

ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 2007; 4(1-2) : 49 - 58

BAZI ERKEK İNCİR ÇEŞİTLERİNİN RAPD BELİRTEÇLERİ İLE TANIMLANMASI***H.Osman MESTAV¹ , Zeynel DALKILIÇ¹****ÖZET**

Bu çalışmanın materyalini Aydın ilinden seçilen toplam 23 adet erkek incir (*Ficus carica caprificus*) çeşidi ve klonları oluşturmuştur. PCR tabanlı RAPD yöntemi ile toplam 30 adet 10 baz dizilimli primer test edilmiştir. Büyüklükleri 250 - 3500 bp arasında değişen toplam 195 adet bant elde edilmiştir. Bu bantlardan 51 adedi polimorfizm gösterirken, 144 adet bant monomorfizm göstermiştir. 'Şeytan-1', 'Yanako-1' ve 'Yanako-2' klonları arasında polimorfizm bulunmuştur. Çeşitlerin bant desenine göre çıkartılan dendrogramında (soy ağacı) bireyler iki grupta toplanmışlardır. Çalışılanlar arasında en yüksek benzerlik (%98.0) 'Şeytan-1', 'Yanako-1' ve 'Yanako-2'nin klonları arasında çıkmıştır. En düşük benzerlik ise (%62.2) 'Yanako-2₇₂' ile 'Karaerkek' çeşitleri arasında çıkmıştır.

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

Identification of Some Male Fig Cultivars with RAPD Markers**ABSTRACT**

Twenty three male fig (*Ficus carica caprificus*) cultivars and clones selected at Aydın province were the plant materials for this research. Total of 30 (10-mer) primers were tested with PCR-based RAPD technique. The total number of bands obtained was 195 whose molecular weight changed between 250-3500 bp. While polymorphism was seen 51 of these bands, 144 of which were monomorphic. The polymorphism was observed among the clones of 'Şeytan-1', 'Yanako-1', and 'Yanako-2'. The dendrogram constructed according to the band patterns of the cultivars and their clones. Among the studied genotypes, the highest similarity ratio (98.0%) was between 'Şeytan-1', and 'Yanako-1' and 'Yanako-2' clones. The lowest similarity value was 62.2% of 'Yanako-2₇₂' and 'Karaerkek' cultivars.

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

GİRİŞ

İncir (*Ficus carica* L., 2n=26), *Moraceae* familyasında yer alan meyve türüdür. Berg'e göre *Ficus* cinsi içerisinde yaklaşık 400 adet monoik ve 350 adet ginodioik tür bulunmaktadır (Parrish et al. 2004). Anavatanı, Anadolu'yu da içine alan Akdeniz havzasıdır. Üretim istatistikleri incelendiğinde Türkiye, dünya toplam taze incir üretiminin (1,070,676 t) %26.2'sini (280,000 t) karşılamaktadır. 2004 istatistiklerine göre Türkiye dünya toplam taze incir ihracatının (37,121 t) %28.0'ini (10,376 t) gerçekleştirerek birinci sıradadır. Dünya kuru incir ihracatında (75,694 t) söz sahibi ülkeler Türkiye (49,074 t)(%64.8), ABD (3,835 t), İspanya (3,377 t), Suriye (2,898 t) ve Yunanistan (2,831 t) iken, dünyada en çok kuru incir ithalatı (79,143 t) yapan ülkeler ise Almanya (9,706 t), Fransa (9,155 t), İtalya (5,795 t), Hong Kong (4,699 t) ve ABD (4,420 t)'dir (FAOSTAT 2006). Türkiye'nin toplam incir üretiminin %60.7'sini Aydın ili kurutmalık 'Sarılop' çeşidi ile karşılamaktadır (DİE 2001).

Literatür tarandığında karşımıza erkek incirler (ilek, *Ficus carica caprificus*) hakkında yapılmış çok az sayıda kaynak çıkmaktadır. İlekler hakkındaki ilk kaynaklardan birinde Condit (1955), Türkiye'nin ilek çeşitlerinden 'Ak-kaba', 'Bardakçı', 'Elma', 'Hajji

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

İncir konusunda DNA düzeyinde yapılan çalışmalar çok azdır. Özellikle doğrudan ileklere

* Bu çalışma ADÜ Bilimsel Araştırma Fonu (ZRF 04-002) ve TÜBİTAK (TOGTAG-3381) tarafından desteklenen aynı isimli yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır.

¹ Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü 09100 AYDIN

yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak dişi incirlerle birlikte birkaç ilek çeşidi kullanılarak çalışılmıştır. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu = Polymerase Chain Reaction) (Saiki et al. 1885) ve RAPD (Rastgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı = Random Amplified Polymorphic DNA) (Williams et al. 1990, Welsh and McClelland 1990) yöntemlerinin keşfinden sonra, dişi incirlerle ilgili ilk RAPD çalışmasında Khadari et al. (1995), Fransa'daki 21 adet incir tip ve çeşidinin RAPD moleküler belirteç yöntemi ile birbirinden farklılıklarını araştırmışlardır. Çalışmada test edilen 85 adet 10 baz dizimli primerden sadece polimorfizm gösteren 27 adet primer kullanılmıştır. PCR'da primer bağlanma sıcaklığı (annealing) 35°C'ye ayarlanmıştır. Toplam 12 primer 48 adet bant oluştururken bunlardan 19 adedi polimorfik bant olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak seçilen primerlerden elde edilen polimorfizm ile kullanılan genotiplerin dendrogramı (soy ağacı) çıkartılmıştır.

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

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

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

arasında 10 adet primer polimorfik bant vermiştir. 'Sarılop' klonları arasında ise 1 primerde farklılık bulunmuştur ve soy ağacı çıkartılmıştır.

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

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

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

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

Ayrıca incirde Uzun vd. (2003) izoenzim; Khadari et al. (2001), Khadari et al. (2003b), Khadari et al. (2004) ve Salhi-Hannachi et al. (2004) mikrosatellit (ISSR veya SSR); Khadari et al. (2005) mtDNA (mitokondrial DNA) ve RFLP (restriction fragment length polymorphism) yöntemlerini çalışmışlardır.

Kaynak incelemesi sonucunda, RAPD-PCR yöntemi ile sadece erkek incir populasyonu kullanılarak çeşit tanımlama çalışması yapılmadığı belirlenmiştir. Burada sunulan çalışma, erkek incir

populasyonu kullanılarak yapılan ilk RAPD parmak izi değerlendirmesi olması nedeni ile temel oluşturması anlamında önem taşımaktadır.

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

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyali

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

Genomik DNA Çıkarılması (İzolasyonu)

Örnekler dal ucundaki tam açılmış, en genç yapraklardan alınmıştır. Yapraklar soğuk zincirle taşıyıp laboratuvara getirilerek buzdolabında kısa

sürelili olarak saklanmıştır. İzolasyon CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) protokolunu kullanan, Doyle and Doyle (1990), Rogers and Bendich (1994) ve Okuno and Fukuoka (1998) izolasyon yöntemlerinden değiştirilerek yapılmıştır. 12 erkek incir çeşidinin DNA izolasyonu aşağıdaki aşamalar izlenerek yapılmıştır:

1.5ml'lik Eppendorf tipi tüp içerisinde 20-60 mg taze yaprak örneği sıvı azotla uçları yuvarlatılmış cam çubuk yardımıyla ezilmiştir,

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

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

Çeşit	Ağaç Sayısı (adet)	Klon No	Orijin	Meyve Ağırlığı (g)	Meyve Şekli	Olgunlaşma Zamanı	Olgunlaşma Durumu	Polen Çimle. (%)	İlek Arıcığı Sayısı (adet)
Akerkek-1	2	58, 59	Ödemiş	17.85-24.50	Armudi	10-19 haziran	Erkenci	80.76	263.83
Akerkek-2	1	63	Ödemiş	17.05-21.75	Armudi	17-24 haziran	Geççi	100.00	71.16
Çakın-1	2	2, 3	Kuyucak	27.17	Yuvarlak	15-23 haziran	Erkenci	95.52	163.33
Çakın-2	1	47	Kuyucak	33.00-35.75	Yuvarlak	12-19 haziran	Orta erkenci	83.60	474.83
Karaerkek*	2	56, 57	Ödemiş	25.00-32.00	Armudi	20-24 haziran	Erkenci	80.00	392.83
Karaerkek-2	2	88, 89	Bozdoğan	33.60-37.00	Armudi	15-23 haziran	Geççi	91.86	246.30
Kızılay-1	1	8	Naipli-Ortaklar	11.00-23.19	Yuvarlak	15-24 haziran	Geççi	81.08	56.00
Kızılay-2	2	53, 54	Argavlı-Söke	19.75	Yuvarlak	12-19 haziran	Orta erkenci	100.00	212.66
Şeytan-1	4	34, 35, 36, 37	Kuyucak	20.02-24.85	Armudi	8-19 haziran	Erkenci	80.43	155.50
Şeytan-2	1	4	Kuyucak	32.60-37.25	Armudi	15-20 haziran	Geççi	-	250.50
Yanako-1	2	19, 20	Gümüşköy-Ortaklar	16.75-17.25	Armudi	12-23 haziran	Orta erkenci	67.10	132.16
Yanako-2	3	72, 73, 74	Gümüşköy-Ortaklar	20.75-21.47	Armudi	13-23 haziran	Orta erkenci	100.00	110.66

* Çeşit ismi indissiz olarak rapor edilmiştir.

edilmiştir,

- Vorteksle 10 saniye maksimum hızda karıştırılmıştır,
- 4°C'de 11,000 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir (Eppendorf Centrifuge 5415 R, Hamburg, Almanya),
- Üst tabakadan (supernatant) 450 µl yeni 1.5 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Alt sıvı atılmıştır,
- Eşit hacimde (450 µl) 24:1 oranında hazırlanmış chloroform:iso-amyl alcohol ilave edilmiştir,
- Vorteksle 10 saniye maksimum hızda karıştırılmıştır,
- 4°C'de 11,000 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir,
- Supernatant'tan 350 µl alınıp yeni 1.5 ml'lik tüplere aktarılarak alt sıvı atılmıştır,
- Eşit hacimde (350 µl) 24:1 oranında hazırlanmış chloroform:iso-amyl alcohol ilave edilmiştir,
- Vorteksle 10 saniye maksimum hızda karıştırılmıştır,
- 4°C'de 11,000 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir,
- Supernatant'tan 250 µl alınıp yeni 1.5ml'lik tüplere aktarılmıştır. Alt sıvı atılmıştır,
- 2.5 kat (625 µl) soğuk 2-propanol (AppliChem, Kat.No: A3928,1000, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir,
- Tüpler nazikçe altüst edilmiştir,
- DNA iplikçiklerinin tüp dibine çökmesi için 10 dakika 4°C'de buzdolabında bekletilmiştir,
- Buzdolabından çıkartılan örnekler 4°C'de, 11,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir (tüpün dip kısmında beyaz-krem renkte bir miktar pelte oluştuğu gözlenmiştir),
- Tüp içerisindeki sıvı, pelteyi düşürmeden dikkatlice dökülmüştür (uzaklaştırılmıştır),
- %70'lik etanolden 500 µl ilave edilmiştir. Daha sonra pelteleri düşürmeden tüp içerisindeki etanol dökülerek yıkama gerçekleştirilmiştir,
- Tüplerin tamamen kuruması için kapakları açık olarak oda şartlarında bekletilmiştir,
- %1'lik TE (1 M Tris-HCl, 0.5 M EDTA, ddH₂O, pH:8.0) solüsyonundan 100 µl ilave edilerek tüpler nazikçe vortekslenerek pelte çözündürülmüştür,
- 1 µl (10 mg/ml) Ribonuclease A (AppliChem, Kat.No: A3832,0050, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir. Yaklaşık 10 dakika oda şartlarında bekletildikten sonra buzdolabında 4°C'de muhafaza edilmiştir.

DNA miktarları 260 nm dalga boyunda belirlenmiştir (Shimadzu UV-1601 UV-Visible Spectrophotometer, Tokyo, Japonya). İzole edilen DNA miktarları 50-1140 ng/µl arasında değişmiştir. PCR'da kullanılmak üzere örneklerden elde edilen DNA'lar 50 ng/µl miktarına eşitlenmiştir.

RAPD PCR Analizi

Her bir PCR reaksiyonu 0.2 ml ince cidarlı Eppendorf tipi tüplerde (Greiner bio-one, Katalog no: 683 201, Hamburg, Almanya) 15 µl toplam solüsyon içerisinde gerçekleştirilmiştir. Solüsyon, 10×PCR tampon çözeltisi (500mM KCl, 10mM Tris-HCl pH:8.8), 25mM MgCl₂, 1 ünite *Taq* (*Thermus aquaticus*) DNA Polimeraz enzimi (Kat. No: EP0402)

(Fermentas, Vilnius, Litvanya), 10mM her bir dNTP (dATP Kat. No:R0141, dCTP Kat. No:R0151, cGTP Kat. No.R0161, dTTP Kat.No.R0171), 10 µM 10 baz dizimli primer (QIAGEN Operon GmbH, Cologne, Almanya), 50 ng/µl erkek incir genomik DNA'sı karışımının steril ddH₂O (Millipore Simplicity 185, Fransa) ile 15 µl'ye tamamlanması ile oluşturulmuştur. PCR için en uygun kombinasyonu verecek maddelerin miktarının belirlenmesi amacı ile 10×KCl PCR tamponu 1.0-3.0 µl, *Taq* DNA polimeraz enzimi 0.5-2.0 ünite, 25 mM MgCl₂ 1.0-4.0 µl, 10 mM dNTP'den 0.2-2.0 µl, 10 µM 10 baz dizimli primer 0.8-1.5 µl, genomik DNA 2.0-50.0µl arasında denenmiştir. Test edilen toplam 47 adet primerden (OPA01-A20, B01-B20, C01-C07) göz ile net şekilde ayırt edilebilen bant verenler, 23 adet erkek incir çeşit ve klonlarından oluşan popülasyonda kullanılmıştır. PCR'da sıcaklık ve döngü programı için ön denemeler yapılmıştır. Bağlanma sıcaklığını daha önceki çalışmalarda incir genomunda kullanılan sıcaklık değerlerini kapsayacak şekilde 35±5°C'de gradient PCR (her bir örnek için sıcaklık belirtilen sınır değerleri arasında değişerek yapılan PCR) yapılmıştır. PCR programı: 94°C'de 30 saniye ilk ayırım (denaturation), 94°C'de 25 saniye ayırım, 35°C'de 45 saniye primer bağlanması (annealing), 72°C'de 1 dakika uzama (extension) aşamalarıyla 35 döngü ve son uzama 72°C'de 5 dakika olarak ayarlanmıştır (Eppendorf Mastercycler Gradient, AG 22331, Hamburg, Almanya). İlk PCR testinde klonlarda ortaya çıkan polimorfizmden emin olmak için ikinci ve üçüncü PCR testleri de yapılmıştır.

Jel Elektroforezi

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

Verilerin Analizi

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

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bazı Erkek İncir Çeşitlerinin DNA Parmak İzlerinin RAPD Belirteçleri İle Belirlenmesi

En uygun PCR solüsyonunu oluşturan bileşenlerin miktarı (optimizasyon) Çizelge 2'de verilmiştir. Uzun süren ön denemeler sonucu kullanılacak olan maddelerin miktarları belirlenmiştir. Bu bileşenler 15 µl'lik PCR solüsyonu içerisinde 1.5 µl 10×KCl tamponu, 1.5 µl 25mM MgCl₂, 1.0 µl 10mM dNTP, 1.0 µl 10µM primer, 1.0 µl *Taq* DNA polimeraz, 1.0 µl 50ng/µl genomik DNA ve 8.0 µl ddH₂O olacak şekilde karıştırılmıştır.

Çalışmadaki 12 erkek incir çeşidi ve bunların klonlarından oluşan toplam 23 genotip ile kullanılan primerler ve baz dizilimleri Çizelge 3'te verilmiştir. Denemede net olarak seçilen parlak bantlar değerlendirmeye alınmıştır. Uzunlukları 250 bp (OPB15) ve 3500 bp (OPA10) arasında değişen toplam 195 adet bant (belirteç) elde edilmiştir. Bu bantlardan 51 adeti (%26.1) polimorfizm (heteromorfizm) gösterirken, 144 adet (%73.9) bant monomorfizm (homomorfizm) göstermiştir. Genotip başına düşen bant sayısı 8.48'dir. Ortalama polimorfik bant sayısı genotip başına 2.22 olarak bulunurken, monomorfik bant sayısı ortalama 6.26 olarak tespit

edilmiştir. Primerler 1-5 arasında polimorfik bant oluşturmuştur. Denemede kullanılan 30 adet 10 baz dizilimli primer içerisinde 24 adedinde polimorfizm gösteren bant bulunurken 6 adedinde (OPA04, OPB08, OPB11, OPB12, OPC04 ve OPC05) polimorfizm gösteren bant gözlenmemiştir (Çizelge 3).

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

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

Bazı Erkek İncir Çeşitlerinin Klonları Arasındaki Farklılığın RAPD Belirteçleri İle Belirlenmesi

Bu çalışmada çeşitler 30 adet RAPD primeri ile birbirlerinden net bir şekilde ayırt edilebilmiştir. 'Şeytan-1', 'Yanako-1' ve 'Yanako-2' klonları haricindeki tüm klonlar birbirinin aynı bulunmuştur. B klonlar arasındaki farklılık çelik ile vegetatif çoğaltma sırasındaki veya fidan dikim aşamasındaki karışıklıktan ya da klonal açılmadan dolayı olmuş olabilir. Benzer şekilde Khadari et al. (1995), RAPD belirteçleri ile yaptıkları çalışmada dişi incir çeşitlerinin birbirinden yeterli derecede ayrılabilirdiğini tespit etmişlerdir. Aynı zamanda RAPD yöntemi ile 'Col de Dame' çeşidinin kullanılan 4 klonunun genetik olarak beklediği gibi, birbirinin aynı olduğu bulunmuştur. Ancak kullanılan 'Col de Dame' genotiplerinden bir tanesinin (5. klon) diğer 4 klona %57 oranında benzer olması fikrinden yola çıkarak bu

Çizelge 2. PCR solüsyonunda kullanılan bileşenlerin miktarı.

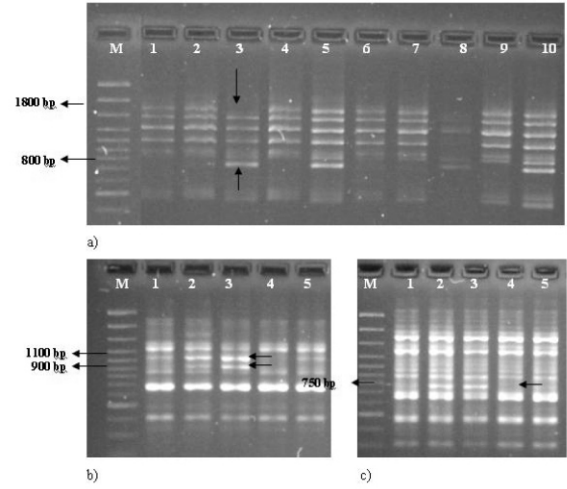
Bileşen	Denenen miktar	Uygun miktar
10×KCl tamponu	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 (µl)	1.5 µl
25 mM MgCl ₂	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 (µl)	1.5 µl
10 mM dNTP	0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.5, 2.0 (µl)	1.0 µl
10 µM 10 bazlı primer	0.8, 1.0, 1.2, 1.5 (µl)	1.0 µl
<i>Taq</i> DNA polimeraz	0.5, 1.0, 1.5, 2.0 (ünite)	1.0 µl
Genomik DNA	2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 (ng/ µl)	1.0 µl
ddH ₂ O	8.0	8.0 µl
Toplam		15.0 µl

klonun yanlış isimlendirildiği (homonim) kanısına varılmıştır.

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

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

'Yanako-2₇₃' ve 'Yanako-2₇₄' klonlarında OPA11₉₀₀ düzeyinde bant oluşmazken 'Yanako-2₇₂' klonu bant oluşturmuştur. 'Yanako-2₇₃' klonu OPA11₁₁₀₀ düzeyinde bant oluşmazken 'Yanako-2₇₂' ve



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

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

Primer	Baz Dizilimi 5' – 3'	Değerlendirmeye alınan bant sayısı (adet)	Polimorfik bant sayısı (adet)	Polimorfizm oranı (%)	Yaklaşık bant büyüklükleri (bp=baz çifti)
OPA04	AAT CGG GCT G	7	0	0.0	500-2200
OPA05	AGG GGT CTT G	8	3	37.5	450-2400
OPA07	GAA ACG GGT G	6	1	16.7	650-2000
OPA09	GGG TAA CGC C	5	3	60.0	450-1500
OPA10	GTG ATC GCA G	8	1	12.5	350-3500
OPA11	CAA TCG CCG T	8	4	50.0	250-2100
OPA13	CAG CAC CCA C	7	1	14.3	750-2500
OPA14	TCT GTG CTG G	6	1	16.7	600-3000
OPA15	TTC CGA ACC C	6	1	16.7	600-2500
OPA17	GAC CGC TTG T	9	5	55.6	500-2800
OPA18	AGG TGA CCG T	4	2	50.0	650-2500
OPA20	GTT GCG ATC C	5	2	40.0	650-1900
OPB01	GTT TCG CTC C	8	3	37.5	450-2700
OPB04	GGA CTG GAG T	8	3	37.5	450-2000
OPB05	TGC GCC CTT C	7	3	42.9	500-2000
OPB06	TGC TCT GCC C	8	2	25.0	350-3000
OPB07	GGT GAC GCA G	10	2	20.0	500-2800
OPB08	GTC CAC ACG G	6	0	0.0	700-2800
OPB09	TGG GGG ACT C	8	2	25.0	600-2800
OPB10	CTG CTG GGA C	8	1	12.5	500-2500
OPB11	GTA GAC CCG T	4	0	0.0	500-2200
OPB12	CCT TGA CGC A	4	0	0.0	330-1200
OPB15	GGA GGG TGT T	9	3	33.3	250-1700
OPB16	TTT GCC CGG A	4	1	25.0	300-1200
OPB20	GGA CCC TTA C	3	1	33.3	500-2000
OPC01	TTC GAG CCA G	8	2	25.0	350-2000
OPC04	CCG CAT CTA C	6	0	0.0	350-2200
OPC05	GAT GAC CGC C	3	0	0.0	400-1700
OPC06	GAA CGG ACT C	5	1	20.0	350-1700
OPC07	GTC CCG ACG A	7	3	42.9	500-1600
Toplam	TOPLAM	195	51	Ort.=26.1	250-3000

'Yanako-2₇₄' klonları bant oluşturmuştur. OPB07₇₅₀ düzeyinde 'Yanako-1₂₀' ve 'Yanako-2₇₂' klonları bant oluşturmuş diğerleri bant oluşturmamıştır (Şekil 1c). Bant deseninde OPC01₁₀₀₀ belirteci sadece 'Yanako-2₇₃' genotipinde bant oluşturmamıştır. 'Yanako-2₇₃' genotipi bu çalışmada kullanılan bireylerin hiçbirisine benzememektedir. Aynı durum OPA11 primerinin 750 bp düzeyindeki belirtecinde 'Yanako-2₇₂' için geçerlidir (Şekil 1).

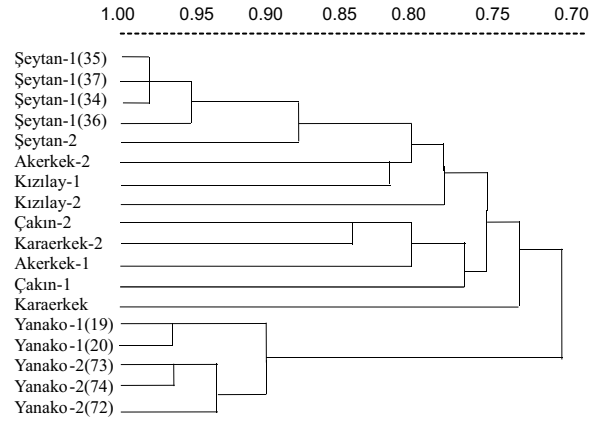
Cabrita et al. (2001), 21 adet primerden sadece 1 adet primerden elde edilen 2 adet RAPD belirteci ile 'Sarılop' klonlarını 2 gruba ayırt edebilmişlerdir. Ancak AFLP belirteçleri kullanıldığında tüm 'Sarılop' klonları birbirinden belirgin şekilde ayırt edilebilmiştir. Galderisi et al. (1999) ve De Masi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

Bazı Erkek İncirleri Arasındaki Genetik Yakınlığın RAPD Belirteçleri İle Belirlenmesi

Çeşitler arasındaki genetik yakınlık, 30 adet 10 baz dizilimli RAPD primeri yardımıyla benzerlik matrisi oluşturulmuş (Çizelge 4) ve dendrogramı çıkartılmıştır (Şekil 2). Benzerlik matrisine göre 'Yanako-1₁₉' ile 'Yanako-1₂₀' klonları birbirine genetik olarak %98.0 oranında en yakın olarak bulunmuştur. 'Şeytan-1_{34, 35, 37}' ile 'Şeytan-1₃₆' ve 'Yanako-2₇₃' ile 'Yanako-2₇₄' klonları birbirine %98.0 oranında benzerlik göstermiştir. Birbirine en uzak çeşitler %62.2 oranında 'Karaerkek' ile 'Yanako-2₇₂'dir. Dendrogramda çeşitler 2 ana gruba ayrılmışlardır. 'Yanako-1' ve 'Yanako-2' çeşitleri birinci grubu oluştururken diğer çeşitler ikinci grubu oluşturmuştur. İkinci grup da kendi içinde 2 alt gruba ayrılmıştır. 'Karaerkek' bu alt gruplardan birini oluşturmuş, diğer çeşitler öteki grupta yer almıştır.

Dendrogramda benzerlik katsayısı yüksek olan 'Şeytan-1' ile 'Şeytan-2' çeşitlerinin orijinlerinin Kuyucak, 'Yanako-1' ile 'Yanako-2' çeşitlerinin orijinlerinin Gümüşköy-Ortaklar'dır. Aynı yöreden gelen bu çeşitlerin birbirine yüksek derecede benzerlik göstermeleri, bu çeşitlerin aynı dişi veya erkek orijinal ağacın tohumlarından oluşan kardeş çöğürler olmaları ihtimalini düşündürmektedir. Aynı ebeveyne sahip iki bireyin genetik olarak birbirine yakın olması beklenen bir sonuçtur. Buna benzer olarak Papadopoulou et al. (2002), kullandıkları erkek incir bireylerinin, oluşturulan dendrogramda dişi bireylerden farklı bir grupta birlikte yer almasını beklenmeyen bir sonuç olarak yorumlamışlardır. Çünkü aynı yöreden toplansa dahi tohumdan gelişen erkek incirler doğal melez oldukları için farklı genotipik yapı göstermeleri beklenmektedir. Bu konudaki bir diğer yaklaşım, zaman içerisinde orijinal ağaçtan, doğal mutasyonlar sonucu oluşan klonal varyasyon göstererek yeni tiplerinin ortaya çıkma olasılığıdır. Buna karşılık Kuyucak yöresinden 'Çakın-1' ile 'Çakın-2' (%86.7) çeşitlerinin ve Ödemiş

yöresinden 'Akerkek-1' ile 'Akerkek-2' (%87.9) çeşitlerinin hem isimlerinin benzemesi hem de aynı yöreden gelmesine rağmen bu çeşitler arasında aynı yorum yapılamamaktadır.



Şekil 2. Bazı erkek incir çeşitleri ve klonları arasındaki genetik ilişki soy ağacı (SPSS)

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

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın başında hedeflenen üç amaca ulaşılmıştır. Birincisi bazı erkek incir çeşitlerinin RAPD belirteçleri ile DNA parmak izleri belirlenerek çeşide özgü belirteçler bulunmuştur. OPA15 ve OPA17 'Yanako-1' ve 'Yanako-2' için, OPA18 'Akerkek-1 ve 'Akerkek-2' için, OPA20 'Kızılay-1' ve 'Kızılay-2' için, OPB04 'Karaerkek' için, OPB05 'Kızılay-1' için, OPB15 'Yanako-1' ve 'Yanako-2' için, OPB20 'Çakın-1' için ve OPC07 'Karaerkek' için ayırt edici belirteçler veren primerler olmuştur.

İkincisi RAPD belirteçleri ile klonlar arasındaki farkı tespit edebilmek oldukça zor olmasına rağmen bazı primerlerle (OPA11, OPC01, OPC07) 'Şeytan-1', 'Yanako-1' ile 'Yanako-2' klonları arasında fark bularak bunu başarmak mümkün olmuştur.

Üçüncüsü yüzde olarak hesaplanan polimorfizm oranlarıyla genotipler arasındaki genetik yakınlık dereceleri yorumlanmıştır. Çalışma sonunda çeşitler arasındaki genetik DNA düzeyindeki benzerlik derecesine göre çıkartılan dendrogramın avantajları; çeşitlerin yakınlığını tespit edebilmek, yapılabilecek melezleme ıslahı çalışmalarında seçilecek olan

Çizelge 4. Erkek incir çeşit ve klonlarında Sokal ve Sneath 1 katsayılarına göre oluşturulan benzerlik matrisi (SPSS).

Çeşit (Klon no)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1:Akerkek-1	1.000																	
2:Akerkek-2	0.879	1.000																
3:Çakın-1	0.828	0.814	1.000															
4:Çakın-2	0.854	0.786	0.867	1.000														
5:Karaerkek	0.771	0.725	0.786	0.867	1.000													
6:Karaerkek-2	0.867	0.828	0.800	0.903	0.800	1.000												
7:Kızılalay-1	0.828	0.891	0.814	0.814	0.756	0.854	1.000											
8:Kızılalay-2	0.709	0.786	0.725	0.786	0.756	0.771	0.786	1.000										
9:Şeytan-1(34)	0.828	0.867	0.814	0.841	0.814	0.828	0.891	0.867	1.000									
10:Şeytan-1(35)	0.828	0.867	0.814	0.841	0.814	0.828	0.891	0.867	1.000									
11:Şeytan-1(36)	0.828	0.867	0.814	0.867	0.814	0.854	0.891	0.867	0.980	1.000								
12:Şeytan-1(37)	0.828	0.867	0.814	0.841	0.814	0.828	0.891	0.867	1.000	0.980	1.000							
13:Şeytan-2	0.814	0.854	0.854	0.854	0.800	0.841	0.854	0.854	0.926	0.926	0.926	1.000						
14:Yanako-1(19)	0.756	0.800	0.741	0.771	0.675	0.756	0.771	0.800	0.800	0.800	0.800	0.800	0.841	1.000				
15:Yanako-1(20)	0.756	0.800	0.741	0.741	0.675	0.756	0.771	0.800	0.800	0.800	0.800	0.800	0.841	0.980	1.000			
16:Yanako-2(72)	0.741	0.786	0.692	0.692	0.622	0.709	0.725	0.725	0.756	0.756	0.756	0.756	0.800	0.926	0.948	1.000		
17:Yanako-2(73)	0.756	0.800	0.709	0.741	0.640	0.725	0.741	0.741	0.771	0.771	0.771	0.771	0.814	0.938	0.915	0.948	1.000	
18:Yanako-2(74)	0.756	0.800	0.709	0.741	0.640	0.725	0.741	0.741	0.771	0.771	0.771	0.771	0.814	0.959	0.938	0.970	0.980	1.000

ebeveynlerin birbirine olan yakınlığını belirlemek, gen kaynağı korunması konularında gelecekteki çalışmalara ışık tutmak ve araştırmacılara teorik olarak genetik bilgi veri tabanı oluşturmaktır.

İncir ticari olarak vejetatif yolla çoğaltıldığı için gen kaynağı sınırlı kalmaktadır. Diğer taraftan da dölleme biyolojisinin ginodioik olması yabancı tozlanmayı zorunlu hale getirmektedir (Kabasakal 1990). Böylece tohumdan elde edilen her bitkinin bir diğerinden farklı olması sonucu geniş bir gen yelpazesi oluşmaktadır. Genellikle erkek incirler tohumla kendiliğinden oluştuğu için çok farklı tip ve çeşitler meydana gelmiştir. Bu bireyler arasında çiçek tozu sayısı ve çimlenme gücü yüksek, çiçeklenme zamanı dişi çeşitler ile uyuşan, biyotik ve abiyotik stres etmenlerine dayanıklı yeni tipler seleksiyon sonucunda ortaya çıkartılabilir.

RAPD yönteminin, dominant belirteçler ortaya çıkarmakla birlikte diğer bazı başka yöntemlere göre kısmen daha ucuz olması, çabuk sonuç vermesi ve radyoaktif madde kullanılmaması gibi olumlu yönlerinin bulunduğu bir kez daha gözlenmiştir. Şüphelenilen durumun aksine sonuçların tekrar edilebilirliği değişik zamanlarda yapılan PCR testlerinde ortaya konmuştur.

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

Bu çalışmanın pratiğe yansiyacak olan yönü; bu gibi belirteçler kullanılarak fidan üretimi, fidan satışı ve bahçe tesisi konularında ismine doğru fidan kullanılması konusundaki hata payı en aza indirilebilecektir. Çeşit ismi konusunda şüpheye düşülen bireylerin RAPD yöntemiyle çeşide özel primerlerle çeşit tanımlaması yapılabilir. Ayrıca büyük plantasyonlar kurulmadan önce fidanların, belirlenmiş primerlerle test edilmesi ile çeşitlerin gerçekten o çeşit olduğu kanıtlanabilecek, üreticiyi yıl kaybı ve maddi kayıplardan kurtarabilecektir. Bu da ülke ekonomisine büyük katkı sağlayacaktır.

TEŞEKKÜR

Çalışmaların yürütülmesi aşamasında yardıma bulunan Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanı Prof.Dr. F.Ekmelek TEKİNTAŞ ve diğer bölüm arkadaşlarımıza, Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü Müdürü Gıda Müh. Ramazan ÖZKAN ve enstitü çalışanlarına, ADÜ Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarı Müdürü Doç.Dr. Serhan SAKARYA ve laboratuvar çalışanlarına, PCR optimizasyonu sırasındaki yardımlarından dolayı Doç.Dr. Bahattin TANYOLAÇ, Yrd.Doç.Dr. Ali Fazıl YENİDÜNYA,

Yrd.Doç.Dr. Sefa KIZILDAĞ, Dr. Ali ERGÜL, Dr.Eliezer S.LOUZADA, Bay Shu HUANG'a, bazı erkek incir çeşitleri ve klonlarının tanımlanması bölümünün PCR ürünlerinin jellerinin yapılmasında laboratuvarını kullanmamıza olanak sağlayan Yrd.Doç.Dr. Sami DOĞANLAR'a, verilerin değerlendirilmesi aşamasında NTSYSpc programı konusunda yardımlarını esirgemeyen Dr.Nedim MUTLU'ya teşekkürlerimizi sunarız. Türkiye'de erkek incir seleksiyon çalışmalarının başlangıcından beri değişik aşamalarında emeği geçen Emk.Zir.Yük.Müh. Turan ÖLÇER ve rahmetli Emk.Zir.Yük.Müh. Hüseyin ÖNCEL'i burada saygıyla anıyoruz.

KAYNAKLAR

- Aka-Kaçar, Y., A.B.Küden, M.S.Çetiner. 2003. Identification of varietal polymorphism in *Ficus carica* L. by RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) markers. Acta Hort. 598:167-172.
- Cabrita, L.F., U.Aksoy, S.Hepaksoy, J.M.Leitao. 2001. Suitability of isozyme, RAPD and AFLP markers to assess genetic differences and relatedness among fig (*Ficus carica* L.) clones. Sci. Hort. 87:261-273.
- Condit, I.J. 1955. Fig Varieties: A monograph. Hilgardia 23(11):323-538.
- De Masi, L., M.Cipollaro, G.Di Bernardo, U.Galderisi, G.Galano, A.Cascino, G.Grassi, E.Pavone, A.Simeone. 2003. Clonal selection and molecular characterisation by RAPD analysis of the fig (*Ficus carica* L.) "Dottato" and "Bianco del Cilento" cultivars in Italy. Acta Hort. 605:65-68.
- DİE, 2001. Tarımsal yapı (üretim, fiyat, değer). Ankara.
- Doyle, J.J. and J.L.Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.
- Elisiario, P.J., M.C.Neto, L.F.Cabrita, J.M.Leitao. 1998. Isozyme and RAPDs characterisation of a collection of fig (*Ficus carica* L.) traditional varieties. Acta Hort. 480:149-154.
- Eroğlu, A.Ş. 1982. İncir Araştırmaları Projesi (İslah): İncir seleksiyonu. Erbeyli Ziraî Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Aydın, 301 s.
- FAOSTAT, 2006. <http://faostat.fao.org>
- Galderisi, U., M.Cipollaro, G.Di Bernardo, L.De Masi, G.Galano, A.Cascino. 1999. Identification of the edible fig 'Bianco del Cilento' by Random Amplified Polymorphic DNA analysis. HortScience 34(7):1263-1265.
- Kabasakal, A. 1990. İncir Yetiştiriciliği, TAV Yay. No:20, Yalova, 96 s.
- Khadari, B., Ph.Lashermes, F.Kjellberg. 1995. RAPD fingerprints for identification and genetic characterization of fig (*Ficus carica* L.) genotypes. J. Genet. Breed. 49:77-86.
- Khadari, B., I.Hochu, S.Santoni, F. Kjellberg. 2001. Identification and characterization of microsatellite loci in the common fig (*Ficus carica* L.) and representative species of the genus *Ficus*. Molecular Ecology Notes 1:191-193.
- Khadari, B., I.Hochu, S.Santoni, M.Ater, A.Oukabli, J.P.Roger, F.Kjellberg. 2003a. Which molecular markers are best suited to identify fig cultivars: A comparison of RAPD, ISSR and microsatellite

- markers. Acta Hort. 605:69-75.
- Khadari,B., I.Hochu, L.Bouزيد, S.Santoni, F.Kjellberg, J.P.Roger. 2003b. The use of microsatellite markers for identification and genetic diversity evaluation of the fig collection in CBNMP. Acta Hort. 605:77-86.
- Khadari,B., A.Oukabli, M.Ater, A.Mamouni, J.P.Roger, F.Kjellberg. 2004. Molecular characterization of Moroccan fig germplasm using inter simple sequence repeat and simple sequence repeat markers to establish a reference collection. HortScience 40(1):29-32.
- Khadari,B., C.Grout, S.Santoni, F.Kjellberg. 2005. Contrasted genetic diversity and differentiation among Mediterranean populations of *Ficus carica* L.: A study using mtDNA RFLP. Genetic Resources and Crop Evolution 52: 97-109.
- Okuno,K. and S.Fukuoka. 1998. Manual for DNA Extraction in Plants: Technical Assistance Activities for Genetic Resources Projects, Japan International Cooperation Agency, Ref. No. 11, Chuouku, Tokyo, Japan, 42s.
- Ölçer,T. 1968. Aydın Bölgesi'nin önemli ilek (erkek incir) çeşitleri üzerinde çalışmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İhtisas Tezi, İzmir, 68s.
- Öncel,H. 1969. İncir yetiştiriciliğinde ilek ve ilekleme. Tarım Bakanlığı, Ziraat İşleri Genel Müdürlüğü Yayınları:A-133, İstanbul, 50s.
- Papadopoulou,K., C.Ehaliotis, M.Tourna, P.Kastani, I.Karydis, G. Zervakis, 2002. Genetic relatedness among dioecious *Ficus carica* L. cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis, and evaluation of agronomic and morphological characters. Genetics 114:183-194.
- Parrish,T.L., H.P.Koelewjin, P.J.van Dijk. 2004. Identification of a male-specific AFLP marker in a functionally dioecious fig, *Ficus fulva* Reiw. ex Bl. (Moraceae). Sex. Plant Reprod. 17:17-22.
- Rogers,S.O. and A.J.Bendich. 1994. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. Plant Molecular Biology Manual D1:1-8.
- Saiki,R.K., S. Scharf, F. Faloona, K.B. Mullis, G.T. Horn, H.A. Erlich and N. Arnheim, 1985. Enzymatic amplification of α -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science 230:1350-1354.
- Salhi-Hannachi, A., T.Mokhtar, Z.Salwa, H.Jihène, M.Messaoud, R.Abdelmajid ve M.Mohemed. 2004. Inter-simple sequence repeat fingerprints to assess genetic diversity in Tunisian fig (*Ficus carica* L.) germplasm. Genetic Resources and Crop Evolution 51: 269-275.
- SPSS Inc. 2001. SPSS for Windows release 11.0.0. standart version.
- Uzun,H.İ., İ.Polat, Ş. Gözlekçi. 2003. Molecular identification of Turkish fig cultivars by fruit and leaf isozymes. Acta Hort. 605:45-50.
- Welsh,J. ve M.McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res. 18(24):72137218.
- Williams,J.G.K., A.R.Kubelik, K.J.Livak, J.A.Rafalski, S.V.Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18(22):65316535.
- Zeybekoğlu,N,Ş., A.Mısırlı, R.Gülcan. 1998. Researches on pollen germination ability of some caprifig varieties. Acta Hort. 480:125-128.

Geliş Tarihi : 03.07.2007
Kabul Tarihi : 03.08.2007

Düzeltilme / Erratum

BAZI ERKEK İNCİR ÇEŞİTLERİNİN RAPD BELİRTEÇLERİ İLE TANIMLANMASI, ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2007, 4(1-2):49-58.

H.Osman Mestav, Zeynel Dalkılıç

Yukarıda adı geçen makalede sayfa 53'te yer alan Çizelge 2'de kullanılan uygun miktar *Taq* DNA polimeraz için 1.0 µl yerine 0.2 µl (1 ünite), Genomik DNA için 1.0 µl (50 ng/µl), ddH₂O bileşeni için denenen miktar 8.0 yerine 8.8 µl olarak düzeltilmesi yazarlar tarafından bildirilmiş ve uygun bulunmuştur. Bu düzeltmeden dolayı okuyucularımızdan özür dileriz.

Haziran/2009