

Akdeniz ve Doğu Anadolu Bölgelerinden  
Seçilen Bazı Dut (*Morus spp.*) Genotiplerinin  
Moleküler Karakterizasyonu  
MUZAFFER İPEK  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI  
KONYA, 2009

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKDENİZ VE DOĞU ANADOLU BÖLGELERİNDEN SEÇİLEN BAZI DUT  
(*Morus spp.*) GENOTİPLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Muzaffer İPEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

Bu tez 26/ 01/ 2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği /oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Lütfi PIRLAK  
(Danışman)

Yrd. Doç. Dr. İsmail Hakkı KALYONCU Yrd. Doç. Dr. Mustafa YORGANCILAR  
(Üye) (Üye)

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### AKDENİZ VE DOĞU ANADOLU BÖLGELERİNDEN SEÇİLEN BAZI DUT (*Morus spp.*) GENOTİPLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Muzaffer İPEK

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Lütfi PIRLAK

2008, 51 Sayfa

Jüri:

Prof. Dr. Lütfi PIRLAK

Yrd. Doç. Dr. İsmail Hakkı KALYONCU

Yrd. Doç. Dr. Mustafa YORGANCILAR

Bu çalışmada, RAPD ve ISSR DNA markör teknikleri ile tüm dut genotipleri birbirinden ayrılmıştır. RAPD analizleri sonucunda toplamda 173 bant elde edilirken bunun 157'sinin (%90.75) polimorfik olduğu belirlenmiştir. ISSR analizleri sonucunda toplamda 128 bant elde edilmiş ve bunun 124'ü (%96.55) polimorfik olmuştur. RAPD tekniği ile belirlenen genetik benzerlik katsayısı 0.42-0.98 arasında değişmiştir. 25-İs-203 ve 25-İs-112 genotipleri birbirine en yakın genotipler, 24-Ke-10 ve 25-İs-123 ise birbirlerine en uzak genotipler olarak bulunmuştur. ISSR tekniğinde genetik benzerlik katsayısı 0.32-0.96 arasında değişim göstermiştir. 25-İs-203 ve 25-İs-112 genotipleri birbirine en yakın genotipler, 25-İs-08 ve 01-Ka-D2 ise birbirlerine en uzak genotipler olarak bulunmuştur. RAPD ve ISSR tekniklerinin kombinasyonu ile yapılan analizlerde ise, genetik benzerlik katsayısı 0.36-0.97 arasında değişim göstermiştir. 25-İs-203 ve 25-İs-112 genotipleri birbirine en yakın

genotipler olarak bulunurken 01-Ka-D1 ve 01-Ka-D2 ise birbirlerine en uzak genotipler bulunmuştur. RAPD ve ISSR tekniği arasındaki korelasyon yüksek seviyede 0.83 olarak belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Dut, RAPD, ISSR, Genetik Çeşitlilik

ABSTRACT

MS Thesis

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME MULBERRY (*Morus spp.*)  
GENOTYPES SELECTED FROM MEDITERRANEAN AND EAST ANATOLIA  
REGION OF TURKEY

Muzaffer İPEK

Selçuk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Lütfi PIRLAK

2009, 51 Pages

Jury:

Prof. Dr. Lütfi PIRLAK

Yrd. Doç. Dr. İsmail Hakkı KALYONCU

Yrd. Doç Dr. Mustafa YORGANCILAR

In this study, all mulberry genotypes discriminated by RAPD and ISSR DNA markers techniques. 20 RAPD primers generated 173 total bands in which 157 (90.75 %) were polymorphic. As for 11 ISSR primers, 124 bands (96.55%) were polymorphic in total 128. Similarity index for RAPD techniques ranged between 0.42-0.98. 25-İs-203 and 25-İs-112 genotypes were found the closest genotypes, while 24-Ke-10 and 25-İs-123 were the most distant. According to ISSR result, genetic similarity index were changed between 0.32-0.97. 25-İs-203 and 25-İs-112 genotypes were found the closest genotypes, while 25-İs-08 and 01-Ka-D2 were the most distant. According to combination of RAPD and ISSR data, genetic similarity index values were between 0.36-0.97. 25-İs-203 and 25-İs-112 were found the closest genotypes, while 01-Ka-D1 and 01-Ka-D2 were the most distant genotypes.

Correlation between RAPD and ISSR genetic similarity matrix was found to be high (0.83).

**Key Words:** Mulberry, RAPD, ISSR, Genetic Diversity

## ÖNSÖZ

"Akdeniz ve Doğu Anadolu Bölgelerinden Seçilen Bazı Dut (*Morus spp.*) Genotiplerinin Moleküler Karakterizasyonu" konulu bu çalışma Selçuk Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmamda her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen Danışman hocam Prof. Dr. Lütfi PIRLAK'a, tez çalışmamı yürütmemde laboratuvar imkânlarından yararlanmamı sağlayan Prof. Dr. Salih KAFKAS'a, laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Zir. Yük. Müh. Yıldız DOĞAN'a, teşekkür ederim

Ayrıca tez çalışmamın her aşamasında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen eşime teşekkür ederim.

Muzaffer İPEK

## **İÇİNDEKİLER**

## **Sayfa No**

<b>ÖZET</b> .....	<b>III</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>VII</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>VIII</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>XI</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>XIII</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b> .....	<b>XV</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1. Genetik Markörler ile İlgili Genel Literatür Bilgileri</b> .....	<b>4</b>
<b>3. MATERYAL ve METOT</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1. Materyal</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1.1. Denemede Kullanılan Genotipler</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1.2. Denemede Kullanılan Genotiplerin Özellikleri</b> .....	<b>11</b>
<b>3.1.2.1. Sofralık Genotipler</b> .....	<b>11</b>
<b>3.1.2.2. Kurutmalık Genotipler</b> .....	<b>12</b>
<b>3.1.2.3. Pekmezlik Genotipler</b> .....	<b>13</b>
<b>3.1.2.4. Meyve Suyuna İşlemeye Uygun Genotipler</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1.2.5. Şıralığa Uygun Genotipler</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2. Metot</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2.1. Yaprak Örneklerinin Alınması ve Muhafazası</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2.2. DNA İzolasyonu</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2.3. DNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2.4. RAPD Analizleri</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2.5. ISSR Analizleri</b> .....	<b>20</b>



3.2.6. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının Belirlenmesi .....	22
3.2.7. Primerlerin Polimorfizm Bilgi İçeriklerinin (PBI) Belirlenmesi .....	22
3.2.8. Primerlerin Ayırma Güçlerinin Belirlenmesi .....	23
3.2.9. Soyağacı Analizleri.....	23
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA.....</b>	<b>24</b>
4.1. RAPD Analizleri .....	24
4.1.1. Dut Genotiplerinin, RAPD Yöntemi ile Karakterizasyonunda Polimorfizm ve Ayırma Gücü.....	25
4.1.2. Dut Genotipleri Arasındaki Genetik İlişkinin RAPD Analizi ile Belirlenmesi.....	27
4.1.3. Dut Genotiplerinin Soyağacı Analizleri .....	27
4.1.4. Dut Türleri ve Genotipleri Arasında Saptanan Genetik Benzerlik Katsayıları .....	31
4.2. ISSR Analizleri.....	31
4.2.1. ISSR Primerlerinin Polimorfizm ve Ayırma Gücü.....	33
4.2.2. Dut Genotipleri Aralarında Belirlenen Genetik Benzerlik Katsayıları.....	34
4.2.3. Dut Genotiplerinin Soyağacı Analizleri .....	34
4.2.4. Dut Türleri ve Genotipleri Arasında Saptanan Genetik Benzerlik Katsayıları .....	38
4.3. RAPD ve ISSR Verilerinin Karşılaştırmalı Analizleri .....	39
4.3.1. RAPD ve ISSR Yöntemlerinin Polimorfizm ve Ayırma Gücü Yönünden Karşılaştırılması.....	39
4.3.2. Dut Genotipleri Arasındaki Genetik İlişkinin, RAPD ve ISSR Verilerinin Birlikte Değerlendirilmesi ile Belirlenmesi.....	40
4.3.3. RAPD ve ISSR Yöntemleri ile Elde Edilen Genetik Benzerlik Katsayıları Arasındaki Korelasyon .....	43
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>44</b>

<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>47</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>51</b>

## **ÇİZELGELER DİZİNİ**

## **Sayfa No**

<b>Çizelge 3.1</b> Denemede Kullanılan Dut Genotipleri ile Alındıkları Genetik Kaynaklar .....	<b>11</b>
<b>Çizelge 3.2</b> NucleoMagPlant_KFmL DNA İzolasyon Kiti Tüplerinin İçeriği.....	<b>16</b>
<b>Çizelge 3.3</b> RAPD Tekniğinin Uygulanmasında PCR, Sıcaklık ve Döngü Koşullar	<b>18</b>
<b>Çizelge 3.4</b> RAPD–PCR Reaksiyonlarında Kullanılan Kimyasallar.....	<b>18</b>
<b>Çizelge 3.5</b> Çalışmada Kullanılan RAPD Primerlerinin Nükleik Asit Dizilimleri, Baz Sayıları ve DNA’ya Bağlanma Sıcaklıkları.....	<b>19</b>
<b>Çizelge 3.6</b> ISSR Tekniğinin Uygulanmasında PCR, Sıcaklık ve Döngü Koşulları.	<b>20</b>
<b>Çizelge 3.7</b> ISSR–PCR Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasallar .....	<b>20</b>
<b>Çizelge 3.8</b> Çalışmada Kullanılan ISSR Primerlerinin Nükleik Asit Dizilimleri, Nükleik Asit Sayıları ve DNA’ya Bağlanma Sıcaklıkları .....	<b>21</b>
<b>Çizelge 4.1</b> ISSR Primerlerinin PCR Amplifikasyonu Sonucu Elde Edilen Toplam Bant Sayıları (TBS), Polimorfik Bant Sayıları (PBS), Polimorfizm Oranı (PO), Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBİ) ve Primerin Ayırma Gücü (AG) Değerleri .....	<b>26</b>
<b>Çizelge 4.2</b> Denemede Yer Alan Dut Genotipleri Arasındaki RAPD Verilerine Ait NEI72 Genetik Benzerlik Katsayıları Tablosu .....	<b>29</b>
<b>Çizelge 4.3</b> Dut Genotipleri ve Türleri Arasında Oluşan Genetik Benzerlik Katsayılarının Gruplandırılması.....	<b>31</b>
<b>Çizelge 4.4</b> ISSR Primerlerinin PCR Amplifikasyonu Sonucu Elde Edilen Toplam Bant Sayıları (TBS), Polimorfik Bant Sayıları (PBS), Polimorfizm Oranı (PO), Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBİ) ve Ayırma Gücü (AG) Değerleri ....	<b>33</b>
<b>Çizelge 4.5</b> Denemede Yer Alan Dut Genotipleri Arasındaki ISSR Verilerine Ait NEI72 Genetik Benzerlik Katsayıları .....	<b>36</b>
<b>Çizelge 4.6</b> Dut Genotipleri ve Türleri Arasında Oluşan Genetik Benzerlik Katsayılarının Gruplandırılması.....	<b>38</b>

<b>Çizelge 4.7</b> RAPD ve ISSR Primerlerinin PCR Amplifikasyonu Sonunda Elde Edilen Primer Başına Düşen Toplam Bant Sayısı (PBDTBS), Primer Başına Düşen Polimorfik Bant Sayısı (PBDPBS), Toplam Bant Sayıları (TBS), Polimorfik Bant Sayısı (PBS), Polimorfizm Oranı (PO), Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI), Ayırma Gücü (AG) Değerleri .....	<b>39</b>
<b>Çizelge 4.8</b> Denemede Yer Alan Dut Genotipleri Arasındaki RAPD+ISSR Verilerine Ait NEI72 Genetik Benzerlik Katsayıları .....	<b>41</b>
<b>Çizelge 4.9</b> RAPD, ISSR ve RAPD+ISSR Verilerinden Elde Edilen Genetik Benzerlik Katsayıları Arasındaki Korelasyonlar .....	<b>43</b>

<b>Şekil 3.1</b> Thermo Kingfisher mL DNA İzolasyon Makinesi.....	<b>16</b>
<b>Şekil 3.2</b> NucleoMagPlant_KFmL DNA İzolasyon Kiti Tüpleri .....	<b>16</b>
<b>Şekil 3.3</b> $\lambda$ DNA'nın <i>EcoRI</i> ve <i>HindIII</i> Kesim Enzimleri ile Hazırlanan DNA'sı ....	<b>22</b>
<b>Şekil 4.1</b> OPA-04 Numaralı RAPD Primerinin 21 Dut Genotipindeki Amplifikasyon Görüntüsü. Sırasıyla Genotipler; 1. 25-Uz-01, 2. 25-Uz-10, 3. 25-Uz-18 4. 25-İs-110 5. 25-İs-112 6. 25-İs-123 7. 25-İs-203 8. 25-İs-205 9. 25-İs-206 10. 25-To-04 11. 24-Ke-09 12. 24-Ke-10 13. 25-İs-146 14. 25-İs-147 15. 23-Mrk-09 16. 25-Uz-05 17. 25-Uz-08 18. 25-İs-204 19. 01-Ka-D1 20. 01-Ka-D2 21. 25-İs-08.....	<b>24</b>
<b>Şekil 4.2</b> Dut Genotiplerinde RAPD Yönteminin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Soyağacı.....	<b>30</b>
<b>Şekil 4.3</b> UBC-810 Numaralı ISSR Primerinin 21 Dut Genotipindeki Amplifikasyon Görüntüsü. Sırasıyla Genotipler; 1. 25-Uz-01, 2. 25-Uz-10, 3. 25-Uz-18 4. 25-İs-110 5. 25-İs-112 6. 25-İs-123 7. 25-İs-203 8. 25-İs-205 9. 25-İs-206 10. 25-To-04 11. 24-Ke-09 12. 24-Ke-10 13. 25-İs-146 14. 25-İs-147 15. 23-Mrk-09 16. 25-Uz-05 17. 25-Uz-08 18. 25-İs-204 19. 01-Ka-D1 20. 01-Ka-D2 21. 25-İs-08.....	<b>32</b>
<b>Şekil 4.4.</b> UBC-807 Numaralı ISSR Primerinin 21 Dut Genotipindeki Amplifikasyon Görüntüsü. Sırasıyla Genotipler; 1. 25-Uz-01, 2. 25-Uz-10, 3. 25-Uz-18 4. 25-İs-110 5. 25-İs-112 6. 25-İs-123 7. 25-İs-203 8. 25-İs-205 9. 25-İs-206 10. 25-To-04 11. 24-Ke-09 12. 24-Ke-10 13. 25-İs-146 14. 25-İs-147 15. 23-Mrk-09 16. 25-Uz-05 17. 25-Uz-08 18. 25-İs-204 19. 01-Ka-D1 20. 01-Ka-D2 21. 25-İs-08.....	<b>32</b>
<b>Şekil 4.5</b> Dut Genotiplerinde ISSR Yönteminin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Soyağacı.....	<b>37</b>
<b>Şekil 4.6</b> Dut Genotiplerinde RAPD+ISSR Yöntemlerinin Birlikte Uygulanması Sonucu Elde Edilen Soyağacı.....	<b>42</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AG	: Ayırma Gücü
bç	: Baz çifti
CTAB	: Setil Trimetil Amonyum Bromit
dATP	: Deoksi Adenozin Trifosfat
DAMD	: Directed Amplification of Minisatellite DNA
dCTP	: Deoksi Sitidin Trifosfat
dGTP	: Deoksi Guanozin Trifosfat
dTTP	: Deoksi Timidin Trifosfat
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dk	: Dakika
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
g	: Gram
ha	: Hektar
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
kg	: Kilogram
$\mu$ M	: Mikro Molar
$\mu$ l	: Mikrolitre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
pH	: Power of Hydrogen
PBI	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
PBS	: Polimorfik Bant Sayısı
PBDTBS	: Primer Başına Düşen Toplam Bant Sayısı
PBDPBS	: Primer Başına Düşen Polimorfik Bant Sayısı
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PO	: Polimorfizm Oranı

RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA
rpm	: Revolutions Per Minute
SÇKM	: Suda Çözünebilir Kuru madde Miktarı
sn	: Saniye
SSR	: Simple Sequence Repeat
Taq	: <i>Thermus Aquaticus</i>
TBE	: Tris/ Borat/ EDTA (tampon çözeltisi)
TBS	: Toplam Bant Sayısı
Tris-HCl	: Tris Hidroklorür
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average
UBC	: University of British Columbia
UV	: Ultraviolet
$\lambda$ DNA	: Lamda Deoksiribonükleik Asit

## 1. GİRİŞ

Birçok meyve türünün gen merkezi olan Anadolu, çeşitli dut türlerinin de anavatanıdır. Ülkemizin çeşitli bölgelerinde, değişik meyve özelliklerine sahip dut ağaçlarına rastlamak mümkündür. Fakat kerestesinin de değerli olması nedeniyle önemli miktarda dut ağacı kesilerek yok edilmektedir (Erdoğan ve Pırlak 2005). 2007 verilerine göre ülkemizde 13 127 hektar alanda 61 665 ton dut üretimi olup, meyve veren yaştaki ağaç sayımız 2 094 715 adet ve meyve vermeyen yaştaki ağaç sayısı 560 426 adettir. (Anonim 2007).

Ülkemizde ve dünyada son yıllarda içerdiği besinler ve antosiyaninler bakımından önem kazanan dut, *Urticales* takımının, *Morus* cinsinin *Moraceae* familyasında yer almaktadır. Bu familyada en az 24 tür ve 1 alt türün bulunduğu bildirilmiştir (Tutin 1996). Meyvesi tüketilen ve yaygın olarak yetiştirilen dut türleri *M. alba* L., *M. nigra* L. ve *M. rubra* L.'dir. *M. alba*'nın anavatanı Çin, Japonya, Tayland, Malezya ve Birmanya; *M. nigra* L.'nin Türkiye, İran, Arabistan, Rusya'nın Güney Asya'da bulunan kısımları ve Suriye; *M. rubra* L.'nin ise Kuzey Amerika'dır (Bellini ve ark. 2000, Roger 2002).

Dut, farklı iklim ve toprak şartlarına adaptasyon kabiliyetinin yüksek olması nedeniyle, ılıman ve subtropik iklim bölgeleri içerisinde ve deniz seviyesinden 4000 m yüksekliğe kadar olan bölgelere yayılmıştır (Tutin 1996, Machii ve ark. 1999). Dut ağaçlarının çoğu anavatanlarından alınıp adaptasyonu sağlanarak yetiştirilmeye başlandığı bölgelerin bitkisi halini almıştır. Bu nedenle sınıflandırılmaları oldukça güçtür (Machii ve ark. 2001).

Ülkemizin iklim özellikleri yüksek kalitede dut yetiştiriciliği için çok elverişlidir. Ülkemizde mevcut dut ağaçlarının yaklaşık % 95'ini *Morus alba*, % 3'ünü *Morus rubra* ve % 2'sini de *Morus nigra* oluşturmaktadır. Bununla birlikte ülkemizde doğal olarak bulunan *M. alba*, *M. rubra* ve *M. nigra* türleri geniş bir genetik zenginliğe sahiptir (Yaltırık 1982). Bu genetik zenginlik, çeşitli amaçlara yönelik yürütülen ıslah çalışmalarında önemli bir potansiyel niteliği taşımaktadır. Bu çalışmalar sonunda, ülkemizde çeşitli değerlendirme şekillerine uygun çok sayıda dut genotipi seçilmiştir.



Dünyada dut yetiştiriciliği en fazla Asya kıtasında yapılmaktadır. Bu kıtada en önemli üretici ülkeler Hindistan ve Çin'dir. Bu yetiştiricilik yoğun olarak ipekböcekçiliği için yapılmaktadır. Bu bölgelerde dut ıslah çalışmaları da genellikle bu yöndedir (Hou 1994, Vijayan ve ark. 1997). Bunun yanında Türkiye ve Yunanistan gibi ülkelerde daha çok meyve üretimi için yetiştiricilik yapılmakta, bu da ıslah çalışmalarını bu yönde teşvik etmektedir (Gerasopoulos ve Stavroulakis 1997).

Bitki ıslahı çalışmalarında bitkisel kaynakların morfolojik ve genetik olarak tanımlanması gen kaynaklarının daha hızlı ve etkin şekilde kullanılmasına imkan sağlamaktadır. Özellikle çalışılan bitki materyalinin morfolojik olarak benzerliği kullanılan genotiplerin gerçekte farklı olup olmadığı konusunda kişileri yanılgılara düşürmektedir. Bu durum da çalışılan genotiplerin değişik yöntemlerle karakterizasyona tabi tutulmasını gerektirmektedir. Bu durumda bitkisel materyallerin DNA parmak izi yöntemleri ile karakterizasyonu önemli faydalar sağlamıştır. Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde yaygın olarak RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), SSR (Simple Sequence Repeat) ve AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) gibi DNA markör teknikleri kullanılmaktadır.

Ancak yapılan ıslah çalışmaları yaygın olarak morfolojik markörlere dayanarak yapıldığından genotipler çevresel faktöre daha çok maruz kalacaktır ve gerçek özelliklerini gösteremeyeceklerdir. Bu nedenle dut genotiplerinin parmak izlerinin belirlenmesi sayesinde bireylerin genetik yapılarının kayıt altına alınması, bitki genetik kaynaklarının korunması, değerlendirilmesi ve pratik olarak kullanılması sağlanacaktır.

Islah çalışmaları için farklı ekolojik şartlardan getirilen materyallerin yerel genotiplere kıyasla belirli bir bölgeye adaptasyonları daha düşüktür. Çünkü yerel genotipler aynı ekolojik şartlarda bir seleksiyon sürecinden geçmişlerdir. Bu nedenle ıslah çalışmalarında daha üstün özelliklere sahip olabilmektedirler. Ayrıca yerel genotiplerin ıslah çalışmalarında genetik materyal olarak kullanılması sayesinde materyalin genetik özelliklerinin korunması da sağlanmış olmaktadır (Vijayan ve ark. 2006).

DNA parmak izi yöntemleri ile belirlenen genetik farklılıklar, ıslah çalışmalarında melezleme amacıyla kullanılacak ebeveynlerin seçiminde önemli yarar sağlar. Melezlemede kullanılacak ana ve babanın genetik özelliklerinin bilinmesi, elde edilecek F<sub>1</sub> bireylerinin bitkisel özelliklerini tahmin etmede kullanılmaktadır. Böylece, yüksek yapılı bitkilerin seleksiyon ıslahında en önemli sorun olan uzun seleksiyon süresi DNA markörleri yardımıyla önemli derecede kısalacaktır (Gülşen ve Mutlu 2005).

Bu çalışmada, Akdeniz ve Doğu Anadolu bölgelerinde yapılan seleksiyon çalışmalarında (Türemiş ve ark. 2004) elde edilen dut genotiplerinin DNA markör teknikleri ile genetik karakterizasyonu amaçlanmaktadır.

## **2. KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2.1. Genetik Markörler ile İlgili Genel Literatür Bilgileri**

Özellikle 20. yüzyılın sonlarına doğru önemli gelişmeler kaydedilen genetik bilimi, tarımsal araştırmalara önemli katkılar sağlamıştır. Tarımsal genetik içerisinde ise moleküler markör teknikleri, çeşitler arasındaki genetik farklılıkların belirlenmesi, genetik haritalama ve gen kaynaklarının karakterizasyonunda yeni bulgular sağlamıştır. Moleküler markör teknolojisi klasik yöntemlere göre büyük avantajlar sağlamaktadır. En önemli avantajı kısa zamanda sonuçlara varma ve çevresel faktörlerden etkilenmemedir. Moleküler markör teknolojisinin önemli uygulama alanlarından olan genetik karakterizasyon, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yoğun olarak çalışılan konulardandır (Kaçar 2001).

Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler markörler yaygın olarak kullanılmaktadır. Moleküler markörler DNA düzeyinde izlenebilen karakterlerdir. Bu karakterler markör olarak isimlendirilirler ve PCR (Polymerase Chain Reaction) kullanılarak suni şartlarda çoğaltılıp bireyler arasındaki DNA polimorfizmini belirlemede yaygın olarak kullanılırlar. Moleküler markör teknikleri, bitkiden alınacak çok az miktarda dokudan elde edilen DNA ile bütün bir genomun analizini mümkün kılması, genellikle yetiştirme şartlarının markörün ifadesini etkilememesi gibi birçok üstünlükleriyle, son yıllarda gen kaynaklarının karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Böylece bitki genetik kaynakları daha doğru ve kesin bir şekilde karakterize edilmeye başlanmıştır. Ancak bu markör sistemlerinin morfolojik markörlere alternatif değil, onların tamamlayıcısı olarak ele alınması daha bütünsel bir yaklaşım olacaktır. Ortaya konan genetik farklılıklar yapılacak ıslah çalışmalarında, melezlemede kullanılacak ebeveynlerin seçiminde yardımcı olacaktır. Melezlemede kullanılacak ana ve babanın genetik özelliklerinin bilinmesi, elde edilecek olan melez bireylerin performanslarını tahmin etmede kullanılacaktır. Böylece, seleksiyon süresinin önemli derecede azalması

sağlanacak ve yüksek öneme sahip genetik kaynaklar koruma altına alınabilecektir (Gülşen ve Mutlu 2005).

Ülkemizde ve dut yetiştiriciliği yapılan diğer ülkelerde dutta DNA markör çalışmalarına pek fazla rastlanmazken, Çin ve Hindistan'da oldukça fazla DNA markör çalışmaları yapılmıştır (Awasthi ve ark. 2004, Chatterjee ve ark. 2004, Vijayan 2003, Vijayan ve Chatterjee 2003, Vijayan ve ark. 2005, Zhao ve ark. 2005, Zhao ve ark. 2006, Prasanta ve ark. 2008 ).

Dutlarda daha önce yürütülen genetik karakterizasyon çalışmalarında ISSR ve RAPD markör tekniklerinin yoğun olarak kullanıldığı görülmektedir (Aggarwal ve ark. 2004, Bhattacharya ve Ranade 2001, Zhao ve ark. 2007a, Vijayan ve ark. 2004b, Vijayan ve ark. 2004a, Awasthi ve ark. 2004, Vijayan ve Chatterjee 2003, Vijayan 2003).

Gen kaynaklarının daha etkili bir şekilde kullanılabilmesini sağlamak için dut ve benzeri türlerin genetik karakterizasyonu üzerine yürütülen çalışmalar büyük öneme sahiptir.

45 dut genotipinde AFLP markör yöntemi kullanılarak genetik çeşitlilik test edilmiştir. Kullanılan primer kombinasyonu başına 110 markör elde edilmiştir. Markörler 35-500 baz çifti arasında büyüklük göstermiştir. Genetik benzerlik katsayısı 0.58-0.99 arasında değer alırken, oluşturulan dendogramda 4 ana grup oluşmuştur (Sharma ve ark. 2000).

Bhattacharya ve Ranade (2001), RAPD ve DAMD (Directed Amplification of Minisatellite DNA) yöntemlerini kullanarak dutların genetik çeşitliliğini analiz etmişlerdir. Çalışmada kullanılan 9 dut çeşidinde genetik farklılıklar tespit edilmiştir. Çeşitler arasındaki genetik farklılıkları tespit etmede 23 RAPD ve 3 DAMD primeri kullanılmış, bu primerlerden toplam 200 markör elde edilmiştir. Triploid dut çeşitleri RAPD markörleri ile birbirlerine çok yakın bulunmuştur. RAPD markörlerinin %85'i ile DAMD markörlerinin % 91'i dut çeşitlerinde polimorfizm göstermiştir.

Japonya ve Hindistan'dan temin edilmiş 18 dut genotipi arasındaki akrabalık ilişkilerinin incelendiği çalışmada, 15 ISSR ve 15 RAPD primeri kullanılmıştır. RAPD primerleri ile %71.78 polimorfizm elde edilirken, ISSR primerleri ile de %81.13 polimorfizm elde edilmiştir. Genetik benzerlik katsayısı ve dendogram, genotipler arasında önemli bir benzerliğin bulunduğunu göstermiştir. Bunun yanında,

kullanılan DNA markörleri bu genotipleri coğrafi orijinlerine ve ait oldukları türlere bağlı olarak iki ana gruba ayırmıştır (Vijayan 2003).

Hindistan'ın 6 farklı bölgesinden temin edilen 11 dut çeşidinin genetik akrabalıkları ISSR markörleri ile araştırılmıştır. Genetik akrabalık uzaklığı, en düşük 0.053'ten başlamış, en yüksek 0.431'e kadar ulaşmıştır. Soy ağacı analizinde ise 3 ana grup oluşmuştur (Vijayan ve Chatterjee 2003).

Mikrosatellit markörleri ile *Morus indica* türünün genetik karakterizasyonunun yapıldığı çalışmada, kullanılan markörler yüksek oranda polimorfik bulunurken, elde edilen veriler sonucunda kullanılan markörlerin dutun moleküler sistematüğinde ve gen kaynaklarının karakterizasyonunda etkili bir şekilde kullanılabilir olduğu belirlenmiştir (Aggarwal ve ark. 2004).

12 kültür ve 3 yabancı dut türünün genetik ilişkilerinin incelendiği bir çalışmada, 19 RAPD primerinin kullanılarak 500-3000 baz çifti uzunluğunda değişen 128 farklı markör elde edilmiştir. Elde edilen bu markörlerin 119'unun (%92) polimorfik olduğu saptanırken, primer başına ortalama 6.26 markör elde edilmiştir. ISSR analizinde ise 93 polimorfik markör elde edilirken, primer başına 23.25 markör düşmüştür. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde RAPD ve ISSR markörleri dut genetik kaynaklarının analizinde ve gen havuzlarının karakterizasyonunda kullanılabilir bulunmuştur (Awasthi ve ark. (2004).

Hindistanda yapılan bir çalışmada 6 farklı bölgeden seçilen 29 *Morus laevigata* tipi önceden belirlenmiş 13 RAPD primeri ile analiz edilmiştir. Çalışmada 13 RAPD primerinden toplam 71 bant elde edilmiş ve bu bantlardan % 94 gibi bir polimorfizm sağlanmıştır (Chatterjee ve ark. 2004).

Yapılan bir çalışmada, 17 RAPD ve 11 ISSR primeri kullanılarak dut çeşitlerinin genetik ilişkileri analiz edilmiştir. RAPD ve ISSR primerleri, çeşitler içerisinde %75 polimorfizm oluşturmuşlardır. Genetik benzerlik katsayıları RAPD markörleri için 0.645-0.887 arasında elde edilirken, ISSR markörlerinde ise 0.600-0.873 arasında değişmiştir. Elde edilen markörler ile oluşturulan dendogramda 3 ana grup (az verimliler, orta verimliler ve çok verimliler) oluşturulmuştur (Vijayan ve ark. 2004a).

Vijayan ve ark. (2004b), 19 dut genotipinde yapmış oldukları karakterizasyon çalışmasında 15 ISSR ve 15 RAPD primeri kullanmışlar ve 15 ISSR primerinden %86 ve 15 RAPD primerinden %78 polimorfizm elde etmişlerdir.

Hindistan'ın iki farklı bölgesinden toplanmış 16 yabancı dut genotipinin (*M. serrata* Roxb) genetik çeşitliliğinin, kültürü yapılan çeşitlerle karşılaştırıldığı çalışmada, genotipler morfolojik, agronomik ve genetik özellikleri bakımından analiz edilmiştir. Genotipler arasındaki DNA markörleri morfolojik özelliklere benzer şekilde çeşitlilik göstermiştir. 17 ISSR primerinden toplam 95 DNA markörü elde edilmiş, populasyon içerisinde bu markörlerin 51'i (%67'si) polimorfik bulunmuştur. Elde edilen dendogramda 16 populasyon 3 grupta toplanmıştır. Oluşan 3 grup, coğrafik uzaklıklarıyla ilişkili bulunmuştur (Vijayan ve ark. 2004c).

Bhattacharya ve ark. (2005), 27 dut çeşidinin ISSR, DAMD ve RAPD markör yöntemlerini kullanılarak karakterizasyonunu yapmışlardır. Çalışma sonucunda toplam 58 DAMD, 39 ISSR ve 235 RAPD markörü elde edilmiştir.

3 farklı dut türüne ait 48 tipte yapılan bir çalışmada, AFLP markör tekniği kullanılmış, analiz edilen dut tiplerinde yüksek polimorfizm belirlenmiştir. Genetik benzerlik katsayısı türlerde 0.845 (*Morus bombycis*), 0.884 (*Morus alba*) ve 0.849 (*Morus latifolia*) olarak bulunmuştur (Botton ve ark. 2005).

Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanan 34 dut genotipi, ISSR tekniğini kullanılarak genetik ilişkileri incelenmiştir. Kullanılan 12 ISSR primerinin oluşturduğu 72 markör ile yüksek oranda polimorfizm (%94.4) elde edilmiştir. Genotipler arasındaki soyağacı analizleri farklılıkları UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) analiz metoduyla hesaplanmıştır. Genetik farklılık katsayısı 0.111 ile 0.692 arasında değişmiş ve 6 gruptan oluşan bir dendogram meydana gelmiştir (Vijayan ve ark. 2005).

Mikrosatellit markör geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada, 20 SSR primeri tasarlanırken bu primerler 27 dut genotipinde test edilmiş ve 20 primerin 10 tanesi polimorfik bulunmuştur. Primerler ile yapılan karakterizasyonda primer başına 4.9 allel tespit edilmiştir (Zhao ve ark. 2005).

Venkateswarlu ve ark. (2006), RAPD, ISSR ve SSR markör tekniklerini kullanarak dutta ilk genetik bağlantı haritasını çıkarmaya çalışmışlar ve 100 RAPD, 42 ISSR ve 9 SSR primeri ile toplamda 517 markör elde etmişlerdir.

4 farklı *Morus* türüne ait 20 dut genotipinde, 17 ISSR primeri kullanılarak toplam 114 markör elde edilmiştir. Bu markörlerin 98'i (%85.96) polimorfik bulunurken, *Morus serrata* Roxb. için 7, *Morus serrata* Roxb. ve *Morus macroura* Mig. için 1 bant monomorfik bulunmuştur. Genetik farklılık katsayısı genotiplerde 0.078-0.530 değerleri arasında değişirken, türler arasında ise 0.168-0.465 değerleri arasında yer almıştır. Elde edilen markörlerle oluşturulan dendogram da 3 ana grup olmuştur (Vijayan ve ark. 2006).

Zhao ve ark. (2007a) tarafından Çin'in farklı ekolojilerinden seçilmiş 8 dut populasyonunun genetik ilişkileri ve populasyonun yapısı araştırılmıştır. ISSR markör tekniğinin kullanıldığı çalışmada 20 primer tarafından 83 markör elde edilmiş, bunun 50'si (%60.24) polimorfik bulunmuştur. Polimorfizm bilgi içeriği (PBI) 0.146 olarak hesaplanmıştır. 8 dut populasyonu arasında genetik farklılık katsayısı 0.844- 0.964 arasında değişmiştir.

ISSR ve SSR markörleri kullanılarak dutlarda genetik çeşitliliğin araştırıldığı çalışmada, genetik çeşitlilik ve dutlar arasındaki ilişkinin yanında, kullanılan SSR ve ISSR tekniklerinin etkinlikleri de karşılaştırılmıştır. SSR markörleri daha yüksek oranda polimorfizm ve daha geniş bir bilgi sağlanmıştır. Aynı markörler ile elde edilen genetik farklılık değerleri analiz edildiğinde yabani türlerin kültüre alınmış olanlardan daha yüksek oranda genetik farklılığa sahip olduğu bulunmuştur. Kültürel işlemlerin SSR ve ISSR markörleri tarafından analiz edilen yabani dut türlerinde genetik çeşitliliğin kaybına neden olduğu düşünülmüştür. Tüm genotipler için SSR ile elde edilen genetik benzerlik katsayısı 0.613 iken ISSR'da bu katsayı 0.767 olmuştur. Birkaç farklılık dışında, tüm markörler için dendogramda yüksek bir benzerlik görülmüştür. Bu çalışma ile yabani ve kültüre alınmış dut türlerinin, UPGMA metodu kullanılarak elde edilen ISSR ve SSR soy ağacı analizi ile genetik yakınlıkları tespit edilmiştir (Zhao ve ark. 2007b).

Kafkas ve ark. (2008), 43 dut tipinin 8 AFLP primer kombinasyonunu kullanarak karakterizasyonunu yapmışlardır. Toplamda 416 markör elde edilmiş, bunun 337 tanesi polimorfik bulunmuştur. AFLP primerlerinin ayırma gücü 0.410-0.942 arasında değişmiştir. Polimorfizm bilgi içeriği ise 0.662-0.898 arasında bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada, 18 dut genotipinde genetik çeşitlilik ve genetik benzerlikler araştırılmıştır. 14 ISSR primerinin kullanıldığı çalışmada, tım primerler % 100 polimorfik bulunmuş olup toplamda 85 bant oluşmuştur. Elde edilen bantların bėyıklėđė 450-6200 baz çifti arasında değişmiştir (Prasanta ve ark. 2008).



### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Denemede kullanılan genotipler**

Denemede materyal olarak, Türemiş ve ark. (2004) tarafından Doğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinden seçilmiş olan, Selçuk Üniversitesi, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu ve Çukurova Üniversitesi koleksiyon bahçelerinde muhafaza edilen dut genotipleri kullanılmıştır. Denemede kullanılan 21 dut genotipinin türü, genotip isimleri, değerlendirilme şekilleri, seçildikleri yerler ve temin edildikleri genetik kaynakları Çizelge 3.1’de sunulmuştur.

**Çizelge 3.1** Denemede Kullanılan Dut Genotipleri ile Alındıkları Genetik Kaynaklar

Kod No	Değerlendirme Şekli	Genotiplerin Bulunduğu Kaynaklar	Genotiplerin Seçildiği Yerler	Genotiplerin Türü
23- Mrk-09	Sofralık	Konya, Selçuk Üniversitesi	Elazığ, Merkez	<i>Morus alba</i> L.
25- Uz-05	Sofralık	Konya, Selçuk Üniversitesi	Erzurum, Uzundere	<i>Morus alba</i> L.
25- Uz-08	Sofralık	Konya, Selçuk Üniversitesi	Erzurum, Uzundere	<i>Morus alba</i> L.
25- İS-204	Sofralık	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus alba</i> L.
24- Ke-09	Kurutmalık	Konya, Selçuk Üniversitesi	Erzincan, Kemaliye	<i>Morus alba</i> L.
24- Ke-10	Kurutmalık	Konya, Selçuk Üniversitesi	Erzincan, Kemaliye	<i>Morus alba</i> L.
25- İS-146	Kurutmalık	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus alba</i> L.
25- İS-147	Kurutmalık	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus alba</i> L.
25- Uz-01	Pekmezlik	Konya, Selçuk Üniversitesi	Erzurum, Uzundere	<i>Morus alba</i> L.
25- Uz-10	Pekmezlik	Konya, Selçuk Üniversitesi	Erzurum, Uzundere	<i>Morus alba</i> L.
25- Uz-18	Pekmezlik	Konya, Selçuk Üniversitesi	Erzurum, Uzundere	<i>Morus alba</i> L.
25- İS-110	Pekmezlik	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus alba</i> L.
25- İS-112	Pekmezlik	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus alba</i> L.
25- İS-123	Pekmezlik	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus alba</i> L.
25- İS-203	Pekmezlik	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus alba</i> L.
25- İS-205	Pekmezlik	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus alba</i> L.
25- İS-206	Pekmezlik	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus alba</i> L.
25- To -04	Pekmezlik	Konya, Selçuk Üniversitesi	Erzurum, Tortum	<i>Morus alba</i> L.
25- İS- 08	Meyve Suyu	İspir, Atatürk Üniversitesi İspir MYO	Erzurum, İspir	<i>Morus nigra</i> L.
01- Ka- D1	Şıralık	Adana, Çukurova Üniversitesi	Adana, Balcalı	<i>Morus nigra</i> L.
01- Ka- D2	Şıralık	Adana, Çukurova Üniversitesi	Adana, Balcalı	<i>Morus nigra</i> L.

### 3.1.2. Denemede kullanılan genotiplerin özellikleri

Denemede kullanılan 21 genotip değerlendirileme ve tüketim şekillerine göre 5 grupta toplanmıştır. Buna göre genotiplerin meyve özellikleri aşağıda sunulmuştur.

#### 3.1.2.1. Sofralık genotipler

**23-Mrk-09:** Ortalama meyve ağırlığı 3.95 g, SÇKM'si %22.4 olan ve sofralık olarak değerlendirilen genotip, Elazığ ili merkezinden selekte edilmiş olup, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-Uz-05:** Ortalama meyve ağırlığı 4.18 g, SÇKM'si %19.1 olan ve sofralık olarak değerlendirilen genotip, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-Uz-08:** Ortalama meyve ağırlığı 3.70 g, SÇKM'si %20.2 olan ve sofralık olarak değerlendirilen genotip, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-İs-204:** Ortalama meyve ağırlığı 3.90 g, SÇKM'si %21.6 olan ve sofralık olarak değerlendirilen genotip, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

### **3.1.2.2. Kurutmalık genotipler**

**24-Ke-09:** Ortalama meyve ağırlığı 2.25 g, SÇKM'si %25.73 olan ve kurutmalık olarak değerlendirilen genotip, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**24-Ke-10:** Ortalama meyve ağırlığı 2.42 g, SÇKM'si %24.9 olan ve kurutmalık olarak değerlendirilen genotip, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-İs-146:** Ortalama meyve ağırlığı 2.28 g, SÇKM'si %25.2 olan ve kurutmalık olarak değerlendirilen genotip, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-İs-147:** Ortalama meyve ağırlığı 3.19 g, SÇKM'si %23.9 olan ve kurutmalık olarak değerlendirilen genotip, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

### 3.1.2.3. Pekmezlik genotipler

**25-Uz-01:** Ortalama meyve ağırlığı 3.69 g, SÇKM'si %24.3 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-Uz-10:** Ortalama meyve ağırlığı 3.69 g, SÇKM'si %20.4 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-Uz-18:** Ortalama meyve ağırlığı 4.14 g, SÇKM'si %22.6 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-İs-110:** Ortalama meyve ağırlığı 3.88 g, SÇKM'si %21.8 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-İs-112:** Ortalama meyve ağırlığı 2.95 g, SÇKM'si %21.4 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-İs-123:** Ortalama meyve ağırlığı 3.57 g, SÇKM'si %23.7 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-İs-203:** Ortalama meyve ağırlığı 3.68 g, SÇKM'si % 19.5 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-İs-205:** Ortalama meyve ağırlığı 3.79 g, SÇKM'si %21.5 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**25-İs-206:** Ortalama meyve ağırlığı 4.28 g, SÇKM'si %21.9 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**24-To-04:** Ortalama meyve ağırlığı 3.68 g, SÇKM'si %23.8 olan ve pekmezlik olarak değerlendirilen genotip, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

#### **3.1.2.4. Meyve suyuna işlemeye uygun genotipler**

**25-İs-08:** Ortalama meyve ağırlığı 3.02 g, SÇKM'si %15.5 olan ve meyve suyuna işlemeye elverişli genotip Atatürk Üniversitesi İspir Meslek Yüksek Okulu'na ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

#### **3.1.2.5. Şıralığa uygun genotipler**

**01-Ka-D1:** Ortalama meyve ağırlığı 3.80 g, SÇKM'si %19.3 olan ve şıralık olarak değerlendirilen genotip, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

**01-Ka-D2:** Ortalama meyve ağırlığı 4.14 g, SÇKM'si %15.3 olan ve şıralık olarak değerlendirilen genotip, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait koleksiyon parselinde bulunmaktadır.

### **3.2. Metot**

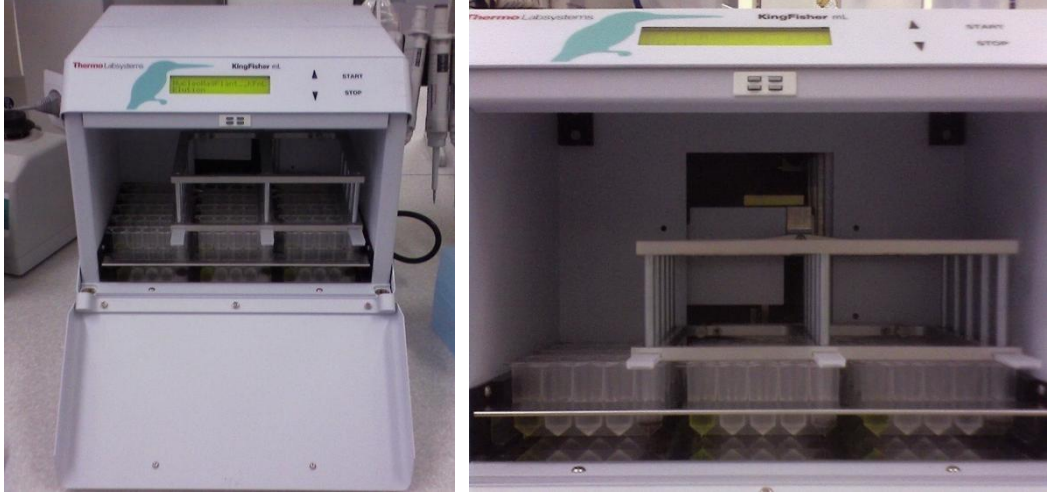
Bu araştırma 2008 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarında yürütülmüştür.

### **3.2.1. Yaprak örneklerinin alınması ve muhafazası**

Araştırmada, DNA izolasyonu için dut genotiplerinin yarı açılmış genç yaprakları kullanılmıştır. Genç yaprakların kullanılma nedeni, yaşlı yapraklarda DNA ile birlikte izole edilen bileşiklerden özellikle fenoller ve bunların oksidasyon ürünleri ile orta lamel ve hücre duvarından sentezlenen polimerik karbonhidratların DNA'ya bağlanarak birlikte izole edilmesi suretiyle ve DNA'nın saflığını bozmasıdır (Do ve Adams 1991, Doyle ve Doyle 1988, Fang ve ark 1992). Bu nedenle fenollerin ve polimerik karbonhidratların daha az bulunduğu sürgün uçlarındaki 2-3 genç yaprak alınmıştır. Alınan yaprak örnekleri saf su ile yıkandıktan sonra kese kâğıtları içerisine konulmuş ve buz kalıplarının desteğiyle köpük kutu içerisinde çalışmanın yapılacağı Çukurova Üniversitesi'ne götürülmüştür. Alınan yaprak örnekleri -85°C sıcaklıkta derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

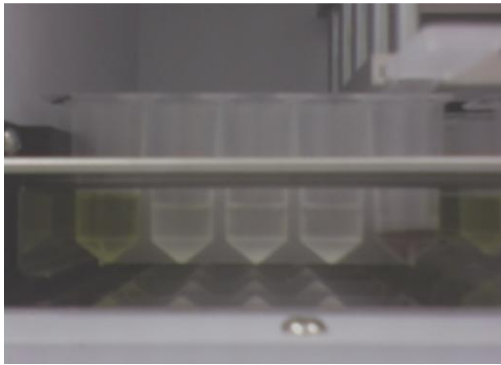
### **3.2.2. DNA İzolasyonu**

Bu araştırmada Doyle ve Doyle 'nin (1987) geliştirdiği ve Kafkas ve ark.'nin (2005) modifiye ettiği CTAB yöntemi denenmiş, ancak fenollerin DNA'dan uzaklaştırılması sağlanamamıştır. Bu nedenle DNA izolasyonu için Thermo firması tarafından geliştirilen Kingfisher mL adlı DNA izolasyon makinesi (Şekil 3.2) ve bu makineye ait NucleoMagPlant\_KFmL DNA izolasyon kiti kullanılmıştır.



**Şekil 3.1** Thermo Kingfisher mL DNA İzolasyon Makinesi

DNA izolasyonu yapılacak yaprak örnekleri seramik havan içerisinde sıvı azot ile ezildikten sonra 10 mg yaprak tozu tartılarak 2 ml'lik tüplere konulmuş ve üzerlerine 900 µl lysis tampon çözeltisi eklenerek bir saat 65°C'de su banyosunda bekletilmiştir. Su banyosunda çıkarılan tüplere 600 µl 1:24 oranında hazırlanmış kloroform: izoamil alkol çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında 15 dk bekletildikten sonra 15 dk 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası temiz kısımlar tüplerden alınarak NucleoMagPlant\_KFmL DNA izolasyon kiti gereğince A tüpüne aktarılmış ve bundan sonra makine sırayla B, C, D ve E tüplerinde (Şekil 3.2) çalkalama işlemleri gerçekleştirerek DNA izolasyonunu tamamlamıştır.



Tüp	Tüplerin İçeriği	Miktar (µl)
A	Lysis Çözeltisi	400
	Manyetik Parçacıklar	30
	Bağlayıcı Çözelti	400
B	Yıkama Çözeltisi	600
C	Yıkama Çözeltisi	600
D	% 80 Etil Alkol	600
E	Yıkama Çözeltisi	100

**Şekil 3.2** NucleoMagPlant\_KFmL DNA İzolasyon Kiti Tüpleri

**Çizelge 3.2** NucleoMagPlant\_KFmL DNA İzolasyon Kiti Tüplerinin İçeriği

### **3.2.3. DNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi**

PCR esaslı DNA moleküler markör teknikleri ile çalışırken kullanılan DNA konsantrasyonları büyük öneme sahiptir. Bu nedenle her bir genotipin PCR reaksiyonunda kullanılacak DNA miktarının iyi ayarlanması gerekmektedir. Bu araştırmada dut genotiplerinin DNA konsantrasyonu, %0.8'lik agaroz jelde konsantrasyonu belli  $\lambda$  DNA ile karşılaştırılması suretiyle belirlenmiştir. DNA konsantrasyonunun belirlenmesi için her bir örnek için toplam hacmi 20  $\mu$ l olacak şekilde 2  $\mu$ l stok DNA, 4  $\mu$ l jel yükleme boyası ve 14  $\mu$ l saf su konularak örnekler hazırlanmıştır. Hazırlanan örneklerden 10  $\mu$ l'si, %0.8 konsantrasyondaki agaroz jel üzerinde hazırlanmış yuvalara yerleştirilmiş ve elektroforezde 90 voltta 45 dakika süreyle ayrıştırılmıştır. UV jel görüntüleme cihazı yardımıyla elde edilen DNA yoğunlukları konsantrasyonu belli  $\lambda$  DNA'lar (25ng-50ng-100ng) ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Böylece her bir genotipten elde edilen stok DNA miktarı tahmin edilmiştir.

Stok DNA konsantrasyonları esas alınarak, PCR analizleri için her bir DNA örneğinin konsantrasyonu 5ng/ $\mu$ l olacak şekilde ayarlanmıştır.

### **3.2.4. RAPD Analizleri**

RAPD analizleri Williams ve ark.'nın (1990) geliştirdiği ve Kafkas ve ark.'nın (2006) modifiye ettiği yöntemle yapılmıştır. RAPD tekniğinde PCR, sıcaklık ve döngü koşulları Çizelge 3.3'de verilmiştir. RAPD reaksiyonunda kullanılan kimyasallar Çizelge 3.4'de verilmiştir. PCR reaksiyonları 25  $\mu$ l hacimde hazırlanmıştır.



**Çizelge 3.3** RAPD Tekniğinin Uygulanmasında PCR, Sıcaklık ve Döngü Koşulları

İşlem	Sıcaklık (°C)	Süre (sn)	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	94	120	1
Denatürasyon	94	45	35
Primerin DNA'ya bağlanma sıcaklığı	36	60	
Uzama safhası	72	120	
Son uzama safhası	72	300	1

**Çizelge 3.4** RAPD– PCR Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasallar

PCR Bileşenleri	Konsantrasyonlar
Tris- HCl pH=8.8	75 mM
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20 mM
Tween 20	%0.1
MgCl <sub>2</sub>	2 mM
dATP	100 µM
dCTP	100 µM
dGTP	100 µM
dTTP	100 µM
ISSR Primer	0.2 µM
Taq DNA Polimeraz	1.0 ünite
DNA	10 ng

Dut genotiplerinin karakterizasyonunda kullanılmak üzere ‘Operon Technologies’ firması tarafından üretilen ve daha önce dut çalışmalarında yüksek polimorfizm gösteren 20 RAPD primeri (Çizelge 3.5) seçilerek bu çalışmada kullanılmıştır.

**Çizelge 3.5** Çalışmada Kullanılan RAPD Primerlerinin Nükleik Asit Dizilimleri, Baz Sayıları ve DNA'ya Bağlanma Sıcaklıkları

Primer Kodu	Nükleik Asit Dizilimi (5'-3')	Baz sayısı	DNA'ya Bağlanma Sıcaklıkları (°C)
OP-B01	GTTTCGCTCC	10	36
OP-B02	TGATCCCTGG	10	36
OP-B03	CATCCCCCTG	10	36
OP-B08	GTCCACACGG	10	36
OP-G02	GGCACTGAGG	10	36
OP-G03	GAGCCCTCCA	10	36
OP-G04	AGCGTGTCTG	10	36
OP-G05	CTGAGACGGA	10	36
OP-G08	TCACGTCCAC	10	36
OP-G10	AGGGCCGTCT	10	36
OP-G11	TGCCCGTCGT	10	36
OP-G12	CAGCTCACGA	10	36
OP-G13	CTCTCCGCCA	10	36
OP-G14	GGATGAGACC	10	36
OPA-01	CAGGCCCTTC	10	36
OPA-02	TGCCGAGCTG	10	36
OPA-04	AATCGGGCTG	10	36
OPA-06	GGTCCCTGAG	10	36
OPA-12	TCGGCGATAG	10	36
OPA-13	CAGCACCCAC	10	36

21 dut genotipinin karakterizasyonu aşamalarında elde edilen PCR ürünleri 1x TBE tampon çözeltisi içerisinde (89 mM Tris-HCl, 89 mM borik asit, 20 mM EDTA) %1.8'lik agaroz jelde yatay elektroforezde koşturulduktan sonra etidyum bromit ile boyanmış ve UV altında fotoğrafları çekilmiştir. Elde edilen DNA bantlarının büyüklükleri  $\lambda$  DNA'nın *EcoRI* ve *HindIII* kesim enzimleri ile hazırlanan ve ticari olarak satılan DNA'sı (Şekil 3.4) kullanılarak hesaplanmıştır.

### 3.2.5. ISSR Analizleri

ISSR analizleri Zietkiewicz ve ark.'nın (1994) geliştirdiği ve Kafkas ve ark.'nın (2006) modifiye ettiği yönteme göre yapılmıştır. ISSR analizlerinde kullanılan PCR döngü koşulları ise izelge 3.6'de verilmiştir. Bu yönteme göre ISSR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları izelge 3.7'de verilmiştir. PCR reaksiyonları toplam 25 ml hacimde yapılmıştır.

**Çizelge 3.6** ISSR Tekniğinin Uygulanmasında PCR, Sıcaklık ve Döngü Koşulları

İşlem	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Döngü sayısı
n denatürasyon	94	2	1
Denatürasyon	94	1	40
Primerin DNA'ya bağlanma sıcaklığı	40–60	1	
Uzama safhası	72	2	
Son uzama safhası	72	7	1

**Çizelge 3.7** ISSR–PCR Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasallar

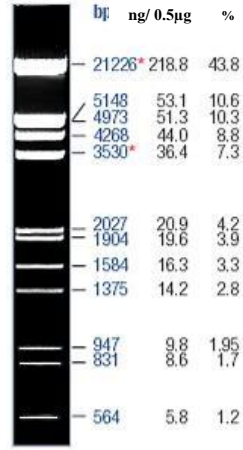
PCR Bileşenleri	Konsantrasyonlar
Tris- HCl pH=8.8	75 mM
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20 mM
Tween 20	%0.1
MgCl <sub>2</sub>	2 mM
dATP	100 µM
dCTP	100 µM
dGTP	100 µM
dTTP	100 µM
ISSR Primer	0.2 µM
Taq DNA Polimeraz	1.0 nite
DNA	10 ng

Dut genotiplerinin karakterizasyonunda kullanılmak üzere için UBC (University of British Columbia) tarafından üretilen ve daha önce dut çalışmalarında yüksek polimorfizm gösteren 11 ISSR primeri seçilerek bu çalışmada kullanılmıştır (Çizelge 3.8). Bu primerlerin nükleik asit dizilimleri farklı olduğu için kalıp DNA'ya yapışma sıcaklıkları da (annealing) farklıdır. Bu sıcaklıklar Kafkas ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada belirlenmiştir.

Primer Kodu	Nükleik Asit Dizilimi (5'– 3')	Baz sayısı	DNA'ya Bağlanma Sıcaklıkları (°C)
UBC-807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	17	50
UBC-808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	17	52
UBC-809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	17	52
UBC-810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	17	50
UBC-811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	17	52
UBC-812	GAG AGA GAG AGA GAG AC	17	50
UBC-826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	17	52
UBC-827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	17	52
UBC-835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	18	54
UBC-861	ACC ACC ACC ACC ACC ACC	18	54
UBC-881	GGG TGG GGT GGG GTG	18	60

**Çizelge 3.8** Çalışmada Kullanılan ISSR Primerlerinin Nükleik Asit Dizilimleri, Nükleik Asit Sayıları ve DNA'ya Bağlanma Sıcaklıkları

21 dut genotipinin karakterizasyonu aşamalarında elde edilen PCR ürünleri 1x TBE tampon çözeltisi içerisinde (89 mM Tris-HCl, 89 mM borik asit, 20 mM EDTA) %1.8'lik agaroz jelde yatay elektroforez edildikten sonra, etidyum bromit ile boyanmış ve UV altında fotoğrafları çekilmiştir. Elde edilen DNA bantlarının büyüklükleri  $\lambda$  DNA'nın *EcoRI* ve *HindIII* kesim enzimleri ile hazırlanan ve ticari olarak satılan DNA'sı kullanılarak hesaplanmıştır. Bu DNA'nın bant büyüklükleri sırası ile 564, 831, 947, 1375, 1584, 1904, 2027, 3520, 4268, 4973, 5148 ve 21226 baz çifti şeklindedir (Şekil 3.3).



**Şekil 3.3** λ DNA'nın *EcoRI* ve *HindIII* Kesim Enzimleri ile Hazırlanan DNA'sı

### 3.2.6. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan ISSR ve RAPD primerlerinin polimorfizm oranları, primerlerden elde edilen polimorfik bant sayılarının, toplam bant sayısına bölünüp 100 ile çarpılması ile bulunmuştur.

$$\text{Polimorfizm Oranı (\%)} = \frac{\text{Polimorfik Bant Sayısı}}{\text{Toplam Bant Sayısı}} \times 100$$

### 3.2.7. Primerlerin Polimorfizm Bilgi İçeriklerinin (PBI) Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) Smith ve ark.'na (1997) göre aşağıdaki formül yardımıyla belirlenmiştir. Buna göre, öncelikle polimorfik bantlarda toplam var (1) ve yok (0) olan bantların sayıları belirlenmiştir. Daha sonra bu bantların ayrı ayrı frekansları hesaplanmıştır. Formüle göre  $P_i$ , i bandının frekansıdır.

$$\text{PBI} = 1 - \sum P_i^2$$

### 3.2.8. Primerlerin Ayırma Güçlerinin Belirlenmesi

Çalışmada primerlerin ayırma güçleri Prevost ve Wilkinson (1999) tarafından geliştirilen aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır. Formüldeki p, I bandının 21 genotipteki oranıdır.

Ayırma gücü =  $\Sigma I_b$  burada

$$I_b = 1 - (2 \times |0.5 - p|)$$

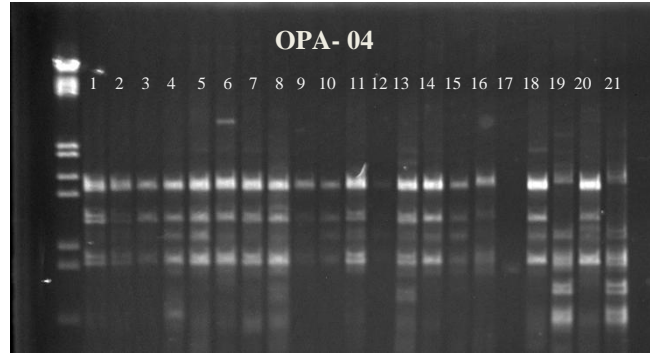
### 3.2.9. Soyağacı Analizleri

RAPD ve ISSR amplifikasyon ürünleri var (1) ya da yok (0) şeklinde değerlendirilmiş ve elde edilen veriler NTSYSpc 2.1 (Rohlf 2004) adlı bilgisayar paket programında analiz edilmiştir. Her bir markör tekniğinden elde edilen veriler ayrı ayrı değerlendirildiği gibi birlikte de değerlendirilmiştir. Genetik benzerlik indeksi NEI72'e göre hesaplanmıştır. Soyağacının elde edilmesinde UPGMA yöntemi kullanılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

### 4.1. RAPD Analizleri

Çalışmada kullanılan 20 RAPD primeri, daha önce dutta yapılan karakterizasyon çalışmalarında yüksek polimorfizm göstermiş olan RAPD primerlerinden seçilmiştir. Çalışma sonucunda 20 RAPD primerinden toplamda 173 bant elde edilirken, bunun 157'sinin (%90.75) polimorfik, 16 bandın ise monomorfik olduğu ve bu bantların büyüklüklerinin 400-2200 bp büyüklüğünde değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Kullanılan 20 RAPD primerinin 7'si tamamen monomorfik bant üretmiştir. Kullanılan 20 RAPD primerinin en fazla bant üreteni 14 bant ve %100 polimorfizm ile OPA-04 olmuştur.



**Şekil 4.1** OPA-04 Numaralı RAPD Primerinin 21 Dut Genotipindeki Amplifikasyon Görüntüsü. Sırasıyla Genotipler; **1.** 25-Uz-01, **2.** 25-Uz-10, **3.** 25-Uz-18 **4.** 25-İs-110 **5.** 25-İs-112 **6.** 25-İs-123 **7.** 25-İs-203 **8.** 25-İs-205 **9.** 25-İs-206 **10.** 25-To-04 **11.** 24-Ke-09 **12.** 24-Ke-10 **13.** 25-İs-146 **14.** 25-İs-147 **15.** 23-Mrk-09 **16.** 25-Uz-05 **17.** 25-Uz-08 **18.** 25-İs-204 **19.** 01-Ka-D1 **20.** 01-Ka-D2 **21.** 25-İs-08

Şekil 4.1'de görüldüğü gibi, OPA-04 RAPD primerinin 21 dut genotipinde yapılan PCR amplifikasyonu sonucu 14 bant oluşmuştur ve bu bantların tamamı polimorfik çıkmıştır. Elde edilen bantların büyüklüklerinin 500-1550 bp arasında olduğu bulunmuştur.

#### **4.1.1. Dut Genotiplerinin, RAPD Yöntemi ile Karakterizasyonunda Polimorfizm ve Ayırma Gücü**

Elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinden çok güçlü ve belirgin olan bantlar dikkate alınarak var (1) ve yok (0) şeklinde değerlendirme yapılmıştır. Bu değerlendirmeler sonucunda elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çalışmada kullanılan 20 RAPD primeri değerlendirildiğinde 173 bant elde edilirken, bunun 157’si polimorfik bulunmuş, primer başına düşen toplam bant sayısı 4-13 (ortalama 8.65) arasında değişmiştir. Elde ettiğimiz primer başına ortalama bant sayısı (8.65 adet) Vijayan (2003), Vijayan ve ark. (2004), Chatterjee ve ark. (2004), Bhattacharya ve Ranade (2001) ile Awasthi ve ark. (2004)’nın elde ettikleri sonuçlardan yüksek bulunmuştur.

Primer başına düşen polimorfik bant sayısı 4-13 arasında (ortalama 7.85) değişkenlik göstermiştir. Toplam bant sayıları bakımından OPA-04 primeri en yüksek sayıda (13 adet), OPB-02 primeri ise en düşük sayıda (4 adet) bant üretmiştir. Polimorfik bant sayıları bakımından OPA-04 primeri en yüksek sayıda (13 adet), OPB-02 primeri ise en düşük sayıda (4 adet) bant üretmiştir. Bu çalışmada OPA-01 ve OPA-02 primerlerinden 9 bant elde edilirken, OPA-01 primerinin 8 bandı ve OPA-02 primerinin de tüm bantları monomorfik bulunmuştur.

Primerlerin polimorfizm oranı %91.63 olarak hesaplanırken, dutta yapılan diğer çalışmalara baktığımızda, elde etmiş olduğumuz sonuç, Vijayan (2003), Bhattacharya ve Ranade (2001)’nin elde ettikleri sonuçlardan yüksek; Chatterjee ve ark. (2004) elde ettiği sonuçtan (%94) ise düşük çıkmıştır. Kullandığımız primerlerden OP-B02, OP-B03, OP-G03, OP-G11, OP-G12, OP-G14, OPA-02, OPA-04, OPA-06 ve OPA-12 primerleri en yüksek polimorfizm değerine (%100), OPA-13 ve OP-G10 primerleri de en düşük polimorfizm değerine (%75) sahip olmuştur.



**Çizelge 4.1** RAPD Primerlerinin PCR Amplifikasyonu Sonucu Elde Edilen Toplam Bant Sayıları (TBS), Polimorfik Bant Sayıları (PBS), Polimorfizm Oranı (PO), Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBİ) ve Ayırma Gücü (AG) Değerleri

<b>Primer</b>	<b>TBS</b>	<b>PBS</b>	<b>PO</b>	<b>PBİ</b>	<b>AG</b>
OP-B01	12	10	83.33	0.566	1.580
OP-B02	4	4	100.00	0.914	0.523
OP-B03	8	8	100.00	0.611	1.023
OP-B08	12	10	83.33	0.450	1.761
OP-G02	8	7	87.50	0.871	1.482
OP-G03	9	9	100.00	0.952	1.661
OP-G04	8	7	87.50	0.576	1.537
OP-G05	11	10	90.90	0.525	1.447
OP-G08	6	5	83.33	0.479	1.790
OP-G10	8	6	75.00	0.670	1.571
OP-G11	8	8	100.00	0.804	0.714
OP-G12	6	6	100.00	0.539	1.190
OP-G13	9	7	77.77	0.459	1.863
OP-G14	8	8	100.00	0.381	1.404
OPA-01	9	8	88.88	0.495	1.571
OPA-02	9	9	100.00	0.549	1.132
OPA-04	13	13	100.00	0.574	1.113
OPA-06	5	5	100.00	0.883	0.666
OPA-12	8	8	100.00	0.644	0.964
OPA-13	12	9	75.00	0.419	2.052
<b>Toplam</b>	<b>173</b>	<b>157</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>27.044</b>
<b>Ortalama</b>	<b>8.65</b>	<b>7.85</b>	<b>91.63</b>	<b>0.618</b>	<b>-</b>

Polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) değeri 0.381-0.952 arasında değişirken, en yüksek değer OP-G03 primerinden, en düşük ise OP-G14 primerinden elde edilmiştir. Ortalama PBİ değeri (0.618), Vijayan (2003)'nın yapmış olduğu çalışmanın PBİ değerinden yüksek bulunmuştur.

Kullanılan 20 RAPD primerinin ayırma gücü (AG) değerleri incelendiğinde ise toplam ayırma gücü 27.044 olarak hesaplanmış olup, en yüksek değer 2.052 ile OPA-13 primerinden en düşük değer de 0.523 ile OP-B02 primerinden elde edilmiştir.

#### **4.1.2. Dut Genotipleri Arasındaki Genetik İlişkinin RAPD Analizi ile Belirlenmesi**

Yapılan soy ağacı analiz sonuçlarına göre dut genotipleri arasındaki genetik benzerlik indeksinin 0.45-0.98 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmada yer alan tüm dut genotipleri arasındaki NEI72 genetik benzerlik katsayıları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

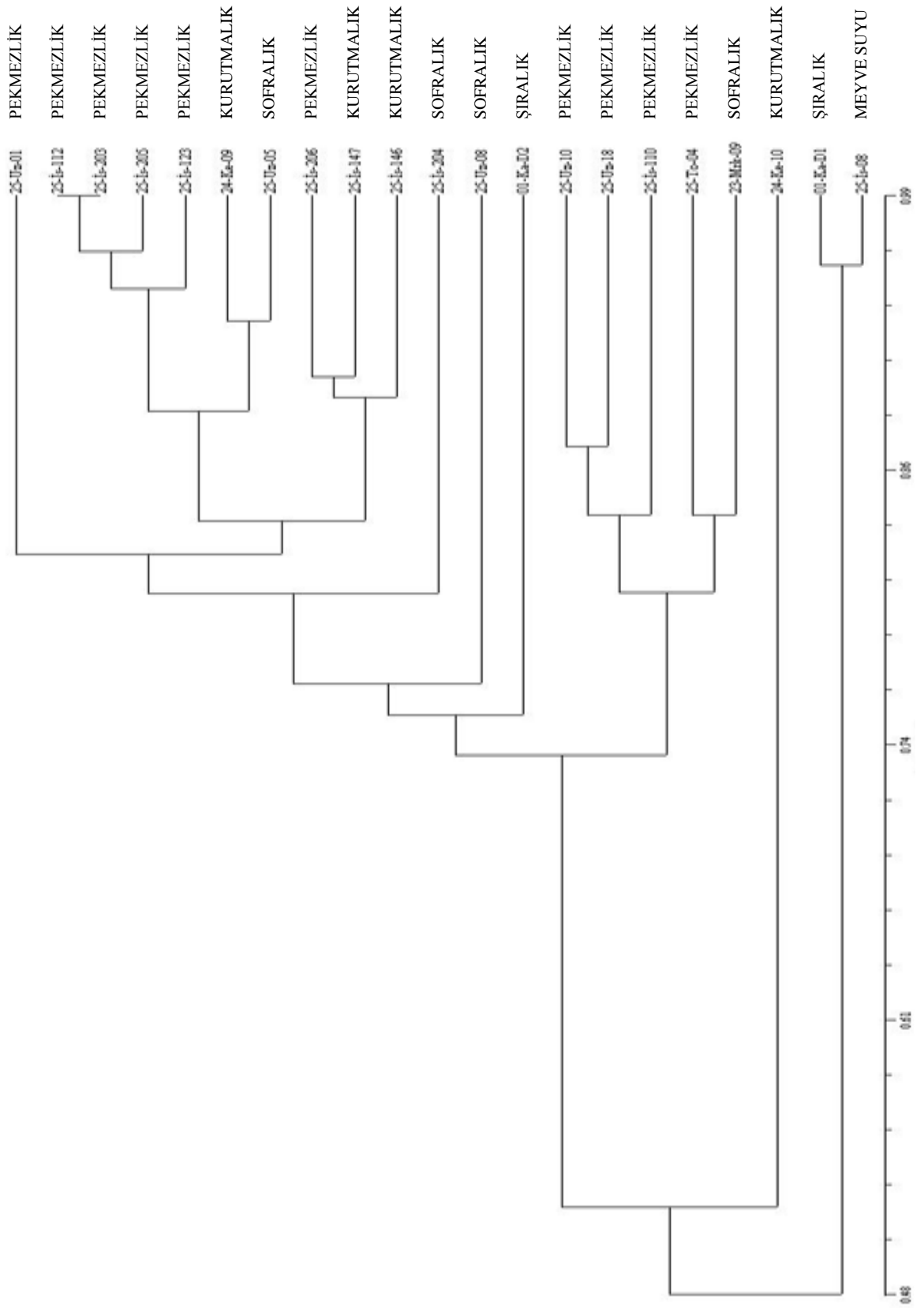
20 adet dut genotipi genetik benzerlik yönünden incelendiğinde, genotipler arasında en yakın benzerlik 25-İs-112 ile 25-İs-203 (0.98), 25-İs-112 ile 25-İs-205 (0.96), 25-İs-203 ile 25-İs-205 (0.96), 01-Ka-D1 ile 25-İs-08 (0.95), 25-İs-112 ile 25-İs-123 (0.95), 25-İs-123 ile 25-İs-204 (0.94), 24-Ke-09 ile 25-Uz-05 (0.93), 25-İs-206 ile 25-İs-147 (0.91), 25-İs-205 ile 24-Ke-09 (0.91), 25-İs-112 ile 24-Ke-09 (0.90), 24-Ke-09 ile 25-İs-203 (0.90), 25-İs-206 ile 25-İs-146 (0.90), 25-Uz-05 ile 25-İs-205 (0.90) arasında olmuştur. Genetik olarak birbirine uzak genotipler ise 25-İs-123 ile 24-Ke-10 (0.42), 01-Ka-D1 ile 01-Ka-D2 (0.45), 25-İs-203 ile 24-Ke-10 (0.45), 25-İs-205 ile 24-Ke-10 (0.45), 25-İs-112 ile 24-Ke-10 (0.46), 24-Ke-09 ile 24-Ke-10 (0.46), 01-Ka-D2 ile 25-İs-08 (0.46), 25-İs-112 ile 01-Ka-D1 (0.47), 25-İs-204 ile 01-Ka-D1 (0.48), 25-İs-123 ile 01-Ka-D1 (0.49), 25-İs-203 ile 01-Ka-D1 (0.49) ve 25-İs-205 ile 01-Ka-D1 (0.49) olarak belirlenmiştir.

#### **4.1.3. Dut Genotiplerinin Soyağacı Analizleri**

Yapılan analizler sonucunda tüm dut genotipleri birbirinden ayrılmıştır. Oluşturulan soyağacında 2 ana grup ve bu gruplara bağlı alt gruplar oluşmuştur (Şekil 4.2). Birinci ana grup 01-Ka-D1 ve 25-İs-08 genotipleri tarafından oluşturulurken, ikinci ana grup 2 alt gruba ayrılmıştır. Alt grupların birincisini 24-Ke-10 genotipi oluştururken, geriye kalan 18 genotip ikinci alt grubu oluşturmuştur. İkinci alt grupta genetik benzerlik katsayısı yaklaşık 0.73 değerinde 2 alt gruba ayrılmıştır.

Soyağacına göre Erzincan ili Kemaliye ilçesinden seçilen 24-Ke-10 genotipi ile Erzurum ili İspir ilçesinden seçilen 25-İs-123 genotiplerinin genetik olarak (0.46) birbirlerine çok uzak oldukları bulunmuştur. Ayrıca genetik olarak birbirine en yakın (0.98) genotiplerin de Erzurum ili İspir ilçesinden seçilmiş 25-İs-112 ile 25-İs-203 genotipleri olduğu bulunmuştur.





**Şekil 4.2** Dut Genotiplerinde RAPD Yönteminin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Soyağacı

#### 4.1.4. Dut Türleri ve Genotipleri Arasında Saptanan Genetik Benzerlik Katsayıları

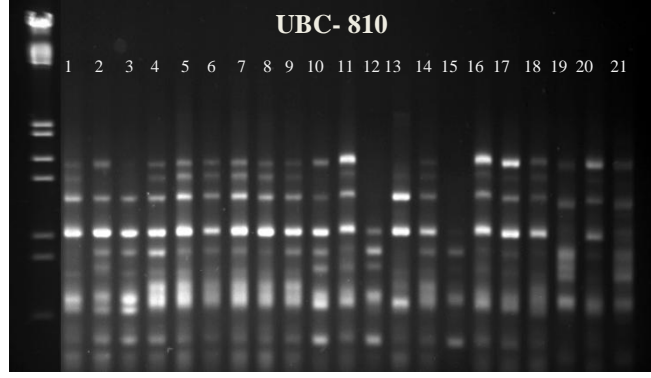
Çalışmada elde etmiş olduğumuz genetik benzerlik katsayıları tablosundan yararlanılarak hazırlanan gruplandırma tablosu Çizelge 4.3’de verilmiştir. Dut genotipleri arasında saptanan genetik benzerlik katsayılarının yaklaşık %78’i 0.699-0.999 arasında yer alırken dut türleri arasında ise bu dağılımın yaklaşık %32’nin 0.699-0.999 arasında olduğu belirlenmiştir.

**Çizelge 4.3** Dut Genotipleri ve Türleri Arasında Oluşan Genetik Benzerlik Katsayılarının Gruplandırılması

Genetik Benzerlik Katsayısı	Genotipler Arası		Türler Arası	
	Adet	%	Adet	%
0.999- 1.000	15	7.14	0	0
0.899- 0.900	72	34.28	4	7.40
0.799- 0.800	58	27.61	12	22.22
0.699- 0.700	15	7.14	1	1.85
0.599- 0.600	37	17.61	31	57.40
0.499- 0.000	13	6.19	6	11.11
<b>Toplam</b>	210	100	54	100

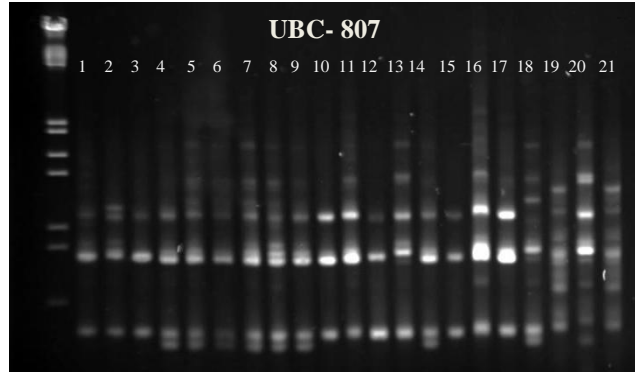
#### 4.2. ISSR Analizleri

Çalışmada kullanılan 11 ISSR primeri, daha önce dutta yapılan karakterizasyon çalışmalarında yüksek polimorfizm gösteren primerlerden seçilmiştir. Çalışma sonucunda 11 ISSR primerinden toplamda 128 bant elde edilirken, bunun 124’ü (%96.55) polimorfik, 4 bantın ise monomorfik olduğu ve bu bantların büyüklüklerinin 520-2200 bp arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Kullanılan 11 ISSR primerinin tamamı polimorfik bant üretirken, UBC-881 no’lu ISSR primeri %100 polimorfizm ile 21 bant üreterek öne çıkmıştır.



**Şekil 4.3** UBC-810 Numaralı ISSR Primerinin 21 Dut Genotipindeki Amplifikasyon Görüntüsü. Sırasıyla Genotipler; **1.** 25-Uz-01, **2.** 25-Uz-10, **3.** 25-Uz-18 **4.** 25-İs-110 **5.** 25-İs-112 **6.** 25-İs-123 **7.** 25-İs-203 **8.** 25-İs-205 **9.** 25-İs-206 **10.** 25-To-04 **11.** 24-Ke-09 **12.** 24-Ke-10 **13.** 25-İs-146 **14.** 25-İs-147 **15.** 23-Mrk-09 **16.** 25-Uz-05 **17.** 25-Uz-08 **18.** 25-İs-204 **19.** 01-Ka-D1 **20.** 01-Ka-D2 **21.** 25-İs-08

Şekil 4.3’de görüldüğü gibi, UBC-810 ISSR primeri 21 dut genotipinde yapılan PCR amplifikasyonu sonucu 12 bant oluşmuştur ve bu bantların 11’i polimorfik çıkmıştır. Elde edilen markörlerin büyüklükleri 520-1500 bp arasında değişmiştir.



**Şekil 4.4** UBC-807 Numaralı ISSR Primerinin 21 Dut Genotipindeki Amplifikasyon Görüntüsü. Sırasıyla Genotipler; **1.** 25-Uz-01, **2.** 25-Uz-10, **3.** 25-Uz-18 **4.** 25-İs-110 **5.** 25-İs-112 **6.** 25-İs-123 **7.** 25-İs-203 **8.** 25-İs-205 **9.** 25-İs-206 **10.** 25-To-04 **11.** 24-Ke-09 **12.** 24-Ke-10 **13.** 25-İs-146 **14.** 25-İs-147 **15.** 23-Mrk-09 **16.** 25-Uz-05 **17.** 25-Uz-08 **18.** 25-İs-204 **19.** 01-Ka-D1 **20.** 01-Ka-D2 **21.** 25-İs-08

Şekil 4.4’de görüldüğü gibi, UBC-807 ISSR primerinin 21 dut genotipinde yapılan PCR amplifikasyonu sonucu 16 bant oluşmuştur ve bu bantların 15’i polimorfik çıkmıştır. Elde edilen markörlerin büyüklükleri 520-2100 bp arasında değişmiştir.

#### 4.2.1. ISSR Primerlerinin Polimorfizm ve Ayırma Gücü

Elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinden çok güçlü ve belirgin olanlar dikkate alınarak bantlarda var (1) ve yok (0) değerlendirmesi yapılmıştır. Bu değerlendirmeler sonucunda elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO) ve polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri Çizelge 4.4’de sunulmuştur.

Çalışmada kullanılan 11 ISSR primeri değerlendirildiğinde toplam 128 bant elde edilirken, bunun 124’ü polimorfik bulunmuş, primer başına düşen toplam bant sayısı 7-21 (ortalama 11.64) arasında değişmiştir.

**Çizelge 4.4** ISSR Primerlerinin PCR Amplifikasyonu Sonucu Elde Edilen Toplam Bant Sayıları (TBS), Polimorfik Bant Sayıları (PBS), Polimorfizm Oranı (PO), Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBI) ve Ayırma Gücü (AG) Değerleri

Primer	TBS	PBS	PO	PBI	AG
UBC-807	16	15	93.75	0.79	0.83
UBC-808	10	10	100.00	0.56	1.16
UBC-809	11	10	90.91	0.68	1.21
UBC-810	12	11	91.67	0.46	1.56
UBC-811	7	7	100.00	0.58	1.03
UBC-812	7	7	100.00	0.68	0.97
UBC-826	15	15	100.00	0.39	1.82
UBC-827	11	11	100.00	0.55	1.16
UBC-835	11	11	100.00	0.68	1.00
UBC-861	7	6	85.71	0.66	1.35
UBC-881	21	21	100.00	0.83	0.73
<b>Toplam</b>	<b>128</b>	<b>124</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>12.83</b>
<b>Ortalama</b>	<b>11.64</b>	<b>11.27</b>	<b>96.55</b>	<b>0.62</b>	<b>-</b>



Polimorfizm bilgi içeriği (PBI) değeri 0.39-0.83 arasında değişirken en yüksek değer UBC-881 primerinden, en düşük değer ise UBC-826 primerinden elde edilmiştir. Awasthi ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada PBI değeri 0.220-0.728 arasında değişirken, çalışmamızda elde etmiş olduğumuz PBI değerlerinin bu çalışmadan yüksek çıkmıştır.

Kullanılan 11 ISSR primerinin ayırma gücü (AG) değerleri incelendiğinde ise toplam ayırma gücü 12.83 olarak saptanmış olup, en yüksek değer 1.82 ile UBC-826 primerinden en düşük değer 0.73 ile UBC-81 primerinden elde edilmiştir,

#### **4.2.2. Dut Genotipleri Arasında Belirlenen Genetik Benzerlik Katsayıları**

Araştırmada yer alan tüm dut genotipler arasındaki NEI72 genetik benzerlik katsayıları Çizelge 4.3’de verilmiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre dut genotipleri arasındaki genetik benzerlik indeksinin 0.32-0.96 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

20 adet dut genotipi genetik benzerlik yönünden incelendiğinde, birbirine en yakın genotipler 25-İs-112 ile 25-İs-203 (0.96), 25-İs-112 ile 25-İs-123 (0.94), 25-İs-203 ile 25-İs-123 (0.94), 25-İs-205 ile 25-İs-203 (0.93), 25-İs-08 ile 01-Ka-D1 (0.92), 25-İs-206 ile 25-İs-112 (0.91), 25-İs-205 ile 25-İs-112 (0.90) arasında olmuştur. Genetik olarak en uzak genotipler ise 25-İs-08 ile 01-Ka-D2 (0.32), 01-Ka-D2 ile 01-Ka-D1 (0.33), 01-Ka-D1 ile 25-Uz-05 (0.38), 25-İs-08 ile 25-İs-205 (0.39), 01-Ka-D1 ile 25-İs-123 (0.29) ve 01-Ka-D1 ile 25-İs-146 (0.39) arasında olmuştur.

#### **4.2.3. Dut Genotiplerinin Soyağacı Analizleri**

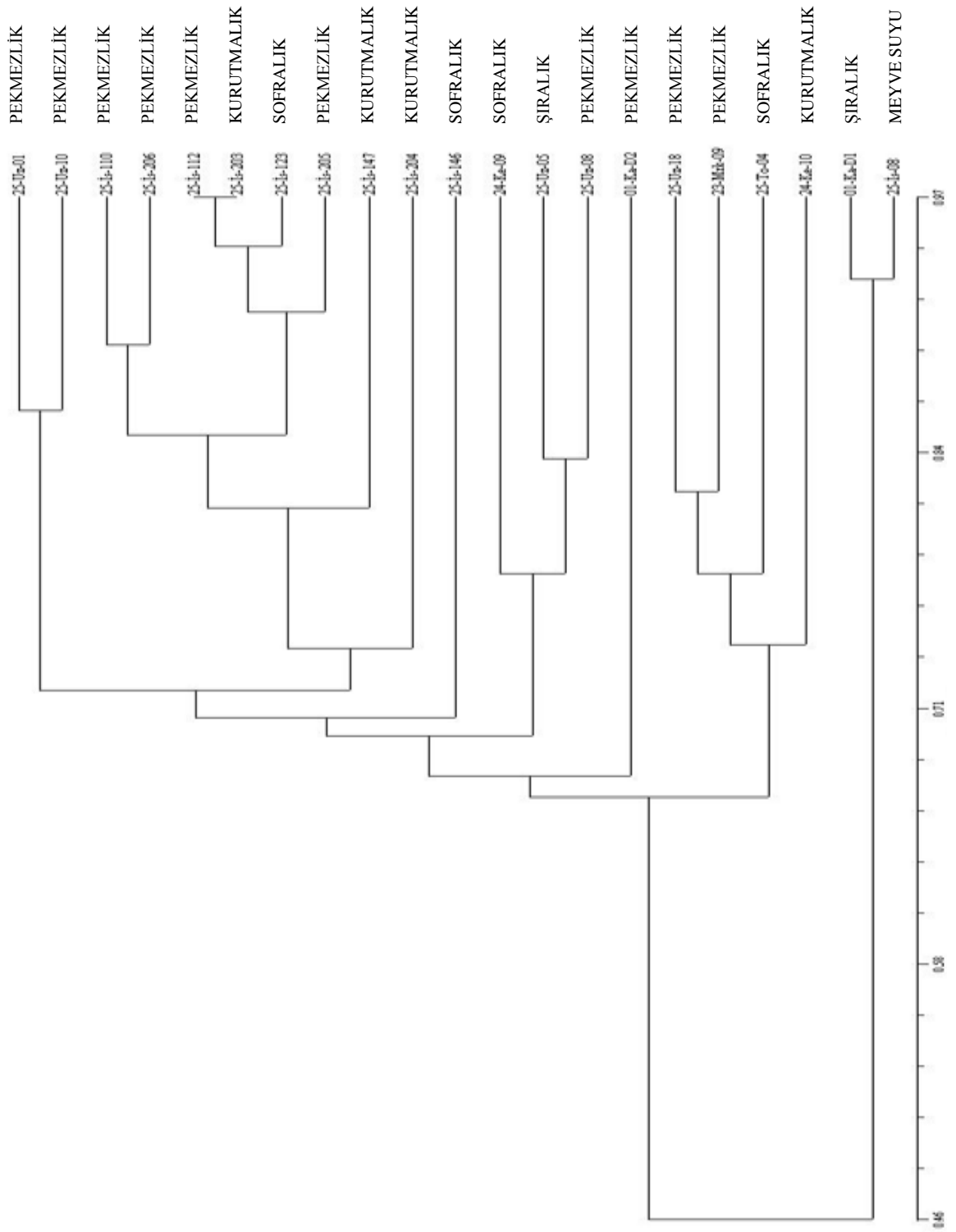
Çalışmada tüm dut genotipleri birbirinden ayrılmıştır. Oluşturulan soyağacında 2 ana grup ve bu gruplara bağlı alt gruplar oluşmuştur (Şekil 4.5). Birinci ana grup 01-Ka-D1 ve 25-İs-08 genotipleri tarafından oluşturulurken, ikinci

ana grup 2 alt gruba ayrılmıştır. Alt grupların birincisini 24-Ke-10, 25-To-04, 23-Mrk-09 ve 25-Uz-18 genotiplerinden oluştururken, geriye kalan 15 genotip ikinci alt grubu oluşturmuştur. İkinci alt grupta genetik benzerlik katsayısı yaklaşık 0.66 değerinde 2 alt gruba ayrılmış bunlardan birincisini 01-Ka-D1 (*Morus nigra* L.) genotipi oluştururken, geriye kalan 14 genotip ikinci alt grubu meydana getirmişlerdir.

RAPD yöntemi ile oluşturulan dendogramda elde edilen bazı benzerlikler ISSR yöntemi ile de elde edilmiştir.

	25-Uz-01	25-Uz-10	25-Uz-18	25-Uz-110	25-Uz-112	25-Uz-123	25-Uz-203	25-Uz-205	25-Uz-206	25-To-04	24-Ke-09	24-Ke-10	25-Uz-146	25-Uz-147	23-Mr-09	25-Uz-05	25-Uz-08	25-Uz-204	01-Ka-D1	01-Ka-D2	25-Uz-08
	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
	0.86	0.79	0.77	0.85	0.94	0.94	0.93	0.84	0.71	0.70	0.73	0.68	0.76	0.71	0.74	0.83	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
	0.78	0.79	0.77	0.81	0.94	0.85	0.87	0.84	0.71	0.73	0.68	0.73	0.65	0.69	0.66	0.66	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68
	0.82	0.77	0.79	0.83	<b>0.96</b>	0.94	0.94	0.84	0.60	0.70	0.66	0.66	0.59	0.66	0.66	0.66	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68
	0.76	0.67	0.71	0.80	0.90	0.89	0.93	0.84	0.60	0.70	0.68	0.73	0.62	0.68	0.66	0.76	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
	0.72	0.64	0.70	0.81	0.94	0.85	0.87	0.84	0.71	0.73	0.68	0.73	0.62	0.68	0.66	0.76	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
	0.76	0.67	0.73	0.80	<b>0.90</b>	0.89	0.93	0.84	0.60	0.70	0.68	0.73	0.62	0.68	0.66	0.76	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
	0.78	0.73	0.75	0.89	0.91	0.85	0.87	0.84	0.60	0.70	0.68	0.73	0.62	0.68	0.66	0.76	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
	0.63	0.70	0.77	0.72	0.68	0.66	0.65	0.60	0.71	0.70	0.68	0.73	0.62	0.68	0.66	0.76	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
	0.64	0.62	0.64	0.68	0.68	0.71	0.70	0.68	0.73	0.70	0.68	0.73	0.62	0.68	0.66	0.76	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
	0.61	0.72	0.76	0.63	0.60	0.61	0.59	0.54	0.63	0.73	0.57	0.57	0.59	0.66	0.66	0.73	0.65	0.71	0.66	0.66	0.66
	0.70	0.69	0.68	0.66	0.69	0.70	0.73	0.76	0.67	0.61	0.66	0.66	0.59	0.66	0.66	0.66	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68
	0.74	0.67	0.73	0.80	0.82	0.79	0.80	0.80	0.84	0.68	0.73	0.73	0.62	0.68	0.66	0.76	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
	0.68	0.71	0.82	0.71	0.64	0.63	0.61	0.58	0.68	0.77	0.66	0.66	0.73	0.71	0.66	0.65	0.71	0.65	0.66	0.66	0.66
	0.66	0.62	0.64	0.65	0.68	0.66	0.67	0.63	0.68	0.67	0.78	0.57	0.57	0.68	0.66	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68
	0.69	0.70	0.79	0.75	0.75	0.71	0.73	0.68	0.79	0.80	0.77	0.70	0.71	0.77	0.74	0.83	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77
	0.68	0.63	0.68	0.71	0.77	0.75	0.77	0.73	0.73	0.61	0.68	0.59	0.67	0.69	0.60	0.73	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
	0.47	0.54	0.50	0.43	0.41	0.39	0.40	0.40	0.44	0.54	0.40	0.59	0.59	0.41	0.45	0.38	0.48	0.45	0.45	0.45	0.45
	0.59	0.57	0.63	0.68	0.73	0.71	0.72	0.68	0.71	0.63	0.67	0.52	0.52	0.68	0.61	0.67	0.70	0.68	0.68	0.68	0.68
	0.50	0.57	0.54	0.44	0.41	0.40	0.41	0.39	0.45	0.54	0.42	0.63	0.40	0.44	0.50	0.41	0.50	0.48	0.92	0.32	0.32

**Çizelge 4.2** Denemede Yer Alan Dut Genotipleri Arasındaki ISSR Verilerine Ait NEI72 Genetik Benzerlik Katsayıları Tablosu



**Şekil 4.2** Dut Genotiplerinde ISSR Yönteminin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Soyağacı

#### 4.2.4. Dut Türleri ve Genotipleri Arasında Saptanan Genetik Benzerlik Katsayıları

Çalışmada elde etmiş olduğumuz genetik benzerlik katsayıları tablosuna göre elde edilen gruplandırma Çizelge 4.6'da verilmiştir. Dut genotipleri arasında oluşturulan genetik benzerlik katsayılarının dağılımının yaklaşık %76'sının 0.699-0.999 arasında yer aldığı, dut türleri arasında ise bu dağılımın yaklaşık %30'nun 0.699-0.999 arasında olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre genotipler arasındaki polimorfizm oranı türler arasındakine göre çok daha yüksek bulunmuştur.

**Çizelge 4.6** Dut Genotipleri ve Türleri Arasında Oluşan Genetik Benzerlik Katsayılarının Gruplandırılması

Genetik Benzerlik Katsayıları	Genotipler Arası		Türler Arası	
	Adet	%	Adet	%
0.999- 0.999	7	3.33	0	0
0.899- 0.900	19	9.04	0	0
0.799- 0.800	65	30.95	5	9.25
0.699- 0.700	72	34.28	11	20.37
0.599- 0.600	20	9.52	13	24.07
0.499- 0.000	21	10.00	21	38.88
0.399-0.000	6	2.85	4	7.40
<b>Toplam</b>	210	100	54	100

### 4.3. RAPD ve ISSR Verilerinin Karşılaştırılmalı Analizleri

#### 4.3.1. RAPD ve ISSR Yöntemlerinin Polimorfizm ve Ayırma Gücü Yönünden Karşılaştırılması

RAPD ve ISSR yöntemlerinin polimorfizm ve ayırma gücü bakımından karşılaştırmaları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

**Çizelge 4.7** RAPD ve ISSR Primerlerinin PCR Amplifikasyonu Sonunda Elde Edilen Primer Başına Düşen Toplam Bant Sayısı (PBDTBS), Primer Başına Düşen Polimorfik Bant Sayısı (PBDPBS), Toplam Bant Sayıları (TBS), Polimorfik Bant Sayısı (PBS), Polimorfizm Oranı (PO), Polimorfizm Bilgi İçeriği (PBİ), Ayırma Gücü (AG) Değerleri

	PBDTBS	PBDPBS	PBS	TBS	PO	PBİ	AG
<b>RAPD</b>	8.65	7.85	157	173	91.63	0.61	27.04
<b>ISSR</b>	11.64	11.27	124	128	96.55	0.62	12.83

RAPD ve ISSR yöntemleri polimorfizm ve ayırma gücü yönünden karşılaştırıldığında, RAPD primerleri ile 173 bant elde edilmiş, bunun %91.63’ü (157 adet) polimorfik, ISSR primerlerinden ise 128 bant elde edilirken, bunun %96.55’i (124 adet) polimorfik olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre polimorfik bant sayıları bakımından RAPD primerleri çalışılan dut genotiplerinde daha başarılı sonuç vermiştir. Polimorfizm yüzdelerine baktığımızda, polimorfik bant sayılarında üstün olan RAPD primerleri ISSR primerlerinde düşük bir yüzdeye sahip olmuşlardır. Yöntemlerin polimorfizm bilgi içerikleri karşılaştırıldığında ISSR primerlerinden elde edilen PBİ değeri (0.62) RAPD primerlerinden (0.61) elde edilen değerden yüksek bulunmuştur. Bu değerler ISSR yönteminin RAPD yönteminden daha polimorfik bir yöntem olduğunu ortaya koymuştur. Primerlerin ayırma güçlerinin karşılaştırıldığında RAPD primerlerinin ISSR primerlerinden yüksek değerlere sahip olduğu bulunmuştur.

#### 4.3.2. Dut Genotipleri Arasındaki Genetik İlişkinin, RAPD ve ISSR Verilerinin Birlikte Değerlendirilmesi ile Belirlenmesi

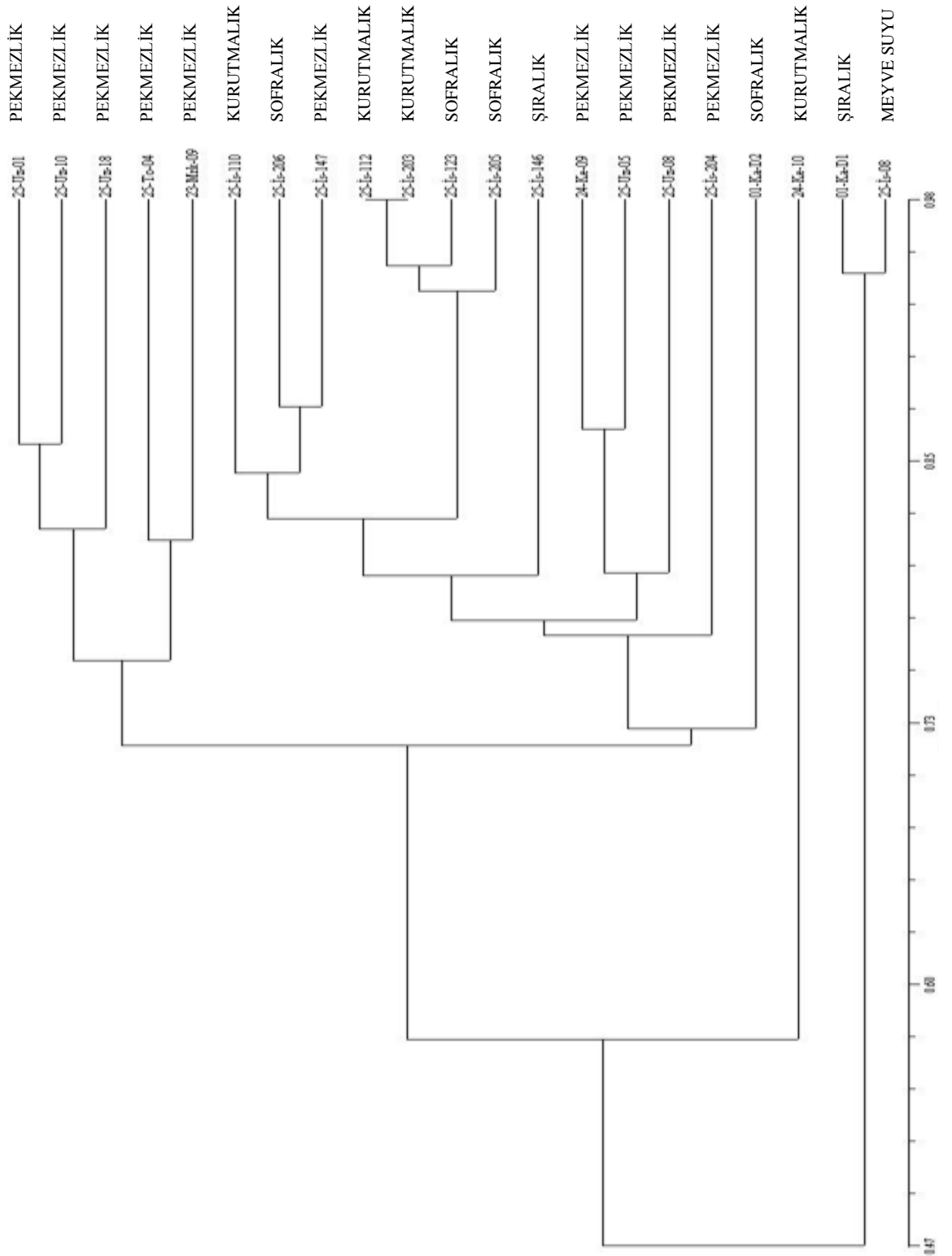
RAPD ve ISSR verilerinin istatistiksel olarak birlikte değerlendirilmesi sonucu elde edilen genetik benzerlik katsayısı 0.36-0.97 arasında değişim göstermiştir. Tüm dut genotipleri arasındaki benzerlik katsayıları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

21 dut genotipi içerisinde genetik olarak birbirine en yakın olanlar 25-İs-203 ile 25-İs-112 (0.97), 25-İs-205 ile 25-İs-203 (0.95), 25-İs-203 ile 25-İs-123 (0.94), 25-İs-123 ile 25-İs-112 (0.94), 25-İs-205 ile 25-İs-112 (0.93) olarak bulunurken, en uzak genotipler 01-Ka-D1 ile 25-İs-204 (0.36) ve 25-İs-208 ile 01-Ka-D1 (0.37) bulunmuştur.

RAPD ve ISSR verilerinin beraber değerlendirilmesi sonucu elde edilen soyağacı, RAPD ve ISSR sonuçlarına göre elde edilen soyağaçları gibi genotipleri iki ana grup altında toplanmıştır. Birinci grup *Morus nigra* L. türü içerisine giren 01-Ka-D1 ile 25-İs-08 genotipleri tarafından oluşturulmuştur. İkinci ana grup içerisinde alt gruplar oluşmuştur. İkinci ana grup 01-Ka-D2 genotipi (*Morus nigra* L.) hariç *Morus alba* L. türü içerisine giren genotipler tarafından oluşturulmuştur. Elde edilen dendogram grafiğinde birbirine en yakın genotiplerin 25-İs-112 ile 25-İs-203 no’lu genotipler olduğu bu sonucun RAPD ve ISSR yöntemleri ile elde edilen dendogram grafiklerinde de benzer olduğu bulunmuştur. Bu genetik yakınlığın coğrafi orijinden kaynaklandığı düşünülmektedir. RAPD, ISSR ve RAPD+ISSR yöntemleri ile elde edilen genetik benzerlik katsayıları incelendiğinde bu iki genotip arasındaki benzerlik katsayıları sırasıyla 0.98, 0.96 ve 0.97 olarak hesaplanmıştır.







**Şekil 4.6** Dut Genotiplerinde RAPD+ISSR Yöntemlerinin Birlikte Uygulanması Sonucu Elde Edilen Soyağacı

### 4.3.3. RAPD ve ISSR Yöntemleri ile Elde Edilen Genetik Benzerlik Katsayıları Arasındaki Korelasyon

RAPD, ISSR ve RAPD+ISSR yöntemleri sonucunda elde edilen genetik benzerlik katsayıları arasındaki korelasyonların belirlenmesinde Mantel kofenetik korelasyon testi (Mantel 1967) kullanılmıştır. Her iki yönleme göre korelasyon katsayıları hesaplanarak Çizelge 4.9’da verilmiştir.

**Çizelge 4.9** RAPD, ISSR ve RAPD+ISSR Verilerinden Elde Edilen Genetik Benzerlik Katsayıları Arasındaki Korelasyonlar

Yöntemler	RAPD	ISSR	RAPD+ISSR
RAPD	***		
ISSR	0.83	***	
RAPD+ISSR	0.97	0.93	***

Elde edilen sonuçlara göre, korelasyon katsayıları ISSR ile RAPD arasında 0.83, RAPD+ISSR ile RAPD arasında 0.97 ve RAPD+ISSR ile ISSR arasında 0.93 olarak hesaplanmıştır. Böylece RAPD ve ISSR arasında yüksek seviyede korelasyon olduğu belirlenmiştir.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada RAPD ve ISSR moleküler markör tekniklerini kullanarak 21 dut genotipinin DNA parmak izleri çıkarılmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere seçilen polimorfik RAPD ve ISSR primerleri analizi yapılan dut genotiplerinde de yüksek polimorfizm göstermişlerdir. Ayrıca çalışmada analizi yapılan dut genotipleri arasında genetik ilişkiler analiz edilmiştir. Kullanılan her iki yöntemden elde edilen veriler değerlendirilerek yöntemler kıyaslanmıştır.

Elde edilen sonuçlar aşağıda kısaca özetlenmiştir:

1. RAPD analizleri ile elde edilen bulgulara göre, OPA-04 no'lu primer toplam bant üretimi bakımından (13 bant) en yüksek değere sahip primer olurken, primerin polimorfizm oranı %100 olmuştur. En düşük toplam bant sayısını OP-B02 primeri vermiş ve bu primerin de polimorfizm oranı % 100 olmuştur. OP-G03 primeri en yüksek PBİ değerine sahip olurken, OP-G14 primeri en düşük PBİ değerine sahip olmuştur. Primerlerin ayırma güçlerine baktığımızda ise OPA-13 primeri en yüksek değere, OP-B02 primeri de en düşük değere sahip olmuştur.
2. RAPD verileri ile elde edilen soyağacı ve benzerlik indeksi katsayılarına göre 25-İs-112 ile 25-İs-203 no'lu *Morus alba* L. genotipleri birbirine en yakın genotipler olurken, bunları 25-İs-205 ile 25-İs-112, 25-İs-205 ile 25-İs-203 ve 01-Ka-D1 ile 25-İs-08 no'lu *Morus nigra* L. genotipleri takip etmiştir. Birbirine en uzak genotipler ise 25-İs-123 ile 24-Ke-10 genotipleri olmuştur. Elde edilen soyağacına göre değerlendirme şekilleri aynı olan du genotipleri aynı kollar üzerinde yer almıştır.
3. ISSR analizleri ile elde edilen bulgulara göre, UBC-881 no'lu primer toplam bant üretimi bakımından (21 bant) en yüksek değere sahip primer olurken, primerin polimorfizm oranı %100 olmuştur. En düşük toplam bant sayısını (7 adet) UBC-811, UBC-812 ve UBC-861 no'lu primerler vermiş ve bu primerinde polimorfizm oranı sırasıyla %100, %100 ve %85.71 olmuştur. UBC-881 primeri en yüksek PBİ değerine sahip olurken, UBC-826 primeri en düşük PBİ değerine sahip olmuştur.

Primerlerin ayırma güçlerine bakıldığında ise UBC-826 primerinin en yüksek değere, UBC-881 primerinin de en düşük değere sahip olduğu görülmüştür.

4. ISSR verileri ile elde edilen soyağacı ve benzerlik indeksi katsayılarına göre 25-İs-112 ile 25-İs-203 no'lu *Morus alba* L. genotipleri RAPD yöntemi ile elde edilen sonuçla aynı bulunmuştur. Bunun yanında 25-İs-205 ile 25-İs-112, 25-İs-123 ile 25-İs-203 genotipleride birbirine yakın olan genotipler olarak belirlenmiştir. Birbirine en uzak genotipler ise 25-İs-08 ile 01-Ka-D2 olmuştur.
5. Araştırma kapsamında kullanılan yöntemler karşılaştırıldığında, incelenen özellikler bakımından RAPD yönteminin ISSR yöntemine genel olarak benzer, ISSR yönteminin tekrarlanabilirliğinin RAPD'den daha yüksek olduğu bulunmuştur.

İslahçıların seleksiyonlarla elde ettikleri bitkisel materyallerin karakterizasyonunu yapması büyük öneme sahiptir. Fakat ıslahçıların çeşitleri, genotipleri, hatları karakterize ederken kullandıkları morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yöntemler oldukça uzun zaman almakta ve bu çeşit markörler çevresel faktörlerden etkilendikleri için doğru sonuçları verememektedirler. Bu nedenlerden dolayı DNA markör teknikleri bu olumsuz faktörleri ortadan kaldırmış ve ıslahçıların işini kolaylaştırmıştır. DNA markör teknikleri farklı ekolojilerdeki genetik materyallerin sağlıklı bir şekilde karakterizasyonun yapılmasını da sağlayabilmektedir. Bu bağlamda ülkemizde çok az tescilli çeşidi bulunan dut genotiplerinin morfolojik karakterizasyonu yanında moleküler karakterizasyonunda yapılması ıslah çalışmalarında önemli rol oynayacaktır. Yapılan bu çalışma ile RAPD ve ISSR yöntemlerinin, seçilmiş olan dut genotiplerinin genetik olarak birbirinden ayırımı sağlanmıştır. Elde edilen sonuçlar çerçevesinde birbirine çok yakın olan genotiplerin (25-İs-112 ile 25-İs-203) yapılacak ıslah çalışmalarında sadece birinin kullanılması yeterli olabilecektir. Yine birbirine genetik olarak uzak akraba olan genotiplerin ıslah çalışmalarında genetik çeşitliliği artırmak amacıyla kullanılabilir.

Bu çalışmanın dut genotiplerinin yayılım alanlarının belirlenmesinde, gen kaynaklarının karşılaştırılmasında, ışlah programlarında ve dutun moleküler karakterizasyonunda yardımcı olabileceği dūřünölmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Anonim 2007. TUIK Verileri, 2008.
- Aggarwal, R. K., Udaykumar, D., Hendre, P. S., Sarkar, A. and Singh, L. I., 2004. Isolation and Characterization of Six Novel Microsatellite Markers for Mulberry (*Morus indica*). *Molecular Ecology Notes* 4, 477– 479.
- Awasthi, A. K., Nagaraja, G. M., Naik, G. V., Kanginakudru, S., Thangavelu, K. and Nagaraju, J., 2004. Genetic Diversity and Relationships in Mulberry (genus *Morus*) as Revealed by RAPD and ISSR Marker Assays. *BMC Genetics* 5:1
- Bhattachary, E. and Ranade, S. A., 2001. Molecular Distinction Amongst Varieties of Mulberry Using RAPD and DAMD Profile. *Plant Biology*, 1: 3.
- Bhattacharya, E., Dandin, S. B., Ranade, S. A. 2005. Single Primer Amplification Reaction Methods Reveal Exotic and Indigenous Mulberry Varieties are Similarly Diverse. *Journal of biosciences*, 30(5): 669-77.
- Bellini, E., Giordani, E. and Roger, J. P., 2000. The Mulberry for Fruit. II Gelso da Frutto. *L'informatore Agrario*, Verona, LVI, 7: 89- 93.
- Botton, A., Barcaccia, G., Cappellozza, S., Da Tos, R., Bonghi, C. and Ramina, A. 2005. DNA fingerprinting sheds light on the origin of introduced mulberry (*Morus* spp.) accessions in Italy. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Vol.52 (2): 181-192
- Chatterjee, S. N., Nagaraja, G. M., Srivastava, P. P. and Naik, G. 2004. Morphological and molecular variation of *Morus laevigata* in India. *Genetica* 121: 133–14
- Do, N. and Adams, R. P., 1991. A Simple Technique for Removing Plant Polysaccharides Contaminants from DNA . *BioTechniques* 10; 162– 166.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. H., 1987. A Rapid Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11–15.
- Doyle, J. J. and Doyle, L. H. 1988. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus* 12 (1); 13- 15.
- Erdoğan, Ü. ve Pırlak, L., 2005. Ülkemizde Dut (*Morus spp.*) Üretimi ve Değerlendirilmesi. *Alatarım*, 4 (2): 38-43
- Fang, G., Hammer, S. and Grumet, R. 1992. A Quick and Inexpensive Method for Removing Polysaccharides from Plant Genomic DNA. *BioTechniques* 13 (1): 52– 56.
- Gerasopoulos, D. and Stravoulakis, G., 1997. Quality Characteristics of Four Mulberry(*Morus* spp.) Cultivars in the Area of Chania Greece. *J. Sci. Food Agric.*, 73: 261- 264.
- Gülşen, O. ve Mutlu, N., 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. *Alatarım*, 4(2): 27- 37.
- Hou, Y. J., 1994. Mulberry Breeding. Sericulture Department, Zhejiang Agriculture University, Hangzhou, China.
- Kaçar, Y., 2001. Türkiye'de Yetiştirilen Önemli Kiraz (*Prunus avium* L.) ve Vişne (*Prunus cerasus* L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmak izi Yöntemi ile Sınıflandırılması. Doktora Tezi. Çukurova Üni. Fen Bilimleri Enst. Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı.

- Kafkas, S., Özgen, M., Doğan, Y., Özcan, B., Ercişli, S., Serçe, S. 2008. Molecular Characterization of Mulberry Accessions in Turkey by AFLP Markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133(4) : 593-597.
- Kafkas, S., Özkan, H., Ak, B. E., Açar, İ., Atlı, H. S. and Koyuncu, S., 2006. Detecting DNA Polymorphism and Genetic Diversity in A Wide Pistachio Germplasm: Comparison of AFLP, ISSR and RAPD Markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131(4): 522–529.
- Kafkas, S., Özkan, H., Sütyemez, M., 2005. DNA Polymorphism and Assessment of Genetic Relationships in Walnut Genotypes Based on AFLP and SAMPL Markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130(4): 585–590
- Machii, H., Koyama, A. and Yamanouchi, H., 1999. Fruits Traits of Genetic Mulberry Resources. *The Journal of Sericulture Science of Japan*, 68, 2: 145-155.
- Machii, H., Koyama, A., Yamanouchi, H., Matsumoto, K., Kobayashi, S. And Katagiri, K., 2001. A list of Morphological and Agronomical Traits of Mulberry Genetic Resources. *Misc. Publ. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci.* 29: 1- 307.
- Mantel, N., 1967. The Detection of Disease Clustering and Generalized Regression Approach. *Cancer Res.*, 27: 209–220.
- Prasanta, K. K., Srivastava P. P., Awasthi, A. K., Urs, S. R., 2008. Genetic Variability and Association of ISSR Markers with Some Biochemical Traits in Mulberry (*Morus* spp.) Genetic Resources Available in India. *Tree Genetics & Genomes* DOI 10.1007/s11295-007-0089-x.
- Prevost, A. and Wilkinson, M. J., 1999. A New System of Comparing PCR Primers Applied to ISSR Fingerprinting of Potato Accessions. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 107–112.
- Roger, J. P., 2002. Description of Mulberry Tree. [www.unifi.it](http://www.unifi.it)
- Rohlf, J. F., 2004. NTSYS-pc:2. 11 Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Software, N. Y.
- Sharma, A., Sharma, R., Machii, H. 2000. Assessment of Genetic Diversity in a *Morus* Germplasm Collection using Fluorescence-Based AFLP Markers. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1049-1055
- Smith, J. S. C., Chin, E. C. L., Shu, H., Smith, O. S., Wall, S. J., Senior, M. L., Mitchel, S. E., Kresovich, S. and Tiegle, J., 1997. An Evaluation of The Utility of SSR Loci as Molecular Marker in Maize (*Zea mays*): Comparisons with Data from RFLP and Pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 163–173.
- Tutin, G. T., 1996. *Morus* L. In: Tutin, G. T., Burges, N. A., Chater, A. O., Edmondson, J. R., Heywood, V. H., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., Webb, D. A., (Eds) *Flora Europaea*, Vol 1. Psilotaceae to Platanaceae. 2nd edi. Cambridge Uni. Press, Australia.
- Türemiş, N., Pırlak, L., Eşitken, A., Erdoğan, Ü., Tümer, A., İmrak, B., 2004. Akdeniz ve Doğu Anadolu Bölgelerinde Yetişen Dutların Seleksiyonu ve Seçilen Tiplerin Muhafazası. *Tübitak Proje No: TOGTAG- 2600 (Sonuç Raporu)*
- Venkateswarlu, M., Raje, U. S., Surendra, N. B., Shashidhar, H. E., Maheswaran, M., Veeraiah, T. M., Sabitha, M. G. 2006. A First Genetic Linkage Map a

- Mulberry (*Morus spp.*) using RAPD, ISSR and SST Markers and Pseudotestcross Mapping Strategy. *Tree Genetics & Genome*, 3: 15-24.
- Vijayan, K., 2003. Genetic Relationships of Japanese and Indian Mulberry (*Morus spp.*) Genotypes Revealed by DNA Fingerprinting. *Plant Syst. Evol.* DOI 10.1007/s00606-003-0078-y.
- Vijayan, K. 2004. Genetic relationships of Japanese and Indian mulberry (*Morus spp.*) genotypes revealed by DNA fingerprinting, *Plant System. Evol.* 243: 221–232.
- Vijayan, K., Awasthi, A. K., Srivastava P. P. and Saratchandra B., 2004a. Genetic Analysis of Indian Mulberry Varieties Through Molecular Markers. *Hereditas*, 141: 8- 14.
- Vijayan, K. and Chatterjee, S. N., 2003. ISSR Profiling of Indian Cultivars of Mulberry (*Morus spp.*) and Its Relevance to Breeding Programs. *Euphytica* 131: 53– 63.
- Vijayan, K., Chauhan, S., Das, N. K., Chakraborti, S. P., Roy, B. N., 1997. Leaf Yield Component Combining Abilities in Mulberry (*Morus spp.*). *Euphytica*, 98: 47- 52.
- Vijayan, K., Nair, C. V. and Chatterjee, S. N., 2005. Molecular Characterization of Mulberry Genetic resources indigenous to India. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 77– 86.
- Vijayan, K., Srivastava, P. P. and Awasthi, A. K., 2004b. Analysis of Phylogenetic Relationship Among Five Mulberry (*Morus*) Species Using Molecular Markers. *Genome* 47: 439– 448.
- Vijayan, K., Tikader, A., Kar, P. K., Srivastava, P. P., Awasthi, A. K., Thangavelu, K., Saratchandra, B., 2004c. Molecular Evaluation of Genetic Variability in Wild Populations of Mulberry (*Morus serrata* Roxb.). *Plant Breeding* 123: 568- 572.
- Vijayan, K., Tikader, A., Kar, P. K., Srivastava, P. P., Awasthi, A. K., Thangavelu, K., Saratchandra, B., 2006. Assessment of Genetic Relationships Between Wild and Cultivated Mulberry (*Morus*) Species Using PCR Based Markers. *Genet. Res. Crop Evol.* 53: 873- 882.
- Williams J. G. K., Kublik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V., 1990. DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucl. Acids Res.*, 18: 6531- 6535.
- Yaltrik, F., 1982. *Morus*. In Davis, P. H.(ed), *Flora of Turkey and East Aegean Island*, Vol. 7. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, p 641- 642.
- Zhao, W., Miao, X. X. , Jia, S. H., Pan, Y. L. and Huang, Y. P. 2005. Isolation and characterization of microsatellite loci from the mulberry, *Morus L.*, *Plant Sci.* 168 (2): 519–525.
- Zhao, W., Wang, Y., Chen, T., Jia, G., Wang, X., Qi, J., Pang, Y., Wang, S., Li, Z., Huang, Y., Pan, Y., Yang, Y. H. 2007a. Genetic Structure of Mulberry from Different Ecotypes Revealed by ISSRs in China: An Implications for Conservation of Local Mulberry Varieties. *Scientia Horticulture*, 115:47-55.
- Zhao, W., Zhihua, Z., Xuexia, Z., Yong, M., Sibao, Z., Jianhua, W., Hui, H., Yile, P. X., and Yongping, H. 2007b. A Comparison of Genetic Variation Among Wild and Cultivated *Morus* Species (*Moraceae: Morus*) as Revealed by ISSR and SSR Markers. *Biodiversity and Conservation* 16: 275– 290.



- Zhao, W., Zhou, Z. H., Miao, X. X., Wang, Lin Zhang, S. B., Pan, Y. L. and Huang, Y. P. 2006. Genetic relatedness among cultivated and wild mulberry (Moraceae: *Morus*) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis in China, *Can. J. Plant Sci.* 86: 251–257.
- Zietkiwicz, E., Rafalski, A., Labuda, D., 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat(SSR)- Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genome* 20: 176- 183.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1979 yılında Adana'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladım. 1998 yılında Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nde lisansımı yapmaya hak kazandım. 2002 yılında Ziraat Mühendisi olarak aynı bölümden mezun oldum. 2006 yılında Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak göreve, Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda da Yüksek Lisans eğitimime başladım ve halen devam etmekteyim.