

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**İNCİRDE (*Ficus carica* L.) ERKEK VE DIŞI GENOTİPLER ARASINDAKİ
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ VE ERKEK/DIŞI BİREYLERE
ÖZGÜ MOLEKÜLER MARKIR GELİŞTİRME**

Yeliz YILMAZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARALIK 2017

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNCİRDE (*Ficus carica* L.) ERKEK VE DIŞI GENOTİPLER ARASINDAKİ
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ VE ERKEK/DIŞI BİREYLERE
ÖZGÜ MOLEKÜLER MARKIR GELİŞTİRME**

Yeliz YILMAZ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2017-2633 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ARALIK 2017

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNCİRDE (*Ficus carica* L.) ERKEK VE DIŞI GENOTİPLER ARASINDAKİ
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ VE ERKEK/DIŞI BİREYLERE
ÖZGÜ MOLEKÜLER MARKIR GELİŞTİRME**

Yeliz YILMAZ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 20/12/2017 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Hatice İKTEN (Danışman)

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Aydın AKBUDAK

ÖZET
İNCİRDE (*Ficus carica* L.) ERKEK VE DIŞI GENOTİPLER ARASINDAKİ
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ VE ERKEK/DIŞI BİREYLERE
ÖZGÜ MOLEKÜLER MARKIR GELİŞTİRME

Yeliz YILMAZ

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç Dr. Hatice İKTEN

Aralık 2017; 59 Sayfa

İncir (*Ficus carica* L.) insanlık tarihi boyunca önemli bir besin kaynağı olmuştur, hem kuru hem de taze olarak tüketimi yapılan meyvelerden birisidir. Türkiye incir üretiminde önemli bir yere sahiptir fakat üstün nitelikli incir çeşitlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Yeni incir çeşitleri geliştirmek için yürütülen ıslah çalışmalarında moleküler markırların kullanılması ıslah programının daha hızlı ve etkili ilerlemesine yardımcı olacaktır. Odunsu bitkilerde uzun süren gençlik kısırlığı nedeniyle moleküler markır tespiti ıslah çalışmaları için tek yıllık bitkilerden daha da önemlidir. Ülkemizde meyve türleri gen kaynaklarının tanımlanması ve önemli özellikler için belirteçlerin geliştirilmesi çalışmaları sınırlı sayıdadır. Yapılan bu çalışmada 32 erkek, 32 dişi toplam 64 birey arasındaki genetik çeşitlilik AFLP ve SSR markır sistemleri kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmada 42 SSR primer çifti ile elde edilen toplam 138 banttan 113'ü polimorfik bulunmuş ve polimorfizm oranı % 81 olarak hesaplanmıştır, 10 AFLP primer kombinasyonundan ise toplam 905 banttan 374'ü polimorfik olarak elde edilmiştir ve polimorfizm oranı % 41'dir. AFLP ve SSR analizleriyle elde edilen verilerle ayrı ayrı benzerlik indeksleri ve dendogram oluşturulmuş ayrıca AFLP ve SSR verileri birleştirilerek analizler tekrar edilmiştir. AFLP ve SSR analizleri arasındaki korelasyon mantel testine tabi tutulduğunda kabul edilebilir bir sonuç ($r=0.58$) elde edilmiştir. Dişi ve erkek genotipler arasında polimorfik bantlar veren umut var primerler tespit edilse de cinsiyet ayırımını tam olarak yapabilen bir markır bulunamamıştır. İncirde cinsiyet ayırımı için yakın zamanda geliştirilen CAPS markır (Mori vd. 2017) ile erkek ve dişi genotipler taranarak markırın farklı genetik kaynaklardaki güvenilirliği hem cinsiyeti önceden bilinen koleksiyondan alınan genotiplerde hem de Bursa Siyahı x Ak İlek melezlemesi sonucu elde edilen F1 popülasyonunda test edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: AFLP, Cinsiyet, Filogenetik ilişkiler, İncir, SSR

JÜRİ: Yrd. Doç. Dr. Hatice İKTEN

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Aydın AKBUDAK

ABSTRACT
DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY BETWEEN MALE AND FEMALE GENOTYPES OF FIG (*Ficus carica* L.) AND DEVELOPMENT OF MALE/FEMALE INDIVIDUAL SPECIFIC MOLECULAR MARKERS

Yeliz YILMAZ

MSc Thesis in Agricultural Biotechnology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Hatice İKTEN

December 2017, 59 Pages

The fig (*Ficus carica* L.) has been an important food source throughout human history used for both dry and fresh consumption. Turkey has an important place in the world fig production and exportation. To maintain its position in the world market, developing superior varieties is a necessity. The use of molecular markers in breeding studies will help the breeding program to progress more quickly and effectively. In woody plants because of the long-juvenility period, development of molecular marker is even more important than annual plants. The studies on developing molecular markers for important features and identification of genetic resources in fruit crops are limited in our country. In this study, genetic diversity among 64 fig genotypes, 32 males and 32 females was determined using AFLP and SSR markers. A total of 42 SSR primers produced 138 bands of which 113 were polymorphic (81%). A total of 905 bands were obtained with 10 AFLP primer combinations and 374 of them were found to be polymorphic (41%). Similarity matrix and dendrogram were generated for each marker systems separately and with combined data as well. A mantel test was performed by using the similarity matrices of two marker systems and an acceptable correlation ($r=0.58$) was obtained between the AFLP and SSR matrices. Although there are promising polymorphic bands for discrimination of female and male genotypes, no markers have been found to be robust. The reliability of recently developed CAPS marker by Mori et al. 2017 has been tested in both sex-type known genotypes from the core collection of fig genetic resources and in F1 population obtained from crossing 'Bursa Siyahı'x'Ak İlek' genotypes.

KEYWORDS: AFLP, Fig, Phylogenetic relationship, Sex, SSR

COMMITTEE: Asst. Prof. Dr. Hatice İKTEN

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Asst. Prof. Dr. M. Aydın AKBUDAK

ÖNSÖZ

Tezin planlanıp yürütülmesinde bana yol gösteren, bilgisini, ilgisini ve desteğini eksik etmeyen artık ailemden biri olarak gördüğüm, her zaman yanımda olduğunu bildiğim danışmandan öte sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Hatice İKTEN'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamız süresince yardımlarından, bilgi birikimi ile desteğini eksik etmeyen sayın hocam Cengiz İKTEN'e teşekkürü borç bilirim.

Çalışmanın bitkisel materyallerini sağlayan Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsüne, maddi destekleri için Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen bölüm arkadaşlarıma özellikle Betül TÜZÜN, Damla İRKÖRÜCÜ, Orkun GENCER'e, yüksek lisans eğitimim boyunca maddi manevi desteklerinden dolayı ablam Filiz YILMAZ AŞKIN, eniştem Murat AŞKIN, neşe kaynağım yeğenim Barlas AŞKIN, amcam Ali İhsan YILMAZ, annem Fatma YILMAZ ve babam Abdullah YILMAZ'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
AKADEMİK BEYAN.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
3. MATERYAL VE METOT	10
3.1. Materyal.....	10
3.2. Metot.....	16
3.2.1. Genomik DNA izolasyonu.....	16
3.2.2. SSR analizleri.....	16
3.2.3. AFLP analizleri.....	18
3.2.4. PZR ürünlerinin görüntülenmesi.....	20
3.2.5. Verilerin değerlendirilmesi ve dendogram oluşturma.....	24
3.2.6. CAPS markırı ile (<i>RANI</i>) dişi ve erkek genotiplerinin belirlenmesi	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1. Genomik DNA İzolasyonu.....	27
4.2. SSR Analizleri	28
4.3. AFLP Analizleri.....	34
4.3.1. AFLP ön seçici PZR analizleri.	34
4.3.2. AFLP seçici PZR analizleri.	35
4.4. SSR ve AFLP Analizleri Sonucu Elde Edilen Verilerin Birlikte Değerlendirilmesi.....	43
4.5. Cinsiyete Özgü Markır Geliştirme Çalışmaları.....	47
4.6. CAPS Markırı (<i>RANI</i>) ile Genotiplerin Taranması	49
5. SONUÇLAR.....	52
5.1. Genetik Çeşitlilik Çalışmaları.....	52
5.2. Cinsiyete Bağlı Markır Geliştirme Çalışmaları.	52
6. KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “İncirde (*Ficus carica* L.) erkek ve dişi genotipler arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve erkek/dişi bireylere özgü moleküler markır geliştirme” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak bulunduğunu belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

20/12/2017

Yeliz YILMAZ

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

- μmol : Mikromol
μl : Mikrolitre
ml : Mililitre
% : Yüzde oran
A : Adenin
bp-bç : Baz çifti
C : Sitozin
cm : Santimetre
ddH₂O : Distile-Deiyonize Su
dk : Dakika
sn : saniye
g : Gram
G : Guanin
M : Molar
MgCl₂ : Magnezyum klorür
mM : Milimolar
ng : Nanogram
U : Ünite
T : Timin
°C : Santigrat derece

Kısaltmalar

- AFLP : Amplified Fragment Length Polimorfizm
BSA : Bovine Serum Albumin
CTAB : Cetyl Trimethyl Amonyum Bromide

EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
HCl	: Hidroklorik Asit
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeats
NaCl	: Sodyum klorür
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	: Random Amplified Length Polimorfizm
RFLP	: Restriction Fragment Length Polimorfizm
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Regions
SRAP	: Sequence-related amplified polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeat
STS	: Sequence Tagged Site
TBE	: Tris/Borik asit/EDTA Tampon çözeltisi
Tris	: Tris(hydroxymethyl)aminomethane]

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. AFLP yönteminin aşamaları	6
Şekil 3.1. FM4-15 SSR primeriyle elde edilen agaroz jel görüntüsü	21
Şekil 3.2. FM4-15 SSR primeriyle elde edilen poliakrilamit jel görüntüsü	21
Şekil 3.3. (a) Poliakrilamit jel bileşenlerinin eklenmesiyle elde edilen karışımın camların arasına enjekte edilmesi (b) Taraklar yerleştirilmiş şekilde polimerizasyonun beklenmesi	23
Şekil 3.4. Denatüre edilmiş PZR ürünlerinin poliakrilamit jele yüklenmesi.....	24
Şekil 4.1. Araştırmada kullanılan genotiplerin DNA'larının agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	27
Şekil 4.2. Spin kolondan geçen DNA'ların agaroz jel görüntüsü.....	28
Şekil 4.3. İncir genotiplerinin LMFC25 SSR primeri ile amplifikasyonunun poliakrilamit jel görüntüsü	29
Şekil 4.4. İncir genotiplerinin FINSQ5 SSR primeri ile amplifikasyonunun poliakrilamit jelde görüntüsü	29
Şekil 4.5. İncir genotiplerinin Frub416 SSR primeri ile amplifikasyonunun poliakrilamit jelde görüntüsü	29
Şekil 4.6. İncir genotiplerinde SSR analizi sonucu elde edilen dendogram	32
Şekil 4.7. SSR verileriyle yapılan temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 2 boyutlu grafik.....	33
Şekil 4.8. SSR verileriyle yapılan temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 3 boyutlu grafik.....	34
Şekil 4.9. Ön seçici PZR ürünlerinin % 1.5 agaroz jel görüntüsü	35
Şekil 4.10. İncir genotiplerinin EcoTGG-MseAGG primer kombinasyonu ile seçici PZR bant profili	36
Şekil 4.11. İncir genotiplerinin EcoAGG-MseCCC primer kombinasyonu ile seçici PZR bant profili	37
Şekil 4.12. İncir genotiplerinin EcoCGG-MseGCG primer kombinasyonu ile seçici PZR bant profili	38
Şekil 4.13. AFLP analizi sonucu elde edilen dendogram	40
Şekil 4.14. AFLP verileriyle yapılan temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 2 boyutlu grafik.....	42

Şekil 4.15. AFLP verileriyle yapılan temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 3 boyutlu grafik.....	42
Şekil 4.16. AFLP ve SSR analizlerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen dendogram.....	44
Şekil 4.17. AFLP ve SSR verilerinin birlikte değerlendirilmesi ile elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 2 boyutlu grafik.....	46
Şekil 4.18. AFLP ve SSR verilerinin birlikte değerlendirilmesi ile elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 3 boyutlu grafik.....	46
Şekil 4.19. SSR primeri FM4-15 ile elde edilen bant profili	47
Şekil 4.20. SSR primeri FM4- 15'in 64 genotipin tümüyle elde edilen bant profili (genotip sıralaması Çizelge 3.1'de verilen şekildedir).....	48
Şekil 4.21. AFLP EcoCGG-MseGCG primer kombinasyonundan elde edilen bant profili (genotip sıralaması Çizelge 3.1'de verilen şekildedir).....	48
Şekil 4.22. Tekrarlanan AFLP EcoCGG-MseGCG primer kombinasyonunun bant profili (genotip sıralaması Çizelge 3.1'de verilen şekildedir).....	49
Şekil 4.23. <i>PciI</i> enzimi ile kesim sonuçları, 1-10 numaraları arası erkek bireyler 11-20 numaraları arası dişi bireyler, 21. Örnek ise kesilmemiş PZR ürünü.....	50
Şekil 4.24. CAPS markırını ile taranan F1 bireylerine ait agaroz jel görüntüsü.....	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. 2013 yılına ait incir üretim miktarları.....	3
Çizelge 3.1. Erkek ve dişi genotiplerin listesi.....	10
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin listesi.....	11
Çizelge 3.3. AFLP ön seçici primer kombinasyonları.....	15
Çizelge 3.4. AFLP seçici primer kombinasyonları.....	15
Çizelge 3.5. CTAB solüsyonu bileşenleri.....	16
Çizelge 3.6. SSR termal döngü protokolü	17
Çizelge 3.7. SSR PZR karışımı	17
Çizelge 3.8. AFLP kesim ve ligasyon için gerekli bileşenler	18
Çizelge 3.9. Ön seçici PZR karışımı	18
Çizelge 3.10. Ön seçici PZR döngü aşamaları	19
Çizelge 3.11. Seçici PZR karışımı	19
Çizelge 3.12. Seçici PZR döngü aşamaları	20
Çizelge 3.13. Licor jel matriks bileşenleri.....	22
Çizelge 3.14. Poliakrilamid jel bileşenleri.....	22
Çizelge 3.15. FigFM primeri için termal döngü protokolü.....	25
Çizelge 3.16. FigFM primeri için PZR bileşenleri.....	25
Çizelge 3.17. <i>PciI</i> enzimi ile kesim protokolü.....	26
Çizelge 4.1. SSR primerlerine ait toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve polimorfizm oranları.....	30
Çizelge 4.2. AFLP primer kombinasyonlarına ait toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve % polimorfizm değerleri.....	39

1. GİRİŞ

Ülkemiz elverişli iklim ve verimli topraklara sahip olup biyolojik çeşitlilik açısından zengindir. Dünya genelinde meyve yetiştiriciliğinde önemli bir yere sahiptir. İncir insanlık tarihi boyunca önemli bir besin kaynağı olmuştur. Ürdün’de yapılan arkeolojik kazılarda 11.000 yıl öncesine ait oldukları rapor edilen incir meyveleri, incirin kültüre alınışının tahıllardan ve baklagillerden daha önce olduğunu göstermiş ve ilk kültüre alınan bitkinin incir olabileceği belirtilmiştir (Kislev vd. 2006). İncir dinsel kitaplarda yer almasıyla, yüksek besin değeriyle, lezzetiyle ve değişik meyve yapısıyla binlerce yıldır insanların dikkatini çekmektedir (Ek 2011). Temel besin kaynaklarından biri olan inciri Yunanlıların Anadolu’nun güneybatısındaki antik bölge olan, bugünkü Aydın ve Muğla illerini kapsayan Karia bölgesinden aldıkları ve *Ficus carica*’nın da buradan geldiği tahmin edilmektedir (Günel 1999). İncir İran, Anadolu dahi bütün Akdeniz havzası boyunca yetiştirilmiş (Flaishman 2008) ve Ortadoğu üzerinden Çin’e kadar yayılma göstermiştir (Arslan 2015).

İncir *Ficus* cinsi içerisinde yer alan dioik bir tür olup, diğer meyve türlerinden farklı olarak çiçekleri meyve kılıfı (reseptakulum) içerisinde yer almaktadır. Bu nedenle meyve tutumu tozlayıcı (ilek) arıcığı (*Blastophaga psenes*) ile gerçekleşmektedir (Condit 1964). İncir mükemmel bir vitamin, mineral, zorunlu amino asit, şeker ve organik asit kaynağıdır (Mujic 2014).

Ülkemiz incirin anavatanı olarak kabul edilen bölgenin içerisinde yer almaktadır. İncir Türkiye’nin ihracat gelirleri arasında önemli bir yere sahiptir. Dünya incir ticaretindeki yerimizi koruyabilmek ve ihracatımızı arttırmak için incir ıslah çalışmalarının hızlandırılmasına ihtiyaç vardır. Islah çalışmalarında genetik kaynakların verimli kullanılabilmesi için bu kaynakların tanımlanması, sınıflandırılması ve korumaya alınması gerekmektedir. İncir ıslahında çalışmaların yavaş ilerlemesinin en büyük etkenlerinden birisi diğer odunsu bitkilerde olduğu gibi incirde de ıslah edilmek istenilen karakterin gözlenebilmesi için gençlik kısırlığının atlatılmasının uzun yıllar sürmesidir. Dişi/erkek bitkilerin ayırt edilebilmesi için ağacın meyveye yatması beklenmektedir. Bu nedenle ıslah çalışmalarını hızlandırmak için moleküler markırların ıslah çalışmalarında kullanılmasının önemi giderek artmaktadır. Islah çalışmalarında genel olarak hedef altın sarı kabuk rengi, beyaz meyve eti, amber çekirdek, keskin fark edilebilir aroma, iri ve taşınmaya dayanıklı meyve ve partenokarpî özelliklerini taşıyan çeşitler elde etmektir (Storey 1975).

Son yıllarda sistematik çalışmalarda moleküler markır çalışmaları ön plana çıkmıştır. Kullanılacak markır sistemini seçerken polimorfizm seviyesi, populasyonun tipi, lokus sayısı, maliyet, kolaylık, altyapı gibi bazı faktörler dikkate alınmaktadır (Gülşen ve Mutlu 2005). AFLP ve SSR moleküler markır yöntemleri en fazla kullanılan gelişmiş tekniklerdendir. AFLP tekniğinde çok sayıda polimorfizm elde edilmesiyle ön plana çıkmıştır. SSR markır yöntemi ise heterozigot ve homozigot genotipleri birbirinden ayırabilen kodominant markırlardır ve yüksek oranda polimorfizm gösterirler.

Bu çalışmada hem ülkemiz incir genetik kaynaklarının AFLP ve SSR markır sistemleri ile karakterizasyonunun yapılması hem de incir ıslah çalışmalarında sonuca

daha hızlı ulaşmayı sağlayarak zaman ve maliyet kabını azaltacak olan cinsiyete özgü moleküler markır geliştirilmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

İncir (*Ficus carica* L.) ($2n=26$), Urticales (Isırganlar) takımının Moraceae (Dutgiller) familyasındadır. İncirin de dâhil olduğu *Ficus* cinsi içerisinde dünyanın tropik ve subtropik iklim bölgelerinde yaklaşık 750 *Ficus* türü bulunur (Watson ve Dallwitz 2004). İncirin Anadolu'da bulunan önemli bir yabancı formu *Ficus* var. *carica* erinosyce'dir. Bu yabancı formdan kültür formları olan *Ficus carica* var. *caprificus* ile *Ficus carica* var. *domestica* oluşmuştur (Özbek vd. 1978). *Ficus carica* var. *caprificus*, erkek çiçekleri bulunduran incirlerdir ve meyveleri yenilmez, *Ficus carica* var. *domestica* dişi çiçekleri bulundurur ve ekonomik değeri olan incir meyvelerini üretir. *Ficus carica* var. *domestica* formu incirler kurutmalık ve sofralık incirler olarak ikiye ayrılmaktadır.

Kültür formu olan incirler dioktir ve çiçekleri meyve kılıfının içerisinde yer alır. Tozlaşması ilek sineği denilen *Blastophaga psenes* aracılığıyla olmaktadır. İncirde cinsiyet canlıların birçoğunda olduğu gibi XX/XY kromozomuna dayalı olarak belirlenmektedir. Ancak *Ficus* türlerinin çoğunda kromozom sayısı $2n=2x=26$ dır (Storey 1977). İncir A, B1, B2, C vitaminleri kalsiyum, demir, fosfor, magnezyum, potasyum açısından zengin bir meyvedir (Ek 2011).

Çizelge 1.1. 2013 yılına ait incir üretim miktarları

Ülkeler	Üretim Miktarları (ton)
Türkiye	298.914
Mısır	153.089
Cezayir	117.100
Fas	101.989
İran	78.392
Suriye	46.443
İspanya	30.400
ABD	26.212
Tunus	23.500
Portekiz	17.581
Diğer	223.832

İncir yetiştiriciliğinin büyük bölümü Akdeniz ikliminin hâkim olduğu Türkiye, Mısır, Fas gibi ülkelerde yapılmaktadır. Çizelge 1.1.'de verildiği gibi Türkiye dünyanın

en büyük incir üreticisi olup Mısır, İran, Fas, Cezayir, Suriye, A.B.D., Yunanistan ve İspanya Türkiye'yi takip etmektedir. Ülkemiz hem kurutmalık hem de sofralık incir üretim ve ihracatında dünyada en önemli ülkelerin başında gelmektedir. 2013 yılında dünyada 364 bin hektar alanda yaklaşık 1.13 milyon ton incir üretimi yapılmış olup (FAOSTAT 2013) bu üretimin 298 bin tonu Türkiye'ye aittir. Türkiye'nin 2010 ve 2011 yıllarındaki sofralık incir ihracat fiyatları kilogramı ortalama 2-3 dolar arasında değişim göstermiş ve bu değer ile taze meyve sektöründe en yüksek gelir getiren ürünler arasında yer almıştır (Çalışkan 2012). 2013 yılı verilerine göre, Türkiye 298 bin ton ile dünya incir üretiminde ilk sırada yer alırken, bunu sırasıyla, 153 bin ton ile Mısır ve 117 bin ton ile Cezayir izlemektedir. Türkiye ürettiği incirin yaklaşık 13 bin tonunu sofralık incir olarak dünyanın 31 farklı ülkesine ihraç ederek, 25.989.000 dolar gelir sağlamaktadır. Bu ihracat değeriyle, dünya toplam sofralık incir ihracatının % 38.4'ünü karşılamaktadır (Çalışkan vd. 2012). İncir üretimi A.B.D, Brezilya ve Japonya gibi ülkelerde de oldukça artmış olmasına rağmen Akdeniz ülkeleri (Türkiye, Mısır, Fas, İspanya, Cezayir) hala incir üretiminde söz sahibi ülkelerdir.

Genetik çeşitlilik, bireyler ya da popülasyondaki aynı türler arasındaki farklılıklar olarak adlandırılır (Karp vd. 1997). Bitki gen kaynakları biyoçeşitliliğin önemli bileşenleri olup genetik çeşitlilik çalışmaları, taksonomik çalışmalar, evrimsel araştırmalar ve ıslahın temelini oluşturur (Shiva 1994). Genetik çeşitlilik çalışmalarının ıslah çalışmalarında büyük önemi vardır. Tür içi genetik çeşitlilik çalışmaları çeşitler arasındaki mesafenin tahmini için gereklidir (Jackson 1977). Tarımı yapılan türler içerisindeki genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi bitki ıslah çalışmaları ve genetik kaynakların korunması için önemlidir (Simioniuc vd. 2002).

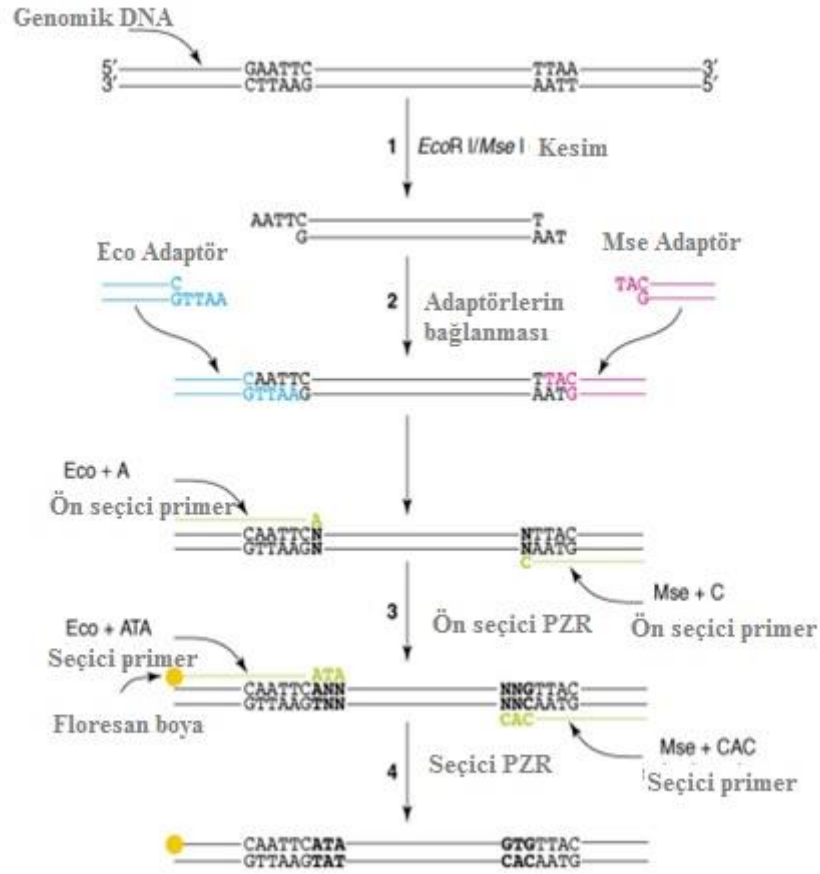
Dünya pazarındaki yerimizi korumak için raf ömrü daha uzun, taşımaya dayanıklı, aroması yüksek, hoş kokulu, açık renkli ve ostiol açıklığı küçük farklı sofralık ve kurutmalık çeşitlere ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak meyvecilikte ıslah zor ve uzun soluklu çalışma istemektedir. Bazı meyve çeşitlerinde ıslah süresi 20-25 yıl gibi uzun bir süre gerektirmektedir (Aksu 2015). Meyvecilikte ıslah süresini kısaltmanın bir yolu ıslah materyalinin moleküler karakterizasyonunu yaparak genotipler arasındaki genetik benzerlik/ farklılıkların tespiti, genetik kaynağın tanımlanması ve seleksiyon ve testleme aşamasında moleküler markırların kullanılmasıdır. Moleküler markırlar genetik haritalama çalışmalarında, çeşit tanımlaması ve korunmasında, genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde, duplike olan genotiplerin belirlenmesinde, yeni geliştirilen çeşitlerin koruma altına alınmasında, tohumculukta safiyet analizlerinde, gen ve ıslah programında kullanılacak ebeveynlerin belirlenmesinde ve markır destekli ıslah çalışmalarında kullanılırlar (Rafalski vd. 1996; Lowe vd. 1996; Bilgin ve Korkut 2005; Yorgancılar vd. 2015). Markır destekli seleksiyon ile ıslah çalışmaları daha kısa sürede ve daha az işgücü ile tamamlanabilmekte ve çalışılan popülasyonun büyüklüğü de klasik ıslaha nazaran çok daha küçük olmaktadır (Gupta ve Rustgi 2004).

Moleküler markırlar biyokimyasal ve DNA temelli olmak üzere ikiye ayrılırlar (Kumar 1999). DNA temelli markırlar da hibridizasyon ve PCR temelli olarak ikiye ayrılır (Varshney vd. 2007). Moleküler markırlar ilgili geni direkt tespit etmeden bu genle bağlantılı bölgeleri kullanarak polimorfik genin tespitine olanak sağlar. Etkili markır destekli seleksiyon ve istenilen genin diğer nesilleri aktarılması için markır hedef gene olabildiğince yakın olmalıdır (Mohan vd. 1996). Nükleotid dizilerindeki polimorfizm birçok markır tekniğiyle tespit edilebilir. Bunlar; hibridizasyon temelli

olan RFLP (Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi), PZR temelli olan SSR (Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatellitler), RAPD (Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi), AFLP(Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi) ve ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) verilebilir. Bu markır sistemlerinin dışında; SRAP (Sekansa Bağlı Çoğaltılmış Polimorfizm), SCAR (Sekansı Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler) ve CAPS (Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik Diziler) markırları da polimorfizmin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

AFLP, Vos vd. (1995), tarafından geliştirilen ‘çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı veya polimorfizmi’ anlamına gelen yüksek polimorfizm veren bir belirteç sistemidir. AFLP işaretleyici sisteminin uygulaması başlıca üç basamaktan oluşur; genomik DNA'nın iki restriksiyon enzimiyle kesilmesi ve DNA parçacıklarına, enzimlerle uyumlu adaptörlerin bağlanması (ligasyon), ligasyon ürünlerine bir baz ilave edilmiş primerlerle ön seçici PZR kurulması ve elde edilen ön seçici PZR ürünleri ile ön seçici PZR'da kullanılan primerlere 2 ya da 3 baz ilave ederek seçici PZR kurulması basamaklarından oluşmaktadır. Kesilen parçalar T4 ligaz enzimi ile bir enzime spesifik çift zincirli adaptörlere bağlanır. Adaptörler bir çekirdek dizilim bölgesini takip eden, enzime spesifik bir dizilim bölgesinden oluşmaktadır. Ön seçici amplifikasyon ise adaptör dizilimine ilaveten bir baz ilave edilerek oluşan primerler kullanılarak yapılır ve eğer iki primer kesilen fragmentlerin her iki ucunda tam olarak bağlanırsa amplifikasyon oluşur. Bu nedenle istatistiksel olarak başlangıçta karışımında bulunan her 16 (4x4) fragmentten bir tanesi çoğaltılarak ön seçici PZR sonunda kesim-ligasyon ürünleri 1/16 oranında seçilerek sadeleşir. Seçici (selektif) PZR'da ise ön seçici PZR'da kullanılan primerlerin aynısı ancak bir ya da iki ekstra seçici baz ilave edilerek kullanılır. Böylece seçici PCR sonunda (iki ekstra seçici bazla) kesim ürünleri 1/256 oranında seçilmiş olurlar (Şekil 2.1).

AFLP, tekrarlanabilen bantlar veren, yüksek polimorfizm gösteren ve herhangi bir dizilim bilgisi, prob ya da primer geliştirmeyi gerektirmeyen markırlardır. AFLP markırlarının pozisyonu kullanılan enzimin kesim bölgesinin lokasyonuna bağlıdır. AFLP markırları genellikle genomun büyük bir bölümünü kapsar ve tekrarlanabilir olmalarından dolayı güvenilir bilgiler üretir (Vos vd. 1995). AFLP tekniği restriksiyon bölgelerindeki ya da DNA parçasında oluşan ekleme/çıkarmadan oluşan varyasyonları tespit eder. AFLP daha önceden dizilim bilgisi gerektirmemesi, otomasyona uygun olması, primer kombinasyonu sayısının fazla olması ve polimorfizm oranının yüksek olması nedeniyle genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve doğal populasyonlar ve melezleme populasyonları kullanılarak yapılan haritalama çalışmalarında çoğunlukla kullanılan bir tekniktir (Yan vd. 1999). AFLP'nin pahalı ve zahmetli olması, uzun zaman alması gibi dezavantajları da vardır.



Şekil 2.1. AFLP yönteminin aşamaları (genomun restriksiyon enzimleri ile kesimi, adaptörlerin bağlanması, ön seçici PZR, seçici PZR) (Meudt vd. 2007)

Basit Tekrarlı Diziler olarak adlandırılan SSR primerleri ökaryotik canlıların genomunda tekrarlanan kısa nükleotid dizilimlerinin (1-5) genomda bulunma durumu ve tekrarlanma sayılarındaki farklılığa bağlı olarak genotipler arasındaki polimorfizmi belirlemektedir. Yüksek mutasyon değerlerinin tekrarlanma sayılarını etkilemesinden dolayı SSR işaretleyicileri yüksek oranda polimorfizm göstermektedir (Hemmat vd. 2003). SSR'ların genom üzerinde lokuslarının sabit olması ve çok sayıda bulunabilmeleri, kodominant yapıları, yüksek oranda polimorfizm göstermeleri ve otomatik analiz sistemlerine uygun olmaları nedeniyle bitkilerde genetik akrabalıkların tespit edilmesi amacıyla yapılan çalışmalarda tercih edilmektedir. SSR primerleri türler arasında da başarılı bir şekilde kullanılabilirler (Celton vd. 2009).

En güvenilir markır sistemlerinden biri olarak kabul edilen SSR primerleri ökaryotik canlıların genomunda çok sayıda bulunur ve tüm genoma dağılmış durumdadırlar. SSR'in çalışma prensibi mutasyonların daha sık meydana geldiği kodlanmayan (noncoding) bölgelerde bulunan polimorfizm durumları tekrar sayılarındaki farklılıkların tespit edilmesi esasına dayanır. SSR primerleri meyve ağaçlarında genetik çeşitliliğin tespiti ve haritalama çalışmalarında tercih edilmektedirler (Struss vd. 2003). SSR primerlerinin dezavantajları ise sentezlenmesinin güç ve pahalı olmasıdır.

AFLP tekniği PZR esaslı olup polimorfizm oranı diğer markır sistemlerine göre daha yüksektir. SSR tekniği ise genomda tekrarlanan bölgeleri çoğaltan, tre özgü, tekrarlanabilir ve otomasyona uygun markır sistemleridir (Schlotterer 1993).

Genel olarak PZR rnlerinin ayrıştırılmasında uygulama kolaylığı nedeniyle agaroz jel yaygın olarak kullanılsa da poliakrilamit jelin ayrıştırma gücü çok daha yüksektir. Poliakrilamit jelde ayrıştırılan SSR ve AFLP PZR rnlerinde 1 bazlık (1bp) büyüklük farkına sahip ürünler de ayırt edilebilmekte ve polimorfizm oranı yüksek olmaktadır (Yan vd. 1999).

CAPS markır tekniğinde spesifik primerler tarafından üretilen PZR rnleri, restriksiyon enzimleri tarafından tanıma bölgelerinin varlığında kesilebilir, SNP ler ya da insersiyon delesyon gibi mutasyonlar, restriksiyon enzimlerinin tanıma bölgelerini oluşturan ya da ortadan kaldıran değişikliklere neden olup kesim ürünlerinde uzunluk farklılığına yol açar ve böylece polimorfizm tespit edilebilir (Koniczny ve Ausubel 1993).

Moleküler markırlar farklı meyve türlerine ait çeşitlerin genetik çalışmalarında ve tanımlanmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Karakurt (2013), Doğu Anadolu bölgesinde selekte edilen elma, badem, ahududu türlerinde SSR ve AFLP yöntemlerini kullanarak polimorfizm durumunu ve genetik ilişkilerini araştırmışlardır.

Struss vd. (2003), kirazda yaptıkları çalışmada yaprak ve meyve örneklerinden DNA izolasyonu yapıp 15 genotipde 4 AFLP primer kombinasyonundan 63 ve 15 SSR primer çiftinden 40 polimorfik bant elde etmişlerdir. AFLP analizinde polimorfizm oranı % 21 SSR da ise % 83 olarak bulunmuştur. Orta (2016), SSR tekniği kullanılarak 43 karayemiş genotipinde yaptığı çalışmada *Prunus* türlerinden geliştirilmiş 15 SSR primer çifti kullanımış 13 tanesinden skorlanabilir sonuç almıştır. Analiz sonucunda primer çifti başına ortalama 9 bant elde edilmiş, % 93.5 oranında polimorfizm elde etmiştir.

Kafkas vd. (2008), Türkiye’de bulunan beyaz, siyah ve mor dutlardan oluşan 43 genotip üzerinde çalışmışlardır. Sekiz AFLP pimer kombinasyonu ile analizleri yapıp toplam 416 bant elde etmişlerdir polimorfizm oranını ise %80,5 olarak bulmuşlardır. Moleküler olarak siyah ve mor dut türlerinin beyaz duttan farklı olduğunu göstermişlerdir.

Fang vd. (2007), 12 farklı *Ficus* türünün bulunduğu 56 genotip üzerinde yaptığı çalışmada 6 AFLP kombinasyonu kullanmıştır. Analiz sonucunda 1253 bant görülmüş ve polimorfizm oranını % 98 olarak bulmuşlardır.

İncirde yapılan moleküler karakterizasyon çalışmalarında farklı markır sistemleri tek başına ya da çoklu olarak kullanılmıştır. Khadari vd. (2004), Fas’a ait 72 incir genotipinde 8 ISSR ve 6 SSR primeri kullanarak analizleri yapılmıştır. Cabrira vd. (2001), 31 RAPD primeri ile 11 Sarılop klonunu iki gruba ayırmış ve 8 primer kombinasyonu ile yapılan AFLP yöntemi yüksek oranda polimorfizm gösterip bütün klonları ayırmıştır. Khadari vd. (2001), incir için 20 adet SSR primeri geliştirerek, bunlardan sekiz primer çifti hem türler arasında tranfer edilebilir bulunmuş hem de polimorfik bantlar üretmiştir. Guasmi vd. (2006), Tunus’a ait 57 incir genotipini ISSR

markırı ile analiz etmişlerdir, araştırma sonucunda cinsiyete ve bölgeye göre ayrılma görülememiştir. Chatti vd. (2007), 17 Tunusa ait incir ekotipini RAPD ve ISSR yöntemlerinin birleştirilmesiyle oluşturulan RAMPO (Random Amplified Microsatellite polymorphism) markırıyla genetik farklılıkları tespit etmişlerdir. Giraldo vd. (2008) tarafından farklı gen kaynakları koleksiyonlarından toplanmış 209 incir genotipi 20 adet SSR primer çifti ile karakterize edilmiştir.

Ikegami vd. (2009) Avrupa ve Asya'dan toplanan 19 adet incir çeşidinin ISSR, RAPD ve SSR yöntemleriyle moleküler karakterizasyonunu yapmışlar ve kullanılan incir popülasyonunun genetik çeşitliliğinin düşük olduğunu ve çoklu markır kullanımının çeşitli incirlerin akrabalık ilişkisini tahmin etmek için gerekli olduğunu belirtmiştir.

Aradhya vd. (2010), dünyanın çeşitli yerlerinden toplanan 194 incir genotipini 16 SSR primeri ile analiz etmişlerdir, analiz sonucunda Türkmenistan ve Akdeniz bölgesine ait incirler farklı gruplandırma göstermiştir. Dalkılıç vd. (2010) 43 farklı erkek incir genotipini 85 RAPD primeri ile tarayarak genetik ilişkilerini ortaya koymuşlardır. Saddoud vd. (2011), 18 adet Tunus'a ait incir genotipini 25 morfolojik özellik ve 6 SSR primer çiftiyle karakterize etmişlerdir. Ganopoulos vd. (2015), 90 adet incir çeşidini 7 SSR primeri ile genotiplemişlerdir. Genotipler UPGMA dendrogramında dört küme oluşturmuş, ancak kümeleme coğrafi kökene dayalı açık bir ayrılma göstermemiştir.

Baraket vd. (2011), Tunus incir çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği AFLP ve SSR yöntemleri ile göstermişlerdir ve çalışmada 6 AFLP primer kombinasyonu ve 6 SSR primer çifti kullanılmıştır. AFLP yönteminde 351 (342 polimorfik) ve SSR'da ise 57 polimorfik bant tespit edilmiştir. Bu çalışmada polimorfik bilgi içeriği değerinin SSR, etkin markır indeksinin ise AFLP markırlarında daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Essid vd. (2015), 20 adet Tunus'a ait erkek inciri akrabalıklarını 13 SSR primeri ile analiz etmişlerdir. Teoman vd. (2017), Marmara ve Ege bölgesinden toplanan 45 erkek 2 dişi incir genotipinde 24 SSR primer çifti kullanarak genetik çeşitliliklerini ortaya koymuşlardır.

Islah çalışmalarında doğru ebeveynlerin seçimi için genetik kaynakların moleküler seviyede tanımlanması yanında bazı bitki ve meyve özellikleri için markırların geliştirilmesi de önemlidir. Özellikle dioik bitkilerde, gelişimin erken safhalarında, ağaç meyveye yatmadan bireyin cinsiyeti teşhis etmek zor ya da imkânsızdır. Gençlik kısırlığı uzun süren odunsu bitkilerde ıslah çalışmaları sonucu elde edilen bitkilerin cinsiyet tayininin erken dönemde yapılamaması hem işgücü hem de zaman kaybına neden olmaktadır. Kapalı tohumluların yaklaşık olarak % 6'sı dioiktir. Tarımsal olarak bakıldığında değerli olan incir, kivi, palmye, papaya, muskat, antep fıstığı, hurma, jojoba gibi dioik bitkilerde tohum ve meyvenin elde edildiği dişi bireylerdir, kuşkonmazda ise erkek bireylerin ürünleri daha büyük ve değerlidir (Milewicz ve Sawicki 2013). Birçok bitkide moleküler markırlar yardımıyla cinsiyet belirleme çalışmaları yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır.

Kafkas vd. (2001), antep fıstığı (*Pistacia vera*) türlerinde 312 RAPD primeri kullanarak 10 dişi ve 10 erkek bireyde yürüttüğü çalışmada bazı primerlerin cinsiyetle ilişkili ürün verdiğini göstermiştir. RAPD primerleri kullanılarak yapılan benzer bir

çalışmada Ling vd. (2003), Mabet Ağacında (*Ginkgo Biloba*) 200 RAPD primeri kullanmış ve bir primerin erkek genotiplerde polimorfik bant verdiğini göstermiştir. Al-Ameri vd. (2016)'nın hurmada yapmış oldukları çalışmada 200 ISSR primeri kullanarak iki primerin cinsiyetle ilişkili olduğunu bulmuşlardır.

Maryam vd. (2015), hurmada toplam 30 genotip ile yaptıkları çalışmada, 14 ebeveyn, (8 erkek ve 6 dişi) ve 16 F1 bitkisini 12 SSR primeri ile taramışlar ve bir primer çiftinin tüm erkeklerde bant verirken dişilerde vermediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca Temel Bileşenler Analizi (PCA) sonucunda erkek ve dişi bireylerin iki gruba ayrıldığı ve hibrit olan 16 bireyin iki grup arasında kaldığı görülmüştür.

Agarwal vd. (2010), jojobada 16 AFLP primer kombinasyonu kullanmıştır iki primer kombinasyonu cinsiyetle ilişkili bulmuştur. Benzer şekilde papaya (Urasaki ve ark., 2002, Deputy vd. 2002) ve antep fıstığında (Yakubov vd. 2005) erkek ve dişi bireyler için moleküler markırlar geliştirilmiştir. İncirde erkek ve dişi bitkilerin ağaç meyveye yatmadan ayırt edilebilmesi için bazı morfolojik çalışmalar yapılmıştır. Erkek ve dişi bitkileri stoma sayılarına göre belirlemek için yapılan bir çalışmada elde edilen sonuçların yıllara göre farklılık gösterdiğini belirlenmiştir (Mısırlı vd. 1998a). Dişi ve erkek incirlerin içerdikleri fenolik bileşiklerin miktarındaki farklılığın tespiti yoluyla cinsiyet belirleme amacıyla yapılan çalışmada ise erkek incirlerde fenolik bileşiklerin daha fazla olduğu ancak daha detaylı çalışmalara gerek olduğu belirtilmiştir (Mısırlı vd. 1998b).

İncirde (*Ficus carica* L.) bitkinin cinsiyetinin erken dönemde teşhis edilmesini sağlayacak moleküler markırların geliştirilmesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır (Mutlu vd. 2008). Parrish vd. (2004), *Ficus fulva*'da yaptıkları çalışmada AFLP yöntemini kullanarak erkek bireylere ait bir markır tespit etmişlerdir. Ancak SCAR markırına dönüştürülen bant hem erkek hem de dişi bireylerde görülmüştür. Mutlu vd. (2008), *Ficus carica*'da yaptıkları ilişkilendirme haritalaması çalışmasında SRAP, RAPD, ISSR primerlerini kullanarak erkek ve dişi bireyler arasındaki polimorfizmin % 77'sini açıklayan 5 moleküler markır belirlemişlerdir.

Yakın tarihte Mori vd. (2017), incir genomunun bir kısmının nükleotid dizilimini yaparak cinsiyetle ilgili olduğu düşünülen bölgenin tek lokustan oluştuğunu tespit etmişlerdir. Bu bölge ATPaz olan *RANI* ortoloğu olduğunu, erkek incir genotiplerinde iki yanlış anlamlı mutasyon varlığını göstermişler ve cinsiyetle ilgili CAPS markır geliştirmişlerdir.

İncir ıslah programlarının hızlandırılmasında büyük katkı sağlayacağı düşünülen cinsiyete özgü markırların geliştirilmesi için bugüne kadar yapılan sınırlı sayıda çalışma vardır ve AFLP ile SSR teknikleri kullanılmamıştır. Ülkemiz incir genetik kaynakları bakımından ıslah çalışmalarının ihtiyacı olan genetik çeşitliliği barındırmaktadır. Bu bilgiler ışığında erkek ve dişi incir genotipleri ile yapılacak bu çalışmada AFLP ve SSR primerleri kullanılarak genotipler arasındaki genetik yakınlık/uzaklık belirlenerek, erkek ve dişi genotiplere özgü markır geliştirilmeye çalışılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışma materyali olarak meyve özellikleri bakımından öne çıkan ve ıslah programlarına dahil olabilecek farklı özelliklere sahip 32 dişi ve 32 erkek incir genotipi kullanılmış ve genotip listesi Çizelge 3.1’de verilmiştir. Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsünden daha önce temin edilerek -80 °C’de bekletilen yaprak örneklerinden modifiye edilmiş CTAB protokolüne (Doyle ve Doyle 1990) göre DNA izolasyonu yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Erkek ve dişi genotiplerin listesi ve orijinleri

Sıra No	Genotip Adı	Orijin	Sıra No	Genotip Adı	Orijin
1	Kızılay2-E	Ege	33	Armut Sapı-D	Akdeniz
2	Körpe İlek-E	Ege	34	712 Siyah İncir-D	İç Anadolu
3	Mor İlek-E	Ege	35	705-D	İç Anadolu
4	Afyoncu-E	Ege	36	708 Darpak-D	İç Anadolu
5	Adalı-E	Ege	37	710 Ekşi İncir-D	İç Anadolu
6	Gabalı-E	Ege	38	251 Dereköy-E	
7	Ayardolduran-E	Ege	39	215 Midilli-D	
8	Siyah İlek-E	Ege	40	252 Lop Yemişi-D	
9	Ömerbeyli Kaba-E	Ege	41	219-D	
10	Buzdoğan Kaba-E	Ege	42	228 İpek İnciri-D	
11	Elma İlek-E	Ege	43	245 Sarı Yemiş-D	
12	Bostanlı-E	Ege	44	401 Mor Özer-D	
13	Kara İlek-E	Ege	45	538 Kabak İnciri-D	
14	Şişek İleği-E	Ege	46	221 Yeşil İncir-D	
15	Kuyucak-E	Ege	47	537 Kara İncir-D	Karadeniz
16	Damarlı-E	Ege	48	230 Siyah-D	Marmara
17	Hacı Mestan-E	Ege	49	531 Değirmen İnciri-D	

Çizelge 3.1'in devamı

18	Kızılhay1-E	Ege	50	242 Sarı Bardak-D	Marmara
19	Bardakçı-E	Ege	51	233-D	
20	Kıbrıslı-E	Ege	52	701 Mor-D	İç Anadolu
21	Hacı Abdullah-E	Ege	53	212 Çiçek İnciri-D	
22	Ak İlek-E	Ege	54	217-D	
23	Şeytan1-E	Ege	55	709 Kızıl Mor-D	İç Anadolu
24	Ak erkek1-E	Ege	56	532-D	
25	Yanako1-E	Ege	57	524 Ham İncir-D	
26	Frenk-E	Ege	58	514 Deniz İnciri-D	
27	Mıstık ilek-E	Ege	59	237 Bursa Siyahı-D	Marmara
28	Yanako2-E	Ege	60	256 Yediveren-D	Ege
29	Küçük Konkur-E	Ege	61	530 İpek İnciri-D	
30	Çaçaron-E	Ege	62	243 Susak-D	
31	Armut İlek-E	Ege	63	226 Kasım İnciri-D	
32	Kavun İlek-E	Ege	64	231 Tüylü İncir-D	

Yürütülen bu çalışmada 42 adet SSR ve 10 adet AFLP kombinasyonu ile analizler tamamlanmıştır. Khadari vd. (2001), Giraldo vd. (2005), Zavodna vd. (2005), Vignes vd. (2006), Ahmed vd. (2007), Bandelj vd. (2007), Crozier vd. (2007) tarafından geliştirilmiş SSR primer listesi Çizelge 3.2'de verilmiştir. Forward primerlere M13 baz dizisi eklenmiş (GGAAACAGCTATGACCAT).

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin listesi

Primer No	Primer Kodları	Primer dizilimi (5'→3')
1	LMFC12 F	GGAAACAGCTATGACCAT TTA AACCTACTTTCAACAAT
	LMFC12 R	GTAATCCCCGAGATATAGT

Çizelge 3.2'nin devamı

2	LMFC13 F	GGAAACAGCTATGACCAT CCTCTTTCTCTCTCTTAATTTT
	LMFC13 R	TTTATCAAACCCACTGATTC
3	LMFC15 F	GGAAACAGCTATGACCAT CGGAGAAAGATTTAGAATTTG
	LMFC15 R	ATTCCAGAGACGAAAGGTCT
4	LMFC17 F	GGAAACAGCTATGACCAT TTAAGAATACGTCCCTTGGTAT
	LMFC17 R	GAGATTTTCGTTGACTTCATT
5	LMFC18 F	GGAAACAGCTATGACCAT CACATCCACACACCAAAGAG
	LMFC18 R	TACCACAGACTCACCCAATTAT
6	LMFC19 F	GGAAACAGCTATGACCAT CTTATGAAAACCTCGGTAGAAG
	LMFC19 R	AATGAATGGAAATGATCTTG
7	LMFC20 F	GGAAACAGCTATGACCAT ATGGAGGCTTAGATAGAAAT
	LMFC20 R	ACAACACAAAAAGAAATATCA
8	LMFC22 F	ATCACGATATAGGTGTTTTAAT
	LMFC22 R	AGACTTGTAATTTTGATTCT
9	LMFC23 F	GGAAACAGCTATGACCAT TTTCGTGTCTAACGATCAAAAA
	LMFC23 R	CTCCCATCTCCAATCCATC
10	LMFC24 F	GGAAACAGCTATGACCAT ACTTCTTCATATTTGGTATAGG
	LMFC24 R	TTCATAAACTGGTCTAAAAGA
11	LMFC25 F	GGAAACAGCTATGACCAT GATTCTGATTAAGGGTATTT
	LMFC25 R	GCTTTCCAAATCTAAAGTAAC
12	LMFC26 F	GGA AAC AGC TAT GAC CAT ATGTTATAGTTGAGTGAGGATAA
	LMFC26 R	AAATAGTGGATCTTGCATGT
13	LMFC28 F	GGAAACAGCTATGACCAT TGATTCCTTTTACTTGTAGATT
	LMFC28 R	AAGACATTGAGACATACCAG
14	LMFC30 F	GGAAACAGCTATGACCAT TTGTCCGTTTCTTATACAAT
	LMFC30 R	TCTTTT TAGGCAGATGTTAG

Çizelge 3.2'nin devamı

15	LMFC32 F	GGAAACAGCTATGACCAT GAAAGAAAGTCGAATAATGTA
	LMFC32 R	TATAAAGAGGGTGGTCTTAGT
16	LMFC36 F	GGAAACAGCTATGACCAT GACTCCTACACCATCAAAGG
	LMFC36 R	CTTCACGTTGTTTCCTGTTGT
17	LMFC40 F	GGAAACAGCTATGACCAT TGTCAGTAGTTCCTGGAGA
	LMFC40 R	CCCGCATCTCTATTATTGAC
18	MFC3 F	GGAAACAGCTATGACCAT GATATTTTCATGTTTAGTTTG
	MFC3 R	GAGGATAGACCAACAACAAC
19	MFC4 F	GGAAACAGCTATGACCAT CCAAACCTTTTAGATACAACCTT
	MFC4 R	TTTCTCAACATATTAACAGG
20	MFC5 F	GGAAACAGCTATGACCAT ACCAATCCAAATAATAATCC
	MFC5 R	ACACGTTACTAGAATTACC
21	MFC7 F	GGAAACAGCTATGACCAT CACAATCAAAATAGTTACCG
	MFC7 R	AGCGAAGACAGTTACAAAGC
22	FCUP016-6 F	GGAAACAGCTATGACCAT CTTTCTGGAATTCAAGCTACGA
	FCUP016-6 R	CGACCAAGCACAAACACAT
23	FCUP038-6 F	GGAAACAGCTATGACCAT CAATGTATCATTTTCATCTCACGAA
	FCUP038-6 R	AGTTCCCATGTTTGGTTACTGA
24	FCUP045-6F	GGAAACAGCTATGACCAT TTCCAAGGCATATTATGTTGAAA
	FCUP045-6R	GTCCAAGGCAAATGATGAA
25	FCUP048-8 F	GGAAACAGCTATGACCAT GCCTCGTACAAGTGGACCAT
	FCUP048-8 R	AGAGGCTTACGAGGTTGTGG
26	FCUP062-2 F	GGAAACAGCTATGACCAT AACTTGGCGAGATAAACAACC
	FCUP062-2 R	CACTGACCTCGCTGCATT
27	FCUP066-7 F	GGAAACAGCTATGACCAT CCCTCTCGAAGAAGAAGCA
	FCUP066-7 R	CTACAGGAAATGGGCCTCAA

Çizelge 3.2'nin devamı

28	FCUP069-6 F	GGAAACAGCTATGACCAT CCGGAAACACACAAATTCAA
	FCUP069-6 R	CAAAGCGTCGACTCACTGAA
29	FRAC83 F	GGAAACAGCTATGACCAT TGAACCTTCAATAACATCGGGTT
	FRAC83 R	CTCATGCAATCATAGCACTCA
30	FRUB38 F	GGAAACAGCTATGACCAT ACACGTGCAGTGCTGCTGA
	FRUB38 R	ACAGCTGCCCAATTCCTTGA
31	FRUB416F	GGAAACAGCTATGAC CATCAGCAATGATCTTGACCT
	FRUB416 R	GTACTCATCAATATCTCTAAACAAC
32	FRUB436 F	GGAAACAGCTATGAC CATGTACTGTGATTAGTATCTTTGA
	FRUB436 R	CTAGCAATAACTCACTGATATTG
33	FİNSJ10 F	GGAAACAGCTATGAC CATAGGTGGAATGAGGAGAGAGT
	FİNSJ10 R	AAACATCCTTTCTGGACTTG
34	FSYC05F	GGAAACAGCTATGACCAT CCGGAGGCTCGAAAGACAAG
	FSYC05R	TCAAATTTCCAATCCCAAACCC
35	FSYC07F	GGAAACAGCTATGACCATTCTACAAGACACTTAACAATTTTAGCACC
	FSYC07R	TCACATCGAGTTGTGCTTGC
36	FSYC11F	GGAAACAGCTATGACCAT CACAAGGTGGAGAGTGCTCG
	FSYC11R	TTCCCTACTCATTTACCTTCTCCTC
37	FM4-15 F	GGAAACAGCTATGAC CATATCTTCGTTCGGTATTGCTTTCACT
	FM4-15 R	GGAAGAGAACCCTTTTTGTATTGG
38	FİNSA1 F	GGAAACAGCTATGAC CATAATCCCCGTACTTCACTTG
	FİNSA1 R	AGAACTTATTGCACGGACAG
39	FM4-70 F	GGAAACAGCTATGACCAT CAGATGAGGTTGACGATGTTATTG
	FM4-70 R	TAAACCCTCTTCAAATTCACCTCTC
40	FRAC13 F	GGAAACAGCTATGACCAT CACGTTACGCTGCAAACCT
	FRAC13 R	GATAGAGAAGGCATATCCAGAG

Çizelge 3.2'nin devamı

41	FinsQ5(FAM3) F	GGAAACAGCTATGACCAT CATGTCAGGAGGTGTCTAGG
	FinsQ5(FAM3) R	CTCCAAATGGGTATGTCAAG
42	Finsk9 (HEX1) F	GGAAACAGCTATGACCAT ACGCACTTAACCCTTTCAG
	Finsk9 (HEX1) R	TTCGAGTCAACGAAACAAA

AFLP analizlerinde kullanılan ön seçici ve seçici primerler Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. AFLP ön seçici primer kombinasyonları

	Eco	Mse
1	GAC TGC GTA CCAATTC C	GAT GAG TCC TGAGTAA G
2	GAC TGC GTA CCAATTC T	GAT GAG TCC TGAGTAA C
3	GAC TGC GTA CCAATTC A	GAT GAG TCC TGAGTAA C
4	GAC TGC GTA CCAATTC T	GAT GAG TCC TGAGTAA A
5	GAC TGC GTA CCAATTC A	GAT GAG TCC TGAGTAA T

Çizelge 3.4. AFLP seçici primer kombinasyonları

	Eco	Mse
1	GAC TGC GTA CCAATTC TAA	GAT GAG TCC TGAGTAA CAA
2	GAC TGC GTA CCAATTC TCC	GAT GAG TCC TGAGTAA CCC
3	GAC TGC GTA CCAATTC CGG	GAT GAG TCC TGAGTAA GCG
4	GAC TGC GTA CCAATTC CCC	GAT GAG TCC TGAGTAA GAA
5	GAC TGC GTA CCAATTC ATC	GAT GAG TCC TGAGTAA CTT
6	GAC TGC GTA CCAATTC AGG	GAT GAG TCC TGAGTAA CAA
7	GAC TGC GTA CCAATTC AGG	GAT GAG TCC TGAGTAA CTT

Çizelge 3.4'ün devamı

8	GAC TGC GTA CCAATTC AAG	GAT GAG TCC TGAGTAA CCC
9	GAC TGC GTA CCAATTC CGG	GAT GAG TCC TGAGTAA GTT
10	GAC TGC GTA CCAATTC AAA	GAT GAG TCC TGAGTAA TAA

3.2. Metot**3.2.1. Genomik DNA izolasyonu**

Taze yaprak örnekleri (100 mg) 0.5 ml CTAB ekstraksiyon çözeltisi (Çizelge 3.8) içerisinde ezme çubukları yardımı ile ezilmiş ve 65 °C'de 1.5 saat bekletildikten daha sonra 500 µl kloroform-izoamil alkol (24:1) eklenip, tüpler alt üst edilerek karıştırılıp 13000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Üstte toplanan sıvı kısım temiz tüpe alınarak kloroform- isoamil alkol basamağı tekrar edilmiştir. Kloroform-izoamil alkol basamağı tamamlandıktan sonra üst kısımdan alınan 150 µl sıvı kısmın üzerine 2/3 hacim izopropanol eklenerek –20 °C de bir gece bekletilmiş, ardından 20 dk (13000 rpm) santrifüjden sonra elde edilen çökeltinin üzerine 150 µl yıkama solüsyonu (% 70'lik etanol ve 10 mM amonyum asetat) eklenerek tekrar santrifüj yapılarak ve sıvı kısım atılmıştır. Oda sıcaklığında 15 dk kurutulan DNA'ların üzerine 100 µl TE (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA) eklenerek –20 °C de muhafaza edilerek, daha sonra bütün DNA örnekleri % 1'lik agaroz jelde yürütülerek kalite ve miktarları kontrol edilmiştir.

Çizelge 3.5. CTAB solüsyonu bileşenleri

Bileşenler	Buffer Son Konsantrasyonları	Hacim
NaCl	1.4 M	280 ml
Tris-HCL PH:8	1000 mM	100 ml
EDTA PH:8	20 mM	40 ml
CTAB	% 2	20 g
Beta-merkaptotanol	% 0.2	2 ml
Toplam		1000 ml

3.2.2. SSR analizleri

SSR analizleri için Khadari vd. (2001), Giraldo vd. (2005), Zavodna vd. (2005), Vignes vd. (2006), Ahmed vd. (2007), Bandelj vd. (2007), Crozier vd. (2007) tarafından geliştirilmiş ve daha önce yürütülmüş olan haritalama projesinde (TÜBİTAK-1100659)

polimorfik oldukları tespit edilmiş 46 adet SSR (microsatellite) primer çifti kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

SSR için gerekli PZR protokolü ve bileşenler Çizelge 3.6 ile Çizelge 3.7’de verilmiştir. Primer bağlanma sıcaklığı (annealing temperature) her bir SSR primer çifti için ayrı uygulanmıştır.

Çizelge 3.6. SSR termal döngü protokolü

Aşamalar	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	94 °C	3 dk	1
Denatürasyon	94 °C	30 sn	35
Primerlerin yapışması	50-60 °C	30 sn	35
Uzama	72 °C	1 dk	35
Son uzama	72 °C	5 dk	1

Çizelge 3.7. SSR PZR karışımı

Bileşenler	Miktar
Dna (20 ng/µl)	2 µl
Taq buffer (10X)	1.5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1.5 µl
dNTP (10 mM)	1 µl
Primer (10 µM)	2 µl
Taq polimeraz (5 u/µl)	0.2 µl
ddH ₂ O	6.8 µl

SSR primerleri ile elde edilen ürünlerin ayrıştırma işlemi floresan boya deteksiyonlu Li-Cor –IR2 4200 (LI-COR Biosciences) cihazı ile gerçekleştirildiği için primerlerin 5’ uçlarına M13 universal (5’- GGA AAC AGC TAT GAC CAT -3’) baz dizisi eklenecek ve M13 primerinin ucu floresan boya ile işaretlenmiştir.

3.2.3. AFLP analizleri

AFLP primerleri ile amplifikasyon için Vos vd. (1995) tarafından geliştirilen protokol uygulanmıştır. Genomik DNA (100-120 ng) MseI ve EcoRI enzimleri ile 37 °C’de kesilerek ve kesilen genomik DNA ligasyon için gerekli miktarda bileşenlerden eklenmiştir (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. AFLP kesim ve ligasyon için gerekli bileşenler

Bileşenler	Miktar
Ligase Buffer	1.1 µl
NaCl (0.5 M)	1.1 µl
BSA (1mg/ml)	0.5 µl
Eco Adaptör (10 pM)	0.22 µl
Mse Adaptör	0.11 µl
<i>EcoRI</i> (10 u/µl)	0.25 µl
<i>MseI</i> (10 u/µl)	1 µl
T4 Ligase (100 u/µl)	0.5 µl
ddH ₂ O	3.25 µl
Genomik DNA	2.5 µl

Elde edilen karışım 37 °C’de 3 saat inkübasyona bırakılarak adaptörlerin kesilen DNA parçalarının uç kısımlarına eklenmesi sağlanmıştır. Adaptörlerin bağlanma işlemi tamamlanan ürünler, % 1.5’lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiştir. Ürünlerin kalan 5 µl kısmı 1/25 oranında sulandırılmış ve 2.5 µl’si ön seçici PZR protokolünde 10 pmol Eco ve Mse primerleri ile çoğaltılmıştır(Çizelge 3.9). PZR termal döngü aşamaları Çizelge 3.10’da verilmiştir.

Çizelge 3.9. Ön seçici PZR karışımı

Bileşenler	Miktar
dNTP (3 mM)	2 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1 µl
Buffer (10X)	1.25 µl

Çizelge 3.9'un devamı

Eco Primer (10 pmol)	1 µl
Mse Primer (10 pmol)	1 µl
Taq Polimeraz (5 u/µl)	0.1µl
ddH ₂ O	4.15 µl
Seyreltilmiş kesim-ligasyon ürünü	2.5 µl

Çizelge 3.10. Ön seçici PZR döngü aşamaları

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
72 °C	2 dk	1
94 °C	20 sn	20
56 °C	30 sn	20
72 °C	2 dk	20
72 °C	2 dk	1
60 °C	30 dk	1

Çoğaltılan ön seçici PZR ürünlerinden 5 µl % 1.5'lik agaroz jele yüklenerek kontrol edilmiştir ve ön seçici PZR ürünlerinin kalan kısmı 1:19 oranında sulandırılıp seçici PZR reaksiyonlarında kullanılmıştır. Seçici PZR için gerekli bileşenler Çizelge 3.11'de, PZR termal döngüsü ise Çizelge 3.12'de verilmiştir. Seçici Eco primerlerinin 5' uçları Li-Cor cihazının lazerleri ile okunabilen spesifik floresanlar ile işaretlidir.

Çizelge 3.11. Seçici PZR karışımı

Bileşenler	Miktar
dNTP (2 mM)	1 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1 µl
Buffer (10X)	1 µl

Çizelge 3.11'in devamı

Eco Primer (10 pmol) (2 seçici nükleotid)	1 µl
Mse Primer (10 pmol) (2 seçici nükleotid)	1 µl
Taq Polimeraz (5 u/µl)	0.08 µl
ddH ₂ O	3 µl
Seyreltilmiş ön seçici PZR ürünü	2.5 µl

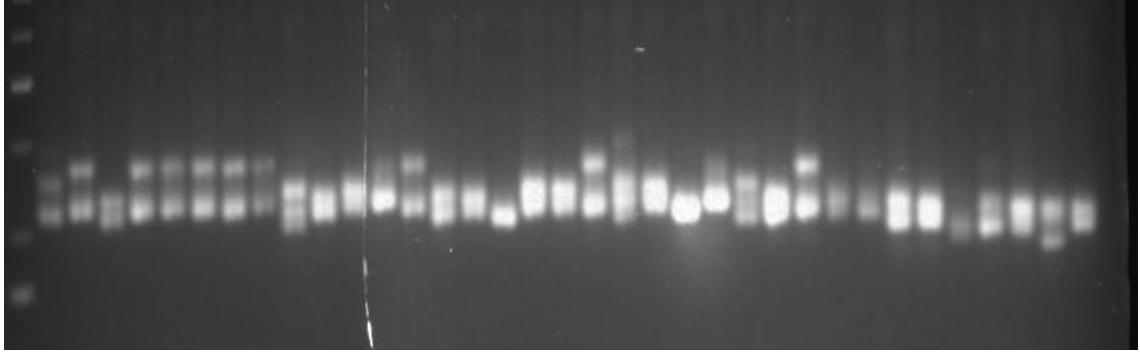
Çizelge 3.12. Seçici PZR döngü aşamaları

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
94 °C	2 dk	1
94 °C	20 sn	10
66-57 °C (her döngüde 1 °C azalacak)	30 sn	10
72 °C	2 dk	10
94 °C	30 sn	25
56 °C	30 sn	25
72 °C	3 dk	25
60 °C	30 dk	1

3.2.4. PZR ürünlerinin görüntülenmesi

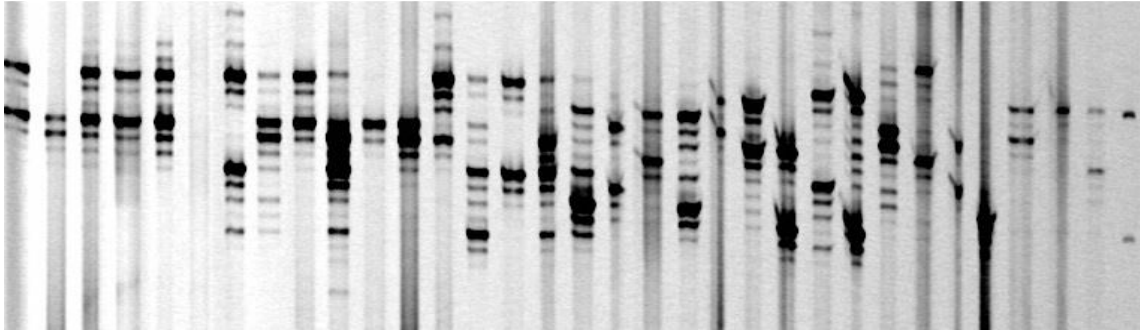
SSR ürünleri öncelikle yüksek konsantrasyonlu % 3'lük agaroz jelde yürütülmüş ancak bazı allelleri ayrışmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.1). Bu nedenle SSR ürünleri işaretli primerler kullanılarak poliakrilamid jelde yürütülmüştür (Şekil 3.2).

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35



Şekil 3.1. FM4-15 SSR primeriyle elde edilen agaroz jel görüntüsü (M:markır, genotip sıralaması Çizelge 3.1’de verilen şekildedir)

17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 M



Şekil 3.2. FM4-15 SSR primeriyle elde edilen poliakrilamit jel görüntüsü (M:markır, genotip sıralaması Çizelge 3.1’de verilen şekildedir)

Poliakrilamit jel matrisi Çizelge 3.13’de verilen miktarlara göre hazırlanıp ışık almayacak bir ortamda saklanmıştır. AFLP ürünlerinin yüklenmesi için 40 cm’lik SSR için ise 25 cm’lik camlar kullanılmıştır. Camlar dikkatli şekilde, üzerinde toz ve leke kalmamasına dikkat edilerek yıkanıp kurumaya bırakılmıştır. AFLP için 35 ml SSR için 25 ml jel matrisi alınıp üzerine Çizelge 3.14’de verilen miktarlarda amonyum persülfat ve temed ekleyerek hızlıca camların arasına dökülmüştür (Şekil 3.3.a). Taraklar yerleştirildikten sonra bir saat polimerize olması beklenmiştir (Şekil 3.3.b). Dikkatli şekilde taraklar çıkartılıp camda jel partikülü kalmamasına özen gösterilerek yıkanmış ve kurutulduktan sonra cihaza yerleştirilmiştir. PZR ürünlerine formamit yükleme tamponu eklenerek 95 °C’de 5 dk denatüre edilen PZR ürünleri buz üzerine alınmıştır. SSR fragmentleri 0.25 mm kalınlıkta % 5.5’lik poliakrilamit jele, AFLP ürünleri ise 0.20 mm kalınlıkta % 6.5’lik poliakrilamit jele yüklenerek (Şekil 3.4) floresan boya deteksiyonlu Li-Cor-IR2 4200 (LI-COR Biosciences) cihazında 1500 Volt ve 45 °C’de yürütülmüştür.

Çizelge 3.13. Licor jel matriks bileşenleri

Jel Matriks (500 ml)	% 5.5	% 6.5
% 40 Akrilamid+ Bis (19:1)	68.75 ml	81.25 ml
TBE (10X)	50 ml	50 ml
Üre (7 M)	210 g	210 g

Çizelge 3.14. Poliakrilamid jel bileşenleri

Poliakrilamid jel bileşenleri	25 cm cam için (SSR)	40 cm cam için (AFLP)
% 10 luk APS	243 µl	482 µl
Temed	17 µl	34 µl
Akrilamid jel matriks	25 ml	35 ml



(a)

(b)

Şekil 3.3. (a) Poliakrilamit jel bileşenlerinin eklenmesiyle elde edilen karışımın camların arasına enjekte edilmesi (b) Taraklar yerleştirilmiş şekilde polimerizasyonunun beklenmesi



Şekil 3.4. Denatüre edilmiş PZR ürünlerinin poliakrilamit jele yüklenmesi

3.2.5 Verilerin değerlendirilmesi ve dendrogram oluşturma

Li-cor cihazına yüklemeler yapıldıktan sonra AFLP ve SSR jel görüntüleri manuel olarak bant varlığında 1 yokluğunda 0 değerlendirilemediğinde ise 999 olacak şekilde skorlanmıştır. İncir genotiplerinin taranması için elde edilen verileri NTSYS (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.1 Exeter Software, Setauket, N.Y., USA (Rohlf 1993) bilgisayar paket program kullanılarak analiz edilmiştir. Benzerlik matrisi genotipler arasında genetik akrabalığı belirlemek için UPGMA modülü kullanılarak dendrogram oluşturulmuştur. Genotipler arasındaki benzerlikler elde edilecek dendrogramlara göre belirlenmiştir. Ayrıca iki ve üç boyutlu grafik üzerinde bireyler arasındaki mesafeleri gösteren Temel Bileşenler Analizi (Principle Component Analizi: PCA) aynı program kullanılarak yapılmıştır.

3.2.6 CAPS markırı ile (*RANI*) dişi ve erkek genotiplerinin belirlenmesi

Yürütülen tez çalışmasının, laboratuvar araştırmalarının tamamlanıp yazım aşamasına geçildiğinde Mori vd. (2017) tarafından geliştirilerek yayınlanmış olan incirde cinsiyete özgü markır için Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü koleksiyon

parselinde bulunan erkek ve dişi genotiplerin ilk defa moleküler tanımlaması yapılmıştır. Ayrıca Enstitüde yürütülen ıslah programı çerçevesinde Bursa Siyahı x Ak İlek melezlemesi sonucu elde edilmiş olan 46 F1 bireyinin cinsiyetlerinin belirlenmesi amacıyla CAPS markırı ile testleme yapılmıştır.

Mori vd. (2017)'nin incirde cinsiyet tayini için geliştirdiği CAPS primeri olan FigFM ile Çizelge 3.15 ve Çizelge 3.16'da verilen protokollere göre PZR yapılmıştır. PZR ürünleri *PciI* restriksiyon enzimiyle Çizelge 3.17'de verilen bileşenlerden eklenip 2 saat 37 °C'de inkübe edilerek kesim işlemi gerçekleştirilmiştir. Kesim ürünleri % 2'lik agaroz jelde yürütülmüştür.

Çizelge 3.15. FigFM primeri için termal döngü protokolü

Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
94 °C	2 dk	1
94 °C	30 sn	35
55 °C	1 dk	35
72 °C	1 dk	35
72 °C	5 dk	1

Çizelge 3.16. FigFM primeri için PZR bileşenleri

Bileşenler	Miktar
Dna (20 ng/µl)	2 µl
Taq buffer (10X)	1.5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1.5 µl
dNTP (10 mM)	1.5 µl
Primer F/R (10 µM)	0.5 µl
Taq polimeraz (5 u/µl)	0.1 µl
ddH ₂ O	7.4 µl

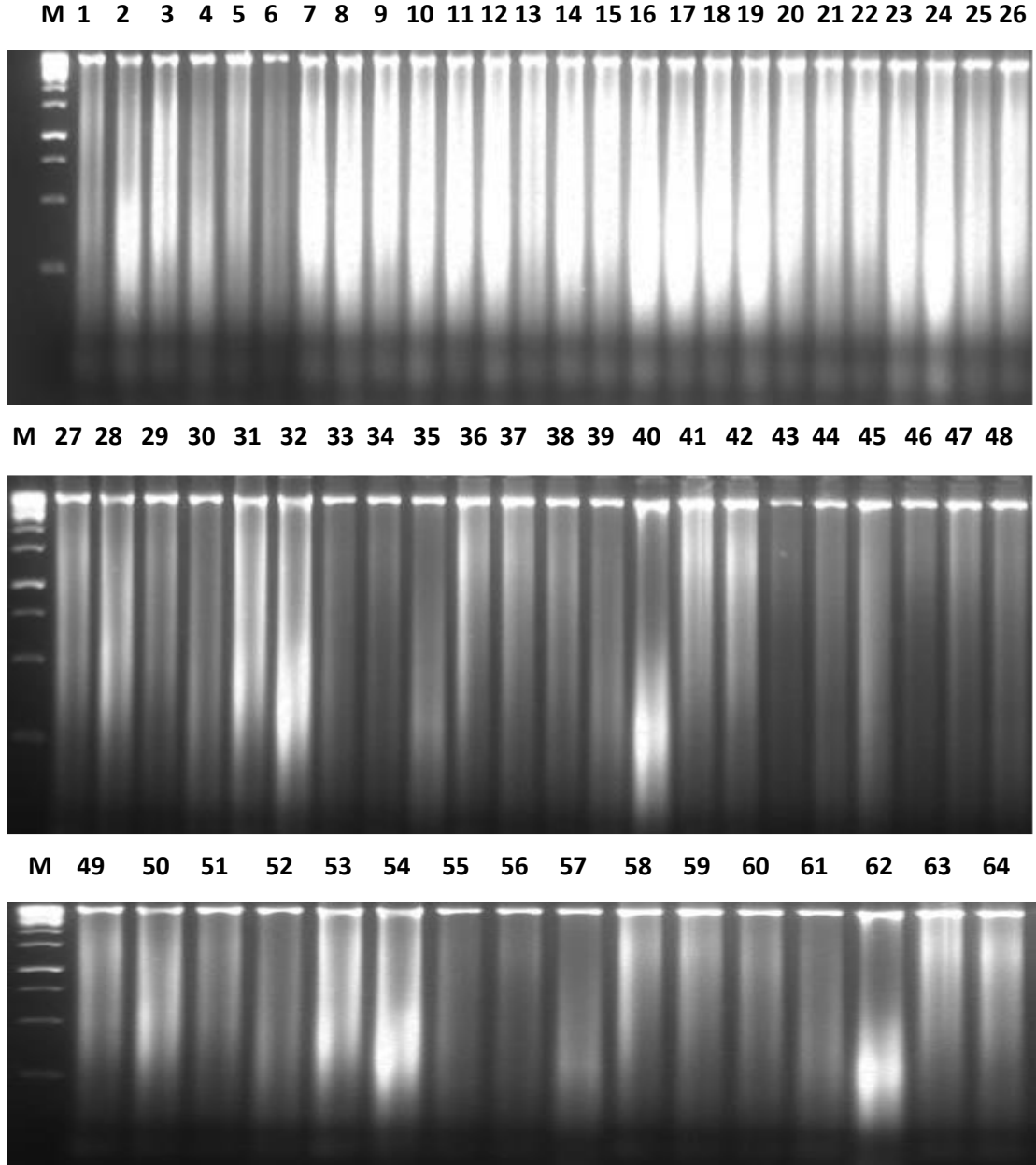
Çizelge 3.17. *PciI* enzimi ile kesim protokolü

Bileşenler	Miktar
Enzim (10 u/μl)	0.5 μl
Buffer (10X)	1 μl
PZR ürünü	4 μl
ddH ₂ O	4.5 μl

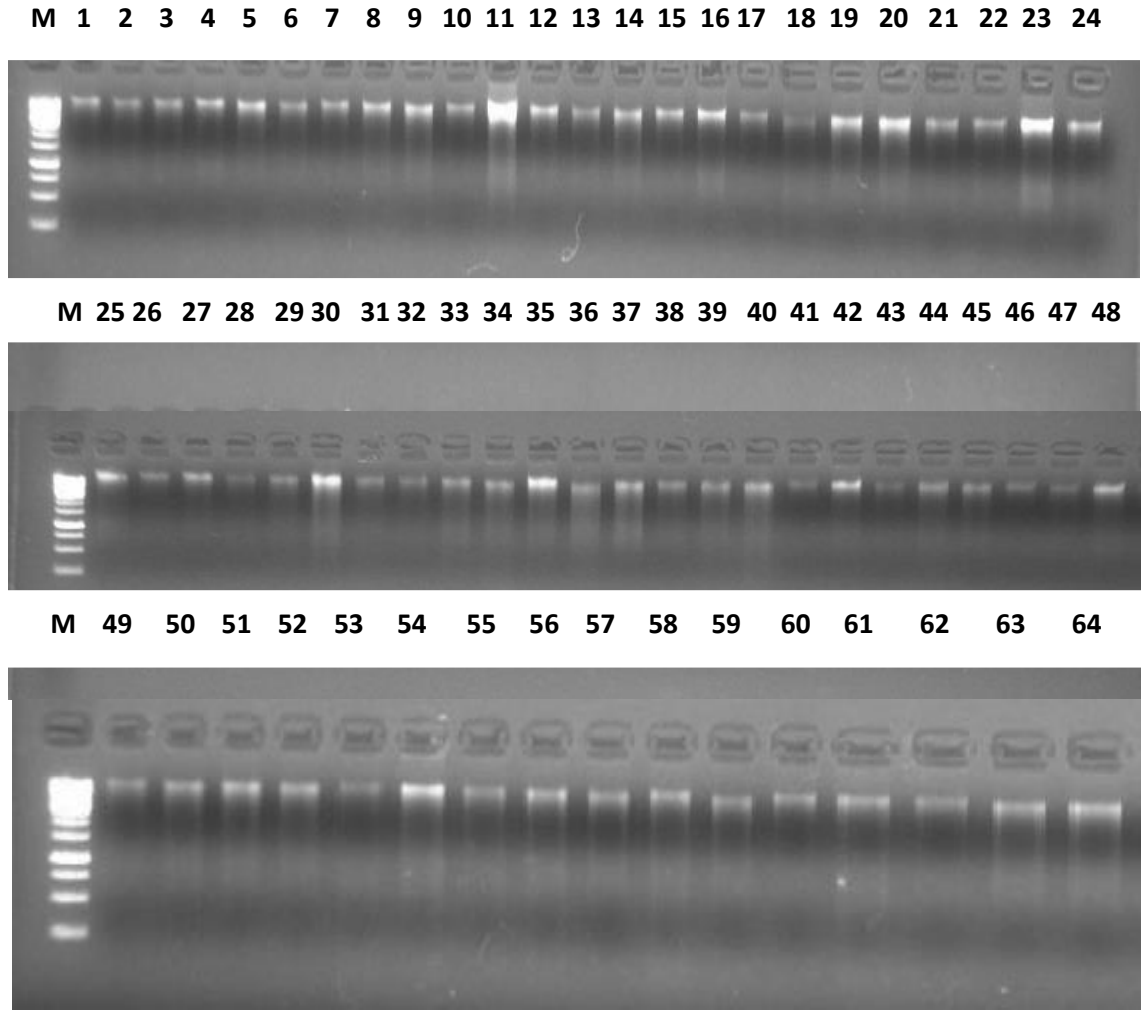
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Genomik DNA İzolasyonu

İzole edilen DNA'ların kalitesi ve yaklaşık olarak miktarını belirlemek amacıyla örnekler % 1'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Şekil 4.1' de izole edilen DNA'ların jel görüntüsü verilmiştir. İncir yüksek oranda fenolik bileşikler bulundurmaktadır. AFLP analizinin yapılabilmesi için yüksek miktar ve kalitede DNA'ya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle DNA örnekleri spin kolondan geçirilerek temizlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Araştırmada kullanılan genotiplerin DNA'larının agaroz jel elektroforez görüntüsü (M:markır, genotip sıralaması Çizelge 3.1'de verilmiştir)



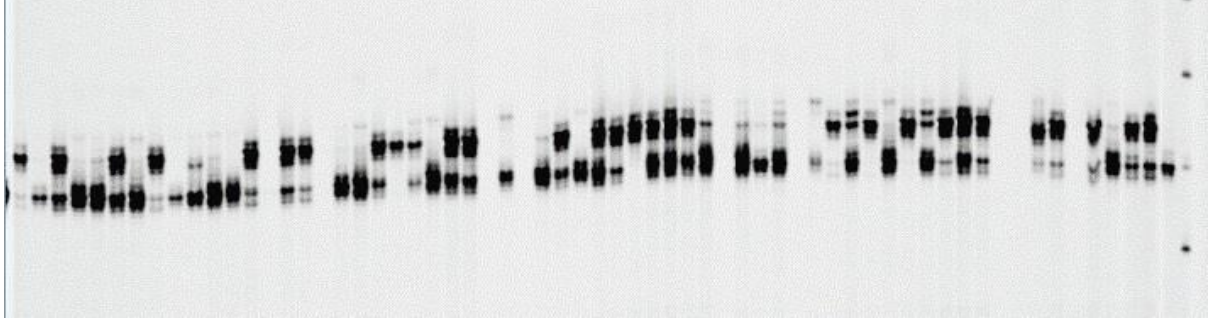
Şekil 4.2. Spin kolondan geçen DNA'ların agaroz jel görüntüsü (M:markır, genotip sıralaması Çizelge 3.1'de verilmiştir)

4.2. SSR Analizleri

Araştırmada 64 genotip için 42 adet primer çifti kullanılarak SSR analizleri yapılmıştır. Örnek poliakrilamid jel görüntüleri Şekil 4.3, 4.4 ve 4.5'da verilmiştir. Görüntülerin skorlanmasıyla elde edilen bant sayıları, polimorfizm oranları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Polimorfik bant sayısı 1 (LMFC12) ile 7 (FCUP069-6, FİNSQ5) arasında değişmiştir. Locus başına düşen bant sayısı 3.17 polimorfik bant sayısı ise 2.69 olarak bulunmuştur. Sadece SSR markırı kullanılarak yapılan Teoman vd. (2017)'nin çalışmasında, primer çifti başına düşen polimorfik alleli 2'den 7'ye kadar değişen sayıda bulmuşlardır. Essid vd. (2015) ise 2 ile 6 arasında, Saddoud vd. (2011) yaptığı çalışmada 5 ile 8 arasında değiştiğini göstermişler. Locus başına elde edilen allel sayısı bazı primerlerde daha önce yapılmış çalışmalardan daha yüksektir. Fcup069 primeri ile Bandelj vd. (2007) 3 allel elde etmişken yürütülen çalışmada 7 allel elde edilmiştir. FinsQ5 primeri ile Vignes ve ark. (2006) 2 allel elde etmiş bu çalışmada ise 7 allel elde

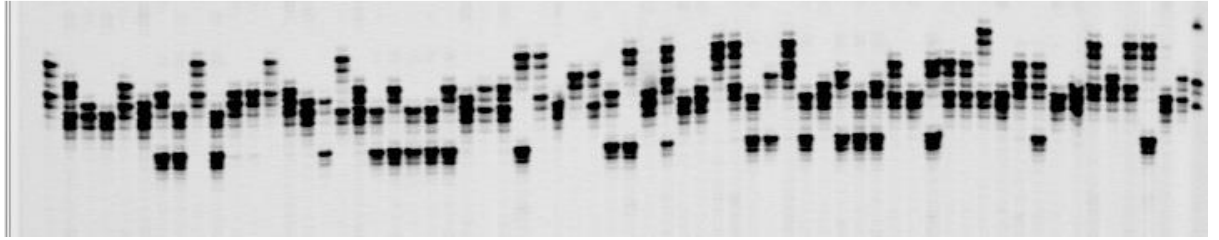
edilmiştir. Benzer şekilde LMFC19, MFC7 ve LMFC24 primerleri ile elde edilen allel sayısı daha önce yapılan çalışmalardan daha fazla olmuştur. Ancak Zavodna vd. (2005) FM4-15 primeri 14 allel ve FM4-70 primeri ile 7 allel elde etmişler bu rakamlar yürütülen çalışma da elde edilen sonuçlardan oldukça yüksektir.

2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 M



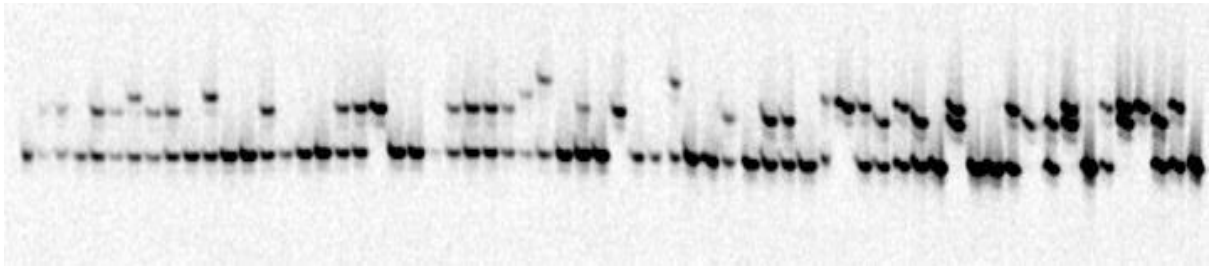
Şekil 4.3. İncir genotiplerinin LMFC25 SSR primeri ile amplifikasyonunun poliakrilamid jel görüntüsü (M:markır, genotip sıralaması Çizelge 3.1’de verilmiştir)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64



Şekil 4.4. İncir genotiplerinin FINSQ5 SSR primeri ile amplifikasyonunun poliakrilamid jel görüntüsü (M:markır, genotip sıralaması Çizelge 3.1’de verilmiştir)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64



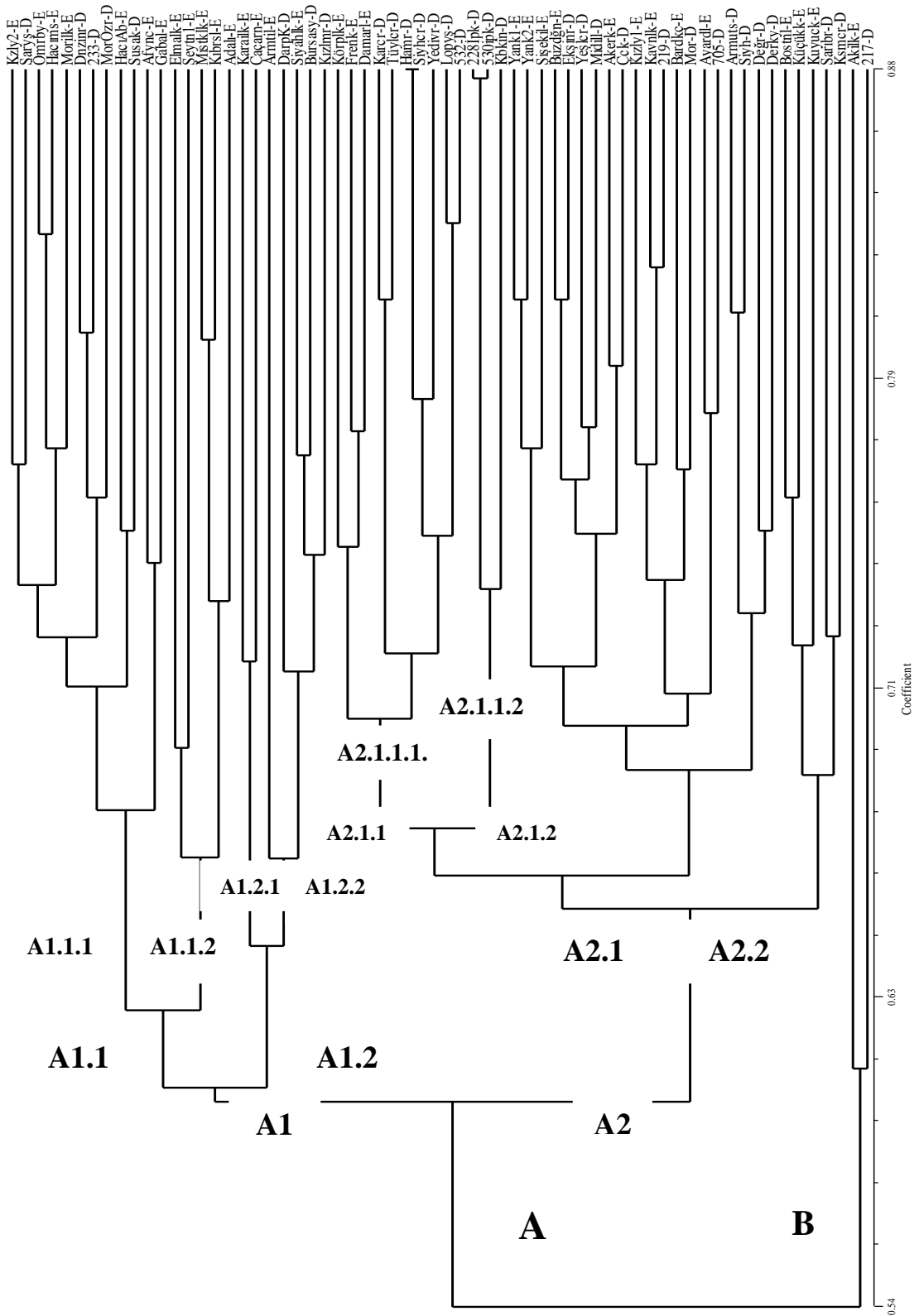
Şekil 4.5. İncir genotiplerinin Frub436 SSR primeri ile amplifikasyonunun poliakrilamid jel görüntüsü (M:markır, genotip sıralaması Çizelge 3.1’de verilmiştir)

Çizelge 4.1. SSR primerlerine ait toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve polimorfizm oranları

Primer	Polimorfik Bant Sayısı	Toplam Bant Sayısı	%Polimorfizm
LMFC12	1	1	100
LMFC13	2	3	66
LMFC15	3	4	75
LMFC17	1	2	50
LMFC18	1	2	50
LMFC19	6	6	100
LMFC20	1	2	50
LMFC22	2	2	100
LMFC23	4	4	100
LMFC24	2	3	66
LMFC25	2	2	100
LMFC26	3	4	75
LMFC28	2	3	66
LMFC30	5	5	100
LMFC32	2	3	66
LMFC36	2	3	66
LMFC40	1	2	50
MFC3	2	2	100
MFC4	3	4	75
MFC5	2	3	66
MFC7	5	5	100
FCUP016-6	2	3	66
FCUP038-6	3	3	100

Çizelge 4.1'in devamı

FCUP045-6	3	4	75
FCUP048-8	2	3	66
FCUP062-2	3	3	100
FCUP066-7	4	4	100
FCUP069-6	7	7	100
FRAC83	2	2	100
FRUB38	2	3	66
FRUB416	4	5	80
FRUB436	2	3	66
FİNSJ10	2	2	100
FSYC05	1	2	50
FSYC07	2	3	66
FSYC11	1	2	50
FM4-70	2	3	66
FRAC13	2	3	66
FİNSQ5	7	7	100
FİNSK9	2	3	66
FM4-15	6	6	100
FİNSA1	2	2	100
Toplam	113	138	81

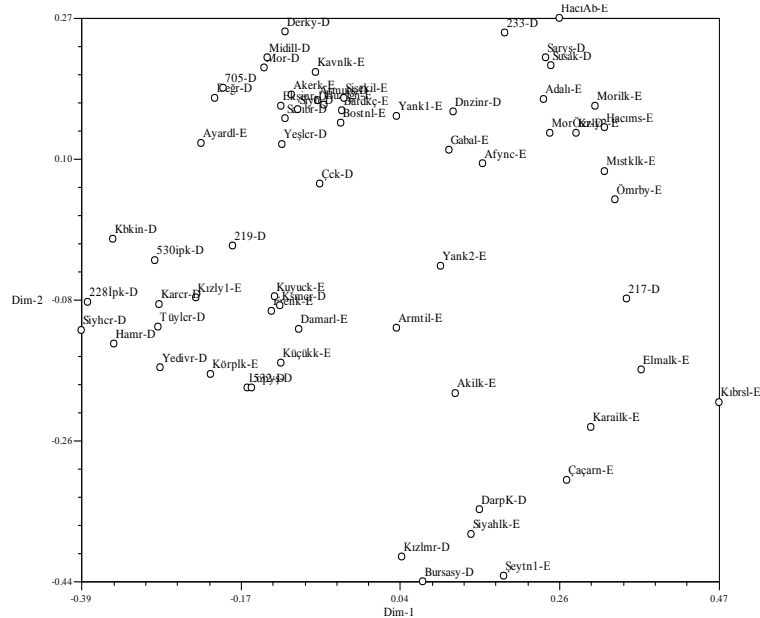


Şekil 4.6. İncir genotiplerinde SSR analizi sonucu elde edilen dendrogram

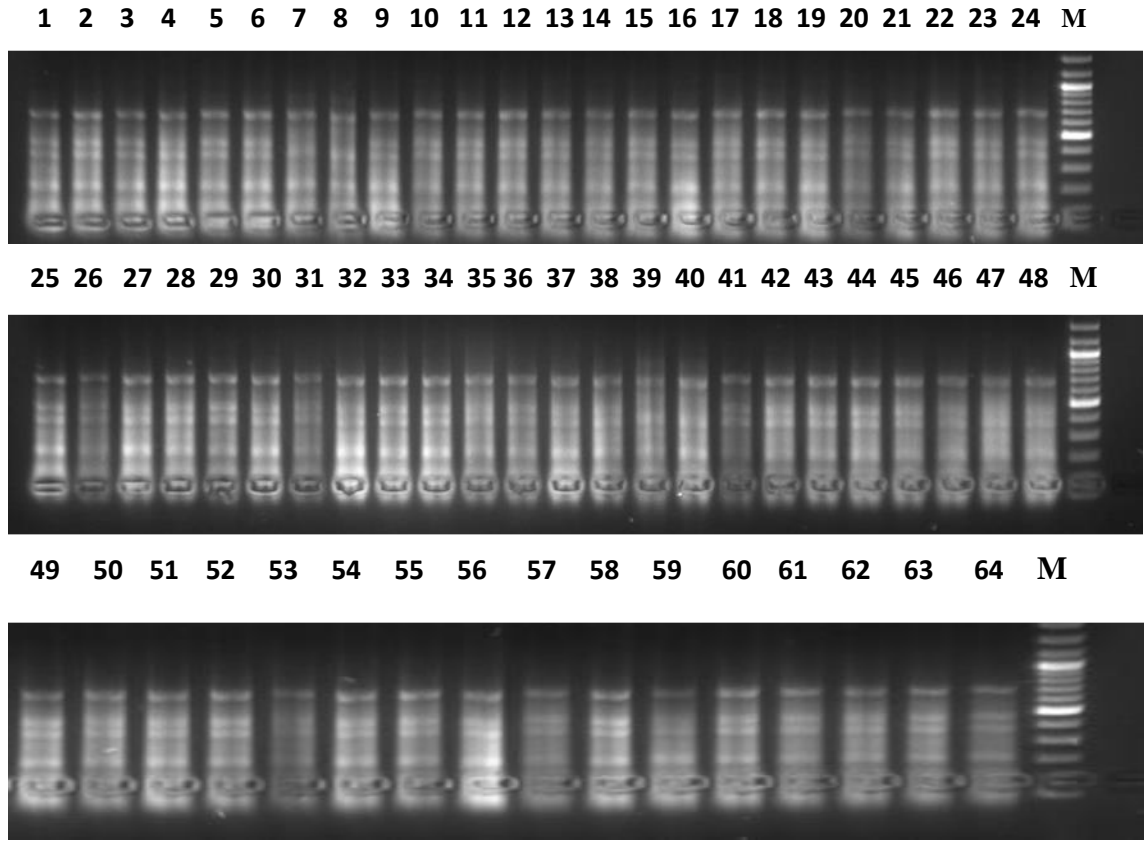
SSR verileri ile oluşturulan dendrogram kümesi ve benzerlik indeksi incelendiğinde benzerlik oranları 0.54-0.88 arasındadır ve Ham İncir ve Siyah İncir 0.88 oranında benzer bulunmuştur. SSR verilerinin analizi sonucu oluşturulan dendrogram iki ana gruba ayrılmış birinci grupta (B) 217 ve Ak İlek yer alırken ikinci grup (A) 6 alt gruba ayrılmıştır (Şekil 4.6). Alt gruplardan (A2.1.1.2) 228 İpek İncir, 530 İpek İncir ve Kabak İncir bir alt grup oluştururken, Armut İlek farklı bir alt grup (A1.2.2.1) oluşturmuştur. Ak İlek ve 217 diğer genotiplere en uzak genotip olarak belirlenmiştir. Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsünde iki farklı genotip olarak numaralandırılan 530 İpek ile 288 İpek incirleri ve Yanako1 ile Yanako2 SSR markırları ile elde edilen dendrogramda yüksek oranda benzer oldukları belirlenmiştir.

SSR markırları ile elde edilen Temel Bileşenler Analizine göre elde edilen iki boyutlu düzlem (Şekil 4.7) üzerinde genotiplerin dağılımına göre Kıbrıslı popülasyondan ayrılmıştır. Üç boyutlu düzlem üzerinde elde edilen grafik (Şekil 4.8) sonuçları ise dendrogram ve iki boyutlu düzlem ile elde edilen grafik ile paralellik göstermektedir. Temel bileşenler analizini oluşturan Eigen değerleri ve her değer açıkladığı varyans yüzdesi ve vektörlerin açıkladığı kümülatif varyans verilmiştir. İlk 3 Eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 20'sini açıklamıştır. Bu sonuca göre iki boyutlu grafik toplam varyasyonun sadece % 20'sini temsil etmektedir.

NTSYSpc (Ver 2.1) programında DICE (1945) metoduna göre elde edilen benzerlik matrisine göre SSR verilerinden elde edilen benzerlik matrisinde birbirine en yakın genotipler 8.76 benzerlik indeksi ile Ham İncir ve Siyah İncir ikinci en yakın genotipler 8.74 benzerlik indeksi ile 530 İpek İnciri ve 228 İpek İnciri olarak belirlenmiştir. En uzak genotipler ise 3.93 benzerlik indeksi ile 228 İpek İnciri ve Kıbrıslı belirlenmiştir ikinciri en uzak genotipler 4.23 benzerlik indeksi ile 217 ile Yediveren olarak belirlenmiştir.



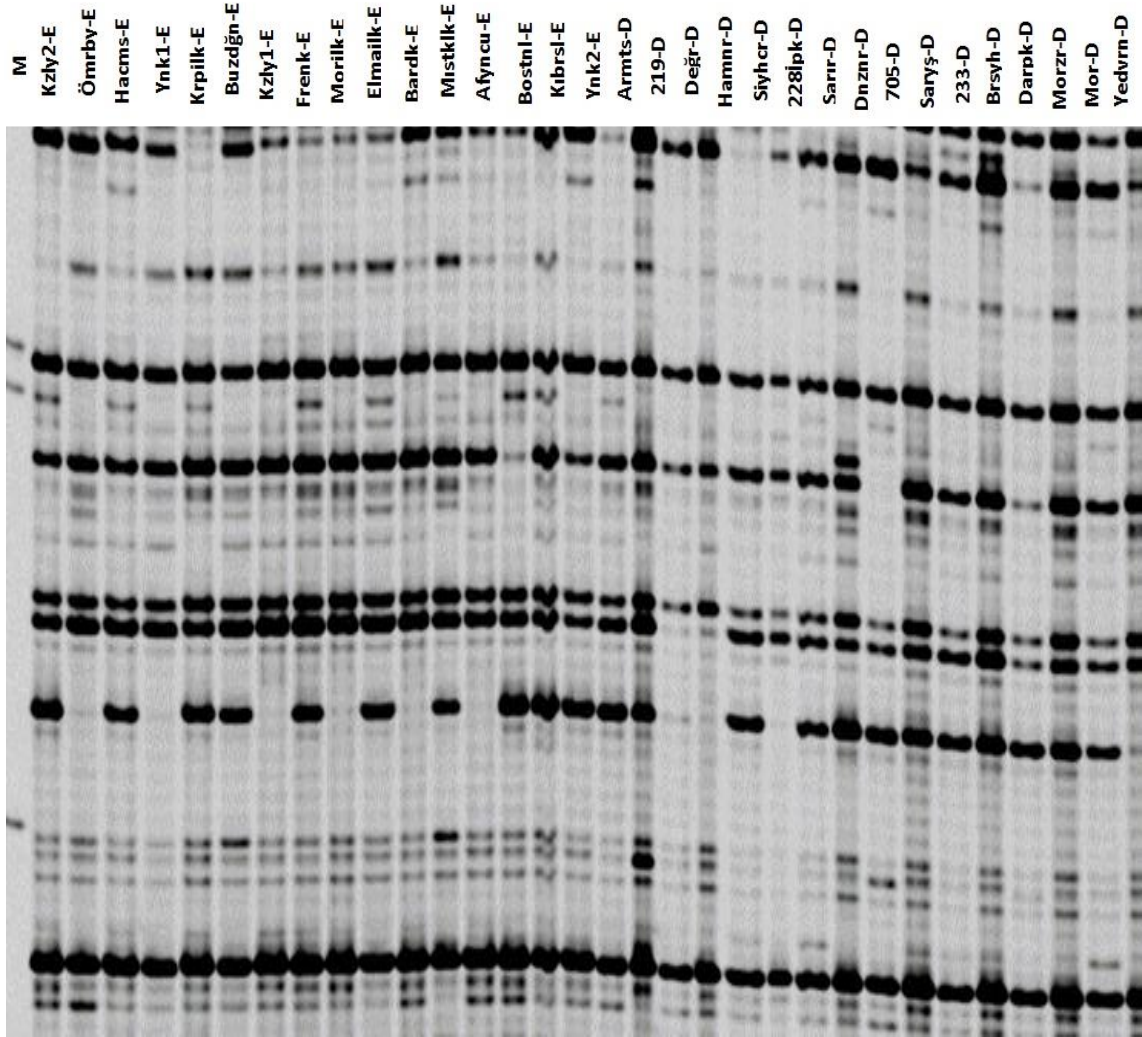
Şekil 4.7. SSR verileriyle yapılan temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 2 boyutlu grafik



Şekil 4.9. Ön seçici PZR ürünlerinin % 1.5 agaroz jelde görüntüsü (M:markır, genotip sıralaması Çizelge 3.1’de verilmiştir)

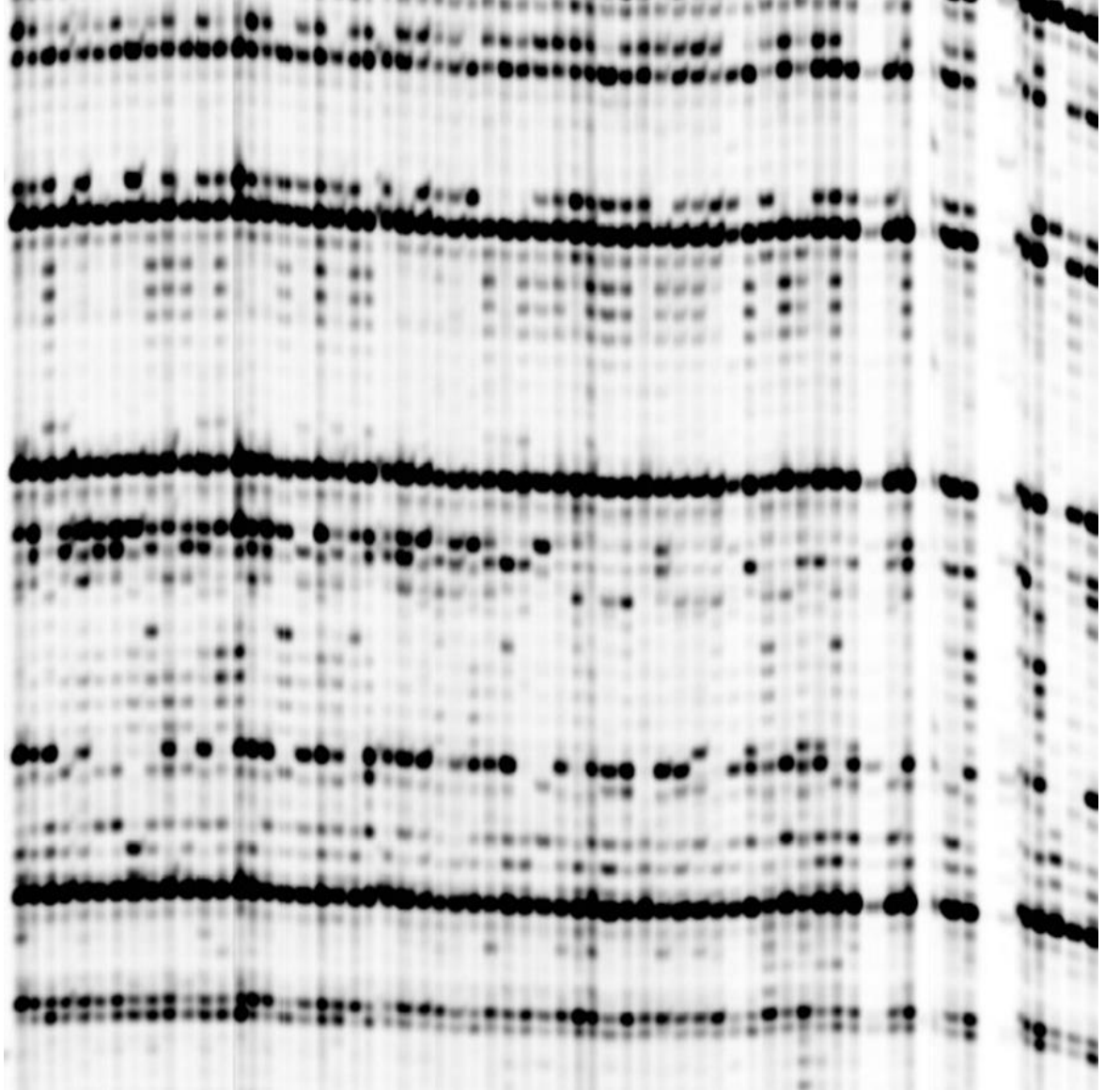
4.3.2. AFLP seçici PZR analizleri

Seçici PZR ürünleri formamid yükleme tamponu içerisinde yüksek sıcaklıkta denatüre edilerek poliakrilamit jele yüklenmiştir.

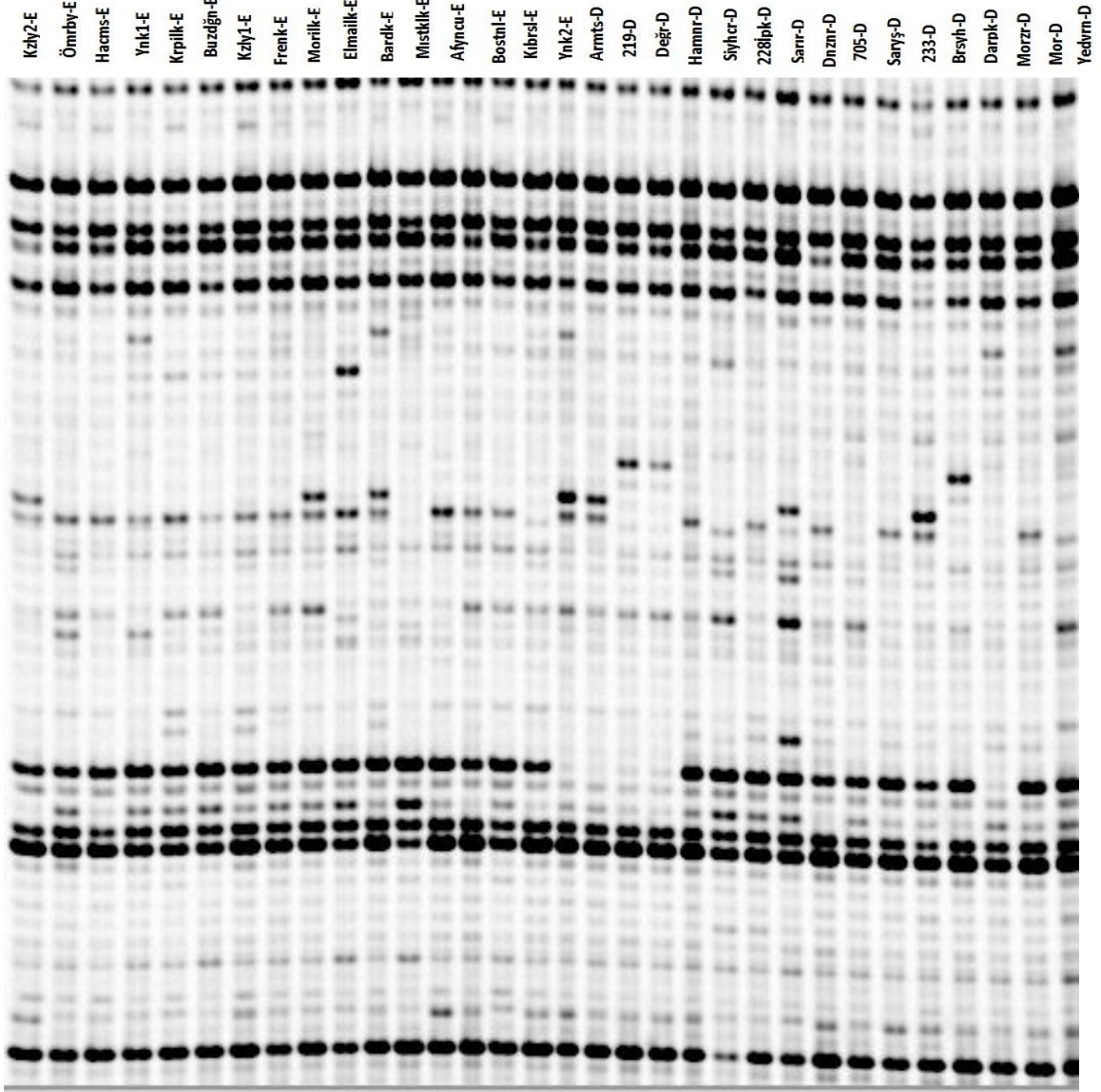


Şekil 4.10. İncir genotiplerinin EcoTGG-MseAGG primer kombinasyonu ile seçici PZR bant profili

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61



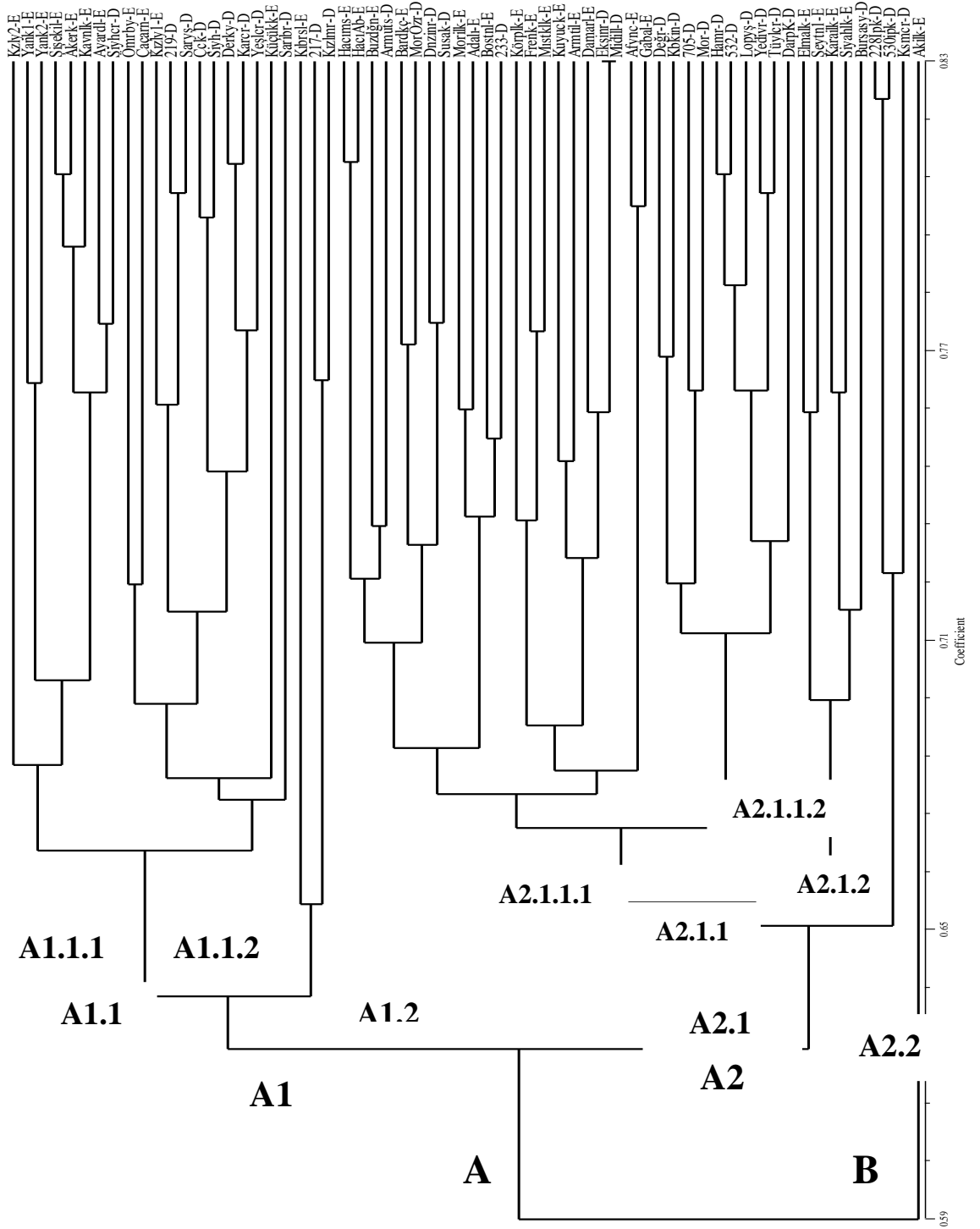
Şekil 4.11. İncir genotiplerinin Eco AAG-Mse CCC primer kombinasyonu ile seçici PZR bant profili (Genotip sıralaması Çizelge 3.1’de verilmiştir)



Şekil 4.12. İncir genotiplerinin EcoCGG-MseGCG primer kombinasyonu ile seçici PZR bant profili (Genotip sıralaması Çizelge 3.1’de verilmiştir)

Çizelge 4.2. AFLP primer kombinasyonlarına ait toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve % polimorfizm değerleri

Primer Kombinasyonu	Polimorfik Bant Sayısı	Toplam Bant Sayısı	Polimorfizm Yüzdesi
EcoTAA-MseCAA	39	99	39
EcoTCC-MseCCC	25	60	41
EcoCGG-MseGCG	56	147	38
EcoCCC-MseGAA	20	90	22
EcoATC-MseCTT	24	64	37
EcoAGG-MseCAA	95	149	63
EcoAGG-MseCTT	34	55	61
EcoCGG-MseGTT	37	53	69
EcoAAG-MseCCC	28	100	28
EcoAAA-MseTAA	36	88	40
Toplam	374	905	41

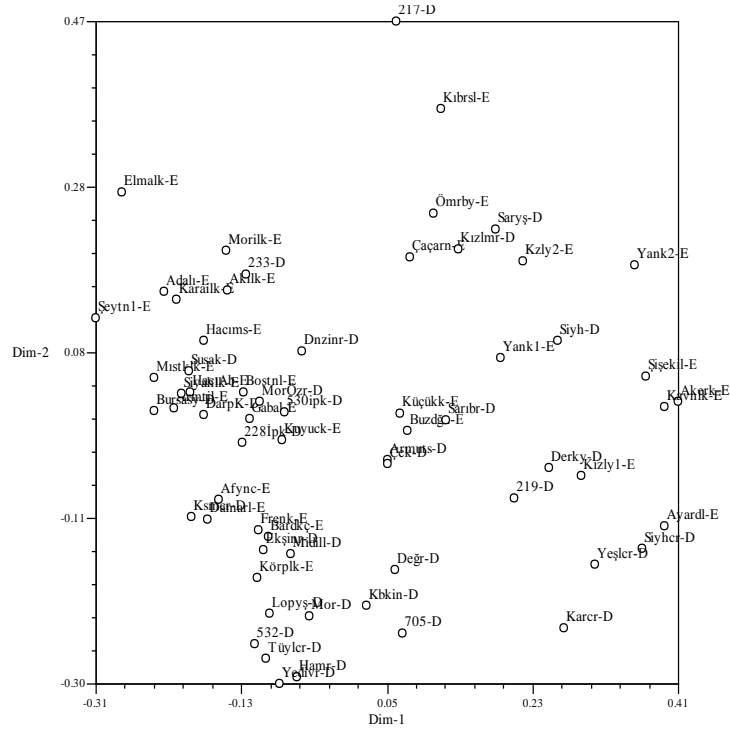


Şekil 4.13. AFLP analizleri sonucu elde edilen dendrogram

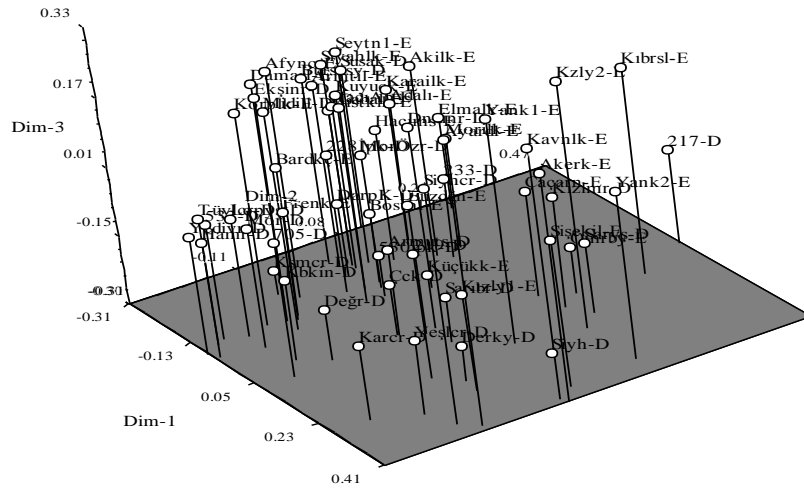
AFLP analizleri sonucunda DICE benzerlik indeks değeri 0.59 ile 0.83 değerleri arasında değişmiştir. Ekşi İncir ve Midilli genotipleri 0.83 oranında benzer bulunmuştur. Dendrograma göre incir genotipleri 2 ana gruba ayrılmıştır (Şekil 4.13). İkinci grupta (B) sadece Ak İlek yer alırken birinci grup (A) ise birçok alt gruba ayrılmıştır. Birinci gruptaki genotipler genel olarak 8 alt grupta toplanmışlar 1. Alt grupta 8 dişi ve 8 erkek genotip yer alırken 2. Alt grupta 11 dişi 9 erkek genotip yer almıştır. 2. Grup ise 3 alt gruba ayrılmış 1. Alt grup 5 erkek ve 1 dişi genotipten 2. Alt grup 9 erkek ve 2 dişi genotipten oluşmuştur. Bursa Siyahı ve Susak ise 3. Alt grubu oluşturmuşlardır. Kızıl Mor ve 217 0.85 oranında benzer bulunurken herhangi bir alt gruba dahil olmamış aynı şekilde Yeşil İncir ve Hacı Mestan herhangi bir alt gruba dahil olmamıştır. Bu gruplarda birçok alt gruplara ayrılmıştır. 0.70 benzerlik indeks değerinde genotipler AFLP verilerinden elde edilen benzerlik matrisinde birbirine en yakın genotipler 0.83 benzerlik indeksi ile Kızıl Mor ve 217 ikinci en yakın genotipler ise 0.82 benzerlik indeksi ile 530 İpek İnciri ve 228 İpek İnciri olarak belirlenmiştir. En uzak genotipler ise 0.59 benzerlik indeksi ile Yeşil İncir ve Susak ile Yeşil İncir ve Armut İnciri olarak belirlenmiştir.

AFLP markırları ile oluşturulan Temel Bileşenler Analizine göre elde edilen iki boyutlu düzlem (Şekil 4.14) üzerinde genotiplerin dağılımına göre 217 popülasyondan ayrılmıştır. Üç boyutlu düzlem üzerinde elde edilen grafik sonuçları ise dendrogram ve iki boyutlu düzlem ile elde edilen grafik ile paralellik göstermektedir (Şekil 4.15). Temel bileşenler analizini oluşturan Eigen değerleri ve her değer açıkladığı varyans yüzdesi ve vektörlerin açıkladığı kümülatif varyans verilmiştir. İlk 3 Eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 31'ini açıklamıştır. Bu sonuca göre iki boyutlu grafik toplam varyasyonun sadece % 31'ini temsil etmektedir.

NTSYSpc (Ver 2.1) programında DICE (1945) metoduna göre elde edilen benzerlik matrisine göre AFLP verilerinden elde edilen benzerlik matrisinde birbirine en yakın genotipler 8.28 benzerlik indeksi ile Ekşi İncir ve Midilli olmuştur. En uzak genotipler ise 4.89 benzerlik indeksi ile Kasım inciri ve Yanako2 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.14. AFLP verileriyle yapılan temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 2 boyutlu grafik

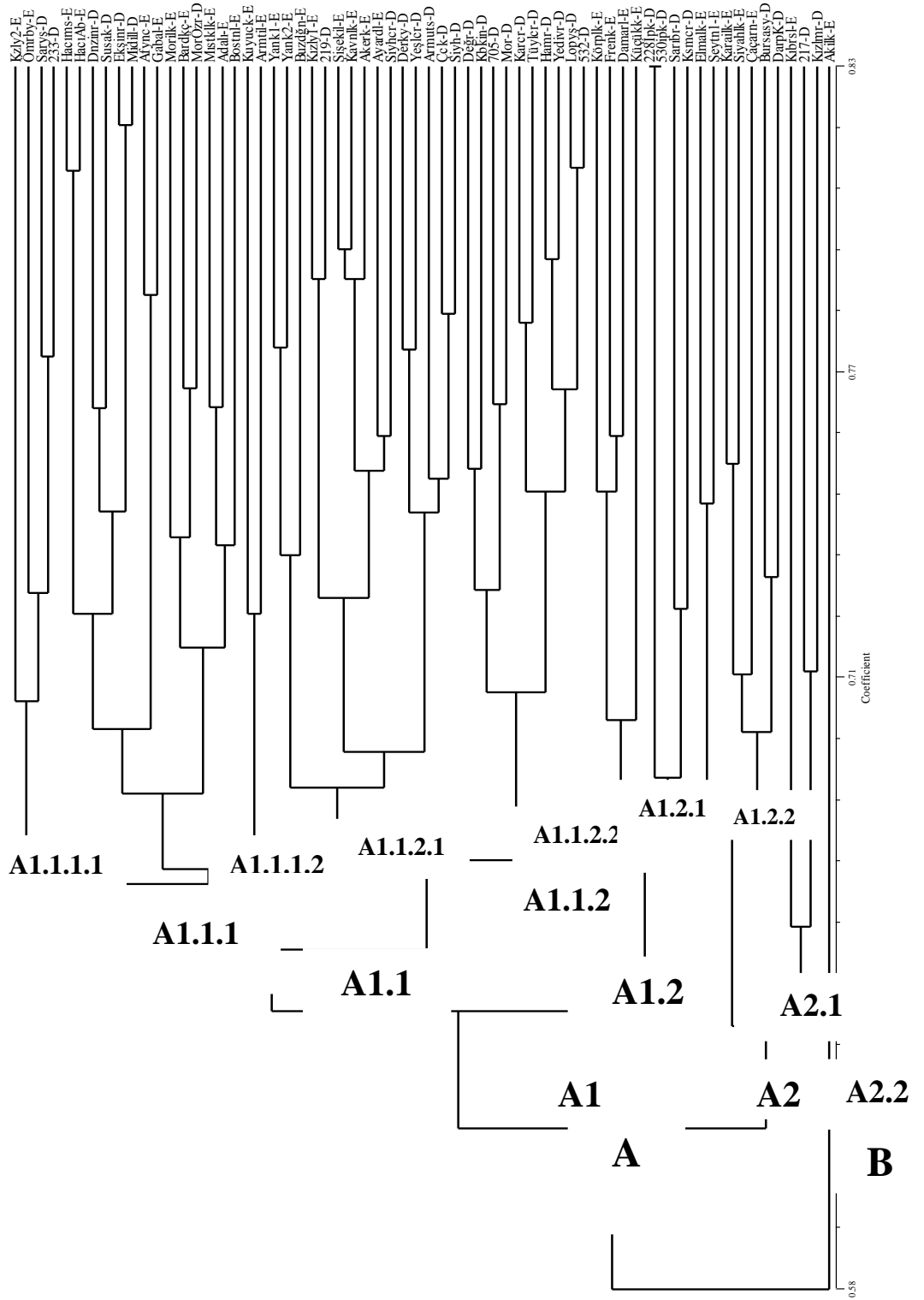


Şekil 4.15. AFLP verileriyle yapılan temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 3 boyutlu grafik

4.4. SSR ve AFLP Analizleri Sonucu Elde Edilen Verilerin Birlikte Değerlendirilmesi

Bu araştırmada Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü'nde bulunan Türkiye'nin çeşitli bölgelerine ait 64 (32 erkek, 32 dişi) incir genotipinin akrabalık ilişkileri SSR ve AFLP primerleri kullanılarak araştırılmıştır. 42 SSR primer çifti ve 10 AFLP primer kombinasyonu kullanılarak 487 polimorfik bant üretilmiştir. Primer başına düşen toplam allel sayısı 20, polimorfik bant sayısı ise 9.36'dır. Bant sayıları 1 ile 149 polimorfik bant sayıları ise 1 ile 95 arasında değişmiştir. Toplam allel sayısı bakımından Eco AGG-MseCAA primer kombinasyonu en fazla alleli (149), en az alleli ise LMFC12 (1) primer çifti üretmiştir.

Baraket vd. (2010)'nin 38 incir genotipi üzerinde yaptığı benzer bir çalışmada ise 6 AFLP primer kombinasyonundan elde edilen 351 bantdan 342 adeti polimorfik olarak bulunmuştur. Altı SSR primer çiftinden elde edilen 57 bandın tamamı polimorfiktir. AFLP analizinde kullanılan primerlerden hem toplam bant sayısı hem de polimorfik bant sayısı bakımından en fazla bant EcoAAC-MseCTA primer kombinasyonunda (72 banttan 672si polimorfik), en az sayıda bandı EcoACA-MseCAG primer kombinasyonunda (42 bantdan 40 adeti polimorfik) görülmüştür. SSR analizinde ise polimorfizm oranı % 100'dür. En fazla bant sayısını MFC8 primer çifti (14 adet) en az bant sayısını MFC7 primeri (6) vermiştir.



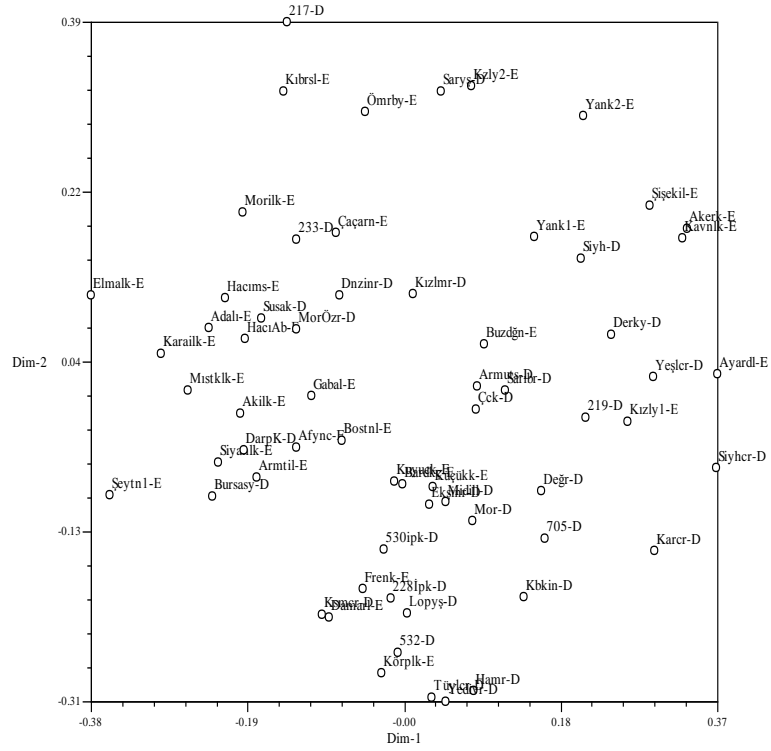
Şekil 4.16. AFLP ve SSR analizlerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen dendrogram

SSR ve AFLP verilerinin bir arada analizleri sonucunda DICE benzerlik indeks değerleri 0.58 ile 0.83 arasında değişmiştir. Şekil 4.16'da verilen dendrogram iki ana gruba (A ve B) ayrılmıştır. İkinci grup (B) Bursa Siyahı, Susak, 217 ve Kızıl Mor genotiplerinden oluşmaktadır. Birinci grup ise (A) iki büyük alt gruba ayrılmıştır, 1. alt grupta (A1) 25 erkek ve 28 dişi birey birçok alt grup altında toplanırken 2. alt grup ise (A2) 7 erkek, 4 dişi birey bulundurmaktadır. Bazı alt gruplarda erkek genotipler bir arada toplanırken (Yanako1-E, Yanako2-E, Buzdoğan Kaba-E, Armut İlek-E, Kuyucak-E, Adalı-E, Bostanlı-E, Mıstık İlek-E) A1.1.1.1 alt grubunda olduğu gibi bazı alt gruplarda hem dişi hem erkek genotipler (Kızılay2-E, Ömerbeyli Kaba-E, Sarı Yemiş-D, 233-D) bir arada yer almıştır.

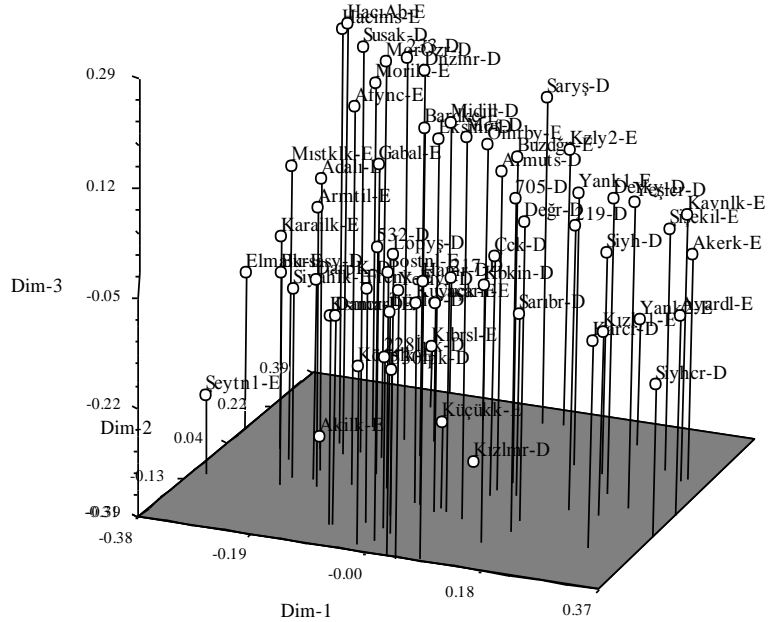
SSR ve AFLP verilerinin bir arada analiz edilmesiyle elde edilen benzerlik matrisinde birbirlerine genetik olarak en yakın genotiplerin 8.33 benzerlik indeks değeriyle 530 İpek ve 228 İpek inciri olduğu en uzak genotiplerin ise 4.92 benzerlik indeks değeri ile Kıbrıslı ve Ham İncir, Ak İlek ve Yeşil İncir olarak belirlenmiştir. Farklı markır sistemleri DNA'da farklı bölgelere bağlandığından dendogramlar arasında farklılıklar oluşmuştur.

Temel Bileşenler Analizine göre elde edilen iki boyutlu düzlem (Şekil 4.17) üzerinde genotiplerin dağılımına göre 217 ve Siyah incir popülasyondan ayrılmıştır. Üç boyutlu düzlem üzerinde elde edilen grafik (Şekil 4.18) sonuçları ise dendrogram ve iki boyutlu düzlem ile elde edilen grafik ile paralellik göstermektedir. Temel bileşenler analizini oluşturan Eigen değerleri ve her değer açıkladığı varyans yüzdesi ve vektörlerin açıkladığı kümülatif varyans verilmiştir. İlk 3 Eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 32'sini açıklamıştır. Bu sonuca göre iki boyutlu grafik toplam varyasyonun sadece % 32'sini temsil etmektedir.

SSR ve AFLP markırları similarity matrisleri temel alınıp Mantel testi (Mantel, 1967) kullanılarak karşılaştırılarak aralarındaki korelasyon tespit edilmiştir. SSR ve AFLP matrisleri arasında yüksek korelasyon bulunmuştur ($r=0.582$). Biswas vd. (2011)'nin farklı narenciye genotipleri üzerinde yaptığı çalışmada AFLP ve SSR korelasyon değeri düşüktür ($r=0.14$). Garcia vd. (2004) ise mısırdaki çalışmada AFLP ile SSR arasında çok yüksek bir korelasyon bulmuşlardır ($r=0.78$). Lapointe ve Legendre (1992) 0.5'den büyük bir korelasyon değerinin taksonomik birimlerin sayısı 15'i aşarsa, 0.01 olasılık seviyesinde istatistiksel olarak önemli olacağını belirtmiştir. Hem SSR hem de AFLP görüntülerinden elde edilen verilere göre oluşturulan dendogramlarda genotipler coğrafik orijinlerine göre herhangi bir ayrışma görülmemiştir.



Şekil 4.17. AFLP ve SSR verilerinin birlikte değerlendirilmesi ile elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 2 boyutlu grafik

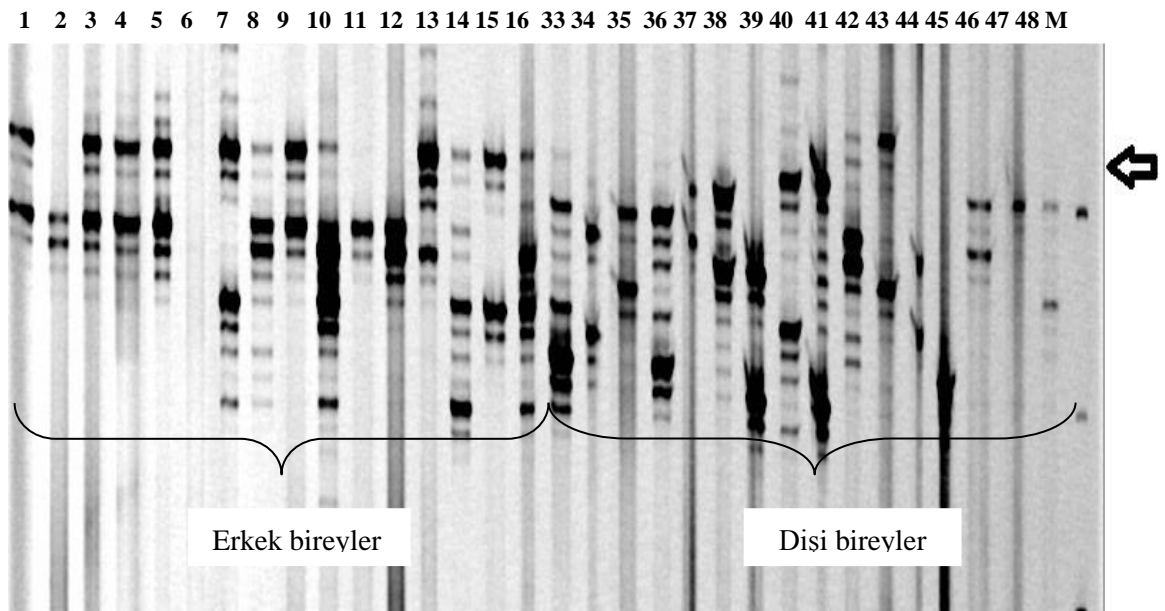


Şekil 4.18. AFLP ve SSR verilerinin birlikte değerlendirilmesi ile elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan 3 boyutlu grafik

4.5. Cinsiyete Özgü Markır Geliştirme Çalışmaları

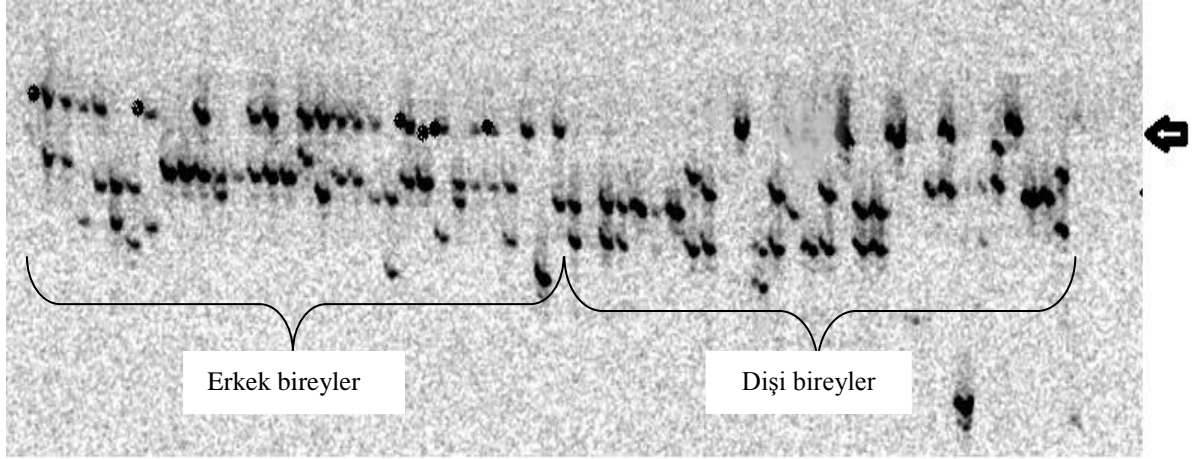
Çalışmada kullanılan 42 SSR primeri ve 10 AFLP primer kombinasyonu ile elde edilen markırlar erkek ve dişi genotipleri ayırt edememiştir. Umut var görülen FM4-15 SSR primeri ve EcoCGG-MseGCG AFLP primer kombinasyonu, 32 erkek ve 32 dişi toplam 64 genotip tekrar DNA izolasyonu yapılmış ve PZR işlemleri tekrar edilmiştir. Elmeer ve Mattat (2012), hurmada 14 SSR primeri ile 117 adet dişi ve 12 adet erkek genotip ile yürüttükleri çalışmada 254 SSR lokusu tespit etmişlerdir bunlardan 22 tanesi 9 adet erkek genotipi dişilerden ayırmıştır (% 75). Al-Ameri vd. (2016), 200 ISSR primeri ile yürüttükleri çalışmada 10 erkek ve 10 dişi hurma çeşidi kullanmışlar ve 390 bç büyüklüğünde bir bant sadece dişi bitkilerde görülürken 380 bç büyüklüğünde bir diğer bant sadece erkek bitkilerde görülmüştür. Atak vd. (2012), 5 RAPD, 3 SSR ve 1 SCAR primeri kullanarak 965 kivi fidesinde yürüttükleri çalışmada dişi/erkek bireylere özgü bir markır elde edilemediğini ancak SCAR (*Smy1*) markırının umut var sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir. Kafkas vd. (2001), Antepfıstığında 312 RAPD primeri kullanarak dişi/erkek spesifik markır geliştirmeye çalışmışlar ve cinsiyet ile ilişkili buldukları bantların karşı cinsiyete sahip bitkilerde de az da olsa görülmesi markırın cinsiyet belirleyici lokusa bağlı olduğu ama yeterince yakın olmadığı rapor etmişlerdir.

Şekil 4.19'da verilen poliakrilamid jel görüntüsü erkek ve dişi bireyler arasındaki farklılık göz önüne alınarak incelendiğinde FM4-15 primeri tekrarlanmaya değer görülmüştür.



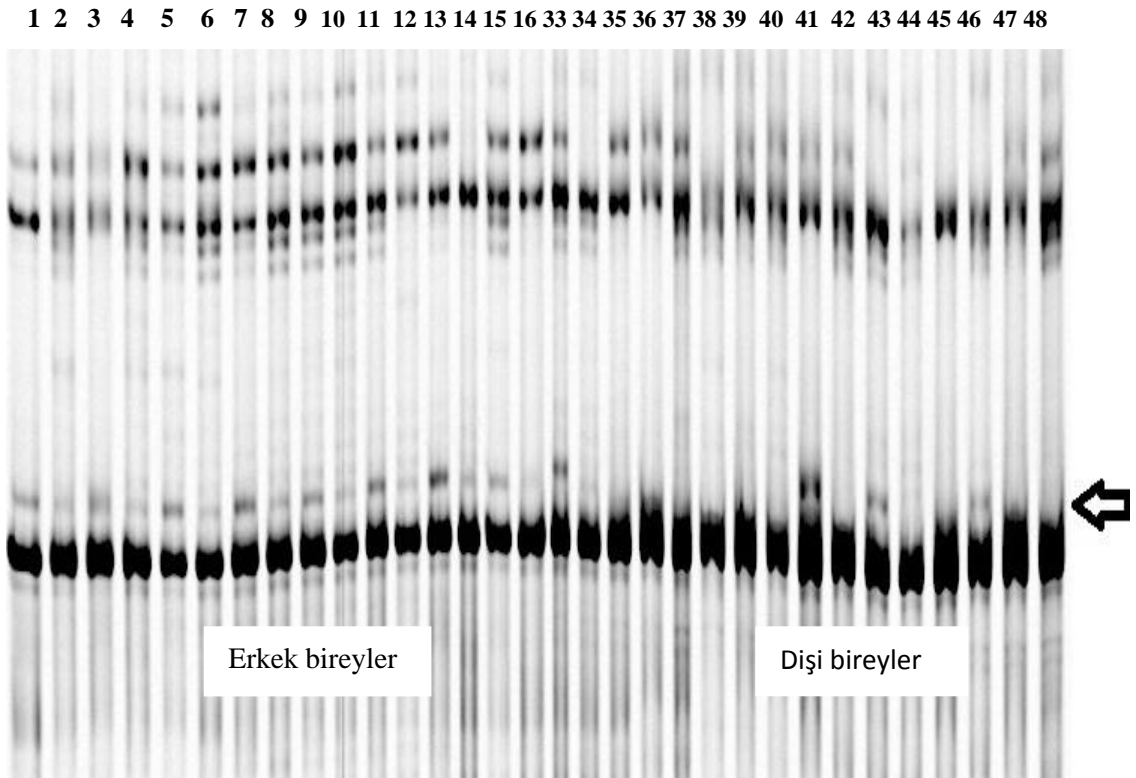
Şekil 4.19. SSR primeri FM4-15 ile elde edilen bant profili (Genotip sıralaması Çizelge 3.1'de verilmiştir)

DNA izolasyonu tekrar yapılarak FM4-15 primeri ile tekrar PZR kurulumu yapıldığında Şekil 4.20'deki görüntü elde edilmiştir. 32 erkek bireyden 24'ünde (% 75) görülürken 32 dişi bireyin sadece beş tanesinde 270 bç'de bant görülmüştür.



Şekil 4.20. SSR primeri FM4- 15'in 64 genotipin tümüyle elde edilen bant profili

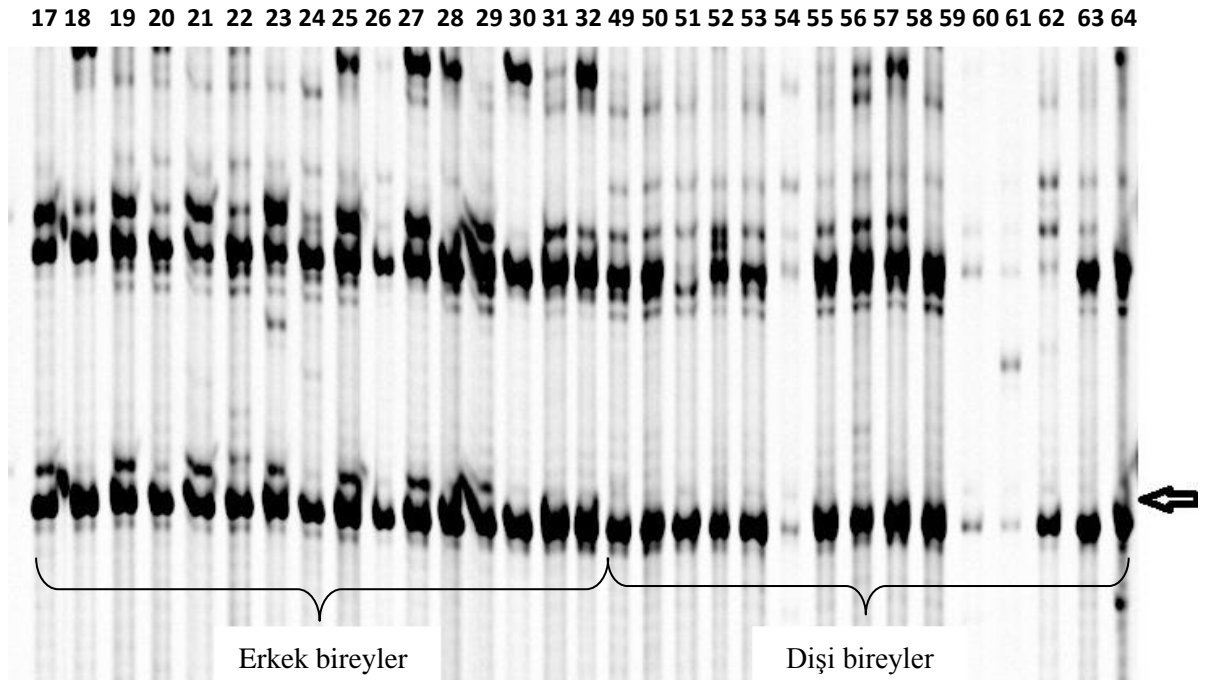
AFLP EcoCGG-MseGCG primer kombinasyonuna ait jel görüntüleri incelendiğinde tekrarlanmaya değer olarak görülmüştür (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. AFLP EcoCGG-MseGCG primer kombinasyonundan elde edilen bant profili (Genotip sıralaması Çizelge 3.1'de verilmiştir)

64 bireyin yeni izole edilen DNA'ları ile tekrar kesim ve ön seçici, seçici PZR işlemleri tekrarlanarak yükleme yapıldığında 32 erkek bireyden 27'sinde (% 84.3) 32 dişi bireyde ise 4 tanesinde 240 bç'de bant görülmüştür. İkinci PZR işlemi yapıldığında

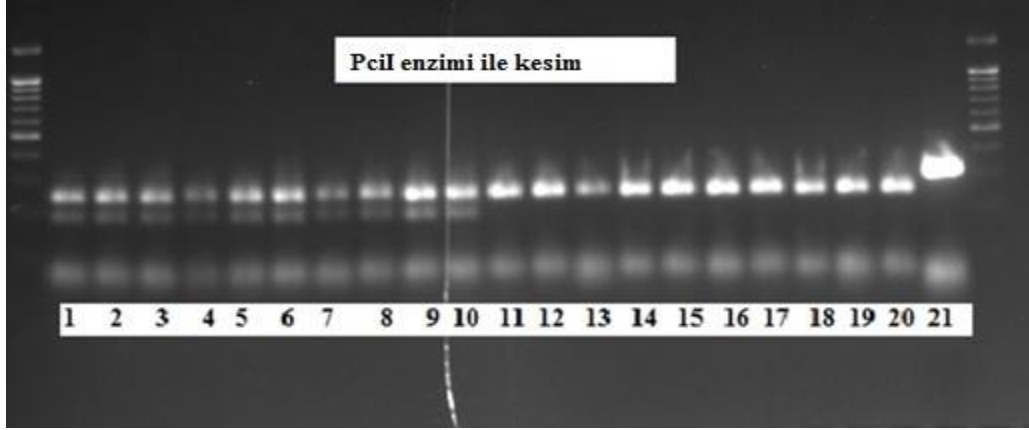
AFLP bant profillerinde aynı bant profili elde edilmiştir bu da AFLP ‘nin tekrarlanabilir bir yöntem olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.22. Tekrarlanan AFLP EcoCGG-MseGCG primer kombinasyonunun bant profili (Genotip sıralaması Çizelge 3.1’de verilmiştir)

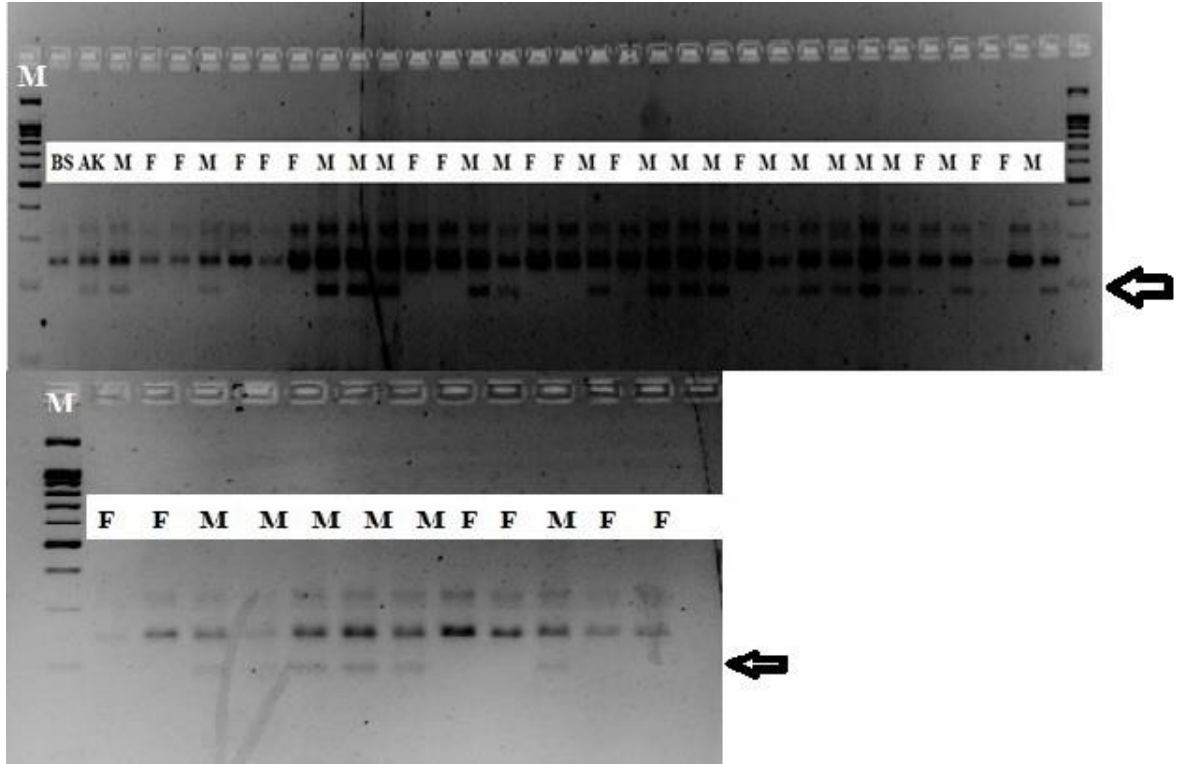
4.6. CAPS Markırı (*RANI*) ile Genotiplerin Taranması

Dişi ve erkek genotiplerinin belirlenmesi amacıyla yakın tarihte Mori vd. (2017) tarafından geliştirilen FigFM primeri ile PZR yapılmıştır. PZR ürünlerinin *PciI* enzimi ile kesimi sonucu erkeklere özgü bant görülmüştür. Ancak bazı dişi genotiplerde beklenen bant profili elde edilememiştir. Bu genotiplerin Ağustos ayında tekrar fenolojik gözlemleri yapılarak PZR tekrar edilmiştir. PZR ürünleri *PciI* enzimi ile kesilerek jelde yürütülüp jel resimleri incelendiğinde de bu genotiplerde de fenotipik gözlemlerle uyumlu olarak dişi bant profilinin gözlemlendiği belirlenmiştir. Böylece yapılan moleküler testleme yöntemi ile dişi ve erkek genotipler başarı ile ayrıştırılabilmektedir. Yapılan kesim analizleri sonucunda erkek ve dişi bireylere ait farklı bant profili Şekil 4.23’de verilmiştir.



Şekil 4.23. *PciI* enzimi ile kesim sonuçları, 1-10 numaraları arası erkek bireyler 11-20 numaraları arası dişi bireyler, 21. Örnek ise kesilmemiş PZR ürünü

CAPS markırının MAS amaçlı kullanımının test edilmesi amacıyla 46 F1 bitkisi, dişi ebeveyn (Bursa Siyahı) ve erkek ebeveyn (Ak İlek) ile beraber moleküler analize tabi tutulmuştur. Yapılan testleme sonucu F1 bitkilerinin 23 tanesinin dişi 23 tanesinin erkek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.24). Storey (1975) ticari incirlerde yapılan melezlemeler sonucu elde edilen popülasyonda dişi erkek dağılımının 1:1 oranında olduğunu belirtmektedir. Testolin vd. (1995) dioik yapıya sahip olan *Actinidia* cinsinde ıslah popülasyonunun %50'sinin erkek bireylerden oluştuğunu belirtmiştir. F1 bireylerinde elde ettiğimiz dişi/erkek oranı bu bildirimle paralellik göstermektedir. Gençlik kısırlığı uzun süren meyve türlerinde büyük bir dezavantaj olan cinsiyet ayrımının erken dönemlerde yapılamaması bu tür meyvelerde daha sınırlı ıslah çalışmaları yapılmasına ya da yürütülen ıslah programlarının uzun sürmesine neden olmaktadır. Incirde cinsiyet ayrımını fide döneminde yapılmasına olanak sağlayacak olan Mori vd (2017) tarafından geliştirilen CAPS markırı farklı genetik alt yapıya sahip F1 bireylerinde test edilerek bu çalışma markırın MAS amaçlı kullanımının validasyonu yapılmıştır.



Şekil 4.24. CAPS markırı ile taranan F1 bireylerine ait agaroz jel görüntüsü (M: markır, F:dişi, M:erkek bireyler)

5. SONUÇLAR

Tez çalışması Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü'nde bulunan ülkemiz incir genetik kaynaklarından seçilen 32 erkek ve 32 dişi genotipin SSR ve AFLP primerleri ile moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Genetik kaynakların moleküler karakterizasyonu ıslah çalışmalarının başlangıç aşamasında doğru genotiplerin seçilmesi ve duplikasyonların önlenmesini sağlamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda farklı markır sistemleri ile karakterizasyon çalışması yürütülmüş ve sınırlı sayıda SSR lokusu kullanılmıştır.

5.1. Genetik Çeşitlilik Çalışmaları

Çalışmada 42 SSR primer çifti ve 10 AFLP primer kombinasyonu ile 64 incir genotipi taranmıştır. SSR analizlerinde 113 adet polimorfik lokus, AFLP analizlerinde 374 adet polimorfik allel elde edilmiştir. AFLP analizlerinde elde edilen toplam bant sayısı bakımından en fazla bantı EcoAGG-MseCAA primer kombinasyonu (149 adet) üretirken en az sayıda bantı EcoCGG-MseGTT primer kombinasyonu (53 adet) üretilmiştir, SSR analizlerinde ise en fazla bant sayısı Fcup069-6 ve FinsQ5 lokuslarından (7 adet) en az bant sayısı ise LMFC12 (1 adet) lokusundan üretilmiştir. Polimorfik bant sayılarına bakıldığında AFLP analizinde en fazla bant sayısı EcoAGG-MseCAA primer kombinasyonundan (95 adet) en az bant sayısı ise EcoTGC-MseCAA primer kombinasyonundan (19 adet) elde edilmiştir.

Yapılan laboratuvar çalışmaları sonucunda elde edilen SSR ve AFLP sonuçları önce ayrı ayrı değerlendirilmiş daha sonra her iki markır sistemi ile elde edilen verileri birleştirilerek analizler tekrar edilmiştir. Her üç grup analiz sonuçları da birbirini desteklerken genotiplerin genetik olarak yakınlıklarının belirlenmesinde SSR markırlarının daha belirleyici olduğu görülmüştür. Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsünde iki farklı genotip olarak numaralandırılan 530 İpek İnciri ve 288 İpek İncirinin SSR markırları ile elde edilen dendrogramda 0.86 oranında benzer oldukları Yanako1 ve Yanoka2 incir genotiplerinin ise SSR 0.82 oranında benzer oldukları belirlenmiştir. NTSYS-pc (ver 2.1) programında DICE (1945) metoduna göre elde edilen benzerlik matrisinin UPGMA gruplandırılması ile oluşturulan dendrograma göre 32 erkek ve 32 dişi genotip kısmen de olsa aynı grup altında toplanmıştır. SSR ve AFLP matriksleri arasında düşük korelasyon bulunmuştur ($r=0.582$).

5.2. Cinsiyete Bağlı Markır Geliştirme Çalışmaları

Kivi, papaya, Antep fıstığı, hurma gibi bazı meyve türlerinde ticari öneme sahip ürün sadece dişi bitkiler tarafından üretilir. Bu tür ürünlerde cinsiyet tespitinin bitkinin erken gelişim safhalarında tespit edilmesi ekonomik açıdan önemlidir (Elmeer ve Mattat 2012). Aynı şekilde yürütülen ıslah çalışmalarında elde edilen fidelerin cinsiyetinin erken dönemde teşhis edilmesi çalışma için ayrılan alandan, iş gücünden ve maliyetten tasarruf sağlayacaktır. İncir ülkemizin önemli bir ihracat ürünü olup, ticari öneme sahip meyveler sadece dişi ağaçlarda üretilmektedir.

Dişi ve erkek genotiplere özgü markır geliştirme çalışmalarında toplam 574 SSR ve AFLP markırı elde edilmesine rağmen sadece erkek ya da sadece dişi genotiplerde polimorfik olan bir bant elde edilememiştir. Erkek genotiplerin çoğunluğunda

görülürken dişilerin sadece birkaç tanesinde gözlemlenen bantların tekrarlanabilirliği ve güvenilirliğini belirlemek amacıyla 32 adet erkek ve 32 adet dişi genotipten tekrar DNA izolasyonu yapılarak umut var kombinasyonlar tekrar edilmiştir.

Çalışmamızın son aşamasında Mori vd. (2017) tarafından yayınlanan CAPS markırı çalışmamıza dahil edilerek ülkemizde bulunan erkek ve dişi genotiplerde markırın (*RANI*) validasyonu yapılarak ilk defa ülkemiz incir genetik kaynaklarında bulunan erkek ve dişi genotipler moleküler tekniklerle tanımlanmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Ahmed, S. Dawson D. A. Compton, S. Gilmartin, P. 2007. Characterization of microsatellite loci in the African fig *Ficus sycomorus* L. (Moraceae). *Molecular Ecology Notes*, 7: 1175–1177.
- Aksu, M. 2015. Moleküler markörlerin meyve ıslahında kullanım alanları. *Fruit Science*, 2: 49-59.
- Al-ameri, A.A. Al-qurany, F. Gaafar, A.Z. Khan, S. Nadeem, M. 2016. Male specific gne expression in dioecious *Phoenix dactylifera* (date palm) tree at flowering stage. *Pakistan Journal of Botany*, 48: 131-135.
- Agarwal, M. Shrivastava, N. Padh, H. 2010. Development of sex-linked AFLP markers in *Simmondsia chinensis*. *Plant Breeding*, 130: 114-116.
- Aradhya, M.K. Stover, E. Velasco, D. Koehmstedt, A. 2010. Genetic structure and diffrentiation in cultivated fig (*Fcus carica* L.). *Genetica*,138: 681-694.
- Arslan, S. 2015. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü <http://www.tepge.gov.tr/Dosyalar/Yayınlar/> [14.06.2017]
- Atak, A. Aydın, B. Kahraman, K.A. 2012. Sex determination of kiwifruit seedlings with molecular markers. The Second International Symposium on Biotechnology of Fruit Species., At Nelson/New Zealand, Volume: Acta Horticulturae (ISHS) 1048: 197-207.
- Bandelj, D. Javomik, B. Jakse, J. 2007. Development of microsatellite markers in the common fig, *Ficus carica* L. *Mol Ecol Notes*, 7: 1311-1314.
- Baraket, G. Chatti, K. Saddoud, O. Abdelkarim, A.B. Mars, M. Trifi, M. Hannachi, A.S. 2011. Comparative assessment of SSR and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of fig, *Ficus carica* L. genetic resources in Tunisia. *Plant Molecular Biology Reporter*, 29: 171–184.
- Bilgin, O. Korkut, K.Z. 2005. Bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*) çeşit ve hatların genetik uzaklıklarının belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 2(3).
- Biswas, M.K. Chai, L. Amar, M.H. Zhang, X. Deng, X. 2011. Comparative analysis of genetic diversity in Citrus germplasm collection using AFLP, SSAP, SAMPL and SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 129: 798-803.
- Condit, I.J. 1969. Ficus: The exotic species. University of California Division of Agricultural Sciences, California, 363 s.
- Cabrita, L.F. AKSOY, U. HEPAKSOY, S. LEİTAO, J.M. 2001. Suitability of isozyme, RAPD and AFLP markers to assess genetic differences and relatedness among Fig (*Ficus carica* L.) clones. *Scientia Horticultura*, 87: 261-273.
- Çalışkan, O. 2012. türkiye'de sofralık incir yetiştiriciliğinin mevcut durumu ve geleceği. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26: 71-87.
- Çalışkan, O. Polat A.A. 2012. Morphological diversity among fig (*Ficus carica* L.) accessions sampled from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Turkish Journal of Agricultural and Forestry*, 36: 179-193.

- Celton, J. Tustin, D.S. Chagne, D. Gardiner, S.E. 2009. Construction of a dense genetic linkage map for apple rootstocks using SSRs developed from *Malus* ESTs and *Pyrus* genomic sequences. *Tree Genetics and Genomes*, 5: 93-107.
- Chattı, K. Saddoud, O. Sali-hannachi, A. Mars, M. Marrakchi, M. Trifi, M. 2007. Analysis of genetic diversity and relationships in a Tunisian fig (*Ficus carica*) germplasm collection by Random Amplified Microsatellite Polymorphisms. *Journal of Integrative Plant Biology*, 49: 386-391.
- Crozier, Y. C. Cheng, X. Yan Yao, J. Field, A. R. Cook, J. M., Crozier, R. H. 2007. Microsatellite primers for *Ficus racemosa* and *Ficus rubiginosa*. *Molecular Ecology Notes*, 7: 57-59.
- Dalkılıç, Z. Mestav, H.O. Günver-Dalkılıç, G. Kocataş, H. 2010. Genetic diversity of male fig (*Ficus Carica caprificus* L.) genotypes with random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *African Journal of Biotechnology*, 10: 519-526.
- Deputy, J. Ming, R. MA, H. Liu, Z. Fitch, M. Wang, M. Manshardt, R. Stiles, J. 2002. Molecular markers for sex determination in papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 107-111.
- Doyle, J.J. Doyle J.L. 1990 Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Ek, H.N. 2011. Bazı incir çeşitlerinin rakıma bağlı olarak antioksidan vitaminler, glutasyon ve malondialdehit düzeylerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ, 59s.
- Elmeer, K. Mattat, I. 2012. Marker-assisted sex differentiation in date palm using simple sequence repeats. *3 Biotech*, 2: 241-247.
- Essid, A. Aljane, F. Ferchichi, A. Hormaza, J.I. 2015. Analysis of genetic diversity of Tunisian caprifig (*Ficus carica* L.) accessions using simple sequence repeat (SSR) markers. *Hereditas*, 152: 2-9.
- Fang, J. Chen, J. Henny, R.J. Chao, C.T. 2007. Genetic relatedness of ornamental *Ficus* species and cultivars analyzed by amplified fragment length polymorphism markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132: 807-815.
- Ferrara, G. Mazzeo, A. Paucci, C. Materrese, A. Tarantino, A. Crisosta, C. Incerti, O. Marcotuli, I. Nigro, D. Blanco, A. Gadaleta, A. 2016. Characterization of edible fig germplasm from Puglia, southeastern Italy: is the distinction of tree fig types (smyrna, san pedro and common) still valid? *Scientia Horticulturae*, 205: 52-58.
- Flashman, M.A. Rodov, V. Stover, E. 2008. The fig: botany, horticulture, and breeding. *Horticultural Reviews*, pp.113-196.
- Ganopoulos, I. Xanthopoulou, A. Molassioti, A. 2015. Mediterranean basin *Ficus carica* L. from genetic diversity and structure to authentication of a protected designation of origin cultivar using microsatellite markers, *Trees* 29: 1959-1971.
- Garcia, A.A.F. Benchimol, L.L. Barbosa, A.M.M. Geraldi, I.O. Souza, C.L. Souza, A.P. 2004. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genetics and Molecular Biology*, 27: 579-588.

- Giraldo, E. Lopez-Corrales, M. Hormaza, J. 2008. Optimization of the management of an ex-situ germplasm bank in common fig with SSRs. *Journal American Horticultural Science*, 1: 69-77.
- Guasmi, F. Ferchichi, A. Fares, K. Touil, L. 2006. Identification and differentiation of *Ficus carica* L. Cultivars using inter simple sequence repeat markers. *African Journal of Biotechnology*, 5: 1370-1374.
- Gupta, P.K. Rustgi, S. 2004. Molecular markers from the transcribed/expressed region of the genome in higher plants. *Functional&integrative genomics*, 4: 139-162.
- Günel, N. 1999. Türkiye’de incir kültürü. *Türk Coğrafya Dergisi*, 34: 211-232.
- Hemmat, M. Weeden, N.F. Brown, S.K. 2003. Mapping and evaluation of malus x domestica microsatellites in apple and pear. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128: 515-520.
- Jackson, M.T. 1997. Conservation of rice genetic resources-the role of International Rice Gene Bank at IRRI. *Plant Molecular Biology*, 35: 61-67.
- Kafkas, S. Çetiner, S. Perl-treves, R. 2001. Development of sex-associated RAPD markers in wild Pistacia species. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 76: 242-246.
- Kafkas, S. Özgen, M. Ercişli, S. Serçe. S. 2008. Molecular characterization of mulberry accessions in Turkey by AFLP markers. *Journal of the American society for Horticultural Science*, 133: 593-597.
- Karakurt, H. 2013. Doğu Anadolu bölgesinden selekte edilen yazlık elma, badem ve ahududu genotiplerinin AFLP ve SSR moleküler primerleri ile genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 105 s.
- Karp, A. Edwards, K. Bruford, M. Vosman, B. Morgante, M. Seberg, O. Kremer, A. Boursot, P. Arctander, P. Tautz, D. Hewitt, G. 1997. New molecular technologies for biodiversity evaluation: opportunities and challenges. *Journal of Nature Biotechnol*, 15: 625-628.
- Khadari, B. Hochu, I. Santoni, S. Kjellberg, F. 2001. Identification and characterization of microsatellite loci in the common fig (*Ficus carica* L.) and representative species of the genus Ficus. *Molecular Ecology Resources*, 1: 191-193.
- Khadari, B. Oukabli, A. Ater, M. Mamouni, A. Roger, J.P. Kjellberg, F. 2004. Molecular characterization of moroccan fig germplasm using intersimple sequence repeat markers to establish a reference collection. *HortScience*, 40: 29-32.
- Kislev, E.M. Hartman, A. Bar-Yosef, O. 2006. Early domesticated fig in the Jordan Valley. *Science*, 32: 1372-1374.
- Konieczny, A. Ausubel, F.M. 1993. A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. 4: 403-410.
- Kumar, L.S. 1999. DNA markers in plant improvement: an overview. *Biotechnology Advanced* 17: 143-182.

- Lapointe, F.J. Legendre, P. 1992. Statistical significance of the matrix correlation coefficient for comparing independent phylogenetic trees. *Systematic Biology*, 41: 378-384.
- Lowe, A.J. Hinotte, O. Guarino, L. 1996. Standardization of molecular genetic techniques for the characterization of germplasm collections: the caase of random amplified polymorphic dna (RAPD). *Plant Genetic Resources Newsletter*, 107: 50-54.
- Ling, Y. Mao-xuel Chen, S. 2003. Identification of sex associated RAPD marker in *Ginkgo Biloba*. *Acta Botanica Sinica*, 45: 742-747.
- Ikegami, H. Nogata, H. Hirashima, K. Awamura, M. Nakahar, T. 2009. Analysis of genetic diversity among European and Assian fig varieties (*Ficus carica L.*) using ISSR, RAPD, and SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56: 201-209.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approac. *Cancer Res.* 27: 209-220.
- Maryam, A. Jaskani, M.J. Awan, F.S. Ahmad, S. Khan, A. 2016. Development of molecular method for sex identification in date palm (*Phoenix dactylifera L.*) plantlets using novel sex-linked microsatellite markers. *Biotech*, 6: 1-7.
- Meudt, H.M. Clarke, A.C. 2007. Almost forgotten or latest practice? AFLP applications, analyses and advances. *Trends in Plant Science*, 12: 106-117.
- Mohan, M. Nair, S. Bhagwat, A. Krishna, T.G. Yano, M. Bhatia, C.R. Sasaki, T. 1997. Genome mapping, molecular marker sand marker-assisted selection in cropp lants. *Moleculer Breeding*, 3: 87-103.
- Mori, K. Shirasawa, K. Nogata, H. Hirata, C. Tashiro, K. Habu, T. Kim, S. Himeno, S. Kuhara, S. Ikegami, H. 2017. Identification of *RANI* orthologue associated with sex determination through whole genome sequencing analysis in fig (*Ficus carica L.*). *Nature*,
- Mısırlı, A. Gülcan, R. Topuz, F. 1998. Determination of phenolic compunds in male and femalefigs. *Acta Horticulturae*, 480: 253-258.
- Mısırlı, A. Topuz, F. Zeybekoğlu, N. 1998. Research on variation of female and male figs in terms of leaf properties and stomatal distribution. *Acta Horticulturae*, 480: 129-132.
- Milewicz, M. Sawicki, J. 2013. Sex linked markers in dioecious plants. *Plant Omics Journal*, 2: 144-149.
- Mujic, I. Kralj, M.B. Jokic, S. Jug, T. Subaric, D. Vidovic, S. Zivkovic, J. Jarni, K. 2014. Characterisation of volatiles in dried White varieties figs (*Ficus carica L.*) *Journal of Food Science and Technology*, 5: 1837-1846.
- Mutlu, N. İkten, H. Gülşen, O. Kocataş, H. Aksoy, U. 2008. Association mapping for sex and fruit characterstics in *Ficus carica*. *Hortscience*, 43: 11-17.
- Orta, H. 2016. Seçilmiş Karayemiş (*Prunus Laurocerasus L.*) genotiplerinin SSR markırları ile moleküler karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Ordu, 48s.

- Özbek, S. 1978. Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Adana, PP. 128: 486
- Rafalski, A. J. Morgante, M. Vogel, J. Powell, W. Tingey, S.V. 1996. Generating new DNA markers in plants. In: Birren, B. AndLai, E. (eds) Analysis of Non-mammalian Genomes. *Academic Press London*, 1: 75-129.
- Saddoud, O. Baraket, G. Chatti, K. Trifi, M. Marrakchi, M. Mars, M. Salhi-Hannachi, A. 2012. Using morphological characters and simple sequence repeat (SSR) markers to characterize Tunisian fig cultivars. *Acta Biologica Cracoviensia* 53: 7-14.
- Schlotterer, C. Tautz, D. 1993. Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research*, 20: 211-215.
- Shiva, V. 1994. Agriculture and food production. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. *Environmental Education Dossiers*, 9: 2-3.
- Simoniuc, D. Uptmoor, R. Friedt, W. Ordon, F. 2002. Genetic diversity and relationships among pea cultivars (*Pisum sativum* L.) revealed by RAPDs and AFLPs. *Plant Breeding*, 121: 429-435.
- Struss, D. Ahmad, R. Southwick, S.M. Boritzki, M. 2003. Analysis of sweetcherry (*Prunus avium* L.) cultivars using SSR and AFLP markers. *Journal*
- Storey, W.B. Figs. In: Janick J, Moore JN (eds) Advances in fruit breeding. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana pp 568-589.
- Storey, W.B., Enderud, J.E., Saleeb, W.F., And E.M. Nauer. 1977. The Fig. Jurupa Mountains Cultural Center, Riverside, California.
- Parrish, L. Hans, P. Koelewijn, H.P. Vandick P.J. 2004. Identification of a male-specific AFLP marker in a functionally dioecious fig, *Ficus fulva* Reinw. ex Bl. (Moraceae). *Sexual Plant Reproduction*, 17: 17-22.
- Teoaman, S. Ipek, M. Erturk, U. Tangu, N. Durgut, E. Barut, E. Ercişli, S. Ipek, A. 2017. Assessment of genetic relationship among male and female fig genotypes using simple sequence repeat (SSR) markers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45: 172-178.
- Testolin, R. Cipriani, G. Costa, G. 1995. Sex segregation ratio and gender expression in the genus Actinidia. *Sexual Plant Reproduction*, 8: 129-132.
- Urasaki, N. Tokumoto, M. Tarora, K. Ban, Y. Kayano, T. Tanaka, H. Oku, H. Chinen, I. Terauchi, R. 2002. A male and hermaphrodite specific RAPD markers for papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 281-285.
- Varshney, R.K. Chabane, K. Hendre, P.S. Aggarwal, R.K. Graner, A. 2007. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Science*, 173: 638-649.
- Vignes, H. Hossa, M. Beaune, D. Fevre, D. Anstett, M.C. Borges, R.M. Kjellberg, F. Chevallier, M.H. 2006 Development and characterization of microsatellite markers for a monoecious *Ficus* species, *Ficus insipida*, and cross-species

- amplification among different sections of *Ficus*. *Molecular Ecology Notes* 6: 792-795.
- Vos, P. Hogers, R. Bleeker, M. Reijans, M. Lee, T. Hornes, M. Frijters, A. Pot, J. Peleman, J. Kuiper, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407-4417.
- Yakubov, B. Barazani, O. Golan-Goldhirsh, A. 2005. Combination of SCAR primers and Touchdown-PCR for sex identification in *Pistacia vera* L. *Scientia Horticulturae*, 103: 473-478.
- Yan, G. Romero-Severson, J. Walton, M. Chadee, D.D. Severson, D.W. 1999. Population genetics of the yellow fever mosquito in Trinidad: comparisons of amplified fragment length polymorphism (AFLP) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Molecular Ecology*, 8: 951–963.
- Yorgancılar, M. 2015. Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4: 1-12.
- Zavodna, M. Arens, P. Van, P.J. Vosman, B. 2005 Development and characterization of microsatellite markers for two dioecious *Ficus* species. *Molecular Ecology Notes*, 5: 355-357.
- Watson, L. Dallwitz, M.J. 1992. The families of flowering plants: description, illustration, identification, and information retrieval. <http://biodiversity.uno.edu/delta/angio>[11.05.2017]

ÖZGEÇMİŞ

YELİZ YILMAZ
yelizyilmaz@windowlive.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2015-	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya
Lisans 2010-2014	Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum