



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



# DOMATES TOHUMLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Gülhan KAYGUSUZ

Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı

İzmir

2024



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**DOMATES TOHUMLARINDA GENETİK  
ÇEŞİTLİLİĞİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE  
BELİRLENMESİ**

Gülhan KAYGUSUZ

Danışman: Prof. Dr. İsmail Can PAYLAN

Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı  
Üretim ve Teknoloji Yüksek Lisans Programı

İzmir  
2024



# EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **“Domates Tohumlarında Genetik Çeşitliliğin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi”** başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

29 / 08 / 2024

Gülhan KAYGUSUZ



**ÖZET****DOMATES TOHUMLARINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN  
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

KAYGUSUZ, Gülhan

Yüksek Lisans Tezi, Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail Can PAYLAN

Ağustos 2024, 72 sayfa

Genetik çeşitlilik, organizma popülasyonları içerisindeki, bitki türleri arasındaki kalıtsal çeşitliliği temsil eder. Çiftleşen bir popülasyondaki bu genetik varyasyon havuzu, bitkiyi iyileştirmenin yanı sıra aynı zamanda seçilimin de temelidir. Bu sebeple, bu bitki genetik çeşitliliğinin korunması, insanlığın şimdiki ve gelecekteki refahı için şarttır. Son yıllarda, tarımsal biyoçeşitlilik, sürdürülebilir kullanım ve kalkınma için koruma da dahil olmak üzere bütüncül bir biyoçeşitlilik görüşünün benimsenmesinin önemi konusunda artan bir farkındalık vardır. Çalışmanın temel amacı, domates tohumlarındaki genetik çeşitliliğin moleküler yöntemlerle belirlenmesidir.

Bu çalışma kapsamında, tüm dünya ekonomisi açısından oldukça önemli olan genetik çeşitlilik belirlemede Real Time PCR tekniği kullanılmıştır. Bu sayede, bu yöntemin kullanımında optimize edilen parametrelerin belirlenmesinin ardından diğer moleküler yöntemlerle kıyaslayabilme imkanı sunmuştur. Real Time PCR teknolojisi, istenilen geninin hızlı bir şekilde belirlenmesinde, duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirlik açısından oldukça güzel avantajlar sunmaktadır. Amplifikasyon sırasında ürün oluşumunu izleyebilme özelliği, bu yöntemle elde etmiş olduğumuz verilerin daha güvenilir olmasını sağlamaktadır.

Çalışma kapsamında kullanılan 10 farklı çeşit domates bitkisinden elde edilen 200 adet örnek, DNA kontrolü ve Real Time PCR ile analizler sağlanmıştır. Elde edilen sonuçlar melting analiz değerleri karşılığında çeşitlerin homozigot mu heterozigot mu olduğunu bizlere sunarak genetik çeşitlilik derecesini göstermiştir.

Bu tez çalışması, domates bitkisinin genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde Real Time PCR tekniklerinin etkinliğini vurgulamaktadır. Elde edilen sonuçlar, bu alandaki genetik çeşitlilik çalışmalarına değerli ve önemli bir katkı sağlayarak, tarımsal üretimde genetik çeşitliliğe daha çok önem vererek bu konuda daha çok çalışmaların yapılmasına katkı sağlayabilir.

**Anahtar kelimeler:** Domates, genetik çeşitlilik, q-PCR, moleküler markör.



**ABSTRACT****DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY IN TOMATO  
SEEDS BY MOLECULAR METHODS**

KAYGUSUZ, Gülhan

MSc in Seed Science and Technology

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Can PAYLAN

August 2024, 72 pages

Genetic diversity represents the hereditary variation among plant species within organismal reproduction. This pool of genetic growth in a mating record is not only what encompasses the plant but also the basis for becoming. In this way, the genetic diversity of this plant is preserved and developed for the modern and development of humanity. In recent years there has been increasing recognition of the importance of adopting a holistic use of biodiversity, including biodiversity management, sustainable use and conservation for development. The main purpose of the study is to link genetic differences in embryos.

Within the scope of this study, Real Time PCR technique was used to determine genetic diversity, which is very important for the world economy. In this way, it provides the opportunity to compare with other molecular methods after determining the parameters optimized in the use of this method. Real Time PCR technology offers great advantages in terms of sensitivity, specificity and reproducibility in the rapid determination of the desired gene. The ability to monitor product formation during amplification makes the data we obtain with this method more reliable.

200 samples obtained from 10 different types of tomato plants used within the scope of the study were analyzed with DNA control and Real Time PCR. The results obtained showed the degree of genetic diversity by showing us whether the varieties were homozygous or heterozygous in response to the melting analysis values.

This thesis study emphasizes the effectiveness of Real Time PCR techniques in determining the genetic diversity of tomato plants. The results obtained can make a valuable and important contribution to genetic diversity studies in this field and contribute to further studies on this subject by giving more importance to genetic diversity in agricultural production.

**Keywords:** Tomato, genetic diversity, q-PCR, molecular marker.



## ÖNSÖZ

Yapmış olduğum bu tez çalışmasında danışmanım Sayın Prof. Dr. İsmail Can PAYLAN ile günümüzde çok sık kullanılan Real-Time PCR yöntemi ile dünya çapında oldukça yaygın bir şekilde üretim ve tüketimi yapılmakta olan domates bitkisinin tohumlarındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi konusunda yoğunlaşmaya gidilmiştir. Küresel iklim değişikliği etkilerinin zaman geçtikçe artmaya başladığı ve kaliteli gıda üretiminin gün geçtikçe daha çok önem kazandığı günümüzde, tarım sektörü ve bu sektörün içinde olan ekonomik, stratejik bir faaliyet alanı olan tohumculuğun önemi gün geçtikçe daha çok anlaşılmaktadır. Dünya nüfusunun artmasıyla birlikte gıda güvenliği ve güvenilirliğinin sağlanmasında bitkisel ve hayvansal üretimin yeterliliği aynı zamanda devamlılığı son derece önem arz etmektedir. Domates germplazmasını iyileştirmek, hızlı genetik kazanımlar elde etmek ve stres faktörlerine ve hastalıklara karşı daha yüksek dirençli çeşitler üretmek için çeşitli yeni teknikler geliştirilip, uygulanmaktadır. Ancak tüm bu gelişmelere rağmen yaşanan genetik çeşitliliğin azalması durumunda, birçok genin genetik havuzdan kalıcı olarak kaybolmasına ve çok sayıda geleneksel çeşidin kaybolmasına neden olmaktadır. Yürütmüş olduğumuz bu çalışmada, moleküler belirteçler kullanılarak farklı domates genotipleri içindeki genetik çeşitliliğin ölçülmesi ve biyo bilişim araçları kullanılarak genetik açıdan sınıflandırılabilen bu sayede saflık düzeyleri tahmin edilebilecektir.

İZMİR

29 / 08 / 2024

Gülhan KAYGUSUZ



**İÇİNDEKİLER**Sayfa

|                                                            |       |
|------------------------------------------------------------|-------|
| İÇ KAPAK .....                                             | ii    |
| KABUL ONAY SAYFASI .....                                   | iii   |
| ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....                        | v     |
| ÖZET .....                                                 | vii   |
| ABSTRACT .....                                             | ix    |
| ÖNSÖZ .....                                                | xi    |
| İÇİNDEKİLER.....                                           | xiii  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                      | xvi   |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                     | xviii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                       | xix   |
| 1. GİRİŞ .....                                             | 1     |
| 1.1 Domates Bitkisinin Tarihsel Gelişimi .....             | 1     |
| 1.1.1 Domates bitkisinin kimyasal içeriği .....            | 2     |
| 1.1.2 Domates bitkisinin ekolojik isteği .....             | 4     |
| 1.1.3 Dünyadaki domates ekim alanı, üretim ve verimi ..... | 6     |
| 1.1.4 Türkiye domates ekim alanı, üretim ve verimi .....   | 7     |

## İÇİNDEKİLER (devam)

### Sayfa

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.2 Genetik Çeşitlilik Hakkında Genel Bilgiler .....                       | 9  |
| 1.2.1 Genetik çeşitlilikte kullanılan belirteç sistemler .....             | 10 |
| 1.3 Bitki Islahında Genetik Çeşitliliğin Önemi .....                       | 14 |
| 1.3.1 Bitki ıslahının önemi .....                                          | 14 |
| 1.4 Moleküler Markörler .....                                              | 17 |
| 1.4.1 Hibridizasyona dayalı moleküler markörler .....                      | 19 |
| 1.4.2 Polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı moleküler markörler ..... | 20 |
| 1.5 Gerçek Zamanlı PCR (Real-Time PCR veya qPCR) .....                     | 28 |
| 1.6 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) Yöntemi .....                     | 30 |
| 1.6.1 SNP markörlerinin sahip olduğu avantajlar .....                      | 31 |
| 1.7 Kaynak Özetleri .....                                                  | 32 |
| 2. MATERYAL VE YÖNTEM .....                                                | 37 |
| 2.1 Materyal .....                                                         | 37 |
| 2.1.1 Çalışmanın gerçekleştirildiği yer, temin edilen tohumlar .....       | 37 |
| 2.1.2 Bitkileri yetiştirme materyali .....                                 | 37 |
| 2.1.3 DNA ekstraksiyonu materyali .....                                    | 38 |

**İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.4 DNA kontrolü aşamasında kullanılan materyal.....           | 38 |
| 2.1.5 Real-time PCR (q-PCR) aşamasında kullanılan materyal ..... | 39 |
| 2.2 Yöntem .....                                                 | 40 |
| 2.2.1 Bitkileri yetiştirme yöntemi .....                         | 40 |
| 2.2.2 DNA ekstraksiyonu yöntemi .....                            | 40 |
| 2.2.3 DNA kontrolü aşamasında kullanılan yöntem.....             | 42 |
| 2.2.4 Real-time PCR (q-PCR) aşamasında kullanılan yöntem .....   | 44 |
| 3. BULGULAR.....                                                 | 48 |
| 3.1 DNA Kontrolü Aşaması Bulguları .....                         | 48 |
| 3.2 Real-time PCR (q-PCR) Aşaması Bulguları.....                 | 48 |
| 4. SONUÇ VE TARTIŞMA .....                                       | 56 |
| KAYNAKLAR DİZİNİ.....                                            | 59 |
| TEŞEKKÜR .....                                                   | 71 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                   | 72 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil</u>                                                         | <u>Sayfa</u> |
|----------------------------------------------------------------------|--------------|
| 1.1. Domates bitkisi besin içeriği.....                              | 3            |
| 1.2. Dünyadaki domates ekim alanı, üretim ve verimi.....             | 6            |
| 1.3. Dünya domates üretiminin ülkelere göre dağılımı (2021, %). .... | 7            |
| 1.4. Dominant ve kodominant ve markörlerin karşılaştırılması.....    | 19           |
| 1.5. PCR döngüsü.....                                                | 21           |
| 1.6. PCR'ın çalışma prensibi.....                                    | 22           |
| 1.7. Gerçek zamanlı PCR adımları.....                                | 29           |
| 1.8. Gerçek zamanlı PCR'de kullanılan floresan işaretleyiciler. .... | 29           |
| 1.9. SNP çeşitlerinin gendeki pozisyonu.....                         | 30           |
| 2.1. Kullanılan kit içeriği.....                                     | 38           |
| 2.2. Kullanılan Master Mix. ....                                     | 39           |
| 2.3. Kullanılan primerler. ....                                      | 39           |
| 2.4. DNA ekstraksiyon aşaması (1).....                               | 41           |
| 2.5. DNA ekstraksiyon aşaması (2).....                               | 42           |
| 2.6. Jel hazırlama, yükleme ve koşturma. ....                        | 43           |
| 2.7. Jel hazırlama yükleme ve koşturma (2).....                      | 44           |

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

| <u>Şekil</u>                               | <u>Sayfa</u> |
|--------------------------------------------|--------------|
| 2.8. Real-time (q-PCR) aşaması. ....       | 46           |
| 2.9. Real Time PCR aşaması 1. Döngü.....   | 46           |
| 2.10. Real Time PCR Aşaması 2. Döngü. .... | 47           |
| 3.1. DNA kontrolü sonucu. ....             | 48           |
| 3.2. T1 geni sonucu.....                   | 49           |
| 3.3. T2 geni sonucu.....                   | 50           |
| 3.4. T3 geni sonucu.....                   | 50           |
| 3.5. T4 geni sonucu.....                   | 51           |
| 3.6. T5 geni sonucu.....                   | 51           |
| 3.7. T6 geni sonucu.....                   | 52           |
| 3.8. T7 geni sonucu.....                   | 52           |
| 3.9. T8 geni sonucu.....                   | 53           |

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

| <u>Çizelge</u>                                                                       | <u>Sayfa</u> |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 1.1. Dünyadaki domates üretiminde önemli üretici ülkeler (bin ton). ....             | 7            |
| 1.2. Türkiye'deki domates ekim alanı, üretim ve verimi. ....                         | 8            |
| 1.3. Türkiye'deki sofralık ve salçalık domates ekim alanları, üretim ve verimi. .... | 9            |
| 1.4. Moleküler markörlerin kıyaslanması. ....                                        | 28           |
| 2.1. Çalışmada kullanılan tohum çeşitlerinin adları ve numaraları. ....              | 37           |
| 3.1. Bitki örneklerinin allel bakımından sonuçları (1). ....                         | 54           |
| 3.2. Bitki örneklerinin allel bakımından sonuçları (2). ....                         | 54           |

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

| <u>Simgeler</u> | <u>Açıklama</u>               |
|-----------------|-------------------------------|
| °C              | Santigrat Derece              |
| A               | Adenin                        |
| bp              | Base pair                     |
| dk              | Dakika                        |
| g               | Gram                          |
| G               | Guanin                        |
| kb              | Kilobyte                      |
| m               | Medium                        |
| M               | Molar                         |
| mg              | Miligram                      |
| ml              | Mililitre                     |
| mm              | Milimetre                     |
| mM              | Milimolar                     |
| nm              | Nanometre                     |
| pH              | Hidrojen iyonu konsantrasyonu |
| rpm             | Dakikadaki devir sayısı       |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

| <u>Simgeler</u> | <u>Açıklama</u> |
|-----------------|-----------------|
| S               | sitozin         |
| s               | small           |
| sn              | Saniye          |
| T               | Timin           |
| UV              | Ultraviyole     |
| V               | Volt            |
| μl              | Mikrolitre      |
| μg              | Mikrogram       |

### Kısaltmalar

|      |                                        |
|------|----------------------------------------|
| AFLP | Amplified Fragment Length Polymorphism |
| DNA  | Deoksiribo Nükleik Asit                |
| FAO  | Food and Agriculture Organization      |
| ISRR | Inter Simple Sequence Repeat           |
| Kb   | Kilo base                              |
| mRna | MassengerRNA                           |
| RAPD | Random Amplified Polymorphic DNA       |

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

| <u>Kısaltmalar</u> | <u>Açıklama</u>                                   |
|--------------------|---------------------------------------------------|
| RFLP               | Restriction Fragment Length Polymorphism          |
| RNA                | Ribo Nükleik Asit                                 |
| RT-PCR             | Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction   |
| SNP                | Single Nucleotide Polymorphism                    |
| SSR                | Simple Sequence Repeat                            |
| TUIK               | Türkiye İstatistik Kurumu                         |
| UCLA Health        | University of California Health                   |
| UPGMA              | Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean |
| USDA               | Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı       |



## 1. GİRİŞ

### 1.1 Domates Bitkisinin Tarihsel Gelişimi

Türkiye ekolojik koşullarının sağladığı avantajları ile dünyada oldukça dikkat çeken bir ülkedir bu yüzden tarım potansiyeli oldukça yüksektir (Yorgancılar vd., 2015). Ülkemizin sebze üretim miktarının yaklaşık %40'ını domates oluşturmaktadır. Türkiye’de domates, sadece üretim, tüketim açısından değil aynı zamanda ekonomik değeri açısından da sebzeler içerisinde ilk sıralardadır. Domates, üretimi yapılan bölgelerde çiftçilerin en önemli gelir kaynaklarından birisidir (Dura ve Murat, 2023). “*Lycopersicum esculentum L.*” latince ismiyle bilinen domates sebzesinin anavatanı Orta ve Güney Amerika’dır. Dünya sebze tüketimi bakımından en üstte yer alan domates kültür bitkisi olarak ilk defa Peru kıyılarında kullanılmıştır. Domates Avrupa kıtasına yapılan keşifler sonucunda Kristof Colomb tarafından getirilmiştir.

“Domates” adı Güney Amerika’daki “xitomate” veya “zitotomate” kelimesi ve Meksika’daki “tomati” kelimesinden türetilmiştir (Baki, 2014). 1753 yılında domatesin bitkiler alemindeki sınıflandırmasını ilk olarak Carl Linnaeus *Solanum lycopersicon* ismini vermiştir. On beş yılın ardından Phillip Miller, *S. esculentum Mill. S.* olarak değişim göstermiştir (Taylor, 1986).

Birçok taksonomistin orijinal isimlendirmesinin *S. lycopersicon* olduğunu düşündüğü halde literatürde *S. esculentum*’dur. 2005 yılında Peralta ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada *Solanaceae* familyasına ait yeni yabani domates çeşitlerinin bulunması ile yapılan başka bir sınıflandırmada *Solanum lycopersicum* olarak isimlendirilmiştir ve diğer türler çeşitli adlar almışlardır (Peralta and Spooner, 2005).

Sınıflandırılması ile alakalı tarihi gelişim sürecinde yabani domatesler morfolojik karakterler özelliklerine ve yaşadıkları koşullara göre gösterdikleri farklılıklar sebebiyle araştırmacıların çeşitli sınıflandırmalara maruz kalmıştır. Domates türlerinin iki yıllık veya çok yıllık olmaları, yapısında tüy veya diken bulunup bulunmadığı, ince ve otsu gövdesinin çalı ya da dik formda olup olmadığı,

yapraklarının dizilişleri ve çiçek salkımının tekli, ikili veya çoklu olma durumu gibi çok sayıda faktöre bağlı olarak değerlendirilmiştir (Oğuz, 2010).

Domates bitkisinin Avrupa'ya gelişiyle alakalı kayıtları ilk olarak 1554'te Pier Andrea Mattioli tutmuştur. Kuzey Amerika'daki yetiştiriciliğine ilişkin kayıtlar da 1710'lu yıllardadır (Tigchelaar, 1986). Domates bitkisinin Türkiye'deki kültürüyle alakalı geçmişinin 1900'lü yıllara dayandığı ve yetiştiriciliğinin Adana'da ilinde başlayıp yaygınlaştığı düşünülmektedir (Vural vd., 2000).

Domates kültürünün diğer bitkilere kıyasla daha geç başlamasının sebebi, önceden zehirli olduğunun düşünülmesi bundan dolayı tüketilmemesidir (Günay, 2005). Domatesin yeşil renkteki meyvelerinde bulunan solanin, baş ağrısına sebep verdiği için ilk zamanlarda bu bitkinin zehirli olduğu düşünülmüştür. *Solanaceae* familyası içerisinde çok sayıda zehirli tür vardır ve domates bu türler ile kolaylıkla karışabilmektedir. Zehirli bir etkiye sebep olan bu familyanın bütün üyelerinin sahip olduğu solanin maddesi alkaloit bir maddedir (Tigchelaar, 1986). Bu yüzden süs bitkisi olarak yetiştirilmeye başlanmıştır. Avrupa ülkelerinde "aşk elması" adında yetiştirilmiştir fakat gıda olarak yaygın bir şekilde kabul görmemiştir.

Daha sonraki yıllarda, yenilebildiği ve faydalı olduğu düşünülerek dünyanın her yerine yayılmıştır (Razifard et al., 2020). Günümüzde domatesin kuzey ve güney yarım kürede büyük ölçüde üretimi yapılmaktadır (Tigchelaar, 1986, Vural vd., 2000; Günay, 2005).

Dünyada gerek üretim ve tüketim değerlerinin fazlalığı, gerekse tüketim şekillerinin farklılığıyla domates yüksek üretim değerine sahip olan sebzelerden biri olarak ön plana çıkmıştır (Günay, 2005; Razifard et al., 2020; Saeed and Fatima, 2021).

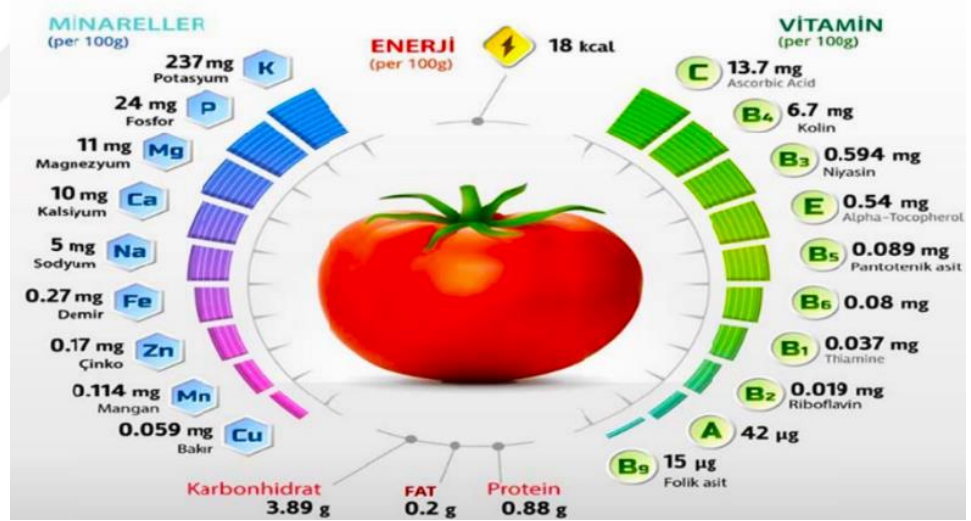
### **1.1.1 Domates bitkisinin kimyasal içeriği**

Dünya çapında yaygın olarak üretimi ve tüketimi yapılmakta olan domates tarımsal bakımdan önemli bir bitki olmuştur (Faten et al., 2018). Domates bitkisinin 10 veya 15 cm boyunda, odunumsu bir gövdesi vardır. 10–25 cm uzunluğundaki

yaprakların üstünde 5 ila 9 adet yaprakçıklar bulunmaktadır. Yaprakları yapısal olarak tüylüdür. Domates çiçekleri 1–2 cm uzunlukta ve genelde sarı bir sap üzerinde olup 3 ila 12 adettir. Genelde kırmızı, yenilebilir etli meyvesi yabani bitkilerde bir ila iki santimetre çapındadır (Baki, 2014).

Taze tüketimine ek olarak gıda sanayinde dondurulmuş, salça, sos, ketçap, turşu, dilimlenmiş şekli, küp şeklinde doğranmış veya kurutulan hali, konserve gibi oldukça farklı alanlarda kullanılmaktadır (Dura ve Murat, 2023).

Bir diğer yandan domates, tarımsal yönden önemli genleri dikotiledon kültür bitkilerine uygulamak açısından model bir bitki olarak kullanılabilir. Domates kendine özgü besin değeri sayesinde tıbbi açıdan oldukça önemli bir bitki olarak görülmektedir. Domates, besin değeri olarak likopen, beta karoten, flavanoidler, C vitamini ve hidroksisinnamik asit türevleri içermektedir (Faten et al., 2010).



Şekil 1.1. Domates bitkisi besin içeriği (Faten et al., 2010).

Domates bitkisi özellikle son yıllarda, likopenin anti-oksidatif etkileri ve anti-kanser fonksiyonları sebebiyle araştırmacıların oldukça ilgisini çekmektedir. Bu nedenle, domates bitkisinin üretimi ve tüketimi sürekli olarak artış göstermektedir (Faten et al., 2010). Domates, sağlığı geliştiren birçok bileşik içerir ve dengeli bir diyetin besleyici bir parçası olarak kolayca entegre edilebilir. Son on yılda tüketiciler, gıdaların sağlık yararlarının kaynağı olduğu ve gıdaların çeşitli kronik

hastalıkların ve işlev bozukluklarının önlenmesindeki rollerinin daha fazla farkına vardılar (Pem and Jeewon, 2015).

Domatesin besinsel önemini büyük ölçüde vitaminler, karotenoidler ve fenolik bileşikler dahil olmak üzere çeşitli sağlıklı geliştirici bileşikler sağlamaktadır (Raiola et al., 2014; Li et al., 2018). Bu biyoaktif bileşikler, anti-enflamatuar, anti-alerjik, antimikrobiyal, damar genişletici, antitrombotik, kardiyo-koruyucu ve antioksidan etkiler de dahil olmak üzere oldukça çeşitli fizyolojik özelliklere sahiptir (Raiola et al., 2014). Domates bitkisi insan diyetindeki ana likopen kaynağını temsil eden karotenoidler açısından çok zengindir (Viuda et al., 2014). Karotenoidler ve polifenolik bileşikler, domatesin besin değerine katkıda bulunur ve tat, aroma ve doku dahil olmak üzere fonksiyonel özelliklerini geliştirir (Raiola et al., 2014).

Domates ayrıca doğal olarak oluşan antioksidanlar olan Vitamin C ve E gibi büyük miktarlarda metabolitlere sahiptir (Agarwal and Rao, 2000). UCLA Health'ın araştırmaları sonucu aynı zamanda en yüksek su içeriğine sahip bir meyvedir. Domatesin %94 oranı ile karpuzdan dahi daha çok su taşıdığını saptamışlardır (Blanton, 2023). Domates bitkisinin içeriğinde potasyum, folat ve K vitamini de bulunur (Demircan, 2023). Yapılan incelemelerle domates bitkisinin sağlık yönünden oldukça yararı bulunduğu saptanmıştır (Çuş vd., 2018).

### **1.1.2 Domates bitkisinin ekolojik isteği**

Domates meyvesinin şekli çeşit türüne göre farklılık göstermekte, rengi de çoğunlukla kırmızı olmakla birlikte sarı, beyaz ve siyah olanları da görülebilmektedir (Naika et al., 2005). Domates için uygun toprak türü, yeterli su tutma kapasitesine ve havalandırmaya sahip ve tuzsuz, yeterli mineral madde içeren toprakların çoğunda iyi yetişse de daha çok derin, iyi drene edilmiş, kumlu-tınlı toprakları tercih etmektedir.

Ayrıca sağlıklı bir ürün varlığı için toprak üst tabakası geçirgen olmalı ve toprak derinliği en az 15-20 cm arasında olmalıdır. Domates bitkisi, geniş bir pH aralığına orta derecede toleranslıdır, ancak yeterli besin kaynağı ve mevcudiyetin

olduğu durumlarda pH derecesi 5.5- 7 derece olan topraklarda daha güzel yetişmektedir (Vural vd., 2000).

Domates iklim olarak ılık ve sıcak iklim bitkisidir. Sıcaklık 14 °C altına düştüğünde olgunlaşması gecikir ve bu nedenle verimi düşer. En ideal yetiştirme sıcaklık aralığı 22-26 °C arasındadır. Sıcaklık 10 °C'den az olduğunda ve 35 °C'den çok olduğunda meyve tutumu, polen sayısı ve canlılığı azalır, düşük ve yüksek sıcaklıklarda bitki gelişimi olumsuz etkilenir. Bunların dışında bitkinin gelişimi ve üretimini etkileyen en önemli durumlardan birisi kuraklık faktörüdür (Ata, 2015).

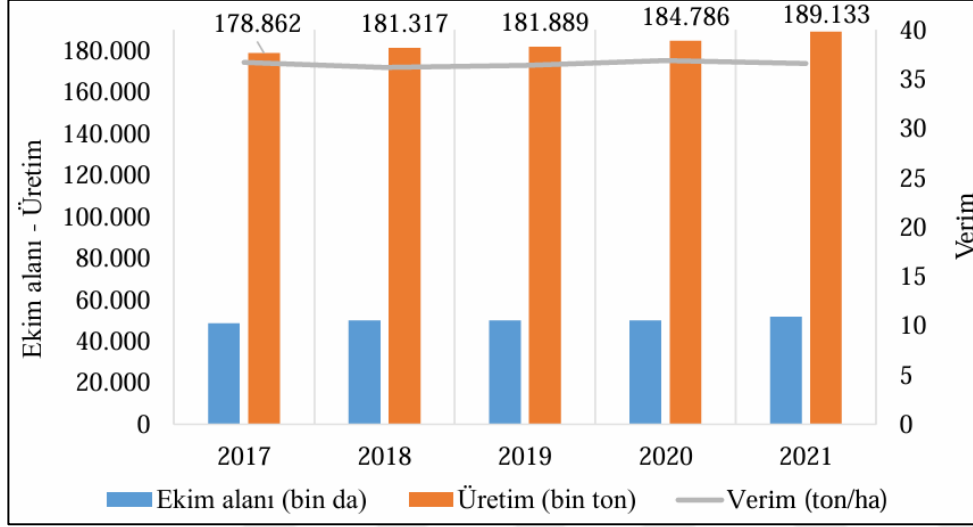
Özellikle yaz mevsiminde sıcaklığın yüksek olduğu zamanlarda bitki ve topraktan yüksek miktarlarda su kayıpları olmakta, bu kayıpların sebebiyle bitkide gözle görülebilir derecelerde stres belirtileri oluşmaktadır (Çamoğlu vd., 2018). Su stresine maruz kalan bitkilerde oluşan ilk belirti solmadır. Turgor basıncı bitki hücrelerini şişirir ve onları dik durumda tutar. Su stresinden turgor basıncın etkilenmesi sonucu yaprakta bulunan hücreler çökmeye başlar ve sonrasında yaprağın yapısında gevşek bir görüntü ortaya çıkar. Kısmi olarak solmuş olan bitkiler hızlı bir şekilde sulama ile geri kazanılsa bile su stresinin ilerlemesi durumunda bitki üzerinde ciddi hasarlar meydana gelir (Anonymous, 2021).

Domates bitkisi metabolit biyosentezi, meyve kalitesi ve bitki yetiştirme koşullarından etkilenir (Diouf et al., 2018). Domates üretimi her bitkide olduğu gibi su kaynaklarının kıtlığı, toprakların tuzlanması ve diğeri abiyotik stresler dahil olmak üzere dünya çapında farklı sorunlarla karşı karşıyadır (Fahad et al., 2017).

Özellikle Akdeniz iklimine sahip ülkelerde, Güney Avrupa ile Kuzey ve Güney Amerika'daki bazı kısımlar dahil olmak üzere, domates yetiştiriciliğı giderek artan bir şekilde kuraklık ve tuzluluk gibi zorlayıcı koşullarla karşı karşıya kalmaktadır. Bu da sonuç olarak bu alanlardaki domates çiftçilerinin rekabet gücünü azaltmaktadır. Yaşanan tüm bu durumlar ekosistemin bütünlüğünü etkileyerek kırsal sektörlerin yer değıştirmesine sebep olur (Muriel et al., 2019).

### 1.1.3 Dünyadaki domates ekim alanı, üretim ve verimi

Dünyadaki domatesin ekim alanı 2021’de bir önceki seneye göre %3,3’lük bir artış göstererek yaklaşık 51,7 milyon dekara yükselmiştir. Dünyada yapılan domates üretim miktarı ise bir önceki seneye göre %2,4 artış yaparak yaklaşık 189,1 milyon tona ulaşmıştır (Demircan, 2013). (Şekil 1.2).

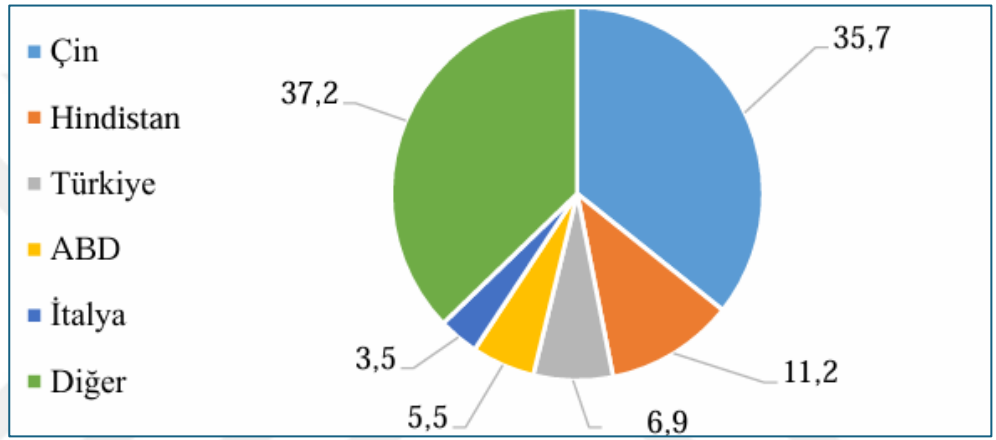


Şekil 1.2. Dünyadaki domates ekim alanı, üretim ve verimi (Demircan, 2013).

Dünyadaki domates üretimi açısından en önemli ülkelerden olan Çin, Hindistan, Türkiye, ABD, İtalya’nın toplam domates üretim miktarı 2021 yılı itibarı ile toplam domates üretiminin %63’lük payını kapsamaktadır. Bu beş ülkedeki üretimin artışı dünyada yapılan domates üretiminin 2021 yılında bir önceki yıla göre yaklaşık %2,9 artış göstererek 189,1 milyon tona çıkmasını etkilemiştir (Demircan, 2023) (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Dünyadaki domates üretiminde önemli üretici ülkeler (bin ton) (FAO, 2023).

| Ülkeler   | 2017   | 2018   | 2019   | 2020   | 2021   |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Çin       | 59.109 | 60.919 | 62.869 | 67.740 | 67.538 |
| Hindistan | 20.708 | 19.759 | 19.007 | 20.550 | 21.181 |
| Türkiye   | 12.750 | 12.150 | 12.842 | 13.204 | 13.095 |
| ABD       | 11.138 | 12.613 | 10.859 | 10.939 | 10.475 |
| İtalya    | 6.016  | 5.798  | 5.777  | 6.248  | 6.444  |
| Mısır     | 6.729  | 6.778  | 6.814  | 6.494  | 6.245  |



Şekil 1.3. Dünya domates üretiminin ülkelere göre dağılımı (2021, %) (Demircan, 2023).

#### 1.1.4 Türkiye domates ekim alanı, üretim ve verimi

Günümüzde hemen hemen tüm bölgelerimizde yetiştirilmektedir (Güvenç, 2017). Özellikle daha çok Akdeniz, Ege ve Marmara bölgelerinde yapılıyor olup çeşit ayrımı sırasıyla sanayilik ve sofralık olmak üzere iki ayrı üretim grubu ile ilişkilendirilebilir. Örtü altı üretimi neredeyse tamamen sofralık cinslerle gerçekleştiriliyorken, açık tarla şartlarında yapılan domates üretimi hem sofralık tüketime hem de sanayi kullanımına yönelik olarak yapılmaktadır (Vural vd., 2000).

Birleşmiş Milletler Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre, ülkemiz 2021 yılından itibaren yaklaşık 13,1 milyon ton üretimiyle dünyadaki üretimi bakımından Çin ve Hindistan'dan sonra üçüncü sıradadır. TÜİK verilerine

göre, Türkiye'nin 2022 yılından itibaren sebze üretim miktarı ortalama olarak 31,6 milyon tondur. Ülkemizde en çok üretilen sebze türü domatestir. Üretilen miktar bakımından ülkemiz 2022 yılında toplam sebze üretiminde %41,2 (13 milyon ton) paya sahiptir.

Ülkemizde domates yetiştiriciliği iki şekilde yapılmaktadır bunlar açıkta ve örtü altında üretimdir. Türkiye'de örtü altında yapılan domates üretim miktarı toplam yapılmakta olan domates üretiminin %31,8'lik payını (4,1 milyon ton) kapsamaktadır (Demircan, 2023).

Türkiye domates ekim alanlarına baktığımızda 2022 yılında bir önceki seneye kıyasla ekim alanlarında yaklaşık %3,6 azalma görülmektedir. Ülkemizin 2022 yılında toplam domates üretimi de bir önceki seneye kıyasla yaklaşık olarak %0,7 azalarak 13 milyon ton olmuştur. Verim ise 2022 yılında %3 artış göstererek 81,8 ton/ha olmuştur (Demircan, 2023) (Çizelge1.2).

Çizelge 1.2. Türkiye'deki domates ekim alanı, üretim ve verimi (TÜİK, 2023).

| Yıllar | Ekim alanı (bin ha) | Üretim (bin ton) | Verim (ton/ha) |
|--------|---------------------|------------------|----------------|
| 2018   | 169                 | 12.150           | 71,9           |
| 2019   | 173                 | 12.842           | 74,2           |
| 2020   | 174                 | 13.204           | 75,9           |
| 2021   | 165                 | 13.095           | 79,4           |
| 2022   | 159                 | 13.000           | 81,8           |

Domates, dünya üretiminde önemli bir rol oynaması sebebiyle ülkemizdeki tarım sektörü açısından çok önemli bir konuma sahiptir. Bu durumun başlıca nedeni, domatesin dünya çapındaki yüksek üretim, tüketim ve ticaret seviyesidir. Domates bitkisi, ülkemizde örtü altı ve tarla sebzeleri arasında en çok üretimi yapılan sebzelerden biridir. Ülkemizdeki domates üretiminin büyük bir kısmı Marmara, Akdeniz ve Ege bölgelerinde yapılmaktadır (Devran ve Özalp, 2015). Ülkemizde 2022 yılında domates üretiminin %38,8'i salçalık, %61,2'si sofralık olarak yetiştirilmiştir. Sofralık domates üretim miktarı 2022 yılında bir önceki

seneye kıyasla ortalama %7,3, azalmıştır salça için domates üretimi de ortalama olarak %11,7 oranında artış göstermiştir (Demircan, 2023).

Çizelge 1.3. Türkiye’deki sofralık ve salçalık domates ekim alanları, üretim ve verimi (TÜİK, 2023).

| Salçalık Domates |                        |                     |                  | Sofralık Domates       |                     |                  |
|------------------|------------------------|---------------------|------------------|------------------------|---------------------|------------------|
| Yıllar           | Ekim Alanı<br>(bin da) | Üretim<br>(bin ton) | Verim<br>(kg/da) | Ekim Alanı<br>(bin da) | Üretim<br>(bin ton) | Verim<br>(kg/da) |
| 2018             | 520                    | 3.735               | 7.183            | 1.175                  | 8.415               | 7.162            |
| 2019             | 542                    | 4.006               | 7.391            | 1.192                  | 8.836               | 7.413            |
| 2020             | 628                    | 4.548               | 7.242            | 1.117                  | 8.656               | 7.749            |
| 2021             | 582                    | 4.515               | 7.758            | 1.070                  | 8.581               | 8.020            |
| 2022             | 603                    | 5.045               | 8.366            | 984                    | 7.955               | 8.084            |

## 1.2 Genetik Çeşitlilik Hakkında Genel Bilgiler

Genetik çeşitlilik, evrimsel çeşitliliğin bir anahtarıdır (Dyer et al., 2014). Bitkisel ıslah programında üstün kültürlü çeşitlerin geliştirilmesi bakımından ülkemiz için büyük önem taşımaktadır. İlk olarak genetik çeşitlilik, farklı çeşitler arasında mevcut olan genetik farklılık seviyesini tahmin etmek için kullanılır. Bitki popülasyonlarında mevcut olan genetik çeşitlilik, koruma ve bitki yetiştirme açısından elverişlidir. Bitkilerdeki sahip olunan genetik çeşitlilik, bitkilerin gelişimi açısından olanak sağlar. Hem bitki yetiştiricilerinin hem de çiftçilerin seçtiği bitkilerin genetiğini bulmak amacıyla sürekli olarak kullanılan birçok teknik mevcuttur (Rai et al., 2010).

Genetik çeşitlilik aslında biyolojik çeşitliliğin bit türüdür. Biyolojik çeşitlilik; ortam içerisindeki ekosistemlere ait çeşitliliği, türler içindeki genetik çeşitliliği kapsamaktadır. Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde etkili olan ana güçler doğal mutasyonlar ve bunları seçen doğal seleksiyonlardır. Mutasyonlara ek olarak göç ve rekombinasyonlar popülasyonları yavaşça ama devamlı biçimde alt popülasyonlara ayırır. Böylece coğrafi ırk, alt türler ve türler oluşturur böylece ekolojik şartlara uyumlu genetik ve biyolojik çeşitlilik oluşturmaktadır. (Dirik, 1997).

Amerikan Ulusal Bilim Vakfı'nın 2007'de yapmış olduğu araştırmada bir türün kendi içerisindeki çeşitliliğinin, türler arası çeşitliliğinin devam etmesinde ya da tam tersi durumda, vazgeçilemez ve gerekli olduğu ayrıca genetik çeşitlilikle biyoçeşitlilik arasında bir bağ olduğu sonucu çıkarılmıştır (Lankau, 2007). Tür içi genetik çeşitlilik, canlıların değişen çevre koşullarına adapte olabilmemesinin ve türün devamlılığını sağlamasının bir garantisidir (Dirik, 1997).

Genetik çeşitlilik, bir türe ait gen havuzundaki genetiksel özelliklerinin toplamıdır. Herhangi bir özelliği belirleyen gen daima aynıdır ancak genin allellerinin baz dizisi değişkendir (Hughes ve Stachowicz, 2004). Bu durumda genetik çeşitlilik ortaya çıkmaktadır (Hilooğlu, 2012). Genetik çeşitlilik bitki ıslahı için temel bir kaynak durumundadır (Dirik, 1997).

Genetik çeşitliliğin artması bitki hastalıklarına ve zararlılarına karşı daha dirençli türlerin geliştirilmesinde sonuç olarak o türün geliştirilmesi konusunda oldukça önemli olduğunu göstermiştir (Hajjar vd., 2008). DNA belirteçlerinin ıslah yönteminde önemli bir teknik olduğu, özellikle genetik çeşitlilik ve gen haritalama çalışmalarıyla da belirlenmiştir (Pradeep Reddy vd., 2002).

## **1.2.1 Genetik çeşitlilikte kullanılan belirteç sistemler**

### **1.2.1.1 Morfolojik belirteçler**

Burada kalitatif olarak gözlemler yapılmaktadır. Popülasyonda bireyi ya da bir birey grubunu diğer çeşitlere göre ayrı kılan özelliği belirteçtir. Mesela bir çiçeğin rengi ya da yaprağının şekli gibi özellikler morfolojik belirteç olarak kullanılabilir. Ancak belirteç olarak bunlar sınırlıdır ve aynı morfolojiye sahip olan diğer tür veya çeşitlerle karıştırılabilme ihtimali vardır (Gülşen ve Mutlu, 2005).

### **1.2.1.2 Biyokimyasal belirteçler**

Moleküler belirteçler ile kıyaslandığında maliyet açısından daha uygundur. Bu belirteçlerdeki varyasyonlar, kodlayıcı DNA kısımlarındaki benzerliği olmayan değişikliklerden veya translasyon sonrası protein modifikasyonlarından

kaynaklanır. Popülasyonun yapısı biyokimyasal belirteçlerin kullanımı konusunu da etkilemektedir (Hilooğlu, 2012).

### **1.2.1.3 DNA belirteçleri**

Moleküler belirteçleri, morfolojik belirteçlerden ayıran en önemli bazı özellikler:

-Morfolojik belirteçlerin çoğunun fenotipi bütün bitki seviyesinde tanımlanabilir. Fakat moleküler lokuslar, bütün bitkilerde, doku ve hücre seviyesinde denenebilir.

-Allel frekansı, morfolojik belirteçlere kıyasla moleküler lokuslarda daha fazladır.

-Morfolojik mutantlar, istenmeyen fenolojik etkilerle birlikte olmaya eğilimlidirler.

-Morfolojik lokustaki alleller, heterozigot genotiplerin tanımlanmasını kısıtlayan bir dominant-resesif gibi birbirlerini etkilemektedir.

-Moleküler lokuslar, bir popülasyondaki bireylerin genotiplerin tanımlanmasına izin vererek kodominant duruş gösterirler (Khang ve Spoor, 2001).

Sadece bir belirteç tüm gereksinimleri karşılayamaz. Bu sebeple farklı belirteçler birlikte kullanılmalıdır. Belirteç seçimi yaparken bazı yerlere önem verilmeli; yüksek düzey polimorfizm, dominant-kodominant olma durumu, belirtecın genomdaki dağılımı, yinelenebilirlik, güvenilirlik, kolay analiz ve otomasyon uygunluğudur. Tüm bunlarda yalnızca bir belirteçte olmadığından dolayı bu özelliklerden en çok uyumluluk gösteren belirteçler seçilmelidir (Tamam, 2008).

Sebze çeşitleri arasında domates, hakkında en fazla çalışmalar yapılan ve en modern moleküler genetik yöntemlere uygulama fırsatı sunan bir bitkidir (Grandillo et al., 1999). Şu anda araştırmacılar domates üzerine çok sayıda çalışmalar yapmaya

devam ediyor ve domates bitkisinin kalite, verim gibi özellikleri daha fazla geliştirmeyi amaçlamaktadırlar (Kaya, 2012). Domates, dünyadaki ekonomik ve besleyici önemine ek olarak, etli meyve gelişimi araştırmalarında rol bir model haline gelmiştir (Karlova et al., 2014).

Bir genomik kaynak olarak hizmet eden domates meyvesi genomunun tamamı dizinlenmiştir ve domates için genetik, fiziksel haritalar ve moleküler belirteçler mevcuttur (Suresh et al., 2014). Ayrıca bir dizi iyi karakterize edilmiş monogenik mutantlar, TILLING popülasyonları, yabani domates türleri, rekombinant kendilenmiş hatlar ve genom düzenleme araçları da mevcuttur (Rocha et al., 2013).

Genetik çeşitlilik, bir bitki, hayvan veya mikroorganizma türü içindeki kalıtımın işlevsel bölümlerindeki varyasyondur. Belirli bir coğrafi alandaki türlerin çeşitliliği, mevcut çeşitliliği değerlendirmek ve biyolojik çeşitliliğin korunması için kullanılır. Bitki genetik çeşitliliği, tarımsal ilerlemenin önemli bir bileşenidir (Harlan et al., 1971).

Moleküler markör çalışmaları sadece klasik ıslah yerine kullanılamamakta fakat klasik ıslahın başarısını artırmayı sağlayan destekleyici ve tamamlayıcı yöntem gibi görülmektedir. Gün geçtikçe gelişen moleküler markör teknolojisi ve markör destekli seleksiyon yöntemi sayesinde bitki ıslah çalışmaları daha da etkin olarak yürütülerek, klasik ıslaha kıyasla daha kısa vakitte başarılı ve güvenilir sonuçlar verecektir (Yorgancılar, 2015).

Morfolojik ve fenotipik karakterizasyonlar, genetik farklılaşmayı ölçmenin kolay bir yolunu sunar bu yüzden genetik değişkenliği değerlendirmek için kullanılmışlardır. Domateslerde fenotipik değerlendirme geleneksel olarak tohum ve meyve özelliklerine göre dayanmaktadır. Tüm bunlara ek olarak karyolojik çalışmalar bitki tanımlama, sınıflandırma ve taksonomi bölümlerinde kullanılmıştır. Bu çalışmalar bitkinin kökeni, evrimi ve karşılıklı ilişkileri hakkında önemli bilgiler sağlamıştır (Asraf et al., 2007). Karyotip, sitogenetik ve kromozom evriminin temeli olarak kabul edilmiş olan kromozomların sayısını, boyutunu ve şeklini kapsar. Kromozom sayısı bir türden diğer türe göre değişir.

*Solanum lycopersicum* yani domatesin kromozom sayısı  $2n = 24$ 'tür. Fedorov (1969) yaptığı çalışmalarla, farklı ekili domates çeşitlerinde 24 ve 26 kromozom bulunduğunu saptamıştır. Sıcaklık değişimi, termodinamik etkiler vasıtasıyla kromozom yapısını (süpramoküler) ve DNA'yı (moleküler) etkileyebilir (Cave, 1981).

Fenotipik değerlendirme, çeşitlerin intraspesifik ayrımcılığı için yeterli olacak kadar varyasyon göstermez ve çevresel etkilerden etkilenen sınırlı sayıda fenotipik özellik içerir. Moleküler bilgi ise genetik yapıya daha derin bir bakış açısı sağlar, belirteç tekniklerini kullanarak heterozigot lokusları tespit ederek daha gerçekçi genetik ilişkileri ifade eder. Ayrıca moleküler değerlendirmenin daha fazla belirteci vardır ve basit kalıtımın nötr özelliklerini temsil edebilir bu yüzden fenotipik değerlendirmeden daha elverişlidir (Glowacka, 2004). 1990'dan beri RAPD, AFLP ve SSR dahil olmak üzere çok sayıda moleküler teknik mevcuttur.

İlerleyen zamanlarda genetik çeşitliliği değerlendirmek için kullanılabilecek otuzdan fazla farklı moleküler belirteç türü oluşturulmuştur. Bu genetik belirteçler kullanılarak tarımsal genetik varyasyonu karakterize etmek için yaygın olarak kullanılır (Selvi and Khader, 1993). Uzun yıllardır gen kaynaklarını toplama çalışmaları devam etmekte ve bu kaynaklardan birçok ıslah çalışmasında genetik havuz olarak yararlanılmaktadır (Durdu, 2022).

Ülkemizde de önemli bir kültür türü olan domates meyvesi üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış, popülasyonların toplanma çalışmaları yıldan yıla çoğalmıştır. Bu çalışmalar içerisinde gen kaynaklarının muhafazası amacıyla çok sayıda genetik materyal toplanmış olsa da mevcut envanterin karakterizasyon çalışmaları kapsamında bazı eksikler olduğu söylenebilir (Durdu, 2022).

Domates meyvesi üzerinde günümüze kadar yapılan ıslah çalışmalarında, hastalıklara dayanıklılık, tarlalarda dayanıklılığın sağlanması, pazarlara ulaşım, albeni ve raf ömrünü artırmak gibi faktörlerin yanında rengi, meyve iriliği ve daha birçok fenotipik özellikler üzerinde de durulmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda birçok ticari domates çeşitleri geliştirilmiştir. Islahçıların, yetiştiricilerin ve tüketicilerin birbirine bağlanmasını sağlayan domates ıslah programları gün

geçtikçe artmakta ve tüketici pazarı için geliştirilen çeşit sayısı da bir o kadar artmaktadır (Rocha et al., 2013).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de domates ıslahı üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar sayesinde her geçen gün yeni çeşitler piyasaya çıkmakta bu da yüksek bir rekabeti beraberinde getirmektedir. Ülkemizde domates hakkında yapılan ıslah çalışmalarında son zamanlarda oldukça önemli başarılar sağlanmıştır (Kıymacı, 2021).

### **1.3 Bitki Islahında Genetik Çeşitliliğin Önemi**

#### **1.3.1 Bitki ıslahının önemi**

20. Yüzyılda Mendel ve Darwin yapmış olduğu keşifler ile genetik ve bitki ıslahı için bilimsel temeli oluşturmuştur (Rocha et al., 2013). Biyoteknoloji, genomik araştırmalar ile moleküler markör uygulamalarında olan ilerlemelerin geleneksel olarak yapılan bitki ıslah uygulamaları ile bütün hale getirilmesi ile birlikte 21. yüzyılda moleküler bitki ıslahının temelini oluşmasını sağlamıştır. Günümüzde iklim değişikliği ve küresel ısınma şeklinde belirti gösteren küresel problemler, genetik kaynakların bizler için değerinin ve öneminin anlaşılmasını sağlamıştır. Gün geçtikçe çoğalan dünya nüfusunun gıda ihtiyacı yüksek verimli çeşitler geliştirmek yolu ile karşılanmıştır (Selvi and Khader, 1993).

Tüm dünyada ciddi bir şekilde yayılan çevre sorunlarının sınırları aşan niteliğine paralel olarak, uluslararası düzeyde çözümlerin geliştirilmesi için çalışmalar ve araştırmalar artmıştır. Biyolojik çeşitlilik, gıda gibi insanların esas gereksinimlerini karşılaması açısından vazgeçilemez bir konumdur. Biyolojik çeşitlikte oluşan kayıplar aynı zamanda ekolojik hizmette de kayıpların yaşanmasına sebep olmaktadır. Ülkemiz biyolojik ve bitkisel çeşitlilik açısından oldukça zengin olmasına rağmen yaşanan çeşitli negatif durumlar sebebi ile biyolojik çeşitlilik kaybıyla karşılaşmaktadır (Glowacka, 2004).

Tüm bu durumların sonucunda ortaya çıkma ihtimali olan olumsuz etkiler dikkatlice ele alınıp incelendiğinde, yaşanan sürekli ve hızlı değişimdeki etkiler, dünyadaki uluslararası kurum kuruluşların bu durum karşısında kaygılanmalarına sebep olmuştur. 1992 yılında imzaya açılan Birleşmiş Milletler Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi doğal kaynakların korunması için yapılan taahhütlerden biridir (Durdu, 2022).

Bitki ıslahının temel amacı, karakter olarak gelişmiş olan bir veya birden fazla çeşit, hibrit çeşitler üretmek amacıyla ebeveynler elde etmektir (Bilgin ve Korkut, 2005). Bitki ıslahı aynı zamanda, yüksek kaliteli, verimli, olumlu olmayan çevre koşullarına, hastalık ve zararlılara karşı daha dirençli çeşitler elde etmektir (Alkemade vd., 2009).

Bitki ıslahı, ekonomik açıdan oldukça önemi olan tür, bitki cins ve çeşitlerinin genetik yapısını, genetik ve sitogenetiklerden faydalanarak üretici ve tüketicinin arzuları yönünde planlı, programlı bir biçimde değiştirme ve geliştirmektir (Tosun ve Sağsöz, 2005). Bitki ıslahının asıl amacı, genetik yapıda gerçekleştirilen değişimden sonra oluşacak varyasyondan faydalanıp, yapılacak olan seleksiyon ile daha fazla verime ve kaliteye sahip, çevre şartlarına uyum kabiliyeti fazla olan yeni çeşitleri olabilecek en kısa zaman diliminde elde etmedir. Bitki ıslahındaki çalışmalarda melezlemelerle seleksiyondaki etkinlik ve genetik işlemler artırılır. Bu işlemler oldukça zaman gerektiren, zahmet isteyen ve fazla maliyetli işlemlerdir.

Moleküler biyoloji çalışmaları, 1953'te Watson ve Crick'in DNA yapısını açıklaması ile başlayıp 1990 yılından sonra büyük gelişmeler göstermiş, 1996 yılından sonra ise transgenik bitkilerin üretilmeye başlanmasıyla daha farklı bir görünüm kazanmıştır. Günümüzde alternatif olarak, klasik bitki ıslahı programları için tamamlayıcı nitelikte olan ve destek veren yeni moleküler biyoteknolojik yöntemler kullanılmaktadır. Moleküler markörlerden; kalitatif ve kantitatif özelliklerin ıslah edilmesinde, seleksiyon işlemlerinde, genetik ve linkage haritalamalarında, çeşitleri tanımlama ve koruma konusunda, genotipler arasındaki genetik uzaklığın belirlenmesi alanlarında faydalanılmaktadır (Bilgin ve Korkut, 2005).

Bitki ıslahında genetik çeşitlilik büyük önem taşır çünkü:

1. Adaptasyon: Çeşitlilik, bitkilerin farklı çevresel koşullara ve iklim değişikliklerine uyum sağlamasına olanak tanır.
2. Hastalık Direnci: Çeşitli genetik özellikler, bitkilerin hastalık ve zararlılara karşı direnç geliştirmesini sağlar.
3. Verim ve Kalite: Genetik çeşitlilik, verimliliği ve ürün kalitesini artıran yeni çeşitlerin geliştirilmesine olanak tanır
4. Islah Çalışmalarının Sürekliliği: Genetik çeşitlilik, ıslahçılara daha geniş bir gen havuzu sunarak, uzun vadede daha etkili çalışmalar yapmalarını sağlar (Vaughan et al., 2007).

Bu yüzden genetik çeşitliliğin korunması, sürdürülebilir tarım ve gıda güvenliği açısından kritik öneme sahiptir. Islah çalışmaları, bu çeşitliliği kullanarak daha dayanıklı ve verimli bitki türleri geliştirilmesine katkıda bulunur (Choudhury et al., 2014).

Genetik çeşitlilik doğanın bize sunduğu bir armağandır. Genetik çeşitlilik, mevcut verimliliği artırarak gıda güvenliğinin sağlanmasında oldukça önemli bir role sahiptir (Bhandari et al., 2017). Genetik çeşitlilik, herhangi bir ürünü iyileştirmenin temelidir. Yüksek verimli ürün çeşitlerinin geliştirilmesi, iyileştirilmiş kaliteye sahip olan, tercih edilen çeşitler ile genetik çeşitlilik sağlanır. Genetik çeşitlilik çeşitlerin zararlılara, hastalıklara, sıcak ve soğuk stresine karşı direncinin artırılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Smale et al., 2002). Bitki yetiştiricileri genetik kaynaklardaki çeşitliliği; gıda güvenliğini, sürdürülebilirliği ve iklim değişikliğine adaptasyonu etkileyen küresel açıdan zorlukları ele almak amacıyla yeni ürün çeşitleri geliştirmek için kullanırlar. Genetik çeşitlilik, bir birey popülasyonundaki DNA dizisindeki farklılıkları inceleyerek değerlendirilebilir (Choudhury et al., 2014).

Bitkilerde daha fazla genetik çeşitliliğin olması onlara ani çevresel değişikliklere uyum sağlama konusunda dikkate değer bir yetenek kazandırır. Çeşitli genomik araçlar ve ıslah yöntemleri, genetik çeşitliliğin ticarileştirilmiş ürün çeşitlerine dahil edilmesinin verimliliğini ve hassasiyetini geliştirmiştir, ancak bitki

ıslahı hala zaman ve kaynak açısından yoğun bir süreç olarak devam etmektedir (Vaughan et al., 2007).

Bitkilerde yapılan ıslah çalışmalarında melezleme yolu ile genetik işlemlerin ve seleksiyondaki etkinlik artırılmak istenmektedir. Ama yapılacak olan bu işlemler fazla uzun zaman isteyen, zahmet ve yüksek maliyet gerektiren işlemlerdir ve ıslahı yapılmak istenen bitkinin tipine göre değişiklik göstermektedir (Şehirali vd., 2005). Moleküler belirteçler bir gendeki gerekli kombinasyonların daha erken tanımlanmasına yardımcı olur. İstenen bir genotipin bitki çiçeklenmesi gerçekleşmeden önce tespiti tam olgunlaşması beklenmeden ya da hibriyolojik tespit analizi yapılmadan yaklaşık bir yıl kadar üreme sürecinde bitkilerin melezlenebilmesine imkan sağlamaktadır (Şehirali vd., 2005).

Thomas Morgan yaptığı çalışmalarla özelliklere ait kalıtım ve genetik rekombinasyon özelliklerine ait bağlantısını bulmuştur. Yapmış olduğu bu buluş kalıtsal kromozom teorisinin ana hatlarını oluşturmuştur. Teorinin gelişmesi ve ardından bağlantı gruplarının ortaya çıkması ile genetik belirteçler ile alakalı bir konsept oluşturulmasıyla bitki ıslahı markör uygulama alanı haline gelmiştir (Zietkiewicz vd., 1994). Geleneksel ıslah süreç açısından oldukça maliyet gerektirir ve kullanılacak olan maddi kaynaklar vakit olarak çeşitliliğin oluşması 12 ila 15 yıl veya daha da uzun yıllar sürebilir (Bilgin ve Korkut, 2005).

#### **1.4 Moleküler Markörler**

Moleküler markörler, genomdaki bir gen bölgesi veya gen bölgesiyle alakalı içerisindeki DNA parçasıdır. Moleküler markörler, bitki veya hayvan mikrobiyal türlerinin genomik yapısını anlamamızı sağlayarak fonksiyonel ve yapısal açıdan oldukça önemlidir (Liu vd., 2014). Moleküler markörler; genetik markörlerin DNA tabanlı çeşidini oluşturur bu yüzden DNA markörleri de diyebiliriz. DNA markörleri, çeşitli genotipe sahip DNA dizilişlerinin farklarını çıkarmayı sağlayan markörlerdir (Botstein vd., 1980). Nükleik asit temeline bağlı olan genetik markörlerin genom analizlerindeki kullanım alanı ıslah araştırmacıları tarafından ihtiyaç duydukları bir konuma sahiptir. Moleküler markörlerden kullanım

sağlayarak birbirlerine morfolojik açıdan oldukça yakın olan kültür çeşitlerinin seçimi yapılarak tanımlanması sağlanabilir (Gupta vd., 1994).

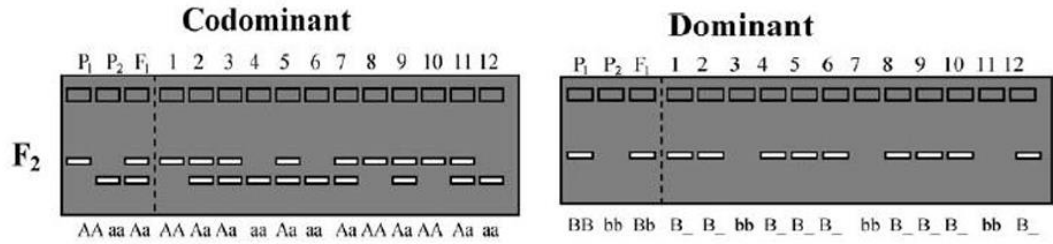
Moleküler markör yöntemleri, DNA molekülünün içindeki polimorfik alanların tespit edilmesine dayanmaktadır. Eğer popülasyonda herhangi bir gen veya özelliğe ait birden çok formu bulunuyor ise o gen veya fenotipik özellik polimorfiktir. Polimorfizm; DNA veya kromozomal yapı, amino asit dizisi veya fenotipik özelliklere ait varyasyon tarzı çeşitli şekillerde görünebilmektedir (Gupta vd., 1994). Herhangi kısımdan alınan çok az miktardaki doku parçası, tam bir genomun analiz edilebilecek olduğu DNA'yı elde edebilmek için yeterlidir (Botstein vd., 1980). Ayrıca DNA markörleri stabildirler, bütün dokular üzerinde meydana çıkabilir, çevre şartlarından etkilenmez, kodominant veya dominant özelliklere sahip olanları da bulunurlar (Williams vd., 1990).

Kullanılmakta olan teknikler açısından moleküler markörler, Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) Dayalı Markörler ve Hibridizasyona Dayalı Markörler olarak iki ana kısma ayrılmaktadır (Botstein vd., 1980). Hibridizasyona dayalı markörler; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism/Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi), PCR tabanlı markörlere örnek verecek olursak; RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA/Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism/Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat/Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm), SSR (Simple Sequence Repeat/Basit Tekrarlı Diziler veya - Mikrosatelitler) verilebilir (Botstein vd., 1980).

Monomorfik markörler tanım olarak genotipler arasında farklılık göstermeyen markörlerdir. Polimorfik markörler ise aynı ya da farklı türlerin bireyleri arasında farklılık göstermekte olan markörlerdir. Polimorfik markörler farklılıkları belirlediğinden dolayı monomorfik olanlardan daha çok faydalıdır (Yorgancılar vd., 2015).

Polimorfik markörler, heterozigotlar ve homozigotlar arasındaki ayrışma özellikleri bakımından kodominant ve dominant karakter olarak ayrılırlar. Dominant markörler bulunması ya da bulunmaması açısından belirlenir,

kodominant markörler ise boyutları açısından farklılıklar gösterir. Markör allelleri tanım olarak bir DNA markörünün farklı biçimleridir. Sonuç olarak kodominant markörler farklı çeşitte çok sayıda allele sahip olabiliyor fakat dominant karaktere sahip markör sadece iki adet allele sahip olabilir. Şekil 1’de kodominant markörler ile homozigotlar-heterozigotların farkı net olarak görülmektedir. Fakat dominant markörler böyle bir ayrım yapamaz (Yorgancılar vd., 2015).



Şekil 1.4. Dominant ve kodominant markörlerin karşılaştırılması.

#### 1.4.1 Hibridizasyona dayalı moleküler markörler

##### 1.4.1.1 RFLP (restriksiyon fragment length polymorphism/sınırlı parça uzunlukları polimorfizmi)

Yapılan genetik benzerlik çalışmalarında DNA tabanlı parmak izi teknolojileri oldukça yararlı olduğu kanıtlanmış bir gerçektir, RFLP bitki türlerinde yapılan çeşitlilik tahmini açısından yaygın olarak kullanılmaktadır fakat yakın zamanda geliştirilen PCR tabanlı markör yöntemleri mevcut olarak kullanılmaktadır (Gupta vd., 1994). Hücreden izole edilmiş olan genomik DNA, belirli noktalardan nükleik asitlerin dizilimlerini tanıyabilen DNA kesim enzimleri tarafınca kesilmesiyle prob DNA'nın melezlendiği DNA çevresindeki farklı kesim yapılarının belirlenme yöntemidir (Botstein vd., 1980). RFLP markör sistemi olarak PCR temelli olmadan geliştirilmiştir. RFLP markörleri özellik olarak kodominanttır yani eşbaskındır (Bark ve Havey, 1995). Böylece heterozigotların da karakterize edilmesini sağlamaktadır. RFLP, PCR esaslı yöntemlerin meydana çıktığı döneme kadar fazlasıyla yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Dezavantajlarından dolayı ve PCR temelli yöntemlerin avantajları nedeniyle kullanım olarak bazı çalışmalar ile kısıtlı şekilde kullanım gösteren yöntemdir (Bark ve Havey, 1995).

RFLP yönteminin avantajları:

- Transferi; cinsler, türler ve familyalar arasında sağlanabilir.
- Güvenilirdir çünkü farklı laboratuvarlarda hatta farklı araştırmacılar benzer verilere ulaşılabilir.
- Karakter olarak kodominant özelliktedir, heterozigotların belirlenmesi açısından oldukça yaygındır.
- Polimorfizm seviyesi orta derecedir.

RFLP yönteminin dezavantajları:

- Analizi fiyat bakımından pahalı, fazlasıyla zaman ve iş gücü istemektedir.
- Radyoaktif etiketleme tekniği kullanılıyor.
- Kaliteli bir DNA'ya gereksinim duymaktadır.
- Sayı olarak az miktarda kopyalanmış olan dizilişler genomlarda belirli kısımlarda kümelenmeleri nedeniyle genomda düzensiz dağılışı gösteremediklerinden haritalama negatif olarak etkilenir. Sonuç olarak RFLP markörleri ile elde edilmiş olan haritalarda çoğunlukla büyük boşluklar görülebilir (Glowacka, 2004).

#### 1.4.2 Polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı moleküler markörler

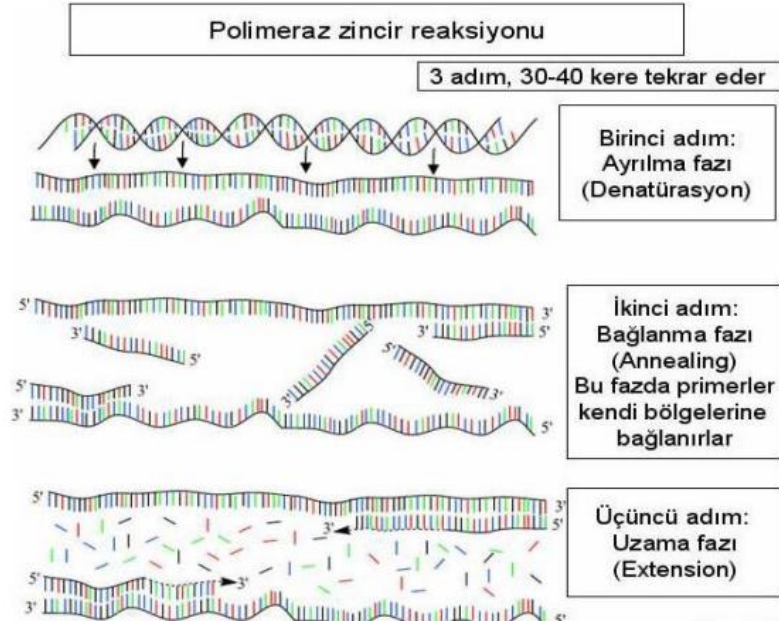
Tarihsel olarak 1980'lerin ortasında Cetus firması araştırmacıları tarafından yapılan çalışmalarla geliştirmiş oldukları klonlama yöntemi, DNA haritalaması ve dizi analizi tarzı moleküler biyoloji çalışmalarında kullanımı başlamıştır. PCR, in vitro şartlar altında DNA'nın enzimatik bir şekilde sentezletilmesini sağlar. PCR yönteminin gelişiminde en önemli konu *Thermus aquaticus* tarafından elde edilmiş olan sıcaklıklara dirençli polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) keşfidir. Bu enzimin vasıtasıyla hücrede doğal koşullarda gerçekleşebilme yeteneğine sahip olan doğal DNA replikasyonu laboratuvar koşullarında 'termocycler' adında özel makineler yardımıyla gerçekleşmiştir (Yorgancılar, 2015).

Botstein ve arkadaşlarına göre, PCR yönteminin ortaya koyulmasıyla AFLP, SSR, RAPD markör sistemleri ilerleyen dönemlerde gelişmiştir. Bu teknik

sayesinde az bir miktardaki DNA parçacığı bir dizi enzimatik reaksiyonlar sonucunda defalarca çoğaltılabilir. Fakat çoğaltılan bölümler DNA'nın tüm kısmı değildir, DNA'nın istenilen ya da rastgele sentezlenmiş olduğu alanlardır. PCR, çift iplikçikli yapıya sahip olan DNA molekülünü tek bir zincire ayırıştırarak hedef olan dizilere oligonükleotid bir primerin bağlanmasına ve uzamasına dayanmaktadır. Primerler, kalıp halindeki DNA molekülleri yüksek sıcaklık seviyesindeyken denatürasyona uğratılmanın ardından, tek iplikçikli DNA moleküllerinin üzerinde kendileri için tamamlayıcılığı olan kısımlara bağlanmaktadır. Hedef bölgelere bağlanacak olan primerler de düşük sıcaklık seviyelerinde bağlanmaktadır. Reaksiyon koşullarında polimeraz enzimi, ihtiyacı olduğu  $MgCl_2$  ve DNA üretimi için kullanılması gereken olan Adenin (A), Sitozin (C), Timin (T), Guanin (G) nükleotidleri, pH derecesini, tuz konsantrasyon oranını optimum seviyeye getirecek olan tampon çözelti dahil olmak üzere hepsi gerekli miktarda bulunur (Yorgancılar, 2015).

Bir PCR döngüsü üç kısımdan oluşur:

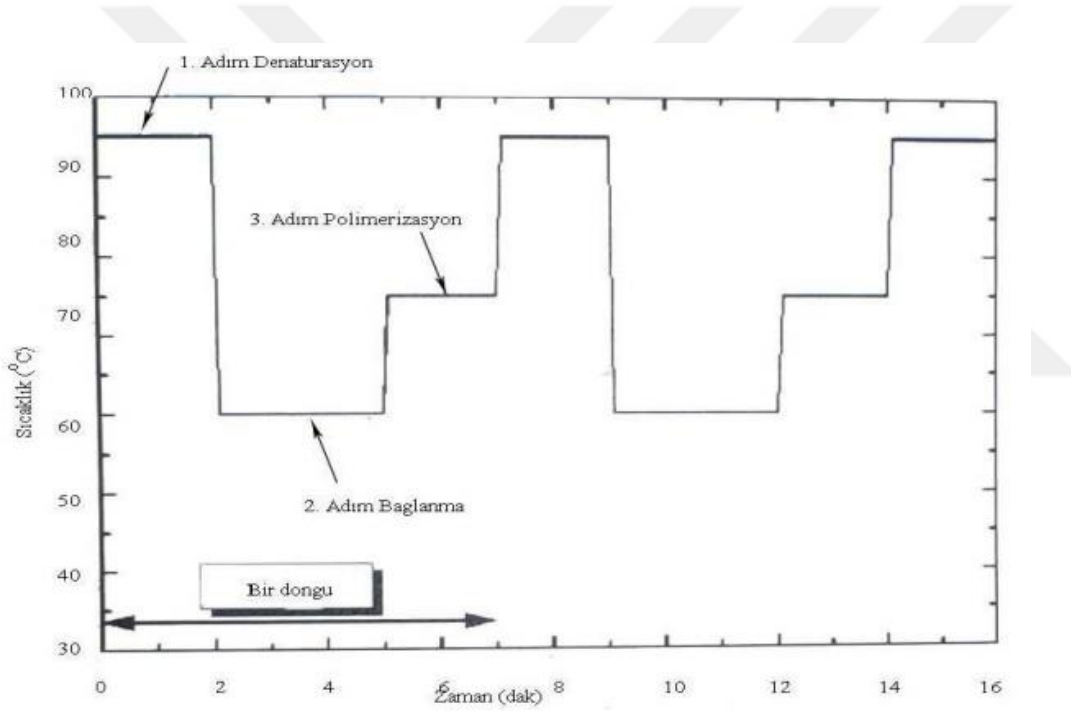
- DNA iplikçiklerinin ayrılıp açılıma uğraması (Denatürasyon),
- Primerin bağlanması (Annealing),
- Uzama (Extension)



Şekil 1.5. PCR döngüsü.

İlk olarak 95 °C gibi sıcaklıkla kalıp halinde olan DNA'nın çift sarmalı açılarak DNA tek iplikçikli şekle getirilmektedir. Ardından primerin içerdiği nükleotide bağlı olarak 30-60 °C civarında sıcaklık ile başlatıcı olan DNA kalıp halindeki DNA'ya yapışır (bağlanma). En son aşama 72 °C sıcaklıkta Taq DNA polimeraz enzimi ortamda bulunan nükleik asitleri (A-G-C-T) kullanır ve uygun olarak görülen DNA kısmı çoğalır.

Söz edilen aşamalarda sadece 1-2 dakikalık bir süre kullanılmaktadır. Bu üç aşama isteğe ve ihtiyaca yönelik defalarca tekrarlanabilir. DNA amplifikasyonu, her DNA molekülü üzerinde istenen kısımların iki kat seviyeye çıkmasıyla tamamlanır (Yorgancılar, 2015).



Şekil 1.6. PCR'in çalışma prensibi (Yorgancılar, 2015).

PCR yöntemi günümüzde birçok farklı alanlarda oldukça sık kullanılıyor. PCR yönteminin esas kullanıldığı alanlar şöyledir:

- Tanılama ve teşhislerde,
- Genetik yapısı değiştirilmiş olan bitki ya da mikroorganizmaların analizi,
- DNA klonlaması,
- Adli tıp vakalarında saptama ve genetik akrabalıklar

DNA dizilişleri her genotipte farklıdır, primerlerin aynısı kullanılacaksa bile her genotipteki DNA ürünleri farklı olur ve bu elde edilen farklı üretimler genetik markör amacıyla kullanılır. Bu amaç doğrultusunda farklı DNA markör çeşitleri kullanılmakta, gün geçtikçe geliştirilmektedir. PCR kullanımına dayalı markörler arasında AFLP, RAPD, SSR ve ISSR gibi DNA markörleri araştırmalarda sık sık kullanılır (Yorgancılar, 2015).

#### **1.4.2.1 ISSR (Inter simple sequence repeat/Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm)**

ISSR tekniği, ökaryotik genomda iki, üç, dört, beş defa tekrar eder, nükleotid boyunca lokustan bağımsız olarak genomda rastgele dağılım gösteren, hassasiyeti ve tekrarlanabilmesi yüksek olan bir tekniktir (Zietkiewicz vd., 1994). ISSR markörleri kullanım olarak pratik, uygulanabilme açısından kolay ve daha uzun primerlere sahip olduklarından güven seviyesi oldukça yüksektir (Bornet, 2001). ISSR primerlerini kullanması az bütçeli, zamandan tasarrufu olan ayrıca genetik analizlerde kolaylık sunmaktadır. Aynı zamanda Mendel kalıtımına uygun olarak dominant karakterli belirteç elde edilebilmektedir (Wang vd., 1998).

Buna ek olarak heterozigotluğun ve homozigotluğun tanımlanmasında kodominant belirteçlerde elde edilebilir (Wang vd., 1998). ISSR, konum olarak birbirine fazlasıyla yakın ve karşılıklı şekilde konumlanmıştır. Bunlar tekrar eden bölgelerde olan yaklaşık 100-3000 bp uzunluğa sahip DNA parçacıklarıdır. ISSR, mikrosatellitler arasında tekrarlanmış olan DNA dizilerinin PCR yöntemi ile çoğaltılmasıdır. ISSR markörleri genetik çeşitlilikte, genetik yapı konusunda, filogenetik araştırmalarda, gen tespitinde, genom haritalamasında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Zietkiewicz vd., 1994).

#### **1.4.2.2 SSR (Simple sequence repeat/Basit tekrarlı diziler veya Mikrosatellitler)**

Mikrosatellitler ya da SSR, ökaryotik genomlar boyunca dağılan, ardışık şekilde tekrarlanan iki-altı nükleotid gruplarıdır. Bu gruplar örnek olarak (AT)<sub>n</sub>, (GACA)<sub>n</sub>, (GT)<sub>n</sub>, (ATT)<sub>n</sub> biçiminde gösterilmektedir. n ise ardışık tekrar sayısıdır.

DNA dizileri mikrosatellitleri çevrelemektedir ve genelde aynı cins bireylerin arasına girerek korunmuş durumdadır bu yüzden ayrı genotiplerde denk gelen SSR'ların PCR primerleriyle çoğaltılır. Ardışık olan SSR tekrarlarının sayılarındaki fark PCR sonucundaki değişik uzunluktaki parçaların çoğaltımı ile sonuçlanmaktadır. Bu tekrarlar oldukça yakın çeşitler ve türlerde bile tekrar eden ünitelerde sayı olarak değişikliğe sebep olan mutasyonlar nedeniyle fazlasıyla polimorfiktir (Gupta vd., 1994). SSR'ları sarmalayan korunan DNA dizileri primer şeklinde kullanılır ve PCR yöntemi yoluyla lokuslardaki farklı alleller saptanabilir. Fakat bu yöntemin kullanılabilmesi için alakalı lokuslara ait primer sekanslarını öncesinde bilmek gerekmektedir. Araştırmacılar açısından rahat bir biçimde kullanılabilmesi için kullanılacak primerler belirlenir (Röder vd., 1995).

Mikrosatellitlerin olumsuz yanı yeni bir markör geliştirilmedeki zorluğudur. Yeni bir markör geliştirmek, genomik DNA klonlarının tekrar eden oligonükleotid içermekte olan problemler ile melezlenme yöntemiyle bulunuyor olması, nükleotid dizilimlerinin belirlenebilmesi, yan yana tekrar eden yapıların başlama ve bitme alanlarına özgü başlatıcı DNA'lar geliştirmek gerekir.

SSR, öncelikli olarak insanlar için tanımlanmıştır sonrasında aynı bulgular hızlıca diğer organizmalarda kullanımı başlamıştır. Fare, domuz ve sığır gibi hayvanlarda çalışmalar sürmüştür. Ardından bitkilerdeki çok sayıda türün açısından fazlasıyla önemli olan markörler başarıyla izole edilmiştir, yapılacak olan çalışmalarda kullanımı başlamıştır. Bitkiler için yapılan genetik haritalamalarda SSR yönteminin kullanımı, avantajlarından dolayı gün geçtikçe çoğalmaktadır. SSR'lar yüksek düzeyde polimorfiktir bu yüzden bitkiler için fazlasıyla bilgi verebilmektedir. Diğer yandan kodominant (eşbaskın) markör verdiği için ve PCR kolaylığına sahip olmasından dolayı kullanımı artmaktadır (Röder vd., 1995).

#### **1.4.2.3 RAPD (Random amplified polymorphic DNA/Rastgele çoğaltılmış DNA polimorfizmi)**

RAPD, PCR yöntemi kullanılarak sentetik olarak sentezlenmiş primerlerin vasıtasıyla yapılan tesadüfi DNA parçalarının çoğaltımıdır (Williams vd., 1990).

Uzunluk olarak 10 nükleotide sahip başlatıcı DNA'lar kullanılır ve genomun üzerinde tesadüfi olarak seçilmiş olan DNA kısımlarının çoğaltılmasıdır. Sadece bir çeşit primer kullanılmaktadır ve iki DNA iplikçisinin 5'→3' yönünde çalışmaktadır, sonuç olarak kullanılmış primerin yapışabileceği DNA üzerinde birbirlerine yakın olan iki alanın amplifikasyonu yapılmaktadır. Amplifikasyon ürünleri agaroz ya da poliakrilamid jel elektroforezde ayrılabilir ve etidyum bromür veya gümüş nitrat boyamasıyla görüntülenebilmektedir. RAPD yöntemi markör teknolojisinde kolaylıkla uygulanır. RFLP yönteminin aksine az miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulur (Devos ve Gale, 1992). Vakit açısından tasarrufun yüksektir, primerlerin tasarımı basittir bunun gibi sebeplerden dolayı tercih edilen bir markördür (Chen vd., 2015).

Kullanılan bu primerler ileri ve aynı zamanda geri primer görevi görmektedir ve çoğaltılmakta olan DNA parçacıklarının boyutu ortalama 0.5–5 kb civarında değişir (Kress vd., 2005). Polimorfizm, primerlerin bağlandığı kısımlarının farklılık durumudur, oluşan çeşitli uzunluğa sahip DNA parçalarının analiziyle belirlenir (Williams vd., 1990).

Dezavantaj olarak tekrarlanabilme durumunun fazla olmamasıdır (Kesawat ve Das, 2009). RAPD markörleri vakit ve maliyet bakımından olumludur fakat dominant markörlerdir bu nedenle yorumlanması zor, komplekstir. Tekrar eden büyük bantların kullanıldığında dahi varyasyonun genetik veya farklı mikroorganizma kaynaklı kontaminasyon ve amplifikasyon esnasında oluşan problemlerden mi olduğunun saptanamaması dezavantajlarından biridir (Lavi vd., 1994).

RAPD-PCR tekniğinin, genetik varyasyon araştırmasında, bitki genetik haritalamasında ve markör yardımı ile seleksiyonda fazla olarak kullanılmasının sebebi, bu yöntemin diğerlerine kıyasla daha uygun daha az DNA'ya ihtiyaç duyulması ayrıca otomasyon bakımından uygun olmasıdır.

RAPD yönteminin sahip olduğu avantajlar:

- Hızlı sonuçlanır, maliyet açısından ucuz, iş gücü gereksinimi daha azdır.
- DNA miktarının az olması yeterlidir.
- Polimorfizm seviyesi oldukça fazladır.

RAPD yönteminin sahip olduğu dezavantajlar:

- Güvenilirlik açısından sınırlı bir yöntemdir.
- Çeşitli bir laboratuvar da daha başka sonuçlar çıkabilir, örnek olarak termocycler cihazından diğer cihaza geçildiğinde dahi farklı bir sonuç çıkabilir (Devos ve Gale, 1992).
- Dominant bir markör olduğundan dolayı bu yöntemle elde edilmiş olan markörlerin başka haritalara transferi konusunda zorluklar çıkarabilir. Dünyadaki birçok moleküler genetik laboratuvarlarında ayrı bitki çeşitlerinde RAPD yöntemi başarılı olmuştur. Örneğin arpa buğday, mısır, nohut, fasulye ve patates gibi bitkilerde RAPD yöntemi aktif olarak kullanılmıştır. Ravi vd. (2003), türler arasındaki akrabalık durumunu ölçmek amacıyla kültürü yapılmakta olan bir bitkide SSR ve RAPD markör yöntemlerini karşılaştırmışlardır. RAPD yöntemine kıyasla SSR yönteminin sonuçları genetik akrabalık analizinde daha gerçekçi olduğu araştırmacılar tarafından saptanmıştır (Lavi vd., 1994).

#### **1.4.2.4 AFLP (Amplified fragment length polymorphism/Çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi)**

1995 yılında Vos ve arkadaşları, RAPD-PCR yönteminin özelliklerinden faydalanarak RAPD yönteminin olumsuz kısımlarını tolere etmek için AFLP metodunu geliştirmişlerdir. AFLP yönteminin tekrarlanabilirlik durumu, polimorfizm seviyesi RAPD-PCR yöntemine kıyasla daha fazladır. Burada genomik DNA öncelikle 6 sonra 4 taban tanıyabilen 2 kesim enzimi vasıtasıyla kesilmektedir. Kesilmiş olan parçacıkların uçlarına nükleotid dizilimi bakımından sentetik yapıdaki DNA'lar eklenmektedir. Eklenmiş olan sentetik yapıdaki DNA'nın nükleotid dizilimini taşımakta olan başlatıcı DNA'lar kullanımıyla

spesifik DNA çoğaltımı yapılmaktadır. İşlem iki aşamalıdır. İlki ön üretilimdir burada her bir uçtan DNA kesim enzimlerinin tanıdığı diziden sonra gelen ilk nükleotide göre seçici bir çoğaltma işlemi yapılmaktadır. Esas üretim ise ön üretimde oluşan parçaların kullanılmasıyla kesim enzimi tanıma yerinden sonra gelen ikinci ve üçüncü nükleotidler için seçici bir üretim işlemi yapılmaktadır. Tüm başlatıcılar sentetik uçların nükleotid dizilişini de taşıdığından dolayı üretim son derece spesifik koşullarda gerçekleşir.

Bu yöntemin polimorfizm seviyesi oldukça yüksektir. Kıyaslama yapılacak olursa maliyet, işgücü ihtiyacı ve güvenilirlik açısından RFLP ile RAPD arasındadır. Birçok sayıda lokusu aynı anda etkin olarak taradığı için parmak izi analizlerinde çokça kullanılır. AFLP yönteminin dezavantajlarından biri çoğunlukla dominant markör veriyor olması ve çeşitli genetik haritalar arasında transfer işleminin zor olmasıdır (Walton, 1993).

1997 yılında bir araştırmacı, kültürü yapılmakta olan 18 adet arpanın genetik varyasyonunu belirleme amacıyla SSR, AFLP, RFLP, RAPD gibi moleküler yöntemler denemişlerdir. Tüm bu markör çeşitlerinin polimorfizm oranının belirlenmesinde çeşitli etkilerinin olduğunu saptamışlardır. RFLP ve AFLP yöntemleri sonuç olarak birbirlerine benziyor olsa da SSR orta, RAPD'in daha düşük sonuç verdiğini saptamıştır.

AFLP yönteminin sahip olduğu avantajlar:

- RAPD yönteminden yavaştır fakat RFLP yönteminden hızlıdır.
- Maliyet, işgücü ve güven bakımından RFLP ve RAPD arasında yer almaktadır.
- Aynı anda birçok sayıda etkili olarak tarama yapmasından dolayı parmak izi analizlerine oldukça uygundur.
- Sayı bakımından RFLP'ye ve RAPD'e oranla daha çoktur.
- Genomik DNA'yla ön bilgiye ihtiyaç yoktur.
- Polimorfizm seviyesi fazladır.
- Otomasyona uygundur.

AFLP yönteminin sahip olduğu dezavantajlar:

- Genellikle dominant bir markördür. Fakat son zamanlarda kodominant markör de vermiştir.
- Çeşitli genetik haritalar arasında transferi zordur.

Çizelge 1.4. Moleküler markörlerin kıyaslanması (Genişel, 2013).

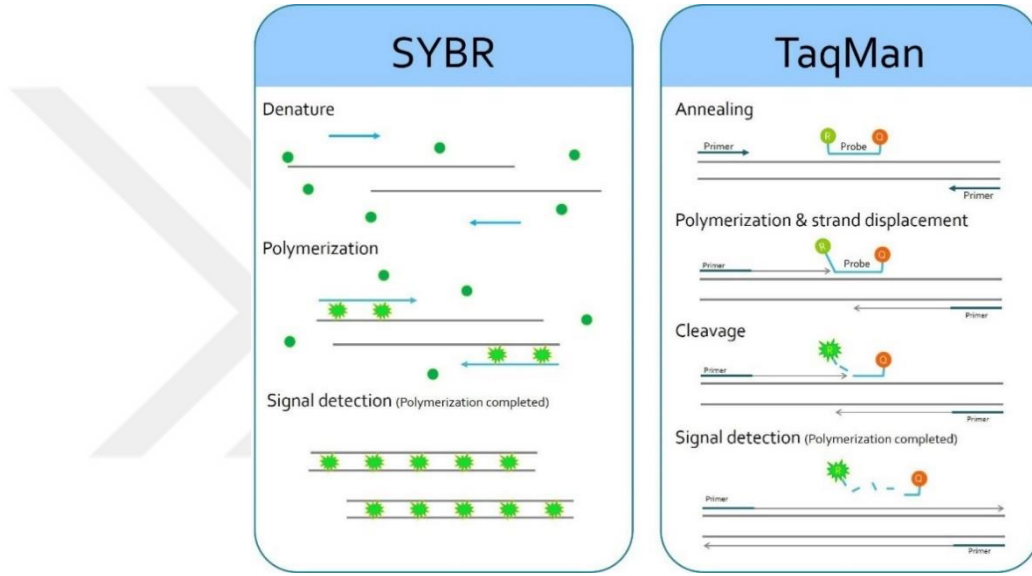
| Moleküler Belirteç Tekniği | PCR Temelli Olması | Polimorfizm | Dominantlık | Verimlilik | Otomasyon   | Maliyet |
|----------------------------|--------------------|-------------|-------------|------------|-------------|---------|
| RFLP                       | Hayır              | Düşük/Orta  | Ko-dominant | Yüksek     | Düşük       | Yüksek  |
| RAPD                       | Evet               | Orta/Yüksek | Dominant    | Düşük      | Orta        | Düşük   |
| AFLP                       | Evet               | Yüksek      | Dominant    | Yüksek     | Orta/Yüksek | Orta    |
| SSR                        | Evet               | Yüksek      | Ko-dominant | Yüksek     | Orta/Yüksek | Düşük   |
| ISSR                       | Evet               | Yüksek      | Dominant    | Yüksek     | Orta/Yüksek | Düşük   |

## 1.5 Gerçek Zamanlı PCR (Real-Time PCR veya qPCR)

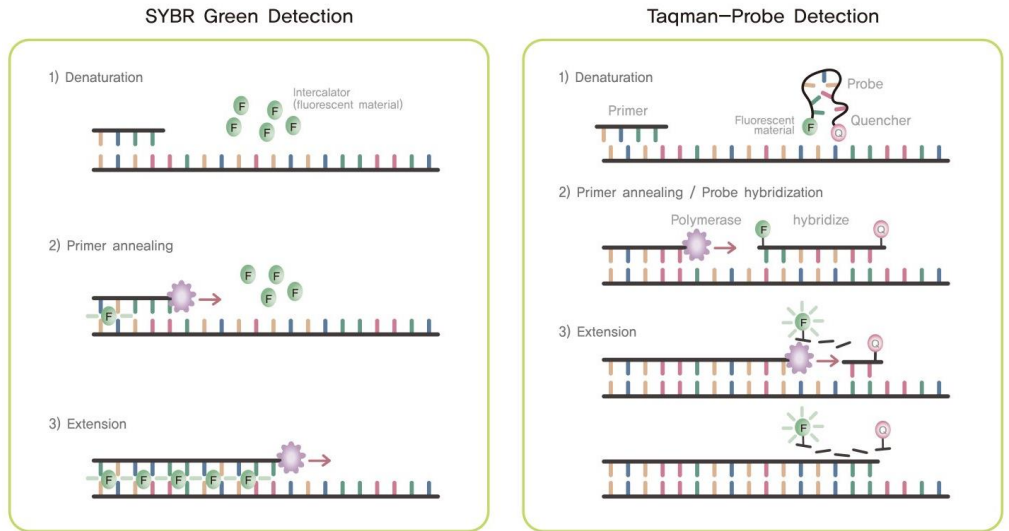
Real-Time PCR, PCR yöntemiyle çoğaltılmış DNA parçacıklarının çoğaltımını görünür kılabilen, monitörize edebilen floresan işareti olan problemlerin ve boyaların kullanıldığı, elde edilen DNA'yla floresanın dengeli olarak çoğaldığı, amplikon konsantrasyonuna ait değişimleri gerçek zamanlı bir şekilde algılayan ve saptayabilen bir yöntemdir. Real Time PCR yöntemi; spesifik olmayan çift sarmala sahip olan DNA'nın çoğaltılması için kullanılacak olan "SYBR Green I" tabanlı qPCR ve spesifik DNA kısmının çoğaltılmasında, tespit edilmesinde floresan işaretli problemlerden kullanım sağlandığı "TaqMan®" tabanlı qPCR olarak iki kısma ayrılmaktadır (Kralik and Ricchi, 2017).

SYBR Green I tekniğinde, reaksiyonun başlangıcında reaksiyon karışımında çift sarmallı DNA, primerler ve SYBR Green I floresan boyası bulunur. Primerlerin bağlanmasından sonra uzama işlemi başladığı anda SYBR Green I boyası çift ipliğe sahip DNA'ya bağlandıktan sonra floresan yayılımı başlamaktadır. DNA'daki artmaya paralel olarak yayılım gösteren floresan sinyalin Real-Time PCR monitöründe görüntülenmesi seviyesi de eş zamanlı artış gösterir (Kralik and Ricchi, 2017).

TaqMan® prob tekniğinde, çoğaltımı yapılmak istenen DNA'ya komplementer olan ve 5' ucu "fluorophore" ve 3' ucu "quencher" floresan boyayla işaretlenen tek zincire sahip olan prob kullanılmaktadır. Amplifikasyon esnasında hedefteki nükleik asit dizisi üstünde primer bağlanma alanları arasında TaqMan® prob lar bağlanır. Primerlerin bağlanmasından sonra yeni bir zincir oluşur ve probun bağlandığı alana varıldığında TaqDNA polimeraz enzimi 5'→3' nükleaz aktivitesiyle FAM'ı probdan ayırır. Ardından serbest halde kalan FAM sinyal verir. Döngülerde ürünün artışı arttıkça, floresan da dengeli şekilde artış gösterir (Kralik and Ricchi, 2017).



Şekil 1.7. Gerçek zamanlı PCR adımları.

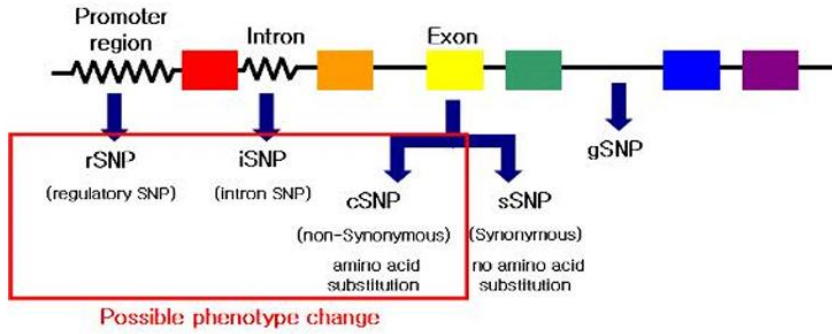


Şekil 1.8. Gerçek zamanlı PCR'de kullanılan floresan işaretleyiciler.

## 1.6 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) Yöntemi

SNP yöntemi, iki bireyin arasında belirli DNA parçacığındaki tek baz farklılığıdır. Başka deyişle, bir popülasyondaki örnek bireylerin arasında yüksek yer değiştirebilme özelliği gösterebilen bir nükleotid denebilir (Wang et al., 1998). SNP markörleri, 2000’li yıllardan beri mikroarray teknolojisine bağlı yeni bir generasyondur ve oldukça yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. SNP markör tiplerine ait analiz çalışmaları özellikle DNA mikroarray kullanımı gibi yüksek işlem hacmine sahiptir. Farklı DNA markör tipleri ile kıyaslandığında, SNP yöntemi yapılacak analizleri otomatik hale getirebilmekte ve genotip analizlerinin etkinliğini artırabilmektedir (Tyrka et al., 2004).

SNP yöntemi birkaç farklı kategoriye ayrılabilir. Bir gendeki SNP pozisyonuna bağlı olarak SNP’ler intron (iSNP), ekzon (eSNP), promotor SNP (pSNP1) şeklinde kategorize edilir (Tyrka et al., 2004) (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. SNP çeşitlerinin gendeki pozisyonu (Ravel et al., 20017).

SNP analiz teknikleri bilinen SNP’lerin saptanması için kullanımına bakımından sınıflandırılması ise şu şekildedir:

- 1) Hibridizasyona bağlı yöntemler
  - a) Mikroarray
  - b) Real time PCR
- 2) Enzime bağlı yöntemler
  - a) Nükleotid ilavesi
  - b) Kesme (Cleavage)

- c) Bağlanma (Ligation)
- d) Reaksiyon ürünü saptama ve gösterim

Domates bitkisinde, domatese ait genomda polimorfizm oranının belirlenmesi ve haritalaması için SSR, AFLP, SNP markörleri kullanılır. *Lycopersicon esculentum* ve *L. pennellii*'nin DNA sekanslarının silico ile yapılan kıyaslamalarında 312 tane SNP elde edilmiştir. *L. pennellii* genomik parçasının sekanslanarak *L. esculentum* ile karşılaştırılmasında ise 22 adet SNP elde edilmiştir. *L. pennellii* genomik DNA'sının *L. esculentum*'un SSR'lerini kapsayan DNA parçacıklarıyla kıyaslanması ve sekanslanmasıyla da 19 adet SNP elde edilmiştir (Simon et al., 2008).

Domates bitkisinde SNP tespiti üç yöntem ile gerçekleştirilir. Öncelikle olarak *L. esculentum*'un sekans verileriyle *L. pennellii*'den oluşan EST'lerin silico ile yapılan karşılaştırılmasında en az %98 homolojiyle 100 bç'lik alanda bir SNP tanımlanmıştır. Burada 50 EST'nin analizi 1:61 bç sıklıkla 312 adet SNP vermiştir. İkinci teknikte *L. pennellii*'nin genomik DNA parçacıkları *L. pennellii*'nin EST'lerinden elde edilmiş olan primerlere bağlı direkt olarak sekanslanmış ve *L. esculentum* verileriyle karşılaştırılmasında 1:92 bç sıklıkla 22 SNP adet oluşmuştur. Kullanılan diğer yöntemde mikrosatelit içeren *L. esculentum* sekansının primer kaynağı olarak kullanımıyla *L. pennellii*'nin genomik DNA'sı sekanslanmıştır ve *L. pennellii* DNA'sıyla 17 parçacık başarılı olarak çoğaltımı sağlanmıştir. Bu parçacıkların beş adetinin *L. esculentum* ile yeterli düzeyde homolojiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu teknikle 1:22 bç'lik sıklıkla 19 adet SNP bulunmuştur (Saskia et al., 2002).

### 1.6.1 SNP markörlerinin sahip olduğu avantajlar

SNP, DNA polimorfizm çeşitleri arasında en yaygın kullanılan yöntemdir. SNP'nin bu derece fazla olması ve kolaylıkla ölçüm yapılabilmesi, genetik farklılıkları önemli kılar. Genomda bulunan yüksek düzeydeki SNP lokusunun varlığı, genomik açıdan önemli olan diğer bitki genleri yanında, çeşitli 57 izolasyonu ve çalışmalar için gereken yüksek yoğunluğa sahip temel moleküler genetik haritalar geliştirebilme fırsatı tanır. SNP markörleri sahip olduğu bu olumlu

yanlarından dolayı çeşitlerin ve hatların sertifikalandırılması için de yoğun bir şekilde kullanılabilmektedir (Pavy et al., 2008).

SNP'ler sınırsız sayıdadır. Çok yüksek sıklıkla meydana gelebilme yeteneğine sahiptir. İnsana ait SNP veri tabanı dört milyondan daha fazladır. SNP markörleri yüksek sıklığa sahiptir bu nedenle oldukça büyük bir potansiyele sahiptir (Pavy et al., 2008).

Multiallelik markörlerin tam tersine biallelik SNP markörleri pratikte tamamen otomatikleştirilebilme özelliğine sahiptir. Birkaç bin SNP, DNA mikroarray uygulaması ile eş zamanlı şekilde analiz edilebilme yeteneğine sahiptir. Bu sebeple modern teknolojiyi kullanan SNP analiz etkinlikleri, oldukça vakit gerektiren diğer DNA analizi metotlarının aksine oldukça fazladır. Bunlara ek olarak diğer DNA polimorfizm türlerinin hiçbirisi SNP kadar çeşitli ve yüksek sayıda analizler yapamaz (Kota et al., 2001).

## 1.7 Kaynak Özetleri

Domates hakkındaki araştırmalar, kültüre alınmasından sonra oldukça hız kazanmıştır, önceleri yerel popülasyonların arasından üstün özelliklere sahip genotiplerin seçimi hakkında daha yoğun çalışmalar yapılmıştır. İlerleyen zamanlarda gen özellikleri, dizilimlerinin belirlenebilmesi gibi teknolojik yeniliklerle daha kapsamlı araştırmalar yapılmaya başlanılmıştır. Başta sadece klasik ıslah tekniklerinin kullanıldığı çalışmalar, biyoteknolojik yöntemlerinde çalışmalara dahil olmasıyla daha ileri bir boyut kazanarak farklı karakterleriyle öne çıkan çok sayıda F1 hibrit çeşit sektöre kazandırılmıştır. Domates ıslah programlarında hedeflenen, en az maliyetle birim alandan alınacak olan verimin kaliteden ödün vermeden yükseltilmesidir. Önemli olan bir diğer nokta, bütün stres etkenlerine en dayanıklı ve yüksek toleransa sahip, tüketicilerin isteğine ve yetiştirildiği ekosistemlere uygun genotiplerin oluşturulmasıdır (Mineo, 1990).

Domates bitkisi işlenmiş ve taze olarak kullanıma sahip olan, zengin mikro besin içeriklidir (Schieber vd., 2001). Domates tüketimi gün geçtikçe artmaktadır. Dünyadaki üretim miktarı geçtiğimiz 40 yıl içerisinde %300 artış göstermiştir. Gıda

Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının verilerine göre 2001’de 8.425.000 ton olan domates rekoltesi her yıl artarak 2017’de 12.750.000 tona çıkmıştır. Ülkemiz dünya çapında ise domates üreticisi bakımından üçüncü büyük üretici konumundadır (Anonim, 2017).

Mutlu vd. (2015) ’nın yaptıkları bir araştırmada, Frl geni için kullanılabilen birmarkör tasarlanmışlardır. Homozigot dayanıklı bireylerin 950 bp’de, hassas bireylerin 1000 bp’de ve heterozigot dayanıklı bireylerin ise 950-1000 bp’de band oluşturduğunu saptamışlardır. Araştırma sonucunda bu markörün ıslah çalışmalarında yararlanılabileceği öngörülmüştür.

El Mohtar vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ırk ikiye dayanıklılık sağlayan bir iki alleli için tasarlanmış olan markörler ile aynı ırk için dayanıklılık sağladığı bilinen 40 tane domates genotipinin 39 adetinde tahmin edilen sonucun elde edildiği, fakat 1 genotipin I-3 genine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca üç farklı ülkede bu yöntemin moleküler ve klasik analizlerle yapılmış çalışmalarda hala geçerli olduğu bildirilmiştir.

Güney İtalya’daki pembe domates türü üzerine yapılan bir çalışmada, *Verticillium dahliae* hastalık etmenine dayanıklılık genleri araştırılmış ve söz konusu domateslerin bu genlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Dayanıklılığı sağlayan Ve1 ve Ve2 genleri taranmış olup ve Ve1 dayanıklılık genine sahip olan bireylerde 1001 baz çifti uzunluğuna sahip bant profili elde edilmiştir. Ve2 genini taşıyan dayanıklı bireylerin ise 428 ve 601 bp’de bant oluşturduğu saptanmıştır (Acciarri vd., 2007).

Aazami et al. (2010), 4 farklı domates genotipini (Nora, PS-10, Peto, Roma) in vitro koşullar altında PEG 6000 ile yaratılan su stresi koşullarına sahip bir ortamda kallus kültürü ile yetiştirmiştir. Su stresi 4 farklı PEG 6000 konsantrasyonu (0, 200, 270 ve 295 g/L) ile sağlanmıştır. PEG ilavesiyle tüm uygulamalarda kontrole kıyasla nispi büyüme oranı azalış göstermiş, kuru madde miktarının arttığı tespit edilmiştir. Tüm çeşitlerde ise su stresine karşılık olarak prolin seviyeleri yükselmiştir. Ayrıca, tüm çeşitlerde PEG konsantrasyonundaki artış ile sürgün oluşumunda belli miktarda bir azalma görülmüştür. Sonuç olarak, domates

genotiplerinin kuraklık stresine karşı toleransının belirlenmesi için in vitro taramanın uygun ve kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

Ayaz et al. (2015), 2 domates (Nagina ve 17905) çeşidine ait tohumlarda; kuraklık stresi oluşturma amacıyla 5 farklı PEG 6000 konsantrasyonu (%0, %2, %4, %6 ve %8) kullanarak MS koşulları altında bazı fenotipik özelliklerin değişimini araştırmışlardır. Yapılan bu araştırmanın sonucunda PEG konsantrasyonu çoğaldıkça tohum çimlenme yüzdesi, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı ve yaprak alanı gibi bazı değerlerin azaldığı, buna karşılık kök uzunluğu değerinin arttığı tespit edilmiştir.

Castellana et al. (2020), küçük çaplı üreticiler tarafından yetiştirilen bahçe türlerinin yerel çeşitlerinin, günümüzdeki tarımsal biyolojik çeşitliliğin korunmasında oldukça önemli bir değeri temsil ettiğini vurgulamışlardır. Orta İtalya'nın Umbria bölgesinden 121 farklı yerel çeşit toplamışlardır ve bunları ticari çeşitlerle karşılaştırarak genetik çeşitlilik ve farklılıkları saptamaya çalışmışlardır. Çalışmada 19 farklı SSR markörü kullanılmıştır ve orta düzeyde çeşitlilik gösteren 60 allel saptanmıştır. Lokus başına ortalama allel sayısı 3.158 ve ortalama polimorfizm bilgi içeriği de 0.38 olarak bulunmuştur.

Meng et al. (2010), yabani çeşitler ve kendi pazarlarındaki kültürü yapılan çeşitlerin arasındaki genetik çeşitliliği ortaya koymak istediği farklı türlere (*Solanum lycopersicum L.*, *hirsutum Humb L.*, *pimpinellifolium Miller L.*, *chilense Dun. L.*, *chimilenskii L.*, *peruvianum Miller L.*, *parvuflorum Miller L.*) ait 61 farklı varyetede RAPD ve SSR yöntemi uygulamışlardır. Bu uygulamalar sonucunda sırasıyla 2062 ve 869 net bant elde etmişlerdir. Ayrıca SSR, RAPD'ye kıyasla sırasıyla %100 ve %43.84 olmak üzere daha fazla polimorfik ürün ortaya çıkarmıştır, daha yüksek ortalama benzerlik katsayısı ve daha düşük PIC değeri SSR'ye (0.56, 0.687) kıyasla RAPD'de (0.79, 0.407) belirlenmiştir. Bunun sonucunda domateste genetik çeşitliliği değerlendirmek için SSR'ın RAPD'den daha etkili bir markör olduğu sonucuna varılmıştır.

Bhattarai et al. (2016), yaptıkları bir araştırmada morfolojik özelliklerine göre domatesin genetik çeşitliliğini belirlemeyi amaçlamışlar, 71 farklı ticari domates çeşidini iki tekerrürlü olarak tesadüf blokları deseninde iki yıl süre ile yetiştirmişlerdir. Yaptıkları çeşitlilik analizi, ortalama bağlantı yöntemine dayalı altı farklı küme üretmiş, buradan açığa çıkan beş adet temel bileşen (PC), fenotipik varyasyonun %92'sinden fazlasını açıklamıştır. Bu analizde ortaya çıkan kümelenmelerin, tüketicinin isteğine göre belirli meyve türleri geliştiren ıslah programları için önemli olabileceğini dile getirmişlerdir.

Kaushal et al. (2017), yirmi beş farklı domates (*Solanum lycopersicum L.*) genotipini inceleyerek yirmi farklı SSR markörü kullanarak genetik çeşitliliklerini analiz etmişlerdir. Kullanılan 20 markörden 14 adeti polimorfik olarak bulunmuş ve lokus başına ortalama 1.57 allel ile 19'u polimorfik ve 3'ü monomorfik olan toplam 22 SSR alleli tespit edilmiştir. Amplifiye edilmiş ürünler aralık olarak yaklaşık 100-400 bp iken, Jaccard'ın benzerlik katsayısı kullanıldığında, minimum EC519821 ve CO-3 genotipleri arasında 0.65, maksimum EC519769 ve DARL-66 genotipleri arasında 1.0 ve ortalama 0.83 değerleri saptanmıştır. Aritmetik ortalamalı (UPGMA) ağırlıklı olmayan çiftli grup yöntemini (UPGMA) kullanan, Jaccard'ın benzerlik katsayısına dayanan küme analizi, sırasıyla 1 ve 24 genotip içeren ve sırasıyla %75 ve %78 benzerlikte A ve B olmak üzere 2 farklı küme oluşturmuştur. Benzer olarak morfolojik ve genetik eğilimler gösteren genotipler, her iki durumda da az çok birlikte gruplandırılmıştır. En çok varyasyon gösteren çeşidi (EC519821) içeren A Kümesi, %0.65 benzerlik katsayısı ile *pimpinellifolium* yabani türlerine aittir ve diğer kültüre alınan türlerle farklılaşmıştır. Cherry ve Cherry-2 genotipleri, yaklaşık olarak %96 benzerlik göstererek benzer kümede yer almıştır. SSR markörleri, genotipleri morfolojik ve genotipik olarak ayırtmada oldukça başarılı olmuştur.

Parmar et al. (2010), çeşitli genetik materyallerin moleküler markörlerle olan karakterizasyonunun, önemli markör-özellik ilişkilerinin biyolojik ve agronomik ilgilerini tanımlamak için oldukça faydalı bir fırsat sunduğunu belirtmiştir. Hindistan'ın farklı coğrafi bölgelere sahip yirmi beş farklı sınırlı ve sınırsız büyüme gösteren domates çeşidinden oluşan bir grupta, bu çeşitler arası genetik kimliklerini, genetik çeşitliliğini ve genetik ilişkilerini belirlemek için yirmi üç SSR

(basit dizi tekrarı) primeri ile bir araştırma yürütmüşlerdir. Ortalama olarak, yaklaşık 150 ila 1000 bp arasında değişen skorlanabilir bant boyutlarına sahip SSR primerleri kullanarak 40 allel amplifiye ederek ardından UPGMA gruplama yöntemi ile ABD çeşitleri ayrı bir grup oluşturacak şekilde beş farklı grup elde etmişlerdir. Kümelenme, coğrafi konum farkı ve büyüme alışkanlığı ile ilgili bilinen bilgiler karşısında tutarlı bulunmuştur.

Carvalho vd. (2002), Brezilya kökenli 79 adet yerel mısır çeşidini genetik çeşitlilik bakımından araştırmıştır. PCR-ISSR kullanılmasıyla elde edilmiş olan 153 adet DNA parçacığının 116 tanesinin polimorfik olduğuna varılmış ve bu parçacıkların mısır türlerini genomik şekilde üç ayrı kısma ayırmaya imkan sunduğu sonucuna varılmıştır.

Oğuz vd. (2014), fenotipik karakterizasyon parametreleri kullanarak bazı Türkiye yerel domates genotiplerindeki benzerlik ilişkisini belirleme amacıyla 52 çeşitli alandan toplanan 76 yerel domatesin, dört yabancı genotip ve sekiz yabancı çeşit olarak toplamda seksen sekiz farklı domates materyali kullanmışlardır. Aralarındaki morfolojik varyasyonun belirlenmesinin hedeflendiği çalışmada yerel genotiplerin bir kısmının, varyasyonları artıran aksesyonlar olduğu tespit edilmiştir. Morfolojik tanımlayıcılardan elde edilmiş olan bir küme diyagramı, 0.15'lik bir katsayıda genotipleri on ana alt küme grubunda toplamıştır. Genotipler, benzersiz belirli niteliklere dayalı olarak küme gruplarına yerleştirilmiş ve 88 genotipin 86'sının farklı genotipler olduğu saptanmıştır. G80 ve G83, tüm genotipler içerisinde benzer (%94) genotipler olarak tespit edilerek, 88 genotip arasındaki benzerlik katsayısı değerleri -0.11 ile 0.94 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1 Materyal

#### 2.1.1 Çalışmanın gerçekleştirildiği yer, temin edilen tohumlar

Bu çalışma Tohum Teknolojisi Uygulama ve Araştırma Merkezi Moleküler Laboratuvarı, Ziraat Fakültesi Deneme Serasında, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tohum Teknolojisi Uygulama ve Araştırma Merkezi İklim Odalarında yürütülmüştür.

Çalışmada 10 çeşit ticari domates tohumu ve 200 adet bitki örneği kullanılmıştır.

Kullanılan tohumlar (Çizelge 2.1.)

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan tohum çeşitlerinin adları ve numaraları.

| TOHUM ÇEŞİTLERİ |                           |
|-----------------|---------------------------|
| 1               | TASACO 21700 F1           |
| 2               | SYNGENTA GHİBLİ           |
| 3               | SYNGENTA FİRMUS           |
| 4               | SYNGENTA TPC 108          |
| 5               | SAKATA MARİNA F1          |
| 6               | SEMINIS EDEN F1           |
| 7               | SEMINIS SENTOSA           |
| 8               | SEMINIS SV1491TM          |
| 9               | HAZERA KAMENTA F1         |
| 10              | UNITED GENETICS ALBENİ F1 |

#### 2.1.2 Bitkileri yetiştirme materyali

Tohumlar gerekli ve uygun koşullar altında yetiştirilmiştir.

### 2.1.3 DNA ekstraksiyonu materyali

DNA ekstraksiyonu aşamasında; Macherey-nagel marka ‘Total DNA/RNA and protein purification kit’, steril örnek ezme poşetleri, steril saf su, solüsyonlar, eppendorf tüpler, mikro pipet ve pipet uçları, Eppendorf Centrifuge 5430 marka santrifüj cihazı, Qiagen TissueLyser II marka ezme cihazı ve ısıtıcı olarak Biosan TDB-120 marka kuru blok ısıtıcı kullanılmıştır.

| Kit contents                             |                       |                       |                         |
|------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|
| NucleoSpin® Plant II                     |                       |                       |                         |
| Item                                     | 10 preps<br>740770.10 | 50 preps<br>740770.50 | 250 preps<br>740770.250 |
| lisa Buffer PL1                          | 5 mL                  | 25 mL                 | 125 mL                  |
| lisa Buffer PL2                          | 4 mL                  | 20 mL                 | 100 mL                  |
| scipitation Buffer PL3                   | 1 mL                  | 10 mL                 | 25 mL                   |
| rding Buffer PC                          | 6 mL                  | 30 mL                 | 125 mL                  |
| ish Buffer PW1                           | 6 mL                  | 30 mL                 | 125 mL                  |
| ish Buffer PW2<br>(concentrate)*         | 6 mL                  | 25 mL                 | 50 mL                   |
| lition Buffer PE**                       | 13 mL                 | 13 mL                 | 30 mL                   |
| lase A (lyophilized)*                    | 1.5 mg                | 6 mg                  | 2 x 15 mg               |
| cleoSpin® Plant Filters<br>(elut rings)  | 10                    | 50                    | 250                     |
| cleoSpin® Plant II<br>lums (green rings) | 10                    | 50                    | 250                     |
| lection Tubes (2 mL)                     | 20                    | 100                   | 500                     |
| er manual                                | 1                     | 1                     | 1                       |

| Table 1: Kit specifications at a glance |                                                   |
|-----------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Parameter                               | NucleoSpin®<br>Plant II                           |
| Technology                              | Silica membrane technology                        |
| Format                                  | Mini spin column                                  |
| Sample material                         | Up to 100 mg wet weight<br>Up to 20 mg dry weight |
| Lysate clarification                    | NucleoSpin® Plant Filters                         |
| Fragment size                           | 50 bp – approx. 50 kbp                            |
| Typical yield                           | 1 – 30 µg                                         |
| A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>      | 1.8 – 1.9                                         |
| Elution volume                          | 2 x 50 µL                                         |
| Preparation time                        | 30 min/6 preps                                    |
| Binding capacity                        | 50 µg                                             |

Şekil 2.1. Kullanılan kit içeriği.

### 2.1.4 DNA kontrolü aşamasında kullanılan materyal

Söz edilen bu aşama Agaroz jel elektroforez aşamasıdır. Ürün olarak klasik PCR araştırmalarından elde edilmiş olan PCR ürünleri kullanılmıştır. Örneklerin ve jellerin hazırlanma aşamasında Sigma marka agaroz, Swiss Quality Presica 205 A SCS marka hassas terazi, 1X TAE tampon çözeltisi, mikrodalga fırın, Fermentas marka 100 bp DNA Ladder, Thermo Scientific marka 6X DNA Loading dye ve Abm Safe View- Classic marka sybr safe cihazlarından faydalanılmıştır. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi esnasında Owl B2 ve Owl B3 marka jel elektroforez cihazı ve Consort E815 marka ve Owl Scientific OSP-3000LP marka güç

kaynakları kullanılmıştır. Hazırlanan jel UVP 310 GelDoc-It<sup>2</sup> marka görüntüleme cihazı ve UVP Launch Vision Work Analiz Sistemi kullanılarak çekilmiştir.



Şekil 2.2. Kullanılan Master Mix.

|   | Primer Name | Forward Sequence      | Reverse Sequence      |
|---|-------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | TCI C-6     | AAAAATGTCACAATCCTTCG  | CCACCAACTAACACATCAA   |
| 2 | TCI C-36    | CCATAACTAACCTCTTGGA   | GAATGGATTCTAGTAGGGCA  |
| 3 | TCI C-39    | GAAGTCACAAACAAAGTCC   | TTGCAATATTTGGTTTGCA   |
| 4 | TCI C-86    | AAGGCACACTCCAATACAAC  | GTGGAATTAAGGGTTAATGGT |
| 5 | TCI C-100   | TACACTTGTGTGTGCGATTT  | GTTGAAGTAAGAGGGGGTTT  |
| 6 | TCI C-106   | AATGCTAGCTTAGCTGATGG  | ACATCACAAGTACAAAGGGG  |
| 7 | TCI C-160   | TCATAATAGCCACCCCTCAAC | AACAAACTTTTCATGGCACT  |
| 8 | TCI C-161   | TACGATTGCGACTGATTGT   | GATCAAGCCCATGATAAAAA  |

Şekil 2.3. Kullanılan primerler.

### 2.1.5 Real-time PCR (q-PCR) aşamasında kullanılan materyal

Bu aşamada The RealQ Plus 2x Master Mix Green without ROX™ kiti (AMPLIQON, Danimarka), 96'lık tabaklar, seal, Forward ve Reverse Primer çiftleri (10 µm), Template DNA, nuclease-free H<sub>2</sub>O, Roche LightCycler 480 II Real-Time PCR aleti, -20 °C derin dondurucu ve buz kalıplarından faydalanılmıştır.

## 2.2 Yöntem

### 2.2.1 Bitkileri yetiştirme yöntemi

Öncelikle tohum ekimleri uygun viyollerde gerçekleştirilmiştir. Uygun koşullar altında fide haline getirilmiş olup domates bitkileri saksılara alınarak Ege Üniversitesi Tohum Teknolojisi Uygulama ve Araştırma Merkezi İklim Odalarında büyütülmüştür. Her bir çeşitten 10 saksı ekimi yapılmış olup çalışmada toplam 200 bitki ile analizler gerçekleştirilmiştir. Çeşitler gerçek yapraklı döneme geçtiğinde her bir bitkiden örnekler alınmıştır ve DNA Ekstraksiyonu bölümüne geçilmiştir.

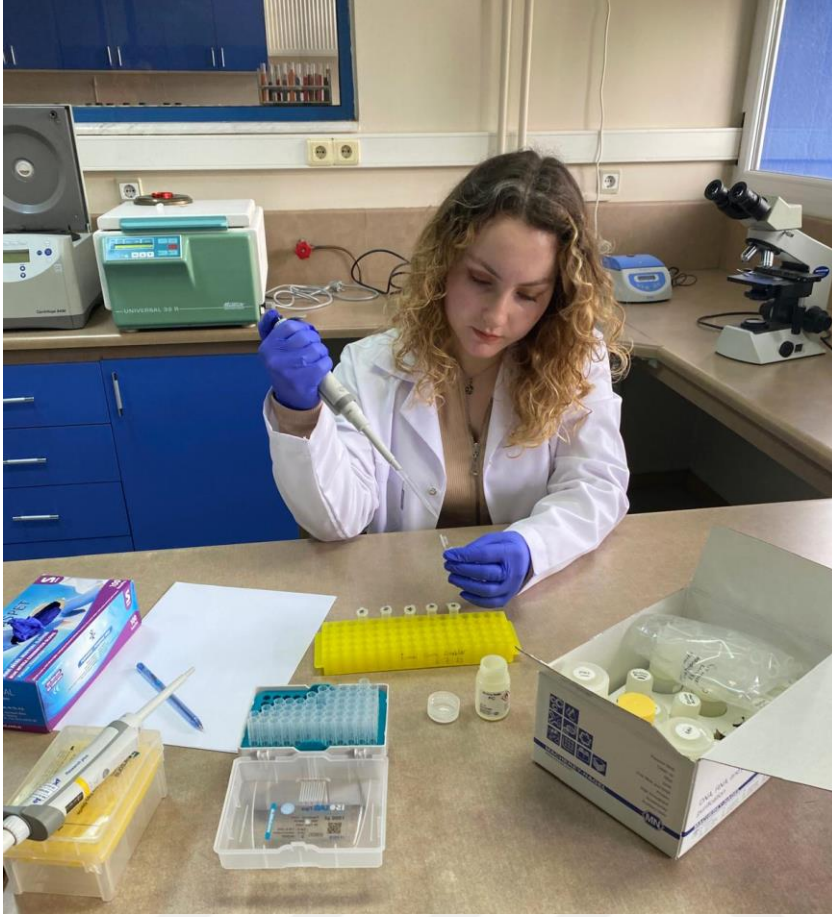
### 2.2.2 DNA ekstraksiyonu yöntemi

DNA ekstraksiyonu bölümünde; Macherey-nagel marka 'Total DNA/RNA and protein purification kit' kullanılmıştır. Öncelikli olarak blok ısıtıcı 65 dereceye ayarlanmıştır. Ardından 100 Mg Örnekler kırılmaz tüplere alınmıştır ve içerisine 100 µl Elution Buffer eklenmiştir. Qiagen marka TissueLyser II'de örnekler 5 dakika sürede parçalanmıştır. İyice ezilen örneklerin içine 400 µl PL1 (Lysis Buffer) eklenip sonrasında vortex ile iyice karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımlar kırılmaz tüplerden eppendorf tüplere alınmıştır ve 30-45 dakika Biosan (TDB-120) marka blok ısıtıcıda bekletilmiştir. Blok ısıtıcıdan tüpler alındıktan sonra içerisindeki solüsyon Nucleospin Filter'a alınıp Eppendorf Cenrtifuge 5430 cihazında 11.000 rpm de 2 dakika sürede santrifüjlenmiştir. Nükleospin Filter santrifüjden sonra atıldı ve alttaki collection tube'te kalan sıvıya 450 µl P.C. Binding Buffer eklenmiştir ve ardından pipetaj yapılmıştır. Bu solüsyon Nucleospin Plant II Column Filter'a alınmış ve 11.000 rpm'de bir dakika santrifüj yapılmıştır. İşleme aynı filtre ile devam edilmiştir. Sonrasında 3 aşamalı olan Washing bölümüne geçilmiştir. Elution buffer 'Örnek sayısı X 50 µl' olacak şekilde 65 derece sıcaklıktaki blok ısıtıcıya konulmuştur. Nucleospin Plant II Column Filter'a 400 µl PW1 ilave edilmiştir ve 11.000 rpm'de 1 dakika sürede santrifüj yapılmıştır. Santrifüjden sonra alt bölümde kalan collection tüp atılmıştır. Nucleospin Plant II Column Filter'a 700 µl PW2 eklenmiştir ve 11.000 rpm'de bir dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüjün devamında alt kısımda kalan collection tüp atılmıştır. Nucleospin Plant II Column Filter'a 200 µl PW2 eklenmiş ve sonrasında 10.500

rpm’de 2 dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüj işleminin bitmesinin ardından collection tube’te kalan sıvı boşaltılmış ve boş olarak 10.500 rpm’de 1 dakika daha santrifüj işlemi yapılmıştır. Tüpler Eppendorf Centrifuge 5430 cihazından alınmıştır. Nucleospin Plant II Column Filter, Collection Tube’ten alınarak Eppendorf Tube’e yerleştirilmiştir ve kapakları açılarak 1 dakika kadar kuruması için bekletilmiştir. Washing aşamasında blok ısıtıcıda bekletilen Elution Buffer her bir Nucleospin Plant II Column Filter’a 50 µl olacak şekilde konulmuştur. Bu tüpler 5 dakika blok ısıtıcıya yerleştirilmiştir. Blok ısıtıcıdan örnekler alınmış ve Eppendorf Centrifuge 5430 cihazında 11.000 rpm’de bir dakika daha santrifüj yapılmıştır. Eppendorf Tube’te kalan DNA -20 °C’de saklanılmıştır.



Şekil 2.4. DNA ekstraksiyon aşaması (1).



Şekil 2.5. DNA ekstraksiyon aşaması (2).

### 2.2.3 DNA kontrolü aşamasında kullanılan yöntem

Bu aşamada Agaroz jel elektroforez aşaması ile PCR çalışmalarından elde edilen sonuçlar değerlendirilecektir. PCR ürünlerinin analizi için %1.5'lik agaroz jel hazırlanmıştır. 100 ml 1X TAE tamponu içerisine 1.7 g agaroz eklenmiştir ve karışım mikrodalga fırında 2.5-3 dk. bekletilmiştir ardından içerisindeki agaroz tamamen erimiş bir şekle getirilmiştir. Daha sonra mikrodalgadan alınan eriyik belli bir süre soğumaya bırakılmıştır ve içerisine 5  $\mu$ l boya eklenmiştir.

Ardından cihazın uygun tarafları elektroforez cihazının tabak kısmına doğru bir şekilde geçirilmiştir ve sonra jel dökülerek donması için bırakılmıştır. Jelin donmasının ardından taraklar çekilmiştir ve tabak elektroforez cihazının tankına yerleştirilerek olan 1X TAE tampon çözeltisi jelin üzerine hacmi 1-2 mm geçecek şekilde eklenmiştir. Her bir kuyucuğa başta ladder olmak üzere örnekler dikkatli bir şekilde yerleştirilmiştir.

Kullanılan ladder yükleme tamponu (6X DNA Loading dye) içine 10  $\mu$ l DNA ve 2  $\mu$ l ladder koyulmuştur ve pipetaj yapıp ilk kuyucuğa yerleştirilmiştir. Elektroforez yürütümü aşaması, 80 V'da 90 dk. süreyle ve 1X TAE tampon çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işlemi sonunda jelde ortaya çıkan bantlar UV ışık altında gözlenmiştir ve fotoğrafı çekilerek kaydedilmiştir.



Şekil 2.6. Jel hazırlama, yükleme ve koşturma.



Şekil 2.7. Jel hazırlama yükleme ve koşturma (2).

#### 2.2.4 Real-time PCR (q-PCR) aşamasında kullanılan yöntem

Yapılan bu çalışmada, örneklerin DNA izolasyonu esnasında elde edilen DNA'lar kullanılmıştır. İlk olarak örneklerimizi T1-T2-T3-T4 numaralı gen bölgeleri için plate'e yerleştirilmiştir. Pozitif kontrol de eklenmiştir. Daha sonra örnekler T5-T6-T7-T8 numaralı gen bölgelerine koyularak test gerçekleştirilmiştir.

Bu testler 2 farklı döngüde gerçekleştirilmiştir.

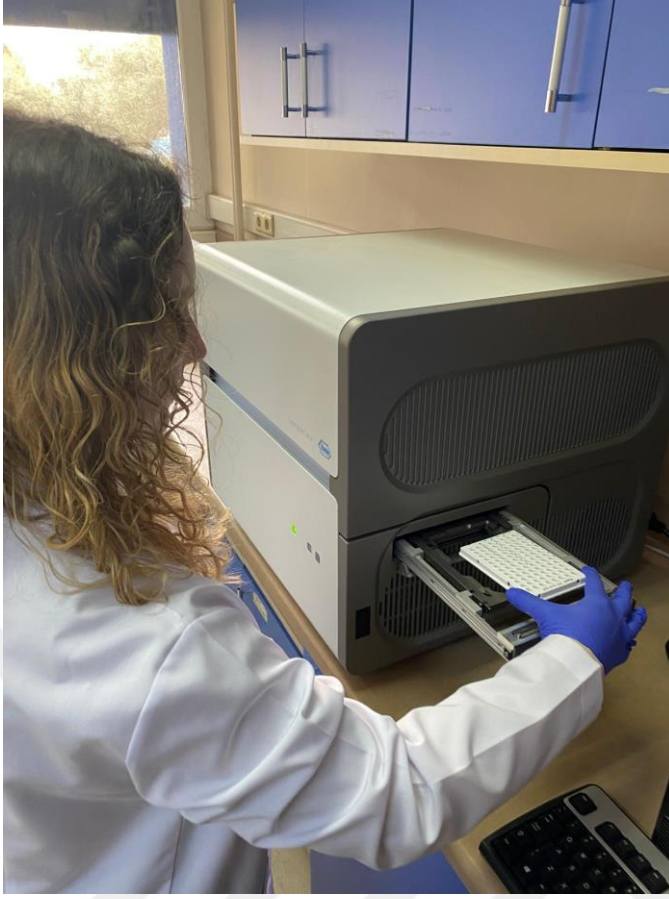
İlki; 95 °C sıcaklıkta (None) 10 dakika süren başlangıç denatürasyon adımı gerçekleştirilmiştir daha sonra 55 döngü boyunca sırasıyla 95 °C sıcaklıkta 10 saniye (none), 56 °C sıcaklıkta 10 saniye (single) ve 72 °C sıcaklıkta 10 saniye (none) takip etmiştir; ardından 1 döngü melting ekleyerek (T1-T3), 95 °C sıcaklıkta bir dakika (none), 33 °C sıcaklıkta iki dakika (none) ve 63 °C sıcaklıkta (continuous) adımlar devam etmiştir.

Ardından 1 döngü daha melting ekleyerek (T2-T4), 95 °C sıcaklıkta bir dakika (none), 40 °C sıcaklıkta iki dakika (none) ve 58 °C sıcaklıkta 10 saniye (none) ve 77 °C sıcaklıkta (continuous) adımlar devam etmiştir. En son ise 40 °C sıcaklıkta 30 saniye (none) soğuma adımı gerçekleştirilmiştir.

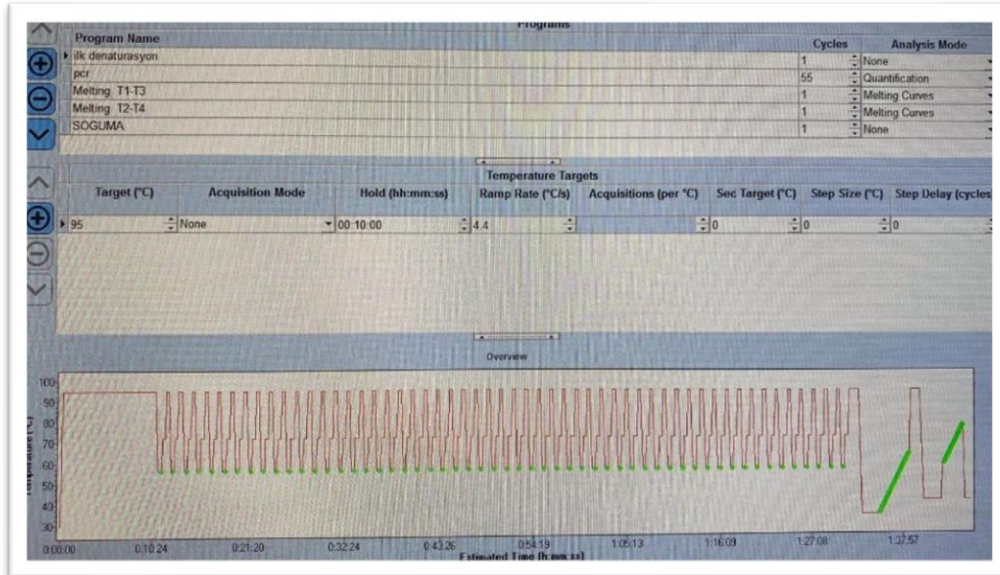
İkincisi; 95 °C sıcaklıkta (None) 10 dakika süren başlangıç denatürasyon adımı gerçekleştirilmiştir daha sonra 55 döngü boyunca sırasıyla 95 °C sıcaklıkta 10 saniye (none), 56 °C sıcaklıkta 10 saniye (single) ve 72 °C sıcaklıkta 10 saniye (none) takip etmiştir; 1 döngü melting ekleyerek (T5), 95 °C sıcaklıkta bir dakika (none), 40 °C sıcaklıkta iki dakika (none) ve 42 °C sıcaklıkta 30 saniye (none), 67 °C sıcaklıkta (continuous) adımlar devam etmiştir. 1 döngü meting ekleyerek (T6), sırasıyla 95 °C sıcaklıkta bir dakika (none), 40 °C sıcaklıkta iki dakika (none) ve 62 °C sıcaklıkta 10 saniye (none), 82 °C sıcaklıkta (continuous) adımlar devam etmiştir.

1 döngü daha melting eklenerek (T7), 95 °C sıcaklıkta bir dakika (none), 40 °C sıcaklıkta iki dakika (none) ve 42 °C sıcaklıkta 10 saniye (none), 63 °C sıcaklıkta (continuous) adımlar devam etmiştir. Son olarak 1 döngü daha melting eklenerek (T8), 95 °C sıcaklıkta bir dakika (none), 40 °C sıcaklıkta iki dakika (none) ve 55 °C sıcaklıkta 30 saniye (none), 85 °C sıcaklıkta (continuous) adımlar devam etmiştir.

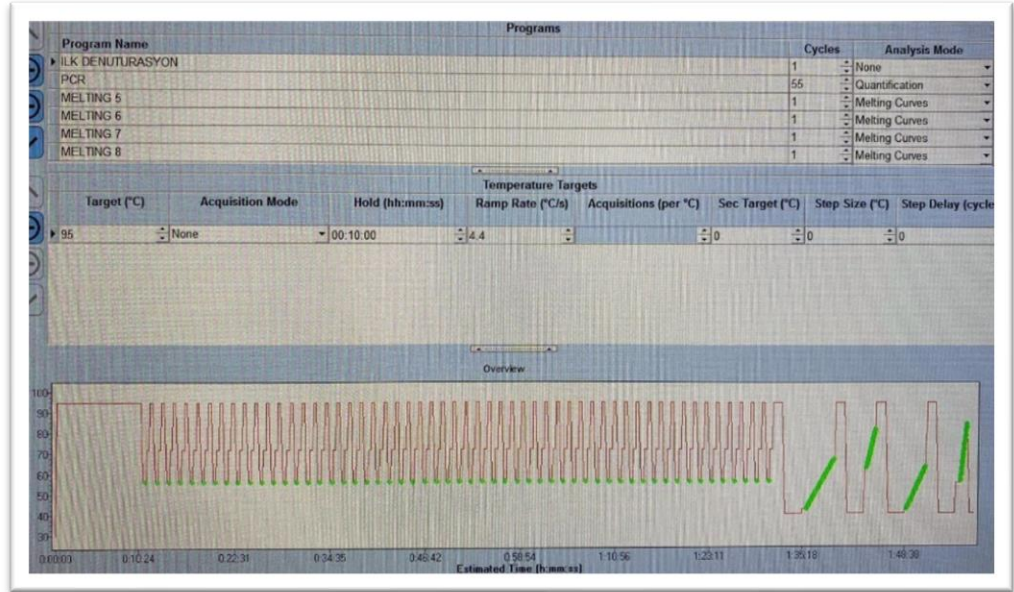
En son ise 40 °C sıcaklıkta 30 saniye (none) soğuma adımı gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.8. Real-time (q-PCR) aşaması.



Şekil 2.9. Real Time PCR aşaması 1. Döngü.



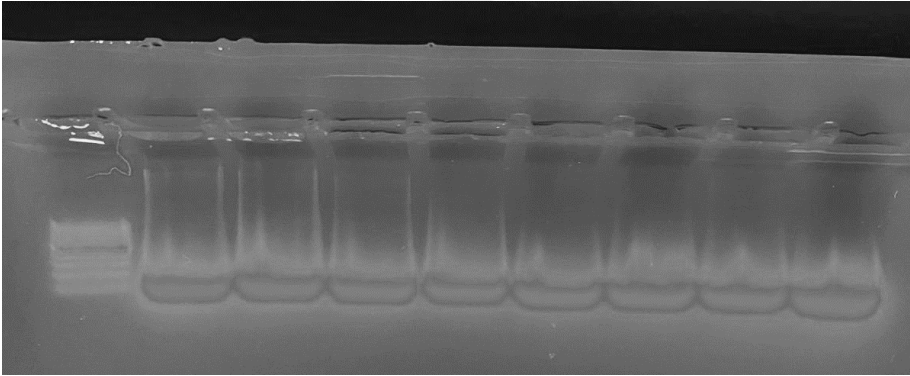
Şekil 2.10. Real Time PCR Aşaması 2. Döngü.

### 3. BULGULAR

Araştırma kapsamında, domates tohumlarında genetik çeşitliliğin moleküler yöntemlerle belirlenmesi amacı ile ticari 10 çeşit domates (*Solanum lycopersicum*) tohumu kullanılmıştır. Çalışmada toplam 200 bitki örneği ile analizler gerçekleştirilmiştir. Genetik çeşitliliğin saptanması için Real Time PCR aşaması için toplanılan örnekler kullanılmıştır.

#### 3.1 DNA Kontrolü Aşaması Bulguları

Yapmış olduğumuz DNA kontrolünde, elektroforez işlemi sonunda jelde ortaya çıkan bantlar UV ışık altında gözlenmiştir ve fotoğrafı çekilerek kaydedilmiştir (Şekil 3.1). Yapılan kontroller ve analizler sonucunda DNA'mızın varlığı başarılı bir şekilde tespit edilmiştir.



Şekil 3.1. DNA kontrolü sonucu.

#### 3.2 Real-time PCR (q-PCR) Aşaması Bulguları

Real-Time PCR, bu yöntem PCR ile çoğaltılmış DNA parçacıklarının çoğaltımını görünür hale getirebilen ve monitörize edebilme yeteneğine sahip olan floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı, floresanın elde edilen DNA'yla dengeli biçimde çoğaldığı, ampikon konsantrasyon sırasındaki değişimleri gerçek zamanlı olarak algılayabilme yeteneğine sahip, eş zamanlı olarak hızlı bir sonuç alabilen, duyarlılığı, özgüllüğü ve tekrarlanabilirliği yüksek olan ve saptayabilen

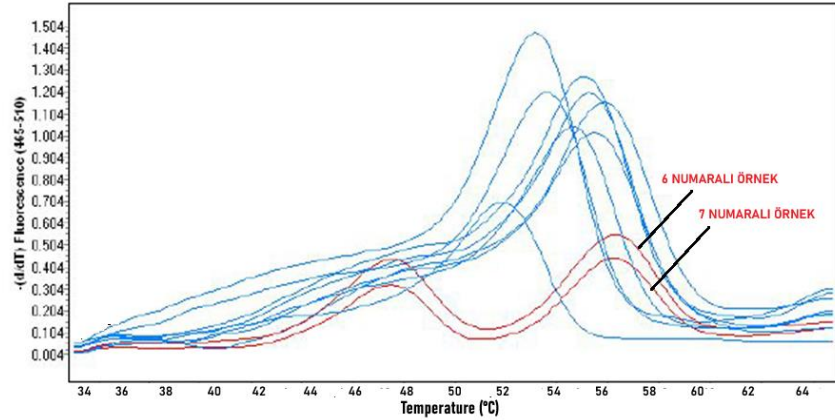
PCR tabanlı bir yöntemdir. Bu tür faydalarına ek olarak bu aşamada örnek alınan domates tohumlarının genetik çeşitliliğini belirlememizde yardımcı olmuştur.

Real time PCR işlemleri için kullanılan protokol ile domates tohumlarının genetik çeşitliliği özel, detaylı bir şekilde optimize edilmiş ve belirlenmiştir.

İncelediğimiz domates çeşitlerine ait 8 adet genin görüntülenen bölgenin genetik çeşitlilik farkına göre hedef etmen için homozigot ve heterozigotluk durumu test edilmiştir. Yapılan melting analizinde her bir gen bölgesi için belirlenen sıcaklık değerleri karşılığında örneklerin homozigot 1, heterozigot ve homozigot 2 olup olmadığı belirlenmiştir. Yapılan melting analiz sonuçları aşağıdaki gibidir:

T1 Geninde yapılan melting analiz sonucunda 6 ve 7 numaralı örnek allel bakımından heterozigottur (Şekil 3.2).

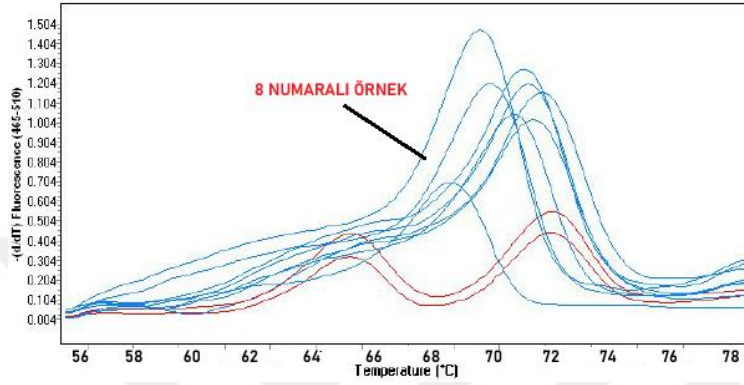
| T1 Peak Temp °C | Genotype     |
|-----------------|--------------|
| 49 °C           | Homozygote 1 |
| 49 °C and 57 °C | Heterozygote |
| 57 °C           | Homozygote 2 |



Şekil 3.2. T1 geni sonucu.

T2 Geninde yapılan melting analiz sonucunda 8 numaralı örnek allel bakımından homozigot 1'dir (Şekil 3.3).

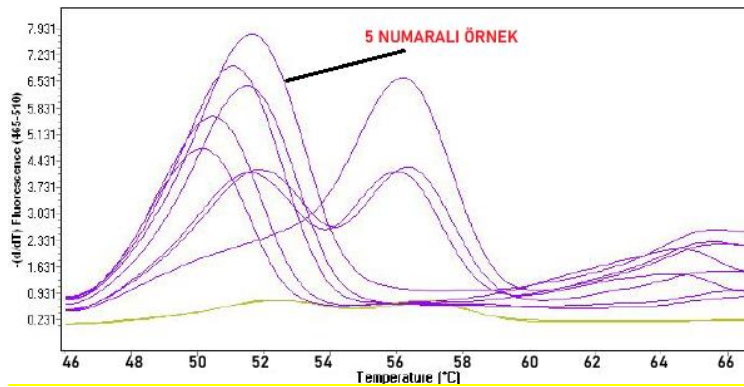
| T2 Peak Temp °C | Genotype     |
|-----------------|--------------|
| 67 °C           | Homozygote 1 |
| 67 °C and 70 °C | Heterozygote |
| 70 °C           | Homozygote 2 |



Şekil 3.3. T2 geni sonucu.

T3 Geninde yapılan melting analiz sonucunda 5 numaralı örnek allel bakımından homozigot 1'dir (Şekil 3.4).

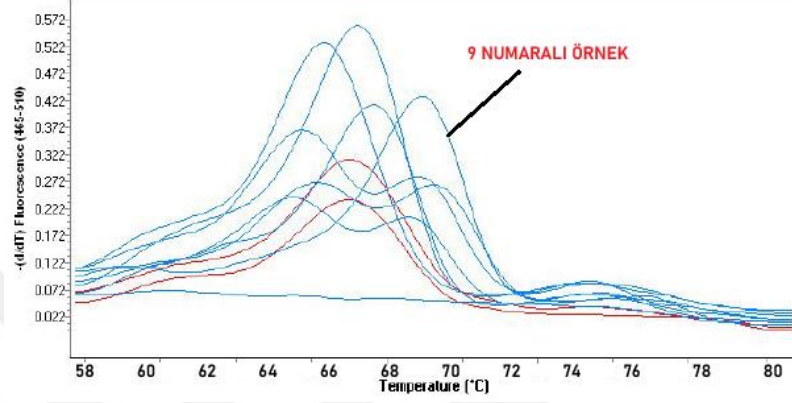
| T3 Peak Temp °C | Genotype     |
|-----------------|--------------|
| 52 °C           | Homozygote 1 |
| 52 °C and 57 °C | Heterozygote |
| 57 °C           | Homozygote 2 |



Şekil 3.4. T3 geni sonucu.

T4 Geninde yapılan melting analiz sonucunda 9 numaralı örnek allel bakımından homozigot 2'dir (Şekil 3.5).

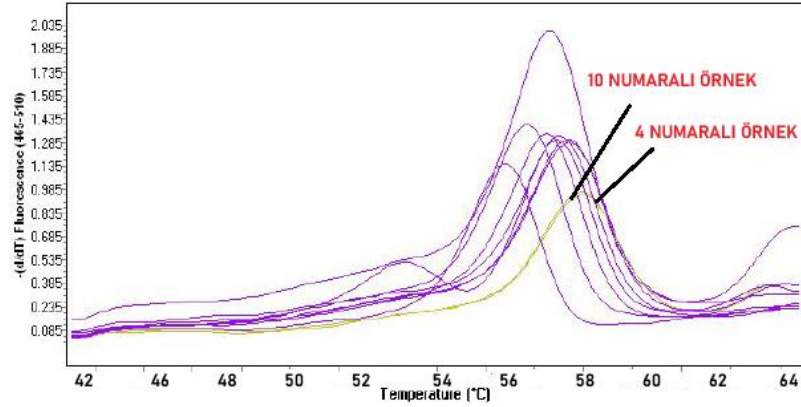
| T4 Peak Temp °C | Genotype     |
|-----------------|--------------|
| 64 °C           | Homozygote 1 |
| 64 °C and 70 °C | Heterozygote |
| 70 °C           | Homozygote 2 |



Şekil 3.5. T4 geni sonucu.

T5 Geninde yapılan melting analiz sonucunda 4 ve 10 numaralı örnek allel bakımından homozigot 2'dir (Şekil 3.6).

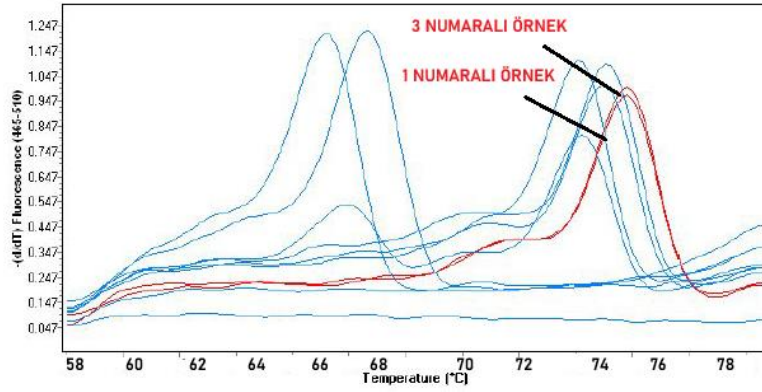
| T5 Peak Temp °C | Genotype     |
|-----------------|--------------|
| 53 °C           | Homozygote 1 |
| 53 °C and 58 °C | Heterozygote |
| 58 °C           | Homozygote 2 |



Şekil 3.6. T5 geni sonucu.

T6 Geninde yapılan melting analiz sonucunda 1 ve 3 numaralı örnek allel bakımından homozigot 2'dir (Şekil 3.7).

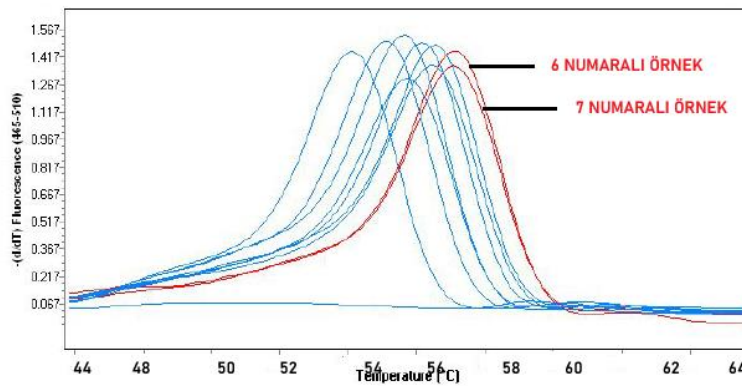
| T6 Peak Temp °C | Genotype     |
|-----------------|--------------|
| 70 °C           | Homozygote 1 |
| 70 °C and 75 °C | Heterozygote |
| 75 °C           | Homozygote 2 |



Şekil 3.7. T6 geni sonucu.

T7 Geninde yapılan melting analiz sonucunda 6 ve 7 numaralı örnek allel bakımından homozigot 2'dir (Şekil 3.8).

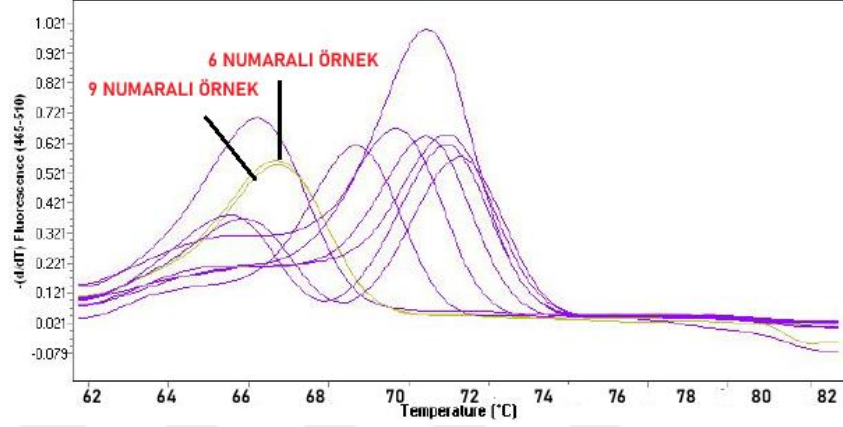
| T7 Peak Temp °C | Genotype     |
|-----------------|--------------|
| 49 °C           | Homozygote 1 |
| 49 °C and 57 °C | Heterozygote |
| 57 °C           | Homozygote 2 |



Şekil 3.8. T7 geni sonucu.

T8 Geninde yapılan melting analiz sonucunda 6 ve 9 numaralı örnek allel bakımından homozigot 1'dir (Şekil 3.8).

| T8 Peak Temp °C | Genotype     |
|-----------------|--------------|
| 67 °C           | Homozygote 1 |
| 67 °C and 75 °C | Heterozygote |
| 75 °C           | Homozygote 2 |



Şekil 3.9. T8 geni sonucu.

Bu incelemeler sonucunda domatesteki genetik çeşitlilik sonucuna Real Time PCR analizi ile varılmıştır. Her bir gen bölgesi için domates örnekleri genetik çeşitlilik bakımından ayrı ayrı tespit edilmiştir. 10 çeşit için yapılan analizler sonucu 27 adet homozigot 1, 37 adet heterozigot, 16 adet homozigot 2 allel gözlemlenmiştir.

Tüm örneklerin allel bakımından sonuçları (Çizelge 3.1. ve 3.2).

Çizelge 3.1. Bitki örneklerinin allel bakımından sonuçları (1).

| Örnek No  | T 1         | T 2          | T 3         | T 4         |
|-----------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| 1. Örnek  | Homozigot1  | Heterezigot  | Homozigot1  | Heterezigot |
| 2. Örnek  | Homozigot2  | Heterezigot  | Heterezigot | Homozigot 1 |
| 3. Örnek  | Heterezigot | Homozigot2   | Homozigot2  | Homozigot2  |
| 4. Örnek  | Heterezigot | Heterezigot  | Homozigot1  | Heterezigot |
| 5. Örnek  | Homozigot1  | Homozigot1   | Homozigot1  | Heterezigot |
| 6. Örnek  | Heterezigot | Homozigot1   | Homozigot 2 | Homozigot2  |
| 7. Örnek  | Heterezigot | Heterezigot1 | Homozigot1  | Homozigot1  |
| 8. Örnek  | Heterezigot | Homozigot1   | Heterezigot | Heterezigot |
| 9. Örnek  | Homozigot1  | Homozigot2   | Heterezigot | Homozigot2  |
| 10. Örnek | Heterezigot | Heterezigot  | Homozigot1  | Homozigot1  |

Çizelge 3.2. Bitki örneklerinin allel bakımından sonuçları (2).

| Örnek No  | T 5         | T 6         | T 7         | T 8         |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1. Örnek  | Heterezigot | Homozigot2  | Heterezigot | Heterezigot |
| 2. Örnek  | Homozigot 1 | Heterezigot | Homozigot1  | Heterezigot |
| 3. Örnek  | Homozigot1  | Heterezigot | Heterezigot | Homozigot2  |
| 4. Örnek  | Homozigot2  | Homozigot1  | Homozigot1  | Heterezigot |
| 5. Örnek  | Heterezigot | Heterezigot | Homozigot1  | Heterezigot |
| 6. Örnek  | Homozigot1  | Heterezigot | Homozigot2  | Homozigot1  |
| 7. Örnek  | Homozigot2  | Heterezigot | Homozigot2  | Homozigot1  |
| 8. Örnek  | Heterezigot | Homozigot2  | Homozigot1  | Homozigot1  |
| 9. Örnek  | Heterezigot | Heterezigot | Homozigot1  | Homozigot1  |
| 10. Örnek | Homozigot2  | Heterezigot | Heterezigot | Heterezigot |

Yapmış olduğumuz bu çalışma sonucunda, Real Time PCR'ın genetik çeşitliliği belirlemede etkili bir araç olduğunu ve çalışmanın amacına ulaşmada başarılı bir şekilde kullanıldığını göstermektedir.



#### 4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Yapmış olduğumuz bu çalışma, domates bitkilerinde genetik çeşitliliğin moleküler yöntemlerle belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen kapsamlı analizler sonucunda elde edilen bulguları içermektedir. Real-time PCR tekniği kullanılarak gerçekleştirilen moleküler analizler, genetik çeşitlilik özelliklerini belirleme sürecinde bizlere oldukça önemli bilgiler sunmuştur.

Çalışma kapsamında kullanılan 10 farklı domates çeşidinden elde edilen 200 örnek üzerinde yapılan analizler, Real time PCR sonuçlarında çıkan melting analiz değerleri sonucu çeşitler arasında genetik çeşitlilik bakımından önemli farklılıkların olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgu, genetik çeşitliliği belirlemede moleküler yöntemlerinin kullanılmasının doğru ve başarılı sonuçlar verdiğini ortaya koymaktadır.

Real-time PCR ve klasik PCR (Polymerase Chain Reaction) her ikisi de DNA'nın çoğaltılmasını hedefleyen yöntemlerdir, ancak aralarında bazı önemli farklar vardır. Klasik PCR ve Real time PCR'da amaç DNA'yı çoğaltmaktır (amplifikasyon). Fakat Real time PCR yönteminde amplifikasyon sürecinin gerçek zamanlı olarak izlenebilmektedir. Real time PCR yöntem olarak klasik PCR'daki adımları içerir, ancak ek olarak floresan boyalar veya floresan etiketli probalar kullanılır. Bu, DNA amplifikasyonunun her döngüde izlenmesini sağlar. Real time PCR cihazı, her döngüde floresans sinyalini ölçer ve amplifikasyonun miktarını belirler. Bu, amplifikasyonun belirli bir döngüdeki gerçek zamanlı verilerini sağlar.

Real time PCR yöntemi hassasiyet bakımından oldukça başarılıdır çünkü çok düşük DNA veya RNA miktarlarını bile tespit edebilir. Hız ve verimlilik açısından bizlere zaman tasarrufu sağlamaktadır, klasik PCR yöntemine göre sonuçlar daha hızlı elde edilmektedir.

Spesifik DNA sekanslarını hedefleyen floresan probalar kullanıldığı için yanlış pozitif veya negatif sonuçların riskini azaltır. Çoklu hedef tespiti sayesinde aynı anda birden fazla gen veya hedef tespit edilebilir. Amplifikasyon süreci sırasında gerçek zamanlı izleme sayesinde DNA miktarını izleyerek, her döngüdeki

değişiklikleri anlık olarak gözlemleyebiliriz. Bu da deney süresince hataları veya sapmaları tespit etmeye yardımcı olmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma, genetik çeşitliliğin belirleme sürecinde Real-time PCR tekniğinin kullanılmasının detaylı, güvenilir ve doğru sonuçlar elde etmek için etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir. Bitki genetik kaynakları, bir kaynak olarak şimdiki ve sonraki nesiller için oldukça değerli olan bitki genetik materyalidir. Bu bulgular, bitki ıslahında genetik çeşitliliğin öneminin daha iyi anlaşılması için önemli bir temel oluşturmaktadır. Ayrıca yapmış olduğumuz bu çalışma, domateste genetik çeşitliliğin belirlenmesinde Real-Time PCR'ın etkinliğini ortaya koymuştur. Elde ettiğimiz bulgular aynı zamanda, bitki ıslahı ve genetik çalışmalarına önemli bir katkı sağlamaktadır.

Araştırma sonucunda elde edilmiş olan bilgiler doğrultusunda aşağıdaki önerilerin yapılması tarafım açısından uygun görülmüştür;

Geçtiğimiz dönemlerde moleküler biyolojide görmüş olduğumuz hızlı gelişme, bitki genetik araştırmalarında, genetik çeşitliliği korunma konusunda, üretim, ıslah tarzı çalışmalar açısından kullanımına çok önemli katkılar yapmıştır. İlerleyen zamanlarda uygulanacak olan Real time PCR yöntemi çalışmaları daha çok önemli katkılar sağlayabilecektir.

Moleküler markörlerin bitki ıslahı çalışmalarında kullanılması sayesinde geri melez ıslahı, gen piramitlerinin elde edilmesi, resesif genlerin seleksiyonu, erken seleksiyon, yabani gen kaynaklarından yapılan gen transferleri gibi fırsatlar sunarak ıslah çalışmalarının etkinliği artırılarak yeni çeşitlerin gelişimi hızlanmaktadır.

Gelişen moleküler markör teknolojisi ve uygulanan PCR teknikleri sayesinde genetik çeşitlilik araştırmaları daha etkin olarak yürütülecek, klasik ıslaha kıyasla daha kısa bir zamanda daha başarı sağlanacak ve daha güvenli sonuçlar elde edilebilecektir.

Sonuç olarak ülkemiz domates gen kaynakları bakımından bir zenginliēe sahiptir. Bunda hem tür bazında domatesin farklı yetiştiricilik yöntemleri ve istenilen düzeyde evrimsel nitelikler geliştirebilmiş olması, hem de ülkemizin sahip olduēu coērafi özellikler bu noktada önemli bir rol oynamıştır.

Ekonomik anlamda üretim, tüketim ve ticaret verilerine baktıēımızda ülkemiz açısından yüksek öneme sahip olduēu görülen domatesin farklı etki faktörlerine baēlı olarak etkilenen yetiřtiriciliēinin devamlılıēı çerçevesinde bu zenginliēin kullanımı gerekliliēi tespit edilmektedir.

Yapmış olduēumuz bu konudaki çalışmalar bu devamlılıēın saēlanması temel verileri saēlamakta ve özellikle ışlahılara büyük fırsatlar sunmaktadır. Bu nedenle bu husustaki çalışmaların kapsamının genişletilmesi ve sayılarının artması hem ulusal hem de küresel gıda gvenliēinin domatese düşen payının devamlılıēı bakımından oldukça önemli gözükmektedir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aazami, M.A., Torabi, M. and Jalili, E.,** 2010, In vitro response of promising tomato genotypes for tolerance to osmotic stress, *African Journal of Biotechnology* Vol. 9(26), pp. 4014-4017, 28 June, 2010.
- Acciarri, N., Rotino, G., Tamietti, G., Valentino, D., Voltattorni, S. and Sabatini, E.,** 2007, Molecular markers for Ve1 and Ve2 Verticillium resistance genes from Italian tomato germplasm, *Plant Breeding*, 126 (6), 617-621.
- Agarwal, S. and Rao, A. V.,** 2000, Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ* 163, 739–744.
- Anonymous,** 2021, The effect of water stress on plants. <https://homeguides.sfgate.com/effect-water-stress-plants-49055.html>, (Erişim tarihi: 4 Aralık 2021).
- Aoun, A. B., Lechiheb, B., Benyahya, L. and Ferchichi, A.,** 2013, Evaluation of fruit quality traits of traditional varieties of tomato (*Solanum lycopersicum*) grown in Tunisia, *African Journal of Food Science*, 7 (10), 350-354.
- Asraf, M. and Foolad, M.R.,** 2007, Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59:206-216.
- Ata, A.,** 2015, Örtü altı domates yetiştiriciliği. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı
- Ayaz, M., Ahmad, R., Shahzad, M., Khan, N., Shah, M.M. and Khan, S.A.,** 2015, Drought stress stunt tomato plant growth up regulate expression of SIAREB, SINCED3, and SIERF024 genes. *Scientia Horticulturae* 195 (2015) 48–55.
- Baki, D.,** 2014, Domates Bakteriyele Öz Nekrozu Hastalık Etmenlerinin LNA Probe Kullanılarak Real-Time PCR ile Tanısı ve Hatalıklı Bitki Dokularından Tespiti. 1-111. Antalya: Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Barone, G., Lo Giudice, A., Mazzoleni, P., Pezzino, A., Barilaro, D., Crupi, V. and Triscari, M.,** 2005, Chemical characterization and statistical multivariate analysis of ancient pottery from Messina, Catania, Lentini and Siracusa (Sicily), *Archaeometry*, 47 (4), 745-762.
- Bhandari, H. R., Bhanu, A. N., Srivastava, K., Singh, M. N. and Shreya, H. A.,** 2017, Assessment of genetic diversity in crop plants-an overview. *Adv. Plants Agric. Res*, 7(3): 00255.
- Bhattarai, K., Louws, F.J., Williamson, J.D. and Panthee, D.R.,** 2016, Diversity analysis of tomato genotypes based on morphological traits with commercial breeding significance for fresh market production in eastern USA, *Australian Journal of Crop Science*, 10, 1098-1103.
- Bhattarai, K., Sharma, S. and Panthee, D. R.,** 2018, Diversity among Modern Tomato Genotypes at Different Levels in Fresh-Market Breeding, *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Agronomy*, 15.
- Bilgin, O. ve Korkut, K.Z.,** 2005, Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Genetik Uzaklıklarının Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 2005 2(3)
- Blanton, K.,** 2023, 8 Potential Health Benefits of Tomatoes, *Everyday Health*, (<https://www.everydayhealth.com/diet-nutrition/potential-health-benefits-of-tomatoes/>).
- Bornet, B. and Branchard, M.,** 2001, “Nonanchored inter-simple sequence repeat (ISSR) markörs: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting.” *Plant Mol Biol Reporter* 19: 209–215.
- Bota, J., Conesa, M., Ochogavia, J., Medrano, H., Francis, D. M. and Cifre, J.,** 2014, Characterization of a landrace collection for Tomàtiga de Ramellet (*Solanum lycopersicum* L.) from the Balearic Islands, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61 (6), 1131-1146.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Botstein, D., White, R., Skolnick, M. and Davis, R.W.,** 1980, “Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms.” *Am. J. Of Human Genetic*, 32; 314-331.
- Castellana, S., Ranzino, L., Beritognolo, I., Cherubini, M., Luneia, R., Villani, F. and Mattioni, C.,** 2020, Genetic characterization and molecular fingerprint of traditional Umbrian tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces through SSR markers and application for varietal identification. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-14.
- Cave, G.,** 1981, “Water and membranes: The interdependence of their physicochemical properties in the case of phospholipids head groups”, *Studiabiophysica*, 91, 41-46
- Chen, J., Zhao, J.T., Erickson, D.L., Xia, N.H. and Kress, W.J.,** 2015, “Testing DNA barcodes in closely related species of *Curcuma* (Zingiberaceae) from Myanmar and China.” *Molecular Ecology Resources*, 15, 337–348.
- Choudhury, B. I., Khan, M. L. and Dayanandan, S.,** 2014, Patterns of nucleotide diversity and phenotypes of two domestication related genes (OsC1 and Wx) in indigenous rice varieties in Northeast India. *BMC genetics*, 15(1): 1-12.
- Çamoğlu, G., Demirel, K., Akçal, A. ve Genç, L.,** 2018, Su stresinin sofralık domatesin verimi ve fizyolojik özellikleri üzerine etkileri. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(1): 15-29.
- Demircan, S.,** 2023, *Ürün Raporu Domates 2023*. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme.
- Devos, K. M. and Gale, M. D.,** 1992, The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theor. Appl. Genetics*, 84; 567-572.
- Devos, K. M. and Gale, M. D.,** 1992, The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theor. Appl. Genetics*, 84; 567-572.
- Devran, Z. ve Özalp, T.,** 2015, Domateste kök-ur nematodlarına dayanıklılık genleri. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 5(1), 47-55.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Diouf, I. A., Derivot, L., Bitton, F., Pascual, L. and Causse, M.,** 2018, Water deficit and salinity stress reveal many specific qtl for plant growth and fruit quality traits in tomato. *Front. Plant Sci.* 9, 279. doi: 10.3389/fpls.2018.00279
- Dirik, H.,** 1997, Genetik çeşitlilik ve orman gen kaynaklarının korunması. İ. Ü. Orman fakültesi dergisi. 113-121s.
- Durdu, T.,** 2022, Bazı Yerel Domates Genotiplerinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Durmuş, M., Yetkin, Ö., Abed M.M., Haji, E.K. ve Akçay, K.,** 2018, Domates Bitkisi, Besin İçeriği ve Sağlık Açısından Değerlendirilmesi. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1(2): 59-74 pp.
- Dyer, G. A., López-Feldman, A., Yúnez-Naude, A. and Taylor, J. E.** 2014, Genetic erosion in maize's center of origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(39): 14094-14099.
- El Mohtar, C. A., Atamian, H. S., Dagher, R. B., Abou-Jawdah, Y., Salus, M. S. and Maxwell, D. P.,** 2007, Marker-assisted selection of tomato genotypes with the I 2 gene for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2, *Plant disease*, 91 (6), 758-762.
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., Saud, S., Ihsan, M.Z., Alharby, H., Wu, C., Wang, D. and Huang, J.,** 2017, Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Front. in Plant Sci.* 8, 1147. doi: 10.3389/fpls.2017.01147
- FAO,** 2023, Food and Agriculture Organization, (<https://www.fao.org/faostat/en/#data>).
- Faten Al-Remi, Y. E.,** 2018, Tomato Plant and Its In Vitro Micropropagation. *Journal of Engineering Technology and Applied Sciences*, s. 57-73.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Frederick, J. R. and Bauer, P. J.,** 1999, Physiological and numerical components of wheat yield, Wheat: Ecology and physiology of yield determination., 45-65.
- Genişel, H.,** 2013, Türkiye Florası'ndaki Acı Çiğdem (*Colchicum L.*) Yeni Tür Adaylarının Karakterizasyonunda ISSR Markörlerinin Kullanımı. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Glowacka, B.,** 2004, "Influence of Light Colour on Micropropagation of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)", Biotechnologia, 2: 168-175.
- Grandillo, S., Zamir, D. and Tanksley, S.D.,** 1999, Genetic improvement of processing tomatoes: A 20 years perspective. Euphytica, 110: 85-97.
- Gupta, M., Chyi, Y.S., Romero-Severson, J. and 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.
- Gülşen, O. ve Mutlu, N.,** 2005, Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. Alatarım, 4 (2):27-37.
- Günay, A.,** 2005. Sebze Yetiştiriciliği. Cilt 1. İzmir, 502 s.
- Güvenç, İ.,** 2017, Sebzecilik: Temel Bilgiler, Muhafaza ve Yetiştiricilik. Nobel Yayınları, S: 288.
- Hajjar, R., Jarvis, D.I. and Gemmil-Herren, B.,** 2008, The utility of crop genetic diversity in maintaining ecosystem services. Agriculture Ecosystem and Enviroment. 123: 261-270.
- Harlan, J.R. and de Wet, J.M.,** 1971, Toward a rational classification of cultivated plants. Taxon, 20(4), 509-517 pp.
- Hilooğlu, M.,** 2012, Türkiye'de Yayılış Gösteren Petrorhagia Türleri Arasındaki Genetik Akrabalığın Moleküler Belirteçlerle Tespit Edilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hinze, L.L., Gazave, E., Gore, M.A., Fang, D.D., Scheffler, B.E., Yu, J.Z., Jones, D.C., Frelichowski, J. and Percy, R.G.,** 2016, Genetic Diversity of the Two Commercial Tetraploid Cotton Species in the Gossypium Diversity Reference set. *Journal of Heredity*, 107, 274-286.
- Huang, S.,** 2016, New thoughts on an old riddle: What determines genetic diversity within and between species?. *Genomics*, 108(1), 3-10.
- Hughes, A.R. and Stachowicz, J.J.,** 2004, Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 101:8998-9002.
- Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. and White, T.J. (Ed).,** 1990. PCR protocols, 110-120.
- Karlova, R., Chapman, N., David, K., Angenent, G. C., Seymour, G. B. and de Maagd, R. A.,** 2014, Transcriptional control of fleshy fruit development and ripening. *J. Exp. Bot.* 65, 4527–4541. doi: 10.1093/jxb/eru316
- Kaushal, A., Singh, A. and Jeena, A.S.,** 2017, Genetic diversity in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes revealed by simple sequence repeats (SSR) markers, *Journal of Applied and Natural Science*, 9, 966-973.
- Kaya, S.,** 2012, Yerel sofralık domates populasyonlarının organik tarıma uygunlukları ve organik çeşit geliştirme amacıyla kullanım olanakları üzerine araştırma. Doktora tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 111 s.
- Kesawat, M.S. and Das, B.K.,** 2009, “Molecular Markörs: It's Application in Crop Improvement.” *J. Crop Sci. Biotech.*, 12 (4), 169-181.
- Khan, S.A., Hussain, D., Askari, E., Stewart, J.McD, Malik, K.A. and Zafar, Y.,** 2000, Molecular Phylogeny of Gossypium species by DNA Fingerprinting. *Theor.*
- Kıymacı, G.,** 2021, Bazı Nitelikli Domates Genotiplerinin Morfolojik ve Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması. Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kota, R., Varshney, R.K. and Thiel, T.,** 2001, Generation and Comparison of EST Derived SSRs and SNPs in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Hereditas*, 135: 145-151.
- Kralik, P. and Ricchi, M.,** 2017, A basic guide to Real Time PCR in microbial diagnostics: definitions, parameters, and everything. *Front Microbiol*, 8, 108.
- Kress, W.J., Wurdack, K.J., Zimmer, E.A., Weigt, L.A. and Janzen, D.H.,** 2005, “Use of DNA barcodes to identify flowering plants.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 8369–8374.
- Lankau, R.,** 2007, Loss Of Genetic Diversity Threatens Species Diversity. *Enviromental News Network, Wild Life*
- Lavi, U., Cregan, P., Scchap, T. and Millel, J.,** 1994, Amplification and breeding of perennial fruit crops. In: Janick, J. (ed) *Plant Breeding Reviews*. John Wiley Sons, Inc: NY Vol: 397-401.
- Lavi, U., Cregan, P., Scchap, T. and Millel, J.,** 1994, Amplification and breeding of perennial fruit crops. In: Janick, J. (ed) *Plant Breeding Reviews*. John Wiley Sons, Inc: NY Vol: 397-401.
- Li, Y., Wang, H., Zhang, Y. and Martin, C.,** 2018, Can the world’s favorite fruit, tomato, provide an effective biosynthetic chassis for high-value metabolites? *Plant Cell Rep.* 37, 1443–1450. doi: 10.1007/s00299-018-2283-8
- Liu, J., Shi, L., Han, J., Li, G., Lu, H., Hou, J., Zhou, X., Meng, F. and Downie, S. R.,** 2014, Identification of species in the angiosperm family Apiaceae using DNA barcodes. *Molecular ecology resources*, 14(6), 1231-1238.
- Marambe, B., Wijesundara, S., Tennakoon, K., Pindeniya, D. and Jayasinghe, C.,** 2002, Growth And Development Of *Cuscuta Chinensis* Lam. And Its Impact On Selected Crops. *Weed Biology and Management*, 2(2), 79-83.
- Martí, R., Roselló, S. and Cebolla-Cornejo, J.,** 2016, Tomato as a source of carotenoids and polyphenols targeted to cancer prevention. *Cancers (Basel)* 8, E58. doi: 10.3390/cancers8060058

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Meng, F., Xu, X., Huang, F.L. and Li, J.,** 2010, Analysis of Genetic Diversity in Cultivated and Wild Tomato Varieties in Chinese Market by RAPD and SSR, *Agricultural Sciences in China*, 9, 1430-1437.
- Mineo, L.,** 1990, Plant tissue culture techniques. Tested Studies For Laboratory Teaching, 11, 151-174.
- Muriel Quinet, T. A.,** 2019, Tomato Fruit Development and Metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 1-9.
- Mustafa Yorgancılar, E. Y.,** 2015, Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi* , 2-12.
- Mustafa Yorgancılar, E. Y.,** 2015, Use of Molecular Markers in Plant Breeding. *Journal of Bahri Dagdas Crop Research*, 1-12 pp.
- Mutlu, S.,** 2007, Sebze genetik kaynakları araştırma projesi, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, İzmir.
- Naika, S., Lidt de Jeude, J., Goffau, M., Hilmi, M. and Dam, B.,** 2005, Cultivation of tomato: production, processing and marketing, Wageningen, the Netherlands, Agromisa Foundation and CTA, 10p.
- Oğuz, A.,** 2010, Bazı yerel domates genotiplerinde farklı yöntemler kullanarak, domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus = TSWV)‘ne dayanıklılığın ve genetik varyasyonun araştırılması. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 166 s.
- Oğuz, A., Gözen, V., Kabaş, A., Zengin, S., Sönmez, K. and Ellialtıoğlu, Ş.Ş.,** 2014, Determination of relationship between some Turkish local tomato genotypes by using phenotypic characterization. *Derim*, 31(1), 25-34pp.
- Parmar, P., Oza, V.P., Chauhan, V., Patel, A.D., Kathiria, K.B. and Subramanian, R.B.,** 2010, Genetic diversity and DNA fingerprint study of tomato discerned by SSR markers, *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 6(5), 657+.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pavy, N., Pelgas, B., Beauseigle, S., Blais, S., Gagnon, F., Gosselin, I., Lamothe, M., Isabel, N. and Bousquet, J.,** 2008, Enhancing genetic mapping of complex genomes through the design of highly-multiplexed SNP arrays: application to the large and unsequenced genomes of white spruce and black spruce. *BMC Genomics*, 9: 21.
- Pem, D. and Jeewon, R.,** 2015, Fruit and vegetable intake: benefits and progress of nutrition education interventions- narrative review article. *Iran J. Public Health*, 44, 1309–1321.
- Peralta, I. E. and Spooner, D.M.,** 2005, Morphological characterization and relationships of wild tomatoes. (*Solanum* L. section *Lycopersicon*). *Mon. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.*, 104: 227-257.
- Pradeep Reddy, M., Sarla, N. and Siddiq, E.A.,** 2002, Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9-17.
- Rai, M. K., Asthana, P., Jaiswal, V. S. and Jaiswal, U.,** 2010, Biotechnological advances in guava (*Psidium guajava* L.): recent developments and prospects for further research. *Trees*, 24(1): 1-12.
- Raiola, A., Rigano, M. M., Calafiore, R., Frusciante, L. and Barone, A.,** 2014, Enhancing the health-promoting effects of tomato fruit for biofortified food. *Mediators Inflammation* 2014. doi: 10.1155/2014/139873
- Ravel, C., Praud, S., Canaguier, A., Dufour, P., Giancola, S., Balfourier, F., Chalhoub, B., Brunel, D., Linossier, L., Dardevet, M., Beckert, M., Rousset, M., Murigneux, A. and Charmet, G.,** 2007, DNA Sequence Polymorphisms and Their Application to Bread Wheat Quality. *Euphytica*, 158: 331-336.
- Razifard, H., Ramos, A., Della Valle, A. L., Bodary, C., Goetz, E., Manser, E. J., Li, X., Zhang, L., Visa, S. and Tieman, D.,** 2020, Genomic evidence for complex domestication history of the cultivated tomato in Latin America, *Molecular biology and evolution*, 37 (4), 1118-1132.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rocha, M. C., Deliza, R., Ares, G., Freitas, D. D. G., Silva, A. L., Carmo, M. G. ve Abboud, A. C.,** 2013a, Identifying promising accessions of cherry tomato: a sensory strategy using consumers and chefs, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (8), 1903-1914.
- Röder, M.S., Plaschke, P., König, S.U., Börner, A., Sorrells, M.E., Tanksley, S.D. and Ganal, M.W.,** 1995, Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genetics* 246: 327-333.
- Saeed, A. and Fatima, N.,** 2021, Wild Germplasm: Shaping Future Tomato Breeding, In: *Wild Germplasm for Genetic Improvement in Crop Plants*, Eds: Elsevier, 201-214 pp.
- Sami Dura, Ö. M.,** 2023, 2023 ve 2024 Yıllarına Ait Türkiye Domates Üretiminin Değerlendirilmesi. *Tarım Gündem*, s. 1-3.
- Saskia, S.P., Khalil, K., Hadas, S., Jossi, H. and Uri, L.,** 2002, Generation and Mapping of AFLP, SSRs and SNPs in *Lycopersicon Esculentum*. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 7: 583-597.
- Schieber, A., Stintzing, F. C. and Carle, R.,** 2001, By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments. *Trends in food science & technology*, 12(11), 401-413.
- Selvi, D. and Khader, M.,** 1993, “In Vitro Morphogenetic Capacity of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Var”, *PKM*, 1: 251-258.
- Simon, M., Loudet, O., Durand, S., Bérard, A., Brunel, D., Sennesal, F.X., Durand-Tardif, M., Pelletier, G. and Camilleri, C.,** 2008, Quantitative trait loci mapping in five new large recombinant inbred line populations of *Arabidopsis* with consensus *thaliana* genotyped single-nucleotide polymorphism markers. *Genetics*, 178: 2253-2264.
- Smale, M., Már, I. and Jarvis, D. I. (Eds.),** 2002, The economics of conserving agricultural biodiversity on-farm. Bioversity International

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Suresh, B. V., Roy, R., Sahu, K., Misra, G. and Chattopadhyay, D.,** 2014, Tomato genomic resources database: an integrated repository of useful tomato genomic information for basic and applied research. *PloS One* 9, e86387. doi: 10.1371/ journal.pone.0086387
- Şehirali, S., Özgen, M., Karagöz, A., Sürek, M., Adak, S., Güvenç, İ., Tan, A., Burak, M., Kaymak, H. Ç. ve Kenar, D.,** 2005, “Bitki genetik kaynaklarının korunma ve kullanımı.” TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası VI. Teknik Kongresi. Cilt 1. Kozan Ofset, Ankara. 253-273 s.
- Tamam, A.,** 2008, Bazı Avokado (*Persea americana* Mill.) Çeşitlerinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Taylor, 1986,** Biosystematic of the tomato in J. G. Atherton and J. Rudich (eds.) The tomato crop: A scientific basis for improvement. Chapman and Hall., London, 1-34 pp.
- Tigchelaar, E.C.,** 1986, Tomato Breeding. In Breeding Vegetable Crops (M.J. Bassett ed.), pp. 135–171. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Tohge, T. and Fernie, A. R.,** 2015, Metabolomics-inspired insight into developmental, environmental and genetic aspects of tomato fruit chemical composition and quality. *Plant Cell Physiol.* 56, 1681–1696. doi: 10.1093/pcp/pcv093
- Tosun, F. ve Sağsöz, S.,** 2005, Bitki Islahı Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi DersYayınları No:172.
- Türkmen, Ö., Seymen, M., Paksoy, M., Arisoy, H. ve Kurtar, E. S.,** 2017, Konya ili Ereğli, Karapınar, Emirgazi ve Halkapınar ilçeleri sebze tarımı potansiyeli ve geliştirilebilme olanakları.
- Tyrka, M., Blaszczyk, L. and Chelkowski, J.,** 2004, Development of the Single Nucleotide Polymorphism Marker of the Wheat Lr1 Leaf Rust Resistance Gene. *Cell Mol. Biol. Lett.*, 9: 879-889.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vaughan, D. A., Balazs, E., and Heslop-Harrison, J. S.,** 2007, From crop domestication to super-domestication. *Annals of botany*, 100(5): 893-901.
- Viuda, M., Sanchez-Zapata, E., Sayas-Barberá, E., Sendra, E., Pérez-Álvarez, J. A. and Fernández-López, J.,** 2014, Tomato and tomato byproducts. Human health benefits of lycopene and its application to meat products: a review. *Crit. Rev. In Food Sci. Nutr.* 54, 1032–1049. doi: 10.1080/10408398.2011.623799
- Vural, H., Eşiyok, D. ve Duman, İ.,** 2000, Kültür sebzeleri (sebze yetiştirme). Ege Üniversitesi Basım Evi, Bornova, İzmir, 440 s.
- Vural, H., Eşiyok, D. ve Duman, İ.,** 2000, Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), EÜ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, EÜ Basımevi, Bornova, 440s.
- Wang, D.G., Fan, J.B. and Siao, C.J.,** 1998, Large-Scale Identification, Mapping, and Genotyping of Single-Nucleotide Polymorphisms in the Human Genome. *Science*, 280: 1077-1082.
- Wang, Mahalingan, G.R. and Knap, H.T.,** 1998, “(C-A) and (GA) anchored simple sequence repeats (ASSRs) generated polymorphism in soybean,” *Glycine max (L.) Merr. Theor Appl Genet* 96: 1086–1096.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V.,** 1990, “DNA Polimorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markörs.” *Nucl. Acids Res.*, 18, 6531-6535.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V.,** 1990, “DNA Polimorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markörs.” *Nucl. Acids Res.*, 18, 6531-6535.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, J.A. and Labuda, D.,** 1994, “Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification.” *Genomics* 20: 176–183.

## TEŞEKKÜR

Öncelikle danışmanlığımı üstlenen konu seçiminden araştırmanın yürütülmesinde dek her koşulda bana destek olan danışman hocam Prof. Dr. İsmail Can PAYLAN'a, tez çalışmam boyunca her konuda yardımlarını esirgemeyen olan Dr. Adem GÖKÇÖL'e ve tüm laboratuvar imkanlarından faydalandığım Ege Üniversitesi Tohum Teknolojisi Uygulama ve Araştırma Merkezine, her zaman yanımda olan sevgili aileme ve tüm bu süreç boyunca bana her fırsatta destek olan, her koşulda ve her açıdan yanımda olan değerli çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

29 / 08 / 2024

Gülhan KAYGUSUZ

## ÖZGEÇMİŞ

Araştırmacı, ilkokul, ortaokul, lise eğitimini İzmir’de tamamlayarak 2017’de Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümüne başlayarak 2021’de mezun olmuştur. 2021 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Bölümünde yüksek lisans eğitime başladı. Şu an İzmir/Tire’de çalışmakta olduğu firmada ziraat mühendisliği görevini sürdürmektedir.

