

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**AKDENİZ VE EGE BÖLGESİNDE YETİŞEN BAZI MERSİN (*Myrtus communis*
L.) GENOTİPLERİNİN MORFOLOJİK ve MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

Betül TÜZÜN KİS
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞUBAT 2020
ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKDENİZ VE EGE BÖLGESİNDE YETİŞEN BAZI MERSİN (*Myrtus communis*
L.) GENOTİPLERİNİN MORFOLOJİK ve MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

Betül TÜZÜN KİS
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2018-4201 nolu proje ile desteklenmektedir.**

ŞUBAT 2020

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİNDE YETİŞEN BAZI MERSİN (*Myrtus communis*
L.) GENOTİPLERİNİN MORFOLOJİK ve MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU

BETÜL TÜZÜN KİS
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 28/02/2020 tarihinde jüri tarafından Oybirliği/ Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Hatice İKTEN (Danışman)

Prof. Dr. Fatma KOYUNCU

Doç. Dr. Engin YOL

ÖZET

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİNDE YETİŞEN BAZI MERSİN (*Myrtus communis* L.) GENOTİPLERİNİN MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Betül TÜZÜN KİS

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hatice İKTEN

Şubat 2020; 55 Sayfa

Mersin (*Myrtus communis* L.) Akdeniz bölgesinde yetişen çalı formunda, herdem yeşil, tıbbi ve aromatik bir bitkidir. Ülkemizde de Akdeniz ikliminin hâkim olduğu sahil kesimlerinde yetişmektedir. Yeni çeşitlerin geliştirilmesi genetik çeşitliliğin yüksek olduğu gen kaynaklarının korunması ile mümkün olabilir. Genetik çeşitlilik ıslah çalışmalarının amacına hizmet eden en önemli unsurdur ve hastalık ve zararlılara dayanıklılık genleri genellikle yabancı olarak doğada yetişen genotiplerde bulunmaktadır. Moleküler yöntemler sayesinde genetik çeşitlilik belirlenerek yeni genetik kaynaklara yer açılmakta böylece ıslah programları için genetik çeşitlilik açısından zengin gen havuzları oluşturulmaktadır

Bu çalışmada Türkiye'nin Ege ve Akdeniz Bölgelerinden toplanan 49 mersin (*Myrtus communis* L.) genotipinin morfolojik ve moleküler analizleri yapılarak genetik çeşitliliğinin incelenmesi amaçlanmıştır. Morfolojik olarak meyve ağırlığı, boyu, eni, tohum sayısı, tohum ağırlığı, meyve eti ağırlığı, yaprak eni ve boyu ölçülmüştür. Çalışmada meyve ağırlığı 0.06-1.28g, meyve boyu 6.45-16.23mm, meyve eni 4.17-13.08 mm, tohum sayısı 2.2-24.4, tohum ağırlığı 0.02-0.23g, meyve eti ağırlığı 0.03-1.04 g, yaprak boyu 10.36-32.85mm, yaprak eni 5.5-14.34 mm arasında değiştiği belirlenmiştir. Moleküler karakterizasyon için SSR (Simple Sequence Repeat/ Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatelitler) ve iPBS (Primer arası bağlanma yeri) primerleri kullanılmıştır. Oniki iPBS primeri ile yapılan PCR amplifikasyonu sonucunda toplamda 135 adet bant elde edilmiş ve bunlardan 80 adet tanesi polimorfik olarak skorlanmıştır. Oniki SSR primeri ile yapılan PCR sonucunda da toplamda 55 adet bant elde edilmiş ve bunlardan sadece *Myrcom10* primeri monomorfik bant vermiştir. Genotipler arasındaki benzerlik indeksi iPBS primerleri ile yapılan analizler sonucunda 0,59 ile 1,00, SSR primerleri ile yapılan analizler sonucunda 0,61 ile 1,00 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Benzerlik indekslerine bağlı olarak elde edilen dendrogramda genotiplerin coğrafi bölgelere göre gruplanmadığı ancak meyve rengine göre kısmen gruplandığı görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELE: Mersin, *Myrtus communis*, genetik çeşitlilik, SSR, iPBS

JÜRİ: Dr. Öğr. Üyesi Hatice İKTEN

Prof. Dr. Fatma KOYUNCU

Doç. Dr. Engin YOL

ABSTRACT
MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME
MERSIN (*Myrtus communis* L.) GENOTYPES GROWING IN THE
MEDITERRANEAN AND AEGEAN REGIONS

Betül TÜZÜN KİS

MSc Thesis in Agricultural Biotechnology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Hatice İKTEN

February 2020; 55 Pages

Myrtle (*Myrtus communis* L.) is an evergreen, medicinal and aromatic plant growing in the Mediterranean region. In our country it grows mostly in the coastal region where Mediterranean climate is dominated.

Developing new varieties requires preservation of genetic resources including rich genetic diversity. Genetic diversity is the most important element for breeding studies, and resistance genes to pests and diseases are mostly intended to be exists in the wild-grown genotypes. Molecular techniques help to determine the genetic relationship between the genotypes and create to new genetic resources for breeding programs.

The objective of this study was to analyze the morphological and molecular diversity of 49 Myrtle (*Myrtus Communis* L.) genotypes collected from Aegean and Mediterranean regions of Turkey. Fruit parameters measured include fruit weight, height, width, number of seeds, seed weight and pulp weight. Leaf width and length were also measured as morphological characters. Fruit weight measured between 0.06-1.28 g, pulp weight 0.03-1.04g fruit length 6.45-16.23 mm and fruit width between 4.17-13.08 mm. The number of seeds per fruit varied from 2.2 to 24.4, seed weight varied between 0.02-0.23 g, leaf length measured between 10.36-32.85 mm and leaf width was determined between 5.5-14.34 mm. Molecular characterizations were determined based on SSR (simple Sequence Repeat Sequences or Microsatellites) and iPBS (primary binding site) primers. PCR amplification with 12 iPBS primers yielded a total of 135 bands and 80 of these were polymorphic. A total 55 band were obtained with 12 SSR primers and only *Myrcom10* primer produced monomorphic band. The similarity index between genotypes was varied between 0.59 and 1.00 with iPBS primers and 0.61 to 1.00 with SSR primers. The dendrogram obtained based on the similarity indexes showed that genotypes were not clustered based on the geographic origins but partially grouped according to fruit color.

KEYWORDS: Myrtle, *Myrtus communis* L., genetic diversity, SSR, iPBS

COMMITTEE: Asst. Prof. Dr. Hatice İKTEN

Prof. Dr. Fatma KOYUNCU

Assoc. Prof. Dr. Engin YOL

ÖNSÖZ

Yüksek Lisana eğitimim boyunca beni yönlendiren, bilgileriyle beni aydınlatan ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, danışmanımdan öte Sayın sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Hatice İKTEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımızda katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Cengiz İKTEN ve Dr. Öğr. Üyesi Ceren SELİM'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını, bilgisini ve deneyimi esirgemeyen Yeliz YILMAZ, her zaman yardımcı olan Seval ŞENÇOPUR, Arş. Gör. Hilal Şule TOSUN, Arş. Gör. Duygu SARI YOL'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımda bana her zaman destek olan sevgili eşim Cihan KİS'e, beni her zaman yüreklendiren annem Çiğdem TÜZÜN ve babam Tayfun TÜZÜN' desteklerini her zaman hissettiğim abim Tevfik TÜZÜN, ablam Nihan ÇALIK TÜZÜN neşe kaynağımız Mert TÜZÜN, dedem ve anneannem Mustafa- Saliha KARATON'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
AKADEMİK BEYAN	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
2.1. Moleküler Çalışmalar.....	6
2.2. Morfolojik Çalışmalar.....	9
3. MATERYAL VE METOT	13
3.1. Materyal	13
3.2.Metot	18
3.2.1.Morfolojik Ölçümler	18
3.2.2.Genomik DNA İzolasyonu.....	19
3.2.3. SSR analizleri.....	20
3.2.4. iPBS Analizleri	21
3.2.5. Moleküler verilerin değerlendirilmesi.....	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	22
4.1. Morfolojik Bulgular ve Tartışma	22
4.2. Genomik DNA izolasyonu.....	28
4.2.2.iPBS analizleri.....	28
4.2.3. SSR analizleri.....	34
4.2.4. SSR ve iPBS analizleri sonucu elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi	39

4.2.5. SSR ve iPBS analizleri sonucu elde edilen verilen karşılaştırılması	42
4.2.6. Morfolojik ve moleküler analizlerden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi.....	42
5. SONUÇLAR	45
6. KAYNAKLAR	47
7. EKLER.....	53
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Akdeniz ve Ege Bölgesinde Yetişen Bazı Mersin (*Myrtus communis* L.) Genotiplerinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak bulunduğunu belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

28/02/2020

Betül TÜZÜN KİS

Betül

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
%	: Yüzde oranı
bp	: Baz çifti
cm	: Santimetre
m	: Metre
mm	: Milimetre
mg	: Miligram
g	: Gram
kg	: Kilogram
kcal/g	: Kilokalori/gram
dk	: Dakika
sn	: Saniye
°C	: Santigrat derece
M	: Molar
mM	: Milimolar

Kısaltmalar

DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism-Kısıtlanmış Parça
SSR	: Simple Sequence Repeat-Basit Dizi Tekrarları
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA-Rasgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism-Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Farklılığı
SRAP	: Sequence-Related Amplified Polymorphism (Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm)
STS	: Sequence Tagged Site
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Regions
CAPS	: Cleaved Amplified Polymorphic
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
MP-PCR	: Microsatellite Primed Polymerase Chain Reaction
ISTR	: Ters dizilim etiketli tekrar
S-SAP	: Dizilim-spesifik çoğaltılmış polimorfizm
RBIP	: Retrotraspozon-temelli insersiyonel polimorfizm
IRAP	: Retrotranspozon arası çoğaltılmış polimorfizm
REMAP	: Retrotranspozon-mikrosatellit çoğaltılmış polimorfizm
TRIM	: Terminal tekrar transpozon minyatür gösterimi
IMP	: MITE- arası polimorfizm
ISAP	: SINE arası çoğaltılmış polimorfizm
R-RAP	: RAPD-retrotranspozon çoğaltılmış polimorfizm
GRIP	: Gen retrokopya insersiyon polimorfizm
İPBS	: Primer arası bağlanma yeri
CTAB	: Cetly Trimethyl Amonyum Bromide
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
Tris-Cl	: Tris(hydroxymethyl)aminomethane-klorür
NaCl	: Sodyum klorür
MeOH	: Methanol
CH ₂ Cl ₂	: Metilen klorür

GA₃ : Giberellik Asit

N : Azot

K : Potasyum

dNTP : Deoksiribonükleotidtrifosfat

MgCl₂ : Magnezyum klorür

NTSYS : Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System-Sayısal Taksonomi ve Çok Değişkenli Analiz Sistemi

UPGMA : Unweighted Pair-Goups Method Using Arithmetic Averages

rpm : Rotation Per Minute-Dakikadaki Devir Sayısı



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Myrtus communis</i> L. (mersin) bitkisinin (a) çiçek yapısı (Antalya, Göynük), (b) yaşlanmış ağaç formuna dönmüş görünümü (Antalya, Bahtılı Köyü), (c) çalı formundaki görünümü (Antalya, Gökçam Köyü).....	2
Şekil 3.1. Antalya'nın farklı lokasyonlarından toplanan bazı genotiplerin yerinde çekilmiş fotoğrafları: (a) Gökçam, (b) Kuzdere, (c) Bahtılı, (d) Göynük	13
Şekil 3.2. Çalışmada değerlendirilen bazı mersin genotiplerinin örnek görüntüleri	16
Şekil 3.3. Meyvelerin ve yaprakların morfolojik ölçümleri	19
Şekil 4.1. Morfolojik verilerle oluşturulan dendrogram	26
Şekil 4.2. Morfolojik veriler ile yapılan temel bileşenler analizi sonu oluşturulan iki boyutlu grafik.....	27
Şekil 4.3. Morfolojik veriler ile yapılan temel bileşenler analizi sonu oluşturulan üç boyutlu grafik.....	27
Şekil 4.4. Mersin genotiplerinin DNA jel görüntüsü (M=1 kb ladder)	28
Şekil 4.5. iPBS PCR örnek jel görüntüleri; (a) 2270 primeri (b) 2080 primeri (c) 2078 primeri (d) 2378 primeri	29
Şekil 4.6. iPBS analizi sonucu elde edilen dendrogram	32
Şekil 4.7. iPBS verileri ile yapılan temel bileşenler analizi sonu oluşturulan iki boyutlu grafik	33
Şekil 4.8. iPBS verileri ile yapılan temel bileşenler analizi sonu oluşturulan üç boyutlu grafik	33
Şekil 4.9. Örnek poliakrilamit jel görüntüleri; (a) Myrcom1 primeri (b) Myrcom4 primeri	35
Şekil 4.10. SSR analizi sonucu elde edilen dendrogram	37
Şekil 4.11. SSR verileri ile yapılan temel bileşenler analizi sonu oluşturulan iki boyutlu grafik	38
Şekil 4.12. SSR verileri ile yapılan temel bileşenler analizi sonu oluşturulan üç boyutlu grafik	38
Şekil 4.13. SSR ve iPBS analizlerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesiyle oluşturulan dendrogram.....	40
Şekil 4.14. SSR ve iPBS verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan iki boyutlu grafik	41

Şekil 4.15. SSR ve iPBS verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan üç boyutlu grafik.....	41
Şekil 4.16. Morfolojik ve moleküler analizlerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesiyle oluşturulan dendrogram.....	43
Şekil 4.17. Morfolojik ve moleküler verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan iki boyutlu grafik	44
Şekil 4.18. Morfolojik ve moleküler verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan üç boyutlu grafik.....	44



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Mersin genotiplerinin lokasyonları Mersin genotiplerinin lokasyonları	14
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin listesi	17
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan iPBS primerlerinin listesi.....	17
Çizelge 3.4. CTAB protokolü bileşenleri	20
Çizelge 3.5. SSR PCR döngü aşamaları	20
Çizelge 3.6. Licor jel matris bileşenleri	21
Çizelge 3.7. Poliakrilamid jel bileşenleri	21
Çizelge 3.8. iPBS PCR döngü aşamaları	21
Çizelge 4.1. Morfolojik veri değerleri	23
Çizelge 4.2. iPBS primerlerine ait toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve polimorfizm oranları	30
Çizelge 4.3. SSR primerlerine ait toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve polimorfizm oranları	34

1.GİRİŞ

Mersin bitkisi (*Myrtus communis* L.) *Myrtaceae* familyasına bağlı, çok yıllık, herdem yeşil, çalı formunda bir bitkidir (Yıldırım vd. 2013). *Myrtus communis* L. 2n=22 kromozom sayısına sahip, çiçekleri hermafrodit, böcekler aracılığıyla kendine döllen bir yapıdadır (Gonzalez- Varo vd. 2009).

Myrtaceae familyası yaklaşık 100 cins ve 3000 türü kapsayan büyük bir familyadır. Sadece *Myrtus communis* türü Akdeniz çevresinde yayılmıştır (Yıldırım, 2012). Çoğunluğu Güney Amerika ve Avustralya'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde Kuzey Amerika'nın sıcak bölgelerinde yayılan en önemli bitki türlerinden biridir. Tunus, Fas, Türkiye, Fransa sahillerinde yabancı olarak yetişmektedir. İran, İspanya, İtalya, Korsika ve Yugoslavya'da kültüre alınmıştır (Yıldırım vd. 2013). Türkiye'de Mersin bitkisi çam ormanında ve nehir kenarlarında, özellikle deniz seviyesinden 500-600 metre yükseklikte Toros dağlarında yetiştiği bildirilmiştir. Akdeniz bölgesinde doğal olarak yetişen tıbbi ve aromatik bir bitkidir (Uzun vd. 2016). Adana, Antalya, İçel, Çanakkale, İstanbul, Zonguldak, Sinop, Ordu, Trabzon, İzmir, Samsun, Muğla ve Hatay çevresinde de yaygın olarak bulunmaktadır.

Bitki yöresel olarak hambeles, mersin veya murt olarak da bilinmektedir (Aydın ve Özcan, 2007). Morfolojik özelliklere dayanarak farklı iki cinsi tanımlanmıştır: *Myrtus communis* var. *Italica* Mill ve *Myrtus communis* var. *Baetica* Mill. Her iki türde birçok vejetatif özellik ile birbirlerine benzemektedirler. Ancak yaprak ve meyve boyutları bakımından farklılık göstermektedir (Messaoud, 2005; Messaoud ve Boussaid, 2011). *Myrtus communis* L. (mersin, murt)'un Akdeniz florasının karakteristik bir temsilcisi olduğu ve küçük yapraklı, 1,8-2,4 m boyunda ve yarıklı kabukları olan çekici, aromatik bir çalı olduğu belirtilmiştir. Hoş kokulu beyaz çiçekleri Mayıs ve Ağustos ayları arasında görülür (Şekil 1.1). Yaygın olan mersin bitkisi 2-3 m uzunluğunda dik gövdeli, dalları yakın ve yaprakları herdem yeşildir. Bitkinin kökü dallanmış, koyu yeşil yaprakları da parlak, tüysüz, sert, zıt şekilde, eşli ve helezonik şekilde oval ve mızraksı şekildedir. Bitki orta boyda 2 cm çapında kalın sarı anterlere ve beyaz çiçeklere sahiptir. Taç yaprakları beyaz bezelerle ve ince tüylerle kaplıdır. Bunlar da etrafa hoş bir koku vermektedir. Meyveleri bezelye büyüklüğünde olup yuvarlak, elips şeklinde mavi, beyaz veya siyahtır. Bunlar farklı boyutlarda ve şekillerdedir. Tüysüz meyveleri yuvarlak orta kısımları şişkin, dış kısımları da 4-5 parçalı çanağa sahiptir. (Stuart, 1994). Mersin bitkisi meyveleri çok miktarda sert ve küçük tohum taşır ve lezzeti buruktur. Meyve; uçucu yağ, tanen, şeker ve organik asitler (sitrik asit ve malik asit) içermektedir. (Erlaçin ve Erciyas, 1978). *Myrtus communis* var. *italica* iki farklı meyve renginde bulunmaktadır ve olgunlaştığında koyu mavimsi (mor-siyah) renge dönüşen ve beyaz ya da sarımsı renge sahip meyveler oluşturmaktadır (Serçe vd. 2010). Bitki döktüğü tohumlarla kendiliğinden çoğalır ya da gövde çelikleriyle üretilir.

Mersin bitkisi çalı formunda bir bitkidir ancak doğada yaşlanmış, gövdesi kalınlaşmış ve ağaç formuna dönüşmüş genotiplere de rastlanılmaktadır (Şekil 1.1).



(a)

(b)



(c)

Şekil 1.1. *Myrtus communis* L. (mersin) bitkisinin (a) çiçek yapısı (Antalya, Göynük), (b) yaşlanmış ağaç formuna dönmüş görünümü (Antalya, Bahtılı Köyü), (c) çalı formundaki görünümü (Antalya, Gökçam Köyü)

Mersin fitokimyasal bileşikler bakımından zengindir, başlıca fitokimyasallar, flavonoidler ve antosiyanin türleri, tanen ve fenolik asitler olup diğer birçok çeşitli fenolik bileşiklerine sahiptir (Yeğin ve Uzun, 2015).

Mersin bitkisi uçucu yağ özelliği bakımından önem taşımaktadır. Yapraklarının yanı sıra çiçek ve meyvelerinde de uçucu yağ içermektedir. Uçucu yağların bileşimi orjinlere göre farklılık göstermektedir. Akdeniz bölgesinden toplanan örneklerden elde edilen uçucu yağların bileşiminde bulunan başlıca maddeler; Mirtenol, limonen, mirtenil, asetat, alfa, terpinol, alpha pinene, 1,8- sineol (ökaliptol), linaloldür.

Ülkemizden toplanan örneklerin bileşiminde ise limonen, alpha pinene, linalol ve linalil asetat'dır. Ülkemizdeki mersin bitkileri incelendiğinde güney sahil bölgesinden toplanan örneklerdeki uçucu yağ bileşim oranı daha yüksek olduğu görülmüştür (Oğur, 1994).

Mersin meyvelerinin üretim miktarı ve ticareti hakkında kesin bilgilere ulaşmak oldukça zor olmasına rağmen genellikle doğadan toplanarak semt pazarlarında özellikle Antalya, Hatay ve Mersin illerinde satıldığı gözlemlenmiştir (Toker, 2016).

Bu bitki geleneksel olarak antimikrobiyal özelliklere sahip antiseptik ve hipoglisemik bir ajan olarak kullanılır. Mersin esansiyel yağları (EO) farmakolojik, gıda ve kozmetik endüstrilerinde kullanılır (Shahbazian vd. 2018).

Aromatik ve şifalı bitkilere duyulan ilgi, gıda ve endüstriyel gıda ürünü olmayan yeni kullanımlar nedeniyle artmaktadır. Mersin halk tıbbının iyi bilinen bir kaynağını temsil eder. Son zamanlarda, bu türün yaygın kullanımı nedeniyle yetiştiriciliği ve kültüre alımı da artmıştır (Melito vd. 2011). Peyzaj mimarlığı çalışmalarında bitkinin parlak görünümü ve herdem yeşil olması nedeniyle peyzaj alanlarında vurgu amaçlı kullanılmaktadır. Sardunya ve Korsika'da meyvelerinden likör elde edilmektedir. Ayrıca şarap, reçel ve sirke yapımında da kullanılmaktadır (Bozdoğan vd. 2017). Bitki antioksidan ve antibakteriyel özelliğe sahip olduğu için karaciğer, böbrek, şeker, akciğer, deri ve göz hastalıklarına, enfeksiyonlara, diyare antiseptik özelliğinden dolayı bronşit ve verem hastalıklarının tedavilerinde kullanıldığı bilinmektedir (Aksay, 2016).

Dünyada artan nüfusun ihtiyacının karşılanabilmesi için tarımsal ürünlerin ıslahı büyük önem taşımaktadır. Bitki ıslah programlarında temel amaç yapılacak seleksiyonla daha verimli, kaliteli, hastalık ve zararlılara daha dayanıklı, stres koşullarına dayanabilen yeni çeşitler elde edilmesidir. Moleküler belirteçler sayesinde genetik çeşitliliğin belirlenmesi, ebeveynlerin belirlenmesi, dayanıklı genlerin araştırılması, genetik haritalama gibi pek çok alanda kullanılmaktadır ve moleküler belirteçler sayesinde bitki ıslah programlarının süresi azaltılmaktadır. Genetik çeşitlilik popülasyon içindeki ve popülasyonlar arasındaki genetik farklılıklar belirlenerek ortaya koyulur. Genetik çeşitlilik bir türün genetik bilgilerindeki biyoçeşitlilik seviyesidir. Bireyler ya da popülasyonlar arasındaki genetik çeşitlilik farklı seviyelerde ölçülebilir. Bu seviyeler DNA dizilerindeki değişikliklerin ölçümleri ile belirlenebilir (Çağlar, 2010).

Popülasyon genetik yapısını değerlendirmek, uygun koruma yöntemleri geliştirmek ve biyolojik çeşitlilik durumunu araştırmak için moleküler belirteçlere dayalı genetik karakterizasyon çalışmaları günümüzde başarıyla gerçekleştirilmektedir (Melito vd. 2017).

Ülkemizde mersin (*Myrtus communis* L.) bitkisinde genetik çeşitlilik üzerine yapılan çalışmalar çok sınırlıdır. Bu tez çalışmasında Akdeniz ve Ege Bölgesinden toplanan mersin (*Myrtus communis* L.) genotiplerinin morfolojik ve moleküler olarak incelenerek genetik çeşitliliğinin detaylı incelenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

Myrtaceae familyasına ait en bilinen üyeler Mersin (*Myrtus*), yenibahar (*Pimenta*), guava (*Psidium*), ökalıptüs (*Eucalyptus*) ve kaymak ağacıdır (*Acca veya Feijoa*). Bu familyanın üyesi olan mersin (*Myrtus communis*) Akdeniz maki topluluğunun en önemli tıbbi ve aromatik bitkilerinden birisidir (Çınar 2018; Alım ve Uzun 2017).

Mersin bitkisinin son yıllarda sağlık üzerine olumlu etkilerinin ortaya çıkmasıyla birçok araştırmacının ilgi odağı olmuştur. Mersin bitkisi üzerine morfolojik ve moleküler pek çok çalışmalar yapılmaktadır.

Genetik çeşitlilik bir türün genetik bilgilerindeki biyoçeşitlilik seviyesidir. Bir genin, belirli bir canlı türünün farklı popülasyonları arasında farklı frekanslarda (sıklıkta) bulunması ya da değişik kombinasyonlarda olması, bireyin ait olduğu popülasyonların birbirinden farklı olmasına ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliğe yol açmaktadır. Genetik çeşitlilik; allelik çeşitlilik, polimorfizm, ortalama heterezigotluk olarak tanımlanır. Bireyler ya da popülasyonlar arasındaki genetik çeşitlilik farklı seviyelerde ölçülebilir. Bu seviyeler DNA dizilerindeki değişikliklerin ölçümleri ile belirlenebilir. (Çağlar, 2010).

Gen kaynaklarının genetik kimliği ve karakterizasyonu, bitki genetik kaynaklarının korunması ve kullanımı için önemli bir adımdır. DNA tabanlı işaretleyiciler, bitki çeşitlerinin genetik çeşitliliğini değerlendirmek ve genetik, morfolojik, kimyasal ve ekolojik değişkenler arasındaki ilişkileri incelemek için yaygın şekilde kullanılmaktadır (Melito vd. 2014). Genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısını etkileyen başlıca faktörler, rasyonel olmayan popülasyon parçalanmaları ve kontrolsüz hasat yapılmasıdır (Messaoud vd. 2004).

Gen kaynaklarının tanımlanmasında ve sınıflandırılmasında morfolojik, biyokimyasal ve moleküler belirteçlerden faydalanılmaktadır. Morfolojik belirteçler bitki popülasyonu içinde, bir bitki ya da bir grubu diğerlerinden ayıran seçici özellik, o genotipi ayıran bir belirteç olarak değerlendirilir. Biyokimyasal belirteçler tohum kabuğu proteinleri, yapraklarda bulunan kimyasallar, sekonder metabolitler ve izoenzimler bu gruba girerler. Gen kaynakların tespit edilmesinde ve korunmasında moleküler belirteçlerden yararlanılmaktadır (Aksu ve Çevik, 2014). Moleküler belirteçlerden kalitatif ve kantitatif özelliklerin ıslahında, gen haritalama çalışmalarında, çeşit tanımlanması ve korunmasında, genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde yararlanılmaktadır (Alp, 2007).

Moleküler belirteçler, kaynağını kendilerinin üretildiği bitkilerin hücrelerinde bulunan DNA'lardan alır. Canlıların yapısını belirleyen şifre de DNA zincirlerinde olduğundan moleküler belirteçler, bitki popülasyonundaki çeşitlilik veya o popülasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100'e yakın güvenilirlikle değerlendirilirler. Bugün moleküler belirteçler bitki sistematğinde, ıslahında ve gen kaynaklarının değerlendirilmesinde etkin olarak kullanılmaktadır (Gülşen ve Mutlu,

2005). Moleküler belirteçler biyokimyasal ve DNA temelli olmak üzere ikiye ayrılırlar (Kumar, 1999).

DNA temelli moleküler belirteçler bitki genetik çeşitliliğini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılır (Melito vd. 2014). Kullanılan yöntemler bakımından moleküler belirteçler, hibridizasyona dayalı belirteçler ve Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) Dayalı Belirteçler olarak iki ana gruba ayrılabilir. Hibridizasyona dayalı belirteçlere örnek olarak; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism/ Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi), PCR tabanlı belirteçlere örnek olarak; SSR (Simple Sequence Repeat/ Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatellitler), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA/ Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism/ Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat/ Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) verilebilir. Bu belirteç sistemlerinin dışında; SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism), SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), STS (Sequence Tagged Site), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic), ve bunlara ilaveten DNA sekanslamasına dayalı SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markörleri ve MP-PCR (Microsatellite Primed Polymerase Chain Reaction), stratejileri de polimorfizmin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Yorgancılar vd. 2015). Son zamanlarda iPBS belirteçleri bitkilerde genetik çeşitliliğin belirlenmesinde alternatif olarak kullanılmaktadır (Mehmood vd. 2013).

Transpozon elementler bir genom içinde kromozomal lokasyonlar arasında hareket edebilen DNA dizileridir. Transpozonlar mekanizmalarına göre 2 ana gruba ayrılır. Retrotranspozonlar (Sınıf I transpozonlar) bir RNA ara ürünü aracılığıyla kendilerini kopyalayarak hareket ederler ve genomun başka bir konumuna yerleşirler. DNA transpozonları (Sınıf II transpozonları) bir RNA ürünü kullanmadan bulundukları konumdan transpozaz enzimleri ile kesilip taşınarak genomun başka bir konumuna yerleşirler (Miller ve Capy, 2004).

Transpozon temelli bazı markör sistemleri; ISTR (Ters dizilim etiketli tekrar), S-SAP (Dizilim-spesifik çoğaltılmış polimorfizm), RBIP (Retrotranspozon-temelli insersiyonel polimorfizm), IRAP(Retrotranspozon arası çoğaltılmış polimorfizm), REMAP (Retrotranspozon-mikrosatellit çoğaltılmış polimorfizm), TRIM (Terminal tekrar transpozon minyatür gösterimi), IMP (MITE- arası polimorfizm), ISAP(SINE arası çoğaltılmış polimorfizm), R-RAP(RAPD-retrotranspozon çoğaltılmış polimorfizm), GRIP (Gen retrokopya insersiyon polimorfizm), iPBS (Primer arası bağlanma yeri). (Koçak ve İnal, 2017)

iPBS metodu, LTR retrotranspozonlarda ters transkriptaz primer bağlanma bölgeleri arasının çoğaltılması esasına dayanır. iPBS primerleri, replikasyon döngüsü sırasında tRNA'ların ters transkripsiyonu için primer bağlama bölgesi (PBS) dizilerinin korunmuş kısımları üzerinde tasarlanmıştır. iPBS belirteçleri diğer retrotranspozon işaretleyicilerinden farklıdır çünkü sadece endojen retrovirüslerde değil, aynı zamanda Gypsy ve Copia LTR retrotranspozonlarında da uygulanabilir. iPBS amplifikasyon tekniği için dizi bilgisine ihtiyaç duyulmamakta, ayrıca primer uzunluğu ve yüksek

bağlanma (annealing) sıcaklığı sayesinde yüksek oranda tekrarlanabilir sonuçlar vermektedir. iPBS 100- 5000 bp uzunluğunda 15-50 bant üretebilir. iPBS belirteçleri klon tanımlama, genetik çeşitlilik analizi ve filogenetik çalışmalarda başarıyla uygulanmıştır (Guo vd 2013; Kalendar, 2010).

Canlıların genomunda sıklıkla tekrarlanan DNA dizileri bulunmaktadır. Basit dizi tekrarları (SSR -Simple Sequence Repeats) veya mikrosatellitler, ökaryotik genomlar boyunca dağılmış ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır. (Yorgancılar vd. 2015) Tekrarlama sayısı bireyler arasında değişiklik gösterebilirken yüksek mutasyon değerlerinin tekrarlanma sayılarını etkilemesinden dolayı SSR belirteçleri yüksek oranda polimorfizm göstermektedir (Hemmat vd. 2003).

Ökaryotik genoma özgünlük gösteren mikrosatellitlerin ko-dominant özellik göstermesi, yüksek derecede polimorfik ve çok sayıda allel üretebilir olması, tekrar etmesi ve otomasyona uygun olması, aynı tür ve familyaya ait cinsler arasında transfer edilebilir ve uluslararası veri tabanlarının karşılaştırmasına olanak sağlaması yönünden kullanışlı bir yöntemdir. SSR primerlerinin bu avantajları, bitki tanımlamada diğer DNA markörlere (RFLP, RAPD, AFLP vb) göre daha çok tercih edilmesini sağlamıştır (Altınbay, 2012; Litt ve Luty, 1989; Orta, 2016).

SSR primerlerinin en önemli dezavantajı ise yeni primer sentezlenmesinin zor ve maliyetli olmasıdır (Yorgancılar vd. 2015).

2.1. Moleküler Çalışmalar

Dünyada farklı moleküler belirteç sistemleri kullanılarak mersin bitkisinde moleküler karakterizasyon çalışmaları yürütülmüştür.

Bruna vd. (2005) İtalya'daki 6 farklı bölgeden toplanan 51 yabani olarak yetişen mersin genotipi arasındaki genetik ilişkileri 3 AFLP primer kombinasyonu kullanarak belirlemiştir. UPGMA küme analizine göre mersin genotipleri arasındaki benzerlik maksimum 0.97 ile minimum 0,62 arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir. Diğer bir çalışmada ise Bruna vd. (2007) 6 Akdeniz ülkesinin botanik bahçelerinden ve İtalya'nın 6 farklı bölgesinden toplanan 92 mersin (*Myrtus communis* L.) genotipi arasındaki genetik farklılıkları 5 AFLP kombinasyonu kullanarak belirlemişlerdir. AFLP primer kombinasyonlarının analizi sonucunda 122 polimorfik bant elde edilmiş ve polimorfizm oranını yaklaşık %56 olarak bulmuşlardır. Messaoud vd. (2011) 4 mersin (*Myrtus communis* L. Var *italica* Mill) popülasyonunda bulunan 5 koyu mavi ve 5 beyaz meyveli genotipin uçucu yağ bileşimi ve kimyasal, genetik çeşitliliğini araştırmışlar ve her popülasyonun moleküler yapısını değerlendirmek için AFLP primerlerini kullanmışlardır. Popülasyon içindeki genetik çeşitliliğin morfolojilerine göre değiştiğini saptamışlar. Koyu mavi meyveli popülasyonun varyasyonu beyaz meyveli popülasyonunkinden yüksek çıkmıştır aynı zamanda her bir popülasyon arasında da yüksek genetik çeşitlilik gözlemlenmiştir. Kimyasal ve genetik veriler arasında da anlamlı bir korelasyon olduğunu saptamışlardır.

AFLP primerleri ile yapılan diğer bir çalışmada ise Melito vd. (2014) bazı mersin genetik kaynaklarının genetik karakterizasyonunu yapmış ve popülasyon yapısını belirlemişlerdir. Genetik çeşitlilik ve çevresel faktörler arasındaki karşılıklı ilişkileri araştırmak için genetik çeşitlilik ve farklı çevre koşullarında yapı dağılımı hakkında bilgi vermek amacıyla popülasyon genetik yapısı analizi ve genetik çeşit özelliklerinden yararlanılmışlar. Genetik, kimyasal ve tarımsal özelliklerin ilişkilendirme (association) haritalarının oluşturulması için daha fazla çalışma yapılması gerektiği sonucuna varmışlardır.

Sicilya’da yürütülen bir çalışmada (Melito vd. 2016) 7 popülasyonda 36 genotipin morfolojik, kimyasal ve genetik karakterizasyonunu yapmıştır. Moleküler karakterizasyon için AFLP primerlerinin kullanıldığı çalışmada çok disiplinli yaklaşımla (morfolojik, kimyasal ve moleküler) doğal mersin genetik kaynakları arasındaki farklılıkların daha iyi değerlendirilebileceği belirtilmiştir.

AFLP primerleri kullanılarak Agrimonti vd. (2006) Sardunya ve Calabria bölgelerinden 14 popülasyona ait 133 doğal yabani mersin (*Myrtus communis* L.) genotipi arasındaki genetik çeşitliliği değerlendirmiş ve popülasyonlar içindeki genetik varyasyonun popülasyonlar arasındaki varyasyondan daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca bu iki bölgede bulunan mersin (*Myrtus communis* L.) popülasyonlarının genotipik açıdan farklı olduğunu bildirmişlerdir.

Messaoud vd. (2007) Tunus’da farklı biyoklimatik şartlara sahip 3 bölgeden toplanan altı *Myrtus communis* L. (*Myrtaceae*) popülasyonu arasındaki genetik varyasyonu belirlemek için 9 izoenzim ve 5 RAPD primeri kullanmışlar. İzoenzimler ve RAPD belirteçleri ile farklı biyoklimatik şartlara sahip popülasyonlar arasında yüksek genetik çeşitlilik saptamışlardır.

Albaladejo vd. (2010) Akdeniz’deki yaygın mersin (*Myrtus communis*) çalıları, genetik çeşitlilik seviyeleri ve güney İspanya’da bulunan bölünmüş peyzaj alanlarındaki gen akış modellerini değerlendirmek için 14 mikrosatellit belirteçleri geliştirmişlerdir.

Nora vd. (2014) iki Akdeniz çalı türü (*Myrtus communis* ve *Pistacia lentiscus*) arasındaki genetik çeşitliliği mikrosatellit belirteçleri kullanarak analiz etmişler ve mersin popülasyonları arasında yüksek seviyede genetik çeşitlilik göstermiştir.

ISSR primerleri kullanılarak yapılan çalışmada ise Melito vd. (2013) biri Sardunya bölgesinden diğeri yabani Asinara, Korsika ve Surigheddu’dan toplanmış iki önemli popülasyonu genotipik varyasyon ve genetik çeşitlilik açısından değerlendirilmiştir. Seksen yabani mersin genotipi ile 36 aday mersin çeşitlerini kullanmışlar. Yabani olarak yetişen mersin genotipleri, aday mersin çeşitlerine göre oldukça farklılık göstermiş ve genetik çeşitlilik seviyelerinde yüksek çıkmıştır.

Atlantik ormanındaki 8 yerli türün genetik araştırmalarında 21 mikrosatellit belirtecinin yararlı olup olmadığı Fagundes vd. (2016) tarafından incelenmiş ve mikrosatellit primerlerinin incelenen 8 türün 7’sinde % 52 oranında aktarılabılır olduğunutespit etmişlerdir. Tarımsal bölgelerde ve orman yamaçlarında büyüyen çalı

türü olan 14 *Myrtus communis* L. popülasyonunda AFLP ve alloenzim belirteçleri kullanılarak yapılan bir çalışmada tohum aracılığı ile gen akışı ve popülasyon yapısını incelemiş ve popülasyonlar arasındaki genetik farklılık anlamlı bulunmuştur (Albaladejo vd. 2008).

İzoenzim analizi ile 3 coğrafik bölgede 17 yabani mersin (*Myrtus communis*) popülasyonun genetik çeşitliliğini ve yapısını değerlendiren Messaoud vd. (2004) yüksek düzeyde genetik çeşitlilik tespit etmişlerdir.

Ghafouri vd. (2018) İran mersin popülasyonlarının genetik çeşitliliğini morfolojik ve moleküler belirteçler ile araştırmışlar ve esansiyel yağ içeriğini değerlendirmişlerdir. Popülasyonlar arasında esansiyel yağ içeriği ve morfolojik özellikler bakımından yüksek varyasyon elde etmişlerdir. Ayrıca 11 mersin popülasyonuna ait 86 bireyin genetik çeşitliliğini incelemek için sekiz SRAP (sekansa bağlı kuvvetlendirilmiş polimorfizm) primer kombinasyonu kullanmışlar ve polimorfizm oranı %98,36 olarak tespit edilmiştir. Moleküler varyans analizi (AMOVA), toplam varyasyonun %89,31'ini popülasyon içi, %10,69 popülasyonlar arası saptamışlardır.

Sardunya eko-coğrofi bölgesindeki yabani mersin popülasyonlarının yapısını ve genetik çeşitliliğini incelemek için yapılan çalışmada 18 popülasyon ve her popülasyondan 20 birey 4 AFLP primer kombinasyonu ile analize tabi tutulmuş ve 150 polimorfik bant elde etmişlerdir. Toplamda iki farklı genetik grup oluşmuştur. Bu gruplar agrometorolojik ve coğrofi değişkenlerden etkilenerek ayrılmışlardır (Melito vd. 2017).

Corana vd. (2017) Oristano'da bulunan "Antonio Milella" deneysel istasyonundaki (Sardunya, İtalya) 14 SSR primeri ile mersin genotipleri arasındaki genetik çeşitlilik başarılı bir şekilde tanımlanmıştır. Yine Sardunya'da Mele vd. (2019) tarafından yürütülen çalışmada 460 mersin genotipinin (46 seçme genotip, 414 yabani genotip) 14 SSR primeri ile genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. On SSR primerinin polimorfik olduğu saptanmıştır.

iPBS primerleri ile mersin (*Myrtus communis* L.) genotipinde yapılmış henüz bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak farklı türler ile yapılan çalışmalara baktığımızda;

Karık vd. (2019) 26 il ve 4 coğrafik bölgeden topladıkları 94 Türk defne (laurel) genotipinde genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısını incelemek için 13 iPBS primeri kullanmışlardır. Analizler sonucunda toplamda 195 bant elde etmişler bunların 164 tanesinin polimorfik olduğu ve polimorfizm oranının %84.1 olduğunu bildirmişlerdir.

Milovanov vd. (2019) 33 asma genotipinde seçtikleri 4 iPBS primeri ile genetik analizler yapmışlardır. Toplam 1412 bant elde etmişler ve bunlardan 618 tanesinin polimorfik olduğu ve polimorfizm oranının %43.74 olarak tespit edildiğini rapor etmişlerdir. iPBS primerleri ile yapılan UPGMA analizleri sonucunda genotipler 5 gruba ayrılmıştır. Böylece iPBS primerlerinin asmada genotipler arasındaki benzerlik ve farklılıkların belirlenmesinde başarılı bir şekilde kullanılabildiği görülmektedir.

Borna vd. (2016) 89 aslankuyruğu (*Leonurus cardiaca* L.) genotipinin genetik ilişkilerini incelemek için yaptıkları çalışmada 7 iPBS primeri ile 191 toplam bant elde etmişlerdir. Çalışma sonucunda iPBS primerlerinin aslankuyruğunda genetik çeşitliliği ortaya koyabileceğini belirlemişlerdir.

Guo vd. (2013) 35 üzüm çeşitinde genetik çeşitliliği değerlendirmek için 15 iPBS primeri kullanmışlardır. Doksandokuz polimorfik bant ile %86.3 polimorfizm elde etmişlerdir. Üzüm çeşitlerinde iPBS primerlerinin etkin bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Ülkemizde mersin (*Myrtus communis* L.) bitkisinde yapılan moleküler çalışmalar nispeten sınırlıdır. Serçe ve arkadaşlarının (2008) yaptığı çalışmada Hatay yöresine ait 2 adet yabani ve 6 adet kültüre alınmış genotipin morfolojik özellikleri incelenerek 26 RAPD primeri ile aralarındaki genetik uzaklıklara bakılmış ve genetik açıdan varyasyonun düşük olduğu ve dar bir temele sahip olduğu belirlenmiştir

Serçe vd. (2010) yapmış olduğu diğer bir çalışma ise Hatay yöresine ait iki yabani ve altı kültüre alınmış murt genotipini karyolojik özellikler açısından karşılaştırılmış ve morfolojik olarak farklı görünseler de yabani ve kültüre alınmış genotiplerde karyolojik özellikler açısından çok farklılık görülmemiştir.

2.2. Morfolojik Çalışmalar

Myrtus communis'de yağ bileşimi, meyve özelliği, fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri için yapılmış çalışmalara baktığımızda;

Messaoud vd. (2004) mersinin (*Myrtus communis* L.) üç farklı biyoklimatik evresinde temel yağ analizi yapmışlar. Yağların %79.10'unu temsil eden 24 bileşen tanımlamışlardır. Ana bileşenler *a*-pinen (%19.20) ve 1,8- sineol (%15.96), diğer önemli bileşenlerde linalool (%7.66), *a*-terpineol (%7.51) ve limonen (%5.75) olarak bulmuşlardır.

Myrtus communis var. *italica*'nın meyve olgunlaşma sırasında uçucu yağ ve yağ asidi bileşimini gözlemleyen Wannes vd. (2008) hasat zamanında mersin meyvelerinin bazı fiziksel özellikleri, meyve ağırlığı ve nem içeriği üzerinde olumlu etkiler görmüşler. Meyve esansiyel yağ verimleri %0.003 ile % 0.01 arasında değişmiş ve çiçeklenmeden 60 gün sonra % 0.11 oranında artış gözlemlemişlerdir.

Mulas ve Cani (1999) Sardunya'da 70'den fazla yabani mersin çeşitinin ürün geliştirilmesi ve gen kaynaklarının değerlendirilmesi için yaptıkları çalışmada meyve ağırlığı ve hacmi, tohum ağırlığı, sürgün sayısı ve sürgün uzaması arasında pozitif bir korelasyon gözlemlemişlerdir.

Tunus'da aynı bölgede yetişen iki farklı *Myrtus communis*'in koyu mavi ve beyaz meyvelerinin özleri temel yağ ve yağ asidi bileşimleri, fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri bakımından değerlendiren Messaoud ve Boussaid (2011) koyu mavi meyvelerden yüksek oranda *a*-pinen (%11.1), linalool (%11.6), *a*-terpineol (%15.7), metil öjenol (%6.2) ve geraniol (%3.7) elde etmişlerdir. Beyaz meyvelerden elde edilen

yağlardaki ana bileşiğin myrtenil asetat (%20.3) olduğunu bulmuşlardır. Aynı zamanda beyaz meyve ve tohumlarında sırasıyla en yüksek linoleik asit (%78.0) ve oleik asit (%20.0) bulunduğunu bildirmişlerdir. Antioksidan aktivitesinin ise en fazla koyu mavi meyvelerde olduğunu saptamışlardır.

Wahid vd. (2016)'nın Fas'ta yaptıkları çalışmada meyve ve yapraklardaki esansiyel yağ veriminin önemli olduğunu bunun ıslah programları için önemli olabileceğini belirtmişlerdir.

Uçucu yağlar ve fenolik bileşikler sayesinde yaprak ve meyveler şifalı ve aromatik bitki olarak değerlendirilebiliyor. Yabancı bitkilerin kültüre alınma süreçlerinde genotipik farklılıklar ortaya çıkarken meyve ve yapraklardaki esansiyel yağ oranları da değişkenlik göstererek ıslah programlarına yol gösterebiliyor. Usai vd. (2018) yaptığı çalışmada Sardunya'da aynı koleksiyonda yetişen 47 bireyden toplanan meyvelerde hidrodistilasyon ve gaz kromatografisi- kütle spektrometresi analizi yapılmıştır. Bunlardan sadece 5 bitkiden toplanan meyvelerde yağ verimi yüksek düzeyde bulunmuştur.

Dessena vd. (2017) mersin bitkisinde daha önceden açık tozlaştırma ile üretilen yeni bir çeşit grubun vejetatif büyüme, çiçeklenme, meyve gelişimi ve olgunlaşması, yaprak büyümesi gibi özelliklerini inceleyerek yaptıkları seleksiyon sonucunda, meyve biçimlerinde (eliptik, oval gibi) yüksek morfolojik çeşitlilik gözlemlenmiştir.

Ülkemizde yapılan morfolojik çalışmalar ise;

Uzun vd. (2016) siyah ve beyaz renkli mersinlerde meyve tutumundan hasada kadar olan meyve gelişim döneminde, yaprak ve meyvelerde meydana gelen değişiklikleri gözlemlenmişler. Temmuz ve kasım ayları arasında meyvelerdeki fiziksel ve kimyasal değişimler ile yapraklardaki uçucu yağ bileşenlerindeki değişiklikleri tespit etmişlerdir.

Mersin (*Myrtus communis* L.) bitkisinin, yaprak verimi ve uçucu yağ üretimine dikim sıklıklarının ve hasat zamanlarının etkisini belirlemek için Hatay'da yapılan çalışmada 2015 ve 2016 yıllarında elde edilen verilere göre en uygun yaş yaprak verimini 50 x 100 cm sıklıkla dikilen beyaz meyveli kültür formundan elde etmiştir. Uçucu yağ oranı ve verimi açısından incelediğinde de en yüksek değerler 100 x 50 cm sıklıkla dikilen ve temmuz ayında hasat edilen beyaz meyveli bitkilerde (Öztürk, 2018).

Yeğin ve Uzun (2015) Antalya çevresinden toplanan mersin meyvelerinin içerdiği fenolik bileşik miktarlarını ve bunların genotiplere göre değişimini araştırmışlar. Çalışmaları sonucunda genotipler arasında fenolik bileşik miktarı ve tipi bakımından farklılıklar olduğunu tespit etmişler. Siyah meyveli genotiplerin beyazlara, yabancı genotiplerinde aşıllara göre daha fazla miktarda fenolik içerdiğini gözlemlenmiştir.

Adana (Karaisalı) ve Mersin (Tarsus ilçe merkezi, Yanıkkışla köyü ve Erdemli ilçesi) ekolojik koşullarda yetişen 60 mersin (*Myrtus communis*) bitkisinde yapılan morfolojik gözlemler ile pomolojik analizlerde 9 bitkisel ve 12 pomolojik özellik

incelemiştir. Yapılan gözlemler sonucu tüm bitkilerin çiçek yapısının hermafrodit olduğunu saptanmış ayrıca çalı formundaki beyaz ve siyah meyvelerinin büyüklüklerinin benzer olduğu ancak çalı formunda olmayan beyaz meyvelerin diğerlerine oranla daha büyük olduğunu tespit edilmiştir (Yıldırım vd. 2013).

Aydın ve Özcan (2007) Mersin bölgesinde yabani olarak yetişen mersin (*Myrtus communis* L.) bitkisinin meyvelerinin bazı besleyici ve fiziksel özelliklerini araştırmışlar Meyvedeki ham yağ, protein, lif, enerji, indirgenmiş şeker, tanen, kül, suda çözünürlüğü, esansiyel yağ değerleri sırasıyla 2.37%, 4.17%, 17.41%, 11.21 kcal/g, 8.64%, 76.11 mg/100 g, 0.725%, 52.94%, 0.01% olarak saptamışlardır. Ayrıca meyve ortalama uzunluğu, ağırlığı, kalınlığı ve geometrik ortalama çapı da sırasıyla 13.75 mm, 8.11 mm, 7.57 mm, 10.53 mm ve nem içeriğini % 8.32 olarak ölçmüşlerdir.

Batı Akdeniz florasında yetişen mersin bitkisinin mor ve beyaz meyveli tiplerinde yaprak ve meyvelerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile makro (azot, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum) ve mikro (demir, mangan, çinko, bakır) besin element içeriklerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada meyvelerdeki suda çözünabilir kuru madde miktarının beyaz meyvelerde daha yüksek olduğunu ve meyve iriliğinin mor meyvede beyaz meyveden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Makro ve mikro besin maddelerinin (N ve K hariç) yapraktaki değerlerinin meyve değerlerinden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Gözlekçi ve Gübbük 2009).

Uzun vd. (2016) bazı siyah mersin tiplerinin, Antalya’da sahil ve yayla ekolojilerinde verim ve kalite özelliklerini incelemişler. Çalışmada üç siyah mersin tipi ve bir kültür beyaz mersin tipini incelemiştir. Siyah mersinlerde meyve ağırlığı en yüksek yaylada ‘Yakup’ tipinde 0.76 g, sahilde ‘Yumaklar’ tipinde 0.92 g olarak belirtmişlerdir. Ağaç başına verim 9.2 kg’a kadar artış göstermiş, meyvelerdeki gelişmiş çekirdek sayısı en fazla ‘Hambeles’ tipinde saptamışlardır. Şıra verimi %29.6 ile 35.0 arasında değişkenlik göstermiştir.

Meyvenin etkin tüketilmesi için Aksay (2016) tarafından yapılan bir araştırmada ise mersin meyveleri üzerinde su, sıcak su, kaynar su, etanol, metanol, etanol/su ve methanol/su çözgenlerinin demir indirgeme antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde ekstraksiyonu üzerine etkisini incelemiştir. En yüksek toplam fenolik madde ekstraksiyonu etanol/su karışımında elde etmiş, en yüksek demir indirgeme antioksidan kapasitesi methanol ekstraktında ölçülmüştür.

Alım ve Uzun (2017) siyah mersin meyvelerinin son yıllarda antioksidant özelliğinden dolayı talebinin arttığını bildirmişlerdir. Ancak siyah meyvelerinin çekirdek miktarının fazla olması nedeniyle meyve kalitesini, üretimi ve pazarlamasını olumsuz etkilemektedir. Yaptıkları çalışmada ise siyah mersin bitkilerinin meyveleri üzerinde giberellik asit (GA₃) hormonunun etkilerini incelemişlerdir. Çiçeklenmenin farklı zamanlarında (balon ve tam çiçek aşamasında) 100 ppm GA₃ uygulamıştır. Elde edilen sonuçlara göre kontrolde 10.69 adet meyve⁻¹ olan çekirdek sayısı 1.98 e düşmüş ve art arda 3 defa yapılan uygulama sonucunda çekirdek sayısının kontrolde %15.08 iken % 4.98’e kadar düştüğünü gözlemlemişlerdir. Bazı uygulamalar sonucunda da %10.67 oranında çekirdeksizlik elde etmişlerdir.

Söke ve Elmacı (2015) tarafından yapılan bir çalışmada siyah ve beyaz mersin meyvelerinde sakkaroz, mısır şurubu+sakkaroz, mısır şurubu kullanarak meyvelerin şekerlemeye işlenmesini amaçlanmıştır. Mısır şurubu +sakkarozun kullanılarak üretilen şekerlemelerin görünüş açısından, mısır şurubu kullanılarak üretilen beyaz mersin şekerlemelerin ekşilik açısından ve mısır şurubu+ sakkaroz kullanılarak üretilen siyah mersin şekerlemelerinin tatlılık açısından tercih edildiğini gözlemlemiştir.

İçel'den toplanan farklı iki renk ve büyüklükteki mersin bitkisi meyvelerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirleyen Özcan ve Akbulut (1998), mor renkli meyvelerde antosiyanin tespit ederlerken, beyaz renkli meyvelerde antosiyanin bulunmadığını, mor meyvelerde tanen miktarının beyazlara göre oldukça yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Marmaris'de yürütülen bir çalışmada ise üç farklı lokasyondan toplanan mersin meyveleri kurutularak öğütülmüş ve n-heksan, CH₂Cl₂ ve MeOH ile muamele edilmiştir. Daha sonra antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri karşılaştırmalı olarak değerlendirmiş ve kurutulmuş ekstratlar dört farklı test bakterisine karşı taranmıştır. *S. aureus* *M. Communis* L. örneklerinin tüm konsantrasyonlarına en duyarlı bakteri olarak gözlenirken, *P. aeruginosa* ise Yeşil Belde'den toplanan *M. communis* L. örneklerinin bütün konsantrasyonlarına karşı en dirençli bakteri türü olarak belirlemişlerdir (Karademir ve Avunduk, 2015).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışma materyali olarak Akdeniz ve Ege Bölgelerinin farklı lokasyonlarından, morfolojik olarak farklılık gösteren (meyve rengi, meyve iriliği, yaprak şekli) 49 adet mersin genotipi toplanmıştır. Bitki örneklerinin toplandıkları lokasyonlar ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1’de, örnek mersin genotipleri Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’de verilmiştir.



(a)



(b)



(c)



(d)

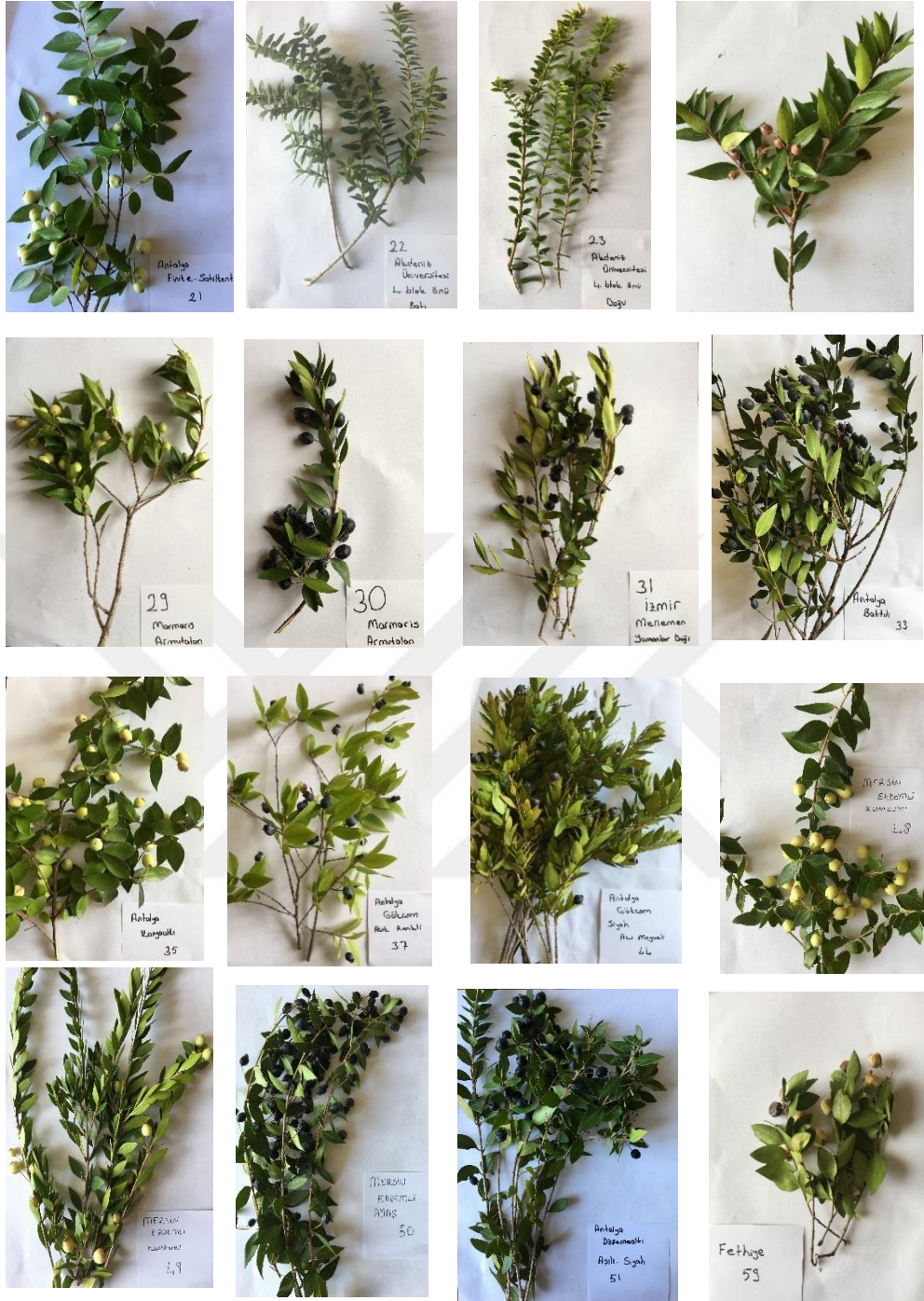
Şekil 3.1. Antalya’nın farklı lokasyonlarından toplanan bazı genotiplerin yerinde çekilmiş fotoğrafları: (a) Gökçam, (b) Kuzdere, (c) Bahtılı, (d) Göynük

Çizelge 3.1. Mersin genotiplerinin lokasyonları Mersin genotiplerinin lokasyonları

Genotip numarası	Lokasyon		Enlem ve Boylam	Rakım	Meyve rengi
	İl	İlçe			
1Hatay	Hatay	Samandağı Fidanlı Köyü	N36°09'04.75" E36°01'28.54"	141m	Siyah
3Antalya	Antalya	Kumluca Belen Köyü	N36°22'28.66" E30°23'34.80"	505m	Siyah
4Antalya	Antalya	Kumluca Belen Köyü	N36°22'28.66" E30°23'34.80"	505m	Beyaz
5Antalya	Antalya	Kumluca Belen Köyü	N36°22'28.66" E30°23'34.80"	505m	Beyaz
6Antalya	Antalya	Kumluca Belen Köyü	N36°22'28.66" E30°23'34.80"	505m	Beyaz
7Antalya	Antalya	Alanya Okurcalar	N36°39'00.00" E31°41'51.00"	23m	Siyah
8Antalya	Antalya	Alanya Okurcalar	N36°39'00.00" E31°41'51.00"	23m	Beyaz
9Antalya	Antalya	Göynük Kanyon	N36°40'57.40" E30°32'02.75"	64m	Siyah
10Antalya	Antalya	Göynük Kanyon	N36°40'57.40" E30°32'02.75"	64m	Siyah
11Antalya	Antalya	Kemer Arslanbucak	N36°36'10.05" E30°33'35.14"	122m	Beyaz
12Antalya	Antalya	Kemer Kuzdere	N36°34'59.51" E30°31'53.71"	45m	Beyaz
13Antalya	Antalya	Kemer Kuzdere	N36°34'59.51" E30°31'53.71"	45m	Beyaz
14Antalya	Antalya	Kemer Çamyuva	N36°34'00.00" E30°34'00.00"	9m	Siyah
15Antalya	Antalya	Kemer Çamyuva	N36°34'00.00" E30°34'00.00"	9m	Siyah
16Antalya	Antalya	Kemer Tekirova	N36°30'06.93" E30°31'35.01"	14m	Siyah
17Antalya	Antalya	Kemer Tekirova	N36°30'06.93" E30°31'35.01"	14m	Beyaz
18Sparta	Isparta	Çobanpınar	N37°23'03.06" E30°48'24.23"	339m	Beyaz
19Antalya	Antalya	Alanya Dereköy	N36°39'31.24" E32°02'01.54"	659m	Siyah
20Antalya	Antalya	Manavgat Hatipler	N36°48'40.10" E31°24'38.94"	42m	Beyaz
21Antalya	Antalya	Finike Sahilkent	N36°20'15.72" E30°12'17.06"	21m	Beyaz
22Antalya	Antalya	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi	N36°53'31.48" E30°39'07.97"	27m	Siyah
23Antalya	Antalya	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi	N36°53'31.48" E30°39'07.97"	27m	Siyah
24Zmr	İzmir	Değirmen Dere Köyü	N27°37'37.83" E27°08'58.03"	20m	Beyaz
25Zmr	İzmir	Değirmen Dere Köyü	N27°37'37.83" E27°08'58.03"	20m	Siyah

Çizelge 3.1.'in devamı

26Zmr	İzmir	Değirmen Dere Köyü	N27°37'37.83" E27°08'58.03"	20m	Çakır
27Mugla	Muğla	Datça	N36°43'34.38" E27°41'09.04"	10m	Beyaz
28Mugla	Muğla	Datça	N36°43'34.38" E27°41'09.04"	10m	Siyah
29Mugla	Muğla	Marmaris Armutalan	N36°51'23.64" E28°14'15.13"	37m	Beyaz
30Mugla	Muğla	Marmaris Armutalan	N36°51'23.64" E28°14'15.13"	37m	Siyah
31Zmr	İzmir	Menemen Yamanlar Dağı	N38°32'44.90" E27°13'38.47"	946m	Siyah
32Aydın	Aydın	Merkez	N37°48'42.13" E28°29'11.03"	1358m	Siyah
33Antalya	Antalya	Bahtlı	N36°53'16.82" E30°34'27.71"	38m	Siyah
34Antalya	Antalya	Serik Şatırlı Köyü	N36°53'16.82" E30°34'27.71"	15m	Beyaz
35Antalya	Antalya	Konyaaltı	N36°53'48.81" E30°42'47.96"	56m	Beyaz
36Antalya	Antalya	Geyikbayır	N36°52'31.58" E30°27'53.86"	614m	Beyaz
37Antalya	Antalya	Gökçam	N36°53'41.11" E30°32'46.99"	66m	Siyah
38Antalya	Antalya	Gökçam	N36°53'41.11" E30°32'46.99"	66m	Siyah
41Antalya	Antalya	Gökçam	N36°53'41.11" E30°32'46.99"	66m	
41Antalya	Antalya	Gökçam	N36°53'41.11" E30°32'46.99"	66m	
44Antalya	Antalya	Gökçam	N36°53'41.11" E30°32'46.99"	66m	Siyah
48Mersin	Mersin	Erdemli Kumkuyu	N36°32'00.00" E34°12'00.00"	183m	Beyaz
49Mersin	Mersin	Erdemli Kumkuyu	N36°32'00.00" E34°12'00.00"	183m	Beyaz
50Mersin	Mersin	Erdemli Ayaş	N36°29'00.00" E34°11'00.00"	0m	Siyah
51Antalya	Antalya	Döşemealtı	N37°01'22.89" E30°36'04.35"	302m	Siyah
52Antalya	Antalya	Döşemealtı	N37°01'22.89" E30°36'04.35"	302m	Siyah
53Antalya	Antalya	Döşemealtı	N37°01'22.89" E30°36'04.35"	302m	Beyaz
55Hatay	Hatay	Erzin Kuzuyuk Köyü	N36°55'16.06" E36°16'12.10"	469m	Siyah
56Hatay	Hatay	Erzin Kuzuyuk Köyü	N36°55'16.06" E36°16'12.10"	469m	Beyaz
57Antalya	Antalya	Alanya Okurcalar	N36°39'00.00" E31°41'51.00"	23m	Siyah
59Mugla	Muğla	Fethiye	N36°39'33.29" E29°07'34.85"	25m	Beyaz



Şekil 3.2. Çalışmada değerlendirilen bazı mersin genotiplerinin örnek görüntüleri

Yürütülen bu çalışmada 12 adet SSR ve 12 adet iPBS primeri ile analizler yapılmıştır. Albaladejo vd. (2010) tarafından geliştirilmiş 12 SSR primer çifti Çizelge 3. 2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan SSR primerlerinin listesi

Lokus Adı	Primer dizilimi (5’-3’)
<i>Myrcom1</i>	F: CGTGATGCACACTGAACTGA R: AACCCCTTTTGCCAACATTT
<i>Myrcom2</i>	F: ATAGCTCTTACCCGCCATTG R: GTGCATGGTCCTCGATAGGT
<i>Myrcom3</i>	F: GGCAGCTACCAGTCATACCC R: TTTGCAGCATTTCAAAGTGG
<i>Myrcom4</i>	F: CAACCACATCCACCCATAGA R: CCACAGTCAAGAGGGAGAGC
<i>Myrcom5</i>	F: TGAGAGATCAGCAACCAAAAAG R: CATGAATGGCAACGATGAAA
<i>Myrcom6</i>	F: AAATGAAAAAGCTAAAAGTTAAACA R: AACAGGAAGAGCAAGCCAAG
<i>Myrcom7</i>	F: AGACATGCTCAAACCTGTATGC R: AATGTATCCCAACATGTCAGA
<i>Myrcom8</i>	F: TGCTCGGTCATTAATTGGTGT R: TCAAAACCGTCTCCATGAAA
<i>Myrcom9</i>	F: GAAAGTTGCACTGTTTATTTCCTCA R: TCTTCCTTCCAATCCTCATCA
<i>Myrcom10</i>	F: TTAAGTGCCTTTGGCATTGT R: AGAGGACCTCGCGATAGACA
<i>Myrcom11</i>	F: GCAAATAAAAAGCGAGTTAAATGA R: CCACACTTTTAAGAATTTGTGGTC
<i>Myrcom12</i>	F: CCCTCCATTTTCCCTTCTC R: AGCCGAAGCTCCAAGAAAC

Çalışmada kullanılan ve Kalender vd. (2010) tarafından geliştirilmiş iPBS primerlerinin listesi Çizelge 3. 3.’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan iPBS primerlerinin listesi

Primer No	Primer Kodu	Primer Dizilimi (5’-3’)
1	2095	GCTCGGATACCA
2	2080	CAGACGGCGCCA
3	2081	GCAACGGCGCCA
4	2270	ACCTGGCGTGCCA
5	2378	GGTCCTCATCCA
6	2078	GCGGAGTCGCCA
7	2079	AGGTGGGCGCCA
8	2394	GAGCCTAGGCCA
9	2221	ACCTAGCTCACGATGCCA
10	2277	GGCGATGATACCA
11	2376	TAGATGGCACCA
12	2383	GCATGGCCTCCA

3.2.Metot

3.2.1.Morfolojik Ölçümler

Morfolojik çalışmalar Melito vd. (2016) ve Uzun vd. (2016) referans alınarak yürütülmüştür. 15Antalya, 16Antalya, 22Antalya ve 41Antalya genotiplerinin üzerlerinde meyve bulunmadığı için meyve ölçümleri yapılamamıştır.

Meyve ve Yaprak Özelliklerinin Ölçümleri;

Meyve ağırlığı: Genotiplerden rastgele alınan 50'şer meyvenin ağırlıkları 0.1 gram hassasiyetindeki terazi ile tartılmış ve ortalama değerleri alınmıştır.

Meyve eni: Genotiplerden rastgele alınan 50'şer meyvenin eni dijital kumpas ile ölçülerek ortalama değerleri alınmıştır. Meyvelerin karın bölgesindeki en geniş kısmı meyve eni olarak ölçülmüştür.

Meyve uzunluğu: Genotiplerden rastgele alınan 50'şer meyvenin uzunluğu dijital kumpas ile ölçülerek ortalama değerleri alınmıştır. Meyvelerin sap çukuru ile çiçek burnu arasındaki kısmı meyve uzunluğu olarak ölçülmüştür.

Çekirdek ağırlığı: Genotiplerden rastgele alınan 50'şer meyvenin çekirdeği çıkarılarak 0.1 gram hassasiyetindeki terazide ayrı ayrı tartılarak ortalaması alınmıştır.

Tohum sayısı: Her genotipten rastgele alınan meyvenin tohumları çıkarılarak sayılmış ve ortalaması alınmıştır.

Meyve eti ağırlığı: Genotiplerden rastgele alınan 50'şer meyvenin çekirdekleri çıkarıldıktan sonra kalan meyve eti kısmı 0.1 gram hassasiyetindeki terazide ayrı ayrı tartılarak ortalaması alınmıştır.

Yaprak eni: Genotiplerden rastgele alınan 50'şer yaprağın eni dijital kumpas ile ölçülerek ortalaması alınmıştır. Yaprığın en geniş kısmı ölçülmüştür.

Yaprak boyu: Genotiplerden rastgele alınan 50'şer yaprağın boyu dijital kumpas ile ölçülerek ortalaması alınmıştır.



Şekil 3.3. Meyvelerin ve yaprakların morfolojik ölçümleri

3.2.2.Genomik DNA İzolasyonu

Farklı lokasyonlardan toplanan ve -20°C 'de muhafaza edilen yaprak örneklerinden CTAB protokolünde (Çizelge 3.4.) belirtilen aşamalar izlenerek DNA izolasyonu yapılmıştır. (Doyle and Doyle, 1990). Yaprak örnekleri (100mg) 0,5 ml ekstraksiyon çözeltisi (%2 CTAB, EDTA 20mM, Tris-Cl 100mM, NaCl 1.4M, %0,2 merkapttoethanol) ile muamele edilerek, havan yardımıyla ezilip ve 65°C 'de 1,5 saat bekletilmiştir. Daha sonra 500 μl kloroform-isoamyl alkol (24:1) eklenerek, tüpler alt üst edilerek karıştırılıp ve 13000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı kısımdan 150 μl (süpernetant) temiz tüpe alınarak üzerine 2/3 hacim izopropanol eklenmiş ve -20°C de bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün 20 dakika 13000 rpm santrifüjden sonra sıvı kısım boşaltılmış ve çökeltinin üzerine 150 μl yıkama solüsyonu (%70 etanol) eklenerek tekrar santrifüj yapılmıştır. Sıvı kısım boşaltılarak pellet oda sıcaklığında 30 dakika kurutmaya bırakıldıktan sonra tüplere 100 μl saf otoklavlanmış su eklenmiş ve örnekler -20°C 'de

muhafaza edilmiştir. DNA örnekleri %1'lik agaroz jelde yürütülerek kalite ve miktarları kontrol edilmiştir.

Çizelge 3.4. CTAB protokolü bileşenleri

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

3.2.3. SSR analizleri

SSR- PCR reaksiyonlarında Schuelke (2000) tarafından optimize edilmiş PCR protokolü uygulanmıştır. PCR karışımında 30ng DNA 1 X pcr bufferi için 0.2 mM dNTP 1 unit Taq DNA polimeraz 1.5 mM MgCl₂ 0.2µM reverse ve forward primerler kullanılmıştır. Forward primerin 5' ucuna 5'- GGA AAC AGC TAT GAC CAT -3' baz dizisi eklenerek sentezlenmiş ve IRD- 700 ya da IRD- 800 ile işaretlenmiştir. SSR için gerekli PCR protokolü Çizelge 3. 5'de verilmiştir.

Çizelge 3.0.5. SSR PCR döngü aşamaları

Aşamalar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denetürasyon	94 ⁰ C	4 dk	1
Denetürasyon	94 ⁰ C	30 sn	30
Primer Bağlanması	50-60 ⁰ C	30 sn	30
Zincir Uzaması	72 ⁰ C	1 dk	30
Son Döngü	72 ⁰ C	10 dk	1

SSR ürünlerinin ayrıştırılması için 25 cm'lik camlar kullanılmıştır. Camlar dikkatli şekilde saf su ile yıkanıp kuruması sağlanmıştır. 25 ml jel matrisi hazırlanıp (Çizelge 3. 6'da verilen miktarlarda) üzerine amonyumpersülfat ve temed eklenerek şırınga yardımıyla camların arasına dökülmüştür. Taraklar yerleştirildikten sonra yaklaşık 45 dk kadar polimerize olması beklenmiştir. PCR ürünleri yüklemenden önce formamit içeren yükleme tamponu eklenerek 95 ⁰C'de 5 dk denatüre edildikten sonra buzun üzerine alınmıştır. SSR primerleri ile elde edilen PCR ürünleri % 6.5luk poliakrilamit jelde Licor- IR² 4200 (LI-COR Biosciences) cihazında 1500 Volt ve 45⁰ C'de yürütülmüştür.

Çizelge 3.6. Licor jel matriks bileşenleri

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

Çizelge 3.7. Poliakrilamid jel bileşenleri

Poliakrilamid jel bileşenleri	25 cm cam için
%10 luk APS	243 ul
Temed	17 ul
Akrilamid jel matriks	25 ul

3.2.4. iPBS analizleri

iPBS PCR reaksiyonlarında Kalender vd. (2010) geliştirmiş oldukları protokol uygulanmıştır. PCR reaksiyonu için; yaklaşık 20 ng DNA, 10 pmol primer, 200µl dNTP (0,2Mm), 1.5 µl (10X) buffer, 1 unit Taq DNA polimeraz enzimi içeren PCR karışımı kullanılarak Çizelge 3. 8’de verilen PCR döngüsü uygulanmıştır. PCR ürünleri %2’lik agaroz jelde elektroforezde yürütülerek ayrıştırılmıştır.

Çizelge 3.8. iPBS PCR döngü aşamaları

Aşamalar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denetürasyon	95°C	3 dk	1
Denetürasyon	94°C	30 sn	35
Primer Bağlanması	55°C	30 sn	35
Zincir Uzaması	72°C	2 dk	35
Son Döngü	72°C	10 dk	1

3.2.5. Moleküler verilerin değerlendirilmesi

SSR ve iPBS PCR ürünlerinin yüklemeleri tamamlandıktan sonra elde edilen jel görüntüleri bant varlığında 1, yokluğunda 0, değerlendirilemediğinde ise 999 olarak skorlanmıştır. Elde edilen veriler NTSYS (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.1 Exeter Software, Setauket, N.Y. USA (Rohlf 1993)) bilgisayar paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. UPGMA (Unweighted Pair-Group Method With Arithmetic Average) metodu ile dendrogramlar oluşturulmuştur. Genotipler arasındaki benzerlik dendrogramlara göre belirlenmiştir. İki ve üç boyutlu grafik üzerinde bireyler arasındaki mesafeleri gösteren Temel Bileşenler Analizi (PCA: Principle Component Analizi) aynı program kullanılarak yapılmıştır. SSR ve iPBS verilerinden elde edilen benzerlik indeksleri arasındaki korelasyon Mantel kofenetik korelasyon testi (Mantel, 1967) yapılarak hesaplanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Morfolojik Bulgular ve Tartışma

Morfolojik ölçümler sonucunda meyve ağırlığı, boyu, eni, tohum sayısı, ağırlığı, meyve eti ağırlığı en yüksek Antalya Alanya Okurcalar'dan toplanan beyaz meyveli 8 numaralı genotipte belirlenmiştir. En düşük meyve ağırlığı, eni, tohum ağırlığı, meyve eti ağırlığı Antalya Kemer Tekirova'dan toplanan beyaz meyveli 17 numaralı genotipte, meyve boyu Antalya Gökçam'dan toplanan siyah meyveli 38 numaralı genotipte, tohum sayısı Mersin Erdemli Kumkuyu'dan toplanan beyaz meyveli 49 numaralı genotipte elde edilmiştir. En uzun yaprak boyu Antalya Kemer Kuzdere'den toplanan beyaz meyveli 13 numaralı genotipte, en yüksek yaprak eni değeri ise Antalya Kumluca Belen Köyü'nden toplanan beyaz meyveli 4 numaralı genotipte ölçülmüştür. Yaprak boyu ve eni için en düşük değerler Antalya Akdeniz Üniversitesi'nden toplanan siyah meyveli 23 numaralı genotipte elde edilmiştir.

Meyve ağırlığının 0.06g-1.28 g arasında, meyve boyunun 6.45mm – 16.23mm arasında, meyve eninin 4.17mm – 13.08mm arasında değiştiği belirlenmiştir. Ortalama değerler Çizelge 3.9'da verilmiştir. Melito vd. (2016) yaptıkları çalışmada meyve ağırlığını 0,25g- 0,34g arasında, meyve boyunun 7,18mm- 9,03mm arasında, meyve eninin 5,74mm- 8,22mm arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir. Bir başka çalışmada ise meyve ağırlıkları en yüksek ve en düşük değerleri iri meyvede 0.94g-1.33g ortalama meyvede 0.82g-1.06g, meyve boyları iri meyvede 12.97mm-15.33mm, ortalama meyvede 12.42mm-14.00mm, meyve enleri iri meyvede 12.38mm-13.27mm, ortalama meyvede 11.52mm-12.41mm olarak belirlemişlerdir (Uzun vd. 2016). Yıldırım vd. (2013) Adana (Karasiali) ve Mersin (Tarsus ilçe merkezi, Yanıkkışla köyü ve Erdemli ilçesi) 60 genotipte yaptıkları gözlemler sonucunda meyve ağırlığını 0.26g-2.01g, boyunu 7.52mm- 16.73mm, enini 5.52mm-14.74mm en yüksek ve en düşük değerler olarak bulmuşlardır.

Bu çalışmada tohum sayısı 2.2-24.4 arasında, tohum ağırlığı 0.02g-0.23g arasında, meyve eti ağırlığı 0.03g-1.04g arasındaki değerlerde olduğu belirlenmiştir. Melito vd. (2016) tohum sayısını 10.34-18.43 arasında, tohum ağırlığını 0,04g-0,05g arasında, meyve eti ağırlığını 0,20g- 0,29g arasında bulmuşlardır.

Yaprak boyu 10.41mm-32.85mm arasında, yaprak eni 5.5mm–14.34mm arasında olduğu gözlemlenmiştir. Uzun vd. (2016) Temmuz ve Kasım ayları arasında mersin genotiplerinde yaptıkları bir çalışmada yaprak boyunun 25.48mm- 31.51mm arasında, yaprak eninde 9.84mm- 13.30mm arasında olduğunu gözlemlemişlerdir. Melito vd. (2016) yaptıkları çalışmada da yaprak boyunun 26.42mm-34.05mm arasında, yaprak eninde 9.88mm-14.08mm arasındaki değerlerde değiştiğini belirtmişlerdir.

Meyve ve yaprak örneklerinde gerçekleştirdiğimiz morfolojik ölçümlerden elde edilen değerlerin, diğer araştırmacıların elde ettikleri değerlere göre daha geniş bir aralıkta olduğu görülmektedir. Bu durum genotipler arasındaki genetik farklılığın daha fazla olması şeklinde yorumlanabilir.

Çizelge 4.1. Morfolojik veri değerleri

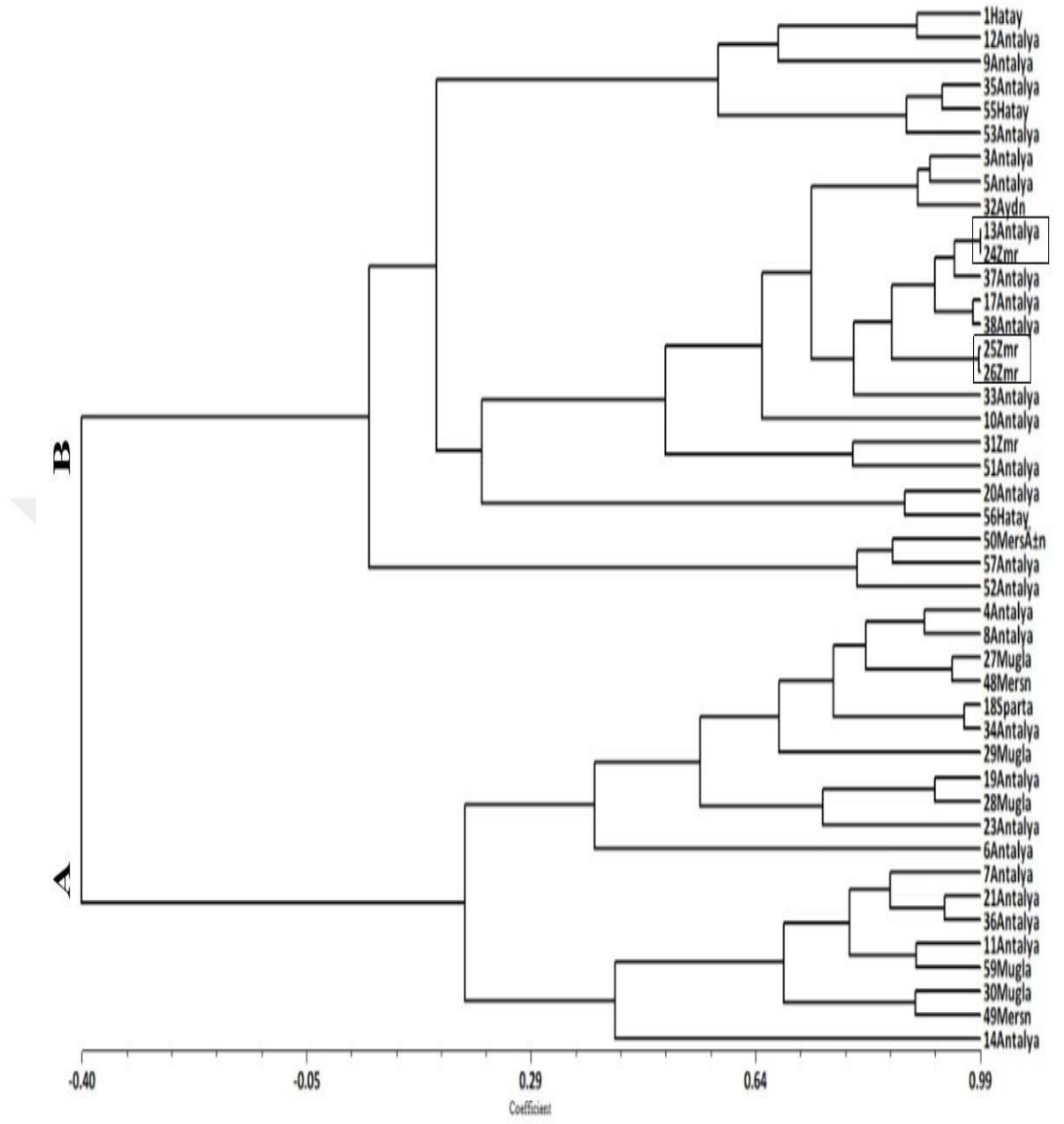
Genotip	Meyve Boyu	Meyve Eni	Meyve Ağırlığı	Tohum Sayısı	Tohum Ağırlığı	Meyve Eti Ağırlığı	Yaprak Boyu	Yaprak Eni
1	8.83	7.10	0.22	7.35	0.07	0.15	23.40	9.59
3	9.29	6.75	0.21	4.65	0.06	0.15	25.44	8.16
4	14.86	10.86	0.83	20.2	0.17	0.66	32.06	14.34
5	9.11	6.60	0.21	5.05	0.05	0.14	26.01	8.75
6	9.34	8.31	0.32	7.1	0.09	0.23	19.79	9.37
7	13.97	9.34	0.6	5.5	0.10	0.50	24.34	9.51
8	16.23	13.08	1.28	24.4	0.23	1.04	28.35	12.99
9	9.17	6.47	0.20	8.65	0.10	0.10	27.20	9.39
10	9.11	4.95	0.12	6.4	0.04	0.07	23.39	9.37
11	13.9	10.01	0.64	11.45	0.10	0.54	21.17	8.64
12	8.23	6.13	0.15	8.35	0.06	0.09	25.44	11.37
13	8.54	6.13	0.16	44.7	0.04	0.12	32.85	12.92
14	11.21	8.32	0.37	6.5	0.09	0.27	25.75	10.72
15							22.87	8.54
16							23.45	8.95
17	6.69	4.17	0.06	2.7	0.02	0.03	22.91	8.47
18	13.91	10.94	0.82	13.8	0.17	0.65	23.6	9.26
19	11.21	7.87	0.35	8.75	0.10	0.24	25.33	8.55
20	13.78	10.14	0.67	15.2	0.14	0.51	27.65	12.20
21	12.94	10.14	0.68	9.45	0.10	0.58	24.56	10.95
22							13.95	6.19
23	9.09	7.01	0.18	5.55	0.06	0.11	10.41	5.5
24	8.82	6.38	0.17	5.25	0.05	0.12	23.44	8.87
25	7,96	5.40	0.11	5	0.06	0.05	26.99	9.67
26	8.75	6.50	0.22	6.25	0.08	0.13	29.79	11.01
27	10.45	8.49	0.37	12.7	0.12	0.25	16.89	7.75
28	11.81	8.11	0.35	10.8	0.13	0.22	20.88	6.73

Çizelge 4.1.'in devamı

29	11.26	8.79	0.46	11.7	0.12	0.34	13.36	12.35
30	11.88	9.35	0.53	8.35	0.06	0.46	28.21	11.89
31	7.90	6.51	0.16	3.6	0.04	0.12	22.27	8.08
32	10.66	8.22	0.30	9.05	0.10	0.19	27.25	11.23
33	9.96	6.54	0.23	5.3	0.06	0.17	26.24	10.57
34	13.80	10.79	0.77	12.8	0.17	0.59	28.79	12.74
35	10.98	9.87	0.53	15.2	0.16	0.36	32.03	15.30
36	12.24	9.66	0.55	8	0.08	0.47	25.93	11.25
37	7.59	5.72	0.13	2.26	0.03	0.10	27.45	11.77
38	6.45	4.72	0.08	2.2	0.02	0.06	24.04	9.08
41							28.20	10.14
44	7.58	6.85	0.21	3.35	0.06	0.14	17.54	6.94
48	12.78	10.74	0.73	17.5	0.21	0.52	24.25	10.54
49	9.40	8.61	0.39	2.2	0.03	0.35	20.79	7.45
50	11.86	6.87	0.23	6.7	0.08	0.14	23.41	9.29
51	8.71	7.53	0.29	5.85	0.05	0.23	22.46	9.77
52	11.34	7.37	0.30	6.2	0.09	0.22	28.57	9.87
53	8.18	6.72	0.19	12	0.10	0.09	22.15	9.71
55	9.88	7.82	0.29	9.8	0.10	0.19	22.29	9.90
56	11.61	8.76	0.45	9.75	0.10	0.34	28.84	13.75
57	12.59	6.22	0.16	7.2	0.07	0.09	32.06	7.87
59	13.64	11.32	0.83	14.95	0.12	0.70	27.39	13.38
ORT	10.61	7.95	0.38	8.65	0.09	0.28	26.06	10.5

Her genotipin ortalama morfolojik değerleri kullanılarak kümeleme ve TBA (Temel Bileşenler Analizi) analizleri yapılmıştır. Benzerlik indeksine göre hesaplanan dendrogram iki ana gruba ayrılmıştır. Benzerlik indeksi oranları 0,40 ile 0,99 arasındadeğişmektedir. 13 (Antalya Kemer Kuzdere) ile 24 (İzmir Değirmen Dere Köyü) ve 25 (İzmir Değirmen Dere Köyü) ile 26 (İzmir Değirmen Dere Köyü) genotipleri 0,99 oranında benzer bulunmuştur. 13 ile 24 numaralı genotiplerin meyve renklerinin beyaz, meyve eti ağırlıklarında yakın değerlerde olduğu (13-0.16g, 24-0.17g), 25 ile 26 numaralı genotiplerinde aynı konumdan olduğu gözlemlenmiştir. (şekil 4.1.)

Ortalama morfolojik değerlerle elde edilen Temel Bileşenler Analizine göre oluşturulan iki boyutlu ve üç boyutlu düzlem şekil 4.2 ve şekil 4.3’de verilmiştir. Bu iki grafik birbiriyle paralellik göstermektedir. Temel bileşenler analizini oluşturan Eigen değerleri ve her değerin açıkladığı varyans yüzdesi ve vektörlerin açıkladığı kümülatif varyans verilmiştir. İlk 3 eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 85’ini açıklamıştır. İlk 5 eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın %97’sini açıklamıştır.

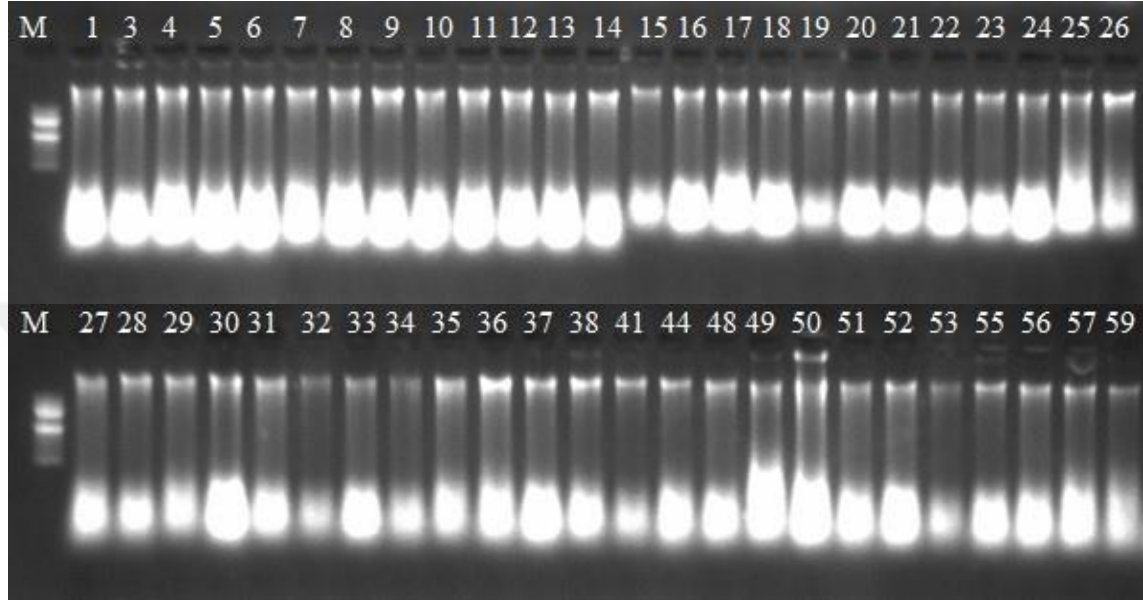


Şekil 4.1. Morfolojik verilerle oluşturulan dendrogram

4.1. Moleküler Bulgular ve Tartışma

4.2. Genomik DNA izolasyonu

İzole edilen DNA'ların kalitesi ve yaklaşık miktarlarını belirlemek için % 1,5 'luk agaroz jelde yürütülmüştür. Jel görüntüsü Şekil 4.4'de verilmiştir.

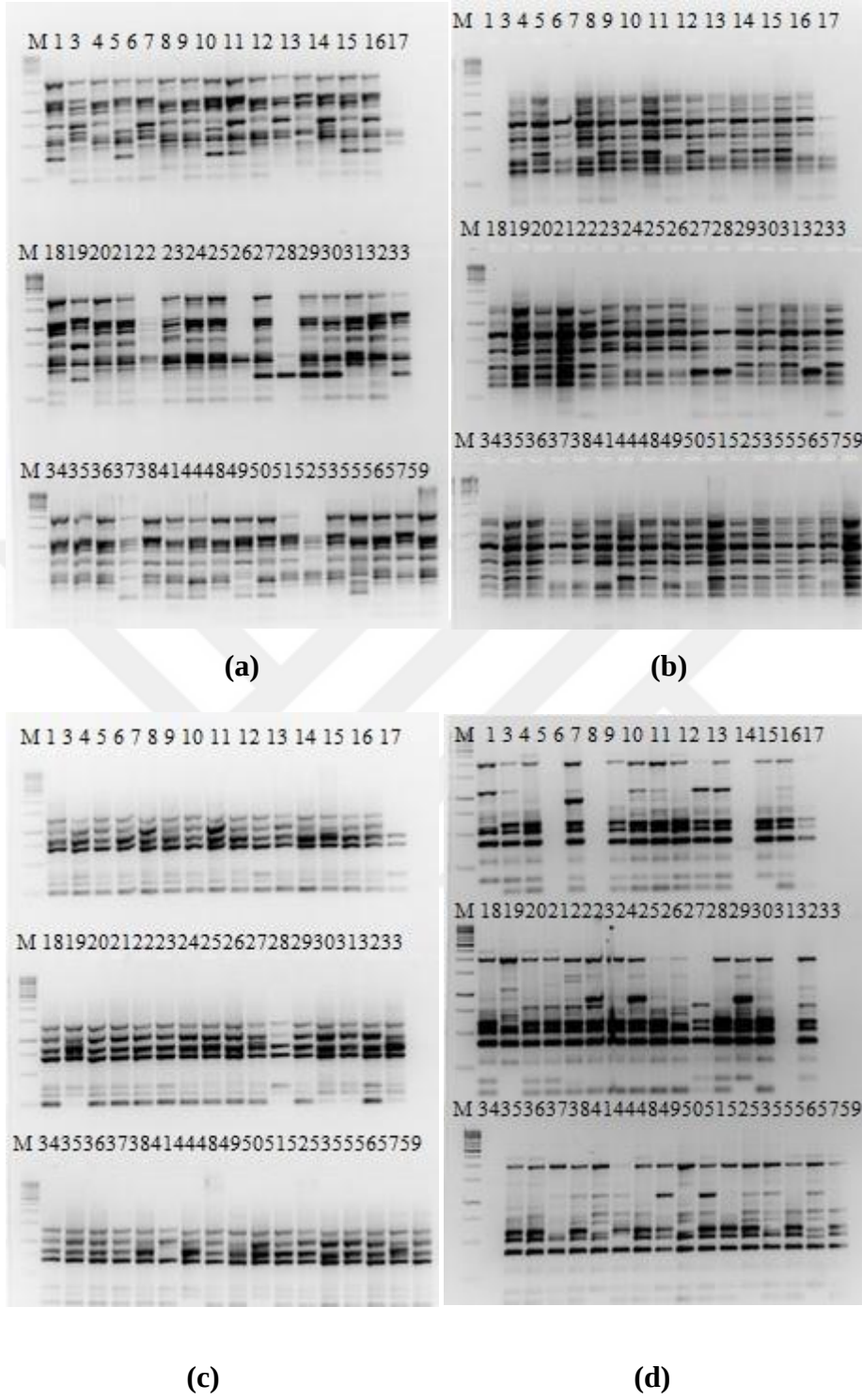


Şekil 4.4. Mersin genotiplerinin DNA jel görüntüsü (M=1 kb ladder)

4.2.2.iPBS analizleri

Bu çalışmada, 49 genotip arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek için 12 adet iPBS primeri kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda elde edilen polimorfik bant sayıları Çizelge 4.1'de, örnek jel görüntüleri Şekil 4.5'de verilmiştir. Toplamda 135 bant elde edilmiş ve bunlardan 80 tanesi polimorfik bulunmuştur. En fazla polimorfik bant sayısı 2378 kodlu primer ile 13 allel ve en düşük polimorfik bant sayısı 2221 kodlu primer ile 2 allel olarak skorlanmıştır. Ortalama toplam bant sayısı 11,25 iken ortalama polimorfik bant sayısı 6,66 olarak hesaplanmıştır.

Mehmood vd. (2013)'ların *Psidium guajava* 'da yaptıkları çalışmada 2079 iPBS primeri ile 21 toplam bant ve 11 polimorfik bant elde etmişlerdir. Bizim çalışmamızda 2079 primeri ile mersin genotiplerinde 11 toplam bant elde edilmiş, bunlardan 3 tanesi polimorfizm göstermiştir. Andeden vd. (2013)'de nohut türlerinde (*Cicer species*) yaptıkları bir çalışmada 2277 primeri ile 16 bant elde etmişler ve bunların hepsinin polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise 2277 primeri ile toplamda 12 bant elde edilmiş ve bunların 10 tanesi polimorfizm göstermiştir. Baloch vd. (2015) bezelyede 2376 primeri ile yaptıkları analiz sonucunda 7 toplam bant ve 5 polimorfik bant elde etmişler bizim yürüttüğümüz çalışmada ise 2376 primeri ile 12 toplam bant 6 polimorfik bant elde edilmiştir.



şekil 4.5. iPBS PCR rnek jel görüntüleri; **(a)** 2270 primeri **(b)** 2080 primeri **(c)** 2078 primeri **(d)** 2378 primeri

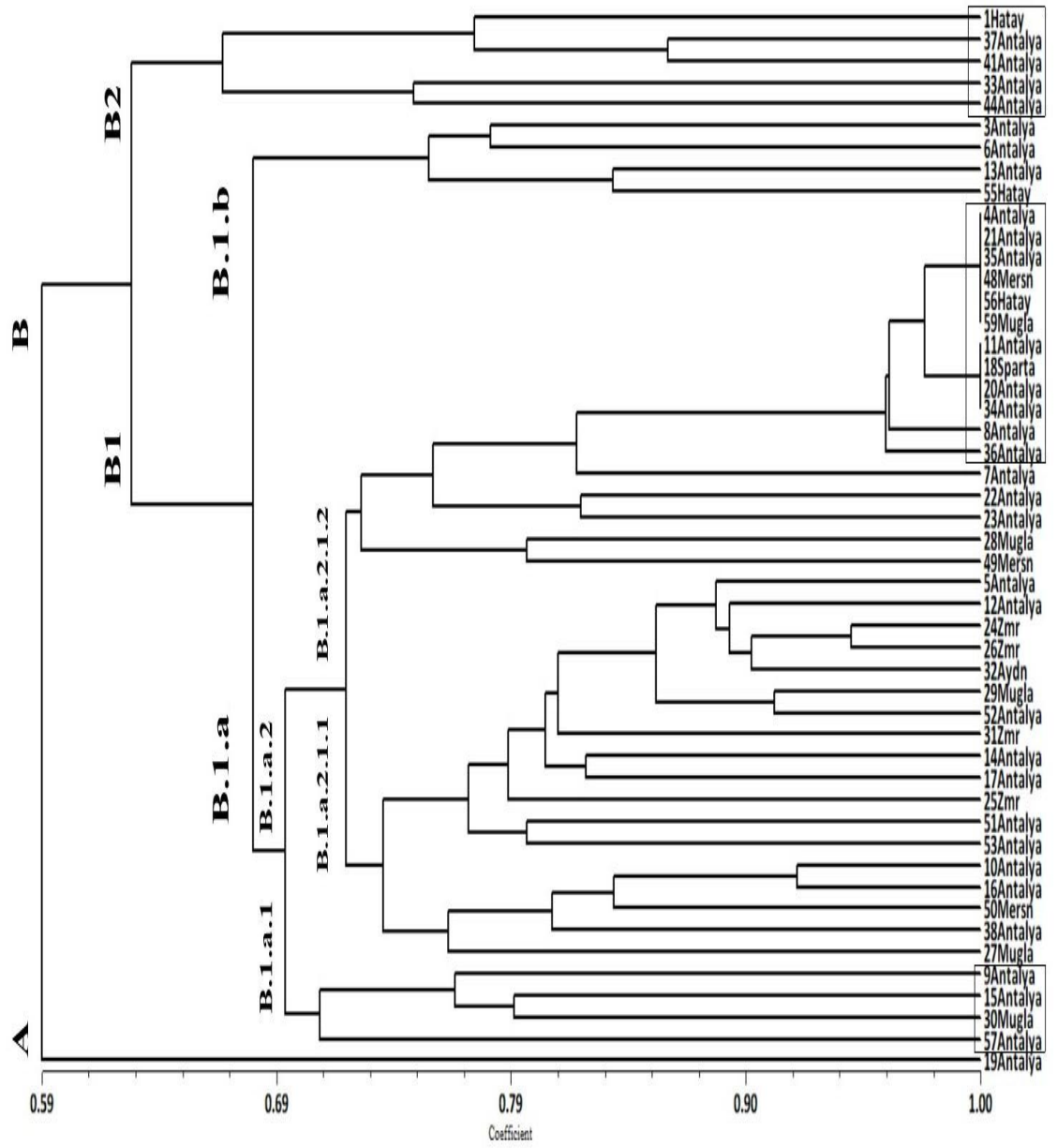
Çizelge 4.2. iPBS primerlerine ait toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve polimorfizm oranları

Primer	Polimorfik bant sayısı	Toplam bant sayısı	% Polimorfizm	Bant Büyüklüğü (bp)
2078	5	8	62,5	250-1300
2079	3	11	27,2	250-1500
2080	6	12	50	300-1500
2081	8	12	66,6	350-1450
2095	5	9	55,5	245-1750
2221	2	8	25	245-1500
2270	8	12	66,6	245-1750
2277	10	12	83,3	250-1500
2376	6	12	50	250-1650
2378	13	14	92,8	175-2000
2383	4	11	36,3	295-1500
2394	10	14	71,4	250-1500
Toplam	80	135		
Ortalama	6,66	11,25		

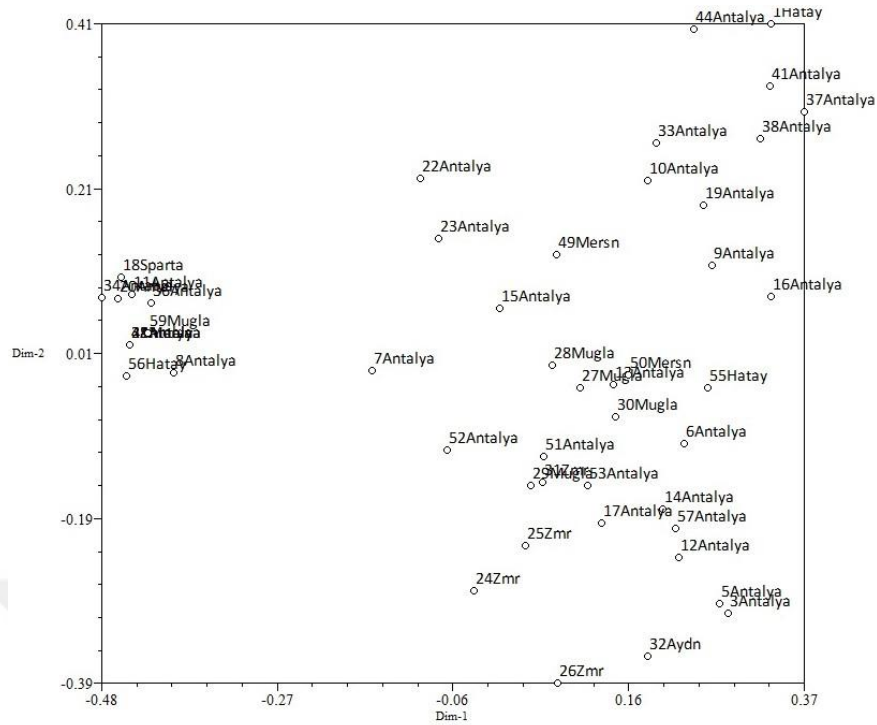
NTYSTSpc (Ver 2.1) programında DICE (1945) metoduna göre elde edilen benzerlik matrisine göre iPBS verilerinden elde edilen benzerlik matrisinde birbirine en yakın genotipler 1,00 benzerlik indeksi ile 21 (Antalya Finike Sahilkent)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 35 (Antalya Konyaaltı)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 59 (Muğla Fethiye)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 18 (Isparta Çobanpınar)-11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 20 (Antalya Manavgat Hatıpları)-11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü)-11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 59 (Muğla Fethiye)-11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 20 (Antalya Manavgat Hatıpları)-18 (Isparta Çobanpınar), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü)-18 (Isparta Çobanpınar), 59 (Muğla Fethiye)-18 (Isparta Çobanpınar), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü)-20 (Antalya Manavgat Hatıpları), 59 (Muğla Fethiye)-20 (Antalya Manavgat Hatıpları), 35 (Antalya Konyaaltı)-21 (Antalya Finike Sahilkent), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu)-21 (Antalya Finike Sahilkent), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-21 (Antalya Finike Sahilkent), 59 (Muğla Fethiye)-21 (Antalya Finike Sahilkent), 59 (Muğla Fethiye)-34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu)-35 (Antalya Konyaaltı), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-35 (Antalya Konyaaltı), 59 (Muğla Fethiye)-35 (Antalya Konyaaltı), 59 (Muğla Fethiye)-48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-59 (Muğla Fethiye) olarak belirlenmiştir. En uzak genotipler ise 4,41 benzerlik indeksi ile 23 (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi)-3 (Antalya Kumluca Belen Köyü), ikinci en uzak genotipler 4,59 benzerlik indeksi ile 44 (Antalya Gökçam)-3 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 57 (Antalya Alanya)-44 (Antalya Gökçam) olarak belirlenmiştir. Benzerlik matrisine göre benzerlik ortalamaları 7,38 bulunmuştur. (EK-2)

iPBS verileri ile oluşturulan dendrogram incelendiğinde benzerlik oranları 0,59 ile 1,00 arasındadır (Şekil 4.6.). iPBS verilerinin analizi sonucunda dendrogram 0,59 benzerlik katsayısı seviyesinde (A ve B) iki ana gruba ayrılmıştır. Birinci ana grupta (A) 0,59 benzerlik katsayısı seviyesinde ayrılan Antalya'nın Alanya ilçesinden alınan siyah meyveli 19 numaralı genotip diğer 48 genotipten ayrılmıştır. İkinci ana grup (B) 0,63 benzerlik katsayısı seviyesinde B1 ve B2 olarak alt gruba B1'de 0,68 benzerlik katsayısı seviyesinde alt gruplara ayrılmıştır. B1 alt gruplarından biri olan B1.a.2.2 grubunda 0,98 benzerlik katsayısı seviyesinde ayrılan 4 (Hatay Samandağı), 21 (Antalya Finike), 35 (Antalya Konyaaltı), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü), 59 (Muğla Fethiye) ve 11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 18 (Isparta Çobanpınar), 20 (Antalya Manavgat), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü) 1,00 oranında benzer bulunmuştur. Bu genotipler %96 oranında 8 (Antalya Alanya Okurcalar), 36 (Antalya Geyikbayır) genotipleri ile benzer bulunmuştur. Bu genotiplerin meyve özelliğine bakıldığında hepsinin beyaz meyveli, meyve eti ağırlıklarının (0.45g-1.28g), meyve boyu (10.98mm-16.23mm) ve meyve enin (8.76mm-13.08) yakın değerlerde olduğu gözlenmiştir. B.1.a.1 grubunda bulunan 0,71 benzerlik katsayısı seviyesinde ayrılan 9 (Antalya Göynük), 15 (Antalya Kemer Çamyuva), 30 (Muğla Marmaris Armutalan), 57 (Antalya Alanya) genotiplerinin meyve renklerinin siyah olduğu belirlenmiştir. B.2 grubunda toplanan 1(Hatay Samandağı Fidanlı Köyü), 37 (Antalya Gökçam), 41 (Antalya Gökçam), 33 (Antalya Bahtılı), 44 (Antalya Gökçam) genotiplerinin meyve renklerinin siyah, meyve eti ağırlıklarının 0.13g ile 0.23g meyve boyu 7.58mm ile 9.96mm, meyve eninin 5.72 ile 7.10 arasında yakın değerlerde aynı zamanda 1 numaralı genotip hariç diğerlerinin yakın lokasyonlardan toplandığı saptanmıştır.

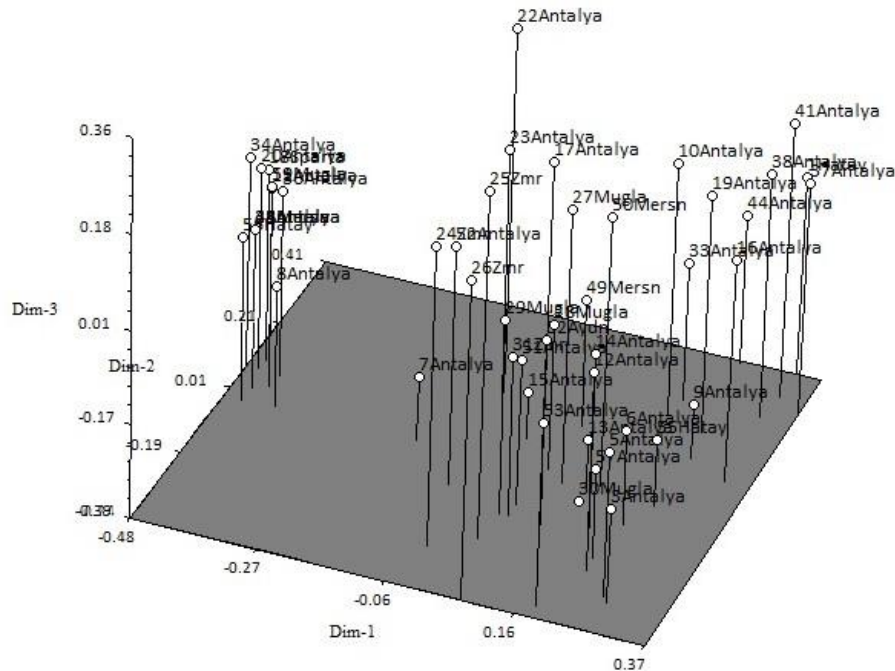
Temel Bileşenler Analizine göre elde edilen iki boyutlu düzlem ve üç boyutlu düzlem üzerinde elde edilen grafik sonuçları Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de verilmiştir. Bu iki grafik birbiriyle paralellik göstermektedir. Temel bileşenler analizini oluşturan Eigen değerleri ve her değer açıkladığı varyans yüzdesi ve vektörlerin açıkladığı kümülatif varyans verilmiştir. İlk 3 eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 40'ını açıklamıştır. İlk 5 eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın %52'sini açıklamıştır.



Şekil 4.6. iPBS analizi sonucu elde edilen dendrogram



Şekil 4.7. iPBS verileri ile yapılan temel bileşenler analizi sonu oluşturulan iki boyutlu grafik



Şekil 4.8. iPBS verileri ile yapılan temel bileşenler analizi sonu oluşturulan üç boyutlu grafik

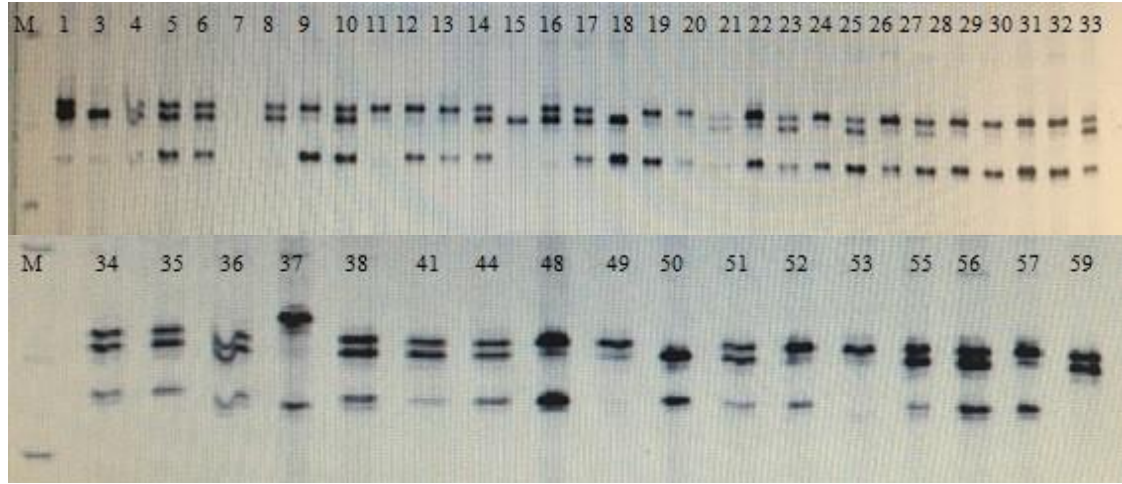
4.2.3. SSR analizleri

Bu çalışmada 49 mersin genotipi için 12 SSR primer çifti kullanılmıştır. PCR analizleri sonucundaki örnek poliakrilamid jel görüntüleri Şekil 4.9'da ve polimorfik bant sayıları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Toplamda 55 bant elde edilmiş, bunlardan sadece myrcm 10 primeri monomorfik bant vermiştir. Polimorfik bant sayıları en fazla *Myrcrom2* ve *Myrcrom7* primerinde 9 adet olarak, en az *Myrcrom3* primerinde 2 adet olarak skorlandı.

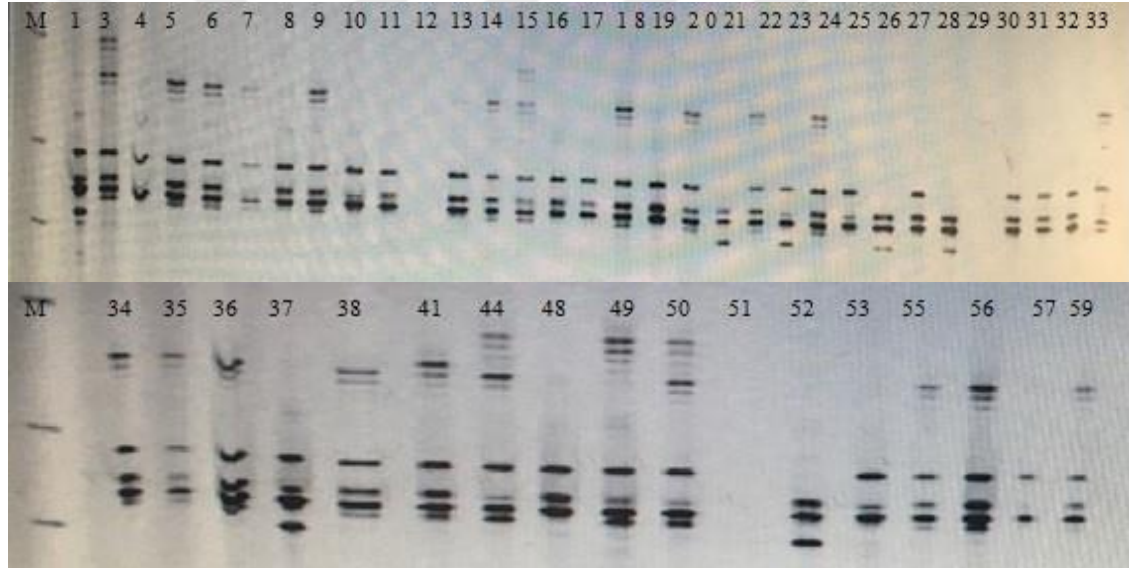
Albaladejo vd. (2010) İspanya'da mersin genotiplerinde 14 SSR primeri ile bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmaları sonucunda 14 primerin 3 tanesi (*Myrcrom12*, *13*, *14*) monomorfik bant üretmiştir. Kalan 11 SSR primeri ile 48 genotipi 2 popülasyona ayırarak PCR analizleri yapmışlardır. Analiz sonuçlarında toplamda 83 bant elde etmişler. Polimorfizm oranı 3 ile 11 arasında değişmiştir. En yüksek polimorfizm *Myrcrom2* primeri ile en düşük polimorfizmi *Myrcrom1* primeri ile elde etmişlerdir. Yürülen bu çalışmada ise en yüksek polimorfizmi *Myrcrom2* primeri (9 allel) vermiştir. Albaladejo vd. (2010) yaptıkları çalışmada *Myrcrom12* primeri polimorfizm göstermezken bu çalışmada myrcrm 12 primeri polimorfizm (3 allel) göstermiştir. Mele vd. (2019) Sardunya'da (İtalya) 460 mersin genotipleriyle yaptıkları bir çalışmada 14 adet *Myrcrom* SSR primer çifti kullanmışlardır. Bu primerler ile yapılan analizleri sonucunda *Myrcrom2*, 7, 8 ve 10 primerlerinden sonuçlar alamamışlar ve çalışmaya dahil etmemişlerdir. Geri kalan 10 *Myrcrom* SSR primerlerinden toplamda 68 bant üretmişler bunlardan en yüksek polimorfizmi *Myrcrom11* (13 allel), en düşük polimorfizmi de myrcm 13 (2 allel) primerinde gözlemlemişlerdir. Corona vd. (2017) Oristano'da bulunan "Antonio Milella" Deneysel İstasyonundaki (Sardunya, İtalya) mersin çeşitlerinin genetik çeşitliliğini değerlendirmek için 14 myrcm SSR primerlerini kullanmışlar ve toplamda 73 bant elde etmişlerdir. En yüksek polimorfizmi myrcm 8 primeri (13 allel), en düşük polimorfizmi de *Myrcrom1* ve *Myrcrom12* primerlerinde (2 allel) tespit etmişlerdir. *Myrcrom13* primerinde de monomorfik bant elde etmişlerdir.

Çizelge 4.3. SSR primerlerine ait toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve polimorfizm oranları

Primer	Polimorfik bant sayısı	Toplam bant sayısı	% Polimorfizm	Bant Büyüklüğü
<i>Myrcrom1</i>	3	3	100	225-230
<i>Myrcrom2</i>	9	9	100	213-240
<i>Myrcrom3</i>	2	2	100	183-187
<i>Myrcrom4</i>	7	7	100	162-187
<i>Myrcrom5</i>	5	5	100	253-269
<i>Myrcrom6</i>	4	4	100	179-181
<i>Myrcrom7</i>	9	9	100	177-213
<i>Myrcrom9</i>	4	4	100	181-187
<i>Myrcrom10</i>	monomorfik	1		166
<i>Myrcrom11</i>	8	8	100	230-250
<i>Myrcrom12</i>	3	3	100	140-146
Toplam	54	55		
Ortalama	4,6	4,5		



(a)



(b)

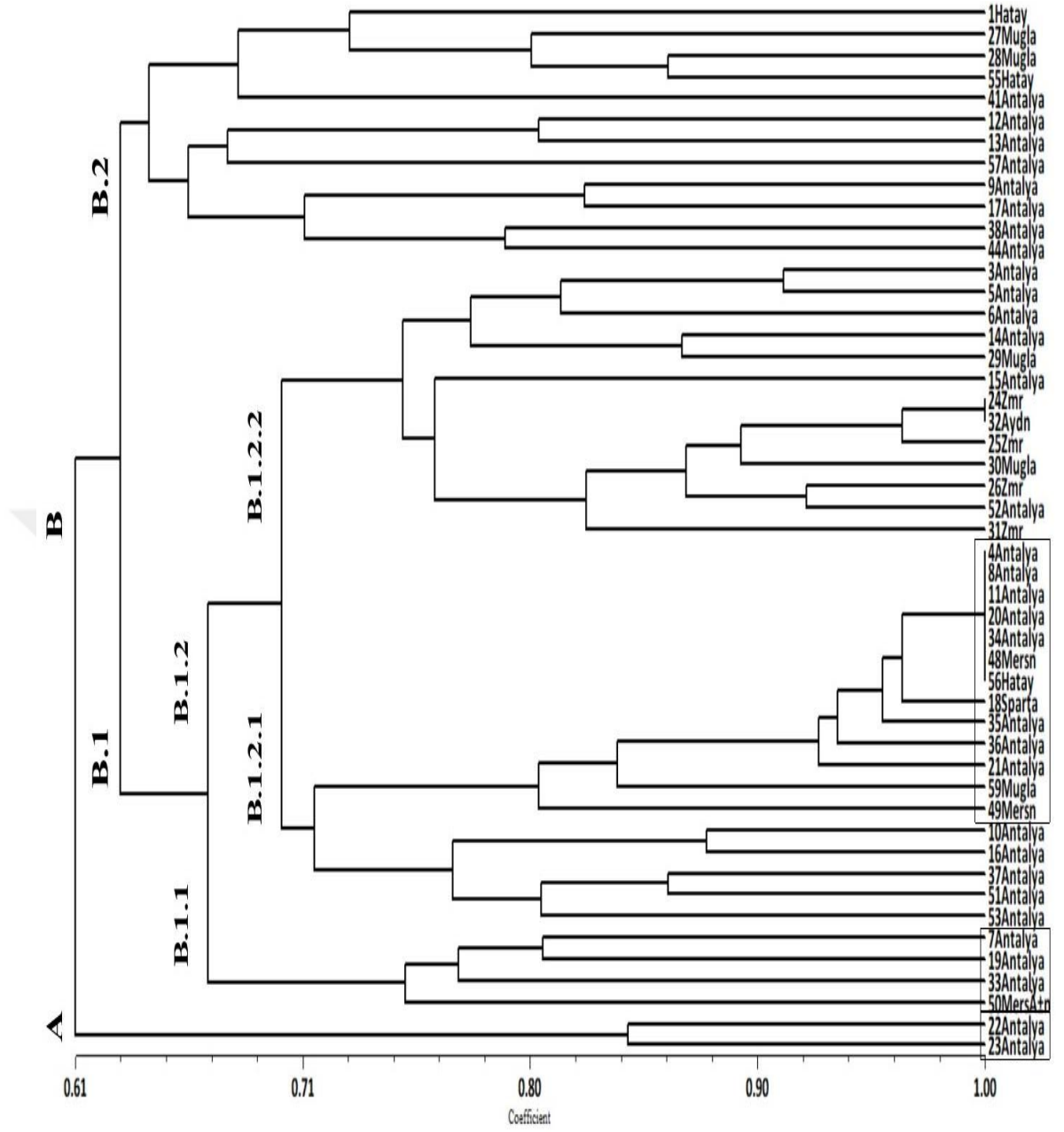
Şekil 4.9. Örnek poliakrilamit jel görüntüleri; **(a)** Myrcom1 primeri **(b)** Myrcom4 primeri

NTYSTSpc (Ver 2.1) programında DICE (1945) metoduna göre elde edilen benzerlik matrisine göre SSR verilerinden elde edilen benzerlik matrisinde birbirine en yakın genotipler 1,00 benzerlik indeksi ile 8 (Antalya Alanya Okurcalar)-4 (Antalya Kumluca), 11 (Antalya Kemer Arslanbucak)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 20 (Antalya Manavgat Hatipler)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 11 (Antalya Kemer Arslanbucak)-8 (Antalya Alanya Okurcalar), 20 (Antalya Manavgat Hatipler)-8 (Antalya Alanya Okurcalar), 34 (Antalya Serik Şatırlı

Köyü)-8 (Antalya Alanya Okurcalar), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü)-8 (Antalya Alanya Okurcalar), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-8 (Antalya Alanya Okurcalar), 20 (Antalya Manavgat Hatıpler)-11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü)-11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü)-11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü)-20 (Antalya Manavgat Hatıpler Köyü), 36 (Antalya Geyikbayır)-20 (Antalya Manavgat Hatıpler), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü)-20 (Antalya Manavgat Hatıpler), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-20 (Antalya Manavgat Hatıpler), 32 (Aydın)-24 (İzmir Değirmen Dere Köyü), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü)-34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü)-48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü) olarak belirlenmiştir. En uzak genotipler ise 3,18 benzerlik indeksi ile 22 (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi)-16 (Antalya Kemer Tekirova), ikinci en uzak genotipler 3,48 benzerlik indeksi ile 37 (Antalya Gökçam)-22 (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi) olarak belirlenmiştir. Benzerlik matrisine göre benzerlik ortalamaları 7,04 bulunmuştur. (EK-3)

SSR verileri ile oluşturulan dendrogram kümesi ve benzerlik indeksi incelendiğinde benzerlik oranları 0,61 ile 1,00 arasındadır. SSR analizleri sonucunda dendrogram 0,61 benzerlik katsayısı seviyesinde (A ve B) iki gruba ayrılmıştır (Şekil 4.10). A grubunda bulunan 22 ve 23 nolu genotipler (Antalya Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi) 0,85 benzerlik katsayısında diğer genotiplerden ayrılmıştır. Bunların yaprak özellikleri diğer genotiplerden farklı olarak daha küçüktür. B grubu da 0,63 benzerlik katsayısı seviyesinde alt gruplara ayrılmıştır. B.1.2.1. alt grubunda 0,97 benzerlik katsayısı seviyesinde ayrılan 4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 8 (Antalya Alanya Okurcalar), 11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 20 (Antalya Manavgata Hatıpler), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü) 1,00 oranında benzer çıkmıştır. Yine bu alt gruba dahil olan 18 (Isparta Çobanpınar), 35 (Antalya Konyaaltı), 36 (Antalya Geyikbayır), 21 (Antalya Finike Sahilkent), 59 (Muğla Fethiye), 49 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü) genotipleriyle %81 oranında benzer çıkmıştır. Bu genotiplerin meyve özelliklerine baktığımızda hepsinin beyaz meyveli olduğu, meyve eti ağırlıklarının (0,45g-1,28g), meyve boyu (10,98mm-16,23mm) ve meyve eninde (8,76mm-13,08mm) yakın değerlerde olduğu görülmüştür. B.1.1 grubundaki 7 (Antalya Alanya Okurcalar), 19 (Antalya Alanya), 33 (Antalya Bahtılı) ve 50 (Mersin Erdemli Ayaş) numaralı genotiplerin hepsinin siyah meyveli olduğu ve %72 oranında benzer oldukları saptandı.

Temel Bileşenler Analizine göre elde edilen iki boyutlu düzlem ve üç boyutlu düzlem üzerinde elde edilen grafik sonuçları Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de verilmiştir. Bu iki grafik birbiriyle paralellik göstermektedir. Temel bileşenler analizini oluşturan eigen değerleri ve her değerin açıkladığı varyans yüzdesi ve vektörlerin açıkladığı kümülatif varyans verilmiştir. İlk 3 eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 36’ını açıklamıştır. İlk 5 eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 49’unu açıklamıştır.



Şekil 4.10. SSR analizi sonucu elde edilen dendrogram

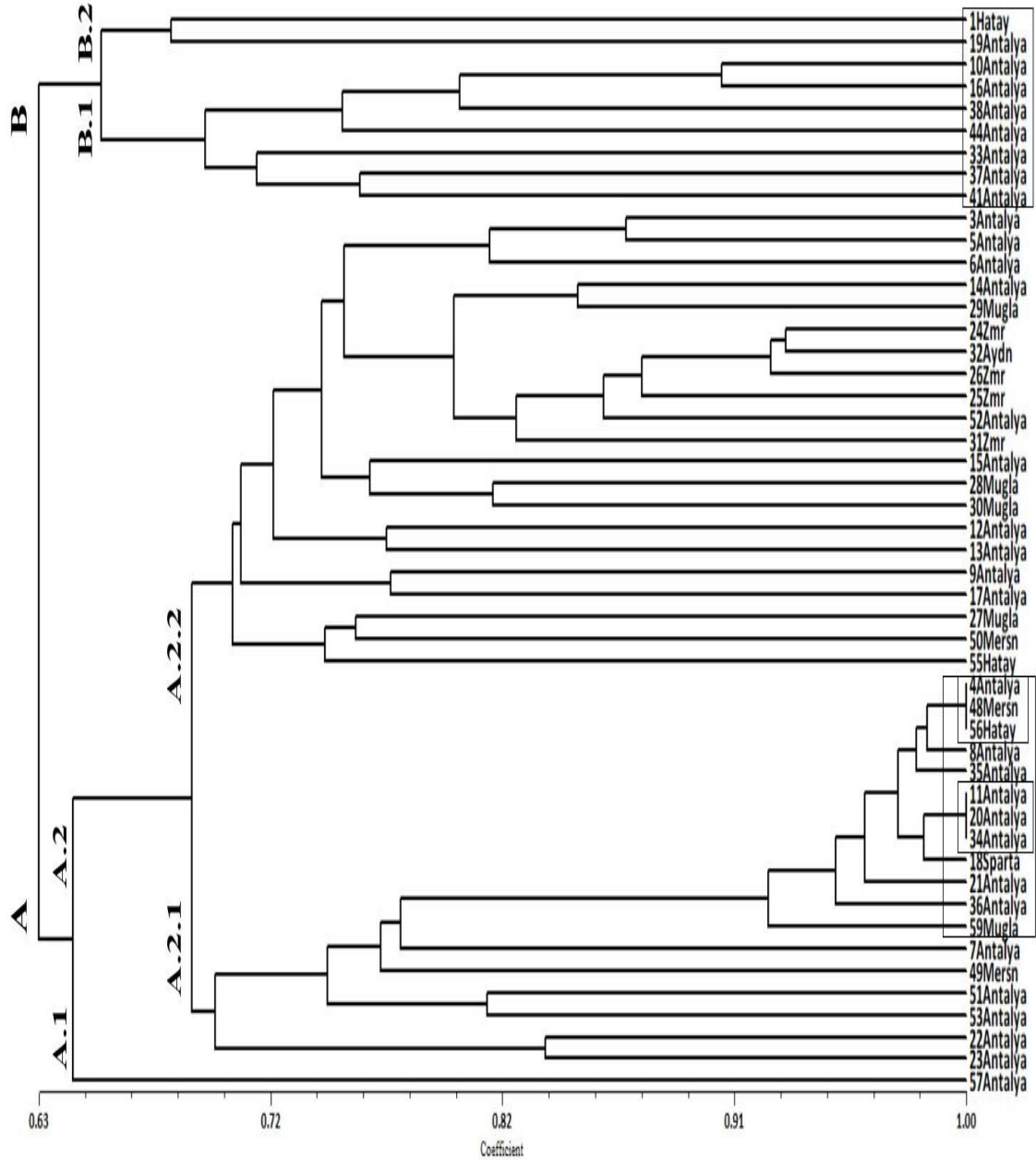
4.2.4. SSR ve iPBS analizleri sonucu elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi

Çalışmamızda Ege ve Akdeniz Bölgelerinden toplanan 49 Mersin (*Myrtus communis* L.) genotipinde SSR ve iPBS primerleri kullanılarak genetik çeşitlilikleri incelenmiştir. 12 SSR primer çifti ve 12 iPBS primerleri kullanılarak toplamda 134 polimorfik bant üretilmiştir. Bunlardan 80 tanesi iPBS primeri ile 54 tanesi de SSR primerleriyle elde edilmiştir. 2378 primeri en fazla allel (13 allel) sayısını verirken en az alleli 2221 ve *Myrcom3* primerleri (2 allel) vermiştir.

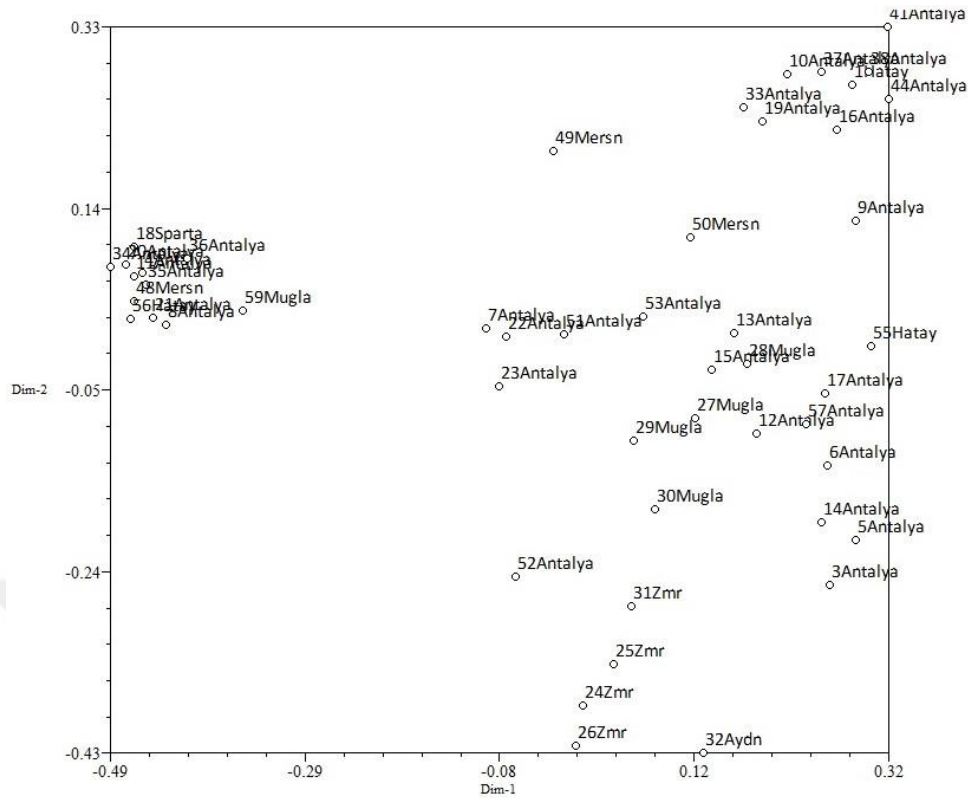
NTYSTSpc (Ver 2.1) programında DICE (1945) metoduna göre elde edilen benzerlik matrisine göre SSR verilerinden elde edilen benzerlik matrisinde birbirine en yakın genotipler 1,00 benzerlik indeksi ile 4 (Antalya Kumluca Belen Köyü)-48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü), 4 (Antalya Kumluca Belen Köyü)-56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü), 11 (Antalya Kemer Arslanbucak)-20 (Antalya Manavgat Hatıpler), 11 (Antalya Kemer Arslanbucak)-34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü), 20 (Antalya Manavgat Hatıpler)-34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü)-56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü) olarak belirlenmiştir. En uzak genotipler ise 5,00 benzerlik indeksi ile 3 (Antalya Kumluca Belen Köyü)-44 (Antalya Gökçam), ikinci en uzak genotipler 5,28 benzerlik indeksi ile 17 (Antalya Kemer Tekirova)-19 (Antalya Alanya) olarak belirlenmiştir. Benzerlik matrisine göre benzerlik ortalamaları 7,29 bulunmuştur. (EK-4)

SSR ve iPBS verilerinin birlikte analizleri sonucunda DICE benzerlik indeks değerleri 0,63 ile 1,00 arasında değişmiştir. Şekil 4.13'de verilen dendrogramda genotipler 0,63 benzerlik katsayısında iki ana gruba (A ve B) ayrılmıştır. A ve B ana gruplarda kendi içlerinde 0,65 benzerlik katsayısında alt gruplara ayrılmıştır. A.2.1 alt grubunda 4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü), 56 (Hatay Erzin Kuzuyuk Köyü) ve 11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 20 (Antalya Manavgat Hatıpler), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü) numaralı genotipler 1,00 oranında benzer çıkmıştır. Bu genotipler SSR primerleri ile yapılan analiz sonucunda 4, 8, 11, 20, 34, 48, 56 genotipleri ile iPBS primerleri ile yapılan analizler sonucunda da 4, 21, 35, 48, 56, 59 ve 11, 18, 20, 34 genotipleri ile 1,00 oranında benzer çıkmıştır (Şekil 4.3 ve Şekil 4.7). 4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu), 56 (Hayat Erzin Kuzuyuk Köyü), 8 (Antalya Alanya Okurcalar), 35 (Antalya Konyaaltı), 11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 20 (Antalya Manavgat Hatıpler), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü), 18 (Isparta Çobanpınar), 21 (Antalya Finike Sahilkent), 36 (Antalya Geyikbayır), 59 (Muğla Fethiye) numaralı genotiplerin beyaz meyveli ve %92 oranında benzer oldukları bu nedenler vejetatif olarak çoğaltılmış klonlar olduğu düşünülebilir. 0,69 benzerlik katsayısında ayrılan B.2 alt grubunda toplanan 1 (Hatay Samandağı Fidanlı Köyü), 19 (Antalya Alanya), 10 (Antalya Göynük Kanyon), 16 (Antalya Tekirova), 38 (Antalya Gökçam), 44 (Antalya Gökçam), 33 (Antalya Bahtılı), 37 (Antalya Gökçam), 41 (Antalya Gökçam) numaralı genotiplerin siyah meyveli oldukları belirlenmiştir.

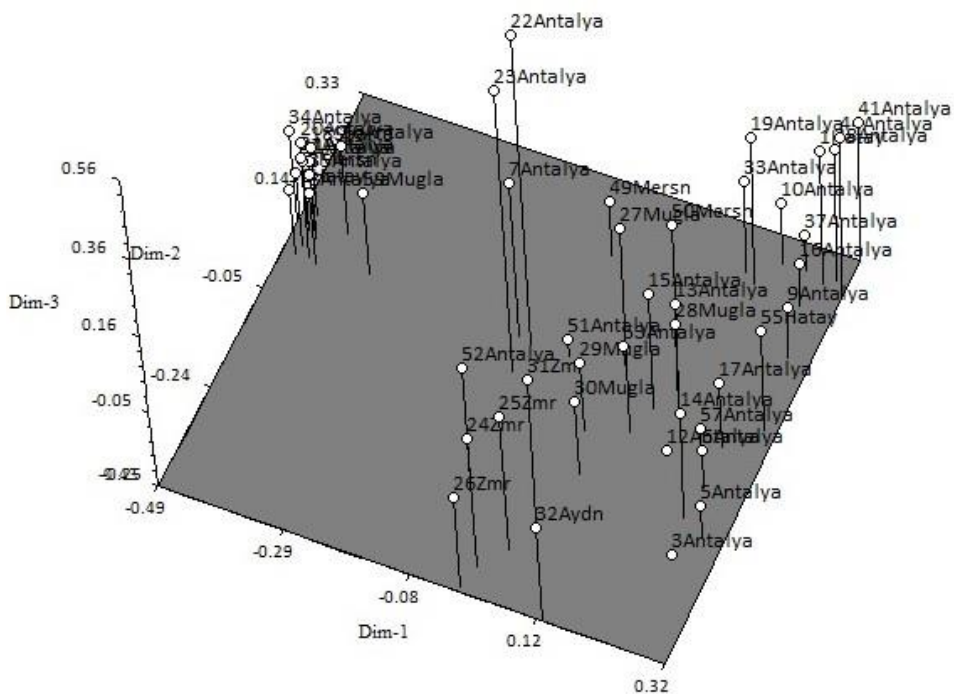
Temel Bileşenler Analizine göre elde edilen iki boyutlu düzlem ve üç boyutlu düzlem üzerinde elde edilen grafik sonuçları Şekil 4.14 ve Şekil 4.15’de verilmiştir. Bu iki grafik birbiriyle paralellik göstermektedir. Temel bileşenler analizini oluşturan Eigen değerleri ve her değerin açıkladığı varyans yüzdesi ve vektörlerin açıkladığı kümülatif varyans verilmiştir. İlk 3 Eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 34’ünü açıklamıştır. İlk 5 Eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 44’ünü açıklamıştır.



Şekil 4.13. SSR ve iPBS analizlerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesiyle oluşturulan dendrogram



Şekil 4.14. SSR ve iPBS verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan iki boyutlu grafik



Şekil 4.15. SSR ve iPBS verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan üç boyutlu grafik

4.2.5. SSR ve iPBS analizleri sonucu elde edilen verilen karşılaştırılması

Yapılan analizler sonucunda SSR primerleriyle toplamda 55 bant , iPBS primerleri ile de toplamda 135 bant elde edilmiştir. SSR primeriyle polimorfik allel sayısı 2 ile 9 arasında iPBS primeriyle de 2 ile 13 arasında çıkmıştır. Polimorfizm oranlarını incelediğimizde SSR primerlerinde % 100 polimorfizm elde edilirken iPBS primerlerinde polimorfizm oranı % 25- %92,8 arasında değişmektedir.

SSR primerleri ile elde edilen dendrogramda 22 ve 23 (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi) numaralı genotiplerin morfolojik olarak diğer 47 genotipten farklı olduğu ve dendrogramda 47 genotipten ayrılmış olduğu görülmektedir.

SSR primerlerinin iPBS primerlerine göre yüksek polimorfizm göstermesinin nedeni türe özgün bir primer olması aynı zamanda kodominant özellik göstermesi ve çok sayıda allel üretebiliyor olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca SSR PCR ürünleri poliakrilamit jelde yürütülmüş olması, poliakrilamit jelin agaroz jele göre 1 bazlık farklılıkları bile ayırabiliyor olması yüksek polimorfizm göstermesini sağlamış olabilir.

SSR ve iPBS primerlerinin benzerlik matrisleri temel alınıp Mantel testi (Mantel, 1967) yapılarak aralarındaki korelasyon tespit edilmiştir. SSR ve iPBS primerlerinden elde edilen mantel testi sonucu orta derecede kabul edilir bulunmuştur. ($r = 0,54$)

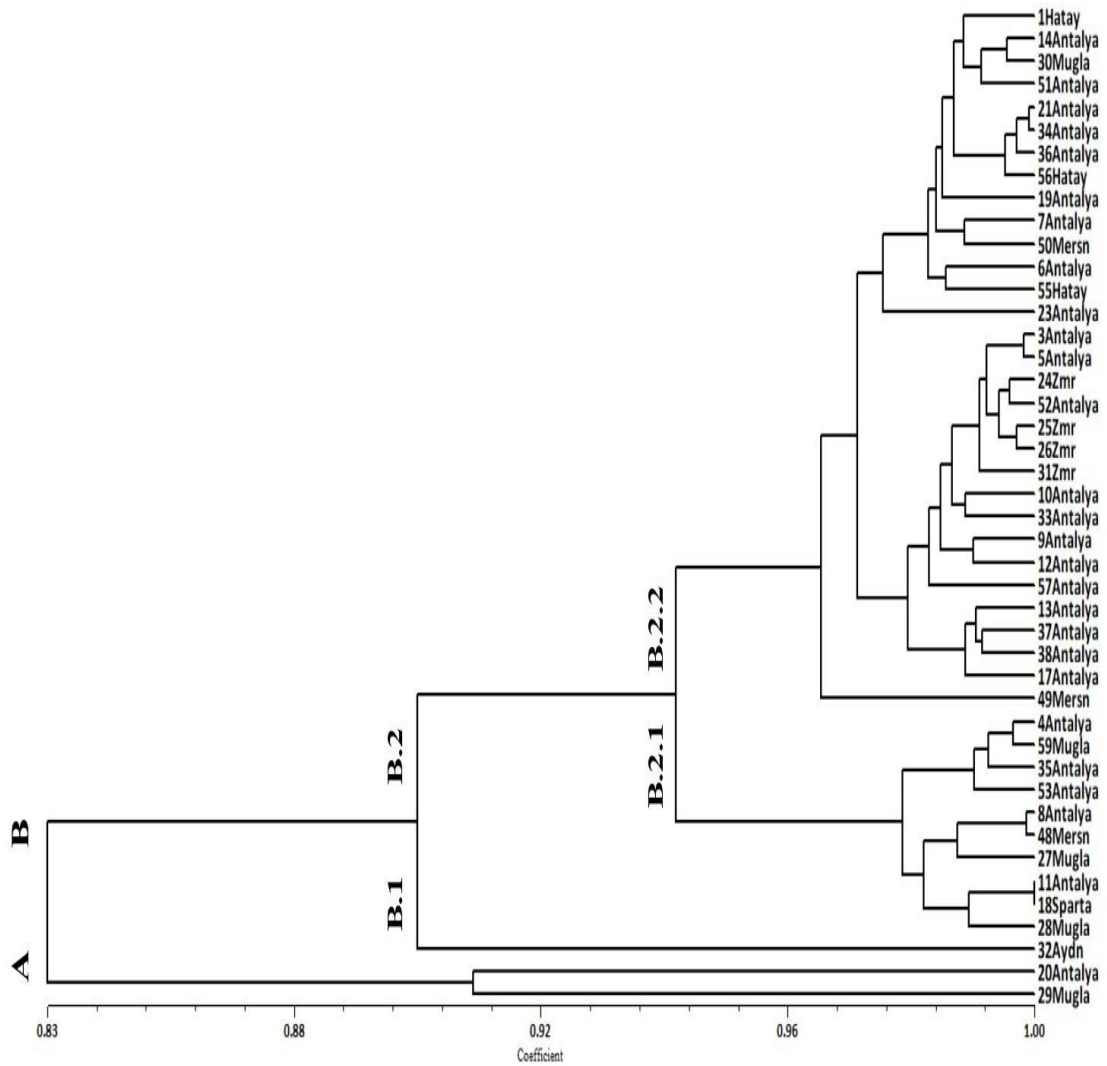
4.2.6. Morfolojik ve moleküler analizlerden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi

Kırkdokuz mersin genotipinden elde edilen morfolojik ve moleküler analizlerin sonuçları bir arada değerlendirilerek benzerlik indeksine göre dendrogram ve Temel Bileşenler Analizi oluşturulmuştur. Benzerlik indeks değerleri 0,83 ile 1,00 arasında değişmiştir. Şekil 4.16 'da verilen dendrogramda genotipler 0,83 benzerlik katsayısı seviyesinde iki ana grup altında toplanmıştır (A ve B). 20 (Antalya Manavgat Hatıpları) ve 29 (Muğla Marmaris Armutalan) yaklaşık olarak 0,89 benzerlik katsayısı seviyesinde diğer genotiplerden ayrılmıştır. Bu genotiplerin beyaz meyveli olduğu belirlenmiştir. 11 (Antalya Kemer Arslanbucak) ile 18 (Isparta Çobanpınar) 1,00 oranında benzer bulunmuştur. 4 (Antalya Kumluca Belen köyü), 59 (Muğla Fethiye), 35 (Antalya Konyaaltı), 53 (Antalya Döşemealtı), 8 (Antalya Alanya Okurcalar), 48 (Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü), 27 (Muğla Datça), 11 (Antalya Kemer Arslanbucak), 18 (Isparta Çobanpınar), 28 (Muğla Datça) B.2.1 alt grubunda bulunan bu genotipler yaklaşık olarak 0,97 benzerlik katsayısında ayrılmışlardır. 28 numaralı genotip hariç (siyah meyveli) diğerlerinin beyaz meyveli olduğu bilinmektedir. 1 (Hatay Samandağı Fidanlı Köyü), 14 (Antalya Kemer Çamyuva), 30 (Muğla Marmaris Armutalan), 51 (Antalya Döşemealtı) 0,97 benzerlik katsayısı seviyesinde ayrılan bu genotiplerin meyve renklerinin siyah olduğu gözlemlenmiştir. 0,99 benzerlik katsayısında ayrılan 21 (Antalya Finike Sahilkent), 34 (Antalya Serik Şatırlı Köyü), 36 (Antalya Geyikbayırı), 56 (Hatay Erzin Kuzuk Köyü) numaralı genotiplerinde beyaz meyveli olduğu belirlenmiştir.

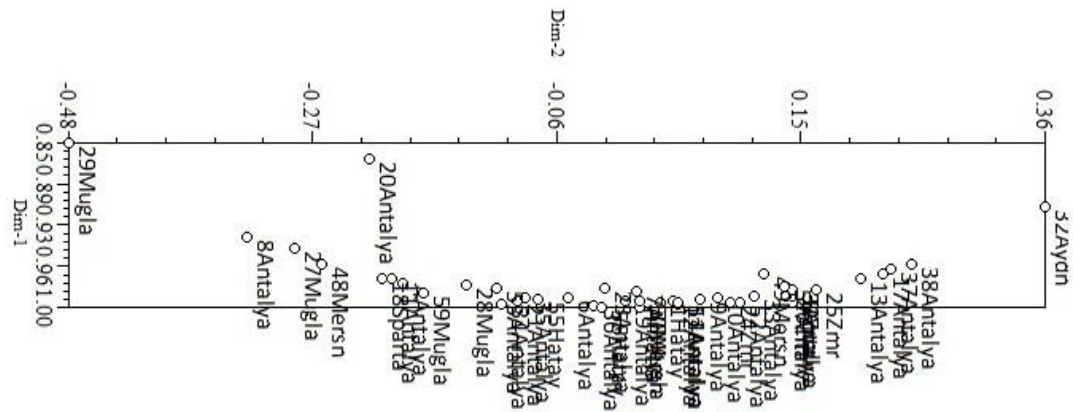
Temel Bileşenler Analizine göre elde edilen iki boyutlu düzlem ve üç boyutlu düzlem üzerinde elde edilen grafik sonuçları Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de verilmiştir. İki

boyutlu düzlem grafiğinde 17 (Antalya Kemer Tekirova), 25 (İzmir Değirmen Dere Köyü) ve 28 (Muğla Datça) diğer genotiplerden ayrılmıştır. Bu genotiplerin 17 beyaz, 25 ve 28 'in siyah meyveli olduğu bilinmektedir. İki ve üç boyutlu grafikler birbiriyle paralellik göstermektedir. Temel bileşenler analizini oluşturan Eigen değerleri ve her değer açıkladığı varyans yüzdesi ve vektörlerin açıkladığı kümülatif varyans verilmiştir. İlk 3 eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 32'sini açıklamıştır. İlk 5 eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın % 19'unu açıklamıştır.

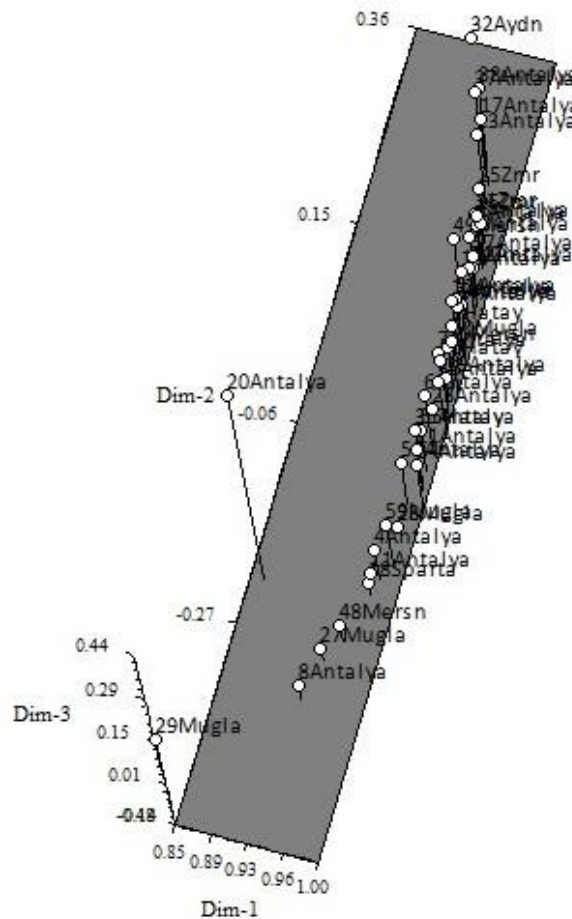
Moleküler verilerden elde edilen benzerlik matrisi ile morfolojik veriler ile oluşturulan benzerlik matrisi kullanılarak Mantel testi yapılmıştır. Korelasyon değeri (r) 0.42 olarak bulunmuştur. Bu da morfolojik veriler ile moleküler DNA verilerinin sonuçlarının orta seviyede benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur.



Şekil 4.16. Morfolojik ve moleküler analizlerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesiyle oluşturulan dendrogram



Şekil 4.17. Morfolojik ve moleküler verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan iki boyutlu grafik



Şekil 4.18. Morfolojik ve moleküler verilerinin birlikte değerlendirilmesiyle elde edilen temel bileşenler analizi sonucu oluşturulan üç boyutlu grafik

5. SONUÇLAR

Çalışmada Akdeniz ve Ege Bölgelerinin farklı lokasyonlarından 49 adet mersin (*Myrtus communis L.*) genotipi toplanmıştır. Genotipler morfolojik olarak meyve ağırlığı, boyu, eni, tohum sayısı, ağırlığı, meyve eti ağırlığı, yaprak boyu, eni, moleküler olarak da 12 SSR primer çifti ve 12 iPBS primerleriyle genetik karakterizasyonları incelenmiştir.

Morfolojik olarak; meyve ağırlığı (1.28 g), boyu (16.23 mm), eni (13.08 mm), tohum sayısı (24.4), tohum ağırlığı (0.23 g) ve meyve eti ağırlığı (1.04 g) en yüksek Antalya Alanya Okurcalar Beldesinden alınan 8 numaralı genotipte gözlemlenmiştir. Meyve ağırlığı (0.06 g), eni (4.17 mm), tohum ağırlığı (0.02 g) ve meyve eti ağırlığı (0.03 g) en düşük 17 (Antalya Kemer Tekirova) numaralı genotipte belirlenmiştir. En düşük meyve boyu (6.45 mm) 38 (Antalya Gökçam), tohum sayısı (2.2) 49 numaralı (Mersin Erdemli Kumkuyu) genotiplerde bulunmuştur. En yüksek yaprak boyu (32.85 mm) 13 (Antalya Kemer Kuzdere), yaprak eni (14.34) 4 (Antalya Kumluca Belen Köyü), en düşük yaprak boyu (10.36) 29 (Muğla Marmaris Armutalan), yaprak eni (5.5) 23 (Antalya Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi) numaralı genotiplerde incelenmiştir. Morfolojik verilerle oluşturulan dendrogramda 13 ile 24 numaralı genotiplerin meyve eti ağırlıklarının yakın değerlerde olduğu gözlemlenmiştir.

Moleküler çalışmalar sonucunda; SSR analizlerinde 54 polimorfik bant, iPBS analizlerinde 80 polimorfik bant elde edilmiştir. SSR analizlerinde en fazla bantı *Myrcom2* ve *Myrcom7* primeri ile 9 allel elde edilirken en az bantı *myrcom 3* primeri ile 2 allel elde edilmiştir. *Myrcom10* primeri monomorfik bant oluşturmıştır. SSR primerleri ile yapılan analizler sonucunda %100 polimorfizm oranı elde edilmiştir. iPBS analizlerinde ise en fazla bantı 2378 primeriyle 13 allel elde edilirken en az bantı 2221 primeri ile 2 allel elde edilmiştir. iPBS primerleriyle elde edilen analizler sonucunda %25-92.8 arasında polimorfizm oranı belirlenmiştir. Genotipler arasındaki benzerlik indeksi iPBS primerleri ile yapılan analizler sonucunda 0,59 ile 1,00, SSR primerleri ile yapılan analizler sonucunda 0,61 ile 1,00 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Moleküler analizler sonucunda genotipler meyve rengi bakımından benzerlikleri incelendiğinde beyaz meyveli genotiplerin siyah meyveli genotiplere oranla daha fazla benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Bunun nedeni doğal olarak yetişen mersin bitkisi ticari olarak değer kazanmak amacıyla aşılı meyveler olarak pazarlandığı bilinmektedir dolayısıyla bu aşılı meyvelerin çoğunluğunu beyaz meyveli mersinler oluşturmaktadır. Benzerlik gösteren genotipler vejetatif olarak çoğaltılmış klonlar olduğu düşünülebilir. Siyah meyveli genotipler arasında genetik farklılık görülmesinin nedeni doğada yabancı olarak yayılım göstermelerinden kaynaklanabilir. SSR ve iPBS dendrogramlarında gruplaşmalar incelendiğinde özellikle beyaz meyveli gruplaşmaların meyve eti ağırlıklarının, meyve boylarının ve meyve enlerinin yakın değerlerde olduğu belirlenmiştir. Genotipler coğrafik özellikleri bakımından incelendiğinde SSR ve iPBS primerleri ve her iki primerin birlikte analizleri sonucunda İzmir'in ilçelerinden toplanan 24, 25, 26, Antalya Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden toplanan 22, 23, Mersin Erdemli Kumkuyu Köyü'nden toplanan 48, 49 numaralı genotiplerin dendrogramlarda aynı gruplar altında toplandıkları ve benzerlik gösterdikleri gözlemlenmiştir. Dendrogramlardaki gruplaşmalar rakım özellikleri bakımından incelendiğinde genotipler arasında benzerliğe rastlanılmamıştır.

Ülkemizde mersin (*Myrtus communis L.*)’de morfolojik karakterizasyon çalışmalarına sıklıa rastlanılmaktadır ancak moleküler karakterizasyon çalışmaları sınırlı sayıdadır. Geleneksel ıslah çalışmalarında bitki populasyonlarındaki mevcut genetik eşitliliğın yeterli düzeyde bilinmesi, bitki gen kaynaklarının etkili bir şekilde korunması ve verimli bir şekilde kullanımı için çok önemlidir. Yapılan bu tez çalışması ilerideki yapılabilecek mersin gen kaynakları ve ıslah çalışmaları için yol gösterici olabilir. Ülkemizde doğal olarak yetişen mersin genotiplerinin morfolojik ve moleküler olarak incelenmesi ve genetik eşitliliğın ortaya konulması için daha detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.



6. KAYNAKLAR

- Agrimonti, C. Bianchi, R. Bianchi, A. Ballero M. Poli, F. Marmioli, N. 2006. Understanding biological conservation strategies: a molecular-genetic approach to the case of myrtle (*Myrtus communis* L.) in two Italian regions: *Sardinia and Calabria*. *Conservation Genetics* 8, 385-396.
- Albaladejo, R.G. Carillo, L.F. Aparicio, A. Fernandez-Manjarres, J.F. Gonzalez-Varo, J.P. 2008. Population genetic structure in *Myrtus communis* L. in a Chronically fragmented landscape in the Mediterranean: can gene flow counteract habitat perturbation. *Plant Biology* 11, 442-453.
- Albaladejo, R.G. Sebastiani, F. Gonzalez-Martinez, S.C. Gonzalez-Varo, J., Vendramin, G.G. Aparicio, A. 2010. Isolation of microsatellite markers for the common Mediterranean shrub *Myrtus communis* (Myrtaceae). *American Journal of Botany* e23-e25.
- Aksay, S. 2016. Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Various Extracts of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Berries. *Çukurova Tarım Gıda Bil. Der.* 31(2), 43-50.
- Aksu, M. Şahin-Çevik, M. 2014. Moleküler Markörlerin Meyve Islahında Kullanım Alanları. *Meyve Bilimi (Fruit Science)* 2(1), 49-59.
- Alım, E. Uzun, H.İ. 2017. Siyah Mersin (*Myrtus communis* L.) Bitkisinde Giberellik Asit (GA₃) Uygulamalarının Meyve Kalitesi ve Çekirdeksizlik Üzerine Etkileri. *Derim* 34 (2), 113-121.
- Altınbay, H. 2012. Doğu Anadolu'da Yetişen Bazı Armut Gen Kaynaklarının SSR' s (Simple Sequence Repeats) Markörlere Dayalı Genetik Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 49 s.
- Alp, S. 2007. Kışlık Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.)'da Yr5 Sar Pas (*Puccinia striiformis* sptritici) Dayanıklılık Geninin Moleküler Belirteçler (marker) ile Araştırılması. Yıldız Teknik Üniversitesi, FBE Biyomühendislik Anabilim Dalı Biyokimya Programında Hazırlanan Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Andeden, E.E. Baloch, F.S. Derya, M. Kilian, B. Özkan, H. 2013. iPBS-Retrotransposons-based genetic diversity and relationship among wild annual *Cicer species*. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 22(4), 453-466.
- Aydın, C. Özcan, M.M. 2007. Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis*) fruit growing wild in Turkey.
- Baloch, F.S. Alsaleh, A. Miera, L. Hatipoğlu, R. Çiftçi, V. Karaköy, T. Yıldız, M. Özkan, H. 2015. DNA based iPBS-retrotransposon markers for investigating the population structure of pea (*Pisum sativum*) germplasm from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 244-252.
- Borna, F. Luo, S. Ahmad, N.M. Nazeri, V. Shokrpour, M. Trethowan, R. (2016) Genetic diversity in populations of the medicinal plant *Leonurus cardiaca* L.

- Revealed by inter-primer binding site (iPBS) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 64, 479-492.
- Bozdoğan, E. Güler, S. Burğut, A. 2017. *Myrtus communis* L. Türünün Farklı Kullanım Alanları Açısından Değerlendirilmesi. V. Uluslararası Katılımlı Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Bahçe 46, Özel Sayı 1, 73-77.
- Bruna, S. Mercuri, A. Cervelli, C. Braglia, L. De Benedetti, L. Schiva, T. 2005 Genetic characterization of *Myrtuscommunis*L.wild genotypes using AFLP markers. *Acta Horticulturae* 683, 431-436.
- Bruna, S. Portis, E. Cervelli, C. De Benetti, L. Schiva, T. Mercuri, A. 2007. AFLP-based genetic relationships in the Mediterranean myrtle (*Myrtuscommunis* L.). *Scientia Horticulturae* 113, 370-375
- Corona, L. Mele, C. Chessa, I. Mulas, M. 2017. Analysis of Sardinian myrtle (*Myrtus communis* L.) germplasm selections by SSR markers. *International Society for Horticultural Science* 1172. 32
- Çağlar, E. 2010. Mikrosatellit Temelli Markörlerle *Centaurea nivea*'daki Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Eskişehir.
- Çınar, F. 2018. Murt (*Myrtus communis* L.) Meyvesinden Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 40 s.
- Dessena, L. Sale, L. Melito, S. Mulas, M. 2017. Phenological and morphological characteristics of new selections of myrtle (*Myrtle communis* L.). *ISHS Acta Horticulturae*, 1172.
- Doyle, J.J. Doyle, J.L. 1990. Isolation of Plant DNA from fresh tissue , *Focus*, 12: 13-15
- Guo, DL. Guo, MX. Hou XG. Guo-HZ. 2013. Molecular diversity analysis of Grape varieties based on iPBS markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 52, 27-32
- Erlaçın, S. Erciyas, E. 1978. *Myrtuscommunis* L. (Mersin bitkisi)yapraklarının tanen yönünden incelenmesi. *Doğa Bilim Dergisi*, 2(1): 75.
- Fagundes, B.S. Silva, L. Giacomini, R. 2016. Transferability of microsatellite markers among *Myrtaceae* species and their use to obtain population genetics data to help the conservation of the Brazilian Atlantic forest. *Tropical Conservation Science*, 9, 408-422
- Ghafouri, F. Rahimmalek, M. 2018. Genetic structure and variation in different Iranian myrtle (*Myrtus communis* L.) populations based on morphological, phytochemical and molecular markers. *Industrial Crops & Products*, 123, 489-499.
- Gonzalez-Varo, P.J. Arroyo, J. Aparicio, A. 2009. Effects of fragmentation on pollinator assemblage, pollen limitation and seed production of Mediterranean myrtle (*Myrtuscommunis*). *Biological Conservation* 142, 1058-1065
- Gözlekçi, S. Gübbük, H. 2009. Batı Akdeniz Florasında Yetişen Beyaz ve Mor Mersin Tiplerinin (*Myrtuscommunis* L.) Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri ile Mineral Besin Maddesi İçerikleri Yönünden Kıyaslanması. III. Ulusal Üzümsü Meyveler

- Sempozyumu, Sempozyum Programı ve Bildiri Özetleri, 10-12 Haziran, Kahramanmaraş, Sayfa 68.
- Guo, D-L. Guo, M-X. Hou, X-G. Zhang, G-H. 2014. Molecular diversity of grape varieties based on İPBS markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 52, 27-32.
- Gülşen, O. Mutlu, N. 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. *Alatatarım*, 4(2), 27-37
- Hemmat, M. Weeden, N.F. Brown, S.K. 2003. Mapping and evaluation of malus x domestica microsatellites in apple and pear. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128: 515-520.
- Kalendar, R. Antonlus, K. Smykal, P. Schulman, A. 2010. İPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theor Appl Genet* 121, 1419-1430
- Karademir, K.F. Avunduk, S. 2015. Antibacterial and Antioxdant Activity of *MyrtuscommunisL.* Growing wild in Marmaris. *GIDA* 40(4), 193-199
- Karık, Ü. Nadeem, M.A. Habyarimana, E. Ercişli, S. Yıldız, M. Yılmaz, A. Yang, S.H. Chung, G. Baloch, F.S. 2019. Exploring the Genetic Diversity and Population Structure of Turkish Laurel Germplasm by the İPBS-Retrotransposon Marker System. *Agronomy* 9(10), 647
- Koçak, A. İnal, B. 2017. Tarımsal Biyoteknolojide Mobil Genetik Elementlerin Moleküler Markör Olarak Kullanılması. *Türkiye Tarımsal Araştırma Dergisi*, 4(3), 302-310.
- Kumar, L.S. 1999. DNA markers in plant improvement: an over view. *Biotechnol. Adv.* 17, 143-182
- Mantel, N. 1967. The Detection of Disease Clustering and Generalized Regression Approach. *Cancer Res.*, 27: 209–220
- Mehmood, A. Jakar Jaskani, M. Ahmad, S. Ahmad, R. 2013. Evaluation of Genetic Diversity in Open Pollinated Guava by İPBS Primers. *Pak. J. Agri. Sci.*, Vol. 50(4), 591-597; 2013.
- Mele, C. Corona, L. Melito, S. Raggi, L. Mulas, M. 2019. The genetic diversity of selections and wild populations of myrtle revealed by molecular geographic contexts. *Industrial Crops & Products*, 132, 168-176.
- Melito, S. La Bella, S. Martinelli, F. Cammalleri, I. Tuttolomondo, T. Leto, C. Fadda, A. Molinu, M. Mulas, M. 2016. Morphological, chemical and genetic diversity of wild myrtle (*Myrtuscommunis L.*) populations in Sicily. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40, 249-261
- Melito, S. Chessa, I. Erre, P. Podani, J. Malus, M. 2013. The genetic diversity of Sardinian myrtle (*MyrtuscommunisL.*) populations. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6, 6

- Melito, S. Fadda, A. Rapposelli, E. Mulas, M. 2014. Genetic diversity and population structure of sardinian *Myrtle*(*Myrtus communis* L.) selections as obtained by AFLP markers. *Hort Science*, 49, 531-537.
- Melito, S. Dessena, L. Sale, L. Mulas, M. 2017. Genetic diversity and population structure of wild Sardinian Myrtle (*Myrtus communis* L.) genotypes from different microclimatic areas. *Australian Journal of Crop Science*, 11(11), 1488-1496.
- Messaoud, C. Afif, M. Boulila, A. Rejeb, M. Boussaid, M. 2007. Genetic variation of Tunisian *Myrtus communis* L. (*Myrtaceae*) populations assessed by isozymes and RAPDs. *Annals of Forest Science* 64, 845-853
- Messaoud, C. Boussaid, M. 2011. *Myrtus communis* Berry Color Morphs: A Comparative Analysis of Essential Oils, Fatty Acids, Phenolic Compounds and Antioxidant Activities. *Chemistry & Biodiversity* Vol. 8.
- Messaoud, C. Bejaoui, A. Boussaid, M. 2011. Fruit color, chemical and genetic diversity and structure of *Myrtus communis* L. var. *Italica* Mill. Morphopopulations. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39, 570-580.
- Messaoud, C. Khoudja, L.M. Boussaid, M. 2004. Genetic diversity and structure of wild Tunisian *Myrtus communis* L. (*Myrtaceae*) populations. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 407-417.
- Messaoud, C. Zaouali, Y. Ben Salah, A. Koudja, M.L. Boussaid, M. 2004. *Myrtus communis* in Tunisia: variability of the essential oil composition in natural populations. *Flavour and Fragrance Journal* 20: 577-582
- Litt, M. Luty, J.A. 1989. A Hypervariable Microsatellite Revealed by In Vitro Amplification of a Dinucleotide Repeat within the Cardiac Muscle Actin Gene. *American Society of Human Genetics*, 44: 397-401.
- Miller, W. Capy, P. 2004. Mobile Genetic Elements as Natural Tools for Genome Evolution. *Methods in Molecular Biology*, vol. 260.
- Milovanov, A. Zvyagin, A. Daniyarov, A. Kalendar, R. Troshin, L. 2019. Genetic analysis of the grapevine genotypes of the Russian *Vitis* ampelographic collection using iPBS markers. *Genetica* 147:91-101.
- Mulas, M. Cani, M. 1999. Germplasm Evaluation of Spontaneous Myrtle (*Myrtus communis*) for Cultivar Selection and Crop Development. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 6:3, 31-49.
- Nora, S. Albaladejo, R.G. Aparicio, A. 2014. Genetic variation and structure in the Mediterranean shrubs *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus* in different landscape contexts. *Plant Biology* 17, 311-319
- Oğur, R. 1994. Mersin bitkisi (*Myrtus communis* L.) hakkında bir inceleme. *Çevre Dergisi*, 10:21-25.
- Orta, H. 2016. Seçilmiş Karayemiş (*Prunus laurocerasus* L.) Genotiplerinin SSR Markırları ile Moleküler Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Ordu, 36s.

- Özcan, M. Akbulut, M. 1998. Mersin (*Myrtus communis* L.) meyvesinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Gıda*, 2: 121 – 123.
- Öztürk, Ş. 2018 Hatay İli Mersin (*Myrtus communis* L.) Ekotiplerinin Yaprak Verimi Ve Kalitesi Üzerine Dikim Sıklığı ve Hasat Zamanlarının Etkisi. Doktora Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 205 s.
- Schuelke, M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18: 233 – 234.
- Serçe, S. Ekbiç, E. Suda, J. Gündüz, K. Kiyga, Y. 2010. Karyological features of wild and cultivated forms of myrtle. *Genetic and Molecular Research* 9(1), 429-433
- Serçe, S. Şimşek, O. Gündüz, K. Aka-Kacar, Y. Ercişli, S. 2008. Relationships among myrtle accessions from Turkey as revealed by fruit characteristics and RAPD. *Roumanian Society of Biological Sciences*, 6, 4054-4065
- Shahbazian, D. Karami, A. Eshghi, S. Maggi, F. 2018. Variation in the Essential Oil Yields and Compositions of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Populations Collected from Natural Habitats of Southern Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 30:5, 369-378.
- Söke, P. Elmacı, Y. 2015. Siyah ve Beyaz Mersin (*Myrtus communis* L.) Meyvelerinin Şekerlemeye İşlenmesi. *Akademik Gıda* 13(1), 35-41.
- Stuart, M. 1994. The Encyclopedia of Herbs and Herbalism, 3rd Edn pp. 52, 136
- Toker, R. 2016. Mersin (*Myrtus communis* L.) Meyvesinin Değerlendirilmesi Üzerine Araştırma. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 114 s.
- Usai, M. Marchetti, M. Culeddu, N. Mulas, M. 2018. Chemical Composition of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Berries Essential Oils as Observed in a Collection of Genotypes. *Molecules*, 23, 2502.
- Uzun, H.İ. Baktır, İ. Gözlekçi, Ş. Yeğin, A. 2016. Siyah ve Beyaz mersinde (*Myrtus communis*) meyve özelliklerinin ve yaprak uçucu yağ bileşiminin mevsimsel değişimi. *Mediterranean Agricultural Science* 29 (3), 85-92
- Uzun, H.İ. Aksor, U. Gözlekçi, Ş. Bayır Yeğin, A. Selçuk, N. 2016. Siyah mersin (*Myrtus communis*)'in değişik ekolojilerde verim ve kalite özellikleri üzerine araştırmalar. *Derim* 33 (2), 159-174
- Yeğin, A. Uzun, H.İ. 2015. Mersin (*Myrtus communis* L.) meyvelerinin fenolik bileşik içerikleri. *Derim* 32 (1), 81-88
- Yorgancılar, M. Yakışır, E. Tanur Erkoyuncu, M. 2015. Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2,) 1-12
- Yıldırım, H. Kargı, S. Karabıyık, Ş. 2013. Adana ve Mersin Ekolojik Koşullarında Doğal Olarak Yetişen Mersin (*Myrtus communis* L.) Bitkileri Üzerinde Bir Araştırma. *Alatatarım* 12 (1), 1-9.
- Yıldırım, H. 2012. Adana ve Mersin Ekolojik Koşullarında Yetişen Mersin Bitkisi (*Myrtus communis* L.)'nde Bazı Bitkisel ve Pomolojik Özellikler ile Yaprak Uçucu Yağ Bileşenlerinin Belirlenmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana, Yüksek Lisans Tezi.

- Yıldırım, H. Kargı, S. Karabıyık, Ş. 2013. Adana ve Mersin Ekolojik Koşullarında Doğal Olarak Yetişen Mersin (*Myrtuscommunis L.*)Bitkileri Üzerinde Bir Araştırma. *Alatatarım* 12 (1), 1-9.
- Wahid, N. Chkichekh, A. Bakry, M. 2016. Morphological traits and oil yield variation of three *Myrtus communis L.* Populations: implication for domestication. *Direct Research Journals*, 4(8), 199-207.
- Wannes, W A. Mhamdi, B. Marzouk, B. 2008. Variations in essential oil and fatty acid composition during *Myrtuscommunis* var. *Italica* fruit maturation. *Food Chemistry* 112 (2009), 621–626

EK-3. SSR Benzerlik indeksi değerleri

[illegible]

EK-4. SSR ve İPBS Benzerlik indeksi değerleri

[illegible]

ÖZGEÇMİŞ

Betül TÜZÜN KİS
btltn@windowlive.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek lisans 2017-2020	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2012-2016	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Eskişehir