmen amplifikasyon ürünleri uygun restriksiyon enzimleri yardımıyla yapılan kesimlerden dolayı farklı genotipler arasındaki mevcut nükleotid değişikliklerini belirleyebilmektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2001; Karcicio 2006)

EST(İfade Edilen Dizi Etiketi/Expressed Sequence Tags) yöntemi cDNA klonlarının rastgele dizi analizi olarak da bilinir. Bu yöntem dizileme ve haritalama

çalışmaları için oldukça uygun bir yöntemdir. mRNA'lar ve cDNA'lardan elde edildiklerinden dolayı belirli şartlarda veya farklı gelişim aşamalarında ifade edilen genlerin araştırılmasına imkan sağlamaktadır (Yeşbek, 2007). Mısır bitkisinde LD geninin genomik klonu bu yöntem kullanılarak elde edilmiştir.

ISSR (Basit Dizi Arası Tekrar/Inter Simple Sequence Repeats) yöntemi, SSR primerleri kullanarak hedef dizi arasındaki bölgeleri çoğaltan PCR tekniğine dayanan bir metoddur. Birbirlerine yakın bulunan SSR'lar arasındaki DNA dizilerini çoğaltarak ortaya çıkan parçaların uzunluklarını mukayese ederler. Genellikle dominant markör olmalarıyla birlikte yüksek polimorfizm gösterirler. Otomasyona uygunlukları ve güvenilir olmaları sebebiyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Yeşbek, 2007).

SCARs (Dizisi Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler/Sequence Characterized Amplified Regions) yöntemi, genetik bakımdan tek bir lokus olarak tanımlanan ve özgül oligonükleotit çiftleri ile çoğaltılan DNA parçalarını karakterize eden bir yöntemdir. Kodominant olarak kalıtılan SCAR markörleri 1993 yılında RAPD markörlerinin SCAR markörlerine dönüştürülmesi ile RAPD markör sisteminin etkinliği biraz daha arttırılmıştır. Bu işlemin mümkün kılınabilmesi için öncelikle amplifikasyon ürünleri kodlanır ve seri tanımlanır. Restriksiyon enzimleri ile kesilen SCAR markörleri kodominant markörlere dönüştürülebilmektedir (Karcicio, 2006).

SNP (Tek Nükleotit Polimorfizmi/Single Nucleotide Polymorphism) yöntemi, son yıllarda özellikle genom taramalarında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Genetik lokusta farklı alleller meydana getirecek biçimde baz veya bazlarda meydana gelen SNP'ler nokta mutasyonlarının yol açtığı polimorfizmlerdir (Karcicio, 2006). Bu tip sekans farklılıkları baz değişikliklerinden kaynaklanıp ilk olarak 1977 yılında DNA dizi yönteminin başlamasıyla birlikte daha iyi tanımlanmıştır. Fakat 1990 yılından sonra fazla sayıda ki örnekte SNP tanımlanması chip teknolojisinin uygulanmaya başlamasıyla hız kazanmıştır. Otomasyona uygun olması, herhangi bir organizmada fazla bulunabilmesi, diğer markör yöntemleriyle tespit edilemeyen gizli

polimorfizmlerin kolaylıkla tespit edilebilmesi SNP yi moleküler marker gelişmelerinde ilgi odağı konuma getirmiştir. İnsanlarda yaklaşık olarak 3 milyon civarında SNP bulunduğu bildirilmiştir (Russell, 2001). Teoride her bir lokustaki SNP dört bazdan birini bulunduracak şekilde dört farklı allel oluşturabilmektedir. Hem kodlayıcı hem de kodlayıcı olmayan DNA bölgelerinde SNP'ler meydana gelebilir (Karcicio, 2006).

SNP profilini açığa çıkarmak için DNA dizi analizi, heterodupleks analizi (HA), tek iplik konformasyonal polimorfizmi (SSCP), allel spesifik oligonükleotit (ASO) analizi ve aynı anda birden fazla SNP profilinin araştırıldığı DNA mikroarray yöntemi gibi bir çok farklı yaklaşım kullanılmaktadır (Liu ve Cordes, 2004). Özellikle bu yaklaşımlardan DNA mikroarray sistemleri aynı anda yüzlerce SNP profilinin tanımlanmasına imkan sağlar. Birden fazla gen ile ilgili aynı anda bilgi alınabilmesi, hızlı sonuç elde etme ve sistem kurulduktan sonra ucuz olması Mikroarraylerin avantajlarındandır.

Bu çalışmanın amacı Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi badem koleksiyon parselinde bulunan farklı yerli badem çeşitlerinde fenolojik gözlemler ile bazı yaprak özelliklerinin belirlenmesidir. Öte yandan meyvelerde acılık-tatlılık genlerinin SNP (Single Nucleotide Polymorphism) yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Antepfıstığı, ceviz, fındık ve diğer sert kabuklu meyvelerde olduğu gibi bademinde gıda sektöründe önemli bir yeri vardır (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979). Dünya üzerindeki badem çalışmaları yoğun olarak ABD ve Avrupa ülkelerinde yapılmıştır. Ülkemizde bu durum geç başlamış olmasına rağmen gün geçtikçe ilerleme kaydedilmektedir (Balta, 2002). Son yıllardaki badem ile ilgili çalışmaları daha çok çeşit geliştirme, geç çiçeklenen ve meyve kalitesi yüksek olan çeşitler ıslah etme, verimlilikte stabilizasyon, hava soğukluğuna dayanım gibi konular üzerinde yoğunlaşmıştır (Gülsoy, 2012; Köse 2013).

2.1. Badem İle İlgili Dünyada Yapılan Çalışmalar

Badem ile ilgili dünyada yapılan ilk çalışmalar Amerika'nın Kaliforniya eyaletinde 1850-1900'lü yılları arasında başlamıştır. Kaliforniya Üniversitesi ve Amerika Tarım Bakanlığının birlikte yürüttüğü ticari uyum ve kalite üzerine yaptıkları çalışma sonucunda Harpareil, Davey ve Jordanolo adında çeşitler bulunmuştur. 1948-1975 yılları arasında Amerika Tarım Bakanlığının yaptıkları çalışmada Titan ve Vesta çeşitleri bulunmuştur (Janick ve Moore,1996).

1950'li yılların başına kadar çöğür ağaçlarla badem yetiştiriciliği yapılan Yunanistan'da bu yıllardan sonra Retsou, Texas ve Truotio çeşitlerinin kullanılmasıyla aşılı fidanlar ile üretime geçilmiştir. İlerleyen yıllarda ise bu çeşitlerin yerini Ferraduel ve Ferragnes çeşitleri almıştır (Tsipouridis, 1990).

1960 yılında Fransa'da başlatılan çeşit ıslah programında bademde tek içlilik, geç çiçeklenme, habitüsü yarı-dik gelişme, iyi verimlilik, erken meyveye yatma, kendi ile uyuşma özelliği olan, hastalıklara karşı dirençli olma gibi özellikler dikkate alınmaktadır (Grasselly, 1990).

Felipe ve Socias I Company (1987), İspanya'da birlikte yürüttüğü badem ıslah çalışmasında kendine verimli ve çiçeklenme dönemi geç olan Guara, Moncaya ve Ayles çeşitlerinin bazı özellikleri belirlenmiştir. Zaragoza iklim şartlarında dört yıllık ortalamasına göre bu üç çeşidin çiçeklenme tarihini sırayla 18-22 Mart, 20-24 Mart, 23-28 Mart tarihleri olduğunu bildirmişlerdir. Yine bu araştırmada Titan, Ferragnes, Desmayo, Nonpareil, Marcona, Tuono çeşitlerinin de çiçeklenme tarihlerini sırasıyla 23-30 Mart, 18-22 Mart, 27-29 Şubat, 12-17 Mart, 3-11 Mart, 17-22 Mart olarak saptamışlardır.

Abderahmane (1990), Fas'ta yetiştiriciliği en fazla yapılan sert kabuklu meyve türünün badem olduğunu ve üretimin çöğür ağaçlarla yapıldığını, yerel çeşitlerde Abiod ve yabancı çeşitlerde ise Morcano, Fournay, Nonpariel, Desmayo, Tuano, Texas ve Ne Plus Ultra tercih edildiğini; Fas'ta yapılan ıslah çalışmalarında ise dikkat edilen noktaların kendine ve yüksek verimlilik, geç çiçeklenme, meyve kalitesi ve hastalıklara dayanım olduğunu ifade etmiştir.

Al-Attar (1990), yaptığı çalışmada çöğür anaçlarından badem üretimi yapılan Suriye'de çöğür anaçlarıyla birlikte Dafadii, Shami Furk ve Oja gibi yerel çeşitler ve Ferraduel, Ferragnes, Ai, Nonpariel ve Texas gibi yabancı çeşitlerinde yetiştirildiğini bildirmiştir.

Mlika (1990), badem yetiştiriciliğinin sürekli gelişmekte olduğu Tunus'ta yıllık badem üretiminin 25 000 ile 52 000 ton arasında olduğu ve yıllara göre dalgalanma gösterdiğini bildirmiştir. Badem üretiminin çöğür anaçlardan ve Heuch Ben İsmail, Khoukhi, Agabeyod, Blanco, Achaak, Zaaf, Ras Sjebel ve Ksontini gibi yerel çeşitlerden; Ne Plus Ultra, Texas, Peerless, Fournat De Brezaund, Ferragnes, Ferraduel, Ronde Fine, Marcona, Tuono gibi yabancı çeşitlerden elde edildiğini ifade etmiştir.

Badem üretim ve ticaretinde dünyada ilk sırada yer alan ABD'de yetiştirilen en yaygın çeşitler Mission (Texas), Peerless, Ne Plus Ultra, Nonpariel, Kapareil, Sonora, Jardanolo, Padre, Merced, Carmel, Davey, Price Cluster, Solano, Monterey,

Thomson, LeGrand, Tardy Nonpareil, Ruby ve Jeffries'dir. Kaliforniya eyaletinin üretim ve pazarlama açısından en önemli olan çeşidi Nonpariel'in üstün meyve ve ağaç özelliklerine sahip olduğu bilinmektedir. Üretilen iç düzgün, açık, üniform ve atraktif görünüşlüdür. Kendine uyuşmaz ve ince kabuklu bir çeşittir (Kester ve ark., 1991).

Janick ve Moore (1996), İsrail'deki Tarımsal Araştırma Örgütünün başlatmış oldukları ıslah programında bademde iç kalitesi iyi ve anaçlık ve ticari özellikleri incelemişlerdir. Yapılan incelemeler sonucunda Dagan, Solo, Kochbah, Alnem ve Samish çeşitlerinin iç kalitesi ve ticari olarak Shefa çeşidini ise anaç olarak iyi olduğunu bulmuşlardır.

1990 yılından önceki dönemde Fransa'da badem bahçeleri 3 farklı şekilde kurulmuştur. Temel çeşit olarak Ferragnes çeşidi, tozlayıcı olarak Ferrestar ve Ferraduel veya Ai çeşitleri kullanılmıştır. 1989 yılında kendine verimli olan Lauranne çeşidinin ortaya çıkmasıyla Lauranne veya Lauranne Ferragnes ve Ferraduelden oluşan bahçelerin kurulmaya başlanmıştır (Duval, 1997).

Cordeiro ve ark. (2001), Portekizin Algarve ve Tras-os-Montes bölgelerinden seçilmiş ve anaç olarak GF-677 anacı üzerine aşılı 13 tiple Ferragnes çeşidinin meyve özellikleri incelenmiştir. İnceleme sonucunda çeşit ve tiplerin 4.207 g-10.530 g arasında kabuklu meyve ağırlığına, 1.018 g- 1.674 g iç meyve ağırlığına, %0-25 arasında değişen çift iç oranına ve çift iç oluşturmanın çevresel etkenlerden etkilendiğine ve çeşit özelliği olduğuna kanaat getirmişlerdir.

Avusturalya'daki Adelaide Üniversitesindeki badem ıslah programında yüksek kaliteli ve kendine verimli badem çeşitlerinin geliştirilmesi hedef alınmıştır. Bu amaç doğrultusunda Avusturalya iklimine ve toprak koşullarına uyum sağlayan çeşitler ile kendine verimli olan badem çeşitleri arasında melezleme işlemleri yapılarak elde edilen melezlerde tomurcuk patlama tarihleri, çiçeklenme tarihleri, ağaç ve meyve özellilerinin saptandığı bildirilmiştir (Wirthensohn ve Sedgley, 2002).

Martinez-Gomez ve ark. (2003), 13 adet badem, 15 adet yabani şeftali, 10 adet anaç şeftali ve 20 adet şeftali örneğinde 18 adet SSR primeri kullanarak genetik teşhis çalışması yapmışlardır. Yapılan SSR çalışması sonucunda elde edilen beriler daha önceki sonuçlarla uyumluluk göstermiş ve badem çeşitleri Avrupa ve Kaliforniya olarak iki ana gruba,şeftali çeşitleri 10 gruba ve kültür şeftali çeşitlerinden ayrılan abani şeftali çeşitleri farklı bir grupta yer almaya başlamıştır.

Zeinalabedini ve ark. (2007), P. lycioides, P. Hausknechtii, P. Eleagnifolia ve P. Scoparia gibi yabani ve Ferrangnes, Marta, Tuono, Nonpareil ve Mission gibi kültür badem çeşitlerinden oluşan örnekler ile kloroplast ve çekirdek DNA'sından geliştirilen markörler kullanılarak moleküler karakterizasyon çalışmaları yapmıştır. Yapılan bu karakterizasyon çalışmalarında toplamda 16 adet SSR primeri kullanılmıştır. Hücre çekirdeği kullanılarak geliştirilmiş SSR primerlerinden oluşturulmuş lokus başına allel sayısının 7-16 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bununla birlikte öngörülmüş olan heterozigotluk oranın % 54-93 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. SSR primerlerinin polimorfizm düzeylerinin çekirdek DNA'sından elde edilen primerlerde kloroplast DNA'sından elde edilen primerlerine göre daha yüksek olduğu saptanmışlardır. Buna neden olarak yüksek seviyede korunaklı olan kloroplast DNA'sı gösterildiğini ve bu sebepten dolayı genetik karakterizasyon üzerine bir çalışma yapıldığında çekirdek DNA'sından geliştirilmiş primerlerin tercih edilmesi gerektiği bildirmişlerdir.

Sanchez-Perez (2009), R1000 ve D.Largueta melezlerini kullanarak bademde acılığa sebep olan markörleri belirlemiştir. Acılığın, tatlı çekirdek (Sk/sk) geninin resesif allelinden kaynaklandığını ve ıslah programı için seçilecek olan çeşitte buna dikkat edilmesi gerektiğini bildirmiştir. Bademin uzun bir gençlik dönemi olduğunu ve acılık özelliğinin nesilden nesile geçme durumunun göz ardı edilmemesi gerektiğini ve meyve özelliklerini değerlendirmek için yetiştiricilerin çeşidi 3-4 yıl bahçede izlemeleri gerektiğini ifade etmiştir. Bunun üretici için ekstra bir iş yükü olduğunu ve moleküler markörlerin burada üreticinin işlerini kolalaştırabileceğini bildirmiştir. Sk geninin badem genomunun beşinci bağlantı grubunda (G5) eşleştirildiğini ve SSR ile doyurulduğu zaman genlerin haritalanabildiğini

saptamıştır. Bu çalışma ile badem gibi meyve ağaçlarının PCR tabanlı yöntemlerle taranması için faydalı olduğunu ortaya koymuştur.

Dicenta ve ark. (2010), CEBAS-CSIC Enstitüsünde başlattıkları ıslah programıyla elde edilen kendine verimli ve geç çiçeklenen Antoneta ve Marta badem çeşitleri geliştirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar 2007 yılında yürüttükleri melezleme çalışmalarıyla daha geç çiçeklenen Tardona ve Penta badem çeşitlerini elde etmişlerdir.

Milatovic ve ark., (2017),.Belgrad'ta yapılan bir çalışmada 7 adet badem çeşidinin pomolojik özellikleri ve çiçek fenolojisi incelenmiştir. Araştırmada kullanılan bu 7 badem çeşidinin çiçeklenme zamanının Mart ortası ile Nisan başında olduğu saptanmıştır. En erken ilk çiçeklenmenin 14 Mart tarihinde (Exinograd ve Nessebar), en son ilk çiçeklenin ise 1 Nisan tarihinde (Mari ve Stepa) olduğu bildirilmiştir. Çiçeklenme süresinin 11 ila 22 gün arasında değiştiği ve ilk çiçeklenen çeşitlerde bu dönemin daha uzun olduğu saptanmıştır. Icar ve Exinograd çeşitlerinin randımanlarının %30'un altında (en düşük) olduğu ve 5 g kabuklu meyve ağırlığıyla bu 7 çeşit arasında ki en büyük kabuklu meyve ağırlığına sahip oldukları bulunmuştur. Randımanı %47-52 arasında olan Miagkoskorlupniy, Prianiy, Retsou, Nessebar çeşitlerinin meyve ağırlıklarının 2.5 g'ın altında olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen bu çeşitlerin yağ içeriklerinin %49.06-60.35 arasında iken minarel içeriklerinin % 3.03-3.31 arasında olduğu belirlenmiştir.

2.2. Badem İle İlgili Ülkemizde Yapılan Çalışmalar

1973 yılında Dokuzoğuz ve Gülcan Ege Bölgesinden seleksiyon yöntemi ile elde etmiş oldukları badem genotiplerini klonlamış ve bu klonları erkencilik bakımından geç çiçek açan Teksas çeşidi ile İzmir şartlarında karşılaştırmalı olarak denemeye tabi tutmuşlardır. Yapılan çalışmada 13 yıl boyunca alınan gözlemlere dayanarak Teksas çeşidiyle aynı dönemde çiçeklenen hatta Teksas çeşidinden 1-5 gün arasında daha geç çiçeklenen klonlar olduğu bildirilmiştir.

Ayfer (1990), ülkemizde yetiştirilen badem çeşitlerinin çoğunlukla kalın kabuklu ve yerel çeşitler olduğunu ve bu çeşitlerin çiçeklenme döneminin erken olduğunu bildirmiştir.

Kaşka ve ark. (1998), Şanlıurfa ilindeki Koruklu Araştırma İstasyonunda yaptıkları çalışmada çiçeklenme dönemi geç olan beş badem çeşidini çiçeklenme dönemi, hasat, ürün ve meyve özellikleri bakımından incelemeye almışlardır. 1996 yılında yerli genotiplerin (48-1, 48-2, 48-5) 28 Şubat tarihinde; Teksas, Nonpareil ve Drake çeşitlerinin 11Mart tarihinde; Yaltinski, Picantili, Genco ve Ferragnes çeşitlerinin 14 Mart tarihinde; Ferraduel çeşidinin 20 Mart tarihinde 101-13 ve 101-23 isimli yerli genotiplerin ise 21 Mart tarihinde tam çiçeklenme döneminde olduklarını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte çeşitlerin hasat tarihlerinin 21-31 Ağustos tarihleri arasında olduğunu belirlemişlerdir.

Kuzdere (1999), Şanlıurfa Ceylanpınar Tarım İşletmesi (CEYTAM) Araştırma İstasyonunda bulunan bazı badem çeşitlerini 1997-1998 yıllarında fenolojik-pomolojik olarak özelliklerini incelemiştir. 1997 yılında alınan fenolojik gözlemlere göre tam çiçeklenme 48-5 ve D. Larguetta çeşitleri en erken (3 Mart), Ferragnes çeşidinde ise en geç (7 Nisan), 1998 yılında alınan fenolojik gözlemlere göre ise 48-5 ve D. Larguetta çeşitlerinde en erken (7 Mart), 101-23 çeşidinde ise en geç (28 Mart) görüldüğünü bildirmişlerdir.

Kaçar ve ark. (2003), bademde çeşit ve elde edilen melez bireylerde mikrosatellit markörlerinin başarılı bir şekilde parmak izi ve segregasyon analizinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar 21 melez birey (Gülcan-1 ve Ferragnes) ve 8 badem çeşidinde şeftaliden izolasyon yöntemi ile elde edilmiş 12 adet mikrosatellit primeri denemiş ve Gülcan 1 ve Süpernova badem çeşitlerini haricinde bütün badem çeşitlerini tanımlamışlardır. Süpernova ve Gülcan-1 badem çeşitlerinin tanımlanamamasının sebebinin bütün primer kombinasyonlarıyla aynı profili sergilemelerinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Yapılan araştırma sonucunda teste tabi tutulan mikrosatallit markörlerinden 10 tanesinin polifirfik

olduğunu ve kalan diğer iki markörün amplifikasyona sebep olmadığını belirtmişlerdir.

Ak ve ark. (2005), Şanlıurfa Ceylanpınar Tarım İşletmesi'nde yaptıkları çalışmada yerli ve yabancı toplam 25 adet badem çeşidinin çiçeklenme dönemlerini mukayese etmişlerdir. Çalışmada yapılan gözlemler sonucunda 48-5 ve D. Largueta çeşitlerinin tam çiçeklenme döneminin Mart ayı başında, Ferragnes, Ferraduel ve Yaltinski çeşitlerinin ise 48-5 ve D.Largueta çeşitlerinden bir ay sonra tam çiçeklenme dönemine geldiğini tespit etmişlerdir. Bununla birlikte Garrigues, Ferraduel ve Cristomorto çeşitlerinin verim bakımından bölgede iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Açar ve ark. (2018), melezleme ile kendine uyumlu ve geç çiçek açan badem yetiştirme programında; kendine uyumlu yabancı badem çeşitlerinden olan Guara, Moncayo ve Lauranne, çeşitleri ile yerli çeşitlerden Akbadem, Gülcan-1 ve Gülcan-2 çeşitleri çaprazlanmıştır. Kendine uyumlu allel (Sf) içeren Nurlu ve F1 bitkileri PCR yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve 2011 yılında Antepfıstığı Araştırma Enstitüsüne dikilmiştir. Bu çalışma ile bölgemizde ilk kendine verimli ve geç çiçeklenen badem popülasyonu oluşturulmuştur.

Ak ve Parlakçı (2018), Şanlıurfa ili Bozova ilçesinde yetişen Ferragnes, Ferraduel, Lauranne, Bertina ve Felisia çeşitlerinden hasat dönemi meyve örnekleri alınmış ve meyve tutumu, verim ve bazı kalite özellikleri analiz edilmiştir. Elde ettikleri iki yıllık sonuçlara göre meyve tutumunun en yüksek (%29,23) Ferragnes çeşidinde, en düşük (11,57) Bertina çeşidinde olduğu tespit edilmiştir. Meyvelerde yapılan pomolojik analizlerde ise en büyük meyvenin Bertina çeşidinde olduğunu belirlemişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1 Araştırma Alanı

Bu çalışma Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Osmanbey Kampüsünde bulunan badem koleksiyon parselinde GF-677 anacı üzerine aşılı meyve vermeye başlamış (5 yaşlarında) 48-1, Akbadem (48-2), Gülcan-1(101-23), Gülcan-2(101-13), Nurlu, Hacı Alibey(48-5), 17-4 ve Dokuzoğuz-2(120-1) yerli badem çeşitleri üzerinde yürütülmüştür (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Harran Üniversitesi badem koleksiyon parselinin uydudan çekilmiş fotoğrafı

3.1.2. Araştırma Alanının İklim Özellikleri

Araştırmanın yürütüldüğü badem koleksiyon parseline ait 2019 yılına ait iklim verileri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırma alanına ait 2019 yılı iklim verileri

Parametreler	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	Ort.
Ortalama sıc. (°C)	6.1	8.4	10.6	14.3	25.1	30.8	31,7	32,8	27,9	22,9	28,83
En yüksek sıc. (°C)	17.2	18.6	22.1	26.8	40.3	44.1	42,3	45,8	39,5	36,2	40,95
En düşük sıc. (°C)	-1.2	2.2	1.9	5.9	10.1	18.5	19,7	20,7	15,9	11,3	16,9
Ort. En düşük sıc. (°C)	3.3	4.9	6.7	10.0	18.3	23.0	24,3	25,6	21,2	17,3	22,1
Ort. En yüksek sıc. (°C)	10.3	13.2	16.1	20.5	32.6	38.3	39,2	40,2	35,4	29,8	36,15
Ort. Nisbi nem %	76.4	72.2	64.9	67.2	36.1	30.6	29,6	29,3	30,3	44,9	33,53
Yağış toplamı (kg/m²)	113.8	83.8	202.1	97.4	7.3	8.9	0	0	0,2	45,1	11,33
Ort. Rüzğar hızı (m/sec)	1.3	1.1	1.4	1.2	1.6	1.8	2	1,8	1,5	1,2	1,6

Kaynak: (MGM,2020)

3.1.3. Araştırmada Yer Alan Yerli Badem Çeşitleri ve Bunların Anacı

3.1.3.1. 48-1

Şubat ayının ilk haftasında çiçek açan erkenci bir çeşittir. Kendisiyle uyuşmazlığı olan fakat kuvvetli gelişim gücüne sahip diş bademi çeşididir. Tozlayıcı olarak 48-3, Hacı Alibey ve Akbadem kullanılır. Randımanı %38 olup kabuklu badem ağırlığı 3,95 g ve kabuksuz badem ağırlığı 1,50 g'dır. İç badem uzunluğu 24,51 mm ve eni 13,47 mm'dir. Çağla olarak da tüketilmektedir. Çift badem oranı %6,67'dir(Küden ve ark., 2014).

3.1.3.2. Akbadem (48-2)

Kendisiyle uyuşmazlığı olan, kuvvetli gelişime sahip erkenci el bademi çeşididir. Tozlayıcı olarak Hacı Alibey, 48-4, 48-3, 48-1 kullanılır. Kabuklu badem ağırlığı 4,37g iken iç badem ağırlığı 1,80 g'dır. Randımanı %35,17 olup %26,67 çift

badem oranına sahip ve verimliliği çok iyi olan bir çeşittir. İç badem uzunluğu 25,87 mm ve eni 13,07 mm'dir. İri ve ince kabuklu meyveler oluşturur. İç badem olarak kaliteli olmasının yanı sıra çağla olarak da tüketilmektedir (Küden ve ark., 2014).



Şekil 3.2. Akbadem Çeşidi

3.1.3.3. Hacı Alibey (48-5)

Çok erkenci ve orta gelişme kuvvetine sahip ağaçlar oluşturabilen bir çeşittir. Kendisi ile uyuşmadığı için yabancı tozlanma ister. Tozlayıcı olarak Akbadem, 48-1, 48-3 ve 48-4'kullanılır. Kabuklu badem ağırlığı 3,27g ve iç badem ağırlığı 1,15g'dır. Randımanı 35,17 olup %26,67 çift badem oranına sahip bir çeşittir. İç badem uzunluğu 25,87 mm ve eni 13,07 mm'dir. Periyodisite eğilimi yok denecek kadar az olduğu için verimliliği çok iyidir (Küden ve ark., 2014).

3.1.3.4. Gülcan-1(101-23)

Orijini Çanakkale/Umurbey'dir. Orta kuvvette gelişime sahip, orta verimli ve geççi bir taş badem çeşididir. Badem dal kanserine karşı dayanıklıdır. Kendine uyuşmazlığı olduğu için yabancı tozlanmaya ihtiyaç duyar. Tozlayıcıları Texas, Nonpareil, Gülcan-2(101-13) ve 101-9'dur. Yeşil kabuğunun kavlanması ve hasadı kolaydır. İç randımanı %32 olup % 5-13 çift badem oranına sahip bir çeşittir.

Kabuklu badem ağırlığı 3,04 g ve oval şekilli ucu sivri ve kısadır, iç badem ağırlığı 1,05g'dır. İç badem uzunluğu 20,98mm ve eni 12,75 mm'dir (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979).

3.1.3.5. Gülcan-2(101-13)

Orijini Çanakkale/Umurbey'dir. Orta kuvvette gelişime sahip, orta verimli ve geççi bir taş badem çeşididir. Kendine uyuşmazlığı olduğu için yabancı tozlanmaya ihtiyaç duyar. Tozlayıcıları Texas, Nonpareil, Gülcan-1(101-23) ve 101-9'dur. Yeşil kabuğunun kavlanması ve hasadı kolaydır. İç randımanı %32 olup % 5 çift badem oranına sahip bir çeşittir. Kabuklu badem ağırlığı 3 g ve oval şekilli ucu sivri ve kısadır. Kabuklu badem koyu bej rengindedir. Yürek şeklinde olan iç badem, testa rengi orta koyulukta sarı-kahverengi, az tüylü ve hafif pürüzlüdür. Melezleme uygulamalarında meyve tutumunun orta düzeyde olduğu saptanmıştır. (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979; Açar ve ark., 2012).

3.1.3.6. Dokuzoğuz 2(120-1)

Orijini Aşağı Kalamış(Şarköy)' dür. Dik yayvan bir taç teşkil eden ve kuvvetli gelişen ağaçlara sahip verimli bir çeşittir. Kendine uyuşmazlığı olduğu için yabancı tozlanmaya ihtiyaç duyar. Tozlayıcısı Nonpareil' dir. Texas çeşidinden yaklaşık 15 gün önce çiçeklenir. Yeşil kabuğunun kavlanması ve hasadı kolaydır. İç randıman %24 olup %1,1 çift badem oranına sahip bir çeşittir (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979).

3.1.3.7. Nurlu

Yetiştiriciliği daha çok Datça'da yapılan kaliteli, lezzetli ve iri bir badem çeşididir. Kendisine has olan tadı ile yendiğinde ağızda hoş bir tat bırakmaktadır. Dünya çapında kendisini kanıtladığından yüksek fiyata alıcı bulabilmektedir bu nedenle çok fazla üretimi yapılmaktadır. Büyük çoğunluğu iç piyasada tüketilmektedir. Çağla olarak yaz aylarında oldukça rağbet görmektedir. Erkenci bir

çeşit olduğu için ilkbahar donlarının yaygın görüldüğü bölgelerde iyi sonuç vermez (Açar ve ark., 2012).



Şekil 3.3. Nurlu Badem Çeşidi

3.1.3.8. 17-4

İzmir bölgesinden elde edilmiş bir çeşittir. Ağacın gelişim gücü kuvvetli olup yayvan taç yapısına sahiptir. Hasadı kolay olan ve bol, tutarlı ürün verirler. Olgunlaşma dönemini tamamlamış çeşitlerin kavlanması kolaydır. Dış kabuk ince yapıya sahip bir çeşittir ve iç randımanı %60 oranındadır. İç bademi orta irilikte olup çift badem oranı %5'tir. Erkenci bir çeşit olup çiçeklenme dönemi Şubat ayının ikinci yarısıdır. Bu badem çeşidinin hasadı Temmuz ayı ortasında yapılmaktadır. Dölleyici çeşit olarak 20-1 ve 5-1 klonları kullanılır (Dokuzoğuz ve Gülcan, 1979).

3.1.3.9. GF 677 Anacı

Fransa'da INRA Araştırma Enstitüsünde geliştirilmiş şeftali ve badem melezi bir anaçtır. Kireçli topraklar, kloroz, kök kanseri ve *Phytopthora* dayanıklıdır. Kuvvetli bir anaç olup yüksek kalitede meyve oluşturur. Şeftali, badem, nektarin ve erik için aşılamaya uygundur ve uyuşmazlık göstermez (Şekil 3.2.). GF 677 anacı

dünyada yaygın bir şekilde kullanıldığı gibi ülkemizde de Ege, Akdeniz, Marmara ve GAP bölgesi içinde kullanımı önerilen bir anaçtır (Küden ve Küden, 2000).



Şekil 3.4. GF 677 Anacı

3.2 Yöntem

Bu çalışma Mart 2019 yılında başlamıştır. Çalışmada 8 adet yerli badem çeşidinde fenolojik gözlemler ile bazı yaprak özellikleri ve meyvelerde acılık-tatlılık genlerinin SNP (single nucleotide polymorphisms) yöntemiyle belirlenmesi incelenmiştir.

Laboratuvar çalışmaları Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ve CEBAS-SCIC (Centro de Edafología y Biología Aplicada Del Segura Consejo Superior de Investıga de Cıenticas/ Segura Bilim Araştırmaları Yüksek Konseyi Edafoloji ve Uygulamalı Biyoloji Merkezi-Murcia/İspanya) laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.2.1. Fenolojik Gözlemler

Fenolojik gözlemler kapsamında; araştırmada kullanılan badem çeşitlerinde; çiçeklenme başlangıcı, tam çiçeklenme, çiçeklenme sonu ve küçük safhası dönemleri incelenmiştir (Aslantaş,1993).

3.2.1.1. Çiçeklenme Başlangıcı

Seçilen çeşitlere ait ağaçlardaki çiçeklerin %5 ile %10'unun açıldığı tarih ilk çiçeklenme olarak belirlenmiştir (Kester ve Asay, 1975; Aslantaş, 1993).



Şekil 3.5. Badem çiçeklenme başlangıcı

3.2.1.2. Tam Çiçeklenme

Seçilen çeşitlere ait ağaçlardaki çiçeklerin %70 ile %90'ının açıldığı tarih tam çiçeklenme olarak belirlenmiştir (Kester ve Asay, 1975; Aslantaş, 1993).



Şekil 3.6. Bademde tam çiçeklenme (a,b)

3.2.1.3. Çiçeklenme Sonu

Seçilen çeşitlere ait ağaçlardaki çiçeklerin %90'ının döküldüğü tarih çiçeklenme sonu olarak belirlenmiştir (Kester ve Asay, 1975; Aslantaş, 1993).

3.2.1.4. Küçük Meyve Safhası

Seçilen çeşitlere ait ağaçlardaki çiçeklerin taç yapraklarını dökmesiyle küçük meyvelerin görülmeye başlandığı tarih olarak belirlenmiştir (Kuzdere, 1999).



Şekil 3.7. Badem küçük meyve safhası

3.2.2. Yaprak Özellikleri

Seçilen çeşitlere ait ağaçlarda yaprak boyu, yaprak eni, yaprak sapı boyu, yaprak genişlik/uzunluk oranı, yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, turgor halindeki yaprak ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, ve yaprak nisbi su içeriği ölçümleri yapılmıştır.

3.2.2.1. Yaprak Uzunluğu(L) (cm)

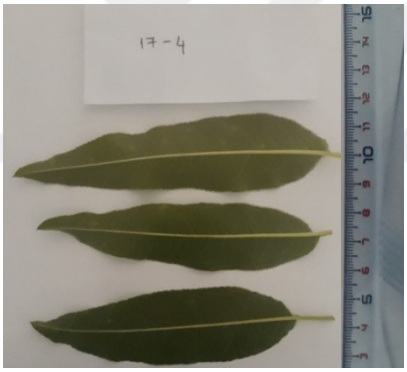
Seçilen çeşitlere ait ağaçlar çağla dönemine geldiğinde rastgele seçilen 10 adet yaprak toplanmış ve laboratuarda yaprak uzunlukları yaprak sapı dahil edilmeden cetvel ile ölçülmüştür (Oraguzıe ve ark., 1998; Kotobukı, 1996).



Şekil 3.8. Badem yaprak uzunluk ölçümü

3.2.2.2. Yaprak Genişliği(l) (cm)

Seçilen çeşitlere ait ağaçlar çağla dönemine geldiğinde rastgele seçilen 10 adet yaprak toplanarak laboratuarda yaprak genişlikleri cetvel yardımıyla ölçülmüştür (Oraguzıe ve ark., 1998; Kotobukı, 1996).



Şekil 3.9. Badem yaprak genişlik ölçümü

3.2.2.3. Yaprak Sapı (Pedisel) Boyu(cm)

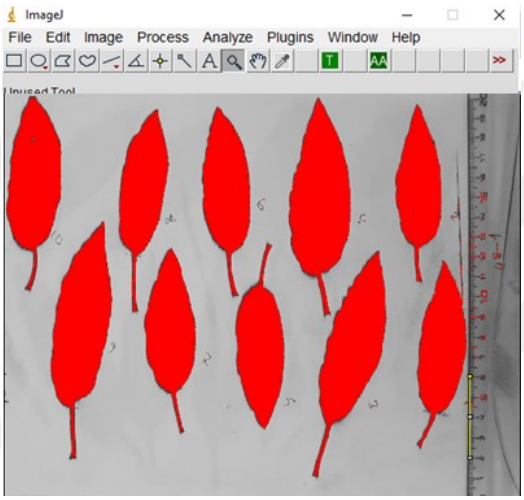
Yaprak sapının sürgünden ayrıldığı dip kısım ile yaprağın başladığı nokta arasındaki kısım cetvel yardımıyla ölçülerek belirlenmiştir (Oraguzıe ve ark., 1998; Kotobukı, 1996).

3.2.2.4. Yaprak Genişlik/Uzunluk Oranı

Yaprak genişlik değerinin yaprak uzunluk değerine bölünmesiyle belirlenmiştir (Oraguzıe ve ark., 1998; Kotobukı, 1996).

3.2.2.5. Yaprak Alanı(cm²)

Yaprağın yüzey alanı Image-J programı yardımıyla belirlenmiştir.



Şekil 3.10. Image-j programında yaprak alan ölçümü

3.2.2.6. Yaprak Yaş Ağırlığı(g)

Yaprak örnekleri alındıktan sonra ağzı açık poşetlere, bu poşetlerde buz kalıpları arasında laboratuara getirilir. Bu örnekler su kaybetmeden hassas terazide tartılarak yaprak yaş ağırlığı belirlenmiştir.



Şekil 3.11. Badem yaprak yaş ağırlığı ölçümü

3.2.2.7. Yaprak Kuru Ağırlığı(g)

Yaş ağırlıkları belirlenen yaprak örnekleri, 72 saat 70 °C'de etüv içerisinde kurutulduktan sonra hassas terazide tartılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.12. Badem yaprakları etüvde kurutma işlemi

3.2.2.8. Turgor Halindeki Yaprak Ağırlığı(g)

Yaprak yaş ağırlığı alınan örnekler 6 saat saf su içerisinde bekletilmiş ardından kağıt havlu ile fazla suyu alınmış ve hassas terazi yardımıyla turgor ağırlıkları(TA) belirlenmiştir (Kırnak ve Demirtaş,2001).



Şekil 3.13. Badem yaprakları saf su içerisinde 6 saat bekletme

3.2.2.9. Yaprak Nisbi Su İçeriği (%)

Yaprak Nisbi Su İçeriği(%)=[(Yaprak Yaş Ağırlığı-Yaprak Kuru Ağırlığı)/(Turgor Halindeki Yaprak Ağırlığı-Yaprak Kuru Ağırlığı)]x100 formülü ile hesaplanmıştır (Kaya ve ark., 2003).

3.3. Acılık-Tatlılık Genlerinin SNP İle Analizi

3.3.1. DNA İzolasyonu

Seçilen çeşitlere ait genç yapraklar saf su altında yıkanmış ve kağıt havlu kullanılarak kurutulmuştur. 2 ml'lik eppendorf tüplerin kapağı kullanılarak 5-6 parça yaprak tüpler içine alınmıştır. İçine yaprak konulan tüpler sıvı nitrojen içinde dondurulur ve -80°C saklanmıştır. DNA izolasyonu için Doyle ve Doyle'nin (1987) yöntemi modifiye edilmiştir.

3.3.1.1. DNA İzolasyonu İçin Gerekli Solüsyonların Hazırlanması

DNA izolasyon işleminde kullanılan tampon çözeltisinin içerisinde yer alan maddeler çizelge 3.2.'de verilmiştir. İzolasyon işlemi için tampon çözelti haricinde kloroform: izoamilalkol (24:1 oranında), izopropanol, etanol (%70) ve Tris-EDTA (Tris: 1 M 8,0 pH, EDTA: 0,5 M 8,0 pH) kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. DNA izolasyon işleminde kullanılan CTAB tampon solüsyon çözeltisinin içeriği

solüsyon	konsatrasyon
%2 CTAB	2 g
1.4 M NaCı	28 ml 5 M stok çözelti
20 mM EDTA	4ml 0.5 M stok çözelti
100 mM Tris pH 8.0	10ml 1 M stok çözelti
2% PVP 40	2 g

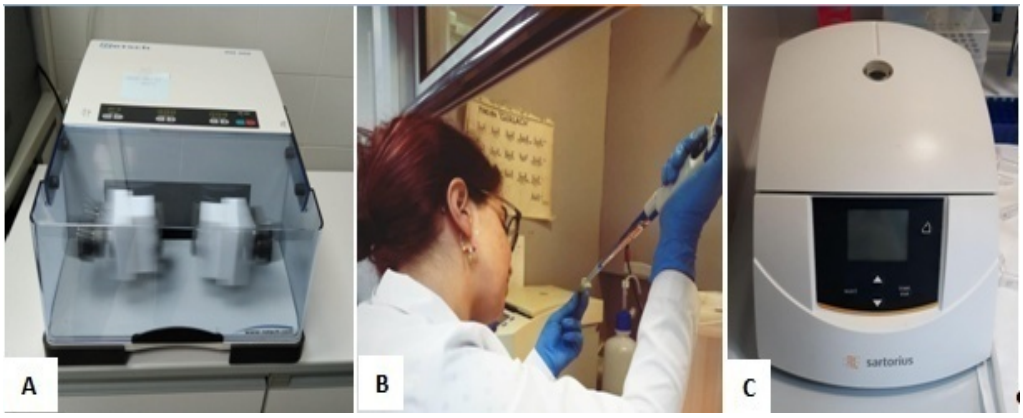
3.3.1.2. DNA İzolasyon İşlem Aşamaları

-80'den çıkarılan örnekler sıvı azot taşıma kabının içine alınarak laboratuara götürülmüştür.

1. Sıvı azot içerisinde muhafaza edilen her bir tüpün içine iki adet metal bilye konulur. Ağzı tekrar kapatılan tüpler tekrar sıvı nitrojen içine atılır.
2. Eppendorf tüpler içindeki örnekler, Tissue lyser kullanılarak (30 saniye ve maksimum hızla) parçalanır.
3. Tissue lyserdan alınan tüpler tampon eklenene kadar sıvı nitrojen içine bırakılır.
4. CTAB tampon solüsyon duman dolabında küçük bir su banyosunda +65 °C'ye ısıtılır.
5. Tüpler sıvı azottan bir seferde çıkarılıp 750 µl tampon solüsyon (+65 °C olması gerekir) eklenir.
6. Solüsyon eklenen tüpler ters çevrilerek karıştırılıp vortex makinesiyle (1 dakika) muamele edilir
7. +65 °C deki ısıtıcıda 3 dakika inkübe edilir.
8. Isıtıcıdan çıkarılan numunelere 750 µl kloroform eklenir ters çevrilip karıştırılır ardından vortex makinesiyle (1 dakika) muamele edilir.

9. Numuneler santrifüjde (10 dakika 14800 rpm) döndürülür.
10. Transfer için yeni eppendorf tüpler (1,5 ml'lik) etiketlenir.
11. Santrifüjden çıkarılan tüplerin üst fazı mikro pipet yardımıyla dikkatlice yeni tüplere transfer edilir.
12. (Çözelti bulanık ise kloroform basamağı tekrarlanır).
13. Transfer edilen süpertant üzerine 450 µl isopropanol (-20 °C olması gerek) eklenir.
14. Numuneler ters çevrilerek karıştırılır ve vortex makinesinde (30 saniye) muamele edilir.
15. Numuneler santrifüj ile (5 dakika 14800 rpm) döndürülür.
16. Santrifüjden çıkan tüplerdeki süpertant (duman dolabında) dökülür.
17. Tüplere 500 µl soğuk %70 etanol (-20 °C olması gerek) eklenerek DNA peleti yıkanır.
18. Dikkatlice bir iki kez ters çevrilen tüpler vortex makinesiyle (30 saniye) muamele edilir.
19. Numuneler santrifüj ile (5 dakika 14800 rpm) döndürülür.
20. Santrifüjden çıkan tüplerdeki pelet bu aşamada gevşek olduğu için supertant 200 µl pipet yardımıyla dikkatlice çıkarılır.
21. Eppendorf tüpler içindeki pelet ağzı açık bir şekilde duman dolabının içinde, oda sıcaklığında (2 saat) kurumaya bırakılır.
22. Kuruyan DNA ya mikro pipet yardımıyla 40 µl TE eklenir.
23. Tüpler gece boyunca + 4 °C bırakılır.
24. DNA'yı kesmemek için tüplerdeki pelet elle (çok hafif) vortekslenerek süspanse edilir.

Elde edilen DNA'nın miktarı ve kalitesi Nanodrop Spektrometre ile 260 ve 280 nm'de okuma yapılarak belirlenir.



Şekil 3.14. Tissue lyser (A), Duman Dolabı içerisinde Numunelere tampon solüsyon eklenmesi (B), Örneklerin Santrifüje Yerleştirilmesi (C)

3.3.2. DNA Kalite ve Saflığının Spektrometre ile Belirlenmesi

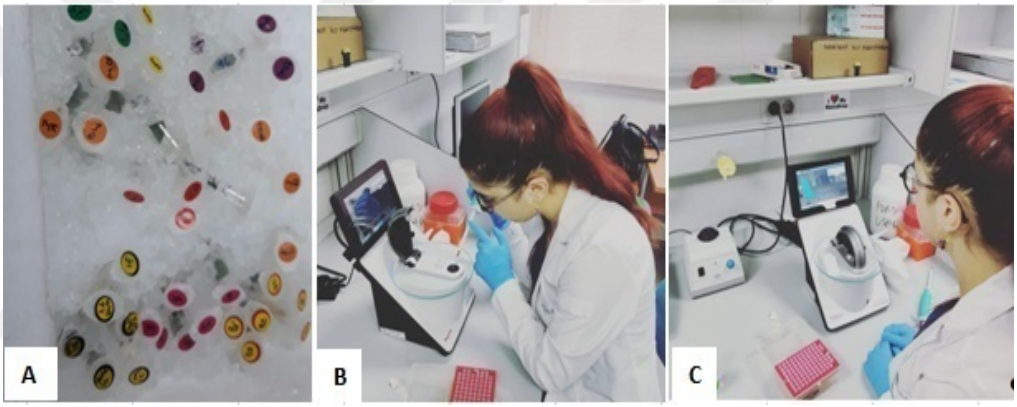
Sınırlı hacimde örnek kullanılarak protein analizinde kullanım kolaylığı olan yenilikçi bir yöntemdir. Bu yöntemde sıvıların yüzey gerilimi özelliğinden faydalanarak 0,5-2 µl kadar düşük hacimli örneklerin analizleri yapılabilmektedir. Bu yöntemde ortalama 1 µl hacimde örnek kullanılarak 15 sn. daha az bir sürede ölçüm yapılmaktadır. NanoDrop spektrofotometre yöntemi numune hazırlama ve kullanım kolaylığı açısından oldukça önemlidir.

İzolasyonu yapılmış DNA'ların kalitesine ve miktarına spektrometre (Thermo/NANODROP ONE) ile ölçüm yapılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirilip konsantrasyonlar 20 ng/µl seyreltilmiştir.

3.3.3. DNA Kalite ve Saflık Belirleme İşlemi Aşamaları

1. Nanodrop açılarak çalışılacak nükleotid (biz bu çalışma için çift sarmal DNA'yı (ADNbc seçtik) seçilir.
2. + 4 °C bekletilen örnekler dolaptan çıkarılır ve buz içerisine konulur.
3. Nanodrobun kolu kaldırılır ve alt kaide üzerine mikro pipet yardımıyla 2 µl deiyonize H_2O bırakılır ve kol indirilip başlata basılır.
4. Kol kaldırılıp üst ve alt kaide temiz bir laboratuar mendili ile silinir.

5. Alt kaide üzerine 2 µl örnek içermeyen TE solüsyon mikro pipet yardımıyla bırakılır ve kol kapatılıp ölçüm yapılır. Kol kaldırılarak alt ve üst kaide temiz bir laboratuar mendili ile silinir.
6. Stok halindeki DNA 50ng/ml deiyonize su ile seyreltilir.
7. Mikro pipet örnek tüpüne daldırılır ve 2 µl örnek pipet içine alınır, alınan bu örnek Nanodropun alt kaidesine hava kabarcığı oluşturulmadan bırakılır ve kol indirilerek ölçüm yapılır. Bu teknikle elde edilen DNA, yüksek kaliteli bozulmamış DNA'yı gösteren sürekli 260/280 absorbans oranı 1,8-2,0 verir. Bu işlem tüm örnekler için yapılır. Her örnekten sonra alt ve üst kaide silinerek temizlenir ve örnek için mikro pipet ucu değiştirilir.



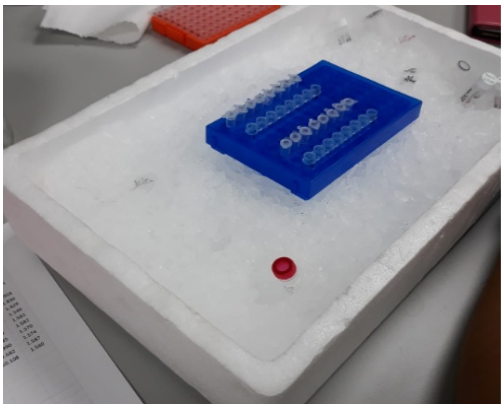
Şekil 3.15. Numunelerin Buz İçerisine Konulması(A), Nanodrop Kaidesine örnek Yükleme (B), Nanodrop ile Okuma yapma (C)

3.3.4. SNP Analizi İçin PCR (Polymerase Chain Reaction) Koşulları

Reaksiyon için kullanılan PCRBIO 5x Reaksiyon Tampon maddesi hazır olarak temin edilmiş olup; 5x reaksiyon tamponu 15 mM $MgCI_2$, 5 mM dNTP, güçlendirici ve dengeleyici içermektedir. Eğer reaksiyonda PCRBIO HİFİ polymerase hazır PCR kiti kullanılıyorsa, tampona başka PCR arttırıcılar veya $MgCI_2$ eklemek için tavsiye edilmez.

-20 C° de muhafaza edilen 5x PCRBIO HiFi Tampon oda sıcaklığına erişmesi için buzdolabından çıkarılır ve vortekslenir. Reaksiyonda kullanılacak stok primerler hazırlanmıştır.

Stok primer (100 µM)'dan 10 µl primer +90 µl dH_2O (Bu işlem hem Forward hem de Reverse primerleri için yapılır).



Şekil 3.16. PCR bileşenleri ve stok primerlerin hazırlanması

Çizelge 3.3. SNP analizi için PCR bileşenleri ve miktarları

PCR reaksiyon bileşenleri	Miktar
5xbuffer	10 µl
Forward primer (10 µM)	2 µl
Reverse primer (10 µM)	2 µl
Template DNA (3 µl)	3 µl
Polmerase (2 µl)	0,5 µl
Distile su	32,5 µl
Toplam	50 µl

PCR işlemi için kullanılan tüpler etiketlendirilir. Her bir tüp için 47 µl PCR ana karışım ve 3 µl DNA eklenir. Bu işlem yapıldığı sırada tüplerin buz içerisinde olması gerekir. Hazırlanan tüpler Eppendorf Mastercycler Gradient PCR cihazı kullanılarak PCR reaksiyonları yapılmıştır.

PCR Döngü Programı

95 °C 1 dakika	ön denaturation
105 °C 20 saniye	DNA'nın çift ipliğinin ayrılması (denaturation)
57 °C 20 saniye	primerlerin bağlanması (annealing)
72 °C 1 dakika	kopya DNA oluşumu (replikation)

72 °C 1 dakika (34 döngü) yeni iplikçiğin yazılımı (extention)

12 °C kapak açılıncaya kadar sabit kalıyor. Toplamda 35 döngü oluşmuştur.

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan SNP primerlerine ait bilgiler

Primer	Primer Dizini (5'-3')	Uzunluk (baz)
BamHI 129200 (Forward)	CACCGCGGATCCGAATGGAAGAGATCATAGCCTCAT	36
XhoI 129200 (Reverse)	GATCCACTCGAGCTAGTTGTACCACCTTTTTATAAT	36



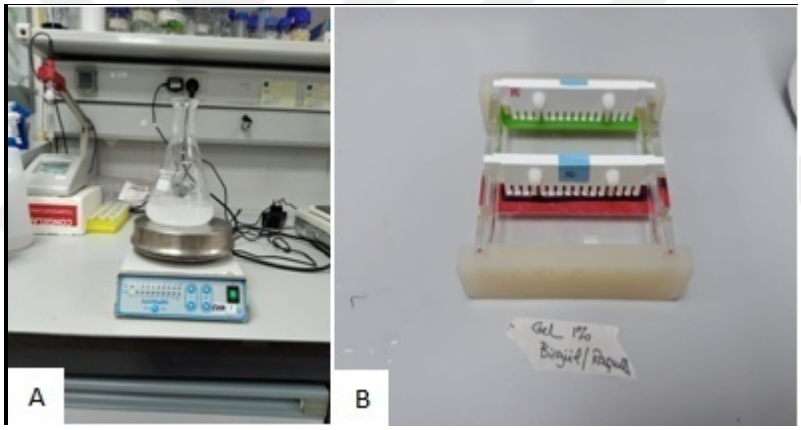
Şekil 3.17. Eppendorf Mastercycler Gradient PCR cihazı

3.3.5. Agaroz Jel Elektroforezi ve Fotoğraflama

PCR'dan elde edilen ürünlerden her örnek için 8 µl DNA ve 2µl jel red (5X) mikro pipet yardımıyla 0,2 ml'lik tüpe konulur. Tüpteki örnekler mikro pipet yardımıyla karıştırıldıktan sonra TAE solüsyon içindeki %1'lik hazırlanmış jel içindeki kuyulara yüklenir. Daha sonra 100-200 volt arasında 30 -60 dakika boyunca yürütülür ve jelin floresan ışık altında UV kullanılarak fotoğrafı çekilir ve bantların değerlendirilmesi yapılır (Bantlarda DNA olup olmadığıyla alakalı olarak).

Agaroz Jel Hazırlığı

%1 lik agaroz jel yapabilmek için 100ml TAE ile 1 g agaroz tartılarak erlenmeyer içine ilave edilerek mikrodalga fırında agaroz bütünüyle çözülüp berrak bir görüntü alıncaya dek kaynatılır. Bu aşamada jelin taşmaması için biraz büyük bir erlen (500ml) erlen kullanılması gerekmektedir. Agaroz tamamen eridikten sonra soğuyana kadar beklenmeli lakin katılaşmamasına dikkat edilmelidir. Tarakların doğru olarak bir şekilde yerleştirildiğinden emin olduktan sonra jel elektroforezi tepsisine üzerinde herhangi bir kabarcık kalmamasına dikkat edilerek dökülmelidir. Agaroz jel bu şekilde 15–30 dk bekletildikten sonra kullanılabilir (Sanchez-Perez, 2019). İlk kuyuya jel red ($C_{60}H_{72}I_2N_8O_5$)ve kuyulardan birine acılık-tatlılık gen durumunu bildiğimiz bir kontrol grubu örnek yüklenmiştir.



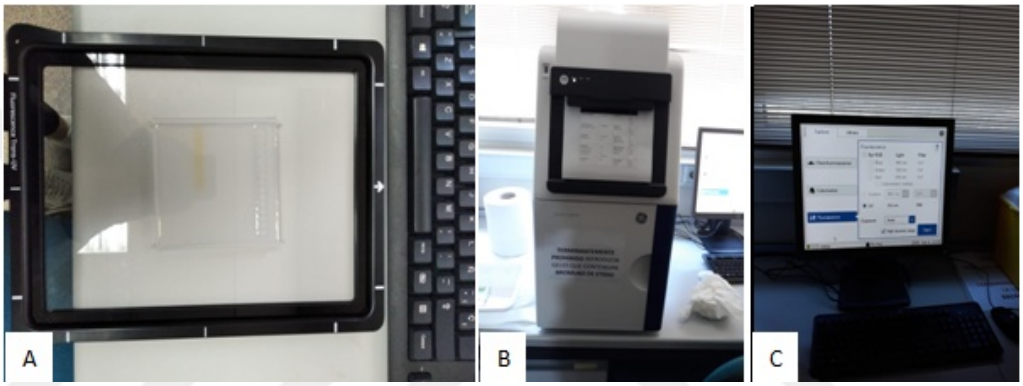
Şekil 3.18. Agaroz jel (A), Agaroz jelin taraklara dökülmesi (B)

Kuyulara örneklerin yüklenmesi işlemine geçildiğinde her örnek için 0,2 ml'lik tüp etiketlenmiştir. Etiketlenmiş her bir tüpe 8 µl DNA (PCR'dan çıkmış olan) ve boyanmayı görebilmek için 2µl jel red (5X) konulmuştur. Tüplerdeki örnekler mikro pipet yardımıyla karıştırıldıktan sonra 10 µl'ye ayarlanmış mikro pipet yardımıyla jeldeki kuyulara örnekler yüklenmiştir. Örneklerin yüklenmesi bittikten sonra jel tepsisine jelin üzerine gelecek kadar TAE solüsyondan dökülmüştür.

TAE solüsyon dökülen jel tepsisi 100-200 volt arasında 30-60 dakika boyunca yürütülür ve jelin floresan ışık altında fotoğrafı çekilerek bantların değerlendirilmesi yapılmıştır. (bantlarda DNA olup olmadığıyla alakalı olarak).



Şekil 3.19. Jel tepsisine TAE solüsyon eklenmesi(A), Jel tepsisine elektrik verilmesi(B), Elektroforezden sonra jelin görünüşü(C)



Şekil 3.20. Elektroforez işleminden sonra jelin konulduğu tepsi(A), Fotoğraflamanın yapıldığı makine(B), Fotoğraflama opsiyonunun seçildiği program(C)

3.4. SNP Analizi

DNA izolasyonu ile elde edilen 8 yerli badem çeşidine ait DNA örnekleri SNP analizi için 20µl PCR'dan elde edilen ürün mikropipet kullanılarak 2ml'lik eppendorf tüpe konulmuş ve İspanya'da bulunan CEBAS-CSİC Enstitüsü biyoteknoloji laboratuvarında 3500 Genetic Analyzer,Applied Biosystems makinesi kullanılarak analiz ettirilmiştir.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1.Fenolojik Gözlemler

Çalışmada elde edilen fenolojik gözlemlerle ilgili veriler Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.Yerli badem çeşitlerine ait fenolojik gözlemler

ÇEŞİT	ÇİÇEKLENME BAŞLANGICI	TAM ÇİÇEKLENME	ÇİÇEKLENME SONU	KÜÇÜK MEYVE DÖNEMİ
Hacı Alibey (48-5)	07.03.2019	10.03.2019	13.03.2019	19.03.2019
Akbadem (48-2)	08.03.2019	11.03.2019	14.03.2019	20.03.2019
48-1	09.03.2019	12.03.2019	15.03.2019	20.03.2019
Nurlu	09.03.2019	12.03.2019	15.03.2019	22.03.2019
17-4	10.03.2019	13.03.2019	16.03.2019	21.03.2019
Dokuzoğuz-2 (120-1)	10.03.2019	13.03.2019	16.03.2019	20.03.2019
Gülcan-2 (101-13)	17.03.2019	20.03.2019	23.03.2019	30.03.2019
Gülcan-1 (101-23)	çiçek yok			

Hacı Alibey (48-5) çeşidinin çiçeklenme başlangıcı Mart ayının ilk haftası olarak görülürken, Akbadem(48-2), 48-1, Nurlu, 17-4, Dokuzoğuz-2(120-1), çeşitlerinin çiçeklenme başlangıcı Mart ayının ikinci haftasıdır. Geççi bir çeşit olan Gülcan-2(101-13) çeşidi ise Mart ayının üçüncü haftasında çiçeklenme başlangıcı evresindedir. Gülcan-1(101-23) çeşidinde ise gözlem alınabilecek çiçek bulunamamıştır. Kaşka ve ark. (1994), Şanlıurfa'da yerli (48-1, 48-2, 48-5, Gülcan I, 101-9, 101-13) ve yabancı (Drake, Nonpareil ve Teksas) badem çeşitleri üzerinde yürüttükleri çalışmada, badem çeşitleri arasında gelişme ve çiçeklenme bakımından farklılıklar olduğunu bildirmiştir. Çeşitlerin çiçeklenme tarihlerinin yıllara göre farklılıklar gösterdiğini gözlemleyen araştırıcılar 1992 yılında ilk çiçeklenme tarihlerinin 7 Mart (Hacı Alibey(48-5)) ile 28 Mart (Gülcan-1(101-23)), tam çiçeklenme tarihlerini ise 10 Mart (Hacı Alibey (48-5)) ile 31 Mart (Gülcan I (101-23)) tarihleri arasında gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. Kuzdere (1999) Şanlıurfa koşullarında 1998 yılındaki gözlemlerinde en erken çiçek açan Hacı Alibey(48-5)

çeşidinde 7 Mart tarihinde görüldüğünü bildirmiştir. Bu çalışmada kullandığımız çeşitler için tespit ettiğimiz ilk çiçeklenme ve tam çiçeklenme tarihleri (Çizelge 4.1.) Kaşka ve ark. (1994) ve Kuzdere (1999) sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Ak ve ark. 2005 yılında Şanlıurfa Ceylanpınar Tarım İşletmesi'nde yerli ve yabancı olmak üzere toplam 25 badem çeşidini çiçeklenme zamanlarına göre karşılaştırmıştır. Yapılan bu çalışmada tam çiçeklenmenin en erken Mart ayı başında 48-5 ve D. Largueta çeşitlerinde olduğunu kaydetmişlerdir. Çizelge 4.1'de tam çiçeklenme dönemleri Ak ve ark. (2005) ile paralellik göstermektedir.

4.2.Yaprak Analizleri

Araştırmada kullanılan badem çeşitlerinde bazı yaprak özellikleri incelenmiştir. Bunlar; yaprak uzunluğu (cm), yaprak sap(pedicel) uzunluğu (cm), yaprak genişliği(cm), yaprak alanı, yaprak genişlik/yaprak uzunluk oranı, yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı, yaprak nisbi nem içeriği vb. özellikler incelenmiştir.

4.2.1. Yaprak Uzunluk, Yaprak Genişlik ve Yaprak Sapı Uzunluğu

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan 8 farklı yerli badem çeşitlerinin yaprak özelliklerine ait bulgular Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2' de de görüleceği üzere yaprak uzunluğu, yaprak genişliği ve yaprak sapı (pedicel) bakımından çeşitler karşılaştırıldığında değerler istatistiki açıdan önem teşkil etmektedir ve yaprak uzunluğunda en yüksek değer(9,65 cm) Gülcan-1(101-23) de tespit edilirken en düşük değer (6,71cm) Nurlu çeşidinde olduğu saptanmıştır. Yaprak genişliği parametresinde ise en yüksek değer (3,54 cm) Dokuzoğuz-2(120-1) çeşidinde tespit edilirken en düşük değer (2,06 cm) Nurlu çeşidinde olduğu saptanmıştır. Yaprak sapı (pedicel) uzunluğu parametresine bakıldığında ise en yüksek değer (2,76 cm) Dokuzoğuz-2(120-1) çeşidinde, en düşük değer ise (1,05 cm) 17-4 çeşidinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.2. Badem yaprak uzunluk, genişlik ve yaprak sap uzunluğu (cm)

ÇEŞİT	YAPRAK UZUNLUK	YAPRAK GENİŞLİK	YAPRAK SAP UZUNLUĞU
48-1	8,11 bc	2,72 b	2,26 bc
AK BADEM(48-2)	8,26 b	2,80 b	2,69 a
GÜLCAN-1(101-23)	9,65 a	3,32 a	2,07 cd
GÜLCAN-2(101-13)	7,51 c	2,73 b	2,18 c
NURLU	6,71 d	2,06 c	2,11 cd
HACI ALİBEY(48-5)	7,74 bc	2,59 b	1,86 d
17-4	8,99 a	2,59 b	1,05 e
DOKUZOĞUZ-2(120-1)	9,36 a	3,54 a	2,76 a
ORT.	8,29	2,79	2,12
LSD(%5)	0,674	0,234	0,327

4.2.2. Yaprak Genişlik/ Yaprak Uzunluk Oranı

Çizelge 4.3'den de görüleceği üzere yaprak genişlik/yaprak uzunluk oranı bakımından çeşitler karşılaştırıldığında ortalamalar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Yaprak genişlik/yaprak uzunluk oranının en yüksek değer (0,38) Dokuzoğuz-2(120-1) çeşidinde iken en düşük değer (0,29) 17-4 çeşidinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. Badem yaprak genişlik/yaprak uzunluk oranı

ÇEŞİT	Yaprak genişlik/ Yaprak uzunluk oranı
48-1	0,34 b
AK BADEM(48-2)	0,34 b
GÜLCAN-1(101-23)	0,34 b
GÜLCAN-2(101-13)	0,36 a
NURLU	0,31bc
HACI ALİBEY(48-5)	0,33 b
17-4	0,29 c
DOKUZOĞUZ-2(120-1)	0,38 a
ORT.	0,33
LSD(%5)	0,027

4.2.3. Yaprak Alanı

Çizelge 4.4'den de görüleceği üzere yaprak alanı bakımından çeşitlere ait ortalama değerler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Yaprak alanında en yüksek değer (22,056 cm²) Dokuzoğuz-2(120-1) çeşidinde, en düşük değer (10,8986 cm²) ise Nurlu çeşidinde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. Badem yaprak alanı (cm²)

ÇEŞİT	Yaprak Alanı
48-1	15,247 b
AK BADEM(48-2)	14,906 b
GÜLCAN-1(101-23)	21,939 a
GÜLCAN-2(101-13)	15,242 b
NURLU	10,899 c
HACI ALİBEY(48-5)	14,760 b
17-4	16,218 b
DOKUZOĞUZ-2(120-1)	22,029 a
ORT.	16,405
LSD(%5)	2,043

4.2.4. Yaprak Ağırlıkları

Çizelge 4.5'den de görüleceği üzere yaprak yaş ağırlığı, turgor halindeki yaprak ağırlığı ve yaprak kuru ağırlığı bakımından çeşitler karşılaştırıldığında değerler istatistiki açıdan önem teşkil etmektedir. Yaprak yaş ağırlığında en yüksek değer(3,24 g) Gülcan-1(101-23) çeşidinde, en düşük değer (1,22 g) Gülcan-2(101-13) çeşidinde tespit edilmiştir. Turgor halindeki yaprak ağırlığının en yüksek değer(3,67 g) Gülcan-1(101-23) çeşidinde, en düşük değer(1,44 g) Gülcan-2(101-13) çeşidinde tespit edilmiştir. Yaprak kuru ağırlığının en yüksek değer(1,30 g) Gülcan-1(101-23) çeşidinde, en düşük değer (0,48 g) ise Gülcan-2(101-13) çeşidinde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. Badem yaprak Ağırlıkları (g)

ÇEŞİT	YAPRAK YAŞ AĞIRLIĞI	TURGOR HALİNDEKİ YAPRAK AĞIRLIĞI	YAPRAK KURU AĞIRLIĞI
48-1	1,98 b	2,21 bc	0,71 bc
AK BADEM(48-2)	1,67 bcd	1,92 cd	0,66 cd
GÜLCAN-1(101-23)	3,24 a	3,67 a	1,30 a
GÜLCAN-2(101-13)	1,22 e	1,44 e	0,48 e
NURLU	1,48 cde	1,69 de	0,55 de
HACI ALİBEY(48-5)	1,38 de	1,58 e	0,51 e
17.Nis	1,80 bc	2,07 c	0,67 cd
DOKUZOĞUZ-2(120-1)	2,01 b	2,45 b	0,82 b
ORT.	1,85	2,13	0,71
LSD(%5)	0,384	0,323	0,112

4.2.5. Yaprak Nisbi Su İçeriği

Çizelge 4.6'dan da görüleceği gibi yaprak nisbi su içeriği bakımından çeşitler karşılaştırıldığında değerler istatistiki açıdan önem teşkil etmemektedir. Yaprak nisbi su içeriğinin en yüksek değer (%85) 48-1 çeşidinde, en düşük değer (%73) ise Dokuzoğuz-2(120-1) çeşidinde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. Yaprak Nisbi su içeriği (%)

ÇEŞİT	YAPRAK NİSBİ SU İÇERİĞİ
48-1	85 a
AKBADEM (48-2)	80 a
GÜLCAN-1 (101-23)	82 a
GÜLCAN-2 (101-13)	77 a
NURLU	82 a
HACI ALİBEY (48-5)	81 a
17-4	81 a
DOKUZOĞUZ-2 (120-1)	73 a
ORT.	80,13
LSD(%5)	35,211 (Ö.D)

4.3. Acılık-Tatlılık Genlerinin SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) İle Analizi

4.3.1. DNA Kalite ve Saflığının Spektrofotometre ile Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan yerli çeşitlerin DNA izolasyonları metot bölümünde belirtildiği gibi yapılmıştır. İzolasyon işlemi sonrası gözlemlenen DNA kalitesi, saflık, nükleik asit ve absorbisyon miktarlarına ait değerler Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Çizelge 4.7. İzole edilen DNA'lara ait spektrofotometre verileri

NO	ÇEŞİT	DNA miktarı (ng DNA)	DNA saflığı a260/a280	nükleik asit	absorbisyon
1	**48-1**	464.319	1.891	30.059	0,279
2	**Akbadem (48-2)**	337.427	1.701	33.405	0,312
3	**Gülcan-1 (101-23)**	116.218	1.429	31.210	0,163
4	**Gülcan-2 (101-13)**	263.091	1.836	44.727	0,396
5	**NURLU**	359.892	1.626	66.107	0,209
6	**Hacı Alibey (48-5)**	280.660	1.556	27.001	0,152
7	**17-4**	540.470	1.651	34.113	0,23
8	**Dokuzoğuz-2 (120-1)**	613.757	1.958	26.771	0,315

Çizelge 4.7'den de görüleceği gibi elde edilen veriler içerisinde en yüksek DNA konsantrasyonuna (613.757 ng DNA/µl) sahip çeşit Dokuzoğuz-2 (120-1) iken, en düşük DNA konsantrasyonu (116.218 ng DNA/µl) ise Gülcan-1 (101-23)'de tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan 8 adet yerli badem çeşidine ait saflık değerleri ise 1.4-1.9 arasında değişim göstermektedir (Çizelge 4.7.). En yüksek saflık değeri 1.958 ile Dokuzoğuz-2 (120-1) çeşidinde, en düşük değer ise 1.429 ile Gülcan-1 (101-23) çeşidinde tespit edilmiştir. Kaliteli DNA'nın saflık değerinin 1.8-2.0 olması gerektiği bilinmektedir (Sanchez-Perez, 2019). Saflık değerlerindeki beklenmeyen düşüşün en büyük nedeni olarak örneklerin CEBAS-CSİC Enstitüsüne uygun transfer koşullarında iletilememiş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca örneklerin muhafaza edildiği pakette hava sıcaklığından kaynaklı kontaminasyon

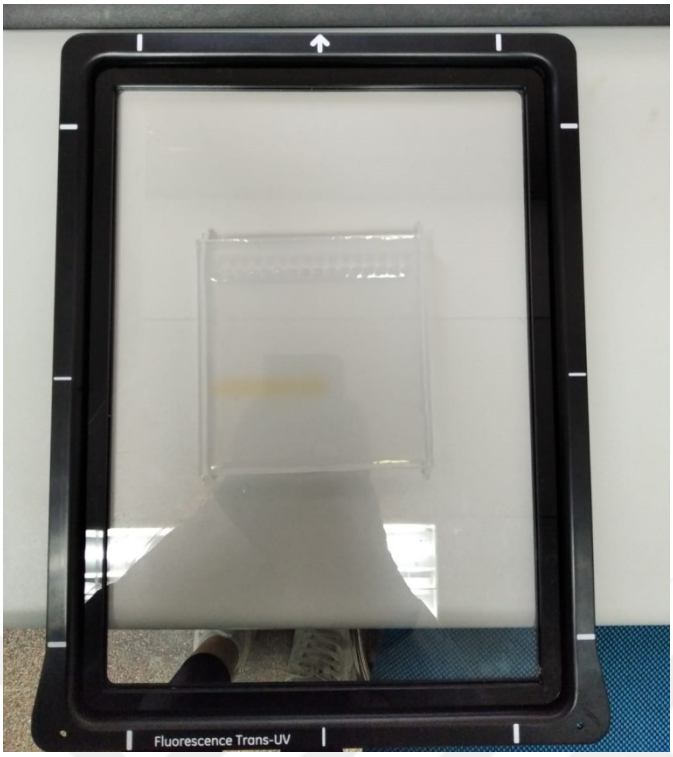
oluşma ihtimalinin yüksek olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte DNA kalitesi düşük olan örneklerin bantlarında herhangi bir sorun olmadığı için tekrar izolasyona gerek duyulmamıştır.

Çizelge 4.7 den anlaşılacağı gibi çeşitlerin DNA izolasyonunda elde edilen DNA parçalarındaki baz miktarında en yüksek değerin 66.107 ile Nurlu çeşidinde, en düşük değerin ise 26.771 ile Dokuzoğuz-2 (120-1) çeşidinde olduğu saptanmıştır.

Absorbisyon miktarında en yüksek değer 0,369 ile Gülcan-2 (101-13) çeşidinde, en düşük değer ise 0,152 ile Hacı Alibey (48-5) çeşidinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.7.).

4.3.2. Agaroz Jel Elektroforezi ve Fotoğraflama

Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri koleksiyon parselinden seçilmiş sekiz adet erli badem çeşidinin DNA izolasyonları yapıldı. Analiz için 36 baz uzunluğunda 2 adet primerle gerçekleştirilen PCR işlemi sonucunda elde edilen ürünleri değerlendirilme tabi tutuldu. Hepsinin güvenilir ve tekrarlanılabilir PCR ürünleri içerdiği tespit edildi. PCR'dan elde edilen ürünler %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve elde edilen sonuçlar floresan ışık altında 312 nm UV ile fotoğraflanmıştır.



Şekil 4.1.SNP-PCR elektroforez jel görüntüsü

4.3.3. SNP Analizi

Şekil 4.2 de 8 adet yerli badem çeşidinin SNP analizi ile acılık ve tatlılık durumları belirlenmiştir. Analiz sonucunda badem de DNA üzerinde acılık-tatlılığı gösteren bölge farklılık olarak belirtilmiştir. Farklılığın olduğu bölgedeki dalgalanmanın rengi ile DNA baz çeşitleri eşleştirilmiştir.

Bazlara göre renk dağılımı ve allel dağılımı şu şekildedir; timin baz rengi kırmızı ve Sk (tatlı) allelini, sitozin baz rengi mavi ve sk (acı) allelini ve şekil üzerinde karışıklık olarak gösterilen N noktası (timin-sitozin) ise Sk/sk (heterozigot tatlı) allellerini göstermektedir (Sanchez-Perez,2019).



Şekil 4.2.SNP dizi analizi

Şekil 4.2 ‘den de anlaşılacağı üzere Nurlu, Hacı Alibey(48-5), 48-1, Akbadem, 17-4 ve Gülcan-2(101-13) yerli çeşitlerin acılık-tatlılık durumunu gösteren dizide bulunan DNA bazının Timin olduğu tespit edilmiştir. Dizi üzerindeki tat durumunu gösteren Timin bazının da Sk/Sk (homozigot-tatlı) allelini ifade ettiği saptanmıştır. Bununla beraber Dokuzoğuz-2 (120-1) ve Gülcan-1(101-23) çeşitlerinin acılık-tatlılık durumunu gösteren dizide bulunan DNA bazının N (Timin-Sitozin) olduğu tespit edilmiş ve Timin-Sitozin bazlarının birlikte bulunduğu dizinin de Sk/sk (heterozigot-tatlı) allellerini ifade ettiği saptanmıştır.

Sanchez-Perez ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışma da R1000 ve D.Largueta melezlerini kullanarak bademde acılığa sebep olan markörleri belirlemişlerdir. Sk/Sk allelini homozigot tatlı, Sk/sk allelinin ise heterozigot tatlı olduğunu bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz allel sonuçlarıyla araştırmacıların sonuçları paralellik göstermektedir.

Açar ve ark. (2018), badem yetiştiriciliğini geliştirmek için melezleme ile kendine uyumlu ve geç çiçek açan badem Guara, Lauranne, ve Moncayo çeşitleriyle yerli çeşitlerden Gülcan-1, Akbadem ve Gülcan-2 çeşitleri çaprazlanmıştır. Kendine uyumlu allel (Sf) içeren Nurlu ve F1 bitkileri PCR yöntemi kullanılarak belirlenmiş. Elde edilen veriler ile bölgedeki badem yetiştiriciliğine sağlanan katkı hem zaman hem iş gücü kaybını önlemek için benzerlik göstermektedir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

İlkbahar geç donlarından hava sıcaklığının -2.5 ^{0}C ile - 3 ^{0}C'nin altına düşmesiyle etkilenen badem çiçekleri ciddi şekilde zarar görmektedirler (Grassely, 1994). Bundan dolayı badem yetiştiriciliğinde en büyük sınırlayıcı etkenin çiçeklenme zamanı olduğu ve ıslah programlarında bu sebepten dolayı geç çiçeklenen çeşitler elde etmenin ve böylelikle bu zararın en aza indirilmesi hedef alınmıştır (Dokuzoğuz ve ark., 1968; Dicenta ve ark., 1993; Aslantaş ve Güleryüz, 1995; Wesley ve ark., 1996).

2019 yılında yürütülen bu çalışmada incelenen 8 adet yerli çeşide ait çiçeklenme dönemleri kaydedilmiştir. Bu çeşitlerde 2019 verilerine bakılarak çiçeklenme başlangıcının en erken 7 Mart tarihinde Hacı Alibey(48-5) çeşidinde görüldüğü ve en geç 17 Mart tarihinde Gülcan-2 (101-13) çeşidinde görüldüğü tespit edilmiştir.

Yapılan yaprak analiz sonuçlarına bakıldığında yaprak uzunluğunda en yüksek değer 9,65 cm ile Gülcan-1(101-23) çeşidinde, en düşük değer 6,71cm ile Nurlu çeşidinde tespit edilmiştir. Yaprak genişliğinde en yüksek değer (3,54 cm) Dokuzoğuz-2(120-1) çeşidinde, en düşük değer (2,06 cm) Nurlu çeşidinde tespit edilmiştir. Yaprak sapı(pedicel) uzunluğunda en yüksek değer 2,76 cm ile Dokuzoğuz-2(120-1); en düşük değer 1,05 cm ile 17-4çeşidinde tespit edilmiştir.

Yaprak genişlik ve uzunluk oranına bakıldığında en yüksek değer 0,38 ile Dokuzoğuz-2(120-1) çeşidinde en düşük değer ise 0,29 ile 17-4 çeşidinde tespit edilmiştir.

Yaprak alanına bakıldığında en yüksek değer Dokuzoğuz-2(120-1) (22,056 cm²) çeşidinde, en düşük değer ise Nurlu (10,8986 cm²) çeşidinde tespit edilmiştir.

Yaprak ağırlıklarına bakıldığında yaprak yaş ağırlığında en yüksek değer 3,24 g ile Gülcan-1(101-23) çeşidinde, en düşük değer ise 1,22 g ile Gülcan-2(101-13) çeşidinde tespit edilmiştir. Turgor halindeki yaprak ağırlığına bakıldığında en yüksek değer (3,67 g) Gülcan-1(101-23) çeşidinde, en düşük değer (1,44 g) Gülcan-2(101-13) çeşidinde tespit edilmiştir. Yaprak kuru ağırlığına bakıldığında en yüksek değer (1,30 g) Gülcan-1(101-23) çeşidinde, en düşük değer (0,48 g) Gülcan-2(101-13) çeşidinde tespit edilmiştir.

Yaprak nisbi su içeriğine bakıldığında en yüksek değer %85 ile 48-1 çeşidinde, en düşük değer ise %73 ile Dokuzoğuz-2(120-1) çeşidinde tespit edilmiştir.

DNA konsantrasyonlarına bakıldığında en yüksek değer 540.470 ng DNA/µl ile Dokuzoğuz-2 (120-1) çeşidinde, en düşük değer ise 116.218 ng DNA/µl ile Gülcan-1 (101-23) çeşidinde tespit edilmiştir.

DNA saflığına bakıldığında en yüksek değerin 1.958 ile Dokuzoğuz-2(120-1) çeşidinde, en düşük değerin ise 1.429 ile Gülcan-1(101-23) çeşidinde tespit edilmiştir.

Nükleik asit miktarına bakıldığında en yüksek değer (66.107) Nurlu; en düşük değer (26.771) Dokuzoğuz-2 (120-1) çeşidinde tespit edilmiştir.

Absorbisyon miktarına bakıldığında en yüksek değer 0,396 ile Gülcan-2(101-13) çeşidinde, en düşük değer ise 0,152 ile Hacı Alibey(48-5) çeşidinde tespit edilmiştir.

Yerli badem çeşitlerimizden olan Nurlu, Hacı Alibey(48-5), 48-1, Akbadem, 17-4, Gülcan-2(101-13), Dokuzoğuz-2 (120-1) ve Gülcan-1(101-23) çeşitlerimizin fenotip olarak tadıldığında 8 yerli çeşidin tatlı olduğuna kanaat getirilmiştir. Fakat bunları genotip olarak incelediğimizde Nurlu, Hacı Alibey(48-5), 48-1, Akbadem,

17-4 ve Gülcan-2(101-13) çeşitlerinin homozigot baskın tatlı, Dokuzoğuz-2 (120-1) ve Gülcan-1(101-23) çeşitleri ise heterozigot baskın tatlı olduğu anlaşılmıştır.

5.2. Öneriler

Badem Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetiştiriciliği antepfıstığının yanı sıra önemli bir meyve türüdür. Bölgenin özellikle Şanlıurfa'da yaz sıcaklıklarının yüksek olması meyvelerin olgunlaşması, hasat döneminde meyve kabuğunun kolayca kavlaması hem hasadı kolaylaştırmaktadır hem de meyvelerin iyi bir şekilde kurumasını sağlamaktadır. Bu nedenle badem üretiminin yaygınlaştığı görülmektedir.

Bölge açısından karşılaşılabilecek en önemli sorunlardan birisi ilkbahar geç donlarıdır. Bu sorun geç çiçeklenen badem çeşitleriyle bahçe tesisi yaparak çözümlenebilecektir. Bölge açısından çeşit veya çeşitlerin seçimi, tozlanma-döllenme biyolojileri de dikkate alınarak bahçeler tesis edilmelidir. Bu çalışmamızda kullanılan erli çeşitlerin adaptasyonunda bir sorun olmamıştır.

Bu araştırmada bilimsel açıdan seçilecek çeşitlerin genetik yapısında homozigot ve heterozigot yapının önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Badem çeşitlerinde tatlı badem ıslahı konusunda çalışılacak ise ıslahçı araştırıcılar veya üreticilere bu çalışmada kullanılan yerli çeşitlerden Nurlu, Hacı Alibey(48-5), 48-1, Akbadem, 17-4 ve Gülcan-2(101-13) çeşitlerinin kullanılması önerilmelidir. Çünkü yerli ve heterozigot baskın tatlı çeşit olan Dokuzoğuz-2 (120-1) ve Gülcan-1(101-23) çeşitleri ıslah konusunda kullanıldığı zaman oluşacak olan bireylerin bir kısmı baskın bir kısmı ise çekinik olacağı için tatlı badem ıslah çalışmalarında bu 2 çeşidin kullanılmaması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

ABDERAHMANE, E., 1990. Present Status of Nut Crops in Morocco. Nut Production and Industry in Europe, Near East and North Africa, Reur Technical Series 13:219-241.

AÇAR, İ., ARPACI, S., ATLI, H. S., KAFKAS, S., ETİ, S., ÇAĞLAR, S. ve YILMAZ, A., 2012. Melezleme Yoluyla Kendine Verimli ve Geç Çiçeklenen Badem Islahı. TÜBİTAK 108O388 nolu proje Sonuç Raporu. Gaziantep.

ACAR, I., KAFKAS, S. ve AK, B. E., 2018. Breeding of Self-Compatible and Late Flowering Cultivars in Almond. International Journal of Agriculturaland Natural Sciences, 1(3): 181-184.

AK, B. E., KUZDERE, H. ve KASKA, N., 2005. An Investigation on Phenological and Pomological Traits of Some Almond Cultivars Grown at Ceylanpınar State Farm in Turkey. Proceedings of the XII. GREMPA Meeting on Pistachios and Almonds. 63: 43–48.

AK, B.E. ve PARLAKCI, H., 2018. Fruit Set, Yield And Some Quality Traits Of Different Foreign Almond Cultivars Grown Sanliurfa Province. Proceedings of IX. International Agricultural Symposium 'AGROSYM 2018'.(ISBN 978-99976-718-8-2, COBISS. RS-ID 7815448): 759-763.

AKKAYA, M. S., BHAGWAT, A. A. ve CREGAN, P. B., 1992. Length Polymorphism of Simple Sequence Repeat DNA in Soybean. Genetics, 132, 1131-1139.

AL-ATTAR, F., 1990. Nut Production in Syria. Nut Production and Industry in Europe, Near East and North Africa. Rear Technical series 13:281-287.

ASLAN, R., 2015. Bazı Yabancı Kökenli Badem Çeşitlerinin Şanlıurfa Koşullarında Fenolojik ve Pomolojik özellikleri. Yüksek Lisans tezi, Ordu Üniversitesi, Ordu, 56p.

ASLANTAŞ, R., 1993. Erzincan'ın Kemaliye İlçesinde Doğal Olarak Yetişen Bademlerin (Amygdalus communis L.) Seleksiyon Yoluyla Islahı Üzerinde Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi (Basılmamış), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Erzurum.

ASLANTAŞ, R. ve GÜLERYÜZ, M., 1995. Erzincan'ın Kemaliye İlçesinde Doğal Olarak Yetişen Bademlerin (Amygdalus communis L.) Seleksiyon Yoluyla Islahı Üzerinde Bir Araştırma. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt I:375-379, Adana.

AYDOĞAN-ÇİFÇİ, E., 2010. Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Buğday Çeşitlerinde Genetik Farklılıkların Rapd-Pcr Yöntemi İle Belirlenmesi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 118 s. Bursa

AYFER, M., 1990. Nut Production in Turkey. Nut Production and Industry in Europe, Near East and North Africa. Rear Technical series 13:317-325

BACKELJAU, T., DE BRUYN, L., DE WOLF, H., JORDAENS, K., VAN DONGEN, S. ve VERHAGEN, R., 1995. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Parsimony. Cladistic, 11, 119-130.

BALTA, M.F., 2002. Elazığ Merkez ve Ağın İlçesi Bademlerinin (Prunus amygdalus L.) Seleksiyon Yoluyla Islahı Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Van.

CANTOR, D., FLEĠSCHER, J., GREEN, J. ve ISRAEL, DL., 2006. The Fruit of the Matter. Mental Floss, 5(4):12.

CHAWLA, H. S. (ed), 2002. Introduction to Plant Biotechnology. s. 330-358. Science Publisher Inc, Second edition, USA.

CORDEİRO, V., OLIVEIRA, M., VENTURA, J. ve MONTEIRO, A. 2001. Study of Some Physical Characters and Nutritive Composition of the Portuguese's (local) Almond Varieties. In: AK., B.E. (ed.), XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds, 56, 333-337, Zaragoza, Spain.

DUVAL, H. ve GRASSELY, C., 1997. Behaviour of Some Self-Fertile Almond Selections in the South-East of France. Acta Hortic. 373, 69-74

DICENTA, F., GARCIA, J. E. ve CARBONELL, E.A., 1993. Heritability of Fruit Characters in Almond. J. Hort. Sci. 68: 121-126

DICENTA, F., BERENGUER, V., GRANE, N., MARTIN, M, L. ve MARTINEZ-GOMEZ, P., 1999. Relationship Between Cyanogenic Compounds in Seeds, Leaves and Roots of Sweet and Bitter Kernelled Almonds. XI. Grempa Meeting on Pistacios and Almonds, Univ. of Harran, Faculty of Agric. Pistacio Research and Application Center 1-4 September 1999, Ş.Urfa (Turkey), 95.

DICENTA, F.,ORTEGA, E., MARTINEZ-GOMEZ, P., SANCHEZ-PEREZ, R., GAMBIN, M. ve EGEA, J., 2010. Pentaand Tardona: Two New Extra-Late Flowerıng Self-Compatıble Almond Cultıvars.Acta Horticulturae 814: 189-192.

DOKUZOĞUZ, M. ve GÜLCAN, R. ve ATİLA, A., 1968. Ege Bölgesi Bademlerinin Seleksiyon Yoluyla Islahı Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:148, 39s, İzmir.

DOKUZOĞUZ, M. ve GÜLCAN, R., 1973. Ege Bölgesi Bademlerinin Seleksiyon Yoluyla Islahı ve Seçilmiş Tiplerin Adaptasyonu Üzerinde Araştırmalar. TUBİTAK, Toag yayınları No:22, 28s, Ankara.

DOKUZOĞUZ, M. ve GÜLCAN, R., 1979. Badem Yetiştiriciliği ve Sorunları, Yayın No: 432, TOAG Seri No: 90, Ankara, s.80

DOYLE, J. J. ve DOYLE, J. L., 1987. A Rapid DNA İsolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. Pyhtochemical Bulletin 19(1): 11-15

ERİŞ, A. ve H. GÜLEN. 2004. Moleküler Biyoloji (Temel Bilgiler). Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları No:98.

FAO, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations Official Website. Grape production. http://www.fao.org/faostat/en/#data (Erişim tarihi: 09.07.2020).

FAROOG, S. ve AZAM, F., 2002. Molecular Markers in Plant Breeding-I: Concepts and Characterization. Pak. J. Biol. Sci., 5(10), 1135-1140.

FELIPE, A. ve SOCİAS I COMPANY, R., 1987. Ayles, Guara and Moncayo Almonds, HortScience 22(5):961-962.

GUPTA, P. K., CHYI, Y. S., ROMERO-SEVERSON, J. ve OWEN, J. L., 1994. Amplification of DNA Markers from Evolutionarily Diverse Genomes Using Single Primers of Simple Sequence Repeats. Theor.. Appl. Genet., 89, 998-1006.

GÜLSOY, E., 2012. Aydın'ın Yenipazar, Bozdoğan ve Karacasu İlçelerinde Doğal Olarak Yetişen Bademlerin (P. amygdalus L.) Seleksiyonu. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Van.

GRASSELLY, C., 1990. Almond Production in France. Nut Production and Industry in Europe, Near East and North Africa. Reur Tech. Series 13: 169-172.

GRASSELY, C., 1994. Almod Breeding in Different Countries. Nucis 2: 2-3.

JANICK, J. ve MOORE, J.N., 1996. Fruit Breeding Nuts (Vol. 3.). John Wiley&Sons. USA.

KAÇAR, Y.A., PNCALDİ, M., KÜDEN, A.B. ve SANSAVİNİİ S., 2003. Badem (Prunus dulcis Miller) Çeşit ve Melez Bireylerinde DNA Parmakizi ve Pedigree Analizleri. XIII. Biyoteknoloji Kongresi, Bildiriler Kitabı, Çanakkale. s:105-110.

KARCICIO, M., 2006. Yerel Durum Buğdayı Çeşitlerinde (Triticum durum Desf.) RAPD-PCR Tekniği ile Genetik Çeşitlilik Analizi Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. 80s.

KASKA, N., KUDEN, A. ve KUDEN, A. B., 1994. Almond Production in Southeast Anatolia. Acta Hortic. 373, 253-258.

KASKA, N., KUDEN, A.B. ve KUDEN, A., 1998. Performances of Some Local and Foreign Almond Cultivars in South East Anatolia. Advanced Course. Production and Economics of Nut Corps. 18-29 May 1998, 1-5s, Adana.

KAŞKA, N., AK, B. E. ve AÇAR, İ., 1999. Dünyada ve GAP Bölgesi'nde Badem Üretimi, Yetiştiriciliği ve Geleceği. GAP 1. Tarım Kongresi, 26-28 Mayıs 1999, Şanlıurfa, 9-18.

KAYA, C., AK, B. E. ve HIGGS, D., 2003. Response Of Salt-Stressed Strawberry Plants To Supplementary Calcium Nitrate And/Or Potassium Nitrate. JOURNAL OF PLANT NUTRITION. Vol. 26, No. 3, s. 543–560.

KESTER, D.E. ve ASSAY, R., 1975. Almonds. (Eds. JANİCK, J., MOORE, J.N.).Advances in Fruit Breeding Purdue University Press; Westlafayette, s. 387-419, İndiana.

KESTER, D.E., GRADZIEL, T.M. ve GRASELLY, C., 1990. Almonds in Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops 2. Chapter 15. s. 699-758. (ed.J. N. Moore. J. R. Ballington) ISHS Wageningen. The Netherlands.

KESTER, D. E., GRADZIEL, M. ve GRASELLY, C., 1991. Almonds (Prunus). Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops-2. Inter. Society for Horticul. Sci., Wageningen, 698-758.

KIRNAK, H.,ve DEMİRTAŞ, M. N., 2001. Su Stresi Altındaki Kiraz Fidanlarında Fizyolojik ve Morfolojik Değişimlerin Belirlenmesi, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 33 (3), 265-270.

KOCHERT, G., 1997. Restriction Fragment Length Polymorphism in Plants and Its Implications. Subcellular Biochem., 17, 167-190.

KOTOBUKI, K., 1996. Cultivation and Evaluation of Fruit Tree PGR. Technical Assistance Activities For Genetic Resource Projects. Japan International Cooperation Agency. ADL-JR-96-21, No. 31. 84-101.

KÖSE, M., 2013. Erzurum İli İspir İlçesinde Doğal Olarak Yetişen Badem (Amygdalus communis L.) Tiplerinin Seleksiyom Yolu İle Islahı ve Seçilen Tiplerde RAPD Yöntemiyle Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi. Doktora Tezi,

Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Erzurum.
KUMAR, R., 1989. The Tecnigue of Polymerase Chain Reaction. A Journal of Methods in Cell and Molecular Biology, 1: 133-152.
KUZDERE, H., 1999. Ceylanpınar Tarım İşletmelesi Koşullarında Yetiştirilen Bazı Badem Çeşitlerinin Fenolojik ve Pomolojik Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Şanlıurfa.
KÜDEN, A.B. ve KÜDEN, A., 2000. Badem Yetiştiriciliği. TÜBİTAK, TARP yayınları. s. 18.
KÜDEN, A. B., KÜDEN, A., BAYAZIT, S., ÇÖMLEKÇİOĞLU, S., İMRAK, B. ve REHBER-DİKKAYA, Y., 2014. Badem Yetiştiriciliği. TAGEP Proje No:5231
LADIZINSKY, G., 1999. On the Origin of Almond. Genetic Resources and Crop Evolution. 46:143-147.
LIU, Z. J. ve CORDES, C. F., 2004. DNA Marker Technologies and Their Applications in Aquaculture Genetics. Aquaculture, 28, 1-37.
MANIATIS, T., E. FRITSCH ve J. SAMBROOK. 1982. Molecular Cloning: A Laboratory Manual: Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
MARTINEZ-GOMEZ, P., ARULSEKAR, S., POTTER, D. ve GRADZIEL, T.M., 2003. An Extended Interspecific Gene Pool Available to Peach and Almond Breeding Characterized Using Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. Euphytica, 131: 313-322.
MARTINEZ-GOMEZ, P., SANCHEZ-PEREZ, R., DICENTA, F., HOWAD, W., ARUS, P. ve GRADZIEL, T.H., 2007. Genome Mapping and Moleculer Breeding in Plants. Vol:4, Fruits and Nuts. Chapter: 11.
MGM, 2020. Meteroroloji Genel Müdürlüğü Resmi İnternet Sitesi. https://www.mgm.gov.tr/ (Son Erişim Tarihi: 27.07.2020)
MILATOVIC, D., ZEC, G., DUROVIC, D. ve BOSKOV, D., 2017. Phenology of Flowering and Pomological Traits of Almond Cultivars in the Region of Belgrade. Pomologia Croatica. 21:181-190.
MLIKA, M., 1990. Nut Production in Tunisia. Nut Production and Industry in Europe, Near East and North Africa. Rear Technical series 13:289-316
MORGANTE, M. ve OLIVIERI, A. M., 1993. PCR-Amplified Microsatellites As Markers in Plant Genetics. Plant J., 3: 175-182.
MURPHY, R.W., SİTES, J. W., BUTH, D. G. ve HAUFLER, C. H., 1990. Proteins I: Isozyme Electrophresis, Hillis, D. M., Moritz, C (eds). Molecular Systematics. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA s. 45-126.
NUTTALL, G. H. F., 1904. Blood Immunity and Blood Relationship. Cambridge University Press, Cambridge
OKIE, W. R., 2000. Register of New Fruit and Nut Varieties List 40. Hort Science 35(5): 812-813.
ORAGUZIE, N.C., MCNEIL, D.L. ve THOMAS, M.B., 1998. Examination of Graft Failure in New Zealand Chestnut (Castanea spp) Selections. Scientia Horticulturae 76: 89-113.
ÖZAYDIN, S., 2004. Rapd (Rastgele Arttırılmış Polimofik Dna) Belirleyicileri ve Bitki Sistematiği. DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 6: 113-130.

ÖZBEK, S., 1971. Bağ-Bahçe Bitkileri Islahı. Ankara Üni. Zir. Fak. Yayınları No:419, Ankara, 386s

ÖZBEK, S.,1978. Özel Meyvecilik. (Kışın Yaprağını Döken Meyve Türleri) Ç.Ü. Ziraat Fak.Yay.: 128, Ders Kitabı: 11, 486 s.

RAFALSKI, A., TINGEY, S. V., ve WILLIAMS, J. G. K., 1994. (RAPD) Markers. Plant Molecular Biology Mannual. 114: 1-8.

RUSSELL, P. J., (ed), 2001. Genetics, Benjamin Cummings, San Francisco, USA.

SANCHEZ-PEREZ, R., HOWAD, W., GARCIA-MAS, J., ARUS, P., MARTINEZ-GOMEZ, P. ve DICENTA, F.,2009. Molecular Markers for Kernel Bitterness İn Almond. Tree Genetics & Genomes (2010). 6: 237–245

SANCHEZ-PEREZ, R., 2019. Ikili Görüşme.

SHARMA, A., NAMDEO, A. G. ve MAHADIK. K.R., 2008. Phcog. Rev.: Rewiev Article. Molecular Markers: New Proepects in Plant Genome Analysis. Pharmacognosy Rewievs 2(3): 23-34.

SOCIAS I COMPANY, R. ve FELIPE, A. J., 1992. Almond: A Diverse Germplasm. HortScience 27 (7):718. Ladizinsky, G., 1999. On the Origin of Almond. Genetic Resources and Crop Evolution. 46:143-147.

SOYSAL, M. İ. 2002. Genetik. T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü. Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı.

STAUB, J. E., SERQUEN, F. C. ve GUPTA, M., 1996. Genetic Markers, Map Construction, and Their Application in Plant Breeding. HortScience, 31(5), 729-741.

STEBBINS, G. L., 1989. Introduction. Isozyme in Plant Biology. Soltis, D. E., Soltis, P. S. (eds). Portlan: Dioscorides Press. s. 1-3.

STEBBINS, G. L., 1956. Taxonomy and the Evolution of Genera, with Special Reference to the Family Gramineae. Evolution, 10: 235-245.

TAUZT, D., 1989. Hypervariability of Simple Sequences As a General Sources for Polymorphic DNA Markers. Nucleic Acids Research, 17: 6463-6471.

TINGEY, S.V. ve DEL TUFA. J. P., 1993. Genetic Analysis With Random Amplified Polimorphic DNA Markers. Plant Physiol.101: 349- 352.

TSIPOURIDIS, C., 1990. Nut Production, Research and Development Activities in Greece, Nut Production and Industry in Europe, Near East and North Africa. Reur Technical Series 13:183-188.

TÜİK, 2020. Türkiye İstatistik Kurumu Resmi Websitesi. Bitkisel Ürün Denge Tabloları. https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=104&locale=tr (Erişim tarihi: 09.07.2020).

WEBER, J. L. ve MAY, P. L., 1989. Abundant Class of Human DNA Polymorphisms Which Can be Typed Using the Polymerase Chain Reaction. Am. J. Hum. Genet., 44, 388-396.7

WELSH, J. ve MCCLELLAND, M., 1990. Fingerprinting Genomes Using PCR with Arbitrary Primers. Nucleic Acids Res.,18, 7213-7218.

WESLEY, K. A., WARREN, C. M., KESTER, D. E. ve ROUGH, D., 1996. Almond Production Manuel (Technical Editor: W. C. Micke). The Evaluation and Selection of Current Varieties. Univ. of California, Divison of Agric. and Natural Resources, Publication 3364, 52-60.

WILLIAMS, J. G. K., KUBELIK, A. R., LIVAK, K. J., RAFALSKI, J. A. ve TINGEY, S. V., 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. Nucleic Acids Res.,18, 6531-6535.

WIRTHENSOHN, M. G. ve SEDGLEY, M., 2002. Almond Breeding in Australia. Acta Hortic. 591, 245-248.

WOLF, A. D. ve LISTON, A., 1998. Contributions of PCR Based Methods to Plant systematics and evolutionary biology. Soltis, P.S., Soltis, D. E., Doyle, J. J. (eds). Molecular Systematics of Plants II. Chapman and Hall, New York, s. 33-86.

XU, D. H., ABE, J., KANAZAWA, A., GAI, J. Y. ve SHIMAMOTO, Y., 2001. Identification Sequence Variations by PCR-RFLP and its Application to the Evolution of cpDNA Diversity in Wild and Cultivated Soybeans. Theor. Appl. Genet, 102, 683-688.

YEŞBEK, A., 2007. T. Dicoccoides ve T. Dicoccon Türleri Arasındaki Genetik Çesitliliğin RAPD-PCR Tekniği İle Belirlenmesi. Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. 75s. (Yayınlanmamış).

YILDIRIM, A. ve KANDEMİR. N., 2001. Genetik Markörler ve Analiz Metodları. Bitki Biyoteknolojisi 2: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. Edt: S. Özcan, E. Gürel, M. Babaoğlu. Selçuk Üniversitesi Basımevi, s.334-363.

ZEINALABEDINI, M., MAJOURHAT, K., KHAYAM-NEKOUI, M., GRIGORIAN, V., TOORCHI, M., DICENTA, F. ve MARTINEZ-GOMEZ, P., 2007. Molecular Characterization of Almond Cultivars and Related Wild Species Using Nuclear and Chloroplast DNA Markers. Journal of Food, Agriculture and Environment, 5(3-4): 242-247.

ZOHARY, D. ve HOPF, M., 2000. Domestication of plants in the old world. 3rd ed. London: Oxford University, 186.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	:Birgül Dikmetaş
Uyruğu	:T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi	:Çıldır-05.05.1992
Telefon	:+90(542) 619 85 06
E-posta	:dikmetasbirgul@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İl, İlçe	Bitirme Yılı
Lise	Çıldır Lisesi-ARDAHAN- Çıldır	2009
Lisans	Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü-ŞANLIURFA	2015
Yüksek Lisans	Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı-ŞANLIURFA	2017
Yüksek Lisans	Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı-ŞANLIURFA	2020

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2012	Şanlıurfa GAP TAEM	Stajer
2013	Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi	Stajer
2016	Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	Yardımcı Araştırmacı
2017	GTHB Şanlıurfa	Veri Toplama Uzmanı

UZMANLIK ALANI

-Tarımsal Yapılar ve Sulama
-Bağcılıkta Gölgeleme
-DNA izolasyonu
-Laboratuvar Teknikleri
-Bahçe Bitkilerinde Stoma Morfolojileri
- Üzüm Çeşitlerinde Çelikle Çoğaltma, Köklendirme, Yetiştiricilik, Hasat Ve Pazarlama

YABANCI DİLLER

	Dil Belgesi
-İngilizce	YÖK DİL: 70.00 (2020 Bahar)