

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BB-YL-2005-0001**

**BAZI ERKEK İNCİR ÇEŞİTLERİNİN
RAPD
BELİRTEÇLERİ İLE
TANIMLANMASI**

HAZIRLAYAN

H. Osman MESTAV

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ

AYDIN-2005

T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Hacı Osman MESTAV'ın hazırlamış olduğu Yüksek Lisans tezi aşağıda isimleri bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir. 26.08.2005.

ADI VE SOYADI _____ : **ÜNİVERSİTESİ** _____ :

Prof. Dr. F. Ekmel TEKİNTAŞ Adnan Menderes Üniversitesi

Doç. Dr. Bahattin TANYOLAÇ Ege Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ Adnan Menderes Üniversitesi

İMZASI:

.....
.....
.....

Jüri Üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun.....12.09.2005 / 2.2.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.....

Prof. Dr. Hatice KANDAMAR
Enstitü Müdürü



ÖZ

Bazı Erkek İncir Çeşitlerinin RAPD Belirteçleri ile Tanımlanması

Bu çalışmanın materyalini Aydın ilinden seçilen 23 adet erkek incir (*Ficus carica caprificus*) çeşidi ve klonları oluşturmuştur. PCR tabanlı RAPD yöntemi ile toplam 30 adet 10 baz dizilimli primer test edilmiştir. Büyüklükleri 250 - 3500 bp arasında değişen toplam 195 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 51 adedi polimorfizm gösterirken, 144 adet bant monomorfizm göstermiştir. Çalışmada 'Şeytan-1', 'Yanako-1' ve 'Yanako-2' klonları arasında polimorfizm bulunmuştur. Çeşitlerin bant desenine göre çıkartılan dendrogramında (soy ağacı) bireyler iki grupta toplanmışlardır. Çalışılan çeşitler arasında en yüksek benzerlik (%92.6) 'Şeytan-1' ile 'Şeytan-2' arasında çıkmıştır. En düşük benzerlik ise (%62.2) 'Yanako-2₇₂' ile 'Karaerkek' çeşitleri arasında çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Ficus carica caprificus*, RAPD, benzerlik matrisi, dendrogram

ABSTRACT

Identification of Some Male Fig Cultivars with RAPD Markers

Twenty three male fig (*Ficus carica caprificus*) cultivars and clones selected at Aydın province were the plant materials for this research. Total of 30 (10-mer) primers were tested with PCR-based RAPD technique. The total number of bands obtained was 195 whose molecular weight changed between 250 - 3500 bp. While polymorphism was seen 51 of these bands, 144 of which were monomorphic. The polymorphism was observed among the clones of 'Şeytan-1', 'Yanako-1', and 'Yanako-2'. The dendrogram constructed according to the band patterns of the cultivars and their clones. Among the studied genotypes, the highest similarity percentage (92.6%) was between 'Şeytan-1' and 'Şeytan-2'. The lowest similarity value was 62.2% of 'Yanako-2₇₂' and 'Karaerkek' cultivars.

Key Words: *Ficus carica caprificus*, RAPD, similarity matrix, dendrogram,

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZ, ABSTRACT.....	i
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	iv
1. GİRİŞ	1
2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM	10
3.1. Materyal	10
3.2. Yöntem.....	11
3.2.1. DNA Çıkartılması (izolasyon)	11
3.2.2. RAPD-PCR.....	13
3.2.3. Jel Elektforezi	14
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	15
4.1. İlek Çeşitlerinin DNA Parmak İzlerinin RAPD Belirteçleri ile Belirlenmesi.....	15
4.2. İlek Çeşitlerinin Klonları Arasındaki Farklılığın RAPD Belirteçleri ile Belirlenmesi	25
4.3. İlek Çeşitleri Arasındaki Yakınlığın Belirlenmesi.....	28
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	32
ÖZET.....	34
SUMMARY	35
TEŞEKKÜR.....	36
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ.....	v

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1. Denemede kullanılan ilek çeşitleri, klon numaraları ve orijinleri.....	10
Çizelge 2. PCR solüsyonunda kullanılan bileşenlerin miktarı.....	16
Çizelge 3. Araştırmada kullanılan primerler, baz dizilimleri, değerlendirmeye alınan bant sayıları, polimorfik bant sayıları ile yaklaşık bant büyüklükleri.....	17
Çizelge 4. Erkek incir çeşit ve klonlarının primerlere göre oluşturduğu bant deseni.....	18
Çizelge 5. Erkek incir çeşit ve klonlarında Sokal ve Sneath 1 katsayılarına göre oluşturulan benzerlik matrisi.....	30

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sekil No

Sayfa No

- Şekil 1. MgCl₂ ve dNTP konsantrasyonu için ön deneme sonuçlarının jel fotoğrafı16
- Şekil 2. OPB05 primeri ile PCR ürünleri jeli.....22
- Şekil 3. OPC01 primeri ile PCR ürünleri jeli.25
- Şekil 4. a) OPC07 primeri ile,
b) OPA11 primeri ile,
c) OPB07 primeri ile,
erkek incir genotiplerinin PCR ürünlerinin jeli.....27
- Şekil 5. Erkek incir çeşitleri arasındaki genetik ilişki dendrogramı.....31

1. GİRİŞ

İncir (*Ficus carica* L., $2n=26$), *Moraceae* familyasında yer alan meyve türüdür. Berg'e göre *Ficus* cinsi içerisinde yaklaşık 400 adet monoik ve 350 adet ginodioik tür bulunmaktadır (Parrish ve ark. 2004). Anavatanı Anadolu'yu da içine alan Akdeniz havzasıdır. 2004 üretim istatistikleri incelendiğinde Türkiye, dünya toplam taze incir üretiminin (1,089,245 t) %25.7'sini (280,000 t) karşılamaktadır (Anonim 2004). 2003 istatistiklerine göre Türkiye dünya toplam taze incir ihracatının (23,862 t) %38.3'ünü (9,138 t) gerçekleştirerek birinci sıradadır. Dünya kuru incir ihracatında (71,835 t) söz sahibi ülkeler Türkiye (42,081 t), İran (9,285 t), İspanya (3,551 t), ABD (3,390 t) ve Yunanistan (3,279 t) iken, dünyada en çok kuru incir ithalatı (71,432 t) yapan ülkeler ise Almanya (8,861 t), Fransa (8,073 t), ABD (7,572 t), İtalya (6,248 t) ve Hong Kong (5,325 t)'dur (Anonim 2003). Türkiye'nin toplam incir üretiminin %60.7'sini Aydın ili (142,650 t) kurutmalık 'Sarılöp' çeşidi ile karşılamaktadır (Anonim 2001).

Çiçek yapısı ginodioik olan incirde erkek bireyler (hermafrodit) ve dişi bireyler (dioik) ayrıdır. Erkek incir (*F.carica caprificus*)'de bir çiçekte, erkek çiçekler ve dumura uğramış olan dişi gal çiçekleri birlikte bulunur. Erkek çiçekler ostiole (açıklık) yakın, gal çiçekleri ise meyve (sikonyum) sapına yakın olarak dizilmişlerdir. Dişi incir (*F.carica domestica*)'de ise sadece dişi çiçekler vardır. Erkek ve dişi ağaçlarda belirli aralıklarla birbirine paralel olarak üç dönem çiçeklenme olmaktadır. Erkek incirlerde ilek (profichi), ebe (mammoni) ve boğa (mamme) çiçekleri sırasıyla ilkbahar, yaz ve kış dönemlerinde oluşur. Aynı dönemlerde ise dişi incirlerde, yellop (fiori), iyilop (pedagnuoli) ve sonlop (cimaruali) çiçekleri meydana gelir (Öncel 1969).

Çoğu incir çeşidi meyve oluşturmak için mutlaka dölllenmeye (caducous) ihtiyaç duyar. Bazı çeşitler ise partenokarpik olarak (dölllenmeden, persistent) meyve oluşturabilirler. Aydın'da en fazla yetiştiriciliği yapılan kurutmalık incir çeşidi 'Sarılöp' mutlaka dölllenmeye ihtiyaç duyar. Dölllenmenin sağlanması için, dişi incir

ağaçlarında iyilop çiçeklerinin olduğu dönemde olgunlaşan ilek çiçeklerinin dışı ağaçlar üzerine bırakılması gerekir. Bu işleme “ilekleme” denir ve Ege Bölgesi’nde haziran ayında yapılır. Bu amaçla kullanılan erkek incir meyvelerine de “ilek” denir. Kaliteli bir incir meyvesi elde etmek için kaliteli ilek kullanmak birincil hedeftir.

Farklı zamanlarda gelişip olgunlaşan meyveler, erkek incir çiçekleriyle ortak yaşam süren ilek arıcığı (*Blastophaga psenes* L.)’nın yaşam döngüsünü tamamlayabilmesi için gereklidir. İlek meyvesi içerisinde ilek arıcığı çıkarken üzerine aldığı polenlerle birlikte, hayatını sürdürebilmek için o dönemde bulunan erkek ağaç üzerindeki ebe çiçeklerine veya dışı ağaç üzerindeki yaz ürünü olan iyilop çiçeklerine girer. Bu şekilde üzerinde bulunan polenlerle iyilop çiçeklerinde tozlama görevini yaparak içi dolgun çekirdekler yani gerçek incir meyvelerini oluşturur (Kabasakal 1990).

Günümüzde oldukça gelir getiren bir ürün olan ileklerle kapama bahçeler kurulması gündemdedir. Fidan temini ve bahçe tesisi aşamasında ismine doğru erkek incir fidanı üretimi konularında çeşit karışımı şüphesine düşülen durumlarda moleküler belirteçler, henüz pratikte kullanmak için pahalı olmasına rağmen, çeşit tayininde kullanılan kaynaklardan bir tanesidir. Kapama meyve bahçesi kurmanın maliyeti oldukça yüksektir. Bahçeye dikilen bir meyve fidanı ortalama olarak 2-3 yıl sonra meyve vermeye başlar ve ancak o zaman diktiğimiz fidanın ismine doğru olduğu anlaşılır. Bu riskin önlemek için moleküler belirteçler kullanılabilir.

Bitki çeşitleri, morfolojik, fenolojik, fizyolojik ve pomolojik özellikleri yoluyla birbirinden ayırt edilebilmektedir. Birbirine genotipik (DNA düzeyinde) yönden çok yakın akraba olan çeşitleri fenotipik özelliklerine göre ayırt etmek oldukça zor olabilir. Fenotipik yönden birbirinin aynısı gibi görünen ve farklı isim verilen iki birey, ancak genotipik yönden farklılıklarının belirlenmesinden sonra kesin olarak tanımlanabilirler. DNA’nın çoğaltılmasını temel alan PCR (Polymerase Chain Reaction = Polimeraz Zincir Reaksiyonu)’ın 1983 yılında Kary Mullis

tarafından bulunmasıyla moleküler çalışmalar başlamıştır (Saiki ve ark. 1985). 1990 yılında iki ayrı araştırmacı grubu Welsh ve McClelland (1990) ile Williams ve ark. (1990) genomik DNA'nın baz dizilimini bilmemize gerek kalmadan PCR yöntemi ile tek bir primer kullanılarak genetik farklılığın tespit edilmesi için iki farklı yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemler temelde aynı prensibe dayanır, ancak isim olarak farklıdır. Bu yöntemlere RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA = Rastgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı, Williams ve ark. 1990) ve AP-PCR (Arbitrarily Primed-PCR = Rastgele Başlatıcı-PCR, Welsh ve McClelland 1990) ismi verilmiştir. Sonraki yıl Caetano-Anolles ve ark. (1991) benzer bir yöntem - DAF (DNA Amplified Fingerprinting = DNA Çoğaltılmış Parmak İzi) - geliştirmişlerdir. Çeşitlerin ayırımında güçlük çekilen durumlarda veya bitkinin meyve vermediği ilk yıllarında izoenzim analizi gibi biyokimyasal protein yapı farklılığı; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism = Kesilmiş Bant Uzunluğu Farklılığı) analizi gibi kesilmiş DNA bölgeleri arasındaki baz dizilimi farklılığı veya RAPD, SCAR (Sequence Characterized Amplified Region = Baz Dizilimi Belirlenmiş Çoğaltılan Bölge), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism = Çoğaltılan Parça Uzunluğu Farklılığı), STS (Sequence Tagged Sites = Dizisi Etiketlenmiş Alanlar), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat = Tekrarlanan Basit Baz Dizilimi Arası), SSR (Simple Sequence Repeat = Tekrarlanan Basit Baz Dizilimi) ve SAMPL (Selective Amplification of Microsatellite Polymorphic Loci = Mikrosatellit Farklı Lokuslarının Seçilmiş Çoğaltımı) gibi PCR tabanlı DNA analiz yöntemlerine başvurulabilir. Son yıllarda gen mühendisliği alanındaki hızlı atılımın sonucu artık, bitkiler yapılarını oluşturan DNA'larındaki farklılık sayesinde tanımlanabilmektedir. Diğer taraftan özellikle tanımlamada kesin sonuç, uygulamada kolaylık ve ekonomiklik sağlayan yeni belirteç (marker, tanımlayıcı, işaretleyici) bulunmasına ve geliştirilmesine yönelik çalışmalar da yoğun bir şekilde sürdürülmektedir.

Dekamer (10-mer = 10 baz dizilimli) oligonükleotidler (primer) kullanılarak PCR ile çoğaltılan DNA parçalarının farklılıklarını esas alan RAPD yöntemi, genom üzerinde rastgele bölgelerin DNA çoğaltılmasını gerçekleştirir. Reaksiyon şartları çok kesin sınırlar ile belirlenmediği için rastgele çoğaltıma izin verir. RAPD

tekniklerinin avantajları arasında çabuk sonuç vermesi, diğer tekniklere göre ucuz olması, radyoaktivite kullanılmaması, az iş gücü gerektirmesi, az miktarda ve düşük kalitedeki DNA ile bile çalışabilmesi gelmektedir. Ayrıca polimorfizm oranı da yüksek olmaktadır. Ancak yöntemin bazı dezavantajları da vardır. Bunlardan en önemlisi çok hassas olmasıdır. Farklı laboratuvarlarda farklı araştırmacıların elinde ve hatta bir PCR makinesinden diğerine değişebilmektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Diğer bir dezavantajı ise dominant özellikte belirteç vermesidir. Yani heterozigot dominantı homozigot dominanttan ayırt edemez (kodominant).

Değişik yörelerde değişik isimlerle anılan bireylerin (sinonim) gerçekten hangi çeşit olduğu günümüzde kuşku yaratmaktadır. Bunun çözümü ise polimorfizm gösteren belirteçler yardımıyla genetik olarak tanımlamalarının yapılmasıdır. RAPD yöntemi yüksek düzeyde polimorfizm vermesinden dolayı yöresel çeşitler ve tür içi yakınlık derecelerini belirlemede güvenli sonuçlar vermektedir (Khadari ve ark. 1995, Galderisi ve ark. 1999).

2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Literatür tarandığında karşımıza ilekler hakkında yapılmış çok az sayıda kaynak çıkmaktadır. İleklar hakkındaki ilk kaynaklardan birinde Condit (1955), Türkiye'nin ilek çeşitlerinden 'Ak-kaba', 'Bardakçı', 'Elma', 'Hajji Mestan', 'Kara Mor', 'Kongouz', 'Kongur' ve 'Kuyucak' çeşitlerinden bahsetmektedir. Ölçer (1968)'in çalışmasında 12 farklı ileğin ağaç, yaprak, meyve özellikleri ve dölllenme biyolojileri hakkında bilgi verilmiştir. Çiçek tozu çimlenmesinin %2.5 sakkaroz içeren *in vitro* ortamda %5.7 ('Küçük Konkur') - %53.2 ('Bardakçı') arasında değiştiği bildirilmiştir. Öncel (1969), çalıştığı ileklerden 12 adedini erkenci, 1 adedini orta erkenci ve 4 adedini geçici olarak belirlemiştir. Eroğlu (1982), 1979-1982 yılları arasında Ülkesel İncir Seleksiyon Islahı Projesi kapsamında 52 adet erkek incir çeşidinin meyve ve bitki özellikleri ile erkencilik-geççilik durumlarını belirlemiştir. Zeybekoğlu ve ark. (1998), 'Çakın', 'Hacı Mestan', 'Kıbrıslı', 'Küçük Konkur', 'Mordemirtaş' ve 'Taşlık' ilek çeşitlerinin çiçeklerinde çiçek tozu oluşumunun boğa (kış ürünü) meyvesinden sinek çıkışı ile aynı tarihe rastladığını ve ileklemeden yaklaşık 30 gün önce başladığını vurgulamıştır. Çiçek tozu canlılığı %49 ('Kıbrıslı') - %71 ('Hacı Mestan') arasında bulunmuştur. Çiçek tozları %5 sakkaroz içeren ortamda en iyi çimlenmiştir. Doku kültürü ortamlarına göre ortalama çiçek tozu çimlenme oranları ise %15.97 ('Mordemirtaş') - %29.04 ('Hacı Mestan') arasında yer almıştır.

İncir konusunda DNA düzeyinde yapılan çalışmalar çok azdır. Özellikle doğrudan ileklere yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak dişi incirlerle birlikte birkaç ilek çeşidi kullanılarak çalışılmıştır. Dişi incirlerle ilgili ilk RAPD çalışmasında Khadari ve ark. (1995), Fransa'daki 21 adet incir tip ve çeşidinin RAPD moleküler belirteç yöntemi ile birbirinden farklılıklarını araştırmışlardır. Çalışmada test edilen 85 adet 10 baz dizilimli primerden sadece polimorfizm gösteren 27 adet primer kullanılmıştır. PCR'da primer bağlanma sıcaklığı (annealing) 35°C'ye ayarlanmıştır. Toplam 12 primer 48 adet bant oluştururken bunlardan 19 adedi polimorfik bant olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak seçilen

primerlerden elde edilen polimorfizm ile kullanılan genotiplerin dendrogramı (soy ağacı) çıkartılmıştır.

Elisiario ve ark. (1998), Portekiz'de 174 adet dişi ağaç içeren koleksiyon bahçesinden seçilen 55 genotip arasında izoenzim ve RAPD belirteç sistemleriyle karakterizasyon çalışması yapmışlardır. RAPD yönteminde 43 adet 10 baz dizimli primeri 36°C bağlanma sıcaklığında test etmişlerdir. İzoenzimlerle, ayrı bölgelerden gelen ve aynı isimle anılan (homonim) iki klon arasındaki farklılık tespit edilmiştir. Bununla birlikte sinonim olan klonlar arasındaki ilişki tespit edilememiştir. İzoenzimler tarafından ayırt edilemeyen genotipler arasındaki farklılık RAPD yöntemi kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır.

Galderisi ve ark. (1999), İtalya'da 6 adet dişi incir çeşidi ve bunların klonlarından oluşan toplam 13 bireyde, RAPD yöntemi ile 20 adet 10 baz dizimli primerden seçilen 5 adet primerle klonlar arasındaki farklılıkları tespit etmişlerdir. PCR'da primer bağlanma sıcaklığı 40°C kullanılmıştır. Her bir primerin oluşturduğu bant sayısı 1-15 adet arasında değişirken polimorfik bant sayısı 0-14 adet arasında değişmiştir. Morfolojik ve fenolojik özelliklerle birbirinden ayıramayan 'Dottato' ve 'Bianco del Cilento' gibi dişi incir çeşitleri arasında 5 primer yardımıyla genetik farklılık tespit edilebilmiştir. Hatta U4 (5'-GAC AGA CAG G-3') primeri ile bazı çeşitlerin klonları arasında polimorfizm bulunabilmiştir.

Cabrita ve ark. (2001), Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü koleksiyon bahçesindeki 11 adet 'Sarılöp' klonu ve 'Sarı Zeybek' çeşidi arasındaki benzerlik ve farklılıkların belirlenmesinde izoenzim, RAPD ve AFLP yöntemlerinin uygunluğunu araştırmışlardır. RAPD yönteminde 31 adet 10 baz dizimli primer kullanılmıştır. Toplam 197 adet RAPD bandı tespit edilmiştir. PCR'da primer bağlanma sıcaklığı (annealing) 36°C kullanılmıştır. Primerlerin oluşturdukları bant sayısı 2-11 adet olarak belirlenmiştir. 'Sarılöp' ve 'Sarı Zeybek' çeşidi arasında 10 adet primer

polimorfik bant vermiştir. 'Sarılöp' klonları arasında ise 1 primerde farklılık bulunmuştur ve soy ağacı çıkartılmıştır.

Khadari ve ark. (2001), Fransa'da *Ficus carica* ve 17 adet değişik *Ficus* spp.'ye ait bitki örneklerinin tanımlanmasında 8 adet microsatellit primeri kullanmışlardır. PCR'da primer bağlanma sıcaklığı 50-55°C'ye ayarlanmıştır. Denemede 7 primerde farklılık bulunmuştur.

Papadopoulou ve ark. (2002), Yunanistan'da 63 adet değişik dişi incir ve 3 adet erkek incir tip ve çeşidi arasındaki akrabalık derecesini 7 adet 10 baz dizilimli primerle RAPD yöntemi kullanarak belirlemişlerdir. PCR programında primer bağlanma sıcaklığı 38°C kullanılmıştır. Toplam 158 adet bant bulunmuştur. Bant boyutları 180-2900 bp ve seçilen primerlerden elde edilen polimorfizm %47.6 – %92.0 arasında değişmiştir. Sonuç olarak kullanılan incir genotiplerinin soy ağacı çıkartılmıştır.

Aka-Kaçar ve ark. (2003), Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden topladıkları 30 adet dişi incir çeşidinin yakınlık durumlarını 12 adet 10 baz dizilimli primerle RAPD yöntemini kullanarak belirlemişlerdir. PCR programında primer bağlanma sıcaklığı 35°C olarak kullanılmıştır. Toplam 58 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 37 adeti polimorfik bant olarak tespit edilmiştir. Primerlerin oluşturdukları bant sayıları 1-9 arasında değişirken primer başına 4.8 bant oluşmuştur. Çoğaltılan bantların boyutları 200-1600 bp arasında değişmiştir. Analiz sonucunda kullanılan 30 çeşit içerisinde 'Mor 3' ve 'Mor 4' çeşitleri dışındaki tüm çeşitler arasındaki farklılık 12 adet primerle tespit edilmiştir. Çeşitlerin oluşturduğu benzerlik matrisine göre soy ağacı çıkartılmıştır.

Uzun ve ark. (2003), Antalya'da 7 adet dişi incir çeşidini yaprak ve meyveden yapılan izoenzim analizi yöntemi ile tanımlamış ve akrabalık derecelerini belirlemişlerdir. En düşük benzerlik oranı meyve izoenzimleri ile %62, yaprak izoenzimleri ile %70 olarak 'Karabakunya' ve 'Beyaz Orak' çeşitleri arasında

belirlenmiştir. En yüksek benzerliğin ise yaprak izoenzimleri ile %100 oranında 'Sarılop' ve 'Sultan Selim' çeşitleri arasında olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda 'Sarılop' ve 'Bursa Siyahı' arasında yine yaprak izoenzimleri ile %94 oranında benzerlik bulunmuştur.

De Masi ve ark. (2003), İtalya'da 20 adet 'Bianco del Cilento' ve 19 adet 'Dottato' dişi incir klonunun RAPD yöntemi ile tanımlamasını yapmışlardır. Klonlar 20 adet 10 baz dizimli primerle test edilmiştir. PCR'da primer bağlanma sıcaklığı 40°C kullanılmıştır. RAPD verileri kullanılarak test edilen bireylerin soyağacı UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Means) metodu ile çıkarılmıştır.

Khadari ve ark. (2003a), Fransa'da incir çeşitlerinin tanımlanmasında RAPD, ISSR ve mikrosatellit belirteçlerinin etkinliğini 30 adet dişi incir çeşidinde karşılaştırmışlardır. RAPD analizinde 9 adet primer test edilmiştir. Tüm belirteç yöntemlerinde aynı primer bağlanma sıcaklığı (50°C) kullanılmıştır. RAPD'de 9 primerle 20 adet bant gözlenirken ISSR'de 4 primerle 32 bant gözlenmiştir. Heterozigotluk, ISSR belirteçleriyle %64, mikrosatellit belirteçleri ile %41 ve RAPD belirteçleri ile %37 olarak sıralanmıştır.

Khadari ve ark. (2003b), Fransa'daki Ulusal Akdeniz Botanik Koleksiyon'undaki 70 adet dişi incir tip ve çeşidinin akrabalık derecelerinin belirlenmesinde mikrosatellit yönteminin kullanılabilirliğini SSR yöntemini kullanarak araştırmışlardır.

Amel ve ark. (2004), 16 adet yerel Tunus dişi incir çeşidi ve 2 adet erkek incir çeşidini 13 adet ISSR primeri (16-21 baz dizimli) ile test etmişlerdir. Sonuç olarak benzerlik matrislerine göre oranlar 0.16-0.95 arasında değişmiştir.

Khadari ve ark. (2004), Fas'ın çeşitli yerlerinden toplanan ve arasında 8 adet erkek incir olan toplam 72 adet incir genotipinde yaptıkları çalışmada, ISSR (8 primer) ve SSR (6 primer) yöntemleriyle Fas'ta incir gen kaynaklarının moleküler karakterizasyonunu yapmışlardır. Dendrogram sonucunda 4 grup oluşmuş, kullanılan 8 adet erkek incir aynı grup içerisinde yer almıştır. Kullanılan genotipler arasında 3 adet yanlış etiketleme ve 4 adet homonimden dolayı tam bir ayırım yapılamamıştır. Aynı bölgelerden getirilen genotipler dendrogramda farklı gruplarda yer almışlardır.

Khadari ve ark. (2005), değişik Akdeniz ülkelerinden toplanan incirlerde mtDNA (mitokondrial DNA)'dan RFLP yöntemiyle genetik farklılık ve ayırımın ilişkilendirilmesini çalışmışlardır.

Kaynak incelemesi sonucunda, RAPD-PCR yöntemi ile sadece erkek incir popülasyonu kullanılarak çeşit tanımlama çalışması yapılmadığı belirlenmiştir. Burada sunulan çalışma, erkek incir popülasyonu kullanılarak yapılan ilk RAPD parmak izi değerlendirmesi olması nedeni ile temel oluşturması anlamında önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı, (1) Aydın ilinden seçilen bazı erkek incir çeşitlerinin RAPD belirteçleri kullanılarak DNA parmak izlerinin belirlenmesi, (2) çeşitlerin klonları arasında RAPD belirteçleri ile farklılığının olup olmadığının tespit edilmesi ve (3) yüzde olarak hesaplanan polimorfizm oranları kullanılarak çeşitler arasındaki yakınlık derecelerinin yorumlanmasıdır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada 12 çeşit erkek incir ve bunların klonlarından oluşan toplam 23 genotip içeren populasyon kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan erkek incir çeşitleri ve klonları T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü İlek Çeşit Bahçesi'nden elde edilmiştir (Çizelge 1) (Eroğlu, 1982). Deneme 2004-2005 yıllarında T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ve T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvar'ında yürütülmüştür.

Çizelge 1. Denemede kullanılan ilek çeşitleri, klon numaraları ve orijinleri (Eroğlu 1982).

Çeşit	Ağaç Sayısı (adet)	Klon No	Orijin	Meyve Ağırlığı (g)	Meyve Şekli	Olgunlaşma Zamanı	Olgunlaşma Durumu	Polen Çimlenme (%)	İlek Arıcığı Sayısı (adet)
Akerkek-1	2	58, 59	Ödemiş	17.85-24-50	Armudi	10-19 haziran	Erkenci	80.76	263.83
Akerkek-2	1	63	Ödemiş	17.05-21.75	Armudi	17-24 haziran	Geççi	100.00	71.16
Çakın-1	2	2, 3	Kuyucak	27.17	Yuvarlak	15-23 haziran	Erkenci	95.52	163.33
Çakın-2	1	47	Kuyucak	33.00-35-75	Yuvarlak	12-19 haziran	Orta erkenci	83.60	474.83
Karaerkek*	2	56, 57	Ödemiş	25.00-32.00	Armudi	20-24 haziran	Erkenci	80.00	392.83
Karaerkek-2	2	88, 89	Bozdoğan	33.60-37.00	Armudi	15-23 haziran	Geççi	91.86	246.30
Kızılay-1	1	8	Naipli-Ortaklar	11.00-23.19	Yuvarlak	15-24 haziran	Geççi	81.08	56.00
Kızılay-2	2	53, 54	Argavlı-Söke	19.75	Yuvarlak	12-19 haziran	Orta erkenci	100.00	212.66
Şeytan-1	4	34, 35, 36, 37	Kuyucak	20.02-24.85	Armudi	8-19 haziran	Erkenci	80.43	155.50
Şeytan-2	1	4	Kuyucak	32.60-37.25	Armudi	15-20 haziran	Geççi	-	250.50
Yanako-1	2	19, 20	Gümüşköy-Ortaklar	16.75-17.25	Armudi	12-23 haziran	Orta erkenci	67.10	132.16
Yanako-2	3	72, 73, 74	Gümüşköy-Ortaklar	20.75-21.47	Armudi	13-23 haziran	Orta erkenci	100.00	110.66

*: Çeşit ismi indissiz olarak rapor edilmiştir.

3.2. Yöntem

Araştırmada PCR ile DNA çoğaltımına dayanan RAPD yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem, DNA çıkartılması (izolasyon), RAPD-PCR ve jel elektroforezi aşamalarını kapsamaktadır.

3.2.1. DNA Çıkartılması (izolasyon)

Örnekler dal ucundaki tam açılmış, en genç yapraklardan alınmıştır. Yapraklar soğuk zincirle taşıyıp laboratuvara getirilerek buzdolabında kısa süreli olarak saklanmıştır. İzolasyon CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) protokolunu kullanan, Doyle ve Doyle (1990), Rogers ve Bendich (1994) ve Okuno ve Fukuoka (1998) izolasyon yöntemlerinden değiştirilerek yapılmıştır. 12 erkek incir çeşidinin DNA izolasyonu aşağıdaki aşamalar izlenerek yapılmıştır:

- 1.5ml'lik Eppendorf tipi tüp içerisinde 20-60 mg taze yaprak örneği sıvı azotla uçları yuvarlatılmış cam çubuk yardımıyla ezilmiştir,
- 65°C'de %1'lik CTAB [CTAB (Kat.No: A0805,0100), 50mM Tris-HCl (Kat.No: A2264,0500-A1437,1000), pH 8.2, 10mM EDTA (Kat.No: A5097,0250), 0.7M NaCl (Kat.No: A2942,0500), ddH₂O], %1 PVP (Polyvinylpyrrolidone, Kat.No: A2260,0250) ve %0.2 β-ME (Beta-Mercaptoethanol, Kat.No: A1108,0025) içeren çözeltilerden 600 µl eklenmiştir (AppliChem, Darmstadt, Almanya),
- Vorteksle 10 saniye maksimum hızda karıştırılmıştır (ISOLAB Vortex Mixer VM-20, Wertheim, Almanya),
- 65°C sıcaklıkta 700 rpm hızda 6 saniye çalkanıp 3 saniye bekleyerek toplam 10 dakika inkübe edilmiştir (Eppendorf Thermomixer Comfort, Hamburg, Almanya),
- Eşit hacimde (600 µl) 24:1 oranında hazırlanmış chloroform (AppliChem, Kat.No: A4492,2500, Darmstadt, Almanya): iso-amyl alcohol (AppliChem, Kat.No: A2610,0100, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir,
- Vorteksle 10 saniye maksimum hızda karıştırılmıştır,

- 4°C'de 11,000 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir (Eppendorf Centrifuge 5415 R, Hamburg, Almanya),
- Üst tabakadan (supernatant) 450 µl yeni 1.5 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Alt sıvı atılmıştır,
- Eşit hacimde (450 µl) 24:1 oranında hazırlanmış chloroform:iso-amyl alcohol ilave edilmiştir,
- Vorteksle 10 saniye maksimum hızda karıştırılmıştır,
- 4°C'de 11,000 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir,
- Supernatant'tan 350 µl alınıp yeni 1.5 ml'lik tüplere aktararak alt sıvı atılmıştır,
- Eşit hacimde (350 µl) 24:1 oranında hazırlanmış chloroform:iso-amyl alcohol ilave edilmiştir,
- Vorteksle 10 saniye maksimum hızda karıştırılmıştır,
- 4°C'de 11,000 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir,
- Supernatant'tan 250 µl alınıp yeni 1.5ml'lik tüplere aktarılmıştır. Alt sıvı atılmıştır,
- 2.5 kat (625 µl) soğuk 2-propanol (AppliChem, Kat.No: A3928,1000, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir,
- Tüpler nazikçe altüst edilmiştir,
- DNA iplikçiklerinin tüp dibine çökmesi için 10 dakika 4°C'de buzdolabında bekletilmiştir,
- Buzdolabından çıkartılan örnekler 4°C'de, 11,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir (tüpün dip kısmında beyaz-krem renkte bir miktar pelte olduğu gözlenmiştir),
- Tüp içerisindeki sıvı, pelteyi düşürmeden dikkatlice dökülmüştür (uzaklaştırılmıştır),
- %70'lik etanolden 500 µl ilave edildi. Daha sonra pelteleri düşürmeden tüp içerisindeki etanol dökülerek yıkama gerçekleştirilmiştir,
- Tüplerin tamamen kuruması için kapakları açık olarak oda şartlarında bekletilmiştir,
- %1'lik TE (1 M Tris-HCl, 0.5 M EDTA, ddH₂O, pH:8.0) solüsyonundan 100 µl ilave edilerek tüpler nazikçe vortekslenerek pelte çözündürülmüştür,

- 1 µl (10 mg/ml) Ribonuclease A (AppliChem, Kat.No: A3832,0050, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir. Yaklaşık 10 dakika oda şartlarında bekletildikten sonra buzdolabında 4°C’de muhafaza edilmiştir.

DNA miktarları 260 nm dalga boyunda belirlenmiştir (Shimadzu UV-1601 UV-Visible Spectrophotometer, Tokyo, Japonya). İzole edilen DNA miktarları 50-1140 ng/µl arasında değişmiştir.

3.2.2. RAPD-PCR

Her bir PCR reaksiyonu 0.2 ml ince cidarlı Eppendorf tipi tüplerde (Greiner bio-one, Katalog no: 683 201, Hamburg, Almanya) 15 µl toplam solüsyon içerisinde gerçekleştirilmiştir. Solüsyon, 10X PCR tampon çözeltisi (500mM KCl, 10mM Tris-HCl pH:8.8), 25mM MgCl₂, 1 ünite *Taq* (*Thermus aquaticus*) DNA Polimeraz enzimi (Kat. No: EP0402) (Fermentas, Vilnius, Litvanya), 10mM her bir dNTP (dATP Kat. No:R0141, dCTP Kat. No:R0151, cGTP Kat. No.R0161, dTTP Kat.No.R0171), 10 µM 10 baz dizilimli primer (QIAGEN Operon GmbH, Cologne, Almanya), 50 ng/µl erkek incir genomik DNA’sı karışımının steril ddH₂O (Millipore Simplicity 185, Fransa) ile 15 µl’ye tamamlanması ile oluşturulmuştur. PCR için en uygun kombinasyonu verecek maddelerin miktarının belirlenmesi amacı ile 10X KCl PCR tamponu 1.0-3.0 µl, *Taq* DNA polimeraz enzimi 0.5-2.0 ünite, 25 mM MgCl₂ 1.0-4.0 µl, 10 mM dNTP’den 0.2-2.0 µl, 10 µM 10 baz dizilimli primer 0.8-1.5 µl, genomik DNA 2.0-50.0µl arasında denenmiştir. Test edilen toplam 47 adet primerden (OPA01-A20, B01-B20, C01-C07) göz ile net şekilde ayırt edilebilen bant verenler, 23 adet erkek incir çeşit ve klonlarından oluşan populasyonda kullanılmıştır. PCR’da sıcaklık ve döngü programı için ön denemeler yapılmıştır. Bağlanma sıcaklığını daha önceki çalışmalarda incir genomunda kullanılan sıcaklık değerlerini kapsayacak şekilde 35±5°C’de gradient PCR (her bir örnek için sıcaklık belirtilen sınır değerleri arasında değişerek yapılan PCR) yapılmıştır. PCR programı: 94°C’de 30 saniye ilk ayırım (denaturation), 94°C’de 25 saniye ayırım, 35°C’de 45 saniye primer bağlanması (annealing), 72°C’de 1 dakika uzama (extension)

aşamalarıyla 35 döngü ve son uzama 72°C'de 5 dakika olarak ayarlanmıştır (Eppendorf Mastercycler Gradient, AG 22331, Hamburg, Almanya). İlk PCR testinde klonlarda ortaya çıkan polimorfizmden emin olmak için ikinci ve üçüncü PCR testleri de yapılmıştır.

3.2.3. Jel Elektroforezi

PCR ürünlerine 2µl 6X yükleme tamponu (10mM Tris-HCl pH 7.6, %0.03 bromofenol mavisi, %0.03 ksilen siyanol FF, %60 gliserol, 60mM EDTA, Fermentas, Kat.No: R0611, Vilnius, Litvanya) eklenerek örnekler boyanmıştır. %1.7'lik 0.5X TBE (45mM Tris base, 45mM Borik asit, 1mM EDTA, pH:8.3) ile hazırlanan agaroz jele (Agarose low EEO, AppliChem Kat.No: A 2114,0100, Darmstadt, Almanya) boyanmış örneklerden 5'er µl ve yine boyanmış 100 bp'lik DNA ladder (Fermentas GeneRuler 100bp DNA Ladder Plus, 10 mM Tris-HCl, pH:7.6, 1 mM EDTA)'dan 1 µl yüklenerek 0.5X TBE bulunan jel tankı içerisinde (BIO-RAD Wide Mini Sub-Cell GT System, İtalya) 96 voltta 40 dakika DNA yürütülmüştür. Daha sonra 200 ml 0.5X TBE içerisine 2 µl (0.625 mg/ml) etidyum bromid (AppliChem, Kat.No: A1151,0001) eklenerek 10 dakika çalkalanmıştır (IKA® KS 130 basic, GMBH & Co. KG, Staufen, Almanya). Net görüntü alabilmek için 200 ml ddH₂O içerisinde 5 dakika yıkılarak ultraviyole ışık (High Performance Ultraviolet Transilluminator, TFM-30, Upland, CA, ABD) altında renkli kamera ile (Edas 290, Eastman Kodak Company, Rochester, NY, ABD) görüntülenmiştir.

Fotoğraflarda net olarak ayırt edilebilen bantlar değerlendirmeye alınmıştır. Çeşitler arasındaki genetik ilişki, 30 adet 10 baz dizilimli primer yardımıyla RAPD bantlarının durumuna (varlığında "1" ve yokluğunda "0") göre belirlenmiş ve benzerlik matrisi oluşturulmuştur. Veriler SPSS (for Windows release 11.0.0, Standart Version, Chicago, Illinois, ABD) programında değerlendirilmiştir. Benzerlik matrisleri "Sokal ve Sneath 1" yöntemine göre $2(a+d)/(2(a+d)+b+c)$ formülünden hesaplanmıştır. Bu formülde, a: Her iki genotipteki homolog bant sayısını, b: birinci genotipte var olan bant sayısını, c: ikinci genotipte var olan bant sayısını, d: her iki genotipte bulunmayan bant sayısını oluşturmaktadır. 'Hierarchical Cluster' (aşamalı kümeleme) yöntemiyle dendrogram (soy ağacı) çıkartılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Erkek incir Çeşitlerinin DNA Parmak İzlerinin RAPD Belirteçleri ile

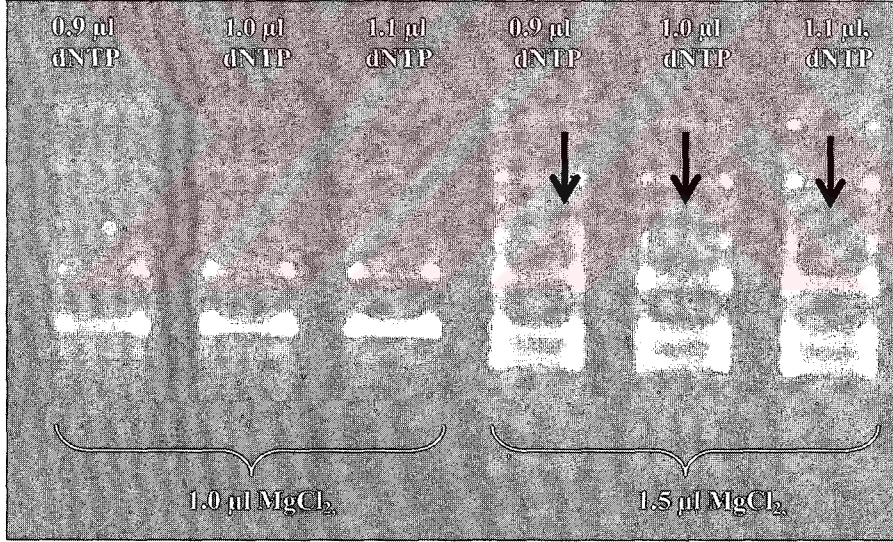
Belirlenmesi

En uygun PCR solüsyonunu oluşturan bileşenlerin miktarı (optimizasyon) Çizelge 2'de verilmiştir. Uzun süren ön denemeler sonucu kullanılacak olan maddelerin miktarları belirlenmiştir (Şekil 1). Bu bileşenler 15 µl'lik PCR solüsyonu içerisinde 1.5µl 10X KCl tamponu, 1.5µl 25mM MgCl₂, 1.0µl 10mM dNTP, 1.0µl 10µM primer, 1.0µl *Taq* DNA polimeraz, 1.0µl 50ng/µl genomik DNA ve 8.8µl ddH₂O olacak şekilde karıştırılmıştır.

Çalışmadaki 12 çeşit erkek incir çeşidi ve bunların klonlarından oluşan toplam 23 genotip ile kullanılan primerler ve baz dizimleri Çizelge 3'de verilmiştir. Denemede net olarak seçilen parlak bantlar değerlendirmeye alınmıştır. Uzunlukları 250 bp (OPB15) ve 3500 bp (OPA10) arasında değişen toplam 195 adet bant (belirteç) elde edilmiştir. Bu bantlardan 51 adeti (%26.1) polimorfizm (heteromorfizm) gösterirken, 144 adet (%73.9) bant monomorfizm (homomorfizm) göstermiştir. Genotip başına düşen bant sayısı 8.48'dir. Polimorfik bantlar bireylerin birbirlerinden farklılıklarını, monomorfik bantlar ise bireyler arasındaki benzerlikleri göstermektedir. Ortalama polimorfik bant sayısı genotip başına 2.22 olarak bulunurken, monomorfik bant sayısı ortalama 6.26 olarak tespit edilmiştir. Primerler 1-5 arasında polimorfik bant oluşturmuştur. Denemede kullanılan 30 adet 10 baz dizimli primer içerisinde 24 adedinde polimorfizm gösteren bant bulunurken 6 adedinde (OPA04, OPB08, OPB11, OPB12, OPC04 ve OPC05) polimorfizm gösteren bant gözlenmemiştir. Yani bantlar tüm genotiplerde aynı şekilde sıralanmışlardır (Çizelge 4).

Çizelge 2. PCR solüsyonunda kullanılan bileşenlerin miktarı.

Bileşen	Denenen miktar	Uygun miktar
10X KCl tamponu	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 (µl)	1.5 µl
25 mM MgCl ₂	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 (µl)	1.5 µl
10 mM dNTP	0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.5, 2.0 (µl)	1.0 µl
10 µM 10 bazlı primer	0.8, 1.0, 1.2, 1.5 (µl)	1.0 µl
<i>Taq</i> DNA polimeraz	0.5, 1.0, 1.5, 2.0 (ünite)	1.0 ünite
Genomik DNA	2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 (ng/ µl)	50 ng/µl
ddH ₂ O	8.8	8.8 µl
Toplam		15.0 µl



Şekil 1. MgCl₂ ve dNTP konsantrasyonu için ön deneme sonuçlarının jel fotoğrafı (25 mM MgCl₂, 10 mM dNTP).

Çizelge 3. Araştırmada kullanılan primerler, baz dizilimleri, değerlendirmeye alınan bant sayıları, polimorfik bant sayıları ile yaklaşık bant büyüklükleri.

No	Primer	Baz Dizilimi	Değerlendirmeye alınan bant sayısı (adet)	Polimorfik bant sayısı (adet)	Yaklaşık bant uzunlukları (bp=baz çifti)
1	OPA04	5' AAT CGG GCT G 3'	7	0	500-2200
2	OPA05	5' AGG GGT CTT G 3'	8	3	450-2400
3	OPA07	5' GAA ACG GGT G 3'	6	1	650-2000
4	OPA09	5' GGG TAA CGC C 3'	5	3	450-1500
5	OPA10	5' GTG ATC GCA G 3'	8	1	350-3500
6	OPA11	5' CAA TCG CCG T 3'	8	4	250-2100
7	OPA13	5' CAG CAC CCA C 3'	7	1	750-2500
8	OPA14	5' TCT GTG CTG G 3'	6	1	600-3000
9	OPA15	5' TTC CGA ACC C 3'	6	1	600-2500
10	OPA17	5' GAC CGC TTG T 3'	9	5	500-2800
11	OPA18	5' AGG TGA CCG T 3'	4	2	650-2500
12	OPA20	5' GTT GCG ATC C 3'	5	2	650-1900
13	OPB01	5' GTT TCG CTC C 3'	8	3	450-2700
14	OPB04	5' GGA CTG GAG T 3'	8	3	450-2000
15	OPB05	5' TGC GCC CTT C 3'	7	3	500-2000
16	OPB06	5' TGC TCT GCC C 3'	8	2	350-3000
17	OPB07	5' GGT GAC GCA G 3'	10	2	500-2800
18	OPB08	5' GTC CAC ACG G 3'	6	0	700-2800
19	OPB09	5' TGG GGG ACT C 3'	8	2	600-2800
20	OPB10	5' CTG CTG GGA C 3'	8	1	500-2500
21	OPB11	5' GTA GAC CCG T 3'	4	0	500-2200
22	OPB12	5' CCT TGA CGC A 3'	4	0	330-1200
23	OPB15	5' GGA GGG TGT T 3'	9	3	250-1700
24	OPB16	5' TTT GCC CGG A 3'	4	1	300-1200
25	OPB20	5' GGA CCC TTA C 3'	3	1	500-2000
26	OPC01	5' TTC GAG CCA G 3'	8	2	350-2000
27	OPC04	5' CCG CAT CTA C 3'	6	0	350-2200
28	OPC05	5' GAT GAC CGC C 3'	3	0	400-1700
29	OPC06	5' GAA CGG ACT C 3'	5	1	350-1700
30	OPC07	5' GTC CCG ACG A 3'	7	3	500-1600
TOPLAM			195	51	250-3500

OPA05₄₅₀₋₂₄₀₀ primerinde 8 adet bant elde edilirken, bu bantlardan 3 tanesinde polimorfizm tespit edilmiştir. OPA05₄₅₀ düzeyinde 'Kızılay-2₅₃', 'Kızılay-2₅₄', 'Yanako-1₁₉' ve 'Yanako-1₂₀'de bant gözlenirken diğer genotiplerde bu düzeyde bant rastlanmamıştır. OPA05₆₀₀ düzeyinde bantlar 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Kızılay-2₅₃', 'Kızılay-2₅₄', 'Şeytan-2₄', 'Yanako-1₁₉', 'Yanako-1₂₀', 'Yanako-2₇₂', 'Yanako-2₇₃' ve 'Yanako-2₇₄'de görülmezken diğer bireylerde gözlenmiştir. OPA05₂₀₀₀ düzeyindeki polimorfizmde ise bantlar 'Karaerkek₅₆' ve 'Karaerkek₅₇'te yokken diğer genotiplerin hepsinde gözlemlenmiştir.

OPA07₆₅₀₋₂₀₀₀ primerinde 6 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 1 tanesinde (OPA07₁₇₀₀) polimorfizme rastlanmış ve sadece 'Kızılay-1₈'de bant varken diğer genotiplerde bu bant rastlanmamıştır. Burada test edilen primerler arasından OPA07 primerinin 1700 bp'lik bandı 'Kızılay-1₈'e özel bir belirteç olarak bulunmuştur.

OPA09₄₅₀₋₁₅₀₀ primerinde 5 adet bant gözlemlenmiş, bunlardan 3 tanesinde polimorfizme rastlanmıştır. OPA09₄₅₀ düzeyinde 'Yanako-1₁₉', 'Yanako-1₂₀', 'Yanako-2₇₂', 'Yanako-2₇₃' ve 'Yanako-2₇₄'de bant görülmezken diğer bireylerde bant görülmüştür. OPA09₁₂₀₀ büyüklüğündeki polimorfizmde 'Karaerkek-2₈₈' ve 'Karaerkek-2₈₉'de bant yokken diğer genotiplerin hepsinde bant gözlemlenmiştir. OPA09₁₅₀₀'da ise 'Çakın-1₂', 'Çakın-1₃', 'Karaerkek-2₈₈' ve 'Karaerkek-2₈₉'de bant yokken yine diğerlerinin hepsinde bu bant düzeyi tespit edilmiştir.

OPA10₃₅₀₋₃₅₀₀ primerinde toplam 8 adet bant sayılmış bunlardan 1 tanesinde polimorfizme rastlanmıştır. OPA10₆₀₀ düzeyinde bulunan polimorfizmde 'Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉', 'Çakın-2₄₇', 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Karaerkek-2₈₈' ve 'Karaerkek-2₈₉'de bant yokken diğer genotiplerde bu bant gözlenebilmiştir.

OPA11₂₅₀₋₂₁₀₀ primerinde 8 adet bant sayılmış bunlardan 4 tanesinde polimorfizme rastlanmıştır. OPA11₇₀₀ sadece 'Akerkek-2₆₃' çeşidinde bant oluşturmazken diğer genotiplerde bant oluşturmuştur. OPA11₇₅₀ düzeyinde

'Yanako-272' bant vermezken diğer tüm bireylerde bant oluşturmuştur. OPA11₉₀₀ düzeyindeki bant 'Çakın-247', 'Yanako-119', 'Yanako-273' ve 'Yanako-274'de yok, diğer genotiplerde var olarak tespit edilmiştir. OPA11₁₁₀₀ düzeyinde polimorfizm gösteren bant 'Yanako-119', 'Yanako-120', 'Yanako-272' ve 'Yanako-274'de varken diğerlerinde oluşmamıştır.

OPA13₇₅₀₋₂₅₀₀ primeri toplam 7 düzeyde bant oluşturmuş bunlardan 1 tanesinde polimorfizm tespit edilmiştir. Belirlenen bant OPA13₁₀₀₀ düzeyindedir. 'Çakın-12', 'Çakın-13', 'Çakın-247', 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Kızılay-253', 'Kızılay-254', 'Şeytan-134', 'Şeytan-135', 'Şeytan-136', 'Şeytan-137' ve 'Şeytan-24'de bant varken diğer bireylerde bant yoktur.

OPA14₆₀₀₋₃₀₀₀ primeri 6 adet sayılabilir bant vermiş bunlardan 1 tanesinde polimorfik bant elde edilmiştir. 2200 bp düzeyindeki (OPA13₂₂₀₀) bantta 'Şeytan-134', 'Şeytan-135', 'Şeytan-136', 'Şeytan-137' ve 'Şeytan-24' çeşit ve klonlarında bant görülmemiş, diğer tüm genotiplerde bant görülmüştür.

OPA15₆₀₀₋₂₅₀₀ primeri toplam 6 adet bant vermiştir. Bu bantlar içerisinde sadece OPA15₁₂₅₀ düzeyinde polimorfizme rastlanmıştır. 'Yanako-119', 'Yanako-120', 'Yanako-272', 'Yanako-273' ve 'Yanako-274' genotiplerinde bant elde edilmiş ancak diğer bireylerin hiç birinde bant elde edilememiştir. OPA15₁₂₅₀ sadece 'Yanako' çeşitlerinde görüldüğü için kullanılan primerler içerisinde 'Yanako' çeşitlerine özel bir belirteç olarak belirlenmiştir.

OPA17₅₀₀₋₂₈₀₀ primeri 9 bant oluşturmuş ve kullanılan primerler içinde 5 bant ile en çok polimorfizm gösteren primer olmuştur. OPA17₅₀₀ düzeyindeki polimorfizmde 'Akerkek-158', 'Akerkek-159', 'Akerkek-263', 'Çakın-12', 'Çakın-13', 'Kızılay-18', 'Yanako-119', 'Yanako-120' ve 'Yanako-272', 'Yanako-273', 'Yanako-274'de bant varken diğer çeşitlerde bant yoktur. OPA17₇₅₀ düzeyindeki polimorfizmde 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Kızılay-253', 'Kızılay-254', 'Yanako-119', 'Yanako-120' ve 'Yanako-272', 'Yanako-273', 'Yanako-274'de banda

rastlanmazken diğerlerinde bu düzeyde bant gözlemlenmiştir. OPA17₁₂₀₀ ve OPA17₁₃₀₀ belirteçlerinde 'Yanako-2₇₂', 'Yanako-2₇₃', 'Yanako-2₇₄' klonlarında banda rastlanmazken diğer bireylerde bu düzeyde bant gözlemlenmiştir. OPA17₂₈₀₀ 'Yanako-1₁₉', 'Yanako-1₂₀' ve 'Yanako-2₇₂', 'Yanako-2₇₃', 'Yanako-2₇₄'de bant varken diğer genotiplerde bant yoktur.

OPA18₆₅₀₋₂₅₀₀ primeri 4 bant vermiş bunlardan 2 bantta polimorfizme rastlanmıştır. OPA18₁₄₅₀ bandında 'Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉', 'Akerkek-2₆₃', 'Çakın-1₂', 'Çakın-1₃', 'Çakın-2₄₇', 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Karaerkek-2₈₈', 'Karaerkek-2₈₉', 'Kızılay-1₈' ve 'Şeytan-2₄'de bant varken diğerlerinde bant yoktur. OPA18₁₉₅₀, 'Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉' ve 'Akerkek-2₆₃'de bant verirken diğer bireyler bant vermemiştir.

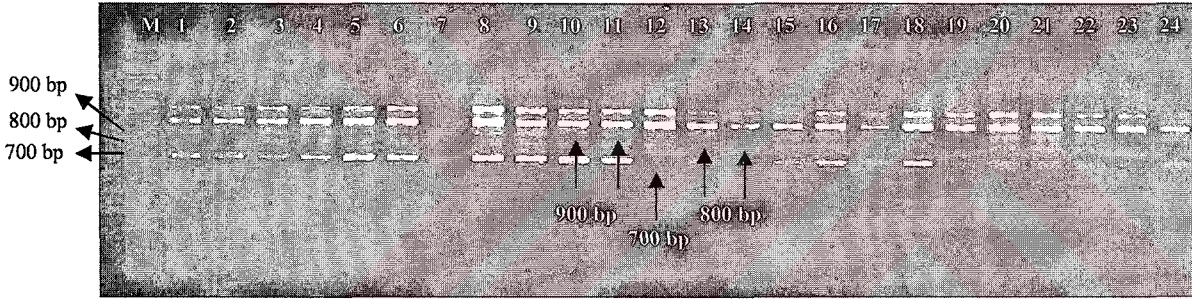
OPA20₆₅₀₋₁₉₀₀ primeri 5 bant oluşturmuş ve 2 polimorfik bant vermiştir. OPA20₈₀₀, 'Kızılay-2₅₃' ve 'Kızılay-2₅₄' bant görülmemiş ancak diğer genotiplerde bant gözlenmiştir. OPA20₁₉₀₀ belirteci sadece 'Kızılay-1₈'de yok, diğer genomlarda var olarak tespit edilmiştir.

OPB01₄₅₀₋₂₇₀₀ primeri 8 bant oluşturmuş bunlardan 3 polimorfik bant elde edilmiştir. OPB01₇₀₀ düzeyinde 'Çakın-1₂', 'Çakın-1₃', 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Kızılay-1₈', 'Şeytan-1₃₄', 'Şeytan-1₃₅', 'Şeytan-1₃₆', 'Şeytan-1₃₇' ve 'Şeytan-2₄'de bant yokken diğerlerinde bant vardır. OPB01₁₂₀₀ belirtecinde 'Çakın-1₂', 'Çakın-1₃', 'Çakın-2₄₇', 'Karaerkek₅₆' ve 'Karaerkek₅₇'te bant yokken diğer genomların hepsinde bu düzeyde banda rastlanmıştır. OPB01₁₃₅₀ belirtecinde ise 'Akerkek-2₆₃', 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Kızılay-1₈', 'Kızılay-2₅₃', 'Kızılay-2₅₄', 'Şeytan-1₃₄', 'Şeytan-1₃₅', 'Şeytan-1₃₆' ve 'Şeytan-1₃₇' genotiplerinde bant var, diğerlerinde bu düzeyde bant yoktur.

OPB04₄₅₀₋₂₀₀₀ primerinden toplam 8 adet bant elde edilmiş ve bunlar içinden 3 adet polimorfik bant tespit edilmiştir. OPB04₇₀₀ düzeyindeki polimorfizmde sadece 'Karaerkek₅₆' ve 'Karaerkek₅₇' klonlarında bant yokken diğerlerinde bant vardır.

OPB04₁₅₀₀ düzeyindeki polimorfizmde 'Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉', 'Çakın-1₂' ve 'Çakın-1₃'de bant varken diğerlerinde bant yoktur. OPB04₁₅₅₀ düzeyindeki polimorfizmde ise 'Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉', 'Çakın-1₂' ve 'Çakın-1₃'de banda rastlanmamış ancak diğer bireylerde rastlanmıştır.

OPB05₅₀₀₋₂₀₀₀ primeri 7 adet bant vermiş bunlardan 3 tanesinde polimorfizm gözlenmiştir. OPB05₇₀₀ düzeyinde sadece 'Kızılay-1₈'de bant yok, diğerlerinde bant vardır. OPB05₈₀₀ düzeyinde 'Kızılay-2₅₃' ve 'Kızılay-2₅₄'de bant yokken diğer klonlarda bant vardır. OPB05₉₀₀ düzeyinde ise 'Karaerkek-2₈₈', 'Karaerkek-2₈₉', 'Kızılay-2₅₃' ve 'Kızılay-2₅₄'de bant yokken diğer çeşit ve klonlarda bant vardır (Şekil 2).



Şekil 2. OPB05 primeri ile erkek incir genotiplerinin PCR ürünleri jeli M: 100bp DNA marker, 1: 'Akerkek-1₅₈', 2: 'Akerkek-1₅₉', 3: 'Akerkek-2₆₃', 4: 'Çakın-1₂', 5: 'Çakın-1₃', 6: 'Çakın-2₄₇', 7: 'Çakın-2₄₈' (deneme dışı bırakılmıştır), 8: 'Karaerkek₅₆', 9: 'Karaerkek₅₇', 10: 'Karaerkek-2₈₈', 11: 'Karaerkek-2₈₉', 12: 'Kızılay-1₈', 13: 'Kızılay-2₅₃', 14: 'Kızılay-2₅₄', 15: 'Şeytan-1₃₄', 16: 'Şeytan-1₃₅', 17: 'Şeytan-1₃₆', 18: 'Şeytan-1₃₇', 19: 'Şeytan-2₄', 20: 'Yanako-1₁₉', 21: 'Yanako-1₂₀', 22: 'Yanako-2₇₂', 23: 'Yanako-2₇₃', 24: 'Yanako-2₇₄'.

OPB06₃₅₀₋₃₀₀₀ primeri 8 adet değerlendirmeye alınabilir bant vermiş bunlardan 2 tanesi polimorfik bant olarak tespit edilmiştir. OPB06₃₅₀ düzeyindeki polimorfizmde 'Akerkek-2₆₃', 'Kızılay-1₈', 'Kızılay-2₅₃', 'Kızılay-2₅₄', 'Şeytan-1₃₄', 'Şeytan-1₃₅', 'Şeytan-1₃₆' ve 'Şeytan-1₃₇'de bant yokken diğer çeşit ve klonlarda bant vardır. OPB06₂₂₀₀ düzeyindeki polimorfizmde ise Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉', 'Akerkek-2₆₃', 'Karaerkek-2₈₈', 'Karaerkek-2₈₉' ve 'Kızılay-1₈'de bant var diğer çeşit ve klonlarda bant yoktur.

OPB07₅₀₀₋₂₈₀₀ primeri 10 bant oluşturmuş bunlardan 2 polimorfik bant elde edilmiştir. OPB07₉₅₀ düzeyindeki polimorfizmde 'Kızılay-2₅₃', 'Kızılay-2₅₄' ve 'Şeytan-2₄'de bant varken diğer genotiplerde bant yoktur. OPB07₇₅₀'de 'Yanako-1₂₀' ve 'Yanako-2₇₂'de bant var diğerlerinde bant yoktur.

OPB09₆₀₀₋₂₈₀₀ primeri toplam 8 adet sayılabilir bant vermiş, bunlardan 2 tanesinde polimorfizm elde edilmiştir. OPB09₈₀₀ düzeyindeki polimorfizmde 'Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉', 'Akerkek-2₆₃', 'Yanako-2₇₂', 'Yanako-2₇₃' ve 'Yanako-2₇₄'de bant yokken diğer bireylerde bant vardır. OPB09₁₆₀₀ düzeyindeki polimorfizmde ise 'Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉', 'Çakın-1₂', 'Çakın-1₃', 'Çakın-2₄₇', 'Karaerkek₅₆' ve 'Karaerkek₅₇'te bant tespit edilmiş, diğerlerinde bant gözlenmemiştir.

OPB10₅₀₀₋₂₅₀₀ primeri 8 adet sayılabilir bant vermiş bunlardan 1 tanesinde OPB10₆₅₀ düzeyinde polimorfizm elde edilmiştir. 'Çakın-2₄₇', 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Karaerkek-2₈₈' ve 'Karaerkek-2₈₉'de bant yok, diğerlerinde bu düzeyde bant vardır.

OPB15₂₅₀₋₁₇₀₀ primeri 9 adet bant oluşturmuş bunlardan 3 tanesi polimorfik bant olarak tespit edilmiştir. OPB15₄₀₀ hizasında 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Kızılay-2₅₃' ve 'Kızılay-2₅₄' çeşit ve klonlarında bant varken diğerlerinde bant yoktur. OPB15₅₅₀ düzeyindeki polimorfizmde 'Çakın-1₂', 'Çakın-1₃', 'Çakın-2₄₇', 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Karaerkek-2₈₈', 'Karaerkek-2₈₉' ve 'Kızılay-1₈'de bant yokken diğer klonlarda bu düzeyde bant vardır. OPB15₁₂₅₀ düzeyindeki polimorfizmde ise 'Yanako-1₁₉', 'Yanako-1₂₀', 'Yanako-2₇₂', 'Yanako-2₇₃' ve 'Yanako-2₇₄' çeşit ve klonlarında bant yokken diğer çeşitlerde bant vardır.

OPB16₃₀₀₋₁₂₀₀ primerinde 4 adet bant oluşmuş ve bunlardan 1 tanesi polimorfik olarak tespit edilmiştir. OPB16₈₅₀ düzeyindeki polimorfizmde 'Akerkek-2₆₃', 'Çakın-1₂', 'Çakın-1₃', 'Karaerkek₅₆' ve 'Karaerkek₅₇'de bant var, diğerlerinde 850 bp düzeyinde bant yoktur.

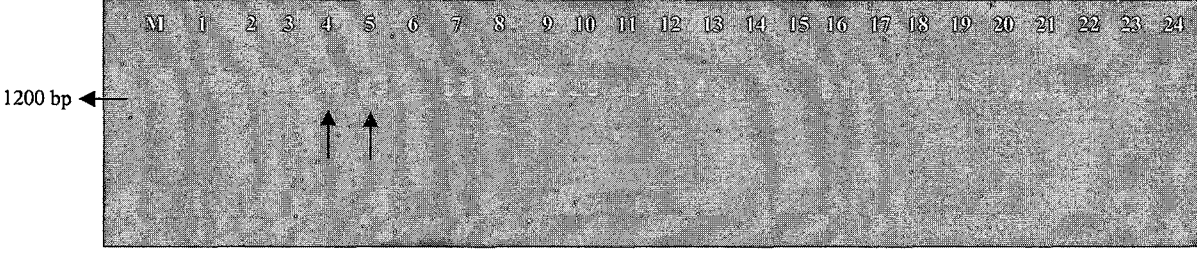
OPB20₅₀₀₋₂₀₀₀ primerinde 1 adedi polimorfik olmak üzere 3 adet bant oluşmuştur. Polimorfik bant OPB20₂₀₀₀ düzeyinde oluşmuştur. 'Akerkek-2₆₃', 'Çakın-1₂', 'Çakın-1₃', 'Şeytan-2₄', 'Yanako-1₁₉', 'Yanako-1₂₀', 'Yanako-2₇₂', 'Yanako-2₇₃' ve 'Yanako-2₇₄'de bant yok, diğer klonlarda bant tespit edilmiştir.

OPC01₃₅₀₋₂₀₀₀ primerinde toplam 8 adet bant sayılmış bu bantlardan 2 tanesinde polimorfizme rastlanmıştır. OPC01₁₀₀₀ düzeyindeki polimorfizmde tüm bireylerde bant bulunurken sadece 'Yanako-2₇₃'de bant oluşmamıştır. OPC01₁₂₀₀ düzeyindeki polimorfizmde ise 'Çakın-1₂' ve 'Çakın-1₃' klonlarında bant oluşmuş, diğer genotiplerde bant oluşmamıştır.

OPC06₃₅₀₋₁₇₀₀ primeri 5 bant vermiş, bunlardan OPC06₄₅₀ düzeyinde 1 tane polimorfizm tespit edilmiştir. Bu polimorfizmde, 'Çakın-1₂', 'Çakın-1₃', 'Çakın-2₄₇', 'Kızılay-2₅₃' ve 'Kızılay-2₅₄' çeşit ve klonlarında bant yokken diğerlerinde bant vardır.

OPC07₅₀₀₋₁₆₀₀ primerinde ise 7 adet bant oluşmuş, bu bantlardan 3 tanesinde polimorfizm tespit edilmiştir. OPC07₈₀₀ düzeyindeki ilk polimorfizmde 'Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉', 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Şeytan-1₃₄', 'Şeytan-1₃₅' ve 'Şeytan-1₃₇'de bant yokken diğer genotiplerde bant vardır. OPC07₁₂₀₀ düzeyindeki polimorfizmde 'Karaerkek₅₆' ve 'Karaerkek₅₇' klonlarında bant yokken diğer bireylerin hepsinde bant oluşmuştur. OPC07₁₈₀₀ düzeyinde 'Akerkek-1₅₈', 'Akerkek-1₅₉', 'Çakın-2₄₇', 'Karaerkek₅₆', 'Karaerkek₅₇', 'Karaerkek-2₈₈', 'Karaerkek-2₈₉' ve 'Şeytan-1₃₆'de bant görülmemiş, diğer bireylerde bant oluşumu gözlenmiştir.

Çalışmada çeşide özel belirteçler (parmak izi) bulunmuştur. Örneğin OPC01 primerinde OPC01₁₂₀₀ düzeyindeki bant 'Çakın-1' çeşidine özeldir. Yani 'Çakın-1' çeşidini diğer çeşitlerden ayırt eden bir belirteçtir (Şekil 3).



Şekil 3. OPC01 primeri ile PCR ürünleri jeli. M: 100bp DNA marker, 1: 'Akerkek-1₅₈', 2: 'Akerkek-1₅₉', 3: 'Akerkek-2₆₃', 4: 'Çakın-1₂', 5: 'Çakın-1₃', 6: 'Çakın-2₄₈' (deneme dışı bırakılmıştır), 7: 'Çakın-2₄₇', 8: 'Karaerkek₅₆', 9: 'Karaerkek₅₇', 10: 'Karaerkek-2₈₈', 11: 'Karaerkek-2₈₉', 12: 'Kızılay-1₈', 13: 'Kızılay-2₅₃', 14: 'Kızılay-2₅₄', 15: 'Şeytan-1₃₄', 16: 'Şeytan-1₃₅', 17: 'Şeytan-1₃₆', 18: 'Şeytan-1₃₇', 19: 'Şeytan-2₄', 20: 'Yanako-1₁₉', 21: 'Yanako-1₂₀', 22: 'Yanako-2₇₂', 23: 'Yanako-2₇₃', 24: 'Yanako-2₇₄'.

Kullanılan OPA04, A09 ve A20 primerleri ile toplam sırasıyla 7, 5 ve 5 adet bant bulunurken, Cabrita ve ark. (2001) 'Sarılöp' klonları ve 'Sarı Zeybek' çeşidinde aynı primerler ile sırasıyla 4, 8 ve 5 adet bant bulunmuştur. Bu iki çalışma arasındaki bant sayılarının farklılığı kullanılan primer bağlanma sıcaklığı ve jel fotoğraflarındaki bant desenlerindeki parlaklığın değişik yorumlanmasından kaynaklanıyor olabilir. Aka-Kaçar ve ark. (2003), Türkiye'nin yerli dişi incir çeşit ve seleksiyonlarını 12 RAPD primeri ile birbirinden ayırt edebilmişlerdir. Khadari ve ark. (2003a), 20 RAPD primeri kullanarak 28 farklı belirteç ile Fransa'daki 30 incir çeşidi arasındaki farklılığı tespit etmişlerdir.

4.2. Erkek İncir Çeşitlerinin Klonları Arasındaki Farklılığın RAPD Belirteçleri ile Belirlenmesi

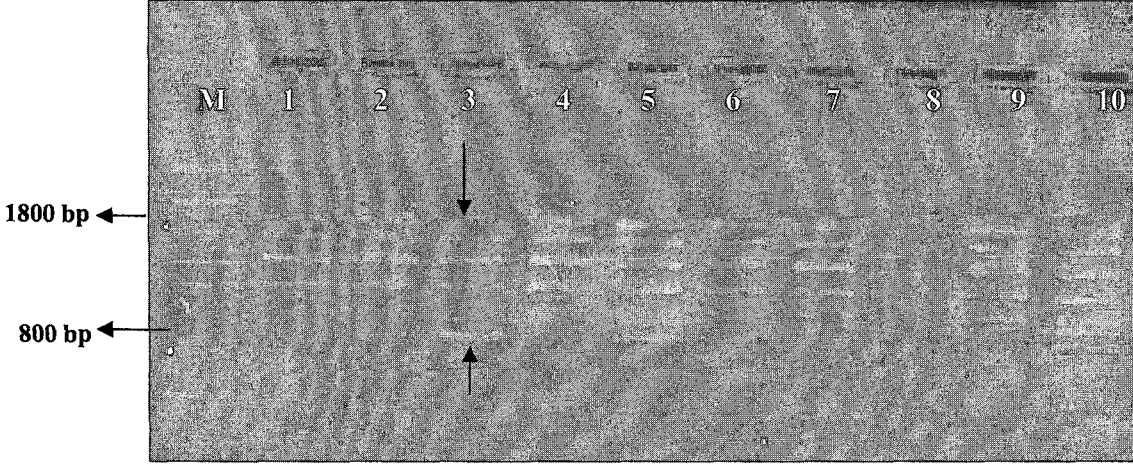
Bu çalışmada çeşitler 30 adet RAPD primeri ile birbirlerinden net bir şekilde ayırt edilebilmiştir. 'Şeytan-1' ve 'Yanako-2' klonları haricindeki tüm klonlar birbirinin aynı bulunmuştur. 'Şeytan-1' ve 'Yanako-2' klonları arasındaki farklılık çelik ile vegetatif çoğaltma sırasındaki veya fidan dikim aşamasındaki karışıklıktan ya da klonal açılmadan dolayı olmuş olabilir. Benzer şekilde Khadari ve ark. (1995), RAPD belirteçleri yaptıkları çalışmada dişi incir çeşitlerinin birbirinden yeterli derecede ayrılabilmesini tespit etmişlerdir. Aynı zamanda RAPD yöntemi ile 'Col de Dame' çeşidinin kullanılan 4 klonunun genetik olarak, beklendiği gibi, birbirinin aynı olduğu bulunmuştur. Ancak kullanılan 'Col de Dame' genotiplerinden bir

tanisinin (5. klon) diğer 4 klona %57 oranında benzer olması fikrinden yola çıkarak bu klonun yanlış isimlendirildiği (homonim) kanısına varılmıştır.

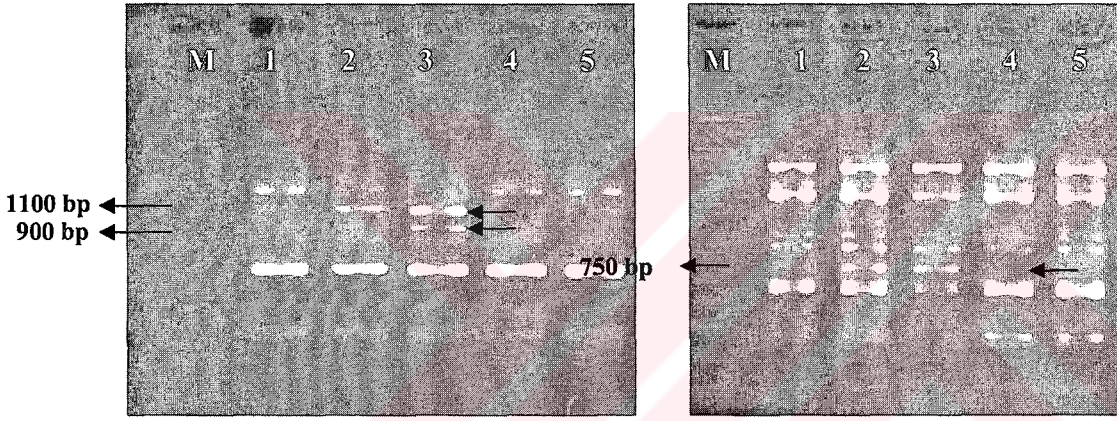
‘Şeytan-1’ çeşidinin ‘Şeytan-1₃₄’, ‘Şeytan-1₃₅’ ve ‘Şeytan-1₃₇’ klonları OPC07 primeri ile 800 bp düzeyinde bant oluşturmazken ‘Şeytan-1₃₆’ klonu bu düzeyde bant oluşturmuştur. İkinci ve üçüncü PCR testlerinde de aynı bant deseni oluşturmuştur. Bunun aksine OPC07₁₈₀₀ düzeyinde ‘Şeytan-1₃₆’ bant oluşturmazken ‘Şeytan-1₃₄’, ‘Şeytan-1₃₅’ ve ‘Şeytan-1₃₇’ bant oluşturmuştur. Buradan da anlaşılacağı üzere OPC07 primeri ‘Şeytan-1₃₆’ bireyinin diğer ‘Şeytan-1’ klonlarından farklı olduğunu göstermektedir (Şekil 4a).

‘Yanako-1’ çeşidinin ‘Yanako-1₁₉’ klonu OPA11₉₀₀ düzeyinde bant oluşturmazken ‘Yanako-1₂₀’ klonu bant oluşturmuştur. OPA11 primeri ‘Yanako-1₁₉’ ve ‘Yanako-1₂₀’ bireylerinin birbirinin klonu olmadığını göstermektedir (Şekil 4b).

‘Yanako-2₇₃’ ve ‘Yanako-2₇₄’ klonlarında OPA11₉₀₀ düzeyinde bant oluşmazken ‘Yanako-2₇₂’ klonu bant oluşturmuştur. ‘Yanako-2₇₃’ klonu OPA11₁₁₀₀ düzeyinde bant oluşmazken ‘Yanako-2₇₂’ ve ‘Yanako-2₇₄’ klonları bant oluşturmuştur. OPB07₇₅₀ düzeyinde ‘Yanako-1₂₀’ ve ‘Yanako-2₇₂’ klonları bant oluşturmuş diğerleri bant oluşturmamıştır (Şekil 4c). Bant deseninde (Çizelge 4) OPC01₁₀₀₀ belirteci sadece ‘Yanako-2₇₃’ genotipinde bant oluşturmamıştır. ‘Yanako-2₇₃’ genotipi bu çalışmada kullanılan bireylerin hiçbirisine benzememektedir. Aynı durum OPA11 primerinin 750 bp düzeyindeki belirtecinde ‘Yanako-2₇₂’ için geçerlidir.



a)



b)

c)

Şekil 4. a) OPC07 primeri ile, M: 100bp DNA marker, 1 ve 6: 'Şeytan-1₃₄', 2 ve 7: 'Şeytan-1₃₅', 3 ve 8: 'Şeytan-1₃₆', 4 ve 9: 'Şeytan-1₃₇', 5 ve 10: 'Şeytan-2₄', b) OPA11 primeri ile ve c) OPB07 primeri ile, M:100bp DNA marker, 1:'Yanako-1₁₉', 2:'Yanako-1₂₀', 3:'Yanako-2₇₂', 4: 'Yanako-2₇₃', 5: 'Yanako-2₇₄', klonlarının PCR ürünlerinin jeldeki fotoğrafları.

Cabrita ve ark. (2001), 21 adet primerden sadece 1 adet primerden elde edilen 2 adet RAPD belirteci ile 'Sarılop' klonlarını 2 gruba ayırt edebilmişlerdir. Ancak AFLP belirteçleri kullanıldığında tüm 'Sarılop' klonları birbirinden belirgin şekilde ayırt edilebilmiştir. Galderisi ve ark. (1999) ve De Masi ve ark. (2003) RAPD belirteçleri ile İtalyan incir çeşitlerinin klonları arasında polimorfizm bulabilmişlerdir.

4.3. Erkek İncir Çeşitleri Arasındaki Yakınlığın Belirlenmesi

Çeşitler arasındaki genetik yakınlık, 30 adet 10 baz dizilimli primer yardımıyla RAPD bantlarının durumuna (varlığında "1" ve yokluğunda "0") göre belirlenmiş, benzerlik matrisi oluşturulmuş (Çizelge 5) ve dendrogramı çıkartılmıştır (Şekil 5). Benzerlik matrisine göre 'Yanako-1₁₉' ile 'Yanako-1₂₀' klonları birbirine genetik olarak %99.0 oranında en yakın olarak bulunmuştur. 'Şeytan-1_{34, 35, 37}' ile 'Şeytan-1₃₆' ve 'Yanako-2₇₃' ile 'Yanako-2₇₄' klonları birbirine %98.0 oranında benzerlik göstermiştir. Birbirine en uzak çeşitler %62.2 oranında 'Karaerkek' ile 'Yanako-2'dir. Dendrogramda çeşitler 2 ana gruba ayrılmışlardır. 'Yanako-1' ve 'Yanako-2' çeşitleri birinci grubu oluştururken diğer çeşitler ikinci grubu oluşturmuştur. İkinci grup da kendi içinde 2 alt gruba ayrılmıştır. 'Karaerkek' bu alt gruplardan birini oluşturmuş, diğer çeşitler öteki grupta yer almıştır.

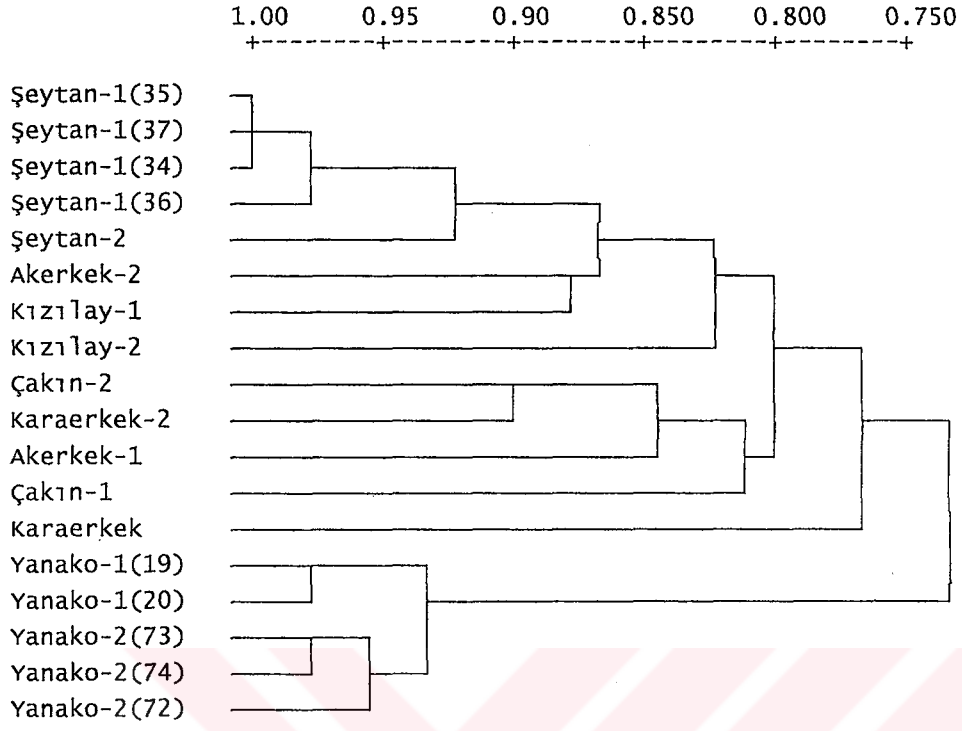
Dendrogramda benzerlik katsayısı yüksek olan 'Şeytan-1' ile 'Şeytan-2' çeşitlerinin orijinlerinin Kuyucak, 'Yanako-1' ile 'Yanako-2' çeşitlerinin orijinlerinin Gümüşköy-Ortaklar'dır. Aynı yöreden gelen bu çeşitlerin birbirine yüksek derecede benzerlik göstermeleri, bu çeşitlerin aynı dişi veya erkek orijinal ağacın tohumlarından oluşan kardeş çöğürler olmaları ihtimalini düşündürmektedir. Aynı ebeveyne sahip iki bireyin genetik olarak birbirine yakın olması beklenen bir sonuçtur. Buna benzer olarak Papadopoulou ve ark. (2002), kullandıkları erkek incir bireylerinin, oluşturulan dendrogramda dişi bireylerden farklı bir grupta birlikte yer almasını beklenmeyen bir sonuç olarak yorumlamışlardır. Çünkü aynı yöreden toplansa dahi tohumdan gelişen erkek incirler doğal melez oldukları için farklı genotipik yapı göstermeleri beklenmektedir. Bu konudaki bir diğer yaklaşım, zaman içerisinde orijinal ağaçtan, doğal mutasyonlar sonucu oluşan klonal varyasyon göstererek yeni tiplerinin ortaya çıkma olasılığıdır. Buna karşılık 'Çakın-1' ile 'Çakın-2' (%86.4),(Kuyucak) ve 'Akerkek-1' ile 'Akerkek-2' (%87.9),(Ödemiş) çeşitlerinin hem isimlerinin benzemesi hem de aynı yöreden gelmesine rağmen bu çeşitler arasında aynı yorum yapılamamaktadır.

İncirdeki RAPD çalışmalarının başlangıcından günümüz kadar yabancı (Khadari ve ark. 1995) ve yerli (Aka-Kaçar ve ark. 2003) çeşitlerden oluşan populasyonlar incelenmiş ve dendrogramlar oluşturulmuştur. Elisiario ve ark. (1998), Portekiz dişi incir çeşitlerinin benzerlik derecelerini yaprak izoenzim analizi sonucunda yapılan dendrogram ile ortaya koymuşlardır. 'Sarılop' ile 'Sarı Zeybek' çeşitleri, RAPD ve AFLP belirteçleri kullanılarak dendrogramları çıkartılmış, sonuçta bu çeşitler farklı gruplarda yer almışlardır (Cabrita ve ark. 2001).

RAPD belirteçlerinin yanında izoenzim ve ISSR belirteç sistemleri ile de çalışmalar yapılmıştır. Uzun ve ark. (2003), yaprak izoenzimlerini kullanarak dendrogramda 2 grup oluştuğunu belirlemişlerdir. 'Sarılop' çeşidinin tek başına bir grupta; 'Bursa Siyahı', 'Yeşil Güz', 'Bardacık', 'Beyaz Orak', 'Sultan Selim' ve 'Karabakunya' çeşitlerinin ise ikinci grupta yer aldığını bulmuşlardır. Khadari ve ark. (2004), ISSR ve SSR belirteçleri ile Fas'ta yaptıkları çalışmada, yapılan dendrogramda 8 adet erkek incir çeşidinin birbirlerine değişik yakınlıklarda olmasına rağmen aynı grupta yer aldığını belirtmektedirler.

Çizelge 5. Erkek incir çeşit ve klonlarında Sokal ve Sneath 1 katsayılarına göre oluşturulan benzerlik matrisi.

Çeşit (Klon no)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1:Akerkek-1	1,000																	
2:Akerkek-2	0,879	1,000																
3:Çakın-1	0,828	0,814	1,000															
4:Çakın-2	0,854	0,786	0,867	1,000														
5:Karaerkek	0,771	0,725	0,786	0,867	1,000													
6:Karaerkek-2	0,867	0,828	0,800	0,903	0,800	1,000												
7:Kızılçay-1	0,828	0,891	0,814	0,814	0,756	0,854	1,000											
8:Kızılçay-2	0,709	0,786	0,725	0,786	0,756	0,771	0,786	1,000										
9:Şeytan-1(34)	0,828	0,867	0,814	0,841	0,814	0,828	0,891	0,867	1,000									
10:Şeytan-1(35)	0,828	0,867	0,814	0,841	0,814	0,828	0,891	0,867	1,000	1,000								
11:Şeytan-1(36)	0,828	0,867	0,814	0,867	0,814	0,854	0,891	0,867	0,980	0,980	1,000							
12:Şeytan-1(37)	0,828	0,867	0,814	0,841	0,814	0,828	0,891	0,867	1,000	1,000	0,980	1,000						
13:Şeytan-2	0,814	0,854	0,854	0,854	0,800	0,841	0,854	0,854	0,926	0,926	0,926	0,926	1,000					
14:Yanako-1(19)	0,756	0,800	0,741	0,771	0,675	0,756	0,771	0,800	0,800	0,800	0,800	0,800	0,841	1,000				
15:Yanako-1(20)	0,756	0,800	0,741	0,741	0,675	0,756	0,771	0,800	0,800	0,800	0,800	0,800	0,841	0,980	1,000			
16:Yanako-2(72)	0,741	0,786	0,692	0,692	0,622	0,709	0,725	0,725	0,756	0,756	0,756	0,756	0,800	0,926	0,948	1,000		
17:Yanako-2(73)	0,756	0,800	0,709	0,741	0,640	0,725	0,741	0,741	0,771	0,771	0,771	0,771	0,814	0,938	0,915	0,948	1,000	
18:Yanako-2(74)	0,756	0,800	0,709	0,741	0,640	0,725	0,741	0,741	0,771	0,771	0,771	0,771	0,814	0,959	0,938	0,970	0,980	1,000



Şekil 5. Erkek incir çeşitleri arasındaki genetik ilişki dendrogramı.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

RAPD yönteminin, dominant belirteçler ortaya çıkarmakla birlikte diğer bazı başka yöntemlere göre kısmen daha ucuz olması, çabuk sonuç vermesi ve radyoaktif madde kullanılmaması gibi olumlu yönlerinin bulunduğu bir kez daha gözlenmiştir. Şüphelenilen durumun aksine sonuçların tekrar edilebilirliği değişik zamanlarda yapılan PCR testlerinde ortaya konmuştur. 23 erkek incir bireyi (12 çeşit ve klonları) kullanılarak yapılan bu RAPD-PCR çalışması ile, ismine doğru çoğaltım, ıslah çalışmaları ve gen kaynağı korunması konularında gelecekteki çalışmalara ışık tutabilecek sonuçlar elde edilmiştir. Bu tür moleküler çalışmalar uzun süren klasik ıslah yöntemlerini kolaylaştırabilecektir.

Bu çalışma ile çeşide özgü belirteçler bulunmuştur. OPA15 ve OPA17 'Yanako-1' ve 'Yanako-2' için, OPA18 'Akerkek-1 ve 'Akerkek-2' için, OPA20 'Kızılay-1' ve 'Kızılay-2' için, OPB04 'Karaerkek' için, OPB05 'Kızılay-1' için, OPB15 'Yanako-1' ve Yanako-2' için, OPB20 'Çakın-1' için ve OPC07 'Karaerkek' için ayırt edici belirteçler veren primerler olmuştur.

RAPD belirteçleri ile klonlar arasındaki farkı tespit edebilmek oldukça zor olmasına rağmen bazı primerlerle (OPA11, OPC01, OPC07) 'Şeytan-1' ile 'Şeytan-2' klonları ve 'Yanako-1' ile 'Yanako-2' klonları arasında fark bularak bunu başarmak mümkün olmuştur. Çalışma sonunda çeşitler arasındaki benzerlik derecesine göre Dendrogram çıkartılmıştır. Dendrogramın çıkarılmasının avantajları; çeşitlerin yakınlığını tespit edebilmek, yapılabilecek melezleme çalışmalarında seçilecek olan ebeveynlerin birbirine olan yakınlığını belirlemek ve çeşitli çalışmalarda araştırmacılara teorik olarak taban teşkil edebilmektir.

Sonuç olarak bu çalışmanın başında hedeflenen üç amaca ulaşılmıştır. Bunlardan birincisi; çalışmada kullanılan bazı erkek incir çeşitlerinin RAPD belirteçleri ile DNA parmak izleri belirlenmiştir. İkincisi; kullanılan 12 çeşit erkek incirin klonları arasındaki benzerlikler ve farklılıklar bulunmuştur. Son olarak da

yüzde olarak hesaplanan polimorfizm oranlarıyla çeşitler arasındaki yakınlık dereceleri yorumlanmıştır.

İncir ticari olarak vejetatif yolla çoğaltıldığı için gen kaynağı sınırlı kalmaktadır. Diğer taraftan da dölleme biyolojisinin ginodioik olması yabancı tozlanmayı zorunlu hale getirmektedir. Böylece tohumdan elde edilen her bitkinin bir diğerinden farklı olması sonucu geniş bir gen yelpazesi oluşmaktadır. Genellikle erkek incirler tohumla kendiliğinden olduğu için çok farklı tip ve çeşitler meydana gelmiştir. Bu bireyler arasından çiçek tozu sayısı ve çimlenme gücü yüksek, çiçeklenme zamanı dişi çeşitler ile uyuşan, biyotik ve abiyotik stres etmenlerine dayanıklı yeni tipler seleksiyon sonucunda ortaya çıkartılabilir.

RAPD yönteminin polimorfizm oranı diğer PCR tabanlı yöntemlere göre daha düşüktür. Heterozigot dominantı homozigot dominanttan ayırt edemediği için AFLP, CAPS, ISSR ve SSR gibi diğer belirteç sistemlerinin bu tür çalışmalara dahil edilmesi ve incir gen haritalama projesinin başlatılması gerekmektedir. Yapılacak çalışmalarla morfolojik, fenolojik ve pomolojik özellikleri kontrol eden belirteçler belirlenerek istenen özelliklere sahip yeni çeşitlerin elde edilmesi için gen aktarımına taban oluşturulabilir.

Bu çalışmanın pratiğe yansıtacak olan kısmı; bu gibi belirteçler kullanılarak fidan üretimi, fidan satışı ve bahçe tesisi konularında ismine doğru fidan kullanılması konusundaki hata payı en aza indirilebilecektir. Çeşit ismi konusunda şüpheye düşülen bireylerin RAPD yöntemiyle çeşide özel primerlerle çeşit tanımlaması yapılabilir. Örneğin RAPD testinde OPC01₁₂₀₀ düzeyinde bant bulunması, o çeşidin 'Çakın-1' olduğunu kanıtlar. Bu gibi primerlerle aynı zamanda gelecekte mevcut çeşitlerin tesciline gidilmesi söz konusu olabilir. Ayrıca büyük plantasyonlar kurulmadan önce fidanların, belirlenmiş primerlerle test edilmesi ile çeşitlerin gerçekten o çeşit olduğu kanıtlanabilecek, üreticiyi yıl kaybı ve maddi kayıplardan kurtarabilecektir. Bu da ülke ekonomisine büyük katkı sağlayacaktır.

ÖZET

Bazı Erkek İncir Çeşitlerinin RAPD Belirteçleri ile Tanımlanması

Bu araştırma 2004-2005 yıllarında Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ve ADÜ Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Araştırmanın bitkisel materyalini Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü İlek Koleksiyon Bahçesi'nde bulunan 23 adet incir (*Ficus carica caprificus*) çeşit ve klonu oluşturmuştur. Kullanılan çeşitler ve klonları: 'Akerkek-1', 'Akerkek-2', 'Çakın-1', 'Çakın-2', 'Karaerkek', 'Karaerkek-2', 'Kızılay-1', 'Kızılay-2', 'Şeytan-1', 'Şeytan-2', 'Yanako-1' ve 'Yanako-2'dir. PCR tabanlı RAPD yöntemi ile toplam 47 adet 10 baz dizilimli primer test edilmiştir. Reaksiyon bileşenleri 15 µl'lik PCR solusyonu içerisinde 1.5µl 10X KCl tamponu, 1.5µl 25mM MgCl₂, 1.0µl 10mM dNTP, 1.0µl 10µM primer, 1.0µl *Taq* DNA polimeraz, 1.0µl 50ng/µl genomik DNA ve 8.8µl ddH₂O olacak şekilde karıştırılmıştır. PCR programı: 94°C'de 30 saniye ilk ayırım, 94°C'de 25 saniye ayırım, 35°C'de 45 saniye primer bağlanması, 72°C'de 1 dakika uzama aşamalarıyla 35 döngü ve son uzama 72°C'de 5 dakika olarak ayarlanmıştır. Büyüklükleri 250 - 3500 bp arasında değişen toplam 195 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 51 adeti polimorfizm gösterirken, 144 adet bant monomorfizm göstermiştir. Ortalama polimorfik bant sayısı genotip başına 2.22 olarak bulunurken, monomorfik bant sayısı ortalama 6.26 olarak tespit edilmiştir. Primerler 1-5 arasında polimorfik bant oluşturmuştur. OPA15 ve OPA17 ('Yanako-1' ve 'Yanako-2'), OPA18 ('Akerkek-1 ve 'Akerkek-2'), OPA20 ('Kızılay-1' ve 'Kızılay-2'), OPB04 ('Karaerkek'), OPB05 ('Kızılay-1'), OPB15 ('Yanako-1' ve Yanako-2'), OPB20 ('Çakın-1') ve OPC07 ('Karaerkek') veren primerler bu çalışma ile çeşide özgü belirteçler vermiştir. Çalışmada 'Şeytan-1' klonları ve 'Yanako-1' ile 'Yanako-2' klonları arasında polimorfizm bulunmuştur. Çeşitlerin bant desenine göre çıkartılan dendrogramda (soy ağacı) bireyler iki grupta toplanmışlardır. 'Yanako-1' ile 'Yanako-2' çeşitleri bir grupta, diğer genotipler ikinci grupta yer almıştır. Çalışılan çeşitler arasında en yüksek benzerlik (%99.0) 'Yanako-1₁₉' ile 'Yanako-1₂₀' arasında çıkmıştır. En düşük benzerlik ise (%62.2) 'Yanako-2₇₂' ile 'Karaerkek' çeşitleri arasında çıkmıştır.

SUMMARY

Identification Of Some Male Fig Cultivars With RAPD Markers

This study was conducted in Adnan Menderes University (ADU) Faculty of Agriculture Department of Horticulture and ADU Science and Technology Research and Development Centre. Twenty three male fig (*Ficus carica caprificus*) cultivars located at the Erbeyli Fig Research Institute were the plant materials for this research. The cultivars used are as follows: 'Akerkek-1', 'Akerkek-2', 'Çakın-1', 'Çakın-2', 'Karaerkek', 'Karaerkek-2', 'Kızılay-1', 'Kızılay-2', 'Şeytan-1', 'Şeytan-2', 'Yanako-1' ve 'Yanako-2'. Total of 47 10-mer primers were tested with PCR-based RAPD techniques. The PCR components mixed up to total of 15µl volume were 1.5µl 10X KCl buffer, 1.5µl 25mM MgCl₂, 1.0µl 10mM dNTP, 1.0µl 10µM primer, 1.0µl *Taq* DNA polimerase, 1.0µl 50ng/µl genomik DNA ve 8.8µl ddH₂O. The PCR programme used was 94°C for 30 s for first denaturation, then 35 cycles of 94°C for 25 s denaturation, 35°C for 45 s primer annealing, 72°C for 1 min extention, and 72°C for 5 min for final extention. Total number of bands obtained was 195 whose molecular weight changed between 250 - 3500 bp. While polymorphism was seen 51 of these bands, 144 of which were monomophic. While the average number of polymorphic bands was 2.22 per genotype, the average number of the monomorphic bants was 6.26 per primer. Primers gave between 1 and 5 polymorphic bands. The primers namely OPA15 and OPA17 ('Yanako-1' and 'Yanako-2'), OPA18 ('Akerkek-1 and 'Akerkek-2'), OPA20 ('Kızılay-1' and 'Kızılay-2'), OPB04 ('Karaerkek'), OPB05 ('Kızılay-1'), OPB15 ('Yanako-1' and Yanako-2'), OPB20 ('Çakın-1') and OPC07 ('Karaerkek') were the ones to give a cultivar specific markers in this study. The dendrogram (family tree) constructed according to the band pattern of the cultivars and their clones, the individuals were placed in two groups. 'Yanako-1' and 'Yanako-2' was in one group and the other cultivars was in the other group The polymorphism was observed among the clones of 'Şeytan-1', 'Yanako-1', and 'Yanako-2'. Among the studied genotypes, the highest similarity percentage (99.0%) was between 'Yanako-1₁₉' and 'Yanako-1₂₀'. The lowest similarity value was 62.2% of 'Yanako-2₇₂' and 'Karaerkek' cultivars.

TEŞEKKÜR

Tez konum olan RAPD tekniğini öğreten, çalışmamın her aşamasında ilgi ve alakasını eksik etmeyen, yönlendirici katkılar yapan ve yardımına ihtiyaç duyduğum her an yanımda olan danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ'a en derin saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yürütülmesi aşamasında, özellikle laboratuvar çalışmalarında ilgi ve önerilerini esirgemeyen kıymetli hocam Doç.Dr. Gonca GÜNVER-DALKILIÇ'a, bölüm başkanım sayın Prof. Dr. F.Ekmelel TEKİNTAŞ ve diğer bölüm hocalarıma, tez aşamasında, özellikle diğer işlerimin yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. arkadaşlarım S.Sevil KILINÇ, Görkem BİLGÜ ve Gülsüm KARAKAYA'ya teşekkür ederim.

Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü Müdürü Gıda Müh. Ramazan ÖZKAN'a ve çalışmada materyal toplama aşamasındaki yardımlarından dolayı enstitü çalışanı Zir. Müh. Hilmi KOCATAŞ'a, ADÜ Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvar'ı Müdürü Doç. Dr. Serhan SAKARYA'ya, laboratuvar çalışanı arkadaşlarım Engin GÜLEN ve Zir.Müh. Burcu KURT'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmada PCR optimizasyonu esnasında yardımlarından dolayı sayın Doç.Dr. Bahattin TANYOLAÇ'a, PCR ürünlerinin bir kısmının jelinin yapılmasında Urla Yüksek Teknoloji Enstitüsü laboratuvarını kullanmama olanak sağlayan Yrd. Doç. Dr. Sami DOĞANLAR'a ve laboratuvar çalışanı arkadaşlara içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmaya maddi destek sağlayan ADÜ Araştırma Fonu (ZRF 04-002)'na ve TÜBİTAK (TOGTAG-3381)'a teşekkür ederim.

Doğduğum günden beri özellikle eğitim-öğretim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini eksik etmeyen biricik aileme sonsuz teşekkürler.

KAYNAKLAR

- Aka-Kaçar,Y., A.B.Küden, M.S.Çetiner. 2003. Identification of varietal polymorphism in *Ficus carica* L. by RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) markers. Acta Hort. 598:167-172.
- Amel,S-H., T.Mokhtar, Z.Salwa, H.Jihène, M.Messaoud, R.Abdelmajid ve M.Mohemed. 2004. Inter-simple sequence repeat fingerprints to assess genetic diversity in Tunisian fig (*Ficus carica* L.) germplasm. Genetic Resources and Crop Evolution 51: 269-275.
- Anonim 2001. DİE, Tarımsal yapı (üretim, fiyat, değer). Ankara
- Anonim 2003. <http://faostat.fao.org>
- Anonim 2004. <http://faostat.fao.org>
- Cabrita,L.F., U.Aksoy, S.Hepaksoy, J.M.Leitao. 2001. Suitability of isozyme, RAPD and AFLP markers to assess genetic differences and relatedness among fig (*Ficus carica* L.) clones. Sci. Hort. 87:261-273.
- Caetano-Anolles, G., B.J.Bassam, P.M.Gresshoff. 1991. DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. Bio/Technology 9:553-556.
- Condit,I.J. 1955. Fig Varieties: A monograph. Hilgardia 23(11):323-538.
- De Masi,L., M.Cipollaro, G.Di Bernardo, U.Galderisi, G.Galano, A.Cascino, G.Grassi, E.Pavone, A.Simeone. 2003. Clonal selection and molecular characterisation by RAPD analysis of the fig (*Ficus carica* L.) "Dottato" and "Bianco del Cilento" cultivars in Italy. Acta Hort. 605:65-68.
- Doyle,J.J. ve J.L.Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.
- Elisiario,P.J., M.C.Neto, L.F.Cabrita, J.M.Leitao. 1998 Isozyme and RAPDs characterisation of a collection of fig (*Ficus carica* L.) traditional varieties. Acta Hort. 480:149-154.
- Eroğlu,A.Ş. 1982. İncir Araştırmaları Projesi (İslah): İncir seleksiyonu. Erbeyli Zirai Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Aydın, 301 s.

- Galderisi,U., M.Cipollaro, G.Di Bernardo, L.De Masi, G.Galano, A.Cascino. 1999. Identification of the edible fig 'Bianco del Cilento' by Random Amplified Polymorphic DNA analysis. HortScience 34(7):1263-1265.
- Kabasakal, A., 1990. İncir yetiştiriciliği. TAV yayınları No: 20 Yalova. 96 s.
- Khadari,B., Ph.Lashermes, F.Kjellberg. 1995. RAPD fingerprints for identification and genetic characterization of fig (*Ficus carica* L.) genotypes. J. Genet. Breed. 49:77-86.
- Khadari,B., I.Hochu, S.Santoni, F. Kjellberg. 2001. Identification and characterization of microsatellite loci in the common fig (*Ficus carica* L.) and representative species of the genus *Ficus*. Molecular Ecology Notes 1:191-193.
- Khadari,B., I.Hochu, S.Santoni, M.Ater, A.Oukabli, J.P.Roger, F.Kjellberg. 2003a. Which molecular markers are best suited to identify fig cultivars: A comparison of RAPD, ISSR and microsatellite markers. Acta Hort. 605:69-75.
- Khadari,B., I.Hochu, L.Bouzid, S.Santoni, F.Kjellberg, J.P.Roger. 2003b. The use of microsatellite markers for identification and genetic diversity evaluation of the fig collection in CBNMP. Acta Hort. 605:77-86.
- Khadari,B., A.Oukabli, M.Ater, A.Mamouni, J.P.Roger, F.Kjellberg. 2004. Molecular characterization of Moroccan fig germplasm using inter simple sequence repeat and simple sequence repeat markers to establish a reference collection. HortScience 40(1):29-32.
- Khadari,B., C.Grout, S.Santoni, F.Kjellberg. 2005. Contrasted genetic diversity and differentiation among Mediterranean populations of *Ficus carica* L.: A study using mtDNA RFLP. Genetic Resources and Crop Evolution 52: 97-109.
- Okuno,K. ve S.Fukuoka. 1998. Manual for DNA Extraction in Plants: Technical Assistance Activities for Genetic Resources Projects, Japan International Cooperation Agency, Ref. No. 11, Chuouku, Tokyo, Japan, 42s.
- Ölçer,T. 1968. Aydın Bölgesi'nin önemli ilek (erkek incir) çeşitleri üzerinde çalışmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İhtisas Tezi, İzmir, 68s.

- Öncel,H. 1969. İncir yetiştiriciliğinde ilek ve ilekleme. Tarım Bakanlığı, Ziraat İşleri Genel Müdürlüğü Yayınları:A-133, İstanbul, 50s.
- Papadopoulou,K., C.Ehaliotis, M.Tourna, P.Kastani, I.Karydis, G.Zervakis. 2002. Genetic relatedness among dioecious *Ficus carica* L. cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis, and evaluation of agronomic and morphological characters. *Genetics* 114:183-194.
- Parrish,T.L., H.P.Koelewjin, P.J.van Dijk. 2004. Identification of a male-specific AFLP marker in a functionally dioecious fig, *Ficus fulva* Reiw. ex Bl. (Moraceae). *Sex. Plant Reprod.* 17:17-22.
- Rogers,S.O. ve A.J.Bendich. 1994. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. *Plant Molecular Biology Manual* D1:1-8.
- Saiki,R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A., and Arnheim, N. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. 1985. *Science* 230:1350-1354.
- SPSS Inc. 2001. SPSS for Windows release 11.0.0. standart version.
- Uzun,H.İ., İ.Polat, Ş. Gözlekçi. 2003. Molecular identification of Turkish fig cultivars by fruit and leaf isozymes. *Acta Hort.* 605:45-50.
- Welsh,J. ve M.McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18(24):7213–7218.
- Williams,J.G.K., A.R.Kubelik, K.J.Livak, J.A.Rafalski, S.V.Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18(22):6531–6535.
- Yıldırım,A. ve N.Kandemir. 2001. Genetik Markörler ve Analiz Metodları, Bölüm 23, s:334-363, (Bitki Biyoteknolojisi-II: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, Ed: S.Özcan, E.Gürel, M.Babaoğlu), Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 456s.
- Zeybekoğlu,N,Ş., A.Mısırlı, R.Gülcan. 1998. Researches on pollen germination ability of some caprifig varieties. *Acta Hort.* 480:125-128.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Kayseri'nin İncesu ilçesinde doğdu. 1987 yılında İncesu Atatürk İlkokulundan mezun oldu. Orta ve lise eğitimini 1994 yılında İncesu Lisesinde tamamladı. 1997 yılında kayıt yaptırdığı Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nden 2001 yılında mezun oldu. 2002 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Aynı yıl araştırma görevlisi kadrosuna atandı. Hala aynı görevine devam etmektedir.

